

Cập nhật tình hình phát triển Huyết thanh kháng nọc rắn phổ rộng

Wang-Chou Sung, T.S.

Nghiên Cứu Viên Phó

Viện Các Bệnh Truyền Nhiễm Và Vaccine Quốc Gia

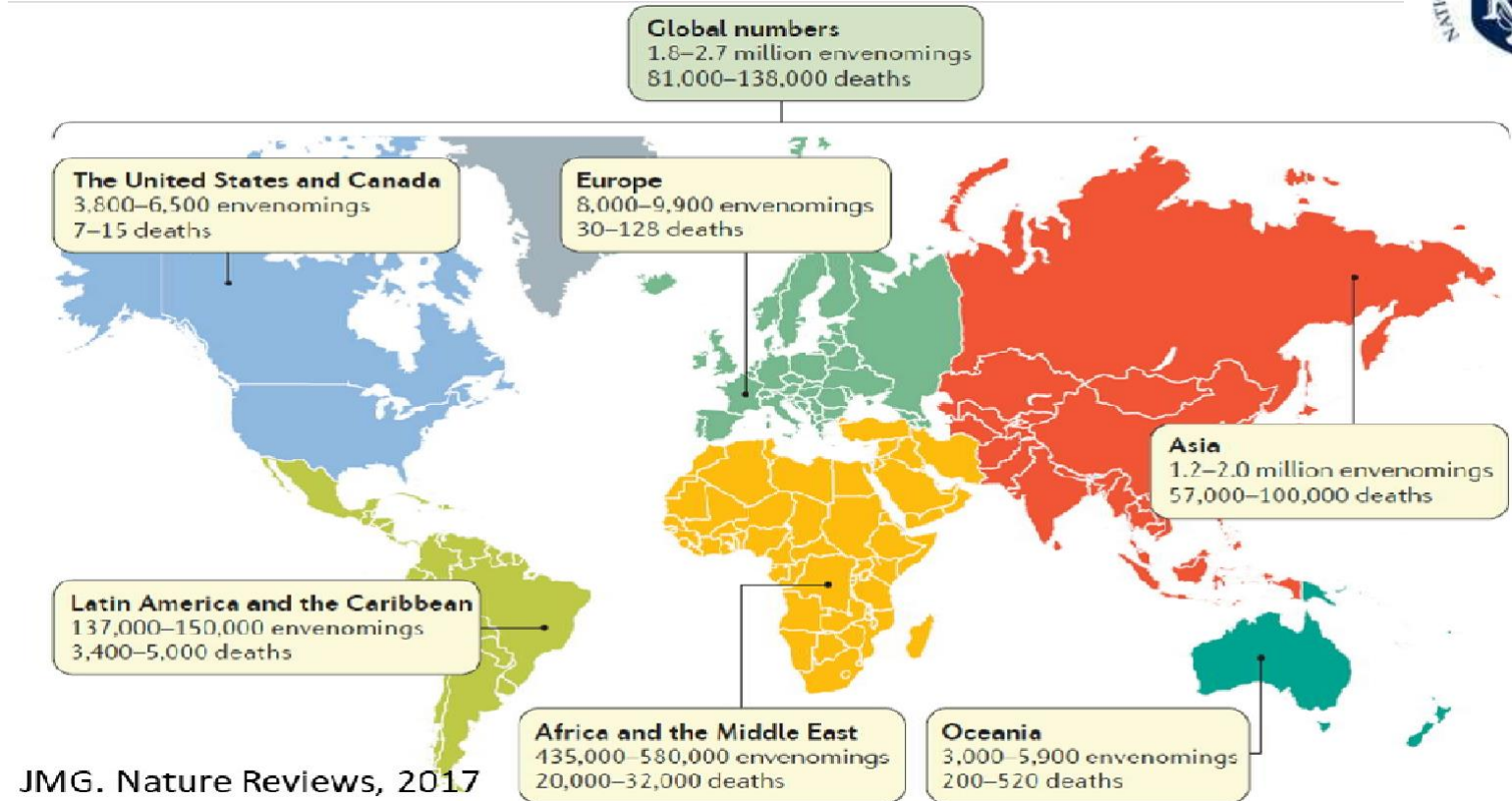
Viện Nghiên Cứu Sức Khỏe Quốc Gia Đài Loan



Hội thảo liên kết, Vietnam

21 tháng 9, 2019

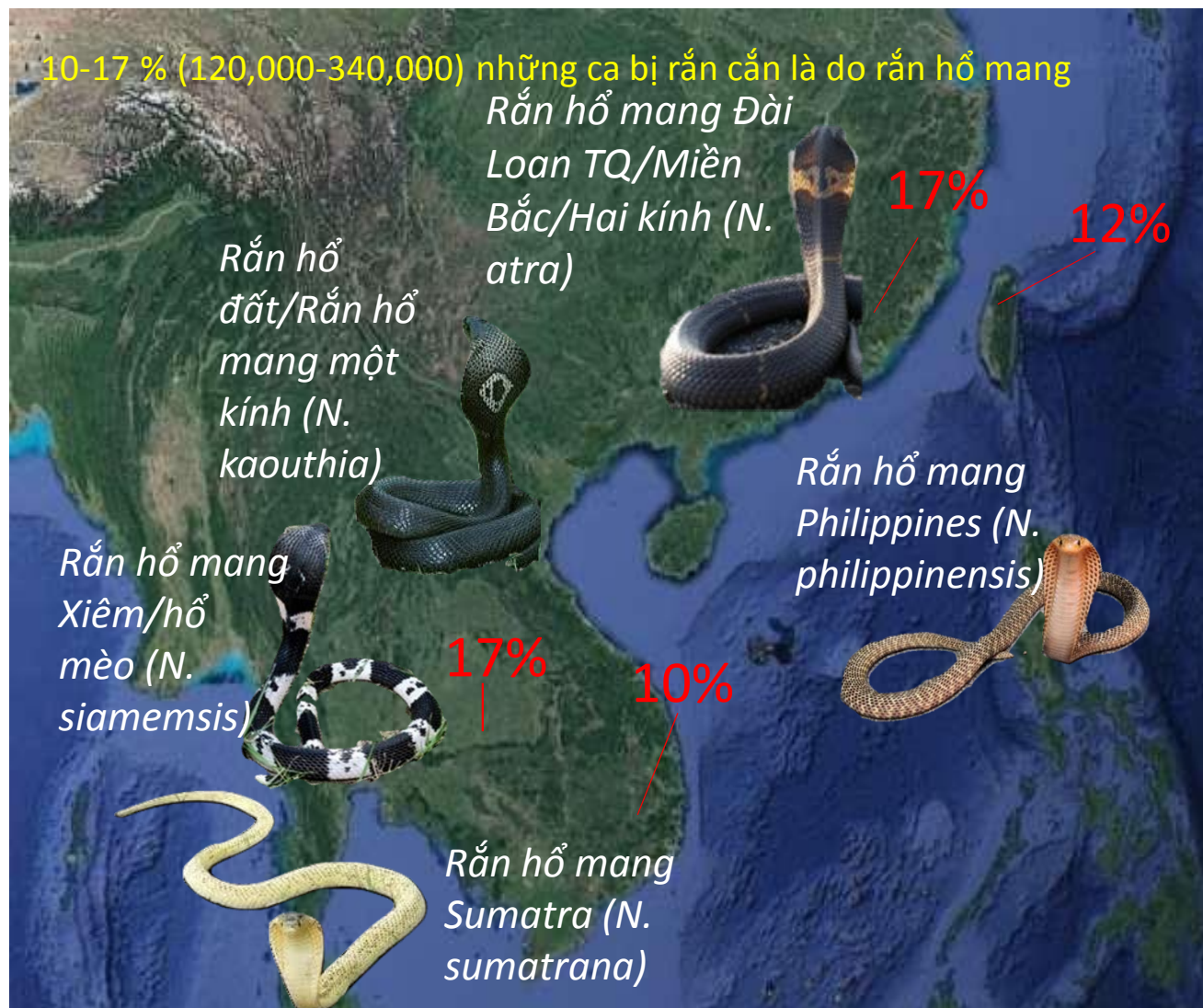
Nhiễm nọc độc do rắn cắn



JMG. Nature Reviews, 2017

- Ảnh hưởng nặng nề đến hàng triệu sinh mạng đặc biệt là dân số những vùng nông nghiệp, nghèo khó, nông thôn— **mối đe dọa đối với sự an toàn và sức khỏe của cộng đồng.**
- Một trong những **Bệnh nhiệt đới bị lãng quên** trên toàn thế giới.(WHO 2017)

Tỷ suất mới mắc của Rắn hổ mang cắn tại Châu Á



Nhiễm độc do rắn hổ mang cắn

- Nói chung, 100-600 mg nọc độc/ rắn hổ mang cắn.
- Biểu hiện tại chỗ (chủ yếu rắn hổ mang miền Bắc, và rắn phun nọc ở Châu Phi)
 - Sưng
 - Bầm máu
 - Hoại tử mô
- Triệu chứng thần kinh hệ thống (Rắn hổ đất/một kính, miền Bắc/hai kính, hổ mang Philippines).
 - Sụp mí mắt
 - Yếu chi
 - Suy hô hấp

Tổn thương mất chức năng, không hồi phục, cả đời

Độc tố tim

α -neurotoxin chuỗi ngắn (SNTX)

Có thể gây tử vong

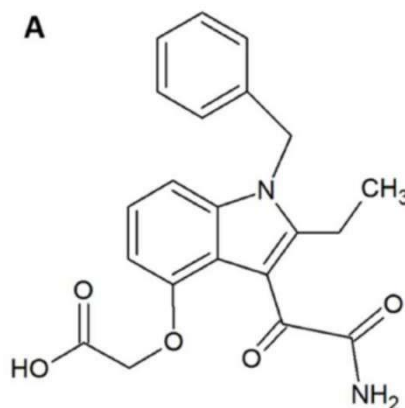
α -neurotoxin chuỗi dài (LNTX)

Tác nhân trị liệu đối với rắn cắn

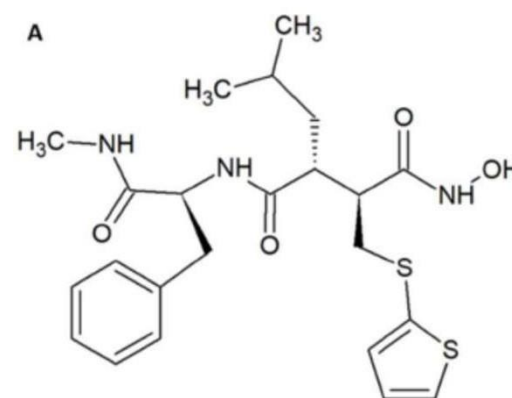
Các chất ức chế tiểu phân tử

- **Varespladib** ức chế hiệu lực của **phospholipase A2** từ 28 nọc độc qua trọng về mặt y khoa trên 6 lục địa.
- **Batimastat**, một chất ức chế tổng hợp matrix metalloproteinase (MMP), ức chế hoạt tính ly giải protein và gây xuất huyết do **metalloproteinase** từ nọc rắn *Bothrops asper* và *Echis ocellatus*.
- Độc tố không enzyme như **three-finger toxins (3FTxs)** có thể tốt hơn nếu được nhắm đến như liệu pháp kháng thể **antibody-based therapeutics**.

Varespladib



Batimastat



Tác nhân trị liệu đối với rắn cắn

Huyết thanh kháng nọc rắn

- Năm 1894, Albert Calmette thấy rằng huyết thanh thỏ được tiêm nọc rắn hổ mang (antivenimeux) có thể được dùng để trung hòa độc tố.
- Đến nay, liệu pháp huyết thanh (serum-based therapy) là phương pháp điều trị rắn cắn duy nhất có hiệu quả.
- 10 million ống là nhu cầu hàng năm.



Huyết thanh kháng nọc rắn hổ mang thương mại



Hổ mào/Xiêm (N. siamensis)

Hổ đất/một kính (N. kaouthia)

Hổ mang Sumatra (N. sumatrana)

Hổ mang miền Bắc, hai kính (N. atra)

Hổ Java (N. sputatrix)

Huyết thanh kháng nọc rắn –thách thức và hạn chế

- **Cung ứng** : lợi nhuận thấp
- **Hiệu quả** : đặc hiệu loài & vùng
- **An toàn** : chất lượng, độ tinh khiết

Chỉ có rắn hổ Trung Quốc/2 kính, hổ đất/1 kính và hổ Java có huyết thanh kháng nọc rắn chuyên biệt cho loài

NEXT

Snakebite ENVENOMING

A strategy for prevention and control

EXECUTIVE SUMMARY

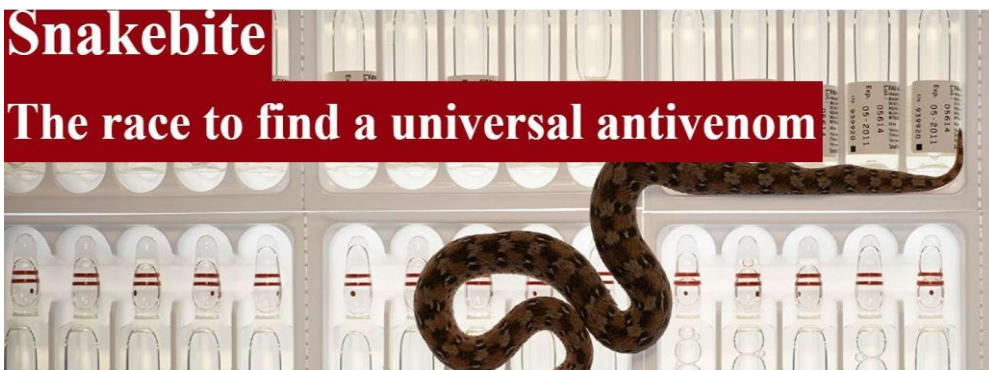


Snakebite: WHO targets 50% reduction in deaths and disabilities

6 May 2019 | Departmental news | Geneva

Snakebite

The race to find a universal antivenom



Broad-spectrum Antivenom



New Antivenom Can Treat 18 Kinds of Snakebites

The experimental serum saved mice from Asian and African snakes and could help out at a time when antivenom stockpiles are dwindling.

3 MINUTE READ

BY ANNA NOWOGRODZKI



PLOS | NEGLECTED TROPICAL DISEASES

BROWSE

PUBLISH

ABOUT

OPEN ACCESS PEER-REVIEWED

RESEARCH ARTICLE

A Simple and Novel Strategy for the Production of a Pan-specific Antiserum against Elapid Snakes of Asia

Kavi Ratanabanangkoon , Kae Yi Tan, Sukanya Eursakun, Choo Hock Tan, Pavinee Simsiriwong, Teeraporn Pamornsakda, Witthawat Wiriyarat, Chaiya Klinpayom, Nget Hong Tan

Published: April 8, 2016 • <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004565>

MENU ▾

nature
International journal of science

NEWS • 16 MAY 2019

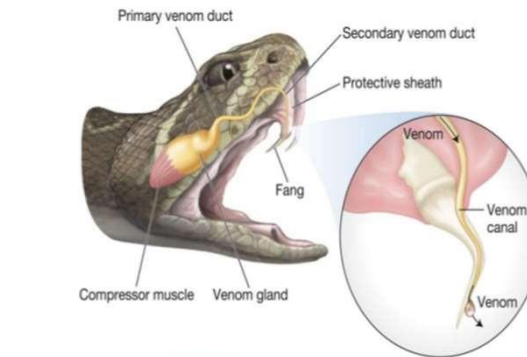
Snakebite crisis gets US\$100-million boost for better antivenoms

Wellcome Trust launches research initiative for long-neglected health problem.

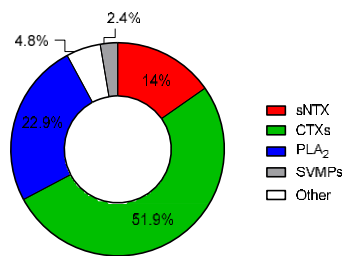
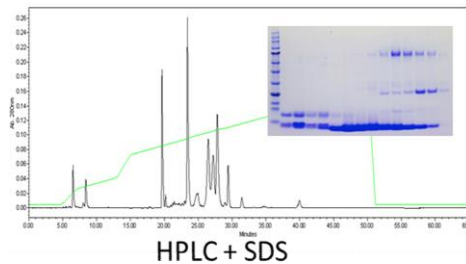
Nọc độc học (venomics) chức năng của nọc rắn hổ mang



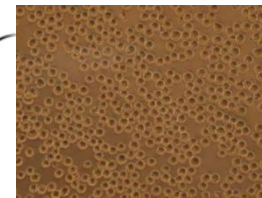
- **Proteomic:** decomplexation và định danh sắc ký lỏng/khối phổ.
- **Bioinformatics:** đánh giá độ phủ.
- **Antivenomic:** chuyên biệt kháng thể.



Decomplexation and
Proteomic characterization



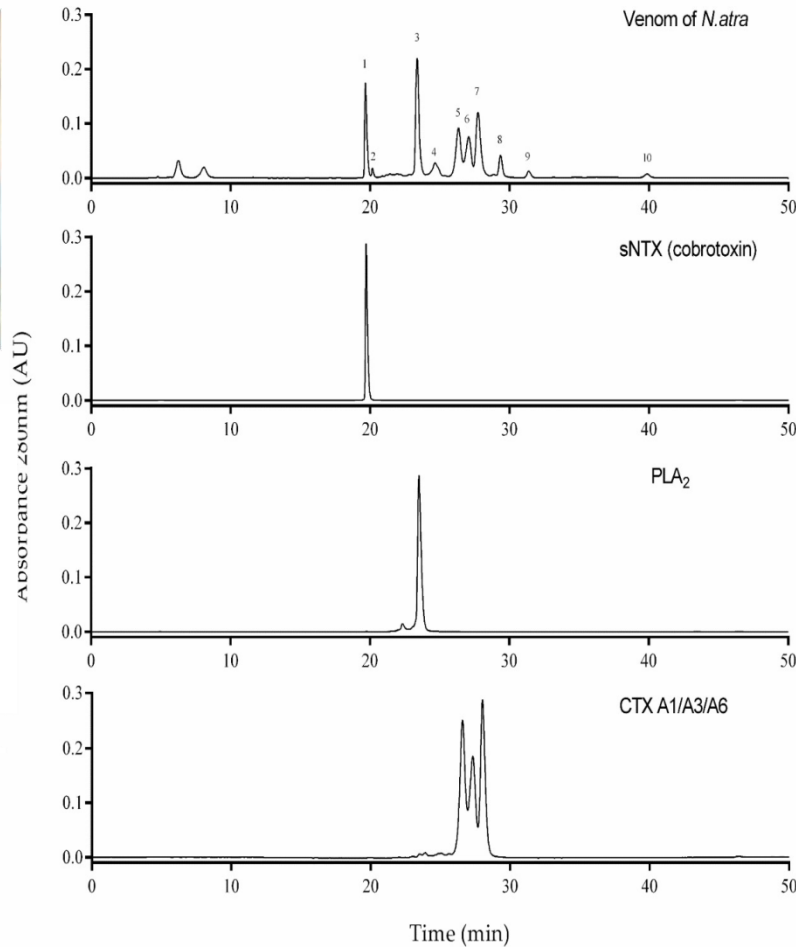
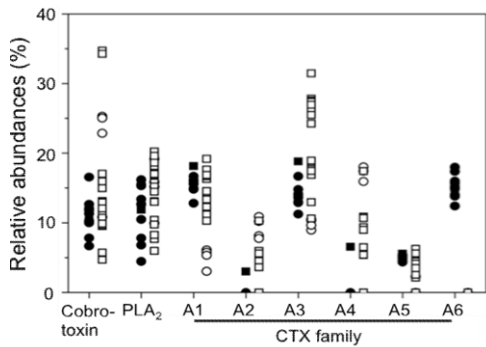
Độc tính



In vitro & in vivo
Trung hòa nọc rắn



Xác định những độc tố chính trong nọc hổ mang



Tử vong

**Điểm độc
tính (LD50/amount)**



Cao



Thấp

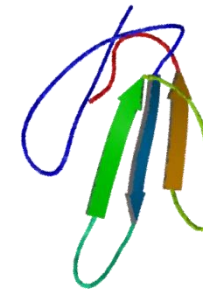


Trung bình

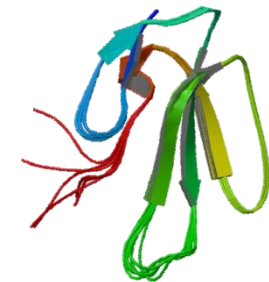
Độc tố chính của rắn hổ mang theo vùng



****thành phần thống nhất nọc rắn hổ mang**



Short NTX(SNTX)
61-62 aa
4 S-S bonds



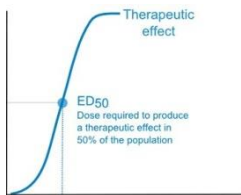
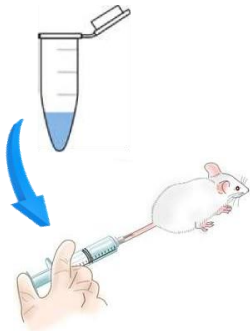
Long NTX (LNTX)
71-74 aa
5 S-S bonds

Hiệu lực trung hòa kháng nọc rắn dị loài

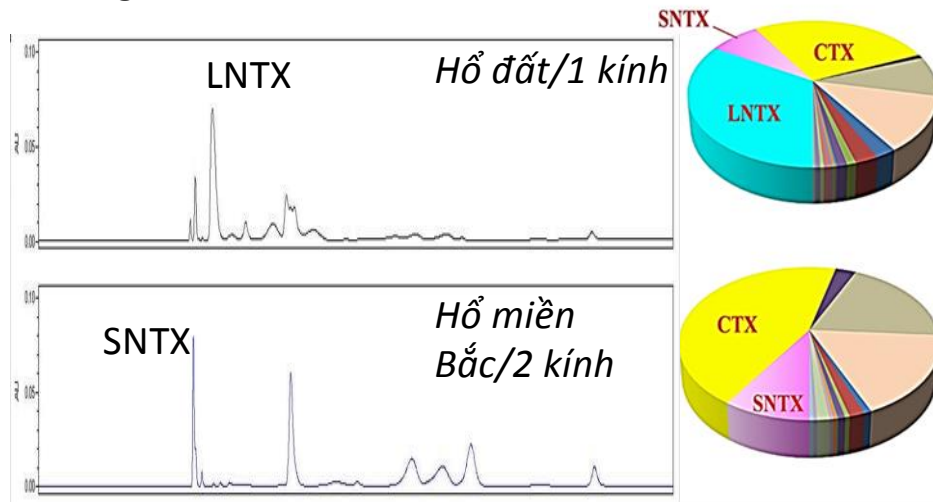


Nọc độc thô + huyết thanh kháng nọc

Preincubation



ED₅₀, ER₅₀, Potency
Effective Dose 50,
Effective Ratio 50



Hiệu quả trung hòa độc tố



BAV(Taiwan)

+



NPAV(Thailand)

+++



SAV(Vietnam)

+++

+++

+

+

Càng nhiều độc tố thần kinh, độc tính thần kinh càng cao
Đích nhắm chủ yếu liên quan hiệu lực kháng nọc rắn

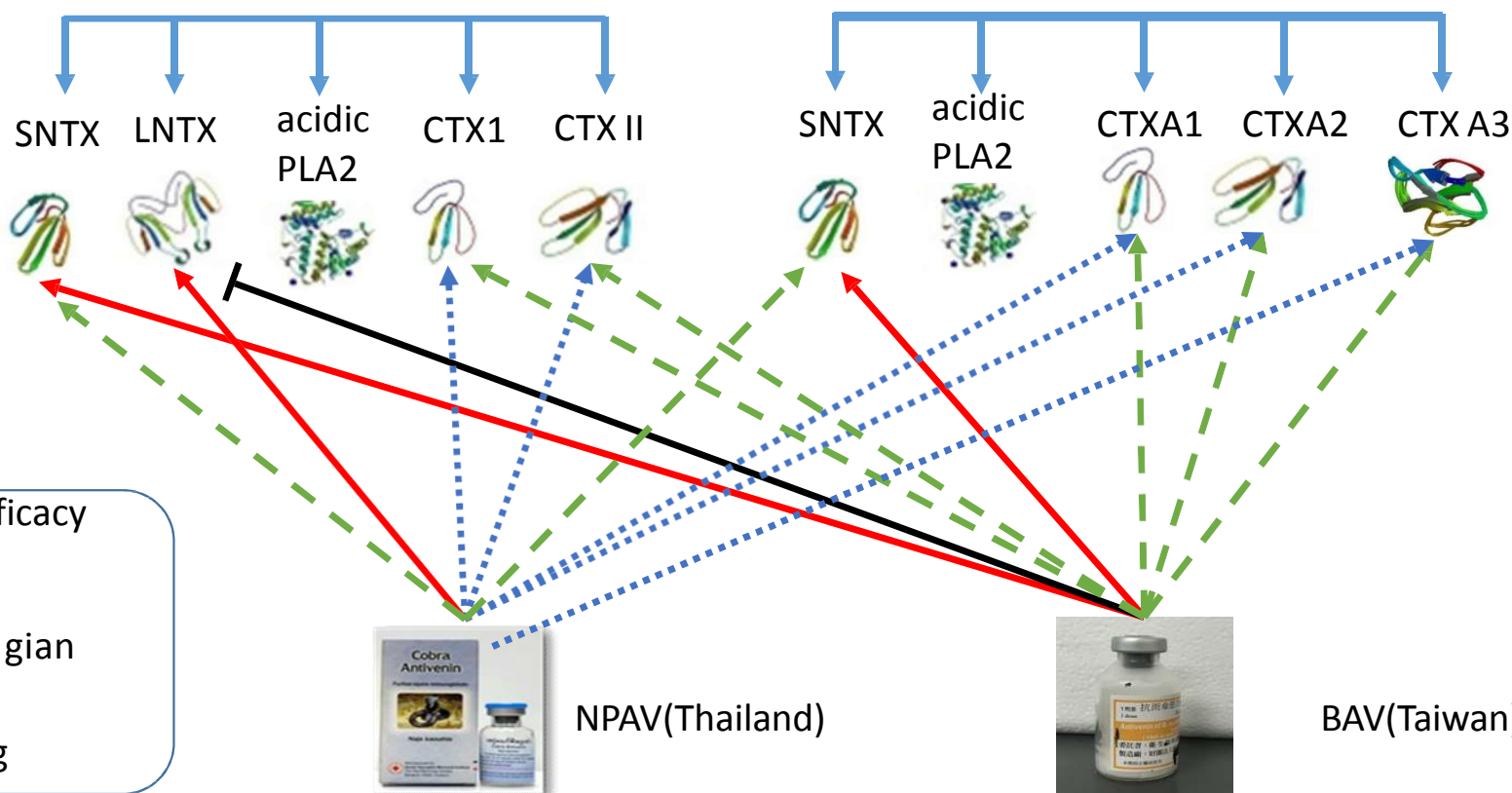
Phân đoạn, Trung hòa chuyên biệt độc tố

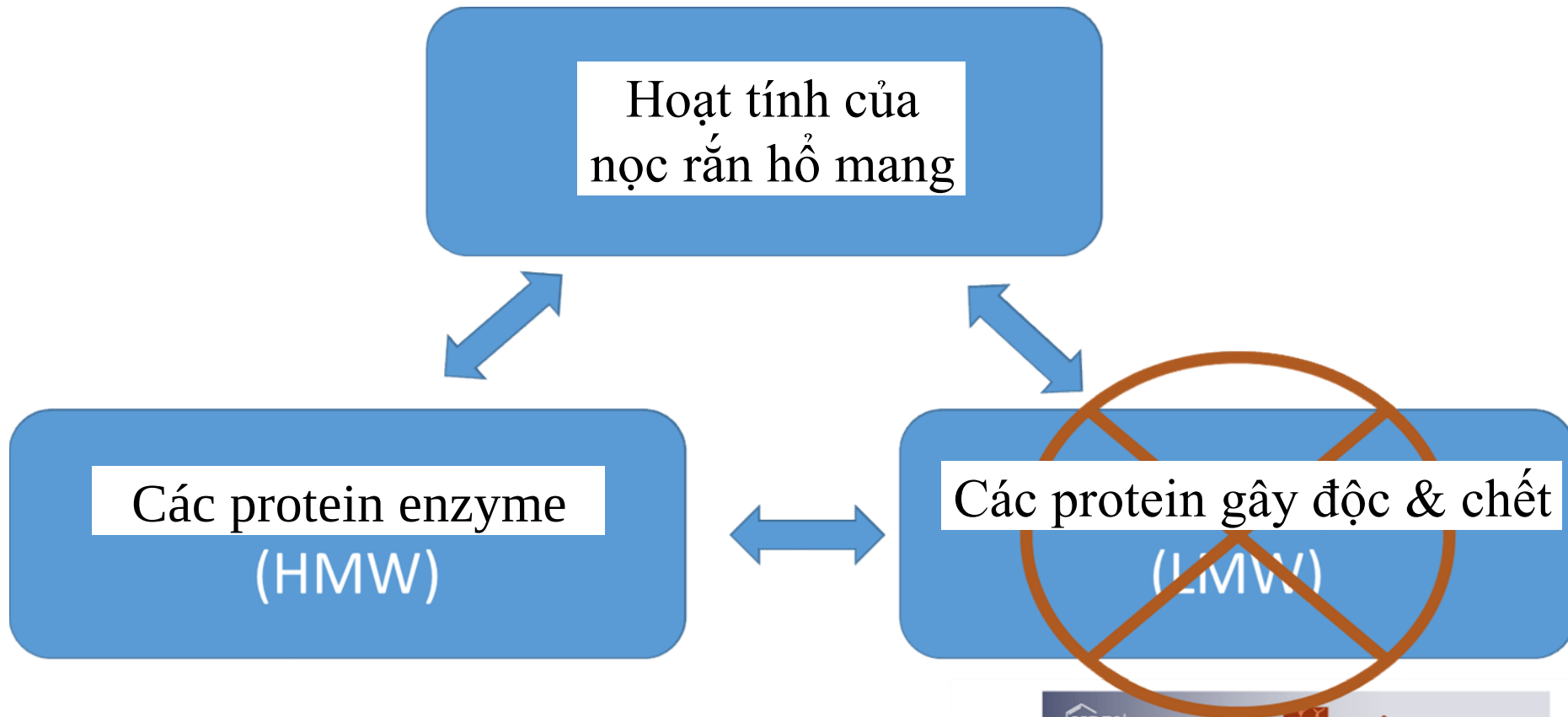


Hồ đất/1 kính (*N. Kaouthia*)



Hồ miền Bắc/2 kính (*N. atra*)





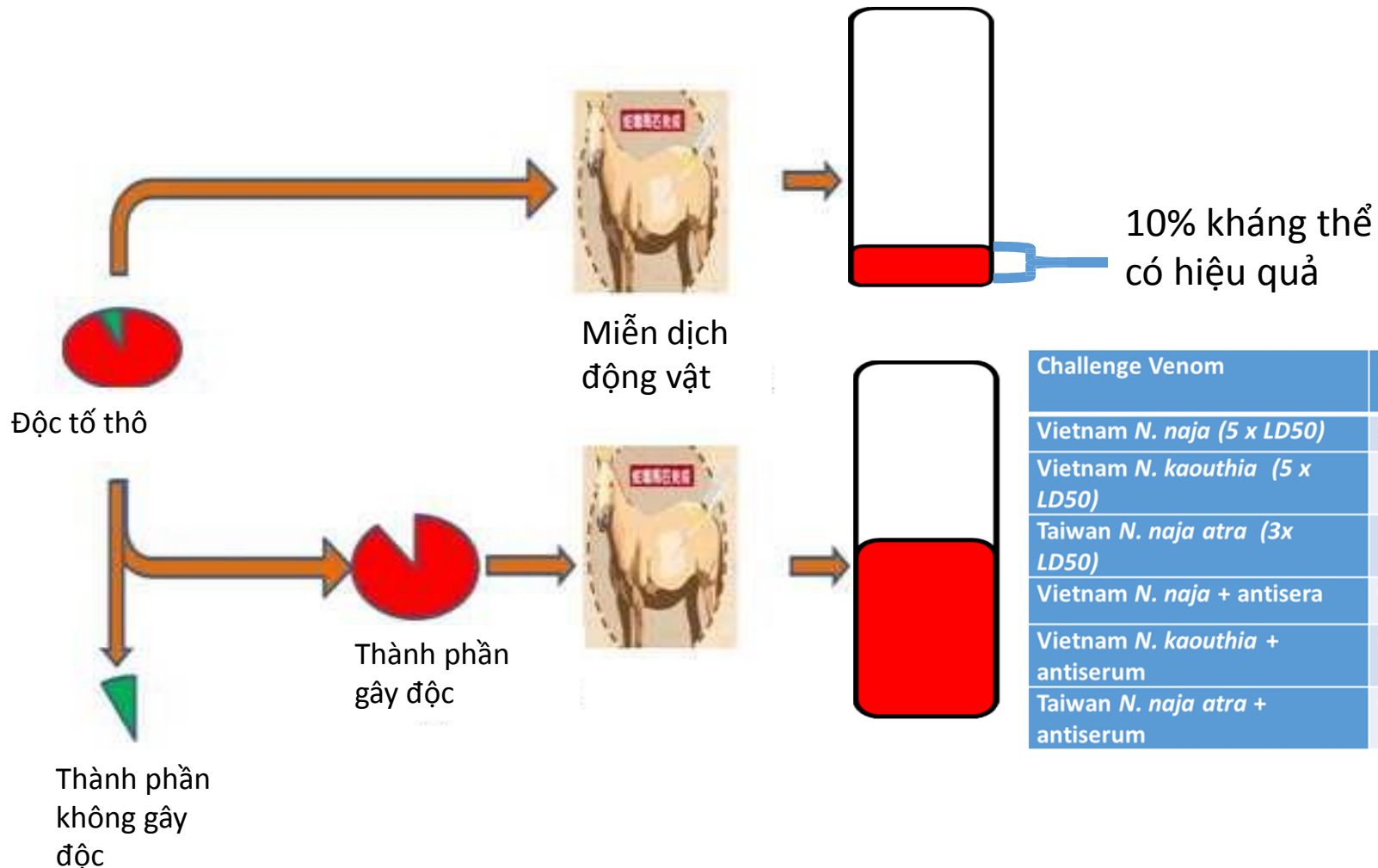
Toxins (Basel) 2016 Apr; 8(4): 86.
Published online 2016 Mar 26. doi: [10.3390/toxins8040086](https://doi.org/10.3390/toxins8040086)

PMCID: PMC4848613

Neutralization of the Principal Toxins from the Venoms of Thai *Naja kaouthia* and Malaysian *Hydrophis schistosus*: Insights into Toxin-Specific Neutralization by Two Different Antivenoms

Kae Yi Tan,¹ Choo Hock Tan,^{2,*} Shin Yee Fung,¹ and Ngai Hong Tan¹

Chiến lược tiêm chủng mới để tăng cường hiệu lực



Challenge Venom	Survival rate 3 hr	Survival rate 48 hr	Survival rate %
Vietnam <i>N. naja</i> (5 x LD50)	0/6	0/6	0%
Vietnam <i>N. kaouthia</i> (5 x LD50)	0/6	0/6	0%
Taiwan <i>N. naja atra</i> (3x LD50)	2/6	0/6	0%
Vietnam <i>N. naja</i> + antisera	6/6	6/6	100%
Vietnam <i>N. kaouthia</i> + antiserum	6/6	6/6	100%
Taiwan <i>N. naja atra</i> + antiserum	6/6	6/6	100%

Tiềm năng của Độc tố nọc rắn tái tổ hợp

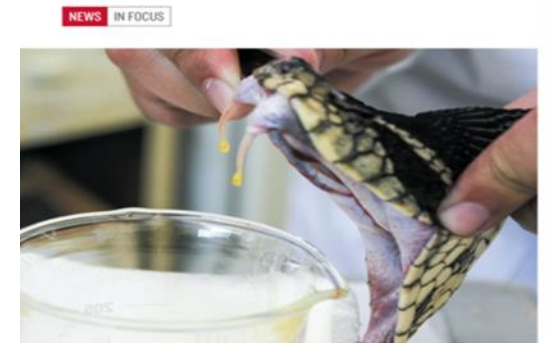
Nguồn thay thế độc tố nọc rắn

Giảm chi phí và nguy cơ rủi ro

Sự linh hoạt cao

Mục tiêu trung hòa độc tố rộng
hơn

Đáp ứng yêu cầu kiểm soát chất lượng
kháng nguyên



Milking snakes is a key part of producing conventional antivenom.

Synthetic biology tackles antivenom

Artificial antibodies could ease global snakebite burden.

BY CARRIE ARNOLD

When the medical charity Médecins Sans Frontières called the world-wide shortage of snake antivenom a public-health crisis last September, Brazilian biochemist Paulo Lee Ho wasn't surprised. He has spent his career at São Paulo's Butantan Institute searching for better ways to create antivenom to treat bites from coral snakes.

Conventional methods rely on natural coral snake venom, which is hard to come by: the snakes produce only small amounts with each bite and are hard to raise in captivity. So Ho and others have turned to proteomics and synthetic biology in the hope of improving the quality and availability of antivenom. "We need a new way to meet the demand for antivenom from the Ministry of Health," he says.

These efforts are bearing fruit. Last month, Ho and his colleagues reported that they had engineered short pieces of DNA that, when injected into mice, triggered antibodies against coral snake venom. The scientists

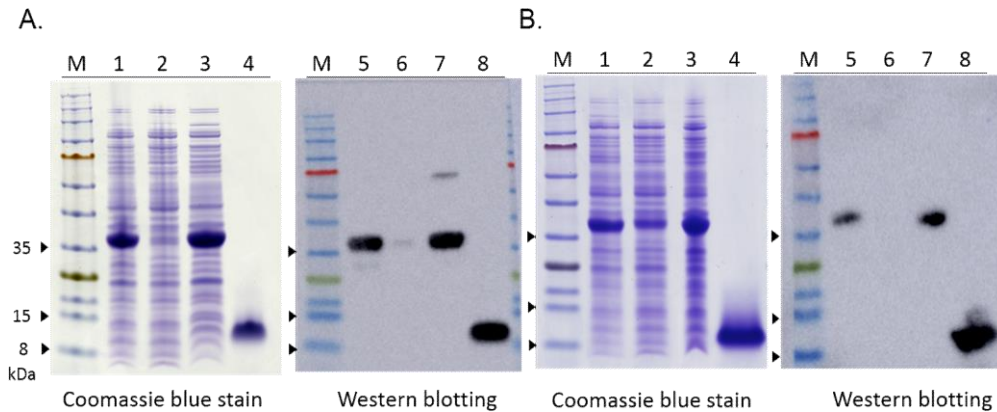
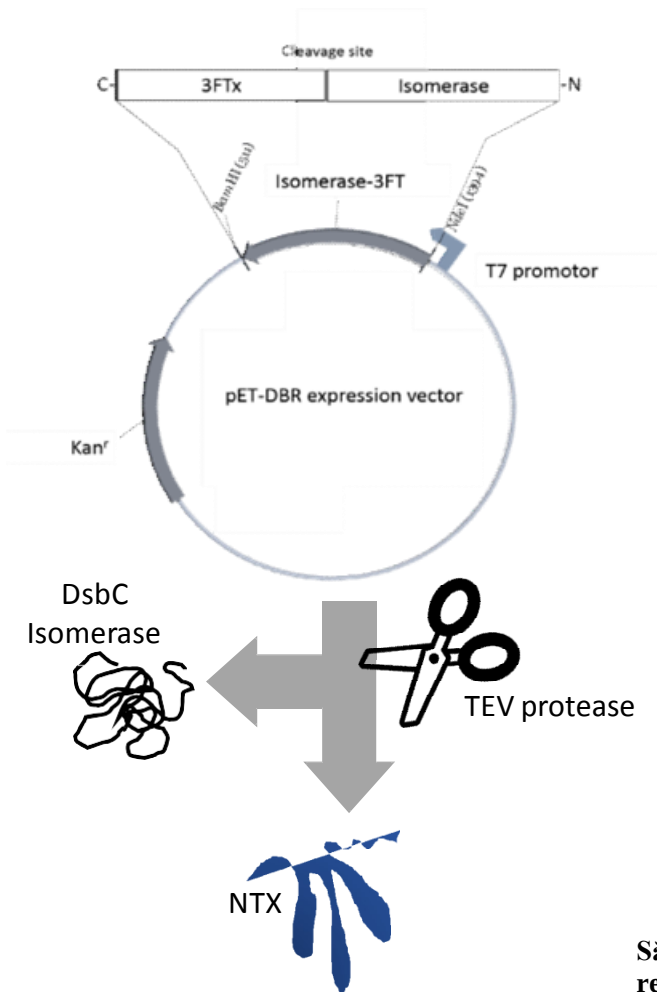
then boosted the animals' immune response by injecting them with small pieces of synthetic venom antibodies synthesized in *Escherichia coli* bacteria. In a separate study, another group of researchers in Brazil used synthetic antibody fragments to neutralize the effects of bites by the pit viper *Bothrops jarroviensis*.

Such progress is encouraging, given the severe medical burden caused by snakebites in the developing world, says Robert Harrison, head of the Alistair Reid Venom Research Unit at the Liverpool School of Tropical Medicine, U.K. Each year, around 90,000 people die after being bitten by venomous snakes.

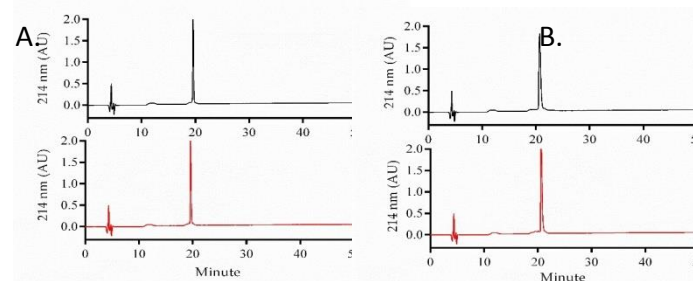
Yet antivenoms are still made using a method that has not changed for more than a century. Large animals, typically horses, are injected with small amounts of purified proteins extracted from snake venom, which prompts the production of antibodies. Plasma containing these antibodies is then given to snakebite victims.

But this life-saving treatment is limited in important ways. Each antivenom is effective against only a single species or, at most, a small

Biểu hiện và độ tinh khiết α -Neurotoxins tái tổ hợp

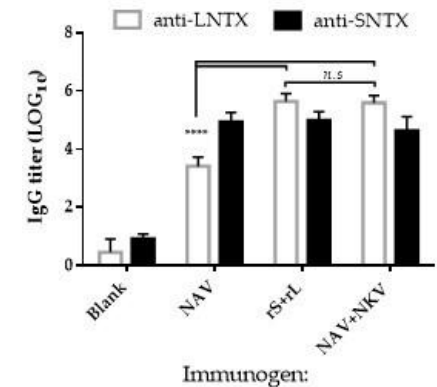


Điện di polyacrylamide với SDS (SDS-PAGE) and western blotting of the recombinant (A) SNTX and (B) LNTX. Lane M: Prestained protein markers; lane 1 and 5: Induced total lysate; lane 2 and 6: non-induced total lysate; lane 3 and 7: soluble fraction; lane 4 and 8: purified recombinant NTX

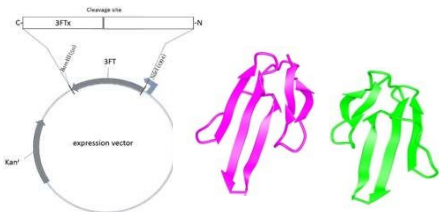


Sắc ký lỏng hiệu năng cao đảo pha (RP-HPLC) chromatograms of the X. recombinant (A) SNTX and (B) LNT

Độc tố tự nhiên (màu đen); độc tố tái tổ hợp (màu đỏ)



Thử nọc rắn trên chuột đã được tiêm chủng



Recombinant toxins



Immunization



venom challenge



Thử nọc rắn hổ miền Bắc/2 kính (*N. atra* venom):

Group	Immunogen	Adjuvant	Survival % (48h)
1	<i>N. atra</i> venom	CFA/IFA	83.3 (5/6)
2	<i>N. kaouthia</i> venom	CFA/IFA	83.3 (5/6)
3	<i>N. atra</i> + <i>N. kaouthia</i> venom	CFA/IFA	57.1 (4/7)
4	Độc tố tự nhiên	CFA/IFA	100 (7/7)
5	Độc tố tái tổ hợp	CFA/IFA	83.3 (5/6)



Thử nọc rắn hổ đất/2 kính (*N. kaouthia* venom):

Group	Immunogen	Adjuvant	Survival (48h)
1	<i>N. atra</i> venom	CFA/IFA	0 (0/6)
2	<i>N. kaouthia</i> venom	CFA/IFA	100 (6/6)
3	<i>N. atra</i> + <i>N. kaouthia</i> venom	CFA/IFA	100 (7/7)
4	Độc tố tự nhiên	CFA/IFA	100 (7/7)
5	Độc tố tái tổ hợp	CFA/IFA	100 (6/6)



Thử nọc rắn hổ mèo/Xiêm (*N. siamensis* venom):

Group	Immunogen	Adjuvant	Survival (48h)
1	<i>N. atra</i> venom	CFA/IFA	16.7 (1/6)
2	<i>N. kaouthia</i> venom	CFA/IFA	83.3 (5/6)
3	<i>N. atra</i> + <i>N. kaouthia</i> venom	CFA/IFA	100 (7/7)
4	Độc tố tự nhiên	CFA/IFA	100 (7/7)
5	Độc tố tái tổ hợp	CFA/IFA	100 (6/6)

Kết luận



- Đa dạng địa lý rõ rệt ở các loài rắn hổ mang. Dữ liệu chi tiết nọc rắn là cần thiết.
- Độc tố thần kinh chuỗi ngắn (SNTX) và độc tố thần kinh chuỗi dài (LNTX) là **những độc tố chính gây tử vong** trong nọc độc thô của rắn hổ mang châu Á (hổ miền Bắc, hổ đất và hổ mèo).
- Tính sinh miễn dịch của các độc tố chính is **tương quan với hiệu lực trung hòa độc tố nọc rắn của kháng huyết thanh từ động vật**.
- The recombinant 3FTXs với cầu nối disulfide đúng cho các thuộc tính cấu trúc giống-tự nhiên, và sinh miễn dịch để trung hòa kháng thể.

Nên thúc đẩy hợp tác nghiên cứu

Chia sẻ mẫu nọc rắn và công nghệ bào chế huyết thanh kháng nọc rắn

Nghiên cứu nọc độc so sánh (Comparative venom study)

Cảm ơn