

XÂY DỰNG QUY TRÌNH XÁC ĐỊNH HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA INTERFERON ALPHA GÀ (ChIFN- α)

Nguyễn Thị Thanh Giang¹, Nguyễn Đăng Quân¹, Hồ Quảng Đố²

TÓM TẮT

Quy trình xác định hoạt tính sinh học của interferon alpha gà (ChIFN- α) được xây dựng dựa trên quy trình xác định hiệu giá của interferon alpha 2. Các thông số chính sử dụng trong quy trình bao gồm: mật độ tế bào UMNSAH/DF1 (đòng nguyên bào sợi phôi gà) là 4×10^5 tế bào/ml (4×10^4 tế bào/giếng/100 μ l); virus sử dụng để đánh giá là NDV (Newcastle disease virus) liều 100 TCID₅₀/0,1 ml. Kết quả thử nghiệm cho thấy, quy trình xác định hoạt tính sinh học của ChIFN- α có tính ổn định cao khi áp dụng hai loại virus khác nhau (NDV và VSV - Vesicular stomatitis virus). Kết quả đạt được có sai số nằm trong khoảng cho phép của Bộ Y tế (hiệu giá sai số cho phép nằm trong khoảng 70 - 150%).

Từ khóa: Interferon alpha gà, hoạt tính sinh học, bệnh tích tế bào, liều gây nhiễm 50% tế bào thử nghiệm

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Interferon alpha gà (ChIFN- α) đã được chứng minh có khả năng ức chế các virus gây bệnh Newcastle (Hou *et al.*, 2011), Gumboro (Mo *et al.*, 2001), cúm H1N1, H5N9 (Jiang *et al.*, 2011), bạch cầu sarcoma ở gia cầm (Dai *et al.*, 2016), virus gây bệnh mụn giộp (VSV, Vesicular stomatitis virus) (Hou *et al.*, 2011). Hơn nữa, interferon (IFN) còn kích thích miễn dịch đặc hiệu do đó thường được sử dụng như là một tác nhân hỗ trợ, nhằm tăng cường hiệu quả phòng ngừa và điều trị bệnh do virus ở người, gia cầm và kèm với vaccine liều thấp nhằm tăng cường hiệu quả của vaccine (González-Navajas *et al.*, 2012). Trước nhu cầu thực tế, trong việc phòng ngừa và điều trị các bệnh do virus gây ra ở gia cầm tại Việt Nam, Trung tâm Công nghệ Sinh học thành phố Hồ Chí Minh đã tạo được chế phẩm interferon alpha gà (ChIFN- α) tái tổ hợp biểu hiện từ nấm men *Pichia pastoris*. Tuy nhiên, để có thể được thương mại, yêu cầu thiết yếu trong quy trình sản xuất là các chế phẩm này cần phải được xác định hoạt tính của chế phẩm. Tuy nhiên, quá trình xác định hoạt tính của ChIFN- α còn gặp nhiều khó khăn do trong nước chưa có đơn vị kiểm định mẫu ChIFN- α , mà một số đơn vị chỉ nhận mẫu kiểm định là interferon người (hIFN). Do vậy, nghiên cứu được tiến hành nhằm có được quy trình thường quy xác định hoạt tính sinh học (IU/mg) của ChIFN- α áp dụng trong phòng thí nghiệm.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn mẫu: Đòng tế bào UMNSAH/DF1 (ATCC), virus Newcastle độc lực cao (bộ môn

Thú y, Khoa Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ), virus VSV (Viện Vaccine và Sinh phẩm y tế Nha Trang).

Hóa chất: dịch ChIFN- α (Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh); ChIFN- α chuẩn (Biorad); trypsin (Sigma); MTT (Sigma); DMEM (Sigma); FBS (Sigma); PBS (Gibco); Trypan blue (Sigma).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Xác định mật độ tế bào thích hợp đưa lên giếng

Tế bào đơn UMNSAH/DF1 được xác định mật độ thích hợp, đưa lên đĩa nuôi cấy tế bào 96 giếng chuẩn bị cho thử nghiệm. Môi trường nuôi tế bào là DMEM 2% FBS, nhằm giúp các tế bào duy trì sự sống và hầu như không tăng sinh trong thời gian dài nuôi cấy. Tế bào UMNSAH/DF1 được đưa lên đĩa 96 giếng, với thể mỗi giếng 0,1 ml/giếng, mật độ tế bào khảo sát: 1×10^5 tế bào/ml, 2×10^5 tế bào/ml, 4×10^5 tế bào/ml và 8×10^5 tế bào/ml (mỗi nồng độ tế bào thực hiện trên 32 giếng). Quan sát hình thái tế bào trong các giếng sau 24 giờ nuôi cấy.

2.2.2. Chuẩn độ virus xác định liều gây nhiễm 50% tế bào nuôi cấy (TCID₅₀/ml, Tissue Culture Infectious Dose 50%/ml)

Quy trình chuẩn độ virus được tiến hành theo phương pháp của Hussain và Rasool (2005) và chỉ số TCID₅₀/0,1 ml được tính toán theo công thức của Reed Muench (1938) dựa trên biểu hiện bệnh tích tế bào (CPE, cytopathic effect). Tế bào UMNSAH/DF1 trong đĩa 96 giếng với mật độ tế bào ban đầu là 4×10^4 tế bào/giếng được nuôi cấy trong 24 giờ ở 37°C, 5% CO₂. Lốp đơn tế bào UMNSAH/DF1 này được cho tiếp xúc (lây nhiễm) với 100 μ l dịch huyền phù có chứa virus ở các nồng độ pha loãng bậc 10

¹ Trung tâm Công nghệ Sinh học thành phố Hồ Chí Minh; ² Khoa Nông Nghiệp, Đại học Cần Thơ

khác nhau. Sau 1 giờ lây nhiễm ở 37°C, môi trường có chứa virus được rửa bỏ và thay thế bằng môi trường mới. Tế bào được tiếp tục nuôi cấy ở 37°C, 5% CO₂ cho đến khi bệnh tích tế bào không thay đổi. Quan sát CPE bằng kính hiển vi và tính liều gây nhiễm 50% tế bào nuôi cấy (TCID₅₀).

Với 2 độ pha loãng cho tỉ lệ trên 50% và dưới 50% giếng có CPE, chỉ số TCID₅₀/0,1 ml được xác định như sau:

$$TCID_{50} = 1/\text{độ pha loãng cho CPE 50\%}$$

Độ pha loãng cho CPE 50% = 10 [log (độ pha loãng cho CPE > 50%) - PD]

$$PD = [(\%CPE > 50\%) - 50\%] / [(\%CPE > 50\%) - (\%CPE < 50\%)]$$

2.2.3. Quy trình thực hiện

Quy trình thực hiện được dựa theo và có cải tiến từ quy trình xác định hiệu giá interferon alpha 2 công bố trong Dược điển Việt Nam V, áp dụng từ đầu năm 2018 (Bộ Y tế, 2017) và phương pháp xác định hoạt tính sinh học của interferon của tác giả Meager (2002). Quy trình sẽ xác định hoạt tính của các mẫu ChIFN-α khi thực hiện đồng thời với virus NDV và VSV. Thử nghiệm thực hiện trên đĩa 96 giếng.

* Ngày thứ nhất:

- Chuẩn bị dịch ChIFN-α chuẩn hàm lượng (100 IU/ml và 1000 IU/ml).

- Chuẩn bị dịch ChIFN-α tái tổ hợp cần xác định đơn vị hoạt tính (IU/mg) ở các nồng độ pha loãng 10³, 10⁴, 10⁵.

- Nhỏ 100 μl môi trường DMEM, 2% FBS vào tất cả các giếng.

- Nhỏ 100 μl dịch ChIFN-α chuẩn đã pha loãng vào các giếng B1 (nồng độ 1000 IU/ml) và C1 (nồng độ 100 IU/ml).

- Nhỏ 100 μl dịch ChIFN-α thử nghiệm đã pha loãng ở các nồng độ vào các giếng D1 & E1 (mẫu được pha loãng 10³ lần); giếng F1 & G1 (mẫu được pha loãng 10⁴ lần); H1 (mẫu được pha loãng 10⁵ lần).

- Sau khi trộn đều và mẫu được pha loãng bậc hai liên tiếp: chuyển 100 μl từ các giếng ở cột 1 sang các giếng ở cột 2, tiếp tục pha loãng như vậy cho đến cột thứ 12, hút bỏ 100 μl ở cột 12.

- Cho 100 μl hỗn dịch tế bào UMNSAH/DF1 chứa mật độ tế bào đã được xác định trước đó (mật độ tế bào được xác định khi thực hiện theo phương pháp 2.2.1) vào tất cả các giếng.

- Sau các bước trên, đĩa 96 giếng có chứa tế bào UMNSAH/DF1 được nuôi cấy trong 24 giờ ở 37°C, 5% CO₂.

* Ngày thứ hai:

- Kiểm tra sự phát triển của tế bào ở giếng đối chứng (A1- A6), tế bào phải hợp dòng thành lớp đơn.

- Loại bỏ dịch môi trường trong tất cả các giếng.

- Cho 100 μl dịch virus NDV hoặc virus VSV liều 100 TCID₅₀/ml (vào tất cả các giếng trừ giếng đối chứng tế bào. Virus được pha loãng bằng môi trường duy trì (DMEM 2% FBS).

- Cho 100 μl môi trường duy trì vào các giếng đối chứng tế bào. Sau đó, nuôi ủ trong 24 giờ ở 37°C, 5% CO₂.

* Ngày thứ 3:

- Kiểm tra sự hủy hoại của virus ở các giếng chứng virus (giếng A7- A12). Nếu kết quả trên 90% tế bào ở giếng chứng virus bị hủy hoại thì nhuộm giếng để đánh giá kết quả.

- Hoạt tính kháng virus của dịch ChIFN-α được đánh giá dựa vào biểu hiện ức chế bệnh tích tế bào thông qua số lượng tế bào sống (giá trị OD₅₉₅ đo được sau khi xử lý tế bào với dung dịch MTT (Sigma). Phân tích kết quả dựa trên công thức được trình bày trong dược điển Việt Nam V trang 996 - phương pháp xác định hiệu giá interferon alpha (Bộ Y tế, 2017).

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Tất cả các số liệu thô được xử lý bằng phần mềm Stagraphic XVI.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện từ tháng 10/2018 đến tháng 8/2019 tại Phòng thí nghiệm Công nghệ Sinh học Y dược, Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

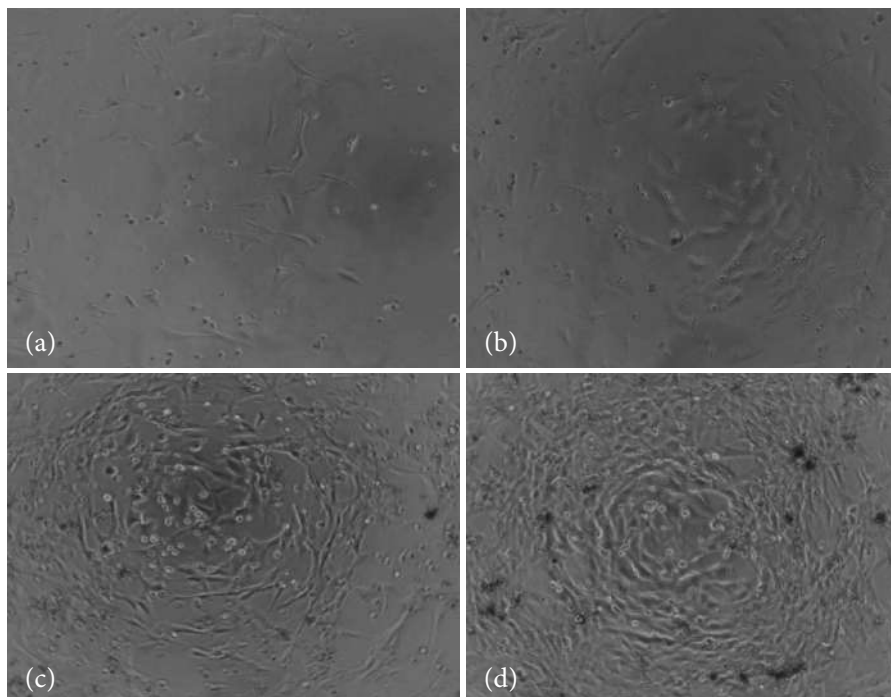
3.1. Mật độ tế bào UMNSAH/DF-1 phù hợp đưa lên đĩa

Sau 24 giờ nuôi cấy, ở tất cả các nồng độ khảo sát, hầu hết tế bào đều bám và trải dài trên bề mặt đĩa nuôi, tế bào có dạng hình sợi - hình thái phổ biến của dòng UMNSAH/DF-1 (dòng nguyên bào sợi phôi gà), không quan sát thấy hiện tượng tế bào bất thường. Diện tích tế bào bao phủ bề mặt đĩa nuôi phù thuộc lượng tế bào đưa vào giếng (Hình 1), cụ thể: các giếng có mật độ tế bào 1 - 2 × 10⁵ tế bào/ml (Hình 1a, b) tế bào còn thưa thớt; các giếng có mật độ tế bào 4 × 10⁵ tế bào/ml (Hình 1c) và 8 × 10⁴ tế bào/ml (Hình 1d) tế bào bám trải tạo thành lớp đơn tế bào trên bề mặt, đã phủ hơn 50% bề mặt nuôi cấy.

Sau 48 giờ nuôi cấy, hầu hết tế bào ở các giếng có mật độ khác nhau đều tăng sinh so với thời điểm 24 giờ, và ở các giếng có mật độ 8×10^5 tế bào/ml, tế bào phát triển dày đặc và chồng lên nhau, không còn là dạng lớp đơn tế bào.

Với kết quả thu được như trên, các giếng có mật độ tế bào ban đầu 4×10^5 tế bào/ml và 8×10^5 tế bào/ml đều có thể tạo thành lớp đơn tế bào, phủ 80 - 90% bề mặt đĩa tùy theo thời gian nuôi. Các tế bào này sẽ tiếp tục tăng sinh, phát triển khi được

nuôi cấy thêm 2 - 3 ngày nếu tham gia vào quy trình xác định hoạt tính sinh học của ChIFN- α . Do đó, để tránh hiện tượng tế bào phát triển mọc chồng lên nhau tạo thành nhiều lớp, ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm thì mật độ tế bào đưa vào ban đầu phù hợp nhất là 4×10^5 tế bào/ml (4×10^4 tế bào/giếng/100 μ l). Kết quả này phù hợp với mật độ tế bào sử dụng trong các quy trình thực hiện được trình bày trong nghiên cứu của Xia và cộng tác viên (2004).



Hình 1. Hình thái tế bào sau 24 giờ đưa lên đĩa với các mật độ 1×10^5 tế bào/ml (a), 2×10^5 tế bào/ml (b), 4×10^5 tế bào/ml (c) và 8×10^5 tế bào/ml (d)

3.2. Xác định liều TCID₅₀ của virus NDV và VSV

Virus VSV (Vesicular stomatitis virus) và NDV (Newcastle disease virus) đã thích nghi trên tế bào UMNSAH/DF-1 được sử dụng để làm nguồn virus cho các thử nghiệm xác định đơn vị hoạt tính. Sau 24 - 48 giờ được lây nhiễm virus VSV hay NDV, các tế bào bắt đầu xuất hiện bệnh tích (CPE, cytopathic effect). Tế bào nhiễm virus sẽ có dạng co tròn và kết cụm tế bào, hình thành vệt tan và bong ra khỏi đĩa nuôi (Lam, 1995) Sau 72 giờ lây nhiễm virus, số lượng giếng tế bào xuất hiện bệnh tích tế bào đã ổn định ở các độ pha loãng khác nhau của virus. Ở độ pha loãng virus càng cao, lượng tế bào sống càng nhiều. Số lượng giếng tế bào có biểu hiện CPE được ghi nhận và trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Tần xuất biểu hiện CPE do NDV và VSV gây ra trên tế bào

Độ pha loãng virus	VSV		NDV	
	Số giếng có CPE/ tổng số giếng	Tỉ lệ giếng có CPE (%)	Số giếng có CPE/ tổng số giếng	Tỉ lệ giếng có CPE (%)
10^1	16/16	100	16/16	100
10^2	16/16	100	16/16	100
10^3	16/16	100	15/16	93,75
10^4	14/16	87,50	13/16	81,25
10^5	11/16	68,75	6/16	37,50
10^6	10/16	62,50	2/16	12,50
10^7	5/16	31,35	0/16	0,00
10^8	0/16	0,0	0/16	0,00
10^9	0/16	0,0	0/16	0,00
Đối chứng	0/16	0,0	0/16	0,00

Kết quả cho thấy, dịch VSV khi pha loãng đến 10^3 lần sẽ gây bệnh tích ở tất cả các giếng thí nghiệm, và khi pha loãng đến 10^8 lần thì không còn gây bệnh tích trên tế bào. Các giếng đối chứng - tế bào không nhiễm virus, cũng không xuất hiện CPE. Độ pha loãng VSV cho tỉ lệ xuất hiện CPE trên và dưới 50% tương ứng là 10^6 và 10^7 (62,5% và 31,25%) (Bảng 1).

Đối với dịch NDV, tất cả các giếng nhiễm virus đều xuất hiện CPE khi pha loãng 10^2 lần (100%). Dịch NDV pha loãng 10^7 lần không có khả năng tạo nên CPE cho tế bào, tương đương với đối chứng. Độ pha loãng NDV cho tỉ lệ xuất hiện CPE trên và dưới 50% tương ứng là 10^4 và 10^5 (81,25% và 37,50%) (Bảng 2). Dựa vào kết quả bảng 1, liều gây nhiễm 50% tế bào nuôi cấy ($TCID_{50}$) của VSV và NDV được tính theo công thức của Reed-Muench, kết quả thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Bảng tính $TCID_{50}$ của dịch virus VSV và NDV

Dịch virus	VSV	NDV
Độ pha loãng CPE trên và dưới 50%	10^6 và 10^7	10^4 và 10^5
Khoảng cách tỉ lệ (PD)	0,4	0,71
Độ pha loãng cho CPE 50%	$10^{-6,4}$	$10^{-4,71}$
$TCID_{50}/0,1$ ml	$10^{6,4}$	$10^{4,71}$
Ý nghĩa chỉ số $TCID_{50}/0,1$ ml	1 ml dịch virus VSV chứa $10^{7,4}$ $TCID_{50}$	1 ml dịch virus NDV chứa $10^{5,71}$ $TCID_{50}$

Liều sử dụng trong quy trình xác định hoạt tính là $100 TCID_{50}/0,1$ ml nên các mẫu virus sẽ được pha loãng để đạt được nồng độ này.

3.3. Xác định đơn vị hoạt tính (IU/ μ g) của ChIFN- α sử dụng NDV và VSV

Quy trình xác định hoạt tính (IU/ μ g) của ChIFN- α được thực hiện dựa trên quy trình xác định hiệu giá của của *Interferon alpha 2* Dược điển Việt Nam V (Bộ Y tế, 2017). Dựa trên giá trị OD_{595} , đơn vị hoạt tính và các thông số liên quan của 3 mẫu ChIFN- α thử nghiệm theo một quy trình ứng với 2 loại virus NDV và VSV được trình bày trong bảng 3, mẫu thử nghiệm có hàm lượng lần lượt là 160 μ g/ml, 120 μ g/ml và 104 μ g/ml, được pha loãng 100 lần trước khi sử dụng cho thử nghiệm.

Bảng 3. Kết quả tính đơn vị hoạt tính và các giá trị liên quan của mẫu ChIFN- α thử nghiệm ở 2 quy trình sử dụng NDV và VSV

ChIFN- α	Thông số	Quy trình với NDV	Quy trình với VSV
Mẫu 1 (160 μ g/ml)	Nr	4,320	4,139
	Ns	6,658	6,297
	Hiệu giá	505,601	446,296
	Hoạt tính (IU/ml)	5×10^6	$4,5 \times 10^6$
	Hoạt tính (IU/mg)	$3,1 \times 10^7$	$2,8 \times 10^7$
Mẫu 2 (120 μ g/ml)	Nr	3,845	3,953
	Ns	6,807	6,859
	Hiệu giá	779,203	749,537
	Hoạt tính (IU/ml)	$7,8 \times 10^6$	$7,5 \times 10^6$
	Hoạt tính (IU/mg)	$6,5 \times 10^7$	$6,3 \times 10^7$
Mẫu 3 (104 μ g/ml)	Nr	3,949	3,932
	Ns	7,070	6,952
	Hiệu giá	869,991	811,168
	Hoạt tính (IU/ml)	$8,7 \times 10^6$	$8,1 \times 10^6$
	Hoạt tính (IU/mg)	$8,4 \times 10^7$	$7,8 \times 10^7$

Hiệu giá (%) = $100 \times 2^{(N_s - N_r)}$

Hoạt tính mẫu (IU/ml) = $P_r \times (D_s \times 2^{N_s}) / (D_r \times 2^{N_r})$

Trong đó: N_r : độ hấp phụ của giếng chứa mẫu chuẩn tại đó tế bào được bảo vệ 50%

N_s : độ hấp phụ của giếng chứa mẫu thử tại đó tế bào được bảo vệ 50%

P_r : hoạt tính của chuẩn (IU/ml) (10^6 IU/ml)

D_s : độ pha loãng ban đầu của mẫu thử (10^2)

D_r : độ pha loãng ban đầu của mẫu chuẩn (10^2)

Kết quả xác định hoạt tính cho thấy cùng quy trình thực hiện, sử dụng 2 chủng virus khác nhau là NDV và VSV thì kết quả vẫn tương đồng, nếu lấy kết quả khi sử dụng NDV làm chuẩn thì độ chênh lệch kết quả dao động 7 - 10%, độ sai lệch này thấp hơn giới hạn cho phép của Bộ Y tế (hoạt tính của mẫu thử phải đạt 70 - 150% so với công bố). Mặt khác, VSV là một trong các chủng virus có khả năng gây bệnh trên người, đòi hỏi phải thao tác trong tủ cấy an toàn sinh học cấp 3 và phòng thí nghiệm đạt độ an toàn cấp 2. Điều này gây khó khăn cho các phòng thí nghiệm khi muốn sử dụng chủng virus. Thêm nữa NDV là virus gây bệnh trên gia cầm, do đó NDV hoàn toàn có thể thay thế cho VSV khi thực hiện xác định hoạt tính của ChIFN- α trong điều kiện phòng thí nghiệm cơ bản.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Quy trình xác định hoạt tính sinh học của ChIFN- α đã được xây dựng với các thông số cụ thể: mật độ tế bào UMNSAH/DF phù hợp khi tiến hành thí nghiệm là 4×10^5 tế bào/ml (4×10^4 tế bào/giếng/100 μ l); virus NDV với liều 100 TCID₅₀/0,1 ml và hoạt tính sinh học (IU/mg) của cùng một mẫu ở các lần thí nghiệm lặp lại có sai số thấp, dao động 7 - 10%, trong giới hạn sai số cho phép của Bộ Y tế đối với sản phẩm interferon alpha.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu, khảo sát sự thích ứng của virus NDV trên các dòng tế bào của vật chủ khác để có thể làm chủ các quy trình xác định hoạt tính sinh học của interferon alpha ở các loài khác nhau, giúp chủ động trong việc đánh giá các sản phẩm về interferon.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bộ Y tế, 2017. *Dược điển Việt Nam IV tập 2*. Nhà xuất bản Y Học, trang 994-998.

Dai, M., Wu, S., Feng, M., Feng, S., Sun, C., Bai, D., Gu, M., Liao, M., & Cao, W., 2016. Recombinant chicken interferon-alpha inhibits the replication of exogenous avian leukosis virus (ALV) in DF-1 cells. *Molecular immunology*, 76: 62-69.

González-Navajas, J. M., Lee, J., David, M., & Raz, E., 2012. Immunomodulatory functions of type I

interferons. *Nature Reviews Immunology*, 12 (2): 125-135.

Hou, F., Liu, K., Shen, T., Zhou, B., Cao, R., Li, P., & Chen, P., 2011. Antiviral activity of rChIFN- α against vesicular stomatitis virus and Newcastle disease virus: a novel recombinant chicken interferon- α showed high antiviral activity. *Research in veterinary science*, 91 (3): e73-e79.

Hussain, I., and Rasool, H., 2005. Adaptation of an indigenous very virulent infectious bursal disease virus on Vero cell line. *Pakistan Veterinary Journal*, 25 (3): 103-106.

Jiang, H., Yang, H., & Kapczynski, D. R., 2011. Chicken interferon alpha pretreatment reduces virus replication of pandemic H1N1 and H5N9 avian influenza viruses in lung cell cultures from different avian species. *Virology journal*, 8 (1): 447.

Lam, K. M., 1995. Apoptosis in chicken embryo fibroblasts caused by Newcastle disease virus. *Veterinary microbiology*, 47 (3-4): 357-363.

Meager, A., 2002. Biological assays for interferons. *Journal of immunological methods*, 261 (1): 21-36.

Mo, C. W., Cao, Y. C., & Lim, B. L., 2001. The in vivo and in vitro effects of chicken interferon α on infectious bursal disease virus and Newcastle disease virus infection. *Avian diseases*, 389-399.

Xia, C., Liu, J., Wu, Z. G., Lin, C. Y., and Wang, M., 2004. The interferon- α genes from three chicken lines and its effects on H9N2 influenza viruses. *Animal Biotechnology*, 15 (1): 77-88.

Building of a new procedure for determining the bioactivity of chicken interferon alpha (ChIFN- α)

Nguyen Thi Thanh Giang, Nguyen Dang Quan, Ho Quang Do

Abstract

The procedure for determining bioactivity of chicken interferon-alpha (ChIFN- α) is based on the identification of 2-interferon-alpha2 titres. Main parameters defined in this process included: UMNSAH/DF1 cell density (chicken embryonic fibroblast line) was 4×10^5 cells/ml (4×10^4 cells/well/100 μ l); Newcastle disease virus (NDV) was used at a dose of 100 TCID₅₀/0,1ml. The results showed that the procedure of bioactive test had high stability when applied on two different viruses (NDV and VSV - Vesicular stomatitis virus). The results were within the permitted error range of the Ministry of Health (the allowable difference of the error is within 70 - 150%).

Keywords: Chicken interferon alpha, cytopathic effect, tissue culture infectious dose

Ngày nhận bài: 9/02/2020

Ngày phản biện: 18/02/2020

Người phản biện: TS. Đoàn Thị Thanh Hương

Ngày duyệt đăng: 27/02/2020