

XÁC ĐỊNH HIỆU LỰC VACXIN DỊCH TẢ VỊT NHƯỢC ĐỘC BẰNG LIỀU BẢO HỘ 50% (PD_{50}) VÀ TƯƠNG QUAN GIỮA $TCID_{50}$ VÀ PD_{50}

*Nguyễn Thị Bích, Nguyễn Thanh Ba, Nguyễn Thị Ngọc
Công ty Hanvet*

TÓM TẮT

Vacxin dịch tả vịt (DTV) nhược độc được sản xuất tại Công ty Hanvet từ năm 2013 đến nay (2015) được xác định hiệu lực bằng chỉ số PD_{50} ở 3 thời điểm khác nhau, trong 3 năm với 7 lô vacxin trên đối tượng vịt có khối lượng 0,7- 1 kg/con. Kết quả nghiên cứu cho thấy vacxin cho hiệu lực ổn định và hiệu quả bảo hộ tốt. Với lượng virus gây miễn dịch chỉ từ 3,16 $TCID_{50}$, vịt được bảo hộ 100% sau khi thử thách 1000 DLD_{50} , trong khi đó vacxin hiện nay của Hanvet chứa ≥ 1000 $TCID_{50}$ / liều. Như vậy, vịt được bảo hộ 100% vững chắc khi miễn dịch ở liều sử dụng. Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy mối tương quan giữa hiệu giá virus và khả năng bảo hộ PD_{50} cao, lượng virus từ 3.16 đến 7.9 $TCID_{50} = 1PD_{50}$.

Từ khóa: Vịt, Vacxin dịch tả vịt nhược độc, Hiệu lực, Liều bảo hộ

Determination of live duck plague vaccine efficacy based on PD_{50} and correlation between $TCID_{50}$ and PD_{50}

Nguyen Thi Bich, Nguyen Thanh Ba, Nguyen Thi Ngoc

SUMMARY

Live Duck Plague (Duck Virus Enteritis – DVE) vaccine produced by Hanvet Company from 2013 up to date (2015) was determined for its efficacy through PD_{50} in 3 different times in 3 years with 7 plots/batches on duck (0.7 – 1 kg/duck). The studied result showed that the efficacy of this vaccine was stable. With the virus content was only from 3.16 $TCID_{50}$, 100% ducks were protected when challenge test with 1000 DLD_{50} . Meanwhile, at present this vaccine contented ≥ 1000 $TCID_{50}$ /dose. Therefore, 100% ducks were protected steadily with the use dose. The studied result also indicated that the correlation between virus titer and PD_{50} was closely favourable. Virus content from 3.16 to 7.9 $TCID_{50} = 1PD_{50}$.

Keywords: Duck, Live duck plague vaccine, Efficacy, Protection dose

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus dịch tả vịt - Duck virus enteritis (DVE) là thành viên của họ herpesviridae, gây bệnh cấp tính, tỉ lệ chết cao ở vịt, thiệt hại kinh tế lớn; bệnh xảy ra ở vịt từ 7 ngày tuổi trở lên. Những con khỏi bệnh hoặc ở thể mạn tính là những con vật mang trùng, nên bệnh tồn tại dai dẳng trong thực địa. Để phòng bệnh DTV, Công ty Hanvet đã đưa vào thực nghiệm và sản xuất vacxin dịch tả vịt nhược độc đông khô từ 2013 đến nay và cho kết quả tốt. Trong bài viết này, chúng tôi đề cập khả năng bảo hộ của vacxin DTV nhược độc đông khô và mối tương quan giữa hiệu giá virus và khả năng bảo hộ PD_{50} .

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

- Vịt 0,7- 1 kg (chưa miễn dịch vacxin DTV)
- Tế bào CEF
- Vacxin DTV nhược độc đông khô do Công ty Hanvet sản xuất gồm 7 lô: lô 0113, lô 0213 (sản xuất thử nghiệm năm 2013); lô 0114 và 0214 (sản xuất và đưa ra thị trường năm 2014); lô 0115, 0215 và 0315 (sản xuất và đưa ra thị trường năm 2015).

- Virus cường độc chủng 769, Công ty Hanvet giữ giống.

2.2. Phương pháp

- Phương pháp tách tế bào sơ phôi gà (CEF)

- Chuẩn độ virus DTV trên tế bào CEF: xác định $TCID_{50}$ theo Spearman – Karber

- Miễn dịch cho vịt các liều virus ($TCID_{50}$) khác nhau

- Theo dõi MD 14 ngày

- Công cường độc

- Theo dõi 14 ngày, mổ khám vịt chết sau công.

- Tính PD_{50} mỗi lô thí nghiệm theo công thức Spearman – Karber:

$$\log_{10}(\text{điểm pha loãng cuối}) = L - D \left(\frac{S}{N} + 0,5 \right)$$

L : là Log 10 của độ pha loãng cao nhất có

100% số động vật được bảo vệ sống sau công.

D : là độ chênh lệch Logarit cơ số 10 giữa các độ pha loãng mẫu

S : Là tổng số động vật sống ở các độ pha loãng không có 100% số động vật sống

N : là số động vật lặp lại cho mỗi độ pha loãng.

III. KẾT QUẢ

3.1. Xác định hiệu lực vaccin DTV nhược độc

Thử nghiệm thực hiện tháng 8 năm 2013 và tháng 4 năm 2014. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Xác định hiệu lực vaccin DTV nhược độc

Nhóm	Liều MD (TCID ₅₀)	Liều công VR cường độc (DLD ₅₀)	Các lô VX được thử nghiệm			
			VX lô 0113	VX lô 0213	VX lô 0114	VX lô 0214
			Thời gian MD tháng 8/2013		Thời gian MD tháng 4/2014	
			Số vịt sống/số vịt thử nghiệm			
Các nhóm miễn dịch	10 ³	10 ³	5/5	5/5	5/5	5/5
	10 ²	10 ³	5/5	5/5	5/5	5/5
	10 ¹	10 ³	3/5	3/5	4/5	2/5
	10 ⁰	10 ³	2/5	1/5	1/5	1/5
	10 ⁻¹	10 ³	0/5	0/5	0/5	0/5
	10 ⁻²	10 ³	0/5	0/5	0/5	0/5
	10 ⁻³	10 ³	0/5	0/5	0/5	0/5
Đối chứng	0	10 ³	0/5		0/5	
	0	10 ²	0/5		0/5	
	0	10	0/5 0/5		0/5	
Kết quả: 1PD ₅₀ =			3.16TCID ₅₀	5TCID ₅₀	3.16TCID ₅₀	7,9TCID ₅₀

(1) khoảng cách giữa các liều MD 10^1

(2) sau công cường độc, vịt bắt đầu chết vào ngày thứ 4 và kéo dài tới ngày thứ 9

DLD_{50} - duck lethal dose: liều gây chết vịt 50%

$TCID_{50}$ - tissue culture infectious dose- liều virus gây nhiễm được 50% tế bào

PD_{50} - protect dose - liều bảo vệ 50% động vật thí nghiệm sau khi thử thách cường độc

Bảng trên cho thấy: (1) Đối chứng: vịt chết 100% với liều từ 10 đến 1000 DLD_{50} , chứng tỏ liều công 1000 DLD_{50} đủ mạnh để đánh giá hiệu lực của vaccin. (2) Vịt miễn dịch với liều VR $\geq 100 TCID_{50}$ vịt được bảo hộ 100% ở tất cả các lô

thí nghiệm. (3) Kết quả cho thấy $1PD_{50}$ cần liều VR MD từ 3.16 đến 7.9 $TCID_{50}$.

3.2. Xác định hiệu lực vaccin DTV nhược độc

Thử nghiệm tiến hành vào đầu năm 2015. Kết quả được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2. Xác định hiệu lực vaccin DTV nhược độc

Nhóm	Liều MD (TCID ₅₀)	Liều công cường độc (DLD ₅₀)	VX lô 0115	VX lô 0215	VX lô 0315
			Thời gian MD tháng 1/2015	Thời gian MD tháng 5/ 2015	
			Số vịt sống/số vịt thí nghiệm		
Các nhóm miễn dịch	10 ^{1.5}	10 ³	5/5	5/5	5/5
	10 ¹	10 ³	4/5	3/5	4/5
	10 ^{0.5}	10 ³	1/5	2/5	1/5
	10 ⁰	10 ³	0/5	1/5	1/5
	10 ^{-0.5}	10 ³	0/5	0/5	0/5
	10 ⁻¹	10 ³	0/5	0/5	0/5
Đối chứng	0	10 ³	0/5	0/5	
	0	10 ²	0/5	0/5	
Kết quả: 1PD ₅₀ =			5,6TCID ₅₀	4,46TCID ₅₀	4,46TCID ₅₀

Ghi chú: khoảng cách giữa các liều MD 10^{-0,5} rút ngắn so với thử nghiệm năm 2013 và 2014

Kết quả bảng 2 cho thấy:

- Đối chứng: vịt chết 100%: liều công 1000 DLD₅₀ đủ mạnh để đánh giá hiệu lực của vaccin.

- Liều MD chỉ từ 10^{1.5} = 31,6 TCID₅₀ vịt được bảo hộ 100% ở cả 3 lô.

- 1PD₅₀ cần liều VR MD từ 4.46 đến 5.6 TCID₅₀, tương đương kết quả thí nghiệm năm 2013 và năm 2014 (tất cả vịt chết mô khám đều có bệnh tích điển hình của bệnh).

IV. KẾT LUẬN

- Chỉ cần liều 31,6 TCID₅₀ có khả năng bảo hộ 100% vịt với liều thử thách 1000 DLD₅₀. Mỗi liều vaccin hiện nay của Hanvet đang sản xuất ≥1000 TCID₅₀/liều, việc bảo hộ 100% vịt là vững chắc.

- Virus DTV nhược độc chủng C, Hanvet dạng đông khô, có tính ổn định cao, và miễn dịch bảo hộ chắc chắn, với 3 đợt thí nghiệm ở 3 năm khác nhau, nhưng tính hiệu lực ổn định.

- Mối tương quan giữa TCID₅₀ và PD₅₀: Virus DTV nhược độc đông khô chủng C chỉ với 3.16 đến 7.9 TCID₅₀ = 1PD₅₀. Mỗi liều vaccin có chứa virus ≥ 1000 TCID₅₀ nghĩa là trong 1 liều vaccin có ≥ 126 – 316 PD₅₀.

V. ĐỀ NGHỊ

Từ mối tương quan giữa TCID₅₀ và PD₅₀ ở trên, đề nghị việc đánh giá hiệu lực vaccin thường xuyên nên dùng phương pháp xác định TCID₅₀ thay thế cho phương pháp công cường độc (với 7 lô thí nghiệm thực hiện tại phòng thí nghiệm Công ty Hanvet vào 3 năm đều cho kết quả tương quan TCID₅₀ và PD₅₀ ổn định). Và việc đánh giá hiệu lực vaccin bằng công cường độc chỉ nên tiến hành định kỳ để giảm thiểu sự đe dọa về an toàn sinh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Hùng, và cs (1999), Nghiên cứu ứng dụng phương pháp ELISA phát hiện kháng nguyên trong chẩn đoán bệnh dịch tả vịt. Báo cáo khoa học- Hội nghị KHKT Chăn nuôi - Thú y 1998-99, Huế 1999
2. Kim Văn Phúc và cs (1999) Phân lập giám định virus dịch tả vịt ở một số tỉnh Nam bộ. Báo cáo khoa học- Hội nghị KHKT Chăn nuôi-Thú y 1998-99, Huế 1999
3. Nguyễn Đức Hiền, Chẩn đoán xác định virut gây bệnh dịch tả vịt ở Cần Thơ. *Tạp chí KHKT thú y Tập VI, năm 1999, số 5*
4. OIE, 2004, Duck Virus Enteritis (Chapter 2.7.10)

Nhận ngày 18-11-2015

Phản biện ngày 14-5-2016