

## **ĐÁP ỨNG KHÁNG THỂ CỦA CHUỘT BẠCH ĐỐI VỚI VIRUT VIÊM NÃO NHẬT BẢN CHỦNG CTMP-7**

**Hồ Thị Việt Thu**  
*Đại học Cần Thơ*

### **TÓM TẮT**

Khả năng gây đáp ứng kháng thể của virus viêm não Nhật Bản (VNNB) chủng CTMP-7, chủng phân lập từ muỗi tại thành phố Cần Thơ, được khảo sát trên chuột bạch 3 tháng tuổi. Nghiên cứu được thực hiện bằng việc so sánh tính gây đáp ứng kháng thể HI của chủng virus này với chủng Nakayama, chủng virus VNNB nguyên mẫu.

Kết quả cho thấy sau khi tiêm virus VNNB chủng Nakayama hoặc CTMP-7 với liều 200 SMICLD<sub>50</sub> bằng đường tĩnh mạch, bắp thịt, dưới da và phúc mạc, tất cả chuột thí nghiệm ở 2 nghiệm thức đều khỏe mạnh, không có dấu hiệu bất thường, sau 1 tuần một số chuột thí nghiệm có đáp ứng kháng thể HI, ở tuần thứ 2 tất cả chuột (100%) đều có kháng thể và hiệu giá kháng thể trung bình (GMT) đạt cao nhất vào tuần thứ 3. Sau thời điểm này, hiệu giá kháng thể giảm nhanh và không phát hiện được kháng thể vào tuần thứ 6 sau khi tiêm ở tất cả chuột thí nghiệm.

Kết quả gây nhiễm bằng 6 đường: tĩnh mạch, bắp thịt, dưới da, phúc mạc, uống và nhỏ mũi cho chuột bạch 3 tháng tuổi với 1.000 SMICLD<sub>50</sub>, chủng CTMP-7 gây chết 25,0% chuột thí nghiệm và với chủng Nakayama có 27,7% chuột bị chết. Những chuột còn sống trong thí nghiệm này có đáp ứng kháng thể cao và kéo dài hơn so với chuột được tiêm 200 SMICLD<sub>50</sub> ở cùng đường tiêm. Kháng thể được phát hiện trên một số chuột sau khi gây nhiễm 1 tuần, tất cả chuột có kháng thể ở tuần thứ 2 và GMT đạt đỉnh mức cao nhất ở tuần thứ 3. Sau đó, hiệu giá kháng thể giảm dần và không phát hiện được kháng thể ở tất cả các chuột thí nghiệm vào tuần thứ 8 sau khi gây nhiễm với 2 chủng virus nói trên. Đáp ứng kháng thể và hiệu giá kháng thể trung bình (GMT) của nhóm chuột gây nhiễm bởi chủng CTMP-7 và chủng Nakayama gần giống nhau.

*Từ khóa:* Chuột bạch, Virus viêm não Nhật Bản, Chủng CTMP-7, Liều và đường tiêm chủng, Đáp ứng kháng thể

### **Antibody response of mice to Japanese encephalitis virus strain CTMP-7**

**Ho Thi Viet Thu**

### **SUMMARY**

Capacity of inducing antibody by CTMP-7 strain of Japanese encephalitis virus isolated from mosquitoes in Cantho city was examined in 3 month old Swiss mice in comparison with that of Nakayama strain, a prototype strain of JEV.

The results showed that when inoculating 200 SMICLD<sub>50</sub> (Suckling mouse intra-cranial lethal dose 50%) of Nakayama or CTMP-7 strain by intravenous, muscular, subcutaneous, and intraperitoneal routes of injection, all of infected mice were healthy, HI antibodies were detected from few mice at one week after inoculation, but from 100% of mice after 2 weeks. Geometric mean titer (GMT) increased and peaked at three weeks then gradually reduced and no antibody were detected in experimented mice from treatments of both strains at 6 weeks after inoculation. The results of 1,000 SMICLD<sub>50</sub> inoculation by

intravenous, muscular, subcutaneous, intraperitoneal, per os and eye dropping routes to mice showed that 25.0% of mice inoculated with CTMP-7 were dead and 27.7% dead from Nakayama inoculation. The survived mice had higher antibody level and their antibodies lasted longer than mice inoculated with 200 SMICD<sub>50</sub> in the same route. HI antibodies were detected from some infected mice after a week, and 100% of mice after 2 weeks. GMT increased and peaked at three weeks then reduced and no antibody were detected in mice treated with both strains at 8 weeks after inoculation. Antibody response of mice to CTMP-7 and to Nakayama strain and their GMT were almost similar.

**Key words:** Swiss mice, Japanese encephalitis virus, CTMP-7 strain, Dose and route of inoculation, Antibody response

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virut viêm não Nhật Bản (VVNNB) là một trong các virut gây viêm não lây truyền qua muỗi, nguy hiểm nhất trên người. Viêm não do VVNNB đặc biệt quan trọng vì thường là viêm não cấp, tỷ lệ tử vong có thể lên đến 30% và khoảng 50% bệnh nhân sống sót bị di chứng thần kinh (Akira, 1988). Do tính chất nguy hiểm nên bệnh là mối quan tâm lớn của ngành y tế nhiều nước châu Á (Đoàn Thị Thủy và ctv, 1991).

Ở nước ta bệnh được chú ý từ những thập niên 1960 và đã trở thành vấn đề nghiêm trọng của sức khỏe cộng đồng. Đặc biệt là ở những vùng trồng lúa nước, đông dân cư như đồng bằng sông Hồng và đồng bằng sông Cửu Long (Do Quang Ha et al., 1994). Những năm gần đây, bệnh viêm não cấp được ghi nhận lẻ tẻ tại nhiều quận huyện của thành phố Cần Thơ (Trung tâm y tế dự phòng Cần Thơ, 2006) và đàn heo trong vùng có tỉ lệ nhiễm virut khá cao qua xét nghiệm huyết thanh học (Hồ Thị Việt Thu<sup>a</sup> và ctv, 2006). Năm 2006, một chủng virut VNNB lần đầu tiên được phân lập từ muỗi tại thành phố Cần Thơ được đặt tên CTMP-7 (Hồ Thị Việt Thu<sup>b</sup> và ctv, 2006) và đã được chứng minh là chủng virut có độc lực cao (Hồ Thị Việt Thu, 2010). Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát tính gây đáp ứng kháng thể của virut CTMP-7 trên chuột và so sánh với virut nguyên mẫu Nakayama (Mitamura et al., 1936), là chủng virut được sử dụng phổ biến trong sản xuất vacxin phòng bệnh VNNB (Tsai, 1990).

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

- Chuột bạch 3 tuần tuổi (Viện Pasteur, TP. HCM)
- Môi trường tế bào C6/36 (*Aedes albopictus*) nuôi trong môi trường EMEM (Eagle's minimal essential, được bổ sung 5% huyết thanh bào thai bê), ở 28°C
- Chủng virut VNNB Nakayama được nuôi cấy trên tế bào C6/36 (Viện Pasteur, TP. HCM)
- Chủng virut VNNB CTMP-7 được nuôi cấy trên tế bào C6/36 (Hồ Thị Việt Thu, 2006)
- Huyết thanh dương tính kháng virut VNNB (Viện Pasteur, TP. HCM)
- Hồng cầu ngỗng và những hóa chất cần thiết cho xét nghiệm ức chế ngưng kết hồng cầu (HI-haemagglutination).
- Lồng nuôi chuột, kim tiêm, ống nghiệm vô trùng, tube nhựa vô trùng, microplate, micropipette...

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Thí nghiệm gây nhiễm trên chuột với 200 SMICLD<sub>50</sub>

Thí nghiệm được thực hiện với hai chủng virut VNNB CTMP-7 và Nakayama qua 4 đường tiêm khác nhau với liều tiêm cho mỗi chuột thí nghiệm là 0,2ml huyền dịch virut nuôi cấy trên tế bào C6/36 có chứa 200

SMICLD<sub>50</sub>, chuột đối chứng được tiêm 0,2ml dung dịch PBS (phosphate buffered saline). Bố trí thí nghiệm được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1. Bố trí thí nghiệm gây nhiễm chuột với liều 200 SMICLD<sub>50</sub>**

| Đường tiêm | Số lượng chuột thí nghiệm (con) |              |           |
|------------|---------------------------------|--------------|-----------|
|            | Chủng Nakayama                  | Chủng CTMP-7 | Đối chứng |
| Tĩnh mạch  | 6                               | 6            | 6         |
| Bắp        | 6                               | 6            | 6         |
| Dưới da    | 6                               | 6            | 6         |
| Phúc mạc   | 6                               | 6            | 6         |

### 2.2.2 Thí nghiệm gây nhiễm trên chuột với 1.000 SMICLD<sub>50</sub>

Thí nghiệm được thực hiện với hai chủng virus VNNB CTMP-7 và Nakayama qua 6 đường

gây nhiễm khác nhau với liều cho mỗi chuột thí nghiệm là 0,2ml huyền dịch virus nuôi cấy trên tế bào C6/36 có chứa 1.000 SMICLD<sub>50</sub>, chuột đối chứng được tiêm 0,2ml dung dịch PBS.

**Bảng 2. Bố trí thí nghiệm gây nhiễm virus VNNB cho chuột với 1.000 SMICLD<sub>50</sub>**

| Đường tiêm | Số chuột thí nghiệm (con) |              |           |
|------------|---------------------------|--------------|-----------|
|            | Chủng Nakayama            | Chủng CTMP-7 | Đối chứng |
| Tĩnh mạch  | 6                         | 6            | 6         |
| Bắp        | 6                         | 6            | 6         |
| Dưới da    | 6                         | 6            | 6         |
| Phúc mạc   | 6                         | 6            | 6         |
| Uống       | 6                         | 6            | 6         |
| Nhỏ mũi    | 6                         | 6            | 6         |

Tất cả chuột thí nghiệm (bảng 1 và 2) đều được nuôi trong màn để tránh bị muỗi đốt làm phát tán mầm bệnh hay lây lan mầm bệnh giữa các chuột thí nghiệm. Đối với chuột còn sống, hàng tuần được lấy máu để kiểm tra hàm lượng kháng thể bằng xét nghiệm ức chế ngưng kết hồng cầu.

Chỉ tiêu theo dõi:

- Tỷ lệ chuột có đáp ứng kháng thể = Số chuột dương tính với xét nghiệm HI/Tổng số chuột xét nghiệm.

- Hiệu giá kháng thể trung bình (GMT) được tính bằng công thức:

$$GMT = \text{Antilog} [\Sigma \log_{10} (mshg)/n]$$

*mshg*: mẫu số hiệu giá của mẫu dương tính

*n*: số mẫu dương tính

- Số trung bình của GMT được tính bằng phương pháp thống kê cơ bản và so sánh giữa các số trung bình của GMT bằng phương pháp ANOVA sử dụng mô hình tuyến tính tổng quát (general linear model) của phần mềm Minitab 13.2 (Ryan và ctv, 2000).

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Kết quả thí nghiệm gây nhiễm chuột với liều 200 SMICLD<sub>50</sub>

Tất cả chuột thí nghiệm đều không có biểu hiện triệu chứng bệnh và không có trường hợp nào chuột chết. Kết quả kiểm tra kháng thể cho

thấy có sự đáp ứng kháng thể trên chuột được gây nhiễm bởi 2 chủng virus, trong khi các chuột đối chứng hoàn toàn âm tính. Kết quả hiệu giá kháng thể trung bình ở chuột gây nhiễm bởi chủng CTMP-7 và Nakayama được trình bày qua bảng 3 và 4.

**Bảng 3. Biến động GMT ở chuột sau khi gây nhiễm 200 SMICLD<sub>50</sub> chủng CTMP-7 theo thời gian**

| Đường tiêm | GMT ở chuột qua các tuần sau khi gây nhiễm |        |        |        |        | Trung bình<br>( $\bar{X} \pm SD$ ) |
|------------|--------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|------------------------------------|
|            | Tuần 1                                     | Tuần 2 | Tuần 3 | Tuần 4 | Tuần 5 |                                    |
| Tĩnh mạch  | 22,14                                      | 40,00  | 71,25  | 13,62  | 7,37   | 30,9 ± 11,5                        |
| Dưới da    | 22,14                                      | 44,89  | 79,98  | 13,13  | 8,27   | 30,7 ± 13,2                        |
| Bắp thịt   | 20,00                                      | 40,00  | 71,25  | 13,13  | 7,37   | 30,4 ± 11,6                        |
| Phức mạc   | 22,14                                      | 40,00  | 79,98  | 11,69  | 7,37   | 32,2 ± 13,2                        |
| Trung bình | 21,81                                      | 41,17  | 75,5   | 12,87  | 7,58   | 31,8 ± 5,7                         |

Kết quả ở bảng 3 cho thấy chuột có đáp ứng kháng thể đối với virus chủng CTMP-7 qua tất cả các đường tiêm ngay ở tuần đầu tiên với GMT của chuột thí nghiệm ở tuần 1 là 21,81; tăng dần ở tuần thứ 2 (41,17) và đạt đỉnh cao ở tuần 3 (75,5), sau đó giảm nhanh ở tuần thứ 4 (12,87) và tuần 5 (7,58), đến tuần thứ 6 không phát hiện

được kháng thể từ những chuột thí nghiệm. Trung bình GMT của chuột thí nghiệm ở các đường gây nhiễm qua tĩnh mạch, dưới da, bắp thịt và phúc mạc (30,9 ± 11,5; 30,7 ± 13,2; 30,4 ± 11,6; 32,2 ± 13,2) không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ( $P = 0,998$ ).

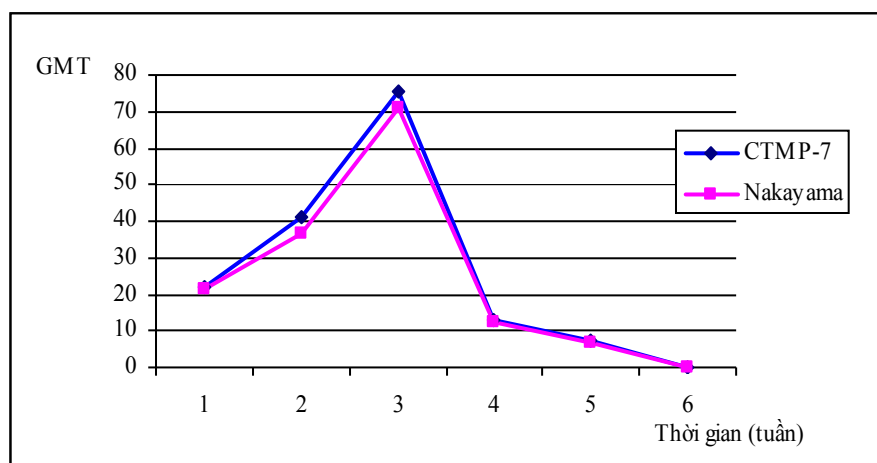
**Bảng 4. Biến động GMT ở chuột sau khi gây nhiễm 200 SMICLD<sub>50</sub> chủng Nakayama theo thời gian**

| Đường tiêm | Biến động GMT qua các tuần sau khi gây nhiễm |        |        |        |        | Trung bình<br>( $\bar{X} \pm SD$ ) |
|------------|----------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|------------------------------------|
|            | Tuần 1                                       | Tuần 2 | Tuần 3 | Tuần 4 | Tuần 5 |                                    |
| Tĩnh mạch  | 25,19                                        | 35,63  | 63,48  | 12,14  | 4,47   | 28,2 ± 10,3                        |
| Dưới da    | 22,45                                        | 27,25  | 79,98  | 11,69  | 8,27   | 29,9 ± 13,0                        |
| Bắp thịt   | 22,45                                        | 44,89  | 63,48  | 13,13  | 7,36   | 30,3 ± 10,5                        |
| Phức mạc   | 17,16                                        | 40,00  | 79,98  | 11,69  | 7,36   | 31,2 ± 13,4                        |
| Trung bình | 21,61                                        | 36,34  | 71,26  | 12,15  | 6,29   | 29,9 ± 5,5                         |

Kết quả ở bảng 4 cho thấy chuột cũng có đáp ứng kháng thể đối với virut chủng Nakayama qua tất cả các đường tiêm ngay ở tuần đầu tiên với GMT của chuột thí nghiệm sau khi gây nhiễm 1 tuần là 21,61; tăng dần ở tuần thứ 2 (36,34) và đạt đỉnh cao ở tuần 3 (71,26); sau đó giảm nhanh ở tuần thứ 4 (12,15) và tuần 5 (6,29), đến tuần thứ 6 không phát hiện được kháng thể từ các chuột thí nghiệm. Hiệu giá kháng thể trung bình

của chuột thí nghiệm ở các đường gây nhiễm qua tĩnh mạch, dưới da, bắp thịt và phúc mạc ( $28,2 \pm 10,3$ ;  $29,9 \pm 13,0$ ;  $30,3 \pm 10,5$ ;  $31,2 \pm 13,4$ ) không có sự sai khác có ý nghĩa ( $P = 0,998$ ).

Kết quả bảng 3 và 4 cho thấy tính gây đáp ứng kháng thể trên chuột của chủng CTMP-7 và chủng Nakayama khá giống nhau và được minh họa bởi biểu đồ 1.



**Biểu đồ 1. Biến động GMT ở chuột gây nhiễm bởi 2 chủng virut theo thời gian**

Kết quả biểu đồ 1 cho thấy chuột được gây nhiễm bởi cả 2 chủng có đáp ứng kháng thể giống nhau, kháng thể được phát hiện ở 1 tuần sau khi gây nhiễm, tăng dần ở tuần thứ 2 và đạt cao nhất ở tuần thứ 3, giảm nhanh ở tuần thứ 4, 5 và kháng thể không còn ở tuần thứ 6, không có sự khác nhau có ý nghĩa ( $P = 0,813$ ) giữa trung bình GMT của những chuột gây nhiễm bởi chủng CTMP-7 ( $31,8 \pm 5,7$ ) và Nakayama ( $29,9 \pm 5,5$ ).

### 3.2. Kết quả thí nghiệm gây nhiễm chuột với 1.000 SMCID<sub>50</sub>

Sau khi gây nhiễm với 1.000 SMICLD<sub>50</sub> virut VNNB trên chuột, chúng tôi ghi nhận có 10 chuột chết do bệnh ở nhóm gây nhiễm bởi chủng CTMP-7, chiếm tỷ lệ 27,7% (10/36) và 9 chuột chết do bệnh ở nhóm chuột bị gây nhiễm bởi

chủng Nakayama với tỷ lệ 25,0% (9/36), trong khi các chuột đối chứng hoàn toàn khỏe mạnh. Các chuột chết đều có triệu chứng và bệnh tích đặc trưng của bệnh viêm não Nhật Bản. Điều này được giải thích do chủng virut Nakayama là chủng virut có độc lực cao (Mitamura và ctv, 1936), chủng CTMP-7 cũng đã được chứng minh là chủng có độc lực cao và gây chết chuột thí nghiệm (Hồ Thị Việt Thu, 2010). Nếu so sánh với kết quả gây nhiễm với 200 SMICLD<sub>50</sub> tất cả các chuột thí nghiệm đều khỏe mạnh. Điều này có thể giải thích là ngoài độc lực của mầm bệnh, tính miễn cảm của động vật thì số lượng mầm bệnh cũng có vai trò quyết định đến hiện tượng nhiễm trùng. Trong thí nghiệm này chúng tôi không khảo sát lại tính gây bệnh mà chỉ tập trung nghiên cứu tính gây đáp ứng kháng thể của chủng virut này.

KHOA HỌC KỸ THUẬT THÚ Y - TẬP XVIII - SỐ 6 - 2011

**Bảng 5. Tỷ lệ chuột có đáp ứng kháng thể kháng virus chủng CTMP-7 ở các đường tiêm theo thời gian (%)**

| Đường tiêm | Tuần 1         | Tuần 2         | Tuần 3         | Tuần 4         | Tuần 5         | Tuần 6         | Tuần 7         |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Tĩnh mạch  | 33,33<br>(2/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 40,0<br>(2/5)  | 0,0<br>(0/5)   |
| Bắp        | 33,33<br>(2/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(5/5) | 100,0<br>(5/5) | 100,0<br>(5/5) | 100,0<br>(5/5) | 0,0<br>(0/5)   |
| Dưới da    | 50,0<br>(3/6)  | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 50,0<br>(3/6)  | 16,67<br>(1/6) |
| Phúc mạc   | 100,0<br>(3/3) | 100,0<br>(3/3) | 100,0<br>(3/3) | 100,0<br>(3/3) | 100,0<br>(3/3) | 33,33<br>(1/3) | 0,0<br>(0/3)   |
| Uống       | 33,33<br>(2/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(5/5) | 100,0<br>(5/5) | 100,0<br>(5/5) | 40,0<br>(2/5)  | 20,0<br>(1/5)  |
| Nhỏ mũi    | 100,0<br>(2/2) | 100,0<br>(2/2) | 100,0<br>(2/2) | 100,0<br>(2/2) | 100,0<br>(2/2) | 50,0<br>(1/2)  | 50,0<br>(1/2)  |
| Đối chứng  | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)   |

Từ kết quả bảng 5 cho thấy sau khi gây nhiễm virus VNNB chủng CTMP-7, chuột có đáp ứng kháng thể ngay từ tuần lễ đầu tiên với tỷ lệ 33,33% ở những chuột gây nhiễm qua đường tiêm tĩnh mạch, tiêm bắp và đường uống; 50,0% qua đường dưới da và 100,0% ở đường nhỏ mũi

và phúc mạc. Tất cả các chuột thí nghiệm (100,0%) đều có kháng thể ở tuần thứ 2, tuần thứ 3, tuần thứ 4, tuần thứ 5, sau đó giảm dần đến tuần thứ 7 thì không phát hiện được kháng thể ở một số đường gây nhiễm như đường tiêm tĩnh mạch, bắp và phúc mạc.

**Bảng 6. Tỷ lệ chuột có đáp ứng kháng thể kháng virus VNNB chủng Nakayama ở các đường tiêm theo thời gian (%)**

| Đường tiêm | Tuần 1         | Tuần 2         | Tuần 3         | Tuần 4         | Tuần 5         | Tuần 6        | Tuần 7        |
|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| Tĩnh mạch  | 0,0<br>(0/6)   | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(5/5) | 80,0<br>(4/5) | 20,0<br>(1/5) |
| Bắp        | 66,67<br>(4/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 60,0<br>(3/5) | 0,0<br>(0/5)  |
| Dưới da    | 16,67<br>(1/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(4/4) | 100,0<br>(4/4) | 100,0<br>(4/4) | 25,0<br>(1/4) | 25,0<br>(1/4) |
| Phúc mạc   | 20,0<br>(1/5)  | 100,0<br>(5/5) | 100,0<br>(5/5) | 100,0<br>(5/5) | 60,0<br>(3/5)  | 20,0<br>(1/5) | 0,0<br>(0/5)  |
| Uống       | 0,0<br>(0/6)   | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(6/6) | 100,0<br>(5/5) | 100,0<br>(5/5) | 40,0<br>(2/5) | 0,0<br>(0/5)  |
| Nhỏ mũi    | 100,0<br>(2/2) | 100,0<br>(2/2) | 100,0<br>(2/2) | 100,0<br>(2/2) | 100,0<br>(2/2) | 50,0<br>(1/2) | 0,0<br>(0/2)  |
| Đối chứng  | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)   | 0,0<br>(0/6)  | 0,0<br>(0/6)  |

KHOA HỌC KỸ THUẬT THÚ Y - TẬP XVIII - SỐ 6 - 2011

Từ kết quả bảng 6 cho thấy sau khi gây nhiễm virus VNNB chủng Nakayama, chuột cũng có đáp ứng kháng thể ngay từ tuần thứ nhất ở các đường tiêm bắp (66,67%), dưới da (16,67%), phúc mạc (20,00%), nhỏ mũi (100,00%) nhưng ở đường tĩnh mạch và đường uống chưa phát hiện

được kháng thể. Tất cả các chuột đều có đáp ứng kháng thể ở tất cả các đường tiêm (100,0%) ở tuần thứ 2, duy trì cho tới tuần thứ 4 và sau đó giảm dần, tới tuần thứ 7 thì không phát hiện được kháng thể ở một số đường gây nhiễm như tiêm bắp, tiêm phúc mạc, uống và nhỏ mũi.

**Bảng 7. Tỷ lệ chuột có đáp ứng kháng thể kháng virus VNNB chủng CTMP-7**

| Đường tiêm | Số chuột thí nghiệm | Số chuột có miễn dịch | Tỷ lệ (%) | Biến động hiệu giá |
|------------|---------------------|-----------------------|-----------|--------------------|
| Tĩnh mạch  | 6                   | 6                     | 100       | 20 - 640           |
| Bắp        | 6                   | 6                     | 100       | 20 - 320           |
| Dưới da    | 6                   | 6                     | 100       | 20 - 160           |
| Phúc mạc   | 3                   | 3                     | 100       | 20 - 80            |
| Uống       | 6                   | 6                     | 100       | 20 - 160           |
| Nhỏ mũi    | 2                   | 2                     | 100       | 20 - 80            |
| Tổng       | 29                  | 29                    | 100       | 20 - 640           |

Từ kết quả bảng 7 cho thấy sau khi gây nhiễm virus VNNB chủng CTMP-7 thì tất cả các chuột

đều có đáp ứng kháng thể (100%), hiệu giá kháng thể biến động trong khoảng 20-640.

**Bảng 8. Tỷ lệ chuột có đáp ứng kháng thể kháng virus VNNB chủng Nakayama**

| Đường tiêm | Số chuột thí nghiệm | Số chuột có miễn dịch | Tỷ lệ (%) | Biến động hiệu giá |
|------------|---------------------|-----------------------|-----------|--------------------|
| Tĩnh mạch  | 6                   | 6                     | 100       | 20 - 160           |
| Bắp        | 6                   | 6                     | 100       | 20 - 640           |
| Dưới da    | 6                   | 6                     | 100       | 20 - 160           |
| Phúc mạc   | 5                   | 5                     | 100       | 20 - 320           |
| Uống       | 6                   | 6                     | 100       | 20 - 640           |
| Nhỏ mũi    | 2                   | 2                     | 100       | 20 - 80            |
| Tổng       | 31                  | 31                    | 100       | 20 - 640           |

Từ kết quả bảng 8 cho thấy sau khi gây nhiễm chủng Nakayama thì tất cả các chuột đều có đáp

ứng kháng thể (100%), hiệu giá kháng biến động trong khoảng 20 - 640.

KHOA HỌC KỸ THUẬT THÚ Y - TẬP XVIII - SỐ 6 - 2011

**Bảng 9. Hiệu giá kháng thể trung bình (GMT) theo đường tiêm đối với chủng CTMP-7**

| Đường tiêm | Biến động GMT qua các tuần sau khi gây nhiễm |        |        |        |        |        |        | Trung bình ( $\bar{X} \pm SD$ ) |
|------------|----------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------------------------------|
|            | Tuần 1                                       | Tuần 2 | Tuần 3 | Tuần 4 | Tuần 5 | Tuần 6 | Tuần 7 |                                 |
| Tĩnh mạch  | 28,28                                        | 56,57  | 113,14 | 34,82  | 25,20  | 28,28  | -      | 47,7 $\pm$ 13,9                 |
| Bắp        | 28,28                                        | 40,0   | 113,14 | 80,0   | 34,82  | 26,39  | -      | 53,8 $\pm$ 14,3                 |
| Dưới da    | 20,0                                         | 44,9   | 89,80  | 49,90  | 25,20  | 25,20  | 20,0   | 39,3 $\pm$ 9,6                  |
| Phức mạc   | 40,0                                         | 31,75  | 40,0   | 25,20  | 20,0   | 20,0   | -      | 29,5 $\pm$ 3,8                  |
| Uống       | 28,28                                        | 56,57  | 60,63  | 34,82  | 22,97  | 28,28  | 20,0   | 35,9 $\pm$ 6,1                  |
| Nhỏ mũi    | 40,0                                         | 40,0   | 28,28  | 56,57  | 28,28  | 20,0   | 20,0   | 33,3 $\pm$ 5,0                  |
| Trung bình | 30,81                                        | 44,97  | 74,17  | 46,89  | 26,08  | 24,49  | 10     | 38,6 $\pm$ 3,8                  |

Từ kết quả bảng 9 cho thấy chuột ở tất cả các đường tiêm đều có đáp ứng kháng thể ngay từ tuần thứ nhất với GMT ở tuần 1 là 30,81, tăng dần đến tuần 2 (44,97). GMT cao nhất ở tuần 3 (74,17) và sau đó giảm dần tới tuần 7 (10,0). Sau tuần thứ 8 không phát hiện được kháng thể từ tất

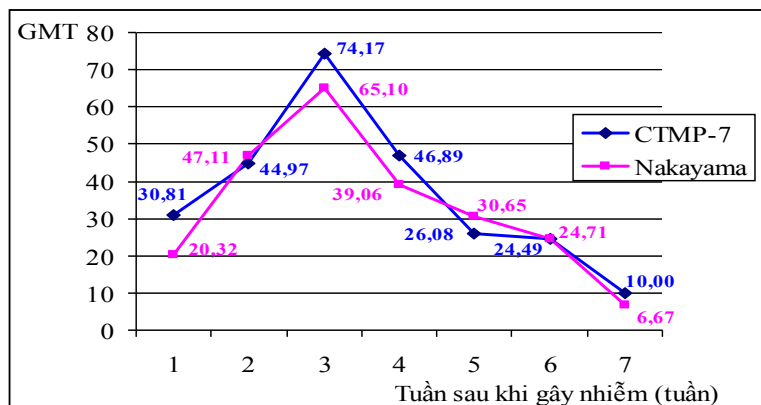
cả các chuột thí nghiệm, trung bình GMT cao nhất được ghi nhận ở chuột với đường tiêm bắp (53,8 $\pm$ 14,3) và thấp nhất với đường tiêm phúc mạc (29,5 $\pm$ 3,8). Tuy nhiên trung bình GMT ở chuột giữa những đường tiêm sai khác không ý nghĩa thống kê ( $P=0,489$ ).

**Bảng 10. Hiệu giá kháng thể trung bình (GMT) theo đường tiêm đối với chủng Nakayama**

| Đường tiêm | Biến động GMT qua các tuần sau khi gây nhiễm |        |        |        |        |        |        | Trung bình ( $\bar{X} \pm SD$ ) |
|------------|----------------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------------------------------|
|            | Tuần 1                                       | Tuần 2 | Tuần 3 | Tuần 4 | Tuần 5 | Tuần 6 | Tuần 7 |                                 |
| Tĩnh mạch  | -                                            | 35,64  | 71,27  | 56,57  | 40,0   | 20,0   | 20,0   | 40,6 $\pm$ 8,3                  |
| Bắp        | 36,64                                        | 56,57  | 63,50  | 48,76  | 28,28  | 40,0   | -      | 45,6 $\pm$ 5,4                  |
| Dưới da    | 40,0                                         | 80,0   | 56,57  | 48,76  | 20,0   | 20,0   | 20,0   | 40,8 $\pm$ 8,7                  |
| Phức mạc   | 20,0                                         | 34,82  | 52,78  | 45,95  | 50,40  | 20,0   | -      | 37,3 $\pm$ 6,0                  |
| Uống       | -                                            | 35,64  | 89,90  | 34,82  | 25,20  | 28,28  | -      | 42,8 $\pm$ 11,9                 |
| Nhỏ mũi    | 28,28                                        | 40,0   | 56,57  | 28,28  | 20,0   | 20,0   | -      | 32,2 $\pm$ 5,7                  |
| Trung bình | 30,81                                        | 47,11  | 65,10  | 39,06  | 30,65  | 24,71  | 6,67   | 39,8 $\pm$ 3,0                  |

Từ kết quả bảng 10 cho thấy chuột ở tất cả các đường tiêm đều có đáp ứng kháng thể ngay từ tuần thứ nhất với GMT ở tuần 1 là 30,81, tăng dần đến tuần 2 (47,11). GMT cao nhất ở tuần 3 (65,10) và sau đó giảm dần tới tuần 7 (6,67). Sau tuần thứ 8 không phát hiện được kháng thể từ tất

cả các chuột thí nghiệm, trung bình GMT cao nhất được ghi nhận ở chuột với đường tiêm bắp (45,6  $\pm$  5) và thấp nhất với đường nhỏ mũi (32,2  $\pm$  5,7). Tuy nhiên trung bình GMT ở chuột giữa những đường tiêm sai khác không ý nghĩa thống kê ( $P = 0,878$ ).



**Biểu đồ 2. Biến động GMT qua các tuần ở chuột gây nhiễm bởi 2 chủng virus**

Nếu so sánh với kết quả gây nhiễm với 200 SMICLD<sub>50</sub> (bảng 3, 4 và biểu đồ 1) thì chuột ở thí nghiệm với 1.000 SMICLD<sub>50</sub> cho đáp ứng kháng thể kéo dài hơn và trung bình GMT cao hơn. Kết quả ở bảng 8, 10 và biểu đồ 2 cho thấy biến động GMT ở chuột gây nhiễm bởi 2 chủng virus khá giống nhau, GMT ở mức thấp ở tuần thứ nhất sau khi gây nhiễm, tăng dần lên ở tuần 2, đạt cao nhất ở tuần 3 và sau đó giảm thấp nhất ở tuần 7 và đến tuần thứ 8 không phát hiện được kháng thể ở tất cả chuột thí nghiệm bởi cả 2 chủng. Sai khác giữa trung bình GMT của chuột thí nghiệm với chủng CTMP-7 ( $38,6 \pm 3,8$ ) và chuột thí nghiệm với chủng Nakayama ( $39,8 \pm 3,0$ ) không có ý nghĩa thống kê ( $P = 0,968$ ).

#### IV. KẾT LUẬN

Virus VNNB chủng CTMP-7, có khả năng gây đáp ứng kháng thể như chủng Nakayama, chủng nguyên mẫu được sử dụng trong sản xuất vaccin và nghiên cứu bệnh lý bệnh VNNB, do đó có thể sử dụng chủng virus này để phục vụ việc nghiên cứu vaccin phòng bệnh cũng như nghiên cứu bệnh lý của bệnh VNNB.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Akira, O. (1988). Japanese encephalitis vaccine. *Acta Paediatrica Japonica*, 30, pp. 175-184.
2. Do Quang Ha, Vu Thi Que Huong, Huynh Kim Loan, Dinh Quoc Thong, Vincent D. (1994). Current situation of Japanese encephalitis in the

South of Vietnam, 1976-1992, *Trop. Med.*, 36(4), pp. 202-214.

3. Mitamura M., Kitaoka M., Watanabe M., Okuba K., Tenjin S., Yamada S., Mori K., Asada J. (1936). Study on Japanese encephalitis virus. Animal experiments and mosquito transmission experiments. *Kansai Iji*, 1, pp. 260-270.
4. Ryan B., Joiner B.L., Ryan Jr. (2000). *Minitab statistic software release 13*. Duxdury press.
5. Tsai T.F. (1990). Japanese encephalitis vaccines. *Arbovirus diseases Branch*, CDC, Fort Collins, Colorado, NCID, 61 pages. <http://www.Wonder.cdc.gov/wonder/prevguid/p0000008/p0000008.asp>.
6. Hồ Thị Việt Thu<sup>a</sup>, Lê Thị Thu, Nguyễn Đa Phúc, Trần Đình Từ, Huỳnh Ngọc Trang (2006). Tình hình bệnh viêm não Nhật Bản trên heo tại một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí KHKT thú y*, 13(4), tr. 73-77.
7. Hồ Thị Việt Thu<sup>b</sup>, Huỳnh Kim Loan, Huỳnh Thị Phương Thảo, Huỳnh Ngọc Trang, Nguyễn Văn An, Trần Đình Từ (2006). Phân lập virus viêm não Nhật Bản từ muỗi thu thập tại thành phố Cần Thơ. *Tạp chí KHKT thú y*, 13(5), tr. 19-23.
8. Hồ Thị Việt Thu (2010). Độc lực virus viêm não Nhật Bản chủng CTMP-7 phân lập từ muỗi tại thành phố Cần Thơ. *Tạp chí KHKT thú y*, 17(6), tr. 17-23.
9. Đoàn Thị Thủy, Huỳnh Phương Liên, Nguyễn Hồng Hạnh, Hoàng Thủy Nguyên (1991). "Tình chế virus viêm não Nhật Bản để sản xuất vaccin tinh khiết dùng trong dự phòng bệnh viêm não Nhật Bản", *Tạp chí Vệ sinh phòng dịch*, 1(1), tr. 19-25.
10. Trung tâm y học dự phòng TP. Cần Thơ (2006). Báo cáo bệnh truyền nhiễm năm 2004 - 2005.