

**ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG CỦA VACXIN ĐA GIÁ PHÒNG BA BỆNH
NIUCATXON, GUMBORO, VIÊM PHẾ QUẢN TRUYỀN NHIỄM Ở GÀ ĐƯỢC
SẢN XUẤT THỬ NGHIỆM TẠI XÍ NGHIỆP THUỐC THÚ Y TRUNG ƯƠNG**

*Nguyễn Hồng Minh¹, Trần Thị Liên¹, Trương Quang²
Bùi Thị Hà¹, Bùi Thị Nga My¹*

TÓM TẮT

Thí nghiệm đánh giá chất lượng của 5 lô vacxin đa giá phòng ba bệnh Niucatxon, Gumboro và viêm phế quản truyền nhiễm (IB) ở gà sản xuất thử nghiệm tại Xí nghiệp thuốc thú y trung ương, kết quả cho thấy vacxin đạt tiêu chuẩn vô trùng, an toàn và hiệu lực.

Bằng phương pháp công cường độc, xác định được tỷ lệ bảo hộ của gà đối với bệnh Niucatxon sau khi được sử dụng vacxin đa giá là 86,66%.

7 ngày sau khi nhỏ vacxin đa giá lần 2, hiệu giá kháng thể Niucatxon trong huyết thanh của gà bắt đầu tăng ($3,25 \pm 1,22 \log_2$), đạt cao nhất lúc gà 35 ngày tuổi ($6,35 \pm 0,50 \log_2$), sau đó giảm dần đến 49 ngày tuổi còn $3,15 \pm 0,75 \log_2$.

Từ khóa: Gà, Vacxin, Niucatxon, Gumboro, Viêm phế quản truyền nhiễm, Sản xuất thử nghiệm, XNTTYTW

**Quality evaluation of a tri-valent vaccine (against Newcastle disease,
Gumboro and Infectious Bronchitis) produced in the Central Enterprise
for Veterinary Drugs**

*Nguyễn Hồng Minh, Trần Thị Liên, Trương Quang
Bùi Thị Hà, Bùi Thị Nga My*

Summary

Assays for evaluation of the quality of tri-valent vaccine for chickens against Newcastle Disease (ND), Gumboro and Infectious Bronchitis (IB) produced in the Central Enterprise for Veterinary Drugs showed that the vaccine met standard requirements in sterility, safety and efficacy.

The efficacy of the vaccine against ND was confirmed by an 86.66% of survival of the vaccinated chickens after the virulent challenge. The antibody titer against ND began to raise ($3,25 \pm 1,22 \log_2$) at day 7 after the second vaccination, culminated at the chicken age of 35 days old ($6,35 \pm 0,50 \log_2$), then decreased to $3,15 \pm 0,75 \log_2$ at 49 days old.,

Key words: Chicken, Vaccine, Newcastle Disease, Infectious Bronchitis, Pilot production

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chăn nuôi gà tập trung, số lượng lớn, nếu bệnh truyền nhiễm, đặc biệt là ba bệnh Niucatxon, Gumboro và Viêm phế quản truyền nhiễm xảy ra thì tổn thất chắc chắn sẽ rất lớn. Bởi lẽ bệnh Gumboro gây suy giảm miễn dịch, tạo điều kiện cho các bệnh khác phát sinh. Bệnh Niucatxon và viêm phế quản truyền nhiễm xảy ra ở gà mọi lứa tuổi, tỷ lệ bị bệnh rất cao. Riêng với bệnh Niucatxon, ngay cả khi can thiệp bằng kháng thể đặc hiệu cũng không thể khống chế được tỷ lệ chết. Vì thế biện pháp không thể thiếu được là sử dụng vacxin phòng ba bệnh trên cho gà. Hiện tại đã có các vacxin đơn giá và không nhiều vacxin đa giá phòng ba bệnh trên. Tuy nhiên với vacxin đơn giá thì bất lợi lớn nhất là trong chương trình phòng bệnh, người chăn nuôi phải nhiều lần bắt gà cho uống hoặc tiêm vacxin. Để góp phần khắc phục tồn tại trên, Xí nghiệp thuốc thú y trung ương (XNTTYTU) đang sản xuất thử nghiệm vacxin đa giá phòng ba bệnh Niucatxon, Gumboro và viêm phế

¹ Xí nghiệp thuốc thú y

² Trường Đại học Nông nghiệp I – Hà Nội

quản truyền nhiễm cùng lúc. Để đảm bảo chất lượng của sản phẩm trước khi đưa ra thị trường, chúng tôi tiến hành kiểm tra các chỉ tiêu chất lượng của vacxin đa giá và nghiên cứu đáp ứng miễn dịch chống bệnh Niucatxon của gà được sử dụng vacxin đa giá sản xuất tại Xí nghiệp thuốc thú y trung ương.

II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Đánh giá các chỉ tiêu vô trùng, an toàn, hiệu lực của vacxin đa giá phòng ba bệnh Niucatxon, Gumboro và Viêm phế quản truyền nhiễm ở gà
- Xác định tỷ lệ bảo hộ của gà đối với bệnh Niucatxon được sử dụng vacxin đa giá bằng phương pháp công cường độc
- Khảo sát sự biến động hiệu giá kháng thể Niucatxon trong huyết thanh của gà sau khi sử dụng vacxin đa giá

2.2. Nguyên liệu nghiên cứu

- + Vacxin Niucatxon nhược độc đông khô chủng Lasota được sản xuất tại Xí nghiệp thuốc thú y trung ương.
- + Vacxin đa giá nhược độc đông khô phòng ba bệnh Gumboro, Niucatxon, viêm phế quản truyền nhiễm của gà được sản xuất thử nghiệm tại XNTTYTU
- + Chủng virus cường độc Niucatxon VN91 được cấp bởi Trung tâm kiểm nghiệm thuốc thú y Trung ương I.
- + Gà thịt thương phẩm 1 ngày tuổi được mua từ trại gà trứng giống Ba Vì và nuôi tại trại thực nghiệm của XNTTYTU để sử dụng phù hợp cho từng thí nghiệm. Toàn bộ khu vực chăn nuôi được kiểm soát về mặt an toàn sinh học, nguồn nước uống và thức ăn đưa vào

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Kiểm tra vô trùng: Tiến hành theo tiêu chuẩn ngành TCN 161 – 92.
- Kiểm tra an toàn: Mỗi lô kiểm tra 20 gà (đạt tiêu chuẩn thí nghiệm), mỗi con sử dụng 10 liều vacxin theo đường nhỏ mắt, nhỏ mũi. Theo dõi gà trong 14 ngày
- Kiểm tra hiệu lực: 20 gà 7 ngày tuổi (đạt tiêu chuẩn thí nghiệm) được nhỏ mắt, nhỏ mũi vacxin đa giá 2 lần lúc 7 và 14 ngày tuổi, mỗi lần 1 liều vacxin, 10 gà cùng lứa tuổi và nguồn gốc, không sử dụng vacxin làm đối chứng. 14 ngày sau khi sử dụng vacxin lần 2, lấy máu gà ở các lô thí nghiệm, chiết huyết thanh và đánh giá hiệu lực các lô vacxin đa giá thông qua việc xác định kháng thể Niucatxon, Gumboro và Viêm phế quản truyền nhiễm.
- + Kiểm tra kháng thể Niucatxon bằng phản ứng ngăn trở ngưng kết hồng cầu (HI) (Nguyễn Như Thanh và cs, 2001).
- + Kiểm tra kháng thể Gumboro bằng phản ứng ELISA: Sử dụng bộ kit ELISA virus Gumboro thương mại của hãng IDEXX, Mỹ.
- Đánh giá kết quả phản ứng: Những mẫu huyết thanh có tỷ lệ $S/P \leq 0,2$ được coi là âm tính, tỷ lệ $S/P > 0,2$ được coi là dương tính
- + Kiểm tra kháng thể viêm phế quản truyền nhiễm (IB) bằng phản ứng ELISA: Sử dụng bộ kit ELISA virus IB của tập đoàn Synbiotics.

Đánh giá kết quả phản ứng: Những mẫu huyết thanh có tỷ lệ $S/P \leq 0,15$ được coi là âm tính, tỷ lệ $S/P > 0,15$ được coi là dương tính

- Đánh giá hiệu lực vacxin Niucatxon bằng công cường độc

45 gà 7 ngày tuổi được chia thành 3 lô, mỗi lô 15 con. Lô 1 - sử dụng vacxin đơn giá, lô 2 - sử dụng vacxin đa giá, lô 3 – không sử dụng vacxin (đối chứng). 14 ngày sau khi sử dụng vacxin lần 2, gà các lô thí nghiệm được công cường độc bằng chủng virus Niucatxon VN91 với liều $10^5 \text{EID}_{50}/0,25$ ml theo đường tiêm bắp. Theo dõi gà các biểu hiện triệu chứng lâm sàng của bệnh Niucatxon các lô gà thí nghiệm liên tục 14 ngày.

- Các kết quả thí nghiệm được tính toán bằng chương trình Microsoft Excel

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả đánh giá các chỉ tiêu chất lượng của các lô vaccin đa giá

Các lô vaccin sản xuất thử nghiệm được lấy mẫu theo TCN 160 – 92 “Vaccin thú y – Quy trình lấy mẫu và sử dụng mẫu trong kiểm nghiệm”.

3.1.1. Kết quả kiểm tra vô trùng.

Kết quả kiểm tra được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả kiểm tra vô trùng các lô vaccin đa giá

Lô vaccin	Thời gian theo dõi (ngày)	Loại môi trường kiểm tra				Kết luận
		Thạch máu (2 ống)	Thạch nấm (2 ống)	Nước thịt (2 ống)	Nước thịt gan yếm khí (2 ống)	
1	7	--	--	--	--	Đạt
2	7	--	--	--	--	Đạt
3	7	--	--	--	--	Đạt
4	7	--	--	--	--	Đạt
5	7	--	--	--	--	Đạt

Ghi chú: -- âm tính – không có vi khuẩn mọc

Từ bảng 1 cho thấy, các lô vaccin sản xuất thử nghiệm được kiểm tra trên 4 loại môi trường, mỗi loại 2 ống. Sau 7 ngày theo dõi đều cho kết quả âm tính, không có vi khuẩn mọc. Căn cứ theo 10 TCN 161 – 92, các lô vaccin đa giá đều đạt kết quả kiểm tra theo tiêu chuẩn ngành.

3.1.2. Kết quả kiểm tra an toàn

Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả kiểm tra an toàn các lô vaccin đa giá

Lô TN	Số gà TN (con)	Liều vaccin sử dụng (liều)	Đường đưa vaccin	Thời gian theo dõi	Kết quả		Kết luận
					Sống	Chết	
1	20	10	Nhỏ mắt, nhỏ mũi	14 ngày	20/20	0/20	Đạt
2	20	10			20/20	0/20	Đạt
3	20	10			20/20	0/20	Đạt
4	20	10			20/20	0/20	Đạt
5	20	10			20/20	0/20	Đạt

Từ kết quả ở bảng 2 cho thấy: Mặc dù gà được sử dụng vaccin gấp 10 lần bình thường, nhưng sau 14 ngày theo dõi, tất cả số gà đều sống khỏe, phát triển bình thường.

Như vậy, các lô vaccin đa giá sản xuất thử nghiệm đạt tiêu chuẩn an toàn.

3.1.3. Kết quả kiểm tra hiệu lực

Các lô vaccin đa giá được kiểm tra hiệu lực bằng cách xác định hiệu giá kháng thể trong huyết thanh của gà sau khi sử dụng vaccin. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả kiểm tra hiệu lực các lô vaccin đa giá.

Lô TN	Kháng thể Gumboro		Kháng thể IB		Kháng thể Niucatxon (log2)	
	Tỷ lệ S/P trung bình		Tỷ lệ S/P trung bình		Hiệu giá kháng thể trung bình	
	MD (n=20)	ĐC (n=10)	MD (n=20)	ĐC (n=10)	MD (n=20)	ĐC (n=10)
1	0,46±0,17	0,16±0,15	0,23±0,07	0,11±0,07	3,86±1,47	2,17±1,14
2	0,58±0,28	0,19±0,09	0,21±0,09	0,12±0,03	3,46±1,22	1,77±0,63
3	0,53±0,23	0,11±0,03	0,23±0,09	0,10±0,09	3,38±1,15	1,50±1,01
4	0,48±0,19	0,15±0,06	0,34±0,12	0,04±0,03	3,58±1,46	1,83±1,23
5	0,51±0,22	0,12±0,08	0,31±0,11	0,14±0,09	4,24±1,08	0,97±0,89

Ghi chú: MD - Miễn dịch

ĐC - Đối chứng

Từ kết quả bảng 3 cho thấy, kháng thể Gumboro có tỷ lệ S/P trung bình của lô gà miễn dịch đều lớn hơn 0,2 (biến động từ 0,46 – 0,58) và lô gà đối chứng nhỏ hơn 0,2 (biến động từ 0,11 – 0,19). Theo hướng dẫn của hãng IDEXX, Mỹ sản xuất bộ kit ELISA virus Gumboro thì vacxin đa giá đạt chỉ tiêu hiệu lực chống bệnh Gumboro.

Kháng thể viêm phế quản truyền nhiễm, tỷ lệ S/P trung bình của gà ở lô miễn dịch đều lớn hơn 0,15 (biến động từ 0,21 – 0,34), của gà ở lô đối chứng đều nhỏ hơn 0,15 (biến động từ 0,04 – 0,14). Theo hướng dẫn của hãng Synbiotic sản xuất bộ kit ELISA thì các lô vacxin đa giá đạt chỉ tiêu hiệu lực chống bệnh viêm phế quản truyền nhiễm.

Hiệu giá kháng thể Niucatxon trung bình của gà ở lô miễn dịch đều lớn hơn 3 log 2 (biến động từ 3,38 – 4,24 log2) và của gà ở lô đối chứng đều nhỏ hơn 3 log2 (biến động từ 0,97 – 2,17 log2). Tham chiếu theo tiêu chuẩn ASEAN và OIE khẳng định các lô vacxin đa giá đều đạt chỉ tiêu hiệu lực chống bệnh Niucatxon.

3.2. Kết quả công cường độc gà sau khi sử dụng vacxin Niucatxon đơn giá và vacxin đa giá.

Tiến hành bố trí thí nghiệm như phần phương pháp đã mô tả. Kết quả được trình bày ở bảng 4

Bảng 4. Kết quả công cường độc gà các lô thí nghiệm

Các chỉ tiêu theo dõi	Lô 1	Lô 2	Lô 3
Tuổi gà nhỏ vacxin lần đầu (ngày)	7	7	-
Đường đưa vacxin	Nhỏ mắt, mũi	Nhỏ mắt, mũi	-
Tuổi gà nhỏ vacxin lần 2 (ngày)	14	14	-
Tuổi gà công cường độc (ngày)	28	28	28
Số gà công cường độc (con)	15	15	15
Liều công cường độc	10^5 EID ₅₀ / 0,25 ml		
Đường công cường độc	Tiêm bắp	Tiêm bắp	Tiêm bắp
Số gà sau khi công cường độc có triệu chứng lâm sàng và chết (con)	1	2	15
Số gà sống sau khi công cường độc (con)	15	15	0
Tỷ lệ bảo hộ (%)	93,33	86,67	0

Qua kết quả ở bảng 4 cho thấy, lô 1 (sử dụng vacxin đơn giá) có 1 con, lô 2 (sử dụng vacxin đa giá) có 2 con có triệu chứng lâm sàng và chết. Tỷ lệ bảo hộ của gà lô 1 là 93,33% và lô 2 là 86,67%. Trong khi đó lô 3 (không sử dụng vacxin) toàn bộ gà có triệu chứng lâm sàng và chết trong thời gian theo dõi. Tham chiếu tiêu chuẩn ngành TCN 181 – 93 “Quy trình kiểm nghiệm vacxin Niucatxon chủng Lasota” gà được sử dụng vacxin đơn giá và đa giá phòng bệnh Niucatxon sản xuất tại XNTTYTƯ đạt chỉ tiêu hiệu lực.

3.3. Kết quả xác định hiệu giá kháng thể Niucatxon trong huyết thanh của gà sau khi sử dụng vacxin đa giá

150 gà được chia thành 2 lô. Lô I – 100 con (lô miễn dịch), nhỏ vào mắt, mũi mỗi gà 1 liều vacxin đa giá lúc 7 và 14 ngày tuổi. Lô II – 50 con, không sử dụng vacxin (lô đối chứng).

Gà các lô thí nghiệm được lấy máu, chất huyết thanh vào lúc 7, 14, 21, 28, 35, 42 và 49 ngày tuổi. Mỗi lần lấy ngẫu nhiên, lô I - 10 mẫu, lô II - 5 mẫu. Các mẫu huyết thanh của gà được xác định hiệu giá kháng thể Niucatxon bằng phản ứng HI. Kết quả được trình bày ở bảng 5 và đồ thị 1.

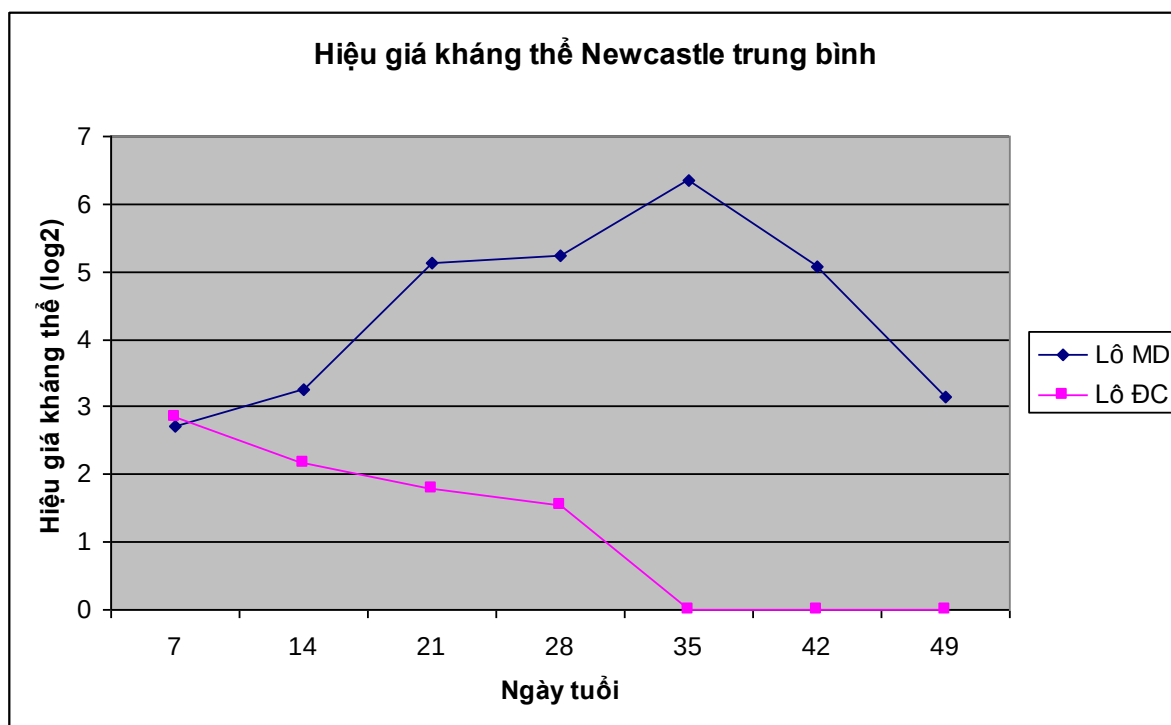
Bảng 5. Kết quả xác định hiệu giá kháng thể Niucatxon trong huyết thanh của gà bằng phản ứng HI

Lô thí nghiệm	Dung lượng mẫu	Hiệu giá kháng thể trung bình (log2)						
		7 ngày	14 ngày	21 ngày	28 ngày	35 ngày	42 ngày	49 ngày
I	10	$2,72 \pm 1,15$	$3,25 \pm 1,22$	$5,13 \pm 0,81$	$5,23 \pm 1,30$	$6,35 \pm 0,50$	$5,08 \pm 1,46$	$3,15 \pm 0,75$
II	5	$2,85 \pm 0,67$	$2,17 \pm 1,01$	$1,8 \pm 1,41$	$1,55 \pm 0,89$	0	0	0

Từ số liệu trong bảng 5 cho thấy: Tại thời điểm 7 ngày tuổi hiệu giá kháng thể thụ động Niucatxon trung bình của gà là $2,72 \pm 1,15 \log_2$ (lô I) và $2,85 \pm 0,67 \log_2$ (lô II), đều nhỏ hơn $3 \log_2$. Do vậy, sử dụng vaccin Niucatxon vào thời điểm này là phù hợp, không ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch chủ động.

Lô I, gà sau khi sử dụng vaccin lần 1, hiệu giá kháng thể Niucatxon bắt đầu tăng nhẹ ($3,25 \pm 1,22 \log_2$) ở 14 ngày tuổi, nhưng 7 ngày sau khi tái chủng vaccin lần 2, hiệu giá kháng thể tăng cao $5,13 \pm 0,81 \log_2$ và đạt đỉnh cao ở 35 ngày tuổi ($6,35 \pm 0,50 \log_2$, 21 ngày sau khi sử dụng vaccin lần 2). Sau đó hiệu giá kháng thể giảm dần, đến 49 ngày tuổi chỉ còn $3,15 \pm 0,75 \log_2$. Trong khi đó, lô thí nghiệm II – gà không được sử dụng vaccin, hiệu giá kháng thể thụ động giảm dần và không phát hiện được kháng thể ở 35 ngày tuổi.

Như vậy, gà được sử dụng 2 lần vaccin đa giá lúc 7 và 14 ngày tuổi được bảo hộ đối với bệnh Niucatxon trên 7 tuần tuổi. Biến động hiệu giá kháng thể Niucatxon trong huyết thanh của gà các lô thí nghiệm được thể hiện trên đồ thị 1.



Đồ thị 1. Biến động hiệu giá kháng thể Niucatxon trong huyết thanh của gà sau khi được sử dụng vaccin

IV. Kết luận

Các lô vaccin đa giá phòng ba bệnh Niucatxon, Gumboro và viêm phế quản truyền nhiễm ở gà sản xuất tại XNTTYTU đạt tiêu chuẩn vô trùng, an toàn và hiệu lực.

Bằng phương pháp công cường độc chủng virus Niucatxon VN91 với liều $10^5 \text{EID}_{50}/0,25 \text{ ml}$ theo đường tiêm bắp, tỷ lệ bảo hộ gà đối với bệnh Niucatxon sau khi được sử dụng vaccin đa giá 86,66%.

7 ngày sau khi nhỏ vaccin đa giá lần 2, hiệu giá kháng thể Niucatxon trong huyết thanh của gà bắt đầu (trung bình 3,25 log₂), đạt cao nhất lúc gà 35 ngày tuổi (trung bình 6,35 log₂) và giảm dần, đến 49 ngày tuổi vẫn còn trên ngưỡng bảo hộ quy định (trung bình 3,15 log₂).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục thú y, 1994. Quy trình kỹ thuật kiểm nghiệm vaccin dùng trong thú y. NXB Nông nghiệp Hà Nội.
2. Phan Văn Lục, Nguyễn Thúy Hồng, Lại Kim Lan, Vũ Thị Chinh (1996), “Mối tương quan giữa hàm lượng kháng thể lưu hành và sức bảo hộ chống virus cường độc Niucatxon”, Tuyển tập công trình nghiên cứu KHKT gia cầm 1986 – 1996, NXBNN Hà Nội, tr. 216 – 219.
3. Nguyễn Như Thanh và cộng sự, 2001. Vi sinh vật thú y. NXBNN Hà Nội
4. ASEAN Cooperation in Food, Agriculture and Forestry. Asean standards for animal vaccines. Second Edition, Livestock publication series No.2A.
5. OIE, 2008. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animal (mammals, birds and bees). Sixth Edition.