

# **Đánh giá an toàn và hiệu lực của vaccin nhược độc đậu dê trong điều kiện sản xuất**

*Trần Xuân Hạnh<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Lam Hương<sup>1</sup>, Đặng Hùng<sup>1</sup>,  
Tô Thị Phan<sup>1</sup>, Phạm Hào Quang<sup>1</sup>, Huỳnh Khương Hữu Duyên<sup>1</sup>,  
Tô Thị Huệ<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Dung<sup>1</sup>, Nguyễn Xuân Bình<sup>2</sup>, Đỗ Xuân Biểu<sup>2</sup>*

## **TÓM TẮT**

Vaccin nhược độc đậu dê đã được đánh giá về an toàn và hiệu lực trong điều kiện sản xuất. Kết quả chỉ ra rằng vaccin đều an toàn khi tiêm cho dê với 1 liều sử dụng hay gấp 10 liều sử dụng. Sau khi tiêm vaccin 1 tháng, bằng kỹ thuật ELISA đã xác định được 96,3 % dê có đáp ứng kháng thể ở ngưỡng có thể bảo hộ và 100% dê được bảo hộ khi thử thách với chủng virut đậu dê cường độc NAVET – ĐD06/DN.

Kết quả cũng chứng minh có thể dùng kỹ thuật ELISA để kiểm tra đáp ứng kháng thể và giám sát đàn dê sau tiêm phòng.

Từ khóa: Đậu dê, Vaccin, An toàn, Hiệu lực

## **The evaluation of safety and efficacy of live goat pox vaccine in the field**

*Tran Xuan Hanh, Nguyen Thi Lam Huong, Dang Hung,  
To Thi Phan, Pham Hao Quang, Huynh Khuong Huu Duyen,  
To Thi Hue, Nguyen Van Dung, Nguyen Xuan Binh, Do Xuan Bieu*

## **SUMMARY**

The safety and efficacy of live goat pox vaccine were evaluated in the field. The results indicated that vaccine was safe for goats vaccinated with either one dose or ten times to those of dose recommended. One month after vaccination, 96,3% vaccinated goats had antibody response detected by ELISA and 100 % vaccinated goats were protected against the challenge using the virulent goat virus strain NAVET – ĐD06/DN.

The results also provided that ELISA could be used to detect the antibody response and to do surveillance for vaccination program in goat pox disease.

*Key words:* Goat pox, Vaccine, Safety, Efficacy

## **1. Đặt vấn đề**

Bệnh đậu dê do virut đậu thuộc giống Capripox, họ Poxviride gây ra, là một bệnh truyền nhiễm trên loài dê với tỷ lệ bệnh có thể tới 75% và chết biến động từ 50% đến 100% tùy tuổi dê và mức độ miễn cảm của dê. Năm 2005 bệnh được phát hiện trên đàn dê nuôi ở Việt Nam tại các tỉnh Cao Bằng, Bắc Giang, Lạng Sơn, Hà Tây (OIE, 2005) và sau đó lây lan đến các tỉnh Miền Trung và Miền Nam. Hiện nay bệnh có ở hầu hết các tỉnh và là một trong những bệnh gây thiệt hại lớn cho nghề nuôi dê được người chăn nuôi quan tâm.

Phòng bệnh bằng vaccin là biện pháp phòng bệnh hiệu quả nhất. Đã có nhiều thông báo về thành công nghiên cứu vaccin phòng bệnh đậu dê trên thế giới, bao gồm cả vaccin vô hoạt và vaccin nhược độc (Carn, 1993).

Ở Việt Nam, Trung tâm nghiên cứu thú y, thuộc Công ty thuốc thú y TW – NAVETCO đã nghiên cứu chế tạo thành công vaccin phòng bệnh đậu dê nhược độc dạng đông khô. Vaccin đã được đánh giá trong phòng thí nghiệm và cho kết quả tốt về vô trùng, an toàn và hiệu lực.

---

(1) Trung tâm nghiên cứu thú y – NAVETCO;

(2) Cơ quan thú y vùng 6

Trong bài viết này, chúng tôi xin trình bày kết quả đánh giá hiệu quả phòng bệnh của vaccin trong thực tế sản xuất, nhằm cung cấp thêm những cơ sở khoa học để có thể đưa vaccin vào sử dụng tiêm phòng phòng bệnh đậu dẻ trong sản xuất.

## **II Vật liệu và phương pháp nghiên cứu**

### **2.1. Vật liệu thí nghiệm**

+ Vaccin thí nghiệm: vaccin nhược độc đậu dẻ đông khô, 1liều chứa  $10^{3,5}$  TCID<sub>50</sub>/ml và chất ổn định sữa không kem.

+ Virus đậu dẻ cường độc, chủng NAVET – ĐD06/DN.

+ Động vật: Dê từ 2 - 3 tháng tuổi thuộc giống dê cỏ, chưa tiêm phòng vaccin đậu dẻ và miễn cảm với bệnh đậu dẻ. Trước khi tiến hành gây miễn dịch, toàn bộ dê thí nghiệm được lấy máu kiểm tra kháng thể đậu dẻ (Phương pháp ELISA). Dê được chọn dùng cho khảo nghiệm phải có kết quả ELISA âm tính với kháng thể đậu dẻ.

### **2.2. Phương pháp thí nghiệm**

+ **Phương pháp kiểm tra an toàn:** 10 dê được tiêm vaccin với liều gấp 10 liều dùng. Theo dõi 15 ngày. Vaccin được kết luận an toàn khi dê tiêm với liều trên không có bất cứ các biểu hiện bất thường nào trong quá trình theo dõi.

+ **Phương pháp kiểm tra hiệu lực:** 30 dê khỏe mạnh, miễn cảm với bệnh đậu dẻ đã được gây miễn dịch với vaccin đậu dẻ đông khô, 1 liều/con. Sau 30 ngày tiêm vaccin, dê miễn dịch được lấy máu để kiểm tra đáp ứng kháng thể, đồng thời chọn ngẫu nhiên 5 dê miễn dịch, cùng 2 dê đối chứng không tiêm vaccin để tiến hành thử thách với virus đậu dẻ cường độc chủng NAVET – ĐD06/DN, liều  $10^5$ TCID<sub>50</sub>/con. Theo dõi động vật trong vòng 21 sau khi công, theo các chỉ tiêu: thân nhiệt, sống, chết hoặc bệnh, đáp ứng kháng thể trước khi công và sau khi công.

+ **Kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể virus bệnh đậu dẻ.**

Phương pháp được thực hiện theo các bước như sau:

Phủ Antigen virus Đậu dẻ 1/800 trong Coating buffer lên vi ELISA, 100 µl/lỗ, ủ 4<sup>0</sup>C/18h hoặc 37<sup>0</sup>C/1h; Rửa 5 lần với PBST (PBS chứa 0,05% Tween 20); Block vi với Coating buffer chứa 1% BSA, 200 µl/lỗ, 37 <sup>0</sup>C/1h; Rửa 3 lần với PBST; Cho huyết thanh dê pha loãng 1/10 trong PBST chứa 2% bột sữa không kem, 100 µl/lỗ, 37 <sup>0</sup>C/1h; Rửa 5 lần với PBST; Cho Conjugate 1/50.000 trong PBST chứa 1% BSA, 100 µl/lỗ; Ủ 37<sup>0</sup>C/1h; Rửa 5 lần với PBST; Cho cơ chất TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> trong Substrate buffer, 100 µl/lỗ, để yên ở nhiệt độ phòng thí nghiệm trong 10 - 15 phút; Cho 100 µl/lỗ dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1M để dừng phản ứng. Đọc mật độ quang (OD) trên máy đọc ELISA ở bước sóng 450 nm. Mẫu được đánh giá có kết quả ELISA dương khi OD ≥ 0,2.

## **III. Kết quả nghiên cứu**

### **3.1. Kết quả theo dõi về an toàn**

Quan sát 10 dê tiêm kiểm tra an toàn, với liều vaccin gấp 10 lần liều sử dụng và 30 dê tiêm với 1 liều sử dụng trong vòng 21 ngày cho thấy vaccin an toàn cho dê ở các liều sử dụng khác nhau. Sau khi tiêm 2 giờ, dê không có biểu hiện bất thường, không có phản ứng cục bộ tại vị trí tiêm và trong suốt thời gian theo dõi không có dê thử nghiệm bị chết hoặc bị bệnh đậu dẻ. Tất cả dê tiêm vaccin đều khỏe mạnh, ăn uống bình thường. Kết quả cho thấy vắc xin nhược độc đậu dẻ có tính an toàn khi tiêm chủng cho đàn dê khảo nghiệm.

### **3.2 Kết quả hiệu lực của vaccin**

#### **3.2.1 Kết quả đáp ứng kháng thể của dê sau tiêm vaccin**

Kiểm tra đáp ứng kháng thể ở dê sau khi tiêm vaccin bằng phương pháp ELISA cho thấy

dê được tiêm vaccin đã có đáp ứng kháng thể mạnh, đồng đều, đạt tỷ lệ 96,3% ở lô miễn dịch, 100 % ở lô tiêm an toàn (bảng 1). Kiểm tra lô đối chứng (không tiêm vaccin) không có mẫu nào dương tính với kháng thể bệnh đậu dê, điều này chứng tỏ trong quá trình thử nghiệm không có sự xâm nhập và lưu hành của virus đậu dê tự nhiên lưu hành trong đàn dê thí nghiệm, cũng như virus vaccin đậu dê không có khả năng truyền ngang.

**Bảng 1: Kết quả kiểm tra đáp ứng miễn dịch sau tiêm vaccin đậu dê**

| Lô thí nghiệm | Số mẫu thực hiện | Kết quả ELISA<br>Mẫu dương/tổng số (%) |
|---------------|------------------|----------------------------------------|
| Miễn dịch     | 27               | 26/27 (96,3 %)                         |
| An toàn       | 6                | 6/6 (100%)                             |
| Đối chứng     | 7                | 0/7 (0 %)                              |

### 3.2.2 Đánh giá kết quả công cường độc

Ở ngày 30 sau tiêm vaccin, 5 dê miễn dịch (kí hiệu: 500, 497, 499, 13, 15) và dê đối chứng không tiêm vaccin (kí hiệu 486, 491) đã được thử thách bằng virus đậu dê cường độc, chủng NAVET-ĐD06/DN, với liều  $10^5$  TCID<sub>50</sub>/ con/trong da.

Kết quả cho thấy sau khi công độc, ở ngày thứ 3, vị trí tiêm của 2 dê đối chứng sưng và dày với đường kính khoảng 3 cm và ngày 5 – 6 tất cả dê ở lô đối chứng có phản ứng sốt với chênh lệch nhiệt độ so với trước khi công từ 1 – 1,5°C. Các nốt đậu xuất hiện ở dê đối chứng vào ngày thứ 8 ở gốc đuôi, tai, ben, kèm theo các triệu chứng thờ khó, chảy nhiều dịch mũi. Trong khi đó 5 dê miễn dịch nhiệt độ bình thường và không có các triệu chứng lâm sàng của bệnh đậu dê (bảng 2)

**Bảng 2: Kết quả dê được bảo hộ sau công cường độc**

| Lô thí nghiệm | Số lượng Dê (n) | Chủng virus công | Số bệnh/tổng số công | Bảo hộ (%) |
|---------------|-----------------|------------------|----------------------|------------|
| Lô miễn dịch  | 5               | NAVET-ĐD06/DN    | 0/5                  | 100 %      |
| Đối chứng     | 2               |                  | 2/2                  | 0 %        |

Kết quả trình bày ở bảng 2 cho thấy sau 21 ngày theo dõi, 5 dê lô miễn dịch vẫn khỏe mạnh, ăn uống bình thường và không xuất hiện bất cứ các biểu hiện lâm sàng nào được cho là do virus cường độc đậu dê gây ra. Ngược lại, 2 dê đối chứng, mặc dù không chết, nhưng tình trạng sức khỏe rất xấu, biểu hiện gầy còm, thờ khó, đi lại khó khăn, các nốt đậu xuất hiện với mức độ dày, rõ ở gốc đuôi, chỗ da mỏng và tai.

### 3.2.3 Kết quả kiểm tra đáp ứng kháng thể trước khi công và tại thời điểm 21 ngày sau công cường độc.

Trước khi thử thách cường độc, 5 dê lô miễn dịch và 2 dê lô đối chứng (chọn ngẫu nhiên) được kiểm tra đáp ứng kháng thể bằng kỹ thuật ELISA, kết quả cho thấy 2 dê đối chứng có kết quả ELISA âm tính với biến động chỉ số OD là 0,11 – 0,18 (ELISA dương tính khi OD  $\geq$  0,2). Ở lô miễn dịch, việc tiêm vaccin đã kích thích cơ thể sản sinh kháng thể, biến hiện 5 dê đã cho kết quả ELISA chuyển dương, với OD dao động trong khoảng từ 0,28 – 0,48 (bảng 3).

**Bảng 3: Kết quả kiểm tra kháng thể đậu dê bằng ELISA**

| Lô thí nghiệm | Kí hiệu dê | Phương pháp ELISA |          |                      |          |
|---------------|------------|-------------------|----------|----------------------|----------|
|               |            | Trước khi công    |          | 21 ngày sau khi công |          |
|               |            | Chỉ số OD         | Đánh giá | Chỉ số OD            | Đánh giá |

|           |     |      |     |      |     |
|-----------|-----|------|-----|------|-----|
| Đối chứng | 486 | 0,18 | (-) | 0,35 | (+) |
|           | 491 | 0,11 | (-) | 0,90 | (+) |
| Miễn dịch | 500 | 0,28 | (+) | 0,73 | (+) |
|           | 497 | 0,39 | (+) | 0,73 | (+) |
|           | 499 | 0,48 | (+) | 0,88 | (+) |
|           | 13  | 0,41 | (+) | 0,70 | (+) |
|           | 15  | 0,45 | (+) | 0,81 | (+) |

Kiểm tra đáp ứng kháng thể ở ngày 21 sau khi công cho thấy hiệu giá kháng thể phản ánh thông qua chỉ số OD có sự khác nhau rất rõ so với thời điểm trước khi công. Chỉ số OD với các mẫu huyết thanh của lô miễn dịch đã tăng từ (0,28 – 0,48) đến (0,70 – 0,88) và hai dê của lô đối chứng cho kết quả ELISA chuyển dương.

#### IV. Thảo luận kết quả

Bệnh đậu dê là một trong những bệnh gây thiệt hại lớn cho nghề chăn nuôi dê của nước ta cũng như trên thế giới. Bệnh không có thuốc trị đặc hiệu, do vậy phương pháp phòng trị tốt nhất là tiêm phòng vaccin kết hợp với vệ sinh phòng bệnh. Hiện nay cả vaccin nhược độc và vaccin vô hoạt đậu dê đã được sản xuất và sử dụng, tuy nhiên so sánh hai loại vaccin này cho thấy vaccin vô hoạt vẫn còn nhiều hạn chế, đặc biệt khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch và độ dài miễn dịch (Sadri et al, 2010). Thực tế thử nghiệm vaccin nhược độc đậu dê do Công ty NAVETCO sản xuất cho thấy vaccin an toàn trên đàn dê thử nghiệm với 1 liều và 10 liều liều sử dụng. Vaccin cũng cho thấy cho đáp ứng kháng thể khá tốt với tỷ lệ 96,3% dê được tiêm vaccin có đáp ứng kháng thể và tỷ lệ bảo hộ là 100% khi chọn ngẫu nhiên đàn dê được tiêm vaccin để thử thách cường độc, với virus đậu dê cường độc phân lập tại thực địa chủng NAVET-DD06/DN. Kiểm tra đáp ứng kháng thể ở dê sau 21 ngày công cường độc cho thấy có sự khác nhau rất rõ rệt so với thời điểm trước khi công, trong khi dê được tiêm vaccin vẫn khỏe mạnh và phát triển bình thường. Việc hình thành một trạng thái miễn dịch sau khi tiêm vaccin, không những giúp dê phòng chống được bệnh đậu dê do virus đậu dê cường độc gây ra, và cũng do tiếp xúc với mầm bệnh như vậy đã tạo ra một phản ứng miễn dịch thứ phát mà hiệu quả là hiệu giá kháng thể có trong huyết thanh của dê miễn dịch rất cao.

Virutt đậu kích thích sản sinh miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào (Pandy & cs.,1969; Negi & cs., 1988; Deshmukh & Gujar, 1992- dẫn theo Animal Health Disease Cards- [www.FAO.org](http://www.FAO.org)) và người ta đã sử dụng phản ứng trung hòa và ELISA để đánh giá đáp ứng miễn dịch dịch thể sau khi tiêm vaccin đậu dê (Martrenchar et al.,1997; Sharma et al., 1988 và Hong Tian et al., 2010). Trong thí nghiệm này chúng tôi đã sử dụng kỹ thuật ELISA để đánh giá đáp ứng kháng thể sau khi tiêm vaccin và kết hợp với thử thách cường độc. Kết quả cho thấy có mối liên hệ giữa kết quả ELISA và khả năng bảo hộ của dê khi công cường độc, với kết quả ELISA ở ngưỡng  $OD \geq 0,2$  dê tiêm vaccin sẽ được bảo hộ khi công cường độc. Ở một nghiên cứu trước đây, sự tương quan giữa phản ứng trung hòa và công độc trực tiếp đã được chứng minh với ngưỡng bảo hộ khi huyết thanh dê đạt hiệu giá kháng thể trung hòa  $\geq 1/10$  (Tran Xuan Hanh et al, 2008)

Từ kết quả thu được cho thấy vaccin nhược độc đậu dê thử nghiệm cho kết quả an toàn và có hiệu quả phòng bệnh tốt. Có thể sử dụng kỹ thuật ELISA để đánh giá đáp ứng miễn dịch, cũng như giám sát đàn dê nuôi sau tiêm phòng.

#### **Tài liệu tham khảo**

- 1. Animal Health Diseases Cards. Overview – Sheep and goat pox. [www.fao.org](http://www.fao.org).
- 2. Carn.V.M. (1993). Review- Control of capripoxvirus infections. *Vaccine*, 11 (13):1275-1279.
- 3. Hong Tian, Yan Chen, Jinyan Wu, Youjun Shang, Xiangtao Liu (2010). Serodiagnosis of sheeppox and goatpox using an indirect ELISA based on synthetic peptide targeting for the major antigen P32. *Virology Journal*, 7:245.
- 4. Martrenchar, A; N. Zoyem; A. Diallo (1997). Experimental study of a mixed vaccine against peste des petits ruminants and capripox infection in goats in northern Cameroon. *Small Ruminant Research*, 26: 39-44.
- 6. OIE – Disease Information, 13 May 2005, Vol. 18 –No.19.
- 6. Sharma B, Negi BS, Yadav MP, Shankar H, Pandey AB (1988). Application of ELISA in the detection of goat pox antigen and antibodies. *Acta Viology*, Jan 32 (1): 65-9.
- 7. Trần Xuân Hạnh, Nguyễn Thị Lam Hương, Nguyễn Văn Dung, Đặng Hùng, Kim Văn Phúc.(2008). Bệnh đậu dê và bước đầu nghiên cứu chế tạo vaccin phòng bệnh. *Tạp chí khoa học kỹ thuật thú y: XV (6)* 18 -27.