

# Nghiên cứu khoa học

## ĐƯỜNG ĐƯA VACCIN VÀ ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH CỦA GÀ ĐỐI VỚI VIRUS GÂY BỆNH NEWCASTLE VÀ VIÊM PHẾ QUẢN TRUYỀN NHIỄM

*Nguyễn Văn Giáp<sup>1\*</sup>, Nguyễn Thành Trung<sup>1</sup>, Vũ Thị Ngọc<sup>1</sup>, Cao Thị Bích Phương<sup>1</sup>, Hữu Thị Tuyết<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Dỹ<sup>2</sup>, Bùi Thị Hoàng Yến<sup>2</sup>*  
*\*Tác giả liên hệ email: nvgiap@vnua.edu.vn*

### TÓM TẮT

Đối với gia cầm, vaccin phòng bệnh có thể được dùng theo nhiều đường khác nhau, bao gồm: tiêm trứng, phun, uống, nhỏ mắt - mũi, chùng màng cánh và tiêm. Chăn nuôi với số lượng lớn gia cầm ở mỗi trang trại đang ngày càng phát triển, vì vậy việc áp dụng kỹ thuật vaccin đại trà cho đàn gia cầm là cần thiết, trong đó có kỹ thuật phun vaccin. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng kích hoạt đáp ứng miễn dịch tiên phát khi sử dụng vaccin theo đường nhỏ mắt và phun sương. Vaccin nhược độc nhị giá phòng bệnh Newcastle và IB dùng theo đường nhỏ mắt và phun sương đều kích hoạt đáp ứng miễn dịch ngay cả khi có kháng thể thụ động. Kháng thể kháng IBV của gia cầm xuất hiện ở 100% số cá thể sau sử dụng vaccin 21 ngày ở cả hai đường nhỏ mắt và phun sương. Kháng thể kháng NDV xuất hiện chậm hơn (vào ngày 28 sau xử lý vaccin) với tỷ lệ 37,5% và 57,9% lần lượt ở hai đường dùng là nhỏ mắt và phun sương. Kết quả phân tích theo cá thể gia cầm đã được sử dụng vaccin cho thấy sự biến động kháng thể đặc hiệu kháng IBV và NDV về cơ bản trùng hợp với kết quả của các nghiên cứu tương ứng trên thế giới đã công bố.

*Từ khóa:* Vaccin, bệnh Newcastle, bệnh viêm phế quản truyền nhiễm, nhỏ mắt, phun sương.

### Vaccination routes and humoral immune response of chickens against Newcastle disease virus and Infectious bronchitis virus

*Nguyen Van Giap, Nguyen Thanh Trung, Vu Thi Ngoc, Cao Thi Bich Phuong, Huu Thi Tuyet, Nguyen Van Dy, Bui Thi Hoang Yen*

### SUMMARY

In poultry, vaccination can be used by different routes, including: in-ovo, spray, drink, eye drop, wing-web puncture, and injection. Nowadays, raising large numbers of poultry in each farm is developing, therefore, it is necessary to apply mass vaccination techniques to poultry flocks, including vaccine spraying technique. This study was conducted to evaluate the possibility to activate the primary immune response when administering vaccine by eye dropping and fog spraying. Bivalent attenuated vaccines against Newcastle disease and IB was administered by eye dropping and fog spraying, both activate the immune response even in the presence of passive antibodies. The anti-IBV antibodies, seroconversion occurred in 100% of the poultry individuals at the day 21th post vaccination in both routes of vaccine administration. The anti-NDV antibodies, seroconversion appeared later (at the day 28th post vaccination) with positive rates of 37.5% and 57.9% by eye dropping and fog spraying, respectively. The analysis results of individual vaccine-treated poultry showed that the fluctuations in specific antibodies against IBV and NDV basically coincide with the results of corresponding published studies around the world.

*Keywords:* Vaccine, Newcastle disease, Infectious bronchitis, eye drops, fog spraying.

<sup>1</sup> Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup> Công ty cổ phần thú y Megavet Việt Nam

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vaccin được xác định là một trong 3 trụ cột quan trọng để phòng ngừa hiệu quả dịch bệnh ở đàn vật nuôi. Mục đích sử dụng vaccin là tạo đáp ứng miễn dịch chủ động đủ sớm, đủ cao và đủ dài để ngăn ngừa sự xuất hiện và lây lan của bệnh truyền nhiễm trong và giữa các đàn vật nuôi. Ngoài yếu tố chất lượng vaccin, nhiều vấn đề thuộc về cách sử dụng cũng thực sự ảnh hưởng tới hiệu quả của việc tiêm phòng, ví dụ như: lứa tuổi làm vaccin, đường đưa vaccin, liều vaccin, quy trình nhắc lại v.v... (De Wit và Cook, 2014).

Xét về đường đưa ở gia cầm, vaccin có thể được đưa theo nhiều đường khác nhau, bao gồm: tiêm trứng, phun, uống, nhỏ mắt-mũi, chùng màng cánh và tiêm. Trong đó, do đặc thù về quy mô chăn nuôi ngày càng tăng với hàng chục nghìn tới hàng trăm nghìn con gia cầm, việc áp dụng kỹ thuật vaccin đại trà là vô cùng cần thiết. Về cách sử dụng vaccin nhược độc theo đường uống và phun sương, có thể tìm thấy các tài liệu đề cập đến vấn đề này từ những năm 1970 (Samberg và cs., 1977). Đến nay, việc sử dụng vaccin theo phương pháp phun là rất phổ biến trên thế giới, áp dụng cho gà 1 ngày tuổi, hoặc gà nuôi ở nhiều giai đoạn khác nhau. Mặc dù vậy theo hiểu biết của chúng tôi ở Việt Nam, việc sử dụng vaccin vẫn chủ yếu theo phương pháp truyền thống. Một phần là do quy mô chăn nuôi còn tương đối nhỏ, nhưng phần nhiều là do người chăn nuôi chưa tiếp cận hoặc chưa hiểu rõ những ưu và nhược điểm của phương pháp phun. Ngay cả những nghiên cứu được xuất bản vẫn tập trung đánh giá đáp ứng miễn dịch của vaccin làm theo cách truyền thống (Trần Ngọc Bích và cs., 2014; Lê Đình Quang và cs., 2019).

Nhằm giới thiệu và thăm dò hiệu quả của cách làm vaccin còn ít phổ biến ở nước ta trong phòng 2 bệnh quan trọng ở gà là Newcastle và viêm phế quản truyền nhiễm (IB), nghiên cứu này được thực

hiện nhằm tìm hiểu đáp ứng miễn dịch của gà sau khi làm vaccin bằng hai cách: nhỏ mắt (truyền thống) và phun sương (kiểu mới).

## II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Gà con (n = 750 con, giống gà Mía) 10 ngày tuổi, chưa được dùng vaccin phòng bệnh Newcastle và IB. Gà con có nguồn gốc từ đàn bố mẹ đã làm đầy đủ chương trình vaccin cho gà đẻ, với các loại vaccin cơ bản phòng bệnh: Newcastle, IB, cúm gia cầm H5, hội chứng giảm đẻ, v.v...

Vaccin nhị giá phòng bệnh Newcastle và IB (VIR 220, Biovac), mỗi liều vaccin chứa chủng virus Newcastle VH  $\geq 10^{6.5}$  EID<sub>50</sub> và chủng virus IB H120  $\geq 10^{3.5}$  EID<sub>50</sub>.

Dụng cụ đưa vaccin: máy phun MOO-GUN với 5 đầu phun (hãng SMBURE, Hàn Quốc), lọ nhỏ vaccin chuyên dụng (1ml tương đương 30 giọt).

Kit ELISA phát hiện kháng thể kháng IBV (IBVARSV2-5P, IDVET) và NDV (NDVS-CV-5P, IDVET).

Mẫu huyết thanh gà thu thập ở các thời điểm 0, 14, 21 và 28 ngày sau khi dùng vaccin.

### 2.2. Nội dung nghiên cứu

Đáp ứng miễn dịch của gà được dùng vaccin bằng phương pháp nhỏ mắt và phun sương.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Bố trí thí nghiệm

Để tìm hiểu ảnh hưởng của đường đưa vaccin tới đáp ứng miễn dịch, thử nghiệm đã được tiến hành với 3 lô theo sơ đồ ở bảng 1.

**Bảng 1. Bố trí thí nghiệm**

Nhóm thí nghiệm	Số gà thí nghiệm	Số con phân tích/đánh dấu	Xét nghiệm kháng thể IBV, NDV sau vaccin			
			D0	D14	D21	D28
Lô 1: nhỏ mắt	250	16/22	√	√	√	√
Lô 2: phun sương	250	19/22	√	√	√	√
Lô 3: đối chứng	250	22/22	√	√	√	√

*Ghi chú: trong quá trình thu mẫu, có 9 cá thể của 2 lô thí nghiệm bị mất số nên số gà có đủ mẫu ở cả 4 thời điểm ít hơn so với số gà được đánh số theo dõi ban đầu.*

Gà ở các lô thí nghiệm được nuôi ở các chuồng tách biệt nhau, diện tích chuồng 20m<sup>2</sup>. Sử dụng trấu làm đệm lót. Điều kiện chăm sóc và nuôi dưỡng giữa các lô thí nghiệm được đảm bảo đồng đều.

### 2.3.2. Phương pháp nhỏ mắt vaccin

Chuẩn bị vaccin: hoàn nguyên lọ vaccin 1.000 liều trong 30 ml nước pha có chỉ thị màu xanh, chuyển vào lọ nhỏ vaccin chuyên dụng.

Cho 250 gà vào quây, bắt từng con và nhỏ 1 giọt vaccin vào mắt gà. Đợi vài giây cho gà chớp mắt để giọt vaccin hấp thụ hoàn toàn. Thả gà đã chủng vaccin sang quây khác. Sau khi làm xong vaccin, kiểm tra nếu thấy lưỡi gà có màu xanh là đạt yêu cầu.

Bắt ngẫu nhiên 22 con, đánh dấu bằng cách đeo nhãn cánh với số riêng cho mỗi cá thể: 001, 004, 005, 006, 007, 008, 011, 015, 017, 018, 032, 037, 040, 0045, 046, 068, 074, 077, 082, 092, 093, 097.

Đối với gà ở nhóm đối chứng, chỉ sử dụng nước pha để nhỏ mắt. Các điều kiện thực hiện giống như gà ở lô vaccin. Bắt ngẫu nhiên 22 con, đánh dấu bằng cách đeo nhãn cánh với số riêng cho mỗi cá thể: 016, 020, 022, 024, 025, 026, 027, 028, 0047, 049, 050, 0054, 056, 057, 058, 062, 073, 0075, 0083, 0095, 0097, 099.

### 2.3.3. Phương pháp phun sương vaccin

Chuẩn bị vaccin: hoàn nguyên lọ vaccin 1.000 liều trong 200 ml nước pha (có chỉ thị màu xanh), sau đó cho vào máy phun chuyên dụng.

Cho 250 gà vào quây. Điều chỉnh tốc độ máy phun mức vạch 3 (tương đương với kích thước hạt phun khoảng 60 μm). Bật máy phun trong chuồng ngay phía trên quây gà, cách đầu gà 50 cm. Tiến hành phun trong 2 phút. Đợi 5 phút sau phun vaccin kiểm tra nếu thấy mắt, mũi, lông có màu xanh của nước pha là đạt yêu cầu. Thả gà ra khỏi quây.

Bắt ngẫu nhiên 22 con, đánh dấu bằng cách đeo nhãn cánh với số riêng cho mỗi cá thể: 002, 019, 034, 041, 045, 047, 048, 050, 054, 055, 061, 064, 067, 075, 083, 085, 086, 089, 095, 096, 098, 100.

### 2.3.4. ELISA phát hiện kháng thể kháng IBV và NDV

Phân tích được thực hiện tại phòng thí nghiệm bộ môn Vi sinh vật - Truyền nhiễm, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Kháng thể đặc hiệu kháng IBV và NDV được phát hiện bằng phương pháp ELISA gián tiếp, sử dụng kit tương ứng là IBVARSV2-5P và NDVS-CV-5P. Pha loãng huyết thanh và các bước thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Quy trình được tóm tắt như sau:

(i) dùng Dilution Buffer 14 pha mẫu ở độ pha loãng 1/500, thêm 100 μl vào mỗi giếng; (ii) ủ ở nhiệt độ phòng trong 20 phút (kit IBVARSV2) hoặc 30 phút (kit NDVS-CV), rửa 3 lần bằng Wash Solution 1X; (iii) thêm 100 μl Conjugate 1X pha trong Dilution Buffer 3; (iv) ủ đĩa phản ứng ở nhiệt độ phòng (20 phút với kit IBVARSV2, 30 phút với kit NDVS-CV), rửa 3 lần; (v) thêm 100 μl Substrate Solution; (vi) ủ 15 phút ở nhiệt độ phòng (tránh ánh sáng); (vii) thêm 100 μl Stop Solution để dừng phản ứng. Đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 450 nm. Phản ứng hợp lệ nếu đồng thời thỏa mãn:  $OD_{PC} > 0,25$  và  $OD_{PC}/OD_{NC} > 3$ .

Tính giá trị S/P =  $(OD_{mẫu} - OD_{NC})(OD_{PC} - OD_{NC})$ . Mẫu có kháng thể kháng IBV nếu S/P > 0,2 (hiệu giá ELISA > 1.625). Mẫu có kháng thể kháng NDV nếu S/P > 0,3 (hiệu giá ELISA > 993). Hiệu giá kháng thể kháng IBV được tính theo công thức:  $\log_{10}(\text{titer}) = 0,7 \times \log_{10}(S/P) + 3,7$ . Hiệu giá kháng thể kháng NDV được tính theo công thức:  $\log_{10}(\text{titer}) = 1,00 \times \log_{10}(S/P) + 3,52$ .

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

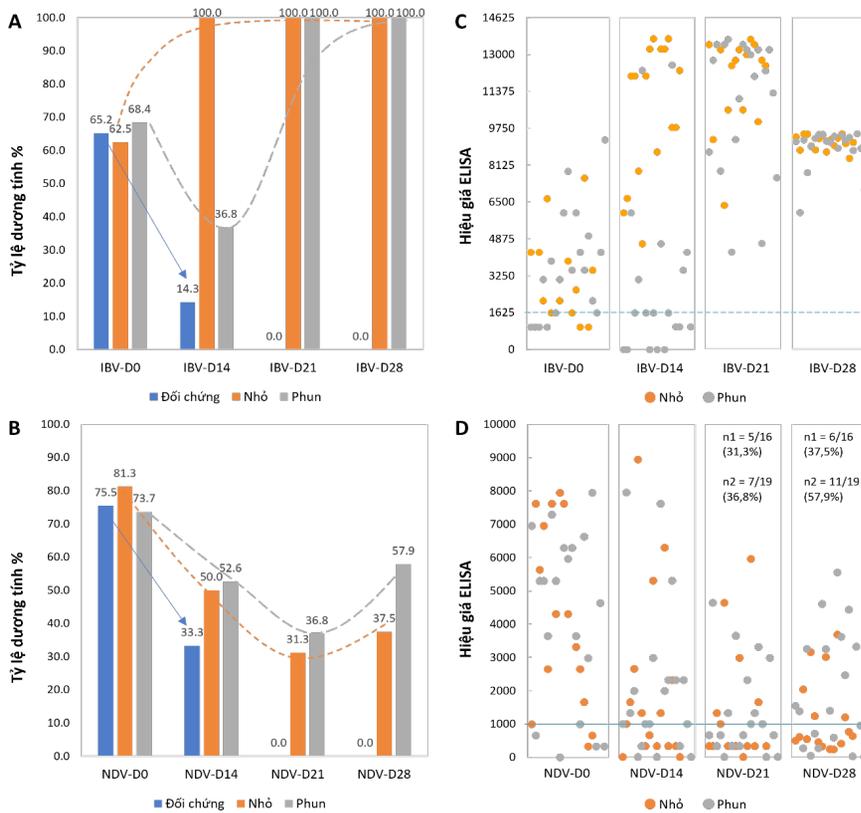
### 3.1. Tỷ lệ dương tính huyết thanh học

Dương tính huyết thanh học kháng thể kháng NDV và IBV tại các thời điểm sau vaccin ở 3 lô được trình bày ở hình 1.

Tại thời điểm làm vaccin (gà 10 ngày tuổi), tỷ lệ gà có kháng thể kháng IBV và NDV do gà mẹ truyền tương ứng là 62,5 - 68,4% và 73,7 - 81,3%. Thời điểm 14 ngày sau vaccin (gà 24 ngày tuổi), ở lô đối chứng, tỷ lệ dương tính kháng thể thụ động giảm sâu: từ 65,2% xuống còn 14,3% (với kháng thể IBV) và từ 75,5% xuống còn 33,3% (với kháng thể NDV). Lô gà đối chứng hoàn toàn không còn kháng thể thụ động kháng IBV và NDV tại thời điểm 21 và 28 ngày sau vaccin (tương ứng với gà 35 và 42 ngày tuổi). Diễn biến trên là phù hợp với nhiều nghiên cứu đã công bố trên thế giới về thời gian tồn tại của kháng thể thụ động. Ví dụ: tùy thuộc vào chương trình vaccin, kháng thể thụ động kháng IBV có thể phát hiện được ở máu gà con sau nở tới ngày thứ 10

(Gharaibeh và Mahmoud, 2013) hoặc ngày thứ 28 (Mockett và cs., 1987); kháng thể kháng NDV gà mẹ truyền có thể tồn tại ở ngưỡng bảo hộ  $\geq 3 \log_2$  trong

vòng 20 ngày sau nở (mặc dù kháng thể này vẫn có thể phát hiện được đến ngày thứ 30; ở mức 1,1 log<sub>2</sub>) (Gharaibeh và Mahmoud, 2013).



**Hình 1. Tỷ lệ dương tính huyết thanh học ở các thời điểm sau vaccin**

Ghi chú: ngày sau dùng vaccin 0 (D0), 14 (D14), 21 (D21) và 28 (D28). Ngưỡng dương tính kháng thể kháng IBV (hiệu giá ELISA > 1.625) và ngưỡng kháng thể bảo hộ với NDV (hiệu giá ELISA  $\geq 1.000$ ) lần lượt được biểu thị bằng đường nét đứt và nét liền màu xanh. N1 và n2 lần lượt là số mẫu có hiệu giá kháng thể ở mức bảo hộ của nhóm nhỏ và phun vaccin.

Ở lô thí nghiệm, tại thời điểm không còn kháng thể thụ động ở lô đối chứng (D21 và D28), gà được dùng vaccin tiếp tục dương tính với kháng thể kháng IBV và NDV. Sự khác biệt về tỷ lệ dương tính giữa lô đối chứng và thí nghiệm cho thấy vaccin dùng theo cả đường phun lẫn nhỏ mắt đã kích thích đáp ứng miễn dịch. Về đáp ứng miễn dịch chống lại IBV (hình 1A), vaccin theo đường nhỏ mắt tạo đáp ứng miễn dịch nhanh với 100% số gà có kháng thể sau vaccin 14 ngày. Vaccin theo đường phun tạo đáp ứng miễn dịch chậm hơn, bởi vì: chỉ tới 21 ngày sau vaccin, số gà dương tính với kháng thể IBV ở nhóm này mới đạt 100%. Về đáp ứng miễn dịch chống lại NDV (hình 1B), trong vòng 3 tuần đầu, đáp ứng miễn dịch của gà ở lô vaccin theo đường nhỏ mắt và

phun không khác biệt rõ, với tỷ lệ dương tính khá tương đương: 50,0% so với 52,6% (D14) và 31,3% so với 36,8% (D21). Khác biệt chỉ rõ ràng ở tuần thứ 4 sau vaccin (D28), cụ thể: vaccin theo đường phun kích thích đáp ứng miễn dịch chống lại NDV tốt hơn với ~ 60% số gà dương tính so với ~ 38% số gà dương tính ở lô vaccin theo đường nhỏ mắt.

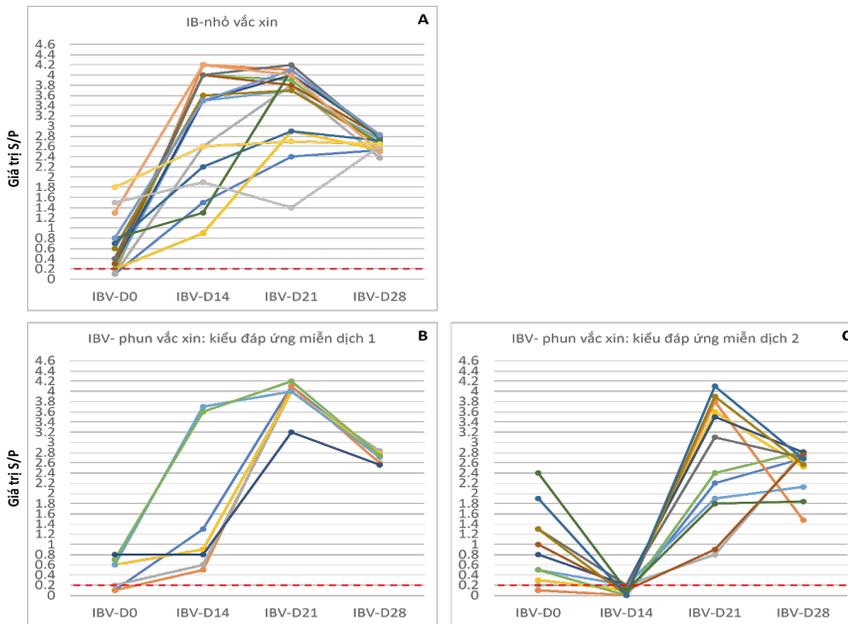
Về hiệu giá kháng thể bảo hộ đối với bệnh IB, nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra không có tương quan chặt giữa hiệu giá kháng thể và mức bảo hộ (Awad và cs., 2016). Khả năng bảo hộ chống lại công cường độc thường được đánh giá *in vitro* dựa vào hiện tượng mất rung động (ciliostasis) của tế bào niêm mạc thanh - khí quản (Cook và cs., 1999). Xét

nghiệm huyết thanh học chủ yếu dùng với mục đích đánh giá đáp ứng miễn dịch sau vaccin. Tại thời điểm 21 và 28 ngày sau vaccin (hình 1C), cả nhóm nhỏ mắt và phun vaccin đều có hiệu giá kháng thể rất cao so với ngưỡng dương tính. Đối với bệnh Newcastle, tương quan giữa hiệu giá kháng thể và khả năng bảo hộ đã được chứng minh: hiệu giá HI từ  $3\log_2 - 5\log_2$  có khả năng bảo hộ 70 – 80% chống lại công cường độc (Abdi và cs., 2016). Ở một công bố khác hiệu giá ELISA  $\geq 1.000$  tương ứng với khả năng bảo hộ 80%

chống lại công cường độc (Kim và cs., 2006). Theo đó, kết quả ở hình 1D cho biết gà có kháng thể chống lại NDV đều ở ngưỡng bảo hộ, với tỷ lệ là 37,5% (nhóm nhỏ mắt) và 57,9% (nhóm phun) tại thời điểm 28 ngày sau làm vaccin.

### 3.2. Biến động kháng thể kháng IBV

Hình 2 tóm tắt biến động hàm lượng kháng thể kháng IBV (thông qua giá trị S/P) của từng cá thể ở hai lô vaccin.



**Hình 2. Biến động kháng thể kháng IBV ở các thời điểm sau vaccin**

Ghi chú: đường nét đứt màu đỏ biểu diễn giá trị ngưỡng dương tính kháng thể kháng IBV

Xét về kiểu tăng - giảm giá trị S/P, ở lô nhỏ vaccin, các cá thể có hoặc không có kháng thể thụ động tại thời điểm D0 đều có diễn biến tăng hàm lượng kháng thể ở các mốc D14, D21 và D28 (hình 2A). Ở lô phun vaccin, có thể thấy 2 kiểu đáp ứng miễn dịch khác nhau. Kiểu đáp ứng miễn dịch 1 (hình 2B) là giống với lô nhỏ vaccin, với 7/19 (36,8%) cá thể có diễn biến tăng giá trị S/P ở các ngày D14, D21 và D28. Kiểu đáp ứng miễn dịch 2 (hình 2C) với 12/19 (63,2%) cá thể có sự giảm giá trị S/P về mức âm tính tại thời điểm D14, sau đó tăng vào thời điểm D21 và D28. Kiểu đáp ứng miễn dịch 2 này phù hợp với một vài kết quả đã công bố trên thế giới (Darbyshire và Peters, 1985; Legnardi và cs., 2021).

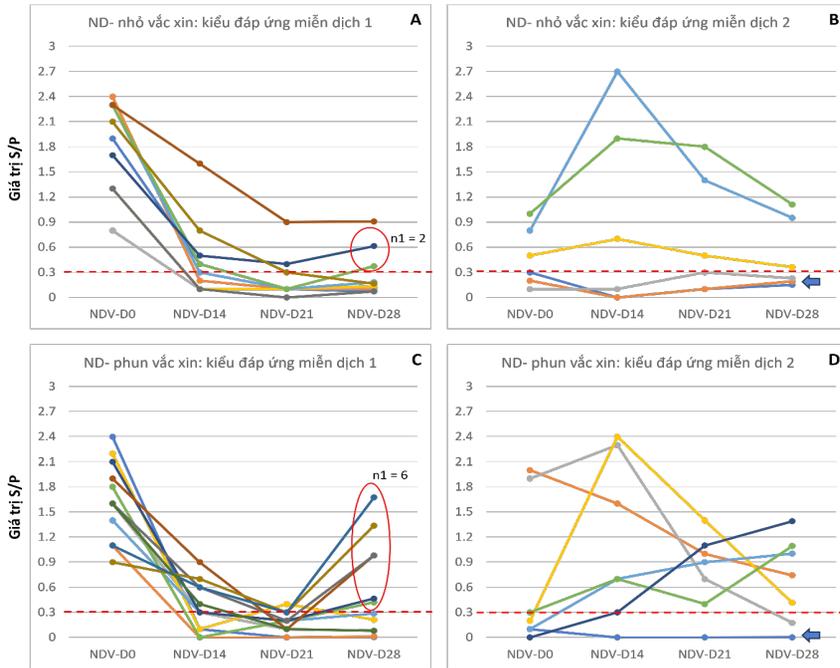
Nghiên cứu nhiều khía cạnh ảnh hưởng tới đáp ứng miễn dịch sau khi sử dụng vaccin IB đã được các nhà khoa học trên thế giới quan tâm từ khá sớm (De Wit và Cook, 2014). Về đường đưa, sử dụng vaccin bằng cách phun sương, nhỏ mắt hoặc pha nước uống không ảnh hưởng tới đáp ứng miễn dịch chống lại IBV, bởi lẽ không khác biệt rõ rệt về hiệu giá và xu hướng hình thành kháng thể lúc 1, 2 và 6 tuần sau vaccin (Gough và Alexander, 1979). Xét về tiêu chí này, kết quả nghiên cứu đang trình bày là sai khác khi quan sát thấy ở lô phun sương có 2 kiểu đáp ứng miễn dịch (hình 2B, C). Trong đó, chỉ có kiểu đáp ứng miễn dịch 1 (hình 2B) là giống với kiểu đáp ứng miễn dịch của gà ở nhóm nhỏ vaccin (hình 2A). Giải thích cho điều này, chúng tôi nhận thấy ở nghiên cứu viện dẫn, tác giả dùng dụng cụ phun

sương cầm tay (hand-held atomiser) để làm vaccin với liều lượng tính toán để đảm bảo gà nhận được đủ liều tối thiểu. Trong thí nghiệm này, chúng tôi dùng máy phun sương công suất cao để làm vaccin cho số lượng gà lớn hơn, có thể dẫn tới sự đồng đều thấp hơn về liều virus thực sự nhận được giữa các cá thể cùng nhóm. Đây cần xem là lưu ý hết sức quan trọng khi dùng phương pháp phun để làm vaccin tại trang

trại: đảm bảo các cá thể tiếp nhận đủ liều tối thiểu để kích thích đáp ứng miễn dịch, ước tính khoảng  $10^{1.8}$  EID<sub>50</sub> (Gough và Alexander, 1979).

### 3.3. Biến động kháng thể kháng NDV

Biến động hàm lượng kháng thể kháng NDV (thông qua giá trị S/P) của từng cá thể ở hai lô vaccin được trình bày ở hình 3.



**Hình 3. Biến động kháng thể kháng NDV ở các thời điểm sau vaccin**

Ghi chú: đường nét đứt màu đỏ biểu diễn giá trị ngưỡng dương tính kháng thể kháng NDV

Về kiểu tăng - giảm giá trị S/P, ở cả lô nhỏ và lô phun vaccin đều thấy 2 kiểu đáp ứng miễn dịch. Kiểu đáp ứng miễn dịch 1 (hình 3A, C) bao gồm các cá thể có kháng thể thụ động tại thời điểm D0 và diễn biến giảm hiệu giá kháng thể cho đến ngày D21. Một số gà thuộc kiểu đáp ứng miễn dịch 1 này bắt đầu tăng hiệu giá kháng thể và chuyển dương tính huyết thanh học ở ngày D28 (khoanh tròn, hình 3). Kiểu biến động kháng thể dịch thể nói trên (hình 3A, C) là phù hợp với kết quả đã công bố, theo đó gà được vaccin tại thời điểm có kháng thể mẹ truyền kháng NDV ở mức cao sẽ có hiệu giá kháng thể giảm trong 3 tuần đầu trước khi tăng hoặc duy trì (không tiếp tục giảm) hiệu giá kháng thể (Partadiredja và cs., 1979). Ở kiểu đáp ứng miễn dịch 1 này, phương pháp phun thể hiện ưu điểm so với phương pháp nhỏ khi đã kích hoạt hệ miễn dịch dẫn tới chuyển dương tính kháng thể ở nhiều cá thể hơn (6/19 so với 2/16; hình 3C, A). Ưu

điểm hơn của phương pháp phun vaccin Newcastle so với phương pháp nhỏ mắt, nhỏ mũi và tiêm bắp cũng đã được rút ra trong một vài nghiên cứu trước đây khi có khả năng kích thích tạo hàm lượng kháng thể dịch thể là cao nhất (Beard và Easterday, 1967; Partadiredja và cs., 1979).

Kiểu đáp ứng miễn dịch 2 (hình 3B, D) gồm 6/16 (37,5%) và 7/19 (36,8%) cá thể lần lượt ở lô nhỏ và phun vaccin có biến động hiệu giá kháng thể theo nhiều chiều hướng. Đáng chú ý, trong nhóm này có 4 cá thể không chuyển dương tính huyết thanh học với kháng thể kháng NDV mặc dù thời điểm vaccin chúng không có kháng thể thụ động (mũi tên, hình 3). Loại trừ nguyên nhân là do hệ miễn dịch hoạt động không hiệu quả, chúng tôi phân tích đáp ứng miễn dịch kháng IBV và NDV của 16 cá thể không chuyển dương tính huyết thanh học với NDV ở thời điểm kết thúc thí nghiệm (bảng 2).

**Bảng 2. Tương quan đáp ứng miễn dịch kháng IBV và NDV ở một số cá thể**

Lô vaccin	Cá thể	Chỉ số S/P kháng thể IBV ở các thời điểm sau vaccin				Chỉ số S/P kháng thể NDV ở các thời điểm sau vaccin			
		D0	D14	D21	D28	D0	D14	D21	D28
Nhỏ	077	0,1	4,2	4,1	2,8	0,8	0,1	0,1	0,1
Nhỏ	004	0,1	1,5	2,4	2,5	2,3	0,3	0,1	0,2
Nhỏ	092	0,1	2,6	3,8	2,4	0,1	0,1	0,3	0,2
Nhỏ	037	0,2	4,0	3,9	2,6	1,9	0,4	0,1	0,1
Nhỏ	015	0,2	3,5	3,7	2,7	1,3	0,1	0,1	0,1
Nhỏ	017	0,3	4,0	3,8	2,8	2,4	0,2	0,1	0,1
Nhỏ	006	0,3	3,5	4,0	2,8	2,1	0,8	0,3	0,2
Nhỏ	097	0,6	3,6	3,7	2,7	0,2	0	0,1	0,2
Nhỏ	032	0,7	2,2	2,9	2,7	1,3	0,1	0	0,1
Nhỏ	001	0,8	1,3	4,1	2,8	0,3	0	0,1	0,2
Phun	048	0,1	0,5	4,1	2,6	1,1	0	0	0,0
Phun	045	0,1	1,3	4,1	2,7	1,6	0,4	0,1	0,1
Phun	054	0,2	0,2	0,8	2,8	1,6	0,3	0,1	0,1
Phun	095	0,3	0,1	3,6	2,5	2,4	0,1	0	0,0
Phun	098	0,8	0,8	3,2	2,6	1,4	0,3	0,2	0,3
Phun	100	2,4	0,1	1,8	1,8	0,1	0	0	0,0

*Ghi chú: mẫu dương tính với kháng thể kháng IBV (S/P > 0,2) được đánh dấu màu hồng nhạt; mẫu dương tính với kháng thể kháng NDV (S/P > 0,3) được đánh dấu màu xanh nhạt.*

Bảng 2 cho thấy 16/16 cá thể âm tính kháng thể NDV (D28) đều có đáp ứng miễn dịch tốt với IBV, phản ánh thông qua hiện tượng chuyển dương tính huyết thanh học tại thời điểm D14 hoặc D21. Kết quả đó cho thấy các cá thể ở lô thí nghiệm đều tiếp nhận virus vaccin và sản sinh đáp ứng miễn dịch, trong đó đáp ứng này là mạnh hơn đối với IBV so với NDV. Nguyên nhân về sự cạnh tranh giữa 2 loại virus vaccin cũng được loại trừ, bởi lẽ từ những năm 1980, các công bố cho thấy sự kết hợp giữa chủng virus vaccin IBV và NDV không ảnh hưởng lẫn nhau ở cả đáp ứng miễn dịch dịch thể cũng như khả năng bảo hộ chống lại công cường độc (Winterfield, 1984). Thêm vào đó, tỷ lệ giữa liều virus vaccin NDV ( $\geq 10^{6,5}$  EID<sub>50</sub>) và IBV ( $\geq 10^{3,5}$  EID<sub>50</sub>) trong lọ vaccin dùng ở nghiên cứu này nằm trong khoảng phù hợp: hiệu giá virus NDV thường cao hơn 2 – 3 log so với hiệu giá IBV (Winterfield, 1984).

Tựu chung lại, kết quả trình bày ở hình 1 - 3 cho thấy vaccin nhị giá phòng bệnh Newcastle và IB dùng theo đường nhỏ mắt hoặc phun sương tại thời điểm gà còn kháng thể thụ động đã kích hoạt đáp ứng

miễn dịch cơ sở ngay ở lần vaccin đầu tiên. Bên cạnh đạt được mục tiêu nghiên cứu là đánh giá có/ không có sự kích hoạt đáp ứng miễn dịch tiên phát khi đưa vaccin theo đường nhỏ mắt và phun sương thông qua hiện tượng chuyển dương tính huyết thanh học, nghiên cứu này tồn tại một số hạn chế và cần tiếp tục làm rõ. Đó là: đánh giá tải lượng virus vaccin nhân lên và bài thải theo các đường đưa khác nhau, mở rộng xét nghiệm đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào. Hơn thế nữa, cần thử nghiệm vaccin theo quy trình thực tế để đánh giá sự đồng đều về tỷ lệ dương tính, hiệu giá bảo hộ, cũng như độ dài miễn dịch ở gà được vaccin phòng bệnh Newcastle và IB theo đường nhỏ mắt và phun sương.

#### IV. KẾT LUẬN

Sử dụng chỉ báo là hiện tượng chuyển dương tính huyết thanh học, kết quả nghiên cứu khẳng định vaccin nhược độc phòng bệnh Newcastle và IB dùng theo đường nhỏ mắt và phun sương đều kích hoạt đáp ứng miễn dịch ngay cả khi có kháng thể thụ động. Chuyển dương tính kháng thể kháng

IBV xuất hiện ở 100% số cá thể sau vaccin 21 ngày ở cả hai đường đưa vaccin. Trong khi đó, chuyển dương tính kháng thể kháng NDV xuất hiện chậm hơn (vào ngày 28 sau vaccin) với tỷ lệ 37,5% và 57,9% lần lượt với phương pháp nhỏ mắt và phun sương.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdi R. D., Amsalu, K., Merera, O., Asfaw, Y., Gelaye, E., Yami, M. và Sori, T., 2016. Serological response and protection level evaluation in chickens exposed to grains coated with I2 Newcastle disease virus for effective oral vaccination of village chickens. *BMC Vet Res*, 12(1): 150.
- Awad F., Hutton, S., Forrester, A., Baylis, M. và Ganapathy, K., 2016. Heterologous live infectious bronchitis virus vaccination in day-old commercial broiler chicks: clinical signs, ciliary health, immune responses and protection against variant infectious bronchitis viruses. *Avian Pathol*, 45(2): 169-77.
- Beard C. W. và Easterday, B. C., 1967. The influence of the route of administration of Newcastle disease virus on host response. I. Serological and virus isolation studies. *J Infect Dis*, 117(1): 55-61.
- Cook J. K., Orbell, S. J., Woods, M. A. và Huggins, M. B., 1999. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. *Avian Pathol*, 28(5): 477-85.
- Darbyshire J. H. và Peters, R. W., 1985. Humoral antibody response and assessment of protection following primary vaccination of chicks with maternally derived antibody against avian infectious bronchitis virus. *Research in Veterinary Science*, 38(1): 14-21.
- De Wit J. J. và Cook, J. K., 2014. Factors influencing the outcome of infectious bronchitis vaccination and challenge experiments. *Avian Pathol*, 43(6): 485-97.
- Gharaibeh S. và Mahmoud, K., 2013. Decay of maternal antibodies in broiler chickens. *Poultry Science*, 92(9): 2333-2336.
- Gough R. E. và Alexander, D. J., 1979. Comparison of duration of immunity in chickens infected with a live infectious bronchitis vaccine by three different routes. *Res Vet Sci*, 26(3): 329-32.
- Kim J. N., Won, H. và Mo, I. P., 2006. Efficacy of ELISA for measurement of protective Newcastle disease antibody level in broilers. *Korean J Vet Res*, 46(3): 185-196.
- Lê Đình Quang, Hồ Thị Ngọc Ánh, Hồ Thị Lê, Bùi Thị Lan, Nguyễn Hữu Lợi và Phạm Hồng Sơn, 2019. Đáp ứng miễn dịch của gà con đối với vaccine La Sota phòng bệnh Newcastle thay đổi theo điều kiện sinh thái chăn nuôi. *Tạp chí Khoa học & Công nghệ Nông nghiệp*, 3(1): 1117-1128.
- Legnardi M., Baranyay, H., Simon, C., Molnár, J., Bijlsma, T., Cecchinato, M., Gáspárdy, A., Bersényi, A., Tucciarone, C. M., Franzo, G. và Kőrösi, L., 2021. Infectious Bronchitis Hatchery Vaccination: Comparison between Traditional Spray Administration and a Newly Developed Gel Delivery System in Field Conditions. *Veterinary Sciences* [Online], 8.
- Mockett A. P. A., Cook, J. K. A. và Huggins, M. B., 1987. Maternally derived antibody to infectious bronchitis virus: Its detection in chick trachea and serum and its role in protection. *Avian Pathology*, 16(3): 407-416.
- Partadiredja M., Eidson, C. S. và Kleven, S. H., 1979. A comparison of immune responses of broiler chickens to different methods of vaccination against Newcastle disease. *Avian Dis*, 23(3): 622-33.
- Samberg Y., Hornstein, K., Cuperstein, E. và Gottfried, R., 1977. Spray vaccination of chickens with an experimental vaccine against Newcastle disease. *Avian Pathol*, 6(3): 251-8.
- Trần Ngọc Bích, Nguyễn Tấn Rõ, Nguyễn Phúc Khánh và Trần Thị Hồng Liễu, 2014. Khảo sát khả năng đáp ứng miễn dịch đối với vaccine Newcastle trên một số giống gà thả vườn. *Tạp chí Khoa học Trường đại học Cần Thơ*, 2: 128-132.
- Winterfield R. W., 1984. Vaccination of chickens with newcastle disease and infectious bronchitis vaccines administered singly and in combination. *Poult Sci*, 63(1): 182-4.

Ngày nhận: 25-3-2024

Ngày phản biện: 29-3-2024

Ngày đăng: 1-9-2024