

## **ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH CỦA LỢN SAU KHI TIÊM VACCIN TAI XANH NHƯỢC ĐỘC CHỦNG PRRS HANVET 1.VN**

*Bùi Trần Anh Đào<sup>1</sup>, Nguyễn Thanh Ba<sup>2</sup>, Nguyễn Thu Trang<sup>2</sup>,  
Trần Văn Khánh<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Ngọc<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Nga<sup>3</sup>, Nguyễn Hữu Vũ<sup>2</sup>*

### **TÓM TẮT**

Nghiên cứu đáp ứng miễn dịch của lợn sau khi tiêm vaccin tai xanh nhược độc chủng PRRS Hanvet1.vn đã được tiến hành tại Công ty Hanvet. Sự khác biệt về diễn biến kháng thể trung hòa và kháng thể được xác định bằng phản ứng IPMA trong huyết thanh lợn. Kết quả nghiên cứu cho thấy kháng thể xuất hiện 7 ngày sau miễn dịch và đạt hàm lượng cao nhất vào tuần thứ 5 sau khi tiêm vaccin (1/4888,7), sau đó hàm lượng kháng thể giảm dần, đến tháng thứ 6 chỉ còn 1/463,13. Kháng thể trung hòa xuất hiện muộn, 4 tuần sau khi tiêm vaccin, và đạt hiệu giá cao nhất ở tuần thứ 11 sau miễn dịch (1/21,11) sau đó giảm dần. Đến tháng thứ 5 sau tiêm vaccin, hàm lượng kháng thể trung hòa chỉ còn 1/4, đến tháng thứ 6 kháng thể trung hòa không còn khả năng bảo hộ cho lợn. Lợn con sinh ra từ lợn nái đã được tiêm vaccin tai xanh nhận được nhiều kháng thể từ mẹ qua sữa đầu. Hàm lượng kháng thể trong máu lợn con đạt cao nhất vào thời điểm 1 ngày sau sinh (1/1835,46 với IPMA và 1/8,46 với kháng thể trung hòa). Sau đó kháng thể trong máu lợn con giảm nhanh. Đến 14 ngày sau sinh hàm lượng kháng thể trong máu lợn con chỉ còn 1/676,49 (IPMA) và 1/4,11 (trung hòa). Lợn 4 tuần tuổi cho đáp ứng miễn dịch tốt nhất sau khi tiêm vaccin.

*Từ khóa:* đáp ứng miễn dịch, vaccin nhược độc tai xanh, PRRS Hanvet1.vn.

### **Study on immune response of pigs vaccinated with Hanvet 1.vn PRRS attenuated virus vaccine**

*Bui Tran Anh Dao, Nguyen Thanh Ba, Nguyen Thu Trang,  
Tran Van Khanh, Nguyen Thi Ngoc, Nguyen Thi Nga, Nguyen Huu Vu*

### **SUMMARY**

The research on immune response of the pigs after vaccination with Hanvet1.vn PRRS attenuated virus vaccine was carried out at Hanvet company. The changes of neutralising antibody and antibody were determined by the IPMA method. The studied result showed that 7 days after vaccination, antibody appeared and reached the highest content in the 5th week after vaccination (1/4888.7), then the antibody content decreased in the 6th month, remaining 1/463.13 only. Neutralising antibody appeared later, 4 weeks after the vaccination, and reached the highest titre at the 11th week after vaccination (1/21.11) then it was decreased. Up to the 5th month after vaccination, the neutralising antibody content remained only 1/4 and then the antibody content was not capable to protect the pigs in the 6th month after vaccination. The piglets were born from the sows vaccinated with Hanvet1.vn PRRS vaccine, they received antibody through colostrum. The antibody content in the blood of the piglets reached the highest level at the 1<sup>st</sup> day after birth (1/1835,46 with IPMA and 1/8.46 with neutralising antibodies). Then antibody content in the blood of piglets decreased rapidly. Up to the 14<sup>th</sup> days after birth, antibody content in the blood of piglets reached 1/676.49 (IPMA) and 1/4.11 (neutralising). The piglets at 4-weeks-old presented the best immune response after the vaccination.

*Keywords:* immune response, attenuated vaccine, Hanvet 1.vn PRRS.

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

<sup>2</sup> Công ty thuốc thú y Hanvet

<sup>3</sup> Viện kỹ thuật hóa sinh và tài liệu nghiệp vụ, Bộ Công an

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở lợn (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome – PRRS), hay còn gọi là bệnh tai xanh, là một trong những dịch bệnh nguy hiểm nhất đối với ngành chăn nuôi lợn của Việt Nam cũng như trên thế giới hiện nay. PRRS được ghi nhận lần đầu tiên ở Việt Nam vào năm 1997. Tuy nhiên, tại thời điểm đó và các năm sau, không ghi nhận được các ca bệnh lâm sàng. Năm 2006, PRRS thể độc lực cao đã được ghi nhận ở Trung Quốc làm hơn 2 triệu lợn mắc bệnh và diễn biến phức tạp trong năm 2007. Do quan hệ thông thương phức tạp giữa Việt Nam và Trung Quốc, PRRS đã trở thành dịch lớn ở nước ta. Năm 2007, cả nước có 70.577 lợn mắc PRRS, số lợn chết và tiêu hủy là 20.366 con. Năm 2008 có 309.586 ca bệnh, số lợn chết và tiêu hủy 300.906 con. Năm 2010, dịch lại nổ ra hai đợt vào tháng 3 và tháng 10 làm 812.947 lợn mắc bệnh, số lợn chết và tiêu hủy lên đến 442.699 con. Có thể nói PRRS ngày càng trở thành vấn đề thời sự trong ngành chăn nuôi thú y. Trước tình trạng nghiêm trọng đó, Chính phủ đã tiến hành nhiều biện pháp khác nhau để không chế dịch, trong đó quan trọng nhất là việc nhập khẩu và phân phối các loại vaccin phòng bệnh. Tuy nhiên, các vaccin nhập khẩu từ các nước khác nhau có tính kháng nguyên khác nhau, đặc biệt từ các nước châu Âu do chủng virus gây bệnh tại Việt Nam là một biến chủng mới của virus PRRS dòng Bắc Mỹ. Ngoài ra, giá của các loại vaccin nhập khẩu rất cao (trên 30 nghìn đồng/liều), nguồn nhập cũng không chủ động, gây khó khăn cho công tác tiêm phòng. Trước tình hình trên, Công ty Hanvet đã tập trung nghiên cứu, chế tạo được vaccin tai xanh nhược độc từ chủng virus PRRS Hanvet1.vn với mong muốn tạo ra vaccin có chất lượng tốt, giá thành hạ, góp phần vào việc phòng chống dịch bệnh tai xanh ở nước ta.

Nghiên cứu này nhằm đánh giá khẳng định chất lượng của vaccin tai xanh nhược độc chủng PRRS Hanvet1.vn làm cơ sở cho việc đăng ký lưu hành sản phẩm.

## II. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Vật liệu nghiên cứu gồm vaccin tai xanh nhược độc do Công ty Hanvet sản xuất từ chủng virus nhược độc PRRS Hanvet1.vn lô 0614, ngày sản xuất 04/11/2014, hạn sử dụng 04/05/2016. Mỗi liều vaccin chứa  $10^5$ TCID<sub>50</sub> virus nhược độc PRRS Hanvet1.vn trong chất bổ trợ đông khô. Chủng virus PRRS cường độc phân lập tại Việt Nam được giữ giống tại Trung tâm kiểm nghiệm thuốc thú y trung ương I. Một số loại vaccin phòng bệnh PRRS trên thị trường và tế bào dòng Marc 145.

Lợn thí nghiệm gồm lợn lai hướng nạc, khỏe mạnh, ở các độ tuổi khác nhau và lợn nái mang thai ở ngày thứ 80 của thai kỳ. Tất cả lợn sử dụng trong thí nghiệm đều được chúng tôi xét nghiệm và xác định âm tính với các bệnh: PRRS, dịch tả lợn, bệnh do *Mycoplasma* và Circo virus bằng kỹ thuật rRT-PCR.

Nghiên cứu được tiến hành tại Trung tâm nghiên cứu và Sản xuất sinh phẩm – Công ty Hanvet, các trại thực nghiệm và trại liên kết của Công ty tại Hưng Yên, Bắc Ninh và Hòa Bình.

### 2.2. Nội dung nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện theo các nội dung sau:

- Xác định đường đưa vaccin thích hợp vào cơ thể lợn
- Nghiên cứu đáp ứng miễn dịch dịch thể và độ dài miễn dịch khi tiêm vaccin cho lợn
- Nghiên cứu khả năng truyền kháng thể từ lợn mẹ sang lợn con qua sữa đầu
- Đánh giá khả năng bảo hộ của vaccin khi thử thách với virus PRRS cường độc
- Xác định độ tuổi sử dụng vaccin thích hợp
- So sánh đáp ứng miễn dịch dịch thể của vaccin tai xanh chủng PRRS Hanvet1.vn với một số vaccin trên thị trường.

### 2.3. Bố trí thí nghiệm và phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Bố trí thí nghiệm

Để xác định đường sử dụng vaccin thích hợp, đã lựa chọn 45 lợn con 4 tuần tuổi đồng đều về giống, tình trạng sức khỏe, điều kiện chăn nuôi và vệ sinh thú y. Phân chia ngẫu nhiên số lợn trên vào 3 nhóm, sử dụng vaccin virus nhược độc PRRS Hanvet1.vn cho các nhóm với liều như nhau, nhưng theo 3 đường sử dụng khác nhau: tiêm bắp, tiêm dưới da và nhỏ mũi. Xác định hiệu giá kháng thể sau khi tiêm vaccin 28 ngày.

Đánh giá sự hình thành đáp ứng miễn dịch và độ dài miễn dịch sau khi tiêm vaccin bằng lấy máu lợn tại các thời điểm sau tiêm vaccin 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 tuần; 2, 3, 4, 5, 6 tháng, xác định hiệu giá kháng thể bằng IPMA và hiệu giá kháng thể trung hòa.

Để xác định khả năng truyền kháng thể từ lợn mẹ sang lợn con, đã tiêm vaccin cho 5 lợn nái mang thai 80 ngày. Sau tiêm vaccin, theo dõi tình trạng sức khỏe của các lợn nái, lấy máu lợn nái sau khi sinh 24 giờ và lợn con sau khi sinh 24 giờ để kiểm tra hiệu giá kháng thể. Cho đến khi lợn con đạt 5 tuần tuổi, hàng tuần lấy máu 5 lợn con/ổ để kiểm tra hiệu giá kháng thể.

Để đánh giá khả năng bảo hộ của vaccin với chủng virus cường độc, đã tiêm vaccin cho 12 lợn 4 tuần tuổi có huyết thanh âm tính với kháng thể PRRS. Sau tiêm 28 ngày, lấy máu 12 lợn được miễn dịch (lô thí nghiệm này) và 4 lợn không tiêm vaccin (lô đối chứng) để kiểm tra hiệu giá kháng thể bằng phản ứng IPMA và phản ứng trung hòa trên tế bào. Sau đó lợn thí nghiệm và đối chứng được thử thách với virus PRRS cường độc phân lập tại Việt Nam với liều  $10^6$  TCID<sub>50</sub>. Sau khi công cường độc, theo dõi các biểu hiện lâm sàng, thân nhiệt, khả năng tăng trọng, đồng thời lấy máu lợn ở các thời điểm 3, 5, 7, 10, 14, 21 ngày sau khi công cường độc để phân lập, xác định virus huyết và mổ khám xác định bệnh tích.

Để xác định độ tuổi thích hợp cho việc sử

dụng vaccin: Tiêm vaccin cho 3 nhóm lợn con ở lứa tuổi khác nhau: 2, 4 và 6 tuần tuổi. Xác định hiệu giá kháng thể bằng IPMA và kháng thể trung hòa sau 28 ngày miễn dịch.

Nhằm so sánh đáp ứng miễn dịch của vaccin tai xanh do Hanvet sản xuất với một số vaccin phòng bệnh PRRS hiện có trên thị trường, chọn 24 lợn cùng một giống, lứa tuổi và sức khỏe tương đương, chia làm 4 nhóm. Lợn con trong các nhóm được tiêm cùng một liều ( $10^5$ TCID<sub>50</sub>) với một trong 4 loại vaccin tai xanh khác nhau: Vaccin của Hanvet (từ chủng PRRS Hanvet1.vn), vaccin A (từ chủng JXA1 – R), vaccin B (từ chủng VP-046BIS) và vaccin C (từ 1 chủng nhược độc, nhưng không công bố cụ thể). Xác định hiệu giá kháng thể bằng IPMA và kháng thể trung hòa.

#### 2.3.2. Phương pháp nghiên cứu

Các phương pháp sử dụng trong nghiên cứu gồm: Phương pháp IPMA; phương pháp phân lập virus; phương pháp rRT-PCR thực hiện theo TCVN 8400-21:2014.

Phương pháp trung hòa virus trên tế bào để xác định hiệu giá kháng thể trung hòa thực hiện theo phương pháp của Yoon & cs (1994).

Phương pháp mổ khám xác định bệnh tích theo TCVN 8400-21:2014.

Số liệu được xử lý thống kê, sử dụng phần mềm Minitab 16 với phép thử phân tích phương sai một nhân tố (ANOVA\_One way...).

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

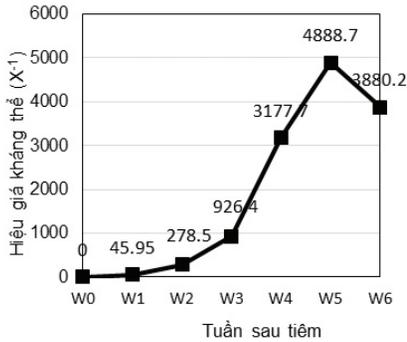
### 3.1. Đáp ứng miễn dịch của lợn được tiêm vaccin tai xanh nhược độc

Kết quả thu được cho thấy có sự khác biệt rất rõ rệt về khả năng sinh đáp ứng miễn dịch của vaccin tai xanh khi đưa theo các đường khác nhau. Đáp ứng miễn dịch của lợn được đưa vaccin theo đường nhỏ mũi không cao. Cụ thể hàm lượng kháng thể chỉ đạt trung bình 1/339,03. Đưa vaccin theo đường tiêm dưới da và tiêm bắp đều cho đáp ứng miễn dịch cao, hàm lượng kháng thể sau 28 ngày miễn dịch của

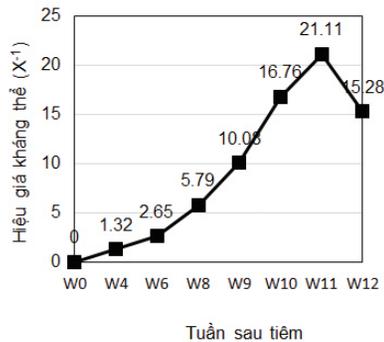
cả 2 cách tiêm này đều là 1/3417,19. Sự sai khác về hiệu giá kháng thể của lợn khi đưa vaccin theo đường nhỏ mũi với đường tiêm là có ý nghĩa thống kê ( $P < 0,05$ ). Mặt khác, tiêm dưới da hoặc tiêm bắp thịt cũng đơn giản, thuận tiện

hơn phương pháp nhỏ mũi.

Diễn biến hàm lượng giá kháng thể trung bình (GMT) của lợn sau khi tiêm vaccin được xác định bằng IPMA và kháng thể trung hoà được thể hiện qua hình 1.



Xác định bằng IPMA



Xác định bằng kháng thể trung hoà

**Hình 1. Biến động kháng thể sau khi tiêm vaccin tại xanh**

Một tuần sau khi tiêm vaccin, lợn bắt đầu có đáp ứng miễn dịch thông qua hiệu giá kháng thể xác định bằng IPMA. Hàm lượng kháng thể trong máu lợn tăng dần và đạt giá trị cao nhất vào tuần thứ 5 với hiệu giá kháng thể trung bình đạt 1/4888,78. Sau đó hàm lượng kháng thể giảm xuống ở tuần thứ 6 sau khi tiêm vaccin.

Diễn biến của hàm lượng kháng thể trung hòa trong máu lợn sau khi tiêm vaccin cho thấy sự xuất hiện của kháng thể trung hòa trong huyết thanh lợn được tiêm vaccin muộn hơn so với kháng thể xác định bằng IPMA. Sau tiêm vaccin 4 tuần, trong huyết thanh lợn mới xuất hiện kháng thể trung hòa (1/1,32) và đạt hiệu giá cao nhất (1/21,11) ở tuần thứ 11 sau khi tiêm vaccin.

Như vậy, có sự khác biệt rõ rệt về sự xuất hiện của kháng thể được xác định bằng phản ứng IPMA và kháng thể trung hòa virus. Kháng thể đặc hiệu được xác định bằng phản ứng IPMA xuất hiện từ rất sớm, ngay từ tuần đầu tiên sau khi tiêm vaccin và đạt đỉnh ở tuần thứ 5. Trong khi đó, sự xuất hiện của kháng thể trung hòa muộn hơn. Ở tuần thứ 4 sau khi tiêm vaccin, lợn mới bắt đầu có kháng thể trung hòa. Kháng

thể trung hòa virus đạt hiệu giá cao nhất vào tuần thứ 10 đến tuần thứ 11 sau khi tiêm vaccin và chỉ đạt ngưỡng 1/21,11. Điều này được giải thích như sau: Các epitop của virus có khả năng gây ra sự xuất hiện kháng thể trung hòa nằm ở GP<sub>5</sub>. Epitop chính chịu trách nhiệm trong hoạt động sinh kháng thể trung hòa nằm ở acid amin 37 đến 44 và được gọi là epitop B (Mateu và Diaz, 2008). Tuy nhiên, ngay ở trước epitop B của virus PRRS, có một epitop khác đã được xác định có ưu thế miễn dịch vượt trội gọi là epitop A nằm ở acid amin 27 đến 31 (sát kề phía đối mặt với epitop B). Đặc điểm này phù hợp với chức năng của một epitop nguy trang hay là epitop đánh lừa (decoy epitop). Epitop nguy trang này mạnh hơn epitop B, có thể làm giảm đáp ứng miễn dịch của epitop trung hòa B nằm liền kề, dẫn đến sự chậm trong đáp ứng miễn dịch trung hòa. Hiện tượng này tương tự như trường hợp với protein GP<sub>41</sub> của HIV ở người (virus gây suy giảm miễn dịch, bệnh AIDS) đã được chứng minh trên thỏ; cũng tương tự như VP-3P, đặc điểm của virus lactate dehydrogenase elevating (LDV) (cùng họ Arteriviridae với PRRS) là epitop có thể nhận biết bằng kháng thể trung

hòa nhưng lại không có tính gây miễn dịch, giả thiết cho rằng có một chất nào khác nữa có thể hạn chế việc sinh ra kháng thể trung hòa (Lopez và Osorio, 2004).

Kết quả trong nghiên cứu này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Lopez và Osorio (2004); Molina R.M. và cộng sự (2008) về sự hình thành đáp ứng miễn dịch của virus PRRS. Với hiệu giá kháng thể đạt mức 1/4, lợn bắt đầu được bảo hộ, khi công cường độ lợn không có biểu hiện lâm sàng của bệnh, hiện tượng virus huyết vẫn còn nhưng hàm lượng thấp. Nếu hiệu

giá kháng thể trung hòa đạt 1/8, lợn được bảo hộ hoàn toàn khi công cường độ (Lopez và Osorio, 2004; Lopez et al., 2007).

Từ kết quả nghiên cứu trên có thể thấy lợn được tiêm vaccin tai xanh nhược độc chủng Hanvet1.vn sinh đáp ứng miễn dịch dịch thể tốt.

### 3.2. Độ dài miễn dịch lợn được tiêm vaccin tai xanh nhược độc

Kết quả kiểm tra hiệu giá kháng thể trong huyết thanh bằng phản ứng IPMA và phản ứng trung hòa trong các tháng sau khi tiêm vaccin được trình bày trong bảng 1.

**Bảng 1. Hiệu giá kháng thể của lợn xác định bằng phản ứng IPMA và trung hoà**

Hiệu giá kháng thể	1 tháng	2 tháng	3 tháng	4 tháng	5 tháng	6 tháng
Phản ứng IPMA	3880,23	2334,01	1612,70	1167,00	670,27	463,13
Phản ứng trung hòa	1,32	5,79	15,28	6,06	4,39	2,76

Kết quả cho thấy hiệu giá kháng thể IPMA của lợn đạt cao nhất ở tháng đầu tiên sau khi tiêm vaccin (1/3880,23). Sau đó kháng thể giảm dần, đến tháng thứ 6 hàm lượng kháng thể giảm thấp, chỉ còn 1/463,13.

Kháng thể trung hòa xuất hiện muộn hơn, đạt hàm lượng cao tại thời điểm 2 – 3 tháng sau tiêm vaccin, sau đó giảm dần. Đến tháng thứ 5, hiệu giá kháng thể chỉ còn khoảng 1/4 và ở tháng thứ 6, kháng thể trung hòa không còn khả

năng bảo hộ cho lợn.

Như vậy đối với lợn nuôi thịt, chỉ cần tiêm vaccin 1 lần là có thể bảo hộ trong suốt quá trình nuôi. Với lợn nái, lợn đực giống nên tiêm phòng 2 lần trong 1 năm để đảm bảo duy trì miễn dịch cho lợn.

### 3.3. Khả năng truyền kháng thể từ lợn mẹ sang lợn con qua sữa đầu

Kết quả theo dõi hiệu giá kháng thể của lợn mẹ sau khi sinh con được trình bày qua bảng 2.

**Bảng 2. Hiệu giá kháng thể của lợn mẹ sau khi sinh con**

Lợn nái số	Hiệu giá kháng thể xác định bằng IPMA ( $X^{-1}$ )	Hiệu giá kháng thể trung hòa ( $X^{-1}$ )
N1	10.240	32
N2	5.120	16
N3	2.560	16
N4	10.240	32
N5	5.120	16
<b>Trung bình</b>	<b>5.881,34</b>	<b>21,11</b>

Bảng 2 cho thấy các lợn nái có đáp ứng miễn dịch rất tốt, hiệu giá kháng thể xác định bằng

IPMA trung bình đạt 1/5881,34 và hiệu giá kháng thể trung hòa trung bình đạt 1/21,11.

Hiệu giá kháng thể trong máu lợn con được thể hiện qua bảng 3.

**Bảng 3. Hiệu giá kháng thể của lợn con theo mẹ**

Hiệu giá kháng thể	1 ngày	7 ngày	14 ngày	21 ngày	28 ngày	35 ngày
Phản ứng IPMA	1.835,46	1.352,98	676,49	294,46	147,23	73,62
Phản ứng trung hòa	8,46	4,99	4,11	2,57	1,89	1,32

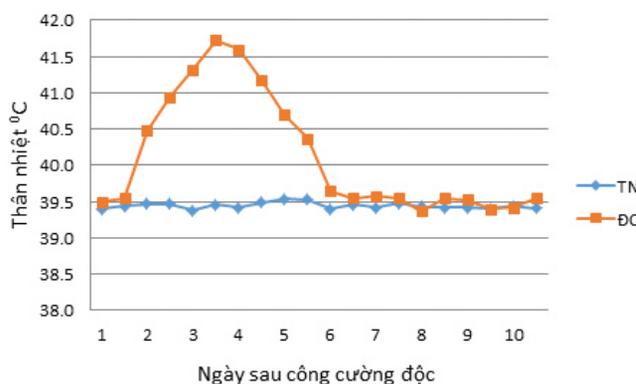
Qua kết quả nghiên cứu về khả năng truyền kháng thể PRRS của lợn mẹ được tiêm vaccin sang lợn con cho thấy, sau khi bú sữa đầu, lợn con hấp thu được nhiều kháng thể từ mẹ truyền. Hiệu giá kháng thể thụ động của lợn con đạt được cao nhất tại thời điểm 24 giờ sau sinh (1/1835,46 với IPMA; 1/8,46 với kháng thể trung hòa). Kháng thể này lưu hành trong máu lợn và giảm dần. Đến thời điểm 14 ngày sau sinh, hiệu giá kháng thể thụ động còn lại của lợn là 1/676,49 với IPMA và 1/4,11 với kháng thể trung hòa. Với lượng kháng thể này, lợn con vẫn có thể được bảo hộ với virus cường độc (Lopez và Osorio, 2004). Nhưng đến thời điểm 21 ngày sau sinh, hàm lượng kháng thể trong máu của lợn con còn rất thấp (294,46 với IPMA và 2,57 với kháng thể trung hòa), không còn đủ để bảo hộ lợn chống lại virus cường độc. Đến 5 tuần tuổi, kháng thể thụ động của lợn con hầu như không còn trong máu.

### 3.4. Hiệu quả bảo hộ của vaccin khi thử thách với virus cường độc

Kiểm tra hiệu giá kháng thể trước khi công cường độc nhận thấy: Cả 12 lợn sau khi tiêm vaccin đều có đáp ứng miễn dịch tốt, tương ứng với giá trị trung bình của IPMA và trung hoà là 1/3417,19 và 1/1,19; trong khi đó, lợn đối chứng không có đáp ứng miễn dịch với virus PRRS trước khi công cường độc.

Sau khi công cường độc, 100% lợn trong lô không tiêm phòng vaccin xuất hiện các triệu chứng: ủ rũ, giảm ăn hoặc bỏ ăn, thở khó, ho, sốt; trong khi đó cả 12 lợn đã tiêm phòng đều không xuất hiện triệu chứng lâm sàng nêu trên.

Diễn biến thân nhiệt của lợn sau khi công cường độc vào các thời điểm 8 giờ sáng và 4 giờ chiều trong 10 ngày sau công cường độc được biểu diễn trên hình 2.



**Hình 2. Thân nhiệt của lợn sau khi công cường độc**

Hình 2 cho thấy có sự khác biệt rõ rệt về thân nhiệt giữa lợn đối chứng không được tiêm vaccin và lợn thí nghiệm được tiêm vaccin. Sau khi công cường độc, cả 12/12 lợn được tiêm vaccin đều không có biểu hiện sốt, trong khi đó cả 4 lợn đối chứng đều sốt rất cao (41,7°C) và kéo dài liên tục trong 3 ngày. Đặc biệt, có 1 lợn đối chứng thân nhiệt lên tới 42°C và co giật mạnh ở ngày thứ 3 sau khi công cường độc.

Kết quả phân lập virus tại các thời điểm 3, 5, 7, 10, 14 và 21 ngày sau khi công cường độc cho thấy: Không phân lập được virus trong máu

của tất cả các lợn được tiêm vaccin ở tất cả các thời điểm lấy máu.

Ở lợn đối chứng, hiện tượng virus huyết xảy ra ở cả 4/4 lợn (100%). Virus trong máu lợn xuất hiện sớm, đạt hàm lượng cao nhất là  $10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml tại thời điểm 5 ngày sau khi công cường độc, sau đó giảm dần và đến ngày thứ 14, không còn phân lập được virus trong máu lợn.

Kết quả xác định virus trong huyết thanh 4 lợn đối chứng không tiêm vaccin sau khi công cường độc được thể hiện trong bảng 4.

**Bảng 4. Hàm lượng virus trong huyết thanh lợn đối chứng tại các thời điểm lấy máu**

Thời điểm lấy máu	Ký hiệu lợn	Độ pha loãng huyết thanh phân lập				
		10 <sup>0</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>
3 ngày	D1	+	+	-	-	-
	D2	+	+	+	+	-
	D3	+	+	-	-	-
	D4	+	+	+	-	-
5 ngày	D1	+	+	+	-	-
	D2	+	+	+	+	-
	D3	+	+	+	-	-
	D4	+	+	+	-	-
7 ngày	D1	+	+	+	-	-
	D2	+	-	-	-	-
	D3	+	-	-	-	-
	D4	+	-	-	-	-
10 ngày	D1	+	+	+	-	-
	D2	+	-	-	-	-
	D3	+	-	-	-	-
	D4	+	-	-	-	-
14 ngày	D1	-	-	-	-	-
	D2	-	-	-	-	-
	D3	-	-	-	-	-
	D4	-	-	-	-	-

Các kết quả gửi mẫu phân tích tại Trung tâm Chẩn đoán thú y quốc gia để xác định virus

huyết bằng kỹ thuật rRT – PCR được trình bày trong bảng 5.

**Bảng 5. Kết quả kiểm tra virus huyết bằng kỹ thuật rRT-PCR**

	Tỷ lệ dương tính (%)					
	3 ngày	5 ngày	7 ngày	10 ngày	14 ngày	21 ngày
Được tiêm vaccin	8,33 (1/12)	8,33 (1/12)	0	0	0	0
Không được tiêm vaccin	100	100	100	100	100	50

Bảng 5 cho thấy 100% lợn đối chứng không tiêm vaccin dương tính với virus tại các thời điểm 3 ngày, 5 ngày, 7 ngày, 10 ngày và 14 ngày sau khi công cường độc. Tại thời điểm 21 ngày sau công cường độc, có 50% lợn dương tính với virus. Kết quả trên đã khẳng định thêm về khả năng ngăn chặn hiện tượng virus huyết của vaccin tại xanh nhược độc chủng PRRS Hanvet1.vn.

Theo Lopez và Osorio (2004), hiệu giá kháng thể trung hòa trong máu lợn phải đạt mức 1/8 mới có khả năng ngăn cản hiện tượng virus huyết khi công cường độc cho lợn. Tuy nhiên trong nghiên cứu này, chỉ với hiệu giá kháng thể trung hòa trung bình ở mức 1/1,19, tất cả lợn đã tiêm vaccin được bảo hộ và hoàn toàn không bị virus huyết. Kết quả phân lập virus huyết cho thấy có sự khác biệt trong nghiên cứu này với nghiên cứu của Lopez và Osorio (2004) và Lopez *et al.* (2007). Sự khác biệt này có thể do các tác giả đã tạo miễn dịch cho lợn bằng kháng thể thụ động, trong khi nghiên cứu này đã sử dụng vaccin để gây đáp ứng miễn dịch chủ động cho lợn.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng khác biệt với kết quả nghiên cứu của Tô Long Thành và cs. (2014) khi đánh giá hiệu lực của vaccin

Amervac PRRS với chủng virus PRRS gây bệnh độc lực cao ở Việt Nam. Sự khác biệt có thể do chủng virus vaccin của các tác giả này là virus nhược độc dòng châu Âu, trong khi chủng virus vaccin trong nghiên cứu của chúng tôi được làm nhược độc từ chủng virus độc lực cao thuộc dòng Bắc Mỹ.

Kết quả của chúng tôi cũng khác biệt so với kết quả của Nguyễn Tùng và cs (2011) khi khảo nghiệm vaccin nhược độc chủng JXA1-R. Trong nghiên cứu của các tác giả này, lợn được tiêm vaccin, khi bị nhiễm virus cường độc, virus vẫn nhân lên trong cơ thể nhưng thời gian bài thải virus ra môi trường ngắn hơn (2 - 3 tuần) so với lợn không tiêm phòng (21 ngày kết thúc thí nghiệm vẫn còn bài thải).

Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi lại tương đồng với kết quả nghiên cứu của Yu và cs. (2015) khi nghiên cứu về tính an toàn và hiệu quả của chủng virus vaccin nhược độc JXA1-R.

Kết quả theo dõi khối lượng của lợn thí nghiệm được tiêm vaccin và đối chứng không được tiêm vaccin khi bắt đầu và sau 21 ngày công cường độc được thể hiện qua bảng 6.

**Bảng 6. Khối lượng lợn được tiêm và không tiêm vaccin sau khi công cường độc**

	Khối lượng lợn (kg)		Tỷ lệ tăng so với lúc bắt đầu (%)
	Ngày bắt đầu	Sau 21 ngày	
Được tiêm vaccin	18,13 ±0,24	31,23 ±0,31	72,23
Không tiêm vaccin	18,35 ±0,14	21,28 ±0,59	15,97

Bảng 6 cho thấy có sự khác biệt rõ rệt về khối lượng 21 ngày sau công cường độc giữa lợn không được tiêm và lợn được tiêm vaccin. Do tiêm vaccin, lợn được bảo hộ hoàn toàn với virus cường độc nên vẫn khỏe mạnh bình thường, không sốt, không giảm ăn, bỏ ăn, không bị virus huyết, do

vậy vẫn tăng cân bình thường với tỷ lệ tăng khối lượng so với ban đầu đạt 72,23%. Trong khi đó lợn không được tiêm có các biểu hiện bệnh lý rất trầm trọng như sốt cao kéo dài liên tiếp 3 ngày, ủ rũ, bỏ ăn, xuất huyết dưới da, virus huyết xuất hiện và kéo dài đến 14 ngày sau khi công cường độc.

Các biểu hiện bệnh lý này làm cho lợn sinh trưởng rất kém, thậm chí có 1 con còn bị giảm cân sau 21 ngày theo dõi.

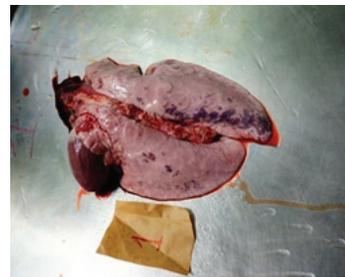
Kết quả mổ khám khi kết thúc thời gian theo dõi cho thấy: Tất cả lợn được tiêm vaccin đều không có biểu hiện bệnh tích, các cơ quan nội tạng đều ở trạng thái sinh lý bình thường. Trong khi đó ở lợn không được tiêm vaccin có các bệnh tích rất đặc trưng, tập trung ở phổi như xuất huyết phổi, viêm phổi hoại tử gây chắc đặc, phổi bị nhục hóa. Các vùng phổi bị bệnh màu đỏ xám, mặt cắt lồi và khô, hạch lâm ba phổi xuất huyết.

Kết quả này cũng khác biệt với kết quả nghiên cứu của Tô Long Thành và cs. (2014) khi đánh giá hiệu lực của vaccin Amervac PRRS; Nguyễn Tùng và cs. (2011) khi khảo nghiệm vaccin PRRS nhược độc chủng JXA1-R. Nhưng kết quả này lại tương đồng với nghiên cứu của Yu và cs. (2015) khi nghiên cứu tính an toàn và hiệu quả của chủng virus vaccin nhược độc PRRS JXA1-R.

Các bệnh tích đặc trưng của lợn không được tiêm vaccin sau khi công cường độc được thể hiện trong các hình 3, 4 và 5.



**Hình 3. Xuất huyết dưới da**



**Hình 4. Viêm kẽ phổi, viêm phế quản-phổi**

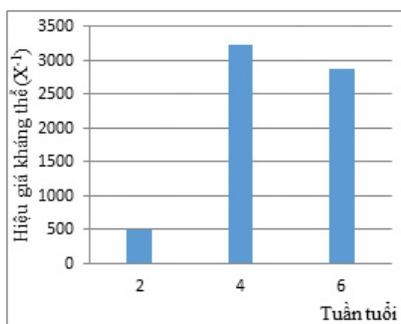


**Hình 5. Phổi chắc đặc, mặt cắt lồi**

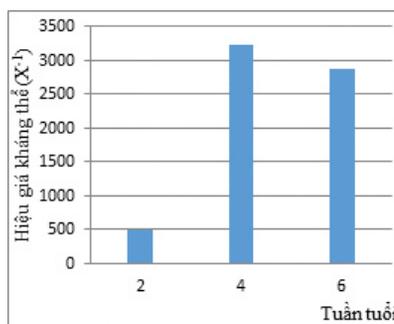
### 3.5. Độ tuổi thích hợp sử dụng vaccin

Kết quả khảo sát độ tuổi thích hợp cho sử dụng vaccin trên lợn con được trình bày qua hình 6.

Hình 6 cho thấy: Ở các lứa tuổi khi sử dụng vaccin, lợn đều sinh đáp ứng miễn dịch. Tuy nhiên, sử dụng vaccin cho lợn 2 tuần tuổi, khả



Xác định bằng IPMA



Xác định bằng kháng thể trung hoà

**Hình 6. Hiệu giá kháng thể của lợn ở các độ tuổi**  
(Ghi chú: a, b là khác nhau có ý nghĩa thống kê)

năng đáp ứng miễn dịch không cao, hiệu giá kháng thể còn thấp, kháng thể trung hoà gần như chưa xuất hiện. Sử dụng vaccin cho lợn từ 4 tuần tuổi trở lên, đáp ứng miễn dịch tốt, hiệu giá kháng thể trung bình là 1/3225,4 và 1/2873,5 với IPMA và 1/1,26 với kháng thể trung hoà. Không nhận thấy sự khác nhau về đáp ứng miễn dịch của nhóm lợn 4 tuần tuổi và 6 tuần tuổi ( $P>0,05$ ).

Như vậy, độ tuổi sử dụng vaccin thích hợp nhất cho lợn là từ 4 tuần tuổi trở lên. Nên tiêm vaccin

lúc 4 tuần tuổi để lợn sớm được bảo vệ với virus gây bệnh tai xanh.

### 3.6. Đáp ứng miễn dịch dịch thể của vaccin tai xanh nhược độc chủng PRRS Hanvet1.vn so với một số vaccin đang lưu hành trên thị trường

Kết quả so sánh hiệu quả sử dụng vaccin tai xanh nhược độc chủng Hanvet1.vn với một số loại vaccin nhược độc phòng bệnh PRRS khác trên thị trường được trình bày ở bảng 7.

**Bảng 7. Hiệu giá kháng thể của lợn được tiêm các loại vaccin phòng bệnh PRRS**

Loại vaccin	Hiệu giá kháng thể xác định bằng IPMA (X <sup>-1</sup> )	Hiệu giá kháng thể trung hoà (X <sup>-1</sup> )
Hanvet	2031,87	1,26
A	1280	1,12
B	100,79	0
C	507,97	0

Bảng 7 cho thấy: cả 4 loại vaccin đều gây đáp ứng miễn dịch cho lợn. Tuy nhiên hiệu giá kháng thể là khác nhau giữa các nhóm lợn được miễn dịch với các vaccin khác nhau khi sử dụng virus PRRS cường độ để kiểm tra hiệu giá kháng thể bằng IPMA. Các vaccin của Hanvet và Trung Quốc cho đáp ứng miễn dịch với hiệu giá kháng thể IPMA tương đối cao (1/2031,87 và 1/1280), trong khi đó 2 loại vaccin của châu Âu cho hiệu giá kháng thể rất thấp. Điều này có thể được lý giải bằng sự tương đồng kháng nguyên của các chủng virus vaccin với chủng virus cường độc

tại Việt Nam. Vaccin của Hanvet được chọn lọc và làm nhược độc từ chủng virus phân lập tại Việt Nam nên tính tương đồng kháng nguyên với chủng cường độ là rất cao (98% khi giải trình tự gen theo phiếu xét nghiệm số: VILAS 618-270501PTNTT/XN). Trong khi đó vaccin A sử dụng chủng virus có nguồn gốc từ chủng độc lực cao Trung Quốc thuộc dòng Bắc Mỹ, còn vaccin B sử dụng chủng virus từ chủng VP-046BIS thuộc dòng châu Âu, vì vậy tính kháng nguyên cũng có sự khác biệt với virus cường độ tại Việt Nam, vốn là một virus dòng Bắc Mỹ.

## IV. KẾT LUẬN

Vaccin tai xanh nhược độc chủng PRRS Hanvet1.vn có thể dùng theo đường tiêm bắp hoặc tiêm dưới da cho lợn (hiệu giá kháng thể IPMA đạt 1/3417,19).

Lợn có đáp ứng miễn dịch ngay ở ngày thứ 7 sau khi tiêm (hiệu giá kháng IPMA đạt 1/45,95) và sau tiêm 4 tuần, lợn được bảo hộ hoàn toàn khi công cường độc (hiệu giá kháng thể IPMA đạt 1/3177,77; hiệu giá kháng thể trung hòa đạt 1/1,32).

Kháng thể tồn tại được 6 tháng, sau tiêm 5 tháng, hiệu giá kháng thể IPMA còn 1/670,27 và hiệu giá kháng thể trung hòa còn 1/2,76.

Có thể tiêm cho lợn lúc 2 tuần tuổi, nhưng nên tiêm lúc 4 tuần tuổi để đạt được hiệu quả miễn dịch cao nhất.

Tiêm vaccin cho lợn mẹ, lợn con nhận được kháng thể thụ động, kháng thể này tồn tại đến 35 ngày tuổi sau sinh.

Tại thời điểm 28 ngày sau tiêm, vaccin tai xanh nhược độc chủng PRRS Hanvet1.vn có hiệu giá cao nhất so với các vaccin khác trên thị trường.

Sử dụng vaccin tai xanh nhược độc chủng PRRS Hanvet1.vn phòng được bệnh tai xanh một cách hiệu quả.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Ngọc Tiên, Tình hình dịch bệnh Tai xanh (PRRS) ở Việt Nam và phương hướng phòng trị bệnh. <http://www.vjol.info/index.php/kk-ty/article/viewFile/8301/7734>
2. Nguyễn Tùng, Tống Hữu Hiến, Nguyễn Trọng Cường, Nguyễn Văn Cẩm, 2011. Khảo nghiệm vaccin nhược độc chủng JXA1-R (Trung Quốc) phòng Hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản (PRRS). *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, tập XVIII, số 6.
3. Tô Long Thành, Nguyễn Hoàng Đăng, Tống Hữu Hiến, Bạch Quốc Thắng, Daniel Torrents, 2014. Đánh giá hiệu lực của vaccin Amervac PRRS đối với chủng virus PRRS gây bệnh độc lực cao ở Việt Nam. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, tập XXI số 1.

4. TCVN 8400-21:2014
5. Lopez O.J., Osorio F.A., 2004. Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 102: 155-163.
6. Lopez O.J., Olivera M. F, Alvarez Garcia E., Kwon B.J., Doster A., and Osorio F.A.: 2007, Protection against Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) Infection through Passive Transfer of PRRSV-Neutralizing Antibodies Is Dose Dependent. *Clinical and Vaccine Immunology*: 269-275.
7. Molina R. M., Cha S. -H., Chittick W., Lawson S., Murtaugh M.P., Nelson E.A., Christopher-Hennings J., Yoon K.J., Evan R., Rowland R.R.R., Wu W.-H., Zimmerman J.J., 2008. Immune response against porcine reproductive and respiratory syndrome virus during acute and chronic infection. *Vet. Immunol. Immunopathol*, 126 (3-4) (2008) 283-292.
8. Yoon I. J., Joo H.S., Gyal S. M., and Molitor T. W., 1994. A modified serum neutralization test for the detection of antibody to porcine reproductive and respiratory syndrome virus in swine sera. *J Vet Diagn Invest* 6:289-292 (1994)
9. Yoon K., Jeffrey J. Zimmerman, Sabrina L. Swenson, Michael J. McGinley, Ken A. Eernisse, Andy Brevik, Lydia L. Rhinehart, Merwin L. Frey, Howard T. Hill and Kenneth B. Platt: 1995, Characterization of the Humoral Immune Response to Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) virus Infection. *J VET Diagn Invest* 7: 305-312.
10. Xiuling Yu, Zhi Zhou, Zhen Cao, Jiajun Wu, Zhangqiu Zhang, Baiwan Xu, Chuanbin Wang, Dongmei Hu, Xiaoyu Deng, Wei Han, Xiaoxu Gu, Shou Zhang, Xiaoxia Li, Baoyiu Wang, Xinyan Zhai, Kegong Tian, 2015. Assessment of safety and efficacy of attenuated live vaccine base on high pathogenic porcine reproductive and respiratory syndroms virus. *Clinical and Vaccine Immunology*, volume 22, number 5, May 2015.

Ngày nhận 2-8-2018

Ngày phản biện 20-8-2018

Ngày đăng 1-1-2019