

KẾT QUẢ CÔNG CƯỜNG ĐỘC GÀ, VỊT, NGAN SAU KHI DÙNG VACCIN CÚM GIA CẦM TÁI TỔ HỢP H5N1 CHỦNG RE-5 CỦA TRUNG QUỐC

Nguyễn Văn Cẩm, Tống Hữu Hiến, Nguyễn Tùng và Cs
Trung tâm Chẩn đoán thú y trung ương

TÓM TẮT

Trung Quốc sắp tới sẽ không sản xuất vaccin cúm gia cầm H5N1 chủng Re-1, thay vào đó sản xuất vaccin cúm H5N1 chủng Re-5. Cục Thú y đã đồng ý cho nhập vaccin từ 2 Công ty của Trung Quốc để khảo nghiệm. Sau khi đã được đánh giá vaccin sử dụng an toàn, công việc tiếp theo là công cường độ đánh giá hiệu lực với chủng virut cúm cường độ đang lưu hành ở Việt Nam, kết quả cho thấy:

Gà, vịt, ngan sau khi tiêm phòng vaccin cúm H5N1 chủng Re5 của 2 công ty có kháng thể trung bình từ 4,1 - 8,3 log₂, đem công cường độ đều bảo hộ với tỷ lệ cao (90 - 100% với gà, 100% với vịt và ngan).

Gà, vịt, ngan tiêm phòng đủ hiệu giá kháng thể bảo hộ nhưng khi công cường độ vẫn không ngăn được hoàn toàn sự nhân lên của virut, sau ngày thứ 12 virut còn rất ít hoặc không còn thông qua tỷ lệ dương tính. Kết quả này rất khác biệt so với lô đối chứng.

Từ khóa : Cúm gia cầm, Vaccin H5N1 chủng Re-5, Khảo nghiệm, An toàn, Hiệu lực

RESULTS OF BIRD FLU H5N1 VIRULENT CHALLENGE AFTER VACCINATION WITH RECOMBINANT VACCINE VIRUS STRAIN Re-1 FROM CHINA

Nguyễn Văn Cẩm, Tống Hữu Hiến, Nguyễn Tùng và Cs
Summary

China has stop manufacturing bird flu vaccine based on the Re-1 virus strain but Re-5 instead. The Department of Animal Health of Vietnam has approved the importation of the new vaccine from two Chinese companies for trials. After testing and finding that the vaccines were safe, a virulent challenge using the current circulating H5N1 virus in Vietnam for efficacy assessment was conducted. The results of the challenge showed that :

Vaccinated chickens, mallard and Muskovy ducks with the vaccine from the two companies developed an immunity with the average HI titre varying from 4.1 to 8.3 log₂ and were highly protected from the virulent challenge (at the rate of 90-100% for chickens and 100% for ducks).

The vaccinated poultry survived the challenge but could not completely inhibited the virus multiplication as the virus was still found at 12th day after challenge. These results were quite different from those of the unvaccinated and challenged poultry.

Key words : Bird flu, H5N1, Vaccination, Strain Re-5, Trial, Efficacy.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh cúm gia cầm thể độc lực cao (HPAI) là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, có tốc độ lây lan rất nhanh với tỉ lệ chết cao trong đàn gia cầm nhiễm bệnh. Bệnh gây ra bởi virut cúm typ A, thuộc họ *Orthomyxoviridae* với nhiều typ khác nhau.

Virut gây bệnh cúm gia cầm xảy ra ở Việt Nam vào cuối năm 2003 đến nay là cúm A/H5N1, gây bệnh cho nhiều loại gia cầm và đã gây bệnh cho cả người. Mặc dù Chính phủ và các cơ quan, ban, ngành ngay từ khi dịch cúm gia cầm xảy ra đã có nhiều biện pháp tổng hợp để phòng chống dịch. Tuy nhiên, ở một nước có nền chăn nuôi còn lạc hậu, nhỏ lẻ, phân tán, dân trí thấp thì hiệu quả của các biện pháp đó chưa cao.

Được sự tư vấn của Tổ chức Thú y thế giới (OIE) và thực tế của Việt Nam, Chính phủ đã đồng ý sử dụng vaccin cúm gia cầm để phòng bệnh. Ngày 27/9/2005 Bộ trưởng bộ Nông nghiệp và PTNT đã ký Quyết định 2586/QĐ/BNN-TY phê duyệt “Dự án tiêm phòng cúm gia cầm”, thực hiện từ cuối năm 2005. Trong các chương trình giám sát, công cường độ sau tiêm phòng cho thấy tỷ lệ có miễn dịch trong các hộ gia đình khoảng 70-80%, trong các trại giống khoảng 80-90%, sự tương

đồng kháng nguyên của vaccin với virút đang lưu hành trong các ổ dịch từ trước tới nay cho thấy tỷ lệ bảo hộ cũng rất cao từ 80% trở lên đối với gà và vịt.

Vaccin dùng trong chương trình tiêm phòng quốc gia của Việt Nam được nhập từ Trung Quốc là vaccin cúm gia cầm H5N1 chủng Re-1. Trước thông tin Trung Quốc sắp tới sẽ không sản xuất vaccin cúm gia cầm H5N1 chủng Re-1 mà thay vào đó là sản xuất vaccin cúm H5N1 chủng Re-5. Để đánh giá vaccin mới này có hiệu quả với thực tế Việt Nam không, Cục Thú y đã đồng ý cho 2 công ty trong nước nhập vaccin này: RTD nhập vaccin cúm của Công ty Càn Nguyên Hạo sản xuất và NAVETCO nhập vaccin của Công ty Harbin sản xuất để khảo nghiệm. Trung tâm Kiểm nghiệm thuốc thú y trung ương 1 đã theo dõi sau tiêm phòng trên đàn gia cầm và thấy vaccin của 2 Công ty này đều an toàn. Trung tâm Chẩn đoán thú y trung ương được giao công cường độc để đánh giá hiệu quả của vaccin.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Gà, vịt, ngan đã tiêm vaccin vô hoạt tái tổ hợp H5N1 chủng Re-5 của 2 công ty sản xuất (Càn Nguyên Hạo và Harbin) - Trung quốc.
- Virut cúm gia cầm H5N1 độc lực cao clade 2.3.4 đang lưu hành ở Việt nam.
- Kháng nguyên, kháng huyết thanh chuẩn cúm gia cầm H5N1 cho phản ứng HI nhập từ Trung Quốc.
- Kit chiết tách, nhân gen và nguyên liệu thực hiện phản ứng Realtime PCR (rRT-PCR)

2.2 Phương pháp nghiên cứu:

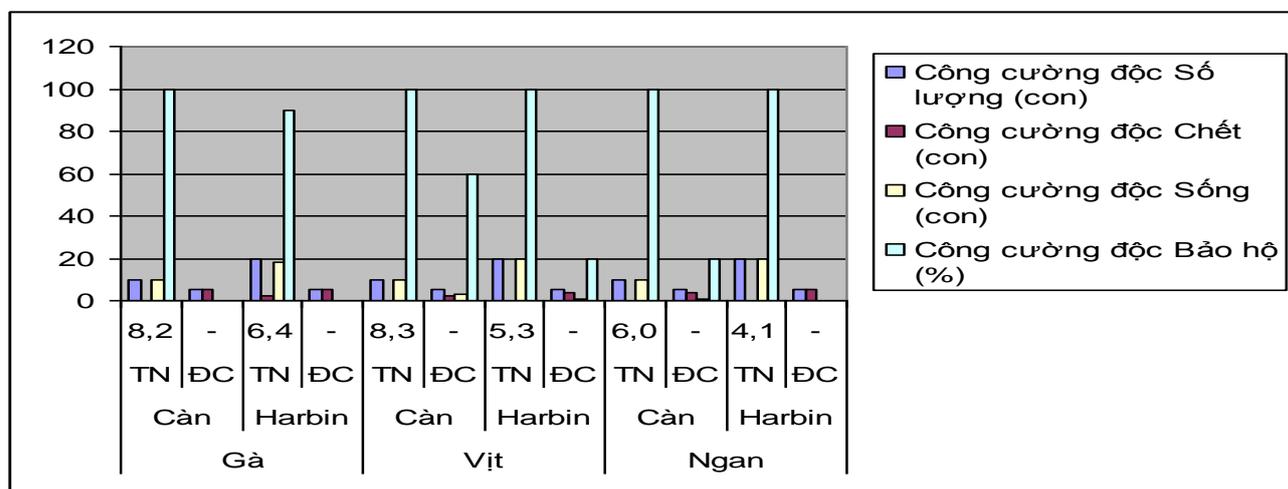
- Phương pháp xác định kháng thể bằng phản ứng HI trước khi công cường độc.
- Phương pháp xác định kháng nguyên bằng rRT-PCR sau khi công cường độc xác định việc nhân lên và hàm lượng virut theo thời gian;
- Phương pháp theo dõi lâm sàng sau khi công cường độc.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Bố trí thí nghiệm công cường độc trên cả gà, vịt và ngan đã tiêm phòng vaccin cúm H5N1 chủng Re-5 để đánh giá hiệu quả của vaccin. Trước khi công cường độc kiểm tra hiệu giá kháng thể bằng phản ứng HI. Kết quả được trình bày trong bảng 1 và hình 1:

Bảng 1. Hiệu quả của vaccin sau khi công cường độc:

Loại gia cầm	Công ty SX H5N1 Re-5	Lô	Hiệu giá HI (\log_2)	Công cường độc			
				Số lượng (con)	Chết (con)	Sống (con)	Bảo hộ (%)
Gà	Càn Nguyên Hạo	TN	8,2	10	0	10	100
		ĐC	-	5	5	0	0
	Harbin	TN	6,4	20	2	18	90
		ĐC	-	5	5	0	0
Vịt	Càn Nguyên Hạo	TN	8,3	10	0	10	100
		ĐC	-	5	2	3	60
	Harbin	TN	5,3	20	0	20	100
		ĐC	-	5	4	1	20
Ngan	Càn Nguyên Hạo	TN	6,0	10	0	10	100
		ĐC	-	5	4	1	20
	Harbin	TN	4,1	20	0	20	100
		ĐC	-	5	5	0	0



Hình 1: Hiệu quả của vaccin sau khi công cường độc:

Qua bảng 1 và hình 1 cho thấy:

- Gà trước khi công cường độc đều có hiệu giá kháng thể trung bình đủ bảo hộ từ 6,4 đến 8,2 \log_2 (ngưỡng bảo hộ $\geq 4 \log_2$). Theo dõi về lâm sàng cho thấy gà sau khi công cường độc của cả 2 công ty sản xuất vaccin đều được bảo hộ: Công ty Càn Nguyên Hạo là 100%, Công ty Harbin là 90% (quy định vaccin đạt yêu cầu phải bảo hộ từ 75% trở lên), trong khi đó lô đối chứng không dùng vaccin công cường độc gà chết 100%. Như vậy vaccin sản xuất ở 2 nơi đều có bảo hộ tốt với virut cường độc thực địa của Việt nam và tỷ lệ thuận với hiệu giá kháng thể kiểm tra trước khi công cường độc.

- Vịt trước khi công cường độc đều có hiệu giá kháng thể trung bình đủ bảo hộ từ 5,3 đến 8,3 \log_2 (ngưỡng bảo hộ $\geq 4 \log_2$). Theo dõi về lâm sàng cho thấy vịt sau khi công cường độc của cả 2 công ty sản xuất vaccin đều được bảo hộ 100%, trong khi đó lô đối chứng không dùng vaccin của Công ty Càn Nguyên Hạo chết 40% (các con còn lại đều ốm rất nặng), của công ty Harbin chết 80%. Kết quả của chúng tôi cũng phù hợp với các tài liệu nghiên cứu trước đây về cúm H5N1 ở vịt đã được công bố. Như vậy có thể đánh giá vaccin sản xuất ở 2 nơi đều có bảo hộ tốt với virut cường độc thực địa của Việt nam và cũng tỷ lệ thuận với hiệu giá kháng thể kiểm tra trước khi công cường độc.

- Ngan trước khi công cường độc đều có hiệu giá kháng thể trung bình đủ bảo hộ từ 4,1 đến 6,0 \log_2 (ngưỡng bảo hộ $\geq 4 \log_2$). Theo dõi về lâm sàng cho thấy ngan sau khi công cường độc của cả 2 công ty sản xuất đều được bảo hộ 100%, trong khi đó lô đối chứng không dùng vaccin của Công ty Càn Nguyên Hạo chết 80%, của công ty Harbin chết 100% (quy định vaccin đạt yêu cầu phải bảo hộ từ 75% trở lên). Như vậy vaccin sản xuất ở 2 nơi đều có bảo hộ tốt với virut cường độc thực địa của Việt nam và tỷ lệ thuận với hiệu giá kháng thể kiểm tra trước khi công cường độc.

Để theo dõi sự nhân lên của virut cúm H5N1 trong cơ thể và tỷ lệ dương tính trong đàn sau khi công cường độc chúng tôi lấy dịch swab ở hầu họng sau các ngày thứ 4 và ngày thứ 12 và những con đã chết trước đó để kiểm tra bằng phương pháp rRT-PCR. Kết quả được trình bày trong bảng 2:

Bảng 2: Kết quả phát hiện virut H5N1 sau khi công cường độc

Loại gia cầm	Công ty sản xuất	Lô	rRT-PCR				
			Số con TN	Swab sau 4 ngày (+)		Swab sau 12 ngày (+)	
				Số con/số kiểm tra	%	Số con/số kiểm tra	%
Gà	Càn Nguyên Hạo	TN	10	3/10	30,0	0/10	0,0
		ĐC	5	5/5	100,0		
	Harbin	TN	20	12/20	60,0	6/18	33,3
		ĐC	5	5/5	100,0		
Vịt	Càn Nguyên Hạo	TN	10	3/10	30,0	0/10	0,0

	Harbin	ĐC	5	5/5	100,0	3/3	100,0
		TN	20	2/20	10,0	0/20	0,0
		ĐC	5	5/5	100,0	1/1	
Ngan	Cần Nguyên Hạo	TN	10	10/10	100,0	10/10	100,0
		ĐC	5	5/5	100,0	1/1	
	Harbin	TN	20	13/20	65,0	4/20	20,0
		ĐC	5	5/5	100,0		

Qua bảng 2 cho thấy:

- Kiểm tra sự có mặt của virus cúm công sau 4 và 12 ngày cho thấy: vaccin sản xuất của Công ty Cần Nguyên Hạo sau 4 ngày lô tiêm vaccin có 3/10 gà dương tính chiếm tỷ lệ 30%, còn sau 12 ngày tất cả gà đều âm tính. Vaccin sản xuất của Công ty Harbin sau 4 ngày có 12/20 (2 con đã chết ngày thứ 3) con dương tính chiếm tỷ lệ 60% và sau 12 ngày có 6/18 con dương tính chiếm tỷ lệ 33,3%.

- Kiểm tra sự có mặt của virus Cúm công sau 4 và 12 ngày cho thấy: vaccin sản xuất của Công ty Cần Nguyên Hạo sau 4 ngày lô tiêm vaccin có 3/10 vịt dương tính chiếm tỷ lệ 30%, lô đối chứng 5/5 con dương tính chiếm tỷ lệ 100%, còn sau 12 ngày tất cả vịt lô dùng vaccin đều âm tính, lô đối chứng 3/3 con dương tính chiếm tỷ lệ 100%. Vaccin sản xuất của Công ty Harbin 4 ngày sau công có 2/20 mẫu dương tính chiếm tỷ lệ 20%, lô đối chứng 5/5 mẫu dương tính chiếm tỷ lệ 100% và sau 12 ngày toàn bộ vịt tiêm vaccin đều âm tính trong khi đó lô đối chứng dương tính.

- Kiểm tra sự có mặt của virut cúm công sau 4 và 12 ngày cho thấy: vaccin sản xuất của Công ty Cần Nguyên Hạo sau 4 ngày và sau 12 ngày 100% ngan đều dương tính, lô đối chứng cũng 100% số con dương tính. Vaccin sản xuất của Công ty Harbin 4 ngày sau công có 13/20 mẫu dương tính chiếm tỷ lệ 65%, và sau 12 ngày 4/20 dương tính chiếm tỷ lệ 20% trong khi đó ngan lô đối chứng chết toàn bộ trong ngày thứ 4 cũng kiểm tra 5/5 con dương tính chiếm tỷ lệ 100%.

Tóm lại cả 3 loại gia cầm (gà, vịt, ngan) qua kết quả công cường độc đều cho thấy mặc dù đã được tiêm vaccin, có đủ kháng thể bảo hộ nhưng virut khi vào cơ thể vẫn nhân lên và tỷ lệ dương tính khá nhiều sau ngày thứ 4 và không hoặc có ít dương tính sau ngày 12. Kết quả này rất khác biệt so với lô đối chứng.

III. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

3.1. Kết luận:

- Gà, vịt, ngan sau khi tiêm phòng vắc xin cúm H5N1 chủng Re5 của 2 công ty Trung Quốc sản xuất có kháng thể trung bình từ 4,1 - 8,3 log₂ đem công cường độc với chủng virut cúm đang lưu hành tại Việt Nam đều bảo hộ với tỷ lệ cao (90 - 100% với gà, 100% với vịt và ngan).

- Gà, vịt, ngan tiêm phòng vaccin đủ hiệu giá kháng thể bảo hộ nhưng khi công cường độc vẫn không ngăn được hoàn toàn sự nhân lên của virut, sau ngày thứ 12 virut còn rất ít hoặc không còn qua tỷ lệ dương tính, rất khác biệt so với lô đối chứng.

- Kết quả công cường độc trên gà, vịt và ngan cho thấy chất lượng vaccin H5N1 chủng Re5 sản xuất ở Công ty Cần Nguyên Hạo và Công ty Harbin - Trung Quốc có chất lượng tương đương nhau.

3.2. Đề nghị :

Kháng nguyên và kháng huyết thanh chuẩn làm phản ứng HI đều nhập từ Trung Quốc, nếu cơ quan chức năng cho nhập vaccin này dùng ở Việt Nam đề nghị cũng cho nhập kháng nguyên, kháng huyết thanh chuẩn để phục vụ cho công tác giám sát sau tiêm phòng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Báo cáo tổng kết cúm gia cầm của Bộ Nông nghiệp và PTNT năm 2006, 2008.
2. Báo cáo tổng kết của Cục Thú y năm 2005, 2006, 2007, 2008, 2009
3. Báo cáo của Cục Thú y tại hội thảo khu vực về cúm gia cầm ngày 25/10/2010

4. Các văn bản chỉ đạo phòng, chống cúm gia cầm của Cục Thú y, của Bộ Nông nghiệp và PTNT từ năm 2004 - 2010.
5. Báo cáo khảo nghiệm vacxin H5N1 chủng Re-5 của Công ty RTD do Công ty Cà Nguyên Hạo sản xuất năm 2010.
6. Báo cáo khảo nghiệm vacxin H5N1 chủng Re-5 của Công ty NAVETCO do Công ty Harbin sản xuất năm 2010.