

KHẢ NĂNG SINH MIỄN DỊCH VÀ BẢO HỘ LÂM SÀNG CỦA VACCIN CHẾ TẠO TỪ CHỦNG PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 2 PHÂN LẬP TỪ HEO TẠI VIỆT NAM

Lê Thị Thu Phương¹, Nguyễn Ngọc Hải², Nguyễn Thị Thu Hồng¹, Nguyễn Ngọc Hồng Phúc¹, Nguyễn Tấn Liêm¹, Trần Xuân Hạnh¹, Phạm Hào Quang¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm đánh giá khả năng sinh miễn dịch và bảo hộ lâm sàng của vaccin vô hoạt nhũ dầu từ chủng NAVET-DongNai2/2009 (PCV2b) trên heo. Heo được tiêm vaccin chế tạo từ chủng NAVET-DongNai2/2009 bắt đầu có sự chuyển đổi kháng thể ở ngày thứ 14 sau khi tiêm. Hiệu giá kháng thể tổng cộng và kháng thể trung hòa ở nhóm heo được tiêm vaccin tương ứng là $10,31 \pm 0,52 \log_2$ và $7,00 \pm 0,89 \log_2$; cao hơn rất nhiều so với nhóm đối chứng $5,14 \pm 0,58 \log_2$ và $0 \log_2$ ($P < 0,05$) tại thời điểm ngày thứ 28 sau khi tiêm. Sau khi công cường độc, nhóm heo được tiêm vaccin đều khỏe mạnh, tăng trọng bình thường, có thời gian virus huyết ngắn, bài thải virus qua dịch mũi và phân với tỷ lệ thấp hơn so với nhóm heo đối chứng. Tỷ lệ heo mắc PMWS trên lô được tiêm vaccin là 0/6 và lô đối chứng là 1/4. Kết quả nghiên cứu cho thấy vaccin vô hoạt nhũ dầu này có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch cũng như bảo hộ heo về mặt lâm sàng chống lại virus PCV2 genotype 2b.

Từ khóa: Porcine circovirus type 2, bệnh circovirus trên heo, tính sinh miễn dịch, bảo hộ lâm sàng.

Immunogenicity and clinical protection of vaccine produced from porcine circovirus type 2 (PCV2) strain isolating from pig in Viet Nam

Le Thi Thu Phuong, Nguyen Ngoc Hai, Nguyen Thi Thu Hong, Nguyen Ngoc Hong Phuc, Nguyen Tan Liem, Tran Xuan Hanh, Pham Hao Quang

SUMMARY

The objective of this study aimed at determining the immunogenicity and clinical protection of the inactivated oil emulsion PCV2 vaccine produced from NAVET-DongNai2/2009 (PCV2b) virus strain in the pigs vaccinated with this vaccine. The studied result showed that seroconversion of pig started at the 14th day after injection (dpi). The titers of total antibodies and neutralizing antibodies in the vaccinated pig group were much higher than in the control group at the 28th day after injection: $10.31 \pm 0.52 \log_2$ and $7.00 \pm 0.89 \log_2$ vs $5.14 \pm 0.58 \log_2$ and $0 \log_2$ ($P < 0.05$), respectively. The vaccinated pigs had no increase in body temperature, without any clinical signs during the experiment. After challenge the vaccinated pigs reduced PCV2 load in the blood, lymphoid tissues, nasal and rectal swabs compared to that of the control pigs. The proportion of the vaccinated and control pig groups suffered with PMWS were 0/6 and 1/4, respectively. The studied results indicated that this inactivated oil emulsion vaccine induced immunological responses in the vaccinated pigs that appeared to provide clinical protection against PCV2b infection.

Keywords: Porcine circovirus type 2, porcine circovirus diseases, immunogenicity, clinical protection.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Porcine circovirus type 2 (PCV2) liên quan đến một số bệnh trên heo, gọi chung là các bệnh do

circovirus trên heo (porcine circovirus diseases – PCVD) (Segalés, 2012). Trong đó, đáng lưu ý nhất là hội chứng còi trên heo sau cai sữa (postweaning multisystemic wasting syndrome

¹ Công ty Cổ phần thuốc thú y trung ương (NAVETCO)

² Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh

- PMWS) làm gia tăng tỷ lệ heo chết và loại thải, tăng tiêu tốn thức ăn và giảm tăng trọng, vì thế gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến hiệu quả kinh tế trong chăn nuôi heo. Ngoài ra, PCV2 còn gây ảnh hưởng bất lợi lên đáp ứng miễn dịch sau tiêm vaccin phòng hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản trên heo (PRRS) (Opriessnig và ctv, 2006).

Trên thế giới có rất nhiều nghiên cứu về vaccin phòng PMWS trên heo. Các loại vaccin PCV2 thương mại hiện nay trên thế giới tập trung chủ yếu vào 3 loại đó là vaccin vô hoạt PCV2 toàn phần, vaccin vô hoạt thể ghép PCV1-2, vaccin tiểu đơn vị dựa vào protein capsid của PCV2. Khả năng phòng bệnh PMWS bằng vaccin được chứng minh thông qua các chỉ tiêu như: Cải thiện tăng trọng bình quân hàng ngày, giảm tỷ lệ chết, tỷ lệ loại thải, giảm lượng virus bài thải cũng như giảm bệnh tích vi thể ở các mô bạch huyết (Fraile và ctv, 2012; Seo và ctv, 2014). Các nghiên cứu đánh giá hiệu quả tiêm vaccin phòng PCV2 trên heo ở Việt Nam cho thấy, việc tiêm vaccin PCV2 giúp bảo vệ heo chống lại các triệu chứng lâm sàng bệnh, giảm tình trạng virus huyết, giảm tỷ lệ chết và loại thải cũng như cải thiện năng suất so với heo không được tiêm vaccin (Trần Thị Dân và ctv, 2013; Đỗ Tiến Duy và ctv, 2021).

Ở Việt Nam, cũng đã có một số nghiên cứu hướng đến việc sản xuất vaccin PCV2 từ chủng phân lập thực địa trong nước. Tuy nhiên, đến nay vẫn chưa có vaccin PCV2 nào do Việt Nam nghiên cứu được thương mại hóa và nguồn cung vaccin phòng bệnh PMWS đều phụ thuộc vào các công ty nước ngoài. Do đó, việc nghiên cứu chế tạo vaccin từ chủng PCV2 lưu hành ở Việt Nam là cần thiết, nhằm chủ động nguồn cung vaccin cũng như góp phần kiểm soát hiệu quả bệnh PMWS trong chăn nuôi. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả đánh giá khả năng sinh miễn dịch và bảo hộ của vaccin PCV2 vô hoạt nhũ dầu từ chủng NAVET-DongNai2/2009 (PCV2b) bằng phương pháp gây miễn dịch và công cường độc trên heo.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Tế bào dòng thận heo PK15A (không nhiễm PCV1) do Phòng thí nghiệm sức khỏe động vật quốc gia Úc (Australian Animal Health Laboratory – AAHL) cung cấp.

Virus: Chủng NAVET-DongNai2/2009 (PCV2b) đã được khảo sát các đặc tính di truyền, đặc tính nuôi cấy trên môi trường tế bào PK15A (Lê Thị Thu Phương và ctv, 2018).

Động vật: Heo 3 tuần tuổi (âm tính với PCV2, CSFV, PRRSV và *Mycoplasma hyopneumoniae* được xác định bằng phương pháp PCR và RT-PCR) có kháng thể thụ động IPMA thấp ($5,64\log_2 - 6,64\log_2$) được chọn lựa từ 2 nái không được tiêm vaccin PCV2.

2.2. Chuẩn bị vaccin

Virus chủng NAVET-DongNai2/2009 ở lần tiếp đời thứ 8 (hiệu giá $6\log_{10}$ TCID₅₀/ml) được vô hoạt bằng binary ethylenimine (BEI) ở nhiệt độ 37°C trong vòng 24 giờ.

Phối trộn vaccin: Virus sau khi vô hoạt (đã được kiểm tra vô hoạt hoàn toàn) được phối trộn với nhũ dầu theo công thức nhũ của Công ty NAVETCO.

Liều tiêm: 2 ml vaccin/liều, chứa lượng kháng nguyên PCV2 $6,0\log_{10}$ TCID₅₀/liều (hiệu giá virus trước khi vô hoạt).

2.3. Thí nghiệm trên heo

Bố trí thí nghiệm: 10 heo sau cai sữa, 4 tuần tuổi, được chia ngẫu nhiên vào 2 lô: lô thí nghiệm (ký hiệu TN3) gồm 6 heo (các heo có ký hiệu 1TN3, 2TN3, 3TN3, 4TN3, 5TN3, 7TN3) mỗi heo được tiêm bắp thịt 1 liều vaccin (2 ml/liều) (như mô tả ở mục 2.2) và lô đối chứng (ký hiệu ĐC3) gồm 4 heo (các heo có ký hiệu 6ĐC3, 8ĐC3, 9ĐC3, 10ĐC3) được tiêm 2 ml dịch chiết tế bào PK15A. Sau tiêm 28 ngày, tất cả 10 heo đều được công cường độc bằng cách nhỏ mũi 2 ml và tiêm bắp 2 ml hỗn dịch chứa chủng virus PCV2 NAVET-DongNai2/2009 ở tiếp đời thứ 6 với hiệu giá $5,33\log_{10}$ TCID₅₀/ml.

Chỉ tiêu theo dõi:

Theo dõi biểu hiện lâm sàng và thân nhiệt heo hàng ngày từ thời điểm 3 ngày trước tiêm vaccine PCV2 đến kết thúc thí nghiệm lúc 28 ngày sau công độc.

Thể trạng và tăng trọng: Cân trọng lượng heo lúc 0 và 28 ngày sau tiêm vaccine (day post injection, dpi) và 28 ngày sau công độc (day post challenge, dpc).

Đáp ứng miễn dịch: Kháng thể chống PCV2 trong huyết thanh được kiểm tra hàng tuần vào lúc 0, 7, 14, 21, 28 dpi và 7, 14, 21 và 28 dpc.

Virus huyết và bài thải virus: lấy mẫu huyết thanh kiểm tra tình trạng virus huyết, lấy mẫu ngoáy mũi và trực tràng để xác định tình trạng bài xuất virus qua dịch mũi và phân ở các thời điểm 0, 7, 14, 21 và 28 dpc.

Bệnh tích đại thể và vi thể: lúc 28 ngày sau công độc, dựa vào trọng lượng của heo và biểu hiện lâm sàng chọn 2 heo ở lô thí nghiệm (heo 4TN3 và 7TN3) và 2 heo ở lô đối chứng (heo 6ĐC3 và 9ĐC3) để mổ khảo sát bệnh tích.

Xác định sự hiện diện của PCV2 và hiệu giá virus ở các mô phổi, hạch, lách và amidan của các heo mổ khảo sát bệnh tích.

Các tiêu chí đánh giá:

Heo được đánh giá điểm thể trạng theo thang điểm từ 1 đến 4 theo Đỗ Tiến Duy và Nguyễn Tất Toàn (2013) như sau 1: heo gầy/ suy nhược/ lông da xù xì; 2: heo hơi gầy, lông da khô; 3: heo có thể trạng bình thường/ lông da bóng mượt; 4: heo mập hơn bình thường.

Heo được đánh giá là có biểu hiện còi khi có khối lượng thấp hơn 25% so với khối lượng trung bình của nhóm (Kixmöller và ctv, 2008).

Heo được đánh giá là có biểu hiện PMWS khi và chỉ khi hội tụ 3 điều kiện: (1) có biểu hiện còi, (2) suy giảm lym-phô nghiêm trọng và thay thế mô bào của các nang trong các mô lym-phô, (3) có sự hiện diện của kháng nguyên PCV2 hoặc acid nhân của PCV2 bên trong các bệnh tích vi thể đặc trưng (Sorden, 2000).

2.4. Các kỹ thuật dùng trong nghiên cứu*Các phương pháp huyết thanh học:*

Phương pháp miễn dịch peroxidase trên tế bào một lớp (IPMA) xác định kháng thể tổng cộng đặc hiệu chống PCV2 (total antibodies – TA) được thực hiện theo quy trình của AAHL. Hiệu giá kháng thể IPMA của mẫu kiểm tra $\geq 5,32\log_2$ (1/40) được đánh giá là dương tính với kháng thể chống PCV2.

Phương pháp ELISA: Sử dụng kit thương mại Ingezim CIRCO IgG (Ingenasa, Madrid, Tây Ban Nha) để phát hiện kháng thể IgG chống PCV2. Thực hiện quy trình phản ứng theo hướng dẫn của nhà cung cấp.

Phương pháp trung hòa virus (viral neutralization test, VNT) xác định kháng thể trung hòa (neutralizing antibodies – NA): được thực hiện theo quy trình của Fort và ctv (2007). Virus dùng trong phản ứng được pha loãng ở nồng độ 400 TCID₅₀/50 μ l. Phần trăm virus được trung hòa (%VNT) được tính là số đảo ngược của độ pha loãng huyết thanh cao nhất làm giảm 50% (VNT50) số tế bào nhiễm PCV2.

Phát hiện PCV2 trong mẫu huyết thanh, mẫu mô, dịch mũi và phân bằng phương pháp PCR: sử dụng bộ kit QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN) (code 51304) để tách chiết ADN; cặp mồi capFw 5'-CTT TTT TAT CAC TTC GTA ATG-3' và capRw 5'-CGC ACT TCT TTC GTT TTC-3' (Fort và ctv, 2007) khuếch đại toàn bộ ORF2 của PCV2. Sản phẩm khuếch đại có kích thước 760 bp.

Phương pháp chuẩn độ PCV2: hiệu giá PCV2 trong mẫu mô (huyết dịch mô 10%) được chuẩn độ trên môi trường tế bào PK15A theo quy trình của AAHL. Hiệu giá virus PCV2 trong mẫu mô được tính theo phương pháp Reed-Muench (1938) và biểu thị dưới dạng log₁₀ TCID₅₀.

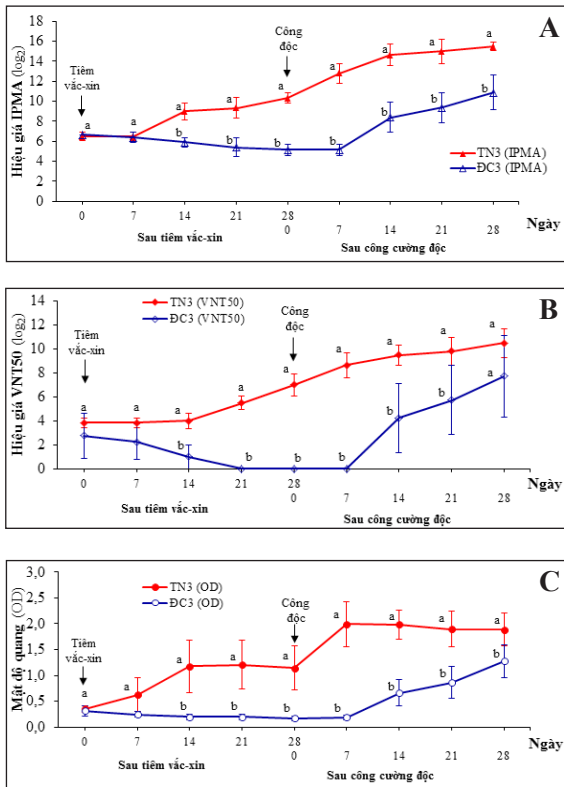
2.5. Xử lý thống kê

Phân tích ANOVA để đánh giá sự khác biệt giữa các lô thí nghiệm: hiệu giá kháng thể, OD và tăng trọng. Các số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel và phần mềm thống kê Minitab phiên bản 16.2.0.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá về đáp ứng miễn dịch

Kết quả diễn biến đáp ứng kháng thể sau tiêm vaccin và sau công cường độc được thể hiện qua hình 1.



Hình 1. Diễn biến đáp ứng kháng thể chống PCV2 trên heo

(A): Kháng thể tổng cộng; (B): Kháng thể trung hòa; (C): Mật độ quang (OD) ELISA phát hiện kháng thể IgG; TN3: lô thí nghiệm, được tiêm vaccin; ĐC3: lô đối chứng; a, b: khác biệt thống kê với $P < 0,05$.

Kháng thể tổng cộng đặc hiệu chống PCV2: có sự chuyển biến kháng thể tổng cộng trên nhóm heo được tiêm vaccin, hiệu giá IPMA từ $6,48 \pm 0,41\log_2$ ở 0 dpi tăng lên $8,98 \pm 0,82\log_2$ lúc 14 dpi và lên đến $10,31 \pm 0,52\log_2$ ở 28 dpi. Trong khi đó, tất cả heo ở lô đối chứng có hiệu giá kháng thể (HGKT) tổng cộng giảm từ $6,64\log_2$ xuống còn $5,14 \pm 0,58\log_2$ ở 28 dpi. Sau công cường độc, HGKT tổng cộng với

PCV2 của heo ở lô thí nghiệm tăng mạnh ở 7 dpc, tiếp tục tăng và duy trì ở mức cao từ $12,81 \pm 0,98\log_2$ đến $15,48 \pm 0,41\log_2$ đến kết thúc thí nghiệm lúc 28 dpc. Điều này có thể do các heo này được tiếp xúc với kháng nguyên PCV2 lần 2 nên đáp ứng miễn dịch diễn ra nhanh và mạnh hơn. Ở lô đối chứng, bắt đầu có sự chuyển đổi kháng thể tổng cộng xảy ra vào thời điểm 14 dpc, sau đó HGKT tiếp tục tăng nhưng không tăng nhanh và mạnh như trên lô thí nghiệm (hình 1A).

Kháng thể trung hòa (NA): heo sau khi được tiêm vaccin 21 ngày mới bắt đầu có sự chuyển đổi rõ ràng từ $3,83 \pm 2,75\log_2$ lên $5,50 \pm 0,55\log_2$, so với kháng thể tổng cộng và kháng thể IgG thì kháng thể NA xuất hiện muộn hơn. Sau khi công cường độc, kháng thể NA ở lô heo được tiêm vaccin tiếp tục tăng, trung bình lên đến $10,50 \pm 1,22\log_2$ ở 28 dpc. Trong khi đó ở lô đối chứng phải đến 14 ngày sau công cường độc mới có sự chuyển đổi kháng thể NA (từ 0 lên $4,25 \pm 2,87\log_2$), sau đó tăng nhanh lên đến $7,75 \pm 3,40\log_2$ ở 28 dpc; nhưng hiệu giá này vẫn thấp hơn so với lô heo được tiêm vaccin (hình 1B).

Kháng thể IgG: cũng có xu hướng diễn biến như kháng thể tổng cộng và kháng thể trung hòa. So với kháng thể tổng cộng và kháng thể trung hòa, sự chuyển đổi kháng thể IgG ở lô heo được tiêm vaccin xảy ra khá sớm ở 7 dpi, trong khi đó ở lô đối chứng IgG âm tính đến 28 dpi. Sau công cường độc, IgG tăng nhanh từ 7 dpc và duy trì mức cao đến 28 dpc ở lô được tiêm vaccin, còn ở lô đối chứng mãi đến 14 dpc mới có sự chuyển đổi kháng thể IgG với mức đáp ứng thấp hơn so với lô được tiêm vaccin (hình 1C).

Kháng thể trung hòa chống PCV2 có vai trò rất quan trọng trong việc bảo vệ và loại trừ PCV2 trên heo (Meerts và ctv, 2006; Fort và ctv, 2007). Một số tác giả đã chứng minh có mối tương quan thuận giữa kháng thể tổng cộng, kháng thể trung hòa và IgG chống PCV2 (Meerts và ctv, 2006; Fort và ctv, 2007, 2008). Kết quả nghiên cứu của Pileri và ctv (2014) cho thấy có mối liên hệ chặt giữa phương pháp IPMA và ELISA trong việc phát hiện kháng thể chống PCV2, với

$r_2 \geq 0,90$. Trong thực tế, phương pháp IPMA và phương pháp trung hòa tương đối phức tạp khi áp dụng trong chẩn đoán thường quy. Do đó, có thể sử dụng phương pháp ELISA phát hiện kháng thể IgG chống PCV2 để đánh giá đáp ứng miễn dịch thể chống PCV2 trên heo.

Kết quả xử lý thống kê so sánh HGKT tổng cộng IPMA và OD (ELISA phát hiện IgG) cho thấy không có sự khác biệt về HGKT IPMA và OD giữa lô thí nghiệm và lô đối chứng thời điểm 0 và 7 dpi ($P > 0,05$). Tuy nhiên, có sự khác biệt rất có ý nghĩa về HGKT IPMA và OD phát hiện IgG giữa 2 lô từ thời điểm 14 dpi đến kết thúc thí nghiệm lúc 28 dpi ($P < 0,01$). Ngoài ra, không có sự khác biệt về trung bình hiệu giá kháng thể NA giữa lô thí nghiệm và lô đối chứng ở các thời điểm 0 dpi, 7 dpi và 28 dpi ($P > 0,05$). Các thời điểm còn lại (14, 21 và 28 dpi; 7, 14, 21 dpi) có sự khác biệt có ý nghĩa về trung bình hiệu giá kháng thể NA giữa 2 lô ($P < 0,05$). Kết quả này cho thấy vaccin từ chủng NAVET-DongNai2/2009 có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch rất tốt trên heo thí nghiệm.

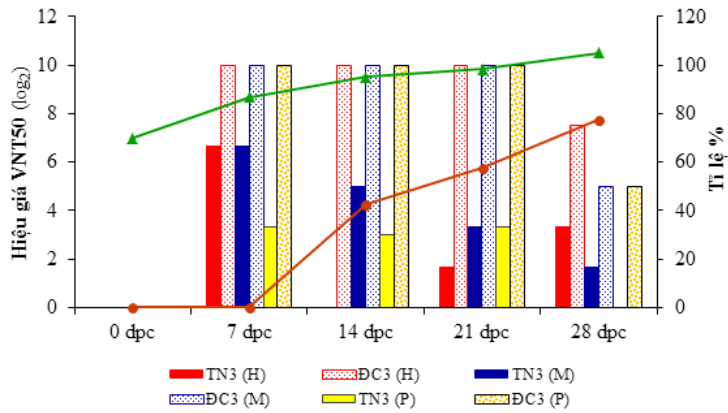
3.2. Virus huyết và sự bài xuất PCV2 qua dịch mũi và phân

Ở thời điểm trước tiêm vaccin và trước khi công cường độc, tất cả heo ở lô thí nghiệm và lô đối chứng đều âm tính với PCV2 trong huyết thanh, dịch mũi và mẫu phân. Sau công cường độc, ở nhóm heo thí nghiệm, tình trạng virus huyết qua các thời điểm khảo sát ghi nhận được như sau: 4 heo có virus huyết ở thời điểm 7 dpi và sau đó không phát hiện sự hiện diện PCV2 trong huyết thanh của 4 heo này; 1 heo khác (7TN3) có virus huyết ở 21 dpi, đặc biệt có 1 heo (1TN3) mãi đến 28 dpi mới xuất hiện tình trạng virus huyết. Trong khi đó, nhóm heo đối chứng sau công cường độc xuất hiện tình trạng virus huyết khá sớm, ở 7 dpi với tỷ lệ 100% (4/4 heo) và kéo dài đến 28 dpi với tỷ lệ 75% (3/4 heo) (bảng 1). Điều này có nghĩa là vaccin được điều chế từ chủng PCV2 NAVET-DongNai2/2009 đã tạo miễn dịch trên heo giúp làm giảm tình trạng virus huyết sau khi công độc.

Bảng 1. Kết quả xét nghiệm PCV2 trong huyết thanh, dịch mũi và phân trên heo sau công cường độc

Lô	KH heo	Sau công cường độc (ngày)															
		0			7			14			21			28			
		H	M	P	H	M	P	H	M	P	H	M	P	H	M	P	
TN3 (tiêm vaccin)	1TN3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	2TN3	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
	3TN3	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	4TN3	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-
	5TN3	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-
	7TN3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-
	Tổng (+)	0	0	0	4	4	2	0	3	3	1	3	2	2	1	0	
ĐC3 (đối chứng)	6ĐC3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
	8ĐC3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	9ĐC3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10ĐC3	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Tổng (+)	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	2	2

Ghi chú: H: huyết thanh, M: dịch mũi, P: mẫu phân, +: dương tính, -: âm tính



Hình 2. Tỷ lệ dương tính PCV2 trong huyết thanh, dịch mũi và phân; hiệu giá kháng thể trung hòa chống PCV2 ở heo sau công cường độc

TN3: lô thí nghiệm; ĐC3: lô đối chứng, H: huyết thanh, M: dịch mũi, P: mẫu phân.

Tỷ lệ dương tính PCV2 trong dịch mũi ở lô heo thí nghiệm cao nhất lúc 7 dpc, với 4/6 heo chiếm tỷ lệ 66,67%; sau đó tỷ lệ này giảm dần và chỉ còn 16,67% (1/6 heo) lúc 28 dpc. So với dịch mũi, mẫu phân có tỷ lệ dương tính PCV2 thấp hơn, với tỷ lệ cao nhất 50% lúc 14 dpc và 28 dpc không phát hiện PCV2 trong mẫu phân. Trong khi đó ở nhóm heo đối chứng, 100% (4/4 heo) dương tính với PCV2 trong dịch mũi và mẫu phân vào các thời điểm 7, 14 và 21 dpc; đến 28 dpc tỷ lệ này giảm xuống còn 50% (2/4 heo) (hình 2). Kết quả trên cho thấy, tỷ lệ heo bài thải virus qua dịch mũi và qua phân sau công cường độc ở heo được tiêm vaccin giảm đáng kể so với nhóm heo đối chứng. Kết quả này phù hợp với nhận định của một số tác giả như Fort và ctv (2009), Fraile và ctv (2012), Seo và ctv (2014). Việc tiêm vaccin PCV2 trên heo không những làm giảm tình trạng cũng như thời gian virus huyết, mà còn giúp làm giảm virus bài thải qua dịch mũi và qua phân trong điều kiện thí nghiệm (Fort và ctv, 2009; Seo và ctv, 2014), hay làm giảm bài thải virus qua phân trong điều kiện thực địa (Fraile và ctv, 2012).

Tại thời điểm công cường độc, heo được tiêm vaccin có hiệu giá kháng thể trung hòa trung bình là $7,0 \pm 0,89\log_2$. Sau công cường độc, có sự gia tăng kháng thể trung hòa và hiệu giá này đạt $10,50 \pm 1,22\log_2$ lúc 28 dpc; cùng

với đó là thời gian virus huyết ngắn, hoặc trì hoãn sự xuất hiện tình trạng virus huyết, cũng như giảm tỷ lệ heo bài thải virus qua dịch mũi và qua phân. Ngược lại, ở nhóm heo đối chứng, tại thời điểm 0 dpc không có kháng thể trung hòa, 100% (4/4) heo có virus huyết và bài thải virus qua dịch mũi và qua phân ở giai đoạn 7 – 21 dpc. Đến 28 dpc, khi lượng kháng thể trung hòa tăng lên $7,75 \pm 3,40\log_2$; thì heo có virus huyết giảm xuống còn 75% (3/4), và bài thải virus qua dịch mũi và phân xuống còn 50% (2/4) (hình 2). Điều này cho thấy, miễn dịch được tạo thành từ vaccin dựa trên chủng NAVET-DongNai2/2009 đã giúp hạn chế sự nhân lên của virus PCV2 công độc, từ đó giúp làm giảm bài thải virus như nhận định của Fort và ctv (2009).

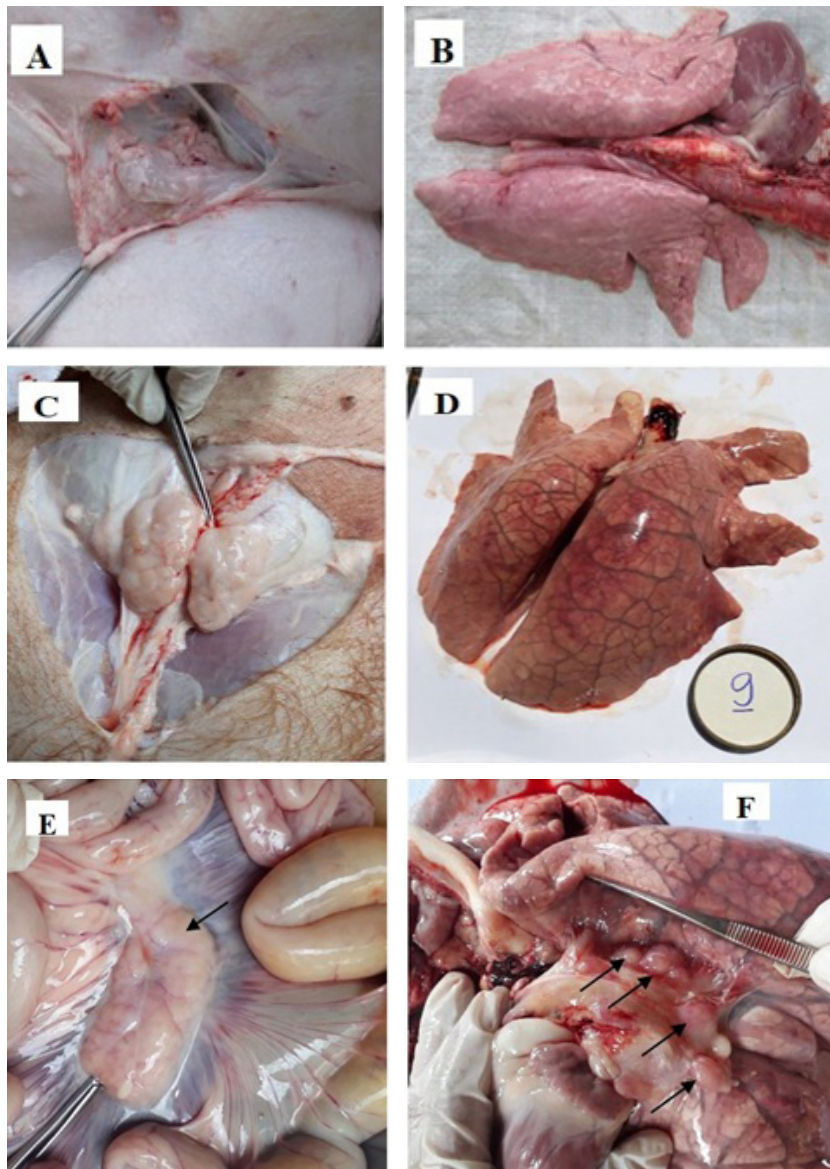
3.3. Bệnh tích

Lúc 28 ngày sau công độc, chọn 2 heo có khối lượng và điểm thể trạng thấp ở mỗi lô để mổ khảo sát bệnh tích: heo 4TN3 và 7TN3 ở nhóm heo thí nghiệm và heo 6ĐC3 và 9ĐC3 ở nhóm heo đối chứng.

Bệnh tích đại thể: Kết quả khảo sát bệnh tích đại thể trong nghiên cứu này cho thấy, heo 4TN3 và 7TN3 ở nhóm được tiêm vaccin không có biểu hiện bệnh tích bất thường (hình 3A, B). Trong khi đó, heo 9ĐC3 ở nhóm đối chứng có các bệnh tích như hạch bẹn sưng, nhạt màu,

thủy thũng, hạch phổi sưng lớn xuất huyết, hạch màng treo ruột sưng, viêm phổi kẽ, phổi không xẹp (hình 3C, D, E, F); heo 6ĐC3 có hạch bẹn sưng và phổi có đốm nâu. Kết quả này phù hợp với ghi nhận của Segalés (2012), các bệnh tích đại thể chủ yếu của PMWS là có sự biến đổi rõ rệt ở hạch lymphô như hạch bẹn, màng treo

ruột, hạch trung thất: sưng to, vết cắt đồng nhất có màu trắng; phổi không xẹp và có đốm nâu. Tương tự như kết quả khảo sát của Lâm Thị Thu Hương (2012), các bệnh tích sưng hạch bẹn cạn, sưng hạch màng treo ruột, phổi không xẹp hoặc viêm phổi kẽ xuất hiện trên 50% số ca heo mắc PMWS ở Việt Nam.

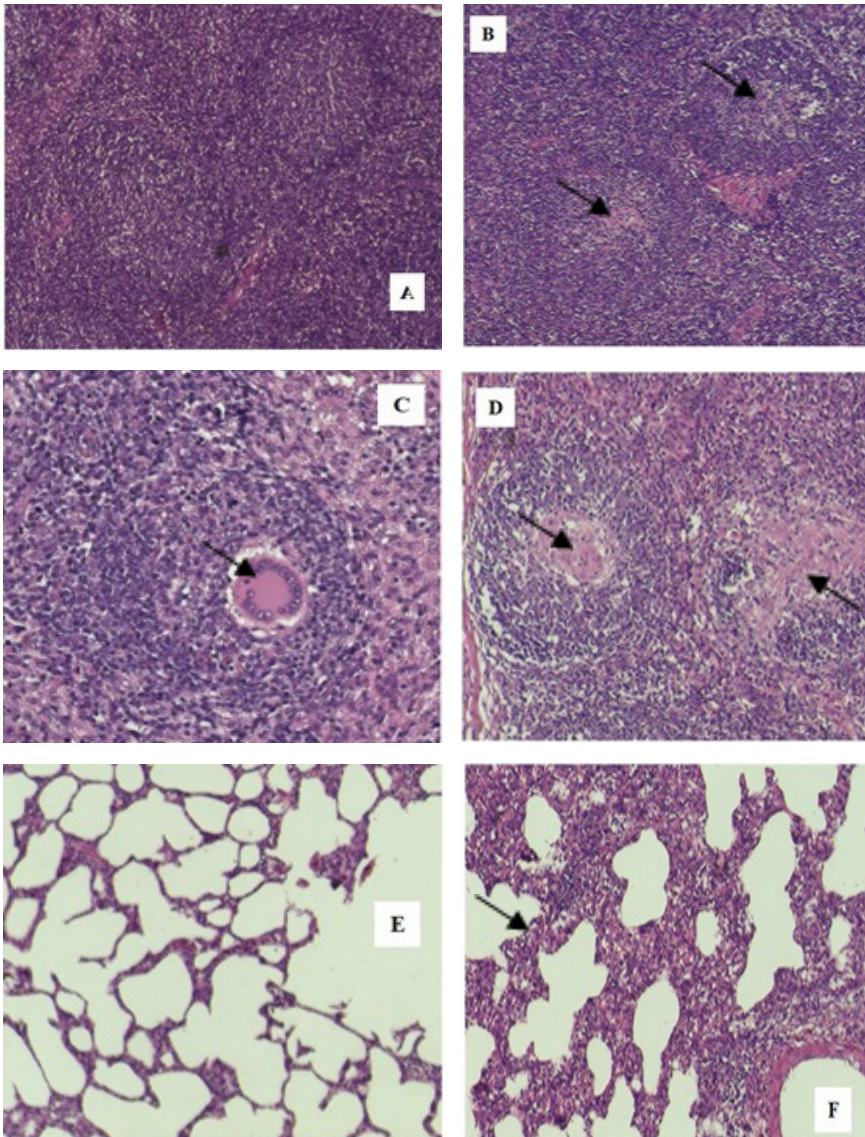


Hình 3. Các bệnh tích đại thể trên heo sau công cường độc 28 ngày

Heo được tiêm vaccin: (A): hạch bẹn, (B): phổi. Heo đối chứng: (C): hạch bẹn sưng, nhạt màu, thủy thũng, (D): viêm phổi kẽ, phổi không xẹp, (E): hạch màng treo ruột sưng, (F): hạch phổi sưng lớn, xuất huyết.

Bệnh tích vi thể: Kết quả khảo sát bệnh tích vi thể cho thấy, hai heo 4TN3 và 7TN3 được tiêm vaccin, sau công độc không có bệnh tích ở các mô bạch huyết như hạch bẹn cạp, hạch ruột, hạch phổi, lách và phổi (hình 4A, E). Trong khi đó, 2 heo đối chứng 6ĐC3 và 9ĐC3 có các bệnh tích vi thể rõ ràng ở phổi và các tổ chức lympho như hạch bẹn cạp, hạch phổi, hạch ruột, amidan và lách. Có suy giảm bạch

cầu và thay thế mô bào ở các nốt bạch huyết từ mức trung bình (ghi nhận ở heo 6ĐC3, thể hiện qua hình 4B) đến nặng, kết hợp với sự hiện diện của tế bào đa nhân khổng lồ ở nang bạch huyết (ghi nhận ở heo 9ĐC3, thể hiện qua hình 4C và 4D). Viêm phổi kẽ làm vách phế nang dày lên và lòng phế nang hẹp lại (hình 4F). Đây chính là các bệnh tích vi thể điển hình ở heo mắc PMWS (Segalés, 2012).



Hình 4. Các bệnh tích vi thể trên heo sau công cường độc 28 ngày (HE, 400X)

Heo được tiêm vaccin: (A): nốt bạch huyết, (E): phổi. Heo đối chứng: (B): Suy giảm bạch cầu và thay thế mô bào nhẹ ở nang bạch huyết, (C): Tế bào khổng lồ đa nhân ở nang bạch huyết, (D): Suy giảm bạch cầu và thay thế mô bào từ trung bình đến nặng ở nang bạch huyết, (F): Viêm phổi kẽ, phế nang hẹp lại.

3.4. Sự hiện diện của virus trong các loại mô (lách, hạch, amidan và phổi)

Xác định bằng phương pháp PCR và chuẩn độ hiệu giá PCV2 trên tế bào PK15A.

Bảng 2. Hiệu giá PCV2 ở các mẫu mô heo được mổ khảo sát lúc 28 ngày sau công cường độc

Lô	Heo	Loại mô (\log_{10} TCID ₅₀ /0,1g mô)			
		Hạch	Lách	Amidan	Phổi
TN3 (tiêm vaccin)	4TN3*	KL	KL	KL	KL
	7TN3	2,50	2,50	2,00	KPH**
ĐC3 (đối chứng)	6ĐC3	3,33	3,00	2,67	2,00
	9ĐC3	5,33	4,67	5,00	5,33

* âm tính PCR, KL: không làm, KPH** : dương tính PCR nhưng chuẩn độ không phát hiện tế bào nhiễm virus

Kết quả ở bảng 2 cho thấy các heo đối chứng, đặc biệt là heo 9ĐC3 có hàm lượng virus trong các mô bạch huyết và phổi cao hơn so với các heo được tiêm vaccin. Kết quả này tương tự như ghi nhận của Okuda và ctv (2003), trên các heo được gây nhiễm PCV2, hàm lượng virus khá cao ở hầu hết các mô của những heo có biểu hiện lâm sàng bệnh.

3.5. Đánh giá về lâm sàng

Từ 0 - 28 ngày sau tiêm vaccin, tất cả heo ở lô thí nghiệm và heo ở lô đối chứng đều khỏe mạnh,

ăn uống bình thường, không có sự gia tăng thân nhiệt ($\leq 40^{\circ}\text{C}$). Không có phản ứng cục bộ hay phản ứng toàn thân xảy ra sau tiêm ở cả 2 lô.

Từ 0 - 28 ngày sau công cường độc, ở lô thí nghiệm không heo nào có thân nhiệt vượt quá 40°C , riêng ở lô heo đối chứng có một heo (9ĐC3) có biểu hiện sốt khoảng $40,5^{\circ}\text{C}$ ở 9 - 13 đpc, sau đó trở lại bình thường. Heo 9ĐC3 này cũng có biểu hiện ho, xù lông, lông dài, thô ráp, chậm tăng trọng hơn so với tất cả các heo còn lại.

3.6. Thể trạng và tăng trọng

Bảng 3. Khối lượng (kg) và điểm thể trạng trên heo sau tiêm vaccin và công cường độc

Lô	Heo	Trước tiêm vaccin		Sau tiêm vaccin 28 ngày		Sau công cường độc 28 ngày	
		Khối lượng (kg)	Điểm thể trạng	Khối lượng (kg)	Điểm thể trạng	Khối lượng (kg)	Điểm thể trạng
TN3 (tiêm vaccin)	1TN3	7,7	3	20,0	3	45,0	4
	2TN3	8,7	4	23,0	4	42,0	3
	3TN3	8,1	3	22,0	4	45,0	4
	4TN3	7,4	3	18,0	3	30,0	3
	5TN3	7,8	3	20,0	3	42,0	4
	7TN3	8,4	4	20,0	3	39,0	3
	x	8,0	20,5	40,5			
SD	0,5	1,8	5,6				
ĐC3 (đối chứng)	6ĐC3	8,2	3	22,0	4	40,0	3
	8ĐC3	7,4	3	20,0	3	40,0	3
	9ĐC3	8,3	3	18,0	3	22,0	1
	10ĐC3	9,4	4	24,0	4	45,0	4
	x	8,3	21,0	36,8			
SD	0,8	2,6	10,1				

Thể trạng: Kết quả đánh giá điểm thể trạng được trình bày qua bảng 3. Ở thời điểm trước tiêm vaccin và trước công độc tất cả heo ở lô thí nghiệm và lô đối chứng đều có thể trạng tốt với điểm thể trạng từ 3 đến 4 điểm. Sau công độc 28 ngày, tất cả các heo ở lô thí nghiệm vẫn duy trì được thể trạng tốt, riêng nhóm heo đối chứng có một heo số 9ĐC3 có điểm thể trạng kém nhất (1 điểm) với khối lượng nhỏ hơn 60% khối lượng bình quân của nhóm. Từ kết quả tăng trọng và đánh giá thể trạng cho thấy tỷ lệ heo còi ở lô đối chứng là 1/4 và trên lô thí nghiệm là 0/6.

Tăng trọng bình quân hàng ngày (TTHN): trước khi công độc (0 - 28 dpi), nhóm heo đối chứng có TTHN trung bình $452,68 \pm 76,67$ g; cao

hơn không đáng kể so với nhóm heo thí nghiệm $445,83 \pm 49,87$ g. Sau khi công độc (0 - 28 dpc), nhóm heo thí nghiệm có TTHN ($714,29 \pm 162,88$ g) cao vượt trội hơn so nhóm đối chứng với TTHN (chỉ có $562,50 \pm 283,29$ g). Tuy nhiên, kết quả xử lý thống kê cho thấy, không có sự khác biệt về TTHN giữa nhóm heo được tiêm vaccin và nhóm heo đối chứng ở 28 ngày sau tiêm và 28 ngày sau công cường độc (bảng 4; $P > 0,05$). Kết quả này tương tự kết quả nghiên cứu của Yang và ctv (2012) trong nghiên cứu đánh giá hiệu lực của vaccin PCV2 vô hoạt, không có sự khác biệt về TTHN giữa nhóm heo tiêm vaccin và nhóm heo đối chứng ở 28 ngày sau tiêm vaccin và 28 ngày sau công cường độc.

Bảng 4. Tăng trọng bình quân hàng ngày (TTHN)

Lô	Số lượng heo	TTHN (gram)*	
		0 - 28 dpi	0 - 28 dpc
TN3 (tiêm vaccin)	6	$445,83 \pm 49,87$	$714,29 \pm 162,88$
ĐC3 (đối chứng)	4	$452,68 \pm 76,67$	$562,50 \pm 283,29$
		$P > 0,05$	$P > 0,05$

Ghi chú: * TTHN được trình bày ở dạng \pm SD, dpi: ngày sau tiêm vaccin, dpc: ngày sau công độc

Kết hợp các kết quả thu được về thể trạng, tăng trọng, sự hiện diện của virus và các bệnh tích đặc trưng ở 28 dpc cho thấy, heo 9ĐC3 ở lô đối chứng mắc PMWS theo tiêu chí đánh giá của Sorden (2000). Như vậy, tỷ lệ heo mắc PMWS sau công độc trên lô được tiêm vaccin là 0/6 và ở lô đối chứng 1/4.

IV. KẾT LUẬN

Có sự chuyển đổi kháng thể chống PCV2 trên heo ở thời điểm 14 - 21 ngày sau tiêm vaccin vô hoạt nhũ dầu từ chủng phân lập NAVET-DongNai2/2009. Sau tiêm vaccin và công cường độc, heo được tiêm vaccin khỏe mạnh, tăng trọng bình thường, không có biểu hiện lâm sàng cũng như bệnh tích PMWS.

Vaccin vô hoạt nhũ dầu này có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch cũng như bảo hộ heo về mặt lâm sàng chống lại PCV2b, làm giảm sự nhân

lên và bài thải PCV2 ở heo được tiêm vaccin và công cường độc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Tiến Duy và Nguyễn Tất Toàn, 2013. Khảo sát biểu hiện lâm sàng, bệnh lý mô học phổi viêm và căn nguyên gây bệnh trên heo sau cai sữa có triệu chứng hô hấp tại một số trại chăn nuôi khu vực phía Nam. *Tạp chí KHKT Thú y XX* (7): 41-51.
2. Do D.T., Tran K.D.V, Quach A.T., Lee D., Chang F.C., Wu C.P., Tat T.N., Chae C., 2021. A comparative efficacy test of 1 versus 2 doses of CIRCOQ PCV2 subunit vaccine against naturally occurring PCV2-type d in piglets with high maternally derived antibodies (MDAs) on a Vietnamese swine farm. *Can J Vet Res.* 85(2): 93-100.
3. Fort M., Olvera A., Sibila M., Segalés J. and Mateu E., 2007. Detection of neutralizing antibodies in postweaning multisystemic wasting

- syndrome (PMWS)-affected and non-PMWS-affected pigs. *Veterinary Microbiology* 125 (3-4): 244-255.
4. Fort M., Sibila M., Allepuz A., Mateu E., Roerink F. and Segalés J., 2008. Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of conventional pigs prevents viremia against PCV2 isolates of different genotypes and geographic origins. *Vaccine* 26 (8): 1063-1071.
 5. Fort M., Sibila M., Pérez-Martín, E., Nofrarias M., Mateu E. and Segalés J., 2009. One dose of a porcine circovirus 2 (PCV2) sub-unit vaccine administered to 3-week-old conventional piglets elicits cell-mediated immunity and significantly reduces PCV2 viremia in an experimental model. *Vaccine* 27: 4031-4037.
 6. Fraile L., Sarasola P., Sinovas N., Nofrarias M., López-Jimenez R., López-Soria S., Sibila M. and Segalés J., 2012. Inactivated PCV2 one shot vaccine applied in 3-week-old piglets: Improvement of production parameters and interaction with maternally derived immunity. *Vaccine* 30: 1986-1992.
 7. Kixmüller M., Ritzmann M., Eddicks M., Saalmüller A., Elbers K. and Fachinger V., 2008. Reduction of PMWS-associated clinical signs and co-infections by vaccination against PCV2. *Vaccine* 26 (27-28): 3443-3451.
 8. Lâm Thị Thu Hương, 2012. Bệnh tích và tỷ lệ một số vi khuẩn cộng nhiễm trên heo mắc hội chứng gây còm sau cai sữa. *Tạp chí KHKT Thú y* 3:22-28.
 9. Lê Thị Thu Phương, Nguyễn Ngọc Hải, Nguyễn Thị Thu Hồng, Đặng Hùng, Quách Vô Ngôn, Nguyễn Ngọc Hồng Phúc, Nguyễn Tấn Liêm, Trần Xuân Hạnh, Nguyễn Văn Dung, 2018. Phân lập và xác định đặc tính sinh học của một số chủng porcine circovirus type 2 (PCV2) từ heo nuôi tại khu vực phía Nam Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển*, tập 17, số 4 (2018), trang 68-75.
 10. Meerts P., Misinzo G., Lefebvre D., Nielsen J., Bøtner A., Kristensen C.S. and Nauwynck H.J., 2006. Correlation between the presence of neutralizing antibodies against porcine circovirus 2 (PCV2) and protection against replication of the virus and development of PCV2-associated disease. *BMC Veterinary Research* 2: 6.
 11. Okuda Y., Ono M., Yazawa S. and Shibata I., 2003. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in cesarean-derived, colostrum-deprived piglets inoculated with porcine circovirus type 2 (PCV2): investigation of quantitative PCV2 distribution and antibody responses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 15 (2): 107-114.
 12. Opriessnig T., McKeown N.E., Harmon K.L., Meng X.J. and Halbur P.G., 2006. Porcine circovirus type 2 infection decreases the efficacy of a modified live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine. *Clinical and Vaccine Immunology* 13: 923-929.
 13. Pileri E., Cortey M., Rodríguez F., Sibila M., Fraile L. and Segalés J., 2014. Comparison of the immunoperoxidase monolayer assay and three commercial ELISAs for detection of antibodies against porcine circovirus type 2. *Veterinary Journal* 1: 3-6.
 14. Segalés J., 2012. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Research* 164 (1-2): 10-9.
 15. Seo H.W., Han K., Park C. and Chae C., 2014. Clinical, virological, immunological and pathological evaluation of four porcine circovirus type 2 vaccines. *Veterinary Journal* 200 (1): 65-70.
 16. Sorden S.D., 2000. Update on porcine circovirus and post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *The Journal of Swine Health and Production* 8: 133-136.
 17. Tran T. Dan, Nguyen T. Toan, Nguyen T.H. Diem, Van N. Dung, Vo K. Hung, Ngo B. Duy, Do T. Duy, Nguyen T.T. Nam, Nguyen T.P. Ninh and Le H. Ngoc, 2013. Comparison of one-dose vaccine versus two-dose vaccine against porcine circovirus type 2 in piglets. In *Proceedings of 6th Asian Pig Veterinary Society Congress*, Ho Chi Minh City, Vietnam, 23-25 Sep 2013, p OR57.
 18. Yang K., Li W., Niu H., Yan W., Liu X., Wang Y., Cheng S., Ku X. and He Q., 2012. Efficacy of single dose of an inactivated porcine circovirus type 2 (PCV2) whole-virus vaccine with oil adjuvant in piglets. *Acta Veterinaria Scandinavica* 54: 67.

Ngày nhận 10-5-2022

Ngày phản biện 30-5-2022

Ngày đăng 1-7-2022