

THẾ GIỚI

giacam

TẠP CHÍ CỦA HIỆP HỘI CHĂN NUÔI GIA CẦM VIỆT NAM

SỐ 26 THÁNG 2/2019

POULTRY WORLD MAGAZINE

Cấp bách không chế ASF

> TRANG 10

KHÁT VỌNG XUẤT KHẨU VỊT

> TRANG 20

ISSN 25581377

GIÁ 25.000 Đ



BÁO CÁO THỬ NGHIỆM VACCINE VÔ HOẠT AVIMEX K-NEW H5 CHỐNG LẠI VIRUS CÚM ĐỘC LỰC CAO A/H5 TRÊN GÀ

Đặt vấn đề

Bệnh cúm gia cầm độc lực cao (HPAI) và bệnh Newcastle là hai bệnh truyền nhiễm đã gây tổn thất lớn nhất cho ngành chăn nuôi gia cầm, đặc biệt là trong chăn nuôi gà. Hiện nay, ở nước ta việc sử dụng vaccine để phòng và chống hai bệnh trên là biện pháp được chấp nhận và mang lại hiệu quả cao. Trong đó, vaccine AVIMEX K-New H5 là vaccine vô hoạt như đầu nhĩ giả H5 và Newcastle, do Laboratorio Avimex S.A. de C.V sản xuất, được Công ty TNHH Thú y Đông Phương phân phối, là một loại vaccine 2 trong 1 rất thích hợp và tiện lợi cho việc tiêm chủng cho gà để phòng chống hai bệnh nói trên. Đặc biệt là vaccine phòng bệnh cúm gia cầm độc lực cao (chủng H5) đáp ứng được yêu cầu kỹ thuật DIVA (có thể phân biệt được cá thể bị nhiễm do virus môi trường và các thể do chủng vaccine qua các test thử nghiệm).

Để khẳng định hiệu quả của vaccine K-New H5 trong việc phòng bệnh HPAI trên thực địa Việt Nam, Công ty TNHH Thú y Đông Phương đã phối hợp với Trung tâm Chẩn đoán Thú y Trung ương tiến hành thử nghiệm đánh giá hiệu lực AVIMEX K-New H5 đối với virus cúm H5N1 clade 2.3.2.1c và virus cúm H5N6 clade 2.3.4.4b. Với kết quả thu được như sau:

1. Nguyên liệu thí nghiệm:

a. Vaccine thử nghiệm: AVIMEX K-New H5

Vaccine AVIMEX K-New H5 có chứa kháng nguyên H5N1 clade 1. Thử nghiệm nhằm đánh giá hiệu lực phòng cúm gia cầm của vaccine khi sử dụng trên gà được tiêm với 2 liều trình khác nhau để chống lại các chủng virus cúm độc lực cao A/H5 đang lưu hành tại Việt Nam.

Vaccine dùng đường tiêm dưới da vùng cổ, theo thiết kế thí nghiệm cụ thể trình bày ở phần sau.

b. Động vật thí nghiệm:

Sử dụng 180 gà 1 ngày tuổi. Gà thí nghiệm được chọn từ đàn khỏe mạnh, chưa tiêm phòng vaccine cúm gia cầm, không có kháng thể kháng cúm H5 (kiểm tra bằng HI ngẫu nhiên 20%) và không mang trùng virus cúm gia cầm (kiểm tra bằng RRT-PCR ngẫu nhiên 20%) tại thời điểm trước tiêm vaccine mũi 1.

c. Virus công cường độc: Sử dụng các virus cúm được phân lập năm 2017, bao gồm:

- Virus H5N1 có HA clade 2.3.2.1c (A/Dk/Vietnam/BacNinh/NCVD-17A384/2017(H5N1)).

- Virus H5N6 có HA clade 2.3.4.4b (A/Ck/Vietnam/LaoCai/NCVD-17A261/2017(H5N6)).

Virus được nhân giống qua phôi trứng gà, chuẩn độ trên tế bào CEF và pha thành liều 10^6 TCID₅₀/100 µl để công cường độc cho động vật qua đường nhỏ mũi với lượng 100 µl/con.

d. Kháng nguyên sử dụng:

- Kháng nguyên đồng chủng vaccine (A/Vietnam/1203/2004, H5N1 clade 1)

- Kháng nguyên là virus dùng để công cường độc

2. Bố trí thí nghiệm:

Bố trí các lô tiêm vaccine và công cường độc như sau:

Nhóm	Số lượng/KH nhóm	Liều trình/ Tuổi tiêm	Tuổi CCD	Virus CCD
VX1	20x VX1-B + 10x ĐC1-B	1 mũi/3 tuần	6 tuần	H5N6 2344B
	20x VX1-C + 10x ĐC1-C	1 mũi/3 tuần	6 tuần	H5N1 2321C
VX2	20x VX2-B + 10x ĐC2-B	2 mũi/ 3 và 6 tuần	9 tuần	H5N6 2344B
	20x VX2-C + 10x ĐC2-C	2 mũi/ 3 và 6 tuần	9 tuần	H5N1 2321C
Dự phòng	40VX + 20ĐC			
Tổng cộng	120VX + 60ĐC			

Chỉ tiêu đánh giá

Vaccine đạt yêu cầu để chống lại chủng virus công cường độc khi thỏa mãn các tiêu chí sau:

Hiệu giá kháng thể trung bình (GMT) sau mũi 1 (với kháng nguyên đồng chủng vaccine) đạt từ 4 log₂ trở lên với ít nhất 70% số mẫu có hiệu giá ≥ 4 log₂.

Hiệu giá kháng thể trung bình (GMT) sau mũi 2 (với kháng nguyên đồng chủng vaccine) đạt từ 6 log₂ trở lên với ít nhất 90% số mẫu có hiệu giá ≥ 4 log₂.

Thử nghiệm công cường độc: Vaccine có hiệu lực bảo hộ làm sàng ít nhất 70% gà được tiêm chống lại chủng virus công cường độc trong thử nghiệm

3. Kết quả thí nghiệm:

3.1. Kết quả thí nghiệm sau khi tiêm vaccine mũi 1

3.1.1. Đáp ứng miễn dịch sau vaccine mũi 1

Vào ngày thứ 18 sau khi tiêm vaccine mũi đầu tiên, gà ở các lô được lấy máu để kiểm tra hiệu giá kháng thể kháng H5 sau tiêm phòng bằng phương pháp ngăn trở ngưng kết hồng cầu HI, sử dụng kháng nguyên đồng chủng vaccine A/Vietnam/1203/2004 (H5N1 clade 1). Kết quả thể hiện trên bảng 3.1:

Bảng 3.1: Hiệu giá kháng thể kháng H5 ở gà sau khi tiêm vaccine mũi 1

Chỉ tiêu	Số mẫu đạt hiệu giá kháng thể						GMT
		4 log ₂	5 log ₂	6 log ₂	7 log ₂	8 log ₂	
Số mẫu xét nghiệm	109	5	9	30	44	21	6,6
Tỷ lệ %	100	4,6	8,3	27,5	40,4	19,2	

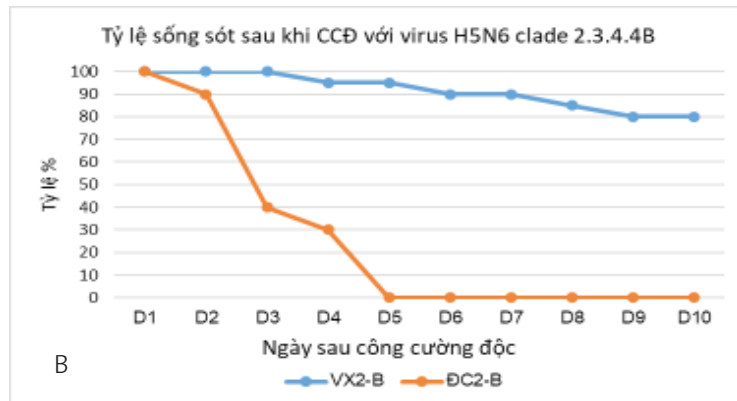
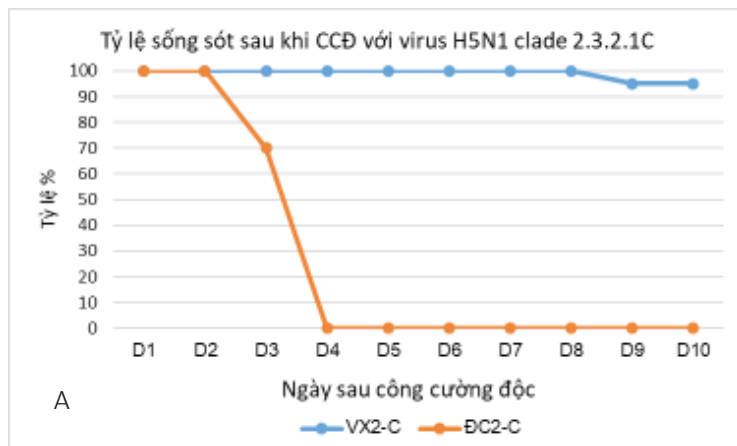
Kết quả trên cho thấy vaccine AVIMEX K-New H5 có khả năng kích thích tạo miễn dịch kháng cúm H5 ở mức cao sau khi dùng

với liệu trình 1 mũi cho gà 3 tuần tuổi. Tất cả gà được tiêm phòng đều có kháng thể kháng cúm H5 đạt mức 4 log₂ trở lên với kháng nguyên đồng chủng vaccine (H5N1 clade 1). Như vậy, vaccine AVIMEX K-New H5 đã đạt chỉ tiêu đặt ra với liệu trình 1 mũi vaccine sử dụng cho gà 3 tuần tuổi khi có 100% gà được tiêm phòng có HGKT từ 4 log₂ trở lên (chỉ tiêu là 70%) cũng như mức HGKT trung bình toàn đàn đạt trên 6.6 log₂ (chỉ tiêu là 4 log₂).

3.1.2. Kết quả thử nghiệm hiệu lực vaccine

a. Kết quả công cường độc bằng virus cúm gia cầm độc lực cao H5N1 và H5N6

Tại thời điểm 21 ngày sau khi tiêm vaccine theo liệu trình 1 mũi, gà được lựa chọn từ đàn đã tiêm phòng và đàn đối chứng để công cường độc nhằm đánh giá hiệu lực bảo hộ lâm sàng của vaccine. Virus sử dụng để công cường độc là H5N1 clade 2.3.2.1c và H5N6 clade 2.3.4.4b. Kết quả công cường độc được thể hiện trên hình 3.2



Hình 3.2: Tỷ lệ sống sót khi công cường độc bằng virus H5N1 clade 2.3.2.1c (A) và H5N6 clade 2.3.4.4b (B) - Sau tiêm vaccine mũi 1

Với thử nghiệm công cường độc bằng virus H5N1 clade 2.3.2.1c:

Nhóm gà đối chứng (ĐC1-C) bắt đầu có biểu hiện bệnh sau 3 ngày. Triệu chứng chính là ủ rũ, mồi mẹt, xù lông, bỏ ăn. Một số con không thể hiện triệu chứng mà chết đột ngột. Tỷ lệ chết đạt 80% sau 4 ngày và 100% sau 6 ngày công cường độc.

Với nhóm gà tiêm vaccine (VX1-C), hầu hết đều khỏe mạnh. Tuy nhiên đến ngày thứ 7 sau công, có 1 gà trong nhóm có biểu hiện bệnh với triệu chứng nhẹ (bỏ ăn, xù lông). Sau đó bệnh tiến triển nặng dần, gà nằm liệt và chết vào ngày thứ 9 (kết quả RRT-PCR

xác nhận gà nhiễm cúm). Những con còn lại trong nhóm vẫn sống sót đến ngày theo dõi cuối cùng. Như vậy, với liệu trình 1 mũi vaccine lúc 3 tuần tuổi, tỷ lệ bảo hộ lâm sàng đạt mức 95%.

Với thử nghiệm công cường độc bằng virus H5N6 clade 2.3.4.4b:

Nhóm gà đối chứng (ĐC1-B) cũng thể hiện các triệu chứng bệnh tương tự như nhiễm cúm H5N1. Tỷ lệ chết ở mức 90% sau 4 ngày và 100% sau 5 ngày công cường độc.

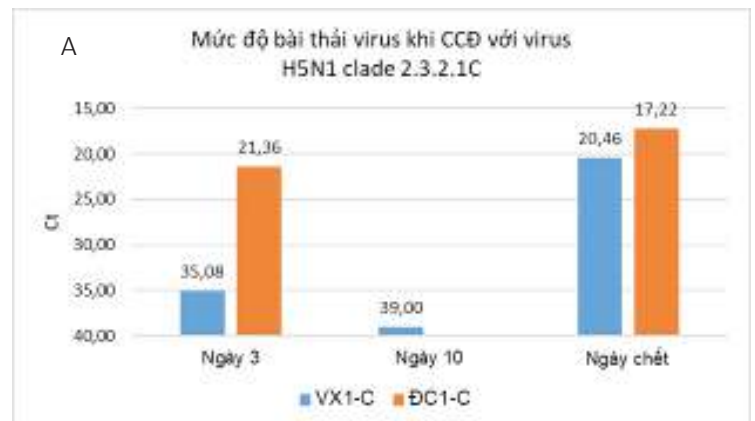
Nhóm gà tiêm vaccine (VX1-B) có diễn biến bệnh khá phức tạp. Một số gà chết đột ngột vào ngày thứ 3 - 5 sau công cường độc.

Một số gà khác có biểu hiện bệnh kéo dài 1 - 2 ngày rồi chết. Triệu chứng chính ghi nhận được khá giống với những gà đối chứng. Tuy nhiên thời gian diễn biến bệnh kéo dài hơn, đến ngày thứ 9 vẫn còn gà chết. Tất cả gà chết đều được xác nhận nhiễm cúm độc lực cao bằng phương pháp RRT-PCR. Với nhóm này, tỷ lệ sống sót đạt mức 45%.

Như vậy, vaccine khi sử dụng với liệu trình 1 mũi cho gà 3 tuần tuổi có khả năng bảo hộ lâm sàng cho 95% gà được tiêm chống lại virus H5N1 clade 2.3.2.1c (đạt chỉ tiêu bảo hộ 70%) và cho 45% gà được tiêm chống lại virus H5N6 clade 2.3.4.4b (không đạt chỉ tiêu bảo hộ). Lý do chính là kháng thể do vaccine kích thích sinh ra có mức độ tương đồng cao hơn đối với kháng nguyên virus công cường độc H5N1 clade 2.3.2.1c và thấp hơn đối với kháng nguyên virus công cường độc H5N6 clade 2.3.4.4b.

b. Kết quả xét nghiệm virus bài thải

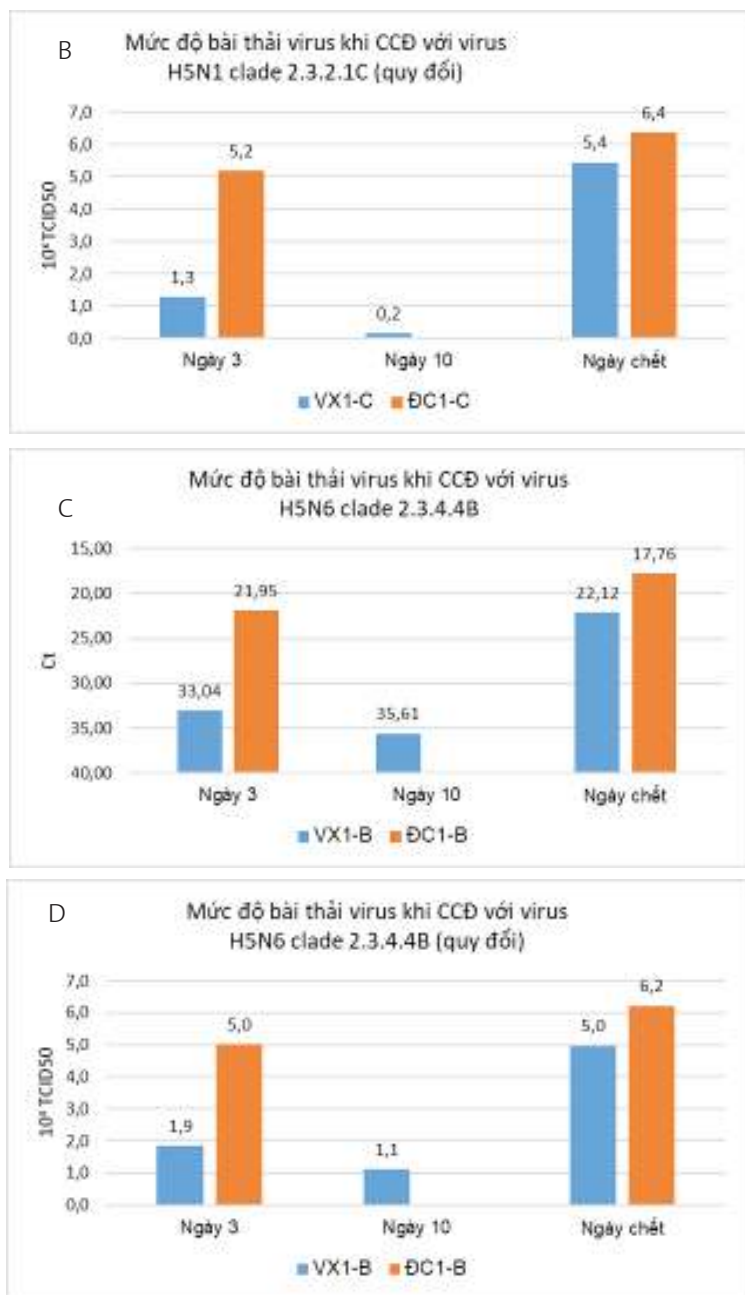
Bên cạnh khả năng bảo hộ lâm sàng cho gia cầm được tiêm chống lại virus cúm công cường độc, khả năng làm giảm số lượng và thời gian bài thải virus cũng là một tiêu chí quan trọng trong hiệu lực của vaccine. Tiêu chí này được làm rõ qua phân tích kết quả định lượng virus bài thải sau công cường độc và được minh họa trong biểu đồ hình 3.3 dưới đây.



Gà chết với bệnh tích phù mọng



Gà ốm, ủ rũ, xù lông, chảy nước mắt



Hình 3.3: Bài thải virus sau công cường độc bằng virus H5N1 (A-B) và bằng virus H5N6 (C-D)

Với thử nghiệm công cường độc bằng virus H5N1 clade 2.3.2.1c, có thể thấy rất rõ lượng virus bài thải từ gà được tiêm phòng thấp hơn rất nhiều so với gà đối chứng. Ở ngày thứ 3 sau công, giá trị Ct trung bình của các mẫu swab lấy từ gà vaccine là 35,06 (tương đương lượng virus là 10^{13} TCID₅₀/ml) trong khi giá trị tương ứng ở gà đối chứng là 21,36 (tương đương lượng virus là $10^{5,2}$ TCID₅₀/ml). Đến ngày thứ 10, những gà vaccine còn sống (95% đàn) gần như không còn bài thải virus.

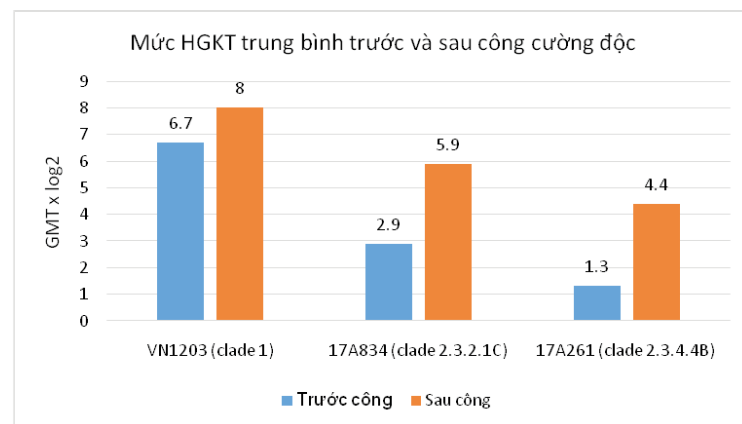
Với thử nghiệm công cường độc bằng virus H5N6 clade 2.3.4.4b, tuy khả năng bảo hộ làm sàng thấp, chỉ có 45% gà vaccine sống sót sau công, nhưng khả năng làm giảm lượng virus bài thải của vaccine vẫn thể hiện khá rõ ràng. Ở ngày thứ 3 sau công, giá trị Ct trung bình của các mẫu swab lấy từ gà vaccine là 33,04 (tương đương lượng virus là $10^{1,9}$ TCID₅₀/ml) trong khi giá trị tương ứng ở

gà đối chứng là 21,95 (tương đương lượng virus là $10^{5,0}$ TCID₅₀/ml). Đến ngày thứ 10, những gà vaccine sống sót chỉ còn bài thải lượng virus tương đương $10^{1,1}$ TCID₅₀/ml.

Các phân tích trên cho thấy vaccine có tác dụng làm giảm về lượng cũng như thời gian bài thải virus từ động vật đã tiêm phòng. Tác dụng này, cùng với khả năng bảo hộ làm sàng rất cao, thể hiện rõ với kết quả công cường bằng virus H5N1 clade 2.3.2.1c. Còn đối với thử nghiệm bằng virus H5N6, tuy mức độ bảo hộ làm sàng chỉ đạt 45%, nhưng khả năng làm giảm bài thải virus từ gà được tiêm vẫn là đáng ghi nhận.

c. Biến động hiệu giá kháng thể trước và sau khi công cường độc

Để đánh giá đáp ứng miễn dịch chống virus cúm cường độc, cũng như hiểu rõ hơn về mức độ tương đồng giữa kháng thể do vaccine kích thích tạo ra đối với các kháng nguyên của virus trong thử nghiệm, chúng tôi tiến hành phân tích biến động về hiệu giá kháng thể trước và sau khi công cường độc. Các kết quả được minh họa trên Hình 3.4 dưới đây:



Hình 3.4: Biến động mức hiệu giá kháng thể trước và sau khi công cường độc

Trước khi công cường độc, hiệu giá kháng thể trung bình với kháng nguyên đồng chủng vaccine (VN1203 - H5N1 clade 1) ở mức 6.7 log₂, trong khi đối với kháng nguyên là virus công cường độc 17A834 (H5N1 clade 2.3.2.1c) đạt 2.9 log₂ và với kháng nguyên 17A261 (H5N6 clade 2.3.4.4b) đạt 1.3 log₂. Có thể thấy chênh lệch về mức độ tương đồng kháng nguyên - kháng thể ở đây là rất lớn, hiệu giá kháng thể dị chủng giảm 3.9 và 5.4 log₂ tương ứng với 2 loại kháng nguyên clade 2.3.2.1c và 2.3.4.4b. Kết quả cũng chỉ ra mức độ tương đồng kháng nguyên - kháng thể đối với Clade 2.3.2.1c là cao hơn so với Clade 2.3.4.4b.

Sau khi công cường độc, hiệu giá kháng thể đối với cả 3 loại kháng nguyên đều tăng lên rõ rệt, kể cả ở nhóm sống sót cao (95% khi công với H5N1 clade 2.3.2.1c) và ở nhóm sống sót thấp hơn (45% khi công với H5N6 clade 2.3.4.4b). Mức hiệu giá kháng thể trung bình đạt 8 log₂ đối với kháng nguyên đồng chủng VN1203, đạt 5.9 log₂ đối với kháng nguyên dị chủng Clade 2.3.2.1c và đạt 4.4 log₂ với kháng nguyên dị chủng Clade 2.3.4.4b. Điều này cho thấy với những gà được tiêm vaccine, chỉ trong vòng 10 ngày sau khi nhiễm virus công cường, đáp ứng miễn dịch thứ phát đã được kích hoạt để tạo ra lượng kháng thể đặc hiệu nhanh và nhiều hơn.

3.2. Kết quả thí nghiệm sau khi tiêm vaccine mũi 2

3.2.1. Đáp ứng miễn dịch sau vaccine mũi 2

Vào ngày thứ 18 sau khi tiêm vaccine nhắc lại, gà ở các lô được lấy máu để kiểm tra hiệu giá kháng thể kháng H5 sau tiêm phòng bằng phương pháp ngăn trở ngưng kết hồng cầu HI, sử dụng kháng nguyên đồng chủng vaccine A/Vietnam/1203/2004 (H5N1 clade 1). Kết quả thể hiện trên bảng 3.2:

Bảng 3.2: Hiệu giá kháng thể kháng H5 ở gà sau khi tiêm vaccine nhắc lại

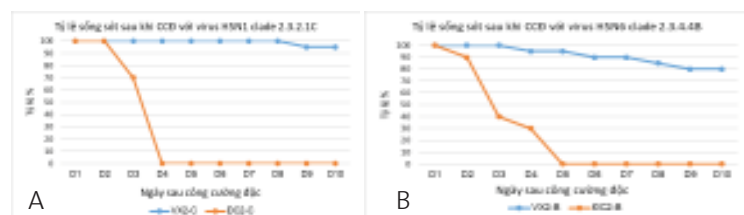
Chi tiêu	Số mẫu đạt hiệu giá kháng thể						GMT
		6 log ₂	7 log ₂	8 log ₂	9 log ₂	>9log ₂	
Số mẫu xét nghiệm	57	4	10	19	20	4	8,2
Tỷ lệ %	100	7,0	17,6	33,3	35,1	7,0	

Kết quả ở bảng 3.2 cho thấy việc tiêm nhắc lại vaccine tạo được đáp ứng miễn dịch thứ phát ở mức độ rất cao, với mức HGKT trung bình đạt 8,2 log₂ (so với mức 6,6 log₂ ở lần tiêm thứ nhất). Đàn gà được tiêm vaccine nhắc lại có HGKT với từng cá thể thấp nhất đạt 6 log₂ (chiếm 7%). Hiệu giá kháng thể tập trung chủ yếu ở mức 8 và 9 log₂ (tương ứng 33,3% và 35,1%). Một số gà còn có mức hiệu giá kháng thể đạt 10 - 11 log₂.

3.2.2. Kết quả thử nghiệm hiệu lực vaccine

a. Kết quả công cường độc bằng virus cúm gia cầm độc lực cao H5N1 và H5N6

Tại thời điểm 21 ngày sau khi tiêm vaccine nhắc lại, gà được tiếp tục thử nghiệm công cường độc với quy trình như lần thứ nhất. Kết quả công cường độc được thể hiện trên hình 3.6



Hình 3.6: Tỷ lệ sống sót khi công cường độc bằng virus H5N1 clade 2.3.2.1c (A) và H5N6 clade 2.3.4.4b (B) - sau tiêm vaccine nhắc lại

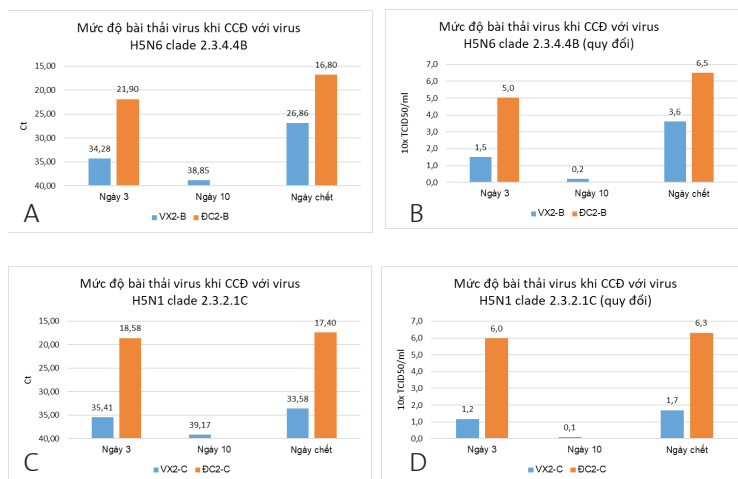
Những kết quả trên cho thấy khi sử dụng với liệu trình 2 mũi, vaccine AVIMEX K-New H5 đạt yêu cầu về chỉ tiêu bảo hộ lâm sàng khi có 95% gà được tiêm sống sót khi công cường độc với virus H5N1 clade 2.3.2.1c và 80% gà được tiêm sống sót khi công cường độc với virus H5N6 clade 2.3.4.4b.

b. Kết quả xét nghiệm virus bài thải

Kết quả định lượng virus bài thải sau công cường độc và được minh họa trong biểu đồ hình 3.7 dưới đây.

Trong cả 2 thử nghiệm công cường độc bằng virus H5N1 clade 2.3.2.1c và H5N6 clade 2.3.4.4b, tác dụng làm giảm bài thải virus của vaccine là rất rõ ràng. Ở thời điểm ngày thứ 3 sau công, giá trị Ct trung bình của các nhóm gà vaccine trong khoảng 34 - 35, còn giá trị này các nhóm gà đối chứng trong khoảng 18 - 21. Lượng virus bài thải từ gà đối chứng cao gấp khoảng $10^{3.5}$ - $10^{4.8}$ lần so với nhóm gà tiêm 2 mũi vaccine. Ở ngày thứ 10, những gà vaccine sống sót gần như không bài thải virus (lượng virus khoảng $10^{0.1}$ - $10^{0.2}$ TCID₅₀/ml). Đối với những gà tiêm vaccine bị chết, mức độ bài thải virus cũng thấp hơn so với những gà đối chứng chết.

Các phân tích trên khẳng định một lần nữa tác dụng làm giảm



Hình 3.7: Bài thải virus sau công cường độc bằng virus H5N1 (A-B) và bằng virus H5N6 (C-D)

bài thải virus cả về số lượng và thời gian ở gà được tiêm phòng vaccine. Với thử nghiệm tiêm vaccine nhắc lại, ngoài tác dụng bảo hộ lâm sàng tăng lên, tác dụng làm giảm virus bài thải cũng tăng lên đáng kể.

4. Kết luận

- Vaccine vô hoạt như đầu AVIMEX K-New H5 do Laborio Avimex S.A. de C.V sản xuất, Công ty TNHH Thú y Đông Phương phân phối, khi sử dụng ở gà có khả năng kích thích tạo miễn dịch kháng thể trung bình đạt 6.6 log₂ sau khi tiêm 1 mũi, và đạt 8.2 log₂ sau khi tiêm 2 mũi.

- Thử nghiệm công cường độc tại thời điểm 3 tuần sau khi tiêm mũi 1 cho kết quả vaccine có khả năng bảo hộ lâm sàng cho 95% gà được tiêm chống lại virus cúm gia cầm H5N1 clade 2.3.2.1c và 45% gà được tiêm chống lại virus cúm gia cầm H5N6 clade 2.3.4.4b.

- Thử nghiệm công cường độc tại thời điểm 3 tuần sau khi tiêm mũi 2 cho kết quả vaccine có khả năng bảo hộ lâm sàng cho 95% gà được tiêm chống lại virus cúm gia cầm H5N1 clade 2.3.2.1c và 80% gà được tiêm chống lại virus cúm gia cầm H5N6 clade 2.3.4.4b. Khả năng bảo hộ lâm sàng chống lại virus H5N6 tăng cao hơn rõ rệt khi sử dụng vaccine với liệu trình 2 mũi.

- Với những gà sống sót sau thử thách cường độc, vaccine có tác dụng rõ rệt trong việc giảm số lượng và thời gian bài thải virus.

Thông tin liên hệ:

Ông Phạm Hữu Nhon,

Giám đốc Kỹ thuật Công ty TNHH Thú y Đông Phương.

Điện thoại: 0903 908 519

Email: phamnhon.eastvet@gmail.com



Vaccine K-New H5