



Original Article

The Safety and Efficacy Evaluation of PRRS Attenuated Vaccine BG895 Strain in Experimental Pigs

Bui Anh Thy^{1,2,*}, Nguyen Tang Truong¹, Kim Van Phuc¹, Nguyen Thien Thu¹,
Nguyen Van Dung¹, Tran Xuan Hanh¹, Tran Linh Thuoc²

¹NAVETCO National Veterinary Joint Stock Company,
29A Nguyen Dinh Chieu, Ho Chi Minh City, Vietnam

²University of Science, VNU-HCM, 227 Nguyen Van Cu, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 10 August 2021

Revised 25 September 2021; Accepted 30 September 2021

Abstract: From the PRRSV virulent strain BG8 isolated from a PRRSV-infected pig, using serial passage method in MARC-145 cell line, we have successfully obtained an attenuated strain in 95th passage, named as BG895, with high potential to be a vaccine candidate. In this study, we present the results of the safety and efficacy evaluation of BG895 against PRRSV in experimental pigs. Trial results of vaccine formula using strain BG895 have very high safety when inoculating 5 doses/animal and 10 doses/animal. Evaluation of immune response by ELISA method showed that, anti-PRRSV antibodies were detected in the serum of all inoculated pigs in vaccine batches with the lowest S/P index of 1.50 ± 0.4 from 14 days post inoculation and the highest S/P was 2.36 ± 0.1 from 28 days post inoculation. The IPMA method showed that the antibody titer of the vaccine reached ≥ 160 in 100% of pigs from 21 days post inoculation and reached ≥ 640 in 100% of pigs from 28 days post inoculation, indicating that the vaccine was effective at protecting 100% of pigs from 28 days post inoculation. The protective effect of the vaccine was evaluated by the virulent challenge from 28 days post inoculation with 1 dose/animal compared with the control group. The results showed that compared with all pigs in the control group with typical clinical manifestations of Blue-ear disease, all inoculated pigs had normal body temperature and weight gain, besides, the S/P index increased from 1.65 ± 0.1 to 2.99 ± 0.2 (the first vaccine batch) and from 1.17 ± 0.1 to 2.08 ± 0.5 (the second vaccine batch); the average antibody titer was ≥ 2560 , and virus was not detected in nasal fluid by real-time RT-PCR (rRT-PCR) from 7 days post challenge. These experimental results confirmed the safety and efficacy of the attenuated PRRS vaccine based on BG895 strain.

Keywords: Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), safety, efficacy, attenuated PRRS vaccine, BG895 strain.

* Corresponding author.

E-mail address: anhthy.bui@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5299>

Đánh giá tính an toàn và hiệu lực của vaccine PRRS nhược độc chủng BG895 trên heo thí nghiệm

Bùi Anh Thy^{1,2,*}, Nguyễn Tăng Trường¹, Kim Văn Phúc¹, Nguyễn Thiên Thu¹,
Nguyễn Văn Dung¹, Trần Xuân Hạnh¹, Trần Linh Thuộc²

¹Công ty Cổ phần Thuốc thú y Trung ương NAVETCO,
29A Nguyễn Đình Chiểu, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam
²Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh,
227 Nguyễn Văn Cừ, Thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam

Nhận ngày 10 tháng 8 năm 2021

Chỉnh sửa ngày 25 tháng 9 năm 2021; Chấp nhận đăng ngày 30 tháng 9 năm 2021

Tóm tắt: Từ chủng virus PRRS (PRRSV) cường độc BG8 được phân lập từ heo bị bệnh, bằng cách nuôi cấy tiếp truyền trên tế bào MARC-145, chúng tôi đã tạo được chủng nhược độc BG895 có tiềm năng sử dụng làm vaccine. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày các kết quả đánh giá tính an toàn và hiệu lực vaccine chủng BG895 đối với PRRSV trên heo nuôi thực nghiệm. Kết quả thử nghiệm cho thấy vaccine dùng chủng BG895 có độ an toàn rất cao khi thử nghiệm tiêm vaccine liều cao, 5 liều/con và 10 liều/con. Đánh giá đáp ứng miễn dịch bằng phương pháp ELISA cho thấy, kháng thể kháng PRRSV được phát hiện trong huyết thanh của tất cả heo ở các lô tiêm vaccine với chỉ số S/P thấp nhất là $1,50 \pm 0,4$ sau 14 ngày tiêm và S/P cao nhất là $2,36 \pm 0,1$ sau 28 ngày tiêm. Phương pháp IPMA cho thấy hiệu giá kháng thể của vaccine đạt ≥ 160 ở 100% heo sau 21 ngày và đạt ≥ 640 ở 100% heo sau 28 ngày tiêm, chứng tỏ vaccine có hiệu lực bảo hộ 100% heo sau 28 ngày tiêm vaccine. Hiệu lực bảo hộ của vaccine được đánh giá bằng thử nghiệm công cường độc sau 28 ngày tiêm vaccine 1 liều so với lô đối chứng. Kết quả cho thấy so với tất cả heo ở nhóm đối chứng với triệu chứng lâm sàng điển hình của bệnh tai xanh, tất cả heo ở nhóm miễn dịch được tiêm vaccine có thân nhiệt và tăng trọng bình thường; bên cạnh đó, chỉ số S/P tăng từ $1,65 \pm 0,1$ đến $2,99 \pm 0,2$ (lô vaccine 01) và từ $1,17 \pm 0,1$ đến $2,08 \pm 0,5$ (lô vaccine 02); hiệu giá kháng thể đạt trung bình ≥ 2560 , không tìm thấy sự bài xuất virus trong dịch mũi bằng phản ứng real-time RT-PCR (rRT-PCR) từ ngày thứ 7 sau khi công cường độc. Các kết quả thực nghiệm này xác nhận tính an toàn và hiệu lực của vaccine tai xanh nhược độc được điều chế từ chủng BG895.

Từ khóa: Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở heo, tính an toàn, hiệu lực, vaccine PRRS nhược độc, chủng BG895.

1. Đặt vấn đề

Bệnh “tai xanh”, hay hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp ở heo (porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS), là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm trong ngành chăn

nuôi heo, với đặc điểm gây rối loạn sinh sản ở heo nái và bệnh hô hấp ở heo con. Tác nhân gây bệnh là virus PRRS (PRRSV), thuộc nhóm *Arterivirus*, họ *Arteriviridae*, bộ *Nidovirales*, có bộ gen là RNA sợi đơn, mạch dương [1, 2]. Dựa vào sự khác biệt về tính di truyền và tính kháng nguyên, PRRSV được chia làm hai kiểu gen: kiểu gen Châu Âu (European genotype) và kiểu gen Bắc Mỹ (Northern American genotype) [3]. PRRSV rất đa dạng về tính kháng nguyên, trình tự nucleotide và dễ xuất

* Tác giả liên hệ.

Địa chỉ email: anhthy.bui@gmail.com

<https://doi.org/10.25073/2588-1140/vnunst.5299>

hiện những biến chủng nên gây khó khăn cho việc sản xuất vaccine phòng bệnh. Tại Việt Nam, bệnh lưu hành trên đàn heo bao gồm cả 2 kiểu gen Bắc Mỹ và Châu Âu [4]. Do đó, việc chẩn đoán và phòng ngừa bệnh rối loạn sinh sản và hô hấp ở heo còn nhiều khó khăn nhất định.

Hiện nay, có hai loại vaccine phòng bệnh tai xanh được sử dụng là vaccine nhược độc và vaccine bất hoạt. Tuy nhiên, vaccine nhược độc được chứng minh có hiệu quả phòng bệnh cao hơn vaccine bất hoạt [5].

Nhằm mục đích sản xuất vaccine để phòng bệnh PRRS trên đàn heo tại Việt Nam, từ chủng PRRSV cường độc BG8 được phân lập từ thực địa, qua nuôi cấy tiếp truyền trên tế bào MARC-145, chúng tôi đã tạo được chủng nhược độc BG895 không còn độc lực gây bệnh trên heo nhưng vẫn có khả năng gây đáp ứng miễn dịch tạo kháng thể kháng PRRSV ổn định [6]. Phân tích so sánh trình tự ORF5 và glycoprotein vỏ ngoài GP5 (do ORF5 mã hóa) với các trình tự tương ứng của chủng gốc BG8, và một số chủng PRRSV được phân lập tại Việt Nam cho thấy GP5 của BG895 có tính ổn định kháng nguyên đồng thời có mối quan hệ di truyền chặt chẽ với các chủng PRRSV đang lưu hành, thỏa mãn yêu cầu làm chủng gốc để sản xuất vaccine phòng bệnh tai xanh ở nước ta [7].

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày các kết quả của việc sử dụng chủng BG895 tạo chế phẩm vaccine nhằm đánh giá tính an toàn và hiệu lực vaccine trên heo nuôi thực nghiệm, tạo cơ sở khoa học sản xuất vaccine phòng bệnh tai xanh từ chủng nhược độc BG895 tại nước ta.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Chủng virus

Chủng PRRSV nhược độc BG895 thu được bằng cách nuôi cấy tiếp truyền chủng cường độc gốc BG8 trên tế bào MARC-145 [6], thuộc kiểu gen Bắc Mỹ, được sử dụng làm chủng vaccine nghiên cứu.

Chủng TG34 dùng công cường độc (công thử thách), thuộc kiểu gen Bắc Mỹ, được

phân lập từ heo nhiễm bệnh ở Tiền Giang.

2.2. Động vật thí nghiệm

Heo con sau cai sữa thuộc giống *Landrace*, 25 - 28 ngày tuổi khỏe mạnh, không phân biệt giới tính, có kết quả xét nghiệm âm tính kháng thể và kháng nguyên virus tai xanh, được nuôi thực nghiệm tại Trung tâm thú y Củ Chi, Thành phố Hồ Chí Minh.

2.3. Điều chế vaccine và liều sử dụng

Chủng PRRSV nhược độc BG895 được phối trộn với chất ổn định để đông khô và chứa ít nhất 10^5 TCID₅₀/liều. Vaccine được điều chế thành 2 lô theo cùng quy trình sản xuất nhằm đánh giá chất lượng của vaccine theo TCVN 8685-12: 2014 [8]. Lô vaccine 01 được dùng để đánh giá tính an toàn, và hiệu lực vaccine, lô vaccine 02 được dùng đánh giá hiệu lực vaccine. Sau khi điều chế, vaccine được bảo quản ở nhiệt độ 2 - 8 °C. Khi sử dụng, pha vaccine với dung dịch pha vô trùng sao cho mỗi lần tiêm là 2 mL, và được tiêm ở bắp thịt phía sau tai.

2.4. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí như Bảng 1. Sau khi tiêm, heo được theo dõi thân nhiệt 2 lần/ngày và các biểu hiện lâm sàng trong 21 ngày. Đồng thời, heo được lấy máu vào các ngày 7, 14, 21 và 28 để đánh giá chỉ số tạo kháng thể và xác định hiệu giá kháng thể. Sau 28 ngày tiêm vaccine, tiến hành công cường độc 10 con heo trong 2 nhóm miễn dịch và 6 con heo trong 2 nhóm đối chứng ở cả 2 lô vaccine với chủng PRRSV cường độc TG34.

2.5. Phương pháp đánh giá độ an toàn và hiệu lực của vaccine

Tính an toàn và hiệu lực được đánh giá theo TCVN 8685-12: 2014 [8].

2.6. Phương pháp chăm sóc heo thí nghiệm

Heo thí nghiệm được chăm sóc nuôi dưỡng theo điều kiện quy định an toàn sinh học cấp 3 tại Trung tâm Thú y Củ Chi.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm đánh giá tính an toàn và hiệu lực vaccine với các liều khác nhau

Lô vaccine	Nhóm thí nghiệm	Số lượng động vật	Liều tiêm	Chủng virus vaccine
01	An toàn 5 liều	3	5 liều, 2 mL/con	BG895, hiệu giá $10^{5,0}$ TCID ₅₀ /liều
	An toàn 10 liều	3	10 liều, 2 mL/con	
	Miễn dịch	5	1 liều, 2 mL/con	
	Đối chứng	3	0 liều	Tiêm 1 mL dung dịch sinh lý
02	Miễn dịch	5	1 liều, 2 mL/con	BG895, hiệu giá $10^{5,0}$ TCID ₅₀ /liều
	Đối chứng	3	0 liều	Tiêm 1 mL dung dịch sinh lý

2.7. Phương pháp công cường độc

Sau khi tiêm vaccine 28 ngày, cả 2 lô vaccine 01 và 02 được tiến hành công cường độc với chủng TG34 ($10^{5,0}$ TCID₅₀/mL), thể tích mỗi lần công độc là 3 mL/con, theo phương pháp 2 mL tiêm bắp và 1 mL nhỏ mũi. Thời gian theo dõi heo sau khi công cường độc là 28 ngày. Tại từng thời điểm ngày 0, 7, 14, 21, và 28 ngày sau công, lấy 2 mL máu ở xoang tĩnh mạch cổ để phân tích hiệu giá kháng thể bằng phương pháp ELISA và IPMA.

2.8. Phát hiện kháng nguyên PRRSV trong máu bằng phương pháp rRT-PCR

Mẫu dịch mũi được thu bằng tăm bông (swab) ở vị trí xoang mũi để kiểm tra sự bài xuất virus bằng phương pháp rRT-PCR theo S.B.Kleiboeker [9]. Mẫu được xem là dương tính khi có Ct ≤ 35 , mẫu được xem là âm tính khi không có Ct, và mẫu nghi ngờ khi Ct > 35 .

2.9. Phương pháp ELISA (Enzyme-linked immuno-sorbent assay) để đánh giá mức độ đáp ứng miễn dịch sinh kháng thể

Kiểm tra khả năng đáp ứng kháng thể bằng phương pháp ELISA với bộ kit PRRS IDEXX X3 theo TCVN 8400-21: 2014 [10], và chỉ số S/P được tính theo công thức [10]. Mẫu được xem là dương tính kháng thể khi S/P $\geq 0,4$; và ngược lại, mẫu âm tính khi S/P $< 0,4$.

2.10. Phương pháp IPMA (Immunoperoxidase monolayer assay) để xác định hiệu giá kháng thể

Phương pháp IPMA được thực hiện theo hướng dẫn của OIE [11]. Hiệu giá kháng thể được xác định theo nồng độ pha loãng huyết thanh. Nếu ở những giếng có độ pha loãng

huyết thanh $\geq 1/160$ xuất hiện đám tế bào đỏ đậm (giếng huyết thanh đó có kháng thể kháng PRRS), thì hiệu giá kháng thể của mẫu huyết thanh đó đạt ≥ 160 , ngược lại là âm tính [11]. Và vaccine được xác định có hiệu lực bảo hộ khi hiệu giá kháng thể ≥ 640 sau khi công cường độc (hiệu giá kháng thể đạt 640 được xem là ngưỡng bảo hộ của vaccine) [8].

2.11. Xử lý thống kê số liệu

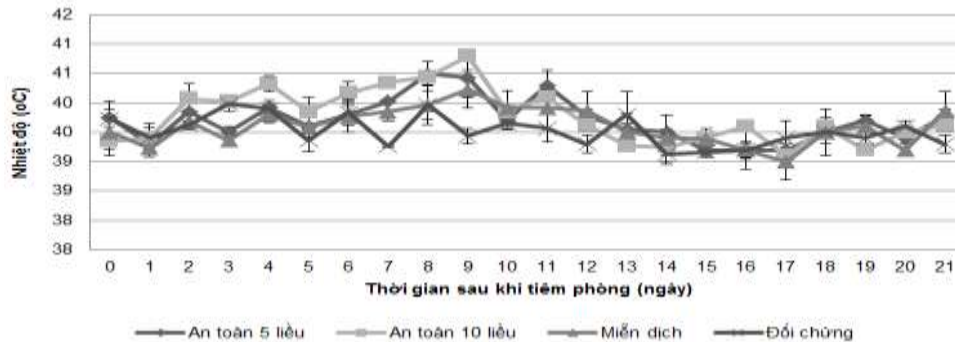
Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm MS. Excel 2016, Epicalc 2000.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Tính an toàn của vaccine nhược độc PRRSV chủng BG895

Sau 2 ngày tiêm vaccine, thân nhiệt nhóm heo thí nghiệm an toàn 10 liều dao động quanh mức 39,9 - 40,5 °C, cao nhất là ngày thứ 9 (40,8 °C), rồi nhanh chóng hạ nhiệt vào ngày 10 (39,9 °C). Nhóm heo an toàn 5 liều có thân nhiệt tăng trên 40 °C từ ngày thứ 7 đến 9, nhưng chỉ trong mức 40 - 40,5 °C và cũng giảm nhiệt vào ngày thứ 10 (39,7 °C). Ở nhóm heo miễn dịch, thân nhiệt ổn định trong 21 ngày được theo dõi, dao động trong 39,2 - 40,2 °C (Hình 1). Về các triệu chứng lâm sàng, ở tất cả heo trong nhóm an toàn 5 liều, 10 liều và miễn dịch đều không ghi nhận được bất kì phản ứng bất thường cũng như phản ứng cục bộ tại vị trí tiêm trong 21 ngày theo dõi (Bảng 2).

Tất cả heo trong hai nhóm an toàn và nhóm miễn dịch đều ăn uống, hoạt động và tăng trọng bình thường tương tự như kết quả một số tác giả khác đã công bố [5, 12, 13]. Điều này chứng tỏ vaccine nhược độc chủng BG895 đạt độ an toàn rất cao khi sử dụng cho đàn heo thử nghiệm.



Hình 1. Diễn biến thân nhiệt của heo thí nghiệm sau khi tiêm vaccine.

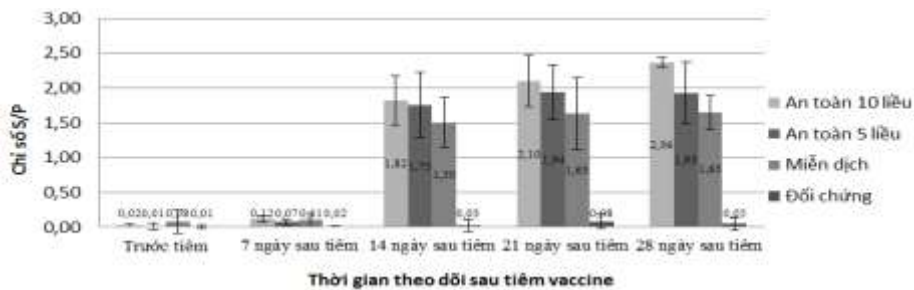
Bảng 2. Tình trạng của heo thí nghiệm sau khi tiêm vaccine

Tình trạng/Triệu chứng lâm sàng	Nhóm an toàn 5 liều	Nhóm an toàn 10 liều	Nhóm miễn dịch	Nhóm đối chứng
Số lượng heo thí nghiệm (con)/ trọng lượng trước thí nghiệm (kg)	3 con/6 - 8kg	3 con/6 - 8kg	5 con/6 - 8kg	3 con/6 - 8kg
Tình trạng chung trước khi tiêm	Khỏe	Khỏe	Khỏe	Khỏe
Liều tiêm (liều/con)	5	10	1	0
Số bệnh/chết/tổng số (con)	0/0/3	0/0/3	0/0/5	0/0/3
Thể trạng heo sau 28 ngày tiêm	Tốt	Tốt	Tốt	Tốt

3.2. Đáp ứng miễn dịch sinh kháng thể với các liều tiêm khác nhau

Để đảm bảo tính chính xác của thí nghiệm, trước khi tiêm vaccine, chúng tôi tiến hành kiểm tra kháng thể bằng phương pháp ELISA từ các mẫu huyết thanh heo thí nghiệm. Sau khi tiêm vaccine, tiến hành thu mẫu huyết thanh vào các thời điểm 7, 14, 21, 28 ngày để đánh giá tình trạng đáp ứng miễn dịch sinh kháng thể.

Kết quả trên Hình 2 cho thấy, từ ngày thứ 14 sau tiêm vaccine, ngoại trừ nhóm đối chứng, kháng thể kháng PRRSV được phát hiện trong huyết thanh heo ở cả 3 nhóm tiêm vaccine, với chỉ số S/P trung bình thấp nhất là nhóm miễn dịch 1 liều ($1,50 \pm 0,4$). Từ ngày 21 đến ngày 28 sau tiêm, chỉ số S/P duy trì ở mức $1,63 \pm 0,5$ đến $1,65 \pm 0,2$ ở nhóm miễn dịch, $1,93 \pm 0,5$ đến $1,94 \pm 0,4$ ở nhóm an toàn 5 liều và $2,10 \pm 0,4$ đến $2,36 \pm 0,1$ ở nhóm an toàn 10 liều.



Hình 2. Đánh giá đáp ứng miễn dịch sinh kháng thể bằng phương pháp ELISA ở heo thí nghiệm. *Chú thích:* Mẫu dương tính kháng thể (+) khi S/P ≥ 0,4; mẫu âm tính (-) khi S/P < 0,4.

3.3. Hiệu giá kháng thể theo thời gian sau khi tiêm vaccine

Kết quả đánh giá bằng phương pháp IPMA (Bảng 3) cho thấy bắt đầu từ ngày 14 sau tiêm vaccine, tất cả heo trong 2 nhóm miễn dịch đều có kháng thể kháng PRRSV với hiệu giá kháng thể trung bình lần lượt là 176 (lô vaccine 01) và 240 (lô vaccine 02). Hiệu giá kháng thể tăng dần trung bình từ 576 đến 1664 (lô vaccine 01) và từ 512 đến 768 (lô vaccine 02) khi được kiểm tra ở ngày 21 và 28. Sự khác nhau về mức độ đáp ứng kháng thể giữa 2 lô vaccine xảy ra

sau khi tiêm vaccine phụ thuộc vào nhiều yếu tố, trong đó có phản ứng khác nhau mang tính chất cá thể nên cần được xem xét thêm. Tuy nhiên, nếu lấy ngưỡng chuyển dương của hiệu giá kháng thể được xác định bằng phương pháp IPMA là 160 [11], kết quả thu được cho thấy 5/5 con heo (100%) đã dương tính từ ngày 21 sau tiêm vaccine tương tự như kết quả khảo nghiệm vaccine nhược độc phòng bệnh PRRS của Đức [5]. Còn nếu lấy ngưỡng hiệu giá kháng thể là 640 [8], thì sau 28 ngày tiêm vaccine, 5/5 con heo (100%) đều đạt ≥ 640 .

Bảng 3. Kết quả đánh giá hiệu giá kháng thể theo thời gian sau khi tiêm bằng phương pháp IPMA

Lô vaccine	Nhóm heo	Trước khi tiêm phòng		7 ngày sau tiêm		14 ngày sau tiêm		21 ngày sau tiêm		28 ngày sau tiêm	
		HGKT* trung bình	Tỷ lệ dương tính (%)	HGKT trung bình	Tỷ lệ dương tính (%)	HGKT trung bình	Tỷ lệ dương tính (%)	HGKT trung bình	Tỷ lệ dương tính (%)	HGKT trung bình	Tỷ lệ dương tính (%)
01	Miễn dịch	10	0/5 (+) 0%	10	0/5 (+) 0%	176	4/5 (+) 80%	576	5/5 (+) 100%	1664	5/5 (+) 100%
	Đối chứng	10	0/3 (+) 0%	10	0/3 (+) 0%	17	0/3 (+) 0%	20	0/3 (+) 0%	20	0/3 (+) 0%
02	Miễn dịch	27	0/5 (+) 0%	139	0/5 (+) 0%	240	4/5 (+) 80%	512	5/5 (+) 100%	768	5/5 (+) 100%
	Đối chứng	10	0/3 (+) 0%	10	0/3 (+) 0%	20	0/3 (+) 0%	20	0/3 (+) 0%	20	0/3 (+) 0%

Chú thích: * HGKT, hiệu giá kháng thể. Mẫu dương tính kháng thể (+) khi HGKT ≥ 160 ; mẫu âm tính (-) khi HGKT < 160 .

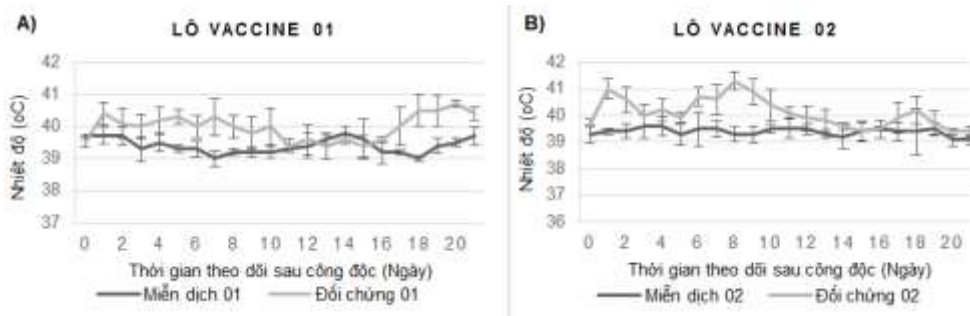
3.4. Đánh giá khả năng bảo hộ của vaccine bằng phương pháp công cường độc

3.4.1. Các triệu chứng lâm sàng

Kết quả theo dõi thân nhiệt ở Hình 3 cho thấy, nhóm heo đối chứng ở cả 2 lô vaccine đều bắt đầu sốt sau 1 ngày công (40,4 °C), thân

hiệu giá kháng thể theo thời gian sau khi tiêm bằng phương pháp IPMA

hiệu giá kháng thể theo thời gian sau khi tiêm bằng phương pháp IPMA



Hình 3. Diễn biến thân nhiệt của heo thí nghiệm sau công cường độc.

A) Thân nhiệt heo trung bình trong lô vaccine 01; B) Thân nhiệt heo trung bình trong lô vaccine 02.

Về các triệu chứng lâm sàng, từ ngày thứ 3 sau công cường độc, 100% heo đối chứng bắt đầu có biểu hiện kém ăn, rồi bỏ ăn, mệt mỏi và từ ngày thứ 7 bắt đầu có triệu chứng ho, khó thở, ngoài ra còn xuất hiện triệu chứng sưng mộng hai mắt với mức độ nặng, có dử mắt, nổi ban đỏ trên da, lông xù xì và xơ xác (Bảng 4). Vào ngày thứ 14 sau công, 1 con heo đối chứng có triệu chứng ho nhiều, trở nên gầy yếu, trên

vành tai xuất hiện các đốm xanh, phản xạ chậm, rồi chết.

Một số kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng heo ở mọi lứa tuổi mắc bệnh tai xanh thì dấu hiệu đầu tiên là sốt, giảm ăn, bỏ ăn kèm theo những triệu chứng bệnh hô hấp (viêm phổi, khó thở, chảy nước mũi, mí mắt sưng, nhiều dử mắt,...) [14, 15].

Bảng 4. Các triệu chứng lâm sàng ở các nhóm heo thí nghiệm sau công cường độc

Triệu chứng	Lô vaccine 01		Lô vaccine 02	
	Nhóm miễn dịch (5 con)	Nhóm đối chứng (3 con)	Nhóm miễn dịch (5 con)	Nhóm đối chứng (3 con)
Sốt (con/tổng số)	0/5	3/3	0/5	3/3
Mệt mỏi (con/tổng số)	0/5	3/3	0/5	3/3
Bỏ ăn (con/tổng số)	0/5	3/3	0/5	3/3
Ban đỏ, rộp da (con/tổng số)	0/5	3/3	0/5	1/3
Có dử mắt (con/tổng số)	0/5	0/3	0/5	3/3
Chảy nước mũi (con/tổng số)	0/5	0/3	0/5	1/3
Ho (con/tổng số)	0/5	2/3	0/5	2/3
Thở khó (con/tổng số)	0/5	2/3	0/5	3/3
Tai xanh (con/tổng số)	0/5	0/3	0/5	1/3
Chết (con/tổng số)	0/5	0/3	0/5	1/3

3.4.2. Tỷ lệ bảo hộ sau khi công cường độc

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy tỷ lệ bảo hộ của vaccine đối với nhóm heo miễn dịch ở cả 2 lô vaccine 01 và 02 rất cao, đều là 100%.

Nhóm heo miễn dịch ở cả 2 lô vaccine đều rất khỏe mạnh, ăn uống tốt trong suốt quá trình theo dõi sau công độc; trái lại, nhóm heo đối chứng ở 2 lô vaccine đều có biểu hiện bệnh từ vừa đến nặng, dẫn đến 1 con heo trong nhóm

đối chứng ở lô vaccine 02 bị chết vào ngày thứ 14 sau khi công độc với các bệnh tích đặc trưng của bệnh tai xanh. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả ghi nhận của J. J. Zimmerman và cộng sự (2019), tỷ lệ chết do PRRSV gây ra khác nhau tùy theo lứa tuổi, cao nhất là heo mới sinh (60 - 100%), tiếp đến heo cai sữa và heo choai (12 - 20%), thấp nhất là heo nái (10%) [16].

Bảng 5. Kết quả bảo hộ của các lô thí nghiệm sau công cường độc

Lô vaccine	Nhóm heo	Số lượng động vật	Liều vaccine	Liều công	Kết quả (Bệnh/chết /tổng số)	Tỷ lệ bảo hộ
01	Miễn dịch	5	$10^{5.0}TCID_{50}/2mL/liều$	$10^{5.0}TCID_{50}/MI$ 2 mL tiêm bắp + 1 mL nhỏ mũi	0/0/5	100%
	Đối chứng	3	1mL nước sinh lý	$10^{5.0}TCID_{50}/mL$ 2 mL tiêm bắp + 1 mL nhỏ mũi	3/0/3	0%
02	Miễn dịch	5	$10^{5.0}TCID_{50}/2mL/liều$	$10^{5.0}TCID_{50}/mL$ 2 mL tiêm bắp + 1 mL nhỏ mũi	0/0/5	100%
	Đối chứng	3	1mL nước sinh lý	$10^{5.0}TCID_{50}/mL$ 2 mL tiêm bắp + 1 mL nhỏ mũi	2/1/3	0%

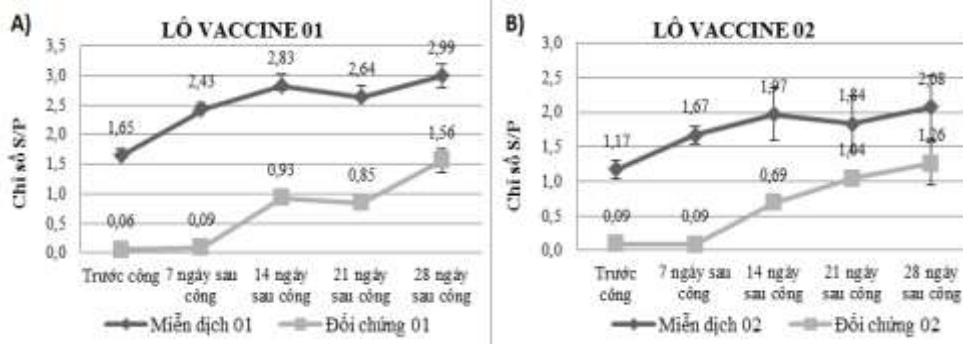
3.4.3. Đáp ứng miễn dịch sau công cường độ

Để kiểm tra mức độ đáp ứng miễn dịch của heo sau khi công, chúng tôi lấy máu heo ở các thời điểm 7, 14, 21, 28 ngày sau công để xác định hàm lượng kháng thể (Hình 4, Bảng 6).

Kết quả Hình 4 cho thấy mức độ kháng thể ở nhóm heo miễn dịch của lô vaccine 01 tăng cao từ $1,65 \pm 0,1$ đến $2,64 \pm 0,2$ sau 21 ngày công cường độ, sau đó đạt mức hiệu giá cao nhất $2,99 \pm 0,2$ vào thời điểm 28 ngày. Tương

tự, hàm lượng kháng thể ở nhóm heo miễn dịch của lô vaccine 02 cũng tăng cao từ $1,17 \pm 0,1$ đến $1,84 \pm 0,4$ sau 21 ngày công, và đạt hiệu giá kháng thể cao nhất $2,08 \pm 0,5$ sau 28 ngày tiêm.

Trong khi đó, hiệu giá kháng thể ở nhóm heo đối chứng của cả 2 lô vaccine bắt đầu xuất hiện kháng thể từ ngày 14 sau công cường độ tương tự kết quả khảo nghiệm vaccine nhược độc chủng JXA1-R của N. Tùng và cộng sự (2011) [13].



Hình 4. Tạo kháng thể ở heo thí nghiệm sau công cường độ (phương pháp ELISA).

A) Chỉ số mức kháng thể ở lô vaccine 01; B) Chỉ số mức kháng thể ở lô vaccine 02.

Chú thích: Mẫu dương tính kháng thể (+) khi S/P ≥ 0,4; mẫu âm tính (-) khi S/P < 0,4.

Bảng 6. Kết quả xác định hiệu giá kháng thể sau công cường độ bằng phương pháp IPMA

Lô vaccine	Nhóm heo	Số lượng động vật	Trước khi công cường độ		7 ngày sau công		14 ngày sau công		21 ngày sau công		28 ngày sau công	
			Kết quả	HGKT* trung bình	Kết quả	HGKT trung bình	Kết quả	HGKT trung bình	Kết quả	HGKT trung bình	Kết quả	HGKT trung bình
01	Miễn dịch	5	5/5 (+)	1664	5/5 (+)	2304	5/5 (+)	2560	5/5 (+)	2560	5/5 (+)	2560
	Đối chứng	3	0/3 (+)	20	0/3 (+)	20	1/3 (+)	20	2/3 (+)	120	3/3 (+)	480
02	Miễn dịch	5	5/5 (+)	768	5/5 (+)	896	5/5 (+)	1536	5/5 (+)	1920	5/5 (+)	2560
	Đối chứng	3	0/3 (+)	10	0/3 (+)	20	1/3 (+)	40	2/2 (+)	320	2/2 (+)	480

Chú thích: * HGKT, hiệu giá kháng thể. Mẫu dương tính kháng thể (+) khi HGKT ≥ 160; mẫu âm tính (-) khi HGKT < 160.

Kết quả phân tích bằng phương pháp IPMA (Bảng 6) cũng cho kết quả tương tự. Trước và sau khi công cường độ, toàn bộ số heo tiêm vaccine đều dương tính kháng thể kháng virus

PRRS, hiệu giá kháng thể trung bình của nhóm heo miễn dịch ở lô vaccine 01 là 1664 và ở lô vaccine 02 là 768, đều đạt trên ngưỡng bảo hộ. Sau 7 ngày công cường độ, hiệu giá kháng thể

của mỗi con trong nhóm heo miễn dịch ở cả 2 lô vaccine tiếp tục tăng cao, đều đạt trên 640, trái lại nhóm đối chứng vẫn âm tính. Sau 21 ngày công, nhóm heo đối chứng ở cả 2 lô vaccine bắt đầu xuất hiện kháng thể với hiệu giá kháng thể trung bình từ 120 (lô vaccine 01) đến 320 (lô vaccine 02), thấp hơn so với nhóm miễn dịch tiêm vaccine với hiệu giá kháng thể trung bình lần lượt là 2560 (lô vaccine 01) và 1920 (lô vaccine 02).

3.4.4. Đánh giá khả năng bài xuất virus

Để kiểm tra sự bài xuất virus, tất cả heo sau khi công cường độc được lấy dịch ngoáy mũi ở các thời điểm 3, 7, 14, 21, và 28 ngày, sau đó kiểm tra sự hiện diện của virus PRRS bằng phương pháp rRT-PCR (Bảng 7).

Kết quả cho thấy trước khi công cường độc không phát hiện sự có mặt của virus PRRS trong 16/16 mẫu xét nghiệm dịch mũi của heo thí nghiệm. Nhưng từ ngày thứ 3 sau công, tất cả 6 con heo trong 2 nhóm đối chứng đều được phát hiện virus trong dịch mũi. Sau 14 ngày công, đối với lô vaccine 01, vẫn còn phát hiện

sự bài xuất virus trong nhóm heo đối chứng; đối với lô vaccine 02, không thấy có sự bài xuất virus nhưng lại phát hiện 1 con heo bị chết. Tuy nhiên, sau 21 ngày công, virus không còn bài xuất trong dịch mũi ở nhóm heo đối chứng. Trái lại, 9/10 con heo trong nhóm miễn dịch hoàn toàn không có virus trong dịch mũi, 1 con heo có bài xuất virus trong dịch mũi vào ngày thứ 3 sau công, nhưng virus không còn bài xuất trước thời điểm 7 ngày sau công.

Việc sử dụng vaccine nhược độc chủng BG895 đã góp phần giảm bài xuất virus ra môi trường, qua đó ngăn chặn khả năng lây nhiễm của virus sang các heo khác trong đàn. Kết quả ghi nhận được tương tự kết quả khảo nghiệm vaccine nhược độc chủng JXA1-R (Trung Quốc) phòng ngừa bệnh PRRS của N. Tùng và cộng sự (2011), với heo được tiêm vaccine, khi bị nhiễm virus PRRS cường độc, virus vẫn nhân lên trong cơ thể nhưng khả năng bài xuất virus ra môi trường thời gian ngắn hơn (2 - 3 tuần) so với heo đối chứng không tiêm phòng [13].

Bảng 7. Phát hiện PRRSV trong dịch mũi sau công cường độc bằng phương pháp rRT-PCR

Lô vaccine	Nhóm heo	Số heo dương tính/Số heo thí nghiệm					
		Trước công độc	3 ngày sau công	7 ngày sau công	14 ngày sau công	21 ngày sau công	28 ngày sau công
01	Miễn dịch	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Đối chứng	0/3	3/3	3/3	1/3	0/3	0/3
02	Miễn dịch	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Đối chứng	0/3	3/3	3/3	0/2*	0/2	0/2

Chú thích: * 01 heo bị chết.

4. Kết luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành khảo nghiệm các tiêu chí đánh giá một loại vaccine nhược độc và chứng minh vaccine được điều chế từ chủng virus nhược độc BG895 đạt độ an toàn rất cao khi tiêm phòng cho heo trong điều kiện nuôi thực nghiệm. Vaccine có hiệu lực phòng bệnh tai xanh với tỷ lệ bảo hộ 100% từ ngày 28 sau tiêm phòng. Không những có khả năng kích thích tăng đáp ứng miễn dịch

ngăn cản triệu chứng lâm sàng do PRRSV gây ra, vaccine nhược độc chủng BG895 còn ngăn chặn được sự bài xuất virus ra môi trường, qua đó ngăn chặn khả năng lây nhiễm của virus sang các heo khác trong đàn.

Kết quả nghiên cứu với heo nuôi thực nghiệm này là cơ sở cho việc sản xuất vaccine phòng bệnh tai xanh từ chủng nhược độc BG895 để đánh giá tính an toàn và hiệu lực bảo vệ của vaccine trong thực tiễn chăn nuôi heo tại Việt Nam.

Lời cảm ơn

Xin chân thành cảm ơn Trung tâm Nghiên cứu Thú y, Công ty Cổ phần Thuốc thú y Trung ương Navetco đã tạo mọi điều kiện để chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

- [1] A. A. F. D. Vries, M. C. Horzinek, P. J. M. Rottier, R. J. D. Groot, The Genome Organization of the Nidovirales: Similarities and Differences Between Arteri-, Toro-, and Coronaviruses, *Seminars in Virology*, Vol. 8, No. VI970104, 1997, pp. 33-47, <https://doi.org/10.1006/smv.1997.0104>.
- [2] M. Kappes, K. Faaberg, PRRSV Structure, Replication and Recombination: Origin of Phenotype and Genotype Diversity, *Virology*, Vol. 479-480, 2015, pp. 475-486, <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.012>.
- [3] S. Dea, C. Gagnon, H. Mardassi, B. Pirzadeh, D. Rogan, Current Knowledge on the Structural Proteins of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) Virus: Comparison of the North American and European Isolates, *Arch, Virol*, Vol. 145, 2000, pp. 659-688, <https://doi.org/10.1007/s007050050662>.
- [4] N. N. Hai, V. K. Hung, Complexity of Genotypes of PRRSV from some Pigs Herds, *Veterinary Sciences and Techniques*, Vol. XIX, No. 1, 2012, pp. 20-26 (in Vietnamese).
- [5] N. V. Cam, T. H. Hien, N. T. Cuong, N. Tung, Trial of Chinese Inactivated and German Live Vaccines for the Prevention of Porcine Respiratory and Reproductive Syndrome (PRRS), *Veterinary Sciences and Techniques*, Vol. XVIII, No. 1, 2011, pp. 31-40 (in Vietnamese).
- [6] B. A. Thy, L. T. Hoa, T. X. Hanh, T. L. Thuoc, Analyzing Genetic Mutations of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Strains by Serial Passages in Cell Line from Field Wild Strain, *Sci, Tech, Dev, J. Nat, Sci*, Vol. 4, No. 4, 2020, pp. 857-867 (in Vietnamese), <https://doi.org/10.32508/stdjns.v4i4.914>.
- [7] B. A. Thy, T. X. Hanh, T. L. Thuoc, Stability of the GP5 Antigen on the Attenuated PRRSV BG895 Strain, *Sci, Tech, Dev, J. Nat, Sci*, Vol. 5, No. 3, 2021, pp. 1539-1554 (in Vietnamese), <https://doi.org/10.32508/stdjns.v5i3.1077>.
- [8] TCVN 8685-12: Vaccine Testing Procedure, Part 12: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Vaccine, Living, 2014 (in Vietnamese).
- [9] S. B. Kleiboeker, S. K. Schommer, S. M. Lee, S. Watkins, W. Chittick, D. Polson, Simultaneous Detection of North American and European Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus using Real-time Quantitative Reverse Transcriptase-PCR, *J. Vet, Diagn, Invest*, Vol. 17, 2005, pp. 165-70, <https://doi.org/10.1177/104063870501700211>.
- [10] TCVN 8400-21: Animal Disease - Diagnostic Procedure, Part 21: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS), 2014 (in Vietnamese).
- [11] Chapter 3.8.6: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, OIE Terrestrial Manual 2018.
- [12] T. L. Thanh, N. H. Dang, T. H. Hien, B. Q. Thang, D. Torrents, Evaluation of Efficiency of Amervac PRRS Vaccine for the High Virulent, Pathogenic Virus Strain in Vietnam, *Veterinary Sciences and Techniques*, Vol. XXI, No. 1, 2014, pp. 5-16 (in Vietnamese).
- [13] N. Tung, T. H. Hien, N. T. Cuong, N. V. Cam, Results of Trial of a Live Chinese Vaccine for Prevention of the Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS), *Veterinary Sciences and Techniques*, Vol. XVIII, No. 6, 2011, pp. 11-17 (in Vietnamese).
- [14] L. V. Nam, Preliminary Results of the Survey on the Clinical and Pathological Findings in Pigs Affected by PRRS in some Regions in the North Vietnam, *Veterinary Sciences and Techniques*, Vol. XIV, No. 6, 2007, pp. 10-18 (in Vietnamese).
- [15] T. Q. An, N. H. Nam, Some Pathological Characteristics of PRRS in Pigs, *Veterinary Sciences and Techniques*, Vol. XVIII, No. 6, 2011, pp. 24-30 (in Vietnamese).
- [16] J. J. Zimmerman, S. A. Dee, D. J. Holtkamp, M. P. Murtaugh, T. Stadejek, G. W. Stevenson, M. Torremorell, H. Yang, J. Zhang, *Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Viruses (Porcine Arteriviruses)*, Diseases of Swine, Eleventh Edition, John Wiley and Sons, Inc, 2019.