

Đáp ứng miễn dịch tạo thành sau tiêm chủng vaccin phòng bệnh dịch tả vịt ở vịt xiêm

Nguyễn Đức Hiền
Chi cục thú y Cần Thơ

TÓM TẮT

Khi tiêm vaccin phòng bệnh dịch tả vịt (DTV) cho vịt xiêm mẹ, kháng thể thụ động truyền được cho vịt con và lưu tồn đến 14 ngày tuổi, cho thấy đây là thời điểm thích hợp để tiêm vaccin lần đầu cho vịt xiêm con, Hai loại vaccin phòng bệnh dịch tả vịt là DTV-TWII (chủng Trung Quốc) và KAPEVAC (chủng Jansen) đều tạo được miễn dịch tốt cho vịt thường nhưng không bảo hộ được cho vịt xiêm khi công cường độc bằng chủng virus gây bệnh DTV phân lập từ thực địa, Việc gia tăng liều sử dụng vaccin ở vịt lên tới 100 lần cũng không tạo được miễn dịch chắc chắn ở vịt xiêm, Kết quả nghiên cứu này cho thấy cần thiết nghiên cứu phát triển một vaccin mới để phòng bệnh DTV thích hợp cho vịt xiêm,

Từ khoá: Vịt xiêm, Vaccin dịch tả vịt, Đáp ứng miễn dịch

Immune response created after vaccination against duck virus enteritis in muscovy ducks

Nguyễn Đức Hiền

Summary

The presence of maternal antibodies against DVE transmitted from Muscovy duck mothers to ducklings prolonged until 14 days, indicating that time appropriate for first vaccination to muscovy ducklings, Both of DTV-TWII (Chinese strain) and KAPEVAC (Jansen strain) DVE vaccines created firmly good immunity in ducks, but did not give any protection against virulent challenge with a virus isolated from a natural outbreak of DVE in Can Tho, Increasing vaccine dose upto 100 times did not create either complete immunity in muscovy ducks, Our study results showed the urgent needs to develop a new vaccine appropriate for muscovy ducks in prevention from DVE ,

Key words: Muscovy duck, DVE vaccine , Immune response

1, ĐẶT VẤN ĐỀ

Vịt xiêm (*Cairina moschata*, Linnaeus 1758) còn gọi là ngan, là một loài thủy cầm được nuôi phổ biến ở nhiều nông hộ khắp cả nước, Tại đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL), với số lượng nuôi khoảng 4,5 triệu con, vịt xiêm cung cấp một lượng thực phẩm đáng kể cho nhu cầu tiêu dùng và tăng thêm nguồn thu nhập cho nhiều nông hộ trong vùng, Tuy nhiên, cũng như nhiều loài thủy cầm khác thuộc họ *Anatidae* bộ *Anseriformes*, vịt xiêm dễ cảm nhiễm với nhiều bệnh phổ biến ở thủy cầm như cúm (Avian Influenza), dịch tả vịt (Duck Virus Enteritis), tụ huyết trùng (Fowl Cholera), thương hàn (Salmonellosis), *E.coli* (Colibacillosis)... Trong những bệnh này thì bệnh dịch tả vịt (DTV) là mối lo ngại hàng đầu của những trang trại chuyên nuôi vịt xiêm vì bệnh có tỉ lệ chết rất cao nhưng các biện pháp phòng trị áp dụng chưa đạt được hiệu quả mong muốn,

Để phòng bệnh DTV cho vịt xiêm, từ trước đến nay người nuôi vẫn sử dụng vaccin phòng bệnh DTV cho vịt thường (*Anas platyrhynchos forma domestica*) để tiêm phòng, Tuy nhiên, có rất nhiều trường hợp vịt xiêm đã được tiêm chủng vaccin vẫn mắc bệnh với những triệu chứng lâm sàng và bệnh tích đại thể rất điển hình của bệnh DTV, Do vậy, người nuôi vịt xiêm luôn tự hỏi qui trình phòng bệnh như vậy có phù hợp hay không,

Để làm sáng tỏ vấn đề trên, chúng tôi đã thực hiện một số thí nghiệm khảo sát đáp ứng miễn dịch tạo thành sau tiêm chủng vaccin DTV nhằm khẳng định lại khả năng sử dụng vaccin này trong phòng bệnh DTV trên vịt xiêm nuôi tại ĐBSCL,

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

2,1, Nội dung

- Khảo sát diễn biến kháng thể thụ động ở vịt xiêm con
- Khảo sát đáp ứng miễn dịch tạo thành sau khi tiêm chủng hai loại vaccin DTV cho vịt và vịt xiêm,
- So sánh đáp ứng miễn dịch sau khi tiêm vaccin DTV với những liều khác nhau cho vịt xiêm,

2,2, Vật liệu

- Vaccin : Sử dụng vaccin DTV nhược độc đông khô do Công ty thuốc thú y trung ương (Navetco) sản xuất (lọ 1,000 liều) từ chủng virus DTV nguồn gốc Trung Quốc (viết tắt là DTV-TWII) và vaccin nhược độc đông khô KAPEVAC do Cty CEVA (Pháp) sản xuất (lọ 200 liều) từ chủng Jansen (viết tắt là KPV), Liều vaccin được sử dụng đúng theo hướng dẫn của nhà sản xuất,

- Virus DTV cường độc: được phân lập trên phôi trứng vịt 10 ngày tuổi từ mẫu gan lấy ở một ổ dịch nghi bệnh DTV trên đàn vịt nuôi thả đồng tại huyện Ô Môn (Cần Thơ), Phân lập virus được giám định bằng kỹ thuật bảo hộ trên vịt, xác định kháng nguyên virus DTV bằng kỹ thuật Ag-ELISA và xác định sự hiện diện *Herpesvirus* bằng kỹ thuật hiển vi điện tử, Độc lực của chủng virus được đánh giá dựa trên thí nghiệm xác định DLD₅₀ ở vịt con 4 tuần tuổi và liều công cường độc sử dụng trong các thí nghiệm là 10³ DLD₅₀/ml,

- Động vật thí nghiệm: Vịt xiêm đen và vịt thường lông trắng (ở địa phương gọi là vịt Tiệp) là những giống được nuôi phổ biến tại vùng ĐBSCL, Vịt con 1 ngày tuổi được mua từ các lò ấp, nuôi cách ly và phân lô thí nghiệm trong các chuồng nuôi riêng biệt tại Trung tâm Giống Nông nghiệp Tp, Cần Thơ, Vịt con được nuôi dưỡng bằng cám hỗn hợp theo hướng dẫn của nhà sản xuất và có bổ sung thêm rau xanh hàng ngày,

2,3, Phương pháp nghiên cứu

- Kỹ thuật ELISA : Sử dụng Quy trình xét nghiệm kháng thể (Ab – ELISA) và kháng nguyên (Ag – ELISA) DTV do AAHL và Trường Đại học Queensland (Australia) tổ chức tập huấn và chuyển giao kỹ thuật cho Trung tâm nghiên cứu thú y, Công ty thuốc thú y TW , Ag-ELISA được sử dụng trong giám định virus DTV và Ab-ELISA được sử dụng xác định kháng thể đặc hiệu DTV trong các khảo sát về đáp ứng miễn dịch tạo thành sau tiêm chủng vaccin,

- Chẩn đoán lâm sàng và phân lập vi khuẩn bội nhiễm trong các thí nghiệm được thực hiện bởi Phòng chẩn đoán bệnh động vật, Chi cục thú y Tp, Cần Thơ,

- Các thí nghiệm khảo sát về diễn biến kháng thể thụ động trên vịt xiêm con, đánh giá hiệu lực miễn dịch của hai loại vaccin DTV và so sánh đáp ứng miễn dịch sau khi tiêm chủng với những liều vaccin khác nhau ở vịt xiêm được mô tả chi tiết trong phần kết quả nghiên cứu,

III, KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3,1, Khảo sát diễn biến kháng thể DTV thụ động ở vịt xiêm con

Mục đích của khảo sát này nhằm xác định thời điểm tiêm vaccin DTV lần đầu phù hợp với vịt xiêm, Chọn và tiêm vaccin DTV-TWII cho 20 vịt xiêm mẹ có lứa đẻ gần nhau, Vaccin được tiêm hai lần, cách nhau 3 tuần, vào bắp thịt ức với liều quy định vào thời điểm 1 tháng trước khi vịt xiêm mẹ đẻ trứng, Lấy máu vịt xiêm mẹ trong thời gian đẻ trứng và lấy 5 trứng/ mẹ để đưa ấp, Kháng thể DTV thụ động ở vịt xiêm con mới nở được xác định vào các ngày tuổi 1, 7, 14 và 21 ngày, Kết quả thí nghiệm được thể hiện ở bảng 1,

Bảng 1 Biến động kháng thể DTV thụ động ở vịt xiêm con

Vịt xiêm mẹ	Vịt xiêm con			
	1 ngày tuổi	7 ngày tuổi	14 ngày tuổi	21 ngày tuổi
0,462 ± 0,030 (0,412-0,493)	0,439 ± 0,093 (0,229 – 0,576)	0,237 ± 0,100 (0,122 – 0,471)	0,056 ± 0,020 (0,035 – 0,079)	0,057 ± 0,013 (0,031 – 0,092)

Ghi chú: Nồng độ kháng thể được thể hiện bằng giá trị OD ($X \pm SD$ và Min-Max)

Các số liệu ở bảng 1 cho thấy vịt xiêm con được thừa hưởng miễn dịch thụ động do kháng thể vịt xiêm mẹ truyền qua trứng và nồng độ kháng thể đặc hiệu này ở tất cả vịt xiêm

con trong ngày tuổi đầu tiên đều đạt mức gần bằng hiệu giá kháng thể ở trong huyết thanh của vịt xiêm mẹ, Kết quả phân tích thống kê cũng cho thấy vịt xiêm con 1 ngày tuổi nhận được kháng thể mẹ truyền tương đối đồng đều với hệ số phân tán khá thấp ($CV = 21,21\%$), Phân tích tương quan giữa nồng độ kháng thể đặc hiệu DTV ở vịt xiêm mẹ và mức kháng thể thụ động của vịt con 1 ngày tuổi bằng phương trình hồi quy cho thấy có một mối liên quan chặt chẽ thể hiện qua hệ số xác định ($R^2 = 0,82$) khá cao ,

Tuy nhiên, kháng thể này giảm rất nhanh theo ngày tuổi ở vịt xiêm con, Lúc 1 ngày tuổi, hầu hết vịt xiêm con có kháng thể ở trên ngưỡng dương tính ($OD > 0,25$), nhưng đến 7 ngày tuổi, tỉ lệ vịt xiêm con đạt mức kháng thể này chỉ còn 57%, Từ 14 ngày tuổi trở đi, các giá trị OD của kháng thể ELISA đo được ở tất cả vịt xiêm con đều nằm ở mức âm tính, Kết quả này cũng tương tự như các kết quả nghiên cứu diễn biến kháng thể thụ động ở vịt thương của chúng tôi (Nguyễn Đức Hiền, 2005) và của Sandhu and Leibovitz (1997),

Kết quả phân tích biến động kháng thể thụ động ở trên cho thấy thời điểm thích hợp tiêm phòng vaccin DTV cho vịt xiêm có thể từ 7 ngày tuổi trở đi, nhưng tốt nhất là từ 14 ngày tuổi (có mức kháng thể đã ở ngưỡng âm),

3,2 So sánh đáp ứng miễn dịch tạo thành sau khi tiêm chủng vaccin

Hai loại vaccin phòng bệnh DTV thông dụng là vaccin DTV đông khô DTV-TWII và vaccin KPV được chọn để tiêm phòng cho vịt xiêm và vịt thương vào lúc 14 ngày tuổi, với 2 liều tiêm khác nhau, Lô đầu được tiêm 1 liều vaccin/con theo hướng dẫn của nhà sản xuất và lô 2 được tiêm 10 liều vaccin/con, Mỗi lô thí nghiệm bao gồm 20 con cùng với 1 lô đối chứng, Công virut cường độc cho vịt và vịt xiêm vào lúc 4 tuần sau khi tiêm vaccin cùng với lô đối chứng không tiêm chủng vaccin, Theo dõi đàn vịt hàng ngày trong 14 ngày sau công cường độc, Trước khi công cường độc lấy máu tất cả vịt thí nghiệm để xác định nồng độ kháng thể, Kết quả thí nghiệm được thể hiện trong bảng 2,

Bảng 2 Đáp ứng miễn dịch tạo thành ở vịt và vịt xiêm sau tiêm chủng 2 loại vaccin DTV

Loại thủy cầm	Loại vaccin	Liều tiêm	Hàm lượng kháng thể ELISA	Số còn sống/ số công	Tỉ lệ bảo hộ
Vịt thương	DTV-TW II	1	$0,621 \pm 0,210$	20/20	100
		10	$0,632 \pm 0,186$	19/20	95
	KPV	1	$0,246 \pm 0,108$	16/20	80
		10	$0,440 \pm 0,202$	17/20	85
	Đối chứng	0	$0,090 \pm 0,041$	0/20	0
Vịt xiêm	DTV-TW II	1	$0,431 \pm 0,193$	0/20	0
		10	$0,433 \pm 0,195$	0/20	0
	KPV	1	$0,203 \pm 0,084$	0/20	0
		10	$0,427 \pm 0,130$	0/20	0
	Đối chứng	0	$0,051 \pm 0,005$	0/20	0

Ghi chú: Nồng độ kháng thể được thể hiện bằng giá trị OD ($X \pm SD$)

Từ kết quả thí nghiệm tập hợp ở bảng 2 cho thấy:

-Vaccin DTV-TWII tạo được đáp ứng miễn dịch mạnh hơn vaccin KPV khi tiêm phòng cho vịt thương, Việc gia tăng liều vaccin (10 lần) không làm tăng đáp ứng miễn dịch ở vịt thương khi dùng vaccin DTV-TW2, nhưng vaccin KPV liều cao đã làm tăng đáng kể hàm lượng kháng thể đặc hiệu DTV cũng như tỷ lệ bảo hộ vịt thương sau khi công virut cường độc,

-Cả 2 loại vaccin DTV-TW2 và KPV đều không tạo được khả năng bảo hộ vịt xiêm khi công cường độc với virut DTV phân lập từ một ổ dịch DTV xảy ra tại địa phương, mặc dù liều tiêm vaccin đã được tăng gấp 10 lần so với liều chỉ định của nhà sản xuất, Kết quả này cho thấy cần phải tiếp tục nghiên cứu liều vaccin cũng như quy trình tiêm chủng phòng bệnh DTV thích hợp cho vịt xiêm,

3,3, Xác định liều vaccin DTV thích hợp cho vịt xiêm

Trong thí nghiệm này vaccin DTV-TWII được tiêm cho vịt xiêm vào lúc 14 ngày tuổi với các liều tiêm khác nhau, từ 1 cho đến 100 liều, Mỗi lô thí nghiệm sử dụng 10 vịt xiêm, Lấy máu để xác định hàm lượng kháng thể và công virus cường độc tất cả vịt xiêm thí nghiệm vào thời điểm 4 tuần sau khi tiêm chủng cùng với lô đối chứng không tiêm chủng vaccin, Theo dõi và ghi nhận số vịt xiêm chết và còn sống trong 14 ngày sau công cường độc để xác định tỉ lệ bảo hộ trong các nghiệm thức, Kết quả thí nghiệm trình bày trong bảng 3,

Bảng 3, Đáp ứng miễn dịch sau khi tiêm chủng vaccin DTV với những liều khác nhau ở vịt xiêm

Liều vaccin / cá thể	Hàm lượng kháng thể ELISA	Số còn sống/ số công	Tỉ lệ bảo hộ (%)
1	0,330 ± 0,070	0/10	0
2	0,362 ± 0,074	0/10	0
4	0,304 ± 0,031	0/10	0
10	0,327 ± 0,061	0/10	0
20	0,314 ± 0,071	2/10	20
50	0,323 ± 0,053	1/10	10
100	0,335 ± 0,052	3/10	30
Đối chứng	0,066 ± 0,034	0/10	0

Ghi chú: Nồng độ kháng thể được thể hiện bằng giá trị OD ($X \pm SD$)

Kết quả thí nghiệm ở bảng 3 cho thấy vịt xiêm vẫn có đáp ứng kháng thể khá yếu sau khi tiêm chủng vaccin DTV với những liều khác nhau, Trị số OD huyết thanh không biến động nhiều ngay cả khi tăng liều vaccin tới 100 lần so với liều chỉ định của nhà sản xuất, Sự sai khác về chỉ số OD của huyết thanh vịt xiêm ở các liều vaccin khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$),

Khi công virus DTV cường độc với liều 10^3 DLD₅₀/ml, tất cả các vịt xiêm trong các lô thí nghiệm tiêm 1 đến 10 liều vaccin/con đều bị chết, Ở các lô được tiêm vaccin với liều cao hơn (20, 50 và 100 liều) chỉ có 20-30% vịt xiêm sống sót sau khi công, nhưng gầy yếu và lông xơ xác, Kết quả thí nghiệm này cho thấy vaccin DTV-TWII không tạo được bảo hộ đầy đủ cho vịt xiêm chống lại virus DTV cường độc, ngay cả khi sử dụng với liều vaccin cao gấp 100 lần,

Hình như chưa có một công bố nào ở cả trong và ngoài nước về đáp ứng miễn dịch hình thành sau tiêm chủng vaccin DTV ở vịt xiêm, Nhưng đã có một vài báo cáo cho kết quả khá ngược nhau về hiệu lực miễn dịch của vaccin DTV ở trên ngỗng, Kisary và Zsak (1983) nhận xét rằng ngỗng được tiêm vaccin nhược độc DTV chỉ bảo hộ được khi công cường độc với chủng KPV (chủng phân lập từ vịt), nhưng không bảo hộ khi công với chủng KLM (chủng phân lập từ ngỗng), Trong khi Balla (1984, 1986) lại nhận xét rằng vaccin thương mại DTV sử dụng cho vịt tạo được miễn dịch rất yếu ở trên ngỗng (tỷ lệ bảo hộ 0-22%), Do vậy, vấn đề được đặt ra là tìm kiếm một loại vaccin thương mại sẵn có thích hợp cho vịt xiêm hay là cần phải nghiên cứu chế tạo ở trong nước một loại vaccin DTV đặc hiệu cho vịt xiêm, một loài thủy cầm được nuôi khá phổ biến và cũng rất mẫn cảm với virus DTV đang lưu hành trên đàn vịt ở nước ta,

IV, KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4,1, Kết luận

Từ kết quả nghiên cứu ở trên có thể rút ra những kết luận sau:

- Kháng thể thụ động truyền từ vịt xiêm mẹ sang vịt xiêm con duy trì ở mức dương tính đến 7 ngày tuổi và âm tính hoàn toàn khi vịt được 14 ngày tuổi,
- Cả 2 loại vaccin DTV-TWII và KPV được sử dụng phổ biến để phòng bệnh DTV trên vịt hiện nay ở nước ta đều không tạo được miễn dịch chắc chắn cho vịt xiêm khi công cường độc bằng chủng virus DTV phân lập từ thực địa,

4,2, Đề nghị

Cần nghiên cứu phát triển một loại vaccin phòng bệnh DTV thích hợp cho vịt xiêm nuôi tại ĐBSCL

Tài liệu tham khảo

- 1, Balla, L, 1984, Duck and goose experiments with duck plague (duck enteritis) virus strains, *Magyar Allatorvosok Lapja*, 39 (9):555-561,
- 2, Balla, L, 1986, Immunization trials in geese and ducks with a vaccine strain of duck plague (duck enteritis) virus passaged in goose embryos, *Magyar Allatorvosok Lapja*, 41 (7): 427-431,
- 3, Công ty thuốc thú y TW2, Bộ NN & PTNT (2003), *Quy trình phân lập, giám định virut dịch tả vịt*,
- 4, Nguyễn Đức Hiền, 2005, Khảo sát một số đặc điểm dịch tễ, bệnh học dịch tả vịt trên một vài loài thủy cầm tại Cần Thơ và xây dựng quy trình tiêm chủng phù hợp, LATS Nông nghiệp, ĐH Nông Lâm Tp HCM,
- 5, Đặng Hùng, Kim văn Phúc, Chris Morrissy, Nguyễn Tiến Trung, Trần Đình Từ, Nguyễn Lan Hương (1999), Nghiên cứu ứng dụng phương pháp ELISA phát hiện kháng nguyên trong chẩn đoán bệnh dịch tả vịt,
- 6, Kisary, J, and Zack, L, 1983, Comparative studies on duck viral enteritis (DVE) virus strains in geese, *Avian Pathology*, 12 (4): 395-408
- 7, Sandhu and Leibovitz (1997), Duck virus enteritis (Duck Plague), In Diseases of Poultry, Tenth edition, Iowa, USA, Pages: 675 -683,
- 8, Tantaswasdi, U, 1987, Studies on Duck virus enteritis, PhD Thesis, Tokyo University, Japan,