

TÍNH KHÁNG NGUYÊN CỦA CHỦNG VIRUS HUA-PRRS01 PHÂN LẬP ĐƯỢC Ở VIỆT NAM

Lê Thị Toan¹, Nguyễn Thị Lan^{1*}, Lương Quốc Hưng¹,
Lê Huỳnh Thanh Phương¹, Phạm Công Hoạt²

¹Khoa thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam; ²Bộ Khoa học và Công nghệ

Email*: agrivet.bp@gmail.com, lanjp2000@yahoo.com

Ngày gửi bài: 21.12.2015

Ngày chấp nhận: 20.09.2016

TÓM TẮT

Chủng virus HUA-PRRS01 có khả năng gây bệnh tích tế bào (CPE) trên môi trường nuôi cấy tế bào Marc-145 một lớp sớm sau 36 giờ gây nhiễm, bệnh tích tế bào đạt 100% sau 60 giờ gây nhiễm. Hiệu giá virus của chủng HUA-PRRS01 là $3,16 \times 10^5$ (TCID₅₀/25 µl). Lợn thí nghiệm sau khi tiêm hỗn dịch kháng nguyên vô hoạt chế từ chủng HUA-PRRS01 có thân nhiệt ổn định, không quan sát thấy phản ứng bất thường nào. Hỗn dịch kháng nguyên chứa virus HUA-PRRS01 sau khi được vô hoạt có thể kích thích lợn sản sinh kháng thể đặc hiệu với virus PRRS với hiệu giá kháng thể cao. Trong đó, hàm lượng kháng thể đạt ngưỡng trên giá trị S/P (0,4) sau 14 ngày tiêm (giá trị S/P trung bình đạt $0,697 \pm 0,271$), đạt cực đại sau 42 ngày tiêm (giá trị S/P trung bình đạt $1,197 \pm 0,256$), sau đó giảm dần sau 49 ngày tiêm nhưng vẫn đạt trên ngưỡng giá trị S/P (0,4). Nghiên cứu này đã đánh giá được tính kháng nguyên của chủng virus HUA-PRRS01 trên lợn thí nghiệm, giúp xác định được chủng virus để sản xuất vacxin phòng và giảm thiệt hại do bệnh gây ra.

Từ khóa: PRRS, tính kháng nguyên, nghiên cứu.

Antigenicity of HUA-PRRS01 Virus Strain Isolated in Vietnam

ABSTRACT

In Marc-145 monolayer cells, PRRS virus caused cytopathogenic effect (CPE) as early as 36 hours post inoculation (35%) and reached 100% at 60 hours post inoculation. The titer of HUA-PRRS01 virus was 3.16×10^5 (TCID₅₀/25µl). Experimental pigs had normal body temperature and showed no unusual reactions after injecting with inactivated antigen that was produced from HUA-PRRS01 virus strain. Inactivated HUA-PRRS01 virus was able stimulate experimental pigs to produce specific antibody of PRRSV with high antibody level. They had antibody level over S/P ratio (0.4) at 14 dpi (average S/P ratio was 0.697 ± 0.271), reached a maximum at 42 dpi (average S/P ratio was $1,197 \pm 0,256$), and then decreased at 49 dpi with antibody level remaining over S/P ratio of 0.4. In the present research, antigenic characteristics of HUA-PRRS01 strain virus was tested in pigs. These results are useful for selecting the virus strain for producing PRRS vaccine to minimize economical loss caused by PRRSV.

Keywords: HUA-PRRS01 virus strain, antigenicity, PRRS.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome - PRRS) là một căn bệnh mới do virus gây ra trên lợn (hay còn gọi là bệnh tai xanh). Năm 1987, bệnh tai xanh được phát hiện lần đầu tiên và gây thiệt hại nặng nề trên lợn ở

nước Mỹ (Keffaber, 1989). Bệnh vẫn đang gây thiệt hại đáng kể cho chăn nuôi lợn trên toàn thế giới như gây thiệt hại trên lợn sơ sinh, lợn đang nuôi con, giảm khả năng sinh sản của đàn lợn giống. Nguyên nhân gây hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản của lợn là do một virus thuộc họ Arteriviridae giống Nidovirales. Trong các điều tra dịch bệnh do virus PRRS gây ra cho

biết virus thường ghép với một số mầm bệnh như *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Salmonella choleraesuis* hoặc *Actinobacillus pleuropneumoniae* gây ra các triệu chứng bệnh liên quan tới đường hô hấp (Goyal, 1993). Riêng ở Mỹ, thiệt hại kinh tế do PRRS gây ra là hơn 560 triệu USD/năm và bệnh được coi là căn bệnh truyền nhiễm ảnh hưởng rõ ràng nhất tới nền chăn nuôi lợn quy mô công nghiệp (Neumann *et al.*, (2005). Việc sử dụng vaccin phòng chống PRRS được bắt đầu ở Châu Âu từ năm 1993 và một năm sau đó ở Bắc Mỹ. Các vaccin PRRS hiện nay gồm 2 dạng chính là vaccin nhược độc và vô hoạt được trộn với tá được (Zuckermann *et al.*, 2007). Các nghiên cứu về PRRS của Baron *et al.*, (1992), Mengeling *et al.*, (1996) đã tiến hành nuôi cấy virus PRRS trên dòng tế bào biểu mô thận khỉ xanh (MA104, CL2621 và Marc 145). Mặc dù tế bào đích của virus PRRS là đại thực bào phế nang trên lợn mắc bệnh nhưng nó ít được sử dụng trong việc phân lập virus trong phòng thí nghiệm. Kim *et al.*, (1993), Meulenberg (2000) đã chỉ ra việc sử dụng dòng tế bào Marc 145 là thích hợp cho việc phân lập virus PRRS. Ở Việt Nam trong những năm gần đây, tỷ lệ lợn mắc PRRS cao và rộng khắp trên nhiều tỉnh thành gây thiệt hại đáng kể cho ngành chăn nuôi lợn. Năm 2012 - 2013, các bệnh phẩm từ các lợn nghi mắc PRRS tại các đợt dịch đã được thu thập và virus PRRS đã được phân lập phục vụ cho các nghiên cứu đặc tính sinh học, tính kháng nguyên, sản xuất vaccin. Bài báo này đề cập tới các kết quả nghiên cứu tính kháng nguyên của chủng virus HUA-PRRS01 đã phân lập được.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Chủng virus HUA-PRRS01 được phân lập từ mẫu bệnh phẩm lợn mắc PRRS và chủng virus vaccin PRRS nhược độc ATCC VR-2332 phân lập từ vaccin Ingelvac PRRS được bảo quản ở điều kiện -80°C tại phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ sinh học, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nhân virus

Chuẩn bị tế bào Marc 145 một lớp: Tế bào Marc 145 được nuôi cấy trong môi trường DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) có bổ sung 10% FBS (Fetal bovine serum) trong tủ ấm 37°C có chứa 5% CO₂. Tế bào Marc-145 một lớp được chuẩn bị trên khay nuôi cấy tế bào 24 giếng.

Các ống chứa virus chủng HUA-PRRS01 được bảo quản ở điều kiện - 80°C được rã đông sau đó được gây nhiễm vào môi trường tế bào Marc-145.

Gây nhiễm virus và quan sát kết quả: Từ các giếng tế bào Marc-145 một lớp, hút bỏ môi trường nuôi cấy và bổ sung 100 µl dịch virus chủng HUA-PRRS01. Đem tế bào được gây nhiễm virus ủ ở 37°C với 5% CO₂ trong 30 phút. Sau đó bổ sung 1 ml môi trường DMEM có chứa 10% FBS (Fetal bovine serum) vào các giếng tế bào và tiếp tục để ở 37°C với 5% CO₂. Hàng ngày theo dõi sự phá hủy tế bào bằng kính hiển vi soi nổi và tiến hành thu virus khi 80 - 90% tế bào bị phá hủy.

2.2.2. Xác định hiệu giá virus TCID₅₀

Tế bào Marc-145 một lớp được chuẩn bị trên khay 96 giếng. Mẫu virus cần xác định hiệu giá được pha loãng theo cơ số 10 rồi đem gây nhiễm 25 µl dung dịch virus vào các giếng tế bào chứa tế bào Marc-145 một lớp, mỗi độ pha loãng lặp lại 3 lần. Sau 1 giờ ủ, bổ sung môi trường DMEM có chứa 10% TBP. Theo dõi bệnh tích tế bào hàng ngày bằng kính hiển vi soi nổi. TCID₅₀ được xác định theo phương pháp của Behrens - Karber (Lan *et al.*, 2005).

2.2.3. Xác định đường cong sinh trưởng của virus

Virus PRRS được gây nhiễm lên tế bào với MOI (Multiplicity of infection) là 0,01. Sau 1 giờ ủ, huyền dịch chứa virus được hút bỏ và môi trường nuôi dưỡng được rửa sạch với 0,5 ml PBS, sau đó bổ sung môi trường DMEM có chứa 10% TPB. Virus giải phóng ngoài tế bào và trong tế bào được thu riêng ở các thời điểm khác

nhau sau khi gây nhiễm virus (24, 36, 48, 60, 72, 84, 96, 108 giờ). Đường cong nhân lên của virus được xây dựng có biến là $\log_{10}$ của TCID₅₀ tại mỗi thời điểm thu virus.

2.2.4. Bố trí thí nghiệm

6 lợn 2 tháng tuổi khỏe mạnh, chưa được tiêm phòng vaccin PRRS, chưa được tiếp xúc với PRRS ngoài tự nhiên, được nuôi trong chuồng an toàn sinh học cấp II và được theo dõi 14 ngày trước khi tiến hành thí nghiệm. 6 lợn được chia đều làm 2 lô. Trong đó 1 lô tiêm (lợn 4, 5, 6) hỗn dịch kháng nguyên virus PRRS vô hoạt, 1 lô đối chứng (lợn 1, 2, 3).

2.2.5. Theo dõi triệu chứng lâm sàng

Các lợn thí nghiệm được theo dõi hàng ngày các triệu chứng lâm sàng và thân nhiệt.

2.2.6. Vô hoạt bằng formalin

Dung dịch formaldehyde (35%) được trộn với hỗn dịch kháng nguyên đảm bảo đạt nồng độ 0,3% thể tích. Dung dịch này được lắc 300 vòng/phút ở 4°C và để qua đêm.

2.2.7. Tiêm hỗn dịch kháng nguyên vô hoạt

Hỗn dịch kháng nguyên được tiêm lặp lại 2 lần ở 0 dpi và 21 dpi với liều 2 ml/con tiêm bắp. Ở lô đối chứng sử dụng môi trường DMEM để tiêm cho lợn với liều lượng và cách tiêm như lô thí nghiệm. Sau khi tiêm định kỳ, lấy máu ở lợn lô đối chứng và lô thí nghiệm để kiểm tra hàm lượng kháng thể với PRRSV.

2.2.8. Phương pháp ELISA

Các mẫu huyết thanh được lấy từ máu lợn ở lô thí nghiệm và lô đối chứng được bảo quản ở điều kiện -20°C. ELISA được tiến hành bằng kit

VDPro PRRSV AB ELISA (Cat. No. PRRS - AB) của nhà sản xuất Median, quy trình được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất đi kèm theo bộ kit.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc tính sinh học của chủng virus HUA-PRRS01 sau thời gian bảo quản 6 tháng

3.1.1. Khả năng gây bệnh tích tế bào và hiệu giá của chủng virus HUA-PRRS01

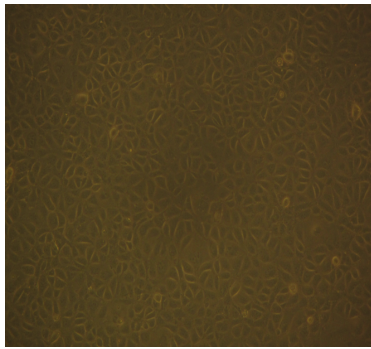
Khả năng gây bệnh tích tế bào của chủng virus HUA-PRRS01 trên môi trường nuôi cấy tế bào Marc-145 đã được kiểm tra và so sánh với chủng virus nhược độc ATCC VR-2332 được phân lập từ vaccin. Bên cạnh đó, nhằm đánh giá một cách khách quan khả năng nhân lên của virus PRRS chủng HUA-PRRS01 và chủng virus vaccin, các huyền dịch chứa virus phải được xác định hiệu giá để tính toán giá trị TCID₅₀ sau đó gây nhiễm lên môi trường tế bào Marc-145 ở cùng một tỷ lệ là MOI = 0,01. Kết quả theo dõi sự nhân lên của virus PRRS phân lập được trên môi trường tế bào Marc-145 được thể hiện ở bảng 1.

Qua bảng 1 cho thấy chủng virus HUA-PRRS01 có quá trình xâm nhập và nhân lên trên môi trường tế bào Marc-145 (Hình 1) và giống với chủng virus vaccin. Các tế bào bị nhiễm virus PRRS co cụm lại với nhau, trôi lên khỏi đáy bình nuôi cấy và khi tế bào bị virus phá hủy hoàn toàn thì bong khỏi đáy bình nuôi cấy, có thể quan sát rất rõ hình thái bệnh tích này qua kính hiển vi soi ngược. Bệnh tích tế bào (CPE) xuất hiện sớm, ở 24 giờ sau khi gây nhiễm virus HUA-PRRS01 (Hình 2) đạt 10%,

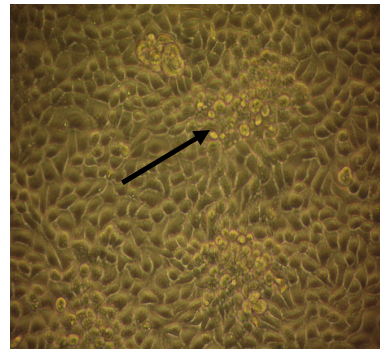
Bảng 1. Khả năng gây bệnh tích tế bào của chủng virus HUA-PRRS01 và chủng vaccin
(tính theo % diện tích tế bào bị phá hủy so với tổng số diện tích đáy bình nuôi cấy)

Virus	Bệnh tích tế bào theo thời gian sau gây nhiễm virus (%)					
	24 hpi	36 hpi	48 hpi	60 hpi	72 hpi	84 hpi
HUA-PRRS01	10*	35	70	100	B	
Vaccin	10	30	50	100	B	

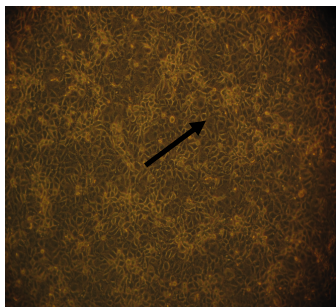
Chú thích: B: Toàn bộ tế bào bong tróc khỏi bề mặt nuôi cấy; 10*: 10% tế bào bị phá hủy so với tổng diện tích đáy bình nuôi cấy (ước lượng bằng mắt khi soi bằng kính hiển vi soi ngược)



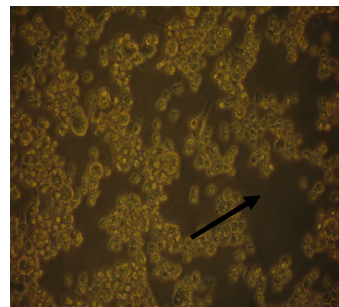
Hình 1. Tế bào Marc-145 không gây nhiễm virus PRRS



Hình 2. Bệnh tích tế bào sau 36 giờ gây nhiễm virus HUA-PRRS01



Hình 3. Bệnh tích tế bào sau 48 giờ gây nhiễm virus HUA-PRRS01



Hình 4. Bệnh tích tế bào sau 72 giờ gây nhiễm virus HUA-PRRS01

sau đó tăng dần sau 48 giờ gây nhiễm đạt 70% (Hình 3) và 100% ở thời điểm 60 giờ gây nhiễm virus (Hình 4). Đến 84 giờ sau gây nhiễm các tế bào đều bong tróc khỏi bề mặt nuôi cấy.

Sau khi quan sát khả năng gây bệnh tích tế bào trên môi trường tế bào Marc-145 từ các chủng virus HUA-PRRS01 phân lập được, bằng phương pháp hóa miễn dịch tế bào đã khẳng định bệnh tích tế bào quan sát được là do virus PRRS gây ra. Sau đó các chủng virus được thu hoạch và bảo quản trong điều kiện -80°C . Kết quả xác định hiệu giá virus ($\text{TCID}_{50}/25\text{ }\mu\text{l}$) của chủng virus HUA-PRRS01 thu được là $3,16 \times 10^5$ ($\text{TCID}_{50}/25\mu\text{l}$).

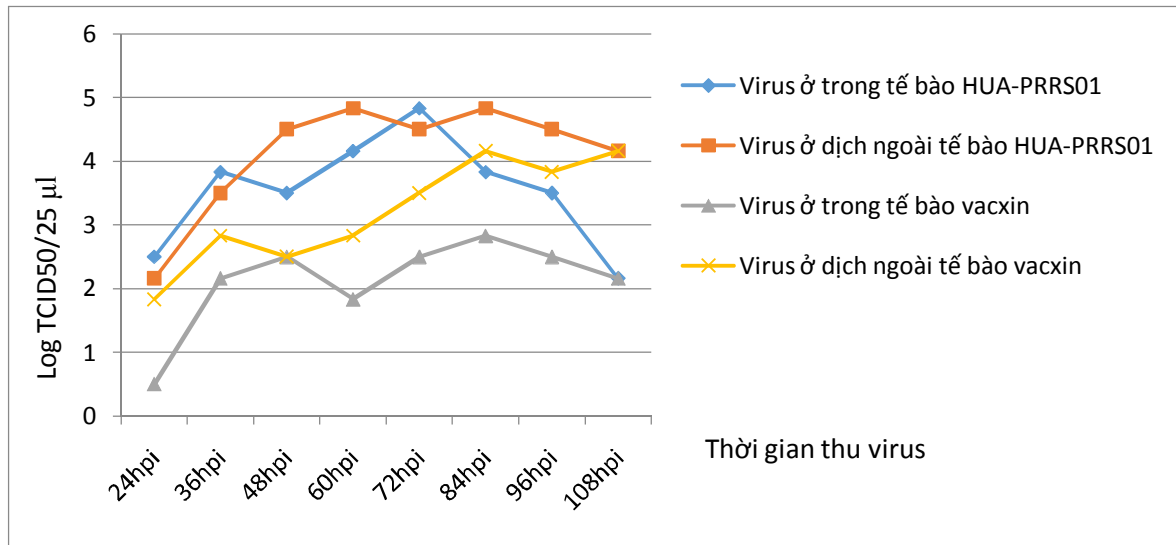
3.1.2. Quy luật nhân lên trên môi trường tế bào Marc-145 của virus HUA-PRRS01

Chủng virus HUA-PRRS01 được gây nhiễm lên môi trường tế bào Marc-145 một lớp với MOI là 0,01, ủ ở 37°C , 5% CO_2 . Tiến hành xác định hiệu giá TCID_{50} những ống virus thu được để

định lượng virus. Kết quả theo dõi hiệu giá virus ở các thời điểm sau khi gây nhiễm đã quy định của chủng HUA-PRRS01 và chủng virus vaccin được trình bày tương ứng ở biểu đồ 1.

Biểu đồ 1 cho thấy chủng virus HUA-PRRS01 và chủng virus vaccin đều có hàm lượng virus giải phóng tự do ngoài tế bào nhiều hơn hàm lượng virus có mặt ở trong tế bào. Chủng virus HUA-PRRS01 xâm nhập và nhân lên trong tế bào nhanh hơn so với chủng virus vaccin. Tại các thời điểm thu virus giống nhau thì hàm lượng virus PRRS của chủng phân lập được đều tồn tại trong tế bào Marc-145 cao hơn hàm lượng virus vaccin.

Hàm lượng virus trong tế bào của chủng HUA-PRRS01 liên tục tăng mạnh sau 48 giờ gây nhiễm trong khi lượng virus vaccin trong tế bào tăng nhẹ sau 24 giờ gây nhiễm, bắt đầu tăng mạnh sau 60 giờ gây nhiễm. Kết quả là lượng virus của HUA-PRRS01 trong tế bào nhân lên nhanh chóng và đạt đỉnh cao ở 72 giờ sau khi gây



Biểu đồ 1. Sự nhân lên và phát triển của chủng virus vaccin và HUA-PRRS01

Ghi chú: hpi giờ sau tiêm.

nhễm với giá trị log TCID₅₀ là 4,83, còn đối với chủng virus vaccin giá trị này đạt cao nhất là 2,83 ở thời điểm 84 giờ sau gây nhiễm.

Trong khoảng thời gian từ 36 giờ đến 60 giờ, hàm lượng của chủng virus HUA-PRRS01 tăng khá nhanh trong khi virus vaccin lại hơi giảm. Xem xét vấn đề này trong mối liên quan với hàm lượng virus tồn tại trong tế bào ở thời điểm tương ứng ta có thể nhận thấy điểm khác nhau cơ bản giữa 3 chủng virus phân lập được và chủng virus vaccin.

Tại thời điểm từ 36 đến 48 giờ sau khi gây nhiễm virus, hàm lượng virus trong tế bào của chủng virus HUA-PRRS01 hơi giảm nhẹ. Trong khi đó lượng virus giải phóng tự do của chủng virus HUA-PRRS01 lại tăng nhẹ với giá trị log TCID₅₀ tăng từ 3,5 tới 4,5. Khi quan sát bệnh tích tế bào ở 48 giờ sau gây nhiễm thấy xuất hiện CPE tăng so với thời điểm 36 giờ sau gây nhiễm, điều này chứng tỏ đây là giai đoạn mà chủng virus HUA-PRRS01 phát triển yếu trong tế bào, hàm lượng virus tự do tăng do lượng tế bào bị virus phá vỡ tăng mạnh, virus được giải phóng ra môi trường nuôi cấy. Nhưng cũng trong thời gian này thì chủng virus vaccin tăng cường xâm nhập vào tế bào và nhân lên trong tế bào dẫn tới hàm lượng virus trong tế bào tăng

và hàm lượng virus tồn tại ở môi trường ngoài tế bào giảm.

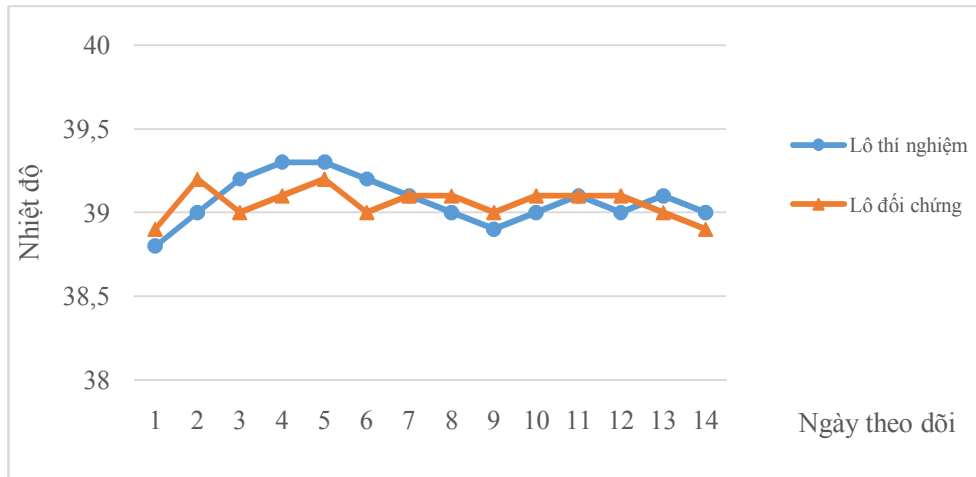
Thời điểm 48 giờ đến 60 giờ sau khi gây nhiễm chủng virus HUA-PRRS01 tăng cường xâm nhập và nhân lên trong tế bào, từ 60 giờ đến 72 giờ sau khi gây nhiễm thì ngược lại, chúng xâm nhập và nhân lên trong tế bào yếu hơn. Đối với virus vaccin, thời gian từ 48 giờ đến 72 giờ sau khi gây nhiễm, virus tăng cường giải phóng ra khỏi tế bào, quá trình xâm nhập và nhân lên trong tế bào của virus diễn ra chậm.

Cả chủng virus vaccin và chủng virus HUA-PRRS01 đều thể hiện rằng chúng xâm nhập, nhân lên trong tế bào mạnh hay yếu tùy từng thời điểm nhất định.

3.2. Đặc tính kháng nguyên của chủng virus HUA-PRRS01

3.2.1. Triệu chứng lâm sàng của lợn sau khi tiêm hỗn dịch kháng nguyên vô hoạt

Nghiên cứu tính kháng nguyên của chủng virus HUA-PRRS01 được thực hiện trên động vật thí nghiệm là lợn 2 tháng tuổi. Sau khi nhân lên số lượng lớp virus trên môi trường tế bào Marc-145 bằng phương pháp nuôi cấy, tiến hành ly tâm, sau đó loại bỏ cặn tế bào và dịch môi trường nuôi cấy. Hỗn dịch kháng nguyên



Biểu đồ 2. Thân nhiệt của các lợn thí nghiệm

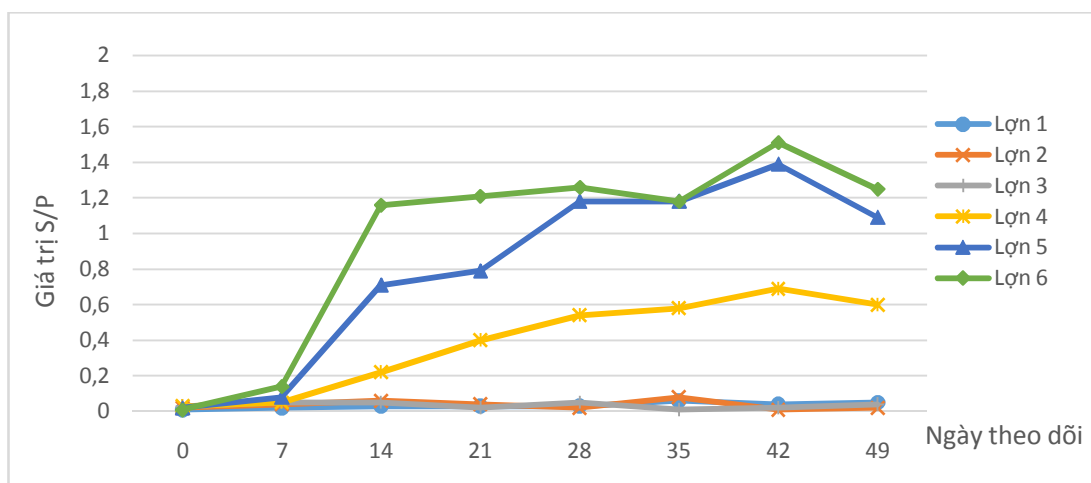
chứa virus được vô hoạt bằng dung dịch formaldehyd, hỗn dịch sau khi vô hoạt được kiểm tra lại trên môi trường tế bào Marc-145. Kết quả cho thấy hỗn dịch kháng nguyên sau khi vô hoạt không gây bệnh tích tế bào trên môi trường nuôi cấy tế bào Marc-145. Sau đó, hỗn dịch kháng nguyên vô hoạt được chế từ chủng virus HUA-PRRS01 được tiêm cho các lô lợn thí nghiệm với liều 2 ml/con (chứa $3,16 \times 10^5$ TCID₅₀/25 µl). Kết quả theo dõi thân nhiệt của lô thí nghiệm và đối chứng sau khi tiêm 2 tuần được trình bày ở biểu đồ 2.

Thân nhiệt ở lô lợn thí nghiệm có nhiệt độ dao động trong khoảng $39,071 \pm 0,038^\circ\text{C}$, lô lợn đối chứng là $39,057 \pm 0,025^\circ\text{C}$ (Biểu đồ 2), với giá trị $P = 0,758 > 0,05$ nên khẳng định không có sự

sai khác về nhiệt độ giữa 2 lô lợn thí nghiệm và đối chứng. Đồng thời, trong thời gian 14 ngày sau khi tiêm hỗn dịch không quan sát thấy bất kỳ các phản ứng bất thường ở lợn như: mệt mỏi, chán hoặc bỏ ăn, phát ban, mí mắt sưng, ho, khó thở, tiêu chảy... Trong thời gian thí nghiệm, các lợn thí nghiệm vẫn ăn uống, phát triển và khỏe mạnh cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Như vậy, hỗn dịch kháng nguyên virus sau khi tiêm cho cả 2 lô lợn thí nghiệm và đối chứng đều đáp ứng được các chỉ tiêu an toàn trên bản động vật.

3.2.2. Kết quả theo dõi hàm lượng kháng thể ở các lô lợn tiêm phòng vaccin

Lợn đối chứng (lợn 1, 2, 3) đều không thấy có kháng thể đặc hiệu với virus PRRS với các



Biểu đồ 3. So sánh giá trị S/P giữa hai lô lợn thí nghiệm sau khi tiêm vaccin

giá trị S/P nhỏ hơn giá trị 0,4 (Biểu đồ 3). Trong quá trình thí nghiệm ở các lô đối chứng đều không xuất hiện kháng thể với virus PRRS nên khẳng định môi trường chăm sóc, chăn nuôi các lô động vật thí nghiệm không có sự xuất hiện của virus PRRS. Kết quả cũng chỉ ra sau khi tiêm hỗn dịch kháng nguyên vô hoạt được chế từ chủng HUA-PRRS01 thì các lợn ở lô thí nghiệm đều có hàm lượng kháng thể đạt trên ngưỡng giá trị S/P (0,4).

Ở lô lợn thí nghiệm (lợn 4, 5, 6) tiêm hỗn dịch kháng nguyên vô hoạt chế từ chủng virus HUA-PRRS01 sau khi vô hoạt bằng formalin 35% vẫn đảm bảo tính kháng nguyên để có thể kích thích lợn sinh miễn dịch đặc hiệu với virus PRRS với hàm lượng kháng thể cao. Hàm lượng kháng thể tăng dần sau khi tiêm hỗn dịch kháng nguyên vô hoạt lần 1 ở giai đoạn 7 - 21 ngày sau khi tiêm. Ở lần tiêm nhắc lại (21 dpi), hiệu giá kháng thể có dấu hiệu tăng lên ở giai đoạn 21 - 42 ngày sau khi tiêm và giảm nhẹ ở ngày thứ 49. Hàm lượng kháng thể của lô thí nghiệm đạt trên ngưỡng giá trị S/P (0,4) sau 14 ngày tiêm (giá trị trung bình đạt $0,697 \pm 0,271$), sau đó đạt cực đại sau 42 ngày tiêm (giá trị trung bình đạt $1,197 \pm 0,256$). Ở các ngày 42 tới 49 sau khi tiêm, hàm lượng kháng thể giảm nhưng vẫn đạt trên ngưỡng giá trị S/P ở thời điểm 49 ngày sau khi tiêm (giá trị trung bình đạt $0,980 \pm 0,196$). Hàm lượng kháng thể sau khi tiêm vaccin lặp lại lần 2 cao hơn so với sau khi tiêm vaccin lần 1. Điều này có thể được giải thích do có đáp ứng trí nhớ miễn dịch. Đồng thời, ở những lợn thí nghiệm này không thấy có nguồn kháng thể thụ động do tiếp xúc với mầm bệnh hay được tiêm phòng vaccin PRRS trước đó nên lượng kháng thể được tạo ra ở lô thí nghiệm là kháng thể chủ động. Như vậy, chủng HUA-PRRS01 là chủng có tiềm năng, có thể lựa chọn để sản xuất vaccin vô hoạt phòng bệnh.

4. KẾT LUẬN

Lợn thí nghiệm sau khi tiêm hỗn dịch kháng nguyên vô hoạt được chế từ chủng HUA-PRRS01 có thân nhiệt ổn định, không có phản

ứng bất thường sau 14 ngày theo dõi, đáp ứng được chỉ tiêu an toàn trên bản động vật. Chủng virus HUA-PRRS01 đảm bảo tính kháng nguyên sau khi được vô hoạt. Hỗn dịch kháng nguyên virus sau khi được vô hoạt đã kích thích lợn sản sinh miễn dịch đặc hiệu với virus PRRS với hiệu giá kháng thể cao, đạt trên ngưỡng giá trị S/P sau 14 ngày (giá trị trung bình đạt $0,697 \pm 0,271$), đạt cực đại sau 42 ngày tiêm (giá trị trung bình đạt $1,197 \pm 0,256$), sau đó giảm dần sau 49 ngày tiêm nhưng vẫn đạt trên ngưỡng giá trị S/P (0,4).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Baron, T., Albina, E., Leforban, Y., Madec, F., Guilmoto, H., Plana Duran, J., Vannier, P. (1992). Report on the first outbreaks of the porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) in France. Diagnosis and viral isolation. *Annales de recherches veterinaires. Annals of veterinary research*, 23: 161 - 166.
- Goyal, SM. (1993). Porcine reproductive and respiratory syndrome. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 5(4): 656 - 664.
- Keffaber, K. K. (1989). Reproductive failure of unknown etiology. *American Association of Swine Practitioners Newsletter*, 1: 1 - 9.
- Kim, H.S., Kwang, J., Yoon, I.J., Joo, H.S., Frey, M.L. (1993). Enhanced replication of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in a homogeneous subpopulation of MA - 104 cell line. *Archives of virology*, 133: 477 - 483.
- Lan, N.T., Yamaguchi, R., Kai, K., Uchida, K., Kato, A., Tateyama, S. (2005). The growth profiles of three types of canine distemper virus on Vero cells expressing canine signaling lymphocyte activation molecule. *Journal of veterinary medical science*, 67: 491 - 495.
- Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C. (1996). Alveolar macrophages as a diagnostic sample for detecting natural infection of pigs with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J Vet Diagn Invest.*, 8: 238 - 240.
- Meulenbergh, J.J. (2000). PRRSV, the virus. *Vet Res.*, 31: 11 - 21.
- Neumann, E.J., Kliebenstein, J.B., Johnson, C.D., Mabry, J.W., Bush, E.J., Seitzinger, A.H., Green, A.L., Zimmerman, J.J. (2005). Assessment of the economic impact of porcine reproductive and respiratory syndrome on swine production in the United States. *J Am Vet Med Assoc.*, 227: 385 - 392.

- Nodelijk, G., de Jong, M.C., van Leengoed, L.A., Wensvoort, G., Pol, J.M., Steverink, P.J., Verheijden, J.H. (2001). A quantitative assessment of the effectiveness of PRRSV vaccination in pigs under experimental conditions. *Vaccine*, 19: 3636 - 3644.
- Zuckermann, F.A., Garcia, E.A., Luque, I.D., Christopher - Hennings, J., Doster, A., Brito, M., Osorio, F. (2007). Assessment of the efficacy of commercial porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccines based on measurement of serologic response, frequency of gamma - IFN - producing cells and virological parameters of protection upon challenge. *Veterinary microbiology*, 123: 69 - 85.