

KIỂM NGHIỆM MỘT SỐ CHỈ TIÊU KỸ THUẬT VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU LỰC CỦA VIRUS NEWCASTLE CHỦNG F LƯU GIỮ TẠI TRƯỜNG ĐẠI HỌC HÙNG VƯƠNG TRÊN GÀ DƯỚI 2 THÁNG TUỔI

Nguyễn Xuân Việt^{1*}, Ngô Thị Huyền¹, Hoàng Thị Phương Thúy¹,
Nguyễn Thị Quyên¹, Lylavong Sommanly¹

¹Khoa Nông Lâm Ngư, Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ

Ngày nhận bài: 02/5/2021; Ngày chỉnh sửa: 01/6/2021; Ngày duyệt đăng: 03/6/2021

Tóm tắt

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm kiểm nghiệm một số chỉ tiêu của virus Newcastle chủng F và đánh giá hiệu lực trên gà dưới 2 tháng tuổi. Kết quả thu được cho thấy kiểm tra cảm quan cho sản phẩm đồng nhất màu sắc cao, không vón cục. Kiểm tra vô trùng: Các mẫu đều không có vi khuẩn và nấm mốc. Kiểm tra an toàn: Trên gà sau thời gian 21 ngày thì 100% số gà đều khỏe mạnh. Kiểm tra hiệu giá liều gây nhiễm 50% phôi gà EID₅₀ là $10^{-7.5}$, Kiểm tra hiệu lực: Hiệu giá HI (21 ngày trên gà) đạt $4,75 \pm 1,07 \log_2$ với 100% số mẫu có HI $\geq 3 \log_2$. Bảo quản vaccine tốt trong 3-6 tháng ở nhiệt độ -86°C. Như vậy, virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương đảm bảo chất lượng theo TCVN 8685-20:2018 hoàn toàn có thể sử dụng làm vaccine phòng bệnh Newcastle.

Từ khóa: *Virus Newcastle chủng F, EID₅₀, HI.*

1. Đặt vấn đề

Bệnh Newcastle là bệnh truyền nhiễm lây lan do loại virus thuộc họ Paramyxoviridae gây ra trên hầu hết các loại gia cầm. Bệnh có thể xảy ra ở mọi lứa tuổi. Do tính chất ảnh hưởng kinh tế nặng nề của bệnh Newcastle mà Tổ chức Thú y Thế giới (World Organization for Animal Health: OIE) đã xếp bệnh này nằm trong danh sách các bệnh cần chú ý [1]. Tại Việt Nam bệnh Newcastle đã từng là thảm họa cho ngành chăn nuôi gia cầm, gây thiệt hại lớn về kinh tế. Bệnh pháp

phòng bệnh duy nhất cho hiệu quả là sử dụng vaccine phòng bệnh [2, 3].

Để phòng bệnh Newcastle có nhiều loại vaccine khác nhau như các vaccine sản xuất từ chủng Lasota, chủng F dùng để nhỏ phòng bệnh cho gà dưới 2 tháng tuổi, chủng M để tiêm cho gà trên 2 tháng tuổi...[4]. Mỗi một chủng vaccine khi sử dụng chỉ sinh ra một loại kháng thể đặc hiệu, không chủng nào kết hợp được với kháng thể do chủng khác sinh ra. Đồng thời hiệu giá kháng thể khi sử dụng các chủng khác nhau làm vaccine

cũng kháng nhau, trong đó vaccine chủng F thường có hiệu giá kháng thể thấp hơn các dòng khác như Lasota hay chủng M [5] nên trên thực tế đây là chủng ít phổ biến, khó tìm hơn các chủng khác. Tuy nhiên, trong thực tế nghiên cứu giảng dạy tại Trường Đại học Hùng Vương cần phải sử dụng nhiều chủng virus khác nhau để so sánh đối chứng, làm cơ sở giảng dạy lý thuyết và thực hành cho sinh viên ngành Chăn nuôi Thú y. Xuất phát từ thực tế này các thầy cô khoa Nông Lâm Ngư Trường Đại học Hùng Vương đã nhân giống và lưu giữ thành công virus Newcastle chủng F từ chủng gốc của công ty Navetco. Điều này đã làm phong phú thêm nguồn giống lưu giữ tại phòng thí nghiệm khoa học động vật, phục vụ tốt cho công tác nghiên cứu, giảng dạy của khoa Nông Lâm Ngư.

Tuy nhiên, để đảm bảo virus nhược độc Newcastle chủng F được lưu giữ tại Đại học Hùng Vương an toàn và có thể sử dụng như một vaccine đạt tiêu chuẩn thì nhất thiết phải kiểm nghiệm virus này theo tiêu chuẩn hiện hành TCVN 8685-20:2018 [6] về quy trình kiểm nghiệm vaccine - phần 20: Vaccine nhược độc phòng bệnh Newcastle. Do vậy, chúng tôi tiến hành thí nghiệm “Kiểm nghiệm một số chỉ tiêu kỹ thuật và đánh giá hiệu lực của virus Newcastle chủng F lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương trên gà dưới 2 tháng tuổi”.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

- Virus Newcastle chủng F được phân lập, nhân từ giống Newcastle chủng F của Công ty Thuốc thú y Trung ương Navetco thông qua việc cấy lập lại 4 trên phôi gà.

- Vaccine Newcastle chủng F do công ty NAVETCO sản xuất.

- Các môi trường nuôi cấy vi khuẩn: thạch máu, thạch nấm, nước thịt, nước thịt gan yếm khí, thạch salmonella-shigella (SS).

- Đối tượng thí nghiệm: Phôi gà 10 ngày tuổi. Gà dưới 2 tháng tuổi đạt tiêu chuẩn thí nghiệm.

2.2. Nội dung nghiên cứu

Kiểm nghiệm một số chỉ tiêu kỹ thuật của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương: chỉ tiêu cảm quan, vô trùng, an toàn, hiệu giá virus.

Đánh giá hiệu lực của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương trên gà dưới 2 tháng tuổi tại trung tâm thực nghiệm.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp kiểm nghiệm một số chỉ tiêu kỹ thuật của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương

- Phương pháp lấy mẫu theo TCVN 160-92 vacxin thú y - Quy trình lấy mẫu và sử dụng mẫu trong kiểm nghiệm [6, 7].

- Kiểm tra cảm quan: Theo TCVN 8685-20:2018 [6, 7].

- Kiểm tra bằng mắt thường dung dịch virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương, được coi là đạt yêu cầu khi hỗn dịch đồng nhất, không vón, không lắng cặn.

- Kiểm tra vô trùng theo TCVN 8684:2011 [6]:

- + Nuôi cấy virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương trên 5 loại môi trường (thạch máu, thạch nấm sabouraud, nước thịt, nước thịt gan yếm khí, thạch ss), và được lập lại với 04 ống môi trường mỗi loại. Lượng virus cấy kiểm tra bằng 1-2% dung tích môi trường.

+ Theo dõi hàng ngày trong 7 ngày ở 37°C. Riêng môi trường thạch nấm để ở nhiệt độ phòng (25°C-30°C). Vaccine được xem là đạt vô trùng khi không có bất cứ loại vi sinh vật, nấm, tạp khuẩn nào phát triển trên các môi trường trong thời gian theo dõi.

- Kiểm tra tính an toàn: Theo TCVN 8685-20:2018 [6]:

+ Sử dụng 60 gà (đạt yêu cầu: dưới 8 tuần tuổi, gà khỏe mạnh, không có kháng thể kháng virus Newcastle, có nguồn gốc từ đàn gà bố mẹ sạch bệnh, chưa tiêm phòng vaccine Newcastle) chia 2 lô (lô thí nghiệm và lô đối chứng mỗi lô 30 con trên 3 lần lặp lại): (1) Lô thí nghiệm: 30 con sử dụng 0,1 ml virus tương đương với 10 liều virus (10×10^{-6} EID50); (2) Lô đối chứng: 30 con sử dụng 0,1ml nước muối sinh lý.

+ Theo dõi các lô gà thí nghiệm trong 21 ngày virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương cho là an toàn khi: gà khỏe mạnh, không có biểu hiện lâm sàng của bệnh và không có gà chết.

- Phương pháp xác định hiệu giá virus (liều gây nhiễm 50% phôi gà: EID50) của vaccine [6-8]: Sử dụng phương pháp kiểm tra gián tiếp thông qua việc gây nhiễm virus trên trứng gà ấp 10 ngày tuổi và làm phản ứng ngưng kết hồng cầu gà (Hemagglutination test - phản ứng HA), xác định chỉ số EID 50 bằng công thức của Reed Muench. Yêu cầu mỗi liều vaccine phải chứa ít nhất 10^{-6} EID50.

2.3.2. Phương pháp đánh giá hiệu lực của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương trên gà dưới 2 tháng tuổi tại trung tâm thực nghiệm

Bố trí thí nghiệm: Thí nghiệm tiến hành theo phương pháp phân lô so sánh gồm lô 3. Thí nghiệm gồm 60 con Sasso chia đồng đều: gà dưới 8 tuần tuổi, gà khỏe không có kháng thể kháng virus Newcastle, có nguồn gốc từ đàn gà bố mẹ sạch bệnh, chưa tiêm phòng vaccine Newcastle. Phân bố ngẫu nhiên 20 con/1 lô thí nghiệm. 3 lô được nuôi với điều kiện chăm sóc, chuồng trại, thức ăn, chế độ ăn là như nhau.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm

Chỉ tiêu	Lô 1	Lô 2	Lô 3 (Đối chứng)
Loại vaccine phòng bệnh Newcastle	Virus Newcastle chủng F lưu giữ tại ĐHHV	Newcastle chủng F của Vinavetco	Sử dụng nước muối sinh lý (Đối chứng)
Ngày nhỏ vaccine	10 ngày tuổi	10 ngày tuổi	10 ngày tuổi
Động vật thí nghiệm	Giống Gà Sasso		
Số con mỗi lô	20	20	20
Thời gian nuôi (tháng)	2 tháng	2 tháng	2 tháng
Thức ăn	Hỗn hợp hoàn chỉnh	Hỗn hợp hoàn chỉnh	Hỗn hợp hoàn chỉnh
Phương thức nuôi	Nuôi nhốt	Nuôi nhốt	Nuôi nhốt

* Phương pháp đánh giá hiệu lực của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương so với vaccine gốc (vaccine Newcastle chủng F của Vinavetco) [6, 9]:

- Tiến hành nuôi 3 lô gà như bố trí thí nghiệm. Tiến hành lấy máu xét nghiệm trước

khi nhỏ virus để kiểm tra hàm lượng kháng thể trong máu gà.

- Gà được 10 ngày tuổi tiến hành nhỏ (mắt, mũi) mỗi con 1 liều virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương hoặc nước sinh lý tương đương vaccine như bố trí thí nghiệm.

- Sau khi sử dụng virus 7, 14, 21, 28 ngày (nhỏ mắt), lấy máu tĩnh mạch cánh tất cả gà ở các lô, chất huyết thanh và đánh giá hiệu lực của các lô virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương thông qua việc xác định lượng kháng thể trong huyết thanh của gà bằng phản ứng HI theo TCVN 8685-20:2018.

* Phương pháp kiểm tra độ dài bảo quản của virus tại nhiệt độ -86°C [6, 10]:

- Virus được bảo quản trong điều kiện nhiệt độ - 86°C. Tiến hành kiểm tra hiệu lực virus sau khi bảo quản ở các thời điểm: 3,6 tháng.

- Với bố trí thí nghiệm tương tự như bảng 1 với:

+ Lô 1: Mỗi con nhỏ 1 liều virus bảo quản ở -86°C trong 3 tháng;

+ Lô 2: Mỗi con nhỏ 1 liều virus bảo quản ở -86°C trong 6 tháng;

+ Lô 3: Đối chứng âm: dùng nước muối sinh lý với liều tương đương vaccine

Sau khi sử dụng 14 ngày, tiến hành lấy máu ở tĩnh mạch cánh chất huyết thanh và đánh giá hiệu lực của các lô virus thông qua việc xác định lượng kháng thể trong huyết thanh của gà bằng phản ứng HI theo TCVN 8685-20:2018 [6].

2.4. Xử lý số liệu

Các số liệu ghi chép được xử lý bằng phần mềm Excel (2010) và phương pháp thống kê sinh học của Nguyễn Văn Thiện (2008).

3. Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1. Kết quả kiểm nghiệm một số chỉ tiêu kỹ thuật của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương

3.1.1. Kết quả kiểm tra cảm quan

Dung dịch virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương được thành lập hội đồng đánh giá cảm quan gồm 10 người kết quả kiểm tra thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả đánh giá cảm quan vaccine Newcastle chủng F

Chỉ tiêu đánh giá	Sản phẩm đồng nhất		Sản phẩm vón cục		Sản phẩm lắng cặn	
	Đồng ý	Không đồng ý	Đồng ý	Không đồng ý	Đồng ý	Không đồng ý
Số người tham gia đánh giá	10/10	0/10	10/10	0/10	10/10	0/10
Tỷ lệ	100%	0%	100%	0%	100%	0%

Qua kết quả thống kê cho thấy 100% người tham gia đánh giá đồng quan điểm về dung dịch là một sản phẩm đồng nhất, không vón cục và không lắng cặn. Đảm bảo tiêu chuẩn của vaccine theo TCVN 8685-20:2018.

3.1.2. Kết quả kiểm tra vô trùng

Dùng 5 loại môi trường kiểm tra là thạch máu, thạch nấm, nước thịt và nước thịt gan yếm khí và thạch SS để kiểm tra. Mỗi loại môi trường kiểm tra trên 4 ống, lượng nước trứng kiểm tra bằng 1-2% dung tích môi trường. Các loại môi trường kiểm tra được

theo dõi trong 7 ngày ở 37°C, riêng thạch nấm để nhiệt độ phòng 7 ngày (25°C-30°C). Với 4 loại môi trường này có thể kiểm tra được sự tạp nhiễm các loại nấm và vi khuẩn: vi khuẩn hiếu khí, vi khuẩn yếm khí, vi khuẩn gây dung huyết, vi khuẩn *Salmonella*....

Qua theo dõi 7 ngày của ở các ống nghiệm sau 3 lần lặp lại đều cho thấy 100% các mẫu không có khuẩn lạc mọc chứng các mẫu không nhiễm vi khuẩn và nấm mốc. Có thể kết luận rằng các mẫu đảm bảo chỉ tiêu vô trùng theo TCVN 8685-20:2018.

Bảng 3: Kết quả kiểm tra vô trùng của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương

Số lần	Môi trường	Nước thịt		Thạch máu		Nước thịt gan yếm khí		Thạch nấm sabouraud		Thạch SS	
		Kết quả (+)/ống	Kết quả (-)/ống	Kết quả (+)/ống	Kết quả (-)/ống	Kết quả (+)/ống	Kết quả (-)/ống	Kết quả (+)/ống	Kết quả (-)/ống	Kết quả (+)/ống	Kết quả (-)/ống
Lần 1		0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4
Lần 2		0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4
Lần 3		0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4	0/4	4/4

3.1.3. Kiểm nghiệm tính an toàn

Điều quan trọng nhất đối với một loại virus muốn sử dụng làm vaccine là phải an toàn và không gây phản ứng nghiêm trọng nào đối với con vật sử dụng. Phương pháp kiểm tra an toàn được khuyến cáo nên kiểm tra trực tiếp trên động vật đích dự định sử dụng loại virus đó làm vaccine phòng bệnh. Được kết luận là đạt yêu cầu an toàn khi nhỏ cho động vật thí nghiệm liều virus gấp nhiều lần liều sử dụng mà không có phản ứng cục bộ hay phản ứng toàn thân nào xảy ra đối với vật sử dụng.

Để kiểm tra an toàn, chúng tôi nhỏ mắt mũi cho gà với liều 0,1ml virus tương đương

với liều (10×10^{-6} EID₅₀). Lô đối chứng nhỏ mắt mũi cho gà 0,1ml nước muối sinh lý.

Thí nghiệm được lặp lại 3 lần mỗi lần kiểm tra chúng tôi tiến hành làm thí nghiệm trên 10 gà con 10 ngày tuổi, chưa được phòng vaccine. Tiến hành theo dõi hàng ngày trong vòng 21 ngày. Gà đối chứng không sử dụng vaccine và được nuôi cách ly với gà thí nghiệm.

Kết quả được trình bày ở bảng 4 cho thấy tất cả số gà ở 3 lô thí nghiệm đều sống khỏe mạnh, ăn uống và phát triển bình thường, không có dấu hiệu của bệnh Newcastle, tỉ lệ an toàn đạt 100%.

Bảng 4. Kết quả kiểm tra chỉ tiêu an toàn của Virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương

Đối tượng	Số lần kiểm tra	Gà con 10 ngày tuổi				Tỷ lệ an toàn (%)
		Tổng số gà kiểm tra (con)	Vaccine sử dụng (liều)	Thời gian theo dõi (ngày)	Kết quả gà bình thường/gà sử dụng vaccine	
TN	3	30	10	21	30/30	100
ĐC	3	30	-	21	30/30	100

3.1.4. Kết quả kiểm tra hiệu giá virus (liều gây nhiễm 50% phôi gà EID₅₀)

Để xác định hiệu giá virus, chúng tôi tiến hành làm phản ứng ngưng kết hồng cầu gà (Hemagglutination test – phản ứng HA). Dựa vào đặc tính sinh học của virus

Newcastle có khả năng gây ngưng kết hồng cầu gà, chúng tôi tiến hành làm phản ứng HA để xác định hiệu giá của virus có trong 1 liều virus bằng cách tính EID₅₀ theo công thức của Reed Muench. Kết quả được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Kết quả xác định hiệu giá virus của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương

Lần TN	Độ pha loãng virus	Liều gây nhiễm (ml)	Số phôi TN	Số phôi nhiễm	Số phôi không nhiễm	EID50
I	10 ⁻¹	0,1	5	5	0	10 ^{-7,17}
	10 ⁻²	0,1	5	5	0	
	10 ⁻³	0,1	5	4	1	
	10 ⁻⁴	0,1	5	4	1	
	10 ⁻⁵	0,1	5	3	2	
	10 ⁻⁶	0,1	5	3	2	
	10 ⁻⁷	0,1	5	3	2	
	10 ⁻⁸	0,1	5	2	3	
	10 ⁻⁹	0,1	5	2	3	
	10 ⁻¹⁰	0,1	5	2	3	
II	10 ⁻¹	0,1	5	5	0	10 ^{-7,78}
	10 ⁻²	0,1	5	5	0	
	10 ⁻³	0,1	5	5	0	
	10 ⁻⁴	0,1	5	4	1	
	10 ⁻⁵	0,1	5	4	1	
	10 ⁻⁶	0,1	5	4	1	
	10 ⁻⁷	0,1	5	3	2	
	10 ⁻⁸	0,1	5	3	2	
	10 ⁻⁹	0,1	5	2	3	
	10 ⁻¹⁰	0,1	5	1	4	
III	10 ⁻¹	0,1	5	5	0	10 ^{-7,66}
	10 ⁻²	0,1	5	5	0	
	10 ⁻³	0,1	5	4	1	
	10 ⁻⁴	0,1	5	4	1	
	10 ⁻⁵	0,1	5	4	1	
	10 ⁻⁶	0,1	5	3	2	
	10 ⁻⁷	0,1	5	3	2	
	10 ⁻⁸	0,1	5	2	3	
	10 ⁻⁹	0,1	5	2	3	
	10 ⁻¹⁰	0,1	5	4	1	
EID50 = 10 ^{-7,5}						

Kết quả thể hiện cả 3 lần thí nghiệm mỗi ml giống sản xuất đều cho hiệu giá virus cao. Lần 1 cho kết quả $10^{-7,17}$ EID50/0,1ml, lần 2: $10^{-7,78}$ EID50/0,1ml và lần 3 là $10^{-7,66}$ EID50/0,1ml. Như vậy trung bình 1 liều virus có chỉ số EID50 là $10^{-7,5}$.

Theo tiêu chuẩn ngành thì lô vaccine phải đạt hiệu giá virus ít nhất là 10^{-6} EID50/1 liều vaccine. Từ đó cho thấy cả 3 lần kiểm tra hiệu giá virus đều cho kết quả đạt yêu cầu đề ra.

3.2. Kết quả đánh giá hiệu lực của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương trên gà dưới 2 tháng tuổi tại trung tâm thực nghiệm

3.2.1. Kết quả đánh giá hiệu lực của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương so với vaccine gốc

Hiệu quả phòng bệnh của vaccine phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố, trong đó hiệu lực của virus trong vaccine được đánh giá là yếu tố quyết định. Kết quả kiểm tra hiệu lực bằng phương pháp xác định hiệu giá kháng thể Newcastle trong huyết thanh của gà sau khi được sử dụng virus được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Lượng kháng thể Newcastle của gà sau khi sử dụng virus Newcastle chủng F

Lô thí nghiệm	Thời điểm lấy máu gà trước khi nhỏ vaccine	Thời điểm lấy máu sau khi nhỏ vaccin (ngày)	Số mẫu kiểm tra	Hiệu giá HI (log2)						HI (X ± SD)	Tỷ lệ có kháng thể (%)	HI ≥ 3log2	
				2	3	4	5	6	7			Số mẫu	%
Lô virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại ĐHHV (thí nghiệm)	1		20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		7	20	9	7	4	0	0	0	2,75 ± 0,79	100	11	55%
		14	20	1	4	6	9	0	0	4,15 ± 0,93	100	19	95%
		21	20	0	0	12	3	3	2	4,75 ± 1,07	100	20	100%
		28	20	7	8	5	0	0	0	2,90 ± 0,79	100	13	65%
Lô vaccine Newcastle chủng F NAVETCO (vaccine gốc)	1		20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		7	20	0	7	3	0	0	0	2,65 ± 0,75	0	10	50%
		14	20	2	2	6	10	0	0	4,20 ± 1,01	100	18	90%
		21	20	0	0	9	8	3	0	4,70 ± 0,73	100	20	100%
		28	20	6	11	3	0	0	0	2,85 ± 0,67	100	14	70%
Lô Nước muối sinh lý (đối chứng -)	1		20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		7	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		14	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		21	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tiến hành lấy mẫu máu của gà trước khi nhỏ virus để kiểm tra hàm lượng kháng thể chúng tôi thấy rằng 100% các gà thí nghiệm đều không có kháng thể phòng bệnh Newcastle ở trong máu.

Tiến hành kiểm tra lượng kháng thể ở thời điểm 7, 14, 21, 28 ngày sau khi sử dụng vaccine chúng tôi nhận thấy lô virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương và lô vaccine gốc có 100% số gà thí nghiệm có kháng thể

Newcastle trong máu còn ở lô thí nghiệm đối chứng nhỏ nước sinh lý thay vaccine thì hiệu giá virus ở các thời điểm đều bằng 0.

Hiệu giá HI trung bình của lô virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương thử nghiệm ở thời điểm 7 ngày đạt $2,75 \pm 0,79\log_2$, lượng kháng thể này tăng dần ở 14 ngày sau khi nhỏ vaccine là $4,15 \pm 0,93\log_2$ và đạt đỉnh vào ngày thứ 21 sau khi sử dụng (hiệu giá HI bình quân đạt $4,75 \pm 1,07\log_2$ với 100% số mẫu có HI $\geq 3\log_2$), hiệu giá HI cao nhất đạt $7\log_2$. Ở thời điểm 28 ngày sau khi nhỏ vaccine bán thành phẩm hàm lượng kháng thể giảm xuống còn $2,90 \pm 0,79 \log_2$ số mẫu có HI $\geq 3\log_2$ chỉ còn 65%.

Hiệu giá HI trung bình của lô vaccine gốc Newcastle chủng F của vinavetco ở 7 ngày là $2,65 \pm 0,75\log_2$, Lượng kháng thể cũng tăng lên ở ngày 14 và 21 lần lượt là: $4,20 \pm 1,01\log_2$ và $4,70 \pm 0,79\log_2$ sau đó giảm xuống ở ngày 28 chỉ còn $2,85 \pm 0,67\log_2$.

Như vậy từ kết quả thu được chúng tôi thấy rằng: Hiệu giá kháng thể khi dùng virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương tương đương với hàm

lượng kháng thể sinh ra khi sử dụng chủng gốc. Bên cạnh đó đáp ứng miễn dịch của gà sau khi được nhỏ virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương cũng tuân theo quy luật hình thành kháng thể, kháng thể xuất hiện lúc 7 ngày sau khi nhỏ virus hoàn nguyên tăng dần và đạt cao nhất vào ngày thứ 21 và giảm dần vào ngày thứ 28 sau khi nhỏ vaccine.

Qua các nghiên cứu của chúng tôi có thể kết luận rằng virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương đủ tiêu chuẩn theo TCVN 8685-20:2018, hiệu lực tương với vaccine gốc. Như vậy hoàn toàn có thể sử dụng làm vaccine phòng bệnh Newcastle cho gà.

3.2.2. Kết quả đánh giá hiệu lực của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương sau khi bảo quản 3 tháng và 6 tháng ở nhiệt độ -86°C

Sau khi bảo quản ở các khoảng thời gian khác nhau: 3 tháng và 6 tháng, thực hiện đánh giá lại hiệu quả sử dụng bằng phương pháp kiểm tra hiệu giá kháng thể trên gà đã sử dụng 14 ngày sử dụng virus. Kết quả được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Hàm lượng kháng thể Newcastle của gà sau khi sử dụng virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương đã bảo quản ở -86°C

Lô thí ng- hiệm	Thời điểm lấy máu sau khi nhỏ vaccine (ngày)	Số mẫu kiểm tra	Hiệu giá HI (log2)							HI (X ± SD)	Tỷ lệ có kháng thể (%)	HI ≥ 3log2	
			2	3	4	5	6	7	Số mẫu			%	
Lô virus bq sau 3 tháng	14	20	1	4	7	8	0	0	4,10 ± 0,91	100	19	95%	
Lô virus bq sau 6 tháng	14	20	2	2	7	9	0	0	4,15 ± 0,98	100	18	90%	
Sử dụng nước sinh lý Đối chứng	14	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Kết quả cho thấy: Hiệu giá HI trung bình của lô virus bảo quản 3 tháng ở thời điểm 14 ngày đạt $4,10 \pm 0,91\log_2$, Hiệu giá HI trung bình của lô virus bảo quản 6 tháng ở thời điểm 14 ngày đạt $4,15 \pm 0,98 \log_2$. Có thể thấy rằng qua thời gian bảo quản hàm lượng kháng thể vẫn tương đương so với trước khi bảo quản (hiệu giá HI trung bình ở 14 ngày trước khi bảo quản $4,15 \pm 0,93$). Như vậy, việc bảo quản vaccine trong 3-6 tháng ở nhiệt độ -86°C không làm ảnh hưởng đến chất lượng của vaccine.

4. Kết luận

1. Kết quả kiểm nghiệm virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương: Kiểm tra cảm quan: Đồng nhất màu sắc, không vón cục, không lắng cặn. Kiểm tra vô trùng: Các mẫu đều không có vi khuẩn và nấm mốc. Kiểm tra an toàn: Trên gà sau thời gian 21 ngày thì 100% số gà đề khỏe mạnh. Trung bình 1ml vaccine có chỉ số EID₅₀ là $10^{-7,5}$.

2. Kết quả kiểm tra hiệu lực của virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương trên gà dưới 2 tháng tuổi tại trung tâm thực nghiệm cho thấy: Hiệu giá HI (21 ngày trên gà) đạt $4,75 \pm 1,07\log_2$ với 100% số mẫu có HI $\geq 3\log_2$, hiệu giá này tương đương với vaccine gốc. Có thể bảo quản vaccine trong 3-6 tháng ở nhiệt độ -86°C không làm ảnh hưởng đến hiệu lực của vaccine.

3. Virus Newcastle chủng F được lưu giữ tại Trường Đại học Hùng Vương đảm bảo chất lượng theo TCVN 8685-20:2018 hoàn toàn có thể sử dụng làm vaccine phòng bệnh Newcastle.

Tài liệu tham khảo

- [1] Communities, C.o.t.E., 1992. Council directive 92/66/EEC of 14 July 1992 introducing community measures for the control of Newcastle disease. Offic. J. Eur. Communities L260, 1-20.
- [2] Nguyễn Bá Huệ, Nguyễn Thu Hồng & Trần Thị Hường (1978). Các chủng virus cường độc Newcastle gây ra các vụ dịch lớn trong các xí nghiệp ở nước ta và hướng phòng bệnh, Kết quả nghiên cứu KHKT Thú Y (1968 - 1978). Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội. 19-30.
- [3] Nguyễn Như Thanh, Nguyễn Bá Hiền & Trần Thị Lan Hương (2001). Vi sinh vật thú y. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- [4] Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Văn Quang, Nguyễn Thị Bơ, Nguyễn Thị Hạnh & Lưu Thị Dung (1993). Sử dụng virus Newcastle chủng Lasota chịu nhiệt làm vaccine phòng bệnh, Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y, 3(40), 40-44.
- [5] Hồ Việt Thu (2012). So sánh hiệu quả các loại vaccine và đường cấp vaccine phòng bệnh Newcastle trên gà. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, 2012:22c, 57-63,.
- [6] TCVN 8685-20:2018 về quy trình kiểm nghiệm vaccine - phần 20: Vaccine nhược độc phòng bệnh Newcastle.
- [7] Cục Thú y - Trung tâm kiểm nghiệm thuốc thú y Nhà nước (1994). Quy trình kỹ thuật kiểm nghiệm vaccine dùng trong thú y. Nhà xuất bản Nông nghiệp, Hà Nội.
- [8] Hanson R. P. & Brandly C. A. (1955). Identification of vaccine strains of Newcastle disease virus. Science, 122, 156-157.
- [9] Allan W. H., Lancaster J. E. & Toth B. (1978). Newcastle disease vaccines - Their production and use. FAO Animal Production and Health Series No. 10. FAO: Rome, Italy.
- [10] ASEAN Cooperation in Food, Agriculture and Forestry (2002). Asean standards for animal vaccines, Second Edition. Livestock Publication series No.2A.

TECHNICAL TARGETS AND ANTIBODIES EVALUATION IN CHICKENS OF NEWCASTLE VIRUS STRAIN F PRESERVED AT HUNG VUONG UNIVERSITY

Nguyen Xuan Viet¹, Ngo Thi Huyen¹, Hoang Thi Phuong Thuy¹,
Nguyen Thi Quyen¹, Lylavong sommanly¹

¹*Faculty of Agriculture, Forestry and Aquaculture, Hung Vuong University, Phu Tho*

Abstract

This study was conducted to test some technical targets of virus Newcastle strain F and to evaluate the antibodies in chickens under 2 months of age. The results showed that the virus color uniformity was high and the samples were not clotted. The sterility test was discovered almost all samples free of bacteria and fungus. Safety testing was conducted that after 21 days, 100% of chickens were healthy. 50% chicken embryos infectious dose (EID₅₀) was $10^{-7.5}$. The HI test (21 days with chicken) was obtained $4.75 \pm 1.07\log_2$ with 100 percent of samples has $HI \geq 3\log_2$. Vaccine was kept well for 3-6 months at -86°C . Therefore, the virus Newcastle strain F preserved at Hung Vuong University was fully ready to serve as a Newcastle disease vaccine that was set out in accordance with formal quality assurance standards of TCVN 8685-20:2018.

Keywords: *Newcastle virus strain F, EID₅₀, HI.*