

TÌNH TRẠNG ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH DỊCH THỂ VÀ CẢM NHIỄM VIRUS ĐẠI Ở CHÓ NUÔI NỬA ĐẦU NĂM 2014 TẠI VÙNG NỘI ĐỒNG BẮC HÀ TỈNH

Phạm Mạnh Hùng¹, Nguyễn Thị Lan Anh², Phạm Hồng Sơn³

¹Thành phố Hà Tĩnh, tỉnh Hà Tĩnh; ²Thành phố Đồng Hới, tỉnh Quảng Bình

³Trường đại học Nông Lâm, Đại học Huế

Liên hệ email: sonphdhnl@huaf.edu.vn

TÓM TẮT

Bằng kỹ thuật ngưng kết hồng cầu gián tiếp (IHA) và trắc định xê lệch ngưng kết gián tiếp chuẩn (SSIA), tình hình cảm nhiễm và miễn dịch chống virus đại ở chó tại ba xã nội đồng bắc Hà Tĩnh trước và sau đợt tiêm phòng đại nửa đầu năm 2014 đã được xác định. Tỷ lệ nhiễm đại tính chung hai đợt là 1,82% (N = 384), không khác biệt (P~0,34) giữa trước (1,12%, vào tháng 1 - 2) với sau đợt tiêm (2,43%, vào tháng 4 - 5), và lần lượt ở Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ là 1,56, 0,78 và 3,13%. Cũng không có sự khác biệt (P~0,22) giữa tỷ lệ nhiễm ở chó đực (2,69%) và cái (1,01%), cũng như ở chó dưới 1 tuổi (1,58%) với trên 1 tuổi (2,06%) (P~0,37) tuy không có chó dưới 6 tháng tuổi mang virus. Sau đợt tiêm vaccine 21 ngày tỷ lệ chó được bảo hộ ($\geq 4\log_2$) tăng có ý nghĩa ($\chi^2 = 56,5/P=0$) đến 83,33% từ 11,11%, cường độ bảo hộ (GMT) đến 19,397 từ 2,687 trước tiêm. Ngoài ra, thí nghiệm mẫu cặp trước-và-sau tiêm vaccine 21 ngày từ 39 chó cho thấy hiệu giá kháng thể trung bình tăng từ 3,54 lên 30,76 IHA, tỷ lệ chó được bảo hộ từ 7,7% lên 87,2%, với cường độ miễn dịch từ 2,346 lên 17,8. Nghiên cứu cũng cho thấy số ít (2/39) chó dung nạp virus đại, và ngược lại, kháng thể đặc hiệu có sẵn trong máu không ảnh hưởng xấu đến đáp ứng vaccine.

Từ khóa: bệnh đại, HI, SSDHI, vaccine, Hà Tĩnh.

Nhận bài: 15/12/2017

Hoàn thành phản biện: 03/01/2018

Chấp nhận bài: 16/01/2018

1. MỞ ĐẦU

Bệnh đại là bệnh do virus đại gây ra, lây chung giữa người và động vật, gây chết hầu như 100% trường hợp bị nhiễm (Nguyễn Vĩnh Phước và cs., 1978). Người bị nhiễm bệnh đại chủ yếu thông qua vết cắn của chó, một động vật nuôi gần gũi với con người đến mức không thể thiếu. Vì vậy, việc đề ra và triển khai các biện pháp phòng bệnh trên diện rộng có ý nghĩa quan trọng để bảo vệ tính mạng của con người. Trên thực tế nhờ áp dụng chương trình tiêm chủng phòng đại khép kín trước đây, Việt Nam đã từ một nước có số lượng người chết vì bệnh đại hàng năm cao (Đinh Kim Xuyên, Nguyễn Thị Thanh Hương, 2006) đã không còn là nơi nguy hiểm về bệnh này đối với khách du lịch. Tuy vậy, thỉnh thoảng vẫn xuất hiện những thông báo về trường hợp người chết bị coi là do bệnh đại mà nguyên nhân chủ yếu là bị chó cắn (Ánh Hồng, 2016; Doãn Hòa, 2017). Nhà nước ta vì vậy đã nhiều lần ra các văn bản quy định về phòng chống bệnh đại (Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2009; Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn - Bộ Y tế, 2011; Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2013; Bộ Y tế, 2013; Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2014). Gần đây còn có sự vào cuộc của Chính phủ (Thủ tướng Chính phủ, 13/02/2017) chứng tỏ có sự quan tâm nhiều hơn

đối với an toàn tính mạng con người và tính nguy hiểm dai dẳng của bệnh dại. Tuy vậy, cho đến nay chúng ta vẫn chỉ dừng lại ở việc khống chế mà chưa thể thực hiện chương trình thanh toán vì tính phức tạp của bệnh gây chết người này. Theo báo cáo của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO, 2013), bệnh dại phổ biến trên toàn thế giới. Mỗi năm có trên 10 triệu người bị súc vật dại hoặc nghi dại cắn phải đi điều trị dự phòng bằng vaccine hoặc kháng huyết thanh, có khoảng 60.000 - 70.000 người bị chết do bệnh dại, phần lớn được báo cáo từ các nước thuộc vùng nhiệt đới, nơi có tới 3/4 dân số thế giới sinh sống. Trung tâm “Pan-American Zoonoses Center” (tại Argentina) đánh giá rằng hàng năm ở khu vực châu Mỹ Latin bệnh dại gây thiệt hại kinh tế cho ngành chăn nuôi gia súc tới 28 triệu USD/năm. Theo bản đồ WHO công bố năm 2008 thì các nước châu Âu có nguy cơ bệnh dại thấp, trong khi Việt Nam và các nước trong khu vực là vùng có nguy cơ cao. Bản đồ dịch tễ học bệnh dại năm 2013 so với năm 2008 có sự thay đổi như hạ thấp mức báo động của CHLB Nga, các nước Đông Âu, Arab Saudi, Oman, Thái Lan, Malaysia, Hàn Quốc, Nhật Bản, khu vực phía nam châu Phi (CH Nam Phi và Namibia, Madagasca và một số nước khác), đảo Greenland thuộc Đan Mạch, châu Nam Mỹ trừ Cuba, Honduras, Guatemala và Salvador, trong khi ba quốc gia gồm Nhật Bản (đảo quốc, châu Á), Tây Sahara (sa mạc, châu Phi) và New Zealand (đảo quốc, châu Đại Dương) được coi là không còn có nguy cơ bệnh dại. Riêng châu Âu vẫn là khu vực nguy cơ thấp, còn các quốc gia châu Á còn lại (trong đó có Việt Nam, Trung Quốc, Ấn Độ, Mông Cổ...) vẫn ở mức báo động cao (WHO, 2013/12/31). Tuy vậy, mặc dù Italy được xếp vào nước không có bệnh dại từ năm 1997, nhưng vào tháng 10 năm 2008 hai con chồn ở tỉnh Udine miền đông bắc quốc gia châu Âu này đã được chẩn đoán mắc bệnh dại. Một người bị nhiễm dại từ một trong hai con chồn này đã được điều trị thích đáng (De Benedictis và cs., 2008). Điều đó cho thấy việc thanh toán bệnh dại còn gặp nhiều khó khăn, phức tạp, và cuộc chiến chống bệnh dại còn đòi hỏi phải có nhiều nỗ lực của các ngành y tế và thú y cũng như toàn xã hội. Công bố này của chúng tôi cung cấp thông tin về những nghiên cứu hiệu lực vaccine và tình hình nhiễm virus ở một số địa bàn làm cơ sở cho việc chọn lựa biện pháp dự phòng và đối sánh đánh giá tiến triển của việc thực hiện chương trình khống chế bệnh dại hiện nay ở nước ta.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và nội dung nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là đàn chó nuôi trên một số địa bàn ba xã nội đồng phía bắc tỉnh Hà Tĩnh: Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ thuộc huyện Nghi Xuân. Mẫu xét nghiệm gồm máu để tách huyết thanh và nước bọt chó được lấy trong thời gian từ tháng 1/2014 đến tháng 5/2014, xét nghiệm tại Phòng thí nghiệm Vi trùng - Truyền nhiễm, khoa Chăn nuôi - Thú y, trường Đại học Nông Lâm Huế với các nội dung:

- Xác định hiệu giá kháng thể của mẫu huyết thanh thu thập từ chó nuôi trên các địa bàn trước và sau tiêm vaccine dại trả và trên một lô chó được tiêm vaccine và lấy mẫu lặp theo cặp “trước-sau” tiêm, qua đó đánh giá bảo hộ miễn dịch đàn chống bệnh dại;
- Xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm qua mẫu nước bọt chó.

2.2. Vật liệu và lấy mẫu nghiên cứu

Dụng cụ chủ yếu của phản ứng là pipet tự động có cỡ thuận tiện cho việc hút và chuyển 25 μL và khay vi chuẩn độ (microtitration plate) 96 lỗ đáy U. Vật liệu chủ yếu cho phản ứng gồm dung dịch sinh lý NaCl pH 7,2, dung dịch chống đông máu natri citrate 3%, vaccine dại Rabisin[®] Merial hoặc Rabigen[®] mono Virbac (hệ thống Thú y cung ứng), kháng huyết thanh kháng dại (hệ thống Y tế công cộng cung ứng), huyền dịch hồng cầu ngan 1%, dung dịch tannin để gắn kháng nguyên lên hồng cầu. Nước bọt chó được lấy bằng cách kẹp một nhúm bông hút nước ở đầu panh kim loại và đưa vào miệng chó khoảng 5 phút để ngấm nước bọt, cho vào bao PE rồi ép bằng các ngón tay từ ngoài bao cho dịch chảy vào một ống Eppendorf, đậy nắp, bảo quản ở -10°C , đến khi xét nghiệm thì lấy ra cho tan băng ở nhiệt độ phòng. Huyết thanh chó được lấy từ tĩnh mạch cảnh với bơm tiêm 5 mL, hút khoảng 2 - 3 mL máu, hút thêm không khí và cắm kim vào tấm xốp nghiêng khoảng 30 độ ở nhiệt độ phòng cho máu đông dọc thành ống bơm tiêm, sau khoảng 30 phút cắm bơm tiêm cho thẳng đứng và để thêm khoảng 1 - 2 giờ cho huyết thanh tách ra khỏi cục máu đông. Rót huyết thanh vào ống Eppendorf và bảo quản ở tủ lạnh -10°C cho đến khi xét nghiệm. Địa bàn lấy mẫu nước bọt chó và huyết thanh như trình bày ở Bảng 1 phần Kết quả và thảo luận dưới đây, trong đó chó được ghi chép nhận diện và theo dõi cá thể dựa vào tên chủ hộ, màu lông, đốm lông, giống và giới tính. Ngoài huyết thanh được lấy ngẫu nhiên hai lần trên địa bàn trước mùa tiêm phòng dại và sau mùa tiêm phòng dại ba tuần còn có một nhóm chó gồm 39 con được lấy máu ngay trước khi tiêm vaccine dại, tiêm vaccine dại theo đúng liều quy định và lấy máu lần thứ hai sau 21 - 22 ngày nhằm kiểm tra hiệu lực đáp ứng miễn dịch của vaccine được chỉ định tiêm, ảnh hưởng của kháng thể có sẵn trong cơ thể chó và khả năng tồn tại những cá thể không đáp ứng miễn dịch chống dại sau tiêm vaccine hay dung nạp miễn dịch với virus dại.

2.3. Xét nghiệm và xử lý số liệu

Xét nghiệm bằng phản ứng ngưng kết hồng cầu gián tiếp (IHA) được thực hiện trên các khay vi chuẩn độ 96 lỗ, mỗi dãy 12 lỗ cho một mẫu 25 μL huyết thanh kiểm pha loãng trong dãy 10 lỗ chứa sẵn 25 μL dung dịch sinh lý, kèm theo hai lỗ cuối dãy (số 11 và 12) làm đối chứng âm tính và thời điểm đọc kết quả, mỗi lỗ đều với 25 μL huyền dịch 1% hồng cầu gắn kháng nguyên vaccine virus dại theo kỹ thuật đã được mô tả trước đây (Phạm Hồng Sơn, 2009). Phản ứng trắc định xê lệch ngưng kết gián tiếp chuẩn (SSIA) cũng được thực hiện trên các khay vi chuẩn độ 96 lỗ tương tự nhưng với 12 dãy mỗi dãy 8 lỗ ứng với 11 mẫu được xét nghiệm với mỗi lỗ đầu tiên có 25 μL bệnh phẩm thể chỗ cho 25 μL dung dịch sinh lý, thêm 25 μL kháng huyết thanh 4log₂ IHA trộn - chuyển và thêm 25 μL huyền dịch 1% hồng cầu gắn kháng nguyên virus dại, kèm theo một dãy chuẩn (là dãy phản ứng IHA với kháng thể 4log₂), trong đó các lỗ thứ 8 của mỗi dãy đều chỉ bố trí dung dịch sinh lý và hồng cầu kháng nguyên 1%, như đã mô tả trước đây (Phạm Hồng Sơn và cs., 2014; Phạm Hồng Sơn, 2014; Phạm Hồng Sơn và cs., 2013; Phạm Hồng Sơn, 2009).

Kết quả xét nghiệm cá thể hiệu giá kháng thể cũng như hiệu giá kháng nguyên virus được tính ra hiệu giá trung bình nhân (GMT). GMT kháng thể diễn tả cường độ miễn dịch, trong khi GMT kháng nguyên virus diễn tả cường độ nhiễm virus của đàn được xét nghiệm.

Việc so sánh các tỷ lệ được đánh giá qua giá trị giới hạn của chỉ số “chi bình phương” χ^2 kèm theo giá trị xác suất (P) trùng lặp mẫu được tra từ giá trị giới hạn đó và giá trị χ^2 thực nghiệm (Snedecor và Cochran, 1980). Hai tỷ lệ/ tỷ số được coi là sai khác có ý nghĩa thống kê khi $P < 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự lưu hành virus dại ở chó trên địa bàn Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ, huyện Nghi Xuân năm 2014

Để đánh giá được tình hình lưu hành virus dại ở chó nuôi các xã Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ, huyện Nghi Xuân, nước bọt chó được lấy mẫu trong hai đợt: đợt 1 từ tháng 1/2014 đến tháng 2/2014, đợt 2 từ tháng 4/2014 đến tháng 5/2014, ứng với thời điểm trước và sau chiến dịch tiêm phòng ba tuần. Xét nghiệm bằng phương pháp SSIA cho kết quả như ở Bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm và phân bố hiệu giá kháng nguyên virus dại trên chó nuôi tại Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ, huyện Nghi Xuân qua hai đợt lấy mẫu xét nghiệm SSIA năm 2014

Vùng/Đợt	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)	Giá trị χ^2 so sánh với tỷ lệ thấp nhất	Phân bố hiệu giá kháng nguyên ($\times \log_2$)				GMT
					1	2	3	4	
Xuân An	128	2	1,56	0,3373	2	0	0	0	1,010
Xuân Giang	128	1	0,78	-	1	0	0	0	1,005
Xuân Mỹ	128	4	3,13	1,8356	4	0	0	0	1,021
Tổng	384	7	1,82	0,6772	7	0	0	0	1,012
Trước tiêm	178	2	1,12	0,9067	2	0	0	0	1,007
Sau tiêm	206	5	2,43	($P \sim 0,34$)	5	0	0	0	1,016

Kết quả nghiên cứu ở Bảng 1 cho thấy trong tổng số 384 mẫu nước bọt xét nghiệm tại Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ, huyện Nghi Xuân có 7 mẫu dương tính chiếm tỷ lệ 1,82%, với cường độ nhiễm (tức hiệu giá trung bình nhân toàn đàn, GMT) virus dại là 1,012. Tỷ lệ nhiễm ở chó nuôi tại Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ tương ứng là 1,56%, 0,78% và 3,13%, nhưng kết quả xử lý thống kê cho thấy các tỷ số này không sai khác có ý nghĩa. Kết quả này tương đương với nghiên cứu gần đây tại tỉnh Thừa Thiên Huế rằng tỷ lệ nhiễm virus dại trên chó nuôi tại các phường An Hòa là 4,11%, Tây Lộc là 2,70% và Vỹ Dạ là 4,11%, trong khi tỷ lệ nhiễm chung là 3,64% (Phạm Hồng Sơn và Nguyễn Thị Ngọc Hiền, 2017). Kết quả tương tự cũng thu được từ xét nghiệm các mẫu nước bọt chó bằng SSIA thu vào nửa đầu năm 2013 từ ba vùng gồm thành phố Vinh thuộc tỉnh Nghệ An, huyện Vĩnh Linh thuộc tỉnh Quảng Trị và các huyện Hương Trà và thành phố Huế thuộc tỉnh Thừa Thiên Huế, với tỷ lệ nhiễm virus dại tương ứng là 1,29%, 0,65% và 4,03% (Phạm Hồng Sơn và cs., 2014).

Kết quả trên cho thấy, trên địa bàn Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ, huyện Nghi Xuân có sự lưu hành của virus dại ở chó, mặc dù tỉ lệ nhiễm virus thấp (1,82%). Do tính chất nguy hiểm của bệnh dại là bệnh có thể lây sang người và gây chết người với tỷ lệ chết cao nếu không được điều trị sau phơi nhiễm kịp thời, con số này có ý nghĩa dịch tễ học. Chó mang mầm bệnh nhưng không thể hiện triệu chứng nên dẫn đến sự chú quan, coi thường của người

dân, do vậy, chủ của chó và người bị chó cắn không có biện pháp phòng ngừa thích đáng, trong khi nước bọt chó có thể truyền virus dại qua vết cắn cho nhiều người.

Kết quả trên cho thấy ở đợt trước tiêm (01/2014 đến 02/2014) có 2 mẫu dương tính trong tổng số 178 mẫu xét nghiệm, chiếm tỷ lệ 1,12% với cường độ nhiễm virus dại (GMT) là 1,007. Trong đợt sau tiêm (tháng 4/2014 - tháng 5/2014) có 5 mẫu dương tính trong tổng số 206 mẫu xét nghiệm, chiếm tỷ lệ 2,43%, với cường độ nhiễm virus dại là 1,016. Tuy vậy, kết quả phân tích chỉ số χ^2 cho thấy tỷ lệ lưu hành virus theo mùa không khác nhau có nghĩa thống kê ($P \sim 0,34$), tức là yếu tố thời gian, thời tiết và đợt tiêm phòng dại không ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm virus dại ở chó nuôi trên địa bàn ba xã nghiên cứu. Hiệu quả tiêm phòng dại là cả một quá trình kéo dài, tỷ lệ mang trùng có thể chịu ảnh hưởng của đợt tiêm phòng dại từ năm trước, trong đó trường hợp tiêm sót, tiêm không hiệu quả và sinh mới có thể là nguyên nhân cần được quan tâm. Tuy nhiên, sự vượt trội về tỷ lệ nhiễm trong đợt 2, mặc dù đã trải qua đợt tiêm phòng dại hàng năm, cũng là điều cần lưu ý vì đây là thời điểm nắng nóng, khả năng phát bệnh dại trên chó rất cao hơn, phù hợp với các nghiên cứu trước đây về bệnh dại. Hơn nữa, những chó mang virus đều có hiệu giá kháng thể chống dại, như kết quả xét nghiệm ở Bảng 4 dưới đây cho thấy ở mức thấp ($<4\log_2$), và điều này phù hợp với việc ngành Thú y chọn tháng 3 và 4 hàng năm là mùa cao điểm tiêm phòng bệnh dại để tránh bùng phát dịch khi nắng nóng.

3.2. So sánh tỷ lệ nhiễm virus dại theo mùa

Theo tính biệt của chó, tỷ lệ nhiễm và sự phân bố hiệu giá kháng nguyên virus dại trên mẫu nước bọt chó nuôi tại Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ, huyện Nghi Xuân thể hiện qua Bảng 2.

Bảng 2. So sánh tỷ lệ nhiễm virus dại theo giới tính trên chó nuôi tại các địa bàn nghiên cứu

Giới tính	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)	Giá trị χ^2 so sánh giữa hai giới	Phân bố hiệu giá kháng nguyên ($\times\log_2$)				GMT
					1	2	3	4	
Đực	186	5	2,69	1,5090	5	0	0	0	1,018
Cái	198	2	1,01	($P \sim 0,22$)	2	0	0	0	1,007
Tổng	384	7	1,82		7	0	0	0	1,012

Kết quả xét nghiệm cho thấy trong số 7 mẫu mang kháng nguyên virus dại từ tổng số 384 mẫu nước bọt được xét nghiệm chỉ có 2 con chó cái dương tính với cường độ nhiễm (tức hiệu giá trung bình nhân toàn đàn) là 1,007. Số chó đực dương tính có 5 con trong tổng số 186 con được xét nghiệm, chiếm tỷ lệ 2,69% với cường độ nhiễm là 1,018. Nhóm chó đực, như vậy, có tỷ lệ nhiễm (mang virus dại) cao hơn chó cái. Tuy nhiên, xác suất $P \sim 0,22$ cho ta nhận định không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ mang virus giữa hai giới tính, hay, tính biệt không ảnh hưởng đến tình hình nhiễm virus dại ở địa phương.

3.3. So sánh tỷ lệ nhiễm virus theo độ tuổi

Xếp theo độ tuổi, tỷ lệ nhiễm và sự phân bố hiệu giá kháng nguyên virus dại trên mẫu nước bọt chó nuôi tại Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ, huyện Nghi Xuân nửa năm đầu 2014 được thể hiện qua Bảng 3.

Bảng 3. So sánh tỷ lệ nhiễm theo tuổi động vật

Độ tuổi	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)	Giá trị χ^2 so sánh với tỷ lệ thấp nhất	Phân bố hiệu giá kháng nguyên ($\times \log_2$)				GMT
					1	2	3	4	
<6 tháng	53	0	0	0,0000	0	0	0	0	1,000
6≤12 tháng	137	3	2,19	1,1792 (P~0,28)	3	0	0	0	1,015
≤12 tháng	190	3	1,58	0,8473 (P~0,37)	3	0	0	0	1,011
>12 tháng	194	4	2,06	1,1108 (P~0,29)	4	0	0	0	1,014
Tổng	384	7	1,82		7	0	0	0	1,012

Kết quả nghiên cứu cho thấy có 7 mẫu dương tính trong tổng số 384 mẫu nước bọt được xét nghiệm, chiếm tỷ lệ 1,82% và cường độ nhiễm (GMT) là 1,012. Trong đó, tất cả chó trong số 53 con nhỏ hơn 6 tháng tuổi không thấy có virus, trong khi chó từ 6 tháng đến 12 tháng tuổi có 3 mẫu dương tính trong tổng số 137 mẫu xét nghiệm, chiếm tỷ lệ 2,19%, với cường độ nhiễm (tức hiệu giá trung bình nhân toàn nhóm) là 1,011. Trong số 194 chó trên 12 tháng tuổi được xét nghiệm có 4 con mang virus đại đều ở hiệu giá xê lệch ngưng kết 1 log₂, chiếm tỷ lệ 2,06% và cường độ nhiễm là 1,014. Tuy nhiên, qua chỉ số thống kê χ^2 giới hạn nhằm so sánh với nhóm có tỷ lệ nhỏ nhất (nhóm dưới 6 tháng tuổi) ta thấy giữa các nhóm không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê (P~0,28 và P~0,29).

3.4. Tình hình miễn dịch kháng virus đại trước và sau đợt tiêm chủng đại trà theo quy trình sản xuất vụ Xuân 2014 tại Hà Tĩnh

Để đánh giá được tình hình miễn dịch chống lại virus đại ở chó nuôi tại Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ, huyện Nghi Xuân, chúng tôi đã lấy máu ngẫu nhiên và chiết huyết thanh từ 54 con đợt 1 (trước tiêm phòng: từ 1/2014 đến tháng 2/2014) và 54 con đợt 2 (sau tiêm phòng 21 ngày trở đi: từ tháng 4/2014 đến tháng 5/2014). Xét nghiệm các mẫu huyết thanh bằng phương pháp IHA chúng tôi thu được kết quả phân bố hiệu giá kháng thể như ở Bảng 4.

Bảng 4. So sánh hiệu giá kháng thể kháng virus đại trước và 21 ngày sau tiêm vaccine phòng đại đại trà theo sự chỉ định cơ quan quản lý

Thời điểm so với tiêm phòng	Số mẫu xét nghiệm	Phân bố hiệu giá kháng thể ($\times \log_2$)									Số mẫu bảo hộ	Tỷ lệ bảo hộ (%)	Giá trị χ^2 so sánh hai tỷ lệ	GMT
		0	1	2	3	4	5	6	7	8				
Trước	54	15	11	16	6	5	1	0	0	0	6	11,11	56,50	2,687
Sau	54	2	1	1	5	28	8	3	5	1	45	83,33	(P~0)	19,397
Tổng	108	17	12	17	11	33	9	3	5	1	51	47,22		7,649

Như vậy, kết quả xét nghiệm các mẫu huyết thanh trước khi tiêm phòng và sau đợt tiêm phòng đại trà từ 21 ngày cho thấy tiêm vaccine kích thích miễn dịch dịch thể với hiệu quả cao, chỉ có 2 trong số 54 con chó được tiêm không phát hiện được kháng thể, trong khi 45 con có hiệu giá kháng thể vượt ngưỡng 4log₂ chiếm 83,33%. Đây là mức hiệu giá kháng thể được đánh giá tương đương nồng độ bảo hộ miễn dịch 0,5 IU/mL (Phạm Hồng Sơn và cs., 2014).

Tỷ lệ bảo hộ trước thời điểm tiêm phòng đại là 11,11%, với cường độ bảo hộ miễn dịch (GMT kháng thể) chống virus đại là 2,687. Đặc biệt, có 15 con trong số 54 chó trước khi tiêm phòng không phát hiện được kháng thể chống virus đại. Trong khi trước đợt tiêm phòng đầu tiên ở một số chó vẫn có kháng thể, có thể là miễn dịch có được từ đợt tiêm phòng năm trước hoặc tiêm vaccine bổ sung sau mùa tiêm phòng...

Ở thời điểm sau khi tiêm phòng các mẫu có hiệu giá kháng thể dao động từ giá trị $0\log_2$ đến $8\log_2$, nhiều nhất là ở $4\log_2$ chiếm 51,85%. Tỷ lệ bảo hộ sau thời điểm tiêm phòng đại là 83,33%. Đây là tỷ lệ bảo hộ đủ mức để tạo miễn dịch đàn theo kết quả của những nghiên cứu dịch tễ học chống bệnh truyền nhiễm: tiêm phòng hữu hiệu đạt 70 - 80% toàn đàn trở lên (Shimizu và cs., 1999). Cường độ miễn dịch (tức hiệu giá trung bình nhân kháng thể huyết thanh) với virus đại ở thời điểm trước đợt tiêm phòng là 2,687, thấp hơn nhiều so với thời điểm sau khi tiêm phòng 19,397. Tỷ lệ bảo hộ ở cả hai thời điểm chênh lệch nhau khá lớn (83,33% ở 21 ngày sau thời điểm tiêm phòng so với 11,11% trước thời điểm tiêm phòng) và có ý nghĩa thống kê ứng với xác suất $P \sim 0$, nghĩa là tiêm phòng đại đã tác động mạnh mẽ đến mức độ miễn dịch. Như vậy, nếu thực hiện tiêm phòng với vaccine chỉ định thì việc ngăn chặn sự lây lan của virus đại trên đàn chó là có khả năng cao, nhưng cần xét đến việc áp dụng tiêm vaccine đại hai đợt hàng năm để nâng cao hiệu quả phòng bệnh. Nghiên cứu gần đây ở một số địa bàn thuộc tỉnh Thừa Thiên Huế cho thấy đáp ứng miễn dịch chống đại sau tiêm ở mức tương đương. Tỷ lệ chó được bảo hộ miễn dịch (có hiệu giá kháng thể $4 \log_2$ trở lên) theo trình tự An Hòa, Tây Lộc và Vỹ Dạ thành phố Huế lần lượt là 72,73%; 77,27% và 75% với cường độ miễn dịch (hiệu giá trung bình nhân kháng thể) đều cao hơn mức bảo hộ đàn là 16, tương ứng là 17,59; 24,48 và 24,48 (Phạm Hồng Sơn và Nguyễn Thị Ngọc Hiền, 2017). Tỷ lệ bảo hộ ở chó nuôi tại các xã thuộc vùng nội đồng bắc Hà Tĩnh nửa đầu năm 2014 như vậy là cao hơn tỷ lệ bảo hộ ở chó nuôi tại các xã phường Hương Chữ và Kim Long thuộc tỉnh Thừa Thiên Huế nửa đầu năm 2013, lần lượt là 47,62% và 62,5% (Phạm Hồng Sơn và cs., 2014).

3.5. So sánh hiệu giá kháng thể kháng virus đại trước và sau thời điểm tiêm vaccine theo nghiên cứu mẫu lặp

Nghiên cứu đáp ứng kháng thể mẫu huyết thanh được thu thập có tính chất đại trà như ở mục trên cho phép ta đánh giá kết quả miễn dịch đàn dưới sự tác động của tiêm vaccine. Tuy nhiên, trong nghiên cứu đại trà có thể có những trường hợp nằm ngoài tầm kiểm soát, tác động của cơ thể động vật đến đáp ứng miễn dịch không được làm rõ. Do đó, xác định sự chuyển biến miễn dịch của từng cá thể là cần thiết. Vì vậy, chúng tôi đã thực hiện riêng việc xác định đáp ứng kháng thể chống đại trên một nhóm 39 chó nằm trong tầm kiểm soát. Trong nghiên cứu này, chó được nhóm nghiên cứu tiêm phòng theo quy trình và liều lượng quy định, mỗi một chó đều được lấy máu thu huyết thanh ngay trước khi tiêm vaccine và sau khi tiêm 21 - 22 ngày. Kết quả xét nghiệm bằng IHA như vậy tạo thành 39 cặp mẫu. Với cách lấy mẫu này chúng tôi có thể đánh giá tác động của vaccine rõ ràng hơn, cũng như phát hiện được các cá thể chó dung nạp miễn dịch và tác động gây trở ngại đáp ứng miễn dịch chủ động ở chó đã có sẵn kháng thể đặc hiệu. Kết quả xét nghiệm được trình bày ở Bảng 5.

Bảng 5. So sánh hiệu giá kháng thể kháng virus dại trước và sau tiêm vaccine dại chỉ định theo mẫu bắt cặp

Trước tiêm (log2)	Sau tiêm (log2)	Tần suất f (con)	Hiệu giá biến động D (IHA)	Tổng biến động D (IHA) × f	Một số chỉ số thống kê	Giá trị	
						Trước tiêm	Sau tiêm
0	0	2	0	0	Hiệu giá trung bình (IHA)	3,5385	
0	1	1	2	2		30,7692	
0	2	1	4	4	Cường độ bảo hộ	2,346	
0	3	1	8	8		17,800	
0	4	9	16	144	Tỷ lệ bảo hộ (%)	7,69	
1	4	9	8	72		87,18	
1	5	1	16	16	Chỉ số χ^2 so sánh tỷ lệ	49,412 (P~0)	
2	4	4	4	16	Một số (2/39) không chuyển biến kháng thể; Tiêm vaccine được chỉ định tăng miễn dịch so với không tiêm; Kháng thể đặc hiệu có sẵn trong máu không ảnh hưởng đến kết quả tiêm vaccine		
2	5	5	8	40			
2	7	1	32	32			
3	5	2	4	8			
4	6	1	4	4			
4	7	1	8	8			
4	8	1	16	16			
Cộng		39		372			

Kết quả trên cho thấy trong số 39 chó được khảo sát có 2 cá thể (5,13%) không có kháng thể chống dại trước khi tiêm vaccine đã không có chuyển hóa kháng thể sau khi tiêm vaccine. Điều này có thể hiểu một tỷ lệ chó có dung nạp miễn dịch. Đây là điểm cần tính đến trong phòng bệnh: tiêm vaccine là quan trọng nhưng không phải là biện pháp toàn năng. Như vậy, đàn chó dù được tiêm vaccine toàn bộ vẫn có thể có một tỷ lệ chó không được bảo hộ miễn dịch. Tuy nhiên, cũng có những cá thể ban đầu không có kháng thể nhưng sau tiêm vaccine đã có mức kháng thể 1, 2, 3 và 4log₂, trong đó có một tỷ lệ khá lớn (9 con trong số 14 con, ứng với 64,29%) chó đạt mức kháng thể chuyển biến từ 0log₂ trước tiêm thành 4log₂ (tức 16 đơn vị IHA) sau tiêm vaccine.

Cũng từ nghiên cứu này chúng ta có thể thấy tất cả những cá thể mang kháng thể chống dại trước tiêm vaccine (>0log₂) đều tăng mức miễn dịch dịch thể và đạt mức từ 4 log₂ (16 IHA) đến 8log₂ (256 IHA), với mức tăng thêm từ 2 log₂ đến 4 log₂. Điều này cho thấy vaccine được chỉ định sử dụng có tác dụng tích cực đến đáp ứng miễn dịch phòng chống bệnh dại ở chó. Tiêm vaccine đã chuyển mức kháng thể bình quân khoảng 3,54 đơn vị IHA trước khi tiêm đạt đến mức 30,77 đơn vị IHA kháng thể vào 21 ngày sau tiêm. Vaccine được chỉ định sử dụng, như vậy, có phẩm chất tốt đáp ứng mục đích của việc tiêm phòng, mặc dù có thể không tránh được trường hợp dung nạp miễn dịch.

Tỷ lệ bảo hộ (tức mức kháng thể 4log₂ trở lên) trước khi tiêm rất thấp (7,69%) nhưng đã đạt cao sau tiêm 21 ngày (87,18%) và vượt mức bảo đảm miễn dịch đàn (khoảng 70 - 80%) được nghiên cứu trước đây chỉ ra là có hiệu lực chống lây lan dịch (Shimizu và cs., 1999). Hơn nữa kết quả trên cũng cho thấy ở tất cả các cá thể chó, kháng thể đặc hiệu có sẵn trong cơ thể không ảnh hưởng đến việc đáp ứng miễn dịch ở chó được tiêm vaccine phòng dại.

3.6. Ảnh hưởng của tuổi chó đến đáp ứng miễn dịch chống bệnh dại

Để đánh giá được đáp ứng miễn dịch chống lại bệnh dại trên chó nuôi theo độ tuổi, chúng tôi phân loại kết quả xét nghiệm các mẫu huyết thanh chó bằng phương pháp IHA theo độ tuổi trước khi tiêm phòng thành hai nhóm từ dưới 1 tuổi và trên 1 tuổi và thu được kết quả như ở Bảng 6.

Bảng 6. So sánh hiệu giá kháng thể kháng virus dại trước và sau khi tiêm phòng vaccine dại theo độ tuổi

Thời điểm	Độ tuổi	Số mẫu	Phân bố hiệu giá kháng thể ($\times \log_2$)										Tỷ lệ bảo hộ (%)	GMT
			0	1	2	3	4	5	6	7	8			
Trước tiêm vaccine	≤12 tháng	31	9	5	11	5	1	0	0	0	0	3,23	2,797	
	>12 tháng	23	6	6	5	1	4	1	0	0	21,74	3,338		
	Tổng	54	15	11	16	6	5	1	0	0	11,11	3,016		
Sau tiêm vaccine	≤12 tháng	25	2	1	1	4	17	0	0	0	68,00	9,986		
	>12 tháng	29	0	0	0	1	11	8	3	5	96,55	34,378		
	Tổng	54	2	1	1	5	28	8	3	5	83,33	19,397		

Kết quả cho thấy sau thời điểm tiêm phòng ở chó dưới 1 tuổi có cường độ miễn dịch (tức hiệu giá kháng thể trung bình nhân, GMT) là 9,986, thấp hơn cường độ miễn dịch ở chó lớn hơn 1 tuổi (34,378). Giá trị GMT chung sau tiêm từ 21 ngày cao (19,397) chứng tỏ khả năng đáp ứng miễn dịch với bệnh dại của chó nuôi rất tốt. Chó trên một tuổi có tỷ lệ bảo hộ sau tiêm phòng cao hơn chó dưới 1 tuổi có thể là do ở Hà Tĩnh mỗi năm tiêm phòng dại một đợt vào từ tháng 3 đến tháng 5 và trong số chó trên một tuổi có một số con được tiêm phòng nhắc lại vaccine dại nên miễn dịch mạnh và kéo dài hơn. Điều này cũng chứng tỏ vaccine được sử dụng có hiệu quả tốt.

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm virus dại ở các xã Xuân An, Xuân Giang và Xuân Mỹ, huyện Nghi Xuân nửa đầu năm 2014 trong cả hai đợt nghiên cứu và phân bố hiệu giá kháng nguyên virus dại trên chó nuôi tính chung ở các địa bàn nêu trên là 1,82%, với đợt 1 (tháng 1 - 2) có tỷ lệ 1,12% và đợt 2 (tháng 4 - 5) 2,43% ($P \sim 0,34$), trong đó ở các xã lần lượt là 1,56, 0,78 và cao nhất ở Xuân Mỹ đến 3,13% (sự sai khác không có ý nghĩa thống kê).

Xét theo tính biệt thì tỷ lệ nhiễm 2,69% ở chó đực và 1,01% ở chó cái ($P \sim 0,22$). Xét theo lứa tuổi chó, tuy cho dưới 6 tháng tuổi không có chó mang virus nhưng nếu phân hai nhóm dưới 1 tuổi và trên 1 tuổi thì các chó có tỷ lệ nhiễm tương ứng là 1,58% và 2,06% ($P \sim 0,37$).

Về tình hình đáp ứng miễn dịch kháng thể chống virus dại trước và sau tiêm phòng xác định bằng phản ứng HI, từ sau tiêm phòng 21 ngày tỷ lệ bảo hộ (từ $4 \log_2$ HI kháng thể trở lên) tăng có ý nghĩa thống kê từ 11,11% trước tiêm phòng lên 83,33%. Giá trị cường độ bảo hộ sau tiêm phòng tăng từ 3,016 lên 19,397 vượt qua mức 16 HI (tức mức $4 \log_2$ HI) kháng thể. Tuy nhiên, với tỷ lệ tiêm trong tỉnh chỉ khoảng 64% thì mức bảo hộ đàn chỉ ở khoảng 47,19% - 59,62%. Do đó để đạt hiệu quả chống dịch cần tăng tỷ lệ tiêm phòng dại.

Xét nghiệm mẫu cặp huyết thanh từ 39 con chó trước và sau tiêm vaccine cho thấy hiệu giá kháng thể trung bình tăng từ 3,54 lên 30,76, còn tỷ lệ chó có mức kháng thể bảo hộ $4\log_2$ trở lên tăng từ 7,7% lên 87,2%, cường độ bảo hộ tăng từ 2,346 lên 17,8. Như vậy, vaccine được chỉ định có giá trị phòng bệnh.

Nghiên cứu cũng cho thấy có một tỷ lệ nhỏ (2/39) chó dung nạp miễn dịch với virus dại, và ngược lại, kháng thể đặc hiệu có sẵn trong máu không ảnh hưởng xấu đến đáp ứng vaccine.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

- Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, (2009). *Thông tư Hướng dẫn các biện pháp phòng, chống bệnh dại ở động vật, số 48/2009/TT-BNNPTNT ngày 04/08/2009*. Hà Nội: Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn - Bộ Y tế, (2011). *Quyết định về việc phê duyệt Chương trình khống chế và tiến tới loại trừ bệnh dại ở Việt Nam giai đoạn 2011-2015, Số 2731/QĐ-BNN-TY*. Hà Nội: Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn-Bộ Y tế.
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, (2013). *Về việc tăng cường công tác phòng chống bệnh dại trên động vật, số 3798/BNN-TY ngày 23/10/2013*. Hà Nội: Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.
- Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, (2014). *Công điện khẩn về việc tăng cường công tác phòng chống bệnh dại trên động vật, số 03/CD-BNN-TY*. Hà Nội: Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn.
- Bộ Y tế, (2013). *Về việc tăng cường phòng chống bệnh Dại, số 5632/BYT-DP, ngày 11/9/2013*. Hà Nội: Bộ Y tế.
- Doãn Hòa, (2017, 03/ 24). *Một xã có 53 người nghi bị chó dại cắn, bé 4 tuổi tử vong*. Retrieved 12/ 8, 2017, from Tuổi trẻ: <https://tuoitre.vn/mot-xa-co-53-nguoi-nghi-bi-cho-dai-can-be-4-tuoi-tu-vong-1286039.htm>
- Ảnh Hồng, (2016, 05/ 02). *Chó dại cắn người tràn lan*. Retrieved 12/ 10, 2017, from Người Lao động: <http://nld.com.vn/thoi-su-trong-nuoc/cho-dai-can-nguoi-tran-lan-20160502222407276.htm>
- Nguyễn Vĩnh Phước (cb), Hồ Đình Chúc, Nguyễn Văn Hanh, và Đặng Thế Huỳnh, (1978). *Giáo trình bệnh truyền nhiễm gia súc*. Hà Nội: NXB Nông nghiệp.
- Phạm Hồng Sơn, (2009). Nghiên cứu tạo kháng nguyên ngưng kết hồng cầu gián tiếp gắn virus cúm A và vận dụng mới trong chẩn đoán bệnh cúm ở gia cầm. *Khoa học Kỹ thuật Thú y, XVI(2)*, 12-22.
- Phạm Hồng Sơn, (2014). Sử dụng phản ứng ngăn trở ngưng kết hồng cầu gián tiếp phát hiện kháng nguyên dịch tả lợn. *Khoa học Kỹ thuật Thú y, XI(1)*, 87-89.
- Phạm Hồng Sơn và Nguyễn Thị Ngọc Hiền, (2017). Xác định tình hình đáp ứng miễn dịch dịch thể và cảm nhiễm virus dại ở chó nuôi trên địa bàn thành phố Huế bằng phương pháp HI và SSDHI bằng phương pháp SSDHI. *Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp, 1(1)*, 119-130.
- Phạm Hồng Sơn, Nguyễn Thị Thu Hiền, Võ Thị Tân, Trần Thùy Hoan, Trần Văn An, Nguyễn Đình Thành, Hồ Thị Mỹ Nữ, Trần Quang Vui, & Lê Xuân Ánh, (2014). Phát hiện virus dại trong nước bọt và kháng thể kháng dại trong huyết thanh của chó nuôi ở Bắc Trung Bộ. *Khoa học Kỹ thuật Thú y XXI(8)*, 5-16.
- Đình Kim Xuyên và Nguyễn Thị Thanh Hương, (2006). Một số nhận xét về tình hình tử vong do dại 2001-2005. *Hội nghị tổng kết 10 năm thực hiện chỉ thị 92/TTg của Thủ tướng Chính phủ về Phòng chống bệnh dại* (p. 160). Hà Nội: Nông nghiệp.
- Thủ tướng Chính phủ, (13/02/2017). *Quyết định số 193/QĐ-TTg ngày 13/02/2017 Về việc phê duyệt "Chương trình quốc gia khống chế và tiến tới loại trừ bệnh dại giai đoạn 2017-2021"*. Hà Nội: Văn phòng Chính phủ.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- De Benedictis P., Gallo T., Iob A., Coassin R., Squecco G., Ferri G., D'Ancona F., Marangon S., Capua I., & Mutinelli F., (2008). Emergence of fox rabies in north-eastern Italy. *Euro Surveillance*, 13(45),19033.
- Pham Hong Son, Pham Hong Ky, Nguyen Thi Lan Huong, & Pham Thi Hong Ha, (2013). Application of Shifting assay of standardized indirect agglutination (SSIA) for detection of antigens of Newcastle disease and Infectious Bursal disease viruses in chicken faeces. *Journal of Science*, 83, 99-111.
- Shimizu Y., Kanoe M., Tabuchi K., Hiramune, T., and Mikami T. (ed.), (1999). *Juui densenbyou gaku daigoban*. Tokyo: Kindai shuppan.
- Snedecor G. W., & Cochran W. G., (1980). *Statistical methods, 7th ed.* Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press.
- WHO, (2013, 12/31). *Control of Neglected Tropical Diseases*. Retrieved 12/8/2017, from World Health Organization:
http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_Rabies_ITHRiskMap.png?ua=1.
- WHO, (2013). *WHO Expert Consultation on Rabies. Second Report*. Paris: World Health Organization Technical Report Series (982).

SITUATION OF IMMUNE RESPONSES TO RABIES AND INFECTION PREVALENCE OF THE VIRUS IN THE FIRST HALF OF 2014 IN DOGS REARED IN THE NORTHERN PADDY AREA OF HATINH PROVINCE

Pham Manh Hung¹, Nguyen Thi Lan Anh², Pham Hong Son³

¹Ha Tinh city, Ha Tinh province; ²Dong Hoi city, Quang Binh province;

³University of Agriculture and Forestry, Hue University

Contact email: sonphdhn1@huaf.edu.vn

ABSTRACT

With the techniques of IHA and SSIA the immune responses to rabies and infection prevalences of the virus in dogs reared in three paddy communes of the Northern area of Ha Tinh province in the first half of 2014 were determined. The average prevalence of rabies infection was 1.82% (N = 384), and no differences (P~0.34) between before (1.12%, in January and February) and after the campaign (2.43%, in April and May), and in respective Xuan An, Xuan Giang and Xuan My the rates were 1.56, 0.78 and 3.13%. There was also no difference (P~0.22) between virus prevalences in male (2.69%) and female (1.01%) dogs, as well as between dogs (P~0.37) of ages under (1.58%) and over one year (2.06%), although there was no infected one among dogs under 6 months of age. The rate of protected dogs ($\geq 4\log_2$) at 21 days after vaccination increased significantly ($\chi^2 = 56.5/ P\sim 0$) to 83.33% from 11.11%, with protection intensivity (GMT) reaching 19.397 from 2.687 before the campaign. Besides, experiments with paired samples before and at 21 days after vaccine injection from 39 dogs showed that average antibody titres increased from 3.54 to 30.76 IHA units, and protection dog rate increases from 7.7% to 87.2%, with immune intensivity increased from 2.346 to 17.8. This research also indicated that there were a few (2/39) dogs tolerated the virus, on one hand, and that available antibodies in blood did not affect the immune response of dogs to the rabies vaccine, on the other.

Key words: Ha Tinh province, IHA, rabies, SSIA, vaccine.

Received: 15th December 2017 *Reviewed:* 3rd January 2018

Accepted: 16th January 2018