

## ĐÁNH GIÁ MIỄN DỊCH VÀ CẢM NHIỄM VIRUS ĐẠI TRÊN CHÓ NUÔI TẠI HUYỆN TUYÊN HÓA, TỈNH QUẢNG BÌNH BẰNG KỸ THUẬT HI VÀ SSDHI

Lê Duy Báo<sup>1</sup>, Phạm Thị Yến Hoa<sup>2</sup>,  
Lê Thị Ngọc Khánh<sup>2</sup>, Phạm Hồng Sơn<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Chi cục Thú Y Vùng 3, Cục Thú y; <sup>2</sup>Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

\*Liên hệ email: [sonphdhn1@huan.edu.vn](mailto:sonphdhn1@huan.edu.vn)

### TÓM TẮT

Bằng kỹ thuật ngăn trở ngưng kết hồng cầu (HI), các kết quả xét nghiệm kháng thể huyết thanh thu từ chó nuôi tại huyện Tuyên Hóa, tỉnh Quảng Bình năm 2017 chỉ ra rằng đợt tiêm vaccine đại định kỳ tại địa bàn trong vụ đầu năm 2017 tạo tỷ lệ chó có kháng thể thấp dưới mức mục tiêu cụ thể của Chương trình quốc gia khống chế bệnh dại hiện hành và tỷ lệ chó được bảo hộ quá thấp so với mức thực nghiệm được cho là đủ để ngăn chặn dịch. Xét nghiệm HI cũng cho thấy tiêm khảo sát vaccine được chỉ định tại địa bàn đã gây đáp ứng miễn dịch tốt ở chó, nâng tỷ lệ chó có kháng thể từ 40% lên 99,17% (P~0), tỷ lệ bảo hộ từ 29,58% lên 77,9% (P~0), tương ứng cường độ miễn dịch từ 3,54 HI lên 18 HI. Đồng thời, xét nghiệm bằng kỹ thuật SSDHI phát hiện virus dại trong nước bọt đã cho thấy 3 trong số 240 chó ở đợt trước tiêm khảo sát (1,25%) mang virus dại, nhưng không phát hiện được chó dương tính trong số chó đã được tiêm vaccine dại được chỉ định sử dụng sau khi đã giết hủy những chó mang trùng. Từ kết quả nghiên cứu đó, đề nghị cần có chương trình nghiên cứu thẩm định chất lượng vaccine và tiêm phòng dại, xét nghiệm virus dại và giết hủy chó mang virus.

**Từ khóa:** bệnh dại, chó, HI, SSDHI, vaccine.

Nhận bài: 06/12/2018

Hoàn thành phản biện: 25/01/2019

Chấp nhận bài: 30/01/2019

### 1. MỞ ĐẦU

Bệnh dại gây chết người, “nhiều năm về trước bệnh dại là một nỗi kinh hoàng của nhân dân nhiều nơi khắp nước ta” (Nguyễn Bá Huệ, 2005), lây sang người chủ yếu là từ vết cắn của chó mang virus dại (Nguyễn Vĩnh Phước và cs., 1978), nhưng là bệnh lây có thể phòng được bằng tiêm vaccine phòng dại nếu thực hiện tiêm vaccine phòng dại một cách rộng khắp và có hệ thống (Nguyễn Bá Huệ, 2005). Nhà nước ta đã nhiều năm liên tục triển khai các chương trình khống chế tiến tới thanh toán bệnh dại (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, 2010; Bộ Y tế, 2013) và gần đây Chính phủ phê duyệt “Chương trình quốc gia khống chế và tiến tới loại trừ bệnh dại giai đoạn 2017 - 2021 (Thủ tướng Chính phủ, 13/02/2017), gọi tắt ở đây là “Chương trình 193”. Chương trình này kỳ vọng khống chế bệnh dại thông qua thực hiện “chỉ tiêu chó nuôi được tiêm phòng dại đạt trên 85%”, “tổ chức thu thập, xét nghiệm mẫu để đánh giá lưu hành bệnh dại” để giám sát. Tuy nhiên, do còn ít báo cáo chuyên đề khoa học nên bệnh dại vẫn là bệnh bị “lãng quên đáng báo động” (Viên Quang Mai, 2013), trong khi bệnh này vẫn tiếp tục gây chết người hết năm này sang năm khác (Ánh Hồng, 2016; Doãn Hòa, 2017; Thanh Hằng, 2018; Khánh Ngọc, 2018)... Việc “nâng cao năng lực hệ thống giám sát” cũng được đề cập (điểm 3.e. của Điều 1, Chương trình 193) nhưng trong thực tế vẫn còn thiếu hoạt động giám sát, đánh giá chất lượng vaccine và chất lượng tiêm phòng vì thiếu phương pháp xét nghiệm phát hiện mầm bệnh thích hợp với chi phí thấp. Trước vấn đề đó, một số kỹ thuật xét nghiệm phát hiện kháng nguyên virus dại có hiệu quả đã được

nghiên cứu gần đây, như kỹ thuật SSIA (Phạm Hồng Sơn và cs., 2014) và SSDHI phát hiện virus dại (Phạm Hồng Sơn và Nguyễn Thị Ngọc Hiền, 2017). Tiếp theo những thành quả đạt được trong việc đánh giá hiệu quả của tiêm vaccine phòng bệnh dại thông qua nghiên cứu kiểm chứng tiêm khảo sát vaccine (Phan Ngọc Tuyết và cs., 2018), nghiên cứu này hướng tới đề xuất quy trình thẩm định chất lượng vaccine và tiêm phòng dại, sàng lọc chó mang trùng hướng tới mục tiêu loại bỏ bệnh dại ở nước ta.

## **2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. Nội dung nghiên cứu**

- Đánh giá hiệu quả tiêm phòng dại vụ xuân năm 2017 tại địa bàn nghiên cứu thông qua việc xác định hiệu giá kháng thể của chó nuôi bằng kỹ thuật ngăn trở ngưng kết hồng cầu (HI).
- Đánh giá hiệu lực của vaccine địa phương đã sử dụng thông qua việc tiêm khảo sát “vaccine được chỉ định sử dụng” (cụm từ dùng ở đây thay cho tên một loại vaccine dại đã được cấp phép sử dụng, vì lý do tránh quảng cáo thương mại) trên đàn chó đã được xét nghiệm HI nêu trên và xét nghiệm kháng thể sau tiêm khảo sát 22 ngày.
- Đánh giá tác động của tiêm vaccine được chỉ định tại địa bàn qua việc xét nghiệm phát hiện kháng nguyên virus dại trong nước bọt chó trước khi tiêm khảo sát (gồm cả chó đã được tiêm vaccine và chưa được tiêm vaccine biết được thông qua phỏng vấn và truy cứu giấy chứng nhận chó tiêm phòng dại) và sau tiêm vaccine khảo sát.

### **2.2. Chọn địa bàn nghiên cứu, nội dung thí nghiệm và lấy mẫu xét nghiệm**

Địa bàn nghiên cứu là các thôn xóm thuộc thị trấn trung tâm huyện và 3 xã có mạng lưới giao thông thuận tiện và tập trung dân cư của huyện miền núi Tuyên Hóa, là nơi được coi trọng yếu truyền lây mầm bệnh nhưng nếu ngăn chặn được dịch thì tác động tích cực đến các vùng khác. Từ mỗi địa bàn cấp xã (trong số 4 xã, thị trấn) này thực hiện các bước: (1) Gần 4 tháng sau vụ tiêm vaccine định kỳ đầu năm, lấy mẫu đồng thời huyết thanh và nước bọt từ 60 chó để xét nghiệm kháng thể chống bệnh dại và kháng nguyên virus dại, từ kết quả đó giết hủy tất cả những con mang virus dại trong nước bọt, (2) Sau 2 - 2,5 tháng sau lấy các mẫu đợt đầu, tiêm vaccine khảo sát cho 120 con chó bao gồm tất cả các chó đã được xét nghiệm, (3) Vào 22 ngày sau tiêm vaccine khảo sát, lấy huyết thanh đồng thời lấy nước bọt để xét nghiệm kháng thể chống bệnh dại và kháng nguyên virus dại từ 60 chó đã được tiêm vaccine khảo sát bao gồm tất cả những con đã được xét nghiệm lần trước còn lại sau giết hủy.

Khi chuẩn bị lấy mẫu xét nghiệm, các dữ liệu liên quan đến từng cá thể được điều tra bằng phỏng vấn và được ghi trên một biểu mẫu phiếu khảo sát có mã số tương ứng mã số của cá thể chó, kèm theo một số dữ liệu khác được ghi sau khi xét nghiệm mẫu (như hiệu giá kháng thể, hiệu giá kháng nguyên virus) để có thể truy cứu những thuộc tính đặc thù cá thể của các mẫu, tương ứng với 27 cột dữ liệu trong một bảng tính Excel (từ A đến AA), đáp ứng yêu cầu phân loại mẫu khi xử lý số liệu.

Mẫu nước bọt được lấy khi chó được cố định, dùng panh kẹp bông sạch cho vào miệng chó, để khoảng 2 - 5 phút để nước bọt chó tiết ra ngấm vào bông, lấy ra cho vào bao polyethylene (PE) sạch, dùng các đầu ngón tay ép từ ngoài vào cho dịch chảy vào một ống Eppendorf, đính kèm thông tin về mẫu và đặt vào một hộp chứa nước đá chuyên về phòng thí nghiệm. Tại phòng thí nghiệm 25  $\mu$ L từ mỗi mẫu được hút bằng pipet để xét nghiệm ngay hoặc bảo quản ở  $-20^{\circ}\text{C}$  cho phản ứng SSDHI.

Mẫu máu để thu huyết thanh được lấy bằng cách chọc kim tiêm vào lòng tĩnh mạch chân và rút ra khoảng 2 mL máu mỗi con trong một bơm tiêm loại 5 mL, hút thêm không khí và cắm trên một tấm nhựa xốp nghiêng một góc 30 độ và để khoảng 30 phút, sau khi huyết khối hình thành, bơm tiêm được cắm đứng đứng khoảng 2 - 3 giờ. Huyết thanh được rót sang vào một ống nhỏ có nắp và được giữ ở nhiệt độ -20°C cho đến khi xét nghiệm. Huyết thanh được giải đông lạnh và trộn đều trước khi hút 25  $\mu$ L để thực hiện phản ứng HI (Phạm Hồng Sơn và Nguyễn Thị Ngọc Hiền, 2017).

### 2.3. Vật liệu và phương pháp xét nghiệm

Các vật liệu chủ yếu là khay vi chuẩn độ 96 lỗ, pipet được chỉnh ở mức 25  $\mu$ L, dung dịch sinh lý muối (NaCl 0,9%), huyền dịch hồng cầu 1% (trong dung dịch sinh lý), vaccine dại Rabigen<sup>®</sup>Mono và kháng huyết thanh phòng dại (do mạng lưới y tế dự phòng cung ứng). Một khay vi chuẩn độ (microtitration plate) xét nghiệm HI cho 8 mẫu huyết thanh hoặc xét nghiệm SSDHI cho 11 mẫu nước bọt. Vaccine dại Rabigen<sup>®</sup>Mono có phản ứng đặc hiệu với kháng thể trong chế phẩm kháng huyết thanh phòng bệnh dại sau phơi nhiễm ở người đã được ngành y tế cho phép lưu hành (Phạm Hồng Sơn và cs., 2014), được sử dụng làm kháng nguyên ngưng kết hồng cầu (HA) và sau đó, trên cơ sở kết quả HA, vaccine dại được pha ở nồng độ 4 đơn vị ngưng kết hồng cầu (4 HA). Các lọ kháng huyết thanh được xác định hiệu giá HI (Cottral, 1989) với vaccine dại 4 HA này và được pha thành dịch làm việc với nồng độ 16 HI (16 đơn vị HI, hay 4 log<sub>2</sub> HI) để làm nguyên liệu cho phản ứng SSDHI, phản ứng cũng được thực hiện với một pipet 25  $\mu$ L như đã được trình bày chi tiết gần đây (Phạm Hồng Sơn và Nguyễn Thị Ngọc Hiền, 2017) và kết quả một số mẫu xét nghiệm biểu hiện như ở Hình 1.

### 2.4. Xử lý số liệu

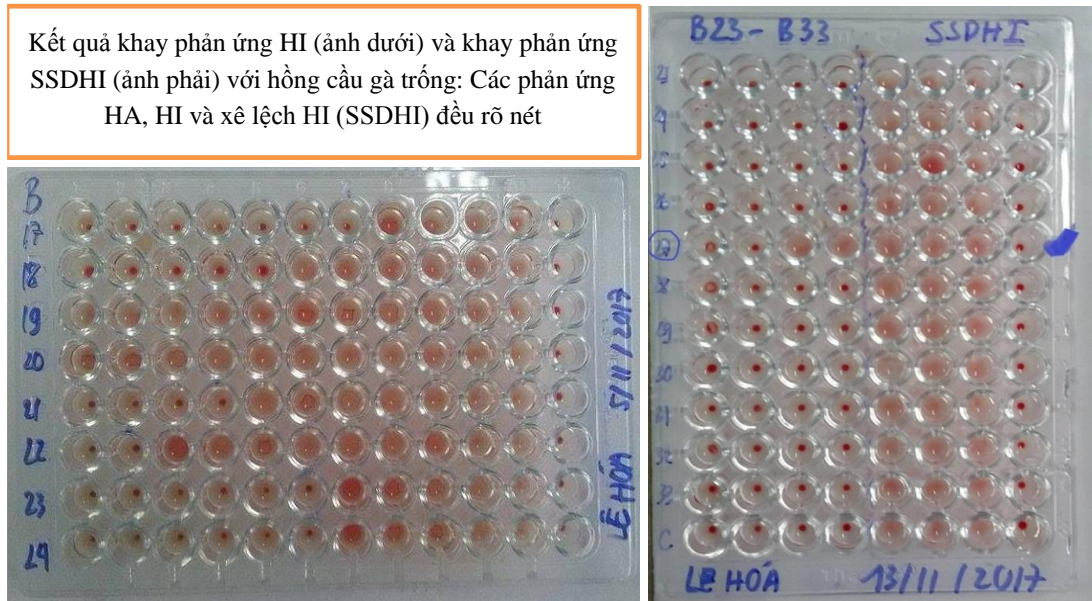
Kết quả xét nghiệm kháng thể trong huyết thanh được trình bày bằng đơn vị hiệu giá ngăn trở ngưng kết hồng cầu (HI), còn kết quả SSDHI xét nghiệm kháng nguyên virus dại trong nước bọt được trình bày bằng đơn vị hiệu giá ngưng kết hồng cầu (HA) do tính đương lượng trong phản ứng. Các trung bình nhân hiệu giá (GMT) của hiệu giá kháng nguyên và hiệu giá kháng thể được tính từ các hiệu giá cá thể để so sánh các nhóm (Surin và cs., 1986). GMT kháng nguyên phản ánh cường độ nhiễm virus của đàn, còn GMT kháng thể phản ánh cường độ miễn dịch đàn. Các giá trị tỷ lệ mang virus (tỷ lệ mang trùng), tỷ lệ chó mang kháng thể chống bệnh dại và tỷ lệ chó đạt mức bảo hộ miễn dịch theo địa bàn được tính (Phạm Hồng Sơn và Nguyễn Thị Ngọc Hiền, 2017) và phân tích trên nền số liệu tổng số mẫu chung (240 mẫu mỗi đợt) cũng như trên cơ sở số liệu bắt cặp trước-và-sau (186 mẫu lấy lần thứ nhất và 186 mẫu lấy lần thứ hai từ cùng một cá thể). Mức kháng thể bảo hộ là hàm lượng kháng thể đạt hiệu giá từ 4 log<sub>2</sub> trở lên tương đương với khoảng 0,5 IU/mL (Phạm Hồng Sơn và cs., 2014). Mức độ sai khác của các tỷ lệ có liên quan được kiểm định qua chỉ số  $\chi^2$  và giá trị xác suất P trùng lặp mẫu rút ra từ chỉ số đó (Snedecor và Cochran, 1980). Khi P < 0,05, hai tỷ lệ được coi là khác nhau có ý nghĩa thống kê.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Đáp ứng miễn dịch ở chó trên các địa bàn trước và sau tiêm vaccine khảo sát

Để đánh giá hiệu quả của những đợt tiêm phòng dại trong quá khứ, chủ yếu là đợt tiêm vaccine phòng dại được quy định vào đầu năm 2017 trên địa bàn huyện Tuyên Hóa, mẫu huyết thanh chó đã được thu trước đợt tiêm khảo sát vaccine khoảng 2,5 tháng gồm 60 mẫu mỗi đơn vị cấp xã và thu lại (đợt 2) vào ngày thứ 22 sau tiêm vaccine khảo sát đó, cũng với 60 mẫu

mỗi địa bàn. Các kết quả tổng thể xét nghiệm phát hiện kháng thể chống dại trong huyết thanh chó bằng phương pháp HI được trình bày ở Bảng 1.



**Hình 1.** Kết quả phản ứng HI (ảnh trái) xác định hiệu giá kháng thể chống virus dại và phản ứng SSDHI (ảnh phải) xác định hiệu giá kháng nguyên virus dại. Các lỗ cuối cùng của mỗi dãy (mỗi phản ứng) đều bố trí chỉ gồm dung dịch sinh lý và hồng cầu nên sau khoảng 20 phút hồng cầu đều chìm xuống tâm đáy lỗ làm chuẩn thời điểm bắt đầu đọc kết quả phản ứng. Hiệu giá kháng thể chống dại (ảnh trái) lần lượt là 7, 5, 0, 0, 4, 2, 6 và 6 log<sub>2</sub> HI. Phản ứng phát hiện kháng nguyên virus dại (ảnh phải) có 10 mẫu âm tính, chỉ một mẫu duy nhất (thứ 5 từ trên xuống) dương tính với hiệu giá 2log<sub>2</sub> HA. Dãy cuối cùng là mẫu chuẩn âm tính.

Kết quả nghiên cứu (Bảng 1) cho thấy đợt tiêm vaccine khảo sát trong nghiên cứu này đã có tác động tích cực đến tình hình miễn dịch của đàn chó tại huyện Tuyên Hóa, tức hàm lượng kháng thể trong huyết thanh đàn chó ở địa bàn đã tăng sau khi được tiêm vaccine trong đợt này. Xét trong toàn địa bàn nghiên cứu với tổng số 240 mẫu huyết thanh xét nghiệm thu thập được trước đợt tiêm vaccine khảo sát có 96 mẫu dương tính chiếm tỷ lệ 40%. Như vậy, trong đợt trước tiêm khảo sát vaccine, đa số chó (144/240) được xét nghiệm không có kháng thể kháng virus dại trong huyết thanh, và trong tổng số đó chỉ có 71 mẫu đạt mức hiệu giá kháng thể 4 log<sub>2</sub> trở lên là mức được coi là bảo hộ miễn dịch, chiếm 29,58%. Cường độ miễn dịch đàn (tức hiệu giá trung bình nhân toàn đàn, GMT) chống virus dại là 3,54 HI. Cũng với 240 mẫu huyết thanh được thu thập vào đợt sau tiêm vaccine khảo sát 22 ngày đã có 238 mẫu dương tính (99,17%), trong đó có 187 mẫu đạt mức hiệu giá 4 log<sub>2</sub> trở lên (77,9%) tương ứng với cường độ miễn dịch đàn là 18,01 HI. Kết quả phân tích kiểm định so sánh tỷ lệ bảo hộ sau hai đợt tiêm vaccine cho thấy sự sai khác có ý nghĩa thống kê ( $\chi^2 = 198,5 / P \sim 0$ ), trong đó huyết thanh đợt sau tiêm khảo sát có tỷ lệ bảo hộ cao hơn. Như vậy đợt tiêm vaccine dại khảo sát tại huyện đã làm nâng cao mức độ miễn dịch của đàn chó. Kết quả xét nghiệm cũng cho thấy yếu tố địa bàn nuôi không ảnh hưởng đến tác động gây miễn dịch của vaccine dại được chỉ định sử dụng. Đồng thời, vaccine được chỉ định sử dụng tại địa bàn là vaccine có hiệu quả cao. Thí nghiệm tiêm khảo sát này cho thấy vaccine được chỉ định sử dụng tại địa bàn có tác dụng kích thích cơ thể chó được tiêm sinh miễn dịch chống dại, làm tỷ lệ chó được bảo hộ

miễn dịch đạt trên mức 70% cần thiết để chặn dịch theo suy diễn từ những nghiên cứu trước đây (Shimizu và cs., 1999).

**Bảng 1.** Tình hình đáp ứng miễn dịch chống virus dại trên đàn chó nuôi ở các địa bàn cấp xã trong hai đợt lấy mẫu xét nghiệm trước và sau tiêm vaccine dại khảo sát từ mẫu chung của quần thể

Chỉ tiêu theo dõi	Địa bàn và đợt* nghiên cứu									
	TT Đồng Lê		Xã Lê Hóa		Xã Mai Hóa		Xã Tiến Hóa		Chung	
	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 1	Đợt 2
Số mẫu xét nghiệm (con)	60	60	60	60	60	60	60	60	240	240
Số mẫu dương tính (con)	28	60	28	60	25	60	15	58	96	238
Tỷ lệ dương tính (%)	46,67	100,0	46,67	100,0	41,67	100,0	25,0	96,67	40,0	99,17
So sánh tỷ lệ dương tính	$\chi^2=43,64$ (P~0)		$\chi^2=43,64$ (P~0)		$\chi^2=49,41$ (P~0)		$\chi^2=64,67$ (P~0)		$\chi^2=198,5$ (P~0)	
Số mẫu bảo hộ	19	46	20	45	21	51	11	45	71	187
Tỷ lệ bảo hộ ( $\geq 4\log_2$ ) (%)	31,67	76,67	33,33	75,0	35,0	85,0	18,33	75	29,58	77,9
So sánh tỷ lệ bảo hộ	$\chi^2=24,47$ (P~0)		$\chi^2=20,98$ (P~0)		$\chi^2=31,25$ (P~0)		$\chi^2=25,15$ (P~0)		$\chi^2=112,8$ (P~0)	
Cường độ (HI) miễn dịch đàn	4,09	17,55	4,39	17,35	4,19	25,99	2,09	13,3	3,54	18,01

\*Đợt 1 là đợt lấy mẫu huyết thanh 4 - 5 tháng sau vụ tiêm vaccine dại hằng năm và 2 - 2,5 tháng trước lúc tiêm vaccine khảo sát cho chó, vào 9/2017~10/2017; Đợt 2 là đợt lấy mẫu huyết thanh 22 ngày sau lần tiêm vaccine khảo sát (12/2017~01/2018).

Tuy nhiên, để thấy rõ hơn tác động của vaccine tiêm khảo sát cũng như kiểm chứng kết quả của việc lấy mẫu quần thể, chúng tôi lọc bỏ những chó chỉ được lấy huyết thanh một lần, và những kết quả xét nghiệm kháng thể chống dại trong huyết thanh của những con chó được lấy máu hai lần trước và sau đợt tiêm vaccine khảo sát (mẫu bắt cặp trước-và-sau) được trình bày ở Bảng 2.

Từ kết quả này một lần nữa cho ta thấy vaccine được chỉ định sử dụng tại địa bàn đã có tác dụng rất rõ rệt. Trong số 186 con chó được lấy huyết thanh ở cả hai đợt trước và sau tiêm khảo sát vaccine được chỉ định sử dụng, ở tất cả các địa bàn đều có cường độ miễn dịch tăng, tại Đồng Lê từ 4,23 HI lên 16,68 HI, tại Lê Hóa từ 4 HI lên 21,11 HI, tại Mai Hóa từ 4,58 HI lên 27,52 HI, tại Tiến Hóa từ 2,09 HI lên 13,73 HI, tính chung cả bốn địa bàn tăng từ 3,52 HI lên 18,85 HI, tương tự trường hợp xét nghiệm mẫu chung như ở Bảng 1. Các tỷ lệ dương tính và tỷ lệ bảo hộ trước và sau tiêm khảo sát vaccine đều tăng rõ rệt (có ý nghĩa thống kê) với xác suất rút mẫu trùng lặp bằng không (P~0) với giá trị  $\chi^2$  rất cao, riêng tỷ lệ bảo hộ tính chung tăng từ 29,59% lên 79%. Tỷ lệ chó ở các địa bàn được bảo hộ miễn dịch một lần nữa đều đạt trên mức 70% cần thiết để ngăn chặn dịch lây lan, tương đương kết quả khi phân tích với mẫu tổng ở Bảng 1. Như vậy, kết quả xét nghiệm không phụ thuộc vào việc lấy mẫu bắt cặp hay lấy mẫu chung từ quần thể tổng quát (mẫu tổng). Để so sánh kết quả xét nghiệm giữa hai cách lấy mẫu ta có thể khảo sát biểu đồ ở Hình 2.

**Bảng 2.** Tình hình đáp ứng miễn dịch chống virus dại trên đàn chó nuôi ở các xã trong hai đợt lấy mẫu xét nghiệm trước và sau tiêm vaccine dại khảo sát theo số liệu bắt cặp trước-và-sau

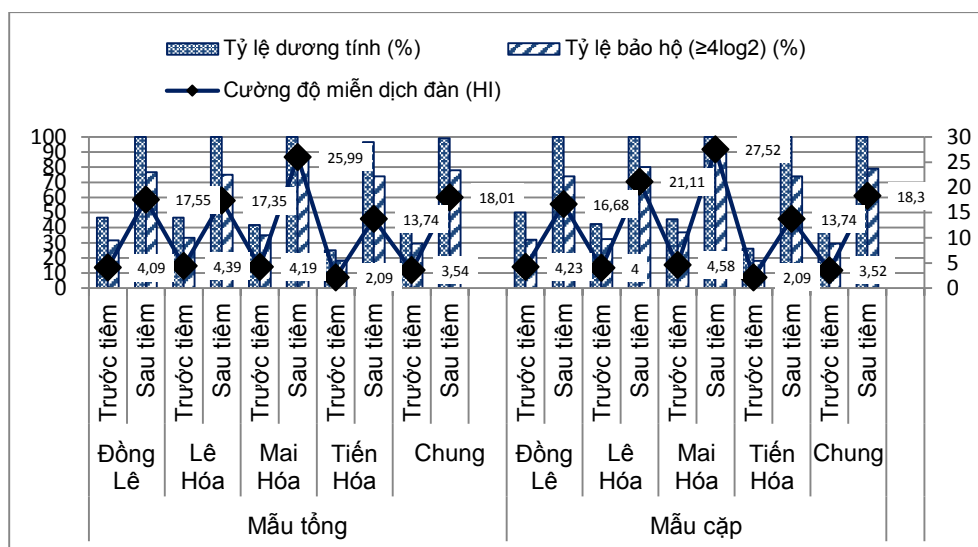
Chi tiêu theo dõi	Địa bàn và đợt nghiên cứu*									
	Đồng Lê		Lê Hóa		Mai Hóa		Tiền Hóa		Chung	
	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 1	Đợt 2	Đợt 1	Đợt 2
Số mẫu xét nghiệm	50	50	40	40	46	46	50	50	186	186
Số mẫu dương tính	25	50	17	40	21	46	13	50	76	186
Tỷ lệ dương tính (%)	50,0	100,0	42,50	100,0	45,65	100,0	26,0	100,0	40,86	100,0
So sánh tỷ lệ dương tính	$\chi^2 = 33,33$ (P~0)		$\chi^2 = 32,28$ (P~0)		$\chi^2 = 34,33$ (P~0)		$\chi^2 = 58,73$ (P~0)		$\chi^2 = 156,18$ (P~0)	
Số mẫu bảo hộ	16	37	13	32	17	41	9	37	55	147
Tỷ lệ bảo hộ ( $\geq 4\log_2$ ) (%)	32,0	74,0	32,50	80,00	36,96	89,13	18,0	74	29,57	79
So sánh tỷ lệ bảo hộ	$\chi^2 = 17,7$ (P~0)		$\chi^2 = 18,34$ (P~0)		$\chi^2 = 26,87$ (P~0)		$\chi^2 = 18,54$ (P~0)		$\chi^2 = 91,69$ (P~0)	
Cường độ miễn dịch đàn (HI)	4,23	16,68	4	21,11	4,58	27,52	2,09	13,73	3,52	18,85

\*Đợt 1 là đợt lấy mẫu huyết thanh 4 - 5 tháng sau vụ tiêm vaccine dại hằng năm và 2 - 2,5 tháng trước lúc tiêm vaccine khảo sát cho chó, vào 9/2017~10/2017; Đợt 2 là đợt lấy mẫu huyết thanh 22 ngày sau lần tiêm vaccine khảo sát (12/2017~01/2018).

Từ Hình 2 ta có thể thấy rằng việc xét nghiệm từ mẫu tổng không khác biệt lớn so với việc lấy mẫu bắt cặp trước và sau tiêm khảo sát. Điều này giúp ta có cơ sở để so sánh kết quả nghiên cứu này với các loại nghiên cứu với cách chọn lấy mẫu khác nhau. Kết quả xét nghiệm hiệu giá kháng thể trong nghiên cứu này tăng từ khoảng 30% trước tiêm lên khoảng 75% sau tiêm tương đương với kết quả nghiên cứu miễn dịch đàn cuối năm 2016 tại thành phố Huế cho rằng tỷ lệ bảo hộ sau vụ tiêm vaccine định kỳ là 75,8% (Phạm Hồng Sơn và Nguyễn Thị Ngọc Hiền, 2017) và cũng tương tự kết quả nghiên cứu từ huyện miền núi Minh Hóa cho rằng tiêm vaccine dại đã làm tăng tỷ lệ bảo hộ từ 32,92% lên 75,83% (P~0) (Phan Ngọc Tuyết và cs., 2018). Riêng xã Tiền Hóa có tỷ lệ bảo hộ tăng từ khoảng 18% lên 75% là có sự tăng mạnh nhưng cũng không đạt mức thay đổi cao như kết quả xét nghiệm của nhóm nghiên cứu từ vùng nội đồng Bắc Hà Tĩnh thông báo rằng tỷ lệ chó được bảo hộ trước và sau tiêm vaccine dại trong vụ tiêm phòng định kỳ thường niên của năm 2014 lần lượt là 11,11% và 83,33% (Phạm Mạnh Hùng và cs., 2018).

Kết quả nghiên cứu bắt cặp trước sau như trên cũng cho ta thấy chỉ có khoảng 40% chó có kháng thể huyết thanh và chỉ 30% cá thể có nồng độ kháng thể bảo hộ, là mức rất thấp so với yêu cầu ngăn chặn dịch bệnh truyền nhiễm tức phải đạt mức hữu hiệu tối thiểu 70% (Shimizu và cs., 1999). Đồng thời tỷ lệ chó mang kháng thể chỉ 40% là quá thấp so với “mục tiêu cụ thể” của “Chương trình 193” cần “tỷ lệ chó nuôi được tiêm phòng vaccine dại tại các phường xã, thị trấn đạt trên 85%” (Thủ tướng Chính phủ, 13/02/2017). Điều này có thể là phổ biến ở nhiều địa phương và rất có thể là nguyên nhân bệnh dại vẫn liên tục phát ra mặc dù đã sau nhiều chương trình khống chế bệnh dại. Chính sách đưa ra luôn cần sự kiểm tra giám sát việc thực hiện. Nghiên cứu thẩm định sau tiêm vaccine phòng dịch một cách hệ thống cả về kết quả tiêm phòng cả về chất lượng vaccine sẽ thúc đẩy việc tiêm phòng dại ở các địa phương, khi đó nhu cầu sử dụng vaccine trong nước trở nên thực chất. Khi đó, việc “nghiên cứu sản xuất trong nước vaccine dại” (mục 3.m của Điều 1, Chương trình 193) mới có thể triển khai

trong thực tế nhờ nghiên cứu thẩm định độc lập vừa xác định tính hữu hiệu của vaccine mới, vừa tạo được miễn dịch bổ sung chống dại, tránh được rủi ro do hiệu lực vaccine hạn chế ở đàn chó được tiêm phòng với loại vaccine lần đầu đưa vào sử dụng.



**Hình 2.** Biểu đồ thể hiện sự tương đồng của kết quả xét nghiệm đáp ứng miễn dịch thể giữa phương pháp lấy mẫu từ quần thể tổng quát (mẫu tổng) và lấy mẫu bắt cặp trước và sau từ cùng cá thể (mẫu cặp).

### 3.2. Tình trạng mang virus trong nước bọt chó trước và sau tiêm vaccine khảo sát

Xét nghiệm 480 mẫu nước bọt của hai đợt lấy từ chó nuôi ở các gia đình thuộc thị trấn Đông Lê, xã Lê Hóa, xã Mai Hóa và xã Tiền Hóa thuộc huyện Tuyên Hóa bằng phương pháp SSDHI chúng tôi thu được kết quả ở Bảng 3.

**Bảng 3.** Tình hình nhiễm virus dại ở các địa bàn xã khảo sát qua hai đợt xét nghiệm trước và sau tiêm vaccine khảo sát

Địa bàn	Đợt*	Số mẫu xét nghiệm (con)	Số dương tính (con)	Hiệu giá các mẫu dương tính (nếu có) ( $\times \log_2$ )	Tỷ lệ dương tính (%)	GMT (Cường độ nhiễm của đàn) (HA)
Thị trấn Đông Lê	Trước tiêm	60	0		0	1
	Sau tiêm	60	0		0	1
Xã Lê Hóa	Trước tiêm	60	2	3; 2	3,33	1,0595
	Sau tiêm	60	0		0	1
Xã Mai Hóa	Trước tiêm	60	1	3	1,67	1,0234
	Sau tiêm	60	0		0	1
Xã Tiền Hóa	Trước tiêm	60	0		0	1
	Sau tiêm	60	0		0	1
Chung	Trước tiêm	240	3	3; 2; 3	1,25	1,0473
	Sau tiêm	240	0		0	1

\*Trước đợt tiêm vaccine khảo sát và sau tiêm vaccine khảo sát.

Kết quả xét nghiệm ở đây cho thấy trong toàn bộ 240 mẫu đã được xét nghiệm ở huyện Tuyên Hóa chỉ có 3 mẫu mang virus dại. Tất cả 3 con chó đó đều được phát hiện trong số những con được lấy mẫu trước đợt tiêm khảo sát vaccine. Với 3 mẫu dương tính cường độ nhiễm (tức hiệu giá trung bình nhân toàn đàn) virus dại trong đợt thứ nhất là 1,0473. Sau khi có kết quả này tất cả 3 con có phản ứng SSDHI dương tính đều bị chỉ định giết hủy. Sau đợt

tiêm vaccine khảo sát 22 ngày không phát hiện cá thể nào mang virus dại trong nước bọt. Sự kết hợp giết hủy những con mang trùng và tiêm vaccine phòng bệnh hiệu quả có thể là kết quả tích cực này.

Từ những suy luận đó, chúng tôi đề xuất quy trình sàng lọc và giết hủy chó nhiễm dại phối hợp tiêm vaccine dại và xét nghiệm đánh giá chất lượng vaccine phòng dại được chỉ định sử dụng dưới dạng chương trình nghiên cứu khoa học thẩm định tiêm phòng dại hỗ trợ cho Chương trình quốc gia không chế tiến tới loại trừ bệnh dại. Quy trình đề xuất gồm các bước sau: (1) Kiểm tra kháng thể chống dại trên đàn chó sau vụ tiêm vaccine hằng năm bằng phương pháp HI tại địa bàn chỉ định vào vụ Hè, sau đợt tiêm phòng dại hằng năm 2 - 3 tháng; (2) Xét nghiệm SSDHI nước bọt phát hiện và giết hủy chó mang virus dại trong nước bọt vào vụ Hè; (3) Tiêm khảo sát chất lượng vaccine được chỉ định sử dụng và xét nghiệm kiểm tra hiệu lực gây miễn dịch sau 3 tuần vào vụ Thu; (4) Xét nghiệm SSDHI nước bọt phát hiện và giết hủy chó mang virus dại vào vụ Thu-Đông. Đề xuất mỗi tỉnh hàng năm chỉ định nghiên cứu thẩm định ở một số xã của 1 - 2 huyện với khoảng 480 - 500 mẫu mỗi loại huyết thanh và nước bọt, trong hai lần lấy mẫu và lần lượt thực hiện ở huyện khác vào những năm sau.

#### 4. KẾT LUẬN

Hiệu quả tạo miễn dịch dịch thể ở chó nuôi ở huyện Tuyên Hóa, tỉnh Quảng Bình vụ xuân năm 2017 là quá thấp so với yêu cầu 85% chó được tiêm phòng dại của “Chương trình quốc gia 193”.

Tiêm vaccine khảo sát đã tạo đáp ứng miễn dịch rõ rệt làm tỷ lệ chó được bảo hộ tăng từ 29,58% trước tiêm lên 77,9% sau tiêm ( $P \sim 0$ ), tương ứng với cường độ miễn dịch đàn tính chung tăng từ 3,54 HI lên 18,01 HI, không chịu ảnh hưởng của địa bàn nuôi. Việc xét nghiệm mẫu bắt cặp hay mẫu rút từ quần thể chung đều cho kết quả “vaccine được chỉ định sử dụng làm tăng miễn dịch chống dại ở chó” như nhau.

Tỷ lệ nhiễm virus dại trong hai đợt trước tiêm vaccine khảo sát không cao (chỉ 3 con trong tổng số 240 con được xét nghiệm vào đợt trước tiêm vaccine khảo sát mang virus dại, đạt 1,25%, cường độ nhiễm 1,0473 HI). Tuy là tỷ lệ thấp nhưng đây là chỉ báo mầm bệnh vẫn tồn tại và cần có biện pháp phòng ngừa thường xuyên.

Xét nghiệm để giết hủy những con chó có phản ứng SSDHI dương tính, phối hợp tiêm vaccine phòng dại khảo sát là biện pháp tích cực làm “sạch đàn” để không chế tiến tới thanh toán bệnh dại.

Đề nghị có chương trình quốc gia nghiên cứu thẩm định chất lượng tiêm phòng dại và chất lượng vaccine phòng dại được chỉ định sử dụng hằng năm lần lượt từng đơn vị huyện, theo từng khu vực, để thúc đẩy việc thực thi các “Chương trình quốc gia không chế và tiến tới bệnh loại trừ bệnh dại”.

#### 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 không 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 Y tế. (2010). *Tài liệu tập huấn Phòng chống bệnh dại, Dự án Phòng chống bệnh dại, 25-26*. Hà Nội: Bộ Y tế.
- 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.
- Thanh Hằng. (2018, 01/ 06). *63 người chết vì bệnh dại trong năm 2017*. Khai thác ngày 26/06/2018 từ: <http://cand.com.vn/y-te/So-nguoi-chet-do-benh-dai-tang-cao-473622>.
- Doãn Hòa. (2017, 03/ 24). *Một xã có 53 người nghi bị chó dại cắn, bé 4 tuổi tử vong*. Retrieved 4/ 12, 2017, from tuoitre.vn: [ttp://tuoitre.vn/tin/song-khoe/20170324/mot-xa-co-53-nguoi-nghi-bi-cho-dai-can-be-4-tuoi-tu-vong/1286039.html](http://tuoitre.vn/tin/song-khoe/20170324/mot-xa-co-53-nguoi-nghi-bi-cho-dai-can-be-4-tuoi-tu-vong/1286039.html).
- Ánh 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 Bá Huệ. (2005). *Mở đường thanh toán bệnh dại ở Việt Nam*. Hà Nội: NXB Văn hóa - Thông tin.
- Phạm Mạnh Hùng, Nguyễn Thị Lan Anh và Phạm Hồng Sơn. (2018). Tình trạng đáp ứng miễn dịch dịch thể và cảm nhiễm virus dại ở chó nuôi nửa đầu năm 2014 tại vùng nội đồng Bắc Hà Tĩnh. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp (HUA F J. Agric. Sci. Technol.)*, 2(1), 457-468.
- Viên Quang Mai. (2013). *Báo cáo Tình hình bệnh dại ở khu vực miền Trung trong 5 năm 2008 – 2012 và tháng 9 năm 2013*. Viện Pasteur Nha Trang, Khánh Hòa. Nha Trang: Viện Pasteur Nha Trang.
- Khánh Ngọc. (2018, 03/ 30). *Báo động tình trạng tử vong vì bệnh dại ở Kon Tum*. (Bộ Thông tin và Truyền thông). Khai thác ngày 26/06/2018 từ: <http://infonet.vn/bao-dong-tinh-trang-tu-vong-vi-benh-dai-o-kon-tum-post257881.info>
- Nguyễn Thị Hoàng Oanh, Phạm Thị Hồng Lam, Đỗ Thị Lợi, & Phạm Hồng Sơn. (2012). Sử dụng tổ hợp phản ứng ngưng kết hồng cầu trực tiếp với trắc định xê dịch ngăn trở ngưng kết hồng cầu chuẩn (HA-SSDHI) và trắc định xê dịch ngưng kết gián tiếp chuẩn (SSIA) trong chẩn đoán bệnh Niucatxon. *Khoa học Kỹ thuật Thú y*, XIX(1), 48-56.
- Nguyễn Vĩnh Phước (cb), Hồ Đình Chúc, Nguyễn Văn Hanh, & Đặng Thế Huỳnh. (1978). *Giáo trình bệnh truyền nhiễm gia súc*. Hà Nội: NXB Nông nghiệp.
- 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 và Lê Xuân Anh. (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.
- Phan Ngọc Tuyết, Nguyễn Thị Mỹ Trinh, Phạm Thị Thanh Thúy, & Phạm Hồng Sơn. (2018). Đánh giá hiệu lực vaccine phòng dại trên chó nuôi tại huyện Minh Hóa tỉnh Quảng Bình. *Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*, 2(2), 767-780. 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 bệnh loại trừ bệnh dại giai đoạn 2017-2021”*. Hà Nội: Văn phòng Chính phủ.

## 2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Cottral, G. E. (1989). *Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology*. Ithaca & London: Cornell University Press.
- Shimizu, Y., Kanoe, M., Tabuchi, K., Hiramune, T., & Mikami, T. (ed.). (1999). *Juui densenbyou gaku, daigoban*. Tokyo: Kindai shuppan.

Snedecor G. W. and Cochran W. G. (1980). *Statistical methods, 7th ed.* Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press.

Surin V. N., Belousova P. B., Solovjev K. V., and Fomina N. V. (1986). *Spravotchnik metody laboratornoi diagnostiki virusnykh boleznei zhyvotnykh.* Moskva: Agropromizdat.

## EVALUATION OF ANTI-RABIES IMMUNITY AND RABIES VIRUS PREVALENCE IN DOGS REARED IN DISTRICT TUYEN HOA OF PROVINCE QUANG BINH WITH HI AND SSDHI TECHNIQUES

Le Duy Bau<sup>1</sup>, Pham Thi Yen Hoa<sup>2</sup>, Le Thi Ngoc Khanh<sup>2</sup>, Pham Hong Son<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Region 3 Veterinary Department;

<sup>2</sup>Hue University – University of Agriculture and Forestry

\*Contact email: [phamhongson@huaf.edu.vn](mailto:phamhongson@huaf.edu.vn)

### ABSTRACT

With the technique of Haemagglutination Inhibition (HI), analyses of sera collected from dogs reared in Tuyen Hoa district of Quang Binh province revealed that the rates of antibody-positive dogs created by the annual vaccination campaign in the beginning of year 2017 were too low in comparison with the specific goals of the current National Rabies Control Programme meanwhile the rates of immunologically protected dogs were too far below the levels perceived empirically enough for endemic prevention. The assay also showed that the nominated vaccine well induced immune responses to the virus, elevating the rates of antibody-positive dogs from 40% to 99.17% (P~0) and protected dogs from 29.58% to 77.9% (P~0), with immune intensity increasing from 3.54 HI to 18 HI. Meanwhile, the researches with the technique of Shifting Assay of Standardized Direct Haemagglutination Inhibition (SSDHI) for rabies antigen detection in saliva fluids showed that there were only 3 amongst 240 dogs examined before the appointed verification anti-rabies vaccination (1.25%), but no dog carrying the virus in its saliva was found amongst those that had been vaccinated, and that destroying SSDHI-positive dogs probably led to the absence of virus-carrying dogs in the population. We therefore herein suggest formulate research programmes for verification of annual spring vaccination campaigns as well as anti-rabies vaccine quality, in combination with detection of rabies virus in dog saliva and killing virus-carriers, as supplementations to national programmes against rabies.

**Key words:** dog, HI, rabies, SSDHI, vaccine.

*Received:* 6<sup>th</sup> December 2018

*Reviewed:* 25<sup>th</sup> January 2019

*Accepted:* 30<sup>th</sup> January 2019