

TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM TP.HỒ CHÍ MINH
Bộ môn CÔNG NGHỆ SINH HỌC



Bài tiểu luận:

VẮC-XIN PHÒNG BỆNH PMWS



Sinh viên thực hiện:

Lương Thị Yến Nguyệt

Giáo viên hướng dẫn:

PGS.TS. Nguyễn Ngọc Hải



Vắ-xin Phòng Bệnh PMWS

I. Đặt vấn đề

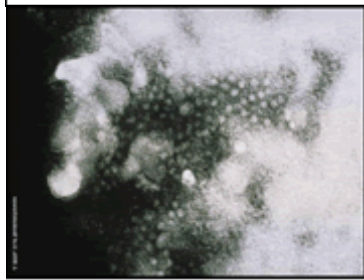
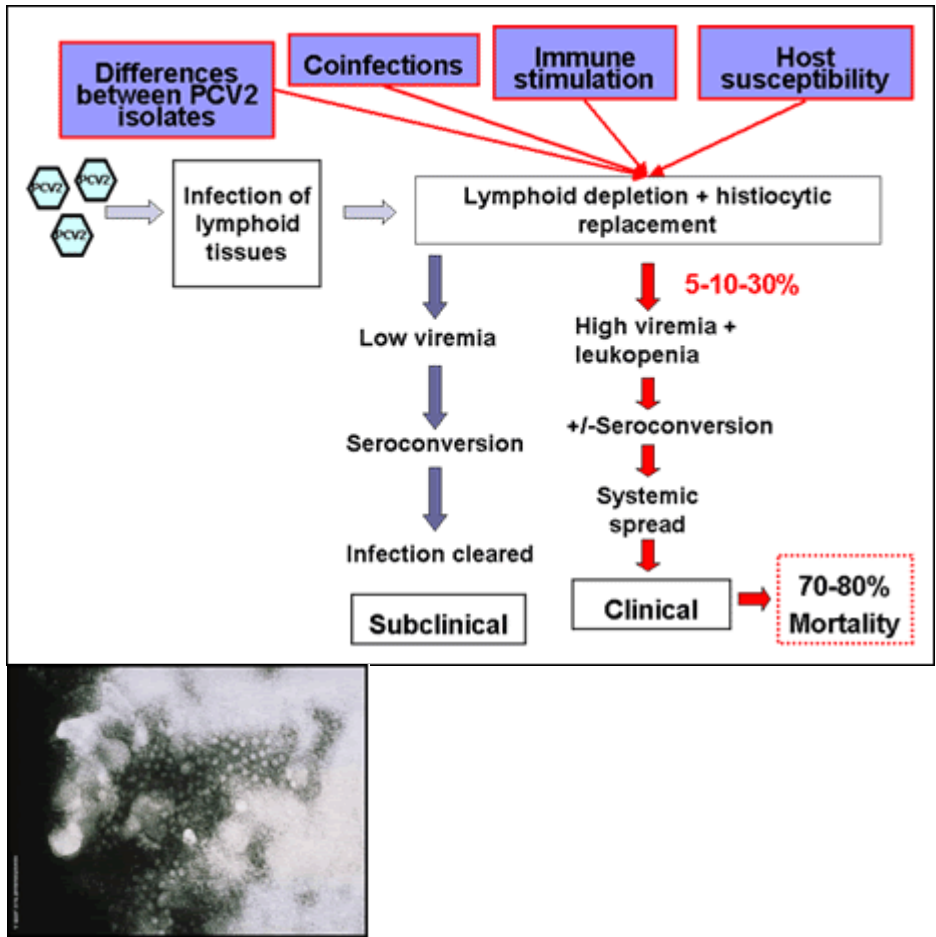
PMWS (Post - Weaning Multisystemic Wasting Syndrome) đã trở thành một vấn đề nhận được nhiều sự quan tâm trên thế giới trong những năm qua, đặc biệt là tại Canada, Mỹ, Châu Âu và một số nước Châu Á. Căn bệnh xảy ra được biểu thị rõ ràng như tên gọi của nó. Đó là hội chứng còi cọc ở heo sau cai sữa ở 5-6 tuần tuổi đến khoảng 14 tuần tuổi và hiện nay được xem như một bệnh hàng đầu. Nguyên nhân căn bệnh là do một loại virus có tên là Porcine circovirus type 2 (gọi tắt là PCV2), được phân lập năm 1997. Ngày nay, Circovirus thường được thấy kết hợp với những bệnh khác như viêm phổi, hội chứng bệnh ngoài da và thận (Porcine Dermatitis-Nephropathy Syndrome), viêm ruột (Enteritis), sáo thai và sáo trộn sinh sản (Abortion-Reproductive Failure) ở heo nái, v.v... Circovirus lây nhiễm từ heo này qua heo khác qua sự chung đụng lẫn nhau, qua phân, qua đường hô hấp và qua cả tinh dịch của heo nọc nữa.

Mặc dù căn bệnh diễn biến chậm nhưng tăng dần lên với mức độ nguy hại cao. Sau khi đàn heo nhiễm bệnh thì tỷ lệ chết có khi lên đến 50%. Bệnh gây thiệt hại nhiều cho ngành chăn nuôi bắc Mỹ, nhiều nước ở châu Âu và một số nước ở châu Á.

Ở Việt Nam, bệnh này đã xuất hiện và gây thiệt hại không nhỏ cho người chăn nuôi đặc biệt là chăn nuôi theo quy mô công nghiệp với mật độ chăn nuôi dày, môi trường không được kiểm soát tốt cũng như là biện pháp quản lý phòng bệnh chưa hợp lý. Có rất nhiều phương pháp phòng bệnh từ cơ bản cho đến chuyên biệt thì trong đó sự kết hợp giữa vệ sinh, phòng bệnh (An toàn sinh học) và vaccine hữu hiệu là then chốt để kiểm soát và loại trừ bệnh này.

II. Tác nhân gây bệnh-Porcine circovirus type 2

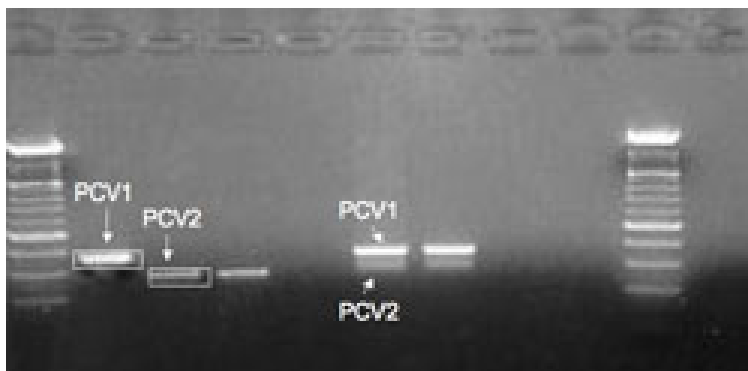
Điều quan trọng cần lưu ý rằng PCV2 được công nhận là nguyên nhân chính của PMWS, mặc dù có một số yếu tố ảnh hưởng đến sự biểu hiện của bệnh, thời gian và mức độ nghiêm trọng của nó. Những yếu tố đóng vai trò gây bệnh liên quan với PCV:



An electron micrograph of PCV2 virions.
 Photo compliments of John Ellis, DVM, Ph.D., DACVP, DACVM, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada

PCV (Porcine circovirus) thuộc họ *Circoviridae* (Lukert và ctv. 1995), là một trong những virus nhỏ nhất xâm nhiễm vào tế bào động vật hữu nhũ. PCV là virus không có vỏ bao với đường kính 17 nm và chứa một bộ gen vòng đơn khoảng 1,76 kb (Tischer và ctv. 1982, Hamel và ctv. 1998).

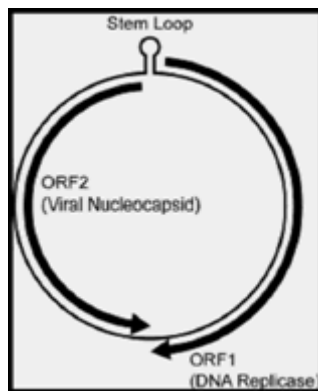
Gồm có 2 loại được tìm thấy trên heo, PCV1 và PCV2.



Multiplex PCR for the detection of PCV1 and PCV2

- PCV1 đã xuất hiện từ rất lâu trên heo và thường nhiễm vào tế bào nuôi cấy thận heo (Pk-15 ATCC CCL-33) và không gây bệnh trên heo. PCV2 mới xuất hiện gần đây và gắn liền với PMWS. PCV2 thường gắn với những bệnh nghiêm trọng trên heo và ảnh hưởng mạnh đến ngành chăn nuôi heo trên thế giới. Những tiểu phần virus PCV2 rất bền vững và có thể tồn tại trong môi trường của đàn heo bị nhiễm bệnh, việc tiêu diệt triệt để virus này là rất khó.

- Bộ gen của PCV2 chứa hai khung đọc mở chính (ORF: open reading frame) : ORF1 mã hóa cho những protein tái tạo virus, ORF2 mã hóa cho protein capsid của virus. Protein capsid được xác định là có liên quan đến gây đáp ứng miễn dịch ở heo bị nhiễm bệnh. Những kháng thể đơn dòng và huyết thanh heo trung hòa cho thấy có phản ứng với protein capsid.



Genomic organization of PCV2.

Diagram compliments of Steven Krakowka, DVM, PhD, DACVP, The Ohio State University, Columbus, Ohio

Các nghiên cứu cho thấy virus PCV2 đã hiện diện nhiều năm trước khi PMWS xuất hiện. Điều này phản ánh một thực tế là các virus gây bệnh có thể ở dạng tiềm ẩn. Những nghiên cứu về huyết thanh tại Châu Âu và Bắc Mỹ cho thấy, sự lây nhiễm lan rộng trong đàn heo nhưng chỉ một phần nhỏ đàn có huyết thanh dương tính là từng biểu hiện bệnh lý. Điều này có vẻ như hầu hết những ca lây nhiễm có biểu hiện ngầm với bệnh. Heo con có thể bị nhiễm trước khi cai sữa.

III. Sự phát sinh bệnh và miễn dịch

Hans Nauwynck của University of Ghent ở Bỉ đã mô tả khả năng lây nhiễm bệnh qua phân và đường hô hấp như thế nào. Heo, ngay cả heo rừng, đã bị nhiễm virus trong nhiều thập kỷ và các chủng này cho thấy có bộ gen tương đồng > 94% và virus nhiễm trùng trên toàn thế giới. Ở cấp độ đàn gia súc, heo con được sinh ra từ những heo nái đã miễn dịch, sẽ bị nhiễm virus tự nhiên, với lượng kháng thể ở các cấp độ khác nhau. Khi nhiễm PCV2, sự biểu hiện nhiễm trùng ở lợn con xảy ra từ 2-12 tuần với lượng kháng thể giảm và thay đổi từ đàn heo này đến đàn heo khác. Nhiễm trùng trong tử cung cũng có thể xảy ra, gây ra vấn đề về sinh sản ở lợn nái, nhưng thường là lúc tiếp xúc đầu tiên của virus trong bầy khỏe mạnh là và tinh dịch cũng có thể là thể mang virus. Các virus này chậm phát triển, nó cần khoảng 36 giờ để nhân lên về số lượng. Việc nhân rộng virus trong tế bào có thể được tăng lên trong phòng thí nghiệm, sau tiếp xúc với interferon-alpha, một chất thường được sản xuất như là chất bảo vệ chống virus-Cytokine và có thể hoạt động như một chất kích hoạt để PCV2 khi bị các nhiễm trùng khác xảy ra. Sau

nhiễm trùng, virus có thể được tìm thấy trong 2-3 tuần sau đó ở mô lymphoid và các cơ quan như phổi, gan và tim. Kháng thể bình thường được sản xuất sau khi nhiễm 3 tuần và sự nhân lên của các vi-rút giảm. Tuy nhiên, một số lợn này không thể sản xuất kháng thể và vi rút tiếp tục nhân lên và cuối cùng bệnh PCVAD / PMWS xuất hiện triệu chứng lâm sàng.

Ken McCullough, trước đây là của Belfast, Bắc Ireland, miêu tả những phức tạp của các đáp ứng miễn dịch của nhiễm trùng PCV2. Sau một nhiễm PCV2, có sự giảm các tế bào bạch cầu (leucopenia) được thấy ở lợn, khi bệnh PCVAD phát triển. Leucopenia chủ yếu là liên quan đến sự suy giảm của lymphocytes B, đây là các tế bào báo động với hệ thống miễn dịch sản xuất kháng thể và đến một mức độ thấp hơn các lymphocytes T, tế bào kích thích việc sản xuất các tế bào để diệt virus gây bệnh, do đó không thể đáp ứng miễn dịch. Tuy nhiên, các tế bào với mức độ cao của vi rút là những tế bào hình cây, nơi đưa kháng nguyên đến hệ thống miễn dịch và các đại thực bào. Mọi người cho rằng virus không diệt các tế bào này và chúng tiếp tục hoạt động nhưng virus làm chúng suy yếu sự nhận diện các 'tín hiệu nguy hiểm' sự xâm nhập từ sinh vật khác và cho phép các nhiễm trùng gây bệnh đi vào dễ dàng hơn. Điều này sẽ giải thích vì sao virus PCV2 thường kết hợp với một số bệnh khác như: viêm phổi, hội chứng bệnh ngoài da và thận (Porcine Dermatitis-Nephropathy Syndrome), viêm ruột (Enteritis), sáo thai và sáo trộn sinh sản (Abortion-Reproductive Failure) ở heo nái, v.v...

Source: Europe meets N. America over PMWS/PCVAD - The Way Forward by David G S Burch-BVetMed DECPHM MRCVS-Veterinarian, Octagon Services Ltd,(Published in "Pig International" May 2007)

Tại Việt Nam, nghiên cứu của Lâm Thị Thu Hương và công tác viên (2004), thực hiện tại các trang trại chăn nuôi heo ở Thành phố HCM và các tỉnh phụ cận cho thấy: khảo sát 25 mẫu hạch của những heo còi cọc sau cai sữa để xét nghiệm, tỷ lệ dương tính với virus này chiếm 36% (9 mẫu). Điều này làm chúng ta cần phải quan tâm đặc biệt đến căn bệnh.

IV. Các loại vắc-xin phòng bệnh PMWS

Hiện nay, nhiều loại vắc-xin cho PCV2 đã được dùng phổ biến ở châu Âu, Bắc Mỹ và mang lại những hiệu quả ban đầu nhất định. Các loại vắc-xin đã được thương mại gồm có: vắc-xin virus PCV2 vô hoạt, vắc-xin protein capsid của virus PCV2, vắc-xin virus tái tổ hợp PCV1 và PCV2 vô hoạt. Ngoài ra, còn có những loại vắc-xin còn đang được thử nghiệm.

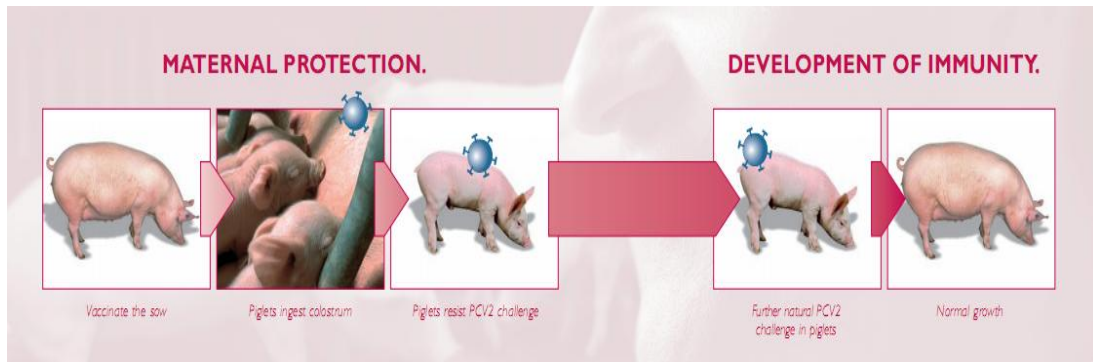
1. Vắc-xin virus vô hoạt

Các virus PCV2 được phát triển trong nuôi cấy tế bào và sau đó được làm bất hoạt để sản xuất các thành phần kháng nguyên của vắc-xin. Sản phẩm thương mại là Circovac[®] của công ty Merial. Circovac[®] đã được ủy quyền cho tiếp thị trong Liên minh châu Âu, cho tiêm phòng ở heo nái.

Đây là phương pháp miễn dịch thụ động, heo nái khi được tiêm vắc-xin sẽ gây đáp ứng miễn dịch tạo kháng thể. Heo con bú sữa đầu khi mới đẻ ra sẽ được nhận kháng thể từ sữa, lên đến 5 tuần tuổi. Nó cho thấy có giảm tổn thương ở các mô lymphoid liên quan với nhiễm PCV2 và tỷ lệ tử vong liên



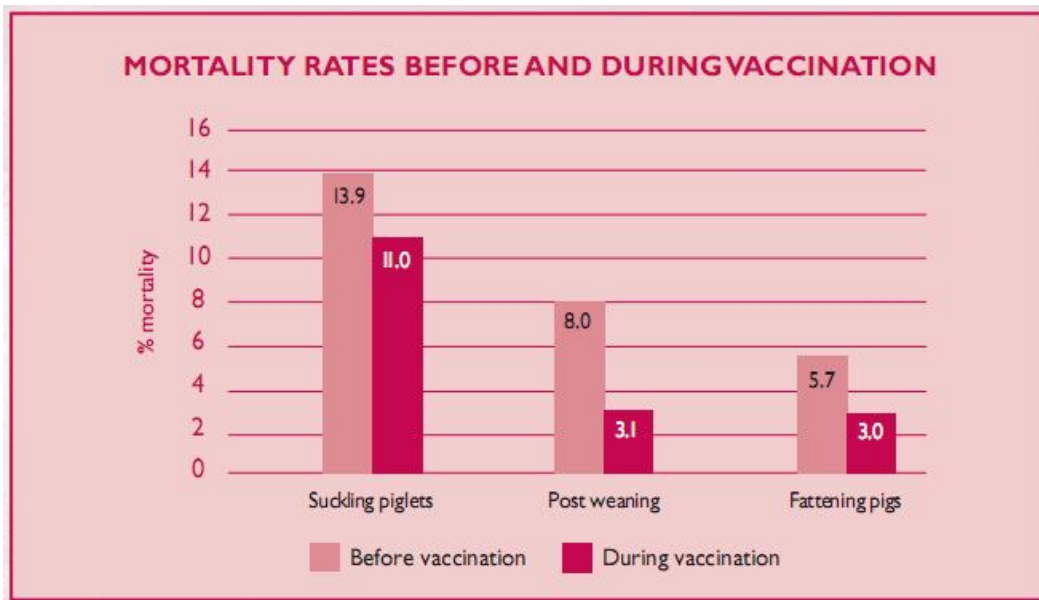
quan với PCV2. Nhưng hiệu quả của vắc-xin tùy thuộc vào lượng sữa đầu của heo con được bú vào sau khi đẻ ra.



Hiện nay ở nước ta, vắc-xin Circovac[®] cũng được sử dụng để phòng ngừa bệnh PMWS. Vắc-xin được tiêm cho heo nái với liều:

- Heo hậu bị: tiêm 2 mũi, cách nhau 3-4 tuần, mũi thứ 2 ít nhất 2 tuần trước khi phối.
- Heo nái: tiêm 2 mũi cách nhau 3 - 4 tuần, mũi thứ 2 chậm nhất 2 tuần trước khi đẻ
- Tiêm nhắc lại: đối với các lứa tiếp theo, tiêm 1 mũi trước khi đẻ 2-4 tuần.

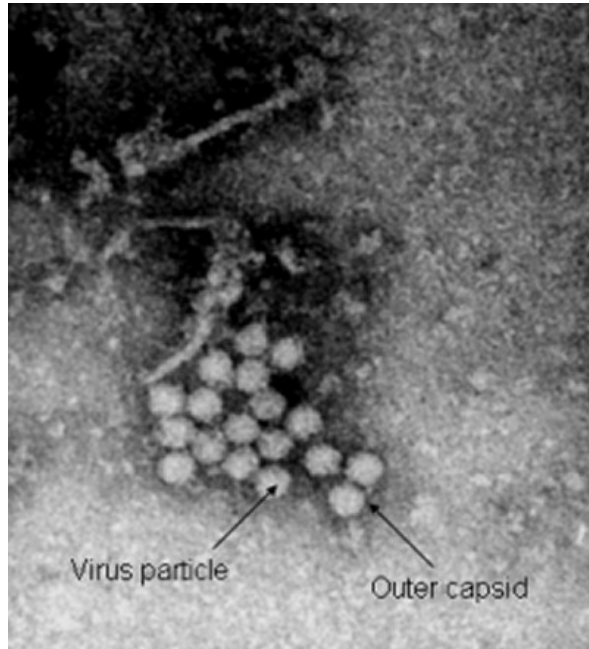
Tác dụng của vắc-xin được khảo sát và ghi nhận qua biểu đồ sau:



2. Vắc-xin protein capsid của virus PCV2

Công nghệ DNA tái tổ hợp cho phép sản xuất một lượng lớn protein virus và được dùng trong sản xuất vắc-xin chống lại virus. Protein capsid của PCV2 về mặt kháng nguyên là quan trọng nhất (kích thích miễn dịch) và là thành phần của vắc-xin và được sản xuất bởi một phần di truyền của virus được gọi là khung đọc mở 2 (ORF2). Gen ORF2 sẽ được chuyển vào các yếu tố mang và được biểu hiện thông qua việc sử dụng những virus phát triển nhanh hơn. Những virus này sẽ làm nhiệm vụ

tổng hợp nên các protein capsid được qui định bởi gen ORF2 chèn vào. Protein capsid sau đó sẽ được tinh chế và sử dụng để sản xuất vắc-xin.



Porcine circovirus type 2 (PCV2) with fine outer capsid

Hai sản phẩm vắc-xin loại này đã được thương mại và phổ biến ở Bắc Mỹ và Châu Âu: Ingelvac CircoFLEX[®] (của công ty Boehringer Ingelheim) và Porcilis[®] PCV(của công ty Schering-Plough/Intervet).

Porcilis[®] PCV được tiêm cho heo con từ 3 tuần tuổi trở lên. Vắc-xin cho thấy có làm giảm lượng virus ở trong mô lympho và trong máu thú, đồng thời giảm sự sụt cân liên quan với PCV2 trong suốt thời kỳ vỗ béo. Vắc-xin được tiêm vào cơ ở cổ và ở vùng sau tai. Heo được tiêm 2 lần, mỗi lần 2ml và cách nhau 3 tuần.

Đối với vắc-xin Ingelvac CircoFLEX[®] thì chỉ tiêm 1ml vắc-xin cho heo con từ 3 tuần tuổi trở lên và một lần duy nhất.

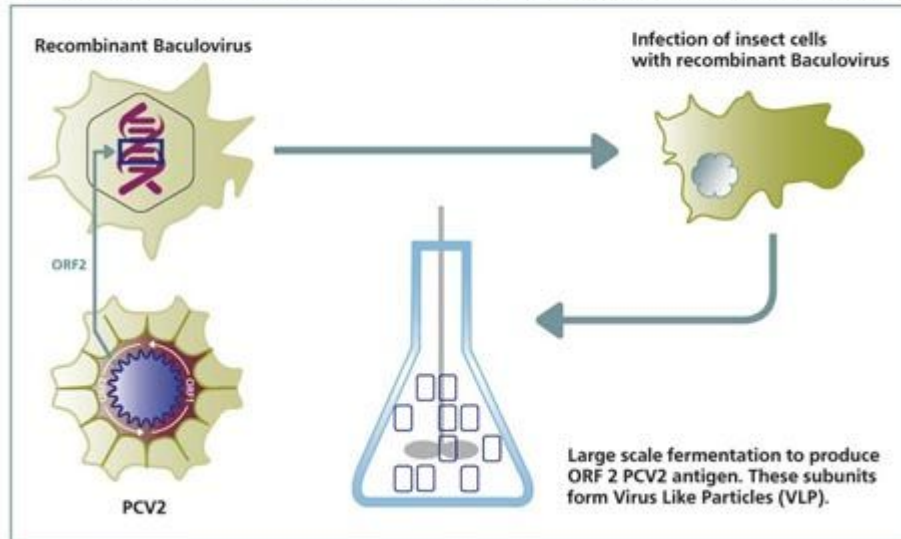
Khi heo được tiêm vắc-xin, hệ thống miễn dịch của heo sẽ nhận diện protein ngoại lai và phản ứng bằng việc tạo đáp ứng miễn dịch chủ động. Đáp ứng này sẽ giúp bảo vệ heo chống lại bệnh gây bởi PCV2 nếu bị nhiễm.





Porcilis PCV: antigen production

Expression of ORF2 PCV2-antigen using a Baculo-virus vector System

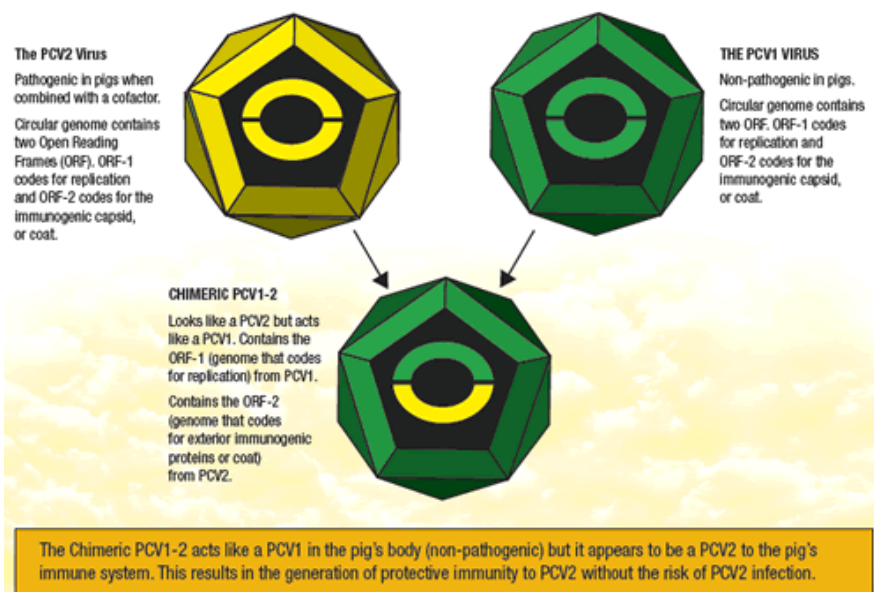


Stefano Gozio - Porcilis PCV launch

3. Vaccin virus tái tổ hợp PCV1 và PCV2 vô hoạt

Những kết quả nghiên cứu về gen của 2 loại virus (PCV1 và PCV2) cho thấy 2 loại virus này về mặt di truyền có bộ nhiễm sắc thể tương đồng khoảng 75%, trong đó ORF1 tương đồng khoảng 83% về trình tự nucleotide và 86% axit amin, ORF2 tương đồng khoảng 67% về trình tự nucleotide và 65% axit amin. Các gen ORF2 của PCV2 chèn vào các virus PCV1 không gây bệnh nhưng phát triển nhanh hơn để tạo ra một virus tái tổ hợp. Người ta làm bất hoạt virus tái tổ hợp này để sản xuất vắc-xin virus tái tổ hợp.

$$PCV1 + PCV2 = PCV1-2$$



Vắc-xin này đã được cấp phép sử dụng ở Mỹ với tên thương mại Suvaxyn® PCV2 (sản phẩm của công ty Fort Dodge). Sau khi heo được tiêm vắc-xin, hệ thống miễn dịch sẽ nhận diện trình tự ORF2 của PCV2 trong vắc-xin và gây đáp ứng miễn dịch.

Vắc-xin chỉ tiêm 2ml, 1 lần duy nhất cho heo ở 3 tuần tuổi hoặc lớn hơn. Hoặc có thể tiêm 2 lần, mỗi lần 1ml, cách nhau 3 tuần và cũng tiêm cho heo từ 3 tuần tuổi trở lên.



*** Thử nghiệm lâm sàng hiệu quả của các loại vắc-xin.**

Bảng tóm tắt về 4 sản phẩm vắc-xin đã được phổ biến ở Bắc Mỹ:

Company	Product	Sow/Piglet	Type of vaccine	Adjuvant	No of injections
Merial	Circovac®	Sow	Killed-PCV2 virus	Mineral oil	2 + boosters
Boehringer-Ingelheim	Ingelvac CircoFLEX®	Piglet (3wks+)	PCV2 Capsid	Aqueous polymer	1
Fort Dodge	Suvaxyn® PCV2 One Dose	Piglet (3wks+)	Killed - recombinant PCV1 & 2	SL-CD aqueous	1
Intervet	Porcilis® PCV	Piglet	PCV2 Capsid	Diluvac Tocopherol	2

Người Mỹ và Canada đã mô tả một loạt các cuộc thử nghiệm với 4 loại vắc-xin trên.

Plourde và Machell đã mô tả phản ứng với vắc-xin dùng cho lợn nái (Circovac® - Merial) ở Canada trong 77 trang trại, vốn đã được sử dụng vắc-xin trong một khoảng thời gian sáu tháng.

Desrosiers và những người khác báo cáo về một nghiên cứu mù kiểm soát, tại Canada với Ingelvac® CircoFLEX™ (Boehringer Ingelheim) trên 1.300 đơn vị lợn nái, nơi mà tất cả các con lợn trẻ được chia thành hai nhóm thử nghiệm, nhóm tiêm phòng và đối chứng không tiêm phòng vắc-xin.

Connor và Elsenier mô tả một loạt các cuộc thử nghiệm với Suvaxyn® PCV2 (Fort Dodge Thú y) ở Mỹ, nơi sản phẩm được cấp phép. Hai cuộc thử nghiệm đã được tiến hành để so sánh với một nhóm được tiêm phòng và một nhóm không tiêm phòng vắc-xin.

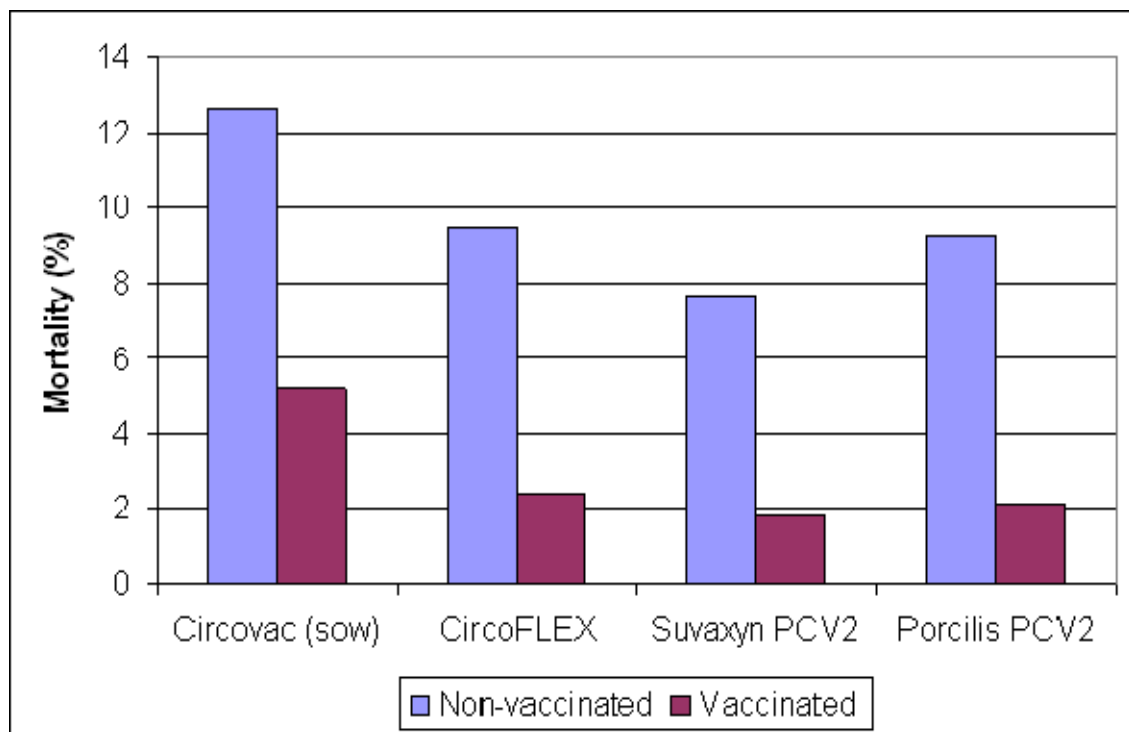
De Grau và những người khác đã tiến hành một cuộc thử nghiệm tại Canada (Quebec và Ontario) với Porcilis PCV2 (Intervet Inc) sử dụng vắc-xin tiêm 2 lần. Thử nghiệm được thiết kế như là một đa trung tâm, nghiên cứu ngẫu nhiên gồm 21 trang trại và trên 35.000 con lợn đã được sử dụng trong nghiên cứu.

Kết quả của cuộc thử nghiệm được trình bày trong bảng và các biểu đồ sau:

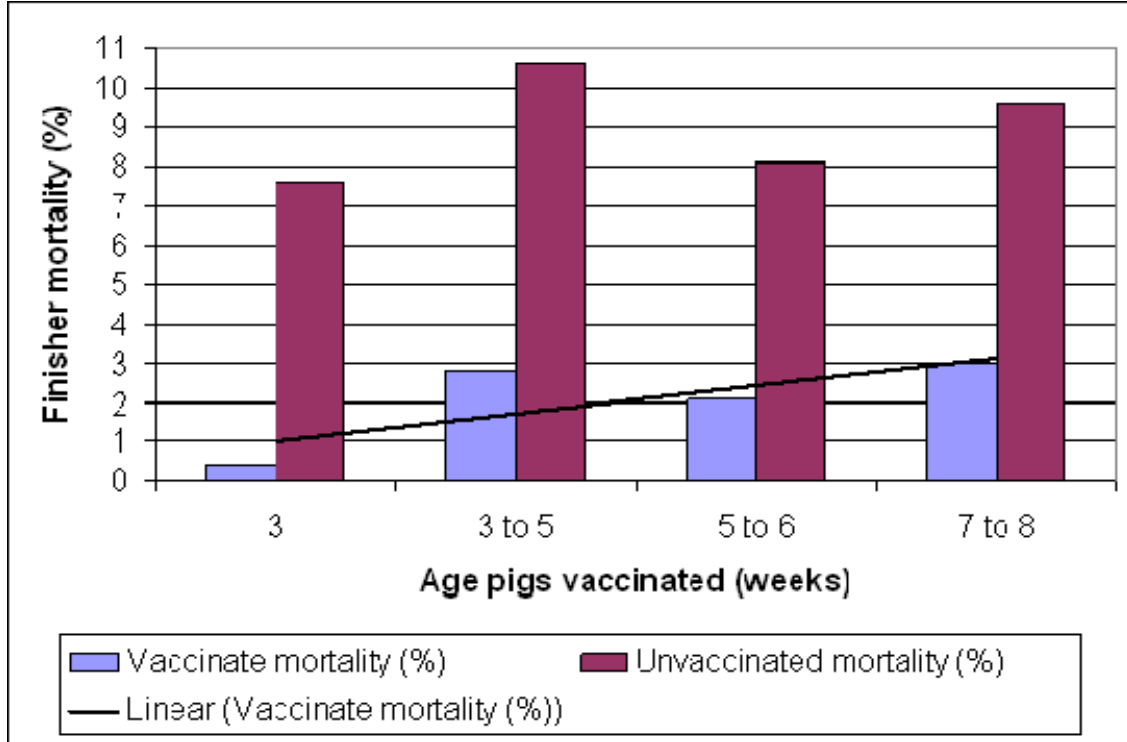
Table 1. Comparison of the effect on mortality of sow and piglet vaccines against PCV2

Product	Vaccine	Type of trial	Mortality unvaccinated (%)	Mortality vaccinated (%)
Circovac	Sow (2 shot followed by booster 1 shot)	Before and after studies (77 farms) Total mortality	12.6	5.2
CircoFLEX	Piglet (1 shot)	Controlled study; vaccinated & non-vaccinated Finisher mortality	9.5	2.4
Suvaxyn PCV2	Piglet (1 shot)	2 controlled studies & 4 before and after studies. Grower/finisher mortality	7.7	1.8
Porcilis PCV2	Piglet (2 shot)	Multi-centred randomised studies (22 farms), vaccinated and non-vaccinated. Nursery and finisher mortality	9.3	2.1

Graph 1. Comparison of the effect on mortality of sow and piglet vaccines against PCV2



Graph 2. Comparative efficacy of a PCV2 vaccine (Ingelvac CircoFLEX) by age of pig accinated



Source: Europe meets N. America over PMWS/PCVAD - The Way Forward by David G S Burch-BVetMed DECPHM MRCVS-Veterinarian, Octagon Services Ltd,(Published in "Pig International" May 2007)

Kết quả thử nghiệm lâm sàng cho thấy vắc-xin là một giải pháp cho ngành chăn nuôi heo trên thế giới với nhiễm trùng virus PCV2.

4. Những loại vắc-xin còn đang thử nghiệm.

Những nghiên cứu cho thấy các plasmid tái tổ hợp (recombinant plasmids) có thể biểu hiện protein capsid quy định bởi gen ORF2 được chèn vào khi chúng được đưa vào trong tế bào. Protein capsid biểu hiện và sẽ gây đáp ứng miễn dịch bảo vệ chống lại virus PCV2. Trong thử nghiệm này, vắc-xin đã được phân tích *in vivo*, xác định là có gây ra đáp ứng miễn dịch đặc hiệu trên chuột. DNA được lấy từ một chủng PCV2 ở Brazil, trình tự gen mã hóa cho protein capsid (ORF2) được khuếch đại bằng kỹ thuật PCR và được chèn vào plasmid. Người ta đã thử nghiệm với 2 nhóm chuột, một nhóm được tiêm chủng với plasmid có chuyển gen và một nhóm được tiêm chủng plasmid không có chuyển gen. Vắc-xin này cho kết quả là có thể gây đáp ứng miễn dịch cả đối với miễn dịch tế bào và miễn dịch dịch thể ở những con chuột được tiêm chủng.

Ngoài ra, người ta cũng đã dựa vào chu trình tự chết của tế bào (apoptosis) do gen ORF3 của virus PCV2 qui định để có thể sản xuất một loại vắc-xin sống gây cả đáp ứng miễn dịch tế bào và miễn dịch dịch thể.

V. Kết luận

Hội chứng còi sau cai sữa (PMWS) xảy ra trên heo do virus PCV2 gây ra với tỷ lệ chết cao và thiệt hại nặng nề về kinh tế cho nhà chăn nuôi trên thế giới. Mặt khác,

khi đàn heo bị nhiễm thì các biện pháp điều trị điều không hiệu quả. Và giải pháp vắc-xin đã được nghiên cứu và ứng dụng, chủ yếu là các nước ở Bắc Mỹ và Châu Âu.

Nhiều loại vắc-xin đã được nghiên cứu để phòng PMWS. Với 4 sản phẩm vắc-xin đã được phổ biến ở Bắc Mỹ và Châu Âu: vắc-xin virus vô hoạt (Circovac[®] của công ty Merial) tiêm cho heo nái, vắc-xin protein capsid của virus PCV2 (Ingelvac CircoFLEX[®] của công ty Boehringer Ingelheim và Porcilis[®] PCV của công ty Schering-Plough/Intervet) tiêm phòng cho heo con, vắc-xin virus tái tổ hợp PCV1 và PCV2 vô hoạt (Suvaxyn[®] PCV2 của công ty Fort Dodge) tiêm phòng cho heo con. Những thử nghiệm lâm sàng đã biểu hiện hiệu quả của từng loại vắc-xin.

Còn có các loại vắc-xin DNA tái tổ hợp đang được thử nghiệm. Vì diễn biến phức tạp của bệnh, nên vắc-xin phòng bệnh vẫn đang được các nhà khoa học nghiên cứu để giải quyết vấn đề nhiễm PCV2 trên toàn thế giới hiện nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Nguyễn Ngọc Hải. Công Nghệ Sinh Học Trong Thú Y.
NXB Nông Nghiệp. Trang 52-54, 149-170.

Europe meets N. America over PMWS/PCVAD - The Way Forward by **David G S Burch**-BVetMed DECPHM MRCVS- Veterinarian, Octagon Services Ltd,(Published in "Pig International" May 2007).

Porcine Circovirus Type 2 Vaccines - An Update by **David G S Burch** BVetMed DECPHM MRCVS. Veterinarian, Octagon Services Ltd. Published: Pig World, January 2008

www.scielo.br/pdf/pvb/v29n1/a12v29n1.pdf

<http://www.khoahoc.net/baivo/nguyenthuongchanh/160807-circovirus.htm>

www.google.com.vn

www.swincast.com/pcv2

www.stopcircovirus.com/uniqueformulation.html

www.octagon-services.co.uk/.../PCV2vaccines2.htm

MỤC LỤC

I. Đặt vấn đề	3
II. Tác nhân gây bệnh PMWS	3
III. Sự phát sinh bệnh và miễn dịch.....	5
IV. Các loại vắc-xin phòng bệnh MWS	6
1. Vắc-xin virus PCV2 vô hoạt.....	6
2...Vắc-xin protein capsid của virus PCV2.....	7
3. Vắc-xin virus tái tổ hợp PCV1 và PCV2 vô hoạt.....	8
4. Những loại vắc-xin còn đang thử nghiệm.....	12
V. Kết luận	12