

ẢNH HƯỞNG CỦA INTERFERON ALPHA (IFN- α) ĐỐI VỚI VIRUT GÂY HỘI CHỨNG RỐI LOẠN SINH SẢN VÀ HÔ HẤP

Trần Xuân Hạnh, Bùi Anh Thy, Kim Văn Phúc, Nguyễn Tăng Trường
Trung tâm nghiên cứu thú y – NAVETCO

TÓM TẮT

Ảnh hưởng của IFN- α ức chế virus PRRS phát triển trên tế bào MARC-145 đã được nghiên cứu. Kết quả chỉ ra rằng tế bào được xử lý IFN- α với nồng độ 1250 UI – 2500 UI/ml đã hạn chế sự phát triển của virus PRRS và ở nồng độ 5000 UI/ml gây ức chế hoàn toàn virus nhân lên. Khả năng ức chế virus PRRS nhân lên của IFN- α cũng được ghi nhận ở hiệu giá virus chuẩn độ được sau gây nhiễm, với sự khác nhau có ý nghĩa giữa các lô thí nghiệm và đối chứng, $10^{3,0}$ – $10^{4,5}$ TCID₅₀/ml, $10^{2,5}$ – $10^{4,0}$ TCID₅₀/ml và nhỏ hơn $10^{1,0}$ TCID₅₀/ml tương ứng với các nồng độ IFN- α sử dụng 1250 UI– 2500 UI và 5000 UI/ml so sánh với $10^{5,5}$ – $10^{6,0}$ TCID₅₀/ml của lô đối chứng. Thí nghiệm cũng chỉ ra có sự khác nhau về hiệu quả ức chế của IFN- α khi xử lý tế bào ở các thời điểm khác nhau: trước nhiễm virus, đồng thời với nhiễm virus và sau khi nhiễm virus.

Tiêm vaccin PRRS vô hoạt kết hợp với IFN- α đã kích thích đáp ứng kháng thể ở heo và kháng thể chống virus PRRS có thể đo được bằng kỹ thuật ELISA ở ngày thứ 21 sau tiêm vaccin, trong khi lô chỉ tiêm vaccin hoặc chỉ tiêm IFN- α và lô đối chứng cho kết quả ELISA âm tính. Nghiên cứu đã chứng minh Interferon alpha (IFN- α) ức chế sự nhân lên của virus PRRS và kích thích đáp ứng miễn dịch khi sử dụng kết hợp với vaccin vô hoạt PRRS.

Từ khóa: Interferon alpha , Virus PRRS, Ảnh hưởng

INFLUENCE OF INTERFERON ALPHA (IFN- α) TO PORCINE REPRODUCTIVE AND RESPIRATORY SYNDROM VIRUS (PRRSV)

Tran Xuan Hanh, Bui Anh Thy, Kim Van Phuc, Nguyen Tang Truong

SUMMARY

The effect of interferon alpha (IFN- α) to inhibit the replication of PRRSV on MARC – 145 cells was studied. The results indicate that replication of PRRS virus was reduced on MARC-145 cells that treated with IFN- α at the concentration of 1250 UI and 2500 UI/ml and completely inhibited at the concentration of 5000 UI/ml. There is difference significantly in virus titration between the cells treated with and without treating with IFN- α was determined, with the virus titers of $10^{3,0}$ – $10^{4,5}$ TCID₅₀/ml, $10^{2,5}$ – $10^{4,0}$ TCID₅₀/ml and less than $10^{1,0}$ TCID₅₀/ml from MARC -145 cells infected with PRRS virus after treating with IFN- α at the concentration of 1250 UI, 2500 UI and 5000 UI respectively, compared to the titer of $10^{5,5}$ – $10^{6,0}$ TCID₅₀/ml of control cell group. In addition, the effect of inhibiting the replication of PRRSV by IFN- α on MARC – 145 was also depended on at time of treating IFN- α : before, at the same time and after inoculating cells with PRRSV. Injection of the killed PRRS vaccine in combination with IFN- α was stimulated antibody response in pigs and antibodies were able to be detected by ELISA at day 21 after vaccination, whereas pigs injected with either only killed PRRS vaccine or only IFN- α and control group were negative ELISA.

This study showed that IFN- α inhibites the replication of PRRSV strains on MARC-145 cells and using IFN- α in combination with killed PRRS vaccine is able to stimulate antibody response in pigs.

Key words: IFN- α , PRRSV, Influence

1. Đặt vấn đề

Hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp (Porcine reproductive and respiratory syndrome – PRRS) là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm ở heo, xảy ra với các đặc điểm rối loạn sinh sản ở heo nái và biểu hiện bệnh lý ở đường hô hấp, đặc biệt nặng ở heo bú sữa.

Năm 2006, xuất hiện dịch PRRS tại 10 tỉnh ở Trung Quốc, với hơn 2 triệu heo bị bệnh và khoảng 4 trăm ngàn heo chết và nguyên nhân được xác định là do virus PRRS thể độc lực cao, typ 2 (Tian et al, 2007). Năm 2007, dịch bệnh PRRS với những diễn biến và bệnh lý giống như xảy ra ở Trung Quốc đã xuất hiện ở Việt Nam tại Tỉnh Hải Dương, sau đó bệnh lây lan rất nhanh, gây thiệt hại rất lớn cho ngành chăn nuôi heo Việt Nam với hàng trăm ngàn heo nuôi bị bệnh, chết và tiêu hủy.

Đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu và sản sinh interferon alpha (IFN- α) khi heo nhiễm virus PRRS là không xảy ra hoặc rất yếu (Michael P, 2004), điều này dẫn đến hạn chế khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch đặc hiệu, bao gồm miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào.

IFN là một nhóm các protein được sản xuất bởi các tế bào của hệ miễn dịch ở hầu hết các động vật nhằm chống lại các tác nhân ngoại lai như virus, vi khuẩn, ký sinh trùng..vv, và chỉ được sản sinh khi có mặt các chất sinh Interferon (interferonogen). Cơ chế hoạt động của IFN được sản sinh trong cơ thể hay khi được đưa vào cơ thể để điều trị đều giống nhau, với chức năng cơ bản là kích thích hệ miễn dịch. Dưới tác động của IFN sẽ tạo ra một số sản phẩm, những sản phẩm này sẽ làm tăng quá trình trình diện kháng nguyên đối với tế bào đích và hoạt động chống lại virus trong tế bào. Kết hợp các hoạt động này sẽ hạn chế sự nhân lên của virus, cũng như làm tăng quá trình đào thải các tế bào nhiễm bởi hệ thống miễn dịch. Tiêm IFN alpha/beta làm tăng cả đáp ứng kháng thể và tế bào T chống lại kháng nguyên hòa tan trong cơ thể động vật (Agnes et al, 2006).

Hiện nay interferon đã được ứng dụng rộng rãi để điều trị bệnh viêm gan siêu vi C, B cho người (Charles E, 2001) và gia súc (dẫn theo Joseph et al, 2005). Người ta nhận ra rằng IFN α/β có ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch chủ động (Agnes et al, 2006) và IFN α hoạt động như là một chất bổ trợ miễn dịch khi tiêm kết hợp với vacxin cúm (Tovey et al, 2006), vacxin lở mồm long móng (Gong Cheng et al, 2007).

Nhằm có thêm thông tin về vai trò của IFN trong phòng chống bệnh truyền nhiễm, bài báo này xin trình bày kết quả nghiên cứu ảnh hưởng ức chế của IFN α đối với virus gây hội chứng rối loạn sinh sản và hô hấp và tác dụng của nó khi tiêm kết hợp với vacxin vô hoạt PRRS.

II. Vật liệu và phương pháp thí nghiệm

2.1. Nguyên vật liệu thí nghiệm

+ Giống virus PRRS

- Chủng virus PRRS đại diện cho hai dòng Châu Âu và Bắc Mỹ do AAHL (Australian Animal Health Laboratory) cung cấp.
- Các chủng virus PRRS phân lập từ các địa phương Tiền Giang; Bình Dương; Long An; Đồng Nai; Sóc Trăng; Đồng Tháp; Củ Chi. NAVET/BG/PVR8; NAVET/TG/PVR18; NAVET/TG/PVR69; NAVET/BD/PVR1; NAVET/LA/PVR6; NAVET/ĐN/PVR1; NAVET/ST/PVR10; NAVET/ĐT/PVR1; NAVET/CC/PVR2

+Dòng tế bào: Dòng tế bào MARC-145 do AAHL cung cấp.

+Môi trường nuôi cấy tế bào EMEM (Minimum Essential Medium with Earle's salts), Invitrogen (Mỹ); Huyết thanh bào thai bê (Fetal bovine serum - FBS), Invitrogen (Mỹ); Lactalbumin hydrolysate (LAH) 25%, Oxoid (Anh); Sodium pyruvate 100 mM, Invitrogen (Mỹ); L –

Glutamine 200 mM của hãng Invitrogen (Mỹ); N – 2 – Hydroxyethylpiperazine – N – 2 – ethanesulphonic acid (HEPES) 1 M, VWR Scientific, Inc. (Mỹ); Sodium hydrogen carbonate (NaHCO₃), Merk (Mỹ).

+ Bộ kit ELISA LSIVET SUIS PRRS A/S của hãng LSI (Pháp) được sử dụng phát hiện kháng thể kháng virus PRRS;

+ Động vật thí nghiệm: Heo thí nghiệm 35 ngày tuổi, khỏe mạnh, không có kháng thể kháng virus PRRS và kháng nguyên virus PRRS được kiểm tra bằng phương pháp ELISA và RT - PCR.

+ Vacxin PRRS vô hoạt do Công ty CAHIC, Trung Quốc.

+ Navet - Interferon (1 MUI/ml) là sản phẩm của công ty Công nghệ sinh học dược NANOGEN và Công ty NAVETCO.

2.2. Phương pháp thí nghiệm

2.2.1 Xác định nồng độ IFN- α ức chế sự phát triển của virus PRRS trong in vivo.

Chuẩn bị đĩa nhựa 96 giếng với tế bào MARC-145. Pha IFN- α thành các nồng độ khác nhau: 10.000 IU/ml; 7.500 IU/ml; 5.000 IU/ml; 2.500 IU/ml; và 1.250 IU/ml. Cho vào mỗi giếng 150 μ l tương ứng với các nồng độ IFN- α khác nhau. Nuôi tế bào trong tủ ấm 37°C, 5% CO₂. Sau 24 giờ nuôi cấy cho vào mỗi giếng 100 μ l huyền dịch virus PRRS nồng độ 100 TCID₅₀/ml và tiếp tục nuôi cấy ở 37°C, 5% CO₂. Tế bào được kiểm tra hàng ngày, thời gian 7 ngày. Quan sát CPE của tế bào ở các nồng độ IFN và so sánh với đối chứng virus, đối chứng IFN và đối chứng tế bào.

Để kiểm tra hiệu giá virus PRRS khi nuôi cấy trên tế bào MARC-145 có sử lý với các nồng độ IFN, chúng tôi tiến hành nuôi tế bào MARC-145 trong chai T25 và phương pháp được tiến hành giống như miêu tả ở trên với 3 nồng độ IFN đã được dùng 5000UI/ml; 2500 UI/ml; 1250 UI/ml. Sau khi gây nhiễm virus với liều 100 TCID₅₀/ml, các chai tế bào được theo dõi hàng ngày và ở thời điểm 96 giờ, các chai tế bào thí nghiệm và đối chứng được thu hoạch và giữ ở -70°C. Các chai tế bào sau đó được làm đông tan và tiến hành chuẩn độ trên đĩa nhựa 96 lỗ.

2.2.2 Thí nghiệm xác định thời điểm xử lý tế bào MARC-145 với IFN

Thí nghiệm thực hiện trên chai T25, với nồng độ IFN- α dùng là 5.000 UI/ml và liều gây nhiễm virus chứa 100 TCID₅₀/ml. Các nhóm thí nghiệm bao gồm: Nhóm 1: đối chứng tế bào (không nhiễm virus PRRS); Nhóm 2: đối chứng IFN- α , không nhiễm virus; Nhóm 3: tế bào được nhiễm virus PRRS với liều 100 TCID₅₀/ml; Nhóm 4: thêm IFN- α vào thời điểm 24 giờ trước khi nhiễm virus PRRS; Nhóm 5: thêm IFN- α vào cùng thời điểm nhiễm virus PRRS; Nhóm 6: thêm IFN- α vào thời điểm 24 giờ sau khi nhiễm virus PRRS.

2.2.3 Khảo sát tác dụng của IFN- α tiêm kết hợp với vacxin PRRS vô hoạt trên heo.

Heo 35 ngày tuổi khỏe mạnh, âm tính với kháng thể và kháng nguyên PRRS được chia làm 4 lô, mỗi lô 3 heo. Lô 1 tiêm vacxin PRRS vô hoạt, liều 2ml/con; Lô 2 tiêm vacxin kết hợp với IFN- α , liều 5000 IU/kg; Lô 3 tiêm IFN- α , liều 5000 IU/kg; Lô 4: lô đối chứng, không tiêm IFN- α và vacxin. Ở các thời điểm 0, 7, 14, 21, 28 ngày sau tiêm vacxin, IFN- α , heo được lấy máu kiểm tra đáp ứng kháng thể bằng phương pháp ELISA.

III. Kết quả và thảo luận

3.1. Kết quả thí nghiệm

3.1.1. Nồng độ IFN- α ức chế sự nhân lên của virus PRRS

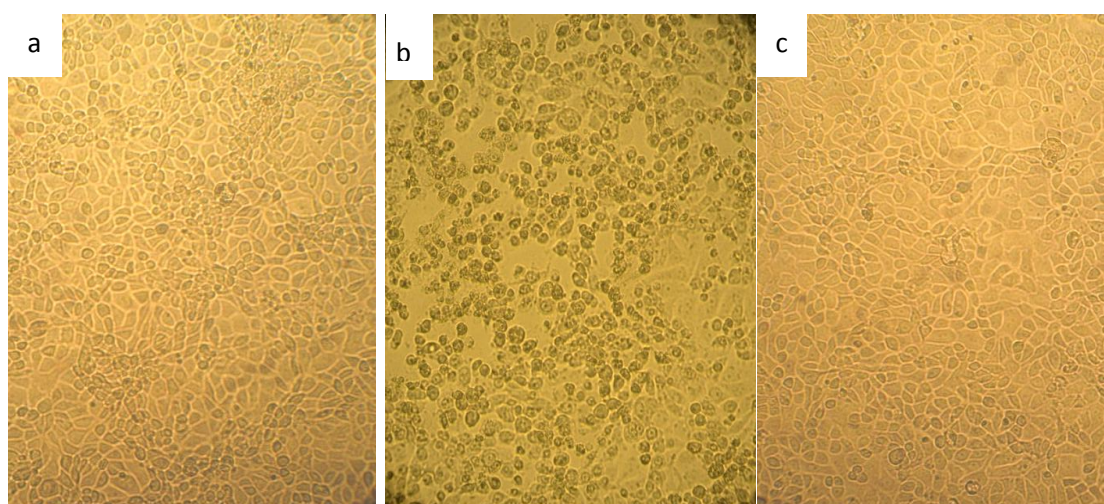
Sử dụng các nồng độ IFN- α khác nhau để xử lý tế bào MARC -145 trước khi gây nhiễm với các chủng virus PRRS. Theo dõi biểu hiện bệnh tích tế bào, kết quả trình bày ở bảng 1 .

Bảng 1: Khả năng ức chế virus PRRS của IFN- α ở các nồng độ khác nhau trong in vivo

STT	Chủng virus thí nghiệm	Tỷ lệ biểu hiện CPE (%)					
		Nồng độ IFN- α			Đối chứng virus	Đối chứng tế bào	Đối chứng tế bào xử lý IFN
		1250 IU/ml	2500 IU/ml	5000 IU/ml	Liều 100 TCID ₅₀ /ml		
1	NAVET/BG/PVR8	15 - 20%	15 - 20%	0%	70 - 80%	CPE -	CPE -
2	NAVET/TG/PVR18	15 - 20%	15 - 20%	0%	70 - 80%	CPE-	CPE-
3	Chủng virus đại diện dòng Bắc Mỹ	15 - 20%	15 - 20%	0%	70 - 80%	CPE -	CPE -
4	Chủng virus đại diện dòng Châu Âu	15 - 20%	15 - 20%	0%	70 - 80%	CPE-	CPE-

CPE-: không xuất hiện bệnh tích tế bào

Kết quả cho thấy tế bào MARC-145 xử lý IFN- α ở nồng độ 5000 UI/ml và cao hơn (7500 UI và 10000 UI/ml) đã được bảo vệ khi gây nhiễm virus PRRS với 100 TCID₅₀/ml. Ngược lại, bệnh tích tế bào đã xuất hiện (CPE) ở các chai tế bào được xử lý IFN ở các nồng độ thấp hơn 1250 và 2500UI/ml. Tuy nhiên quan sát mức độ gây bệnh tích tế bào giữa tế bào xử lý IFN ở nồng độ 1250 và 2500 UI/ml với tế bào không được xử lý IFN cho thấy có sự khác nhau rõ rệt, mức độ có bệnh tích tế bào ở tế bào có xử lý IFN khoảng 15 -20% so với 70 – 80% ở tế bào không xử lý (đối chứng virus, bảng 1), trong khi đó lô đối chứng tế bào và đối chứng IFN tế bào vẫn phát triển bình thường (Hình 1)



Hình 1: a-Tế bào không xử lý với IFN- α và virus; b-Tế bào không xử lý với IFN- α , nhiễm virus; c-Tế bào nhiễm virus sau khi được xử lý với IFN- α ở nồng độ 5.000 IU/ml.

Để kiểm tra mức độ ức chế virus PRRS của IFN, chúng tôi tiến hành độ huyền dịch tế bào nhiễm virus sau khi đã xử lý IFN- α ở các nồng độ khác nhau. (bảng 2)

Bảng 2: Hiệu giá virut PRRS nuôi cấy trên tế bào MARC-145 được xử lý với IFN- α . ở các nồng độ khác nhau

STT	Mẫu	Hiệu giá virut (TCID ₅₀ /ml)				
		Nồng độ IFN- α			Đối chứng virut	Đối chứng tế bào
		1250 IU/ml	2500 IU/ml	5000 IU/ml	Liều 100TCID ₅₀ /ml	
1	NAVET/BG/PVR8	10 ^{3,0}	10 ^{2,5}	<10 ^{1,0}	10 ^{5,5}	BT
2	NAVET/TG/PVR18	10 ^{4,0}	10 ^{3,5}	<10 ^{1,0}	10 ^{5,7}	BT
3	Chủng virut đại diện dòng Bắc Mỹ	10 ^{4,5}	10 ^{4,0}	<10 ^{1,0}	10 ^{6,0}	BT
4	Chủng virut đại diện dòng Châu Âu	10 ^{3,5}	10 ^{2,5}	<10 ^{1,0}	10 ^{5,5}	BT

BT: không xuất hiện bệnh tích tế bào

Kết quả chuẩn độ chỉ ra rằng IFN- α đã có khả năng hạn chế sự phát triển của virut PRRS ở nồng độ 1.250 IU/ml với hiệu giá virut biến động từ 10^{3,0} – 10^{4,5} TCID₅₀/ml, nồng độ 2.500 IU/ml từ 10^{2,5} – 10^{4,0} TCID₅₀/ml và nồng độ 5.000 IU/ml là nhỏ hơn 10^{1,0}TCID₅₀/ml, trong khi đó các tế bào đối chứng không xử lý IFN- α , hiệu giá virut đạt từ 10^{5,5} – 10^{6,0} TCID₅₀/ml.

3.1.2. Ảnh hưởng thời điểm tế bào được xử lý IFN đến sự ức chế phát triển của virut PRRS.

Thí nghiệm dùng 5 chủng virut PRRS phân lập NAVET/BG/PVR8, NAVET/TG/PVR18, NAVET/BD/PVR1, NAVET/ĐN/PVR2, NAVET/ĐT/PVR1 và liều IFN sử dụng là 5000 UI/ml. (bảng 3)

Bảng 3: Khả năng ức chế sự phát triển của virut PRRS trên tế bào MARC – 145 khi xử lý IFN- α ở các thời điểm khác nhau

Lô TN	Mẫu	Hiệu giá virut (TCID ₅₀ /ml)				
		Thời điểm xử lý IFN- α			Đối chứng virut	Đối chứng tế bào
		24 giờ trước nhiễm virut	Cùng lúc nhiễm virut	24 giờ sau nhiễm virut	Liều 100TCID ₅₀ /ml	
1	NAVET/BG/PVR8	<10 ^{1,0}	<10 ^{1,0}	10 ^{2,7}	10 ^{5,5}	BT
2	NAVET/TG/PVR18	<10 ^{1,0}	<10 ^{1,0}	10 ^{3,0}	10 ^{5,7}	BT
3	NAVET/BD/PVR1	<10 ^{1,0}	<10 ^{1,0}	10 ^{2,0}	10 ^{5,5}	BT
4	NAVET/ĐN/PVR2	<10 ^{1,0}	<10 ^{1,0}	10 ^{2,0}	10 ^{5,5}	BT
5	NAVET/ĐT/PVR1	<10 ^{1,0}	<10 ^{1,0}	10 ^{2,0}	10 ^{5,5}	BT
6	Chủng virut đại diện dòng Bắc Mỹ	<10 ^{1,0}	10 ^{2,0}	10 ^{3,0}	10 ^{6,0}	BT
7	Chủng virut đại diện dòng Châu Âu	<10 ^{1,0}	<10 ^{1,0}	10 ^{2,5}	10 ^{5,5}	BT

BT: tế bào bình thường, không có hiện tượng CPE, hay bị tạp nhiễm.

Kết quả bảng 3 ghi nhận không có sự khác nhau giữa tế bào xử lý IFN trước và cùng lúc với nhiễm virus PRRS, với hiệu giá virus được xác định nhỏ hơn 10^1 TCID₅₀/ml, trong khi tế bào được xử lý với IFN sau 24 giờ gây nhiễm, hiệu giá virus có cao hơn so với tế bào được xử lý trước hoặc cùng một lúc với nhiễm virus PRRS. Tuy nhiên khi so sánh hiệu giá virus thu được ở lô tế bào xử lý IFN sau gây nhiễm 24 giờ với lô đối chứng tế bào không xử lý IFN cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $P < 0,0001$ ($10^2 - 10^3$ TCID₅₀/ml so với $10^{5,5} - 10^6$ TCID₅₀/ml).

3.1.3. Ảnh hưởng của IFN- α trong đáp ứng miễn dịch khi tiêm kết hợp với vaccin

Để nghiên cứu vai trò của IFN- α trong kích thích đáp ứng kháng thể khi tiêm cùng với vaccin PRRS vô hoạt, thí nghiệm đã được tiến hành trên 12 heo 35 ngày tuổi, chia làm 4 lô, mỗi lô gồm 3 heo, kết quả trình bày ở bảng 4.

Bảng 4: Đáp ứng kháng thể trên heo sau khi tiêm vaccin và IFN- α .

Ký hiệu lô	Lô	Số lượng heo/ lô	Đáp ứng kháng thể trên heo sau khi tiêm vaccin, IFN- α				
			Trước khi tiêm	Sau 7 ngày tiêm	Sau 14 ngày tiêm	Sau 21 ngày tiêm	Sau 28 ngày tiêm
1	Vaccin	3	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính
2	Vaccin + IFN- α	3	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Dương tính	3/3 Dương tính
3	IFN- α	3	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính
4	Đối chứng	3	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính	3/3 Âm tính

Kiểm tra đáp ứng kháng thể sau khi tiêm vaccin cho thấy heo ở các lô thí nghiệm đều cho kết quả ELISA âm tính khi kiểm tra ở ngày thứ 7 và 14. Tuy nhiên nhóm heo tiêm vaccin kết hợp với IFN đã cho kết quả ELISA chuyển dương ở ngày 21 và 28, trong khi đó heo ở lô chỉ tiêm vaccin PRRS (lô 1) và IFN (lô 3) đều cho kết quả ELISA âm tính.

3.2. Thảo luận kết quả

Như chúng ta đã biết phản ứng đầu tiên của đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu khi cơ thể nhiễm virus là sản sinh IFN- α . Tuy nhiên điều này lại không xảy ra khi heo nhiễm virus PRRS. Qua thí nghiệm trên *in vitro* đã phát hiện tế bào sẽ không sản xuất IFN- α khi nhiễm virus PRRS, thậm chí virus PRRS ngăn chặn sản sinh IFN- α khi tế bào được nhiễm với virus TGE, một tác nhân kích thích sản sinh IFN- α rất mạnh.

Sự ức chế sản sinh IFN- α tạo điều kiện cho virus PRRS nhân lên mạnh trong cơ thể, cũng như làm giảm hiệu quả hoạt động chống nhiễm khuẩn của phản ứng miễn dịch không đặc hiệu và hậu quả đã làm tăng cơ hội nhiễm trùng thứ phát trong hội chứng PRRS.

Khả năng ức chế virus phát triển và tăng cường phản ứng miễn dịch của IFN- α đã được nhiều tác giả thông báo. Việc sản sinh IFN- α khi cơ thể nhiễm virus là yếu tố quyết định có liên quan thuận đến khả năng chống lại quá trình nhiễm trùng ở động vật. Albina et al, 1998 chứng

minh rằng IFN- α ức chế sự phát triển của virus PRRS dòng châu Âu trên *in vitro*, và rằng nồng độ thấp của IFN- α có thể phát hiện trong huyết thanh của heo bệnh, nhưng không rõ vì lý do gì không phát hiện được trong dịch tiết của phổi.

Nghiên cứu của chúng tôi chứng minh được vai trò của IFN- α ức chế sự phát triển của các chủng virus PRRS thuộc các dòng khác nhau Châu Âu và Bắc Mỹ. Kết quả chỉ ra khi tế bào MARC-145 được xử lý IFN- α ở nồng độ 1250 UI/ml đã hạn chế được virus PRRS nhân lên, biểu hiện ở mức độ gây bệnh tích tế bào và hiệu giá virus đạt được. Ở nồng độ 5000 UI/ml, IFN- α đã ức chế hoàn toàn khả năng gây bệnh tích tế bào và khi chuẩn độ virus cho thấy đạt dưới 10^1 TCID₅₀/ml. Kết quả này cũng chứng tỏ IFN- α sử dụng trong thí nghiệm không có tính đặc hiệu loài. Về mặt này nhiều tác giả đã thông báo IFN- α có nguồn gốc từ người (Hu IFN- α) có thể ảnh hưởng lên các tế bào có nguồn gốc động vật và ngược lại (Joseph M. et al, 2005).

Mặc dù IFN- α/β được cho là có vai trò chính trong đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu với chức năng ức chế sự nhân lên của virus, nhưng IFN- α/β cũng là một cytokine có tác động hiệu quả đến đáp ứng miễn dịch đặc hiệu và hoạt động giống như một chất bổ trợ miễn dịch. Ảnh hưởng thuận giữa đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu và đáp ứng miễn dịch đặc hiệu mà hiệu quả của nó làm tăng khả năng phòng chống bệnh truyền nhiễm ở động vật chính là hệ quả của việc có sản sinh IFN- α hay không khi có sự kích thích của tác nhân sinh IFN. Đáp ứng miễn dịch không đặc hiệu yếu trong hội chứng PRRS, trong đó có việc ức chế sản sinh IFN- α dẫn đến hệ quả phản ứng đáp ứng miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào yếu. Người ta thấy rằng khi tiêm IFN- α/β đã làm tăng cả đáp ứng kháng thể và đáp ứng tế bào lympho T chống lại kháng nguyên hòa tan trong cơ thể (Le Bon, et al, 2001).

Meier et al đã chứng minh việc tiêm phòng vaccin PRRS kết hợp với IL-12 hoặc IFN- α làm tăng đáp ứng đối với IFN- γ và như vậy khả năng sản xuất IFN type 1 trong phản ứng miễn dịch không đặc hiệu là yếu tố chính, mà điều này không xảy ra hoặc yếu trong phản ứng chống lại virus PRRS.

Thí nghiệm của chúng tôi cho thấy vai trò của IFN- α trong đáp ứng kháng thể chống virus PRRS khi tiêm vaccin kết hợp với IFN. Trong khi lô heo chỉ tiêm vaccin PRRS vô hoạt không phát hiện được kháng thể PRRS ở tất cả các thời gian theo dõi, thì heo ở lô tiêm vaccin kết hợp với IFN- α đã phát hiện được kháng thể bằng phương pháp ELISA ở ngày thứ 21 sau khi tiêm vaccin. Vì heo ở lô đối chứng không tiêm vaccin hay chỉ tiêm IFN- α cho kết quả ELISA âm tính, chứng tỏ không có sự xâm nhiễm và lưu hành của virus PRRS trong các lô thí nghiệm và điều này càng củng cố kháng thể kháng virus PRRS phát hiện bằng ELISA ở các heo lô 2 (bảng 4) là do tiêm phòng vaccin PRRS và IFN- α đã có vai trò kích thích đáp ứng kháng thể. Điều này đã không xảy ra ở lô heo chỉ tiêm vaccin PRRS (lô 1-bảng 4). Kết quả thí nghiệm của chúng tôi phù hợp với nhận xét Tovey et al (2006) khi cho rằng IFN- α hoạt động như là một chất bổ trợ miễn dịch mạnh khi tiêm kết hợp với vaccin cúm.

Hiệu quả tiêm phòng vaccin PRRS vô hoạt kết hợp với IFN- α cũng được chứng minh khi tiến hành thử thách cường độc (số liệu không dẫn) và kết quả cho thấy có sự khác nhau rất rõ về mức độ trầm trọng của bệnh giữa các lô tiêm vaccin và lô heo tiêm vaccin kết hợp với IFN- α so với lô đối chứng (heo không tiêm vaccin), đặc biệt heo ở các lô thí nghiệm đều có hiện tượng giảm trọng lượng (trung bình 0,5 kg/con ở lô tiêm vaccin và 2 kg/con ở lô đối chứng), trong khi lô heo được tiêm vaccin kết hợp với IFN- α vẫn phát triển bình thường, với mức tăng trọng trung bình 1,5kg/con.

Thí nghiệm cũng chứng minh khi tiêm vaccin PRRS cho heo, đáp ứng kháng thể sau khi công xuất hiện rất nhanh và mạnh và có thể phát hiện được bằng kỹ thuật ELISA ở ngày thứ 7 với hiệu giá kháng thể đạt được ở mức khá cao, mặc dù trước khi công ở những heo này không

phát hiện được kháng thể (số liệu không dẫn). Hiện tượng này chứng tỏ việc tiêm vaccin PRRS vô hoạt đã có tác dụng làm tăng cường khả năng đáp ứng miễn dịch thứ phát thông qua cơ chế “trí nhớ miễn dịch” khi heo có cơ hội phơi nhiễm với virus PRRS sau khi đã được tiêm vaccin PRRS vô hoạt.

Từ kết quả thu được có thể kết luận rằng IFN- α ức chế sự nhân lên của virus PRRS trên tế bào MARC-145 và khi tiêm IFN- α kết hợp với vaccin PRRS vô hoạt có khả năng tăng cường đáp ứng miễn dịch, làm gia tăng hiệu quả phòng trị bệnh rối loạn hô hấp và sinh sản trên heo.

Tài liệu tham khảo

- Agnes Le Bon, Clare Thompson, Elisabeth Kamphuis, Vanessa Durand, Cornelia Rossmann, Ulrich Kalinke and David F.Tough. (2006). Cutting edge: Enhancement of antibody response through direct stimulation of B and T cells by type I IFN. *The Journal of Immunology*. 176: 2074-2078.
- Charles E. Samuel. (2001). Antiviral Actions of Interferon. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol.14, No.4, P 778-809.
- Gong Cheng, Xin Zhao, Weiyao Yan, Weifeng Yang, Xiaopin Zuo, Kai Huang, Yang Liu, Jie Chen, Jialong Wang, WEi Cong, Mingqiu Liu, Huanhe Gao, Jiulian Chen, Yonggan Lu and Zhaoxin zheng.(2007). Alpha interferon is a powerful adjuvant for a recombinant protein vaccine against foot-and – mouth disease virus in swine, and an effective stimulus of in vivo immune response. *Vaccine*, Vol. 25, Issue 28, P 5199 – 5208.
- Joseph M. Cummins, Steven G. Krakowka and Chad G. Thompson. (2005). Systemic effects of interferons after oral administration in animals and humans. *AJVR*, Vol.66, No.1, January 2005.
- Tovey MG, Bloch F, launayO, Guillet JG, Lebon P, Lallemand C, Meritet JF, Maury C. Adjuvant activity of interferon alpha in influenza vaccination. *Host defence in Eur.Cytokine Netw.*, vol.17, special issue “Cytokine 2006”, August 2006, 124-132.
- Tian, K., Yu, X., Zhao, T., Feng, Y., Cao, Z., Wang, C., Hu, Y., Chen, X., Hu, D., Tian, X., Liu, D., Zhang, S., Deng, X., Ding, Y., Yang, L., Zhang, Y., Xiao, H., Qiao, M., Wang, B., Hou, L., Wang, X., Yang, X., Kang, L., Sun, M., Jin, P., Wang, S., Kitamura, Y., Yan, J., và Gao, G.F. (2007). Emergence of fatal PRRSV variants: Unparalleled outbreaks of atypical PRRS in China and molecular dissection of the unique hallmark, PLoS ONE, 2(6), pp. 1-10.
- Le Bon,A., G. Schiavoni, G.D’Agostino, I.Gresser, F.Belardeli (2001). Type I interferon potently enhance humoral immunity and can promote isotype swiching by stimulating dendritic cell in vivo. *Immunity* 14:461-470.