

BỆNH LÝ ĐẠI THỂ VÀ VI THỂ CỦA GÀ ĐƯỢC CÔNG CƯỜNG ĐỘC VỚI VIRUS CÚM GIA CẦM A/H5N1 SAU KHI SỬ DỤNG VACCIN PHÒNG BỆNH

Nguyễn Văn Lâm², Tô Long Thành^{1*}, Nguyễn Thị Thúy Mận¹,
Nguyễn Đăng Thọ¹, Vũ Đăng Đồng¹

¹*Trung tâm Chẩn đoán Thú y Trung ương*

²*Khoa Kỹ thuật Nông nghiệp, Trường cao đẳng Kinh tế - Kỹ thuật Vĩnh Phúc*

Email*: tolongthanh@gmail.com

Ngày gửi bài: 25.07.2017

Ngày chấp nhận: 15.01.2018

TÓM TẮT

Để đánh giá biến đổi bệnh lý của gà được tiêm vaccin phòng bệnh cúm gia cầm (CGC), sau đó được công cường độc bằng virus CGC, thí nghiệm đã được tiến hành, trong đó sử dụng virus CGC cường độc A/H5N1 clade 2.3.2.1C (A/Ck/Vietnam(KienGiang)/NCVD15A7/2015(H5N1)). Sau khi công cường độc (CCĐ), gà chết hoặc gà còn sống sót cho đến lúc kết thúc thí nghiệm được kiểm tra biến đổi bệnh lý đại thể và vi thể của các khí quan. Mẫu bệnh phẩm được kiểm tra là các khí quan, biến đổi bệnh tích đại thể và vi thể do virus CGC gây ra được đánh giá bằng phương pháp mổ khám toàn diện và soi kính trên tiêu bản vi thể đã nhuộm HE. Gà được chia thành 4 lô: Ba lô thí nghiệm đã được tiêm vaccin phòng bệnh CGC và một lô gà đối chứng không được tiêm vaccin. Gà ở cả 4 lô được nhỏ mũi virus CGC cường độc với lượng 10^6 TCID₅₀/100 ul/con và được theo dõi trong thời gian 10 ngày sau khi CCĐ. Kết quả cho thấy tất cả gà lô đối chứng đều chết trước khi thí nghiệm kết thúc, trong khi đó gà thuộc 3 lô thí nghiệm còn 21/30 con sống sót. Bệnh tích đại thể của nhóm gà được tiêm vaccin Navet-vifluvac gồm phổi bị phù, sung huyết và xuất huyết; nhóm gà được tiêm vaccin Re-5 ngoài bệnh tích phổi bị phù, sung huyết và xuất huyết còn có biểu hiện bệnh tích xuất huyết ở cơ đùi, cơ vùng cổ, ruột và gan; nhóm gà được tiêm vaccin Re-6 bị phổi phù và xuất huyết thành đám; nhóm gà đối chứng có bệnh tích điển hình của gà bị bệnh CGC. Bệnh tích vi thể ở gà lô đối chứng ở mức độ nặng và điển hình cho bệnh CGC. Như vậy, gà không được tiêm vắc xin, sau khi được CCĐ với virus CGC A/H5N1 cường độc đã có biểu hiện bệnh tích nặng và điển hình hơn so với gà được tiêm phòng vaccin trước khi CCĐ với cùng một virus.

Từ khóa: Gà đã được tiêm vaccin, vaccin Re-5, Re-6 và Navet-vifluvac, công cường độc, virus cúm gia cầm A/H5N1, bệnh tích đại thể và vi thể.

Pathology and Histopathology of Vaccinated Chickens Challenged with An A/H5N1 Avian Influenza Virus

ABSTRACT

To evaluate the pathological changes of chickens vaccinated against avian influenza (AI), then challenged with a virulent AI virus, experiments were conducted using a virulent A/H5N1 virus belonging to clade 2.3.2.1C (A/Ck/Vietnam(KienGiang)/NCVD15A7/2015(H5N1)). After virulent challenge, the dead chickens or chickens surviving until the end of the experiment were examined for macroscopic and microscopic lesions of the visceral organs. The examined specimens were visceral organs and macroscopic and microscopic lesions were examined by thorough necroscopy and microscopical examination of HE stained specimens. The chickens were divided into 4 groups: Three experimental groups were vaccinated against AI and unvaccinated chickens as control. Chickens in all 4 groups were intranasally challenged with a virulent virus of 10^6 TCID₅₀/100 ul/animal and monitored for 10 days after challenge. The results showed that all control chickens died before the experiment ended, while 21/30 chickens of 3 experimental groups survived. Macroscopic lesions in chickens of chicken group vaccinated with Navet-vifluvac vaccine were pulmonary edema, congestion and hemorrhage. For chickens of chicken group vaccinated with Re-5 vaccine, in addition to pulmonary edema with swelling, congestion and hemorrhage, there were also hemorrhage in the thigh muscle, neck, intestines and liver. For chickens of chicken group vaccinated with Re-6 vaccine, pulmonary

Bệnh lý đại thể và vi thể của gà được công cường độc với virus cúm gia cầm A/H5N1 sau khi sử dụng vaccin phòng bệnh

odema and spot haemorrhage were observed. Chickens of control group showed lesions typical for chickens infected with AI viruses. Microscopic lesions in the control chicken were severe and typical of AI. This indicated that unvaccinated chickens, after challenged with a virulent A/H5N1 virus exhibited more severe and typical lesions than vaccinated chickens, then challenged with the virulent virus.

Keywords: Vaccinated chickens; Re-5, Re-6 and Navet-viflucac vaccine; virulent challenge, A/H5N1 avian influenza virus, macroscopic and microscopic lesions.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus cúm gia cầm (CGC) H5N1 xâm nhập vào Việt Nam cuối năm 2003. Chỉ trong vòng hơn 4 tháng từ khi dịch xảy ra, đàn gia cầm (GC) ở 2.574 xã, phường thuộc 381 huyện, thị trấn của 57 tỉnh, thành phố đã mắc bệnh. Tổng số GC chết do bị bệnh và tiêu hủy lên tới 43,9 triệu con, gây thiệt hại kinh tế lớn cho ngành chăn nuôi (Ban Chỉ đạo quốc gia phòng chống Cúm gia cầm, 2005). Trước tình hình đó, tiêm phòng vaccin cho toàn bộ đàn GC đã được áp dụng và được coi là một biện pháp hữu hiệu trong chiến lược phòng chống bệnh CGC. Tuy nhiên, theo thời gian, hiệu quả tiêm phòng dần dần giảm đi do khả năng biến đổi của virus CGC A/H5N1 trong tự nhiên. Tái tổ hợp hemagglutinin và neuraminidase từ nhiều nguồn khác nhau đã tạo nên những phân type hoặc những clade virus mới (Cục Thú y, 2014; 2015; 2016). Sự tiến hoá của virus cúm A/H5N1 đã làm thay đổi tính kháng nguyên của chúng, ảnh hưởng đến hiệu quả của vaccin đang sử dụng. Khả năng biến chủng của virus và sự xuất hiện ngày càng nhiều clade hoặc subtype virus CGC mới đang là thách thức đối với ngành thú y và y tế (Trần Xuân Hạnh và cs., 2013; Nguyễn Đăng Thọ và cs., 2016).

Trước tình hình đó, nhiều nghiên cứu đã được tiến hành nhằm lựa chọn các loại vaccin phù hợp với các biến chủng virus mới. Vaccin có khả năng bảo hộ lâm sàng cho GC, giảm mức độ trầm trọng về triệu chứng lâm sàng, bệnh tích nếu sau đó GC bị nhiễm virus cường độc. Thông qua đánh giá mức độ biểu hiện bệnh tích của GC, có thể gián tiếp xác định được hiệu quả bảo hộ của vaccin thử nghiệm. Trong khuôn khổ của Đề tài độc lập cấp Nhà nước CN-10/15 "*Nghiên cứu sự phân bố các biến chủng (clade) mới của virus cúm A/H5N1 trên đàn gia cầm ở Việt Nam làm cơ sở cho việc phòng chống*

dịch bệnh đạt hiệu quả cao", chúng tôi đã tiến hành công cường độc bằng virus cúm A/H5N1 clade 2.3.2.1 C (*A/Ck/Vietnam(KienGiang)/NCVD15A7/2015(H5N1)*) cho gà thí nghiệm đã được tiêm phòng bằng vaccin CGC để đánh giá mức độ tổn thương đại thể và vi thể xuất hiện trên những gà đó có so sánh với bệnh tích trên gà đối chứng không được dùng vaccin.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

- Gà Lương Phượng lai 6 tuần tuổi, không được tiêm phòng vaccin CGC.

- Gà Lương Phượng lai 6 tuần tuổi đã được tiêm phòng vaccin CGC.

- Chủng virus CGC phân lập năm 2015: H5N1 clade 2.3.2.1c (*A/Ck/Vietnam(KienGiang)/NCVD15A7/2015(H5N1)*).

2.2. Bố trí thí nghiệm

Gà thí nghiệm được chia làm 4 lô:

- Một lô đối chứng: Gà Lương Phượng lai 6 tuần tuổi không được tiêm phòng vắc xin CGC

- Ba lô thí nghiệm: Gà Lương Phượng lai được tiêm vaccin Navet-viflucac; Re-5 và Re-6 tương ứng từng lô vào lúc 3 tuần tuổi. Lấy máu để kiểm tra hiệu giá kháng thể bằng phương pháp HI với các loại kháng nguyên tương đồng với chủng virus vaccin. Gà đã tiêm vaccin được lựa chọn ngẫu nhiên mỗi lô 10 con để gây nhiễm bằng virus cường độc H5N1 clade 2.3.2.1c.

- Bố trí thí nghiệm CCD được tóm tắt trên bảng 1.

- Phương pháp gây bệnh thực nghiệm: Qua đường nhỏ mũi; liều gây nhiễm: 10^6 TCID₅₀ /100 µl/con.

Bảng 1. Bố trí thí nghiệm công cường độc

Nhóm gà được tiêm vaccin	Số lượng (con)	Liều gây nhiễm
Navet-viflucac	10	10^6 TCID ₅₀ /100 µl/con
Re-5	10	
Re-6	10	
Đối chứng không tiêm	5	

Bảng 2. Bệnh tích điển hình của gà mắc cúm gia cầm

Cơ quan	Bệnh tích	
	Vi thể	Đại thể
Mào, tích,	Mạch quản giãn rộng và thâm nhiễm tế bào bạch cầu đơn nhân xung quanh mạch quản, sung huyết, xuất huyết	Thâm tím, phù nề, xuất huyết
Lổ huyết		Xuất huyết
Cơ đùi, cơ lườn, bề mặt niêm mạc, mỡ bụng		Xuất huyết
Chân		Xuất huyết vết dưới da ống chân thành vết đỏ
Khi quản		Xuất huyết, có dịch đờm
Xoang miệng, mũi		Chứa nhiều dịch nhầy
Phổi		Phù, sung huyết, xuất huyết, viêm fibrin
Dạ dày tuyến, dạ dày cơ		Xuất huyết
Ruột		Xuất huyết tá tràng, manh tràng, màng treo ruột
Buồng trứng, ống dẫn trứng		Viêm, xuất huyết
Lách		Biến màu lốm đốm vàng, rắn chắc hơn bình thường
Tim		Bao tim tích nước vàng, xuất huyết màng bao tim, mỡ vành tim, cơ tim
Tụy		Khô gịn, xuất huyết
Túi Fabricius		Sưng, phù, xuất huyết
Não		Sung huyết

- Gà ở các lô trên được nuôi cách ly, theo dõi trong vòng 10 ngày sau khi gây bệnh thực nghiệm. Tiến hành mổ khám toàn bộ gà khi chết hoặc vào ngày thứ 10 khi thí nghiệm kết thúc để đánh giá mức độ tổn thương đại thể. Các cơ quan phủ tạng được thu thập và bảo quản trong formalin 10% để tiếp tục đánh giá biến đổi mô học.

- Sau khi kết thúc thí nghiệm, bệnh tích biểu hiện trên gà sẽ là cơ sở để đánh giá gián tiếp hiệu quả sử dụng vaccin:

+ Gà không có miễn dịch với virus CGC sẽ xuất hiện các bệnh tích điển hình của CGC (Bảng 2) (Lê Văn Năm, 2004).

+ Gà có miễn dịch với virus CGC sẽ giảm biểu hiện các bệnh tích (phụ thuộc vào chỉ số hiệu giá kháng thể đạt được sau tiêm vaccin và sự tương đồng kháng nguyên giữa chủng virus gây bệnh và chủng virus chế tạo vaccin).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Mổ khám toàn diện

Đặt gà nằm ngửa trên bàn mổ, dùng dao cắt da giữa vùng bụng và bên ở hai bên chân, lật chân sang hai bên đồng thời kéo da bộc lộ hai cơ đùi; cắt da vùng giữa lỗ huyết và xương lườn hái, kéo ngược phần da trên lên tận vùng điều bộc lộ cơ ngực; dùng kéo hoặc dao rạch da từ phần điều lên tận phía dưới mỏ bộc lộ điều, thực quản, khí quản, tuyến thymus để kiểm tra, quan sát các túi khí và phía ngoài các cơ quan nội tạng:

- Cắt ngang mỏ trên, kiểm tra xoang.

- Dọc thực quản thẳng tới điều kiểm tra dịch, chất chứa và mùi bên trong.

- Dọc khí quản kiểm tra dịch, xuất huyết, hoại tử bên trong.

- Kiểm tra xoang bao tim, dịch bên trong, mổ tim kiểm tra cơ, các xoang và van.

- Tách phổi khỏi các xương sườn kiểm tra về màu sắc, độ xốp.

- Tách gan, lách ra khỏi xoang bụng kiểm tra màu sắc, kích thước, hình dạng và độ đàn hồi, mặt cắt.

- Cắt đứt phía trên dạ dày tuyến, lật toàn bộ dạ dày, ruột ra phía sau; kiểm tra bên trong và bên ngoài từ dạ dày tuyến xuống đến hậu môn.

- Tách thận, túi Fabricius ra khỏi xoang bụng để kiểm tra.

- Cắt đầu gia cầm ở đốt sống atlas, lột da, dùng kéo cắt xương cắt sang hai bên từ lỗ chấm đến cạnh trước xương đỉnh, lật hộp sọ bộc lộ não, kiểm tra não.

2.3.2. Chuẩn bị tiêu bản vi thể bằng phương pháp paraffin

Mẫu được cắt thành những miếng nhỏ ngâm trong dung dịch Formalin 10% trong 24 giờ; cắt thành các lát với độ dày 5 mm; thực hiện các bước rút nước qua cồn, xylene, ngâm tẩm paraffin, đúc paraffin và cắt tiêu bản với độ dày 3 - 5 μ m. Sau đó thực hiện các bước

Bệnh lý đại thể và vi thể của gà được công cường độc với virus cúm gia cầm A/H5N1 sau khi sử dụng vaccin phòng bệnh

nhuộm tiêu bản HE bằng Hematoxylin và Eosin. Đọc tiêu bản dưới kính hiển vi quang học từ độ phóng đại 4X tăng dần đến 60X.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Số gà còn sống sau khi kết thúc thí nghiệm của các lô lần lượt là: 8/10 con (Navet-vifluvac), 9/10 con (Re-6), 4/10 con (Re-5). Lấy mẫu nguyên con trong từng lô mổ khám để kiểm tra bệnh tích đại thể và vi thể. Đối với lô đối chứng, chọn mẫu bất kỳ (toàn bộ số gà ở lô đối chứng đã chết trước khi kết thúc thí nghiệm). Đối với các lô vaccin, lấy toàn bộ số gà chết và còn sống sau

khi kết thúc thí nghiệm để mổ khám.

- Kiểm tra bệnh tích đại thể: Mổ khám kiểm tra xoang mũi, miệng, cơ, các cơ quan nội tạng, não.

- Kiểm tra bệnh tích vi thể gồm có các cơ quan: Khí quản, phổi, gan, thận, ruột.

Tất cả gà chết hoặc sống sót sau thời gian thí nghiệm được mổ khám, xem xét bệnh tích đại thể, lấy mẫu phân lập vi khuẩn và phát hiện virus Newcastle, virus CGC bằng kỹ thuật RT-PCT. Xét nghiệm không phát hiện được các vi khuẩn gây bệnh và virus Newcastle mà phát hiện virus CGC ở các mẫu xét nghiệm (kết quả không tính bày). Trước thí nghiệm, gà được lựa chọn là gà khỏe mạnh, không có kháng thể kháng virus CGC và không phát hiện virus CGC từ ổ nhóp, gà được nuôi trong buồng nuôi an toàn sinh học cấp độ 3 nên nguyên nhân gà chết là do bị nhiễm virus CGC bằng phương pháp CCD.

3.1. Bệnh tích đại thể của gà được gây bệnh thực nghiệm với virus H5N1

Bệnh tích đại thể của gà ở các lô thí nghiệm được thể hiện ở bảng 3.

Lô đối chứng

Kết thúc thí nghiệm CCD, toàn bộ số gà thuộc lô đối chứng đều chết. Mổ khám quan sát thấy các bệnh tích điển hình gồm: Tuyến Thymus có các điểm xuất huyết (Ảnh 1), lỗ huyết xuất huyết (Ảnh 2), xoang mũi chứa nhiều dịch trong (Ảnh 3); Phổi phù, xuất huyết tràn lan (Ảnh 4), não sung huyết (Ảnh 5); túi Fabricius sưng, phù, xuất huyết (Ảnh 6); dạ dày tuyến xuất huyết (Ảnh 7), ruột xuất huyết (Ảnh 8). Quan sát vùng đầu mặt có hiện tượng phù, mào tích tím tái, khi mổ khám thấy có hiện tượng xuất huyết dưới da vùng đầu, cổ (Ảnh 9). Kiểm tra các cơ đùi, cơ lườn cũng có biểu hiện ở một số con (Ảnh 10). Ngoài ra lớp mỡ vành tim có biểu hiện xuất huyết lấm chấm (Ảnh 11).

Bệnh tích ở não chủ yếu là sung huyết ở lớp màng não (Ảnh 5). Biến đổi này ở não gà có thể là nguyên nhân của các triệu chứng thần kinh như; rối loạn vận động, sã cánh, hay ủ rũ ở gà bệnh.

Bảng 3. Bệnh tích trên gà ở các lô thí nghiệm sau công cường độc

Chỉ tiêu	Navet-vifluvac		Re-5		Re-6		Đối chứng	
	Số con biểu hiện	Tỷ lệ (%)	Số con biểu hiện	Tỷ lệ (%)	Số con biểu hiện	Tỷ lệ (%)	Số con biểu hiện	Tỷ lệ (%)
Mào, tích thâm tím, phù nề	0	0	0	0	0	0	5	100
Lỗ huyết xuất huyết	0	0	0	0	0	0	5	100
Xuất huyết cơ đùi, cơ lườn	0	0	8	80	0	0	5	100
Xoang miệng, mũi chưa nhiều dịch nhầy	0	0	0	0	0	0	3	60
Phổi phù, sung huyết, xuất huyết	8	80	9	90	10	100	5	100
Dạ dày tuyến xuất huyết	0	0	0	0	0	0	3	60
Ruột xuất huyết	0	0	9	90	0	0	4	80
Xuất huyết mỡ vành tim	0	0	0	0	0	0	4	80
Tuyến thymus sung huyết, xuất huyết	0	0	0	0	0	0	2	40
Túi Fabricius sưng, phù, xuất huyết	0	0	0	0	0	0	3	60
Não sung huyết	0	0	0	0	0	0	5	100
Gan xuất huyết	0	0	3	30	0	0	3	60

Những bệnh tích trên (Hình 1) giống với gà mắc bệnh CGC được miêu tả ngoài tự nhiên (Lê Văn Năm 2004) (Bảng 2). Điều này cho thấy, gà không được tiêm vaccin phùng CGC khi tiến hành CCĐ bằng virus CGC cũng có những biểu hiện bệnh tích giống với bệnh tích đặc trưng của gà mắc bệnh CGC độc lực cao ngoài tự nhiên.

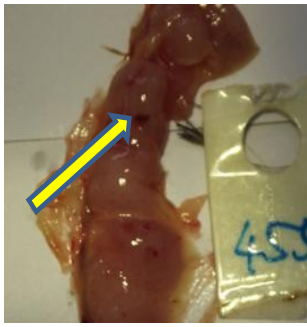
Bệnh tích của gà lô đối chứng biểu hiện chủ yếu ở đường hô hấp và ở ruột là do sự xuất hiện và xâm nhiễm gây bệnh của virus CGC ở các cơ quan này đầu tiên khi gia cầm bị nhiễm virus. Trypsin là enzyme thủy phân có tác dụng loại bỏ tế bào chết ở biểu mô của đường hô hấp và tiêu hóa, cho phép phân tách hemagglutinin bề mặt, giúp virus xâm nhập, nhân lên và giải phóng các virion trong đường hô hấp và đường tiêu hóa. Sau đó các virion này xâm nhập vào lớp hạ niêm mạc rồi đi vào mao mạch. Virus nhân lên trong tế bào nội mạc và phát tán ra toàn bộ cơ thể thông qua hệ tuần hoàn và bạch huyết dẫn tới gây nhiễm và nhân lên ở nhiều loại tế bào trong các cơ quan nội tạng, não và da (Swayne & Halvorson, 2008). So sánh với gà được gây bệnh thực nghiệm với virus CGC A/H5N6 (Nguyễn Thị Thúy Mận và cs., 2017) có thể nhận thấy có sự giống nhau: Bệnh tích đại thể điển hình của CGC được biểu hiện ở hầu hết các cơ quan

trong cơ thể, đặc biệt là ở đường hô hấp và đường tiêu hóa. Bệnh tích đại thể trên gà cũng phản ánh sự tấn công của virus CGC A/H5N1 đã gây ra các biểu hiện có tính toàn thân. Do đó, khi mắc bệnh CGC A/H5N1 biểu hiện bệnh lư ở gà thường nặng nề dẫn đến tỷ lệ chết cao. Đồng thời kết quả thu được cũng phản ánh những biến đổi bệnh lý đại thể của gà mắc CGC A/H5N1 tương đối giống với những biến đổi bệnh lư của gà mắc CGC A/H5N6.

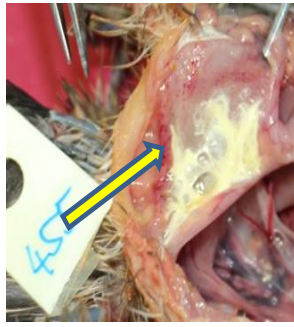
b. Lô tiêm vaccin Navet-vifluvac

Đối với gà lô tiêm vaccin Navet-vifluvac, sau khi được CCĐ đã xuất hiện bệnh tích đại thể gồm: Phổi bị phù, sung huyết và xuất huyết (Ảnh 12); các cơ quan nội tạng như khí quản, não, mỡ vành tim, dạ dày tuyến, ruột, tuyến tụy không có bệnh tích. Điều này cho thấy virus CGC gây ra các biểu hiện bệnh tích chủ yếu ở phổi. So sánh với lô đối chứng, gà ở lô thí nghiệm sử dụng vaccin Navet-vifluvac có mức độ biểu hiện bệnh tích ở các cơ quan phủ tạng giảm do nhóm đối chứng không có miễn dịch đối với virus CGC. Cụ thể, bệnh tích đại thể trên gà của lô thí nghiệm này chỉ biểu hiện ở phổi (phù, sung huyết và xuất huyết), trong khi đó bệnh tích đại thể ở nhóm gà đối chứng là toàn bộ các cơ quan kiểm tra như xoang mũi, cơ, não, xoang miệng và nội tạng (Bảng 3).

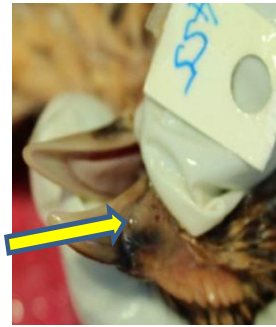
Bệnh lý đại thể và vi thể của gà được công cường độc với virus cúm gia cầm A/H5N1 sau khi sử dụng vaccin phòng bệnh



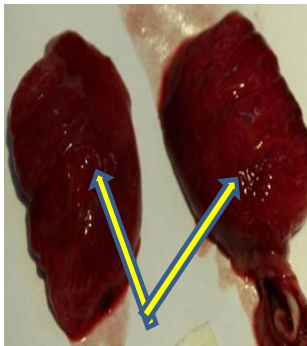
Ảnh 1: Tuyến Thymus xuất huyết



Ảnh 2: Lỗ huyết xuất huyết



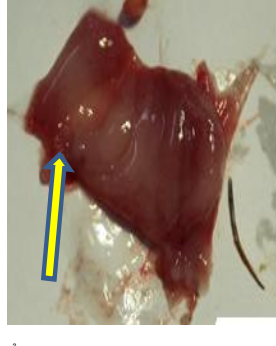
Ảnh 3: Xoang mũi chứa nhiều dịch



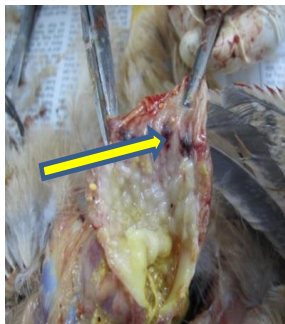
Ảnh 4: Phổi phù, xuất huyết



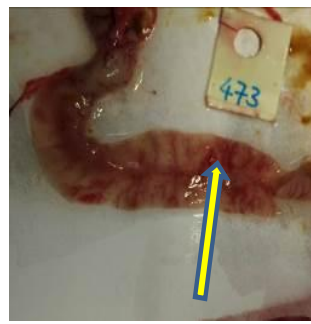
Ảnh 5: Não sung huyết



Ảnh 6: Túi Fabricius sưng, phù, xuất huyết



Ảnh 7: Dạ dày tuyến xuất huyết



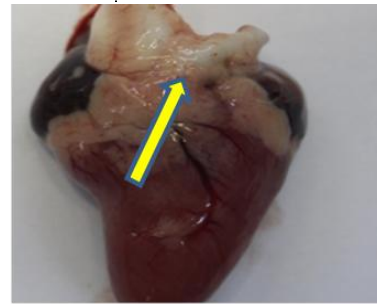
Ảnh 8: Ruột xuất huyết



Ảnh 9: Cơ vùng đầu cổ xuất huyết

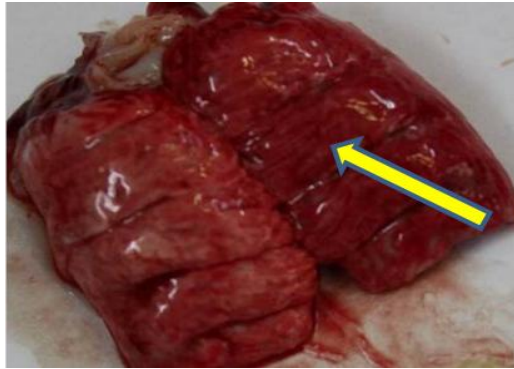


Ảnh 10: Vùng cơ đùi xuất huyết



Ảnh 11: Mỡ vành tim xuất huyết

Hình 1. Bệnh tích đại thể lô gà đối chứng không tiêm vaccin sau công cường độc



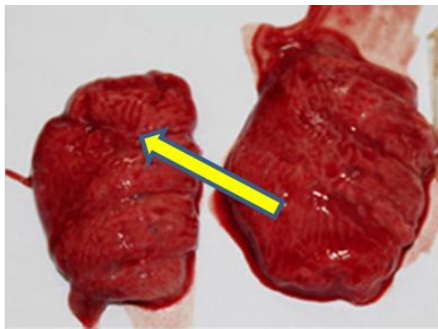
Ảnh 12: Phổi phù, xuất huyết, sung huyết

Hình 2. Bệnh tích đại thể của gà được tiêm vaccin Navet-vifluvac

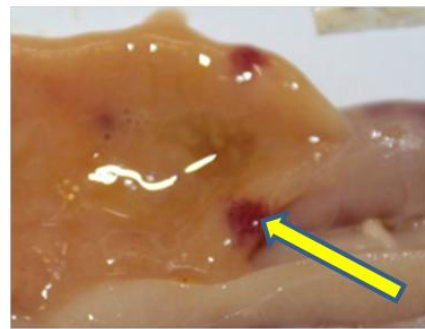
c. Lô tiêm vaccin Re-5

Gà lô thí nghiệm sử dụng vaccin Re-5 sau đó được CCĐ có một số bệnh tích điển hình (Hình 3) của bệnh CGC như: Phổi phù, sung huyết (Ảnh 13); xuất huyết ở ruột (Ảnh 14), gan cơ đùi và cơ vùng đầu cổ (Ảnh 15). So sánh với lô thí nghiệm sử dụng vaccin Navet-vifluvac, số cơ quan có biểu hiện bệnh tích đại thể ở lô này nhiều hơn nhưng ở phổi không có biểu hiện xuất

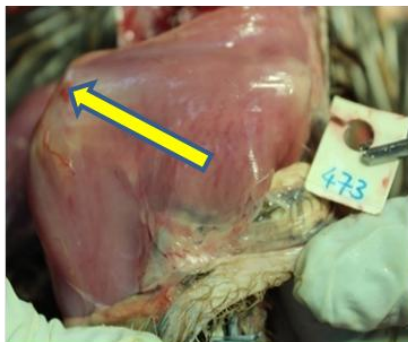
huyết. Điều này cũng phù hợp với kết quả thí nghiệm thu được thể hiện bằng số gà chết sau khi kết thúc thí nghiệm (lô thí nghiệm sử dụng vaccin Re-5 chết 6/10 con nhiều hơn so với lô thí nghiệm sử dụng vaccin Navet-vifluvac 2/10 con). Mặt khác, nhìn vào các biểu hiện bệnh tích đặc trưng của CGC (Bảng 2) có thể nhận thấy: Gà ở lô vaccin Re-5 ngoài bệnh tích ở phổi còn có bệnh tích ở gan và cơ vùng đầu cổ.



Ảnh 13: Phổi phù, sung huyết



Ảnh 14: Ruột xuất huyết



Ảnh 15: Xuất huyết cơ đùi

Hình 3. Bệnh tích đại thể của gà được tiêm vaccin Re-5

Bệnh lý đại thể và vi thể của gà được công cường độc với virus cúm gia cầm A/H5N1 sau khi sử dụng vaccin phòng bệnh



Ảnh 16: Phổi xuất huyết thành đám

Hình 4. Bệnh tích đại thể của gà được tiêm vaccin Re-6

d. Lô tiêm vaccin Re-6

Gà lô thí nghiệm tiêm vaccin Re-6 sau đó được CCD xuất hiện bệnh tích đại thể giống với lô gà được tiêm vaccin Navet-vifluvac gồm: Phổi phù nhẹ, xuất huyết thành đám (Ảnh 16); các cơ quan khác không thấy biểu hiện bệnh tích đại thể (Hình 4). Kết hợp với bệnh tích của gà lô thí nghiệm sử dụng vaccin Navet-vifluvac và Re-5 cho thấy phổi vẫn là cơ quan bị ảnh hưởng nhiều nhất khi virus CGC tấn công.

Trong 3 lô gà thí nghiệm đã được tiêm vaccin, lô tiêm vaccin Re-5 có số lượng cơ quan biểu hiện bệnh tích đại thể nhiều nhất. Các bệnh tích đại thể biểu hiện ở các lô thí nghiệm có sự tương đồng với những biến đổi bệnh lý của gà mắc cúm virus A/H5N1 với biểu hiện: Phù, xuất huyết, sung huyết ở phổi; xuất huyết ở ruột, cơ đùi và cơ vùng cổ.

Như vậy, kết quả thí nghiệm cho thấy: Trên gà lô đối chứng không được tiêm vaccin, bệnh tích đại thể xuất hiện ở hầu hết các cơ quan trong cơ thể (đặc biệt hệ hô hấp và tiêu hóa) và giống với gà nhiễm virus CGC độc lực cao ngoài tự nhiên. Mức độ biểu hiện bệnh tích đại thể có xu hướng giảm ở các lô gà được sử dụng vaccin phòng bệnh trước khi được CCD so với gà lô đối chứng. Cụ thể, gà lô được tiêm vaccin Navet-vifluvac chỉ có bệnh tích đại thể ở phổi; lô được tiêm vaccin Re-5 có biểu hiện bệnh tích ở phổi, gan, dạ dày tuyến, cơ đùi và cơ lưng; lô được tiêm vaccin Re-6 chỉ có bệnh tích ở phổi. Vế thế, để hạn chế các tổn thương do virus CGC độc lực cao gây ra việc tiêm phòng vaccin là một trong các biện pháp được khuyến cáo.

Bảng 4. Bệnh tích vi thể trên gà ở các lô thí nghiệm sau công cường độc

Cơ quan biểu hiện bệnh tích	Lô đối chứng	Lô vaccin Navet-vifluvac	Lô vaccin Re-5	Lô vaccin Re-6
Phổi	Xuất huyết, sung huyết tràn lan Nhiều dịch phù xung quanh mạch quản	Nhiều dịch phù xung quanh mạch quản Sung huyết, xuất huyết	Xuất huyết, sung huyết	Xuất huyết, nhiều dịch phù xung quanh mạch quản
Thận	Sung huyết, xuất huyết	Có dịch phù xung	Xuất huyết	Xuất huyết

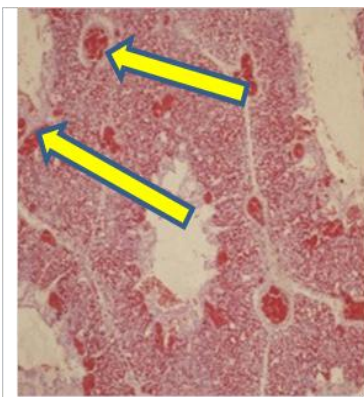
3.2. Bệnh tích vi thể của gà được gây bệnh thực nghiệm với virus H5N1

Gà sau khi mổ khám được lấy mẫu làm tiêu bản để kiểm tra bệnh tích vi thể gồm các cơ quan như phổi, lách, gan, thận, dạ dày tuyến, ruột, túi Fabricius và não. Kết quả cho thấy hầu hết các cơ quan nội tạng đều có các biến đổi bệnh lý. Bệnh tích vi thể của gà ở các lô được thể hiện cụ thể ở bảng 4.

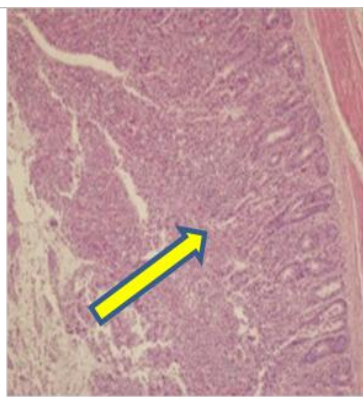
* Lô gà đối chứng

Phổi bị sung huyết, xuất huyết tràn lan biểu hiện với các hồng cầu tập trung thành từng đám lấp đầy mạch quản và tràn lan ở lạng các phế nang. Do khi thành mạch bị tổn thương, dịch thể trong mạch quản thẩm thấu ra ngoài thành mạch gây nên hiện tượng phù xung quanh mạch quản (Ảnh 17). Bệnh tích này cũng phù hợp với bệnh tích đại thể khi mổ khám gà thấy có hiện tượng xuất huyết. Với những tổn thương ở phổi của gà mắc bệnh CGC do virus A/H5N1, phổi suy giảm chức năng hô hấp gây hiện tượng khó thở. Trong khi đó, lớp lông nhung tá tràng bị dung hợp (Ảnh 18), các tế bào lympho xâm nhập gan (Ảnh 19), thận có biểu hiện sung huyết do tuần hoàn mạch quản bị cản trở (Ảnh 20) ảnh hưởng đến khả năng giải độc và tiêu hóa của con vật. Quan sát tiêu bản khí quản thấy lớp tế bào biểu mô khí quản và lông nhung bong tróc điều này giải thích cho bệnh tích

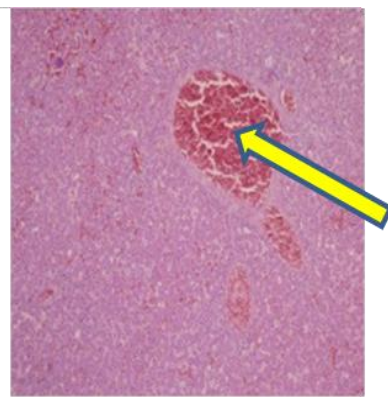
		quanh tĩnh mạch		
Gan	Sung huyết Xuất huyết tràn lan	Có dịch phù xung quanh tĩnh mạch giữa tiểu thùy	Tế bào gan hoại tử, xuất huyết	Không có bệnh tích
Ruột	Nhiều tế bào lympho xâm nhập ở lớp niêm mạc Lông nhung dung hợp	Tế bào biểu mô lỏng nhưng bị bong tróc	Xuất huyết	Lông nhung dung hợp
Dạ dày	Không có bệnh tích	Không có bệnh tích	Không có bệnh tích	Dạ dày tuyến có đám tế bào lympho tăng sinh
Não	Không có bệnh tích	Có dịch phù xung quanh tĩnh mạch	Sung huyết	Không có bệnh tích
Khí quản	Lông rung và các tế bào biểu mô bong tróc	Tế bào biểu mô bong tróc	Lông rung bị bào mòn	Không có bệnh tích
Tụy	Không có bệnh tích	Không có bệnh tích	Không có bệnh tích	Không có bệnh tích



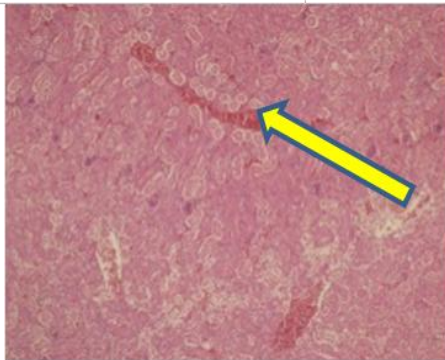
Ảnh 17: Phổi phì, sung huyết, xuất huyết tràn lan HE10x



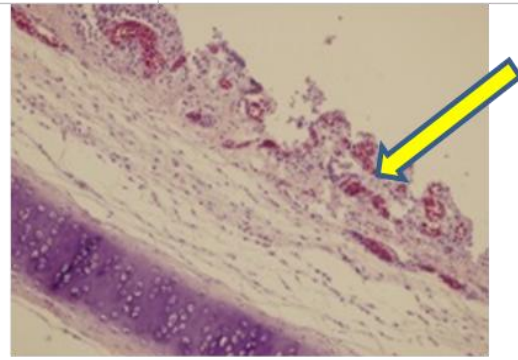
Ảnh 18: Lông nhung của tá tràng bị dung hợp HE10x



Ảnh 19: Gan sung huyết HE10x

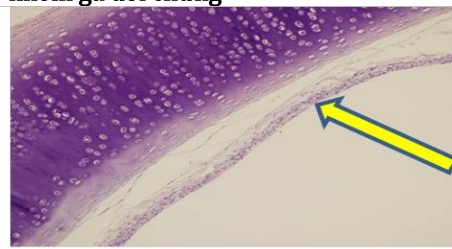
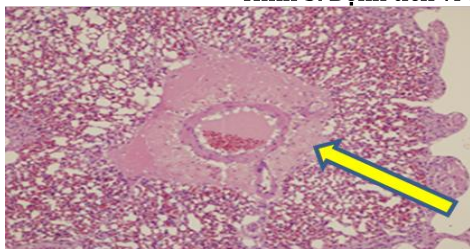


Ảnh 20: Thận sung huyết HE10x



Ảnh 21: Lớp tế bào biểu mô khí quản và lông nhung bong

Hình 5. Bệnh tích vi thể nhóm gà đối chứng



Bệnh lý đại thể và vi thể của gà được công cường độc với virus cúm gia cầm A/H5N1 sau khi sử dụng vaccin phòng bệnh

Ảnh 22: Phổi nhiều dịch phù xung quanh mạch quản HE10x

Ảnh 23: Lớp tế bào biểu mô khí quản bị mất HE10x

Hình 6. Bệnh tích vi thể lô gà được tiêm vaccin Navet-vifluvac

đại thể chảy nhiều dịch nhầy ở xoang mũi và miệng (Ảnh 21). Kết quả chúng tôi thu được hoàn toàn phù hợp với kết quả các tác giả trước đây đã công bố (Pfeiffer *et al*, 2009; Berhane *et al*, 2015) * *Lô tiêm vaccin Navet-vifluvac*

Quan sát tiêu bản vi thể của gà lô tiêm vaccin Navet-vifluvac có thể nhận thấy hiện tượng phù xung quanh mạch quản ở các cơ quan như phổi, gan, thận, não (Hình 6): Phổi sung huyết và xuất huyết (Ảnh 22); lớp tế bào biểu mô bị bong tróc ở khí quản (Ảnh 23).

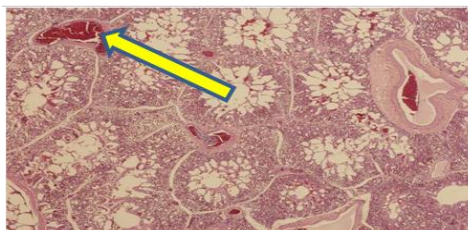
So sánh với bệnh tích vi thể của lô đối chứng có thể nhận thấy số lượng cơ quan có biểu hiện bệnh tích giảm một cách rõ rệt, chủ yếu chỉ biểu hiện nặng ở phổi. Điều này cũng phù hợp với biểu hiện bệnh tích đại thể và kết quả gà sống sót sau khi CCĐ (8/10 con).

* *Lô tiêm vaccin Re-5*

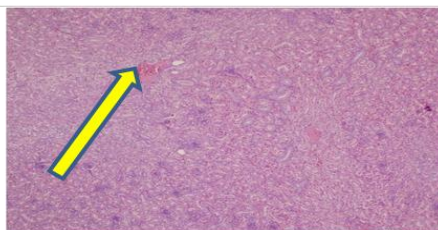
Đối với gà lô tiêm vaccin Re-5, bệnh tích vi thể tại các cơ quan là sung huyết, xuất huyết (Hình 7), lớp lông nhung ở khí quản bị bào mòn; phổi xuất huyết, sung huyết (Ảnh 24); ruột xuất huyết; các tế bào gan hoại tử, gan xuất huyết, thận sung huyết (Ảnh 25); não sung huyết (Ảnh 26).

* *Lô tiêm vaccin Re-6*

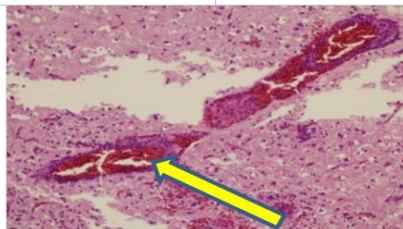
Bệnh tích vi thể tại các cơ quan của gà lô tiêm vaccin Re-6 là phù, xuất huyết (Hình 8): Phổi có hiện tượng phù, xuất huyết xung quanh mạch quản với các đám tế bào hồng cầu trong lộng phế quản (Ảnh 27); lớp niêm mạc của khí quản tăng sinh (Ảnh 28); thận xuất huyết; lông nhung ruột dung hợp; dạ dày tuyến có các đám tế bào lympho xâm nhập.



Ảnh 24: Phổi sung huyết, xuất huyết HE4x

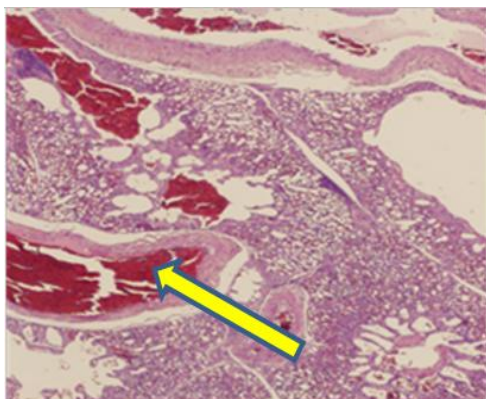


Ảnh 25: Thận sung huyết HE4x

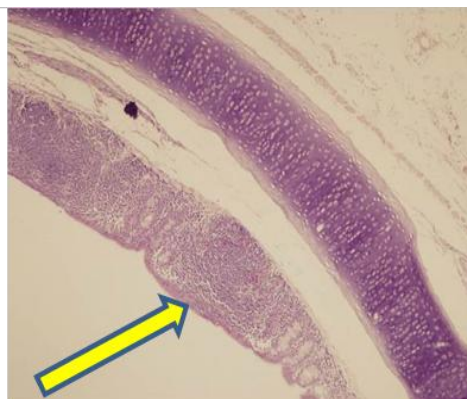


Ảnh 26 : Não sung huyết HE20x

Hình 7. Bệnh tích vi thể của nhóm gà được tiêm vaccin Re-5



Ảnh 27: Phổi sung huyết HE10x



Ảnh 28: Lớp niêm mạc khí quản tăng sinh HE10x

Hình 8. Bệnh tích vi thể nhóm gà được tiêm vaccin Re-6

Tương tự như biểu hiện bệnh tích đại thể, mức độ biến đổi bệnh lý ở 3 lô gà được CCĐ với virus CGC sau khi đã sử dụng vaccin đều giảm so với lô đối chứng. Điều này cho thấy việc sử dụng vaccin đã làm giảm mức độ tổn thương ở các cơ quan phủ tạng của gà khi bị nhiễm virus CGC thể độc lực cao.

4. KẾT LUẬN

- Gà được tiêm vaccin phòng CGC có tỷ lệ sống sót sau khi CCĐ với virus CGC cao hơn gà không được tiêm vaccin phòng CGC. Số gà sống sót sau khi kết thúc thí nghiệm của các lô lần lượt như sau: 8/10 con (Navet-viflucac), 9/10 con (Re-6) và 4/10 con (Re-5). Toàn bộ gà ở lô đối chứng đã chết trước khi kết thúc thí nghiệm.

- Sau khi CCĐ, biểu hiện bệnh tích đại thể trên gà đã được tiêm phòng các loại vaccin (Navet-viflucac, Re-5, hoặc Re-6) đã giảm rõ rệt so với lô gà đối chứng. Biến đổi bệnh tích vi thể của các nhóm gà được tiêm một trong ba loại vắc xin nói trên xuất hiện ở hầu hết các cơ quan nội tạng và các biến đổi bệnh lý này gần như tương tự.

- Sử dụng vaccin CGC đã làm giảm biểu hiện bệnh tích/tổn thương do virus CGC độc lực cao gây ra trên gà.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này có sự dụng kinh phí của đề tài độc lập cấp quốc gia mã số ĐTĐL.CN-10/15 "Nghiên cứu sự phân bố các biến chủng (clade) mới của virus cúm A/H5N1 trên đàn gia cầm ở Việt Nam làm cơ sở cho việc phòng chống dịch bệnh đạt hiệu quả cao".

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ban Chỉ đạo quốc gia phòng chống Cúm gia cầm (2005). Báo cáo tổng kết công tác 2 năm(2004-2005) phòng chống dịch Cúm gia cầm. Hội nghị tổng kết 2 năm phòng chống dịch cúm gia cầm, ngày 18 tháng 4 năm 2005, Hà Nội.
- Berhane, Y., Kobasa, D., Embury-Hyatt, C., Pickering, B., Babiuk, S., Joseph, T., Bowes, V., Suderman, M., Leung, A., Cottam-Birt, C., Hisanaga, T., Pasick, J., 2016. Pathobiological Characterization of a Novel Reassortant Highly Pathogenic H5N1 Virus Isolated in British Columbia, Canada, 2015. Sci. Rep. 6, 23380. doi:10.1038/srep23380
- Cục Thú Y (2014). Báo cáo tóm tắt kết quả công tác thú y 2014 và kế hoạch công tác năm 2015.
- Cục Thú Y (2015). Báo cáo tóm tắt kết quả công tác thú y 2015 và kế hoạch công tác năm 2016.
- Cục Thú Y (2016). Báo cáo tóm tắt kết quả công tác thú y 2016 và kế hoạch công tác năm 2017.
- Lê Văn Năm (2004). Kết quả khảo sát các biểu hiện lâm sàng và bệnh tích đại thể bệnh cúm gia cầm ở một số cơ sở chăn nuôi các tỉnh phía bắc. Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, XI(3): 86-90.
- Nguyễn Đăng Thọ, Đào Thị Hoa, Nguyễn Hoàng Đăng, Đàm Thị Vui, Mai Thùy Dương, Nguyễn Viết Không, Tô Long Thành (2016). Virus gia cầm độc lực cao H5N6 ở Việt Nam năm 2014. Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, XXIII(1): 18-28.
- Nguyễn Thị Thúy Mận, Tô Long Thành, Nguyễn Đăng Thọ, Nguyễn Hoàng Đăng, Lương Văn Hào, Đàm Thị Vui, Nguyễn Văn Lâm, Nguyễn Thị Thúy (2017). Biến đổi bệnh lý đại thể và vi thể của gà được công cường độc với virus cúm gia cầm A/H5N1. Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, XIV(5): 33-39.
- Pfeiffer, J., Pantin-Jackwood, M., To, T.L., Nguyen, T., Suarez, D.L. (2009). Phylogenetic and biological characterization of highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses (Vietnam 2005) in chickens and

Bệnh lý đại thể và vi thể của gà được công cường độc với virus cúm gia cầm A/H5N1 sau khi sử dụng vaccin phòng bệnh

ducks. *Virus Res.*, 142: 108-120.
doi:10.1016/j.virusres.2009.01.019.
Swayne, D.E., Halvorson, D.A. (2008). *Diseases of poultry*, 12th ed. Blackwell.
Trần Xuân Hạnh, Tô Thị Phấn, Đỗ Thanh Thủy,
Phạm Sĩ Tú, Tô Long Thành, Tống Hữu Hiến,

Nguyễn Hoàng Đăng, Đàm Thị Vui (2013). Thử hiệu lực của Vacxin Navet-vifluvac phòng bệnh cúm A/H5N1 clade 1.1 và clade 2.3.2.1 c bằng phương pháp công cường độc và tiếp xúc trực tiếp. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, XX(5): 22-29.