

# ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG BẢO HỘ CỦA MỘT SỐ LOẠI VACXIN CÚM GIA CẦM SỬ DỤNG CHO GÀ VÀ VỊT CHỐNG LẠI VIRUS CÚM A/H5N6 CLADE 2.3.4.4B PHÂN LẬP NĂM 2016

Nguyễn Văn Lâm<sup>2</sup>, Tô Long Thành<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

Thí nghiệm đã được thực hiện trên gà và vịt để đánh giá khả năng bảo hộ của vaccin Navet-vifluvac và vaccin Re-5 chống lại virus cúm A/H5N6 clade 2.3.4.4b phân lập năm 2016. Kết quả thí nghiệm cho thấy vaccin Navet-vifluvac có khả năng kích thích tạo kháng thể với hiệu giá HI là 5,4 log<sub>2</sub> ở gà (tiêm 1 mũi) và 8,3 log<sub>2</sub> ở vịt (tiêm 2 mũi); trong khi đó gà có đáp ứng kháng thể HI với hiệu giá là 6,7 log<sub>2</sub> và vịt là 8,7 log<sub>2</sub> khi được tiêm vaccin Re-5. Thử thách cường độ bằng virus cúm gia cầm A/H5N6 clade 2.3.4.4b cho thấy vaccin Navet-vifluvac bảo hộ được 80% đối với gà và 100% đối với vịt được tiêm phòng; còn vaccin Re-5 bảo hộ được 70% đối với gà và 100% đối với vịt được tiêm phòng. Cả 2 loại vaccin đều có tác dụng làm giảm rõ rệt lượng virus bài thải từ gà, vịt đã tiêm phòng khi so sánh với động vật không được dùng vaccin.

*Từ khóa:* Virus cúm gia cầm type A, hiệu lực vaccin, gà, vịt, công cường độ, H5N6.

## Evaluation of the protection of some vaccines used for chickens and ducks against clade 2.3.4.4b A/H5N6 influenza virus isolated in 2016

Nguyen Van Lam, To Long Thanh

## SUMMARY

The experiment was performed on chickens and ducks to evaluate the protection of Navet-vifluvac and Re-5 vaccines against clade 2.3.4.4b A/H5N6 influenza virus isolated in 2016. The experimental results showed that Navet-vifluvac vaccine was able to stimulate antibody response with HI titer of 5.4 log<sub>2</sub> in chickens (1 injection) and 8.3 log<sub>2</sub> in ducks (2 injections); meanwhile, chickens had a HI antibody response with a titre of 6.7 log<sub>2</sub> and ducks with a titre of 8.7 log<sub>2</sub> when receiving Re-5 vaccination. The virulent challenge by clade 2.3.4.4b A/H5N6 influenza virus showed that Navet-vifluvac vaccine protected 80% of the vaccinated chickens and 100% of the vaccinated ducks; while the Re-5 vaccine protected 70% of the vaccinated chickens and 100% of the vaccinated ducks. Both vaccines have the effect of significantly reducing the amount of virus excreted from the vaccinated chickens and ducks when compared with animals that was not vaccinated.

*Keywords:* Type A Avian influenza virus, vaccine efficacy, chicken, duck, challenge, H5N6.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh cúm gia cầm (CGC) là bệnh truyền nhiễm cấp tính xảy ra trên gia cầm, do virus cúm A thuộc họ *Orthomyxoviridae* gây ra. Bệnh CGC xảy ra lần đầu tiên ở Việt Nam vào cuối năm 2003 đầu năm 2004 và được ghi nhận là do virus cúm A/H5N1 thể độc lực cao (HPAI) gây nên. Virus CGC HPAI

A/H5N1 lần đầu tiên phân lập được từ ngỗng ở Quảng Đông (Trung Quốc) năm 1996 (Xu và cs., 1999), xâm nhập vào Việt Nam cuối năm 2003, từ đó đến nay bệnh xảy ra liên tục và vẫn đang là vấn đề dịch tễ phức tạp do xuất hiện nhiều phân dòng virus mới, là dịch bệnh cần phải giải quyết tại nước ta (Nguyễn Tiến Dũng và cs., 2008; Lê Thanh Hòa và cs., 2008). Đồng thời từ năm

<sup>1</sup> Trung tâm Chẩn đoán Thú y Trung ương

<sup>2</sup> Khoa Kỹ thuật nông nghiệp, Trường Cao đẳng kinh tế - kỹ thuật Vĩnh Phúc

2014, tại Việt Nam đã xuất hiện subtype H5N6 của virus cúm type A, gây nên các ổ dịch ở các tỉnh miền Bắc và miền Trung. Virus có nguồn gốc gen HA thuộc về clade 2.3.4.4 là nhánh tiến hóa của clade 2.3.4 đã từng lưu hành trong các năm từ 2008 - 2012 (FAO, 2014; Wong, 2015).

Việc sử dụng vaccin để phòng bệnh CGC ở Việt Nam đã được thực hiện từ năm 2005 cho đến nay, góp phần làm giảm số lượng ổ dịch, giảm số lượng gia cầm mắc bệnh và giảm thiệt hại kinh tế do dịch CGC gây ra đối với ngành chăn nuôi, cũng như giảm số lượng người bị nhiễm và tử vong do virus CGC (Inui, 2008; Suarez và Mary Pantin-Jackwood, 2008). Tuy nhiên, do virus không có hoạt động sửa lỗi trong quá trình tổng hợp ARN khi nhân lên, nên bộ gen luôn biến đổi hình thành những biến chủng mới. Khả năng biến đổi gen đã giúp virus cúm tiến hóa rất đa dạng, dẫn đến những đợt dịch cúm mới xuất hiện. Những thay đổi kháng nguyên còn xảy ra do sự tái tổ hợp gen giữa các virus cúm khác nhau để tạo ra một biến chủng virus mới có độc lực không thể lường trước và tiềm ẩn gây ra các đại dịch (van den Berg và cs., 2008) Trước sự biến đổi liên tục của virus CGC, các vaccin cũng phải được thay đổi để có thể có hiệu lực cao nhất đối với chủng virus đang lưu hành (Guus Kock, 2007). Việc đánh giá hiệu lực của vaccin đã trở thành hoạt động thường xuyên của Trung tâm Chẩn đoán Thú y Trung ương và những kết quả phân tích về hiệu lực vaccin đã góp phần tham mưu cho Cục Thú y chỉ đạo phòng, chống dịch CGC kịp thời.

Các virus cúm H5N6 tại Việt Nam xuất hiện từ năm 2014 với nguồn gốc đã được chứng minh là có liên hệ mật thiết với các virus H5N1, H5N2, H5N8 từng lưu hành ở châu Á, thể hiện ở trình tự gen HA đều có chung nguồn gốc (Nguyễn Đăng Thọ và cs., 2016). Việc sắp xếp phả hệ các virus cúm A/H5 trên thế giới đều dựa trên trình tự ARN phân đoạn 4 (gen HA) của virus. Tất cả các virus H5N6 của Việt Nam đã được phân lập và giải trình tự đều thuộc về nhánh (clade) 2.3.4.4, là một nhánh phụ của clade 2.3.4 từng lưu hành rộng ở Đông và Đông Nam Á trong giai đoạn 2007 - 2010. Trong đó, clade 2.3.4.4 lại được chia thành 2 nhóm nhỏ hơn ký hiệu là 2.3.4.4a

(giống virus phân lập tại Trung Quốc – China-like) và 2.3.4.4b (giống virus phân lập tại Lào – Lao-like) (FAO, 2014; Wong F, 2015).

Trong khuôn khổ đề tài “*Nghiên cứu sự phân bố các biến chủng (clade) mới của vi rút cúm A/H5N1 trên đàn gia cầm ở Việt Nam làm cơ sở cho việc phòng chống dịch bệnh đạt hiệu quả cao*”, có mã số ĐTĐL.CN-10/15 do Bộ Khoa học và Công nghệ cấp kinh phí; chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng bảo hộ của vaccin Navet-vifluvac và vaccin Re-5 cho gà và vịt với virus cúm A/H5N6 clade 2.3.4.4b phân lập năm 2016.

## II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nội dung nghiên cứu

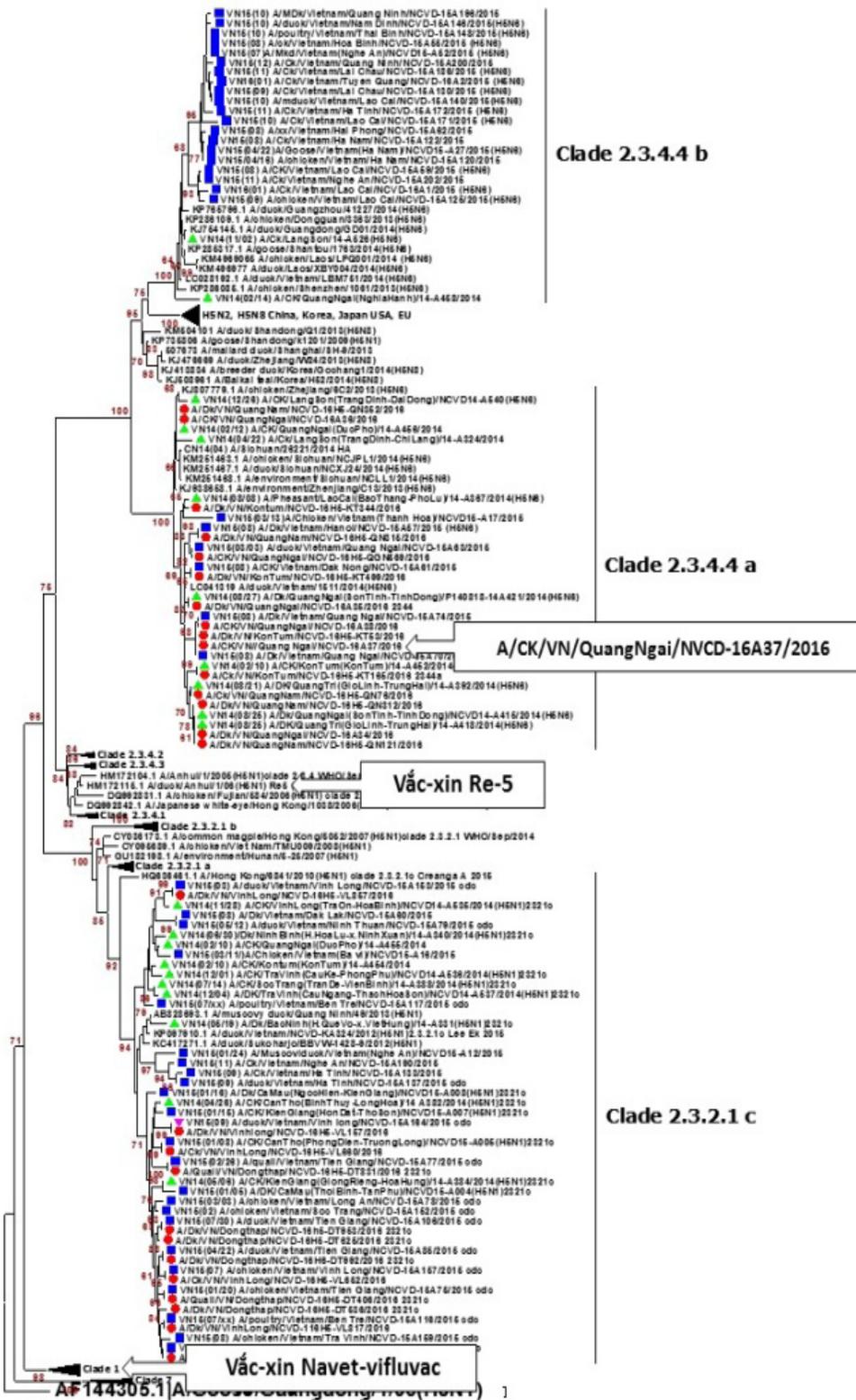
- Đánh giá đáp ứng miễn dịch ở gà và vịt sau khi tiêm vaccin CGC thông qua định lượng kháng thể kháng kháng nguyên cúm H5 bằng phương pháp ngăn trở ngưng kết hồng cầu HI.

- Đánh giá khả năng bảo hộ bệnh lâm sàng của vaccin bằng thực nghiệm gây bệnh cho gà và vịt với virus cúm A/H5N6 clade 2.3.4.4b phân lập năm 2016.

- Đánh giá khả năng làm giảm lượng virus bài thải thông qua định lượng virus trong mẫu dịch hầu-họng của gà và vịt sau khi công cường độ.

### 2.2. Nguyên liệu nghiên cứu

- Virus cúm gia cầm A/H5N6 (A/Ck/VN/QuangNam/16H5-QN2-298/2016(H5N6)) thuộc nhánh HA 2.3.4.4b đại diện cho các virus lưu hành ở Việt Nam vào thời điểm lấy mẫu, được phân lập từ ổ dịch cúm trên gà tại tỉnh Quảng Nam năm 2016. Đây là 1 trong 2 nhánh chính của virus H5N6 lưu hành ở nước ta bao gồm nhánh virus giống với chủng A/Sichuan/26221/2014 (H5N6) của Trung Quốc - được đặt tên là clade 2.3.4.4a và nhánh virus giống với chủng A/chicken/Laos/LPQ001/20149(H5N6) của Lào - được đặt tên là clade 2.3.4.4b (Nguyễn Đăng Thọ và cs., 2016). Phả hệ của chủng virus dùng trong thí nghiệm này được thể hiện trên hình 1.



Hình 1. Phả hệ của virus và các chủng vắc xin dùng trong thí nghiệm

- Hai vaccin đang được sử dụng phòng chống bệnh là vaccin Navet-viflucac (clade 1) sản xuất trong nước và vaccin Re-5 (clade 2.3.4) nhập từ Trung Quốc.

+ Vaccin Navet-viflucac (clade 1) do Công ty NAVETCO sản xuất và cung cấp, số lô 27, ngày sản xuất 3/1/2018, hạn sử dụng 2/1/2019.

+ Vaccin Re-5 (clade 2.3.4) do Trung Quốc sản xuất, Công ty RTD cung cấp, số lô 2015009, ngày sản xuất 9/2/2018, hạn sử dụng 8/2/2019.

- Động vật thí nghiệm: gà, vịt 1 ngày tuổi lấy từ đàn khỏe mạnh, không có kháng thể kháng virus

cúm H5, không mang virus cúm type A, mua từ Trung tâm nghiên cứu gia cầm Thụy Phương - Viện Chăn nuôi.

- Kit chiết tách RNA, kit nhân gen real-time RT-PCR

+ Bộ kit chiết tách RNeasy Mini kit - (Cat No. 74106) do hãng Qiagen của Đức sản xuất.

+ Bộ kit One-Step RT-PCR Qiagen® (Cat No.210210) hoặc Invitrogen One-step RT-PCR (Cat No.11732-020)

- Môi và mẫu dò đặc hiệu phát hiện gen N6 (Hàn Quốc).

Primer/probe	Trình tự chuỗi nucleotide (5'-3')	Đầu		
		5'	3'	
M	Probe	TGC AGT CCT CGC TCA CTG GGC ACG	FAM	BHQ1
	Xuôi	GAC CRA TCC TGT CAC CTC TGA		
	Ngược	AGG GCA TTY TGG ACA AAK CGT CTA		
H5	Probe	TCAACA GTG GCG AGT TCC CTA GCA	FAM	BHQ1
	Xuôi	ACA TAT GAC TAC CCA CAR TAT TCA G		
	Ngược	AGA CCA GCT AYC ATG ATT GC		
N6	Probe	CCAATA ACA GGA GGG AGCCAGACCC	FAM	BHQ1
	Xuôi	CCC CAC CAA TGG GAA CTG		
	Ngược	TCT AGG AAT GCAAAC CCT TTT ACC		

- Kháng nguyên gắn với chủng virus vaccin thuộc clade 1 và clade 2.3.4 do Trung tâm Chăn nuôi Thú y Trung ương cung cấp:

+ A/Viet Nam/1203/04 (H5N1)-PR8/CDC-RG (nhóm thử nghiệm vaccin Navet-viflucac);

+A/Anhui/01/2005 (H5N1)-PR8-IBCCDC-RG6 (nhóm thử nghiệm vaccin Re5).

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được thiết kế dựa trên các hướng dẫn về đánh giá hiệu lực vaccin cúm gia cầm của FAO (2004) và OIE (2012).

#### 2.3.1. Thiết kế thí nghiệm

Số lượng gà và vịt sử dụng là 48 con mỗi loài, được chia làm 2 nhóm. Nhóm 1 gồm 12 con được tiêm vaccin Navet-viflucac và 12 con đối

chứng không được tiêm vaccin. Nhóm 2 gồm 12 con được tiêm vaccin Re-5 và 12 con đối chứng không được tiêm vaccin. Trước khi tiêm, lấy máu tất cả gà, vịt, kiểm tra kháng thể kháng nguyên cúm H5 bằng phương pháp HI. Chỉ những con không có kháng thể mới được dùng trong thí nghiệm.

Gà được sử dụng liệu trình 1 mũi vaccin lúc 3 tuần tuổi. Vịt được sử dụng liệu trình 2 mũi vaccin lúc 3 tuần tuổi và tiêm nhắc lại lúc 6 tuần tuổi. Liều tiêm, đường tiêm được áp dụng theo khuyến cáo của nhà sản xuất. Cụ thể: Vaccin Navet-viflucac được tiêm dưới da cổ tại vị trí 1/3 phía dưới với liều 0,5 ml/con (mũi 1) và 1,0 ml/con (mũi 2). Vaccin Re-5 được tiêm dưới da cổ tại vị trí 1/3 phía dưới với liều 0,3 ml/con (mũi 1) và 0,5 ml/con (mũi 2). Động vật ở các lô

đối chứng không được tiêm vaccin, được nuôi cùng với động vật ở các lô thí nghiệm được tiêm vaccin.

Sau 3 tuần kể từ khi tiêm vaccin, lấy máu xét nghiệm kháng thể kháng nguyên cúm H5 bằng phương pháp HI với loại kháng nguyên đồng chủng với kháng nguyên trong vaccin. Sử dụng 10/12 con được tiêm vaccin và 10/12 con đối chứng để công cường độ. Còn lại 2 con được tiêm vaccin và 2 con đối chứng được nuôi cách ly, không công cường độ nhằm so sánh các chỉ tiêu của thí nghiệm.

Gây nhiễm cho gà, vịt bằng virus cúm H5N6 đã được phân lập, nhân giống và chuẩn độ. Liều gây nhiễm là  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/100 ul/con, theo đường nhỏ mũi. Theo dõi gà trong vòng 10 ngày sau khi gây nhiễm, chấm điểm lâm sàng hàng ngày theo tiêu chí đánh giá của OIE về thử nghiệm virus CGC (OIE, 2012).

Vào ngày thứ 3, thứ 10 sau khi công cường độ, hoặc khi gà, vịt chết, tiến hành lấy mẫu dịch ngoáy hầu-họng để xác định lượng virus bài thải. Giá trị Ct > 35 được coi là âm tính đối với virus. Những gà, vịt chết hoặc sống sót sau 10 ngày theo dõi được mổ khám để đánh giá bệnh tích đại thể.

### 2.3.2. Phương pháp xét nghiệm

- Phương pháp HI để đánh giá hàm lượng kháng thể (tiến hành theo TCVN 8400-26:2014): sử dụng kháng nguyên H5N1 thuộc HA clade 1 (A/Viet Nam/1203/04 (H5N1)-PR8/CDC-RG) để xét nghiệm huyết thanh gà, vịt được tiêm vaccin Navet-viflucac. Sử dụng kháng nguyên H5N1 thuộc HA clade 2.3.4 (A/Anhui/01/2005 (H5N1)-PR8-IBCDC-RG6) để xét nghiệm huyết thanh gà, vịt được tiêm vaccin Re-5. Sử dụng cả 2 loại kháng nguyên để xét nghiệm huyết thanh gà, vịt đối chứng không được tiêm vaccin.

- Phương pháp realtime RT-PCR để xác định lượng virus bài thải sau khi công cường độ (tiến hành theo TCVN 8400-26:2014): sử dụng bộ kit Qiagen RNeasy mini kit để chiết tách ARN của virus cúm A/H5N6 trong mẫu

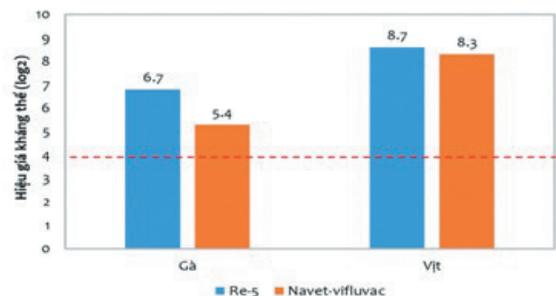
dịch ngoáy hầu-họng gà, vịt sau khi công cường độ. Sử dụng bộ kit Invitrogen SuperScript III Platinum One-step qRT-PCR system để phát hiện và định lượng ARN (gen N6) của virus cúm A/H5N6 trong mẫu ARN đã chiết tách, với bộ primers/probe đặc hiệu có trình tự sau: Forward primer 5'- CCC CAC CAA TGG GAA CTG-3'; Reverse primer 5'- TCT AGG AAT GCA AAC CCT TTT ACC-3'; Probe 5'-FAM-CCA ATA ACA GGA GGG AGC CCA GAC CC-BHQ1-3'. Chu trình của phản ứng RT-PCR như sau: 50°C/15 phút, 95°C/2 phút; 95°C/10 giây, 60°C/30 giây, lặp lại 40 chu kỳ.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Hàm lượng kháng thể kháng virus cúm A/H5N1 trong huyết thanh gà, vịt sau khi tiêm phòng

Ba tuần sau khi hoàn thành liệu trình vaccin (6 tuần tuổi với gà và 9 tuần tuổi với vịt), lấy mẫu máu tất cả gà, vịt thí nghiệm để kiểm tra hàm lượng kháng thể kháng virus cúm H5N1 bằng phương pháp HI với kháng nguyên cúm H5N1 đồng chủng với kháng nguyên vaccin. Những gà, vịt được tiêm vaccin Navet-viflucac được kiểm tra bằng kháng nguyên H5N1 clade 1 và những gà, vịt được tiêm vaccin Re-5 được kiểm tra bằng kháng nguyên H5N1 clade 2.3.4.

Kết quả HI được minh họa trên hình 2.



**Hình 2. Kết quả tạo đáp ứng miễn dịch cho gà và vịt trong thí nghiệm công cường độ bằng virus clade 2.3.4.4b**

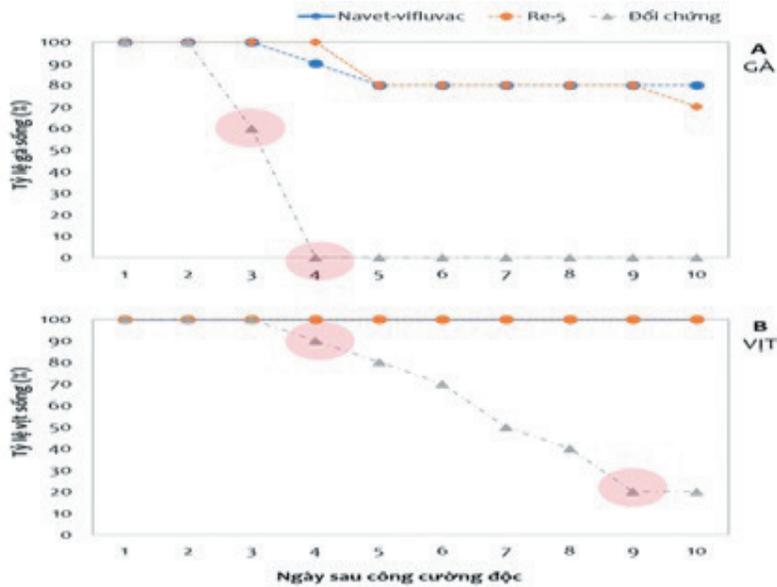
Miễn dịch được tạo ra ở gà và vịt sử dụng virus clade 1 (vaccin Navet-viflucac) và clade 2.3.4 (vaccin Re-5) đều có hiệu giá kháng thể

trung bình ở trên ngưỡng bảo hộ (đường nét đứt màu đỏ, hình 2). Cụ thể: hiệu giá kháng thể ở gà lần lượt là 5,4 log<sub>2</sub> và 6,7 log<sub>2</sub>; và ở vịt (sau khi được miễn dịch nhắc lại) là 8,3 log<sub>2</sub> và 8,7 log<sub>2</sub>. Tuy nhiên, hàm lượng kháng thể định lượng qua phản ứng huyết thanh học chỉ thể hiện khả năng kích thích sinh đáp ứng miễn dịch của vaccin đối với con vật được tiêm. Muốn biết rõ hơn vaccin có

tác dụng ra sao trong bảo hộ lâm sàng chống virus thì động vật cần trải qua thử thách cường độc.

### 3.2. Kết quả công cường độc với virus cúm H5N6 clade 2.3.4.4b

Kết quả thử nghiệm khả năng gây bệnh của chủng virus clade 2.3.4.4b ở nhóm gà, vịt có miễn dịch dị chủng được thể hiện trước hết thông qua theo dõi tỷ lệ chết sau công cường độc (hình 3).



**Hình 3. Khả năng gây bệnh của chủng virus clade 2.3.4.4b ở gà và vịt có đáp ứng miễn dịch dị chủng**

Nhóm gà đối chứng (không có miễn dịch) xuất hiện triệu chứng sớm (2 ngày sau công cường độc). Toàn bộ gà đối chứng công cường độc bằng virus H5N6 clade 2.3.4.4b chết trong vòng 4 ngày. Trái lại, ở nhóm có miễn dịch dị chủng (clade 1 hoặc clade 2.3.4), thời gian xuất hiện triệu chứng muộn hơn sau công cường độc. Nhóm gà tiêm vaccin Navet-vifluvac sau 2 ngày đầu tiên không có triệu chứng nào được ghi nhận, đến ngày thứ 3 có 1/10 gà có biểu hiện ốm (liệt chân, khó thở, nhiều dịch mũi). Gà nhiễm bệnh chết vào ngày thứ 4 sau công cường độc. Những ngày tiếp theo, có thêm 1 gà khác ốm và chết vào ngày thứ 5 với bệnh tích đặc trưng của bệnh cúm gia cầm thể độc lực cao. Những gà còn lại

không có biểu hiện bệnh. Tỷ lệ sống sót của nhóm sau 10 ngày theo dõi là 80% (hình 3A). Đối với nhóm gà tiêm vaccin Re-5: tiến triển bệnh ở nhóm này chậm hơn nhóm tiêm vaccin Navet-vifluvac. Ngày thứ 4 có hai gà có biểu hiện ốm sau đó 2 gà chết vào ngày thứ 5. Cùng lúc đó có thêm 1/10 gà khác xuất hiện triệu chứng ốm nhẹ, triệu chứng tăng dần trong những ngày tiếp theo như không thể đi lại, chảy nhiều nước mắt, nước mũi, mào tím tái và bị phù vùng đầu, gà này chết vào ngày thứ 10 sau công cường độc. Còn lại 7/10 gà khác không có biểu hiện bệnh và sống sót sau 10 ngày theo dõi (hình 3A). Kết quả so sánh về tiến triển bệnh giữa nhóm gà không có miễn dịch và nhóm gà có miễn

dịch (trình bày ở hình 3A) cho thấy chủng virus clade 2.3.4.4b vẫn có khả năng vượt qua đáp ứng miễn dịch dị chủng tạo ra bởi clade 1 và clade 2.3.4. Tỷ lệ gà tiêm phòng sống sót trong thí nghiệm này có khác biệt so với kết quả thử nghiệm với virus A/H5N6 clade 2.3.4.4b phân lập năm 2015 (A/Mdk/Viet Nam(NgheAn)/NCVD15A52/2015(H5N6)), trong đó vaccin Navet-viflucac và Re-5 đều có khả năng bảo hộ 70% gà được tiêm phòng (Nguyễn Văn Lâm và cs., 2018).

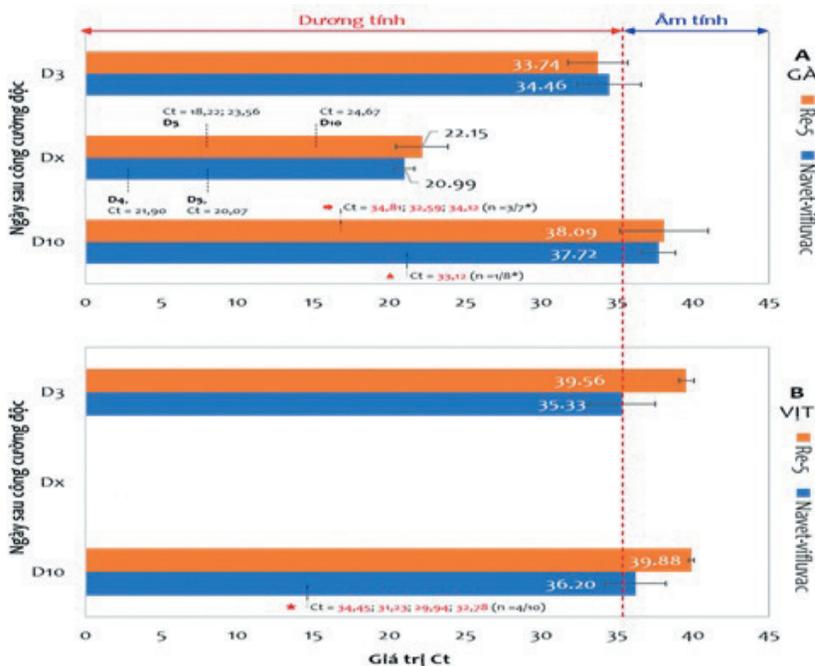
Ở nhóm vịt đối chứng sau 3-4 ngày gây nhiễm virus H5N6 clade 2.3.4.4b, một số vịt bắt đầu có biểu hiện mệt mỏi, ủ rũ, kém ăn. Thời gian bị bệnh của vịt kéo dài hơn nhiều so với gà, cá biệt có những con ốm 6-7 ngày mới chết. Ngoài ra một số vịt cũng có biểu hiện nhiễm bệnh nhẹ, nhưng chỉ kéo dài 3-4 ngày rồi triệu chứng bệnh mất đi, con vật hồi phục và sống sót sau 10 ngày theo dõi. Tổng số vịt chết sau công cường độc là 8/10 con (80%). Nhóm vịt tiêm vaccin Navet-viflucac: trong thời gian theo dõi 10 ngày, có 3/10 vịt được gây nhiễm virus có biểu

hiện lâm sàng nhẹ, chỉ thấy ủ rũ, chảy nước mũi nhẹ, giảm ăn. Triệu chứng kéo dài từ 2-5 ngày rồi hết, vịt vẫn sống sót đến khi kết thúc thí nghiệm. Nhóm vịt tiêm vaccin Re-5: trong thời gian từ ngày thứ 4 đến ngày thứ 9 sau công cường độc, có 2/10 vịt xuất hiện triệu chứng lâm sàng nhẹ. Tuy nhiên vịt không có tiến triển bệnh nặng hơn và vẫn sống sót sau 10 ngày theo dõi (hình 3B).

Như vậy, đáp ứng miễn dịch tạo ra bởi vaccin Navet-viflucac (clade 1) và vaccin Re-5 (clade 2.3.4) có khả năng bảo hộ lâm sàng 70%- 80% gà và 100% vịt chống lại virus H5N6 clade 2.3.4.4b. Ngược lại, có thể nhận xét khả năng vượt qua đáp ứng miễn dịch dị chủng để gây bệnh thể lâm sàng của virus clade 2.3.4.4b cao hơn ở gà (sống sót 20- 30%) so với ở vịt (sống sót 100%).

### 3.3. Kết quả xét nghiệm virus clade 2.3.4.4b bài thải sau công cường độc

Kết quả xét nghiệm virus trong mẫu dịch hầu-họng ở gà và vịt sau công cường độc được trình bày ở hình 4.



**Hình 4. Hiện tượng thải virus ở gà và vịt có đáp ứng miễn dịch dị chủng sau công cường độc bằng chủng virus clade 2.3.4.4b**

Ghi chú: ngày 3 (D3), ngày 10 (D10), ngày gà chết (Dx) sau công cường độc. Đường nét đứt màu đỏ biểu thị ngưỡng dương tính (Ct ≤ 35) và âm tính (Ct > 35) với virus cúm; \* biểu thị số cá thể thải virus trên tổng số cá thể còn sống sót tại một thời điểm.

Kết quả xét nghiệm virus bài thải sau công cường độc bằng virus clade 2.3.4.4b cũng phản ánh sự khác biệt rõ giữa nhóm gà và vịt có miễn dịch dị chủng (hình 4A, B). Đối với gà có miễn dịch chống lại clade 1 (tiêm vaccin Navet-vifluvac), mẫu swab lấy tại thời điểm 3 ngày sau công cường độc có virus cúm ở mức độ rất ít (giá trị Ct trung bình là 34,46 so với ngưỡng dương tính là  $Ct \leq 35$ ). Kiểm tra ở ngày 10 sau công cường độc, nhóm gà gồm 8/10 gà sống sót về cơ bản không còn bài thải virus (giá trị Ct trung bình nhóm là 37,72), ngoại trừ 1 cá thể vẫn dương tính ( $Ct = 33,12$ , ký hiệu tam giác, hình 4A). Đối với gà có miễn dịch chống lại clade 2.3.4 (tiêm vaccin Re-5), mẫu swab hầu hệt lấy tại thời điểm 3 ngày sau công cường độc chứa lượng virus bài thải không nhiều ( $Ct$  trung bình là 33,74) và khá tương đương so với nhóm gà được miễn dịch bằng vaccin Navet-vifluvac. Vào ngày thứ 10 sau công cường độc, có 3/7 gà sống sót của nhóm này tiếp tục bài thải virus (giá trị Ct từ 32,59- 34,81; mũi tên, hình 4A). Gà chết sau công cường độc (thuộc nhóm có miễn dịch dị chủng bằng clade 1 hoặc clade 2.3.4) bài thải lượng rất lớn virus ( $Ct$  từ 18,22- 24,67; hình 4A), gần tương đương với lượng virus bài thải ở nhóm gà đối chứng bị chết sau công cường độc ( $Ct = 20,3$ ).

Đối với nhóm vịt có miễn dịch chống lại clade 1 (vaccin Navet-vifluvac), tại cả 2 thời điểm lấy mẫu lúc 3 và 10 ngày sau công cường độc, lượng virus trong mẫu swab đều ở mức rất thấp với giá trị Ct trung bình tương ứng là 35,33 và 36,20 (ngưỡng dương tính có giá trị  $Ct \leq 35$ ). Mặc dù vậy, vẫn còn 4/10 vịt thải virus ở nhóm này (ký hiệu ngôi sao, hình 4B). Ngược lại, đối với nhóm vịt có miễn dịch chống lại clade 2.3.4 (vaccin Re-5), đều không phát hiện virus bài thải tại thời điểm 3 và 10 ngày sau công cường độc (giá trị Ct trung bình lần lượt là 39,56 và 39,88). Đối với nhóm gà, vịt đối chứng tại tất cả các thời điểm lấy mẫu đều phát hiện virus bài thải với giá trị Ct trung bình từ 31,81- 33,34. Những cá thể (vịt, gà) chết, lượng virus bài thải là rất lớn (giá trị Ct trung bình là 21,47). Nhóm

gà và vịt không công cường độc và được nuôi cách ly, đều không phát hiện virus cúm bài thải ở cả 2 thời điểm lấy mẫu.

So sánh với nghiên cứu của Nguyễn Văn Lâm và cs. (2018), gà của cả 2 nhóm vaccin (Navet-vifluvac và Re-5) vẫn bài thải virus vào ngày thứ 10 sau khi công cường độc, tuy nhiên gà được tiêm vaccin Navet-vifluvac đã giảm bài thải một cách đáng kể ( $Ct = 36,62$ ). Nhóm gà tiêm vaccin Re-5 vẫn còn bài thải một lượng lớn virus ( $Ct = 33,21$ ) sau ngày công cường độc thứ 10.

#### IV. KẾT LUẬN

- Vaccin Navet-vifluvac và vaccin Re-5 tạo miễn dịch kháng virus cúm với hiệu giá kháng thể tương ứng là 5,4  $\log_2$  và 6,7  $\log_2$  trên gà; 8,3  $\log_2$  và 8,7  $\log_2$  trên vịt.

- Vaccin Navet-vifluvac và Re-5 đều bảo hộ lâm sàng được 70- 80% gà và 100% vịt khi công cường độc với virus cúm A/H5N6 clade 2.3.4.4b.

- Vaccin Navet-vifluvac và vaccin Re-5 đều làm giảm lượng virus bài thải một cách rõ rệt ở gà và vịt được tiêm phòng khi công cường độc với virus cúm A/H5N6 clade 2.3.4.4b.

*Lời cảm ơn: Nghiên cứu này sử dụng kinh phí của đề tài độc lập cấp Nhà nước: “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”, mã số ĐTĐL.CN/10/15.*

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Khoa học và Công nghệ, 2014. TCVN 8400-26:2014, Bệnh động vật – Quy trình chẩn đoán – Phần 26: Bệnh cúm gia cầm H5N1
2. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2005. *Kế hoạch dự phòng chống dịch cúm gia cầm chủng độc lực cao tại Việt Nam.*
3. Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Thế Vinh, Dhanasekaran Vijaykrishna, Robert C. Webster, Yi Guan, J.S. Malik Peiris và Gavin J.D. Smith, 2008. Sự đa dạng của các dòng

- virus cúm A (H5N1) tại Việt Nam từ 2005 – 2007. *Khoa học kỹ thuật Thú y*, Tập XV số 4 - 2008, tr.9 - 15.
4. Nguyễn Văn Lâm, Tô Long Thành, Nguyễn Hoàng Đăng và Nguyễn Đăng Thọ, 2018. Hiệu lực một số loại vaccin cúm gia cầm sử dụng trên gà chống lại virus cúm A/H5N6 clade 2.3.4.4b. *Khoa học kỹ thuật Thú y*, Tập XXV số 5 - 2018, tr.11 - 17.
  5. Ken Inui, 2008. *Kiểm chứng hiệu quả vaccin cúm gia cầm đối với các virus mới phân lập gần đây (2007 - 08) ở Việt Nam*. Hội thảo quốc tế nghiên cứu phục vụ hoạch định chính sách phòng chống cúm gia cầm, 16 - 18/6/2008, Hà Nội.
  6. D.L. Suarez và Mary Pantin-Jackwood, 2008. *Tiêm vaccin để khống chế bệnh cúm gia cầm thể độc lực cao*. Hội thảo quốc tế nghiên cứu phục vụ hoạch định chính sách phòng chống cúm gia cầm, 16 - 18/6/2008, Hà Nội.
  7. Nguyễn Đăng Thọ, Nguyễn Hoàng Đăng, Đàm Thị Vui, Đỗ Thị Hoa, Mai Thùy Dương, Nguyễn Thị Điệp, Nguyễn Việt Không, Tô Long Thành, 2016. Virus cúm gia cầm độc lực cao H5N6 ở Việt Nam năm 2014. *Khoa học kỹ thuật Thú y*, Tập XXIII số 1 - 2016, tr 18 - 28.
  8. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2004. *FAO, OIE and WHO Technical consultation on the Control of Avian Influenza*. Animal health special report.
  9. Guus Kock, 2007. *Efficacy of vaccination in different poultry species*. AI vaccine conference: Vaccination: a tool for the control of avian influenza, 20 - 22 March 2007, Verona, Italy.
  10. FAO, 2014. Avian influenza A(H5N6): the latest addition to emerging zoonotic avian influenza threats in East and Southeast Asia. *Empres watch*, Vol 30 – November 2014.
  11. Wong F., 2015. *Tracking genetic evolution of Avian influenza viruses*, OIE seminar, WAVLD, Saskatoon, 15 - 18 June 2015.
  12. OIE, 2012. *Avian influenza disease*. In *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (Version adopted by the World Assembly of Delegates of the OIE in May 2012)
  13. Van den Berg T., Lambrecht B., Marche S., Steensels M., Van Borm S. và Bublöt M., 2008. Influenza vaccines and vaccination strategies in birds. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 31: 121-65.
  14. Xu X., Subbarao., Cox N. J. and Guo Y., 1999. Genetic characterization of the pathogenic influenza A/Goose/Guangdong/1/96 (H5N1) virus: similarity of its hemagglutinin gene to those of H5N1 viruses from the 1997 outbreaks in Hong Kong. *Virology*, 1999 Aug 15. 261(1): 15-9.
- Ngày nhận 7-4-2021  
 Ngày phản biện 28-4-2021  
 Ngày đăng 1-9-2021