

# Nghiên cứu khoa học

## SO SÁNH ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH ĐỐI VỚI HAI LOẠI VACXIN CÚM GIA CẦM TRÊN GÀ ÁC TẠI TỈNH TIỀN GIANG

Trần Ngọc Bích<sup>1</sup>, Nguyễn Lê Minh Phú<sup>2</sup>, Nguyễn Văn Khanh<sup>3</sup>, Thái Quốc Hiếu<sup>4</sup>

### TÓM TẮT

Kết quả khảo sát đáp ứng miễn dịch đối với hai loại vacxin cúm A H5N1 trên gà ác (*Gallus gallus domesticus brisson*) tại tỉnh Tiền Giang bằng phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu (HI) cho thấy: Kháng thể thụ động đối với virus cúm gia cầm của gà ác ở nghiệm thức 1 (vacxin H5N1 Re-6) là 60% đối với gà ở 1 ngày tuổi và 40% ở 14 ngày tuổi; ở nghiệm thức 2 (Navet-Vifluvac) thì tỷ lệ này là 65% đối với gà ở 1 ngày tuổi và 50% ở 14 ngày tuổi.

Tỷ lệ bảo hộ sau 1 tháng tiêm phòng vacxin cúm gia cầm của gà ác: Ở nghiệm thức 1 (vacxin H5N1 Re-6) là 16% đối với gà ở 30 ngày tuổi và 65% ở 60 ngày tuổi, 85% ở 90 ngày tuổi, 85% ở 120 ngày tuổi, 75% ở 150 ngày tuổi và 65% ở 180 ngày tuổi; Ở nghiệm thức 2 (vacxin Navet-Vifluvac) thì tỷ lệ này là 25% đối với gà ở 30 ngày tuổi và 85% ở 60 ngày tuổi, 95% ở 90 ngày tuổi, 85 % ở 120 ngày tuổi, 80% ở 150 ngày tuổi và 55% ở 180 ngày tuổi.

Kết quả so sánh đáp ứng miễn dịch của hai loại vacxin cúm gia cầm trên gà ác tại tỉnh Tiền Giang cho thấy, vacxin H5N1 Re-6 có khả năng tạo đáp ứng miễn dịch nhanh và thời gian miễn dịch kéo dài hơn so với Navet-Vifluvac.

*Từ khóa:* H5N1, virus cúm gia cầm, vacxin, đáp ứng miễn dịch, gà ác, tỉnh Tiền Giang

### Survey on immune response of black chicken vaccinated by H5N1 Re-6 and Navet-Vifluvac vaccines in Tien Giang province

*Tran Ngoc Bich, Nguyen Le Minh Phu, Nguyen Van Khanh, Thai Quoc Hieu*

### SUMMARY

A study on immune response of black chicken (*Gallus gallus domesticus brisson*) vaccinated by H5N1 Re-6 and Navet-Vifluvac vaccines in Tien Giang province was conducted through Hemagglutination Inhibition test using experimental black chicken serum samples. The studied result showed that the protective rate of passive antibodies in one-day old chicken in the treatment 1 (H5N1 Re-6 vaccine) and the treatment 2 (Navet-Vifluvac) was 60% and 65% respectively. The protective rate of passive antibodies of the chickens at 14 days old chicken in the treatment 1 and treatment 2 was 40% and 50% respectively.

The protective rate of the black chickens after one month vaccinating H5N1 Re-6 vaccine

1. Đại học Cần Thơ

2. Trung tâm dạy nghề Chợ Gạo - Tiền Giang

3. Đại học Nông Lâm Tp. HCM

4. Chi cục Chăn nuôi và Thú y Tiền Giang

in the treatment 1 for the chickens at 30 days old, 60 days old, 90 days old, 120 days old, 150 days old and 180 days old was 16%, 65%, 85%, 85%, 75% and 65% respectively. Similarly in the treatment 2, after one month vaccinating Navet-Vifluvac vaccine, the protective rate of the chickens at 30 days old, 60 days old, 90 days old, 120 days old, 150 days old and 180 days old was 25%, 85%, 95%, 85%, 80% and 55% respectively.

The studied results showed that the ability of chickens in creating immune response after vaccinating H5N1 Re-6 vaccine was faster and higher than that of Navet-Vifluvac vaccine.

**Keywords:** H5N1, Avian influenza virus, vaccine, immune response, black chicken, Tien Giang province.

## I. ĐẶT VĂN ĐỀ

Cúm gia cầm là bệnh truyền nhiễm cấp tính của gia cầm do virus cúm thuộc chi *fluenzavirus* type A, họ *Orthomyxoviridae* gây ra. Họ *Orthomyxoviridae* bao gồm 5 nhóm virus, trong đó nhóm virus cúm type A gây bệnh phổ biến và quan trọng nhất cho nhiều loài gia cầm và nhiều loài động vật có vú khác.

Dịch cúm gia cầm xuất hiện từ cuối tháng 12/2003 tại trại gà giống của công ty CP đóng tại xã Thủy Xuân Tiên, huyện Chươn Mỹ, tỉnh Hà Tây. Cùng thời gian này, dịch cũng xảy ra ở hai tỉnh Tiền Giang và Long An, ngay sau đó, dịch đã lan ra tất cả các huyện của hai tỉnh này, đồng thời lây lan nhanh sang các tỉnh An Giang, Vĩnh Long, Bến Tre, Đồng Tháp và Cần Thơ (Văn Đăng Kỷ, 2008).

Gà ác hay còn gọi là ô cốt kê, ô kê, còn có tên khác là gà đen, gà chân chì, gà ngũ trảo... (*Gallus gallus domesticus brisson*) là một giống gà quý thuộc họ trĩ với những đặc điểm cơ bản đặc trưng như toàn thân và chân đều màu đen và có thịt bồ dưỡng, thường được chế biến thành món ăn gà ác tần bồ dưỡng. Nét đặc trưng của gà ác là thịt đen, xương đen và lông trắng.

Tỉnh Tiền Giang là một trong những tỉnh có đàn gia cầm lớn nhất vùng đồng bằng sông Cửu Long với tổng đàn gia cầm dao động khoảng 6,5 đến 7,5 triệu con, trong đó gà chiếm hơn 80% (Cục Thống kê Tiền Giang, 2016). Ngoài vịt và các giống gà hiện nuôi, giống gà ác là đối tượng nuôi được quan tâm hiện nay tại Tiền Giang.

Năm 2014, tổng đàn gà ác trong tỉnh khoảng một triệu con, tập trung chủ yếu ở huyện Chợ Gạo, đây là vùng đất có điều kiện tự nhiên, thổ nhưỡng phù hợp cho việc sinh trưởng và phát triển của con gà ác (Lê Minh Khánh, Sở NN-PTNT Tiền Giang).

Việc sử dụng vacxin cúm A H5N1 để tiêm phòng cho đàn gia cầm góp phần quan trọng vào công tác phòng, chống dịch cúm. Vacxin H5N1 Re-6 (Trung Quốc) và Navet-Vifluvac (Công ty Navetco - Việt Nam) đã được Cục Thú y khuyến cáo sử dụng tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long từ năm 2014. Để so sánh đáp ứng miễn dịch và khả năng bảo hộ của vacxin Navet-Vifluvac và H5N1 Re-6 trên gà ác (gà Ri) trong điều kiện chăn nuôi tại tỉnh Tiền Giang, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài “So sánh đáp ứng miễn dịch đối với 2 loại vacxin cúm gia cầm trên gà ác tại tỉnh Tiền Giang”.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Số gà được dùng trong thí nghiệm là 500 con gà ác 1 ngày tuổi xuất phát từ đàn bố mẹ đã được tiêm phòng đúng quy trình.

Thời gian nuôi từ 1 ngày tuổi đến 180 ngày tuổi. Thức ăn sử dụng trong thí nghiệm là thức ăn hỗn hợp của công ty Emivest, dùng loại thích hợp theo từng lứa tuổi gà.

Thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên với hai nghiệm thức để so sánh khả năng đáp ứng miễn dịch của gà ác với 2 loại vacxin.

**Nghiệm thực 1:** sử dụng vacxin cúm gia cầm H5N1 Re-6 (vacxin A) với quy trình tiêm phòng 1 lần, liều 0,3 ml/con lúc 15 ngày tuổi.

**Nghiệm thực 2:** sử dụng vacxin cúm gia

cầm Navet-Vifluvac (vacxin B) với quy trình 1 lần, liều 0,5 ml/con lúc 15 ngày tuổi.

Đây là quy trình tiêm phòng cúm gia cầm H5N1 được các công ty sản xuất vacxin khuyến cáo sử dụng.

**Bảng 1. Bố trí lấy mẫu huyết thanh trên gà ác trước và sau khi tiêm phòng vacxin**

Nghiệm thực	Thời điểm lấy mẫu (ngày tuổi)							
	Trước tiêm phòng				Sau tiêm phòng			
	1	14	30	60	90	120	150	180
1	20	20	20	20	20	20	20	20
2	20	20	20	20	20	20	20	20
<b>Tổng</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>	<b>40</b>

Chi tiêu theo dõi: Hiệu giá kháng thể trên đàn gà ác

Tiêu chí đánh giá: Hiệu giá HI $\geq$ 1/16 ( $4\log_2$ ) được coi là hiệu giá bảo hộ của cá thể gia cầm, đàn gia cầm được bảo hộ là đàn có  $\geq$ 70% số cá thể có hiệu giá HI $\geq$ 1/16 ( $4\log_2$ ) (Cục Thú y, 2005).

Mẫu huyết thanh được lấy lúc 1 và 14 ngày tuổi với 80 mẫu để kiểm tra kháng thể thụ động từ gà mẹ truyền trên 2 nghiệm thức 1 và 2.

Gà được tiêm phòng 1 mũi vacxin cúm H5N1 vào lúc 15 ngày tuổi và được lấy máu vào các thời điểm 30, 60, 90, 120, 150 và 180 ngày tuổi với tổng số mẫu là 240 mẫu. Các mẫu máu được chắt lấy huyết thanh để kiểm tra khả năng đáp ứng miễn dịch của gà ác sau tiêm phòng vacxin cúm A/H5N1.

**Dụng cụ lấy mẫu huyết thanh:** ống tiêm vô trùng loại 3ml, bông, cồn 70°, găng tay, khẩu trang, kính bảo hộ.

**Cách lấy huyết thanh:** máu được thu thập từ tim, mỗi con 0,5 ml máu lúc gà từ 1 đến 14 ngày tuổi và từ tĩnh mạch cánh gà lúc gà được 30, 60, 90, 120, 150 và 180 ngày tuổi, sau đó tách huyết thanh để xét nghiệm kháng thể.

**Nguyên liệu dùng trong xét nghiệm:** Kháng nguyên cúm gia cầm vô hoạt H5N1 (Veterinary Laboratories Agency, Weybridge, United Kingdom), hồng cầu gà 0,5%, dung dịch

chóng đông (Alsever's solution), PBS, nước muối sinh lý....

**Quy trình phát hiện kháng thể cúm gia cầm:** bằng phản ứng ức chế ngưng kết hồng cầu - Hemagglutination Inhibition - HI (Cục Thú y, 2009).

#### Xử lý số liệu

Số liệu thô được tổng hợp xử lý bằng phần mềm Excel, sau đó được xử lý thống kê bằng phần mềm Minitab 13. Dùng trắc nghiệm  $\chi^2$  (chi-square) để so sánh tỷ lệ bảo hộ và tỷ lệ dương tính.

Hiệu giá kháng thể trung bình hình học là đôi  $\log_2$  của trung bình mã hóa. GMT được tính kể từ mẫu có hiệu giá  $\geq 4 \log_2$  (Cục Thú y, 2005).

$$GMT = \frac{X_1*4 + X_2*5 + X_3*6 + X_4*7 + X_5*8 + X_6*9}{X}$$

Trong đó: X1 là số mẫu có hiệu giá  $4\log_2$ ,

X2 là số mẫu có hiệu giá  $5\log_2$ ,

X3 là số mẫu có hiệu giá  $6\log_2$ ,

X4 là số mẫu có hiệu giá  $7\log_2$ ,

X5 là số mẫu có hiệu giá  $8\log_2$ ,

X6 là số mẫu có hiệu giá  $9\log_2$ ,

X là tổng số mẫu khảo sát.

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Kháng thể thụ động của gà ác trên hai nghiệm thức trước tiêm phòng

Để đánh giá hàm lượng kháng thể thụ động chống virus cúm gia cầm H5N1 từ gà mẹ truyền sang gà con trước khi tinh tiêm phòng, chúng tôi tiến hành lấy huyết thanh của gà con ở

hai thời điểm 1 ngày tuổi và 14 ngày tuổi. Toàn bộ mẫu huyết thanh trên được xét nghiệm bằng phản ứng ngăn trở ngưng kết hồng cầu (HI). Đây là phương pháp xét nghiệm có độ tin cậy cao và sử dụng phổ biến ở Việt Nam để xác định hiệu giá kháng thể của gia cầm được tiêm phòng (Cục Thú y, 2005).

Kết quả được trình bày qua bảng 2.

**Bảng 2. Hiệu giá kháng thể trên gà ác lúc 1 và 14 ngày tuổi**

Nghiệm thức	Ngày tuổi	Số mẫu huyết thanh	HGKT HI					GMT (log2)	Số mẫu $\geq 1/16$	Tỷ lệ bảo hộ (%)
			< 1/8	1/8	1/16	1/32	1/64			
1	1	20	3	5	6	3	3	2,85	12	60
2	1	20	4	3	5	4	4	3,2	13	65
1	14	20	10	2	8	0	0	1,6	8	40
2	14	20	8	2	8	0	2	2,2	10	50

Ghi chú: HGKT: Hiệu giá kháng thể, GMT: Hiệu giá kháng thể trung bình

Nghiệm thức 1: sử dụng vacxin cúm gia cầm H5N1 Re-6 với quy trình tiêm phòng 1 lần, liều 0,3 ml/con lúc 15 ngày tuổi.

Nghiệm thức 2: sử dụng vacxin cúm gia cầm Navet-Vifluvac với quy trình 1 lần, liều 0,5 ml/con lúc 15 ngày tuổi.

Theo Công văn số 487/TY-DT ngày 1/4/2009 của Cục Thú y, bằng phương pháp ngăn trở ngưng kết hồng cầu (HI), hiệu giá HI  $\geq 1/16$  ( $4\log_2$ ) được coi là hiệu giá bảo hộ của cá thể gia cầm; đàn gia cầm được bảo hộ là đàn có  $\geq 70\%$  số cá thể có hiệu giá HI  $\geq 1/16$  ( $4\log_2$ ). Kết quả từ bảng 2 cho thấy, gà ác đưa vào các nghiệm thức có tỷ lệ bảo hộ bình quân 60% ở ngày tuổi thứ 1 và 40% ở ngày tuổi thứ 14. Như vậy, gà ác con có được kháng thể kháng virus cúm thụ động từ gà ác mẹ truyền sang, kháng thể thụ động này giảm dần theo thời gian. Điều này cũng phù hợp với nhận định của Simon M. Shane (1997), kháng thể thụ động có thể bảo hộ đàn gia cầm con khi tiếp xúc với một số mầm bệnh sau khi mới nở tới 2 tuần tuổi. Các kháng thể từ gia cầm mẹ truyền lưu hành trong máu sẽ tăng từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 3 khi lòng đỏ trứng được hấp thu.

#### 3.2. Đáp ứng miễn dịch của gà ác sau tiêm phòng với hai loại vacxin cúm gia cầm H5N1

Theo quy trình tiêm phòng của nhà sản xuất, chúng tôi tiến hành tiêm phòng 2 loại vacxin cúm gia cầm trên các đàn gà ác lúc 15 ngày tuổi của hai nghiệm thức. Sau đó tiến hành lấy máu xét nghiệm để xác định hiệu giá kháng thể kháng virus cúm gia cầm lúc gà ác được 30, 60, 90, 120, 150 và 180 ngày tuổi. Kết quả được trình bày qua bảng 3 và biểu đồ 1.

Qua bảng 3 và biểu đồ 1, chúng ta nhận thấy: ở 30 ngày tuổi, sau 15 ngày tiêm phòng vacxin cúm gia cầm, số mẫu được phát hiện kháng thể  $>1/16$  ở nghiệm thức 1 là 5/20 (25%) với GMT là  $1,55\log_2$ , cao hơn so với nghiệm thức 2 là 3/20 (15%) với GMT là  $0,9\log_2$ . Tuy nhiên sự khác biệt này giữa hai nghiệm thức là không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ). Số mẫu được phát hiện kháng thể  $>1/16$  sau 15 ngày gà ác được tiêm phòng vacxin cúm gia cầm ở

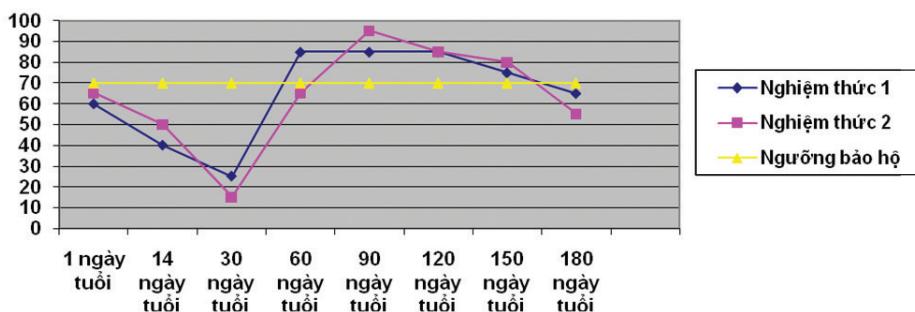
**Bảng 3. Hiệu giá kháng thể trên gà ác lúc 30, 60, 90, 150 và 180 ngày tuổi**

Nghiệm thực	Ngày tuổi	Số mẫu huyết thanh	HGKT HI					GMT (log2)	Số mẫu $\geq 1/16$	Tỷ lệ bảo hộ (%)
			<1/8	1/8	1/16	1/32	1/64			
1	30	20	14	1	1	0	4	1,55	5	25
2	30	20	16	1	1	0	2	0,9	3	15
1	60	20	3	0	0	17	0	4,25	17	85
2	60	20	7	0	1	12	0	3,2	13	65
1	90	20	3	0	0	3	14	5,85	17	85
2	90	20	1	0	5	6	8	5,15	19	95
1	120	20	2	1	1	0	16	6,0	17	85
2	120	20	3	0	2	0	15	5,6	17	85
1	150	20	3	2	1	0	14	5,35	15	75
2	150	20	4	0	4	1	11	4,65	16	80
1	180	20	7	0	3	1	9	4,15	13	65
2	180	20	9	0	3	2	6	3,05	11	55

Ghi chú: HGKT: Hiệu giá kháng thể, GMT: Hiệu giá kháng thể trung bình

Nghiệm thực 1: sử dụng vacxin cúm gia cầm H5N1 Re-6 với quy trình tiêm phòng 1 lần, liều 0,3 ml/con lúc 15 ngày tuổi.

Nghiệm thực 2: sử dụng vacxin cúm gia cầm Navet-Viflucav với quy trình 1 lần, liều 0,5 ml/con lúc 15 ngày tuổi.

**Biểu đồ 1. Biến động tỷ lệ bảo hộ sau khi tiêm phòng vacxin trên 2 nghiệm thực**

nghiệm thực 1 của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả Trần Thị Hồng Liễu (2013) trên một số giống gà khác: gà Tàu vàng 4/15 (26,67%), gà Nòi 3/15 (20%) và gà Lương Phượng 3/15 (20%).

Lúc 60 ngày tuổi, số mẫu được bảo hộ ở nghiệm thực 1 là 17/20 (85%) với GMT là 4,25 log<sub>2</sub>, cao hơn so với nghiệm thực 2 là 13/20 (65%) với GMT là 3,2 log<sub>2</sub>. Tuy nhiên sự khác

biệt này giữa hai nghiệm thực là không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ). Theo Tô Long Thành (2007), tuổi, liều tiêm, đường cấp thuốc, chất bổ trợ và loại vacxin đều ảnh hưởng đến khả năng đáp ứng miễn dịch, mà cụ thể ở đây là 2 loại vacxin cúm gia cầm H5N1 của 2 công ty khác nhau.

Ở 90 ngày tuổi, số mẫu được bảo hộ và hiệu giá kháng thể trung bình (GMT) của 2 nghiệm

thúc đều tăng, tuy nhiên nghiệm thức 1 là 17/20 (85%) với GMT là  $5,85\log_2$ , thấp hơn so với nghiệm thức 2 là 19/20 (95%) với GMT là 5,15  $\log_2$ . Tuy nhiên sự khác biệt này giữa hai nghiệm thức là không có ý nghĩa thống kê ( $p>0,05$ ). Kết quả này cũng cho thấy, khả năng tạo kháng thể trên gà ác sau khi tiêm phòng vaccine A ổn định trong thời gian dài từ 60 đến 90 ngày tuổi; trong khi đó, khả năng tạo kháng thể trên gà ác sau khi tiêm phòng vaccine B từ 65% ở gà 60 ngày tuổi tăng vọt lên 95% khi gà 90 ngày tuổi. Với tỷ lệ bảo hộ này (>70%), đàn gà ở hai nghiệm thức đều được bảo hộ đối với virus cúm.

Sau 120 ngày tuổi, chúng tôi nhận thấy tỷ lệ bảo hộ và hiệu giá kháng thể trung bình (GMT) bắt đầu giảm dần và đến giai đoạn 180 ngày tuổi thì tỷ lệ bảo hộ ở cả 2 nghiệm thức đều dưới mức 70%, cụ thể ở nghiệm thức 1 là 13/20 (65%) với GMT là  $4,15\log_2$ , và ở nghiệm thức 2 là 11/20 (55%) với GMT là  $3,05\log_2$ . Như vậy, tại thời điểm này, đàn gà ở hai nghiệm thức có tỷ lệ bảo hộ thấp (<70%) đối với virus cúm gia cầm, chưa đủ bảo hộ; do vậy, ở thời điểm này đàn gà ác vẫn có nguy cơ nhiễm bệnh khi tiếp xúc với virus cúm gia cầm. Chính vì thế, cơ quan thú y khuyến cáo người chăn nuôi cần thực hiện tốt các biện pháp an toàn sinh học xuyên suốt quá trình chăn nuôi và đặc biệt là cần phải tiêm phòng lặp lại cho đàn gà ác hậu bị lúc 5 hoặc 6 tháng tuổi để đàn gà có đủ miễn dịch và truyền kháng thể bảo hộ chống virus cúm gia cầm H5N1 cho gà con.

#### IV. KẾT LUẬN

Kết quả thử nghiệm trên 2 loại vaccine cúm gia cầm với quy trình 1 lần tiêm lúc gà ác 15 ngày tuổi đều có khả năng tạo đáp ứng miễn dịch tốt. Tuy nhiên ở 30 ngày tuổi và 180 ngày tuổi, hàm lượng kháng thể trên đàn gà của hai nghiệm thức đều thấp, chưa đủ bảo hộ đối với virus cúm gia cầm.

Cả hai loại vaccine trong thí nghiệm này đều cho tỷ lệ bảo hộ không khác biệt nhau trên gà ác tại cùng các thời điểm nghiên cứu.

Kết quả hai loại vaccine cúm gia cầm trên gà ác tại Tiền Giang của đề tài này cho thấy, vaccine H5N1 Re-6 có khả năng tạo đáp ứng miễn dịch nhanh và thời gian miễn dịch kéo dài hơn so với vaccine Navet-Vifluvac.

Cần tiêm phòng lặp lại vaccine cúm gia cầm H5N1 cho đàn gà ác lúc 5 hoặc 6 tháng tuổi.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cục Thú y (2005). Sổ tay hướng dẫn phòng chống bệnh cúm gia cầm và vệ sinh trên người.
2. Cục Thú y (2009). Quy trình hướng dẫn giám sát sau tiêm phòng và giám sát lưu hành virus cúm gia cầm năm 2009.
3. Simon và M. Shane (1997). Handbook on Poultry Diseases. Copyright 1997 by American Soybean Association: 58.
4. Cục Thống kê Tiền Giang (2016). Tổng đàn gia súc-gia cầm tại Tiền Giang năm 2015-2016.
5. Tô Long Thành (2007). Các loại vaccine cúm gia cầm và đánh giá hiệu quả tiêm phòng. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, tập XVI (2) trang 86 - 90
6. Trần Thị Hồng Liễu (2013). Đáp ứng miễn dịch của một số giống gà thả vườn đối với vaccine cúm H5N1 chủng Re-5 tại trại gà Ba Hoàng, quận Bình Thủy, thành phố Cần Thơ. Luận văn thạc sĩ khoa học nông nghiệp, Đại học Cần Thơ.

Ngày nhận 17-9-2017

Ngày phản biện 6-2-2018

Ngày đăng 1-7-2018