



DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.001

KHẢO SÁT ĐỘC LỰC CỦA VIRUS VIÊM GAN VỊT PHÂN LẬP TỪ ĐÀN VỊT TỈNH HẬU GIANG

Phạm Công Uẩn^{1*} và Hồ Thị Việt Thu²

¹Trường Cao đẳng Cộng đồng Kiên Giang

²Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Phạm Công Uẩn (uan.pc@kgcc.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 26/07/2017

Ngày nhận bài sửa: 11/10/2017

Ngày duyệt đăng: 27/02/2018

Title:

Observation of virulence of duck hepatitis virus which was isolated from ducks of Hau Giang province

Từ khóa:

Genotype 3, viêm gan vịt type I, virus, vịt con

Keywords:

Duck hepatitis type I, duckling, genotype 3, virus

ABSTRACT

To observe the virulence and the pathogenicity of duck hepatitis virus type I genotype 3 which was isolated in some provinces in the Mekong delta region, 3-day-old ducklings were employed. The virus strain showed a high virulence on ducklings with $10^{3.3}LD_{50}/0.5ml$. After 1 day inoculation, the virus was able to cause the experimented ducklings dead. The ducklings were ill and dead during 5 days after virus challenge. The mortality rate in challenged ducklings was the highest by the third day and the fourth day of injection. Furthermore, the experimented ducklings typically appeared signs of duck viral hepatitis, such as lethargic depression, watery diarrhea with urates, spasmodic paddling of legs, and followed by opisthotonus and death. In dead ducklings, gross lesions were recorded to be enlarged livers with ecchymotic hemorrhages or reddish discoloration (100.00%), swollen bile ducts (73.30%), enlargement of spleens (63.30%). Additionally, hemorrhages in lungs, gizzards, proventriculus, wollen kidneys and discolored heart muscles were other signs which also found in the dead ducklings. During the experiment, the mortality rate was determined to be 56.0%.

TÓM TẮT

Nghiên cứu cho thấy chủng virus này thể hiện độc lực cao trên vịt con, với độc lực được xác định trên vịt con 3 ngày tuổi là $10^{3.3}LD_{50}/0.5ml$. Sau khi gây nhiễm 1 ngày, virus có khả năng gây chết vịt thí nghiệm. Thời gian gây chết từ 1-5 ngày sau khi gây nhiễm, tập trung cao nhất vào ngày thứ 3, thứ 4 với những triệu chứng điển hình như vịt ít đi lại, tiêu chảy phân trắng, đi ngã về một phía, tư thế chết rất điển hình là vịt nằm nghiêng sườn, đầu ngửa lên lưng. Biến đổi bệnh lý điển hình nhất là ở gan như gan sưng, gan sưng xuất huyết hay có biểu hiện gan nhạt màu chiếm tỷ lệ rất cao 100%, túi mật căng phồng (73,3%), lách sưng (63,3%). Ngoài ra, còn có một số biểu hiện như phổi xuất huyết, thận sưng, cơ tim nhão hay cơ tim nhạt màu và hiện tượng dạ dày cơ, dạ dày tuyến xuất huyết. Tổng số vịt chết trong thời gian thí nghiệm với tỷ lệ 56,0%.

Trích dẫn: Phạm Công Uẩn và Hồ Thị Việt Thu, 2018. Khảo sát độc lực của virus viêm gan vịt phân lập từ đàn vịt tỉnh Hậu Giang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(1B): 1-6.

1 GIỚI THIỆU

Viêm gan vịt do virus là bệnh truyền nhiễm cấp tính ở vịt con. Vịt nhạy cảm nhất với bệnh là lúc mới nở đến dưới 28 ngày tuổi và dần dần trở nên kháng lại với bệnh lúc vịt lớn lên. Bệnh xảy ra nhanh chóng, lây lan nhanh trong toàn đàn và khả năng gây chết đến 90% (Woolcock, 2003). Bệnh này từ lâu được xác định có mặt ở nhiều nước trên thế giới trong đó có Việt Nam.

Nghiên cứu đã phân lập được chủng virus viêm gan vịt type I genotype 3 ở nhiều tỉnh thuộc khu vực Đồng bằng sông Cửu Long và nhận thấy bệnh xảy ra ngày càng nhiều trên những đàn vịt con do những nông hộ nuôi ngoài tự nhiên.

Hơn nữa, trong quá trình tiến hóa và thích nghi với môi trường sống làm cho độc lực virus có nhiều biến đổi và diễn biến bệnh lý của các chủng virus viêm gan vịt có nhiều điểm giống nhau khó phân biệt. Cho nên, việc khảo sát độc lực và tính gây bệnh của chủng virus này trên vịt con là hết sức cần thiết, nhằm hiểu rõ hơn khả năng gây bệnh và những triệu chứng, bệnh tích điển hình của bệnh; từ đó cung cấp thêm thông tin về bệnh viêm gan vịt do virus để chẩn đoán kịp thời khi dịch bệnh xảy ra trong những điều kiện chưa chẩn đoán được bằng các kỹ thuật xét nghiệm hiện đại khác.

2 PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương tiện nghiên cứu

– Vịt con 3 ngày tuổi được ấp nở từ nguồn trứng thu thập từ đàn vịt bố mẹ đã được xác định không có kháng thể kháng virus viêm gan vịt type I genotype 3 bằng phản ứng trung hòa virus.

– Chủng virus viêm gan vịt type I genotype 3 (chủng HG2) được phân lập ở tỉnh Hậu Giang (Phạm Công Uẩn và Hồ Thị Việt Thu, 2014).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Xác định liều gây chết vịt con 50% (LD₅₀ – Duck Lethal dose 50%)

Việc xác định liều gây chết vịt con 50% (LD₅₀) được thực hiện theo phương pháp của Reed and Muench (1938).

– Huyền dịch virus được pha loãng theo logarit thập phân (log) từ 10⁻¹ đến 10⁻⁵

– Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên có 5 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Mỗi nghiệm thức tương ứng với một độ pha loãng, mỗi nghiệm thức 5 vịt con. Mỗi đợt thí nghiệm sử dụng 25 vịt con. Như vậy, với 3 lần lặp lại cần 75 vịt con đồng đều khỏe mạnh, các nghiệm thức được bố trí riêng lẻ.

– Tiêm 0,5 ml dịch virus đã pha loãng theo từng nồng độ vào cơ ức vịt con 3 ngày tuổi. Sau khi gây nhiễm, quan sát và ghi nhận các triệu chứng, vịt mới chết mổ khám ghi nhận bệnh tích đại thể.

Trong thời gian thí nghiệm vịt được cung cấp đủ thức ăn và nước uống. Thời gian theo dõi 14 ngày sau khi gây nhiễm; quan sát triệu chứng và mổ khám bệnh tích/chụp ảnh.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả xác định liều gây chết 50% trên vịt con

Kết quả xác định tỷ lệ chết của vịt thí nghiệm theo từng nồng độ được trình bày qua Bảng 1.

Bảng 1: Tỷ lệ vịt con chết ở các nồng độ virus khác nhau

Độ pha loãng	Kết quả thí nghiệm		Kết quả tính		Số vịt chết/tổng số (con)	Tỷ lệ chết (%)
	Vịt chết (con)	Vịt sống (con)	Vịt chết (con)	Vịt sống (con)		
10 ⁻¹	13	2	42	2	42/44	95,5
10 ⁻²	11	4	29	6	29/35	82,9
10 ⁻³	8	7	18	13	18/31	58,1
10 ⁻⁴	6	9	10	22	10/32	31,3
10 ⁻⁵	4	11	4	33	4/37	10,8

Bảng 1 cho thấy, vịt chết chiếm tỷ lệ cao ở những độ pha loãng có hiệu giá virus cao và giảm dần ở những độ pha loãng có hiệu giá virus thấp. Độ pha loãng 10⁻¹, 10⁻² và 10⁻³ có tỷ lệ vịt chết cao hơn 50%; độ pha loãng 10⁻⁴ và 10⁻⁵ có tỷ lệ vịt chết dưới 50%.

Như vậy, dựa vào tỷ lệ vịt chết ở từng nồng độ, xác định liều gây chết 50% (LD₅₀) trên vịt con theo

phương pháp cân đối sinh học (Bảng 1) của Reed and Muench (1938).

$$LgDLD_{50} = LgDLD_{<50} + pd \times Lgf$$

$$\text{Trong đó } pd = \frac{50 - LD < 50}{LD > 50\% - LD < 50\%}$$

LD<50: tỷ lệ chết cận dưới 50%

LD>50: tỷ lệ chết cận trên 50%

pd (Proportional distance): khoảng cách tỷ lệ

$$Lgf = Lg10 = 1$$

Từ kết quả Bảng 1 cho thấy, khi tiêm 0,5 ml huyền dịch virus pha loãng ở nồng độ 10^{-3} gây chết cận trên 50% và 0,5 ml huyền dịch virus pha loãng ở nồng độ 10^{-4} gây chết cận dưới 50%. Từ đó ta có

$$pd = \frac{50 - 31,3}{58,1 - 31,3} = 0,7$$

$$Lg LD_{50} = LgLD_{<50} + pd \times lgf = -4 + 0,7 \times 1 = -3,3$$

Kết quả trên cho thấy, khi tiêm 0,5 ml dịch virus ở độ pha loãng $10^{-3.3}$ sẽ gây chết 50% vịt con thí nghiệm, nghĩa là 0,5 ml huyền dịch virus gốc có chứa $10^{3.3}$ liều gây chết 50 % trên vịt con. Qua đó cho thấy, chủng HG2 phân lập ngoài thực địa có độc lực cao với vịt con. Theo kết quả nghiên cứu của Woolcock (2008), khi công cường độc cho vịt con thí nghiệm từ 1-7 ngày tuổi với liều $10^3 LD_{50}/ml$ tỷ lệ chết lên tới 80-100%.

3.2 Khảo sát số vịt chết trung bình theo thời gian

Kết quả theo dõi số vịt chết theo từng ngày ở các nồng độ khác nhau được trình bày qua Bảng 2.

Bảng 2: Tỷ lệ vịt chết trung bình theo thời gian (n = 75)

Độ pha loãng	Số vịt chết theo ngày						Trung bình (con/ngày)
	Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	
10^{-1}	4	4	2	3	0	0	2,16 ± 1,84
10^{-2}	4	2	3	2	0	0	1,83 ± 1,60
10^{-3}	0	2	3	2	1	0	1,33 ± 1,21
10^{-4}	0	1	2	2	1	0	1,0 ± 0,89
10^{-5}	0	0	2	2	0	0	0,67 ± 0,98
Tổng (con)	8/75	9/75	12/75	11/75	2/75	0/75	42/75
Tỷ lệ %	10,66	12,0	16,0	14,67	2,67	0	56,0

Bảng 2 cho thấy, trong 75 vịt thí nghiệm có 42 vịt chết, số vịt chết được ghi nhận sau khi gây nhiễm từ 1-6 ngày. Ở các độ pha loãng khác nhau, sau gây nhiễm 1 ngày bắt đầu phát hiện vịt chết với tỷ lệ 10,66%, tỷ lệ vịt chết tăng dần và tập trung từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 4, cao nhất là ngày thứ 3 (16%) và ngày thứ 4 (14,67%), giảm dần ở ngày thứ 5 (2,67%), đến ngày thứ 6 không còn phát hiện vịt chết.

Như vậy, ở các độ pha loãng khác nhau, sau khi gây nhiễm cho vịt con 3 ngày tuổi đều gây chết vịt thí nghiệm. Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự với Woolcock (1986), khi gây nhiễm cho vịt con từ 1-7 ngày tuổi bằng huyền dịch virus viêm gan vịt type I, sau khi gây nhiễm từ 1-2 ngày thấy vịt chết và thường bắt đầu chết ở 1 ngày sau khi gây nhiễm. Theo nhận xét của Shane (2005), khi virus xâm nhập vào cơ thể, virus có thời gian nung bệnh từ 1-5 ngày, đôi khi kéo dài từ 8-15 ngày. Thời gian nung bệnh tùy thuộc vào độc lực của virus và tình trạng sức khỏe của cơ thể. Trên thực tế tất cả vịt bị nhiễm bệnh và chết chỉ sau 3-4 ngày.

Qua đó cho thấy rằng, khi tiêm huyền dịch virus độc lực với hiệu giá virus cao làm cho vịt chết nhanh ở những ngày đầu sau khi nhiễm; nếu hiệu giá virus thấp thì số vịt chết cũng chậm dần theo thời gian. Tuy nhiên, dù hiệu giá virus thấp nhưng khi gây nhiễm và sau thời gian nung bệnh đều có khả năng gây chết cho vịt con.

Kết quả ghi nhận số vịt chết trung bình theo ngày cho thấy, vịt chết trung bình ở độ pha loãng 10^{-1} chiếm tỷ lệ cao 2,16 con/ngày, độ pha loãng 10^{-2} là 1,83 con/ngày, độ pha loãng 10^{-3} là 1,33 con/ngày, độ pha loãng 10^{-4} là 1,0 con/ngày và độ pha loãng 10^{-5} là 0,67 con/ngày. Qua thí nghiệm cho thấy, chủng virus viêm gan vịt type I genotype 3 (chủng HG2) có độc lực cao trên vịt con với tỷ lệ gây chết ở 5 độ pha loãng từ 10^{-1} đến 10^{-5} trong đợt thí nghiệm là 56,0%.

3.3 Khảo sát triệu chứng lâm sàng ở vịt thí nghiệm

Kết quả khảo sát triệu chứng lâm sàng ở vịt thí nghiệm sau khi gây nhiễm được trình bày qua Bảng 3.

Bảng 3: Tần suất xuất hiện triệu chứng ở vịt thí nghiệm (n = 75)

Triệu chứng	Tần suất xuất hiện triệu chứng theo nồng độ					Tổng (con)	Tỷ lệ %
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵		
Ít và không đi lại	14	12	12	10	10	58/75	77,3
Bỏ ăn, ủ rũ	12	10	8	5	3	38/75	50,7
Khô chân	12	8	7	4	2	33/75	44,0
Tiêu chảy phân trắng	8	5	5	4	3	25/75	33,3
Co giật	5	5	3	1	0	14/75	18,7
Nằm nghiêng sườn, đầu ngửa lên lưng	11	9	7	7	2	36/75	48,0
Chảy dịch mũi	6	5	3	1	1	16/75	21,3

Bảng 3 cho thấy, triệu chứng lâm sàng của vịt thí nghiệm sau khi gây nhiễm như vịt ít đi lại hoặc không đi lại chiếm tỷ lệ cao 77,3%; vịt bỏ ăn, ủ rũ chiếm tỷ lệ 50%; trước khi chết vịt nằm nghiêng sườn hoặc đầu ngửa lên lưng chiếm tỷ lệ 48,0%; các dấu hiệu khác như khô chân, suy yếu 44,0%; tiêu chảy phân trắng 33,3%; chảy dịch mũi 21,3% và biểu hiện thần kinh co giật 18,7%, vịt chết nhanh sau khi biểu hiện triệu chứng. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với một số tác giả như Nguyễn Văn Cẩm và *ctv.* (2001), Farmer *et al.*

(1987), Tseng and Tsai (2007), đầu tiên vịt con nhiễm bệnh không theo kịp với đàn, trong thời gian ngắn vịt ít đi chuyển hoặc ngừng hẳn. Vịt thường nằm, mắt nhắm, ủ rũ, bỏ ăn, mất thăng bằng, vịt đi ngã về một phía, cả hai chân co giật, chết với tư thế đầu ngửa về phía sau hoặc bên sườn.

Trên đây là những biểu hiện về triệu chứng lâm sàng rất điển hình của chủng virus viêm gan vịt type I genotype 3 và cũng là thông tin hết sức cần thiết nhằm phục vụ cho nghiên cứu, chẩn đoán bệnh viêm gan vịt do virus.



Hình 1: Vịt con ủ rũ bỏ ăn, ít đi lại



Hình 2: Vịt con co giật



Hình 3: Vịt con chết nằm nghiêng sườn



Hình 4: Vịt con khô chân và chảy dịch mũi

3.4 Khảo sát bệnh tích đại thể trên vịt thí nghiệm qua mổ khám

Kết quả khảo sát bệnh tích đại thể qua mổ

khám 30 vịt chết trong thí nghiệm được trình bày qua Bảng 4.

Bảng 4: Tần suất xuất hiện bệnh tích ở vịt trong thí nghiệm (n =30)

Bệnh tích	Tần suất xuất hiện bệnh tích theo nồng độ					Tổng (con)	Tỷ lệ %
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵		
Gan sưng, sưng xuất huyết	10	7	6	4	3	30/30	100
Mật căng phồng	8	6	4	2	2	22/30	73,3
Lách sưng	6	4	4	2	3	19/30	63,3
Phổi xuất huyết	5	5	4	2	1	17/30	56,6
Cơ tim nhão	3	3	1	0	0	7/30	23,3
Thận sưng	2	1	1	0	1	5/30	16,6
Dạ dày tuyến xuất huyết	1	1	1	0	0	3/30	10,0
Dạ dày cơ xuất huyết	1	0	1	0	0	2/30	6,7

Bảng 4 cho thấy, tần suất xuất hiện bệnh tích cao nhất là gan sưng, gan sưng xuất huyết, hay có hiện tượng gan nhạt màu chiếm tỷ lệ cao (100%); những biểu hiện túi mật căng phồng (73,3%), lách sưng (63,3%) và phổi xuất huyết (56,6%). Ngoài ra, bệnh tích xuất hiện ở một số cơ quan khác như thận sưng (16,6%), cơ tim nhão hay cơ tim nhạt màu (23,3%) và hiện tượng dạ dày cơ xuất huyết. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của một số tác giả khác, theo Woolcock (1986) và Kim *et al.* (2007), quan sát bệnh tích đại thể của vịt nhiễm virus viêm gan vịt type 1 nhận xét, vịt nhiễm bệnh khi chết bệnh tích xuất hiện chủ yếu ở gan, gan sưng xuất huyết và dễ vỡ, lách sưng và sưng thận do mạch máu bị tắc nghẽn. Có những điểm hoại tử

nhỏ ở trong gan, ống mật tăng sinh, viêm tế bào gan và xuất huyết. Nghiên cứu của Haider and Calnek (1979) cũng có kết quả như gan sưng với các đốm xuất huyết hoặc nhiều vết xuất huyết, gan nhạt màu hoặc có các vằn đỏ trên bề mặt gan, lách đôi khi sưng và có các vằn đỏ. Trong phần lớn các trường hợp, thận sưng và các mạch máu ở thận sưng huyết.

Như vậy, từ kết quả nghiên cứu trong thí nghiệm cho thấy, vịt khi chết biểu hiện bệnh tích rất điển hình của bệnh viêm gan vịt do virus. Đây là những thông tin hết sức cần thiết để chẩn đoán và xử lý kịp thời khi dịch bệnh xảy ra trước khi sử dụng các biện pháp xét nghiệm khác.



Hình 5: Mật vịt căng phồng



Hình 6: Gan vịt sưng xuất huyết



Hình 7: Thận vịt sưng



Hình 8: Lách vịt sưng

4 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

4.1 Kết luận

Chủng virus viêm gan vịt type I genotype 3 (chủng HG2) phân lập ở tỉnh Hậu Giang có độc lực cao trên vịt con 3 ngày tuổi, với độc lực được xác định là $10^{3.3}LD_{50}/0,5$ ml. Khi gây nhiễm, virus biểu hiện bệnh lý rất điển hình trên vịt con như triệu chứng vịt ủ rũ bỏ ăn, ít và không đi lại, nằm nghiêng sườn đầu ngửa lên lưng và bệnh tích gan sưng, sung xuất huyết, mật căng phồng, lách sưng. Đây là những thông tin hết sức cần thiết nhằm phục vụ trong chẩn đoán bệnh và trong nghiên cứu.

4.2 Đề xuất

Cần phân lập những chủng virus viêm gan vịt type I thuộc genotype khác, virus viêm gan vịt type 2 và type 3 để hiểu rõ thêm về tính chất dịch tễ và bệnh lý gây ra bởi những chủng virus trong vùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Farmer, H., Chalmers, W.S.K. and Woolcock, P. R., 1987. The duck fatty kidney syndrome- An aspect of duck viral hepatitis. *Avian Pathology* 16 (2):227-236.

Haider, S.A and Calnek B.W., 1979. In vitro isolation, propagation and characterisation of duck hepatitis virus type 3. *Avian Diseases*, 23: 715-729.

Kim, M.C., Kwon, Y.K., Joh, S.J., Kim, S.J., Tolf, C., Kim, J.H., Sung, H.W., Lindberg, A.M and Kwon, J.H., 2007. Recent Korean isolates of duck hepatitis virus reveal the presence of a new geno- and serotype when compared to duck

hepatitis virus type 1 type strains. *Archives of virology*, 152(11) 2059-72.

Nguyễn Văn Cẩm, Nguyễn Thị Thu Hà, Nguyễn Khánh Ly, 2001. Nghiên cứu biến đổi bệnh lý bệnh viêm gan virus vịt. *Khoa học và Kỹ thuật thú y*, 8 (4). Hội thú y Việt Nam, tr.48-51.

Phạm Công Uẩn và Hồ Thị Việt Thu, 2014. Phân lập và định danh virus viêm gan vịt type 1 ở tỉnh Hậu Giang. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Số chuyên đề: Nông nghiệp*, 2: 116-121.

Shane, S.M., 2005. Adenoviral infection. *Handbook on Poultry Diseases*, 2th Ed. American Soybean Association, Singapore 2005:126-128.

Reed, J.I and Muench, H., 1938. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Epidemiology*, 27 (3): 493-497.

Tseng, C.H., and Tsai, H.J., 2007. Molecular characterization of a new serotype of duck hepatitis virus. *Virus Research*, 126 (1) 19-31.

Woolcock. P. R., 1986. An assay for duck hepatitis virus type I in duck embryo liver cell and a comparison with other assay. *Avian Pathology*, 15(1): 75-82.

Woolcock P.R, 2003. Duck hepatitis. In: Saif, Y.M., Barnes, H.J., Glisson, J.R., Fadly, A.M., McDougald, L.R., and Swayne, DE., (eds). *Diseases of Poultry*, 11th ed. Iowa State Press, Ames, IA:343-354.

Woolcock. P.R., 2008. Duck hepatitis. In: Saif Y.M., Fadly A.M., Glisson J.R., McDougald L.R., Nolan L.K. and Swayne D.E., (eds). *Diseases of Poultry*, 12th ed. Blackwell Publishing:373-384.