

MỘT SỐ CHỈ TIÊU SINH HOÁ MÁU VÀ BỆNH TÍCH CỦA GÀ MẮC BỆNH VIÊM RUỘT HOẠI TỬ DO *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* MANG GEN ĐỘC *CPA*, *CPB*

Nguyễn Đình Thuý Khương¹, Huỳnh Văn Chương², Hồ Thị Dung¹, Trần Quang Vui¹,
Trần Thị Na¹, Hồ Thị Khánh Linh¹, Phan Long Nhật¹, Đặng Ngọc Sơn³,
Nguyễn Xuân Hoà^{1*}

¹ Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế;

² Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế;

³ Chi cục Chăn nuôi và Thú y Thành phố Đà Nẵng.

*Tác giả liên hệ: nguyensexuanhoa@huaf.edu.vn

Nhận bài: 25/10/2025 Hoàn thành phần biện: 28/11/2025 Chấp nhận bài: 03/12/2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 10/2024 đến 7/2025 nhằm đánh giá độc lực của vi khuẩn *Clostridium perfringens* mang gen *cpa* và *cpb* trên gà. Thí nghiệm được tiến hành trên 90 gà MD2.BĐ, chia ngẫu nhiên thành 3 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Mẫu máu tại tĩnh mạch cánh được dùng để phân tích sinh hóa, và mẫu ruột được lấy để xác định tổn thương mô bệnh học bằng phương pháp nhuộm HE. Các mẫu được thu thập tại 1, 3 và 7 ngày sau gây nhiễm. Kết quả cho thấy nồng độ creatinine tăng sớm và duy trì cao ở cả hai nhóm gà đã gây nhiễm bởi *C. perfringens* mang gene *cpa*, *cpb* so với đối chứng. Nhóm gà nhiễm vi khuẩn mang gen *cpa* có chỉ số LDH và phosphatase kiềm tăng điển hình, trong khi nhóm *cpb* tăng AST ở giai đoạn muộn. Bilirubin và ALT biến động không đáng kể. Về bệnh tích đại thể, nhóm gà mang *cpb* chịu tổn thương nặng nhất với xuất huyết và tróc niêm mạc ruột (100% tại 3 ngày sau gây nhiễm), gan lách sưng; nhóm *cpa* tổn thương sớm nhưng mức độ nhẹ hơn. Đáng chú ý, mô bệnh học chưa phát hiện hoại tử cấu trúc hoặc sự xâm nhập vi khuẩn rõ rệt. Kết quả khẳng định chủng vi khuẩn mang gen *cpb* gây tổn thương đại thể nghiêm trọng hơn chủng *cpa*.

Từ khóa: Gà, *Clostridium perfringens*, *cpa*, *cpb*

SOME BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS AND PATHOLOGICAL LESIONS OF CHICKENS WITH NECROTIC ENTERITIS CAUSED BY *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* CARRYING *CPA* AND *CPB* TOXIN GENE

Nguyen Dinh Thuy Khuong¹, Huynh Van Chuong², Ho Thi Dung¹, Tran Quang Vui¹,
Tran Thi Na¹, Ho Thi Khanh Linh¹, Phan Long Nhat¹, Dang Ngoc Son³,
Nguyen Xuan Hoa^{1*}

¹University of Agriculture and Forestry, Hue University;

²Institute of Biotechnology, Hue University;

³Animal Husbandry and Veterinary Sub-department of Da Nang.

*Corresponding author: nguyensexuanhoa@huaf.edu.vn

Received: 25/10/2025

Revised: 28/11/2025

Accepted: 03/12/2025

ABSTRACT

This study, conducted from October 2024 to July 2025, aimed to evaluate the virulence of *Clostridium perfringens* carrying the toxin genes *cpa* and *cpb* in chickens. The experiment was conducted on a total of 90 MD2.BĐ chickens, which were randomly assigned three treatment groups, with three replicates per treatment. Blood samples were collected from the wing vein for biochemical analysis, and intestinal samples were simultaneously taken for histopathological assessment using Hematoxylin and Eosin (H&E) staining. All samples were collected at 1, 3 and 7 days post infection (dpi). Results showed that serum creatinine levels increased early and remained high in both groups of chickens infected with *C. perfringens* carrying the *cpa* and *cpb* genes compared to the control group. Chickens infected with the *cpa* gene carrying isolates showed a typical increase in LDH and alkaline phosphatase (ALP) levels, while the *cpb* group exhibited a late increase in AST. Bilirubin and ALT levels showed no significant changes. Regarding gross lesions, the *cpb* group suffered the most severe

damage, with intestinal hemorrhage and mucosal peeling (100% at 3 dpi), along with swollen, pale liver and mild splenomegaly; the *cpa* group showed earlier but milder lesions. Notably, histopathology did not detect structural necrosis or clear bacterial invasion in either group at the time points surveyed. The findings confirm that the bacterial strain carrying the *cpb* gene causes more severe gross lesions than the *cpa* strain.

Keywords: Chicken, *Clostridium perfringens*, *cpa*, *cpb*

1. MỞ ĐẦU

Clostridium perfringens là một loài vi khuẩn yếm khí Gram dương, thường tồn tại trong dịch đường ruột của động vật có vú và gia cầm bình thường với mật độ từ 10^2 đến 10^6 CFU/ml. Khi gặp các điều kiện bất lợi cho cơ thể như mất cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột, cầu trùng hoặc chế độ dinh dưỡng giàu protein, vi khuẩn này có khả năng nhân lên nhanh chóng và sản sinh độc tố, dẫn đến hoại tử niêm mạc ruột, sinh hơi. *C. perfringens* được phân loại thành năm type chính (A, B, C, D và E), sản xuất khoảng 30 loại độc tố, trong đó bốn loại chính bao gồm alpha (α , *cpa*), beta (β , *cpb*), iota (i , *cpj*) và epsilon (ϵ , *etx*) (Uzal và cs., 2010).

Các chủng *C. perfringens* type A là nguyên nhân chính gây viêm ruột hoại tử (necrotic enteritis - NE) ở gà, được ghi nhận trên toàn cầu tại các khu vực sản xuất gia cầm, gây thiệt hại kinh tế lớn do giảm hiệu suất sản xuất và tăng chi phí kiểm soát. Dạng cận lâm sàng của bệnh ảnh hưởng tiêu cực đến hệ số chuyển hóa thức ăn (FCR) mà không gây tử vong cao, dẫn đến kéo dài thời gian nuôi và giảm lợi nhuận, thường bị bỏ qua do triệu chứng không rõ ràng (Keyburn và cs., 2006).

Gà mắc bệnh xuất hiện các mảng hoại tử ở niêm mạc ruột, chủ yếu tại tá tràng, không tràng hoặc manh tràng. Niêm mạc dày lên, phù nề, với các lớp hoại tử bong ra hình thành màng giả. Về mặt vi thể, lớp dưới niêm mạc chứa nhiều tế bào viêm như đại thực bào, bạch cầu ái toan và xuất huyết cục bộ. Vi khuẩn *C. perfringens* thường tập trung trong vùng hoại tử dưới dạng cụm

hoặc mảng (Van Immerseel và cs., 2004; Prescott, 2016). Trong một số trường hợp, gan bị sưng phù và đổi màu do độc tố vi khuẩn lan tỏa, với hoại tử khu trú hoặc lan rộng, đôi khi kèm viêm mủ. Thâm nhiễm đại thực bào và bạch cầu đơn nhân tại vùng hoại tử, cùng hiện tượng thoái hóa mỡ (fatty degeneration) ở dạng mãn tính khi độc tố xâm nhập tuần hoàn (Shojadoost và cs., 2012). Lách thường tăng sinh trung tâm mầm (germinal centers), phản ánh phản ứng miễn dịch hệ thống. Dạng hoại tử khu trú hoặc viêm hạt thường hiếm gặp, và vi khuẩn ít hiện diện trong lách nhưng có thể phát hiện trong nhiễm độc toàn thân (Timbermont và cs., 2011). Gà bị bệnh viêm ruột hoại tử về bệnh tích thường gặp các tổn thương ở gan, thận và rối loạn chuyển hóa đồng thời thay đổi các chức năng sinh hoá máu (Khodary và cs., 2019; Almremdhy và cs., 2024; Tian và cs., 2024).

Các chủng *C. perfringens* gây viêm ruột hoại tử (NE) ở gà thường là Type A, sản xuất alpha toxin (mã hoá bởi gen *cpa*) (Uzal và cs., 2010). Tuy gen độc tố NetB hiện nay được xem là yếu tố độc lực thiết yếu chính trong các chủng Type A gây NE, alpha-toxin vẫn có vai trò gây tổn thương mô (Van Immerseel và cs., 2009). Ngược lại, beta-toxin (mã hoá bởi gen *cpb*) thường liên quan đến bệnh viêm ruột hoại tử Type C ở động vật có vú (Uzal và cs., 2010). Việc nghiên cứu chủng mang gen *cpb* trong bệnh cảnh NE ở gà, mặc dù hiếm gặp hơn, là cần thiết để đánh giá tiềm năng gây bệnh và cơ chế tổn thương của beta-toxin lên niêm mạc ruột gà, đặc biệt khi các chủng này có thể

tồn tại trong điều kiện chăn nuôi thực tế tại địa phương

Trong bối cảnh chăn nuôi gia cầm đang được đẩy mạnh tại khu vực Thành phố Huế (Ủy ban nhân dân tỉnh Thừa Thiên Huế, 2022), hiểu biết về biến đổi bệnh lý và chỉ tiêu huyết học của gà bị nhiễm *C. perfringens* mang gen độc *cpa*, *cpb* sẽ góp phần vào đề xuất giải pháp can thiệp và điều trị hiệu quả. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá một số chỉ tiêu sinh hoá máu và bệnh tích của gà sau khi gây nhiễm thực nghiệm với các chủng *C. perfringens* mang gen độc tổ *cpa* và *cpb*

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Ảnh hưởng của vi khuẩn *C. perfringens* mang gene độc tổ *cpa*, *cpb* gây bệnh đến các chỉ tiêu sinh hoá của gà.

Bệnh tích đại thể và vi thể chủ yếu của gà mắc bệnh viêm ruột hoại tử do *C. perfringens* mang gene độc tổ *cpa*, *cpb* gây ra.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Mẫu được xử lý tại phòng Vi sinh truyền nhiễm Khoa Chăn nuôi Thú y và Phòng thí nghiệm Miễn dịch, Viện công nghệ sinh học, Đại học Huế, từ tháng 10/2024 đến tháng 7/2025.

2.3. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu vi khuẩn *C. perfringens* mang gene độc tổ *cpa*, *cpb* đã được phân lập, định danh được tài trợ bởi dự án thông qua Hợp đồng số 01/HD-KHCN ngày 20 tháng 02 năm 2024 giữa Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (nay là Bộ Nông nghiệp và Môi trường) và Viện Công nghệ sinh học, Đại học Huế đã được sử dụng để gây nhiễm cho gà.

Tổng 90 gà địa phương lai với gà đá (MD2.BĐ) thí nghiệm trong giai đoạn 1 - 28 ngày tuổi được chia ngẫu nhiên thành 3 nghiệm thức (NT), với 10 con/ nghiệm thức, thí nghiệm lặp lại 3 lần. Cách bố trí các NT như sau: NT 1: gà không bị gây nhiễm với *C. perfringens*; NT 2: gà bị gây nhiễm với *C. perfringens* mang gen độc tổ *cpa*; NT 3: gà bị gây nhiễm với *C. perfringens* mang gen độc tổ *cpb*.

Gà được cho ăn thức ăn hỗn hợp hoàn chỉnh theo công thức tự phối trộn từ các nguyên liệu có sẵn: ngô, cám gạo, khô dầu đậu tương, bột thịt, bã ngô lên men, muối ăn... Đối với giai đoạn gà con (1 - 28 ngày tuổi), khẩu phần thức ăn được xây dựng dựa trên các chỉ tiêu tối thiểu quy định trong Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN 2265:2020 không có kháng sinh để tránh ảnh hưởng đến quá trình nhiễm bệnh (Shojadoost và cs., 2012). Các chỉ tiêu dinh dưỡng quan trọng của thức ăn hỗn hợp trong giai đoạn này bao gồm: Năng lượng trao đổi tối thiểu 2.900 kcal/kg và protein thô tối thiểu 20,0%.

2.3.2. Phương pháp nghiên cứu

Đánh giá ảnh hưởng của vi khuẩn *C. perfringens* mang gene độc tổ *cpa*, *cpb*

Tất cả gà trong nhóm thử thách ở nhóm 2 và nhóm 3 được gây nhiễm *C. perfringens* qua đường miệng được thực hiện theo mô tả của Wu và cs. (2014) bằng cách bơm trực tiếp dung dịch vi khuẩn vào dạ dày của gà bằng kim cho uống thuốc chuyên dụng có đầu tù. Trước quá trình gây nhiễm, gà được cho uống thuốc an thần chống stress (Noptress). Lượng vi khuẩn sử dụng: 1 mL dung dịch chứa 10^8 - 10^9 CFU/mL đối với nhóm 2 và 3 và 1 mL nước cất đối với nhóm 1, gây nhiễm hàng ngày trong 4 ngày liên tục (Gholamiandehkordi và cs., 2007) vào lúc gà 18 ngày tuổi.

Mẫu máu của gà được lấy vào buổi sáng từ tĩnh mạch các 2 con gà (1 trống, 1 mái) trong mỗi nghiệm thức vào các thời điểm cụ thể (1, 3 và 7 ngày sau gây nhiễm) sau đó cho vào ống có chứa chất chống đông EDTA (Medcomtech, thành phố Hồ Chí Minh, Việt Nam). Tổng 54 mẫu máu gà được lấy sau khi gây nhiễm được bảo quản lạnh và xử lý theo quy trình để xác định các đặc tính sinh hoá. Mẫu máu sau khi thu thập được tiến hành phân tích các chỉ tiêu sinh hóa bằng hệ thống Sinh hóa - miễn dịch Cobas 6000 (Roche, Thụy Sĩ) tại Trung tâm Y khoa Phong Châu - Thành phố Huế.

Đánh giá tổn thương bệnh tích đại thể

Sau khi gây nhiễm, gà thí nghiệm được tiến hành mổ khám vào các thời điểm cụ thể (1, 3 và 7 ngày sau gây nhiễm) để thu thập mẫu (Gholamiandehkordi và cs., 2007).

Đánh giá tổn thương vi thể:

Mẫu ruột non sau khi lấy máu và mổ khám sẽ được thu và bảo quản trong lọ formaldehyde 10% đã được kí hiệu để làm tiêu bản vi thể, xác định cấu tạo biểu mô bằng phương pháp nhuộm hematoxylin and eosin (HE).

Phương pháp thu thập và xử lý số liệu: Dữ liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm SPSS phiên bản 26.0. Phân tích phương sai (ANOVA) được sử dụng để đánh giá sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Khi có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), kiểm định Tukey được áp dụng để so sánh các giá trị trung bình. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn giá trị trung bình (Mean \pm SD).

Các thí nghiệm trên gà MD2.BD đã được Hội đồng Đạo đức phê duyệt với mã số HUVN0056.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của vi khuẩn *C. perfringens* tới các chỉ tiêu sinh hóa máu của gà

Các chỉ số huyết học phản ánh quá trình chuyển hóa chất dinh dưỡng trong cơ thể và là dấu hiệu cho thấy sự thay đổi của các yếu tố nội tại hoặc ngoại cảnh (Hu và cs., 2015). Những chỉ số này thể hiện tình trạng sức khỏe của động vật và chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như môi trường, tình trạng bệnh lý, chất lượng thức ăn và việc sử dụng thuốc (Chaturvedani và cs., 2017; Abdul Basit và cs., 2020). Bảng 1 trình bày các chỉ tiêu sinh hóa máu của gà khi nhiễm vi khuẩn *C. perfringens*.

Creatinine là sản phẩm thải của quá trình chuyển hóa cơ, được lọc qua thận, phản ánh chức năng thận. Một ngày sau gây nhiễm, nồng độ creatinine ở nhóm đối chứng (ĐC) thấp hơn so với nhóm *cpb* và *cpa*, sai khác có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), cho thấy chức năng thận của các nhóm nhiễm khuẩn bị ảnh hưởng sớm. Ba ngày sau gây nhiễm, nhóm ĐC vẫn duy trì mức creatinine thấp hơn nhóm *cpb* ($p < 0,05$), trong khi nhóm *cpa* không khác biệt rõ với ĐC nhưng thấp hơn *cpb*. Bảy ngày sau gây nhiễm, creatinine ở ĐC tiếp tục thấp hơn cả *cpb* và *cpa* ($p < 0,05$). Theo thời gian, creatinine ở ĐC giảm từ ngày 1 đến ngày 3 và duy trì ở mức thấp. Ở nhóm *cpb*, creatinine tăng nhẹ rồi giảm nhưng vẫn cao hơn ĐC. Nhóm *cpa* giảm từ ngày 1 đến ngày 3, sau đó tăng trở lại vào ngày 7, cho thấy phản ứng động của thận đối với vi khuẩn hoặc can thiệp. Sự tăng sớm và duy trì cao của creatinine ở cả hai nhóm gây nhiễm cho thấy vi khuẩn hoặc độc tố đã nhanh chóng ảnh hưởng đến chức năng thận, nơi creatinine được lọc và bài tiết.

Trong khi đó AST và ALT là các enzyme đánh giá tổn thương gan. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi không ghi nhận sự

khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ AST giữa các thời điểm ($p > 0,05$). Tại ngày 1 giá trị trung bình AST ở nhóm *cpb* và *cpa* cao hơn nhóm đối chứng (đặc biệt nhóm *cpb*). Đến ngày 7, nhóm *cpb* có xu hướng tăng AST rõ rệt, trong khi nhóm *cpa* giảm dần và gần trở về mức nhóm đối chứng. Xu hướng tăng muộn này ở nhóm *cpb* có thể gợi ý tổn thương gan thứ phát hoặc tăng hoạt động chuyển hóa do độc tố *C. perfringens*, dù chưa đủ ý nghĩa thống kê trong nghiên cứu hiện tại. Giá trị ALT thấp và không có khác biệt rõ giữa các nhóm hoặc thời điểm, cho thấy tổn thương gan (nếu có) không nghiêm trọng hoặc không phản ánh rõ qua ALT trong nghiên cứu này. Sự tăng AST ở *cpb* ngày 7, dù không có ý nghĩa thống kê, có thể gợi ý tổn thương gan muộn hoặc tăng hoạt động chuyển hóa gan do Beta toxin (*cpb*) (Lovland và Kaldhusdal, 2001). Cùng với đó bilirubin là sản phẩm thoái hóa hemoglobin, chuyển hóa tại gan. Không có khác biệt đáng kể về bilirubin (tổng số, trực tiếp, gián tiếp) giữa các nhóm qua các thời điểm (Gharib-Naseri và cs., 2019). Giá trị bilirubin nằm trong khoảng thấp, cho thấy ít rối loạn chuyển hóa

bilirubin nghiêm trọng. Nhóm *cpb* có xu hướng tăng bilirubin tổng số và gián tiếp vào ngày 7, nhưng không đáng kể.

LDH là enzyme nội bào, tăng trong huyết thanh khi có tổn thương tế bào (Klein và cs., 2020). Một ngày sau gây nhiễm, nhóm *cpa* có LDH cao hơn ĐC ($p < 0,05$). Không có khác biệt thống kê vào ngày 3 và 7, nhưng LDH có xu hướng tăng ở các nhóm nhiễm khuẩn, đặc biệt nhóm *cpb* vào ngày 7 với giá trị trung bình cao và độ lệch chuẩn lớn, có thể do đáp ứng không đồng nhất hoặc tổn thương tế bào lan rộng ở một số cá thể. Alkaline phosphatase (ALP) là enzyme có ở gan, xương và các mô khác. Một ngày sau gây nhiễm, ALP ở *cpa* cao hơn ĐC ($p < 0,05$). Ba và bảy ngày sau, ALP tăng mạnh ở tất cả các nhóm so với ngày 1, duy trì ở mức cao, có thể liên quan đến đáp ứng viêm hoặc tổn thương gan. Sự tăng sớm của LDH và ALP ở nhóm gây nhiễm *cpa* có thể liên quan đến đặc tính của Alpha toxin (*cpa*) là một phospholipase C, gây tổn thương màng tế bào nhanh chóng dẫn đến sự rò rỉ enzyme vào huyết thanh (Uzal và cs., 2010).

Bảng 1. Một số chỉ tiêu sinh hóa máu của gà thí nghiệm tại các thời điểm sau gây nhiễm

Chỉ tiêu nghiên cứu	Nghiệm thức	1 ngày	3 ngày	7 ngày
Creatinine ($\mu\text{mol/l}$)	ĐC	$6,93 \pm 0,51^a$	$4,72 \pm 0,07^a$	$4,66 \pm 1,20^a$
	<i>cpb</i>	$9,36 \pm 0,65^b$	$10,73 \pm 3,45^b$	$9,95 \pm 1,07^b$
	<i>cpa</i>	$9,51 \pm 0,07^b$	$5,84 \pm 0,67^a$	$8,46 \pm 1,49^b$
AST (SGOT) (U/L)	ĐC	$182,48 \pm 80,30$	$252,00 \pm 38,94$	$195,36 \pm 51,65$
	<i>cpb</i>	$239,83 \pm 14,44$	$221,33 \pm 16,80$	$355,83 \pm 202,30$
	<i>cpa</i>	$239,33 \pm 40,43$	$215,67 \pm 10,02$	$217,00 \pm 12,12$
ALT (SGPT) (U/L)	ĐC	$1,64 \pm 0,11$	$2,02 \pm 0,41$	$1,59 \pm 0,40$
	<i>cpb</i>	$1,85 \pm 0,13$	$1,70 \pm 0,21$	$2,27 \pm 1,24$
	<i>cpa</i>	$1,85 \pm 0,09$	$2,18 \pm 0,40$	$1,47 \pm 0,15$
Bilirubin tổng số ($\mu\text{mol/l}$)	ĐC	$0,58 \pm 0,03$	$0,67 \pm 0,06$	$0,57 \pm 0,15$
	<i>cpb</i>	$0,77 \pm 0,10$	$0,40 \pm 0,10$	$0,88 \pm 0,36$
	<i>cpa</i>	$0,70 \pm 0,22$	$0,57 \pm 0,15$	$0,63 \pm 0,06$
Bilirubin-Direct	ĐC	$0,28 \pm 0,08$	$0,37 \pm 0,23$	$0,31 \pm 0,08$
	<i>cpb</i>	$0,33 \pm 0,13$	$0,23 \pm 0,06$	$0,41 \pm 0,16$
	<i>cpa</i>	$0,40 \pm 0,15$	$0,30 \pm 0,17$	$0,35 \pm 0,05$
Bilirubin-Indirect	ĐC	$0,30 \pm 0,05$	$0,30 \pm 0,17$	$0,25 \pm 0,13$
	<i>cpb</i>	$0,43 \pm 0,15$	$0,17 \pm 0,12$	$0,47 \pm 0,20$
	<i>cpa</i>	$0,30 \pm 0,10$	$0,27 \pm 0,06$	$0,28 \pm 0,10$

LDH (U/l)	ĐC	677,67 ± 19,14 ^a	696,67 ± 79,61	573,50 ± 126,84
	<i>cpb</i>	633,33 ± 66,27 ^{a,b}	759,67 ± 130,67	814,82 ± 531,21
	<i>cpa</i>	703,00 ± 88,02 ^b	798,33 ± 93,66	585,00 ± 43,89
Cholesterol (mmol/l)	ĐC	4,60 ± 0,54	5,00 ± 0,06 ^a	4,84 ± 0,42
	<i>cpb</i>	4,52 ± 0,41	4,47 ± 0,17 ^b	6,30 ± 2,68
	<i>cpa</i>	3,71 ± 0,21	4,10 ± 0,25 ^b	3,75 ± 0,48
HDL-C (mmol/l)	ĐC	2,65 ± 0,22	2,46 ± 0,21	2,88 ± 0,21
	<i>cpb</i>	2,56 ± 0,24	2,33 ± 0,19	3,79 ± 1,61
	<i>cpa</i>	2,03 ± 0,01	2,28 ± 0,20	2,38 ± 0,10
LDL-C (mmol/l)	ĐC	1,03 ± 0,27	1,51 ± 0,46	1,35 ± 0,21
	<i>cpb</i>	1,12 ± 0,20	1,03 ± 0,14	1,69 ± 0,60
	<i>cpa</i>	0,83 ± 0,25	1,02 ± 0,22	0,78 ± 0,19
Alkaline phosphatase (U/l)	ĐC	466,83 ± 368,12 ^a	3552,67 ± -	1904,50 ± 1278,61
	<i>cpb</i>	582,83 ± 276,88 ^{a,b}	3174,67 ± 1852,35	2329,67 ± 691,75
	<i>cpa</i>	1313,17 ± 194,09 ^b	4504,67 ± 2188,13	2051,83 ± 333,89

Trong mỗi thời điểm và trong cùng một chỉ tiêu các giá trị có chữ cái khác nhau (a, b) thể hiện sự khác biệt thống kê ($p < 0,05$); ĐC: Đối chứng

AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; LDH: Lactate dehydrogenase; HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol; LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol

Cholesterol, HDL-C, LDL-C là các chỉ số chuyển hóa lipid. Cholesterol tổng số không khác biệt rõ vào ngày 1 và 7, nhưng ngày 3, ĐC có cholesterol cao hơn *cpb* và *cpa* ($p < 0,05$). HDL-C và LDL-C không có khác biệt thống kê rõ. Nhóm *cpb* tăng HDL-C vào ngày 7. Nhiễm khuẩn đường như ảnh hưởng đến chuyển hóa cholesterol, với sự giảm ở nhóm *cpb* và *cpa* vào ngày 3 và tăng đáng kể (dù biến thiên) ở *cpb* vào ngày 7.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với một số tài liệu trước đây đã báo cáo

rằng gà nhiễm *C. perfringens* gây viêm ruột hoại tử có sự tăng cao các enzyme gan (ALT, AST), bilirubin và giảm protein toàn phần, chỉ ra tổn thương gan và suy yếu chuyển hóa (Cooper và cs., 2013).

3.2. Bệnh tích đại thể của gà mắc bệnh viêm ruột hoại tử do *Clostridium perfringens*

Bệnh viêm ruột hoại tử do *C. perfringens* gây ra ở gà thường biểu hiện các bệnh tích đại thể đặc trưng ở đường tiêu hóa, chủ yếu tại ruột non.



Hình 1. Ruột căng phồng



Hình 2. Gan sưng, xuất huyết



Hình 3. Ruột xuất huyết



Hình 4. Lách sưng

Kết quả mô khám sau khi kết thúc quá trình gây nhiễm trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tổn thương nặng ở ruột non, với các dấu hiệu như ruột căng phồng, chứa khí do quá trình lên men của vi khuẩn, đặc biệt ở nhóm nhiễm *C. perfringens* mang gen độc tố *cpb* (Hình 1). Niêm mạc ruột bị tróc, xuất hiện các vùng xuất huyết điểm (Hình 3). Gan sưng, màu nhạt, có thể kèm xuất huyết (Hình 2), và lách sưng nhẹ (Hình 4). Những quan sát này tương đồng với nghiên cứu của Timbermont và cs. (2011) ghi nhận ruột non căng phồng, niêm mạc xuất huyết và hoại tử, đặc biệt ở tá tràng và không tràng. Tương tự, Cooper và cs. (2013) báo cáo gan sưng và nhạt màu ở gà mắc NE, phù hợp với quan sát ở Hình 2. Tuy nhiên, mức độ sưng lách trong nghiên cứu này nhẹ hơn so với Olkowski và cs. (2006), có thể do khác biệt về độc lực chủng vi khuẩn hoặc thời điểm quan sát sau gây nhiễm.

Dữ liệu định lượng từ các lần mô khám tại 1, 3 và 7 ngày sau gây nhiễm (dpi),

với mỗi nhóm nghiệm thức 6 con gà cho thấy diễn tiến tổn thương thay đổi theo thời gian, kết quả được thể hiện ở Bảng 2.

Ở 1 dpi, nhóm *cpa* (chủng sản xuất α -toxin) có tỷ lệ xuất huyết ruột cao hơn (50%) so với nhóm *cpb* (33,33%), cho thấy α -toxin có thể gây tổn thương mạch máu sớm. Đến 3 dpi, nhóm *cpb* ghi nhận xuất huyết ruột toàn bộ (100%), phản ánh tác động mạnh của β -toxin lên tính toàn vẹn niêm mạc, phù hợp với độc tính của nó (Timbermont và cs., 2011). Hiện tượng căng phồng ruột đạt đỉnh tại 1 dpi ở nhóm *cpb* (33,33%) nhưng không còn ghi nhận ở 3 và 7 dpi, có thể do hoạt động vi khuẩn giảm hoặc phản ứng miễn dịch của vật chủ. Tổn thương gan phổ biến nhất tại 3 dpi ở nhóm *cpa* (50%), trong khi tổn thương lách đạt đỉnh tại 7 dpi ở nhóm *cpb* (66,67%), cho thấy độc tố β -toxin có thể gây ảnh hưởng hệ thống theo thời gian. Nhóm đối chứng (ĐC) chỉ ghi nhận tổn thương tối thiểu, xác nhận tính đặc hiệu của các bệnh tích liên quan đến nhiễm *C. perfringens*.

Bảng 2. Tỷ lệ xuất hiện các bệnh tích đại thể của gà mắc bệnh viêm ruột hoại tử do *C. perfringens*

Thời điểm mổ khám	Nghiệm thức	Ruột				Gan sung, xuất huyết	Tỷ lệ (%)	Lách sung, xuất huyết	Tỷ lệ (%)
		Xuất huyết	Tỷ lệ (%)	Căng phồng	Tỷ lệ (%)				
1 dpi	<i>cpa</i>	3	50,00	1	16,67	1	16,67	0	0
	<i>cpb</i>	2	33,33	2	33,33	1	16,67	2	33,33
	ĐC	1	16,67	0	0	0	0	0	0
3 dpi	<i>cpa</i>	5	83,33 ^a	0	0	3	50,00	0	0
	<i>cpb</i>	6	100 ^a	0	0	2	33,33	0	0
	ĐC	1	16,67 ^b	0	0	1	16,67	0	0
7 dpi	<i>cpa</i>	2	33,33	1	16,67	1	16,67	1	16,67
	<i>cpb</i>	4	66,67	0	0	1	16,67	4	66,67
	ĐC	1	16,67	0	0	0	0	0	0

So với các nghiên cứu trước, nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận sự bong niêm mạc rõ rệt hơn ở nhóm *cpb*, có thể do độc tính cao của β -toxin đối với biểu mô ruột (Timbermont và cs., 2011). Tuy nhiên, tổn thương gan và lách ít nghiêm trọng hơn so với báo cáo của Zekarias và cs. (2008), khi họ ghi nhận xuất huyết gan lan rộng và lách sưng rõ, có thể do chủng *C. perfringens* có độc lực cao hơn. Sự khác biệt về mức độ tổn thương cũng có thể chịu ảnh hưởng từ các yếu tố môi trường như chế độ dinh dưỡng, Van Immerseel và cs. (2009) đã chỉ ra vai trò của chế độ ăn giàu protein trong việc làm nặng thêm bệnh tích NE. Những phát hiện này nhấn mạnh vai trò của yếu tố độc lực của chủng vi khuẩn cũng như chế độ dinh dưỡng trong cơ chế bệnh sinh của NE và cung cấp thông tin quan trọng cho các chiến lược chẩn đoán và kiểm soát trong chăn nuôi gia cầm.

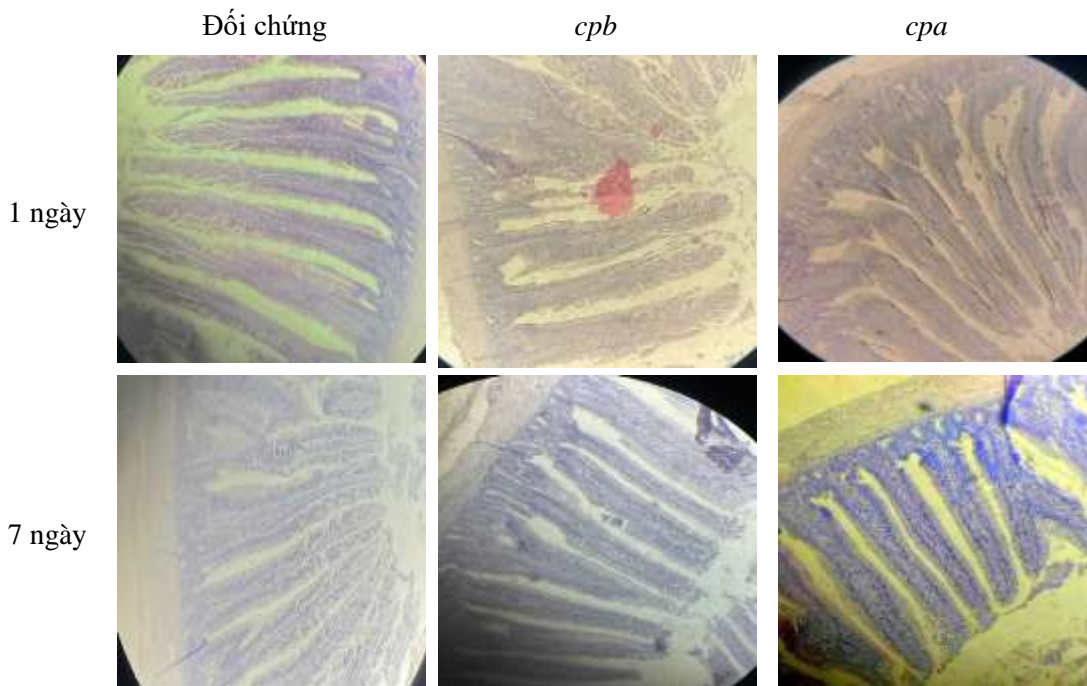
3.3. Bệnh tích vi thể của gà mắc bệnh viêm ruột hoại tử do *Clostridium perfringens*

Việc nhuộm hematoxylin và eosin (HE) được sử dụng để nhận diện các dấu hiệu bệnh lý như hoại tử mô, viêm nhiễm và sự hiện diện của vi khuẩn trong các tổn thương (Bancroft, 2008). Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả nhuộm tiêu bản HE cho thấy chưa ghi nhận tổn thương nặng nề

hoặc hoại tử mô rộng rãi ở ruột non, cũng như không phát hiện vi khuẩn *C. perfringens* trong các nghiệm thức gây nhiễm (*cpb* và *cpa*) tại các thời điểm 1 và 7 ngày sau gây nhiễm, mặc dù các bệnh tích đại thể cho thấy ruột căng phồng (Hình 1). Lòng nhung ruột non của gà ở các nhóm đối chứng (ĐC), *cpb* và *cpa* được quan sát dưới kính hiển vi (10X) (Hình 5), nhưng không có dấu hiệu rõ ràng của viêm hoặc phá hủy lớp tế bào biểu mô.

So với các nghiên cứu điển hình, tổn thương vi thể trong nghiên cứu của chúng tôi nhẹ hơn rõ rệt. Timbermont và cs. (2011) lấy mẫu vào 24-36 giờ sau gây nhiễm (giai đoạn đỉnh điểm bệnh) và ghi nhận hoại tử nặng niêm mạc, vi khuẩn bám dày, thâm nhiễm mạnh bạch cầu đa nhân. Cooper và Songer (2009) cũng lấy mẫu sớm (18-48 giờ) và quan sát được hoại tử lòng nhung điển hình kèm cụm vi khuẩn Gram dương. Ngược lại, chúng tôi chỉ lấy mẫu vào ngày 1 và ngày 7 sau gây nhiễm - ngày 1 còn quá sớm, ngày 7 đã bước vào giai đoạn phục hồi; lại sử dụng chủng độc lực thấp và không tiền nhiễm *Eimeria* nặng. Do đó, tổn thương vi thể nghiêm trọng khó được phát hiện bằng nhuộm HE thông thường. Đây là hạn chế của nghiên cứu hiện tại. Trong các thí nghiệm sau, cần bổ sung lấy mẫu dày đặc ở 6-48 giờ sau gây nhiễm và kết hợp nhuộm

đặc hiệu (Gram, IHC) để ghi nhận chính xác giai đoạn tổn thương cấp tính trong các trường hợp NE nhẹ hoặc dưới lâm sàng.



Hình 5. Lòng nhung ruột non gà tại các thời điểm sau gây nhiễm độ phóng đại 100×

Ngoài ra, Van Immerseel và cs. (2009) nhấn mạnh rằng mức độ tổn thương vi thể ở ruột non phụ thuộc vào các yếu tố như chế độ dinh dưỡng, môi trường chăn nuôi và độc tố do *C. perfringens* tiết ra, đặc biệt là độc tố NetB trong các chủng gây bệnh mạnh. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nhóm *cpb* (mang gen độc tố *cpb*) không cho thấy hoại tử hoặc viêm rõ ràng, có thể do độc tố *cpb* có cơ chế tác động khác hoặc do liều lượng vi khuẩn gây nhiễm chưa đủ để tạo ra tổn thương vi thể đáng kể. Olkowski và cs. (2006) cũng ghi nhận rằng ở một số trường hợp nhiễm *C. perfringens* mức độ nhẹ, các tổn thương vi thể có thể không rõ ràng, đặc biệt khi chỉ dựa vào nhuộm HE mà không sử dụng các kỹ thuật bổ sung như nhuộm Gram hoặc PCR để phát hiện vi khuẩn.

So với Zekarias và cs. (2008), chúng tôi ghi nhận mức độ tổn thương vi thể ở ruột gà nhiễm thí nghiệm nhẹ hơn đáng kể. Trong nghiên cứu của Zekarias và cs. (2008), gà thịt 14 ngày tuổi được gây nhiễm bằng 1×10^9 CFU *C. perfringens* chủng CP4 (có mang gene *netB*) qua đường uống, kết hợp đồng thời với việc nhiễm *Eimeria maxima* liều cao trước đó 1 ngày để tạo mô hình NE nặng. Kết quả cho thấy các tổn thương vi thể rất nghiêm trọng, bao gồm hoại tử lan rộng lông nhung, sự xâm nhập sâu của vi khuẩn vào lớp dưới niêm mạc và đáp ứng viêm mạnh với rất nhiều tế bào viêm dị ứng thâm nhiễm. Sự khác biệt này có thể do trong nghiên cứu của chúng tôi không kết hợp tiền nhiễm *Eimeria* ở liều gây tổn thương nặng. Do đó, các tổn thương vi thể chủ yếu dừng lại ở mức độ nhẹ đến trung bình (bong tróc nhẹ đầu lông nhung, ít tế

bào viêm), hiếm khi quan sát được hoại tử sâu hoặc vi khuẩn xâm nhập vào lớp dưới niêm mạc khi nhuộm HE thông thường. Ngoài ra, việc không phát hiện vi khuẩn trong tiêu bản HE có thể liên quan đến kỹ thuật độ nhạy của phương pháp nhuộm, như đã được đề cập trong Timbermont và cs. (2011), khi họ khuyến nghị sử dụng nhuộm Gram hoặc kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang để tăng khả năng phát hiện vi khuẩn. Kết quả này cho thấy hai chủng *cpa* và *cpb* đã gây ra các tổn thương cấp tính ở cấp độ sinh hóa hệ thống và bệnh tích đại thể, nhưng không dẫn đến các tổn thương hoại tử vi thể nghiêm trọng trong điều kiện thí nghiệm này.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu khẳng định chủng *C. perfringens* mang gen độc tố *cpb* thể hiện độc lực cao hơn, gây tổn thương đại thể nghiêm trọng so với mang gen *cpa*. Sự gia tăng nồng độ creatinine cho thấy cả hai vi khuẩn mang độc đều gây rối loạn chức năng cơ quan sớm, nhưng biến đổi enzym gan lại khác biệt: *cpa* tăng LDH/Phosphatase kiềm; *cpb* tăng AST muện. Kết quả mô bệnh học (nhuộm HE) cho thấy, mặc dù có bệnh tích đại thể nghiêm trọng, chưa phát hiện được hoại tử cấu trúc hoặc xâm nhập vi khuẩn rõ rệt trong các thời điểm khảo sát (1, 3, 7 dpi).

LỜI CẢM ƠN

Mẫu vi khuẩn *C. perfringens* mang gene độc tố *cpa*, *cpb* cho việc thực hiện nghiên cứu này thông qua đề tài cấp quốc gia “Nghiên cứu sản xuất chế phẩm sinh học phòng, trị bệnh viêm ruột hoại tử do *Clostridium perfringens* ở gà” do TS. Huỳnh Văn Chương chủ trì.

Nghiên cứu này được tài trợ kinh phí từ Đề tài cấp cơ sở Mã số: DHL2025-CNTY-05 và DHL2025-CNTY-SV-21. Sự hỗ trợ tài chính kịp thời và hiệu quả này là yếu tố then chốt giúp chúng tôi hoàn thành

các thí nghiệm phức tạp, đặc biệt là các phân tích sinh hóa máu chuyên sâu và mô bệnh học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

Ủy ban Nhân dân tỉnh Thừa Thiên Huế. (2022). Quyết định số 3272/QĐ-UBND ngày 30 tháng 12 năm 2022 về việc Ban hành Kế hoạch phát triển chăn nuôi tỉnh Thừa Thiên Huế giai đoạn 2021-2025. <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/Linh-vuc-khac/Quyết-dinh-3272-QĐ-UBND-2022-Ke-hoach-Phat-trien-chan-nuoi-Hue-giai-doan-2021-2025-582451.aspx>

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

- Abdul Basit, M., Abdul Kadir, A., Loh, T. C., Abdul Aziz, S., Salleh, A., Kaka, U., & Banke Idris, S. (2020). Effects of Inclusion of Different Doses of *Persicaria odorata* Leaf Meal (POLM) in Broiler Chicken Feed on Biochemical and Haematological Blood Indicators and Liver Histomorphological Changes. *Animals (Basel)*, 10(7). DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10071209>.
- Almremdhy, H. A. A., Neamha, G. A. K., Al-Hilli, Z. B., & Awadh, R. J. (2024). Pathological, hematological, and biochemical alteration in broiler chickens infected with mycotoxin in Babylon province. *Open Veterinary Journal*, 14(11), 2848-2859. DOI: <https://doi.org/10.5455/OVJ.2024.v14.i11.13>.
- Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2008). *Theory and Practice of Histological Techniques*: Churchill Livingstone.
- Chaturvedani, A., Jaiswal, S., & Raza, M. (2017). Effect of Thermal Stress on Serum Biochemical and Haematological Parameters in Broiler Chicken. *The Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, 12. DOI: <https://doi.org/10.21887/ijvsbt.v12i3.7082>.
- Cooper, K. K. & Songer, J. G. (2009). Necrotic enteritis in chickens: a paradigm of enteric infection by *Clostridium perfringens* type A. *Anaerobe*, 15(1-2), 55-60. Doi: 10.1016/j.anaerobe.2009.01.006.
- Cooper, K. K., Songer, J. G., & Uzal, F. A. (2013). Diagnosing clostridial enteric disease in poultry. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(3), 314-327. DOI: <https://doi.org/10.1177/1040638713483468>.

- Gharib-Naseri, K., Kheravii, S. K., Keerqin, C., Morgan, N., Swick, R. A., Choct, M., & Wu, S. B. (2019). Two different *Clostridium perfringens* strains produce different levels of necrotic enteritis in broiler chickens. *Poultry Science*, 98(12), 6422-6432. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pez480>.
- Gholamiandehkordi, A. R., Timbermont, L., Lanckriet, A., Van Den Broeck, W., Pedersen, K., Dewulf, J., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., & Van Immerseel, F. (2007). Quantification of gut lesions in a subclinical necrotic enteritis model. *Avian Pathology*, 36(5), 375-382. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079450701589118>.
- Hu, Y., Wang, Y., Li, A., Wang, Z., Zhang, X., Yun, T., Qiu, L., & Yin, Y. (2015). Effects of fermented rapeseed meal on antioxidant functions, serum biochemical parameters and intestinal morphology in broilers. *Food and Agricultural Immunology*, 27, 1-12. DOI: <https://doi.org/10.1080/09540105.2015.1079592>.
- Keyburn, A. L., Sheedy, S. A., Ford, M. E., Williamson, M. M., Awad, M. M., Rood, J. I., & Moore, R. J. (2006). Alpha-toxin of *Clostridium perfringens* is not an essential virulence factor in necrotic enteritis in chickens. *Infection and Immunity*, 74(11), 6496-6500. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.00806-06>.
- Khodary, M., el-Deen, N., & el-Deen, I. (2019). Effect of experimental *Clostridium perfringens* infection on some immunological, hematological and biochemical values in Broiler chickens. *Zagazig Veterinary Journal*, 47, 222-233. DOI: <https://doi.org/10.21608/zvjz.2019.12216.1036>.
- Klein, R., Nagy, O., Tóthová, C., & Chovanová, F. (2020). Clinical and Diagnostic Significance of Lactate Dehydrogenase and Its Isoenzymes in Animals. *Veterinary Medicine International*, 2020, 5346483. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/5346483>.
- Lovland, A., & Kaldhusdal, M. (2001). Severely impaired production performance in broiler flocks with high incidence of *Clostridium perfringens*-associated hepatitis. *Avian Pathology*, 30(1), 73-81. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079450020023230>.
- Olkowski, A. A., Wojnarowicz, C., Chirino-Trejo, M., & Drew, M. D. (2006). Responses of broiler chickens orally challenged with *Clostridium perfringens* isolated from field cases of necrotic enteritis. *Research in Veterinary Science*, 81(1), 99-108. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2005.10.006>.
- Prescott, J. F. (2016). Brief description of animal pathogenic Clostridia. *Ames, Iowa, John Wiley and Sons*, 13-19.
- Shojadoost, B., Vince, A., & Prescott, J. (2012). The successful experimental induction of necrotic enteritis in chickens by *Clostridium perfringens*: A critical review. *Veterinary Research*, 43, 74. DOI: <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-74>.
- Tian, X., Li, J., Liu, S., Dong, Q., Fu, Y., Luo, R., Sun, Y., Guo, L., Lu, Q., Ye, C., Liu, J., Fu, S., & Qiu, Y. (2024). Anemoside B4 attenuates necrotic enteritis of laying hens induced by *Clostridium perfringens* via inhibiting NF- κ B and PI3K/Akt/mTOR signalling pathways. *Heliyon*, 10(12), e33161. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e33161>.
- Timbermont, L., Haesebrouck, F., Ducatelle, R., & Van Immerseel, F. (2011). Necrotic enteritis in broilers: An updated review on the pathogenesis. *Avian Pathology*, 40(4), 341-347. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079457.2011.590967>.
- Uzal, F. A., Vidal, J. E., McClane, B. A., & Gurjar, A. A. (2010). *Clostridium perfringens* Toxins Involved in Mammalian Veterinary Diseases. *Open Toxinology Journal*, 2, 24-42.
- Van Immerseel, F., De Buck, J., Pasmans, F., Huyghebaert, G., Haesebrouck, F., & Ducatelle, R. (2004). *Clostridium perfringens* in poultry: an emerging threat for animal and public health. *Avian Pathology*, 33(6), 537-549. DOI: <https://doi.org/10.1080/03079450400013162>.
- Van Immerseel, F., Rood, J. I., Moore, R. J., & Titball, R. W. (2009). Rethinking our understanding of the pathogenesis of necrotic enteritis in chickens. *Trends in Microbiology*, 17(1), 32-36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.09.005>.
- Wu, S. B., Stanley, D., Rodgers, N., Swick, R. A., & Moore, R. J. (2014). Two necrotic enteritis predisposing factors, dietary fishmeal and *Eimeria* infection, induce large changes in the caecal microbiota of broiler

- chickens. *Veterinary Microbiology*, 169(3-4), 188-197. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.01.007>.
- Zekarias, B., Mo, H. & Curtiss, R. (2008). Recombinant attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhimurium expressing the carboxy-terminal domain of alpha toxin from *Clostridium perfringens* induces protective responses against necrotic enteritis in chickens. *Infection and Immunity*, 76(7), 3256-3263. DOI: <https://doi.org/10.1128/IAI.00015-08>.