GIÁM SÁT SỰ LƯU HÀNH CỦA VIRUS CÚM A/H5NX Ở GIA CẦM TẠI CÁC CHỢ BUÔN BÁN GIA CẦM SỐNG VÀ CÁC ĐIỂM THU GOM GIẾT MỔ Ở KHU VỰC BẮC TRUNG BỘ

Võ Thị Hải Lê[1], Nguyễn Bá Hiên[2]

TÓM TẮT

Với mục đích phát hiện và giám sát sự lưu hành của virus cúm A tại 4 tỉnh Bắc Trung bộ (Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Bình), chúng tôi đã thu thập 240 mẫu swab hầu họng gà, vịt và môi trường tại 7 chợ đầu mối, điểm thu gom giết mổ gia cầm trong thời gian từ tháng 4/2017 - 6/2017. Kết quả nghiên cứu cho thấy có 48 mẫu dương tính với virus cúm type A, chiếm tỷ lệ 20% và có mặt ở tất cả các tỉnh thành nghiên cứu. Có 12 mẫu dương tính virus cúm subtype H5, chiếm tỷ lệ 5,00% phân bố ở các chợ đầu mối Thanh Hóa. Ở các tỉnh khác không có mẫu nào dương tính với virus cúm subtype H5. Đã phát hiện được 8 mẫu dương tính với virus cúm subtype N1, chiếm tỷ lệ 3,33%, phân bố ở cả 3 loại mẫu thu thập, trong đó mẫu thu từ gà nhiễm 4/24 mẫu dương tính, chiếm 16,67%, mẫu thu từ vịt nhiễm 2/16, chiếm 12,50%, mẫu môi trường 2/20, chiếm 10,00%.

Từ khóa: sự lưu hành, virus cúm A, H5N1, gà, vịt.

Surveillance on prevalence of A/H5NX virus at live poultry markets and slaughter sites in Northern central region

Vo Thi Hai Le, Nguyen Ba Hien

SUMMARY

240 poultry throat swab and environmental samples were collected from the live poultry markets and slaughter sites in 4 provinces (Thanh Hoa, Nghe An, Ha Tinh, Quang Bình) in the Northern Central region in April - June 2017 for determining the prevalence of avian influenza A virus. The studied result showed that there were 48 positive samples with influenza type A virus out of 240 samples, accounting for 20.00 % and this virus presented in all studied provinces. There were 12/240 (5.00%) positive samples with subtype H5 virus, distributing in the poultry wholesale markets in Thanh Hoa province. There was not positive samples with influenza subtype H5 virus presenting in other provinces. There were 8 positive samples with influenza subtype N1 virus detected, accounting for 3.33%, distributing in all three kinds of samples, of which, there were 4 positive samples out of 24 samples collecting from chickens (accounting for 16.67%), 2 positive samples out of 16 samples collecting from ducks, accounting for 12.50%, and 2 positive samples out of 20 samples collecting from environment, accounting for 10.00%.

Keywords: Prevalence, influenza A virus, H5N1, chicken, duck.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, dịch cúm gia cầm (CGC) độc lực cao do virus cúm type A/H5N1 gây ra từ cuối năm 2003 và đầu năm 2004. Đặc biệt hơn, bệnh cúm đang ngày càng trở nên nguy hiểm khi virus CGC "vượt hàng rào về loài", thích nghi gây bệnh ở người với tỷ lệ tử vong cao, như virus cúm type A/H7N9 gây tử vong hàng trăm người ở Trung Quốc [7]. Trong năm 2015 và đầu năm 2016, các chủng virus cúm gia cầm được ghi

[1] Khoa Nông Lâm Ngư – Đại học Kinh tế Nghệ An
[2] Khoa Thú y – Học viện Nông nghiệp Việt Nam

nhận là gia tăng cả về số lượng ổ dịch và số quốc qua ghi nhận. Theo Tổ chức Nông lương Thế giới (FAO), đã xuất hiện một số chủng virus mới như cúm A/H5N6, cúm A/H5N2, cúm A/H5N8 bên cạnh các chủng virus cúm A/H5N1, cúm A/H7N9 vẫn đang lưu hành. Nhiều nghiên cứu cho thấy có nhiều dòng cúm A với các subtype khác nhau đã lưu hành trong khu vực cũng như đã thâm nhập vào Việt Nam [8] . Đặc biệt virus cúm type A là type thường xuyên có sự biến đổi thành chủng có độc lực cao, lây truyền rộng rãi cho nhiều loài động vật, kể cả người, ảnh hưởng đến sức khỏe cộng đồng. Với 18 chủng kháng nguyên H (trong đó H16 được phát hiện ở Thụy Điển và Na Uy năm 2004; H17 ở dơi ăn quả năm 2012; H18 được phát hiện năm 2013) [4] và 9 chủng kháng nguyên N virus cúm type A có thể có nhiều loại subtype như: H1N1, H2N2, H3N2, H5N1, H7N9, H5N6,…Một số subtype đã gây nên các đại dịch cúm cho người và động vật như H2N2, H3N8, H1N1, H5N7,…Virus cúm các subtype H5, H7, N9 gây bệnh chủ yếu cho gà, vịt, ngan, ngỗng, vịt trời, các loài chim. Virus còn có khả năng gây nhiễm cho người. Vì vậy, việc phòng chống virus cúm càng trở nên quan trọng và cấp thiết hơn bao giờ hết (Lê Văn Năm, 2004) [9]. Mặc dù cơ chế xâm nhập và lây lan của virus vẫn còn chưa được xác định rõ, nhưng khả năng virus tiếp tục tái xuất hiện sẽ có thể làm phức tạp thêm cho công tác phòng chống CGC ở Việt Nam.

Từ đầu năm 2017 cho đến nay, trên địa bàn cả nước đã xảy 12 ổ dịch CGC A/H5N1 tại các tỉnh: Nghệ An, Bạc Liêu, Nam Định, Sóc Trăng, Đồng Nai và An Giang và 1 ổ dịch CGC do virus A/H5N6 tại tỉnh Quảng Ngãi. Trong đó, trên địa bàn tỉnh Nghệ An đã xảy ra 6 ổ dịch CGC A/H5N1 tại xã Thuận Sơn (huyện Đô Lương); các xã Diễn Thắng, Diễn Lộc, Diễn Nguyên và Diễn Cát (huyện Diễn Châu) và tại phường Đông Vĩnh (thành phố Vinh) làm tổng số 7.854 con gia cầm mắc bệnh và phải tiêu hủy (nguồn: Chi cục thú y vùng III) [5]. Bên cạnh đó, diễn biến phức tạp của virus cúm A/H7N9, A/H5N2 và A/H5N8 ở Trung Quốc gần đây cho thấy virus cúm A/H7N9 có tiềm năng gây thành đại dịch [8].

Để phát hiện và theo dõi sự biến đổi của virus CGC A/H5N1, A/H5N6, A/H7N9 và một số chủng virus cúm nguy hiểm tại Việt Nam, đồng thời tăng cường giám sát virus CGC có nguy cơ xâm nhiễm vào Việt Nam, chúng tôi thực hiện chương trình giám sát virus cúm trên gia cầm (gà, vịt) và môi trường tại các chợ, điểm thu gom, buôn bán gia cầm sống và các điểm thu gom giết mổ gia cầm trên địa bàn 4 tỉnh Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Bình, nhằm mục đích: Theo dõi sự lưu hành của virus cúm A/H5, đồng thời phát hiện sự xâm nhập và lưu hành của các chủng virus cúm mới lưu hành tại các địa phương có nguy cơ cao trong vùng Bắc Trung bộ.

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

2.1. Đối tượng

Gà, vịt sống được bán tại các chợ, điểm giết mổ ở 4 tỉnh Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh và Quảng Bình. Lồng nhốt gia cầm tại các chợ.

2.2. Nội dung nghiên cứu

Xác định sự lưu hành của virus cúm A/H5Nx.

2.3. Phương pháp lấy mẫu và bảo quản mẫu

2.3.1. Phương pháp lấy mẫu

Mẫu swab được lấy theo phương pháp ngẫu nhiên. Chọn mẫu có chủ đích ở 4 tỉnh Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh và Quảng Bình. Lượng mẫu được lấy làm tròn là 1.200 mẫu đơn, do đó số mẫu cần lấy: 60 mẫu gộp/tỉnh (40 mẫu swab hầu họng và 20 mẫu môi trường). Tổng số mẫu cần lấy là 240 mẫu gộp.

Thu mẫu dịch ngoáy hầu họng (mẫu swab): Lấy theo quy trình lấy mẫu và xét nghiệm mẫu (gà, vịt và môi trường) trong Chương trình giám sát CGC năm 2017-2018 hiện đang sử dụng tại các Trung tâm chẩn đoán, Chi cục thú y vùng.

Mẫu môi trường: Lấy từng que tăm bông quệt tại 4 góc dưới lồng và 1 điểm giữa lồng, gộp 5 que này vào cùng một ống tại thực địa (ưu tiên lấy mẫu phân tươi, nơi có khả năng cao tìm thấy được virus).

2.3.2. Xử lý và bảo quản mẫu

Mẫu swab (mẫu họng và phân tươi) được bảo quản ở 4ºC và vận chuyển đến phòng xét nghiệm trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu. Sau đó xử lý mẫu theo quy trình TCVN 8400: 26 – 2013 [12].

- Xử lý mẫu: cho dung dịch PBS (pH 7,2 – 7,4) vào ống chứa mẫu bệnh phẩm, bổ sung thêm kháng sinh theo tỷ lệ 1 : 10. Lắc ống chứa tăm bông dịch ngoáy bằng máy lắc trong 15 giây, sau đó ly tâm ống ở tốc độ 8000 vòng/phút trong 15 giây.

- Dùng pipet hút dịch trong ống chuyển sang 2 ống 1,5 ml. Một ống dùng cho các xét nghiệm Realtime RT-PCR, phân lập virus trên tế bào hoặc phân lập trên trứng; ống còn lại dùng làm mẫu lưu bảo quản ở nhiệt độ - 80 ^{o}C.

2.3.3. Thời gian lấy mẫu

Chia làm 3 đợt, đợt 1 từ 25 – 28/4/2017, đợt 2: 5/5/2017 và đợt 3: 5 – 6/6/2017.

2.4. Phương pháp xét nghiệm

Real-time RT-PCR được sử dụng để phát hiện gen M, H5, N1, N6 và phát hiện thêm các gen H7, N9. Phương pháp này được tiến hành theo các bước sau:

RNA của virus được tách chiết bằng QIAamp. Mẫu RNA sau khi tách chiết sẽ được hỗn hợp với các thành phần: 2X Reaction Mix, Primer, Probe, Platinum Taq, nước. Tiến hành phản ứng khuếch đại sản phẩm trong máy Realtime RT –PCR với chu kỳ nhiệt 50^{o}C trong 15 phút và 95^{o}C trong 2 phút, chu kỳ 95^{o}C trong 10 giây và 58^{o}C trong 50 giây, lặp lại 40 chu kỳ.

- Lựa chọn đoạn mồi (primers) và mẫu dò (probe) cho phản ứng Realtime RT-PCR: dựa trên kết quả báo cáo trong khuôn khổ giám sát và phát hiện CGC có độc lực cao, chúng tôi lựa chọn mồi và mẫu dò phù hợp với các chủng virus đang lưu hành là H5, N1 và phát hiện thêm H7, N9 và H9. Trình tự các cặp mồi và mẫu dò phát hiện gen M virus cúm A và các gen H5, N1 dùng trong phản ứng Real time RT-PCR như bảng sau.

- Đọc kết quả: Mẫu đối chứng dương tính (chuẩn độ trước) có giá trị Ct ≤ 25 (± 2 Ct), mẫu đối chứng âm không có Ct. Mẫu có giá trị Ct ≤ 35 được coi là dương tính. Mẫu không có Ct là âm tính. Mẫu có giá trị 35< Ct ≤ 40 được coi là nghi ngờ. Những mẫu nghi ngờ cần được xét nghiệm lại bằng phương pháp khác (phân lập virus) để khẳng định.

- Tính toán kết quả : tỷ lệ nhiễm (tỷ lệ dương tính) được tính theo công thức:

Tỷ lệ nhiễm (%) = (Số mẫu dương tính/số mẫu xét nghiệm)x 100.

- Kết quả xét nghiệm được xử lý trên Excel.

Nguồn	Primer/ Probe	Trình tự (5'-3')	Modification	
			5'	3'
M-4 (CDC)	Đoạn dò	FAM-TGCAGTCCTCGCTCACTGGGCACG-BHQ1	FAM	BHQ1
	Mồi xuôi	CATGGARTGGCTAAAGACAAGACC	None	None
	Mồi ngược	AGGGCATTTTGGACAAAKCGTCTA	None	None
H5-9s (AAHI +CDC)	Đoạn dò	FAM-TCAACAGTGGCGAGTTCCCTAGCA-BHQ1	FAM	BHQ1
	Mồi xuôi	ACATATGACTACCCACARTATTCAG	None	None
	Mồi ngược 1	AGACCAGCTAYCATGATTGC	None	None
	Mồi ngược 2	AAACCAGCCACTATGATTGC	None	None
N1-2 (CHINA)	Đoạn dò	FAM-TGGTCTTGGCCAGACGGTGC-BHQ1	FAM	BHQ1
	Mồi xuôi	TGGACTAGTGGGAGCAGCAT	None	None
	Mồi ngược	TGTCAATGGTTAAGGGCAACTC	None	None
N6-1 AAHI	Đoạn dò	FAM-CCAATAACAGGAGGGAGCCCAGACCC-BHQ1	FAM	BHQ1
	Mồi xuôi	CCCCACCAATGGGAACTG	None	None
	Mồi ngược	TCTAGGAATGCAAACCCTTTTACC	None	None
H7-6 (CODA)	Đoạn dò	5'-FAM- TGGTTTAGCTTCGGGGCATCATG -BHQ1-3'	FAM	BHQ1
	Mồi xuôi	5'- GYAGYGGYTACAAAGATGTG -3'	None	None
	Mồi ngược	5'- GAAGACAAGGCCCATTGCAA -3'	None	None
N9-1 (CNIC)	Đoạn dò	5'-FAM- AGACAATCCCCGACCGAATGACCC -BHQ1-3'	FAM	BHQ1
	Mồi xuôi	5'- TAGCAATGACACACACTAGTCAAT -3'	None	None
	Mồi ngược	5'- ATTACCTGGATAAGGGTCATTACACT -3'	None	None

(Nguồn : FAO – 2016)

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả lấy mẫu tại các tỉnh

Trong quá trình thu mẫu từ tháng 4 đến tháng 6/2017, chúng tôi thực hiện thu thập mẫu swab ở gia cầm và mẫu môi trường tại các chợ buôn bán gia cầm, các chợ đầu mối, các điểm giết mổ gia cầm. Mẫu được lấy trong 3 đợt, đợt 1 từ 25 – 28/4/2017, đợt 2: 5/5/2017 và đợt 3 từ 5 – 6/6/2017.

Bảng 1. Kết quả thu thập mẫu tại các tỉnh Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Bình

Tỉnh	Tên chợ	Số mẫu (mẫu swab gộp)			
		Gà	Vịt	Môi trường	Tổng
Thanh Hóa	Đầu mối	24	16	20	60
Nghệ An	Dàn	6	7	5	18
	Phủ Diễn	16	2	9	27
	Diễn Hồng	9	0	6	15
Hà Tĩnh	Gát	7	0	8	15
	Thành phố	33	0	12	45
Quảng Bình	Đồng Hới	40	0	20	60
Tổng		**135**	**25**	**80**	**240**

Bảng 1 cho thấy đã thu thập được tổng số 240 mẫu swab gộp trên 3 đối tượng là gà, vịt và môi trường, trong đó số mẫu swab hầu họng gà là 135, vịt là 25, mẫu môi trường là 80. Các chợ nơi thu thập mẫu đều là các chợ đầu mối có mật độ buôn bán gia cầm sống nhộn nhịp, đặc biệt là chợ đầu mối của tỉnh Thanh Hóa. Chúng tôi lấy mẫu dịch swab gia cầm chủ yếu tại các hộ buôn bán gia cầm thường xuyên, qua trao đổi thông tin, chúng tôi nhận thấy, gia cầm được thu gom từ nhiều nguồn khác nhau, từ các hộ nuôi gia cầm trong khu vực hoặc từ các điểm lân cận. Tuy nhiên số lượng, nguồn gốc gia cầm chưa được thống kê đầy đủ do kiểm soát số lượng gia cầm qua chợ rất khó khăn.

3.2. Kết quả giám sát cúm gia cầm tại các tỉnh

Chúng tôi xác định sự có mặt của virus cúm A trong 240 mẫu swab bằng phương pháp Real Time RT – PCR. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả xét nghiệm virus cúm type A trong các mẫu thu được

Tỉnh	Đối tượng xét nghiệm	Số mẫu xét nghiệm	Kết quả xét nghiệm	
			Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)
Thanh Hóa	Gà	24	12	50,00
	Vịt	16	8	50,00
	Môi trường	20	4	20,00
Tổng		**60**	**24**	**40,00**
Nghệ An	Gà	31	7	22,58
	Vịt	9	2	22,22
	Môi trường	15	1	6,67
Tổng		**60**	**10**	**16,67**
Hà Tĩnh	Gà	40	4	10,00
	Môi trường	20	1	5,00
Tổng		**60**	**5**	**8,33**
Quảng Bình	Gà	40	8	20,00
	Môi trường	20	1	5,00
Tổng		**60**	**9**	**15,00**
Tổng chung		**240**	**48**	**20,00**

Kết quả bảng 2 cho thấy ở tất cả các chợ, điểm giết mổ đều phát hiện thấy có mẫu dương tính với cúm A. Trong tổng số 240 mẫu thu thập được, có 48 mẫu dương tính với virus cúm type A, chiếm tỷ lệ 20%, và có mặt ở tất cả các tỉnh/thành trong chương trình giám sát. Số mẫu dương tính với virus cúm type A được phát hiện trên tất cả các loại đối tượng lấy mẫu với tỷ lệ khác nhau; gà có tỷ lệ cao nhất với 31/48 mẫu dương tính (64,58%), tiếp đó là vịt có tỷ lệ 10/48 mẫu dương tính (20,83%), mẫu lấy từ môi trường có tỷ lệ 7/48 mẫu dương tính (14,58%). Tỷ lệ dương tính với cúm A tại các tỉnh là khác nhau.

Tỉnh Thanh Hóa có 24/48 mẫu dương tính, chiếm tỷ lệ 50%. Tiếp đó là Nghệ An có 10/48 mẫu dương tính, chiếm 20,83%, Quảng Bình có 9/48 mẫu dương tính, chiếm 18,75%, và thấp nhất ở Hà Tĩnh có 5/48 mẫu dương tính với cúm A, chiếm tỷ lệ 10,41%. Sự sai khác về tỷ lệ lưu hành virus cúm A giữa các tỉnh là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Sự sai khác này có thể được giải thích là do sự lưu thông buôn bán gia cầm sống và giết mổ tại các chợ là khác nhau. Đặc

biệt chợ đầu mối ở thành phố Thanh Hóa có mật độ lưu thông buôn bán, thu gom và giết mổ rất nhộn nhịp, đây cũng là đầu mối thu gom gia cầm từ các tỉnh như Hà Nam, Nam Định, Nghệ An, mỗi ngày lượng gia cầm lưu thông lên đến hàng nghìn con gia cầm các loại. Gia cầm được các tiểu thương thu gom từ các hộ chăn nuôi ở nhiều nơi khác nhau, sau đó tập trung đưa về chợ. Từ đây gia cầm lại được mua bán và vận chuyển đi nơi khác. Đó là một trong những nguyên nhân làm cho tỷ lệ mẫu dương tính với virus cúm type A cao hơn ở các nơi khác.

Tỷ lệ nhiễm virus cúm type A chênh lệch giữa gà và vịt khá cao, lần lượt là 64,58% và 20,83%, điều này cho thấy sự lưu hành virus cúm A trên gà cao hơn trên vịt, đây đều là những động vật cảm nhiễm cao nhất với virus cúm gia cầm. Các mẫu thu thập từ môi trường có tỷ lệ lưu hành virus cúm type A là 14,58%, mẫu môi trường được thu gom từ phân của gia cầm ở các vị trí khác nhau trong lồng nhốt gia cầm, đây là các dụng cụ nuôi nhốt gia cầm dùng trong buôn bán tại các chợ, không được tiêu độc khử trùng nên là nguồn reo rắc mầm bệnh ra môi trường, rất khó để kiểm soát.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sự lưu hành của virus cúm A có tỷ lệ 20,00%, thấp hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Lan và cs (2017) [10] khi tiến hành giám sát sự lưu hành của virus tại một số chợ ở các tỉnh phía Bắc giáp Trung Quốc, nhóm tác giả cho biết, tỷ lệ lưu hành virus cúm A là 22,86%.

3.3. Xác định virus cúm subtype H5, H7

Trong quá trình xét nghiệm, tất cả các mẫu dương tính với virus cúm type A được chúng tôi xác định subtype H5 và H7 bằng kỹ thuật Real time RT – PCR. Kết quả xét nghiệm được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả xét nghiệm virus cúm subtype H5, H7 với các mẫu thu được bằng phương pháp Real Time RT - PCR

Tỉnh	Đối tượng xét nghiệm	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương tính					
			A		H5		H7	
			Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)	Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)	Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)
Thanh Hóa	Gà	24	12	50,00	6	25,00	0	0
	Vịt	16	8	50,00	3	18,75	0	0
	Môi trường	20	4	20,00	3	15,00	0	0
Tổng		**60**	**24**	**40,00**	**12**	**20,00**	**0**	**0**
Nghệ An	Gà	31	7	22,58	0	0	0	0
	Vịt	9	2	22,22	0	0	0	0
	Môi trường	15	1	6,67	0	0	0	0
Tổng		**60**	**10**	**16,67**	**0**	**0**	**0**	**0**
Hà Tĩnh	Gà	40	4	10,00	0	0	0	0
	Môi trường	20	1	5,00	0	0	0	0
Tổng		**60**	**5**	**8,33**	**0**	**0**	**0**	**0**
Quảng Bình	Gà	40	8	20,00	0	0	0	0
	Môi trường	20	1	5,00	0	0	0	0
Tổng		**60**	**9**	**15,00**	**0**	**0**	**0**	**0**
Tổng chung		**240**	**48**	**20,00**	**12**	**5,00**	**0**	**0**

Bảng 3 cho thấy có sự lưu hành của virus cúm subtype H5 tại tỉnh Thanh Hóa, các mẫu dương tính với cúm A ở các tỉnh Nghệ An, Hà Tĩnh, Quảng Bình âm tính với subtype H5. Tại tỉnh Thanh Hóa có 12 mẫu dương tính với cúm subtype H5 ở trên cả 3 đối tượng lấy mẫu giám sát, chứng tỏ tại tỉnh này virus subtype H5 lưu hành rộng khắp. Virus cúm A/H5 được đánh giá là loại virus có kháng nguyên độc lực cao, có khả năng gây bệnh nặng ở các cơ quan, gây nên dịch cúm ở người và gia cầm.

Trong tổng số 240 mẫu gộp được xét nghiệm tại 4 tỉnh Bắc Trung bộ, có 12 mẫu dương tính với cúm subtype H5, chiếm tỷ lệ 5,00%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Lan và cs (2017) [10], khi tác giả thông báo: virus cúm type A/H5 lưu hành rộng rãi ở một số tỉnh biên giới giáp Trung Quốc, trong tổng số 1500 mẫu swab hầu họng gia cầm, có 69 mẫu dương tính với cúm subtype H5, chiếm tỷ lệ 4,60%.

Tuy nhiên, các đối tượng xét nghiệm là gà, vịt, môi trường trong nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ lưu hành virus cúm subtype H5 cao hơn, với tỷ lệ lần lượt là 25,00%; 18,75% và 15,00% so với kết quả của nhóm tác giả trên, đối tượng gà, vịt có tỷ lệ nhiễm bằng nhau với 30/525 mẫu bệnh phẩm dương tính, chiếm 5,71%.

Theo kết quả nghiên cứu của chúng tôi, sự lưu hành virus cúm A/H5 cao tại tỉnh Thanh Hóa là nguy cơ gây bùng phát dịch cúm gia cầm bất cứ lúc nào tại tỉnh này và có thể lan ra các vùng lân cận. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy không có mẫu nào dương tính với virus cúm subtype H7 trên tổng số 48 mẫu dương tính với cúm type A.

3.4. Xác định virus cúm subtype N1, N6, N9

Chúng tôi tiếp tục tiến hành xét nghiệm các mẫu swab dương tính với virus cúm type A để phát hiện sự lưu hành của virus cúm subtype N1, N6 và N9 tại các chợ buôn bán gia cầm sống, các điểm thu gom giết mổ gia cầm trên địa bàn 4 tỉnh giám sát. Kết quả được trình bày tại bảng 4.

Bảng 4. Kết quả xét nghiệm virus cúm subtype N1, N6, N9 với các mẫu thu được bằng phương pháp Real Time RT – PCR

Tỉnh	Đối tượng xét nghiệm	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương tính							
			A		N1		N6		N9	
			Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)	Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)	Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)	Số mẫu (+)	Tỷ lệ (%)
Thanh Hóa	Gà	24	12	50,00	4	16,67	0	0	0	0
	Vịt	16	8	50,00	2	12,50	0	0	0	0
	Môi trường	20	4	20,00	2	10,00	0	0	0	0
Tổng		**60**	**24**	**40,00**	**8**	**13,33**	**0**	**0**	**0**	**0**
Nghệ An	Gà	31	7	22,58	0	0	0	0	0	0
	Vịt	9	2	22,22	0	0	0	0	0	0
	Môi trường	15	1	6,67	0	0	0	0	0	0
Tổng		**55**	**10**	**18,18**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Hà Tĩnh	Gà	40	4	10,00	0	0	0	0	0	0
	Môi trường	20	1	5,00	0	0	0	0	0	0
Tổng		**60**	**5**	**8,33**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Quảng Bình	Gà	40	8	20,00	0	0	0	0	0	0
	Môi trường	20	1	5,00	0	0	0	0	0	0
Tổng		**60**	**9**	**15,00**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Tổng chung		**240**	**48**	**20,0**	**8**	**3,33**	**0**	**0**	**0**	**0**

Kết quả cho thấy, trong số 48 mẫu dương tính với cúm A thì có 8 mẫu dương tính với subtype N1, trong 4 tỉnh lấy mẫu giám sát, chỉ có Thanh Hóa là tỉnh có mẫu bệnh phẩm dương tính với subtype N1, các tỉnh còn lại không có. Không có mẫu nào dương tính với subtype N6 và N9. Điều này chứng tỏ, ngoài sự lưu hành của virus cúm type A/H5N1 thì còn có sự lưu hành của chủng H5Nx nào đó chưa xác định được. Trong 8 mẫu dương tính với cúm A/H5N1 có nguồn gốc từ cả 3 loại đối tượng xét nghiệm, trong đó gà có 4/24 mẫu dương tính, tỷ lệ 16,67%, vịt có 2/16, chiếm 12,50%, mẫu môi trường 2/20, chiếm tỷ lệ 10,00%.

Đối với các mẫu dương tính với cúm A/H5N1 tại Thanh Hóa, theo thông tin từ các chủ hộ buôn bán, thì gia cầm có nguồn gốc từ các huyện Thọ Xuân, Nông Cống, Quảng Xương và Thiệu Hóa. Ở tỉnh Thanh Hóa, tỷ lệ các mẫu dương tính với virus cúm A/H5N1 cao hơn so với các điểm buôn bán, thu gom gia cầm ở các tỉnh khác, sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($p< 0,005$). Thực tế cho thấy chợ đầu mối ở tỉnh Thanh Hóa là một chợ có quy mô rất lớn, tập trung nhiều tiểu thương buôn bán gia cầm, được thu gom từ các địa bàn trong toàn tỉnh, nên khả năng xác định được cúm A/H5N1 cao gấp nhiều lần so với các tỉnh khác.

Nghiên cứu trên 2 loại mẫu swab và mẫu môi trường, kết quả cho thấy: sự lưu hành virus cúm A trên mẫu hầu họng cao hơn trên mẫu môi trường, sự so sánh là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,00329$).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ lưu hành virus cúm A/H5N1 ở gà và vịt cao hơn so với nghiên cứu của Tiền Ngọc Tiên và cs (2016) [11], các tác giả cho biết tỷ lệ lưu hành virus cúm A/H5N1 ở gia cầm là 6,5%, tỷ lệ lưu hành trên vịt là 9,7% và trên gà là 4%.

Kết quả giám sát 15.420 mẫu swab cúm gia cầm của Cục Thú y (do FAO hỗ trợ thực hiện) tại 68 chợ buôn bán gia cầm sống trên địa bàn 32 tỉnh/thành phố trong cả nước từ tháng 12/2015 đến tháng 2/2016 cho thấy có 91% số tỉnh, thành có virus cúm A, 53% số tỉnh có virus H5N6 và 19% số tỉnh có virus H5N1. Tỷ lệ dương tính trên gà bán tại các chợ đối với virus H5N1 là 0,19%, virus H5N6 là 1,32%. Tỷ lệ dương tính trên vịt bán tại chợ đối với virus H5N1 là 2,21%, virus H5N6 là 5,32% [6]. So với nghiên cứu của chúng tôi thì gà có tỷ lệ lưu hành H5N1 là 16,67%, vịt là 12,50%, cao hơn so với công bố của Cục Thú y, có thể do ở thời điểm lấy mẫu, các điểm này là điểm nóng về nguy cơ bùng phát dịch cúm gia cầm, nên gà, vịt có tỷ lệ nhiễm cao.

Kết quả xét nghiệm cho thấy không có mẫu dương tính với virus cúm subtype H7, N6, N9 ở tất cả các mẫu xét nghiệm.

Kết quả xét nghiệm 202.370 mẫu các loại (mẫu swab hầu họng gia cầm, mẫu môi trường, mẫu nước thải) lấy tại hơn 200 chợ, điểm buôn bán gia cầm của 22 tỉnh/thành phố trên cả nước của Cục Thú y từ năm 2013 – 12/2016, cho thấy: chưa có mẫu nào dương tính với virus cúm A/H7N9 [7].

Như vậy, cho đến thời điểm hiện nay, chưa phát hiện virus cúm A/H7N9 ở Việt Nam. Tuy nhiên theo nhận định của nhiều chuyên gia, nguy cơ virus cúm A/H7N9 xâm nhập vào Việt Nam là rất cao. Nghiên cứu về việc vận chuyển gà thải loại từ Trung Quốc vào Việt Nam cho thấy tiềm ẩn nguy cơ mang theo virus cúm A/H7N9 nói riêng và các chủng virus cúm gia cầm khác nói chung. Tổ chức FAO nhận định Việt Nam là một trong những nước thuộc khu vực Đông Nam Á có nguy cơ cao lây nhiễm virus cúm A/H7N9 từ Trung Quốc, vì vậy việc giám sát sự lưu hành của virus cúm type A các chủng độc lực cao như H5, H7, N6, N9 tại các địa bàn trong cả nước là cần thiết.

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, sự lưu hành của virus cúm type A/H5N1 tại các tỉnh Thanh Hóa, Nghệ An, Hà Tĩnh và Quảng Bình trong khoảng thời gian từ tháng 4 – 5/2017 là không cao, nhưng có sự phân bố ở tất cả các đối tượng xét nghiệm (gà, vịt, môi trường). Vì vậy, việc nâng cao ý thức, nâng cao hiểu biết về sự

nguy hiểm của virus cúm đối với người chăn nuôi, các hộ buôn bán gia cầm sống, việc vận chuyển gia cầm là vô cùng quan trọng. Bởi lẽ khi nhiễm virus cúm gia cầm ở dạng tiềm ẩn mà không thể kiểm soát được sẽ là nguồn reo rắc mầm bệnh ra môi trường, truyền sang cho gia cầm khỏe. Chỉ cần có một ổ dịch cúm gia cầm xuất hiện thì nguy cơ lây lan ra một khu vực rộng lớn là rất cao và gây thiệt hại nghiêm trọng.

Mặc dù hiện nay Việt Nam đã sử dụng nhiều biện pháp để phòng chống CGC, nhưng tình trạng chăn nuôi nhỏ lẻ, vận chuyển buôn bán gia cầm sống tại các chợ đầu mối, điểm thu gom gia cầm giết mổ còn bừa bãi, tùy tiện là nguyên nhân của các ổ dịch rải rác tại các hộ chăn nuôi nhỏ lẻ tại địa phương, theo nhận định của Cục Thú y (2016) [6], có các lý do sau: (a) Thời tiết bất lợi và diễn biến bất thường làm giảm sức đề kháng của gia cầm; (b) Virus cúm A/H5N1 và A/H5N6 lưu hành rộng khắp ở các chợ buôn bán gia cầm sống của nhiều tỉnh/thành phố và lây lan qua các hoạt động buôn bán, vận chuyển gia cầm; (c) Các hoạt động vận chuyển, giết mổ gia cầm và di chuyển của người dân gia tăng trong dịp Tết, trong các hoạt động lễ hội đầu năm mới; (d) Nhiều đàn gia cầm đã hết miễn dịch hoặc mới được tái đàn sau dịp Tết nên dễ bị cảm nhiễm virus; (e) Hệ thống mạng lưới thú y cơ sở còn nhiều khó khăn, bất cập như: không có thú y cơ sở hoặc có cán bộ thú y nhưng trình độ chuyên môn yếu, chế độ thù lao cho thú y cơ sở còn thấp. Chúng tôi khuyến cáo các cơ quan chức năng cần có các biện pháp tổng hợp và thực hiện nghiêm túc công tác phòng chống dịch cúm gia cầm.

IV. KẾT LUẬN

Bằng phương pháp Real Time RT – PCR, chúng tôi xác định được sự lưu hành của virus cúm A/H5N1 tại vùng nghiên cứu, có 48 mẫu dương tính với virus cúm type A trong tổng số 240 mẫu swab gộp thu thập tại các chợ đầu mối, các điểm thu gom giết mổ gia cầm sống tại 4 tỉnh Nghệ An, Thanh Hóa, Quảng Bình, Hà Tĩnh, chiếm tỷ lệ 20% . Trong đó Thanh Hóa có tỷ lệ lưu hành virus cúm A cao nhất (40%), thấp nhất ở Hà Tĩnh, với tỷ lệ lưu hành là 8,33%.

Kết quả Real Time RT – PCR phát hiện được 12 mẫu dương tính với virus cúm subtype H5, chiếm tỷ lệ 5%, phân bố ở tỉnh Thanh Hóa, các tỉnh còn lại không có mẫu dương tính với cúm A/H5. Xác định được 8 mẫu dương tính với cúm N1, chiếm tỷ lệ 3,33%. Tỷ lệ này được phân bố ở cả 3 đối tượng xét nghiệm ở tỉnh Thanh Hóa, trong đó gà: 16,67%, vịt: 12,50% và môi trường 10,00%.

Chưa phát hiện thấy mẫu nào dương tính với virus cúm A chủng độc lực cao là H7, N6, N9 tại các điểm giám sát và tại thời điểm nghiên cứu. Như vậy, cho đến thời điểm hiện tại, chưa phát hiện thấy mẫu nhiễm virus cúm A/H7N9 hay A/H7N6 tại Việt Nam.

Tuy nhiên, có thể nói rằng dịch cúm gia cầm đã trở thành dịch địa phương lưu hành rộng rãi tại các tỉnh vùng Bắc Trung bộ và nguy cơ dịch bệnh này xảy ra trong thời gian tới là rất cao. Đây là cơ sở để các địa phương có dịch cần có biện pháp tốt nhất để phòng chống dịch./.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ban chỉ đạo quốc gia phòng chống Cúm gia cầm (2014), "*Báo cáo phòng chống dịch Cúm gia cầm"*.
2. Bộ NN & PTNT (2017), "Quy trình lấy mẫu và xét nghiệm mẫu (gà, vịt và môi trường) trong Chương trình giám sát CGC năm 2017-2018". *Công văn số 1665 /TY-DT* .
3. Cảnh giác với bệnh cúm gia cầm A/H5N1 và H5N6 (2016), http://www.quangninh.gov.vn/So/sonongnghiepptnt/Trang/ChiTietTinTuc.aspx?nid=5208, truy cập ngày 22/9/2018.
4. Cấu tạo cúm gia cầm, http://www.vietdvm.com/gia-cam/benh-gia-cam/cau-tao-virus-cum-gia-cam.html, truy cập ngày 22/9/2018.
5. Cơ quan Thú y vùng III (2017) "Báo cáo kết quả giám sát cúm gia cầm tại các chợ, điểm

thu gom, buôn bán gia cầm sống vùng Bắc Trung bộ", Công văn số 1421/TYV3 – DT.

6. Cục Thú y (2016). Báo cáo chuyên đề công tác thú y năm 2016 và kế hoạch công tác thú y năm 2017.
7. Chủ động ứng phó với dịch cúm gia cầm, http://www.cucthuy.gov.vn/Pages/chu-dong-ung-pho-voi-dich-cgc-.aspx, cập nhật ngày 23/9/2018.
8. Food and Agriculture Organizaiton animal health service/ EMPRES (2017), cập nhật ngày 22/2/2017. Cập nhật tình hình cúm gia cầm tại Trung Quốc http://www.cucthuy.gov.vn/Pages/cap-nhat-J27
9. tinh-hinh-cum-gia-cam-a-h7n9-tai-trung-quoc-.aspx
10. Lê Văn Năm (2014), Bệnh cúm gia cầm, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, XI (1); 81 – 86.
11. Nguyễn Thị Lan, Phạm Ngọc Thạch, Đào Lê Anh, Trịnh Đình Thâu (2017). Giám sát sự lưu hành virus cúm A (H5N1, H5N6 và H7N9) tại một số chợ của các tỉnh biên giới phía Bắc giáp Trung Quốc. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, tập 15, số 2; 178 – 187.
12. Tiền Ngọc Tiên, Quách Thúy Lan, Nguyễn Khoa và Lý Thị Liên Khai (2016). Sự lưu hành và biến đổi di truyền của virus cúm gia cầm Type A H5N1 trên gia cầm tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. Số chuyên đề: Nông nghiệp (Tập 2): 142-151.
13. TCVN 8400-26:2013. Bệnh Động vật – Quy trình chẩn đoán, phần 26: Bệnh cúm gia cầm H5N1.

Ngày nhận 8-11-2017
Ngày phản biện 22-6-2018
Ngày đăng 1-1-2019