**SỰ LƯU HÀNH CỦA VIRUS CÚM GIA CẦM ĐỘC LỰC CAO TRÊN GIA CẦM SỐNG ĐƯỢC BÁN TẠI MỘT SỐ CHỢ THUỘC ĐỊA BÀN TỈNH QUẢNG TRỊ NĂM 2016**

***Nguyễn Xuân Hòa[[1]](#footnote-1), Phạm Hồng Kỳ, Dương Tất Thắng[[2]](#footnote-2), Đinh Văn Tài2, Nguyễn Thị Thoa1, Phạm Hoàng Sơn Hưng1, Bùi Thị Hiền1, Trần Quang Vui1***

**TÓM TẮT**

Nghiên cứu được tiến hành trên 180 mẫu gộp dịch hầu họng gia cầm và 60 mẫu gộp môi trường (30 mẫu phân và 30 mẫu nước) nhằm phát hiện virus cúm A/H5N, H5N6, H7N9 trên địa bàn tỉnh Quảng Trị. Kết quả cho thấy 18,33% (44/240) dương tính với virus cúm A, 2,08% (5/240) mẫu dương tính với H5N6 và không phát hiện mẫu dương tính với H5N1 và H7N9. Tỷ lệ gia cầm dương tính với virus cúm A tại chợ Đông Hà cao nhất 29,17% (14/48 mẫu) và thấp nhất là chợ Diên Sanh với 10,42% (5/48 mẫu). Trong đó, phát hiện sự lưu hành virus cúm H5N6 tại chợ Hố Xá và chợ Đông Hà (4,16%), chợ Cầu (2,08%); trong đó không phát hiện chủng virus này tại các chợ khác. Phát hiện virus cúm A trong các loại mẫu bệnh phẩm dịch hầu họng vịt sống, dịch hầu họng gà sống và mẫu phân tươi với tỷ lệ lần lượt là 17,77%; 27,77 % và 10%. Trong các loại mẫu giám sát chỉ phát hiện virus cúm A/H5N6 ở dịch hầu họng gà sống (5,55%). Tại Quảng Trị, sự lưu hành virus cúm A phổ biến vào tháng 10 (30%), tỷ lệ này giảm thấp vào tháng 5 (7,5%). Tuy nhiên, sự lưu hành virus cúm A/H5N6 lại xảy ra vào tháng 9 (5,0%) và tháng 7 (2,5%); nhưng không phát hiện thấy ở các tháng nghiên cứu còn lại.

*Từ khóa: Cúm gia cầm, A/H5N1, H5N6, H7N9, tỉnh Quảng Trị, Chợ gia cầm sống.*

**The prevalance of high pathogenic Avian influenza (HPAI) virus type A in poultry samples collected in Quang Tri provine makets in 2016**

***Nguyen Xuan Hoa, Pham Hong Ky, Duong Tat Thang, Dinh Văn Tài, Le Dinh Hue, Nguyen Thi Thoa, Pham Hoang Son Hung, Bui Thi Hien, Tran Quang Vui***

**SUMMARY**

The study was conducted on 180 swab samples and 60 environmental samples (30 feces samples and 30 water samples) to detect the presence of influenza virus type A / H5N1, H5N6, H7N9 in live bird markets in Quang Tri province. The results showed that 18.33% (44/240 samples) were positive for influenza type A virus, 2.08% (5/240 samples) positive for suptype H5N6; no samples positive for H5N1 and H7N9. Dong Ha market had the highest rate of poultry carried influenza virus type A with 29.17% (14/48 samples) and the lowest was Dien Sanh market with 10.42% (5/48 samples). Of which, Ho Xa market and Dong Ha market had the highest H5N6 suppression (4.16%), followed by the Cau market (2.08%), this virus strain was not detected in the other markets. Detected influenza A virus in the samples of living duck swab, chicken swab and fresh feces were 17.77%, 27.77% and 10%, respectively. Among these surveillance samples, circulation of type A/H5N6 influenza virus was only observed in chicken swab sample (5.55%). In Quang Tri, the prevalence of influenza A virus was high in October (30%), which was lowest in May (7.5%). However, circulation of influenza A / H5N6 virus only occurred in September (5.0%) and in July (2.5%), while was not found in the remaining studied months.

Key words: A/H5N1 virus, H5N6, H7N9, Quang Tri province, *market.*

1. **ĐẶT VẤN ĐỀ**

Cúm gia cầm (CGC) có tên khoa học là *Avian influenza*, là một bệnh truyền nhiễm cấp tính gây ra bởi virus cúm type A thuộc họ *Orthomyxoviridae*. Bệnh CGC do virus cúm A/H5N1 thể độc lực cao (Highly pathogenic Avian Influenza –HPAI) được tổ chức OIE xếp vào Bảng A danh sách các bệnh truyền nhiễm nguy hiểm với sự lây lan, phát tán nhanh chóng đã và đang là mối quan tâm của toàn thế giới (Alexander, 2007). Nguy hiểm hơn, bệnh từ gia cầm có khả năng lây lan sang người (Li và cs., 2001). Tháng 8 năm 2014, lần đầu tiên, Cục Thú y phát hiện virus cúm A/H5N6 trên đàn gà tại huyện Tràng Định, tỉnh Lạng Sơn và trên đàn vịt tại huyện Kỳ Anh, tỉnh Hà Tĩnh (Cục Thú y, 2016). Trong khi đó, virus cúm A/H7N9 đã xuất hiện tại nước láng giềng Trung Quốc, Malaysia, Đài Loan, Canada làm 683 người bị nhiễm bệnh (WHO, 2013). Chủng virus H7N9 tuy chưa xuất hiện ở Việt Nam nhưng nguy cơ bị xâm nhiễm là rất cao do nước ta có chung đường biên giới với Trung Quốc và thường xuyên có giao thương đi lại.

Tỉnh Quảng Trị nằm ở phía nam của vùng Bắc Trung Bộ, có vị trí địa lý khá đặc biệt. Tỉnh có cửa khẩu quốc tế, và có sự giao thương buôn bán mạnh với các nước Lào và Thái Lan. Trong những năm gần đây, Quảng Trị đang dần phát triển về chăn nuôi, trong đó có chăn nuôi gia cầm (hơn 26 triệu con, số liệu tháng 10/2016). Tuy nhiên, dịch bệnh đang tồn tại lại là trở ngại lớn nhất trong ngành chăn nuôi gia cầm Quảng Trị. Trong 5 năm điều tra (2012- 2016), có tổng số 27 ổ dịch xảy ra trên địa bàn 14 huyện/thành với tổng số gia cầm tiêu hủy là 35.661 con. Một số huyện có số ổ dịch xảy ra nhiều như huyện Vĩnh Linh có 7 ổ dịch, huyện Triệu Phong với 7 ổ dịch, tiếp đến là huyện Hải Lăng có 6 ổ dịch, huyện Gio Linh có 4 ổ dịch, Thị Xã Quảng Trị có 4 ổ dịch, huyện Cam Lộ có 2 ổ dịch và thành phố Đông Hà có 1 phường/xã có dịch (Chi cục chăn nuôi và Thú y tỉnh Quảng Trị, 2016). Dịch CGC xảy ra gây thiệt hại lớn về kinh tế, xã hội của tỉnh nói riêng và nước ta nói chung. Các biện pháp phòng, chống dịch đã được áp dụng ngay từ đầu như tiêu hủy toàn bộ số gia cầm trong vùng dịch; cấm buôn bán, vận chuyển gia cầm ở khu vực có dịch; tiêu độc khử trùng; tiêm phòng vắc xin; tăng cường áp dụng các biện pháp an toàn sinh học (Trần Hữu Cổn, 2004), tuy vậy hàng năm dịch vẫn xảy ra rải rác ở các địa phương trong tỉnh.

Nghiên cứu được tiến hành trên cơ sở thu thập, xét nghiệm mẫu dịch hầu họng gia cầm sống được bán tại các chợ và mẫu nước thải để giám sát sự lưu hành CGC độc lực cao (A/H5N1, H5N6, H7N9) trong năm 2016 trên địa bàn tỉnh Quảng Trị.

**II.NỘI DUNG NGUYÊN LIỆU PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

**2.1. Nội dung nghiên cứu**

-Thu thập mẫu dịch hầu họng và mẫu môi trường tại các chợ buôn bán gia cầm sống trên địa bàn tỉnh Quảng Trị.

-Xác định tỷ lệ nhiễm cúm A/H5N1, H5N6 và H7N9 bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR.

-Đánh giá sự lưu hành của virus cúm type A/H5N1, H5N6 và H7N9 tại một số chợ buôn bán gia cầm sống qua 6 đợt theo dõi trên địa bàn tỉnh Quảng Trị.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

180 mẫu dịch hầu họng và 60 mẫu nước thu từ các chợ: Chợ Hồ Xá (Vĩnh Linh), chợ Cầu (Gio Linh), chợ Đông Hà ( TP Đông Hà), chợ thị xã Quảng Trị (TX Quảng Trị), chợ Diên Sanh (Hải Lăng) tỉnh Quảng Trị từ tháng 05/2016 đến tháng 10/2016.

Các loại hóa chất: Môi trường PBS – Glycerol. Bộ kit chiết tách TACO DNA/RNA extraction kit (GenReach Cat. No. atc-d/rna, 320 tests). Các primers (Bảng 2.1), probe. Nguyên liệu nhân gen: SuperScriptIII Platinum One-Step qRT-PCR kit hãng Invitrogen (Cat No.11732-020). MgCl2 (Promega) 25nM (Kocks và cs., 2006).

Bảng 2.1. Các primer và prober được dùng trong nghiên cứu

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Gene | Primers/  Probes | Sequence (5’-3’) | 5’ | 3’ |
| Matrix | Probe | TGCAGTCCTCGCTCACTGGGCACG | FAM | BHQ1 |
| Forward | CATGGARTGGCTAAAGACAAGACC | None | None |
| Reverse | AGGGCATTTTGGACAAAKCGTCTA | None | None |
| H5-9S | Probe | FAM-TCAACAGTGGCGAGTTCCCTAGCA-BHQ1 | FAM | BHQ1 |
| Forward | ACATATGACTACCCACARTATTCAG | None | None |
| Reverse 1 | AGACCAGCTAYCATGATTGC | None | None |
| Reverse 2 | AAACCAGCCACTATGATTGC | None | None |
| N1-2 China | Probe | TGGTCTTGGCCAGACGGTGC | FAM | BHQ1 |
| Forward | TGGACTAGTGGGAGCAGCAT | None | None |
| Reverse | TGTCAATGGTTAAGGGCAACTC | None | None |
| N6-1 | Probe | FAM-CCAATAACAGGAGGGAGCCCAGACCC-BHQ1 | FAM | BHQ1 |
| Forward | CCCCACCAATGGGAACTG | None | None |
| Reverse | TCTAGGAATGCAAACCCTTTTACC | None | None |
| H7-6 Coda | Probe | 5’-FAM- TGGTTTAGCTTCGGGGCATCATG -BHQ1-3’ | FAM | BHQ1 |
| Forward | 5’- GYAGYGGYTACAAAGATGTG -3’ | None | None |
| Reverse | 5’- GAAGACAAGGCCCATTGCAA -3’ | None | None |
| N9-1  CNIC | Probe | 5’-FAM-AGACAATCCCCGACCGAATGACCC -BHQ1-3’ | FAM | BHQ1 |
| Forward | 5’- TAGCAATGACACACACTAGTCAAT -3’ | None | None |
| Reverse | 5’- ATTACCTGGATAAGGGTCATTACACT -3’ | None | None |

**2.3. Phương pháp thu mẫu**

***Phương pháp lấy mẫu dịch hầu họng***: Mẫu được thu thập, bảo quản và vận chuyển theo TCVN (2016).

***Phương pháp lấy mẫu môi trường :***

* Mẫu phân: Lấy mẫu phân mới ở ít nhất 5 vị trí khác nhau của lồng chứa gia cầm và cho vào ống đựng mẫu đã chứa sẵn môi trường bảo quản virus cúm.
* Mẫu nước: Lấy mẫu nước đã được sử dụng cho gia cầm uống. Không lấy mẫu nước để quá lâu (quá 24 tiếng), hay nước mới thêm vào.

Mẫu sau khi thu được chuyển về Trạm Chẩn đoán, xét nghiệm thuộc Cơ quan Thú y Vùng III (Cục Thú y) để tiến hành xét nghiệm xác định sự lưu hành của virus cúm A/H5N1, H5N6, H7N9 (TCVN, 2014).

2.4. Phát hiện virus cúm bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR

RNA của virus được tách chiết theo hướng dẫn của nhà sản xuất TAKO GenReach với bộ tách chiết TACO DNA/RNA extraction kit (GenReach Cat. No. atc-d/rna, 320 tests). Phản ứng realtime RT-PCR được thực hiện theo quy trình chẩn đoán bệnh CGC thuộc TCVN (2014). Sau khi kết thúc phản ứng RT-PCR, nếu các mẫu dịch có gene M của virus cúm A sẽ tiến hành tiếp các phản ứng nhân gene để xác định H5, H7 và N1, N6, N9.

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Tỷ lệ gia cầm dương tính với virus cúm A tại các chợ thuộc tỉnh Quảng Trị trong 6 đợt giám sát năm 2016**

Sự lưu hành của virus cúm A trên gia cầm được buôn bán tại 5 chợ thuộc tỉnh Quảng Trị trong 6 đợt giám sát năm 2016 được thể hiện ở Bảng 3.1.

**Bảng 3.1** Kết quả giám sát virus cúm A tại các chợ thuộc tỉnh Quảng Trịnăm 2016

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| TT | Tên chợ | Số lượng | **Số mẫu dương tính (+)** | | | | | **Tỷ lệ % dương tính** | | |
| M | **H5** | H7 | N1 | **N6** | M | H5N1 | H5N6 |
| 1 | Hồ Xá | 48 | 7 | **3** | 0 | 0 | **2** | 14,58 | 0,00 | 4,16 |
| 2 | Cầu | 48 | 11 | **1** | 0 | 0 | **1** | 22,91 | 0,00 | 2,08 |
| 3 | Đông Hà | 48 | 14 | **2** | 0 | 0 | **2** | 29,16 | 0,00 | 4,16 |
| 4 | TX Quảng Trị | 48 | 7 | **0** | 0 | - | **0** | 14,58 | 0,00 | 0,00 |
| 5 | Diên Sanh | 48 | 5 | **0** | 0 | - | **0** | 10,41 | 0,00 | 0,00 |
| 6 | **Tổng** | 240 | 44 | **6** | 0 | 0 | **5** | 18,33 | 0,00 | 2,08 |

*(-) Không xét nghiệm*

Kết quả cho thấy tỷ lệ gia cầm dương tính với virus cúm A tại các chợ được lấy mẫu để giám sát trên địa bàn tỉnh Quảng Trị là 18,33% (44/240 mẫu), tỷ lệ dương tính với H5N6 là 2,08%. So sánh với nghiên cứu của Phạm Thành Long (2016), tỷ lệ lưu hành virus cúm A tại các chợ tỉnh Quảng Trị ở thời điểm giám sát (18,33%) thấp hơn trung bình cả nước (29,70%) năm 2016. Tuy nhiên, tỷ lệ lưu hành chủng H5N6 trung bình tại 5 chợ là 2,08% (5/240 mẫu) lại tương đối cao. Đặc biệt tại chợ Hố Xá và Đông Hà cùng đạt tỷ lệ dương tính với H5N6 (4,16%) cao hơn so với trung bình cả nước (3,5%) (Phạm Thành Long*,* 2016). Điều này cho thấy rằng Quảng Trị là một trong những tỉnh có nguy cơ cao bùng phát các các ổ dịch H5N6. Thực tế, trong những năm 2012 - 2014, đây là một trong những tỉnh xảy ra nhiều dịch CGC trong cả nước (Báo cáo tình hình dịch bệnh động vật Chi cục Chăn nuôi và Thú y tỉnh Quảng Trị*,* 2015*)*.

Trong thời gian giám sát, chưa phát hiện sự lưu hành chủng virus H7N9 tại các chợ trên. Nghiên cứu của Phạm Thành Long (2016) cũng cho thấy không có sự lưu hành của chủng virus này tại bất cứ tỉnh nào trên toàn quốc.

Mẫu thu từ chợ Đông Hà có tỷ lệ gia cầm dương tính với virus cúm A cao nhất 29,17% (14/48 mẫu), tiếp đến là chợ Cầu (14,58%), chợ TX Quảng Trị 14,58 %, thấp nhất là chợ Diên Sanh 10,42% (5/48 mẫu). Trong đó chợ có sự lưu hành virus H5N6 cao nhất lại là chợ Hồ Xá và chợ Đông Hà (4,16%), tiếp đến là chợ Cầu (2,08%). Kết quả giám sát này phù hợp với tình hình thực tế ở tỉnh Quảng Trị khi mà chợ Đông Hà thuộc thành phố Đông Hà, là nơi tập trung đông dân cư và là nơi tiêu thụ, lưu thông gia cầm với số lượng lớn. Trong đó chợ Cầu là trung tâm thương mại lớn của địa phương, là chợ nằm trên trục đường Quốc lộ 1A, nơi thường xuyên tiếp xúc nhiều với việc mua bán trao đổi gia cầm từ nhiều nơi khác đến. Bên cạnh đó, huyện Gio Linh cũng là nơi có ổ dịch cũ năm 2014 *(*Báo cáo tổng hợp tình hình dịch CGC năm 2014 của cơ quan Thú y vùng III).

**3.2. Kết quả giám sát virus CGC tại các chợ theo thời gian**

Thông qua phân tích mẫu để đánh giá tỷ lệ nhiễm và thời gian lưu hành của virus CGC trên địa bàn tỉnh Quảng Trijh kết quả được thể hiện qua bảng 3.2.

**Bảng 3.2*.***Tỷ lệ dương tính với virus cúm A/H5N6 từ tháng 5 đến tháng 10 năm 2016

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Tháng | Số mẫu  xét nghiệm | **Kết quả xét nghiệm** | | | | | |
| M | Tỷ lệ % | H5 | Tỷ lệ % | N6 | Tỷ lệ % |
| 5 | 40 | 3 | 7,50 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 |
| 6 | 40 | 9 | 22,50 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 |
| 7 | 40 | 8 | 20,00 | 4 | 3,33 | 3 | 2,50 |
| 8 | 40 | 7 | 17,50 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 |
| 9 | 40 | 5 | 12,50 | 2 | 5,00 | 2 | 5,00 |
| 10 | 40 | 12 | 30,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 |

Kết quả ở Bảng 3.2 cho thấy, tỷ lệ lưu hành virus cúm A trong thời gian 6 tháng giám sát tại 05 chợ khá cao. Tỷ lệ này cao nhất vào tháng 10 (30%) và thấp nhất là vào tháng 05 (7,5%). Tỷ lệ lưu hành virus cúm subtype H5N6 tại tháng 9 là cao nhất (5,0%). Các tháng 5, 6, 8, 10 không phát hiện thấy virus cúm subtype H5N6.

Từ kết quả trên có thể thấy rằng, bệnh cúm H5N6 xảy ra vào tháng 7 và tháng 9 trong đợt giám sát, cao nhất là tháng 9. Giai đoạn tháng 7- 9 là giai đoạn thời tiết chuyển mùa, mưa nắng thất thường làm sức đề kháng của gia cầm bị giảm sút rất dễ cảm nhiễm với các bệnh truyền nhiễm, nhất là bệnh đường hô hấp như CGC.

**3.3. Kết quả nhiễm CGC type A/H5N6 theo loại mẫu tại các chợ thuộc tỉnh quảng trị trong 6 đợt giám sát 2016**

**Bảng 3.3.** Tỷ lệ nhiễm cúm A/H5N6 theo loại mẫu tại các chợ thuộc tỉnh Quảng Trị

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Loại mẫu | Số lượng | **Kết quả xét nghiệm** | | | | | |
| M | Tỷ lệ % | H5 | Tỷ lệ % | N6 | Tỷ lệ % |
| Dịch hầu họng vịt sống | 90 | 16 | 17,77 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 |
| Dịch hầu họng gà sống | 90 | 25 | 27,77 | 6 | 6,67 | 5 | 5,55 |
| Nước uống gia cầm | 30 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 |
| Phân tươi | 30 | 3 | 10 | 0 | 0,00 | 0 | 0,00 |
| Tổng số | 240 | 32 | 13,33 | 6 | 6,67 | 5 | 5,55 |

Có 3/4 loại mẫu được giám sát có sự lưu hành virus cúm A, ngoại trừ loại mẫu nước thải ở chợ, trong đó loại mẫu dịch hầu họng gà sống có tỷ lệ cao nhất (tỷ lệ 27,77%) và thấp nhất là loại mẫu phân tươi ( tỷ lệ 10%). Với mẫu dịch hầu họng vịt sống có tỷ lệ nhiễm virus cúm là 17,77% nhưng không phát hiện được sự tồn tại của H5N6.

IV. KẾT LUẬN

Qua 6 tháng giám sát chúng tôi có một số kết luận như sau: Quảng Trị hiện đang có sự lưu hành của virus cúm A H5N6.

Tỷ lệ lưu hành virus CGC type A cao nhất là tháng 10 và thấp nhất là tháng 5.

Tỷ lệ nhiễm virus H5N6 cao nhất ở tháng 9

Tỉnh Quảng Trị đang có sự lưu hành của virus CGC độc lực cao, vì vậy cần tăng cường tiêm phòng vaccine cúm gia cầm, tuyên truyền cho người dân không nên tiêu thụ gia cầm và sản phẩm gia cầm không rõ nguồn gốc, chủ động phòng, chống khi có dịch xảy ra.

**Tài liệu tham khảo**

1. Cục Thú y (2014). *Ban chỉ đạo Quốc Gia phòng chống dịch cúm gia cầm và Công tác phòng chống dịch cúm gia cầm.*
2. Chi cục Chăn nuôi và Thú y tỉnh Quảng Trị (2016), *Báo cáo tổng kết dịch bệnh động vật.*
3. Cơ quan Thú y Vùng III (2015), *Báo cáo tình hình dịch cúm gia cầm năm 2014.*
4. Cục thú y (2016), *Báo cáo công tác phòng, chống dịch bệnh gia súc, gia cầm, thủy sản năm 2016 và kế hoạch năm 2017, Hà Nội.*
5. Trần Hữu Cổn và Bùi Quang Anh (2004), *Bệnh cúm ở gia cầm và biện pháp phòng chống*, Nhà xuất bản nông nghiệp Hà Nội.
6. Tiêu Chuẩn Việt Nam-TCVN (2006), *Quy trình chẩn đoán bệnh cúm gia cầm, Bộ Nông nghiệp và phát triển nông thôn.*
7. Alexander D.J. (2007), *An overview of the epidemiology of avian influenza*, Vaccine. 25(30), 5637 - 5639. Basler C.F. (2007), *Influenza viruses: basic biology and potential drug targets*, Infect Disord Drug Targets. 7(4), 282 – 293.
8. Li M.L., Rao P., Krug R.M. (2001), *The active sites of the influenza cap-dependent endonuclease are on different polymerase subunits*. Embo J. 20:2078–2086.
9. World Health Organization (2013).

1. Trường Đại học Nông Lâm, Đại Học Huế [↑](#footnote-ref-1)
2. Cơ quan Thú y Vùng III

   *Email: nguyenxuanhoa@huaf.edu.vn* [↑](#footnote-ref-2)