

**Không có bằng chứng về sự lưu hành của phân nhóm cúm gia cầm H5 tại các
trang trại của tỉnh Cà Mau, thuộc Miền Nam Việt nam, từ tháng 3 năm 2016
đến tháng 1 năm 2017**

Thanh NTL¹, Vy NHT¹, XuyenHTA², Phuong HT¹, Tuyet PN², Huy NT², Nguyen-Van-Yen B^{1,3}, Lam HM¹, Boni MF^{1,4,5}

¹ Đơn vị nghiên cứu lâm sàng Đại học Oxford, Wellcome Trust Major Overseas Programme, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

² Chi cục Chăn nuôi và Thú Y, TP Cà Mau, Tỉnh Cà Mau, Việt Nam

³ Khoa Sinh học, École Normale Supérieure, Paris, Pháp

⁴ Trung tâm Y học Nhiệt đới, Nuffield Department of Medicine, Đại học Oxford, Oxford, UK

⁵ Center for Infectious Disease Dynamics, Department of Biology, Pennsylvania State University, University Park, PA, USA

- - -

Correspondence

Maciej F Boni

Center for Infectious Disease Dynamics

Department of Biology

Pennsylvania State University

University Park, PA, 16802, USA

Tel + 1 814 8674651

Tóm Tắt

Dẫn nhập: Phân nhóm cúm gia cầm H5N1 thể độc lực cao và độc lực thấp đã gây bệnh trên động vật tại Việt Nam từ năm 2001. Những loại virus này đã được phát hiện tại các chợ gia cầm sống nhưng tỷ lệ nhiễm virus ở các trang trại chăn nuôi gia cầm thì thường bằng 0 hoặc rất thấp. Nếu như hướng phát tán của virus là từ trang trại đến chợ, thì chúng ta vẫn chưa giải thích được tại sao tỷ lệ nhiễm bệnh tại trang trại rất thấp trong khi tỷ lệ nhiễm bệnh tại chợ ở mức độ từ trung bình đến cao.

Phương pháp: Chúng tôi thiết lập một nghiên cứu đoàn hệ tiến cứu với sự tham gia của 50 trang trại chăn nuôi gia cầm tại tỉnh Cà Mau thuộc khu vực Đồng bằng sông Cửu Long của Việt Nam. Từ tháng 3 năm 2016 đến tháng 1 năm 2017 chúng tôi đã thu thập mẫu phết hầu họng và phết hậu môn của 156 con vịt, 96 con gà và 126 mẫu môi trường. Những mẫu này được làm xét nghiệm để kiểm tra sự hiện diện của virus cúm gia cầm phân nhóm H5 bằng phương pháp Real-time RT-PCR.

Kết quả/Bàn luận: Không có mẫu nào trong số 378 mẫu này dương tính với virus cúm H5. Điều này có nghĩa trong năm 2016, virus cúm gia cầm phân nhóm H5 lưu hành với tỷ lệ rất thấp ở tỉnh Cà Mau. Việc phát hiện virus cúm gia cầm ở các trang trại chăn nuôi là rất cần thiết để làm rõ xu hướng và sự tương quan giữa tỷ lệ nhiễm virus cúm gia cầm tại các trang trại chăn nuôi và tỷ lệ nhiễm virus tại các chợ. Những nghiên cứu ở trang trại có thiết kế giống như nghiên cứu này với quy mô lớn hơn nên được thực hiện để xác định rõ sự tương quan và mức độ tương quan này.

Tổng quan

Nhiều loại virus cúm gia cầm lưu hành trong các đàn gia cầm ở khu vực Đông Nam Á. Tỷ lệ nhiễm virus thay đổi đáng kể tùy theo từng khu vực. Những ổ dịch cúm có thể xảy ra tại các chợ hoặc các trang trại chăn nuôi vào bất cứ thời gian nào, nhưng chúng thường xảy ra vào khoảng Tết Nguyên Đán hoặc các kì nghỉ lễ. Tuy nhiên, tỷ lệ nhiễm virus ở những gia cầm khỏe mạnh chỉ thỉnh thoảng được phát hiện ở những chợ buôn bán gia cầm sống^{2,3,4} nhưng hiếm khi được phát hiện ở các trang trại chăn nuôi^{4,5,6}. Điều này gây bất ngờ bởi vì gia cầm sống 6-8 tuần trong trang trại và chỉ ở chợ buôn bán gia cầm trong khoảng từ 6-12 giờ^{20,21}. Chúng ta dự đoán hướng phát tán virus phổ biến sẽ là từ trang trại ra chợ, do đó sự dương tính với virus tại các chợ có thể bắt nguồn từ sự dương tính với virus tại các trang trại chăn nuôi. Nhưng rất khó để có thể giải thích được hướng lây nhiễm này với một cơ sở dữ liệu rõ ràng.

Khu vực Đồng bằng sông Cửu Long của Việt Nam là khu trung tâm lưu hành cúm gia cầm với những ổ dịch cúm¹ thường xảy ra ở các trang trại chăn nuôi và gây ra những ca bệnh trên người từ năm 2004 (tổng cộng đã có 127 ca ở Việt nam⁷). Trong năm 2015, tỷ lệ mắc bệnh cúm gia cầm đã được báo cáo trong kết quả giám sát chủ động trên những gia cầm khỏe mạnh tại các chợ buôn bán gia cầm của tỉnh Cà Mau - một tỉnh ở phía cực nam của khu vực Đồng bằng sông Cửu Long, cách thành phố Hồ Chí Minh khoảng 240 km về phía tây nam. Kết quả xét nghiệm phân tử trên mẫu gộp – do Chi cục Chăn nuôi và Thú y Cà Mau thu được từ các khu chợ gia cầm sống trên địa bàn – cho thấy tỷ lệ cá thể gia cầm dương tính đối với cúm H5 nằm trong khoảng 4.2% đến 6.3%. Trong khi đó, kết quả xét nghiệm trên mẫu môi trường (phân, lông gia cầm) được thu cùng địa điểm cho tỷ lệ dương tính trong khoảng 1,4% đến 4.5%. So với năm 2015, thì tỷ lệ cá thể gia cầm dương tính và tỷ lệ mẫu môi trường dương tính trong năm 2016 tăng nhẹ (theo báo cáo

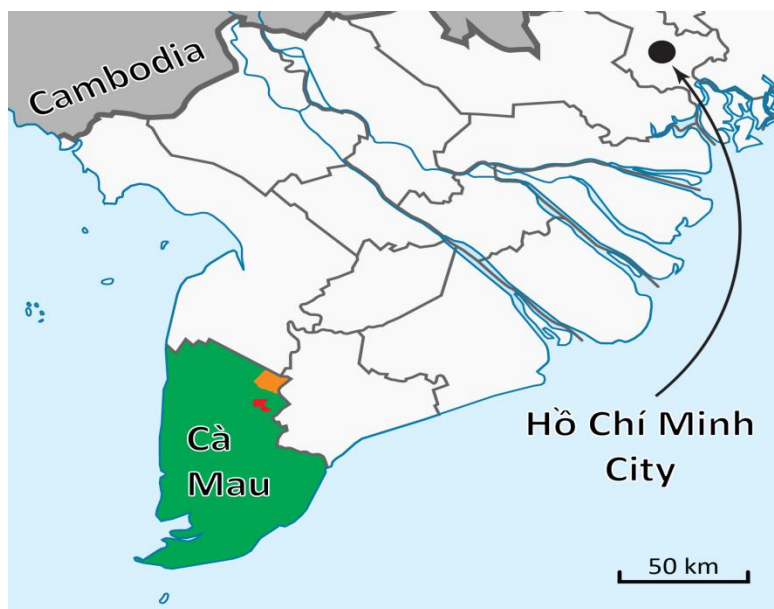
nội bộ năm 2015 và 2016 của Chi cục Chăn nuôi và Thú y tỉnh Cà Mau). Phân nhóm virus cúm H5N1 đã lưu hành tại tỉnh Cà Mau từ năm 2005 hoặc sớm hơn^{8,9,10} với nhiều ổ dịch được báo cáo từ năm 2005 đến năm 2016^{1,11,12}, và vì những lý do này tỉnh Cà Mau được xem là khu vực lưu trữ bệnh, nơi mà virus cúm gia cầm có thể lưu hành và tồn tại dai dẳng trong các trang trại chăn nuôi.

Để hỗ trợ Chi cục Chăn nuôi và Thú y Cà Mau điều tra sâu hơn về những kết quả nghiên cứu này, chúng tôi đã thiết lập một nghiên cứu với sự tham gia của 50 trang trại chăn nuôi gia cầm. Nhóm nghiên cứu đã tiến hành thu thập phiếu điều tra về sự thay đổi số lượng gia cầm hàng tháng và thu mẫu trên những gia cầm khỏe mạnh để thực hiện xét nghiệm phân tử phát hiện sự tồn tại của phân nhóm virus cúm H5 từ tháng 3 năm 2016 đến tháng 1 năm 2017.

Phương pháp

Với sự hỗ trợ của Chi cục Chăn nuôi và Thú y Cà Mau, 50 trang trại chăn nuôi gia cầm ở xã Tân Lộc và xã Tân Phú thuộc huyện Thới Bình (25 trang trại ở mỗi xã) (Hình 1) được mời tham gia vào nghiên cứu. Hai xã này được lựa chọn bởi Chi cục Chăn nuôi và Thú y Cà Mau vì lịch sử xảy ra các ổ dịch trong quá khứ, tỷ lệ đồng ý tham gia nghiên cứu, mật độ các trang trại và khoảng cách gần với thành phố Cà Mau. Tiêu chí lựa chọn trang trại được thiết kế để cả những trang trại chăn nuôi nhỏ hay lớn, những trang trại chăn nuôi gà hay vịt đều được tham gia vào nghiên cứu. Một trang trại được xem là trang trại chăn nuôi nhỏ nếu chỉ nuôi từ 20 đến 100 con gia cầm, là trang trại chăn nuôi lớn nếu nuôi trên 100 con. Đối với những trang trại chăn nuôi gà, chúng tôi đã lựa chọn 80% là trang trại chăn nuôi nhỏ và 20% là trang trại chăn nuôi lớn. Đối với những trang trại chăn nuôi vịt, chúng tôi đã lựa chọn 50% trang trại chăn nuôi nhỏ và 50% trang trại chăn nuôi lớn. Những trang trại này nuôi nhiều loài gia cầm và những loài này thay đổi theo thời gian.

Các loài gia cầm khác được nuôi ở những trang trại này bao gồm vịt xiêm, ngỗng, chim cút, gà tây và chim bồ câu. Nghiên cứu được thiết kế để biểu diễn cỡ đàn gia cầm theo thời gian và biểu diễn sự dương tính với cúm gia cầm theo thời gian, sau đó xác định liệu rằng hai biến số này có tương quan với nhau theo thời gian hay không. Những phiếu khảo sát thu thập hàng tháng tại 50 trang trại này được bắt đầu từ tháng 6 năm 2015. Những thông tin thu thập bao gồm loài gia cầm, tuổi, số lượng gia cầm đã bán, đã mua và số lượng gia cầm chết trong tháng. Một nghiên cứu thử nghiệm thu thập mẫu phết hầu họng, phết hậu môn của những cá thể gia cầm cũng như thu thập mẫu lông và mẫu phân được bắt đầu vào tháng 3 năm 2016. Hợp tác nghiên cứu được phê duyệt bởi Bệnh viện Bệnh Nhiệt Đới TP Hồ Chí Minh và thiết kế nghiên cứu được chấp thuận của Chi cục Chăn nuôi và Thú Y Cà Mau (Đây là đơn vị có quyền hạn tương đương với Ủy ban sử dụng và chăm sóc động vật ở Mỹ để chấp thuận những nghiên cứu giống như nghiên cứu này)



Hình 1. Bản đồ khu vực nghiên cứu. Tỉnh Cà Mau được tô màu xanh lá. Xã Tân Lộc (màu đỏ) cách TP Cà Mau (nằm ở trung tâm của tỉnh Cà Mau) khoảng 10 km. Xã Tân Phú (màu cam) cách TP Cà Mau 20 km.

Bốn đợt thu mẫu được tiến hành vào tháng 3 (3 trang trại), tháng 8 (6 trang trại), tháng 11 năm 2016 (6 trang trại) và tháng 1 năm 2017 (6 trang trại). Những trang trại được lựa chọn thu mẫu khi có đủ số lượng gia cầm, cả gà và vịt để số lượng gà và vịt được thu mẫu xấp xỉ bằng nhau, những gia cầm này ít nhất phải đủ 6 tuần tuổi. 18 mẫu được thu thập ở mỗi trang trại bao gồm 6 mẫu phết hầu họng, 6 mẫu phết hậu môn, 3 mẫu phân và 3 mẫu lông. Mỗi con gia cầm sẽ được thu cả phết hầu họng và phết hậu môn. 2 mẫu phết hầu họng hoặc 2 mẫu phết hậu môn của 2 con gia cầm khác nhau sẽ được gộp chung. Những mẫu này được đựng trong ống chứa môi trường vận chuyển virus và được đóng gói trong thùng xốp chứa đá khô và vận chuyển về TP Hồ Chí Minh (khoảng 6 giờ) và sau đó được lưu trữ trong tủ lạnh - 80°C tại Đơn vị nghiên cứu lâm sàng Đại học Oxford. Tổng cộng có 378 mẫu đã được thu thập trong khoảng thời gian 10 tháng thu mẫu. Giả sử tỷ lệ cá thể gia cầm dương tính là 2%, nghiên cứu sẽ có 5 mẫu dương tính hoặc nhiều hơn với xác suất là 87,5%. Thiết kế lấy mẫu và số lượng mẫu thu thập được dựa trên báo cáo giám sát chủ động năm 2015 của Chi cục Chăn nuôi và Thú Y Cà Mau.

RNA của virus được tách chiết từ 140uL của mỗi mẫu gộp để thu được thể tích mẫu tách chiết cuối cùng là 60uL. Quá trình tách chiết được thực hiện bằng tay với kit thương mại QIAamp Viral RNA Mini (Qiagen, Cat ID.52906), RNA virus sau khi tách chiết được lưu trữ ở -80°C cho những thí nghiệm sau này. Tất cả những mẫu đã tách chiết được sàng lọc để phát hiện sự tồn tại của virus cúm phân nhóm H5 bằng phương pháp real-time RT-PCR. Các môi và mẫu dò được sử dụng trong thí nghiệm này theo hướng dẫn của Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa dịch bệnh Hoa Kỳ (CDC). Những nghiên cứu về virus cúm gia cầm trước đây ở miền Nam Việt Nam cũng sử dụng những môi và mẫu dò này. Môi và mẫu dò được liệt kê trong Bảng 1, cả môi của H5a và H5b đều được sử dụng trong nghiên cứu này.

Bảng 1. Mồi và đầu dò được sử dụng trong xét nghiệm Real-time PCR

Primers and Probes	Sequence (5' > 3')
As H5a Forward	TGG AAA GTG TAA RAA ACG GAA CGT
As H5a Reverse	YGC TAG GGA ACT CGC CAC TG
As H5a Probe1	FAM-TGA CTA CCC GCA G''T''A TTC AGA AGA AGC AAG ACT AA-BHQ1
As H5a Probe2	FAM-CAA CTA TCC GCA G''T''A TTC AGA AGA AGC AAG ATT AA-BHQ1
As H5b Forward	GGA ATG CCC CAA ATA TGT GAA ATC AA
As H5b Reverse	CTC CCC TGC TCA TTG CTA TGG T
As H5b Probe	Cyan500-TAC CCA TAC CAA CCA "T"CT ACC ATT CCC TGC CAT-BBQ

Phản ứng khuếch đại PCR sử dụng kit LightCycler 480 RNA Master Hydrolysis Probes (Roche CatID.04991885001) và được thực hiện trên máy LightCycler 480 Instrument II (Roche). Mỗi phản ứng có tổng thể tích là 20uL, trong đó bao gồm 5uL RNA virus đã tách chiết, dung dịch hỗn hợp RNA Master Hydrolysis Probes 1X, 3.25mM Mn(Oac)₂, dung dịch tăng cường 1X, 0.2uM mẫu dò của cúm gia cầm H5a/H5b, 0.8uM mồi của cúm gia cầm H5a/H5b (cho mỗi phản ứng) và nước.

Chúng tôi sử dụng mẫu kiểm tra không có virus (chứng âm) và mẫu kiểm tra có virus (chứng dương) cho tất cả các mồi và mẫu dò trong mỗi lần thực hiện phản ứng PCR để kiểm tra chất lượng phản ứng. Điều kiện chu trình nhiệt như sau: phiên mã ngược ở 58⁰C trong 20 phút, bất hoạt enzyme ở 95⁰C trong 5 phút, quá trình khuếch đại gồm 45 chu kỳ ở 95⁰C trong 15 giây, 55⁰C trong 30 giây và 72⁰C trong 20 giây. Dữ liệu được phân tích bằng phần mềm LightCycler 480. Một mẫu được xem là dương tính nếu giá trị Cp ≤ 40. Chứng dương và chứng âm lần lượt cho thấy có hoặc không có sự khuếch đại.

Kết quả

50 trang trại tham gia vào nghiên cứu từ tháng 6 năm 2015, và nghiên cứu được chạy thử nghiệm trong 6-8 tháng đầu để xác định liệu rằng việc thu thập dữ liệu (đếm số lượng gia cầm) đơn giản, đáng tin cậy và ổn định hay không. Những trang trại đã nuôi các loài gia cầm khác nhau và thay đổi cỡ đàn trong suốt thời gian tham gia nghiên cứu. Mặc dù mục đích ban đầu của nghiên cứu là lựa chọn những trang trại chủ yếu nuôi gà và chủ yếu nuôi vịt, nhưng khoảng một nửa số trang trại đã nuôi trộn lẫn cả gà, vịt, và vịt xiêm nên rất khó để phân loại những trang trại này như là một trang trại chỉ nuôi một loại gia cầm chính yếu.

Tổng số đã có 21 trang trại được chọn để thu mẫu gia cầm từ tháng 3 năm 2016 đến tháng 1 năm 2017 (Bảng 2) Những trang trại này nuôi từ 29 đến 572 con gia cầm. Chỉ có một trang trại nuôi vượt quá con số này. Trang trại này nuôi 1600 con chim cút, 150 con vịt và 60 con gà. Mẫu phết hầu họng và phết hậu môn được thu thập từ 156 con vịt và 96 con gà. Tất cả những con gia cầm được thu mẫu đều ít nhất là 6 tuần tuổi. Mẫu môi trường bao gồm 47 mẫu phân vịt, 47 mẫu phân gà, 16 mẫu lông vịt và 16 mẫu lông gà. Tổng cộng 378 mẫu đã được xét nghiệm âm tính với cúm H5 bằng phương pháp Realtime RT-PCR, kết quả là tỷ lệ nhiễm virus cúm H5 ước tính là 0.0% (Khoảng tin cậy là 95%: 0.0%-0.97%). Giả thuyết đơn giản nhất để giải thích cho những kết quả trên là sự lưu hành của phân nhóm virus cúm H5 tại tỉnh Cà Mau là rất thấp trong năm 2016.

Tất cả những gia cầm đều khỏe mạnh vào thời điểm thu mẫu. Có một trang trại báo cáo 44 % gia cầm bị chết trong tháng thu mẫu (Tháng 8 năm 2016) và vì trang trại này không còn gà nên nhóm nghiên cứu tiếp tục thu mẫu ở một trang trại khác để có đủ số lượng là 18 mẫu. 20 trang trại còn lại có ít hơn 10 % tỷ lệ gia cầm trưởng thành chết trong tháng

thu mẫu, tỷ lệ này nằm trong tỷ lệ chết bình thường ở các trang trại chăn nuôi gia cầm ở Việt Nam.

Bảng 2. Số lượng mẫu thu thập và số lượng gia cầm có trong trang trại đầu tháng thu mẫu. Tất cả các mẫu đều âm tính với phân nhóm cúm H5. ^{a,b}Việc thu thập mẫu ở trang trại 6 được thực hiện ở 2 trang trại (a và b) vì 16/20 con gà đã chết ở trang trại a và việc thu thập mẫu trên gà được thực hiện ở trang trại b.

Mã trại	Tháng	Số lượng vịt thu mẫu / Số lượng vịt có trong trang trại	Số lượng gà thu mẫu / Số lượng gà có trong trang trại	Số lượng các loại gia cầm khác	Số lượng mẫu lông/phân thu thập
1	03/2016	6 / 510	6 / 36	19	6
2	03/2016	6 / 15	6 / 170	0	6
3	03/2016	12 / 495	0 / 0	0	6
4	08/2016	6 / 200	6 / 75	15	6
5	08/2016	6 / 25	6 / 113	9	6
6	08/2016	6 / 30 ^a	6 / 120 ^b	0 ^a , 53 ^b	6
7	08/2016	6 / 6	6 / 566	0	6
8	08/2016	6 / 285	6 / 60	4700	6
9	08/2016	12 / 70	0 / 8	7	6
10	11/2016	6 / 25	6 / 22	0	6
11	11/2016	6 / 45	6 / 17	0	6
12	11/2016	12 / 58	0 / 0	30	6
13	11/2016	6 / 47	6 / 215	0	6
14	11/2016	6 / 28	6 / 25	10	6
15	11/2016	6 / 120	6 / 110	58	6

16	01/2017	12 / 15	0 / 0	14	6
17	01/2017	6 / 31	6 / 6	0	6
18	01/2017	12 / 18	0 / 0	17	6
19	01/2017	6 / 119	6 / 45	2	6
20	01/2017	6 / 25	6 / 192	6	6
21	01/2017	6 / 87	6 / 262	0	6

Thảo luận

Chăn nuôi nhỏ lẻ chiếm phần lớn trong ngành chăn nuôi gia cầm của Việt Nam, với hơn 96% các trang trại nuôi ít hơn 100 con gà¹⁵ và hơn 93 % các trang trại nuôi ít hơn 100 con vịt¹⁶. Những ổ dịch cúm gia cầm thường xuyên xảy ra ở các trang trại và được báo cáo mỗi năm ở Việt Nam^{1,17} vì có sự xuất hiện lại của phân nhóm cúm H5N1 thể độc lực cao ở Châu Á vào năm 2002 và 2003^{18,19}. Việc buôn bán gia cầm sống ở Việt Nam diễn ra ở những nơi không chính thống như buôn bán tại các hộ gia đình và các chợ bán đồ ăn tươi sống, với nhiều chợ lấn chiếm vị trí của các khu chợ trung tâm thị trấn hay thành phố và những khu chợ tự phát bên lề đường hay ở các vùng nông thôn. Nhiều loại virus cúm gia cầm được phát hiện trên cả những gia cầm khỏe mạnh và gia cầm bị bệnh tại các chợ, nhưng khi thu mẫu đồng thời trên gia cầm khỏe mạnh ở các chợ và các trang trại thì hiếm khi thấy có kết quả dương tính ở trang trại. Hiện tại, chưa có bằng chứng cho thấy khả năng tồn tại lâu dài của virus cúm tại các khu chợ gia cầm; do đó, hướng phát tán phổ biến của virus là từ trang trại ra chợ. Tuy nhiên, rất khó để đưa ra kết luận chắc chắn về điều này khi những đặc thù về mua bán, vận chuyển, và lưu trữ gia cầm tại các chợ vùng nông thôn Việt Nam vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ.

Sẽ có bằng chứng chứng minh cho hướng phát tán phổ biến của virus là từ trang trại ra chợ nếu tỷ lệ nhiễm virus cúm gia cầm ở các trang trại xấp xỉ bằng tỷ lệ nhiễm virus ở các chợ. Một nghiên cứu nhằm thu thập những bằng chứng này đòi hỏi phải theo dõi các trang trại ở gần khu vực chợ trong một thời gian dài, để tỷ lệ mắc bệnh ở các trang trại có thể được điều tra khi bệnh cúm gia cầm được phát hiện ở các chợ trong các cuộc điều tra giám sát chủ động hay thụ động. Tuy nhiên, cỡ mẫu cần thiết - kể cả số lượng trang trại và số lượng các cá thể gia cầm - đều phải rất lớn vì tỷ lệ mắc bệnh cúm trên những gia cầm khỏe mạnh là dưới 1% và tỷ lệ phát hiện virus cúm gia cầm trên những con vịt khỏe mạnh thường cao hơn trên gà hay vịt xiêm khỏe mạnh. Vì lý do đơn giản này, rất khó thể thực hiện những nghiên cứu như vậy vì tỷ lệ thất bại rất cao khi số lượng gia cầm dương tính ở các trang trại không được phát hiện trong khoảng thời gian mà các ổ dịch đang xuất hiện tại các chợ. Tuy nhiên, việc thiết kế những nghiên cứu lớn²² như vậy sẽ rất quan trọng đối với những tổ chức nghiên cứu chuyên về sức khỏe động vật hoặc các mầm bệnh lây từ động vật qua người để có thể rút ra kết luận chính xác hơn về nguồn gốc của virus cúm được phát hiện ở các chợ buôn bán gia cầm sống. Trong nghiên cứu của chúng tôi, số lượng gia cầm dương tính với H5N1 của 21 trang trại là 0 trong vòng 10 tháng mặc dù tất cả các con gia cầm được thu mẫu đều từ 6 tuần tuổi trở lên và tỷ lệ mắc bệnh thấp hơn dự đoán của chúng tôi khi bắt đầu nghiên cứu này. Điều này có nghĩa những điểm dữ liệu để hỗ trợ cho giả thuyết hướng phát tán của virus là từ trang trại ra chợ rất khó để thu thập được nếu không có một thiết kế nghiên cứu với sự tham gia của hơn 100 trang trại và thu thập khoảng hơn 1000 mẫu mỗi năm. Theo ý kiến chuyên môn của cán bộ Chi cục Chăn nuôi và Thú y tỉnh Cà Mau, có ba lý do chính khiến tỉ lệ nhiễm cúm gia cầm tại các khu chợ cao hơn tại các trang trại trên địa bàn, đó là: (1) Nhiều gia cầm bán tại chợ được nhập từ các địa phương khác; và (2) việc vệ sinh, tiêu độc, khử trùng tại các khu chợ gia cầm chưa được quan tâm, thực hiện định kỳ như tại các hộ chăn nuôi (3) Các hộ chăn

nuôi tham gia nghiên cứu này mỗi quý đều có buổi tập huấn phòng, chống một số bệnh trên gia cầm và họ có tương tác với Chi cục chăn nuôi và thú y Cà Mau mỗi tháng một lần.

Một tình trạng tương tự về sự dương tính ở chợ nhưng âm tính ở các trang trại được quan sát thấy trong những ổ dịch H7N9 ở Trung Quốc. Sự nhiễm bệnh đầu tiên năm 2003 ảnh hưởng đến cư dân ở thành thị nhiều hơn ở nông thôn²³. Những mẫu gia cầm thu thập tại các chợ buôn bán gia cầm sống trong khoảng thời gian này dương tính với H7N9 và mẫu thu thập tại các trang trại thì âm tính²⁴. Hơn nữa, những chợ buôn bán gia cầm sống chịu ảnh hưởng của việc lây truyền mầm bệnh từ gia cầm qua người. Đã có những bằng chứng về nguy cơ nhiễm H7N9^{26,27,28} nhưng phần lớn sự nhiễm bệnh ở người được báo cáo ở các khu vực chợ buôn bán gia cầm sống ở khu vực thành thị. Mặc dù việc virus H7N9 không được phát hiện tại các trang trại gia cầm²⁹ là rất phổ biến nhưng kết quả của những nghiên cứu không phát hiện được virus (kết quả âm tính) hiếm khi được công bố và chúng ta không thể xác định được liệu rằng việc không phát hiện được virus là do thiếu những nghiên cứu ở trang trại hay do những kết quả âm tính không được công bố.

Ngoài cỡ mẫu lớn, thì đặc tính thứ 2 của thiết kế nghiên cứu hữu ích cho việc tìm hiểu về hướng phát tán bệnh là các bảng khảo sát tại trang trại^{30, 31}. Những bản khảo sát này cho phép theo dõi lại vị trí bán (hầu hết gia cầm của các hộ chăn nuôi thường được bán tại các chợ và một phần nhỏ bị giết mổ phục vụ cho nhu cầu của gia đình). Sự hữu ích của những thông tin như thế này có thể thấy được từ những phân tích trên hệ thống chợ của Fournie và cộng sự^{20,21}, những phân tích này cho thấy gia cầm từ các chợ buôn bán gia cầm sống có thể có nhiều nguồn gốc khác nhau, kể cả đến từ các chợ buôn bán gia cầm sống khác. Tại các chợ buôn bán gia cầm sống nhỏ, nông dân thường bán gia cầm của chính họ trong khi ở những chợ buôn bán gia cầm sống lớn hơn, người bán thường bán

các gia cầm được tập hợp lại thông qua việc mua bán. Với một phân tích tập trung vào trang trại, chúng ta có thể xác định được liệu rằng những trang trại chăn nuôi có thường bán gia cầm của họ chủ yếu cho thương lái, bán tại các chợ gia cầm sống ở gần hay ở xa. Điều này sẽ cho chúng ta những cơ sở để quyết định rằng virus hiện diện ở chợ được bắt nguồn từ sự lưu hành virus ở các trang trại.

Mẫu dò và môi được sử dụng trong phương pháp chẩn đoán phân tử của chúng tôi được thiết kế cách đây hơn 10 năm. Chúng được sử dụng để phát hiện phân nhóm virus H5 từ những mẫu gia cầm thu được trong các dịch cúm xuất hiện trong năm 2010¹¹ và 2013¹⁴ ở miền Nam Việt Nam, nhưng chúng tôi không thể loại trừ giả thuyết là đã xuất hiện đột biến trên gen quy định protein Haemagglutinin của virus cúm H5N1 và làm cho xét nghiệm sử dụng những mẫu dò và môi này có độ nhạy thấp. Những ổ dịch được báo cáo trong năm 2015 và 2016, bao gồm cả những ổ dịch ở tỉnh Cà Mau trong hai năm qua đều có mẫu được phát hiện dương tính bằng phương pháp real-time RT-PCR được thực hiện bởi hệ thống các phòng xét nghiệm thú y của nhà nước. Chúng tôi được biết là mẫu dò và môi được sử dụng ở các phòng thí nghiệm cấp tỉnh và cấp huyện xã không thay đổi trong nhiều năm qua.

Thiết kế nghiên cứu ban đầu nhằm biểu diễn tỷ lệ mắc bệnh cúm gia cầm và cỡ đàn gia cầm của các trang trại chăn nuôi theo thời gian. Mục tiêu của chúng tôi là nghiên cứu sự thay đổi cỡ đàn của từng trang trại và sự chồng chéo giữa các đàn gia cầm khác nhau của cùng một trang trại, để xác định liệu rằng có mối liên hệ nào giữa hai yếu tố này với sự tồn tại hay tỷ lệ mắc bệnh cúm gia cầm trên từng trang trại riêng biệt hay không. Mặc dù, rõ ràng rằng virus cúm luôn tồn tại ở một số khu nào đó ở miền Nam Việt Nam, nhưng sự tồn tại hay không tồn tại của virus được quy định bởi mùa, mật độ gia cầm, sự du nhập của các loài chim hoang dã, tập quán chăn nuôi hay một số tác động khác làm virus phát

tất đến và đi giữa các khu vực vào các thời điểm khác nhau thì chưa được biết rõ. Để tìm hiểu thêm về sự lưu hành theo khu vực của virus, việc thu mẫu rộng hơn và thường xuyên hơn tại các chợ và các trang trại cần được thực hiện và kết quả nghiên cứu cho dù là không tìm thấy sự hiện diện của virus cũng nên được công bố rộng rãi để những kết quả phát hiện được virus có thể biện luận một cách chính xác.

Mâu thuẫn lợi ích

Những tác giả của bài báo này không có mâu thuẫn nào về lợi ích.

Số liệu

Tất cả các dữ liệu liên quan đến kết quả được trình bày trong bài báo. Thông tin chi tiết hơn về những dữ liệu này vui lòng liên hệ tác giả bài báo qua email.

Nguồn tài trợ

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Cơ quan giảm thiểu đe dọa quốc phòng (Defense Threat Reduction Agency - DTRA) và Wellcome Trust (mã tài trợ 098511/Z/12/Z). Người tài trợ không có mối liên hệ đến thiết kế nghiên cứu, thu thập dữ liệu, phân tích và quyết định công bố hay quá trình viết bài.

Lời cảm ơn

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn các nhân viên thú y tại điểm nghiên cứu của tỉnh Cà Mau, đặc biệt là ông Huỳnh Thanh Tuấn và bà Dương Bích Ngân. Chân thành cảm ơn ông Juan Carrique-Mas và bà Ngô Thị Hoa đã đóng góp ý kiến hữu ích cho việc thiết kế nghiên cứu.

Tài liệu tham khảo

1. OIE_World_Organization_for_Animal_Health. World Animal Health Information Database [Internet]. 2017. Available: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home
2. Phan MQ, Henry W, Bui CB, Do DH, Hoang N V, Thu NT, et al. Detection of HPAI H5N1 viruses in ducks sampled from live bird markets in Vietnam. *Epid Infect.* 2012;141: 601–611. doi:10.1017/S0950268812001112
3. Creanga A, Thi Nguyen D, Gerloff N, Thi Do H, Balish A, Dang Nguyen H, et al. Emergence of multiple clade 2.3.2.1 influenza A (H5N1) virus subgroups in Vietnam and detection of novel reassortants. *Virology.* Elsevier; 2013; 1–9. doi:10.1016/j.virol.2013.06.005
4. Okamatsu M, Nishi T, Nomura N, Yamamoto N, Sakoda Y, Sakurai K, et al. The genetic and antigenic diversity of avian influenza viruses isolated from domestic ducks, muscovy ducks, and chickens in northern and southern Vietnam, 2010-2012. *Virus Genes.* 2013;47: 317–329. doi:10.1007/s11262-013-0954-7
5. Henning J, Henning K a, Morton JM, Long NT, Ha NT, Vu LT, et al. Highly pathogenic avian influenza (H5N1) in ducks and in-contact chickens in backyard and smallholder commercial duck farms in Viet Nam. *Prev Vet Med.* 2011;101: 229–40. doi:10.1016/j.prevetmed.2010.05.016
6. Carrique-Mas JJ. Gathering Evidence for a Transitional Strategy (GETS) for Hihgly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) H5N1 Vaccination in Vietnam. 2011.
7. Fournié G, Guitian J, Desvaux S, Mangtani P, Ly S, Cong VC, et al. Identifying live bird markets with the potential to act as reservoirs of avian influenza a (H5N1) virus: A survey in Northern Viet Nam and Cambodia. *PLoS One.* 2012;7: e37986. doi:10.1371/journal.pone.0037986
8. Fournié G, Tripodi A, Nguyen TTT, Nguyen VT, Tran TT, Bisson A, et al. Investigating poultry trade patterns to guide avian influenza surveillance and control: a case study in Vietnam. *Nat Sci Rep.* Nature Publishing Group; 2016;6: 29463. doi:10.1038/srep29463
9. World_Health_Organization. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003-2017 [Internet]. 2017. Available: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/H5N1_cumulative_table_archives/en/

10. Wan X-F, Nguyen T, Davis CT, Smith CB, Zhao Z-M, Carrel M, et al. Evolution of highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses in Vietnam between 2001 and 2007. PLoS One. Public Library of Science San Francisco, USA; 2008;3: e3462. doi:10.1371/journal.pone.0003462
11. Nguyen TD, Nguyen TV, Vijaykrishna D, Webster RG, Guan Y, Peiris JSM, et al. Multiple sublineages of influenza A virus (H5N1), Vietnam 2005-2007. Emerg Infect Dis. 2008;14: 632–636.
12. Zhao D, Liang L, Li Y, Jiang Y, Liu L, Chen H. Phylogenetic and Pathogenic Analyses of Avian Influenza A H5N1 Viruses Isolated from Poultry in Vietnam. Smith GJD, editor. PLoS One. 2012;7: e50959. doi:10.1371/journal.pone.0050959
13. Minh PQ, Stevenson M a., Jewell C, French N, Schauer B. Spatio-temporal analyses of highly pathogenic avian influenza H5N1 outbreaks in the Mekong River Delta, Vietnam, 2009. Spat Spatiotemporal Epidemiol. Elsevier Ltd; 2011;2: 49–57. doi:10.1016/j.sste.2010.11.001
14. Long NT, Thanh TT, van Doorn HR, Vu PP, Dung PT, Dung TTK, et al. Recent Avian Influenza Virus A/H5N1 Evolution in Vaccinated and Unvaccinated Poultry from Farms in Southern Vietnam, January-March 2010. Transbound Emerg Dis. 2011;58: 537–543. doi:10.1111/j.1865-1682.2011.01229.x
15. Centers_for_Disease_Control_and_Prevention. CDC realtime RTPCR (rRTPCR) protocol for detection and characterization of influenza (revision of April 4 2006). 2006.
16. Cuong N V., Truc VNT, Nhung NT, Thanh TT, Chieu TTB, Hieu TQ, et al. Highly Pathogenic Avian Influenza Virus A/H5N1 Infection in Vaccinated Meat Duck Flocks in the Mekong Delta of Vietnam. Transbound Emerg Dis. 2016;63: 127–135. doi:10.1111/tbed.12470
17. Government Statistics Office of Vietnam. Government Statistics Office of Vietnam. 2011.
18. Vietnam GSO of. Government Statistics Office of Vietnam. 2006.
19. Nguyen T, Rivaller P, Davis CT, Thi Hoa D, Balish A, Hoang Dang N, et al. Evolution of highly pathogenic avian influenza (H5N1) virus populations in Vietnam between 2007 and 2010. Virology. Elsevier; 2012;432: 405–16. doi:10.1016/j.virol.2012.06.021
20. Li KS, Guan Y, Wang J, Smith GJD, Xu KM, Duan L, et al. Genesis of a highly

- pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature*. 2004;430: 209–13. doi:10.1038/nature02746
21. Guan Y, Poon LLM, Cheung CY, Ellis TM, Lim W, Lipatov a S, et al. H5N1 influenza: a protean pandemic threat. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101: 8156–61. doi:10.1073/pnas.0402443101
 22. Rabaa MA, Tue NT, Phuc TM, Carrique-mas J, Saylors K, Cotten M, et al. The Vietnam Initiative on Zoonotic Infections (VIZIONS): A Strategic Approach to Studying Emerging Zoonotic Infectious Diseases. *Ecohealth*. Springer US; 2015;12: 726–735. doi:10.1007/s10393-015-1061-0
 23. Li Q, Zhou L, Zhou M, Chen Z, Li F, Wu H, et al. Epidemiology of Human Infections with Avian Influenza A(H7N9) Virus in China. *N Engl J Med*. 2014;370: 520–532. doi:10.1056/NEJMoa1304617
 24. Jianzhong SHI, Guohua D, Peihong LIU, Jinping Z, Lizheng G, Yuanyuan LI, et al. Isolation and characterization of H7N9 viruses from live poultry markets — Implication of the source of current H7N9 infection in humans. *Chinese Sci Bull*. 2013;58: 1857–1863. doi:10.1007/s11434-013-5873-4
 25. Yu H, Wu JT, Cowling BJ, Liao Q, Fang VJ, Zhou S, et al. Effect of closure of live poultry markets on poultry-to-person transmission of avian influenza A H7N9 virus : an ecological study. *Lancet*. Elsevier Ltd; 2013;383: 541–548. doi:10.1016/S0140-6736(13)61904-2
 26. He F, Zhang M, Wang X, Wu H, Shang X, Li F, et al. Distinct Risk Profiles for Human Infections with the Influenza A (H7N9) Virus among Rural and Urban Residents : Zhejiang Province , China , 2013. *PLoS One*. 2014;9: e95015. doi:10.1371/journal.pone.0095015
 27. Wu D, Zou S, Bai T, Li J, Zhao X, Yang L, et al. Poultry farms as a source of avian influenza A (H7N9) virus reassortment and human infection. *Nat Sci Rep*. 2015;5: 7630. doi:10.1038/srep07630
 28. Fan M, Huang B, Wang A, Deng L, Wu D, Lu X, et al. Human influenza A(H7N9) virus infection associated with poultry farm, northeastern China. *Emerg Infect Dis*. 2014;20: 1902–1905.
 29. Su S, Bi Y, Wong G, Gray GC, Gao GF. Epidemiology , Evolution, and Recent Outbreaks of Avian Influenza Virus in China. *J Virol*. 2015;89: 8671–8676. doi:10.1128/JVI.01034-15

30. Delabouglise A, Dao TH, Truong DB, Nguyen TT, Nguyen NTX, Duboz R, et al. When private actors matter: Information-sharing network and surveillance of Highly Pathogenic Avian Influenza in Vietnam. *Acta Trop.* 2015;147: 38–44. doi:10.1016/j.actatropica.2015.03.025
31. Delabouglise A, Antoine-Moussiaux N, Phan TD, Dao DC, Nguyen TT, Truong BD, et al. The Perceived Value of Passive Animal Health Surveillance: The Case of Highly Pathogenic Avian Influenza in Vietnam. *Zoonoses Public Health.* 2016;63: 112–128. doi:10.1111/zph.12212