

NGHIÊN CỨU SỰ LƯU HÀNH CỦA AVIAN METAPNEUMOVIRUS (aMPV) Ở GÀ NUÔI TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN BẮC VIỆT NAM

Cao Thị Bích Phượng^{1*}, Lê Bá Hiệp², Huỳnh Thị Mỹ Lệ¹, Nguyễn Văn Giáp¹

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Công ty Cổ phần Thú y Xanh - Greenvet

*Tác giả liên hệ: phuong.caotb@gmail.com

Ngày nhận bài: 18.05.2020

Ngày chấp nhận đăng: 24.06.2020

TÓM TẮT

Avian Metapneumovirus (aMPV) là một trong những nguyên nhân gây hội chứng sưng phù đầu ở gà. Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm khẳng định sự có mặt của aMPV tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. Bằng kỹ thuật ELISA và RT-PCR đã phát hiện được kháng thể kháng aMPV và virus trong đàn gà. Kết quả kiểm tra 85 gà từ 5-12 tuần tuổi chưa tiêm phòng vaccin aMPV cho thấy có lưu hành kháng thể aMPV cao (25,88%). Kết quả RT-PCR chỉ phát hiện 3/85 mẫu dương tính với aMPV (3,53%). Các kết quả tìm hiểu về triệu chứng và bệnh tích cho thấy gà nhiễm aMPV có biểu hiện tập trung ở đường hô hấp trên. Biểu hiện sưng phù xung quanh mắt là thường gặp nhất. Kết quả của nghiên cứu là cơ sở cho công tác chẩn đoán bệnh, khuyến cáo người chăn nuôi sử dụng vaccin phòng bệnh phù hợp để hạn chế thiệt hại kinh tế do aMPV.

Từ khóa: ELISA, RT-PCR, avian pneumovirus aMPV, Việt Nam.

Prevalence of Avian Metapneumovirus (aMPV) in Chickens in some Northern Provinces of Vietnam

ABSTRACT

Avian Metapneumovirus (aMPV) is one of the etiological agents of the swollen head syndrome (SHS) in chickens. The aim of this study was to confirm the presence of aMPV in some northern provinces of Vietnam. By using ELISA and RT-PCR techniques, the study detected molecular and serology of aMPV in chickens. A result of testing 85 chickens aged from 5 to 12 weeks without aMPV vaccination showed that 22 chickens (25.88%) had aMPV antibody. In contrast, out of 85 swab samples tested only 3 (3.53%) were positive to aMPV by RT-PCR. Clinical signs and gross pathology indicate that chickens suspected to be infected with aMPV are concentrated in the upper respiratory tract. Swelling of the periorbital and infraorbital is the most common. The research result is providing a scientific basis for diagnosing and recommending to use proper vaccines to reduce the economic losses due to aMPV.

Keywords: ELISA, RT-PCR, avian pneumovirus aMPV, Vietnam.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh về đường hô hấp thường gây thiệt hại kinh tế đáng kể cho ngành chăn nuôi gà do làm giảm sức đề kháng, giảm sinh trưởng và năng suất thịt trứng, tăng tỷ lệ tử vong (Sid & cs., 2015; Furian & cs., 2018). Một số nguyên nhân gây bệnh đường hô hấp ở gia cầm như cúm gia cầm, Newcastle disease, viêm thanh khí quản

truyền nhiễm (Infectious Laryngotracheitis - ILT), viêm phế quản truyền nhiễm (Infectious Bronchitis - IB), viêm đường hô hấp mạn tính (Chronic Respiratory Disease - CRD), *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT), sổ mũi truyền nhiễm (Infectious Coryza - IC)... đã có nhiều nghiên cứu đề cập (Đào Thị Hảo, 2008; Nguyễn Thị Lan & cs., 2016; Nguyễn Thị Loan & cs., 2016).

Trong những năm gần đây, vấn đề nổi cộm trong nhóm bệnh hô hấp phức hợp ở gà là hội chứng sưng phù đầu (Swollen Head Syndrome - SHS) do avian metapneumovirus (aMPV) gây ra. Bệnh còn có tên gọi khác là Turkey rhinotracheitis (TRT), avian pneumovirus (APV), avian rhinotracheitis (ART) (Jones & Rautenschlein, 2013). Được phát hiện lần đầu tiên vào những năm 1970 ở Nam Phi (Buys & cs., 1980) và những năm gần đây, báo cáo về hội chứng sưng phù đầu gà tăng nhanh ở nhiều quốc gia trên thế giới như Hy Lạp (Tucciarone & cs., 2017), Ethiopia (Hutton & cs., 2017), Ai Cập (Abdelmoez & cs., 2019)...

aMPV là virus thuộc họ *Paramyxoviridae*, họ phụ *Pneumoviridae*, giống *Metapneumovirus*. Đây là virus có ARN sợi đơn âm, không phân đoạn với hệ gen dài khoảng 14kb, có vỏ bọc ngoài (Cook & cs., 1993). Virus gây nhiễm trùng đường hô hấp trên ở diện rộng đối với gà tây, gà và một số loài chim khác. Mức độ nghiêm trọng của các dấu hiệu lâm sàng bị ảnh hưởng phần lớn bởi sự kế phát của mầm bệnh thứ cấp (Jones & cs., 1988; Cook & Cavanagh, 2002). Hội chứng sưng phù đầu có thể xảy ra ở gà mọi lứa tuổi, đặc trưng bởi hiện tượng sưng các mô quanh hốc mắt và xoang đầu mặt, trẹo cổ, mất phương hướng (Morley & Thomson, 1984). Bệnh không chỉ làm giảm năng suất ở gà thịt mà còn làm giảm sản lượng và chất lượng trứng ở gà đẻ (Cook & Cavanagh, 2002).

Theo hiểu biết của chúng tôi, cho đến thời điểm này, tại Việt Nam chưa có báo cáo nào về hội chứng sưng phù đầu gà do aMPV gây ra. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm khẳng định sự hiện diện của aMPV ở đàn gà nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam bằng kỹ thuật ELISA và RT-PCR.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Huyết thanh và bệnh phẩm từ gà thu thập từ năm 2019 tới tháng 02 năm 2020.
- Kit ELISA ID Screen avian metapneumovirus Indirect 5P (IDVET_MPVS-5P, IDvet).

- Sinh phẩm, hóa chất dùng cho phản ứng RT-PCR: (i) TRIzol™ Reagent (15596026, Invitrogen); Chloroform (102445, Merck Millipore); 2-propanol (109634, Merck Millipore); Ethanol 75%; nước 3D (Deionized Double Distilled Water); (ii) Random hexamers (N8080127, Invitrogen); kit M-MLV Reverse Transcriptase (28025013, Invitrogen); (iii) Kit Maxime™ PCR PreMix (i-Taq) (25025, iNtRON Biotechnology, Hàn Quốc); (iv) Dung dịch nhuộm Redsafe™ Nucleic Acid Staining Solution (21141, iNtRON Biotechnology, Hàn Quốc); cặp môi đặc hiệu gen G (kích thước 448bp) của virus theo nghiên cứu đã công bố (Bayon-Auboyer & cs., 2000) với thông tin ở bảng 1.

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Nghiên cứu sự lưu hành kháng thể kháng aMPV ở gà nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam.
- Phát hiện aMPV trong mẫu bệnh phẩm bằng phản ứng RT-PCR.
- Nghiên cứu triệu chứng bệnh tích của gà mắc bệnh sưng phù đầu do aMPV gây ra.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thu thập mẫu

Mẫu nghiên cứu được lấy ngẫu nhiên từ những đàn gà 5-12 tuần tuổi, chưa được sử dụng vaccin phòng bệnh aMPV bao gồm huyết thanh; dịch swab đường hô hấp trên. Với những gà có triệu chứng sưng phù đầu còn thu thập thêm mẫu xương ống cuộn mũi, khí quản, phổi. Mẫu được vận chuyển về phòng thí nghiệm để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo.

Phương pháp kiểm tra triệu chứng lâm sàng và mổ khám quan sát bệnh tích đại thể theo Tiêu chuẩn Việt Nam mã số TCVN 8402:2010.

2.3.2. Kỹ thuật ELISA

Qui trình được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất, tóm tắt gồm các bước sau: (i) pha loãng mẫu với Dilution Buffer, thêm vào đĩa; (ii) ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng, rửa bằng Wash solution; (iii) thêm Conjugate 1X;

Bảng 1. Mỗi đặc hiệu để phát hiện aMPV

Tên mẫu	Trình tự 5' - 3'	Vị trí nucleotide
Ga	CCGGGACAAGTATCTCTATGG	2-19
Gy	TCTCGTGACAAATTGGTCCTGA	449-427

(iv) ủ 30 phút ở nhiệt độ phòng, rửa; (v) thêm Substrate Solution; (vi) ủ 15 phút ở nhiệt độ phòng, chú ý tránh ánh sáng; (vii) thêm Stop solution để dừng phản ứng. Kết quả được đọc ở bước sóng 450nm. Sự có mặt của kháng thể kháng aMPV trong các mẫu huyết thanh được xác định bằng độ mật quang (OD- optical density) trên cơ sở tính toán tỷ số dương tính (S/P). Nếu $S/P \leq 0,20$ được xem là mẫu âm tính, $S/P > 0,20$ được xem là mẫu dương tính.

2.3.3. Phương pháp RT-PCR

a. Tách ARN tổng số

ARN được tách chiết bằng TRIzol™ Reagent (theo hướng dẫn của nhà sản xuất) với các bước chính như sau (i) Giải phóng ARN bằng cách bổ sung 750µl dung dịch Trizol vào 250µl huyền dịch mẫu 10%, đồng nhất bằng cách vortex; (ii) Tách pha ARN bằng 200µl Chloroform, vortex để đồng nhất; (iii) tủa ARN thu được ở bước (ii) bằng 500µl 2-propanol, giữ ở -20°C/10 phút; (iv) rửa tủa ARN bằng 1ml ethanol 75%. Các bước từ (ii) đến (iv) được ly tâm ở điều kiện 12.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C. Hòa tan tủa ARN bằng 30µl nước 3D và bảo quản ở -70°C.

b. Phương pháp tổng hợp cDNA

cDNA được tổng hợp sử dụng bộ Kit M-MLV Reverse Transcriptase sử dụng mỗi Random hexamer theo quy trình của nhà sản xuất như sau:

Trộn 10µl ARN với 2µl mỗi Random hexamer, ly tâm nhẹ và để trong máy PCR với chu trình nhiệt 70°C trong vòng 5 phút, sau đó lấy ra thêm vào 4µl 5X First Strand buffer, 2µl DDT, 1µl dNTP, 1µl M-MLV RT đồng nhất mẫu và để trong máy PCR với chu trình nhiệt 37°C - 1 giờ và 70°C - 15 phút.

c. Phương pháp PCR

Phản ứng PCR với cặp mồi Ga/Gy đã được tối ưu nồng độ mồi và nhiệt độ mồi, sử dụng đối

chứng dương là vaccin Nemovac. Thành phần phản ứng PCR (20µl) được phối trộn theo hướng dẫn của nhà sản xuất, trong đó: 17µl nước 3D + 1µl mỗi Ga + 1µl mỗi Gy + 1µl cDNA mẫu tách chiết.

Chu trình nhiệt cho phản ứng PCR được tóm tắt như sau: (i) 94°C trong 2 phút; (ii) 35 chu kỳ (94°C trong 20 giây, 50°C trong 30 giây, 72°C trong 30 giây); (iii) 72°C trong 5 phút.

Sản phẩm PCR được phân tích bằng phương pháp điện di trong thạch agarose 1,5%, có bổ sung dung dịch nhuộm Redsafe™.

2.3.4. Phân tích trình tự gen

Sản phẩm PCR tinh sạch được giải trình tự theo hai chiều (xuôi và ngược) bằng phương pháp Sanger (thực hiện tại Công ty 1st BASE, Malaysia). Trình tự nucleotide được phân tích bằng chương trình BioEdit v7.1.3.0 (Hall, 1999) trên cơ sở đối chiếu so sánh (i) Giữa trình tự nucleotide được giải trình tự theo chiều xuôi và chiều ngược và (ii) Với trình tự gen mã hóa protein G tham chiếu.

2.3.5. Xử lý số liệu

Số liệu được tính toán và xử lý qua phần mềm Microsoft Excel 2016. So sánh các tỷ lệ bằng phương pháp Chi square test (χ^2) sử dụng phần mềm Minitab 16.

2.4. Địa điểm nghiên cứu

Bộ môn Vi sinh vật - Truyền nhiễm, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ lưu hành kháng thể kháng aMPV ở gà nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam

Để phát hiện kháng thể kháng aMPV, nghiên cứu đã khảo sát 85 gà thuộc 7 trang trại tại Gia Bình (Bắc Ninh), Lạc Thủy (Hòa Bình) và Đông Triều (Quảng Ninh) thu được kết quả ở bảng 2.

Bảng 2. Lưu hành huyết thanh học của kháng thể kháng aMPV ở một số địa phương

Địa phương	Tổng số mẫu	Số mẫu dương	Tỷ lệ (%)	Số trại	Số trại dương tính	Tỷ lệ (%)
Đông Triều	36	4	11,11	3	2	66,67
Gia Bình	19	6	31,58	2	2	100,00
Lạc Thủy	30	12	40,00	2	2	100,00
Tổng	85	22	25,88	7	6	85,71

Bảng 2 cho thấy đã phát hiện kháng thể kháng aMPV trong 22/85 mẫu huyết thanh gà thu thập, chiếm 25,88%. Tất cả các gà khảo sát đều trên 5 tuần tuổi và không được tiêm vaccin phòng bệnh do aMPV gây ra do đó sự có mặt của kháng thể đặc hiệu ở những gà này là kết quả của việc phơi nhiễm virus trong tự nhiên. Sự lưu hành huyết thanh học của aMPV cũng được báo cáo ở nhiều quốc gia trên thế giới. Ở Bangladesh, tỷ lệ dương tính huyết thanh học với kháng thể kháng aMPV trong các đàn gà là 53,29% (Ali & cs., 2019), cao hơn hẳn so với báo cáo của nghiên cứu này. Tuy nhiên, tỷ lệ thu được khá tương đồng với các ghi nhận tại Jordan (Gharaibeh & Algharaibeh, 2007) và Ai Cập (Nagy & cs., 2018) là 21,7%.

Trong khảo sát này đã xác định 6/7 trang trại thu thập có ít nhất một mẫu huyết thanh dương tính (giá trị $S/P \geq 0,2$) với kháng thể kháng aMPV, tương đương 85,71%. Đặc biệt, ở Gia Bình, Lạc Thủy, 2/2 trang trại (100%) dương tính huyết thanh học với aMPV trong đó tỷ lệ dương tính cá thể khá cao từ 31,58-40%. Tuy nhiên, hạn chế của nghiên cứu này là số lượng mẫu thu thập chưa đủ lớn nên mức độ dương tính huyết thanh học không phản ánh chính xác tỷ lệ lưu hành kháng thể kháng aMPV thực tại các địa phương.

3.2. Xác định sự có mặt của aMPV ở mẫu bệnh phẩm

Kết quả huyết thanh học như đã trình bày ở trên chứng tỏ có sự lưu hành của aMPV trong đàn gà. Tuy nhiên, để khẳng định chắc chắn sự có mặt của virus này, chúng tôi đã sử dụng phản ứng RT-PCR. Hình 1A cho thấy có mẫu dương tính với aMPV, sản phẩm PCR thu được

có kích thước 448bp, đúng với kích thước đã được công bố trước đây của (Mayahi & cs., 2017).

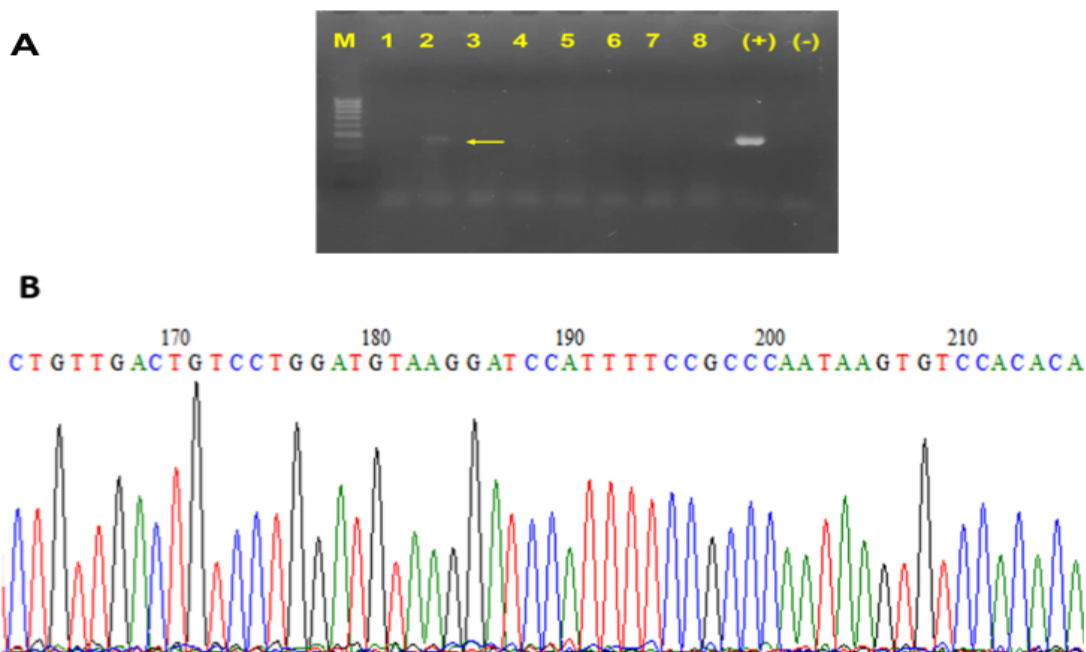
Vì chưa có công bố nào về sự có mặt của aMPV tại Việt Nam, để khẳng định tính đặc hiệu của phản ứng, sản phẩm PCR được giải trình tự gen (Hình 1B). Kết quả giải trình tự gen sản phẩm RT-PCR cho các đỉnh tín hiệu rõ ràng. Phân tích trình tự nucleotide thu được kết quả tương đồng ~96% với các chủng aMPV trong ngân hàng gen (Hình 2). Như vậy, phản ứng RT-PCR là đặc hiệu, có độ tin cậy cao, và có giá trị chẩn đoán.

Với 85 mẫu kiểm tra chỉ có 3 mẫu dương tính với aMPV, chiếm tỷ lệ 3,53%. Kết quả này phù hợp với công bố của Abdelmoez & cs. (2019) cũng chỉ phát hiện được aMPV trong 12,5% mẫu swab bệnh phẩm gà tại Ai Cập.

Kết quả RT-PCR có thể giải thích là do đặc điểm bài thải virus chỉ xảy ra trong thời gian tương đối ngắn (3-4 ngày) ở gà nhiễm aMPV (Cook & cs., 1993; Naylor & cs., 1997; Catelli & cs., 1998). Kết quả này cũng đã được chứng minh bằng gây nhiễm thực nghiệm aMPV ở gà của một số tác giả, chỉ phát hiện được virus tối đa sau 5 ngày gây nhiễm (Majo & cs., 1995; Htut Aung & cs., 2008; Gharaibeh & Shamoun, 2012).

3.3. Xác định sự lưu hành của aMPV bằng phản ứng RT-PCR và ELISA

Với mỗi gà nghiên cứu, máu và dịch swab hầu họng (hoặc bệnh phẩm đường hô hấp trên) đồng thời được lấy để kiểm tra sự lưu hành kháng thể và sự có mặt của virus. Kết quả tổng hợp được trình bày ở hình 3 và bảng 4.



Ghi chú: (A) sản phẩm RT- PCR với mẫu bệnh phẩm, đối chứng (+) và đối chứng âm (-), M: Marker (100bp); (B) giản đồ kết quả giải trình tự sản phẩm PCR.

Hình 1. Kết quả RT- PCR với mẫu thực địa

Description	Query Cover	Per. Ident	Accession
Avian metapneumovirus viral cRNA, complete genome, strain: VCO3/60616	97%	96.08%	AB548428.1
Turkey rhinotracheitis virus (strain 872S) attachment protein (G) mRNA, complete cds	97%	96.08%	L34034.1
Turkey rhinotracheitis virus (strain 6574) attachment protein (G) mRNA, complete cds	97%	95.83%	L34033.1
Avian metapneumovirus isolate aMPV/B/Russia/chicken/02/2007 attachment protein (G) gene, complete cds	94%	96.95%	JN651915.1

Ghi chú: Trình tự nucleotide được phân tích bằng phần mềm BLAST, truy cập tại địa chỉ <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

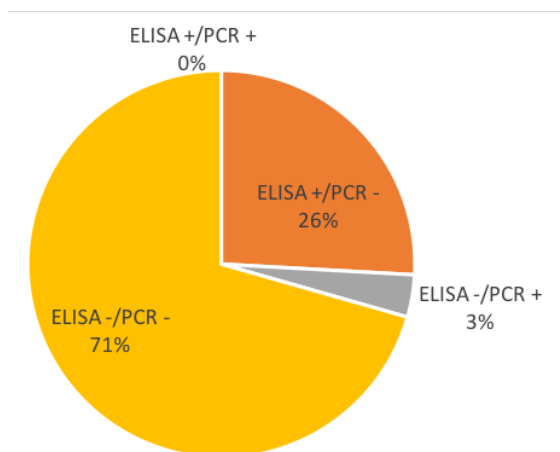
Hình 2. Kết quả phân tích tương đồng trình tự nucleotide sản phẩm PCR

Bảng 3. Kết quả tổng hợp phát hiện aMPV bằng phản ứng RT-PCR

Địa phương	Tổng số mẫu	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số trại	Số trại dương tính	Tỷ lệ (%)
Đông Triều	36	2	5,56	3	2	66,67
Gia Bình	19	0	0,00	2	0	0,00
Lạc Thủy	30	1	3,33	2	1	50,00
Tổng	85	3	3,53	7	3	42,86

Bảng 4. Kết quả tổng hợp phản ứng RT-PCR và ELISA

Tình trạng bệnh	Số mẫu	PCR dương tính	Tỷ lệ (%)	ELISA dương tính	Tỷ lệ (%)
Gà có triệu chứng	42	1	2,38	17	40,48
Không có triệu chứng	43	2	4,65	5	11,63
Tổng	85	3	3,53	22	25,88



Hình 3. Tỷ lệ phát hiện mẫu dương tính với aMPV bằng phản ứng ELISA và RT-PCR

Nghiên cứu này khảo sát 85 gà nhưng không có gà nào đồng thời vừa có mặt virus vừa lưu hành kháng thể kháng aMPV trong cơ thể. Trong 42 gà có triệu chứng đường hô hấp cũng chỉ phát hiện 1 mẫu dương tính aMPV (3,53%) và tỷ lệ lưu hành huyết thanh học ở nhóm gà này là 40,48%. Tuy nhiên, 2/3 mẫu dương tính với virus aMPV được phát hiện ở nhóm gà không có triệu chứng lâm sàng. Kết quả này tương tự với một số báo cáo trên thế giới. Hutton & cs. (2017) cũng báo cáo sự lưu hành huyết thanh học aMPV là 21,9% nhưng tất cả các mẫu swab âm tính khi kiểm tra bằng RT-PCR. Tương tự Atterby (2012) cũng chỉ phát hiện 1/66 mẫu có mặt virus trong khi tỷ lệ lưu hành kháng thể kháng aMPV trên 85%.

Nghiên cứu của Jones & cs. (1988) khẳng định kháng thể đáp ứng sau nhiễm virus kéo dài hơn và những gà đã mắc bệnh sẽ cho kết quả dương tính với ELISA nhưng âm tính với RT-PCR. Hơn nữa, khi bệnh đã tiến triển nặng, bệnh phẩm đã chứa một lượng lớn vi khuẩn kế phát, virus đã bài thải, không còn tồn tại nữa. Do vậy, việc phát hiện aMPV bằng phản ứng RT-PCR phụ thuộc rất nhiều vào thời điểm lấy mẫu, đặc biệt ở gà có triệu chứng sưng phù đầu trong giai đoạn hình thành bã đậu là khó khăn (Catelli & cs., 1998).

3.4. Triệu chứng, bệnh tích của gà mắc aMPV

Khi quan sát các những gà dương tính RT-PCR hoặc có lưu hành kháng thể kháng aMPV

và âm tính với các mầm bệnh khác (kết quả không được trình bày) có thể thấy gà thường có triệu chứng hô hấp, hắt hơi, há mồm thở (Hình 4.A.1), hiện tượng sưng đầu, sưng mắt, chảy nước mắt, dính mí mắt (Hình 4.A.2-A.6). Chính vì vậy, làm gà hạn chế sự đi lại, giảm ăn, gà không quá gầy, trong chuồng thường đứng im một góc, ủ rũ, mệt mỏi. Theo nghiên cứu gây bệnh thực nghiệm aMPV ở gà của Majo & cs. (1995), những biểu hiện hô hấp được quan sát từ 3-6 ngày sau gây nhiễm, xuất hiện dịch nhầy ở mũi, gà thở hỗn hển, há miệng để thở. Aung (2007) cũng quan sát thấy triệu chứng hô hấp từ ngày thứ 4 sau gây nhiễm, gà bắt đầu ủ rũ, ho, chảy nước mũi trong. Ngày thứ 6, đa số gà gây nhiễm đều có biểu hiện sưng xoang hốc mắt và ngày 8-9 là sưng cực đại. Ngoài ra không có biểu hiện nước mũi đục. Một số nghiên cứu khác cũng ghi nhận triệu chứng đầu tiên của hội chứng sưng phù đầu gà là hắt hơi, sưng huyết kết mạc mắt, tuyến lệ, sau đó là phù dưới da quanh mắt (Morley & Thomson, 1984; Kuhne, 2009; Homayounfar & cs., 2015; Abdelmoez & cs., 2019).

Tiến hành mổ khám các ca bệnh mắc aMPV có thể nhận thấy vùng đầu thường có hiện tượng phù, viêm các tổ chức xung quanh vùng mắt, có dịch rỉ viêm, bã đậu ở xoang dưới mắt (Hình 5.B.2), một số trường hợp tích dịch phù cả vùng dưới hàm (Hình 5.B.3). Khí quản có dịch nhầy, bã đậu lấp kín đường hô hấp trên hay phổi viêm, tích nước cũng quan sát được trong một số ca bệnh (Hình 5.B.4- 5.B.5). Sưng huyết mí mắt

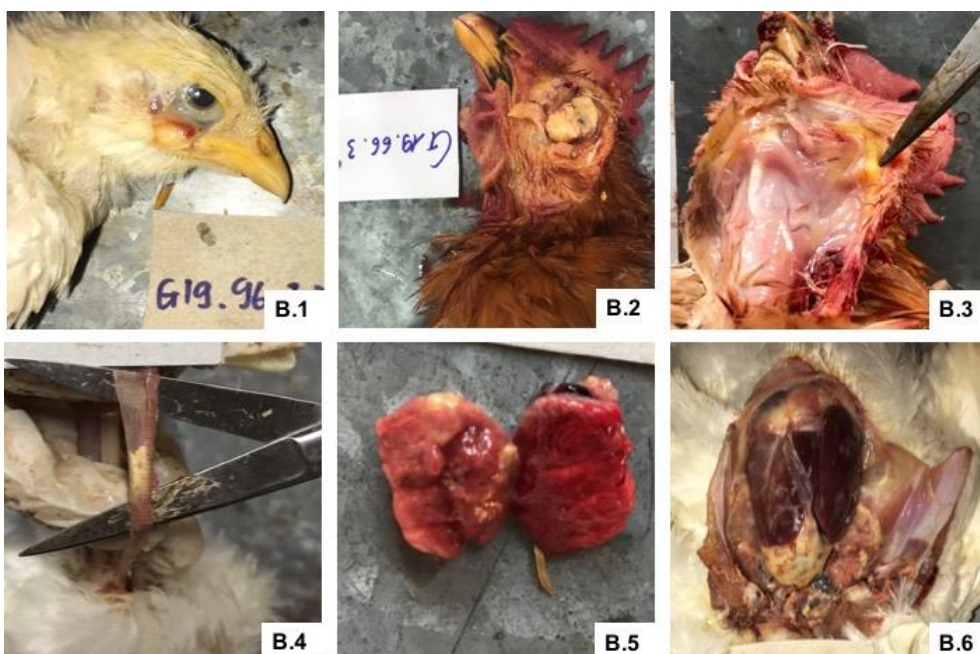
dưới (Hình 5.B.1) thường thấy ở các ca bệnh khi gà chưa có hiện tượng sưng phù mắt có thể suy ra đây là giai đoạn bắt đầu của quá trình viêm,

nên khó có thể nhận biết được gà bệnh khi quan sát, đến khi gà có hiện tượng sưng phù mắt thì bệnh đã trở nên nặng.



Ghi chú: A.1. Gà có triệu chứng hô hấp, há mồm thở; A.2. Sưng đầu, dính mí mắt ở gà con; A.3. Dính mí mắt ở gà trưởng thành; A.4-A.6. Mắt sưng, hóa mủ.

Hình 4. Triệu chứng gà nhiễm aMPV



Ghi chú: B.1. Mí mắt dưới sưng huyết; B.2. Gà bị phù vùng mí mắt, bã đậu ở xoang dưới mắt; B.3. Tích dịch phù vùng dưới hàm; B.4. Khí quản chứa bã đậu; B.5. Phổi viêm, tích dịch; B.6. Nội tạng phủ fibrin.

Hình 5. Bệnh tích của gà mắc aMPV

Abdelmoez & cs. (2019) quan sát bệnh tích gà bệnh thấy thường có dịch vàng hoặc mủ dưới da đầu, xoang đầu mặt và viêm khí quản. Một số ca bệnh thấy viêm màng ngoài tim, viêm phổi, túi khí. Đây cũng là kết luận của một số nghiên cứu về đặc điểm bệnh do aMPV gây ra (Nunoya & cs., 1991; Jirjis & cs., 2002). Mặc dù những đặc điểm này không hoàn toàn đặc trưng cho aMPV nhưng hội chứng sưng phù đầu là kết quả của việc nhiễm aMPV. Báo cáo của Jones & Rautenschlein (2013) cũng nhận thấy bệnh thực tế phụ thuộc phần lớn vào sự nhiễm trùng thứ phát. Nhiều tác giả đã báo cáo tình trạng nhiễm vi khuẩn phức hợp làm biến chứng nhiễm aMPV ở gà thịt. McDougall & Cook (1986) đã phân lập được *E. coli*, *Pseudomonas spp.*, *Moraxella spp.* từ các trường hợp gà sưng phù đầu. Ngoài ra, Goodwin & Waltman (1994) đã phân lập được *P. aeruginosa*, *E. coli*, *P. mirabilis* và *Staphylococcus spp.* ở những gà bị SHS năm 1992. Hơn nữa, Tanaka & cs., (1995) phân lập được aMPV cùng với *E. coli* và *P. mirabilis* từ một đàn gà thịt với khớp thần kinh bị sưng ở Nhật Bản. Có thể thấy các ca bị nhiễm vi khuẩn kế phát, *E. coli* rất phổ biến với đặc trưng là fibrin phủ lên nội tạng (Pattison & cs., 2007; Jones & Rautenschlein, 2013).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này là nghiên cứu đầu tiên khẳng định có sự lưu hành của aMPV ở đàn gà nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. Vì thời gian bài thải virus nhanh (không quá 6 ngày) nên khi gà đã có biểu hiện điển hình thì khả năng phát hiện virus trong mẫu bệnh phẩm là rất thấp, khi này nếu kiểm tra máu sẽ thấy có mặt kháng thể kháng aMPV. Các kết quả tìm hiểu về triệu chứng và bệnh tích cho thấy gà nhiễm aMPV có biểu hiện tập trung ở đường hô hấp trên. Trong đó, biểu hiện sưng phù xung quanh mắt (một bên/ hai bên) là thường gặp nhất. Bệnh tích ở phổi thường không điển hình. Tuy nhiên, bệnh thường dễ nhầm lẫn với một số bệnh trên đường hô hấp khác như ND, IB, ORT, CRD, IC... Việc chẩn đoán lâm sàng không chính xác dẫn đến điều trị không kịp thời làm cho bệnh trở nên trầm trọng hơn. Do đó, nên kết hợp

kỹ thuật sinh học phân tử và phản ứng huyết thanh học để chẩn đoán chính xác và kịp thời.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abdelmoez N.S., Shawky M., Abdelhady H.A., Lebda M. & Salama S.S. (2019). Isolation and identification of some possible causative agents of Swollen Head Syndrome (SHS) in broiler chickens in Egypt.
- Ali M.Z., Park J.E. & Shin H.J. (2019). Serological survey of avian Metapneumovirus infection in chickens in Bangladesh. The Journal of Applied Poultry Research. 28(4): 1330-1334.
- Atterby C. (2012). A minor study on avian metapneumovirus. Swedish University of Agricultural Sciences.
- Aung Y.H. (2007). Comparison of the pathogenesis and immune responses following avian Metapneumovirus subtype A and B infection in broiler-type chickens.
- Bayon-Auboyer M., Arnauld C., Toquin D. & Eterradosi N. (2000). Nucleotide sequences of the F, L and G protein genes of two non-A/non-B avian pneumoviruses (APV) reveal a novel APV subgroup. Journal of General Virology. 81(11): 2723-2733.
- Buys S., Preez J. H. d. & H.J.Els (1980). A preliminary report on the isolation of a virus causing sinusitis in turkeys in South Africa and attempts to attenuate the virus. Turkeys. 28: 36.
- Catelli E., Cook J., Chesher J., Orbell S., Woods M., Baxendale W. & Huggins M. (1998). The use of virus isolation, histopathology and immunoperoxidase techniques to study the dissemination of a chicken isolate of avian pneumovirus in chickens. Avian pathology. 27(6): 632-640.
- Cook J., Kinloch S. & Ellis M. (1993). In vitro and in vivo studies in chickens and turkeys on strains of turkey rhinotracheitis virus isolated from the two species. Avian pathology. 22(1): 157-170.
- Cook J.K. & Cavanagh D. (2002). Detection and differentiation of avian pneumoviruses (metapneumoviruses). Avian pathology. 31(2): 117-132.
- Đào Thị Hào (2008). Phân lập, xác định một số đặc tính sinh học của *Mycoplasma gallisepticum* và chế kháng nguyên, huyết thanh chẩn đoán. Luận án Tiến sĩ Nông nghiệp (Viện Thú y).
- Furian T.Q., Borges K.A., de Moraes H.L.S. & Salle C.T.P. (2018). Respiratory Diseases in Poultry: A Constant Challenge.
- Gharaibeh S. & Algharaibeh G. (2007). Serological and molecular detection of avian pneumovirus in

- chickens with respiratory disease in Jordan. *Poultry science*. 86(8): 1677-1681.
- Gharaibeh S. & Shamoun M. (2012). Avian metapneumovirus subtype B experimental infection and tissue distribution in chickens, sparrows, and pigeons. *Veterinary Pathology*. 49(4): 704-709.
- Goodwin M.A. & Waltman W.D. (1994). Clinical and pathological findings in young Georgia broiler chickens with oculofacial respiratory disease ("so-called swollen heads"). *Avian diseases*. pp. 376-378.
- Hall T.A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic acids symposium series*. [London]: Information Retrieval Ltd., c1979-c2000. pp. 95-98.
- Homayounfar N., Shoushtari H., Charkhkar S. & Bozorgmehrifard M. (2015). Detection by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and molecular characterization of avian metapneumovirus in chicken flocks in Iran. *WALIA Journal*. 31(S3): 170-174.
- Hutut Aung Y., Liman M., Neumann U. & Rautenschlein S. (2008). Reproducibility of swollen sinuses in broilers by experimental infection with avian metapneumovirus subtypes A and B of turkey origin and their comparative pathogenesis. *Avian pathology*. 37(1): 65-74.
- Hutton S., Bettridge J., Christley R., Habte T. & Ganapathy K. (2017). Detection of infectious bronchitis virus 793B, avian metapneumovirus, *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* in poultry in Ethiopia. *Tropical animal health and production*. 49(2): 317-322.
- Jirjis F.F., Noll S., Halvorson D.A., Nagaraja K.V. & Shaw D. (2002). Pathogenesis of avian pneumovirus infection in turkeys. *Veterinary Pathology*. 39(3): 300-310.
- Jones R. & Rautenschlein S. (2013). Avian metapneumovirus. *Diseases of poultry*. pp.112-138.
- Jones R., Williams R., Baxter-Jones C., Savage C. & Wilding G. (1988). Experimental infection of laying turkeys with rhinotracheitis virus: distribution of virus in the tissues and serological response. *Avian pathology*. 17(4): 841-850.
- Kuhne P. (2009). Ways to control avian metapneumovirus. *Challenge*. 80(60): 40.
- Majo N., Allan G., O'loan C., Pages A. & Ramis A. (1995). A sequential histopathologic and immunocytochemical study of chickens, turkey poults, and broiler breeders experimentally infected with turkey rhinotracheitis virus. *Avian diseases*. pp. 887-896.
- Mayahi M., Momtaz H., Jafari R.A. & Zamani P. (2017). Detection and subtyping avian metapneumovirus from turkeys in Iran. *Veterinary Research Forum. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*. p. 105.
- McDougall J. & Cook J. (1986). Turkey rhinotracheitis: preliminary investigations. *Veterinary record*. 118(8): 206-207.
- Morley A. & Thomson D. (1984). Swollen-head syndrome in broiler chickens. *Avian diseases*. pp. 238-243.
- Nagy A., Abdallah F., Sweed K., Salama A. & Omar M. (2018). Seroprevalence of avian Metapneumovirus in Egyptian chicken and duck flocks with a reference on economic impact. *J Virol Sci*. 4(4): 8-14.
- Naylor C., Shaw K., Britton P. & Cavanagh D. (1997). Appearance of type B avian pneumovirus in Great Britain. *Avian pathology*. 26(2): 327-338.
- Nguyễn Thị Lan, Chu Đức Thắng, Nguyễn Bá Hiên, Phạm Hồng Ngân, Lê Văn Hùng & Nguyễn Thị Yên (2016). Đặc điểm của vi khuẩn *Ornithobacterium Rhinotracheale* (ORT) phân lập từ đàn gà nuôi tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 11: 1734.
- Nguyễn Thị Loan, Lê Đình Quyền, Dương Hồng Quân, Lê Huỳnh Thanh Phương, Nguyễn Bá Hiên & Lê Văn Phan (2016). Ứng dụng kỹ thuật RT-PCR để chẩn đoán bệnh viêm phế quản truyền nhiễm (Infectious Bronchitis) ở gà đẻ trứng tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 9: 1387.
- Nunoya T., Tajima M., Izuchi T., Takahashi K., Otaki Y., Nagasawa Y. & Hakogi E. (1991). Pathology of a broiler disease characterized by the swollen head. *Journal of Veterinary Medical Science*. 53(2): 347-349.
- Pattison M., McMullin P., Bradbury J.M. & Alexander D. (2007). *Poultry diseases*. Elsevier Health Sciences.
- Sid H., Benachour K. & Rautenschlein S. (2015). Co-infection with multiple respiratory pathogens contributes to increased mortality rates in Algerian poultry flocks. *Avian diseases*. 59(3): 440-446.
- Tanaka M., Takuma H., Kokumai N., Oishi E., Obi T., Hiramatsu K. & Shimizu Y. (1995). Turkey rhinotracheitis virus isolated from broiler chicken with swollen head syndrome in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 57(5): 939-941.
- Tucciarone C. M., Andreopoulou M., Franzo G., Prentza Z., Chaligiannis I. & Cecchinato M. (2017). First identification and molecular characterization of Avian metapneumovirus subtype B from chickens in Greece. *Avian diseases*. 61(3): 409-413.