

NGHIÊN CỨU HIỆN TƯỢNG ĐỒNG NHIỄM MỘT SỐ MÀM BỆNH Ở GÀ CÓ TRIỆU CHỨNG BỆNH HÔ HẤP

Nguyễn Văn Giáp¹, Nguyễn Thành Trung¹, Tô Như Tường², Trương Hà Thái¹,
Chu Thị Thanh Hương¹, Đặng Hữu Anh¹, Mai Thị Ngân¹, Trần Thị Hương Giang¹,
Lê Văn Trường¹, Vũ Thị Ngọc¹, Cao Thị Bích Phượng¹, Huỳnh Thị Mỹ Lệ^{1*}

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
²Công ty TNHH dịch vụ kỹ thuật Hanvet

*Tác giả liên hệ: huynhhtml@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 17.04.2023

Ngày chấp nhận đăng: 29.08.2023

TÓM TẮT

Bệnh hô hấp phức hợp đã nổi lên như một thách thức lớn đối với ngành chăn nuôi gia cầm. Các tác nhân gây bệnh và sự đồng nhiễm trong bệnh hô hấp phức hợp như virus (AIV, IBV, ILTV, NDV, aMPV) và vi khuẩn/mycoplasma (APG, ORT, APEC, MG) đã được nghiên cứu từ lâu trên thế giới. Tuy nhiên, ở Việt Nam, các căn nguyên gây bệnh hô hấp phức hợp mới được quan tâm trong vài năm trở lại đây. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm bước đầu thăm dò tình hình đồng nhiễm 9 loại virus, vi khuẩn, mycoplasma ở gà có biểu hiện bệnh hô hấp nuôi tại một số tỉnh miền Bắc. Phương pháp sử dụng là kỹ thuật sinh học phân tử với các cặp mồi đặc hiệu của từng mầm bệnh. Kết quả cho thấy có 127/157 (80,9%) số mẫu gà mắc bệnh hô hấp dương tính với ít nhất 1 trong 9 loại virus, vi khuẩn/mycoplasma (AIV, IBV, ILTV, NDV, aMPV, APG, ORT, APEC, MG). Trong số 127 mẫu dương tính, phần lớn có sự nhiễm ghép giữa hai nhóm mầm bệnh là virus - vi khuẩn (100/127). Trong 51 kiểu đồng nhiễm có 43/51 kiểu nhiễm ghép từ 2-6 loại mầm bệnh.

Từ khóa: Bệnh hô hấp phức hợp, virus, vi khuẩn, mycoplasma, gà, miền Bắc.

Study on the Co-Infections of Several Pathogens in Chickens Having Respiratory Symptoms

ABSTRACT

Respiratory disease complex has emerged as a major challenge for the poultry industry. Pathogens and co-infections in respiratory disease complex such as viruses (AIV, IBV, ILTV, NDV, aMPV) and bacteria/mycoplasma (APG, ORT, APEC, MG) were an attractive research topics worldwide. In Vietnam, the etiology of respiratory diseases has only been noticed in the last few years. Due to its novelty, by molecular biology technique, this study was conducted to detect several pathogens in chickens suffering from respiratory diseases in northern Vietnam. There were 127/157 (80.9%) of the samples positive for at least 1 out of 9 viruses, bacteria/mycoplasma (AIV, IBV, ILTV, NDV, aMPV, APG, ORT, APEC, MG). Of those 127 positive samples, the highest frequency (100/127) was the co-infections between viruses and bacteria. Among 51 co-infection patterns, 41/51 patterns were the co-infection between 2-6 agents.

Keywords: Respiratory disease complex, virus, bacteria, mycoplasma, chickens, northern Vietnam.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tỷ lệ mắc và mức độ nghiêm trọng của các bệnh nhiễm trùng đường hô hấp ở gia cầm được nhận định ngày càng phức tạp và có chiều

hướng gia tăng ở Việt Nam (Cao Thị Bích Phượng & cs., 2022). Đáng lưu ý, chăn nuôi gia cầm theo hướng công nghiệp với mật độ cao, tiêu khí hậu chuồng nuôi không đảm bảo càng làm cho bệnh trầm trọng hơn. Không chỉ vậy, bệnh

hô hấp thường xảy ra dưới dạng bệnh phức hợp, với sự hiện diện của nhiều loại mầm bệnh (Kaore & cs., 2018) và có sự tương tác giữa các mầm bệnh (Samy & Naguib, 2018). Ví dụ, sự đồng nhiễm của nhiều loại vi khuẩn trong bệnh hô hấp phức hợp ở gà như *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT), *Avibacterium paragallinarum* (APG, trước đây là *Haemophilus paragallinarum*), *Mycoplasma gallisepticum* (MG) và Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) làm tình trạng bệnh trở nên phức tạp, tăng tỷ lệ tử vong, giảm tăng trọng, tăng chi phí điều trị,... (Gharaibeh & Algharaibeh, 2007; Shawki & cs., 2017). Vì vậy, việc xác định chính xác và đầy đủ sự có mặt của các mầm bệnh là quan trọng trong kiểm soát hô hấp phức hợp.

Theo hiểu biết của chúng tôi, các nghiên cứu ở Việt Nam mới chỉ tập trung vào từng căn nguyên riêng lẻ như MG (Đào Thị Hảo, 2008), APG, ORT (Võ Thị Trà An & cs., 2014; Nguyễn Thị Lan & cs., 2016); virus gây bệnh viêm phế quản truyền nhiễm (IBV) (Võ Thị Trà An & cs., 2014; Nguyễn Thị Loan & cs., 2016), virus gây viêm thanh khí quản truyền nhiễm (ILTV), virus cúm gia cầm (AIV) và gần đây là avian metapneumovirus (aMPV) (Cao Thị Bích Phượng & cs., 2020). Hiện có rất ít nghiên cứu đồng nhiễm (Van & cs., 2020) và nghiên cứu công bố gần nhất chỉ tập trung vào đồng nhiễm vi khuẩn/mycoplasma như APG, ORT, APEC và MG (Cao Thị Bích Phượng & cs., 2022). Dưới góc

nhìn đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm tìm hiểu hiện tượng đồng nhiễm ở phạm vi rộng hơn, bao gồm 9 loại virus, vi khuẩn/mycoplasma (aMPV, AIV, IBV, ILTV, Newcastle Disease virus (NDV); APG, ORT, APEC; MG). Kết quả nghiên cứu sẽ góp phần làm rõ mầm bệnh hô hấp phức hợp ở gà nuôi tại miền Bắc.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Trong khuôn khổ đề tài tiềm năng cấp Bộ ĐTTN.27/20, đã có 14 tỉnh, thành phố của miền Bắc được lấy mẫu trong năm 2019 và 2020, với 256 mẫu dùng phát hiện aMPV. Trong số này, 157 mẫu bệnh phẩm (thuộc 33 trang trại tại 8 tỉnh, thành phố) được chọn ngẫu nhiên để tiếp tục sàng lọc 8 loại mầm bệnh thường gặp trong bệnh hô hấp phức hợp ở gà. Mẫu bệnh phẩm sử dụng trong nghiên cứu là dịch swab mũi, dịch xoang đầu mặt; mẫu gộp các đoạn của đường hô hấp (xương ống cuộn, thanh quản, khí quản, phổi, túi khí) của gà có biểu hiện bệnh hô hấp. Thông tin về 157 mẫu bệnh phẩm được tóm tắt ở bảng 1.

Sinh phẩm, hóa chất dùng xét nghiệm bằng kỹ thuật RT-PCR/PCR gồm: kit tách ADN/ARN (Patho Gene-spin DNA/RNA Extraction Kit, 17154, iNtRON), kit tổng hợp cDNA (HiSenScript RH(-) RT PreMix kit, 25087, iNtRON), kit PCR (Maxime PCR PreMix kit, i-StarMAX II, 25281, iNtRON).

Bảng 1. Thông tin của 157 mẫu bệnh phẩm dùng trong nghiên cứu

Địa phương	Số trang trại		Số mẫu	
	2019	2020	2019	2020
Bắc Ninh	0	4	0	29
Hà Nam	0	5	0	17
Hà Nội	0	6	0	37
Hải Phòng	0	2	0	6
Hòa Bình	2	0	11	0
Nghệ An	0	6	0	13
Quảng Ninh	0	3	0	22
Thái Nguyên	0	5	0	22
Tổng	2	31	11	146

Bảng 2. Trình tự môi phát hiện virus gây bệnh hô hấp phức hợp

Mỗi xuôi /mỗi ngược	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	Nguồn gốc
AIV.Mu19	AGAGCTCTTGTCTCTGATAGGTG	218	Munch & cs. (2001)
/AIV.Mu39	CATCCCAGTGCTGGGAARGAYCCTAAGAA		
IBV.UTR2	AAGGAAGATAGGCATGTAGCTT	297	Adzhar & cs. (1996)
/IBV.UTR1	AAGGAAGATAGGCATGTAGCTT		
ILTV.688F	ACTGATAGCTTTTCGTACAGCACG	688	Madsen & cs. (2013)
/ILTV.688R	CATCGGGACATTCTCCAGGTAGCA		
NDV.P1	GCAGTCAACATATACACCTCATC	208	Songhua & cs. (2003)
/NDV.P2	ATAAAGCGTCTCTGCCTCCT		
/aMPV1/2.444G6-	CTGACAAATTGGTCCTGATT	444	Rivera-Benitez & cs. (2014)
aMPV1.444G1+	GGGACAAGTATCYMKAT		
/aMPV1.268.361G5-	CAAAGARCCAATAAGCCCA	268	Rivera-Benitez & cs. (2014)
aMPV1.268G8+	CACTCACTGTTAGCGTCATA	(serotype A)	
/aMPV1.268.361G5-	CAAAGARCCAATAAGCCCA	361	Rivera-Benitez & cs. (2014)
aMPV1.361G9+	TAGTCCTCAAGCAAGTCCTC	(serotype B)	

Bảng 3. Trình tự môi phát hiện vi khuẩn, mycoplasma gây bệnh hô hấp phức hợp

Mỗi xuôi /mỗi ngược	Trình tự (5'-3')	Kích thước (bp)	Nguồn gốc
APG.500F	CAATGTCGATCCTGGTACAATGAG	500	Chen & cs. (1996)
/APG.500R	CAAGGTATCGATCGTCTCTCTACT		
ORT.784F	GAGAATTAATTTACGGATTAAG	784	Van Empel & Hafez (1999)
/ORT.784R	TTCGCTTGGTCTCCGAAGAT		
APEC.553F	AATCCGGCAAAGAGACGAACCGCCT	533	Johnson & cs. (2008)
/APEC.553R	GTTCCGGGCAACCCCTGCTTTGACTTT		
APEC.496F	TCATCCCGGAAGCCTCCCTCACTACTAT	496	Johnson & cs. (2008)
/APEC.496R	TAGCGTTTGCTGCACTGGCTTCTGATAC		
APEC.450F	GGCCACAGTCGTTTAGGGTGCTTACC	450	Johnson & cs. (2008)
/APEC.450R	GGCGGTTTAGGCATTCCGATACTCAG		
APEC.323F	CAGCAACCCGAACCACTTGATG	323	Johnson & cs. (2008)
/APEC.323R	AGCATTGCCAGAGCGGCAGAA		
APEC.302F	GGCTGGACATCATGGGAAGTGG	302	Johnson & cs. (2008)
/APEC.302R	CGTCGGGAACGGGTAGAATCG		
MG.732F	GGATCCCATCTCGACCACGAGAAAA	732	García & cs. (2005)
/MG.732R	CTTCAATCAGTGAGTAACTGATGA		

Trình tự môi (Bảng 2) tham khảo từ các công bố trước đây dùng để phát hiện virus: AIV (Munch & cs., 2001), IBV (Adzhar & cs., 1996), ILTV (Madsen & cs., 2013), NDV nhóm mesogen và velogen (Songhua & cs., 2003),

aMPV serotype A và serotype B (Rivera-Benitez & cs., 2014).

Trình tự môi (Bảng 3) tham khảo từ các bài báo đã công bố dùng để phát hiện vi khuẩn/mycoplasma gây bệnh hô hấp: APG (Chen & cs.,

1996), ORT (Van Empel & Hafez, 1999), APEC (Johnson & cs., 2008) và MG (Garcia & cs., 2005). Tất cả các môi đặc hiệu (Bảng 2, bảng 3) được đặt và tổng hợp bởi công ty PhuSa Genomics (Cần Thơ, Việt Nam).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp lấy mẫu

Kỹ thuật chọn mẫu phi xác suất (chọn mẫu chủ đích - Purposive sampling) được sử dụng để lấy mẫu bệnh phẩm. Trong phạm vi của đề tài tiêm năng cấp Bộ, mẫu được thu thập ở những đàn chưa dùng vắc xin phòng bệnh do aMPV và có triệu chứng lâm sàng của bệnh hô hấp phức hợp.

Mẫu swab đường hô hấp hoặc bệnh phẩm được thu thập theo quy chuẩn quốc gia QGVN 01-83:2011/BNNPTNT. Mẫu swab đường hô hấp được đựng trong ống Eppendorf có sẵn 0,5ml đệm phosphate-buffered saline (PBS 1X). Mẫu gộp đường hô hấp được cắt nhỏ sau đó và đồng nhất bằng cối chày sứ thành huyền dịch 10% trong PBS 1X. Ly tâm huyền dịch ở tốc độ 4.000 vòng/phút trong 5 phút để thu dịch nổi. Toàn bộ mẫu được bảo quản ở -30°C.

2.2.2. Phương pháp tách ADN/ARN tổng số và tổng hợp cDNA

Tách ADN và ARN tổng số của mẫu swab/bệnh phẩm đường hô hấp bằng Patho Gene-spin DNA/RNA Extraction Kit theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chuyển ARN thành cDNA bằng kit RT PreMix, với thành phần, chương trình nhiệt theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sản phẩm cDNA được bảo quản ở nhiệt độ -20°C đến -30°C.

2.2.3. Phương pháp phát hiện virus - vi khuẩn, mycoplasma gây bệnh hô hấp

Thành phần và thể tích thêm vào premix PCR (phối trộn sẵn) gồm có: 1µl mỗi xuôi (10 pmol/µl), 1µl mỗi ngược (10 pmol/µl), 1µl ADN tách chiết (hoặc cDNA), 17µl nước tinh khiết. Riêng đối với aMPV, phương pháp phát hiện là RT-nested PCR, trong đó 1µl sản phẩm PCR của vòng ngoài (cặp môi aMPV1.444G1+/aMPV1/2.444G6-) sẽ được làm sợi khuôn cho phản ứng PCR vòng trong (cặp

môi aMPV1.268G8+/aMPV1.268.361G5-, aMPV1.361G9+/aMPV1.268.361G5-).

Chu trình nhiệt của phản ứng PCR phát hiện virus, vi khuẩn, mycoplasma gồm: 1 chu kỳ (94°C - 4 phút); 40 chu kỳ (94°C - 20 giây, nhiệt độ gắn môi phù hợp - 40 giây, 72°C - 60 giây); 1 chu kỳ (72°C- 5 phút). Trong đó nhiệt độ gắn môi (°C) cho mỗi mầm bệnh là 58 (AIV), 56 (IBV), 55 (ILTV), 55 (NDV), 50 (aMPV), 60 (APG), 52 (ORT), 60 (APEC), 55 (MG).

Phân tích sản phẩm PCR bằng điện di trên thạch agarose 1,5% có bổ sung RedSafe Nucleic Acid Staining Solution (1X). Với APEC, đánh giá kết quả thực hiện theo khuyến cáo: chỉ mẫu dương tính với ít nhất với hai gen độc mới được kết luận là dương tính với APEC (De Oliveira & cs., 2015).

2.3.4. Xử lý số liệu

Kết quả xét nghiệm được nhập vào phần mềm Microsoft Excel để thực hiện tính toán cơ bản.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

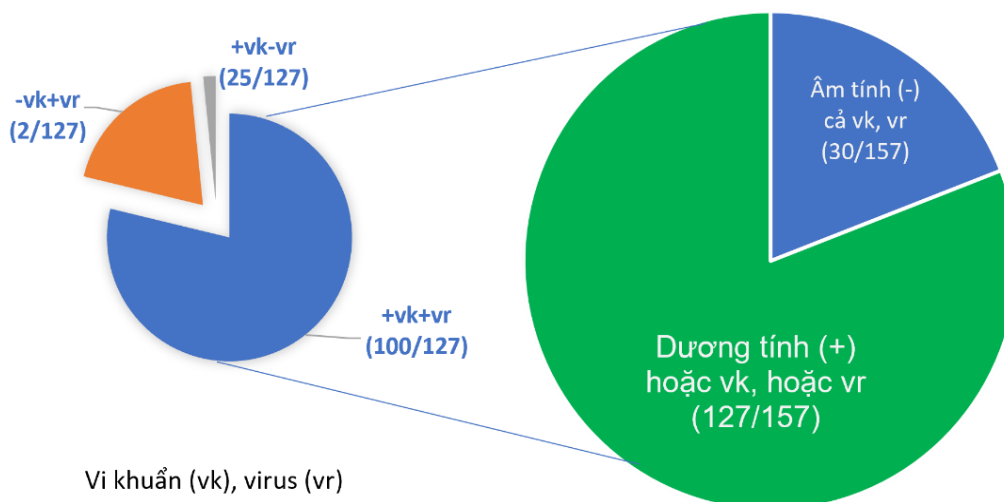
3.1. Tỷ lệ nhiễm một số mầm bệnh ở gà có biểu hiện bệnh hô hấp

Trong 33 trang trại gà mắc bệnh hô hấp, có 2/33 trang trại không phát hiện được bất kỳ mầm bệnh nào trong 9 mầm bệnh (virus, vi khuẩn, mycoplasma) được xét nghiệm. Trong 157 mẫu xét nghiệm, có 30/157 (19,1%) mẫu âm tính với tất cả 9 loại mầm bệnh. Kết quả trên được lý giải do tình trạng bệnh hô hấp ở gà có thể gây ra bởi các tác nhân không truyền nhiễm, ví dụ như khí NH₃ gây kích ứng niêm mạc đường hô hấp trong môi trường nuôi (Tully, 1995). Ngoài ra, trong nhóm nguyên nhân truyền nhiễm, nhiều loại virus, vi khuẩn và nấm gây bệnh hô hấp phức hợp (Fowlpox virus, *Chlamydia psittaci*, *Pasteurella multocida*, *Aspergillus fumigatus*,...) chưa được sàng lọc trong nghiên cứu này. Đã phát hiện 127/157 (80,9%) mẫu gà có biểu hiện bệnh hô hấp dương tính với ít nhất 1 trong 9 loại virus, vi khuẩn và mycoplasma gây bệnh hô hấp (AIV, IBV, ILTV, NDV, aMPV, APG, ORT, APEC, MG) như tóm tắt ở bảng 4.

Bảng 4. Tỷ lệ dương tính với một số mầm bệnh gây bệnh hô hấp

Mầm bệnh	Số mẫu dương tính/ số mẫu xét nghiệm	
	Theo mẫu	Theo trang trại
AIV	31/157	13/33
IBV	86/157	27/33
ILTV	19/157	10/33
NDV	11/157	8/33
aMPV	29/157	16/33
APG	58/157	19/33
ORT	16/157	10/33
APEC	3/157	3/33
MG	36/157	15/33

Ghi chú: Tổng số mẫu thu thập được (n); tổng số trang trại lấy mẫu (N).



Hình 1. Đặc điểm nhiễm virus và vi khuẩn ở gà có biểu hiện bệnh hô hấp

Kết quả thu được từ nghiên cứu này cho thấy, ở gà có biểu hiện hô hấp, IBV (86/157) và APG (58/157) xuất hiện với tần suất cao nhất trong hai nhóm virus, vi khuẩn gây bệnh. Tần suất nhiễm thấp nhất là ILTV (19/157) và APEC (3/157) cho hai nhóm virus, vi khuẩn gây bệnh hô hấp. Phát hiện 36/157 mẫu dương tính với MG.

3.2. Đặc điểm nhiễm virus và vi khuẩn ở gà có biểu hiện bệnh hô hấp

Tóm tắt đặc điểm nhiễm đơn, nhiễm ghép giữa hai nhóm virus và vi khuẩn (gộp chung mycoplasma) được trình bày ở hình 1.

Như có thể thấy từ hình 1, trong 127 mẫu dương tính, phần lớn có sự nhiễm ghép giữa hai nhóm mầm bệnh là virus - vi khuẩn (100/127). Số mẫu chỉ dương tính với hoặc virus hoặc vi khuẩn thấp, tương ứng là 2/157 và 25/157. Đặc điểm nhiễm mầm bệnh hô hấp phức hợp trong nghiên cứu này của chúng tôi khá tương đồng với kết quả phân tích tổng hợp về tình hình bệnh hô hấp ở gia cầm trên thế giới, trong đó cho thấy hiện tượng nhiễm virus, tiếp đến là vi khuẩn là phổ biến nhất (Bertran & cs., 2020; Kannaki & cs., 2021). Thống kê đặc điểm nhiễm tiếp tục được trình bày ở bảng 5.

Bảng 5. Đặc điểm đồng nhiễm 9 loại mầm bệnh ở gà có biểu hiện bệnh hô hấp

Kiểu nhiễm/nhiễm ghép	n	Σ	Kiểu nhiễm/nhiễm ghép	n	Σ
IBV, ILTV, NDV, APG, ORT, MG	1	1	AIV, APG	1	41
IBV, ILTV, NDV, ORT, MG	1	6	AIV, MG	1	
IBV, ILTV, NDV, aMPV, APG	1		aMPV, APG	1	
AIV, IBV, aMPV, APG, APEC	1		NDV, APG	1	
AIV, IBV, aMPV, APG, MG	1		APG, ORT	2	
IBV, ILTV, APG, ORT, MG	2		APG, MG	2	
IBV, aMPV, APG, MG	1	10	IBV, ILTV	2	
AIV, IBV, aMPV, MG	1		AIV, IBV	3	
IBV, ILTV, aMPV, APG	1		AIV, aMPV	3	
AIV, IBV, APG, ORT	1		IBV, MG	3	
IBV, aMPV, APG, ORT	1		IBV, aMPV	3	
AIV, IBV, APG, MG	2		IBV, NDV	4	
AIV, IBV, ILTV, APG	3		aMPV, MG	4	
IBV, NDV, MG	1	31	IBV, APG	11	
aMPV, APG, MG	1		APEC	1	38
ILTV, aMPV, APG	1		NDV	1	
aMPV, APG, ORT	1		ORT	2	
IBV, ORT, APEC	1		APG	2	
ILTV, APG, MG	1		MG	3	
IBV, APG, ORT	1		aMPV	3	
IBV, NDV, APG	1		AIV	7	
AIV, IBV, MG	2		IBV	19	
IBV, ILTV, MG	2				
AIV, IBV, aMPV	2				
AIV, IBV, APG	3				
IBV, aMPV, APG	3				
IBV, ILTV, APG	4				
IBV, APG, MG	4				
APG, ORT, MG	3				

Ghi chú: n là số mẫu có kiểu nhiễm tương ứng; Σ là tổng số mỗi kiểu nhiễm. Mầm bệnh là virus được in đậm.

Kết quả thống kê 127 mẫu dương tính cho biết có 51 kiểu nhiễm, với 43/51 là kiểu nhiễm ghép từ 2-6 loại mầm bệnh. Trong 43 kiểu nhiễm này, phần lớn có sự hiện diện đồng thời của cả vi khuẩn và virus. Trong đó tần suất nhiễm ghép đôi là phổ biến (41/127), tiếp sau đó là nhiễm ghép ba mầm bệnh là (31/127). So sánh với một số công bố quốc tế (Roussan & cs., 2008; Kaore & cs., 2018), mặc dù không giống hoàn toàn về các loại mầm bệnh được phát hiện,

kết quả về hiện tượng đa nhiễm trong nghiên cứu này là phù hợp. Ví dụ, tại Ấp Rập Xê Út từ 2015-2017, kết quả phân tích 2.498 mẫu swab và bệnh phẩm là đường hô hấp ở 66 đàn có biểu hiện bệnh hô hấp đã xác định hiện tượng đồng nhiễm vi khuẩn (*E. coli*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Staphylococcus aureus*) với virus (NDV, IBV và H9N2) ở 63,6% số đàn được khảo sát (Roussan & cs., 2008). So với công bố trong nước (Cao Thị

Bích Phượng & cs., 2022), kết quả của nghiên cứu này tương đồng khi tiếp tục khẳng định sự có mặt của các vi khuẩn gây bệnh hô hấp và đều chỉ ra có hiện tượng đồng nhiễm. Đặc điểm nhiễm ghép nhiều loại virus, vi khuẩn và mycoplasma cũng đã được biết đến ở các vùng nuôi gà khu vực phía Nam (Van & cs., 2020). Xác định được vấn đề nhiễm ghép trong bệnh hô hấp là có ý nghĩa, nhất là khi tồn tại tương tác giữa các mầm bệnh. Ví dụ như đồng nhiễm AIV subtype H9 với ORT, APEC và MG làm trầm trọng thêm quá trình của bệnh (Katcher và Schwartz, 1994); hay tác động hiệp đồng giữa APG và IBV (Crispo & cs., 2018) hoặc giữa APG và Fowl adenovirus (Mei & cs., 2020) đã làm tình trạng bệnh nặng hơn cho gà thịt hoặc gà đẻ ở những đàn mắc bệnh tự nhiên.

Với các kết quả trình bày ở trên, nghiên cứu này cho thấy có sự hiện diện và đồng nhiễm của nhiều căn nguyên gây bệnh hô hấp ở gà nuôi tại một số tỉnh miền Bắc. Mặc dù vậy, nghiên cứu có tồn tại về dung lượng mẫu hạn chế và mới chỉ khảo sát ở nhóm gà có triệu chứng bệnh hô hấp. Do đó, kết quả chỉ dừng lại ở việc phát hiện sự có mặt mà chưa phản ánh được sự lưu hành của các mầm bệnh. Điểm yếu này cần được khắc phục và làm rõ trong các nghiên cứu tiếp theo.

4. KẾT LUẬN

Kết quả khảo sát ở gà có triệu chứng bệnh hô hấp cho thấy có một tỷ lệ rất cao 80,9% (127/157 mẫu) dương tính với ít nhất 1 trong 9 loại virus, vi khuẩn/mycoplasma (AIV, IBV, ILTV, NDV, aMPV, APG, ORT, APEC, MG). Trong số 127 mẫu dương tính, đồng nhiễm với cả vi khuẩn và virus chiếm ưu thế với 100/127 mẫu. Đã xác định 51 kiểu đồng nhiễm, với đa số (43/51) là kiểu nhiễm ghép từ 2-6 loại mầm bệnh.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện bởi kinh phí của đề tài tiềm năng của Bộ NN&PTNT “Nghiên cứu sự lưu hành của avian Metapneumovirus (aMPV) trong bệnh hô hấp phức hợp ở gà nuôi tại miền Bắc”, mã số ĐTTN.27/20. Cùng với đó, tập thể tác giả xin

chân thành cảm ơn các hộ chăn nuôi, các cán bộ kỹ thuật đã tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình lấy mẫu và thu thập thông tin của nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adzhar A., Shaw K., Britton P. & Cavanagh D. (1996). Universal oligonucleotides for the detection of infectious bronchitis virus by the polymerase chain reaction. *Avian Pathol.* 25(4): 817-36.
- Bertran K., Cortey M. & Diaz I. (2020). The use of H-index to assess research priorities in poultry diseases. *Poult Sci.* 99(12): 6503-6512.
- Cao Thị Bích Phượng, Lê Bá Hiệp, Huỳnh Thị Mỹ Lệ & Nguyễn Văn Giáp (2020). Nghiên cứu sự lưu hành của avian metapneumovirus (aMPV) ở gà nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.* 18(7): 520-528.
- Cao Thị Bích Phượng, Nguyễn Văn Giáp, Nguyễn Thành Trung, Mai Thị Ngân, Vũ Thị Ngọc & Huỳnh Thị Mỹ Lệ (2022). Ứng dụng phản ứng PCR trực tiếp (direct PCR) phát hiện một số vi khuẩn ở gà mắc bệnh hô hấp phức hợp tại Hà Nội và vùng phụ cận. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.* 20(2): 156-165.
- Chen X., Mifflin J.K., Zhang P. & Blackall P.J. (1996). Development and application of DNA probes and PCR tests for *Haemophilus paragallinarum*. *Avian Dis.* 40(2): 398-407.
- Crispo M., Senties-Cue C.G., Cooper G.L., Mountainspring G., Corsiglia C., Bickford A.A. & Stoute S.T. (2018). Otitis and meningoencephalitis associated with infectious coryza (*Avibacterium paragallinarum*) in commercial broiler chickens. *J Vet Diagn Invest.* 30(5): 784-788.
- 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.
- De Oliveira A.L., Rocha D.A., Finkler F., De Moraes L.B., Barbieri N.L., Pavanelo D.B., Winkler C., Grassotti T.T., De Brito K.C., De Brito B.G. & Horn F. (2015). Prevalence of ColV plasmid-linked genes and *in vivo* pathogenicity of avian strains of *Escherichia coli*. *Foodborne Pathog Dis.* 12(8): 679-85.
- Garcia M., Ikuta N., Levisohn S. & Kleven S.H. (2005). Evaluation and comparison of various PCR methods for detection of *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. *Avian Diseases.* 49(1): 125-132.
- Gharaibeh S.M. & Algharaibeh G.R. (2007). Serological and molecular detection of avian

- pneumovirus in chickens with respiratory disease in Jordan. *Poult Sci.* 86(8): 1677-81.
- Johnson T.J., Wannemuehler Y., Doetkott C., Johnson S.J., Rosenberger S.C. & Nolan L.K. (2008). Identification of minimal predictors of avian pathogenic *Escherichia coli* virulence for use as a rapid diagnostic tool. *J Clin Microbiol.* 46(12): 3987-96.
- Kannaki T.R., Priyanka E., Haunshi S. & Subbiah M. (2021). A systematic review and meta-analysis on global prevalence of infectious diseases in backyard chicken in the recent two decades. *Indian Journal of Poultry Science.* 56(3): 287-294.
- Kaore M., Singh K., Palanivelu M., Asok Kumar M., Reddy M. & Kurkure N.V. (2018). Patho-epidemiology of respiratory disease complex pathogens (RDPs) in commercial chicken. *Indian J. Vet. Pathol.* 42(4): 231-238.
- Katcher H.L. & Schwartz I. (1994). A distinctive property of Tth DNA polymerase: enzymatic amplification in the presence of phenol. *Biotechniques.* 16(1): 84-92.
- Madsen J.M., Zimmermann N.G., Timmons J. & Tablante N.L. (2013). Prevalence and differentiation of diseases in Maryland backyard flocks. *Avian Dis.* 57(3): 587-94.
- Mei C., Xian H., Blackall P.J., Hu W., Zhang X. & Wang H. (2020). Concurrent infection of *Avibacterium paragallinarum* and fowl adenovirus in layer chickens. *Poult Sci.* 99(12): 6525-6532.
- Munch M., Nielsen L.P., Handberg K.J. & Jorgensen P.H. (2001). Detection and subtyping (H5 and H7) of avian type A influenza virus by reverse transcription-PCR and PCR-ELISA. *Arch Virol.* 146(1): 87-97.
- 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.* 14(11): 1734-1740.
- Nguyễn Thị Loan, Lê Đình Quyền, Dương Hồng Quân, Lê Huỳnh Thanh Phương & Nguyễn Bá Hiên và 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.* 14(9): 1387-1394.
- Rivera-Benitez J.F., Martinez-Bautista R., Rios-Cambre F. & Ramirez-Mendoza H. (2014). Molecular detection and isolation of avian metapneumovirus in Mexico. *Avian Pathol.* 43(3): 217-23.
- Roussan D.A., Haddad R. & Khawaldeh G. (2008). Molecular survey of avian respiratory pathogens in commercial broiler chicken flocks with respiratory diseases in Jordan. *Poult Sci.* 87(3): 444-8.
- Samy A. & Naguib M.M. (2018). Avian respiratory coinfection and impact on avian influenza pathogenicity in domestic poultry: field and experimental findings. *Vet Sci.* 5(1): 23.
- Shawki M.M., Lebdah M.A., Shahin A.M. & Nassif S.A. (2017). Some studies on swollen head syndrome in broiler chickens in Egypt. *Zagazig Veterinary Journal.* 45(S1): 132-141.
- Songhua S., Chaogang S., Caozhe X.U., Jian Z.O.U., Yongqiang H.U., Jianhua W.U. & Zuxun G. (2003). Differentiation of velogenic, mesogenic and lentogenic strains of Newcastle disease virus by multiplex RT-PCR. *Annals of Applied Biology.* 142(1): 49-54.
- Tully T.N. (1995). Avian Respiratory Diseases: Clinical Overview. *Journal of Avian Medicine and Surgery.* 9(3): 162-174.
- Van Empel P.C. & Hafez H.M. (1999). *Ornithobacterium rhinotracheale*: A review. *Avian Pathol.* 28(3): 217-27.
- Van N.T.B., Yen N.T.P., Nhung N.T., Cuong N.V., Kiet B.T., Hoang N.V., Hien V.B., Chansiripornchai N., Choisy M., Ribas A., Campbell J., Thwaites G. & Carrique-Mas J. (2020). Characterization of viral, bacterial, and parasitic causes of disease in small-scale chicken flocks in the Mekong Delta of Vietnam. *Poult Sci.* 99(2): 783-790.
- Võ Thị Trà An, Nguyễn Thị Bích Liên, Trần Thị Ngọc Hân, Hồ Quang Dũng & Chansiripornchai N. (2014). Nhận dạng, phân lập và xác định mức độ miễn cảm kháng sinh của vi khuẩn *Ornithobacterium rhinotracheale* ở gà. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y.* 21(7): 23-27.