

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT RT - PCR ĐỂ CHẨN ĐOÁN BỆNH VIÊM PHẾ QUẢN TRUYỀN NHIỄM (INFECTIOUS BRONCHITIS) Ở GÀ ĐẼ TRỨNG TẠI MỘT SỐ TỈNH PHÍA BẮC VIỆT NAM

Nguyễn Thị Loan^{1,2}, Lê Đình Quyền³, Dương Hồng Quân⁴,
Lê Huỳnh Thanh Phương¹, Nguyễn Bá Hiên¹, Lê Văn Phan^{1*}

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam; ²Công ty cổ phần tập đoàn DABACO
³Công ty TNHH MTV AVAC Việt Nam; ⁴Trường đại học Duy Tân, thành phố Đà Nẵng

Email*: letranphan@gmail.com

Ngày gửi bài: 23.03.2016

Ngày chấp nhận: 20.09.2016

TÓM TẮT

Bệnh viêm phế quản truyền nhiễm (Infectious Bronchitis - IB) là một trong những bệnh truyền nhiễm nguy hiểm gây ra tổn thất kinh tế nghiêm trọng đối với ngành chăn nuôi gia cầm. Để phòng và chống dịch bệnh IB có hiệu quả đòi hỏi phải có một phương pháp chẩn đoán phát hiện nhanh và chính xác virus IB (IBV). Trong nghiên cứu này, các mẫu bệnh phẩm gồm phổi, khí quản và thận từ gà nghi mắc bệnh IB được thu thập ở ba trang trại gà thuộc Hà Nội (Huyện Ba Vì), Thái Nguyên và Bắc Ninh đã được chẩn đoán bằng phương pháp RT - PCR. Kết quả chẩn đoán cho thấy 34/71 (47,88%) mẫu bệnh phẩm cho kết quả dương tính với IBV. Kết quả nghiên cứu về các triệu chứng lâm sàng của bệnh cho thấy gà mắc IB có các triệu chứng như sốt, ủ rũ, kém ăn, khó thở, ho, hắt hơi, có âm rales khí quản, sổ mũi, tiêu chảy, tích nước xoang bụng, sưng đầu và viêm kết mạc mắt. Biến đổi bệnh lý đại thể ở gà mắc bệnh IB gồm thận sưng (90%), khí quản xuất huyết (77,5%), phổi tụ huyết, xuất huyết (63,7%), viêm túi khí (60%) và viêm xoang mũi (57,5%). Gà đẻ trứng thương phẩm bị bệnh IB có tỷ lệ phần trăm trứng giảm sản lượng trứng từ 20,7 tới 43%.

Từ khoá: Gà, Viêm phế quản truyền nhiễm (IB), Virus IB, RT - PCR, Việt Nam.

Application of RT-PCR for Detection of Infectious bronchitis Disease in Laying Hens in Some Northern Provinces of Vietnam

ABSTRACT

Infectious bronchitis (IB) is one of the severe infectious disease causing tremendous economic losses in the poultry industry. In order to have an effective strategy for disease prevention and control, a method for rapid and accurate detection of infectious bronchitis virus (IBV) is urgently needed. In this study, the tissue samples of lung, trachea and kidney collected from IB-suspected laying hens in three hen farms in Hanoi (Ba Vi District), Thai Nguyen and Bac Ninh have been diagnosed by the RT-PCR method. The diagnostic results showed that 34/71 (47,88%) samples were positive with the IBV. The common clinical signs of IBV-infected hens included fever, depression, loss of appetite, dyspnea, coughing, sneezing, tracheal rales, nasal discharge, diarrhea, fluid retention in the abdomen, facial swelling and conjunctivitis. The pathological signs in IBV-infected hens included kidney swelling (90%), tracheal hemorrhage (77.5%), pulmonary hemorrhage and congestion (63,7%), inflammation of airsacculitis (60%) and upper respiratory tract (57,5%). Egg production and quality in IBV-infected laying hens decreased by 20,7 to 43%.

Keywords: Chicken, infectious bronchitis, infectious bronchitis virus, RT-PCR, Vietnam.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm phế quản truyền nhiễm (Infectious bronchitis - IB) là một trong những bệnh phổ

biến trên gia cầm và là một trong những nguyên nhân chính gây ra thiệt hại nặng nề về kinh tế cho ngành chăn nuôi gà công nghiệp trên thế giới bởi thiệt hại do bệnh IB gây ra

không chỉ là giảm hiệu quả sản xuất thịt, năng suất trứng mà còn ảnh hưởng tới chất lượng trứng. Cho đến nay, IB vẫn được biết đến là bệnh truyền nhiễm cấp tính với tốc độ lây lan và tỷ lệ mắc bệnh cao, chiếm 50 - 100% trên tổng đàn, tỷ lệ chết thấp (đến 25%) (Ignjatovic và Sapats, 2000). Mặc dù đã có vacxin kiểm soát dịch bùng phát nhưng bệnh IB vẫn tiếp tục là vấn đề đáng quan tâm ở hầu hết các vùng chăn nuôi lớn trên thế giới bởi vì sự xuất hiện liên tục các biến chủng mới của virus gây bệnh IB (infectious bronchitis virus - IBV) với nhiều serotype, trong đó một số serotype không tạo miễn dịch chéo với nhau gây khó khăn cho công tác kiểm soát và phòng bệnh IB. IBV thuộc giống Coronavirus, họ Coronaviridae, bộ Nidovirales với bộ gen là sợi đơn dương RNA có kích thước từ 27 tới 31 Kb. Các biểu hiện triệu chứng đặc trưng của bệnh do IBV gây ra tại đường hô hấp ở tất cả các lứa tuổi gà là thở hổn hển, ho, hắt hơi và có tiếng rales khí quản. Đặc biệt gà mắc bệnh IB thường có biểu hiện giảm hấp thu dinh dưỡng và giảm tăng trọng, tăng tiêu tốn thức ăn, tăng chi phí thú y và gây thiệt hại kinh tế nghiêm trọng. Hơn thế nữa, bệnh IB có thể ảnh hưởng đến thận, gây viêm thận cấp hoặc mãn tính, gây chảy nước mũi ở gà con và gây ảnh hưởng rất lớn đến sản lượng và chất lượng trứng của gà đẻ (Cavanagh, 2005; Ignjatovic và Sapats, 2000; OIE, 2012).

Cho đến nay, nghiên cứu về bệnh IB và virus gây bệnh IB trên gà ở Việt Nam còn rất hạn chế (Huỳnh Thị Mỹ Lệ và cs., 2014; Võ Thị Trà An và cs., 2012). Theo Nguyễn Thị Phước Ninh (2008), gà đẻ trứng mắc bệnh IB không những làm giảm sản lượng trứng mà còn tạo điều kiện cho các bệnh khác phát triển. Tỷ lệ đẻ ở gà đẻ trứng có thể giảm tới 50% và sau đó chỉ đạt 70 - 80% so với thời điểm ban đầu gà đẻ trứng không bị nhiễm IBV. Để tìm hiểu về các dấu hiệu lâm sàng sớm của bệnh IB cũng như chẩn đoán phát hiện nhanh virus gây bệnh IB, nghiên cứu này đã ứng dụng kỹ thuật RT - PCR để chẩn đoán phát hiện nhanh, chính xác IBV ở đàn gà đẻ trứng nuôi tại một số tỉnh thành phía bắc Việt Nam. Hơn thế nữa, sự thành công của phương pháp chẩn đoán RT - PCR sẽ góp phần

xây dựng được quy trình chẩn đoán nhanh bệnh IB ở gà trên diện rộng và xây dựng chiến lược kiểm soát bệnh IB trên các đàn gà ở Việt Nam trong thời gian tới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Mẫu bệnh phẩm sử dụng trong nghiên cứu bao gồm phổi, khí quản và thận của gà đẻ trứng giống ISA Brown nghi mắc bệnh IB được thu thập ở một số trang trại thuộc Hà Nội (Huyện Ba Vì), Thái Nguyên và Bắc Ninh.

Cặp mồi được sử dụng cho phản ứng RT - PCR để chẩn đoán bệnh IB trên gà là cặp mồi đã được công bố trước đây (Feng *et al.*, 2012). Cặp mồi gồm có mồi xuôi IBF: 5' - TTTTGGTGATGACAAGATGAA - 3' và mồi ngược IBR: 5' - CGCATTGTTCTCCTCCTC - 3'. Sản phẩm PCR thu được có kích thước theo công bố khoảng 403 bp.

2.2. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại các trang trại chăn nuôi gà đẻ trứng thuộc Hà Nội (Huyện Ba Vì), Thái Nguyên và Bắc Ninh. Mẫu được phân tích tại Trung tâm chẩn đoán thú y DABACO và Phòng thí nghiệm của Công ty TNHH MTV AVAC Việt Nam (AVAC).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Quan sát triệu chứng và bệnh tích

Quan sát trực tiếp và mổ khám được thực hiện trên ba đàn gà nuôi tại ba tỉnh thành thuộc Hà Nội (huyện Ba Vì), Thái Nguyên và Bắc Ninh. Mổ khám được tiến hành ở các đàn gà đã được xét nghiệm trước đó bằng phản ứng RT - PCR và cho kết quả dương tính với bệnh IB. Mổ khám theo phương pháp của Thomas Carlyle Jones đối với gia cầm, kiểm tra bệnh tích đại thể ở khí quản, phổi, thận của gà chết, kết hợp với kết quả hồi cứu trong xét nghiệm của phòng thí nghiệm. Tiến hành theo dõi diễn biến gà chết trong ổ dịch, triệu chứng lâm sàng chủ yếu và bệnh tích đại thể chủ yếu của gà mắc bệnh IB.

2.3.2. Tách chiết RNA và phản ứng RT - PCR

Trizol Reagent (Life technologies, USA) đã được sử dụng để tách chiết RNA tổng số trong mẫu bệnh phẩm theo quy trình của nhà sản xuất. cDNA được tổng hợp sử dụng bộ Kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis (Thermo Scientific) theo quy trình của nhà sản xuất. Hỗn hợp 20 μ l gồm 6 μ l RNA, 4 μ l nước đã loại RNase, 2 μ l dNTPs (10 mM mỗi loại), 1 μ l mỗi xuôi, 1 μ l mỗi ngược (200 pM/ μ l), 1 μ l RevertAid Reverse Transcriptase (200 U/ μ l), 1 μ l RiboLock RNase inhibitor (20 U/ μ l) và 4 μ l 5x first strand buffer. Hỗn hợp trên được trộn đều và để trong máy PCR với chu trình nhiệt 25°C trong 10 phút, 42°C trong 60 phút và sau đó 70°C trong vòng 5 phút. Sản phẩm cDNA sau đó được trực tiếp sử dụng cho phản ứng PCR hoặc bảo quản ở nhiệt độ -20°C. cDNA sau khi được tổng hợp được bổ sung trực tiếp vào ống phản ứng PCR sử dụng kit GoTaq Green Master Mix (Promega, Mỹ). Kit này chứa DNA Taq - polymerase và các thành phần cần thiết cho quá trình khuếch đại DNA. Mỗi (primer) được sử dụng trong nghiên cứu này là các cặp mỗi đã được công bố trước đây (Feng *et al.*, 2012). Phản ứng PCR được thực hiện theo chương trình như sau: 94°C trong 5 phút; 94°C trong 30 giây, 54°C trong 30 giây, 72°C trong 45 giây được lặp lại 30 chu kỳ; 72°C trong 10 phút. Sản phẩm PCR sẽ được kiểm tra trên gel agarose 1,5%.

2.3.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm excel 2007 và Minitab 16.0. Phép thử X^2 (khi bình phương) được sử dụng để so sánh sự khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) giữa các tỷ lệ và một xu hướng sai khác giả định nếu $0,05 \leq P < 0,1$ cũng được sử dụng.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ứng dụng phương pháp RT - PCR để chẩn đoán phát hiện bệnh IB

3.1.1. Kiểm tra độ nhạy và độ đặc hiệu của phương pháp RT - PCR

Thông thường chẩn đoán bệnh IB trên gà thường là dựa trên các dấu hiệu lâm sàng, sau đó

khẳng định lại bằng các phương pháp chẩn đoán khác trong phòng thí nghiệm như phương pháp phân lập virus trên trứng gà có phôi 9 - 11 ngày tuổi, miễn dịch huỳnh quang, hóa mô miễn dịch, RT - PCR... Trong các phương pháp trên, phương pháp phân lập virus được coi là phương pháp chuẩn vàng “gold standard”, tuy nhiên phương pháp này tốn kém và mất nhiều thời gian để cho kết quả, làm chậm quá trình phát hiện và ngăn chặn dịch bệnh. Phương pháp miễn dịch huỳnh quang và hóa mô miễn dịch cho kết quả nhanh hơn nhưng có hạn chế là khó chẩn đoán nhiều mẫu bệnh phẩm trong cùng một lúc (Jones *et al.*, 2011; OIE, 2012). Phương pháp RT - PCR đã và đang là phương pháp được dùng phổ biến trong các phòng thí nghiệm để chẩn đoán bệnh IB trên gà vì sự nhanh, nhạy, chính xác và có thể ứng dụng để chẩn đoán cho nhiều loại mẫu bệnh phẩm khác nhau trong cùng một lúc (Al - Shekaili *et al.*, 2015; Jahantigh *et al.*, 2013; Jones *et al.*, 2011; Rashid *et al.*, 2009; Saba Shirvan và Mardani, 2014).

Trong nghiên cứu này, phản ứng RT - PCR sử dụng cặp mỗi IBF/IBR đặc hiệu cho gene S1 của IBV (Feng *et al.*, 2012) đã được sử dụng để chẩn đoán nhanh bệnh IB trên gà. Mặc dù cặp mỗi đã được nghiên cứu và đánh giá về độ đặc hiệu và độ nhạy nhưng khi ứng dụng chúng trong chẩn đoán bệnh IB tại các phòng thí nghiệm mới thì cặp mỗi vẫn cần được đánh giá lại về độ đặc hiệu và độ nhạy. Để đánh giá độ đặc hiệu của phản ứng PCR, chủng virus vaccin Nobilis IB 4 - 91 đã được sử dụng làm chủng chuẩn đại diện cho IBV. Ngoài ra, chủng virus Lasota đại diện cho virus Newcastle, chủng Nobilis Gumboro 228E đại diện cho virus Gumboro và chủng virus NIBRG - 14 đại diện cho virus cúm gia cầm cũng đã được sử dụng làm đối chứng âm (Hình 1). Kết quả kiểm tra tính đặc hiệu của phản ứng PCR cho thấy chủng virus vaccin Nobilis IB 4 - 91 chuẩn đại diện cho IBV cho kết quả dương tính, sản phẩm PCR thu được có kích thước 403bp, đúng với kích thước đã được công bố trước đây (Feng *et al.*, 2012) (Hình 1). Kết quả thu được từ hình 1 cũng cho thấy phản ứng PCR cho kết quả âm tính với các virus khác. Để kiểm tra độ nhạy của phản

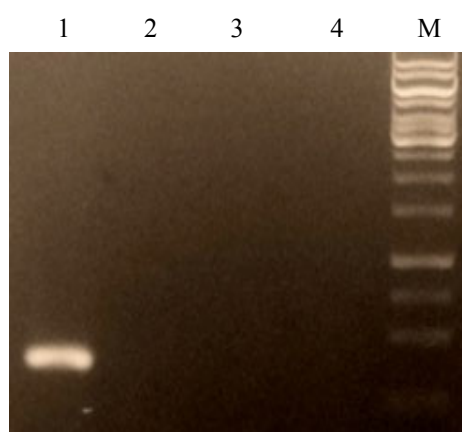
ứng PCR sử dụng cặp mồi IBF/IBR (Feng *et al.*, 2012), chủng Nobilis IB 4 - 91 đại diện cho IBV đã được pha loãng theo cơ số 10 và được dùng cho phản ứng PCR. Kết quả kiểm tra độ nhạy cho thấy phản ứng PCR sử dụng cặp mồi IBF/IBR có khả năng phát hiện IBV ở nồng độ virus là $10^{3,6}$ EID₅₀/ml, đúng với kết quả đã được

công bố trước đây (Feng *et al.*, 2012) (Hình 2). Như vậy, kết quả thu được từ hình 1 và 2 cho thấy phản ứng PCR sử dụng cặp mồi IBF/IBR (Feng *et al.*, 2012) để chẩn đoán nhanh IBV gây bệnh IB đảm bảo độ nhạy và độ đặc hiệu.

3.1.2. Kết quả chẩn đoán bệnh IB bằng phương pháp RT - PCR

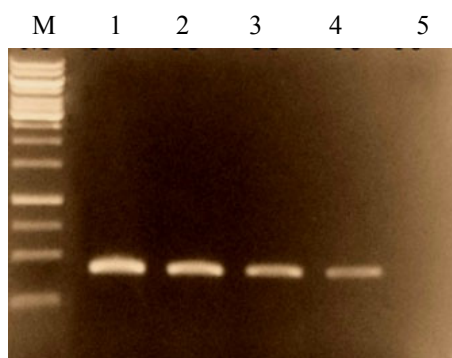
Trong nghiên cứu này, 71 mẫu bệnh phẩm là khí quản, phổi hoặc thận của gà nghi mắc bệnh IB thu thập được ở một số trang trại thuộc Hà Nội (Huyện Ba Vì), Thái Nguyên và Bắc Ninh đã được chẩn đoán bằng phương pháp RT - PCR. Kết quả chẩn đoán cho thấy 34/71 (47,88%) mẫu bệnh phẩm cho kết quả dương tính với IBV (Bảng 1 và hình 3).

Những nghiên cứu trên thế giới cho thấy hầu như 100% các nước và vùng lãnh thổ đều có sự lưu hành của IBV trên đàn gà (Ignjatovic và Sapats, 2000). Tỷ lệ phát hiện IBV trên đàn gà ở các nước khác nhau là khác nhau. Kết quả kiểm tra dịch swab khí quản ngẫu nhiên trên 11 trại gà thịt 5 - 7 tuần tuổi tại Iran cho thấy 4/11 (36,36%) trại gà cho kết quả dương tính với IBV (Jahantigh *et al.*, 2013). Kết quả nghiên cứu thực hiện trên 16 trại gà đẻ và 9 trại gà thịt tại Pakistan cho thấy tỷ lệ các trại cho kết quả dương tính với IBV chủng M - 41, D - 274, D - 1466 và 4 - 91 tương ứng là 88, 40, 52, và 8% (Ahmed *et al.*, 2007). Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy được sự lưu hành của IBV trong các trang trại gà tại Hà Nội (huyện Ba Vì), Thái Nguyên và Bắc Ninh. Tuy nhiên, tỷ lệ mẫu bệnh phẩm của gà cho kết quả dương tính với IBV trong nghiên cứu này có khác đôi chút so với các công bố ở trên (Ahmed *et al.*, 2007; Jahantigh *et al.*, 2013). Sự khác biệt này có thể là do các công bố ở trên đã sử dụng các cặp mồi khác nhau trong nghiên cứu, các cặp mồi khác nhau thì độ nhạy của phản ứng PCR là khác nhau. Hơn nữa, các yếu tố về không gian, thời gian và địa lý khác nhau cũng dẫn đến tỷ lệ nhiễm bệnh IB trên đàn gà là khác nhau.



Hình 1. Kết quả kiểm tra độ đặc hiệu của phản ứng RT - PCR để chẩn đoán bệnh IB

Ghi chú: Giếng 1: Chủng Nobilis IB 4 - 91 đại diện cho virus IB; Giếng 2: Chủng Lasota đại diện cho virus Newcastle; Giếng 3: Chủng Nobilis Gumboro 228E đại diện cho virus Gumboro; Giếng 4: Chủng NIBRG - 14 đại diện cho virus cúm gia cầm; M: Thang DNA chuẩn 1kb. Sản phẩm PCR thu được có kích thước 403 bp.

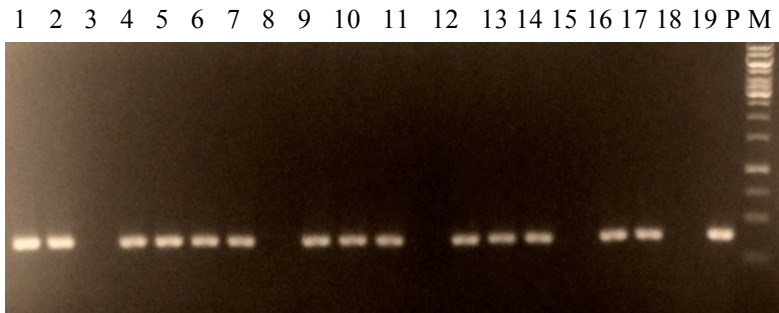


Hình 2. Kết quả kiểm tra độ nhạy của phản ứng RT - PCR để chẩn đoán bệnh IB

Ghi chú: Giếng 1 - 5: Chủng virus vacxin Nobilis IB 4 - 91 chuẩn đại diện cho virus IB được pha loãng theo cơ số 10 với các nồng độ tương ứng là $10^{3,6}$, $10^{2,6}$, $10^{1,6}$, $10^{0,6}$ và 0 (Đối chứng âm); M: thang DNA chuẩn 1kb.

Bảng 1. Kết quả chẩn đoán bệnh IB bằng phương pháp RT - PCR

Nơi lấy mẫu	Số mẫu xét nghiệm (n)	Số mẫu dương tính (n)	Tỷ lệ (+) (%)
Trại A (Hà Nội)	11	5	45,45
Trại B (Thái Nguyên)	27	13	48,15
Trại C (Bắc Ninh)	33	16	48,49
Tính chung	71	34	47,88



Hình 3. Kết quả chẩn đoán bệnh IB trên gà bằng phương pháp RT - PCR

Ghi chú: Giếng 1 - 19: 19 mẫu bệnh phẩm khác nhau dùng cho phản ứng PCR. P: Mẫu đối chứng dương (chủng Nobilis IB 4 - 91); M: thang DNA chuẩn 1kb. Sản phẩm PCR thu được có kích thước 403 bp.

3.2. Triệu chứng lâm sàng và biến đổi bệnh lý đại thể của gà mắc bệnh IB

Sau khi chẩn đoán xác định được đàn gà mắc bệnh IB bằng phản ứng RT - PCR, các quan sát triệu chứng lâm sàng cho thấy gà bị bệnh IB có các triệu chứng lâm sàng chung như sốt, ủ rũ, kém ăn, hô hấp khó khăn, sưng đầu, viêm kết mạc (Bảng 2 và hình 4). Biểu hiện triệu chứng lâm sàng như sốt, ủ rũ, kém ăn là các triệu chứng chung của các bệnh truyền nhiễm, đó là khi có tác nhân gây bệnh xâm nhập vào cơ thể thì phản ứng chung của cơ thể là sốt và khi tác động quá mạnh vượt qua sức đề kháng và sự chống chịu của cơ thể sẽ làm cho cơ thể gà yếu đi, ủ rũ và kém ăn. Gà bệnh có hiện

tượng hô hấp khó khăn như hắt hơi, thở khó, dịch mũi tiết ra nhiều và kèm theo là các biểu hiện sưng đầu, viêm kết mạc (Hình 4A và 4B). Các triệu chứng lâm sàng ở trên xuất hiện và quan sát thấy ở 100% các đàn gà mắc bệnh IB. Ngoài các triệu chứng lâm sàng ở trên, có khoảng 66,67% số gà mắc bệnh IB còn bị báng nước xoang bụng, tiêu chảy phân loãng có mùi hôi thối (Bảng 2 và hình 4C và 4D).

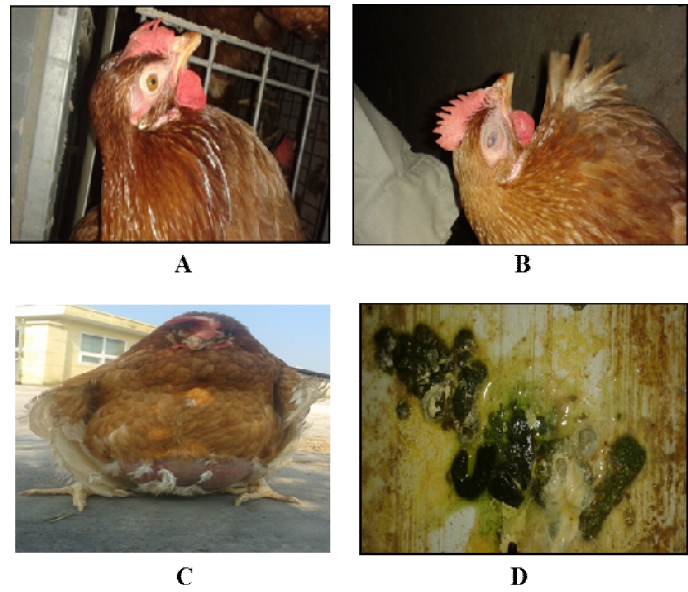
Nghiên cứu gần đây về triệu chứng lâm sàng của gà khi gây bệnh thực nghiệm với IBV cho thấy gà có các triệu chứng lâm sàng điển hình như ủ rũ, xù lông, chảy nước mũi, ho, khó thở, viêm kết mạc (Dolz *et al.*, 2012). Nghiên cứu này cũng cho kết quả tương tự.

Bảng 2. Kết quả nghiên cứu triệu chứng lâm sàng chủ yếu của gà mắc bệnh IB

Nơi lấy mẫu	Triệu chứng lâm sàng					
	Gà sốt, ủ rũ, ăn kém	Hô hấp khó khăn*	Sưng đầu	Viêm kết mạc	Báng nước xoang bụng	Tiêu chảy phân nhiều nước
Trại A (Hà Nội)	+++	+++	++	++	+	++
Trại B (Thái Nguyên)	++	++	++	+	+	+
Trại C (Bắc Ninh)	++	+++	++	+	+	-

Chú thích: +++: Nặng; ++: Trung bình; +: Nhẹ; -: Không biểu hiện; * Hô hấp khó khăn (Hắt hơi, thở khó, dịch mũi tiết ra nhiều).

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



Hình 4. Các triệu chứng lâm sàng của gà mắc bệnh IB

Ghi chú: A: Đầu gà phù sưng; B: Gà bị viêm kết mạc mắt; C: Gà bị báng nước xoang bụng, có dáng đứng giống chim cánh cụt; D: Gà tiêu chảy phân xanh, trắng loãng.

Bảng 3. Kết quả nghiên cứu biến đổi bệnh tích đại thể của gà mắc bệnh IB

Bệnh tích	Số gà nghiên cứu (n)	Số gà có bệnh tích (n)	Tỷ lệ (%)
Viêm kết mạc	80	32	40,00
Viêm xoang mũi	80	46	57,50
Xuất huyết khí quản	80	62	77,50
Phổi tụ huyết, xuất huyết	80	51	63,75
Viêm túi khí	80	48	60,00
Buồng trứng viêm, teo	80	22	27,50
Ống dẫn trứng teo	80	13	16,25
Ống dẫn trứng tích nước	80	6	7,50
Thận sưng	80	72	90,00
Thận sưng tích urat	80	1	1,25

Ngoài các triệu chứng lâm sàng quan sát được, gà mắc bệnh IB đã được mổ khám và kiểm tra bệnh tích đại thể. Kết quả mổ khám gà mắc bệnh IB được thể hiện ở bảng 3 và hình 5.

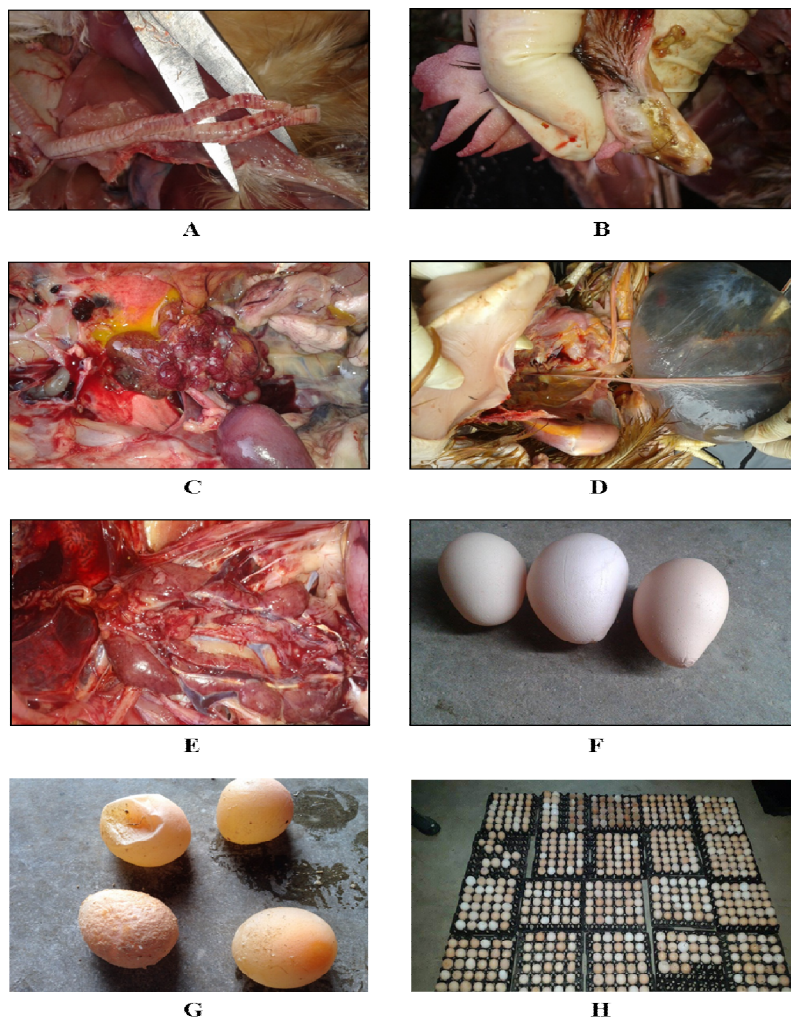
Kết quả tổng hợp tại bảng 3 cho thấy bệnh tích của gà mắc bệnh IB rất đa dạng, chủ yếu là thận sưng (90%), xuất huyết khí quản (77,5%), phổi tụ huyết, xuất huyết (63,7%), viêm túi khí (60%) và viêm xoang mũi (57,5%). Bệnh tích ở đường hô hấp chiếm tỷ lệ cao được giải thích là do virus IB xâm nhập và phát triển trong các tế bào biểu mô hô hấp,

ở đây IBV đã làm các tế bào này thoái hóa và chết. IBV phá hoại thành huyết quản làm tăng tiết dịch thấm xuất và thấm nhiễm các tế bào lympho vào các xoang hô hấp. Vì vậy, gà dần trở nên khó thở, IBV gây bệnh trong nguyên sinh chất và nhân tế bào thượng bì niêm mạc mũi, phế quản, phế nang, túi khí và cả trong phủ tạng như gan, lá lách... kết quả của những biến đổi sâu sắc của mô bào sẽ làm con vật chết trong thể cấp tính.

Ngoài tế bào niêm mạc đường hô hấp và thận bị tác động, IBV còn tác động vào cơ

quan sinh dục làm biến đổi tổ chức của cơ quan này. Bệnh tích viêm, teo buồng trứng và teo ống dẫn trứng chiếm tỷ lệ tương ứng lần lượt là 27,50 và 16,25% (Bảng 3 và Hình 5) và hậu quả là sản lượng trứng thương

phẩm của gà đẻ giảm nghiêm trọng và đây được coi là một trong những thiệt hại kinh tế lớn đối với ngành chăn nuôi gà. Kết quả đánh giá tỷ lệ đẻ trứng của gà đẻ được thể hiện ở bảng 4.



Hình 5. Bệnh lý đại thể của gà mắc bệnh IB (A - E) và hình dạng trứng gà dị dạng, vỏ lụa do bệnh IB (F - H)

Ghi chú: A: Khí quản xuất huyết; B: Xoang mũi chứa nhiều dịch; C: Buồng trứng biến dạng; D: Bọng nước lớn; E: Thận sưng, chứa urat; F: Vỏ trứng biến dạng, hình dạng trứng giống trái xoài; G: Trứng mỏng vỏ, vỏ xù xì; H: Vỏ trứng nhạt màu

Bảng 4. Sản lượng trứng của gà đẻ mắc bệnh IB

Tên trang trại	Tuần tuổi của gà	Tỷ lệ đẻ thực tế (%)	Tỷ lệ đẻ tiêu chuẩn (%)	% hụt giảm
Trại A (Hà Nội)	23	47,00	90,0	43,00 ^a
Trại B (Thái Nguyên)	29	62,55	94,5	31,95 ^{ab}
Trại C (Bắc Ninh)	32	73,41	94,2	20,79 ^b

Chú thích: Ký tự a, b thể hiện số liệu sai khác có ý nghĩa thống kê $P < 0,05$

Kết quả tổng hợp ở bảng 4 cho thấy tỷ lệ đẻ trứng tiêu chuẩn của gà đẻ trứng bị bệnh IB tại ba trang trại khảo sát khác nhau là khác nhau, tỷ lệ tụt giảm sản lượng trứng lần lượt là 43,0, 31,95 và 20,79%. Cụ thể gà 23 tuần tuổi có tỷ lệ tụt giảm sản lượng trứng là cao nhất (43,0%), gà 29 tuần tuổi là 31,95% ($P = 0,08$) và thấp nhất là gà 32 tuần tuổi (20,79%) ($P < 0,001$). Những nghiên cứu gần đây trên thế giới cho thấy tất cả các đàn gà đẻ mắc bệnh IB đều bị giảm sản lượng trứng nghiêm trọng. Mức độ tụt giảm có khác nhau tùy thuộc thời gian mắc bệnh, chủng IBV gây bệnh, sức đề kháng của con vật... (Dolz *et al.*, 2012). Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy được mức độ tụt giảm tỷ lệ đẻ trên gà nghiên cứu tại Hà Nội (Huyện Ba Vì), Thái Nguyên và Bắc Ninh.

4. KẾT LUẬN

Kỹ thuật RT - PCR đã được ứng dụng thành công để chẩn đoán phát hiện nhanh bệnh IB trên gà đẻ trứng nuôi tại ba trang trại gà thuộc Hà Nội (Huyện Ba Vì), Thái Nguyên và Bắc Ninh. Kết quả chẩn đoán cho thấy 34/71 (47,88%) mẫu bệnh phẩm của gà nghi mắc bệnh IB cho kết quả dương tính với IBV. Bệnh tích đại thể thường quan sát thấy ở gà bệnh là thận sưng (90%), xuất huyết khí quản (77,5%), phổi tụ huyết, xuất huyết (63,7%), viêm túi khí (60%) và viêm xoang mũi (57,5%). Gà đẻ trứng thương phẩm bị bệnh IB tụt giảm sản lượng trứng từ 20,79 - 43,00%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahmed Z., Naeem K. and Hameed A. (2007). Detection and seroprevalence of infectious bronchitis virus strains in commercial poultry in Pakistan. *Poult Sci.*, 86: 1329 - 1335.
- Al - Shekaili T., Baylis M. and Ganapathy K. (2015). Molecular detection of infectious bronchitis and avian metapneumoviruses in Oman backyard poultry. *Res Vet Sci.*, 99: 46 - 52.
- Cavanagh D. (2005). Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Pathol.*, 34: 439 - 448.
- Dolz R., Vergara - Alert J., Perez M., Pujols J. and Majo N. (2012). New insights on infectious bronchitis virus pathogenesis: characterization of Italy 02 serotype in chicks and adult hens. *Vet Microbiol.*, 156: 256 - 264.
- Feng J., Hu Y., Ma Z., Yu Q., Zhao J., Liu X. and Zhang G. (2012). Virulent avian infectious bronchitis virus, People's Republic of China. *Emerg Infect Dis.*, 18: 1994 - 2001.
- Huỳnh Thị Mỹ Lệ và Lê Văn Phan (2014). Một số biểu hiện lâm sàng và kết quả chẩn đoán ổ dịch ở đàn vịt trời. *Tạp chí KHKT thú y*, XXI(5): 59 - 67.
- Ignjatovic J. and Sapats S. (2000). Avian infectious bronchitis virus. *Rev Sci Tech.*, 19: 493 - 508.
- Jahantigh M., Salari S. and Hedayati M. (2013). Detection of infectious bronchitis virus serotypes by reverse transcription polymerase chain reaction in broiler chickens. *Springerplus*, 2: 36.
- Jones R.M., Ellis R.J., Cox W.J., Errington J., Fuller C., Irvine R.M. and Wakeley P.R. (2011). Development and validation of RT - PCR tests for the detection and S1 genotyping of infectious bronchitis virus and other closely related gamma coronaviruses within clinical samples. *Transbound Emerg Dis.*, 58: 411 - 420.
- Nguyễn Thị Phước Ninh (2008). Bài giảng bệnh truyền nhiễm chung trên gia cầm. Tủ sách Trường đại học Nông lâm thành phố Hồ Chí Minh.
- OIE. (2012). Manual of standards for Diagnostic Tests and Vaccines. Chapter 2.3.2. Avian infectious bronchitis.
- Rashid S., Naeem K., Ahmed Z., Saddique N., Abbas M.A. and Malik S.A. (2009). Multiplex polymerase chain reaction for the detection and differentiation of avian influenza viruses and other poultry respiratory pathogens. *Poult Sci.*, 88: 2526 - 2531.
- Saba Shirvan A. and Mardani K. (2014). Molecular detection of infectious bronchitis and Newcastle disease viruses in broiler chickens with respiratory signs using Duplex RT - PCR. *Vet Res Forum*, 5: 319 - 23.
- Võ Thị Trà An, Nguyễn Thị Kim Yến, Hồ Hoàng Dũng (2012). Phân lập xác định serotype virus viêm phế quản truyền nhiễm từ gà thịt. *Tạp chí KHKT thú y*, XIX(3): 5-9.