



ANRS | MIE Scientific Days in Vietnam

Towards ending epidemics

15th to 16th of November, 2023

Research findings on avian influenza virus (AIV) in Northern Vietnam

Dr. Pham Thi Thanh Hoa

French Agricultural Research Center for International Development



Outbreaks of avian influenza in Vietnam



	2003-2006	2007-2013	2014-2018	2019-2022
No of outbreaks	3547	1318	407	314
No of provinces affected	64	52	54	-
No of cull animals	45 million	1 459 834	401 325	939 896
No of people affected by H5N1	93	32	2	1
No of deaths due to H5N1	42	20	2	0

Main subtypes detected: A/H5N1, A/H5N6, A/H5N8, A/H9N2

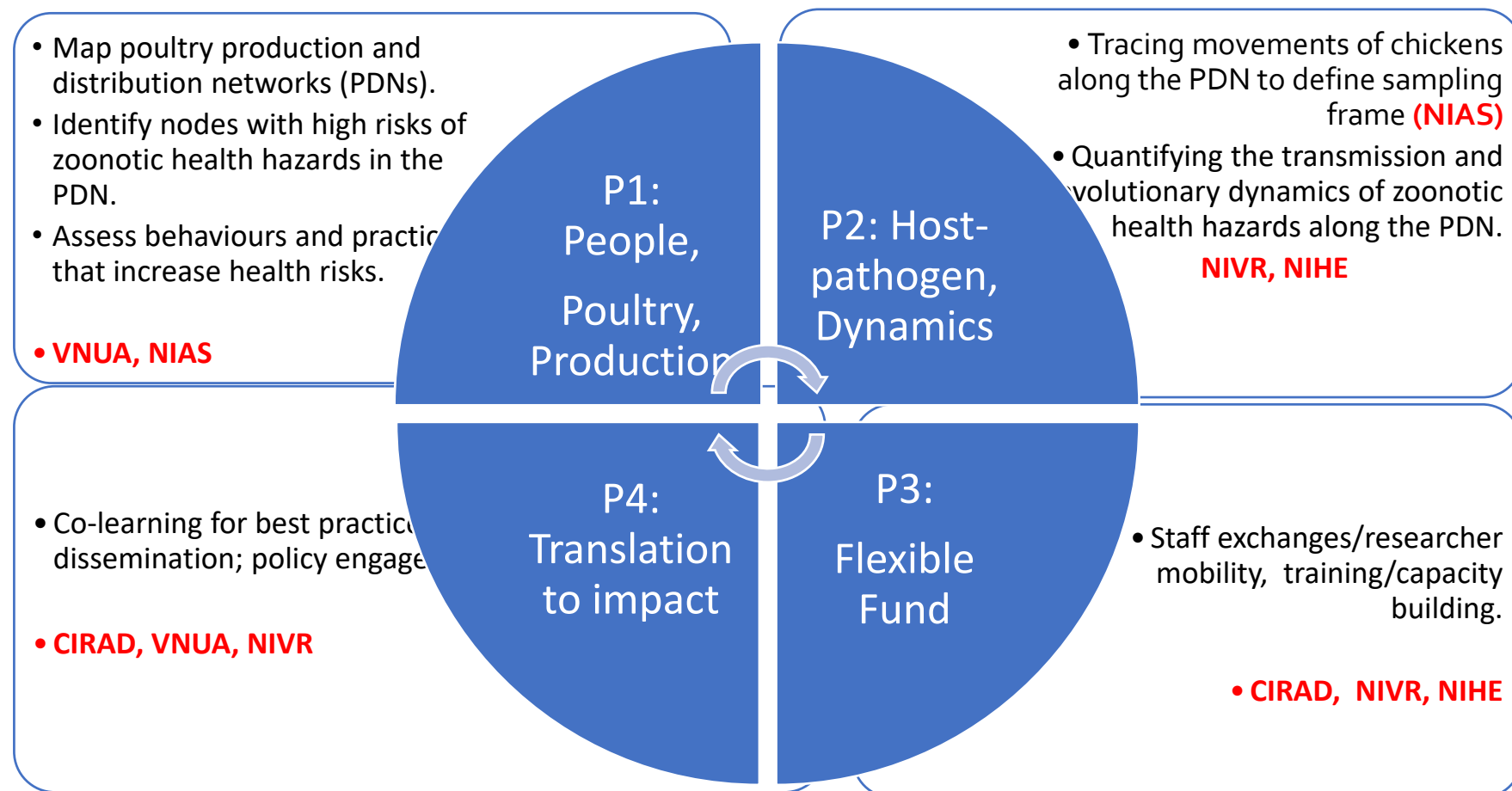
Source: Department of Animal Health

The GCRF One Health Poultry Hub: Towards a safer and more sustainable poultry production



- **Aim: to achieve sustainable intensification of chicken meat and egg production, whilst reducing risks to human and animal health and welfare**
- Target health risks: Avian Influenza Virus, Foodborne pathogens, and Antimicrobial resistance
- Study sites: Bangladesh, India, Sri Lanka, Vietnam

Hub programmes and partners in Vietnam



P1: People, Poultry and production



- Mapping chicken production and distribution networks (PDNs)

Colored chicken broiler, white chicken broiler, layer

A risk assessment based on the likelihood of introduction, transmission, and evolution of zoonotic health risks (e.g., AIV, foodborne pathogens).

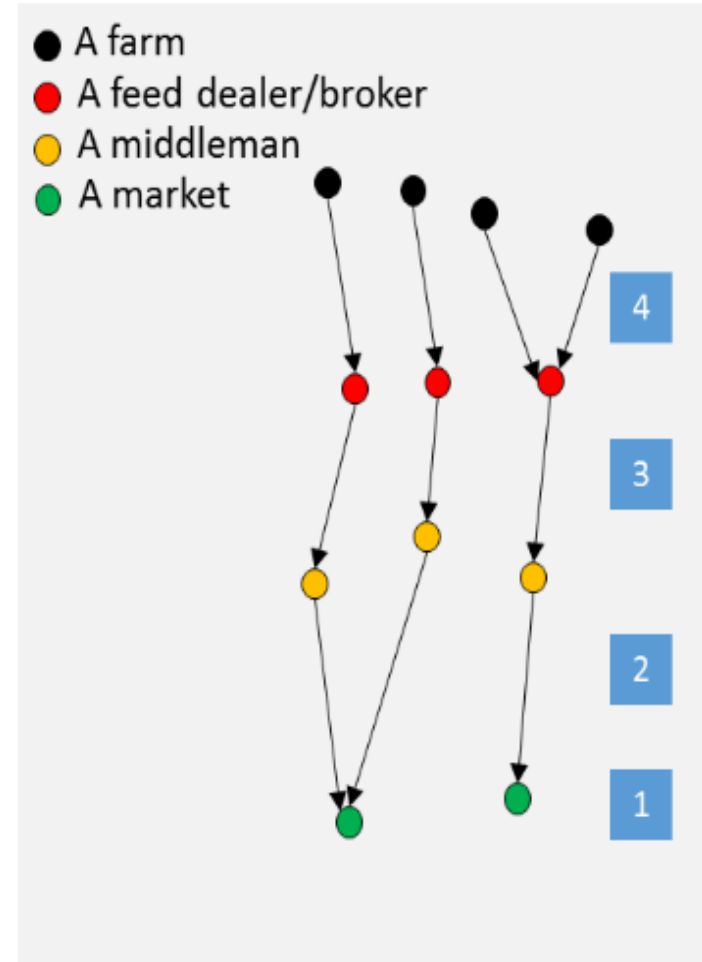
Colored chicken and white chicken broiler networks were selected for further studies



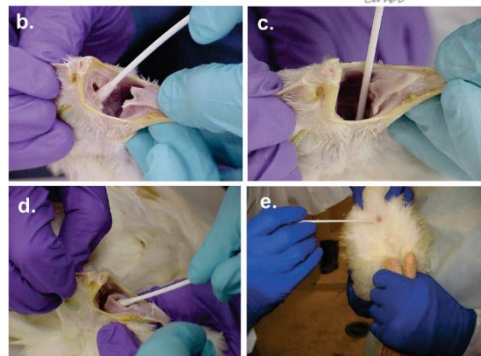
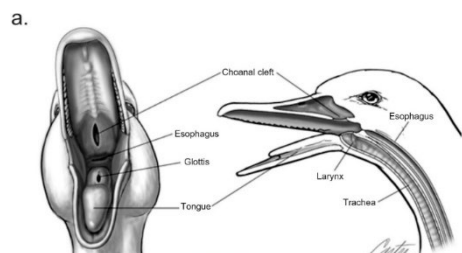
P2: Host-pathogen dynamics



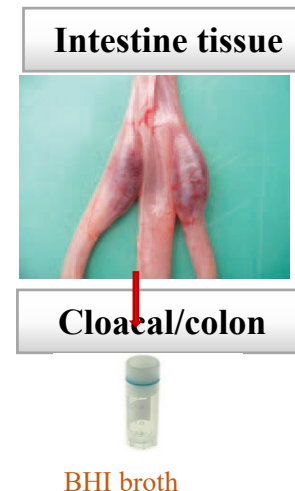
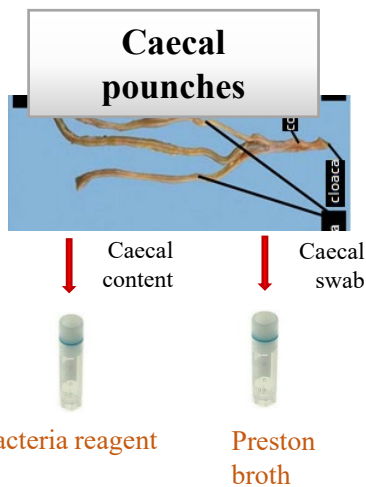
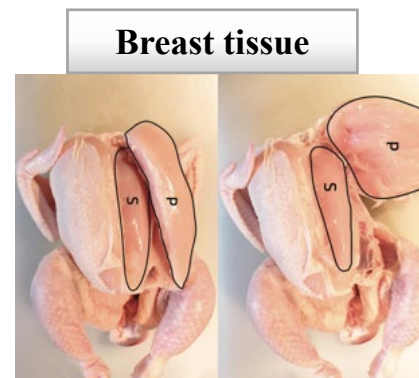
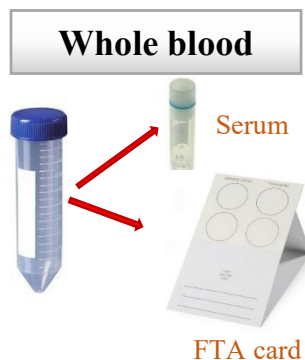
- **Link tracing study:** identifying chicken movement along the chicken broiler networks to define the sampling frame.
- **Biological sampling**
Round1 (2021-2022):
 - ✓ Study area: 4 Northern provinces of Vietnam
 - ✓ Endpoints (n=50)
 - Wholesale markets (n=11), slaughterhouses (n=6)
 - Retail markets (n=16), slaughter points (n=19): random selection in each district of study area
 - ✓ Farms: one farm in each endpoint catchment area
 - ✓ Sampled both colored and white chickens on the same sampling site if any



Round 1: Sample types



**Oropharyngeal swab,
Cloacal swab**



Round 1: AIV results (descriptive statistics)



- Farms

- 756 colored chicken broiler sampled

- 31 (4.1%) H9-positive hybrid chicken in 5 (10%) farms

- Endpoints

- 748 colored chicken and 184 white chicken broiler sampled

- 166 (17.8%) H9-positive chicken

- Sites with at least one H9-positive chicken

- 12/16 (75%) retail markets

- 4/11 (36.4%) wholesale markets

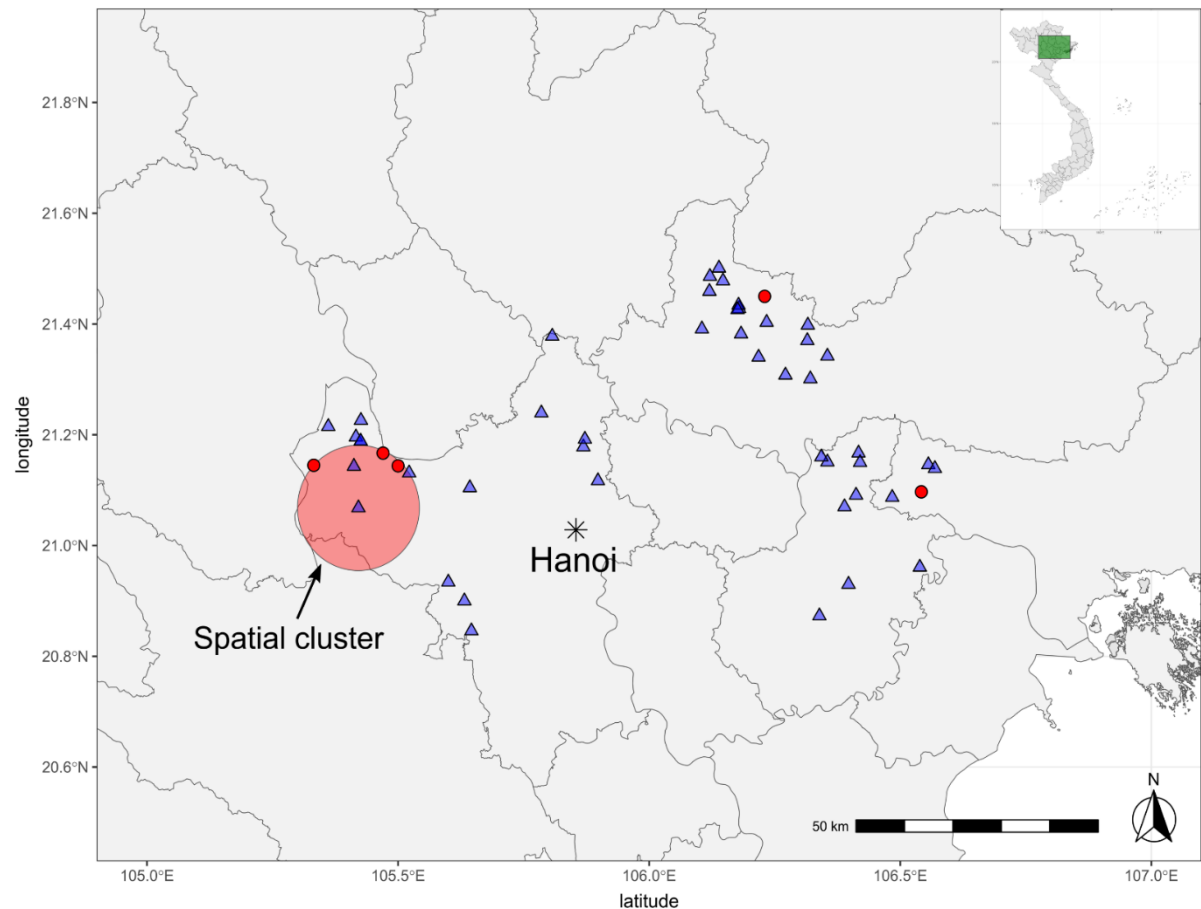
- 1/6 (16.7%) slaughterhouses

- 14/19 (73.7%) slaughter points

Spatio-temporal cluster in farms



- Timeframe:
 - 1/1/2022 to 31/1/2022
- 3 cases in cluster
- Expected cases:
 - 0.3
- Relative risk
 - 23.5
 - $p=0.041$



AIV contamination status ● contaminated ▲ non-contaminated

Bayesian modelling



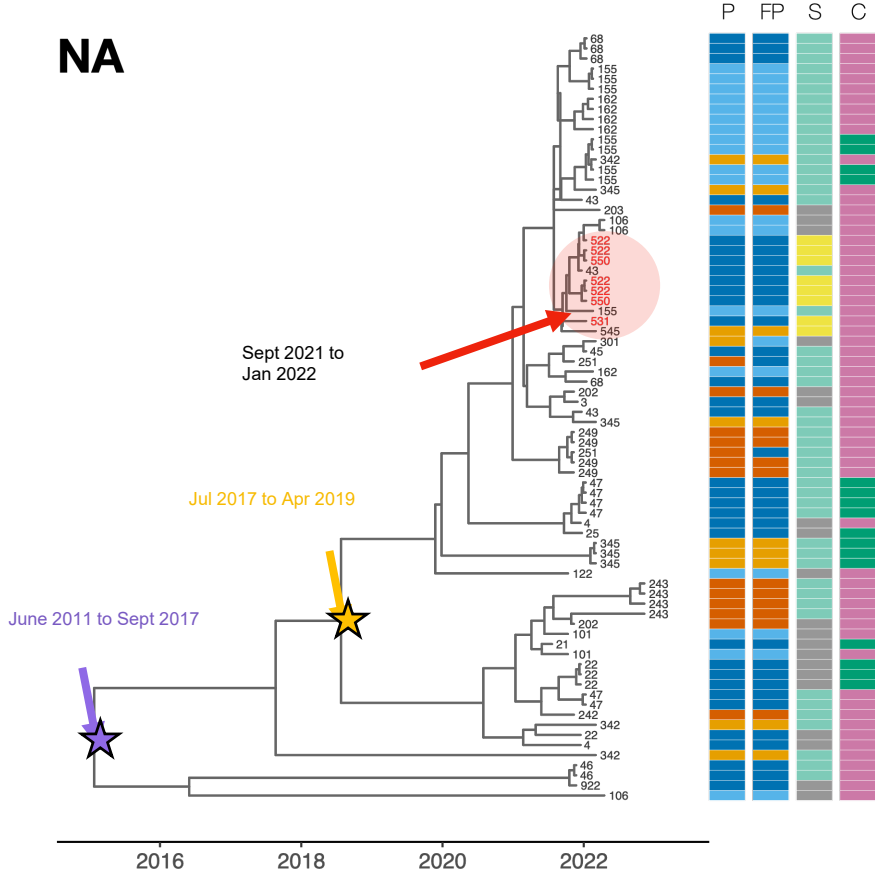
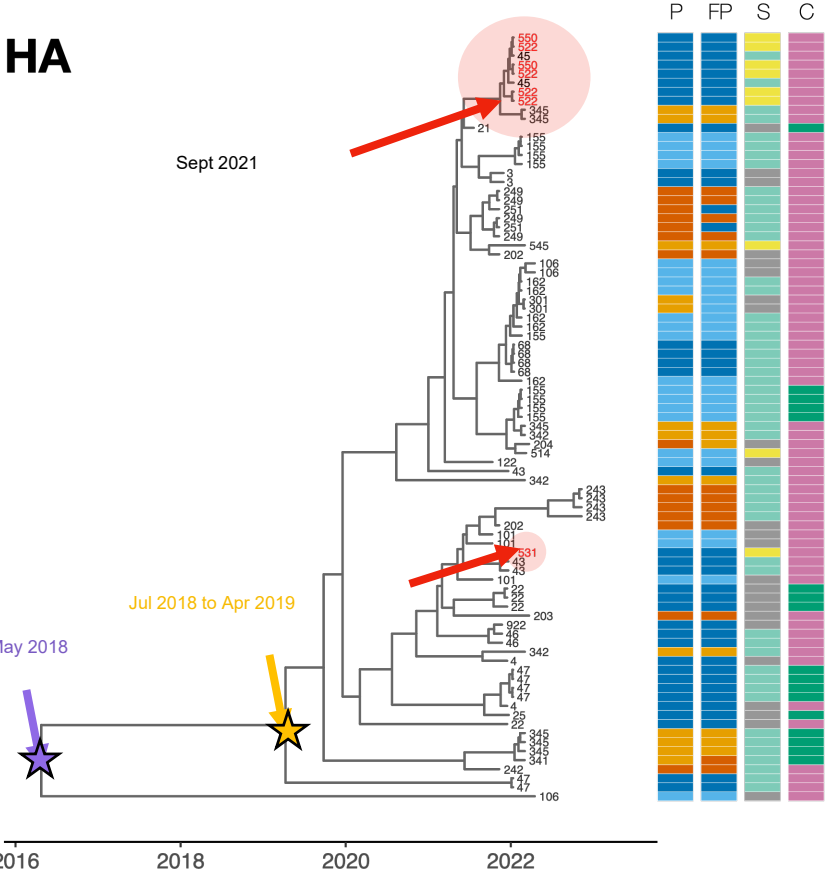
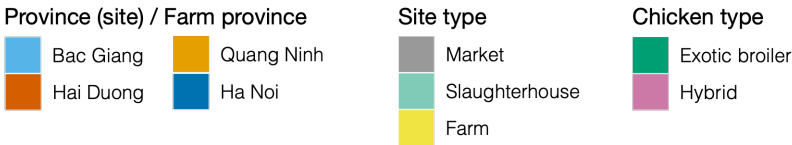
- 2-level Bayesian logistic regression models built, accounting for H9 prevalence at site and bird level
- Farm model
- Endpoint model: Inclusion of additional variables:
 - Site level: Type of site (e.g., market, slaughterhouses, slaughter point)
 - Bird level: Type of site, location of site, catchment area for farms supplying the site, type of bird

Bayesian modelling: results for H9N2



- Overall prevalence for birds by type of site:
 - Farms — 4.1% (95% HDI 1.4-8.6)
 - Wholesale market — 6.1% (95% HDI 2.1-12.9)
 - Slaughterhouse — 7.5% (95% HDI 0.5-26.1)
 - Retail market — 14.6% (95% HDI 9.2-20.7)
 - Slaughter point — 30.9% (95% HDI 21.4-39.6)
- Catchment area location:
 - Higher risk of infection in sites supplied with birds from:
 - Ha Noi - Ref
 - Bac Giang - OR 3.17 (95% HDI 1.85-5.42)
 - Quang Ninh - OR 1.92 (95% HDI 1.06-3.54)
 - Hai Duong - OR 0.86 (95% HDI 0.48-1.61)

The timescaled phylogenies for HA and NA from H9N2 viruses detected from the round 1 sampling



Key messages:



- Cluster of infected farms during January
- Evidence of viral amplification from farms to endpoints
- Most of the H9N2 viruses share a much more recent common ancestor (between 2017-2019)
- When considering the HA, they appear to correspond to two distinct phylogenetic clusters, suggesting one of the sites (ID 531) has acquired a different HA through reassortment

Round 2 sampling (2022-2023): Study design



- Longitudinal study on chicken farms (random selection of 60 farms in Hanoi and Bac Giang)
 - ✓ Daily follow-up of practices and batch composition
 - ✓ Regularly collect oropharyngeal swabs from chicken (10 birds/ visit, 4 times/farm)
 - ✓ Collect blood samples from people on chicken farms (n=60) and from non-poultry households (n=20) (two times, To-T6)
 - ✓ Collect throat/nasal-pharyngeal swabs of influenza-like-illness (ILI) cases (if any) during the study period
- High-risk (morbidity) study
 - ✓ Study area: one district in Hanoi and one in Bac Giang
 - ✓ Sampling of dead/sick poultry identified by veterinarians
- Hospital-based study: (one district hospital in Bac Giang)
 - ✓ Collect throat/nasal-pharyngeal swabs of ILI cases (inpatient and outpatient) of the Respiratory Department

Round 2 sampling: objectives



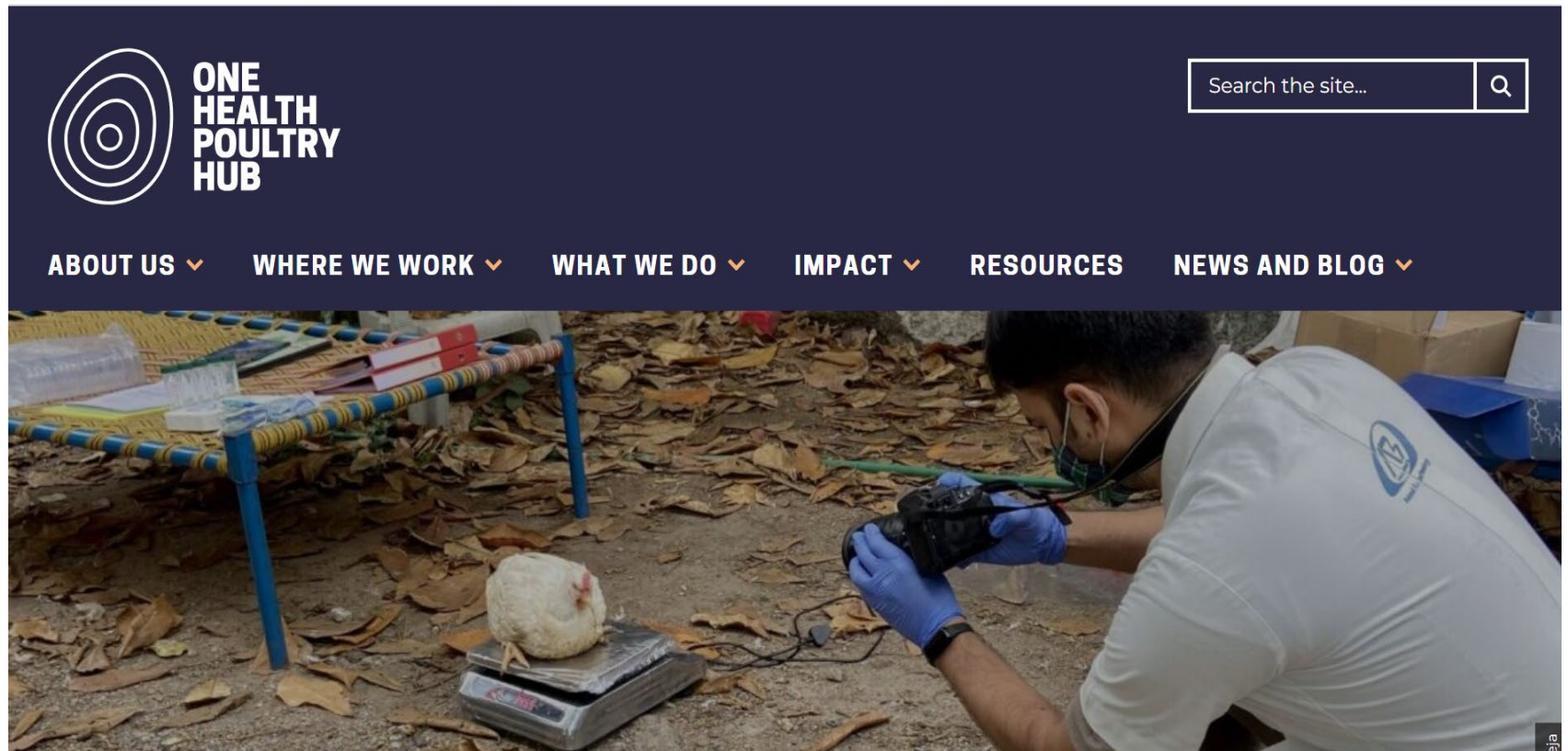
- Measure AIV occurrence in the general population with Influenza Like Illness (ILI) /Severe Acute Respiratory illness (SARI) attending hospitals in a dense poultry production area
- Assess phenotypic and genotypic similarities between AIV recovered in patients and those circulating in local poultry;
- Assess poultry workers' immune responses (serological conversion) to AIV circulating in poultry, and compare to immune responses in people not working with poultry.

Round 2 sampling: descriptive summary



- High-risk (morbidity) study
 - 91 flocks sampled
 - Flock with at least 1 positive sample for H9 (11%)
 - Flock with at least 1 positive sample for H5 (1%)
- Longitudinal farm study
 - 2186 samples collected
 - At least 1 sample positive for AIV M gene: 12 (20%) farms
 - At least 1 sample positive for H9: 12 (20%) farms
 - At least 1 sample positive for H5: 0 (0%) farms

Thank you very much for your attention



<https://www.onehealthpoultry.org/>



ANRS | MIE Scientific Days in Vietnam

Towards ending epidemics

15th to 16th of November, 2023

Kết quả nghiên cứu vi rút cúm gia cầm tại phía Bắc Việt nam

TS. Pham Thi Thanh Hoa

Trung tâm hợp tác quốc tế về nghiên cứu phát triển

Nông nghiệp Pháp



Tình hình dịch cúm gia cầm tại Việt Nam



	2003-2006	2007-2013	2014-2018	2019-2022
Số ổ dịch	3547	1318	407	314
Số tỉnh có dịch	64	52	54	-
Số gia cầm bị chết và tiêu hủy (con)	45 triệu	1 459 834	401 325	939 896
Số người nhiễm cúm H5N1	93	32	2	1
Số ca tử vong do cúm H5N1	42	20	2	0

Nguồn: Cục Thú y

Các chủng cúm gia cầm được phân lập:
A/H5N1, A/H5N6, A/H5N8, A/H9N2

Dự án nghiên cứu gia cầm Một sức khỏe: Hướng đến chăn nuôi gia cầm an toàn và bền vững hơn



- **Mục tiêu:** Phát triển chăn nuôi thâm canh gia cầm bền vững đồng thời giảm thiểu nguy cơ sức khỏe cho người và động vật.
- Trọng tâm nghiên cứu: vi rút cúm gia cầm, các mầm bệnh gây ngộ độc thực phẩm, kháng kháng sinh
- Các nước nghiên cứu: Bangladesh, Ấn Độ, Sri Lanka, và Việt Nam

Các chương trình của dự án và đối tác Việt nam

- Nghiên cứu các mạng lưới chăn nuôi và phân phối gia cầm (PDNs).
- Xác định các khâu có nguy cơ sức khỏe cao trong mạng lưới gia cầm.
- Xác định các hành vi và thực hành chăn nuôi làm gia tăng nguy cơ sức khỏe.

• **VNUA, NIAS**

P1: Con người,
Gia cầm và
sản xuất

P2: Vật chủ-mầm bệnh, sự biến động

- Nghiên cứu truy vết dọc theo chuỗi gia cầm (**NIAS**)
- Nghiên cứu sự lây truyền và tiến hóa của các nguy cơ sức khỏe trong mạng lưới gia cầm (PDN).

NIVR, NIHE

- Tối đa hóa tác động của Dự án thông qua hoạt động truyền thông, hội thảo, phát triển quan hệ đối tác

• **CIRAD, VNUA, NIVR**

P4: Hướng
đến tác
động của
Dự án

P3:
Quỹ linh
động

- Đào tạo nâng cao năng lực, tài trợ cho các nghiên cứu chuyên sâu

• **CIRAD, NIVR, NIHE**

P1: Con người, gia cầm và sản xuất



- Lập bản đồ chuỗi sản xuất và phân phối gà (PDNs)

Gà thịt lông màu, Gà thịt công nghiệp trắng, Gà đẻ trứng

- Đánh giá nguy cơ sức khỏe (vd: cúm gia cầm) dựa trên khả năng xâm nhập, lây truyền và tiến hóa của mầm bệnh từ động vật sang người

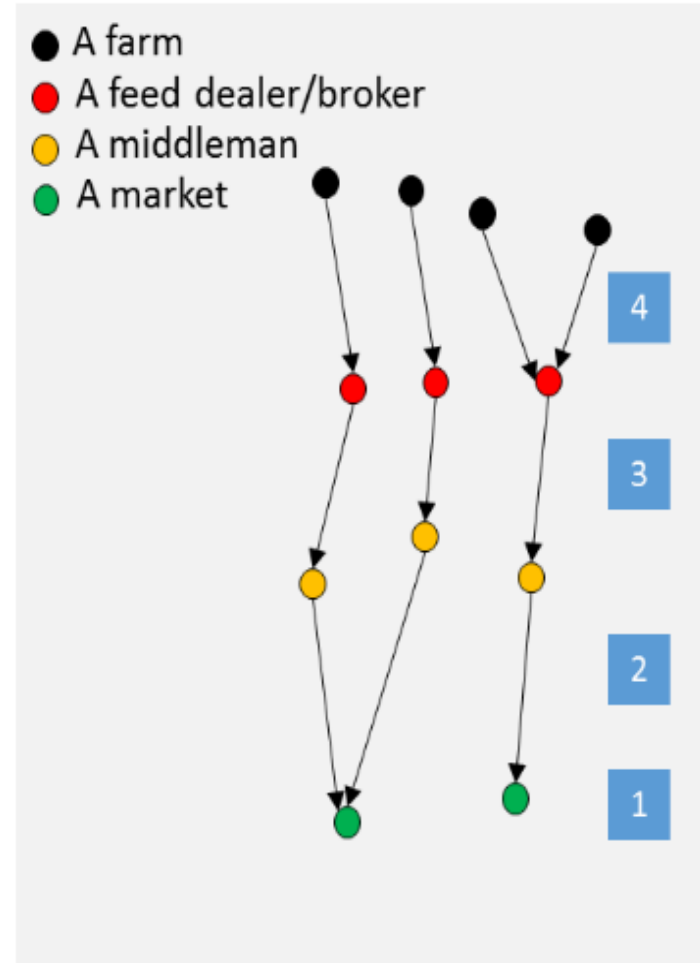
Chuỗi gà thịt lông màu, gà thịt công nghiệp trắng được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo



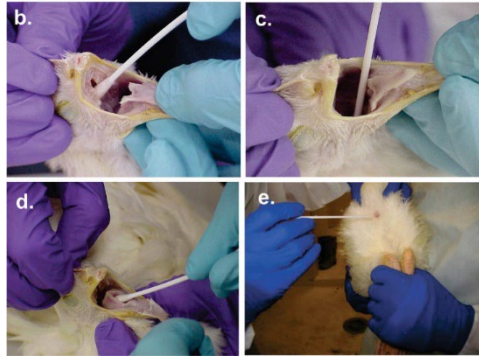
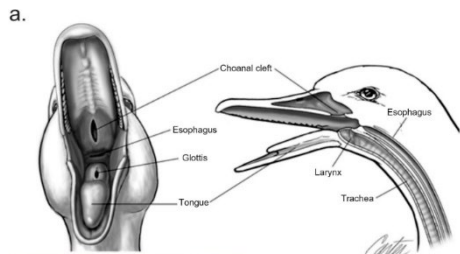
P2: Vật chủ-mầm bệnh, sự biến động



- **Nghiên cứu truy vết:** xác định đường di chuyển của gà trong mạng lưới để xác định khung lấy mẫu
- **Lấy mẫu sinh học**
 - Pha 1 (2021-2022):**
 - ✓ Vùng nghiên cứu: 4 tỉnh phía Bắc Việt Nam
 - ✓ Điểm cuối (n=50)
 - Chợ bán buôn gia cầm (n=11), lò mổ (n=6)
 - Chợ bán lẻ (n=16), điểm giết mổ (n=19): lựa chọn ngẫu nhiên ở mỗi huyện trong vùng nghiên cứu
 - ✓ Trại gà: một trại trong số các trại cung cấp gà cho mỗi điểm cuối
 - ✓ Lấy mẫu trên cả gà lông màu và gà công nghiệp trắng (nếu có) tại điểm lấy mẫu

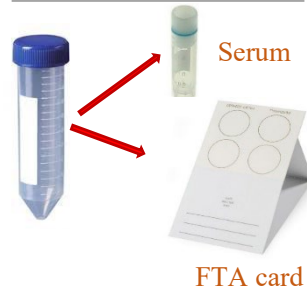


Pha 1: Các loại mẫu

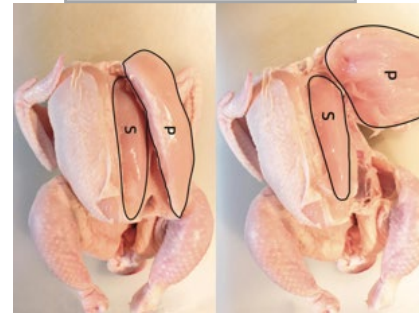


**Mẫu hầu họng,
Mẫu ổ nhóp**

Mẫu máu



Mẫu thịt lườn



Mẫu lông cánh



**Mẫu manh
tràng**



Caecal
content



Caecal
swab



RNAprotect Bacteria reagent

Preston
broth

Mẫu ruột



Cloacal/colon



BHI broth

Mẫu môi trường



Pha 1: Kết quả phân tích cúm gia cầm (thống kê mô tả)

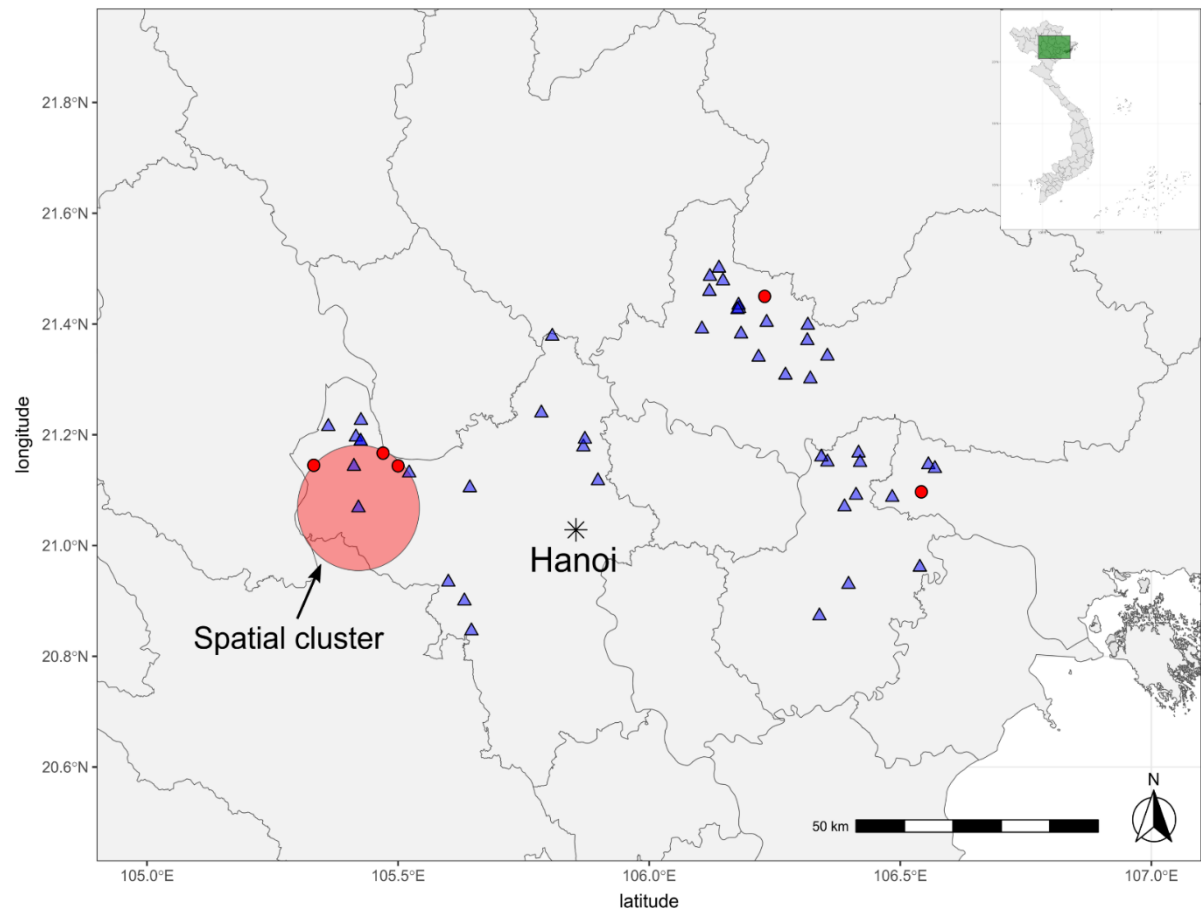


- Trại gà
 - 756 con gà lông màu được lấy mẫu
 - 31 (4.1%) gà dương tính với H9 tại 5 (10%) trại
- Điểm cuối
 - 748 gà lông màu and 184 gà công nghiệp trắng được lấy mẫu
 - 166 (17.8%) gà dương tính với H9
- Các điểm lấy mẫu có ít nhất một mẫu gà dương tính với H9
 - 12/16 (75%) chợ bán lẻ
 - 4/11 (36.4%) chợ bán buôn gia cầm
 - 1/6 (16.7%) lò mổ gia cầm
 - 14/19 (73.7%) điểm giết mổ gia cầm

Kết quả phân tích không gian-thời gian tại các trại gà



- Khung thời gian:
 - 1/1/2022 đến 31/1/2022
- Nhóm 3 ca bệnh
- Ca bệnh dự kiến:
 - 0.3
- Nguy cơ tương đối
 - 23.5
 - $p=0.041$



AIV contamination status ● contaminated ▲ non-contaminated

Mô hình Bayesian



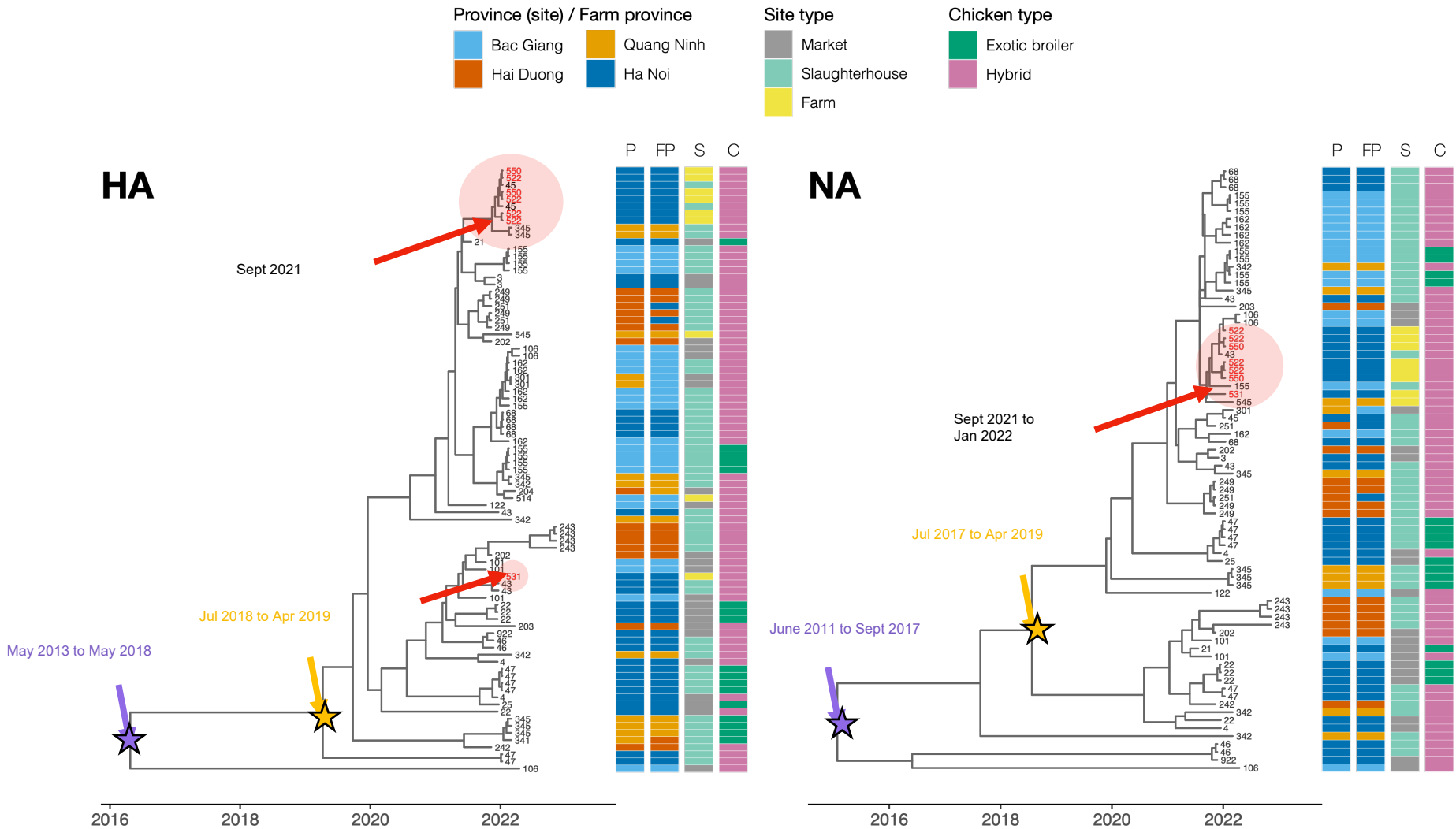
- Xây dựng mô hình hồi quy Bayesian 2 cấp độ để ước tính tỉ lệ nhiễm H9 tại các điểm lấy mẫu, và trên đàn gia cầm tại điểm lấy mẫu
- Mô hình tại trại chăn nuôi gia cầm
- Mô hình tại các điểm cuối: có bao gồm các biến bổ sung
 - Ở cấp độ điểm lấy mẫu: các loại điểm lấy mẫu (vd: chợ, lò mổ, điểm giết mổ)
 - Ở cấp độ gia cầm: các loại điểm lấy mẫu, địa điểm lấy mẫu, nơi cung cấp gà cho điểm lấy mẫu, loại gà

Kết quả mô hình Bayesian cho H9N2



- Tỷ lệ lưu hành cúm gia cầm trên gà tại các điểm lấy mẫu :
 - Trại chăn nuôi gà – 4.1% (95% khoảng tin cậy 1.4-8.6)
 - Chợ bán buôn gia cầm – 6.1% (95% khoảng tin cậy 2.1-12.9)
 - Lò mổ gia cầm – 7.5% (95% khoảng tin cậy 0.5-26.1)
 - Chợ bán lẻ gia cầm – 14.6% (95% khoảng tin cậy 9.2-20.7)
 - Điểm giết mổ – 30.9% (95% khoảng tin cậy 21.4-39.6)
- Vị trí nơi cung cấp gà cho các điểm cuối:
 - Nguy cơ nhiễm cúm gia cầm cao hơn ở các điểm lấy mẫu có gà được cung cấp từ:
 - Hà Nội - đối chứng
 - Bắc Giang - OR 3.17 (95% khoảng tin cậy 1.85-5.42)
 - Quảng Ninh - OR 1.92 (95% khoảng tin cậy 1.06-3.54)
 - Hải Dương - OR 0.86 (95% khoảng tin cậy 0.48-1.61)]

Phân tích di truyền vi rút H9N2 phát hiện trong pha 1 (theo khung thời gian)



Thông điệp chính:



- Xuất hiện nhóm trại nhiễm cúm gia cầm tại Hà nội vào tháng 1
- Bằng chứng khoa học về sự gia tăng của vi rút từ trang trại đến điểm cuối của chuỗi gia cầm
- Kết quả phân tích di truyền của vi rút H9N2 cho thấy hầu hết chúng có tổ tiên chung gần đây (từ 2017-2019)
- Khi xem xét gen HA, dường như có hai cụm phát sinh gen riêng biệt, một trong các điểm lấy mẫu (ID 531) đã thu được một HA khác thông qua quá trình tái tổ hợp

Pha 2 (2022-2023): Thiết kế nghiên cứu



- Nghiên cứu dài hạn ở trại gà (chọn ngẫu nhiên 60 trại ở Hà Nội và Bắc Giang)
 - ✓ Ghi chép biến động về đàn gà và các thực hành tại trại
 - ✓ Định kì lấy mẫu hầu họng của gà (10 con/lần/trại , 4 lần lấy mẫu/trại)
 - ✓ Lấy mẫu máu của các thành viên trong hộ chăn nuôi (n=60) và hộ không nuôi gia cầm (n=20) (2 lần- đầu, cuối thời gian NC)
 - ✓ Lấy mẫu hầu họng của người/gà có triệu chứng giống cúm tại trại chăn nuôi (nếu có) trong thời gian nghiên cứu
- Nghiên cứu tại vùng có nguy cơ cao
 - ✓ Vùng nghiên cứu: 1 huyện ở Hà Nội và 1 huyện ở Bắc giang
 - ✓ Lấy mẫu gia cầm ốm/chết tại trại (thú y tỉnh/huyện xác định và thu thập)
- Nghiên cứu tại bệnh viện: (1 bệnh viện huyện tại Bắc Giang)
 - ✓ Lấy mẫu hầu họng của người có triệu chứng giống cúm (bệnh nhân ngoại trú hoặc nội trú) ở khoa hô hấp của bệnh viện

Pha 2: Mục tiêu nghiên cứu



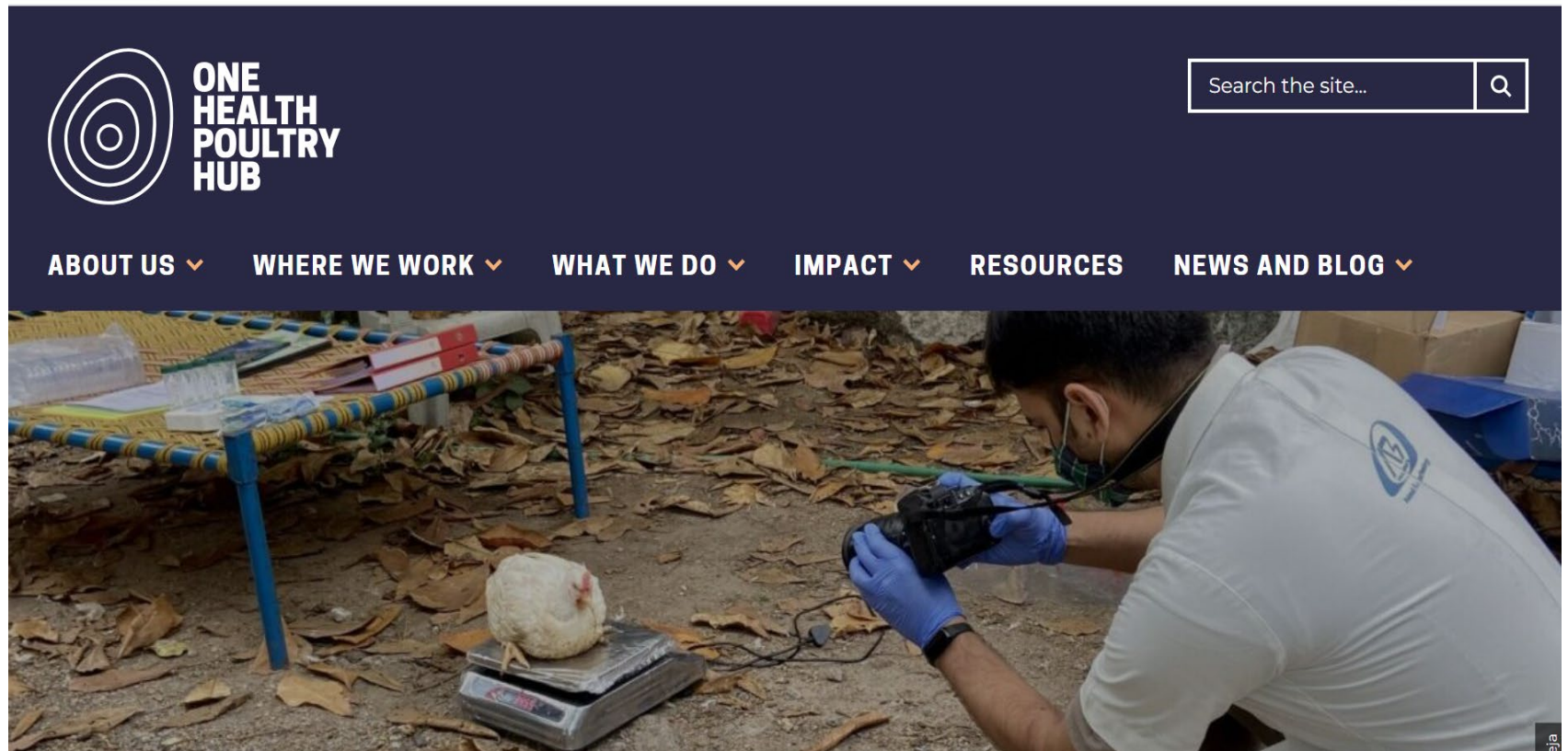
- Định lượng sự xuất hiện vi rút cúm gia cầm trong số các ca bệnh có triệu chứng giống cúm/hay có triệu chứng hô hấp cấp tính nặng tại bệnh viện ở khu vực có mật độ chăn nuôi gia cầm cao;
- Đánh giá sự tương đồng về di truyền giữa vi rút cúm gia cầm được phân lập từ bệnh nhân và phân lập từ gia cầm;
- Đánh giá đáp ứng miễn dịch của người chăn nuôi (kháng thể trong huyết thanh) với vi rút cúm gia cầm lưu hành trên đàn gia cầm và so sánh với người không thường xuyên tiếp xúc với gia cầm.

Pha 2: Kết quả sơ bộ



- Nghiên cứu tại vùng có nguy cơ cao
 - 91 đàn được lấy mẫu
 - Đàn gia cầm có ít nhất một mẫu dương tính với H9 (11%)
 - Đàn gia cầm có ít nhất một mẫu dương tính với H5 (1%)
- Nghiên cứu dài hạn
 - 2186 mẫu được thu thập
 - Trại có ít nhất một mẫu dương tính với cúm gia cầm M gene: 12 (20%)
 - Trại có ít nhất một mẫu dương tính với H9: 12 (20%)
 - Trại có ít nhất một mẫu dương tính với H5: 0 (0%)

Xin trân trọng cảm ơn quý vị



<https://www.onehealthpoultry.org/>