

XÁC ĐỊNH SỰ HIỆN DIỆN DUCK CIRCOVIRUS VÀ *RIEMERELLA ANATIPESTIFER* TỪ CÁC CA BỆNH BẠI HUYẾT TRÊN VỊT BẰNG KỸ THUẬT PCR

Bùi Hữu Dũng¹, Đỗ Tiến Duy¹, Nguyễn Tất Toàn¹,
Nguyễn Thị Thu Năm^{1,2}, Lê Thanh Hiền¹, Nguyễn Thị Phước Ninh¹

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu này nhằm xác định sự hiện diện Duck circovirus (DuCV) và *Riemerella anatipestifer* (RA) trên nhiều đàn vịt nuôi ở một số tỉnh thành phía Nam bằng sử dụng quy trình PCR đã hiệu chỉnh. Trong số 37 trại nuôi vịt được khảo sát thuộc nhiều địa phương, đã phát hiện tỷ lệ vịt bị nhiễm DuCV và RA ở các trại là khác nhau. Có 4/37 trại và 5/76 mẫu dương tính với DuCV, tương ứng với 10,81% và 6,58%; 25/37 trại và 41/76 mẫu dương tính với RA, tương ứng với 67,57% và 53,94%. Cũng đã xác định được sự nhiễm trùng ghép giữa RA và DuCV theo mẫu vịt là 3/76, tương ứng với 3,94% và theo trại là 2/37, tương ứng với 5,41%. Nghiên cứu này lần đầu tiên đã xác định được sự hiện diện của DuCV và RA trên các ca bệnh thu thập từ các trại nuôi vịt ở nước ta. Vai trò của DuCV trong việc gây tổn thương các mô lympho dẫn tới suy giảm đáp ứng miễn dịch và từ đó tăng nguy cơ nhiễm trùng ghép với các mầm bệnh hiện hữu trên đàn vịt nuôi cần được tiếp tục nghiên cứu.

Từ khóa: Vịt, Bệnh bại huyết, Duck circovirus, *Riemerella anatipestifer*, PCR

Determination of Duck circovirus (DuCV) and *Riemerella anatipestifer* (RA) in several cases of septicemia disease from duck flocks by PCR technique

Bui Huu Dung, Do Tien Duy, Nguyen Tat Toan,
Nguyen Thi Thu Nam, Le Thanh Hien, Nguyen Thi Phuoc Ninh

SUMMARY

The purpose of current study aimed at determining the prevalence of Duck circovirus (DuCV) and *Riemerella anatipestifer* (RA) in several duck flocks farming in Southern provinces by applying the optimized PCR protocol. From 37 surveyed farms belonging to many localities, the prevalence of DuCV and RA varying among the different farms was identified. There were 4/37 farms and 5/76 samples positive with DuCV, corresponding to 10.81% and 6.58%; 25/37 farms and 41/76 samples were positive with RA, corresponding to 67.57% and 53.94%. The co-infection of DuCV and RA in ducks was also identified (3/76 samples, accounted for 3.94%) and (2/37 farms, accounted for 8.11%). This is the first identification of presenting DuCV and RA on several disease cases collecting from the various duck flocks in our country. The role of DuCV relates to the injury of lympho tissues, leads to the depletion of immunity and then increases susceptibility to the secondary infections in the domestic duck flocks should be further studied.

Keywords: Duck, Septicemia disease, Duck circovirus, *Riemerella anatipestifer*, PCR

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Duck circovirus (DuCV) là một virus thuộc họ *Circoviridae* được phát hiện lần đầu tiên ở

trại nuôi vịt Mulard ở Đức vào năm 2003 (Hattermann và cs, 2003). Sau đó, sự hiện diện của DuCV được ghi nhận ở nhiều quốc gia trên thế giới (Hungary, Mỹ, Đài Loan và Trung Quốc; trích dẫn bởi Cha và cs, 2014). Tỷ lệ lưu

¹ Khoa Chăn nuôi Thú y - Trường ĐHNH Tp. HCM

² Bệnh viện thú y - Trường ĐHNH Tp. HCM

hành của DuCV cao ở nhiều giống vịt nuôi như Mulard, Pekin, Muscovy và đặc trưng bệnh gây ra do virus này là biểu hiện còi cọc cùng với sự bất thường trong quá trình phát triển của bộ lông (Zhang và cs, 2009). Sự tổn thương các mô lympho gây ra do DuCV là nguyên nhân gây suy giảm đáp ứng miễn dịch và từ đó tăng nguy cơ nhiễm trùng ghép với các mầm bệnh khác (Soike và cs, 2004). Ngoài ra, DuCV có thể liên quan đến tình trạng giảm năng suất sinh sản và hiệu quả chăn nuôi vịt đẻ (Cha và cs, 2014).

Riemerella anatipestifer (RA) là vi khuẩn Gram âm, thuộc họ *Flavobacteriaceae* và được xác định lần đầu tiên ở các trại vịt tại Long Island, New York vào năm 1932 (Hendrickson và Hilbert, 1932). RA là nguyên nhân gây ra một bệnh truyền nhiễm cấp tính trên vịt, ngỗng, gà tây và nhiều loài gia cầm nuôi khác (Hess và cs, 2013). Bệnh xảy ra ở thể cấp tính hoặc mạn tính với một số bệnh lý đặc trưng như rối loạn hô hấp, tiêu chảy phân xanh hoặc nâu và xuất hiện các triệu chứng thần kinh. Bệnh tích viêm màng ngoài tim, viêm màng bao gan, viêm túi khí, viêm ống dẫn trứng tích nhiều casein và viêm màng não là những bệnh lý đặc trưng của bệnh này (Rubbenstroth và cs, 2013). Tỷ lệ chết bệnh ở thể cấp tính lên đến 90% trên vịt con (Sarver và cs, 2005).

Sự nhiễm ghép giữa DuCV cùng với *Escherichia coli*, RA và Duck hepatitis virus type 1 đã được mô tả ở một nghiên cứu (Zhang và cs, 2009) với tỷ lệ lần lượt là 2,02%, 2,83% và 4,72%. Tỷ lệ đồng nhiễm giữa DuCV với RA (4,1%) và *Salmonella enteritidis* (5,4%) cũng đã được ghi nhận trên đàn vịt nuôi ở Hàn Quốc (Cha và cs, 2014). Tuy nhiên, ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào công bố về sự hiện diện của DuCV và tỷ lệ nhiễm ghép giữa virus này với RA trên các đàn vịt nuôi. Do đó, mục đích của nghiên cứu này là nhằm phát hiện sự hiện diện và xác định tỷ lệ nhiễm DuCV cùng với RA trên các ca vịt bệnh được thu thập từ nhiều trại chăn nuôi ở một số tỉnh thành phía Nam, Việt Nam bằng kỹ thuật polymerase chain reaction (PCR).

II. NỘI DUNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nội dung nghiên cứu

- Sử dụng quy trình PCR xác định DuCV và RA được thực hiện ở Phòng sinh học phân tử, Bệnh viện Thú y, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM;

- Xác định tỷ lệ nhiễm của DuCV và RA trên các ca vịt bệnh;

- Đánh giá bệnh tích đại thể và vi thể đặc trưng trên các vịt bệnh có sự hiện diện của DuCV và RA.

2.2 Vật liệu

Các vật liệu sử dụng trong nghiên cứu gồm biên bản mổ khám thường quy (Bệnh viện Thú y, Trường ĐHNH Tp.HCM); 76 bộ mẫu bệnh phẩm thu thập từ 76 vịt bệnh tại các trại chăn nuôi khác nhau; Cùng các vật liệu cho xét nghiệm PCR như Kit tách chiết ADN tổng số (Accuprep® viral DNA extraction kit - Bioneer; Hàn Quốc), GoTaq® Green Master Mix 2X, DNA polymerase (Promega, Mỹ) cho phản ứng PCR, hai cặp mồi đặc hiệu được tham khảo từ các nghiên cứu trước (Fringuelli và cs, 2005; Rubbenstroth và cs, 2013).

2.3 Phương pháp nghiên cứu

2.3.1 Thu thập mẫu và xử lý mẫu

Tổng số 76 bộ mẫu gộp (não, tim, lách, gan, túi fabricius và túi khí) được thu thập bằng phương pháp mổ khám thường quy trên 76 ca bệnh có dấu hiệu bại huyết trên vịt ở các tỉnh thành khác nhau. Mẫu cũng được thu thập từ các hộ chăn nuôi của các tỉnh thành khác nhau (Bến Tre, Tiền Giang, Bình Dương, Bà Rịa-Vũng Tàu và TP. HCM). Mẫu thu thập tại thực địa được giữ lạnh trong thùng đá bảo ôn (4°C) và chuyển về phòng thí nghiệm để đồng nhất mẫu thành huyền dịch 10% trong đệm PBS 0,5x. Sau đó, huyền dịch mẫu được chiết tách DNA ngay hoặc được bảo quản ở -20°C ở phòng thí nghiệm cho tới khi tiến hành tách chiết.

2.3.2 Sử dụng quy trình PCR xác định DuCV và RA

[1] *Đối chứng dương và môi đặc hiệu.* Đối chứng dương sử dụng để hiệu chỉnh quy trình PCR xác định RA là khuẩn lạc với các đặc tính sinh hóa đặc trưng dương tính đã được khẳng định từ Phòng vi sinh (Bệnh viện Thú y, Trường ĐHNH Tp. HCM). Không có đối chứng dương của DuCV nên nghiên cứu phải áp dụng phương pháp chạy PCR mù và xác định kết quả dương tính DuCV bằng phương pháp giải trình tự sản phẩm PCR có được. DNA từ sản phẩm giải trình tự được sử dụng để làm đối chứng dương trong các xét nghiệm tiếp sau đó.

[2] *Tách chiết và phản ứng PCR*

DNA được chiết tách từ các mẫu đã thu thập

(huyền dịch 10% trong PBS) theo hướng dẫn từ bộ kit của nhà sản xuất (Accuprep® viral DNA extraction kit - Bioneer, Hàn Quốc). Hai cặp môi sử dụng trong phản ứng PCR để phát hiện DuCV và RA được mô tả chi tiết ở Bảng 1 (theo Fringuelli và cs, 2005; Rubbenstroth và cs, 2013). Thành phần phản ứng PCR cho từng xét nghiệm DuCV và RA có tổng thể tích 25 µl, gồm 10 µl GoTaq® Green Master Mix 2x, 1µl mỗi xuôi, 1µl mỗi ngược, 3µl khuôn mẫu và 10µl nước PCR free-nuclease. Chu trình nhiệt phản ứng PCR được tham khảo cho xác định DuCV (Fringuelli và cs, 2005), RA (Rubbenstroth và cs, 2013) và dựa vào nhiệt độ bắt cặp của mỗi thực tế qua tổng hợp (IDT, Integrated DNA technologies).

Bảng 1. Môi sử dụng trong phản ứng PCR xác định DuCV và RA

Mầm bệnh	Môi	Trình tự đoạn môi	Sản phẩm
DuCV	DuCV-F	CCC GCC GAA AAC AAG TAT TA	230bp
	DuCV-R	TCG CTC TTG TAC CAA TCA CG	
RA	RA-F	TAG CAT CTC TTG GAT TCC CTTC	338bp
	RA-R	CCA GTT TTT AAC CAC CAT TAC CC	

[3] *Hiệu chỉnh quy trình PCR xác định DuCV và RA*

Dựa vào đối chứng dương (RA, DuCV) tin cậy từ việc giải trình tự sản phẩm PCR và so sánh dòng trên ngân hàng genee (GenBank) qua công cụ Blast (<http://blast.ncbi.nih.gov/Blast.cgi>), khả năng hoạt động của môi theo sự hiệu chỉnh nồng độ (5pmol, 10pmol, 15pmol và 20pmol) và nhiệt độ bắt cặp khác nhau (43°C–60°C; dựa vào nhiệt độ bắt cặp của hai cặp môi thực tế qua tổng hợp từ IDT) được thử nghiệm trong phản ứng PCR để có được phản ứng tốt nhất cho việc xác định tỷ lệ nhiễm DuCV và RA ở giai đoạn sau (kết quả chưa công bố). Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% (100V) trong thời gian 25 phút cùng với ethidium bromide và được đọc kết quả trực tiếp trên máy chiếu tia UV (ECX-F20.M, Pháp).

2.3.3 Xác định tỷ lệ nhiễm DuCV và RA trên các ca khảo sát

Từng quy trình PCR đơn xác định DuCV và RA đã hiệu chỉnh được chạy trên 76 mẫu DNA đã tách chiết cùng với mẫu đối chứng dương, đối chứng âm (nước PCR free-nuclease) và thang chuẩn 100bp (ladder). Kết quả PCR dương tính khi sản phẩm xuất hiện trên gel điện di là 230bp (DuCV) và 338bp (RA) so với thang chuẩn 100bp và đối chứng dương đã có. Tỷ lệ dương tính được tính toán (%) theo sự nhiễm đơn và nhiễm ghép từ các mẫu thu thập.

2.3.4 Một số biểu hiện bệnh lý đặc trưng trên các ca nhiễm DuCV và RA

76 ca vịt bệnh trong nghiên cứu được đánh giá bệnh tích đại thể qua mổ khám toàn diện và mẫu cơ quan nội tạng cũng được thu thập để

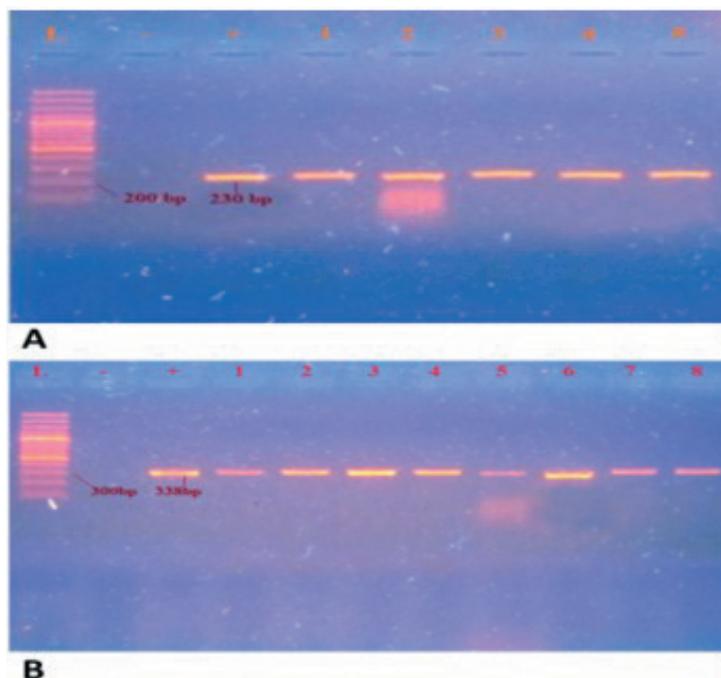
xử lý cố định (buffered formalin 10%) cho việc cắt tiêu bản vi thể. Kết quả đánh giá bệnh tích đại thể và vi thể được phân tích theo tình trạng nhiễm đơn và nhiễm ghép giữa DuCV và RA.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Quy trình PCR xác định DuCV và RA

Hai cặp mồi sử dụng cho quy trình PCR phát

hiện DuCV và RA được xác định khả năng hoạt động tốt và hoàn toàn đặc hiệu qua các phản ứng PCR đơn (Hình 1). Sản phẩm PCR trên gel điện di ở kích thước 230bp và 338bp tương ứng của DuCV và RA (Hình 1) được giải trình tự và so sánh độ tương đồng với 70 chủng DuCV và 17 chủng RA cho kết quả tương đồng lần lượt ở 97-99% và 94-100% (GenBank, NCBI).



Hình 1. Sản phẩm PCR của DuCV (A) và RA (B).

A, gồm thang chuẩn 100bp (L), đối chứng âm (-); đối chứng dương (+); các mẫu bệnh phẩm 1-5; B, gồm thang chuẩn 100bp (L), đối chứng âm (-); đối chứng dương (+); các mẫu bệnh phẩm 1-8.

Phản ứng PCR và quy trình luân nhiệt tối ưu được hiệu chỉnh ở phòng thí nghiệm hiện tại cho từng xét nghiệm DuCV và RA với tổng lượng phản ứng là 25 μ l, gồm 10 μ l GoTaq® Green Master Mix 2x (Promega, Mỹ), 1 μ l mỗi xuôi (10pmol), 1 μ l mỗi ngược (10pmol), 3 μ l khuôn mẫu (DuCV: 1300ng/ μ l; RA: 1250ng/ μ l; xác định bằng kỹ thuật đo OD) và 10 μ l nước PCR free-nuclease. Chu trình nhiệt phản ứng PCR tối ưu cho các nồng độ thành phần phản ứng ở trên được mô tả chi tiết ở Bảng 2.

Nồng độ mồi và nhiệt độ bắt cặp trong phản ứng PCR cho thấy tối ưu (sản phẩm rõ nét) ở

mức 1 μ l (10pmol/ μ l)/phản ứng và 54 $^{\circ}$ C (RA), 45 $^{\circ}$ C (DuCV). Nồng độ mồi RA được hiệu chỉnh cao hơn so với 0,5pmol/ μ l từ nghiên cứu trước (Rubbenstroth và cs, 2013). Nhiệt độ bắt cặp giữa mồi và khuôn tối ưu trong phản ứng PCR phát hiện RA thấp hơn so với nghiên cứu của tác giả này (56,7 $^{\circ}$ C). Ngược lại, nồng độ mồi tối ưu phát hiện DuCV trong nghiên cứu này là 10pmol/ μ l, thấp hơn nghiên cứu của Fringuelli và cộng sự (2005) là 25pmol/ μ l. Nhiệt độ bắt cặp giữa mồi và khuôn (DuCV) tối ưu giống nhau hoàn toàn (45 $^{\circ}$ C) giữa hai nghiên cứu (Fringuelli và cs, 2005).

Bảng 2. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR xác định DuCV và RA

Giai đoạn	Nhiệt độ (°C)		Thời gian		Chu kì
	DuCV	RA	DuCV	RA	
Tiền biến tính	94	95	2 phút	2 phút	1
Biến tính	94	94	45 giây	45 giây	35
Bắt cặp	45	54	30 giây	30 giây	
Kéo dài	72	72	30 giây	45 giây	
Kéo dài cuối cùng	72	72	7 phút	7 phút	1

3.2 Xác định tỷ lệ nhiễm DuCV và RA trên các ca bệnh khảo sát

Tại 37 trại khảo sát, tỷ lệ nhiễm DuCV và RA xác định bởi PCR khác nhau giữa các tỉnh/thành được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm DuCV và RA theo tỉnh/thành khảo sát

Tỉnh	DuCV				RA			
	Theo trại (n=37)		Theo mẫu (n=76)		Theo trại (n=37)		Theo mẫu (n=76)	
	n (+)	%	n (+)	%	n (+)	%	n (+)	%
Bến Tre	2	5,41	3	3,95	10	27,03	21	27,63
Tiền Giang	1	2,70	1	1,32	4	10,81	6	7,89
Bình Dương	1	2,70	1	1,32	2	5,41	2	2,63
Tp. HCM	0	0	0	0	8	21,62	11	14,47
Vũng Tàu	0	0	0	0	1	2,70	1	1,32
Tổng	4	10,81	5	6,58	25	67,57	41	53,94

Kết quả bảng 3 cho thấy :

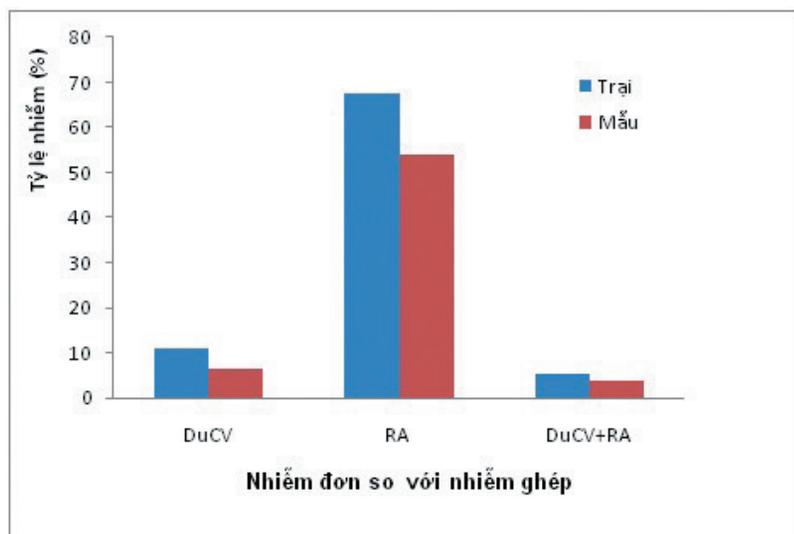
4/37 trại và 5/76 mẫu dương tính với DuCV, tương ứng tỷ lệ 10,81% và 6,58%; Có 25/37 trại và 41/76 mẫu dương tính với RA, chiếm 67,57% và 53,94%. Tất cả các tỉnh/thành khảo sát đều được ghi nhận có sự hiện diện của RA trong các ca bệnh nghi ngờ bại huyết trên vịt, trong khi sự nhiễm DuCV chỉ được xác định ở Bến Tre (3,95%), Tiền Giang (1,32%) và Bình Dương (1,32%).

Tỷ lệ nhiễm DuCV của khảo sát này thấp

hơn kết quả khảo sát ở Trung Quốc và Hàn Quốc trong những năm gần đây ở tỷ lệ lần lượt là 33,29% và 21,8% (Zhang và cs, 2009; Cha và cs, 2014), nhưng cao hơn khảo sát ở Mỹ, với tỷ lệ 6,06% (Banda và cs, 2007). Kết quả khảo sát của Zhang và cộng sự (2009), Cha và cộng sự (2014) khác biệt so với nghiên cứu này cho thấy sự lưu hành khác nhau của DuCV trên đàn vịt giữa các nước. Hơn nữa, mẫu thu thập của hai tác giả này chủ yếu trên đàn vịt có triệu chứng nghi ngờ do DuCV, trong khi nghiên cứu này lấy mẫu trên những ca bệnh có dấu hiệu bại huyết.

Tỷ lệ nhiễm đơn lẻ DuCV và RA trong nghiên cứu lần lượt là 2/76 mẫu (2,63%) và 38/76 mẫu (50%). Trong khi đó sự nhiễm trùng

ghép giữa RA và DuCV theo mẫu (3/76; 3,94%) và theo trại (2/37; 5,41%) được xác định trong nghiên cứu này (biểu đồ 1).



Biểu đồ 1. Tỷ lệ nhiễm đơn và nhiễm ghép DuCV và RA theo trại và theo mẫu

Biểu đồ 1 cho thấy: Tỷ lệ đồng nhiễm này cao hơn báo cáo của nghiên cứu trước (2,83%; của Zhang và cs, 2009) nhưng thấp hơn nghiên cứu của Cha và cs (2013) với 4,1%. Sự đồng nhiễm giữa DuCV và RA của các nghiên cứu đều ở mức thấp. Tuy nhiên, sự hiện diện của DuCV làm gia tăng nguy cơ vịt bệnh bị suy giảm và hoại tử tế bào lympho trong các hạch, nốt bạch huyết, từ đó tạo cơ hội nhiễm ghép giữa các mầm bệnh khác, trong đó có *E. coli*, *Salmonella* spp. và kể cả RA đã được đề cập ở nghiên cứu gần đây (Zhang và cs, 2009; Cha và cs, 2014).

3.3 Một số biểu hiện bệnh lý trên các ca nhiễm DuCV và RA

Triệu chứng, bệnh tích đại thể và vi thể xuất hiện chủ yếu trên các ca vịt bệnh do RA, DuCV và RA + DuCV được mô tả ở bảng 4.

Bảng 4 cho thấy: Ở các ca bệnh nghi bệnh do RA thường rối loạn vận động (68,4%), xáo trộn hô hấp (60,5%) và tiêu chảy phân loãng nhiều nước (44,7%) là các triệu chứng phổ biến. Bệnh tích đại thể thường gặp là viêm đa màng

và xoang (81,6%), lách sưng lớn (44,7%). Ở các ca bệnh DuCV, triệu chứng thường gặp là còi cọc và ốm yếu (100%); bệnh tích không rõ ràng ở các cơ quan nội tạng. Tuy nhiên ở các ca bệnh nhiễm ghép cả hai mầm bệnh, đa phần vịt bệnh có biểu hiện các triệu chứng và bệnh tích theo các chỉ tiêu bệnh lý được đánh giá.

Về phương diện mô học, sự suy giảm mô lympho là đặc trưng cho khả năng gây bệnh của DuCV (Soike và cs, 2004), mà trong khảo sát này cũng được ghi nhận ở mô lách (100%) và túi fabricius (50%). Sự hoại tử mô lympho tiết dịch cho tới suy giảm trầm trọng các lympho bào thường xuyên đi cùng với tình trạng xâm nhiễm bạch cầu, các đại thực bào ở lách và túi fabricius. Ở các ca nghi bệnh do RA, các biến đổi vi thể chủ yếu như sung huyết, xuất huyết, tích fibrin và sự xâm nhiễm các bạch cầu chủ yếu ở phổi, gan, tim (100%), não (57,1%) cùng với sự suy giảm các tế bào lympho ở lách (100%). Hơn nữa, tần suất xuất hiện bệnh tích vi thể còn có ở tất cả các mô cơ quan trên ca bệnh ghép giữa DuCV và RA (100%).

Bảng 4. Biểu hiện bệnh lý trên các ca bệnh dương tính với DuCV và RA

Đặc điểm bệnh lý	DuCV ^a		RA ^b		DuCV + RA ^c	
	n	%	n	%	n	%
Triệu chứng lâm sàng (a: n=2; b: n=38; c: n=3)						
Còi cọc, ốm yếu	2	100	9	23,6	2	66,7
Lông xơ xác, mất lông vùng lưng	0	0	7	18,4	1	33,3
Rối loạn vận động (lắc đầu, vẹo cổ, đập chân)	0	0	26	68,4	2	66,7
Rối loạn hô hấp (chảy nước mũi, mắt, khạc mũi, khó thở)	0	0	23	60,5	2	66,7
Tiêu chảy (phân loãng màu nâu hoặc hơi xanh)	0	0	17	44,7	2	66,7
Bệnh tích đại thể (a: n=2; b: n=38; c: n=3)						
Viêm đa màng, xoang (gan, tim, xoang ngực, bụng và túi khí)	1	50	31	81,6	3	100
Lách sưng lớn	0	0	17	44,7	1	33,3
Viêm màng não	0	0	2	5,2	0	0
Viêm khớp	0	0	4	10,5	0	0
Bệnh tích vi thể (a: n=2; b: n=7; c: n=1)						
Túi Fa: Có hiện tượng xâm nhiễm tế bào bạch cầu, suy giảm lympho bào; Có đốm hoại tử trong nhu mô lympho	1	50	1	14,3	1	100
Lách: Suy giảm lympho bào, xuất huyết nhiều trong mô lách	2	100	7	100	1	100
Gan: Sung huyết, vùng viêm xâm nhiễm tế bào bạch cầu; Tế bào gan có hạt mỡ	2	100	7	100	1	100
Túi khí: Vách dày, xâm nhiễm tế bào bạch cầu viêm, tích fibrin	0	0	3	42,8	1	100
Phổi: Sung huyết, xuất huyết, tích fibrin; Có xâm nhiễm tế bào bạch cầu và đốm hoại tử	1	50	7	100	1	100
Tim: Sung huyết, xuất huyết; Có xâm nhiễm tế bào bạch cầu lympho, fibrin ứ đọng quanh cơ tim	1	50	7	100	1	100
Não: Bề mặt sung huyết, xuất huyết, xâm nhiễm bạch cầu lympho và không bào trong mô não	0	0	4	57,1	1	100

DuCV^a: ca bệnh nhiễm DuCV đơn lẻ (n=2) RA^b: ca bệnh nhiễm RA đơn lẻ (n=38)

DuCV + RA^c: ca bệnh nhiễm ghép DuCV và RA (n=3)

Số ca bệnh nhiễm DuCV còn thấp nên kết quả phản ánh tương tác bệnh lý giữa sự đồng nhiễm RA và DuCV cần được khảo sát sâu hơn. Dấu hiệu lâm sàng trên vịt nhiễm DuCV thường không rõ ràng (chết rải rác, còi cọc hay chậm lớn) (Zhang và cs, 2009). Sự suy giảm mô lympho là đặc trưng của khả năng gây bệnh của

DuCV (Soike và cs, 2004), mà trong khảo sát này cũng được ghi nhận ở mô lách và túi Fa. DuCV mới được phát hiện đầu tiên năm 2003 ở châu Âu (Hattermann và cs, 2003) và gần đây được ghi nhận ở một số nước châu Á (Zhang và cs, 2009; Cha và cs, 2014); Đặc biệt, qua nghiên cứu này đã xác định sự hiện diện của

DuCV nhiễm trên đàn vịt nuôi ở Việt Nam. Sự tương tác (vai trò) giữa mầm bệnh gây suy giảm miễn dịch này với các mầm bệnh hiện hữu cần được theo dõi và đánh giá sâu hơn để hiểu rõ cơ chế đồng nhiễm và từ đó xây dựng chiến lược phòng bệnh tốt cho đàn vịt nuôi đang tăng dần về số lượng theo các năm tại Việt Nam. Ngoài ra, bệnh bại huyết do RA mặc dù được ghi nhận từ lâu ở nước ngoài (Hendrickson và Hilbert, 1932) nhưng nghiên cứu chính thống trên đàn vịt trong nước chưa được chú trọng; trong khi khả năng gây thiệt hại của RA trên đàn vịt non là rất lớn với tỷ lệ chết bệnh ở thể cấp tính có thể lên đến 90% (Wang và cs, 2014).

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

Nghiên cứu này lần đầu tiên xác định sự hiện diện của DuCV (10,81% theo trại; 6,58% theo mẫu), RA (67,57% theo trại; 53,94% theo mẫu) trên các ca bệnh thu thập từ các trại vịt tại một số tỉnh thành khác nhau ở phía Nam, Việt Nam.

Vai trò của DuCV gây suy giảm miễn dịch dẫn tới tình trạng đồng nhiễm với một số mầm bệnh đang hiện hữu trên đàn vịt nuôi cần được khảo sát sâu hơn. Ngoài ra, RA là mầm bệnh gây các ca bệnh cấp tính trên vịt nuôi cũng cần được quan tâm nghiên cứu về dịch tễ, khả năng gây bệnh cũng như biện pháp phòng chống để có chiến lược phòng bệnh tốt hơn cho đàn vịt nuôi của Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Banda A., Galloway-Haskins RI., Sandhu TS., Schat KA., 2007. Genetic analysis of duck circovirus detected in commercial Pekin ducks in New York, *Avian Diseases*. 51: 90-95.
2. Cha S., Song ET., Kang M., Wei B., Seo HS., Roh JH., Yoon RH., Moon OK. and Jang HK., 2014. Prevalence of Duck Circovirus Infection of Subclinical Pekin Ducks in South Korea. *Journal Veterinary Medical Science*. 76 (4): 597-599.

3. Hattermann K., Schmitt C., Soike D. and Mankertz A., 2003. Cloning and sequencing of duck circovirus (DuCV). *Archives of Virology*. 148: 2471-2480.
4. Hendrickson JM., and Hilbert KF., 1932. A new and serious septicemic disease of young ducks with a description of the causative organism, *Pfeifferella anatipestifer*, N.S. *Cornell Veterinary*. 22: 239-252.
5. Hess C., Enichlmayr H., Jandreski C., Vetkovic D., Liebhart D., Bilic I., Hess M., 2013. *Riemerella anatipestifer* outbreaks in commercial goose flocks and identification of isolates by MALDI-TOF mass spectrometry. *Avian Pathology*. 42 (2): 151-156.
6. Rubbenstroth D., Ryll M., Knobloch J.K.M., Köhler B. and Rautenschlein S., 2013. Evaluation of different diagnostic tools for the detection and identification of *Riemerella anatipestifer*. *Avian Pathology*, 42: 17-26.
7. Sarver, C.F., Morishita, T.Y. and Nersessian, B., 2005. The effect of route of inoculation and challenge dosage on *Riemerella anatipestifer* infection in Pekin ducks (*Anas platyrhynchos*). *Avian diseases*, 49(1), pp.104-107.
8. Soike D., Albrecht K., Hattermann K., Schmitt C. and Mankertz A., 2004. Novel circovirus in mulard ducks with developmental and feathering disorders. *Veterinary Record*. 154: 792-793.
9. Zhang X., Jiang S., Wu J., Zhao Q., Sun Y., Kong Y., Li X., Yao M., Chai T., 2009. An investigation of duck circovirus and co-infection in Cherry Valley ducks in Shandong province, China. *Veterinary Microbiology*. 133: 252-256.

Nhận ngày 10-5-2016

Phản biện ngày 10-6-2016