

GPV và MDPV là nguyên nhân gây bệnh đường tiêu hóa cấp tính hay còn gọi là bệnh Derzsy's. Bệnh có tính chất lây lan, tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ chết cao ở ngan, ngỗng dưới 3 tuần tuổi (Derzsy và cs., 1970; Chang và cs., 2000). Bệnh Derzsy's xuất hiện từ những năm 1960 ở châu Âu và nhiều nước ở châu Á (Glávits và cs., 2005; Grzegorz và cs., 2009). Ngan, ngỗng con dưới 3 tuần tuổi rất mẫn cảm với bệnh, biểu hiện đặc trưng là giảm ăn, tiêu chảy phân trắng, phân xanh và nhầy, bại chân, uống nhiều nước, suy nhược và chết với tỷ lệ lên đến 80-100% trong vòng vài ngày (2-5 ngày) sau khi xuất hiện triệu chứng. Ngan, ngỗng độ tuổi lớn hơn thì tỷ lệ chết thấp, chậm phát triển, liệt chân, rụng lông.

Ở nước ta, bệnh được ghi nhận lần đầu tiên trên đàn ngỗng thuộc huyện Gia Lâm và được gọi là bệnh dịch tả ngỗng (Nguyễn Văn Hanh, 1966-1967). Sau đó, bệnh có thể là nguyên nhân gây chết với tỷ lệ 90 – 100% ở ngan Pháp nhập nội tại Hà Nội, Quảng Ninh, Nam Định, Thái Bình... từ năm 1998 – 2001 (Tô Long Thành, 2005).

GPV gây bệnh Derzsy's ở cả ngan và ngỗng, trong khi đó MDPV chỉ gây bệnh ở ngan (Derzsy và cs., 1970; Chang và cs., 2000). Trình tự bộ gen của GPV và MDPV giống nhau từ 77 đến 85%.

Parvovirus còn là nguyên nhân của hội chứng ngắn mỏ và còi cọc - SBDS (short beak and dwarfism syndrome) ở vịt. Virus gây bệnh là một dòng mới của GPV- novel goose parvovirus (N-GPV), có tương đồng từ 92 đến 97 % về di truyền với GPV (Palya và cs., 2009; Wan và cs., 2019; Bian và cs., 2019). Hội chứng ngắn mỏ và còi cọc (SBDS) ở vịt do parvovirus được phát hiện đầu tiên ở đàn vịt lai ngan tại Pháp vào năm 1971, sau đó được ghi nhận tại Đài Loan năm 1990, Ba Lan năm 1995, Hungary năm 2009 (Lu và cs., 1993; Palya và cs., 2009, Wan và cs., 2019). Từ năm 2015, SBDS là bệnh mới nổi gây thiệt hại nghiêm trọng cho ngành chăn nuôi vịt tại Trung Quốc (Chen và cs., 2015; Wan và cs., 2019).

N-GPV có thể là một nhánh của GPV, có khả

năng gây bệnh ở hầu hết các loài thủy cầm nuôi, trong khi đó GPV cổ điển gây bệnh Derzsy's phổ biến ở ngan và ngỗng (Xiao và cs., 2017; Ning Xiao và cs., 2017; Li và cs., 2017).

Ở nước ta những năm gần đây, vịt có triệu chứng rụng mỏ xảy ra chủ yếu trên đàn vịt ở các tỉnh phía Nam (Lê Văn Năm, 2019). Từ năm 2019, bệnh này xuất hiện trên vịt tại một số tỉnh miền Bắc như Thái Nguyên, Hải Dương, Hưng Yên, Hà Nội gây thiệt hại lớn trên đàn vịt.

Để phục vụ cho công tác chẩn đoán và phòng chống bệnh, Trung tâm Chẩn đoán thú y Trung ương (Cục Thú y) đã tiến hành nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật PCR để khảo sát xác định nguyên nhân gây bệnh Derzsy's và hội chứng ngắn mỏ và còi cọc - SBDS ở thủy cầm tại một số tỉnh ở miền Bắc nước ta.

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

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Khảo sát đặc điểm về dịch tễ, triệu chứng lâm sàng, bệnh tích đại thể
- Phát hiện parvovirus gây bệnh Derzsy's và hội chứng SBDS bằng phương pháp PCR.

2.2. Nguyên liệu

- *Mẫu bệnh phẩm*

Mẫu bệnh phẩm là gan, lách, tim lấy từ những thủy cầm có triệu chứng điển hình, nghi mắc bệnh Derzsy's và hội chứng SBDS thu thập tại các tỉnh Hải Dương, Hưng Yên và Hà Nội.

- *Kit tách chiết DNA và kit nhân gen*

Sử dụng bộ kit tách chiết DNA: QIAamp DNA Mini Kit (Cat. No. 51306), kit nhân gen Dream Taq PCR Master Mix (2X) (Thermo Fisher Scientific, Cat. No. K1071).

- Địa điểm nghiên cứu: Trung tâm Chẩn đoán Thú y Trung ương – Cục Thú y.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Thu thập thông tin tình hình bệnh, triệu chứng lâm sàng từ thực địa và từ các cán bộ

quản lý chăn nuôi, thú y.

- Phương pháp mổ khám: theo Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 8402:2010, Bệnh động vật – Quy trình mổ khám

- Phương pháp PCR phát hiện DNA virus:

+ Xử lý mẫu bệnh phẩm và tách chiết DNA

Mẫu được nghiền nhuyễn bằng máy nghiền mẫu BeadBug™ 6 (Benchmark) trong dung dịch muối đệm PBS (Phosphate Buffered

Saline), tạo thành huyền dịch 10%.

Sử dụng bộ kit tách chiết DNA QIAamp DNA Mini Kit (Cat. No. 51306) và làm theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

+ Phản ứng PCR

Sử dụng phương pháp PCR thông thường với các cặp mồi khuếch đại đoạn gen đích thuộc gen VP1 và NS để phát hiện DNA của GPV và MDPV (bảng 1).

Bảng 1. Trình tự các cặp mồi dùng trong phản ứng PCR

Tên mồi	Trình tự nucleotide (5'-3')	Kích thước sản phẩm	Tài liệu tham khảo	Chu trình nhiệt
G5-P1	5'- GAGGTAGACAGCAACAGAAA-3'	343 bp	Lin và cs., 2019	95°C trong 2 phút; 35 chu kỳ của: 95°C trong 30 giây, 55°C trong 30 giây, 72°C trong 1 phút;
G5-P2	5'- GCTCGTCCGTGACCATA-3'			
M3-P1	5' TAATGGTGGCAGGAATGCACAGTTC-3'	331 bp	Wan và cs., 2018	72°C trong 10 phút
M3-P2	5'- TGTTACCATGATGTCTGAAAT-3'			
GPV-F1	5'- TTTGGCHGCCCTTTACCTGATCC-3'	549 bp	Wan và cs., 2018	72°C trong 10 phút
MDPV- F1	5'-GATGAATGCTGTAGTGCAGGAGGA-3'			
MGPV-R	5'- ATTTTCCCTCCTCCACCA-3'			

Phương pháp PCR của Lin và cs. (2019): Sử dụng cặp mồi đặc hiệu khuếch đại đoạn gen đích thuộc gen VP1 để phát hiện GPV là G5-P1 và G5-P2, phát hiện MDPV là M3-P1 và M3-P2.

Phương pháp PCR của Wan và cs. (2018): Sử dụng các cặp đặc hiệu mồi khuếch đại đoạn gen đích thuộc gen NS để phát hiện chủng GPV là GPV-F1 và MGPV-R, phát hiện MDPV là MDPV-F1 và MGPV-R.

- Phương pháp giải mã và phân tích trình tự gen: sản phẩm cùng các cặp mồi được gửi đến Phòng phân tích hệ gen, Viện nghiên cứu hệ gen (Viện Hàn lâm khoa học công nghệ Việt Nam). Trình tự gen được đọc, phân tích bằng phần mềm Bioedit... và tìm kiếm trình tự tương đồng từ GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phát hiện parvovirus ở vịt bằng phương pháp PCR

Từ cuối năm 2018, các ổ dịch với triệu chứng tương tự hội chứng SBDS đã rải rác xuất hiện trên vịt tại 2 tỉnh Hải Dương và Hưng Yên. Năm 2019, do tác động của bệnh dịch tả lợn châu Phi, người chăn nuôi trong tỉnh có xu hướng tăng đàn và bệnh xảy ra nhiều hơn ở cả vịt nuôi sản và vịt chạy đồng.

Bệnh thường xuất hiện ở vịt từ 1 tuần đến 1 tháng tuổi, tỷ lệ mắc từ 20 - 50%, tỷ lệ chết từ 15 - 30%. Vịt nuôi trên sản có mức độ lây lan và tỷ lệ mắc bệnh cao hơn vịt nuôi thả đồng. Tỷ lệ chết không cao nhưng vịt mắc bệnh còi cọc, giảm phát triển.

Triệu chứng đặc trưng: mỏ ngắn, lưỡi nhô ra khỏi mỏ, có thể vắt chéo sang một bên, đầu lưỡi có khi bị tổn thương thành sẹo (hình

l A và B); vịt còi cọc, lông xơ xác (hình 1 B, C, D); tiêu chảy, giảm ăn di chuyển khó khăn.

Bệnh tích: Một số con xuất huyết bao tim (hình 1F) và xuất huyết cơ đùi; ruột xung huyết (hình 1E).



Hình 1. Một số hình ảnh về triệu chứng và bệnh tích của vịt nghi mắc bệnh do parvovirus

Những đặc điểm dịch tễ và triệu chứng lâm sàng ở những đàn vịt tại 2 tỉnh Hải Dương và Hưng Yên tương tự như mô tả từ các ổ dịch SBDS trước đây của một số tác giả (Lu và cs., 1993; Palya và cs., 2009) và đặc biệt gần đây là những ổ dịch trên vịt anh đào và vịt Bắc Kinh tại một số tỉnh ở Trung Quốc (Chen và cs., 2015; Chen và cs., 2016; Li và cs., 2018).

Chúng tôi lấy mẫu bệnh phẩm của 5 vịt từ 2 đàn có triệu chứng nghi mắc SBDS tại Hải Dương và mẫu bệnh phẩm của 3 vịt từ 1 đàn nuôi thả đồng tại Hưng Yên, sử dụng phương pháp PCR với các cặp mồi đặc hiệu để phát hiện sự có mặt của parvovirus gây hội chứng SBDS trong các mẫu bệnh phẩm.

Kết quả nhân gen với cặp mồi đặc hiệu G5-P1 và G5-P2, M3-P1 và M3-P2 khuếch đại đoạn gen đích thuộc gen VP1 phát hiện GPV và MDPV theo Lin và cs. (2019) được mô tả ở hình 2, hình 3 và bảng 2.

Ở hình 2, tất cả các mẫu thu thập từ vịt ở Hải Dương có kết quả dương tính với GPV với kích thước sản phẩm khoảng 343 bp (hình 2A) và các mẫu này đều cho kết quả âm tính với MDPV (hình 2B).



Hình 2. Mẫu xét nghiệm vịt nghi mắc SBDS từ Hải Dương

A. Xét nghiệm mẫu sử dụng cặp mồi phát hiện GPV. Giếng 1 đến 5: mẫu bệnh phẩm, giếng 6: đối chứng âm, M: Thang chuẩn DNA 100bp.

B. Xét nghiệm mẫu sử dụng cặp mồi phát hiện MDPV.

Tương tự, các mẫu xét nghiệm thu thập

được từ vịt ở Hưng Yên cho kết quả PCR dương tính với GPV (hình 3A) và âm tính với MDPV (hình 3B).



Hình 3. Mẫu xét nghiệm vịt nghi mắc SBDS từ Hưng Yên

A. Xét nghiệm mẫu sử dụng cặp mồi phát hiện GPV. Giếng 1 đến 3: mẫu Hưng Yên, giếng 4: mẫu Hải Dương, giếng 5: đối chứng âm, M: Thang chuẩn DNA 100bp.

B. Xét nghiệm mẫu sử dụng cặp mồi phát hiện MDPV.

Các mẫu thu thập từ Hải Dương và Hưng Yên được tiếp tục tiến hành xét nghiệm phát hiện GPV và MDPV sử dụng cặp mồi đặc hiệu GPV-F1 và MGPV-R, MDPV-F1 và MGPV-R khuếch đại đoạn gen đích thuộc gen NS tham khảo theo Wan và cs. (2018). Tất cả các mẫu đều cho kết quả dương tính với GPV với kích thước sản phẩm khoảng 549 pb (hình 4A) và có kết quả âm tính với MDPV (hình 4B).



Hình 4. Mẫu xét nghiệm vịt nghi mắc SBDS sử dụng các cặp mồi theo Wan và cs. (2018)

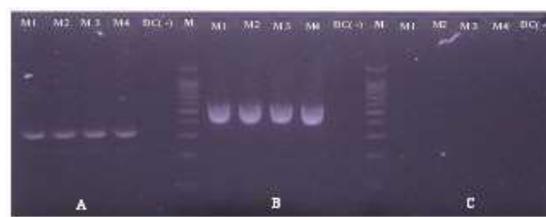
A. Xét nghiệm mẫu sử dụng cặp mồi phát hiện GPV. Giếng 1 đến 8: mẫu bệnh phẩm, giếng 9: đối chứng âm, M: Thang chuẩn DNA 100bp.

B. Xét nghiệm mẫu sử dụng cặp mồi phát hiện MDPV.

Phương pháp PCR sử dụng các cặp mồi đặc hiệu khuếch đại các đoạn gen đích khác nhau và đều cho kết quả dương tính với GPV, cho thấy rằng trong mẫu bệnh phẩm có chứa DNA của GPV.

3.2. Phát hiện parvovirus ở ngan bằng phương pháp PCR

Tháng 11/2019, đàn ngan Pháp 900 con ở 1 trại chăn nuôi tại Hoài Đức (Hà Nội) có các triệu chứng bỏ ăn, tiêu chảy phân xanh nhớt có nhiều nước, bại chân. Ngan có biểu hiện bị bệnh từ trước đó 1 tuần, tỷ lệ mắc khoảng 50% và tỷ lệ chết là 30%. Thời điểm gửi mẫu đến Trung tâm Chẩn đoán thú y Trung ương, ngan gần 4 tuần tuổi, đã được tiêm phòng vacxin phòng bệnh viêm gan và dịch tả vịt.



Hình 5. Mẫu xét nghiệm ngan nghi mắc Derzsy's từ Hà Nội

A. Mẫu xét nghiệm ngan nghi mắc bệnh Derzsy's. Giếng 1 đến 4: mẫu bệnh phẩm, giếng 5: đối chứng âm, M: Thang chuẩn DNA 100bp

B. Mẫu xét nghiệm MDPV sử dụng cặp mồi theo Wan và cs. (2018). Giếng 1 đến 4: mẫu bệnh phẩm, giếng 5: đối chứng âm, M: Thang chuẩn DNA 100bp

C. Mẫu xét nghiệm GPV sử dụng cặp mồi theo Lin và cs. (2019). Giếng 1 đến 4: mẫu bệnh phẩm, giếng 5: đối chứng âm, M: Thang chuẩn DNA 100bp.

Các mẫu xét nghiệm cho kết quả PCR dương tính với MDPV (hình 5B và bảng 2) và âm tính với GPV (hình 5C). Sản phẩm PCR khi sử dụng cặp mồi theo Lin và cs., (2019) khoảng hơn 300 bp (hình 5A) và sản phẩm PCR khi sử dụng cặp mồi theo Wan và cs. (2018) khoảng hơn 500bp (hình 5B). Các mẫu này có kết quả xét nghiệm âm tính với *E. coli* và *Riemerella anatipestifer*.

Bảng 2. Kết quả PCR phát hiện parvovirus ở thủy cầm

Địa phương	Số lượng mẫu	Loài	Ngày tuổi	Kết quả PCR			
				Theo Lin và cs. (2019)		Theo Wan và cs. (2018)	
				GPV	MDPV	GPV	MDPV
Hải Dương 1	2	Vịt	50	2/2 (+)	(-)	2/2 (+)	(-)
Hải Dương 2	3	Vịt	28	3/3 (+)	(-)	3/3 (+)	(-)
Hưng Yên	3	Vịt	30	3/3 (+)	(-)	3/3 (+)	(-)
Hoài Đức – Hà Nội	4	Ngan	28	(-)	4/4 (+)	(-)	4/4 (+)

3.3. Kết quả giải trình tự mã di truyền sản phẩm PCR

Để xác định chính xác mẫu bệnh phẩm nghi ngờ nhiễm GPV và MDPV, chúng tôi tiến hành kiểm tra trình tự các sản phẩm PCR.

3.3.1. Kết quả giải trình tự mã di truyền sản phẩm PCR dương tính với GPV

Sản phẩm PCR của 1 mẫu từ Hải Dương (SDBS/HD5/2019) và 1 mẫu từ Hưng Yên (SDBS/HY7/2019) được giải mã di truyền bằng phương pháp giải mã gen trực tiếp.

Bảng 3. Blast sequence sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi G5-P1 và G5-P2 với các chủng tham chiếu trên GenBank

Description	Max Score	Total Query	Per %	Accession
Genus Parvovirus strain 24/03 complete genome	545	545	100%	MG770950.1
Genus Parvovirus strain 24_011373 genome complete cds	529	529	100%	MG770950.1
Genus Parvovirus non-thrush-like serotype NS1 and associated outer VP1 genes partial cds	512	512	100%	U34705.1
Genus Parvovirus strain C25001 complete genome	507	507	100%	KJ644558.1
Genus Parvovirus strain G2 complete genome	507	507	100%	MG444518.1
Duck parvovirus strain 24/772921 VP1 serotype genome complete cds	507	507	100%	MG444518.1
Duck parvovirus strain 52 complete genome	507	507	100%	KX151122.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	507	507	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	507	507	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	507	507	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	507	507	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	507	507	100%	MG444518.1

3.3.2. Kết quả giải trình tự sản phẩm PCR dương tính với MDPV

Sản phẩm PCR của mẫu ngan dương tính với MDPV được giải mã di truyền bằng phương pháp giải mã gen trực tiếp.

Trình tự đoạn gen VP1 (302 bp) sử dụng cặp mồi M3-P1 và M3-P2 tương đồng 99% với gen

Trình tự đoạn gen VP1 (295 bp) sử dụng cặp mồi G5-P1 và G5-P2 của 2 mẫu tương đồng 99,8% và tương đồng với gen VP1 của GPV trên dữ liệu của GenBank là từ 97,6% đến 100%, bao gồm cả GPV cổ điển như U34761.1 và N-GPV như MK736656.1 (bảng 3).

Trình tự đoạn gen NS (510 bp) sử dụng cặp mồi GPV-F1 và MGPV-R của 2 mẫu tương đồng 100% và tương đồng với gen NS của GPV cổ điển và N-GPV trên dữ liệu của GenBank từ 99- 100% (bảng 4).

Bảng 4. Blast sequence sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi GPV-F1 và MGPV-R với các chủng tham chiếu trên GenBank

Description	Max Score	Total Query	Per %	Accession
Duck parvovirus strain G25045 complete genome	949	949	100%	MG777212.2
Genus Parvovirus strain C25001 complete genome	949	949	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain G2 complete genome	949	949	100%	MG444518.1
Duck parvovirus strain 52 complete genome	949	949	100%	KX151122.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	949	949	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	949	949	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	949	949	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	949	949	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	949	949	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	949	949	100%	MG444518.1
Genus Parvovirus strain 24/5521 Ser and VP1 genes complete cds	949	949	100%	MG444518.1

VP1 của MDPV trên dữ liệu của GenBank (bảng 5).

Trình tự đoạn gen NS (512 bp) sử dụng cặp mồi MDPV-F1 và MGPV-R tương đồng 99% với gen NS của MDPV trên dữ liệu của GenBank (bảng 6).

Với đặc điểm dịch tễ, triệu chứng lâm sàng, kết quả xét nghiệm PCR và giải trình tự gen, có thể kết luận GPV là nguyên nhân

gây Hội chứng ngắn mỏ và còi cọc (SBDS) tại các đàn vịt tại Hải Dương và Hưng Yên

Bảng 5. Blast sequence sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi M3-P1 và M3-P2 với các chủng tham chiếu trên GenBank

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	Per. Ident	Accession
Muscovy duck parvovirus strain TL03 complete genome	547	547	100%	99.47%	KG022365.1
Muscovy duck parvovirus strain F402 complete genome	547	547	100%	99.47%	K9202688.1
Muscovy duck parvovirus strain TL03_V21 complete genome	547	547	100%	99.47%	KG022365.1
Muscovy duck parvovirus strain F2103 complete genome	547	547	100%	99.47%	K1966606.1
Muscovy duck parvovirus strain LK04 complete genome	547	547	100%	99.47%	K1550003.1
Muscovy duck parvovirus strain F101 complete genome	542	542	100%	99.33%	K0226191.1
Muscovy duck parvovirus strain F1 complete genome	542	542	100%	99.33%	K0584231.1
Muscovy duck parvovirus strain F102 complete genome	542	542	100%	99.33%	K0582018.1
Muscovy duck parvovirus strain F103 complete genome	542	542	100%	99.33%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F104 complete genome	536	536	100%	99.00%	K0226191.1
Muscovy duck parvovirus strain F105 complete genome	536	536	100%	99.00%	K0584231.1
Muscovy duck parvovirus strain F106 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F107 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F108 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F109 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F110 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F111 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F112 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F113 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F114 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F115 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F116 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F117 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F118 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F119 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1
Muscovy duck parvovirus strain F120 complete genome	536	536	100%	99.00%	J232887.1

Ở nước ta, bệnh Derzsy's đã xuất hiện trên đàn thủy cầm từ những năm 1960 và gần đây là hội chứng ngắn mỏ và còi cọc - SBDS. Tuy nhiên, những ca bệnh đều được kết luận chủ yếu dựa trên các triệu chứng lâm sàng. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có thể là những số liệu đầu tiên xác nhận sự có mặt của parvovirus gây bệnh trên thủy cầm tại nước ta bằng phương pháp PCR.

Các cặp mồi đặc hiệu sử dụng trong phương pháp PCR của Lin và cs. (2019) và Wan và cs. (2018) được thiết kế trên cơ sở phân tích, lựa chọn các đoạn gen bền vững (conserved fragment) của gen VP1 và NS từ các chủng GPV và MDPV trên cơ sở dữ liệu của GenBank. Các phương pháp PCR này có độ nhạy và độ đặc hiệu cao để phát hiện parvovirus ở thủy cầm và đồng thời có thể phân biệt được GPV và MDPV từ các mẫu bệnh phẩm. Phương pháp PCR của Lin và cs. (2019) sử dụng với kit nhân gen có SYBR Green còn có thể phát hiện nhanh và định lượng được GPV và MDPV trong mẫu bệnh phẩm. Ứng dụng này cần được đánh giá trong những nghiên cứu tiếp theo để đưa vào sử dụng trong điều kiện thực tế ở Việt Nam.

IV. KẾT LUẬN

Phương pháp PCR của Lin và cs. (2019) và Wan và cs. (2018) có thể sử dụng để phát hiện parvovirus ở thủy cầm và đồng thời có thể

và MDPV là nguyên nhân gây bệnh Derzsy's ở ngan tại Hà Nội.

Bảng 6. Blast sequence sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi MDPV-F1 và MGPV-R với các chủng tham chiếu trên GenBank

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	Per. Ident	Accession
Duck parvovirus BM4 complete genome	972	972	100%	0.0	K5641551.1
Muscovy duck parvovirus strain J05 complete genome	972	972	100%	0.0	K0507072.1
Duck parvovirus strain J02_2015 complete genome	972	972	100%	0.0	K1208072.1
Muscovy duck parvovirus strain Z01 complete genome	972	972	100%	0.0	K0254052.1
Muscovy duck parvovirus strain Y1 complete genome	972	972	100%	0.0	K0200918.1
Muscovy duck parvovirus strain J10 complete genome	966	966	100%	0.0	K0507072.1
Muscovy duck parvovirus strain G0N3 complete genome	966	966	100%	0.0	K0204100.1
Duck parvovirus JS-CC-2013 complete genome	966	966	100%	0.0	K0507072.1
Duck parvovirus strain MG0110 complete genome	966	966	100%	0.0	K0507072.1
Muscovy duck parvovirus strain J6 complete genome	966	966	100%	0.0	K0507072.1
Duck parvovirus strain M5 complete genome	966	966	100%	0.0	K0507072.1
Duck parvovirus strain M3 complete genome	966	966	100%	0.0	K5641551.1

phân biệt được GPV và MDPV từ các mẫu bệnh phẩm thu thập tại Việt Nam.

Kết quả nghiên cứu khẳng định có sự hiện diện của GPV trong mẫu bệnh phẩm của vịt nghi mắc hội chứng ngắn mỏ và còi cọc - SBDS ở vịt tại Hải Dương, Hưng Yên và MDPV trong mẫu bệnh phẩm của ngan nghi mắc bệnh Derzsy's tại Hà Nội.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chunhe Wan, Shaohua Shi, Cuiteng Chen, Hongmei Chen, Longfei Cheng, Qiuling Fu, Guanghua Fu, Rongchang Liu and Yu Huang, 2018. Development of a PCR assay for detection and differentiation of Muscovy duck and goose parvoviruses based on NS gene characterization. *J. Vet. Med. Sci.* 2018; 80(12): 1861–1866.
2. Wan C, Liu R, Chen C, Cheng L, Shi S, Fu G, Chen H, Fu Q, Huang Y, 2019. Novel goose parvovirus in domestic Linwu sheldrakes with short beak and dwarfism syndrome, China. *Transbound Emerg. Dis.* 2019; 66(5):1834-1839.
3. Chen H, Dou Y, Tang Y, Zhang Z, Zheng X, Niu X, Yang J, Yu X, Diao Y, 2015. Isolation and genomic characterization of a duck-origin GPV-related parvovirus from cherry valley ducklings in China. *PLoS One.* 2015 ;10(10).
4. Lin S, Wang S, Cheng X, Xiao S, Chen X, Chen S, Chen S, Yu F, 2019. Development

- of a duplex SYBR Green I-based quantitative Realtime-PCR assay for the rapid differentiation of Goose and Muscovy duck parvoviruses. *Virology*. 2019; 16(1):6.
5. Chang PC, Shien JH, Wang MS, Shieh HK, 2000. Phylogenetic analysis of parvoviruses isolated in Taiwan from ducks and geese. *Avian Pathol.* 29(1):45-9.
 6. Palya, V., Zolnai, A., Benyeda, Z., Kovács., E., Kardi, V., & Mató, T, 2009. Short beak and dwarfism syndrome of mule duck is caused by a distinct lineage of goose parvovirus. *Avian Pathology*, 238, 175–180.
 7. Li P, Lin S, Zhang R, Chen J, Sun D, Lan J, Song S, Xie Z, Jiang S., 2018. Isolation and characterization of novel goose parvovirus-related virus reveal the evolution of waterfowl parvovirus. *Transbound Emerg. Dis.* 2018. 65(2):284-295.
 8. Chen, S., Wang, S., Cheng, X., Xiao, S., Zhu, X., Lin, F., Yu F., 2016. Isolation and characterization of a distinct duck-origin goose parvovirus causing an outbreak of duckling short beak and dwarfism syndrome in China. *Archives of Virology*, 161, 2407–2416.
 9. Bian, G., Ma, H., Luo, M., Gong, F., Li, B., Wang, G. Yuan, J., 2019. Identification and genomic analysis of two novel duck-origin GPV-related parvovirus in China. *BMC Veterinary Research*, 15, 88.
 10. Ning, K., Wang, M., Qu, S., Lv, J., Yang, L., and Zhang, D., 2017. Pathogenicity of Pekin duck and goose-origin parvoviruses in Pekin ducklings. *Veterinary Microbiology*, 210, 17–23.
 11. Fan W, Sun Z, Shen T, Xu D, Huang K, Zhou J, Song S, Yan L., 2017. Analysis of evolutionary processes of species jump in waterfowl parvovirus. *Front Microbiol.* 8:421.
 12. Takehara K, Hyakutake K, Imamura T, Mutoh K, Yoshimura M., 1994. Isolation, identification, and plaque titration of parvovirus from Muscovy ducks in Japan. *Avian diseases.* 1994; 38(4):810–5.
 13. Zádori Z, Stefanicsik R, Rauch T, Kisary J., 1995. Analysis of the complete nucleotide sequences of goose and muscovy duck parvoviruses indicates common ancestral origin with adeno-associated virus 2. *Virology.* 212(2):562–73.
 14. Glávits R, Zolnai A, Szabó E, Ivanics E, Zarka P, Mató T, Palya V., 2005. Comparative pathological studies on domestic geese (*Anser anser domestica*) and muscovy ducks (*Cairina moschata*) experimentally infected with parvovirus strains of goose and muscovy duck origin. *Acta Vet Hung;* 53:73–89.
 15. Grzegorz Woźniakowski, Wojciech Kozdruń, Elżbieta Samorek-Salamonowicz, 2009. Genetic variance of Derzsy's disease strains isolated in Poland. *J Mol Genet Med.* 3(2): 210–216. 3(2): 210-216.
 16. Lu, Y. S., Lin, D. F., Lee, Y. L., Liao, Y. K., Tsai, H. J., 1993. Infectious bill atrophy syndrome caused by parvovirus in a co-outbreak with duck viral hepatitis in ducklings in Taiwan. *Avian Diseases*, 37, 591-596.
 17. <https://nongnghiep.vn/cach-phong-va-tri-benh-rut-mo-o-vit-con-d11183.html> - Cách phòng và trị bệnh rụt mỏ ở vịt con
 18. <http://nhanongxanh.vn/tin-truyen-thong/benh-mo-ngan-tren-vit-derzsy-120820>. Bệnh mỏ ngắn trên vịt – Derzsy
 19. <https://www.youtube.com/watch?v=LQr40gxZNfI> - Mẹo chữa bệnh rụt mỏ vịt hiệu quả nhất | VTC16
- Ngày nhận 13-5-2020
 Ngày phản biện 2-6-2020
 Ngày đăng 1-7-2020