

Nghiên cứu khoa học

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH MỘT SỐ ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA DUCK TEMBUSU VIRUS TẠI MỘT SỐ TỈNH PHÍA BẮC

*Nguyễn Thanh Ba, Nguyễn Thị Bích, Quách Thị Minh Hiền,
Nguyễn Thu Trang, Nguyễn Thùy Ninh, Trần Văn Khánh
Công ty Cổ phần Dược và Vật tư thú y (HANVET)*

TÓM TẮT

Bệnh Tembusu đã được ghi nhận tại Việt Nam từ năm 2019 (Đặng Hữu Anh và cs., 2020). Trong nghiên cứu này, virus gây bệnh Tembusu trên vịt đã được phân lập và xác định một số đặc tính sinh học. Virus nhân lên trên phôi vịt 10 ngày tuổi, gây xuất huyết và chết phôi. Kết quả gây bệnh thực nghiệm trên vịt 42 ngày tuổi cho thấy vịt có các triệu chứng như: giảm ăn, bỏ ăn, ủ rũ, đa số vịt gây nhiễm có thân nhiệt cao hơn mức bình thường, tiêu chảy phân trắng loãng, xuất hiện các triệu chứng thần kinh như đi lại chậm chạp, loạng choạng. Các triệu chứng khác xuất hiện trầm trọng hơn ở những ngày tiếp theo như: vịt nằm lật ngửa, chân tê liệt, không đi lại được, một số vịt bị chết. Giải trình tự đoạn gen *NS5B* cho thấy các chủng virus TMUV 01 và TMUV 08 đều thuộc genotype của virus phân lập được ở Thái Lan.

Từ khóa: Bệnh Tembusu, đặc tính sinh học, gây bệnh thực nghiệm.

Isolation and determination of some biological characteristics of duck Tembusu virus in some northern provinces, Viet Nam

*Nguyen Thanh Ba, Nguyen Thi Bich, Quach Thi Minh Hien,
Nguyen Thu Trang, Nguyen Thuy Ninh, Tran Van Khanh*

SUMMARY

Tembusu disease has been reported in Viet Nam since 2019 (Dang Huu Anh *et al.*, 2020). In this study, the virus causing tembusu disease in ducks was isolated and identified for some biological properties. The virus multiplied on 10-day old duck embryos causing hemorrhage and embryo death. 42-day old ducks was infected experimentally with tembusu virus. As a result, the infected ducks were suffered with several typical symptoms, such as: anorexia, stop eating, body temperature in most of the infected ducks was higher than in the healthy ducks, diarrhea with wet and white feces, slow walking, nerval symptom appeared, such as: slow and unsteady walking, lying on their backs, paralyzed legs, some ducks died. The result of sequencing the *NS5B* gene fragment showed that virus strains TMUV 01 and TMUV 08 belonged to genotype of virus isolated in Thailand.

Keywords: Tembusu disease, biological characteristics, experimental infection.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Năm 2019, chăn nuôi thủy cầm có bước tăng trưởng đột biến đến 100%. Theo số liệu từ Tập

chí thế giới gia cầm, trong 7 tháng đầu năm 2019, sản lượng giống vịt bố mẹ của các đơn vị cung cấp giống như Trung tâm giống gia cầm Thủy Phương, Trung tâm nghiên cứu vịt Đại

Xuyên đã tăng gấp đôi so với số lượng trung bình của những năm trước. Tại miền Nam, sản lượng vịt giống của Trung tâm nghiên cứu và phát triển chăn nuôi gia cầm Vigova 6 tháng đầu năm đã tăng trưởng 50% so với cùng kỳ năm trước (Tạp chí gia cầm.vn). Cùng với sự phát triển nóng của chăn nuôi thủy cầm và việc thiếu các quy trình phòng bệnh nghiêm ngặt trên đàn thủy cầm, các dịch bệnh mới đã nổ ra, gây thiệt hại cho người chăn nuôi.

Virus Tembusu được ghi nhận lần đầu tiên vào năm 1955 tại Malaysia (Sanisuriwong *et al.*, 2020) và bệnh do virus Tembusu gây ra trên vịt được báo cáo lần đầu tiên vào năm 2010 tại Trung Quốc (Cao *et al.*, 2011; P. P. Liu *et al.*, 2013; Su *et al.*, 2011). Tại Việt Nam, trước năm 2019, bệnh do virus Tembusu gây ra trên vịt chưa từng được ghi nhận. Tuy nhiên, bắt đầu từ khoảng tháng 3 năm 2019 các ca bệnh trên vịt liên quan đến virus Tembusu đã được ghi nhận. Các triệu chứng, bệnh tích chủ yếu của bệnh gồm mất điều hòa vận động, bại liệt, giảm đẻ mạnh đột ngột, buồng trứng xuất huyết, lách sưng, gan sưng (Đặng Hữu Anh và cs., 2020). Trong quá trình chẩn đoán hỗ trợ trang trại, chúng tôi đã thu thập được nhiều mẫu bệnh phẩm từ vịt nghi ngờ nhiễm virus Tembusu từ một số tỉnh thành phía Bắc như Hà Nội, Hưng Yên, Hải Dương, Bắc Ninh, Bắc Giang và được chẩn đoán dương tính với virus Tembusu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân lập và xác định một số đặc tính sinh học của virus Tembusu phân lập được từ vịt bệnh.

II. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh phẩm từ vịt nghi nhiễm virus Tembusu gồm não, tim, gan, lách, thận, buồng trứng và ống dẫn trứng (nếu có).

2.2. Vật liệu dùng trong nghiên cứu

Trứng vịt Super Meat được cung cấp bởi Trạm nghiên cứu chăn nuôi thủy cầm Cẩm Bình trực thuộc Viện Chăn nuôi

Vịt Super Meat 42 ngày tuổi được ấp nở từ trứng vịt Super Meat của Trạm nghiên cứu chăn nuôi Cẩm Bình

Các hóa chất, sinh phẩm dùng trong tách chiết vật liệu di truyền, thực hiện phản ứng PCR và giải trình tự gen được cung cấp bởi hãng Wizbiosolutions (Hàn Quốc) và Promega (Mỹ)

Các môi trường nuôi cấy vi sinh vật và các dụng cụ, thiết bị thường quy trong phòng thí nghiệm khác.

2.3. Nội dung nghiên cứu

Chẩn đoán xác định nguyên nhân gây bệnh bằng sinh học phân tử

Phân lập virus gây bệnh trên phôi vịt

Xác định một số đặc tính gây bệnh của virus trên động vật thí nghiệm

Giải trình tự đoạn gen *NS5B* để xác định phân nhóm và các biến đổi di truyền của virus.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Theo dõi triệu chứng lâm sàng và mổ khám kiểm tra bệnh tích đại thể

Theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 8420:2010. Mẫu được thu theo Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia QCVN 01-83:2011.

2.4.2. Kỹ thuật RT-PCR được sử dụng để phát hiện sự lưu hành và bài thải virus Tembusu

RNA tổng số của virus được tách chiết bằng cách sử dụng bộ kit WizPrep Viral DNA/RNA Mini Kit (V2) của hãng Wizbiosolutions (Hàn Quốc).

cDNA của virus được tổng hợp bằng phản ứng Reverse transcriptase - Polymerase Chain Reaction sử dụng các hóa chất sinh phẩm cung cấp bởi hãng Promega (Mỹ), theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Phản ứng PCR được thực hiện với cặp mồi NS5f/NS5r theo phương pháp của Liu *et al.* (2012) với các sinh phẩm được cung cấp bởi hãng Promega.

2.4.3. Giải trình tự gen, phân tích đặc tính di truyền

Sản phẩm PCR được nhân lên bởi cặp mồi NS5f/NS5r theo quy trình của Liu *et al.* (2012), được tinh sạch và giải trình tự bằng phương pháp Sanger's. Trình tự một phần gen NS5 thu được dùng để xác định mối liên hệ di truyền với các chủng trên thế giới công bố ở GenBank. Các trình tự tham chiếu được chọn theo nghiên cứu trước đây (Yu *et al.*, 2018). Trình tự nucleotide được căn chỉnh (alignment) bằng phần mềm BioEdit. Cây phát sinh chủng loại (phylogenetic tree) được xây dựng bằng thuật toán Neighbor-joining, tích hợp trong chương trình MEGA phiên bản 11.0.11 mức tin cậy của các nhánh phân chia ở mỗi nút (node) được biểu thị bằng giá trị bootstrap. Biểu diễn và hiệu đính cây phát sinh chủng loại bằng phần mềm FigTree phiên bản 1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>)

2.4.4. Phân lập virus trên phôi trứng vịt theo hướng dẫn của Su *et al.* (2011)

Bệnh phẩm được nghiền trong PBS (pH=7,2) tạo huyền dịch 20%, đông tan 3 lần để phá vỡ

tế bào rồi ly tâm 3.000xg trong 20 phút. Dịch nổi được lọc qua màng lọc 0,22 μ m rồi tiêm cho phôi vịt 9- 10 ngày tuổi vào xoang niệu với thể tích 0,3ml/phôi. Sau gây nhiễm, phôi được quan sát hàng ngày để thu những phôi chết, bảo quản trong điều kiện 2-8°C. Dịch xoang niệu được thu hoạch để kiểm tra sự có mặt của virus cũng như để cấy chuyển cho các lần sau.

2.4.5. Xác định hàm lượng virus

Hàm lượng virus được xác định thông qua chỉ số ELD₅₀ (Embryo Lethal Dose 50%) trên phôi vịt 10 ngày tuổi bằng cách gây nhiễm virus vào xoang niệu phôi vịt ở các độ pha loãng khác nhau. Loại bỏ những phôi chết trong vòng 24 giờ sau gây nhiễm. Các phôi còn lại được theo dõi đến 120 giờ và tính chỉ số ELD₅₀ theo công thức Reech-Muench.

2.4.6. Gây bệnh thực nghiệm trên động vật

Thí nghiệm gây bệnh thực nghiệm được tiến hành trên đối tượng vịt Super Meat 42 ngày tuổi, khỏe mạnh, chưa tiêm phòng vaccin liên quan đến bệnh Tembusu và được bố trí như sau:

Chủng virus gây nhiễm	Liều nhiễm/ Đường nhiễm	Số lượng vịt thí nghiệm	Chỉ tiêu theo dõi
TMUV01	10 ⁵ ELD ₅₀ /con Tiêm bắp	15 con	Biểu hiện lâm sàng của vịt sau khi gây nhiễm Theo dõi virus huyết và virus thải trừ qua hậu môn của 5 vịt/nhóm tại các thời điểm 1, 3, 5, 7, 10 và 14 ngày sau khi gây nhiễm.
TMUV08		15 con	7 ngày sau khi gây nhiễm, tiến hành mổ khám tổng số 10 vịt/nhóm gây bệnh và 5 vịt đối chứng để đánh giá các bệnh tích đại thể của bệnh. Các mô não, tim, gan, lách, thận của 5 vịt/nhóm gây bệnh được lấy mẫu để kiểm tra sự phân bố virus trong các mô bằng RT-PCR.
Đối chứng	Không tiêm	10 con	

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thu thập mẫu và chẩn đoán xác định mầm bệnh

Từ tháng 7 năm 2019 đến tháng 3 năm 2020, 38 mẫu bệnh phẩm trên vịt thịt và vịt đẻ được thu thập từ các trang trại nuôi vịt thuộc 6 tỉnh,

thành phố (gồm Hải Dương, Hưng Yên, Hà Nội, Bắc Ninh, Bắc Giang và Vĩnh Phúc) có triệu chứng và bệnh tích nghi ngờ bệnh Tembusu. Các mẫu bệnh phẩm này được xét nghiệm bằng kỹ thuật RT-PCR để phát hiện sự có mặt của virus Tembusu. Kết quả chi tiết thể hiện qua bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phân lập TMUV từ các mẫu bệnh phẩm vịt thu thập được

STT	Nơi lấy mẫu	Đối tượng lấy mẫu	Số lượng mẫu	Số dương tính RT-PCR	Tỷ lệ dương tính (%)
1	Hải Dương	Vịt đẻ	5	3	60,00
2	Hải Dương	Vịt thịt	5	3	60,00
3	Hưng Yên	Vịt thịt	6	3	50,00
4	Bắc Giang	Vịt đẻ	4	4	100,00
5	Bắc Giang	Vịt thịt	4	0	0,00
6	Bắc Ninh	Vịt thịt	1	0	0,00
7	Hà Nội	Vịt thịt	11	6	54,55
8	Vĩnh Phúc	Vịt thịt	2	0	0,00
Tổng cộng			38	19	50,00

**Hình 1. Một số hình ảnh bệnh tích của vịt ghi nhận được từ các ổ dịch thực địa**

Trong 38 mẫu bệnh phẩm thu nhận được, tất cả đều đảm bảo yêu cầu xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm cho thấy có 19 mẫu dương tính với TMUV phân bố ở 4 tỉnh, thành phía Bắc gồm Hải Dương, Hưng Yên, Bắc Giang và Hà Nội. Trong đó có 7/19 (36,84%) mẫu thu từ vịt đẻ và 12/19 (63,16%) mẫu thu từ vịt thịt dương tính virus Tembusu.

Kết quả hồi cứu các mẫu dương tính cho thấy các biểu hiện lâm sàng chủ yếu của vịt nhiễm virus Tembusu đều tương tự như mô tả của Đặng Hữu Anh và cs. (2020).

3.2. Phân lập virus

19 mẫu bệnh phẩm dương tính với virus Tembusu đã được tiến hành phân lập virus bằng cách gây nhiễm vào xoang niệu của phôi trứng vịt Super 10 ngày và cấy chuyển liên tục 3 lần. Ở lần cấy chuyển thứ 3, tiến hành

thu dịch xoang niệu và phôi để xác định sự có mặt của TMUV bằng phản ứng RT-PCR. Kết quả phân lập cho thấy có 3/19 mẫu phân lập virus (15,78%) có hiện tượng chết phôi từ 48 đến 120 giờ sau gây nhiễm, tỷ lệ chết phôi lên đến 100% với biểu hiện bệnh tích phôi là xuất huyết toàn thân, tim, gan xuất huyết. Kết quả giám định virus bằng RT-PCR cũng cho thấy cả 3 mẫu phân lập có hiện tượng chết phôi đều dương tính với TMUV và âm tính với các virus cúm, viêm gan vịt và dịch tả vịt trong khi các mẫu còn lại đều âm tính.

Kết quả nghiên cứu này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Su *et al.* (2011), Wang *et al.* (2014), Homonnay *et al.* (2014) khi phân lập virus Tembusu chủng BYD, LH gây bệnh tại Trung Quốc và Malaysia trên phôi vịt.

Chuẩn độ hiệu giá virus thu hoạch được

trên phôi trứng vịt, kết quả cho thấy hiệu giá virus của các mẫu TMUV01 đạt $10^{5.4}$ ELD₅₀/ml; mẫu TMUV08 và TMUV09 đạt hiệu giá $10^{5.8}$

ELD₅₀/ml. Hàm lượng virus thu được trong thí nghiệm này tương tự với nghiên cứu của Su *et al.* (2011), Wang *et al.* (2014).



Hình 2. Bệnh tích trên phôi vịt khi phân lập virus Tembusu

Như vậy, sau quá trình phân lập virus trên phôi vịt, 3 mẫu TMUV phân lập được có hiệu giá gây nhiễm trên phôi đạt tương đương nhau ($10^{5.4-5.8}$ ELD₅₀/ml) với bệnh tích: phôi xuất huyết toàn thân; tim, gan xuất huyết.

3.3. Đặc tính gây bệnh của virus TMUV trên động vật thí nghiệm

Sau quá trình phân lập virus, chúng tôi đã phân lập được 3 chủng virus Tembusu từ các mẫu thực địa. Tuy nhiên chủng TMUV08 và TMUV09 có nguồn gốc từ cùng một ổ dịch, vì vậy để xác định độc lực của virus, chúng tôi lựa chọn 2 chủng phân lập để đánh giá là TMUV01 và TMUV08 theo bố trí thí nghiệm trong mục 2.4.6.

3.3.1. Biểu hiện lâm sàng của vịt sau gây nhiễm

Sau 24 giờ gây nhiễm, vịt chưa xuất hiện các biểu hiện bệnh lý đáng kể. Đến 48 giờ sau gây nhiễm, các biểu hiện lâm sàng trở nên rõ nét hơn. Vịt giảm ăn, bỏ ăn, ủ rũ, đa số vịt gây nhiễm có thân nhiệt cao hơn bình thường (cảm nhận khi bắt vịt để lấy mẫu sau khi công cường độc). Sau gây nhiễm 3 ngày, vịt yếu và gầy đi dần, lông xơ xác, rụng lông (đặc biệt là lông cánh và đuôi). Vịt tiêu chảy phân trắng loãng, đi lại chậm chạp. Có 5/15 (33,33%) vịt gây nhiễm bằng TMUV01 và 9/15 (60%) vịt gây nhiễm bằng TMUV08 xuất hiện các triệu chứng thần kinh, đi lại loạn xạ. Các triệu chứng trở

nên trầm trọng hơn ở các ngày tiếp theo, vịt nằm liệt ngửa, chân tê liệt, không đi lại được. Bệnh lý lâm sàng của nhóm vịt gây nhiễm bằng chủng TMUV08 trầm trọng hơn nhóm gây bệnh bằng chủng TMUV01. Đến thời điểm 5 và 6 ngày sau gây nhiễm có 3 vịt nhóm TMUV01 và 5 vịt nhóm TMUV08 chết sau khi bị liệt. Từ ngày thứ 8 sau gây nhiễm, vịt thí nghiệm không xuất hiện thêm bất kỳ dấu hiệu lâm sàng nào và dần hồi phục. Trong khi đó, vịt đối chứng vẫn khỏe mạnh và vận động như bình thường.

Các triệu chứng lâm sàng của vịt trong thí nghiệm này tương tự như mô tả của các tác giả N. Li *et al.* (2015), Liang *et al.* (2019), Xu *et al.* (2018) khi gây bệnh thực nghiệm trên vịt. Mặc dù độ tuổi của vịt trong các thí nghiệm này có khác nhau nhưng các triệu chứng lâm sàng đều tương đối thống nhất, chỉ khác nhau ở mức độ trầm trọng của bệnh khi thử nghiệm trên vịt khác lứa tuổi.

3.3.2. Bệnh tích đại thể của vịt

Đến thời điểm 7 ngày sau gây nhiễm, ngoài số vịt chết sau khi gây nhiễm virus đã được mổ khám, chúng tôi tiếp tục mổ khám vịt ở 2 nhóm gây nhiễm virus để đủ số lượng 10 con/nhóm và 5 vịt ở nhóm đối chứng cũng được mổ khám để đánh giá. Kết quả kiểm tra bệnh tích của vịt được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Biểu hiện bệnh tích tại các cơ quan của vịt sau khi gây nhiễm virus Tembusu

Chỉ tiêu đánh giá	Số biểu hiện bệnh tích/tổng số vịt mổ khám		
	TMUV01	TMUV08	Đối chứng
Xuất huyết, phù não	6/10	9/10	0/5
Xuất huyết tim	7/10	10/10	0/5
Gan sưng, xuất huyết	3/10	4/10	0/5
Lách sưng, xuất huyết	10/10	10/10	0/5
Thận sưng, xuất huyết	4/10	4/10	0/5

Bệnh tích ghi nhận được trên vịt gây bệnh thực nghiệm chỉ biểu hiện ở các cơ quan gồm não, tim, gan, lách và thận. Trong đó xuất huyết tim; lách sưng, bề mặt lốm đốm như vân đá; xuất huyết não

là các bệnh tích phổ biến quan sát được; sau đó đến hiện tượng xuất huyết ở gan và thận ít thấy hơn. Ngoài các cơ quan bộ phận này, không quan sát được bất kỳ biến đổi bệnh lý đại thể nào khác.



Hình 3. Một số triệu chứng, bệnh tích trên vịt gây bệnh thực nghiệm

Tuy nhiên, các triệu chứng, bệnh tích trên đây mới chỉ ghi nhận trên đối tượng vịt nuôi hướng thịt giai đoạn 42 ngày tuổi. Các triệu chứng và bệnh tích khi gây bệnh trên vịt con và vịt đẻ chưa được xác định cụ thể, do đó cần các nghiên cứu tiếp theo để làm rõ vấn đề này.

3.3.3. Sự lưu hành và thải trừ virus

Cùng với các đánh giá về mặt lâm sàng, sự phân bố, lưu hành và thải trừ virus cũng được kiểm tra qua mẫu phủ tạng, mẫu máu và mẫu swab hậu môn của vịt. Kết quả sự có mặt của virus trong mẫu máu và mẫu swab hậu môn bằng RT-PCR thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả kiểm tra virus huyết và virus thải trừ qua hậu môn của vịt gây bệnh thực nghiệm

Thời điểm kiểm tra	Nhóm TMUV01		Nhóm TMUV08	
	Máu	Swab	Máu	Swab
D1	5/5	5/5	5/5	5/5
D3	5/5	5/5	5/5	5/5
D5	5/5	5/5	5/5	5/5
D7	5/5	5/5	5/5	5/5
D10	3/5	2/5	3/5	3/5
D14	0/5	0/5	0/5	0/5

Bảng 3 cho thấy sau khi gây nhiễm trên vịt, virus Tembusu lưu hành trong máu liên tục trong 7 ngày đầu tiên, sau đó hiện tượng virus huyết giảm dần trong các cá thể vịt và đến 14 ngày sau gây nhiễm không còn phát hiện được virus trong máu của tất cả vịt theo dõi. Tương tự như sự lưu hành virus trong máu, virus Tembusu được bài thải liên tục qua hậu

môn trong 7 ngày đầu sau nhiễm và đến ngày thứ 14 virus cũng không còn được phát hiện trong dịch swab hậu môn.

Sự phân bố virus trong các cơ quan nội tạng được đánh giá qua việc kiểm tra sự có mặt của virus trong các mô não, tim, gan, lách, thận tại thời điểm 7 ngày sau gây nhiễm. Kết quả thể hiện trong bảng 4.

Bảng 4. Sự phân bố virus ở các cơ quan tại thời điểm 7 ngày sau gây nhiễm

Nhóm thí nghiệm	Số mẫu dương tính/số mẫu kiểm tra				
	Não	Tim	Gan	Lách	Thận
TMUV01	5/5	5/5	2/5	4/5	3/5
TMUV08	5/5	5/5	3/5	5/5	3/5

Bảng 4 cho thấy virus phân bố ở hầu hết các nội quan của vịt, tuy nhiên tần suất phát hiện có chút khác biệt giữa các cơ quan. Virus được phát hiện nhiều nhất trong các mô não và tim (100% số mẫu kiểm tra) sau đó đến lách và cuối cùng là gan và thận (tần suất phát hiện chỉ từ 40 – 60%).

Các kết quả về sự phân bố, lưu hành và bài thải virus này có thể gợi ý cho việc lấy mẫu xét nghiệm để chẩn đoán khẳng định bệnh trong các ổ dịch bùng phát tại thực địa cũng như các nghiên cứu dịch tễ để kiểm soát dịch bệnh tại các cơ sở chăn nuôi.

3.4. Kết quả phân tích trình tự gen *NS5B* của virus Tembusu

Trình tự gen *NS5B* thu được của TMUV01 và TMUV08 lần lượt là 276 và 309 nucleotide. Từ 2

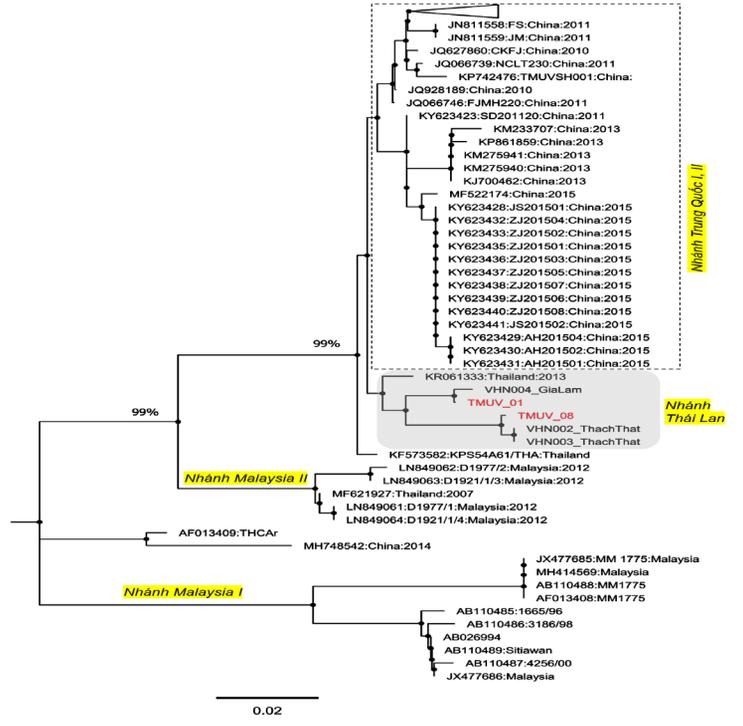
trình tự nucleotide này và 46 trình tự tham chiếu trên GenBank, cây phát sinh chủng loại virus Tembusu đã được xây dựng. Tương tự như nghiên cứu của Yu *et al.* (2018), cây phát sinh chủng loại virus Tembusu được chia thành 5 nhóm gồm nhóm Trung Quốc I, II, nhóm Thái Lan, nhóm Malaysia I và Malaysia II. Theo kết quả phân tích nhận được, 2 chủng virus phân lập được trong nghiên cứu này có quan hệ gần gũi với 3 chủng DTMUV đã thấy ở Hà Nội theo công bố của Đặng Hữu Anh và cs. (2020) và đều thuộc nhánh Thái Lan.

Theo kết quả phân tích di truyền dựa vào đoạn gen *NS5B*, chủng TMUV01 trong nghiên cứu này có cùng nhánh phát sinh với chủng VHN004-Gialam và chủng TMUV08 có cùng nhánh phát sinh với chủng VHN002_ThachThat

và VHN003_ThachThat trong nghiên cứu của Đặng Hữu Anh và cs. (2020).

Như vậy, đến thời điểm hiện tại, các chủng

virus Tembusu lưu hành tại phía Bắc Việt Nam đã được phát hiện đều nằm ở cùng một phân nhóm di truyền.



Hình 4. Cây phát sinh chủng loại virus Tembusu dựa vào gen NS5B

Ghi chú: một phần trình tự NS5 được dùng để xây dựng cây, giá trị bootstrap được trình bày cho các nhánh chính. Thước đo dưới cây phả hệ biểu thị số thay đổi nucleotide/vị trí.

IV. KẾT LUẬN

Virus Tembusu đã được phát hiện và phân lập thành công trên phôi trứng vịt từ bệnh phẩm thu được trong các ổ dịch ở các tỉnh phía bắc.

Virus gây nhiễm tốt trên phôi vịt 10 ngày tuổi và gây chết 100% phôi, bệnh tích chủ yếu là xuất huyết dưới da, xuất huyết tim và gan phôi.

Gây bệnh thực nghiệm cho vịt 42 ngày tuổi cho thấy: Các triệu chứng lâm sàng của vịt nhiễm bệnh gồm: ủ rũ, giảm ăn, bỏ ăn, thân nhiệt tăng, tiêu chảy phân trắng loãng như nước, rụng lông nhiều ở cánh và đuôi, vịt mất điều hòa vận động, đi lại không vững, ngã ngửa không dậy được và liệt.

Các bệnh tích chủ yếu gồm: xuất huyết màng não, xuất huyết nội và ngoại tâm mạc, lách sưng, xuất huyết dạng vân đá hoa. Ngoài ra có thể quan sát thấy gan xuất huyết và thận sưng, xuất huyết.

Virus lưu hành trong máu và bài thải qua hậu môn trong 10 ngày sau khi nhiễm, đến ngày thứ 14 sau gây nhiễm không phát hiện được virus trong máu và hậu môn.

Tại các nội quan, virus phân bố nhiều nhất ở tim và não, sau đó đến lách và sau cùng là gan và thận.

Phân tích di truyền đoạn gen NS5B của 2 chủng virus Tembusu phân lập được cho thấy

cả hai chủng virus TMUV01 và TMUV08 đều thuộc genotype Thái Lan.

Cần tiếp tục nghiên cứu về dịch tễ học, dịch tễ học phân tử của bệnh cũng như triển khai các nghiên cứu về miễn dịch học để nhanh chóng có vaccin phòng bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cao, Z., Zhang, C., Liu, Y., Ye, W., Han, J., Ma, G., Zhang, D., Xu, F., Gao, X., Tang, Y., Shi, S., Wan, C., Zhang, C., He, B., Yang, M., Lu, X., Huang, Y., Diao, Y., Ma, X., & Zhang, D., 2011. Tembusu virus in ducks, China. *Emerging Infectious Diseases*, 17(10), 1873–1875. <https://doi.org/10.3201/eid1710.101890>
2. Đặng Hữu Anh, Nguyễn Văn Giáp, H. T. M. L., 2020. Một số kết quả nghiên cứu bước đầu về Tembusu virus trên địa bàn Hà Nội. *Khoa học kỹ thuật Thú y*, XXVII(1). <https://vjol.info.vn/index.php/kk-ty/article/view/57510/47998>
3. Homonnay, Z. G., Kovács, E. W., Bányai, K., Albert, M., Fehér, E., Mató, T., Tatár-Kis, T., & Palya, V., 2014. Tembusu-like flavivirus (Perak virus) as the cause of neurological disease outbreaks in young Pekin ducks. *Avian Pathology*, 43(6), 552–560. <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.973832>
4. Li, N., Lv, C., Yue, R., Shi, Y., Wei, L., Chai, T., & Liu, S., 2015. Effect of age on the pathogenesis of duck tembusu virus in Cherry Valley ducks. *Frontiers in Microbiology*, 6(JUN), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00581>
5. Liang, T., Liu, X., Qu, S., Lv, J., Yang, L., & Zhang, D., 2019. Pathogenicity of egg-type duck-origin isolate of Tembusu virus in Pekin ducklings. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2136-x>
6. Liu, M., Chen, S., Chen, Y., Liu, C., Chen, S., Yin, X., Li, G., & Zhang, Y., 2012. Adapted Tembusu-like virus in chickens and geese in China. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 50, 2807–09. <https://doi.org/10.1128/JCM.00655-12>
7. Liu, P. P., Lu, H., Li, S., Wu, Y., Gao, G. F., & Su, J. L., 2013. Duck egg drop syndrome virus: An emerging Tembusu-related flavivirus in China. *Science China Life Sciences*, 56(8), 701–710. <https://doi.org/10.1007/s11427-013-4515-z>
8. Sanisuriwong, J., Yurayart, N., Thontiravong, A., & Tiawsirisup, S., 2020. Duck Tembusu virus detection and characterization from mosquitoes in duck farms, Thailand. *Transboundary and Emerging Diseases*, 67(3), 1082–1088. <https://doi.org/10.1111/tbed.13474>
9. Su, J., Li, S., Hu, X., Yu, X., Wang, Y., Liu, P., Lu, X., Zhang, G., Hu, X., Liu, D., Li, X., Su, W., Lu, H., Mok, N. S., Wang, P., Wang, M., Tian, K., & Gao, G. F., 2011. Duck egg-drop syndrome caused by BYD virus, a new Tembusu-related flavivirus. *PLoS ONE*, 6(3), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018106>
10. Wang, Q., Wen, Y., Huang, Y., Wu, Y., Cai, Y., Xu, L., Wang, C., Li, A., Wu, B., & Chen, J., 2014. Isolation and identification of duck tembusu virus strain LH and development of latex-agglutination diagnostic method for rapid detection of antibodies. *Avian Diseases*, 58(4), 616–622. <https://doi.org/10.1637/10795-021114-Reg>
11. Xu, T., Liu, X., Liu, Q., Han, K., Liu, Y., Yang, J., Huang, X., Zhao, D., Bi, K., Sun, W., & Li, Y., 2018. Effect of experimental infections of various Tembusu virus strains isolated from geese, ducks and chickens on ducklings. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 21(2), 389–396. <https://doi.org/10.24425/122613>
12. Yu, G., Lin, Y., Tang, Y., & Diao, Y., 2018. Evolution of tembusu virus in ducks, chickens, geese, sparrows, and mosquitoes in Northern China. *Viruses*, 10(9), 1–9. <https://doi.org/10.3390/v10090485>

Ngày nhận 15-1-2022

Ngày phản biện 28-2-2022

Ngày đăng 1-7-2022