

KẾT QUẢ BƯỚC ĐẦU PHÁT HIỆN PARVOVIRUS GÂY BỆNH Ở VỊT TẠI HƯNG YÊN NĂM 2019

Nguyễn Văn Giáp¹, Đặng Hữu Anh¹, Cao Thị Bích Phượng¹,
Nguyễn Thị Bích², Nguyễn Hữu Huân³, Huỳnh Thị Mỹ Lệ^{1*}

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Công ty TNHH Dược Hanvet

³Công ty Cổ phần thuốc Thú y Trung ương NAVETCO

*Tác giả liên hệ: huynhtml@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 30.12.2019

Ngày chấp nhận đăng: 18.01.2020

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định sự có mặt của parvovirus gây hội chứng ngắn mỏ và còi cọc ở thủy cầm (short beak and dwarfism syndrome - SBDS) tại tỉnh Hưng Yên năm 2019. Triệu chứng quan sát được ở một số đàn vịt mắc SBDS là tiêu chảy, ngắn mỏ và còi cọc. Biến đổi bệnh lý đại thể gồm cơ tim nhạt màu, phủ màng fibrin trên bề mặt gan, túi mật sưng to. Kết quả phát hiện virus bằng phản ứng PCR kết hợp với giải mã và phân tích trình tự gen mã hóa protein NS và VP1 đã khẳng định sự có mặt của parvovirus gây bệnh ở thủy cầm trong các mẫu vịt bệnh thu thập. Chủng parvovirus phát hiện được thuộc nhóm biến chủng NGPV.

Từ khóa: Parvovirus ở thủy cầm, vịt, PCR, Hưng Yên.

The Preliminary Result on Detection of Waterfowl Parvovirus in Hung Yen Province 2019

ABSTRACT

This study was done in order to confirm the presence of waterfowl parvoviruses in clinical cases of short beak and dwarfism syndrome at Hung Yen province in 2019. The main clinical signs of sick ducks were watery diarrhea, short beak and stunting. Gross lesions were pale of myocardium, liver with fibrinous exudate and enlargement of the gallbladder. The combinations of PCR based-detection, sequencing and sequence analyses of the protein-coding genes (NS and VP1) confirmed the presence of waterfowl parvovirus in sick ducks. The detected waterfowl parvovirus was genetically grouped with novel goose parvovirus (NGPV group).

Keywords: Waterfowl parvovirus, duck, PCR, Hung Yen province.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Parvovirus gây bệnh ở thủy cầm thuộc giống Dependovirus, họ Parvoviridae (Lefkowitz & cs., 2018), có vật chất di truyền là sợi đơn ADN dài khoảng 5.106-5.132 nucleotide (Shien & cs., 2008). Cho đến nay, đã phát hiện được một số loài parvovirus gây bệnh ở ngỗng (Goose parvovirus - GPV), parvovirus gây bệnh ở vịt (Duck parvovirus - DPV) và parvovirus gây bệnh ở ngan (Muscovy duck parvovirus - MDPV) (Fan & cs., 2017). GPV có thể gây bệnh ở cả ngỗng ngan vịt con nuôi và hoang dã trong

khi MDPV khác biệt về mặt kháng nguyên chỉ gây bệnh cho ngan (Glavits & cs., 2005, Jestin & cs., 1991).

Trước năm 2009, bệnh do parvovirus gây ra ở thủy cầm được quan tâm nghiên cứu nhiều ở ngỗng, với công bố sớm nhất tại Trung Quốc vào những năm 1960 (Fang, 1962). Về sau, các ca bệnh tương tự được phát hiện ở châu Âu với nhiều tên gọi khác nhau như bệnh Derzsy (Derzsy's disease), dịch tả ngỗng (Goose or gosling plague) (Gough, 2008). Từ năm 2009, parvovirus ở thủy cầm đã được chứng minh gây bệnh cho vịt, với tên gọi là hội chứng ngắn mỏ

và còi cọc (short beak and dwarfism syndrome - SBDS) (Palya & cs., 2009) hoặc hội chứng rụt mỏ và còi cọc (beak atrophy and dwarfism syndrome - BADS) (Chen & cs., 2015). Thủy cầm mắc bệnh do parvovirus có biểu hiện triệu chứng đa dạng, tùy thuộc vào lứa tuổi và tình trạng miễn dịch. Thủy cầm non dưới 1 tuần tuổi mắc ở thể cấp tính với nhiều biểu hiện không điển hình như: giảm ăn, chảy nước mắt - nước mũi, tiêu chảy, kiệt sức và chết nhanh với tỷ lệ tử vong có thể lên tới 100% (Coudert & cs., 1972; Coudert & cs., 1974). Những con qua khỏi giai đoạn cấp tính thì giảm thu nhận thức ăn, chậm phát triển và rụng lông, đặc biệt là vùng cổ và lưng (Coudert & cs., 1974).

Bệnh do parvovirus đã được ghi nhận ở tất cả các nước và khu vực có chăn nuôi vịt của châu Âu và châu Á: Pháp (Villatte, 1989), Anh (Holmes & cs., 2004), Thụy Điển (Jansson & cs., 2007), Ba Lan (Kozdrún & cs., 2008), Hungary (Tatar-Kis & cs., 2004), Nhật Bản (Takehara & cs., 1995), Đài Loan (Lu & cs., 1993),... Ở Mỹ, đã có báo cáo về sự lưu hành biến chủng gây bệnh cho gan (MDPV) (Poonia & cs., 2006). Ở Việt Nam, từ đầu năm 2019 đến nay, đã xuất hiện tình trạng vịt ngán mỏ kèm theo các triệu chứng như tiêu chảy, khó thở, kém ăn, kiệt sức và chết. Do chưa có nghiên cứu nào được công bố nên nghiên cứu này đã được thực hiện nhằm xác định sự có mặt của parvovirus gây bệnh ở một số đàn vịt có biểu hiện ngán mỏ thu thập tại Hưng Yên năm 2019.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

- Mẫu gộp phủ tạng của vịt có triệu chứng của bệnh do parvovirus, bao gồm: não, tim, phổi, gan, lách, thận, túi Fabricius, tuyến ức.

- Hóa chất dùng tách và tinh sạch ADN tổng số gồm: (i) dung dịch ly giải mẫu có chứa 27% sucrose, 15 mM trisodium citrate, 0,15 M NaCl, 1 mM ethylene diaminetetraacetic acid, 1% sodium dodecyl sulphate, 200 µg/ml proteinase K; (ii) phenol-chloroform-isoamyl alcohol (25:24:1); (iii) isopropyl; (iv) cồn 70%; (v) dung dịch đệm TE (pH 8).

- Sinh phẩm, hóa chất dùng cho phản ứng PCR: (i) 2X PCR Master mix solution (i-MAXII, 25266, iNtRON Biotechnology); (ii) cặp mồi đặc hiệu cho gen mã hóa protein phi cấu trúc (NS) và protein cấu trúc (VP1) của virus được lấy theo nghiên cứu đã công bố (Bian & cs., 2019, Wan & cs., 2016) (Bảng 1).

2.2. Phương pháp

2.2.1. Thu thập mẫu

Vịt bệnh được lấy từ các đàn có triệu chứng ngán mỏ. Tiến hành mổ khám kiểm tra bệnh tích đại thể theo TCVN 8420:2010. Mẫu bệnh phẩm được thu thập theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01-83:2011.

2.2.2. Tách và tinh sạch ADN tổng số

ADN tổng số được tách chiết từ huyền dịch bệnh phẩm 10% theo quy trình được mô tả trước đây (Yang & cs., 2003). Các bước chính gồm (i) ly giải mẫu bằng proteinase K và lysis buffer, (ii) tách pha ADN bằng phenol-chloroform-isoamyl (25:24:1), (iii) rửa và rửa ADN lần lượt bằng 2-propanol và ethanol 75%, (iv) hoàn nguyên ADN bằng 30 µl dung dịch đệm TE (pH 8,0). Các bước từ (ii) đến (iv) được ly tâm ở điều kiện 12.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C. Hòa tan rửa ADN bằng 30 µl TE buffer (pH = 8,0) và bảo quản ở -70°C.

Bảng 1. Trình tự mồi phát hiện và giải trình tự gen parvovirus gây bệnh ở vịt

Tên mồi	Trình tự mồi (5' - 3')	Kích thước (bp)
NSF1	CAATGGGCTTTTACCAATATGC	641
NSR1	ATTTTCCCTCCTCCACCA	
P6F	CTACAACCCGGACCTGTGTC	921
P6R	GCATGCGCGTGGTCAACCTAACA	

Bảng 2. Các trình tự gen sử dụng trong nghiên cứu

TT	Tên chủng	GenBank	Quốc gia/khu vực	Loài	Năm phân lập
1	P	KU844281	Trung Quốc	Ngan	1988
2	FZ91-30	KT865605	Trung Quốc	Ngan	1991
3	YY	KX000918	Trung Quốc	Ngan	2000
4	ZW	KY744743	Trung Quốc	Ngan	2006
5	JH06	MH807697	Trung Quốc	Ngan	2006
6	YL08	MG932366	Trung Quốc	Ngan	2008
7	PT	KY511293	Trung Quốc	Ngan	2008
8	P1	KU844282	Trung Quốc	Ngan	2008
9	JH10	MH807698	Trung Quốc	Ngan	2010
10	NM100	KU641556	Trung Quốc	Ngan	2012
11	GDNX	MH204100	Trung Quốc	Ngan	2016
12	SYG61v	KC996729	Trung Quốc	Ngỗng	1961
13	GDaGPV	HQ891825	Trung Quốc	Ngỗng	1978
14	82-0321	EU583390	Đài Loan	Ngỗng	1982
15	98E	KT598506	Trung Quốc	Ngỗng	1998
16	YZ99-6	KC996730	Trung Quốc	Ngỗng	1999
17	06-0329	EU583391	Đài Loan	Ngỗng	2006
18	SH	JF333590	Trung Quốc	Ngỗng	2009
19	LH	KM272560	Trung Quốc	Ngỗng	2012
20	98D15	KT598505	Trung Quốc	Ngỗng	2012
21	DY16	MH209633	Trung Quốc	Ngỗng	2016
22	SQ0412	MF942876	Trung Quốc	Ngỗng	2017
23	RC70	MH717785	Trung Quốc	Ngỗng	2017
24	82-0321V	EU583389	Đài Loan	Ngỗng	1982
25	SHFX1201	KC478066	Trung Quốc	Thiên nga	2012
26	SD	KY511124	Trung Quốc	Vịt	2015
27	AH	MH444513	Trung Quốc	Vịt Anh Đào	2015
28	DS15	KX384726	Trung Quốc	Vịt Anh Đào	2015
29	SC16	KY679174	Trung Quốc	Vịt Anh Đào	2016
30	GXN45	MH717783	Trung Quốc	Vịt Anh Đào	2017
31	QH15	KT751090	Trung Quốc	Vịt Anh Đào	2015
32	HuN18	MK736656	Trung Quốc	Vịt khoang	2018
33	LH	KY069274	Trung Quốc	Vịt mỏ thìa	2008
34	M15	KU844283	Trung Quốc	Vịt mỏ thìa	2015
35	GD	MH444514	Trung Quốc	Vịt mỏ thìa	2016

2.2.3. Phương pháp PCR

Phản ứng PCR phát hiện parvovirus gây bệnh ở thủy cầm được thực hiện bằng cặp mồi NSF1/NSR1, theo quy trình đã công bố trước đây (Wan & cs., 2016). PCR nhân lên một phần đoạn gen mã hóa protein VP1 được thực hiện bởi cặp mồi P6F/P6R với các điều kiện phản ứng tuân theo nghiên cứu đã công bố (Bian & cs., 2019). Phân tích sản phẩm PCR bằng điện di trong agarose 2% có bổ sung thuốc nhuộm ADN (RedSafe 1x).

2.2.4. Phân tích trình tự gen

Sản phẩm PCR tinh sạch được giải trình tự theo chiều xuôi và ngược, bằng phương pháp Sanger's (Macrogen, Hàn Quốc). Trình tự nucleotide được phân tích bằng chương trình BioEdit v7.1.3.0 (Hall, 1999) trên cơ sở so sánh giữa (i) trình tự nucleotide được giải theo chiều xuôi và chiều ngược, và (ii) với trình tự gen mã hóa protein NS/VP1 tham chiếu (Bian & cs., 2019).

Trình tự một phần gen mã hóa protein NS và VP1 thu được trong nghiên cứu này dùng để xác định mối liên hệ di truyền giữa các chủng parvovirus gây bệnh phát hiện được tại Hưng Yên với các chủng trên thế giới công bố ở GenBank (Bảng 2). Các trình tự tham chiếu

được chọn theo nghiên cứu trước đây (Bian & cs., 2019). Trình tự nucleotide được căn chỉnh (alignment) bằng phần mềm MAFFT (Kato & Standley, 2013) với các tham số mặc định. Cây phát sinh chủng loại (phylogenetic tree) được xây dựng bằng thuật toán neighbor-joining, tích hợp trong chương trình MEGA phiên bản 7.0.26 (Kumar & cs., 2016). 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/>).

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Bộ môn Vi sinh vật - Truyền nhiễm, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

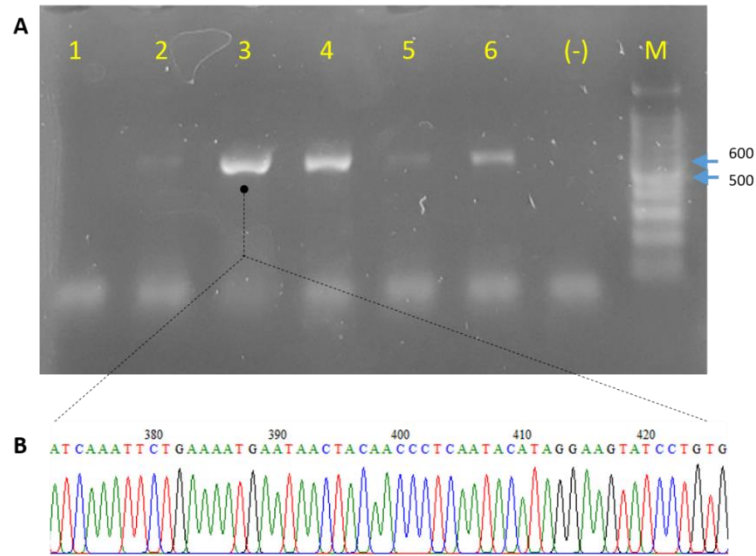
3.1. Kết quả PCR phát hiện parvovirus gây bệnh

Trong quá trình thu thập mẫu ở những đàn vịt nghi mắc bệnh do parvovirus, nghiên cứu này đã theo dõi triệu chứng và mổ khám kiểm tra bệnh tích với kết quả được tổng hợp ở hình 1.



Ghi chú: A- vịt ngấn mỏ, B- phủ màng giả ở xoang miệng (mũi tên), C- phân xanh trắng, D- cơ tim nhạt màu (mũi tên), E- gan phủ màng giả (mũi tên), F- túi mật sưng (mũi tên)

Hình 1. Một số triệu chứng, bệnh tích của vịt nghi mắc bệnh do parvovirus



Ghi chú: Cặp môi sử dụng là NSF1/NSR1. (A) giếng 1-6 là mẫu xét nghiệm, M là 100bp DNA ladder, (-) đối chứng âm; (B) giản đồ giải trình tự gen sản phẩm PCR của mẫu số 3

Hình 2. Kết quả PCR phát hiện parvovirus gây bệnh ở vịt

Bảng 3. Kết quả PCR phát hiện parvovirus gây bệnh ở thủy cầm

Ký hiệu mẫu	Địa phương	Ngày tuổi	Kết quả PCR
VHY 001	Kim Động, Hưng Yên	70	Âm tính
VHY 004	Khoái Châu, Hưng Yên	45	Dương tính
G19.39	Khoái Châu, Hưng Yên	03	Dương tính
VHY 002	Kim Động, Hưng Yên	39	Dương tính
VHY 005	Yên Mỹ, Hưng Yên	14	Dương tính
VHY 003	Yên Mỹ, Hưng Yên	40	Dương tính

Ở các đàn theo dõi, bên cạnh triệu chứng rõ ràng nhất ở vịt bệnh là ngấn mỏ (Hình 1A), còn quan sát được một số biểu hiện không điển hình như vịt lơ đãng, tiêu chảy (Hình 1C). Kết quả nghiên cứu biến đổi bệnh lý đại thể cho thấy vịt bệnh có màng giả ở xoang miệng (Hình 1B), cơ tim nhạt màu (Hình 1D), phủ màng fibrin trên bề mặt gan và túi mật sưng to (Hình 1E-1F). Theo một số nghiên cứu (Glavits & cs., 2005; Irvine & Holmes, 2010; Fu & cs., 2017), GPV gây bệnh cho vịt ở thể cấp tính có triệu chứng chảy nước mắt, nước mũi, viêm kết mạc, tiêu chảy phân trắng; một số trường hợp loét và phủ màng giả ở lưỡi và xoang miệng. Nếu bệnh kéo dài, vịt có biểu hiện ngấn mỏ, rụng lông ở vùng cổ và lưng. Về bệnh tích đại thể, vịt bệnh có gan sưng to, phủ màng giả, cơ tim nhão và nhạt

màu. Ngoài ra có thể quan sát thấy hiện tượng tích dịch ở xoang bao tim và xoang bụng (Glavits & cs., 2005; Fu & cs., 2017). Do triệu chứng lâm sàng và bệnh tích đại thể thu được trong nghiên cứu này (Hình 1) giống với những mô tả về bệnh do parvovirus gây ra ở thủy cầm, có thể chẩn đoán lâm sàng rằng hội chứng ngấn mỏ và còi cọc đã xuất hiện ở một số đàn vịt nuôi tại Hưng Yên năm 2019. Nghiên cứu tiếp tục dùng phản ứng PCR để khẳng định sự có mặt của parvovirus gây bệnh ở thủy cầm trong mẫu bệnh phẩm (Hình 2, Bảng 3).

Kết quả cho thấy mẫu đối chứng âm của phản ứng không có vạch đặc hiệu; có 5/6 mẫu xét nghiệm có vạch sản phẩm PCR trong khoảng kích thước 641 bp (Hình 2A). Mẫu bệnh phẩm số 1 không có vạch sản phẩm và được

đánh giá là âm tính. Mẫu bệnh phẩm số 2 và số 3 có vạch sản phẩm trong khoảng 641 bp nhưng mờ hơn các mẫu còn lại, được đánh giá dương tính yếu. Vì parvovirus gây bệnh ở thủy cầm chưa từng được công bố ở Việt Nam, để khẳng định tính đặc hiệu của phản ứng, sản phẩm PCR đã được giải trình tự gen (Hình 2B). Kết quả tìm kiếm trình tự tương đồng từ cơ sở dữ liệu của GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) cho biết trình tự đầu vào (627 nucleotide) giống 99,8% với các chủng parvovirus đã biết gây bệnh ở thủy cầm (mã số MH717783, MH444514). Như vậy, phản ứng PCR là đặc hiệu và có 5/6 mẫu xét nghiệm dương tính với parvovirus gây bệnh ở thủy cầm (Bảng 3).

Trong quá trình ứng dụng phản ứng PCR, nghiên cứu này đã dùng nhiều cặp mồi khác nhau để phát hiện parvovirus gây bệnh ở thủy cầm (Bian & cs., 2019; Chang & cs., 2000; Shen & cs., 2015; Wan & cs., 2016). Tuy nhiên, kết quả phát hiện parvovirus giữa các cặp mồi là khác nhau (không trình bày) và chỉ có 2 cặp mồi (Bảng 1) phát hiện được nhiều mẫu dương tính nhất. Sai khác giữa trình tự cặp mồi sử dụng và trình tự gen của parvovirus lưu hành ở Hưng Yên có thể là nguyên nhân dẫn tới mẫu vịt bệnh VHY 001 mặc dù có triệu chứng ngấn mỏ điển hình nhưng kết quả PCR âm tính.

3.2. Phân tích trình tự gen chủng parvovirus gây bệnh ở thủy cầm phát hiện tại Hưng Yên

Đối với parvovirus gây bệnh ở thủy cầm, có thể dùng trình tự toàn bộ genome, trình tự gen mã hóa protein phi cấu trúc (gen NS) hoặc trình tự gen mã hóa protein VP1 để nghiên cứu mối liên hệ di truyền giữa các chủng virus (Bian & cs., 2019; Yu & cs., 2016). Trong khuôn khổ nghiên cứu này, trình tự một phần gen mã hóa (i) protein phi cấu trúc NS và (ii) protein cấu trúc VP1 đã được dùng để xây dựng cây phát sinh chủng loại.

Đoạn polypeptide của protein NS (aa 174-382) và của protein VP1 (aa 526-600) có các vị trí amino acid sai khác giữa các chủng

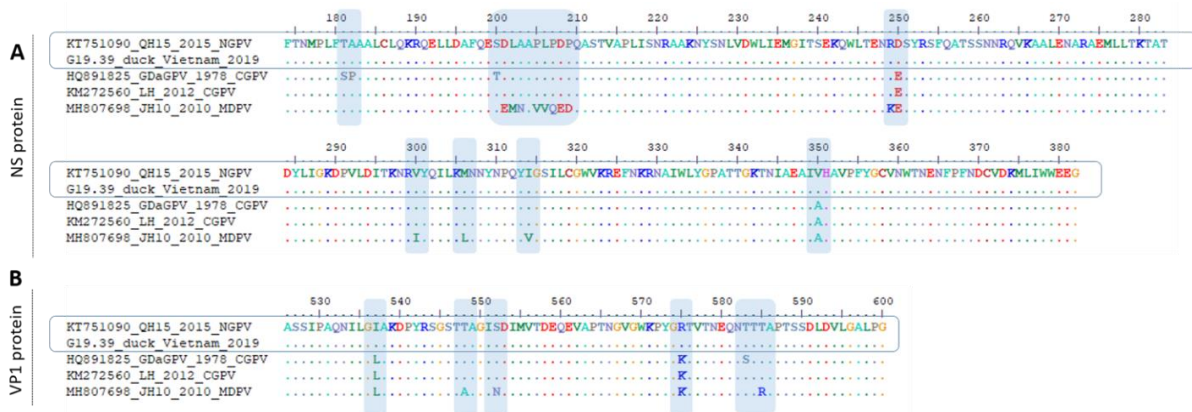
parvovirus gây bệnh ở thủy cầm (đánh dấu màu xám, Hình 3A-3B). Về trình tự amino acid protein NS, kết quả so sánh cho biết chủng G19.39 phát hiện được ở Hưng Yên năm 2019 (i) giống 100% so với chủng virus thuộc nhóm NGPV (KT751090); (ii) tương đồng từ 97,6% đến 99,0% so với các chủng virus thuộc nhóm CGPV (HQ891825, KM272560) và (iii) tương đồng thấp nhất (93,3%) so với chủng virus thuộc nhóm MDPV (MH807698). Về trình tự amino acid protein VP1, chủng G19.39 (iv) giống 100% so với chủng virus thuộc nhóm NGPV (KT751090); (v) tương đồng từ 96,0% đến 97,3% so với các chủng virus thuộc nhóm CGPV (HQ891825, KM272560) và (vi) tương đồng thấp nhất (93,3%) so với chủng virus thuộc nhóm MDPV (MH807698). Như vậy, kết quả so sánh trình tự amino acid khẳng định G19.39 phát hiện được ở Hưng Yên là parvovirus gây bệnh ở thủy cầm.

Do parvovirus gây bệnh ở thủy cầm có nhiều nhóm di truyền (Bian & cs., 2019), nghiên cứu này tiếp tục làm rõ mối liên hệ của chủng G10.39 thông qua phân tích cây phát sinh chủng loại dựa vào trình tự gen mã hóa protein phi cấu trúc NS (Hình 4) và gen mã hóa protein cấu trúc VP1 (Hình 5).

Kết quả xây dựng cây phát sinh chủng loại trong nghiên cứu này giống với công bố trước đây (Bian & cs., 2019) khi cũng chỉ ra có 2 nhóm di truyền của parvovirus gây bệnh ở thủy cầm (MDPV và GPV) với giá trị bootstrap 100% (Hình 4). Dựa vào đặc điểm phân nhóm, các chủng virus thuộc nhóm GPV được chia thành 2 phân nhóm là nhóm cổ điển (classical GPV, CGPV) và nhóm biến chủng (novel GPV, NGPV). Sự phân nhánh này là rõ ràng với giá trị bootstrap 95,1% (mũi tên rỗng, Hình 4). Dựa vào trình tự một phần gen mã hóa protein NS, chủng parvovirus phát hiện được ở trên vịt của Việt Nam được xếp vào nhóm biến chủng NGPV (mũi tên đầy, Hình 4).

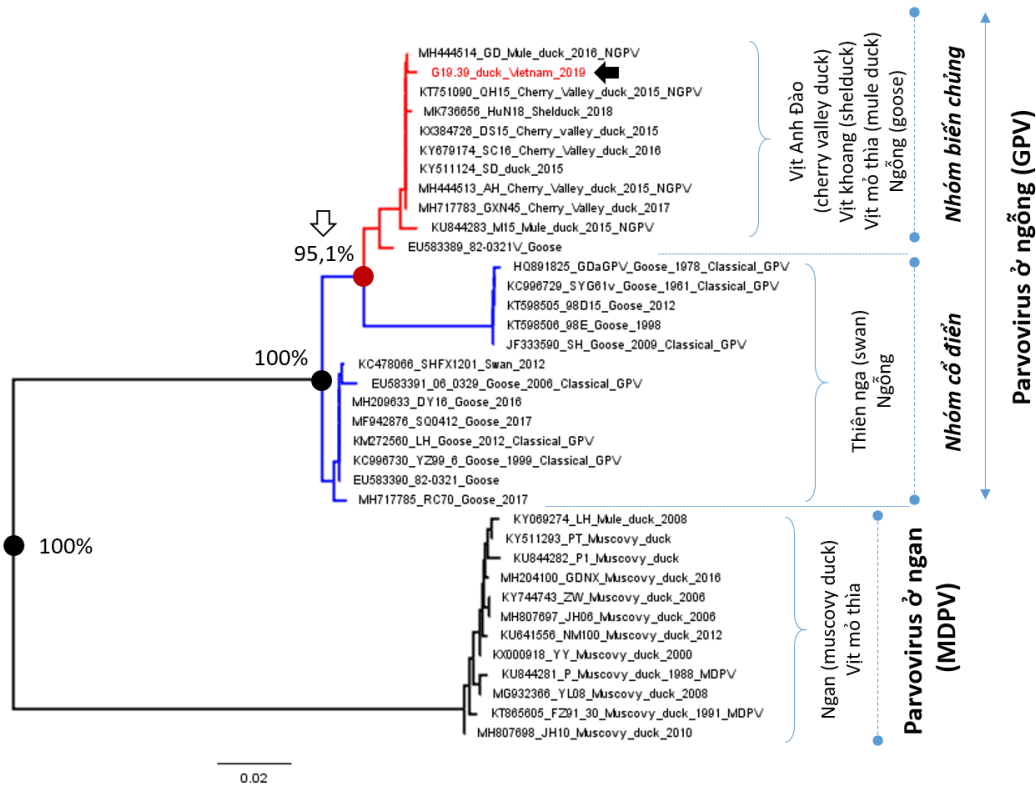
Kết quả phân loại parvovirus gây bệnh ở vịt tại Hưng Yên tiếp tục được làm rõ dựa vào trình tự gen mã hóa protein cấu trúc VP1 (Hình 5).

Kết quả bước đầu phát hiện parvovirus gây bệnh ở vịt tại Hưng Yên năm 2019



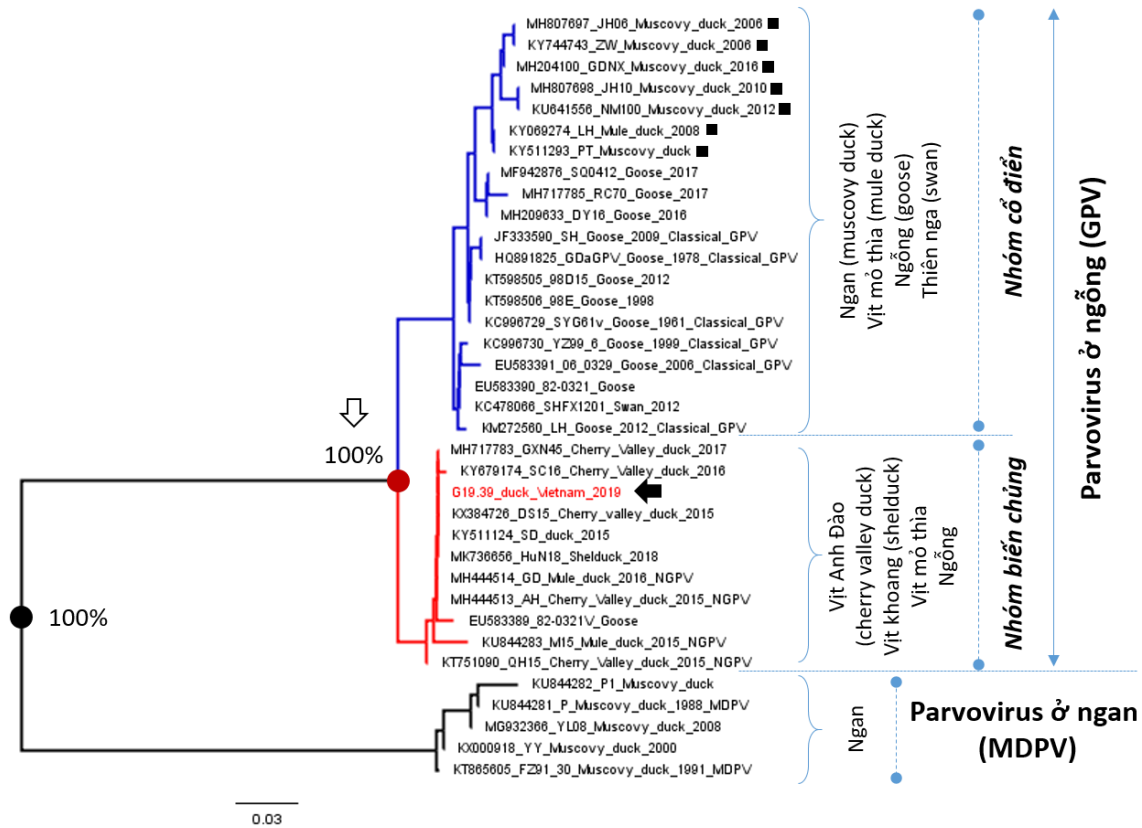
Ghi chú: Vị trí amino acid của protein NS (A) và protein VP1 (B) được căn chỉnh theo chủng QH15 (KT751090). Các nhóm di truyền của parvovirus gây bệnh gồm: nhóm biến chủng (novel goose parvovirus, NGPV), nhóm cổ điển (classical goose parvovirus, CGPV), nhóm parvovirus gây bệnh ở ngan (muscovy duck parvovirus, MDPV). Vùng đóng khung làm rõ sự tương đồng giữa chủng virus của Việt Nam so với các chủng tham chiếu.

Hình 3. Kết quả so sánh trình tự amino acid protein NS và VP1 của parvovirus gây bệnh ở thủy cầm



Ghi chú: Trình tự một phần gen mã hóa protein phi cấu trúc NS (627 nucleotide) được dùng để phân tích parvovirus gây bệnh ở thủy cầm gồm 2 nhóm chính đó là parvovirus gây bệnh ở ngỗng (GPV) và parvovirus gây bệnh ở ngan (MDPV) dựa vào nghiên cứu của Bian & cs. (2019). Nhóm GPV lại được chia thành 2 phân nhóm là nhóm biến chủng (novel GPV-NGPV) và nhóm cổ điển (classical GPV). Chủng phát hiện được ở Hưng Yên năm 2019 được đánh dấu bằng mũi tên.

Hình 4. Cây phát sinh chủng loại của parvovirus gây bệnh ở thủy cầm dựa vào trình tự gen mã hóa protein phi cấu trúc NS



Ghi chú: Trình tự một phần gen mã hóa protein VP1 (225 nucleotide) được dùng để phân tích. Parvovirus gây bệnh ở thủy cầm được phân thành 2 nhóm chính đó là parvovirus gây bệnh ở ngỗng (GPV) và parvovirus gây bệnh ở ngan (MDPV) dựa vào nghiên cứu của Bian & cs. (2019). Nhóm GPV lại được chia thành 2 phân nhóm là nhóm biến chủng (novel GPV-NGPV) và nhóm cổ điển (classical GPV). Các chủng virus có sự thay đổi đặc điểm phân loại (so với cây phát sinh chủng loại dựa vào gen mã hóa protein NS) được đánh dấu bởi hình vuông. Chủng phát hiện được ở Hưng Yên năm 2019 được đánh dấu mũi tên.

Hình 5. Cây phát sinh chủng loại của parvovirus gây bệnh ở thủy cầm dựa vào trình tự gen mã hóa protein cấu trúc VP1

Cây phát sinh chủng loại dựa vào trình tự gen mã hóa protein cấu trúc VP1 (Hình 5) cho đặc điểm phân nhánh tương tự như cây phát sinh chủng loại dựa vào trình tự gen mã hóa protein phi cấu trúc NS (Hình 4). Tuy nhiên, có sự thay đổi về phân loại của một số chủng virus thuộc nhóm GPV cổ điển. Trong đó 7 chủng parvovirus gây bệnh ở ngan và vịt mỏ thìa (đánh dấu hình vuông, Hình 5) được xếp vào nhóm parvovirus gây bệnh ở ngan (MDPV). Đã có một vài công bố trước đây về hiện tượng tái tổ hợp gen giữa các chủng virus thuộc nhóm MDPV và GPV (Fu & cs., 2017; Shen & cs., 2015). Đặc điểm trên đã dẫn tới sự thay đổi nhóm của các chủng virus có sự tái tổ hợp gen. Đối với nhóm biến chủng

NGPV, kết quả xây dựng cây phát sinh chủng loại (Hình 4, 5) không thấy có sự thay đổi về đặc điểm phân nhóm. Đặc điểm phân nhánh dựa vào gen mã hóa protein VP1 (Hình 5) cho biết chủng parvovirus phát hiện được ở vịt tại Hưng Yên năm 2019 thuộc nhóm biến chủng NGPV và gần gũi (về trình tự gen mã hóa protein VP1) với chủng virus gây bệnh ở giống vịt Anh Đào, phát hiện ở Trung Quốc năm 2015-2017 (KX384726, KY679174). Do có nhiều phân nhóm của parvovirus gây bệnh ở vịt được phát hiện trên thế giới, đặc biệt là ở Trung Quốc, cần mở rộng nghiên cứu để xác định chính xác các nhóm di truyền của parvovirus gây bệnh ở thủy cầm lưu hành tại Việt Nam.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã khẳng định sự có mặt của parvovirus gây bệnh ở thủy cầm trong các mẫu vịt bệnh thu thập tại Hưng Yên năm 2019. Chứng parvovirus phát hiện được thuộc nhóm biến chủng NGPV.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bian G., Ma H., Luo M., Gong F., Li B., Wang G., Mohiuddin M., Liao M. & Yuan J. (2019). Identification and genomic analysis of two novel duck-origin GPV-related parvovirus in China. *BMC Vet Res.* 15(1): 88.
- Chang P.C., Shien J.H., Wang M.S. & Shieh H.K. (2000). Phylogenetic analysis of parvoviruses isolated in Taiwan from ducks and geese. *Avian Pathol.* 29(1): 45-49.
- 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.* 10(10): e0140284.
- Coudert M., Fedida M., Dannacher G. & Peillon M. (1974). The “parvovirus disease” of gosling; late form. *J Recueil de Medecine Veterinaire.*
- Coudert M., Fedida M., Dannacher G., Peillon M., Labatut R. & Ferlin P. (1972). Viral disease of gosling. *Rec. Med. Vet.* 148(4): 455.
- 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.
- Fang D. (1962). Introduction of “Goose plague”. *Chin. J. Vet. Med.* 8: 19-20.
- Fu Q., Huang Y., Wan C., Fu G., Qi B., Cheng L., Shi S., Chen H., Liu R. & Chen Z. (2017). Genomic and pathogenic analysis of a Muscovy duck parvovirus strain causing short beak and dwarfism syndrome without tongue protrusion. *Research in veterinary science.* 115: 393-400.
- Glavits R., Zolnai A., Szabo E., Ivanics E., Zarka P., Mato 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(1): 73-89.
- Gough Richard E. (2008). Parvovirus infections. *Diseases of Poultry.* pp. 397-404.
- Hall Tom A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic acids symposium series.* 41: 95-98.
- Holmes J.P., Jones J.R., Gough R.E., Welchman Dde B., Wessels M.E. & Jones E.L. (2004). Goose parvovirus in England and Wales. *Vet Rec.* 155(4): 127.
- Irvine R. & Holmes P. (2010). Diagnosis and control of goose parvovirus. *In Practice.* 32(8): 382-386.
- Jansson D.S., Feinstein R., Kardi V., Mato T. & Palya V. (2007). Epidemiologic investigation of an outbreak of goose parvovirus infection in Sweden. *Avian Dis.* 51(2): 609-613.
- Jestin V., Le Bras M.O., Cherbonnel M., Le Gall G. & Bennejean G. (1991). Demonstration of very pathogenic parvoviruses (Derzsy disease virus) in muscovy duck farms. *Recueil de Medecine Veterinaire.*
- Katoh K. & Standley D.M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Mol Biol Evol.* 30(4): 772-780.
- Kozdrún W., Mató Tamás, Palya Vilmos, Samorek-Salamonowicz Elżbieta, Szatraj Katarzyna & Wozniakowski Grzegorz (2008). Phylogenetic analysis of Derzsy's disease virus isolated from geese in Poland. *Medycyna Weterynaryjna.* 64: 1051-1054.
- Kumar S., Stecher G. & Tamura K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol.* 33(7): 1870-1874.
- Lefkowitz E.J., Dempsey D.M., Hendrickson R.C., Orton R.J., Siddell S.G. & Smith D.B. (2018). Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic Acids Res.* 46(D1): D708-D717.
- 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 Dis.* 37(2): 591-596.
- Palya V., Zolnai A., Benyeda Z., Kovacs E., Kardi V. & Mato T. (2009). Short beak and dwarfism syndrome of mule duck is caused by a distinct lineage of goose parvovirus. *Avian Pathol.* 38(2): 175-180.
- Poonia B., Dunn P.A., Lu H., Jarosinski K.W. & Schat K.A. (2006). Isolation and molecular characterization of a new muscovy duck parvovirus from muscovy ducks in the USA. *Avian Pathol.* 35(6): 435-441.
- Shen H., Zhang W., Wang H., Zhou Y. & Shao S. (2015). Identification of recombination between muscovy duck parvovirus and goose parvovirus structural protein genes. *Arch Virol.* 160(10): 2617-2621.
- Shien J.H., Wang Y.S., Chen C.H., Shieh H.K., Hu C.C. & Chang P.C. (2008). Identification of

- sequence changes in live attenuated goose parvovirus vaccine strains developed in Asia and Europe. *Avian Pathol.* 37(5): 499-505.
- Takehara K., Nishio T., Hayashi Y., Kanda J., Sasaki M., Abe N., Hiraizumi M., Saito S., Yamada T., Haritani M., Saito S., Yamada T., Haritani M. & Yoshimura M. (1995). An outbreak of goose parvovirus infection in Japan. *J Vet Med Sci.* 57(4): 777-779.
- Tatar-Kis T., Mato T., Markos B. & Palya V. (2004). Phylogenetic analysis of Hungarian goose parvovirus isolates and vaccine strains. *Avian Pathol.* 33(4): 438-444.
- Villatte D. (1989). Maladie de Derzsy ou hepatonephrite-ascite de l'oison et du caneton de Barbarie (hna) ou parvovirose. *Manuel pratique des maladies des palmipedes.* 1: 114-117.
- Wan C.H., Chen H.M., Fu Q.L., Shi S.H., Fu G.H., Cheng L.F., Chen C.T., Huang Y. & Hu K.H. (2016). Development of a restriction length polymorphism combined with direct PCR technique to differentiate goose and muscovy duck parvoviruses. *J Vet Med Sci.* 78(5): 855-858.
- Yang Jeong S., Song Dae S., Kim So Y., Lyoo Kwang S. & Park Bong K. (2003). Detection of porcine circovirus type 2 in feces of pigs with or without enteric disease by polymerase chain reaction. *Journal of veterinary diagnostic investigation.* 15(4): 369-373.
- Yu K., Ma X., Sheng Z., Qi L., Liu C., Wang D., Huang B., Li F. & Song M. (2016). Identification of goose-origin parvovirus as a cause of newly emerging beak atrophy and dwarfism syndrome in ducklings. *J Clin Microbiol.* 54(8): 1999-2007.