

## SỰ ĐỒNG NHIỄM VIRUS TEMBUSU VÀ VI KHUẨN GÂY BỆNH Ở ĐÀN VỊT NUÔI TẠI MỘT SỐ TỈNH MIỀN BẮC VIỆT NAM

Nguyễn Hữu Huân, Cao Thị Bích Phượng\*, Đặng Hữu Anh, Trần Thị Hương Giang,  
Mai Thị Ngân, Nguyễn Văn Giáp, Lê Văn Trường, Vũ Thị Ngọc, Huỳnh Thị Mỹ Lệ

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

\*Tác giả liên hệ: ctbphuong@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 27.03.2024

Ngày chấp nhận đăng: 07.08.2024

### TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu này là xác định sự có mặt của vi khuẩn trong các mẫu vịt mắc bệnh Tembusu thu thập ở một số tỉnh thành miền Bắc Việt Nam. Trong nghiên cứu này, để chẩn đoán virus Tembusu, vi khuẩn *E. coli*, *Riemerella anatipestifer*, *Salmonella*, chúng tôi sử dụng phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu đã được công bố trước đây. Kết quả chẩn đoán bằng phương pháp PCR cho thấy có 30/73 mẫu dương tính với TMUV (chiếm 41,1%). Nghiên cứu chỉ ra rằng tỉ lệ đồng nhiễm virus Tembusu và *E. coli* là 16,7% (5/30); với *Riemerella anatipestifer* là 20% (6/30 mẫu) và *Salmonella* là 6,7% (2/30 mẫu). Đặc biệt, phát hiện 2/30 mẫu vịt mắc Tembusu đồng nhiễm đồng thời với cả *E. coli*, *Riemerella anatipestifer*, chiếm 6,7%. Đây là báo cáo đầu tiên ở Việt Nam nghiên cứu về sự đồng nhiễm virus Tembusu và một số vi khuẩn gây bệnh thường gặp trên đàn vịt.

Từ khóa: Đồng nhiễm, vịt, Tembusu, PCR.

### Co-Infection of Tembusu Virus and Pathogenic Bacteria in Ducks in some Northern Provinces of Vietnam

### ABSTRACT

The aim of this study was to determine the presence of bacteria in Tembusu-infected duck samples collected from different provinces in Northern Vietnam. In this study, we performed PCR reactions with previously published specific primer pairs to diagnose the Tembusu virus along with *E. coli*, *Riemerella anatipestifera*, and *Salmonella*. The PCR diagnostic results showed that 30 out of 73 samples were positive for TMUV (41.1%). The study found that the co-infection rate of Tembusu virus with *E.coli* was 16.7% (5/30 samples); with *Riemerella anatipestifer* 20% (6/30 samples); and with *Salmonella* 6.7% (2/30 samples). It is noteworthy that 2 out of 30 duck samples infected with Tembusu were simultaneously infected with both *E.coli* and *Riemerella anatipestifer*, representing 6.7%. This is the first report in Vietnam to investigate the co-infection of the Tembusu virus with some common bacteria in duck flocks.

Keywords: co-Infection, duck, Tembusu, pathogenic bacteria, PCR.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus Tembusu (TMUV, chi *Flavivirus*, họ *Flaviviridae*) là tác nhân gây bệnh mới nổi ở vịt, phát hiện lần đầu năm 1955 ở Malaysia (Platt & cs., 1975). Sau đó, TMUV lan rộng và trở thành dịch trên đàn vịt nuôi tại các vùng chăn nuôi lớn ở Malaysia (Kono & cs., 2000), Trung Quốc (Su & cs., 2011), Thái Lan (Ninvilai & cs., 2019) và Đài Loan (Peng & cs., 2020). Từ năm 2019, Việt

Nam đã ghi nhận sự xuất hiện của bệnh do virus Tembusu gây ra ở vịt. Sự lan truyền của virus Tembusu đã gây ra những thiệt hại kinh tế đáng kể cho ngành chăn nuôi vịt, tỉ lệ tử vong có thể lên tới 100% trong đàn (Đặng Hữu Anh & cs., 2020).

Sự hiện diện của một số vi khuẩn như *Escherichia coli* (*E. coli*), *Salmonella* và *Riemerella anatipestifer* (RA) gây ra mối đe dọa đáng kể với đối với sức khỏe đàn vịt. Vi khuẩn

*E. coli* thuộc họ Enterobacteriaceae, là nguyên nhân phổ biến nhất gây bệnh nhiễm khuẩn ở các loài gia cầm, trong đó có vịt (Nguyễn Đức Hiền, 2009). Những triệu chứng điển hình do *E. coli* gây ra gồm có tiêu chảy phân xanh trắng, viêm khớp, sưng đầu, viêm hốc mắt và các biểu hiện thần kinh. Các bệnh tích thường được ghi nhận trên vịt mắc bệnh bao gồm viêm gan, gan sưng hoại tử, viêm màng ngoài tim, túi khí đục, lách sưng to, ruột có u hạt (Lisa & cs., 2020). Bệnh do vi khuẩn *Salmonella* gây ra không chỉ là một vấn đề phổ biến mà còn đáng lo ngại trong ngành chăn nuôi gia cầm. Các tổn thương điển hình của bệnh do vi khuẩn *Salmonella* ở vịt bao gồm tiêu chảy, viêm gan, viêm màng ngoài tim và túi khí đục. Vi khuẩn *Salmonella* spp. cũng có khả năng lây nhiễm ra môi trường chăn nuôi vịt, gây thiệt hại kinh tế lớn cho người chăn nuôi (Fàbrega & Vila, 2013). Bệnh do *Riemerella anatipestifer* là bệnh truyền nhiễm trên vịt, ngỗng, gà tây và nhiều loài gia cầm khác. Bệnh được biết đến với nhiều tên gọi khác nhau như: bệnh bại huyết trên vịt, hội chứng *anatipestifer*, bệnh bại huyết do *anatipestifer* hay bệnh viêm thanh mạc truyền nhiễm (Soman & cs., 2014). Bệnh thường xảy ra ở thể cấp tính hoặc nhiễm trùng huyết mạn tính với triệu chứng đặc trưng như rối loạn thị giác, rối loạn vận động, sưng phù đầu - cổ, ngoẹo cổ, rung đầu - cổ, viêm khớp. Vịt mắc bệnh bị suy gan, suy thận và các nội tạng khác của cơ thể làm cho vịt chết rất nhanh với tỉ lệ chết cao, lên đến 90% (Li & cs., 2011). Bệnh nhiễm trùng huyết do RA vẫn thường xuyên xảy ra ở các trang trại và hộ chăn nuôi vịt trên khắp các tỉnh thành của cả nước như Thái Bình, Thanh Hóa, Bình Định, Long An, Đồng Nai, Lâm Đồng, Bến Tre, gây thiệt hại đáng kể cho người chăn nuôi (Lý Thị Liên Khai & Nguyễn Hiền Hậu, 2018; Võ Thành Thìn & cs., 2021).

Tất cả các bệnh nhiễm trùng này đều gây ra tỉ lệ tử vong cao hoặc giảm năng suất nghiêm trọng ở vịt, trong khi việc đồng nhiễm giữa chúng càng làm trầm trọng thêm tình trạng bệnh (Mosleh & cs., 2017). Tuy nhiên, các nghiên cứu về virus Tembusu và sự đồng nhiễm với một số vi sinh vật gây bệnh khác ở Việt Nam vẫn còn hạn chế (Trần Thị Hương Giang & cs., 2023). Đặc biệt, chưa có nghiên cứu nào được thực hiện để

đánh giá sự đồng nhiễm của virus Tembusu và một số vi khuẩn gây bệnh khác trên đàn vịt nuôi tại Việt Nam. Do đó, mục đích của nghiên cứu này là xác định chính xác nguồn gốc gây bệnh, giúp nâng cao hiệu quả của công tác chẩn đoán và phòng ngừa kiểm soát dịch bệnh.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Mẫu bệnh phẩm sử dụng trong nghiên cứu này là mẫu gộp não, tim, phổi, gan, lách, buồng trứng thu thập từ các đàn vịt cỏ, vịt Grimaud, vịt siêu thịt CV, vịt siêu trứng CV 2000 Layer, vịt Anh Đào, vịt bầu 1 ngày tuổi tới 55 tuần tuổi với các biểu hiện giảm ăn đột ngột, tiêu chảy phân trắng, có triệu chứng thần kinh, giảm sản lượng trứng với vịt đẻ tại một số tỉnh miền Bắc. Mẫu sau khi thu thập được xử lý tại Bộ môn Vi sinh vật truyền nhiễm, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

Sinh phẩm, hóa chất dùng cho phản ứng PCR: (i) 2X PCR Master mix solution (i- MAXII, 25266, iNtRON Biotechnology, Hàn Quốc); (ii) Platinum™ direct PCR Universal Master Mix (ThermoFisher, Mỹ); (iii) Các cặp mồi và chu trình nhiệt cho phản ứng PCR dùng để phát hiện sự đồng nhiễm của vi khuẩn *E. coli*, *Riemerella anatipestifer*, *Salmonella* theo các nghiên cứu đã công bố trước đây (Chen & Griffiths, 1998, Wang & cs., 2012, Oliveira & cs., 2002).

Đối chứng dương vi khuẩn *E. coli*, *Riemerella anatipestifer*, *Salmonella* trong nghiên cứu này là các chủng vi khuẩn được lưu trữ tại Bộ môn Vi sinh vật truyền nhiễm, Khoa Thú y.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Lấy mẫu và đồng nhất mẫu

Phương pháp kiểm tra triệu chứng lâm sàng và mổ khám kiểm tra bệnh tích đại thể theo Tiêu chuẩn Việt Nam mã số TCVN 8420:2010. Mẫu được thu thập theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia QCVN 01-83:2011. Mẫu bệnh phẩm sau đó được đồng nhất theo tỉ lệ 10% phosphate-buffered saline (PBS). Hỗn dịch đồng nhất được bảo quản ở -80°C tới khi sử dụng.

**Bảng 1. Thông tin các cặp mồi sử dụng cho phản ứng PCR**

Mầm bệnh	Tên mồi	Trình tự mồi (5' - 3')	Kích thước	Tham khảo
Tembusu	NS5f	TTTGGTACATGTGGCTCG	350bp	Liu & cs. (2012)
	NS5r	ACTGTTTTCCCATCACGTCC		
<i>E. coli</i>	E.Ec1	CCGATACGCTGCCAATCAGT	884bp	Chen & Griffiths (1998)
	E.Ec2	ACGCAGACCGTAAGGGCCAGAT		
RA	gyrBP1	AGAGCGAGAAGAAAAACCT	194bp	Wang & cs. (2012)
	gyrBP2	CTCCCATAGCATAGAGAAGA		
<i>Salmonella</i>	ST11	GCCAACCATTGCTAAATTGGCGCA	429bp	Oliveira & cs. (2002)
	ST15	GGTAGAAATTCAGCGGGTACTGG		

### 2.2.2. Tách và tinh sạch ARN/ADN tổng số

ARN/ADN tổng số trong mẫu đã được đồng nhất được chiết tách dựa trên kit thương mại Viral Gene-spin™ Viral DNA/RNA Extraction (Intron, Hàn Quốc). Quy trình tách chiết theo hướng dẫn của nhà sản xuất. ARN/ADN tổng số được hòa tan trong 50µl và được bảo quản ở -30°C cho tới khi sử dụng.

### 2.2.3. Tổng hợp cDNA

Đối với mẫu sử dụng để xác định TMUV, cDNA được tổng hợp sử dụng enzyme M-MLV (Promega) và Random primer. Hỗn dịch được trộn đều và được đặt trong chu trình sau: 37°C trong 1 giờ, 85°C trong 5 phút.

### 2.2.4. Phản ứng PCR

Thành phần phản ứng PCR được phối trộn theo hướng dẫn của nhà sản xuất, trong đó: 25µl hỗn dịch phản ứng gồm có 12,5µl GoTag Green Master Mix (Promega, Mỹ) + 1µl mỗi loại mồi xuôi và mồi ngược (10µM) + 2µl ADN mẫu tách chiết + 8,5µl nước tinh khiết.

Phản ứng PCR phát hiện Tembusu virus được thực hiện bằng cặp mồi NS5f/NS5r theo quy trình đã công bố trước đây (Liu & cs., 2012). Các cặp mồi và chu trình nhiệt cho phản ứng PCR dùng để phát hiện sự đồng nhiễm của vi khuẩn *E. coli*, *Riemerella anatipestifer*, *Salmonella* theo các nghiên cứu đã công bố trước đây (Chen & Griffiths., 1998; Wang & cs., 2012; Oliveira & cs., 2002). Thông tin các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu này được tổng hợp trong bảng 1. Phân tích sản phẩm PCR bằng điện di trong thạch agarose 1,5% có bổ

sung thuốc nhuộm ADN RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution (Intron, Hàn Quốc).

### 2.2.5. Xử lý số liệu

Đánh giá ý nghĩa thống kê của các kết quả bằng Student's t test và phép thử Chi-square. Các phép thử được tích hợp trong phần mềm Graph Prism 9 (GraphPad, La Jolla, CA, Mỹ). Giá trị P ≤ 0,05 được xác định là giới hạn sai khác có ý nghĩa thống kê

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả thu thập mẫu vịt nghi mắc bệnh Tembusu

Theo dõi các đàn vịt con 1 ngày tuổi tới vịt trưởng thành 60 ngày tuổi nghi mắc bệnh Tembusu thấy hiện tượng giảm ăn đột ngột, sinh trưởng giảm, tiêu chảy phân trắng, loãng, chảy nước mũi, các triệu chứng thần kinh như đi lại mất thăng bằng, vịt nằm lật ngửa, chân tê liệt. Với vịt đẻ 25 đến 55 tuần quan sát thấy giảm ăn và giảm sản lượng trứng đột ngột; tiếp đến xuất hiện tiêu chảy phân xanh dẫn đến suy nhược; giai đoạn sau của bệnh vịt có biểu hiện thần kinh, đi lại bất thường, nặng thì bại liệt hoàn toàn. Diễn biến ổ dịch xảy ra trong vòng 7-10 ngày, tỉ lệ chết trong đàn có thể từ 5-15%, những con vịt trong đàn qua khỏi ngày 10 sẽ phát triển kém, sinh sản kém, dẫn đến chăn nuôi không có hiệu quả. Mổ khám những vịt này thấy xác chết gầy, tím lông đuôi dính phân xanh. Não phù, màng não sung huyết và mạch máu bị tắc nghẽn (Hình 1A). Xoang ngực tích dịch màu vàng, cơ tim thoái hóa biến chất

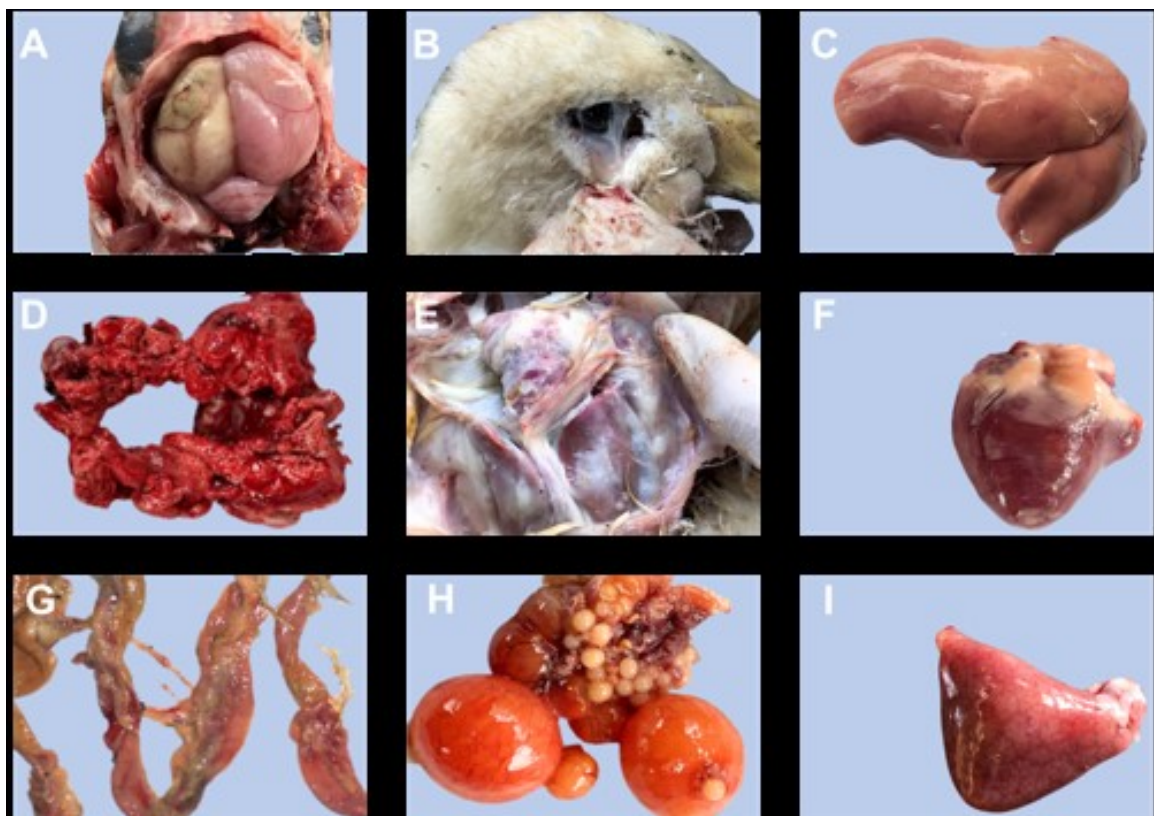
(vàng trắng) (Hình 1F); phổi phù sung huyết (Hình 1D). Xoang bụng tích dịch màu vàng; gan sưng to, nhạt màu, tụ huyết (Hình 1C); lách sưng to, hoại tử vân đá hoa (Hình 1I). Mặt trong dạ dày cơ bị bong tróc, niêm mạc dạ dày tuyến xuất huyết, niêm mạc ruột xuất huyết tràn lan (Hình 1G). Tuyến tụy sưng xuất huyết hoặc hoại tử. Ngoài những bệnh tích trên, ở vịt đẻ còn thấy hiện tượng viêm, xuất huyết buồng trứng và thoái hóa, vỡ các nang trứng non (Hình 1H), viêm xuất huyết ống dẫn trứng và phúc mạc.

Nghiên cứu trước đây của Đặng Hữu Anh & cs. (2020) cũng khẳng định sự có mặt của virus Tembusu trong những mẫu vịt rối loạn vận động, bại liệt, giảm đẻ đột ngột (với vịt đẻ). Bệnh tích đại thể khi mổ khám những vịt này thấy buồng trứng xuất huyết, gan sưng, lách sưng (Đặng Hữu Anh & cs., 2020). Vịt giảm thu nhận thức ăn, mất điều hoà vận động và liệt;

tổn thương ở buồng trứng, não và tuỷ sống cũng được báo cáo trong các nghiên cứu trước đây (Cao & cs., 2011; Homonnay & cs., 2014; Ninvilai & cs., 2018; Liang & cs., 2019; Lv & cs., 2019). Như vậy, biểu hiện triệu chứng và bệnh tích của vịt thu thập trong nghiên cứu này tương đồng với các công bố trước đó.

### 3.2. Kết quả chẩn đoán virus Tembusu bằng phản ứng PCR

Nghiên cứu này đã thu thập được 73 mẫu bệnh phẩm nghi mắc virus Tembusu từ 8 tỉnh miền Bắc Việt Nam gồm Hà Nội (n = 6), Bắc Ninh (n = 3), Hưng Yên (n = 26), Phú Thọ (n = 10), Bắc Giang (n = 8), Hải Dương (n = 9), Lạng Sơn (n = 4), Thái Bình (n = 7). Kết quả chẩn đoán virus Tembusu bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu NS5f và NS5r cho thấy sản phẩm thu được có kích thước 350bp, đúng với công bố của Liu & cs. (2012) (Bảng 2, Hình 2).

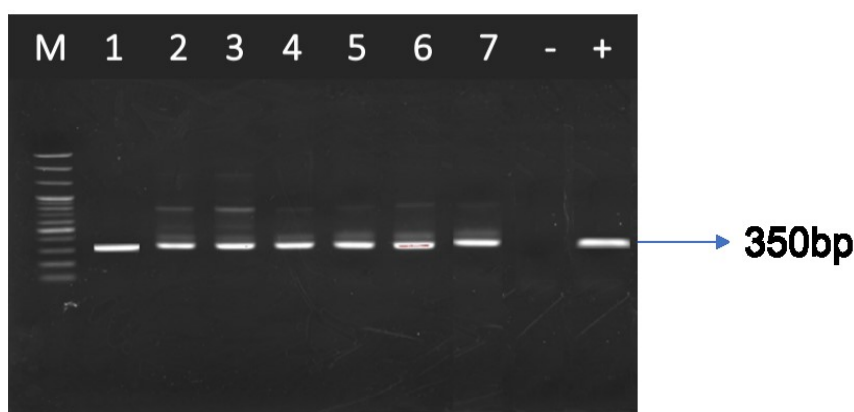


Ghi chú: (A) Não sung huyết, hoại tử một phần; (B) Sung huyết dính mí mắt; (C) Gan sưng, nhạt màu và có các vệt tụ huyết; (D) Phổi viêm sung huyết; (E) Tim và gan viêm dính; (F) Tim vàng trắng; (G) Ruột xuất huyết, bào mỏng; (H) Buồng trứng xuất huyết; (I) Lách vân đá hoa.

Hình 1. Một số hình ảnh bệnh tích đại thể của vịt nghi mắc bệnh Tembusu

**Bảng 2. Thông tin mẫu bệnh phẩm sử dụng trong nghiên cứu và kết quả chẩn đoán TMUV**

Tỉnh	Số mẫu	Số mẫu dương tính	Tỉ lệ dương tính (%)
Bắc Ninh	3	-	-
Hà Nội	6	3	50,0
Hưng Yên	26	10	38,5
Phú Thọ	10	5	50,0
Bắc Giang	8	6	75,0
Hải Dương	9	3	33,3
Lạng Sơn	4	-	-
Thái Bình	7	3	42,9
Tổng	73	30	41,1



Ghi chú: M: Thang ADN chuẩn 100bp (CSL-MDNA Cleaver Scientific, Anh); (+): Chủng virus vaccine TMUV FX2010-180P; (-): Đối chứng âm; Giếng 1 - 7: Mẫu bệnh phẩm dương tính.

**Hình 2. Kết quả chẩn đoán virus Tembusu bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mỗi đặc hiệu NS5f và NS5r (kích thước 350bp)**

Việc phát hiện sự có mặt của TMUV ở 6/8 tỉnh thành trong quá trình lấy mẫu cho thấy sự phân bố rộng rãi của virus Tembusu ở miền Bắc Việt Nam (Bảng 2). Một nghiên cứu tại Thái Lan đã báo cáo sự có mặt của kháng thể Tembusu ở 20/20 tỉnh lấy mẫu, chứng minh rằng virus này lưu hành mạnh mẽ tại các đàn vịt chạy đồng (Ninvilai & cs., 2018). Các nghiên cứu khác cũng chỉ ra mức độ phổ biến của mầm bệnh này ở một số nước châu Á khác như Trung Quốc, Malaysia, Đài Loan (Zhu & cs., 2022; Ninvilai & cs., 2019; Peng & cs., 2020; Chen & cs., 2023).

Dựa vào dữ liệu bảng 2 cho thấy tỉ lệ phát hiện virus Tembusu từ những mẫu nghi ngờ dao động từ 0 đến 75,0%. Điều này thể hiện sự biến

động đáng kể trong việc phát hiện virus này từ các mẫu thu thập, tuy nhiên không phản ánh mức độ nhiễm của virus Tembusu ở các khu vực khác nhau. Tỉ lệ dương tính cao như ở Bắc Giang (75,0%); Hà Nội và Phú Thọ (50,0%), đặc biệt khi so sánh với tỉ lệ không phát hiện virus Tembusu ở một số tỉnh khác như Bắc Ninh hoặc Lạng Sơn, có thể giải thích bởi quá trình lấy mẫu được tập trung vào các cá thể vịt có biểu hiện nghi ngờ bệnh Tembusu. Việc không phát hiện virus Tembusu ở một số mẫu thu thập tại Bắc Ninh hay Lạng Sơn cho thấy việc chẩn đoán lâm sàng có thể nhầm lẫn với một số mầm bệnh khác có những biểu hiện rối loạn vận động và tiêu hoá như Newcastle (Dai & cs., 2014), Dịch tả vịt (Li & cs., 2016), Reovirus (Wang & cs.,

2020) hay Cúm gia cầm (Mansour & cs., 2018). Điều này đặt ra vấn đề cần xác định sự có mặt Tembusu bằng các kỹ thuật phòng thí nghiệm, nhằm đảm bảo độ chính xác và độ tin cậy của việc chẩn đoán và quản lý dịch bệnh.

### 3.3. Kết quả chẩn đoán đồng nhiễm một số vi khuẩn thường gặp

Các mẫu dương tính với virus Tembusu sẽ được tiếp tục kiểm tra sự có mặt của một số vi khuẩn trong mẫu bệnh phẩm bằng phản ứng PCR. Kết quả thu được trong bảng 3.

Bảng 3 cho thấy tỉ lệ dương tính của 3 loại vi khuẩn khác nhau ở vịt mắc Tembusu. Trong tổng số 30 mẫu bệnh phẩm vịt mắc Tembusu phát hiện 13 mẫu (chiếm 43,3%) dương tính với ít nhất một trong ba vi khuẩn *E. coli*, *Salmonella*, *Riemerella anatipestife*. Cụ thể, vi khuẩn *Riemerella anatipestife* có mặt nhiều nhất trong các mẫu xét nghiệm. Bằng phản ứng

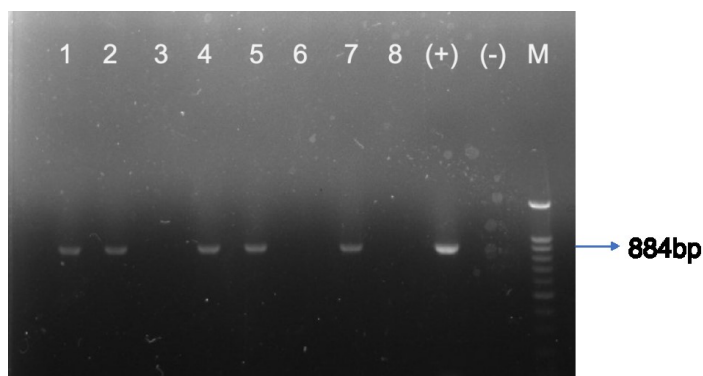
PCR phát hiện thấy 6 mẫu vịt mắc Tembusu dương tính với *RA*, chiếm 20,0%. Tiếp đến phát hiện 5/30 mẫu dương tính với vi khuẩn *E. coli* (16,7%). Trong 30 mẫu kiểm tra chỉ có 2 mẫu dương tính với *Salmonella*, chiếm tỉ lệ thấp nhất 6,7% ( $P < 0,05$ ).

Hình 3, hình 4, hình 5 minh họa kết quả chẩn đoán vi khuẩn *E. coli*, *Riemerella anatipestifer* và *Salmonella* trong mẫu bệnh phẩm dương tính với virus Tembusu bằng phản ứng PCR.

Từ thông tin bảng 3, chúng ta còn có thể thấy một số thông tin quan trọng về tỉ lệ đồng nhiễm giữa các loại vi khuẩn trong mẫu vịt mắc bệnh Tembusu. Quan sát thấy có 2 mẫu dương tính đồng thời với cả hai vi khuẩn *E. coli* và *Riemerella anatipestifer* (chiếm 6,7%), trong khi không có sự đồng nhiễm giữa *Salmonella* và *RA* hoặc giữa *E. coli* và *Salmonella* trong các mẫu dương tính Tembusu.

**Bảng 3. Tỉ lệ dương tính của 3 loại vi khuẩn ở vịt mắc Tembusu (n = 30)**

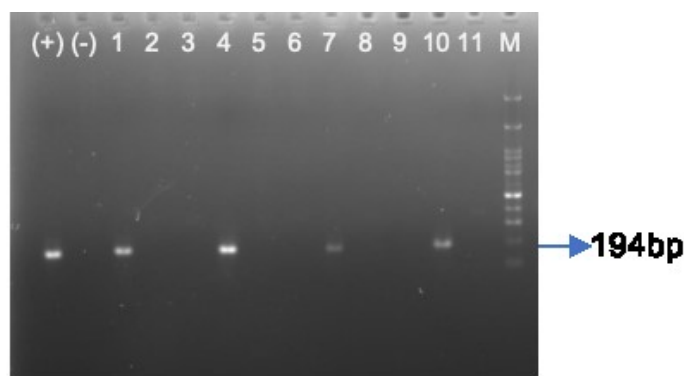
Mầm bệnh	Số mẫu phát hiện	Tỉ lệ (%)
<i>E. coli</i>	5	16,7
<i>Salmonella</i>	2	6,7
<i>Riemerella anatipestifer</i>	6	20,0
<i>E. coli, RA</i>	2	6,7
<i>E. coli, Salmonella</i>	-	-
<i>Salmonella, RA</i>	-	-



Ghi chú: M: Thang ADN chuẩn 100bp (CSL-MDNA Cleaver Scientific, Anh); (+): Vi khuẩn *E. coli* được lưu trữ tại PTN bộ môn (có kích thước 884bp); (-): Đối chứng âm; Giếng 1, 2, 4, 5, 7: Mẫu bệnh phẩm dương tính.

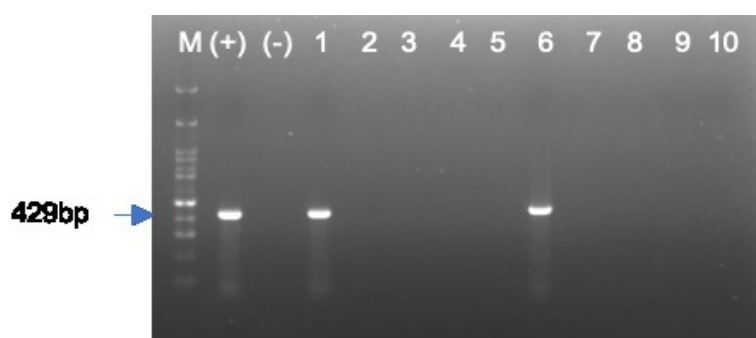
**Hình 3. Kết quả PCR xác định sự có mặt của vi khuẩn *E. coli* trong mẫu bệnh phẩm dương tính Tembusu**





Ghi chú: M: Thang ADN chuẩn 100bp (CSL-MDNA Cleaver Scientific, Anh); (+): Vi khuẩn RA được lưu trữ tại PTN bộ môn (có kích thước là 194bp); (-): Đối chứng âm; Giếng 1, 4, 7, 10: Mẫu bệnh phẩm dương tính.

**Hình 4. Kết quả PCR xác định sự có mặt của vi khuẩn *Riemerella anatipestifer* trong mẫu bệnh phẩm dương tính Tembusu**



Ghi chú: M: Thang ADN chuẩn 100bp (CSL-MDNA Cleaver Scientific, Anh); Vi khuẩn *Salmonella* được lưu trữ tại PTN bộ môn (có kích thước là 429bp); (-): Đối chứng âm; Giếng 1, 6: Mẫu bệnh phẩm dương tính.

**Hình 5. Kết quả PCR xác định sự có mặt của vi khuẩn *Salmonella* trong mẫu bệnh phẩm dương tính Tembusu**

Mặc dù đã có khá nhiều báo cáo về sự đồng nhiễm TMUV với các virus khác ở vịt như Circovirus, Reovirus (Yin & cs., 2023); Cúm gia cầm (H1-H11) và Newcastle (Zhang & cs., 2020); virus Cúm H9, Newcastle, Parvovirus và Circovirus ở vịt (Niu & cs., 2018); tuy nhiên các nghiên cứu về đồng nhiễm vi khuẩn thì còn hạn chế (Liu & cs., 2019). Liu & cs., (2019) đã phát hiện sự có mặt đồng thời của virus Tembusu và vi khuẩn *E. coli* tại 11/26 trang trại vịt ở Trung Quốc, tỉ lệ đồng nhiễm lên tới 73,07%. Nghiên cứu này cũng đưa ra giả thuyết rằng sự xuất hiện của TMUV có thể góp phần tăng tỉ lệ mắc bệnh *E. coli* ở vịt sau khi theo dõi thời gian xuất hiện của bệnh. Virus Tembusu có khả năng thâm nhiễm vào tế bào lympho và phá huỷ hệ thống miễn dịch (Yang & cs., 2021), do đó chúng

tôi suy đoán rằng việc nhiễm TMUV sớm có thể là nguyên nhân quan trọng gây nhiễm trùng kế phát. Đây là một khía cạnh mới mẻ và quan trọng trong việc hiểu về tác động của virus Tembusu và mối quan hệ với vi khuẩn, cung cấp cơ sở để thúc đẩy các nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực này.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã thu thập và phát hiện virus Tembusu từ những đàn vịt nghi ngờ. Tỉ lệ phát hiện virus Tembusu bằng kỹ thuật PCR là 41,1%. Phát hiện sự đồng nhiễm từ một tới hai vi khuẩn trong các mẫu vịt mắc Tembusu với tỉ lệ 43,3%. Tuy nhiên, do dung lượng mẫu còn ít và phạm vi nghiên cứu còn hẹp trên 3 vi khuẩn

nên cần mở rộng phạm vi lấy mẫu và quy mô xét nghiệm để làm rõ mối tương quan giữa các mầm bệnh trên đàn vịt.

## LỜI CẢM ƠN

Các nội dung được thực hiện trong bài báo có sử dụng một phần kinh phí của đề tài khoa học công nghệ cấp Học viện “Nghiên cứu sự đồng nhiễm của virus Tembusu và một số vi khuẩn thường gây bệnh trên đàn vịt nuôi tại một số tỉnh miền Bắc”, mã số T2023-09-39. Tập thể tác giả xin chân thành cảm ơn các hộ chăn nuôi, các cán bộ kỹ thuật đã tạo điều kiện thuận lợi trong quá trình lấy mẫu và thu thập thông tin của nghiên cứu này.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Cao Z., Zhang C., Liu Y., Ye W., Han J., Ma G., Zhang D., Xu F., Gao X. & Tang Y. (2011). Tembusu virus in ducks, China. *Emerging infectious diseases*. 17(10): 1873.
- Chen Y.-P., Huang C.-W. & Lee F. (2023). Complete coding sequence of Tembusu virus isolated from geese in Taiwan in 2020. *Microbiology Resource Announcements*. 12(10): e00256-23.
- Dai Y., Cheng X., Liu M., Shen X., Li J., Yu S., Zou J. & Ding C. (2014). Experimental infection of duck origin virulent Newcastle disease virus strain in ducks. *BMC Vet Res*. 10: 164.
- Đặng Hữu Anh, Nguyễn Văn Giáp & Huỳnh Thị Mỹ Lệ (2020). Một số kết quả nghiên cứu bước đầu về Tembusu virus trên địa bàn Hà Nội. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*. XXVII(1).
- Fàbrega A. & Vila J. (2013). *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* skills to succeed in the host: virulence and regulation. *Clin Microbiol Rev*. 26(2): 308-41.
- 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.
- Kono Y., Tsukamoto K., Abd Hamid M., Darus A., Lian T.C., Sam L.S., Yok C. N., Di K.B., Lim K.T. & Yamaguchi S. (2000). Encephalitis and retarded growth of chicks caused by Sitiawan virus, a new isolate belonging to the genus *Flavivirus*. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 63(1): 94-101.
- Li J., Tang Y., Gao J., Huang C. & Ding M. (2011). *Riemerella anatipestifer* infection in chickens. *ResearchGate*.
- Li N., Hong T., Li R., Guo M., Wang Y., Zhang J., Liu J., Cai Y., Liu S., Chai T. & Wei L. (2016). Pathogenicity of duck plague and innate immune responses of the Cherry Valley ducks to duck plague virus. *Sci Rep*. 6: 32183.
- 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 Vet Res*. 15(1): 362.
- Lisa K. Nolan, Jean-Pierre Vaillancourt, Nicolle L. Barbieri & Logue A.C.M. (2020). *Colibacillosis*. Trong: *Diseases of Poultry*. Wiley-Blackwell.
- Liu C., Diao Y., Wang D., Chen H., Tang Y. & Diao Y. (2019). Duck viral infection escalated the incidence of avian pathogenic *Escherichia coli* in China. *Transboundary and emerging diseases*. 66(2): 929-938.
- 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*. 50(8): 2807-2809.
- Lv C., Li R., Liu X., Li N. & Liu S. (2019). Pathogenicity comparison of duck Tembusu virus in different aged Cherry Valley breeding ducks. *BMC Vet Res*. 15(1): 282.
- Lý Thị Liên Khai & Nguyễn Hiền Hậu (2018). Bệnh bại huyết trên vịt do *Riemerella anatipestifer* gây ra tại tỉnh Bến Tre. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. 54: 90-97.
- Mansour S.M.G., Ali H., Elbakrey R.M., El-Araby I.E., Knudsen D.E.B. & Eid A.a.M. (2018). Co-infection of highly pathogenic avian influenza and duck hepatitis viruses in *Egyptian backyard* and commercial ducks. *Int J Vet Sci Med*. 6(2): 301-306.
- Mosleh N., Dadras H., Asasi K., Taebipour M. J., Tohidifar S. S. & Farjanikish G. (2017). Evaluation of the timing of the *Escherichia coli* co-infection on pathogenicity of H9N2 avian influenza virus in broiler chickens. *Iranian journal of veterinary research*. 18(2): 86.
- Nguyễn Đức Hiền (2009). Bệnh truyền nhiễm trên gia cầm, Chi cục Thú y thành phố Cần Thơ. 272tr.
- Ninvilai P., Nonthabenjawan N., Limcharoen B., Tunterak W., Oraveerakul K., Banlunara W., Amonsin A. & Thontiravong A. (2018). The presence of duck Tembusu virus in Thailand since 2007: A retrospective study. *Transboundary and emerging diseases*. 65(5): 1208-1216.
- Ninvilai P., Tunterak W., Oraveerakul K., Amonsin A. & Thontiravong A. (2019). Genetic characterization of duck Tembusu virus in Thailand, 2015-2017: Identification of a novel cluster. *Transboundary and emerging diseases*. 66(5): 1982-1992.
- Niu X., Wang H., Wei L., Zhang M., Yang J., Chen H., Tang Y. & Diao Y. (2018). Epidemiological



- investigation of H9 avian influenza virus, Newcastle disease virus, Tembusu virus, goose parvovirus and goose circovirus infection of geese in China. *Transboundary and emerging diseases*. 65(2): e304-e316.
- Peng S.-H., Su C.-L., Chang M.-C., Hu H.-C., Yang S.-L. & Shu P.-Y. (2020). Genome analysis of a novel Tembusu virus in Taiwan. *Viruses*. 12(5): 567.
- Platt G., Way H., Bowen E., Simpson D., Hill M., Kamath S., Bendell P. & Heathcote O. (1975). Arbovirus infections in Sarawak, October 1968 - February 1970 Tembusu and Sindbis virus isolations from mosquitoes. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*. 69(1): 65-71.
- Soman M., Nair S. R., Mini M., Mani B. K. & Siju J. (2014). Isolation and polymerase chain reaction-based identification of *Riemerella anatipestifer* from ducks in Kerala, India. *Veterinary World*. 7(10).
- Su J., Li S., Hu X., Yu X., Wang Y., Liu P., Lu X., Zhang G., Hu X. & Liu D. (2011). Duck egg-drop syndrome caused by BYD virus, a new Tembusu-related flavivirus. *PloS one*. 6(3): e18106.
- Trần Thị Hương Giang, Vũ Thị Thu Trà, Bùi Trần Anh Đào & Đồng Văn Hiếu (2023). Xác định sự đồng nhiễm Duck Circovirus và Tembusu virus ở vịt nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Chăn nuôi*. 290.
- Võ Thành Thìn, Đặng Văn Tuấn & Lê Đình Hải (2021). Một số đặc điểm sinh học và khả năng gây bệnh thực nghiệm của vi khuẩn *Riemerella anatipestifer* phân lập từ vịt mắc bệnh nhiễm trùng huyết ở Việt Nam. *Khoa học kỹ thuật Thú y Tập XXVIII Số 9 - 2021*: 29-38.
- Wang H., Gao B., Liu X., Zhang S., Diao Y. & Tang Y. (2020). Pathogenicity of a variant duck orthoreovirus strain in Cherry Valley Ducklings. *Veterinary Microbiology*. 242: 108546.
- Yang S., Huang Y., Shi Y., Bai X., Yang P. & Chen Q. (2021). Tembusu Virus entering the central nervous system caused nonsuppurative encephalitis without disrupting the blood-brain barrier. *J Virol*. 95(7).
- Yin Y., Xiong C., Shi K., Long F., Feng S., Qu S., Lu W., Huang M., Lin C. & Sun W. (2023). Multiplex digital PCR: a superior technique to qPCR for the simultaneous detection of duck Tembusu virus, duck circovirus, and new duck reovirus. *Frontiers in Veterinary Science*. 10.
- Zhang X., Yao M., Tang Z., Xu D., Luo Y., Gao Y. & Yan L. (2020). Development and application of a triplex real-time PCR assay for simultaneous detection of avian influenza virus, Newcastle disease virus, and duck Tembusu virus. *BMC veterinary research*. 16: 1-12.
- Zhu Y., Hu Z., Lv X., Huang R., Gu X., Zhang C., Zhang M., Wei J., Wu Q. & Li J. (2022). A novel Tembusu virus isolated from goslings in China form a new subgenotype 2.1. 1. *Transboundary and emerging diseases*. 69(4): 1782-1793.