

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ HỌC PHÂN TỬ VÀ SỰ LƯU HÀNH CỦA VIRUS CIRCO (DUCV) TRÊN ĐÀN VỊT TẠI TỈNH BẮC GIANG

*Nguyễn Thị Thanh Hải, Trần Đức Hoàn, Nguyễn Việt Dũng, Đoàn Thị Thảo,
Bùi Thị Thương, Trịnh Xuân Đức, Trần Văn Sơn, Nguyễn Thị Loan
Khoa Chăn nuôi Thú y, Trường Đại học Nông Lâm Bắc Giang*

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xác định sự hiện diện của virus Circo gây bệnh cho đàn vịt nuôi trên địa bàn tỉnh Bắc Giang. 640 con vịt nghi mắc bệnh đã được thu thập để xét nghiệm tỷ lệ vịt dương tính với virus Circo, thực hiện phản ứng PCR để xác định và phân tích trình tự gen, xác định các type, giải mã gen và phân tích cây phả hệ nhằm xác định các chủng virus Circo hiện đang lưu hành trên địa bàn nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu cho thấy có 39/640 mẫu dương tính với DuCV (chiếm tỷ lệ 6,09%). Trình tự nucleotide của các chủng virus Circo nghiên cứu so với trình tự nucleotide các chủng tham chiếu trên Ngân hàng Gen có tỷ lệ tương đồng rất cao (98,09-99,55%). Phân tích cây phát sinh loài cho thấy các chủng DuCV phân lập được ở tỉnh Bắc Giang giống với các chủng đã được phân lập ở các nước: Trung Quốc, Hàn Quốc, Mỹ. Nghiên cứu bước đầu đã cho thấy có sự xuất hiện virus Circo trên đàn vịt ở tỉnh Bắc Giang, cũng là đánh dấu sự lưu hành chủng virus này tại các tỉnh phía Bắc Việt Nam. Đây là cơ sở khoa học cho chẩn đoán, phòng và điều trị bệnh Circo virus gây ra ở vịt nuôi ở các tỉnh phía Bắc Việt Nam.

Từ khóa: Vịt, Circo virus, Bắc Giang, lưu hành.

Study on molecular epidemiological characteristics and prevalence of Circo virus (DuCV) in ducks raised in Bac Giang province

*Nguyen Thi Thanh Hai, Tran Duc Hoan, Nguyen Viet Dung, Doan Thi Thao,
Bui Thi Thuong, Trinh Xuan Duc, Tran Van Son, Nguyen Thi Loan*

SUMMARY

This study aimed to identify the molecular epidemiological characteristics and prevalence of Circovirus infected in ducks in Bac Giang province. A total of 640 suspected ducks were sampled and analyzed for the positive rate of duck with Circovirus, PCR assay and sequencing for serotype identification and phylogenetic tree analysis. The studied results indicated that 39/640 duck samples were positive with DuCV (6.09%). The similarity level of nucleotide sequences of the Circovirus in this study in comparison with nucleotide sequences of the Circovirus published in GeneBank was very high (98.09 to 99.55%). The results of phylogenetic tree analysis showed that the serotypes of Circovirus isolated in Bac Giang province were similar with serotypes of Circovirus published in China, Korea and United States. This is initial study indicating the prevalence of Circovirus in ducks raising in Bac Giang province as well as in the northern provinces of Viet Nam. This is also a scientific basis for diagnosis, prevention and treatment of Circovirus disease in duck raising in the northern provinces, Viet Nam.

Keywords: Duck, Circo virus, Bac Giang province, prevalence.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây chăn nuôi gia cầm đang chiếm một vị trí ngày càng quan trọng trong sản xuất nông nghiệp. Trong đó chăn nuôi vịt siêu ngoại và vịt đẻ cũng đang là một trong những hướng phát triển mới cho người

chăn nuôi. Một số giống vịt siêu thịt đã và đang tăng một cách nhanh chóng, theo đó dịch bệnh cũng ngày một gia tăng. Một số bệnh thường hay gặp ở vịt đó là: Derzsy's (Hội chứng lùn và mỏ ngắn), Tembusu (Hội chứng giảm đẻ), Duck Circovirus DuCV (Hội chứng còi cọc),... Trong những dịch bệnh trên phải kể đến DuCV do một

loại virus thuộc họ Circoviridae gây ra, bệnh được phát hiện lần đầu tiên ở một số trang trại nuôi vịt ở Đức (Hattermann *et al.*, 2003), bệnh gây ra các tác hại chủ yếu là rối loạn tình trạng mọc lông và gây ốm, làm suy giảm miễn dịch (Xie *et al.*, 2012), DuCV còn làm tổn thương các mô lympho là nguyên nhân giảm đáp ứng miễn dịch, gây kể phát các mầm bệnh khác (Soike *et al.*, 2004).

Ở Việt Nam, bằng chứng xác định sự hiện diện DuCV ở các tỉnh phía Nam vào năm 2016, phát hiện chủng Circo virus gây bệnh trên vịt (Bùi Hữu Dũng và cs, 2016). Bệnh thường gặp ở vịt giai đoạn tuổi từ 6-8 tuần, bệnh tích được phát hiện chủ yếu ở túi Fabricius, gan, lách, thận và các cơ quan đường hô hấp khác (Duchatel *et al.*, 2006). Trong khuôn khổ của bài báo này, chúng tôi trình bày cập nhật về đặc điểm dịch tễ học phân tử của DuCV lưu hành tại một số huyện thuộc địa bàn Bắc Giang.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Mẫu vịt thu thập từ các trại chăn nuôi vịt

thuộc địa bàn Bắc Giang, được đưa về mổ khám tại phòng thí nghiệm với các triệu chứng lâm sàng điển hình như: còi cọc, chậm lớn, lông phát triển không bình thường, ỉa chảy. Mẫu bệnh phẩm: gan, lách, tim, túi Fabricius, não. Mẫu thu thập được xay nhuyễn và để trong ống EP, bảo quản ở nhiệt độ -80°C đến khi phân tích.

- Hóa chất: tách chiết DNA, PCR, giải trình tự gen đều được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Công ty Thermo của Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp tách chiết DNA

DNA của các mẫu thu thập được pha loãng với dung dịch PBS sau đó sử dụng bộ Kit tách DNA Quick - DNA™ của hãng Thermo (Mỹ).

2.2.2. Phương pháp PCR

DNA sau khi được tách chiết ở trên sẽ được thực hiện phản ứng PCR với thiết kế cặp mồi theo hướng dẫn của Banda, A. *et al* (2007) (bảng 1) và Taq DNA polymera (Thermo biotechnology Co., Ltd) có tổng thể tích 25μl trong đó có 12,5 μl Dream taq, 4μl DNA, 1μl mỗi ngược và 1μl mỗi xuôi, 6,5μl nước PCR Free – nuclease. Chu trình nhiệt phản ứng PCR được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 1. Trình tự đoạn mồi dùng trong chẩn đoán DuCV

Chủng virus	Tên mồi	Trình tự đoạn mồi (5'-3')	Sản phẩm PCR (bp)
DuCV	DuCV-F	ATG GCT GCC CTT GAG	408
	DuCV-R	TCC CGA GTA ACC GTC CCAA C	

Bảng 2. Chu trình nhiệt phản ứng PCR

Giai đoạn	Nhiệt độ (°C)	Thời gian	Số chu kỳ
Tiền biến tính	94	3 phút	35
Biến tính	94	40 giây	
Bắt cặp	60	20 giây	
Kéo dài	72	2 phút	
Kéo dài cuối cùng	72	7 phút	

2.2.3. Phương pháp giải trình tự gen

Sản phẩm PCR tinh sạch được giải trình tự

theo hai chiều (xuôi và ngược) bằng phương pháp Sanger. Toàn bộ bước giải trình tự gen

được thực hiện tại công ty Macrogen (Seoul, Hàn Quốc). Trình tự nucleotide thu được tiếp tục được phân tích bằng chương trình sinh học BioEdit V7.1.3.0 (Hall, 1999).

2.2.4. Phương pháp xây dựng cây phả hệ

Trên cơ sở trình tự gen của các chủng Circovirus lưu hành ở Bắc Giang, chúng tôi tiến hành xây dựng cây phả hệ bằng phương pháp neighbor-joining algorithm. Tree topology được xác định bằng phân tích bootstrap từ dữ liệu neighbor-joining bằng chương trình SEQBOOT và CONSENSE.

2.2.5. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS phiên bản 20.0. Sự khác nhau giữa các nhóm

chỉ tiêu thí nghiệm được phân tích bằng chương trình one-way ANOVA Duncan test (giá trị $p < 0,05$).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định đặc điểm dịch tễ bệnh Circovirus

Trong quá trình điều tra thu thập số liệu tại một số huyện thuộc tỉnh Bắc Giang, chúng tôi được biết nhiều hộ chăn nuôi, trang trại chăn nuôi vịt có một số con bị còi cọc chậm lớn, giảm khả năng miễn dịch (chiếm khoảng 10%). Để khảo sát tìm hiểu có sự lưu hành virus Circo hay không, chúng tôi lấy mẫu và phân tích PCR, 640 con vịt nghi mắc bệnh có 39 con dương tính với DuCV (chiếm tỷ lệ 6,09%). Kết quả được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân tích PCR sự có mặt của virus Circo trong bệnh phẩm của vịt

Địa điểm	Tổng số con theo dõi	Tổng số con mắc bệnh	Tỷ lệ (%)
Việt Yên	160	11	6,87
Hồng Thái	40	4	10 ^{ab}
Tự Lạn	40	3	7,5 ^{ab}
Bích Sơn	40	2	^{ab}
Minh Đức	40	2	5 ^{ab}
Yên Thế	160	14	8,75
Tân Sỏi	40	2	5 ^{ab}
Cầu Gò	40	7	17,5 ^a
Tam Hiệp	40	3	7,5 ^{ab}
Tam Tiến	40	2	^{ab}
Tân Yên	160	8	5
Cao Xá	40	4	10,0 ^{ab}
Quang Tiến	40	0	0 ^b
Lam Cốt	40	3	7,5 ^{ab}
Liên Sơn	40	1	2,5 ^b
Yên Dũng	160	6	3,75
Tiền Phong	40		10,0 ^{ab}
Nội Hoàng	40	1	2,5 ^b
Yên Lư	40	1	2,5 ^b
Nham Sơn	40	0	0 ^b
Tổng số	640	39	6,09

Bảng 3 cho thấy tỷ lệ mắc bệnh Circo virus ở các huyện thuộc tỉnh Bắc Giang không cao, số con mắc nằm rải rác ở các địa phương không tập trung, tỷ lệ chết không cao, chủ yếu là vịt còi cọc, chậm lớn và lông mọc không bình thường, làm giảm hiệu quả kinh tế. Cụ thể tỷ lệ mắc bệnh ở huyện Yên Dũng thấp nhất (3,75%), cao nhất ở Yên Thế (8,75%). Trong quá trình điều tra chúng tôi thấy các hộ chăn nuôi ở Yên Thế không xây dựng quy mô chuồng trại tốt, vệ sinh, chăm sóc nuôi dưỡng kém, đây có thể là nguyên nhân chủ yếu gây ra bệnh ghép làm mức độ nghiêm trọng của bệnh nặng hơn, gây tỷ lệ mắc bệnh cao. Theo kết quả nghiên cứu, DuCV có khả năng lưu hành cao trên đàn vịt ở các nước khác nhau như Đức (46%), Đài Loan (38,2%), Mỹ (6,1%), Trung Quốc (33,3%) (Ban da, 2007; Chen và cs, 2006; Soike và cs, 2004, Xie và cs, 2012). Tại Việt Nam, bệnh xảy ra chưa phổ biến, nghiên cứu đầu tiên phát hiện ở phía Nam, Việt Nam (Bùi Hữu Dũng và cs, 2016) cho thấy tỷ lệ vịt bị mắc DuCV ở các trang trại là 10,81%. Như vậy, tỷ lệ mắc bệnh Circo virus ở vịt của các huyện thuộc tỉnh Bắc Giang thấp hơn kết quả nghiên cứu trên. Theo chúng tôi, có thể các vùng miền khác nhau thì khả năng mắc bệnh cũng khác nhau.

3.2. Kết quả PCR trong chẩn đoán Circo virus ở vịt

Cặp mồi sử dụng cho quy trình PCR phát hiện DuCV được xác định có khả năng hoạt động tốt và hoàn toàn đặc hiệu qua phản ứng PCR (hình 1). Sản phẩm PCR trên gel điện di có kích thước 408bp.

Hình 1 cho thấy 5 mẫu dương tính PCR đều cho vạch sáng, rõ, sản phẩm khuếch tán có kích thước phù hợp (ở >400 bp), không có dương tính giả. Như vậy hoàn toàn phù hợp với thiết kế mồi ở bảng 1. Điều đó cho thấy

có sự hiện diện virus Circo trên đàn vịt nuôi tại địa bàn Bắc Giang.



Hình 1. Sản phẩm PCR của DuCV

Ghi chú: Thang chuẩn DNA 100bp (M), giếng 1,2,3,4,5 các mẫu dương tính với DuCV. Giếng 6 là đối chứng âm tính DuCV

3.3. Đặc điểm tương đồng trình tự nucleotide

Sản phẩm PCR tinh sạch được giải trình tự theo thiết kế mồi (xuôi và ngược) bằng phương pháp Sanger. Kết quả phân tích sự tương đồng trình tự nucleotide giữa chủng nghiên cứu với các chủng tham chiếu được trình bày tại hình 2 và bảng 4.

Kết quả phân tích trình tự nucleotide cho thấy DuCV từ 4 mẫu bệnh phẩm Bắc Giang 1, Bắc Giang 2, Bắc Giang 3, Bắc Giang 4 thu thập được ở huyện thuộc tỉnh Bắc Giang năm 2019 có sự tương đồng với nhau rất cao (100%), không có sự sai khác nào trong vị trí các nucleotide, có thể do địa bàn nghiên cứu trên một tỉnh nên điều kiện tự nhiên như nhau.

Trình tự nucleotide giữa các chủng nghiên cứu với các chủng đã được công bố trên Ngân hàng Gen có mức độ tương đồng từ 98,09-99,55%. Như vậy, kết quả này cho thấy ở cùng khu vực châu Á, các chủng DuCV phân lập được trong nghiên cứu với các chủng đã công bố trên Ngân hàng Gen có sự tương đồng tương đối cao so với các chủng của Trung Quốc thuộc các tỉnh Phúc

Kiến, Quảng Tây, Sơn Đông,... với độ tương đồng từ 98 đến 99%. Đây là những tỉnh gần với

Việt Nam về mặt địa lý, do vậy nguồn virus cũng có thể lây từ Trung Quốc sang Việt Nam.

		*	20		*	40		*	60		*	
Bacgiang2	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAT	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
Guangdong-	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
GX-MDCV-HQ	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
SC-MDCV-KP	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Beijing-HM	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Heilongjia	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Fujian-GQ4	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Taiwan-KP2	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Beijing-HM	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	53
GX-MDCV-KR	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Jiangsu-GU	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
GX-MDCV-KR	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAG	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
Poland-KP9	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-AGCCTA	AAGGGG	GATAGCAA	----	CGGCA	-----	ATGGGT	:	54
Bacgiang3	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAT	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
Taiwan-KP2	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Guangdong-	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAT	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
Bacgiang4	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAT	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
Korea-KC85	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Guangdong-	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAT	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
GD-MDCV-FJ	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAG	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
Fujian-EU3	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Heilongjia	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	AATC	TAGGCGAGCC	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	53
USA-MDCV-N	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	AATC	TAGGCGAGCC	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	53
Newyork119	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGCA	AAGGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	53
Beijing-HM	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
ShandongJS	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Beijing-HM	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Guangxi-JX	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAT	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
FJ-MDCV-GQ	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAT	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
Fujian-HG5	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAG	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
Taiwan-KP2	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Shandong-K	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Korea-KC85	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Fujian-EU4	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAG	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
Taiwan-KP2	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
ShandongDY	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
GX-MDCV-KR	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Bacgiang1	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACCTAT	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
Guangxi-KC	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Guangxi-KC	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Guangxi-KC	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Guangxi-KC	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Guangdong-	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
ShandongLY	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
USA-NC_005	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
FJ-MDCV-GQ	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Heilongjia	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	ACTG	GCGC-AGCA	----	CATCA	-----	ATGGGT	:	53
ShandongJS	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
Taiwan-KP2	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	AATC	TAGGCGAGCC	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	53
TW-MDCV-DQ	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	AATC	TAGGCGAGCC	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	53
TW-MDCV-AY	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	AATC	TAGGCGAGCC	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	53
TW-MDCV-DQ	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	AATC	TAGGCGAGCC	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	53
TW-MDCV-DQ	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCCAGC	AATC	TAGGCGAGCC	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	53
Guangdong-	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGGGCA	AACGGG	GATAGCAA	----	CTGCC	-----	ATGGGT	:	54
FJ-GCV-GU3	:	ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC-GGCTC	TAGGCG	AGCGCAGC	CTCTAGCAG	AAGCCTGATT	ATGGGT	:	77	
		ACCGGCGCT	TGTACTCCGT	ACTCC	gc	cc	acGG	agCa	C	Ca	ATGGG	

Hình 2. So sánh trình tự nucleotide giữa các chủng DuCV trong nghiên cứu với các chủng DuCV tham chiếu khác

Bảng 4. So sánh mức độ tương đồng (%) giữa các chủng Circo virus tham khảo và nghiên cứu

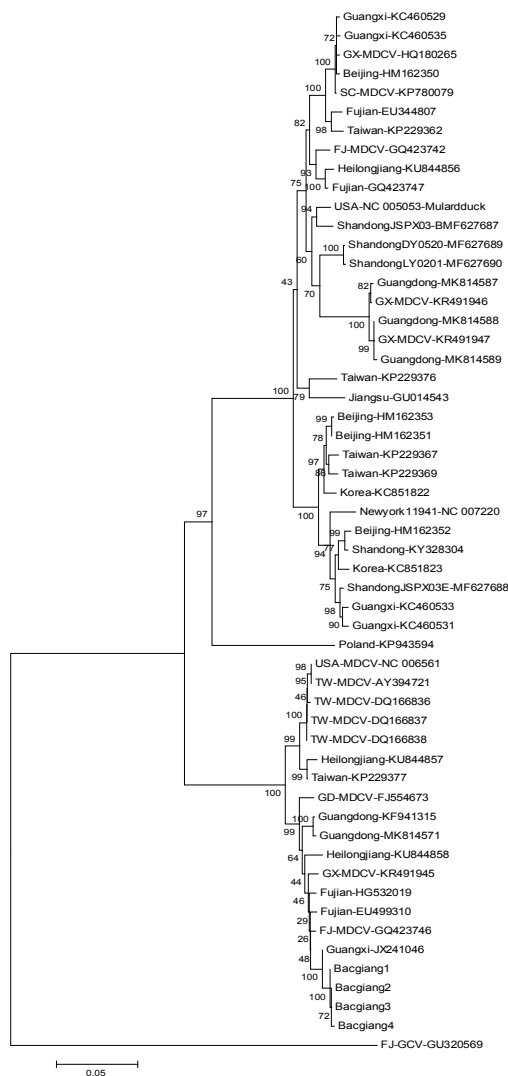
Mã tra cứu	Tên chủng	Tỷ lệ tương đồng (%)
JX241046.1	Duck Circovirus isolate GX1104, complete genome	99,55%
JX241045.1	Duck Circovirus isolate GX1105, complete genome	99,35%
GQ423743.1	Muscovy duck Circovirus isolate FJCL311, complete genome	98,59%
JX499186.1	Muscovy duck Circovirus strain GH01, complete genome	98,54%
GQ423745.1	Muscovy duck Circovirus isolate FJFQ312, complete genome	98,54%
GQ423746.1	Muscovy duck Circovirus isolate FJPT60, complete genome	98,49%
EU499310.1	Duck Circovirus isolate PT07, complete genome	98,44%
GQ423744.1	Muscovy duck Circovirus isolate FJFQ315, complete genome	98,39%
HG532019.1	Duck Circovirus rep gene, isolate Fujian/2010	98,34%
GQ868757.1	Muscovy duck Circovirus isolate FJ0701, complete genome	98,34%
GQ423741.1	Muscovy duck Circovirus isolate FJPT09, complete genome	98,29%
EF370476.1	Muscovy duck Circovirus isolate FJ0601, complete genome	98,24%
GU131343.1	Duck Circovirus isolate WF0804, complete genome	98,19%
GU131341.1	Duck Circovirus isolate WF0802, complete genome	98,09%

3.4. Kết quả xây dựng cây phả hệ các chủng DuCV trong nghiên cứu

Để xác định mối tương quan giữa các chủng Circovirus gây ra ở Bắc Giang với các nước trên thế giới, chúng tôi sử dụng phần mềm BioEdit và DNASTAR (hình 3). Kết quả phân tích cho thấy: Bắc Giang có nguồn gốc DuCV được phân lập gần giống với các chủng của Quảng Tây, Quảng Đông, Hắc Long Giang của Trung Quốc. Các chủng ở các huyện của Bắc Giang thuộc về các nhánh khác nhau của cây phát sinh chủng thì có mức tương đồng như nhau. Đáng chú ý kết quả phân tích cho thấy virus Circo lưu hành ở Bắc Giang được phát hiện lần đầu tiên ở miền Bắc Việt Nam.

Kết quả phân tích cây phả hệ cho thấy tất cả các chủng DuCV trong nghiên cứu này đều thuộc cùng một nhóm, có cùng

nhánh với các chủng DuCV đang lưu hành phổ biến ở các nước thuộc khu vực Đông Nam Á và Mỹ. Nghiên cứu này một lần nữa khẳng định mối quan hệ gần gũi của các chủng DuCV ở Việt Nam với các nước trong khu vực (Banda *et al.*, 2007). Chủng DuCV được phân lập ở tỉnh Bắc Giang có mối quan hệ gần gũi với nhau và với các chủng virus phân lập được ở Mỹ, Hàn Quốc, Trung Quốc. Việc chưa phát hiện các biến chủng mới tại tỉnh Bắc Giang so với các nghiên cứu trước đó có thể do số lượng mẫu trong nghiên cứu này chưa mang tính đại diện, cũng như thiếu các nghiên cứu, điều tra đầy đủ về đặc điểm dịch tễ học phân tử của các chủng DuCV đang lưu hành tại Việt Nam. Trên cơ sở dữ liệu, chúng tôi thấy rằng DuCV ít có sự lây lan giữa các địa phương.



Hình 3. Mối tương quan giữa các chủng DuCV trong nghiên cứu với các nước trên thế giới

IV. KẾT LUẬN

Đây là lần đầu tiên xác định được sự xuất hiện chủng Circo virus ở đàn vịt trên địa bàn tỉnh Bắc Giang, tỷ lệ mắc bệnh 6,09%. Trình tự sắp xếp gen của chủng DuCV thu được có độ tương đồng cao với các chủng tham chiếu trên Ngân hàng Gen (98,09-99,55%). Cây phả hệ cho thấy các chủng DuCV trong nghiên cứu có cùng nguồn gốc với các chủng đã tìm thấy ở một số tỉnh thuộc Trung Quốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hattermann K., Schmitt C., Soike D. and Mankertz A., 2003. Cloning and sequencing of duck Circovirus (DuCV). *Archives of Virology*. 148: 2471-2480.
2. Xie Zhi Xun, Zhang Yan Fang, et al., 2012. Construction and identification of recombinant attenuated DuCV typhimurium oral Riemerella antipestifer vaccine. *China animal husbandry veterinarianery*, 11- 40.
3. Soike D., Albrecht K., Hattermann K., Schmitt C. and Mankertz A., 2004. Novel Circovirus in mulard ducks with developmental and feathering disorders. *Veterinary Record*. 154: 792-793.
4. Bùi Hữu Dũng, Đỗ Tiến Duy, Nguyễn Tất Toàn, Nguyễn Thị Thu Năm, Lê Thanh Hiền, Nguyễn Thị Phước Ninh, 2016. Xác định sự hiện diện duck Circovirus và Riemerella anatipestifer từ các ca bệnh bại huyết trên vịt bằng kỹ thuật PCR. *Tạp chí khoa học kỹ thuật thú y*, số 6, 14-21.
5. Duchatel J P., Todd D., Smyth J A., Bustin JC and Vindecogel H., 2006. Observation on detection, excretion and transmission of pigeon Circovirus in dult, young and embryonic pigeons. *Avian pathology*, 35: 30-34.
6. Banda A., Galloway askins RI., Sandhu TS., Schat KA., 2007. Genetic analysis of duck Circovirus detected in commercial Pekin ducks in New York. *Avian Diseases*, 51: 90-95.

Ngày nhận 12-12-2019

Ngày phản biện 15-1-2020

Ngày đăng 1-3-2020