

## **SỰ LƯU HÀNH CỦA VIRUS GÂY BỆNH THIẾU MÁU TRUYỀN NHIỄM Ở GÀ (CIAV) TẠI HÀ NỘI VÀ VÙNG PHỤ CẬN**

**Đào Đoàn Trang<sup>1\*</sup>, Cao Thị Bích Phượng<sup>2</sup>, Vũ Thị Ngọc<sup>2</sup>,  
Nguyễn Văn Giáp<sup>2</sup>, Huỳnh Thị Mỹ Lệ<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Trung tâm Thực nghiệm và Bảo tồn vật nuôi*

<sup>2</sup>*Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

*Email\*: trangtt911@gmail.com*

Ngày gửi bài: 08.11.2017

Ngày chấp nhận: 20.03.2018

### **TÓM TẮT**

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về bệnh thiếu máu truyền nhiễm và virus gây bệnh. Bài báo này trình bày kết quả nghiên cứu sự hiện diện của virus gây bệnh thiếu máu truyền nhiễm ở gà (chicken infectious anemia virus - CIAV) nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận. Bằng phương pháp PCR, đã xác định được virus lưu hành phổ biến với 92,86% số trang trại và 50,81% số mẫu gà ốm dương tính CIAV. Kết quả phân tích trình tự gen mã hóa capsid protein cho biết: (i) có hai nhóm CIAV (nhóm 2 và nhóm 3) lưu hành ở gà nuôi tại các địa phương lấy mẫu và (ii) các chủng virus thực địa này khác với chủng virus vaccin (chủng Cux-1, P4 và 3711).

Từ khóa: Virus gây bệnh thiếu máu truyền nhiễm, lưu hành, Hà Nội, vùng phụ cận.

### **Prevalence of Chicken Infectious Anemia Virus (CIAV) Circulating in Hanoi and Surrounding Provinces**

#### **ABSTRACT**

Chicken infectious anemia virus (CIAV) and its related disease are well known in all major poultry-producing countries.. This paper reported the results of investigation on the prevalence of CIAV in Hanoi and surrounding provinces. By PCR method, the virus was detected in 92.86% of sampling farms and 50.81% of tested samples. The analyses of capsid protein coding gene revealed two genetic groups (group 2 and 3) of CIAV circulating in investigated areas. It was also demonstrated that all field strains of CIAV differed from the vaccine strains (Cux-1, P4 and 3711).

Keywords: Chicken infectious anemia virus, prevalence, Hanoi, neighboring provinces.

#### **1. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Ức chế miễn dịch (immunosuppression) là trạng thái tạm thời hoặc lâu dài, trong đó khả năng đáp ứng miễn dịch của cơ thể bị ảnh hưởng do tổn thương hệ miễn dịch (Dohms & Saif, 1984). Tình trạng ức chế miễn dịch gây ra nhiều hậu quả như: tăng tỷ lệ chết, giảm tăng trọng (McNulty *et al.*, 1991), giảm hiệu lực của vaccin (Sun *et al.*, 2009) và mở đường cho nhiều bệnh kế phát dễ xảy ra (Subler *et al.*, 2006). Ở gà, có

hai nhóm nguyên nhân dẫn tới hiện tượng ức chế miễn dịch, đó là: (i) nguyên nhân không truyền nhiễm như nuôi dưỡng kém, độc tố nấm mốc trong thức ăn, ... và (ii) nguyên nhân truyền nhiễm, gồm một số loại virus như: Chicken Infectious Anemia Virus (CIAV), Infectious Bursal Disease Virus (IBDV), Marek's Disease Virus (MDV), Avian Leucosis Virus (ALV), Reticuloendotheliosis Virus (REV),... (Balamurugan & Kataria, 2006, Hoerr, 2010, Schonewille *et al.*, 2008, Islam *et al.*,

2002). CIAV (giống Gyrovirus, họ Circoviridae) là một virus thường gặp trong nhóm virus gây ức chế miễn dịch (McNulty, 1991). CIAV có bộ gen là sợi ADN đơn, âm, dạng vòng (MacLachlan & Dubovi, 2017). Bộ gen virus chứa 3 cấu trúc phiên mã mở (ORF), trong đó có 1 gen cấu trúc (ORF1) mã hóa capsid protein VP1 (Noteborn *et al.*, 1991). Gen cấu trúc này có tính đa dạng di truyền cao nhất và thường được dùng trong nghiên cứu đặc điểm dịch tễ học phân tử của CIAV (Ducatez *et al.*, 2006, Rimondi *et al.*, 2014, Olszewska-Tomczyk *et al.*, 2016). Về đặc điểm dịch tễ học, bệnh thiếu máu truyền nhiễm do CIAV gây ra xuất hiện ở hầu hết các nước chăn nuôi gà trên thế giới (Bougiouklis *et al.*, 2007; Toro, 2006; Oluwayelu, 2010). Virus thường gây bệnh thể lâm sàng ở gà dưới 3 tuần tuổi (McIlroy *et al.*, 1992) và thể cận lâm sàng ở gà trên 3 tuần tuổi (Adair, 2000). Ở Việt Nam, mặc dù đã có bằng chứng dương tính huyết thanh học với CIAV ở gà nuôi tại Hà Nội và Hà Nam vào năm 2013 (Trinh *et al.*, 2015), nhưng hướng nghiên cứu về bệnh thiếu máu truyền nhiễm vẫn còn rất mới. Do đó, việc nghiên cứu về bệnh do CIAV gây ra ở Việt Nam là cần thiết. Với các căn cứ nêu trên, nghiên cứu này đã được thực hiện nhằm tìm hiểu sự lưu hành của CIAV ở đàn gà nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận cũng như một số đặc điểm dịch tễ học phân tử của virus phát hiện được.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Nguyên liệu

- Mẫu gộp phủ tạng của gà ốm gồm: tuyến Harder, tuyến ức, túi bursal *Fabricius*, tủy xương, hạch lympho manh tràng; tim, gan, lách, thận. Phạm vi thu mẫu là một số đàn gà chưa được tiêm vaccin phòng bệnh thiếu máu truyền nhiễm nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận.

- Hóa chất dùng tách chiết 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 (PCI,

25:24:1); (iii) isopropyl; (iv) cồn 70%; (v) đệm TE (pH = 8).

- Vật liệu cho phản ứng PCR: (i) cặp môi đặc hiệu dùng phát hiện CIAV (CAVVP3F: TTAAGATGGACGCTCTCCAAGAAGATACT, CAV2: GGCTGAAGGATCCCTCATTC) được tham khảo theo nghiên cứu trước đây (van Santen *et al.*, 2001); (ii) kit PCR (Maxime PCR PreMix i-Taq, iNtRON, Hàn Quốc).

- Hóa chất dùng phân tích sản phẩm PCR gồm: (i) agarose; (ii) redsafe nucleic acid staining solution (20,000x); (iii) 100bp DNA ladder.

- Kit tinh sạch sản phẩm PCR: GeneJET gel extraction kit (Thermo Fisher Scientific)

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Lấy và xử lý mẫu

Do gà nhiễm CIAV thường ở thể cận lâm sàng (Gholami-Ahangaran, 2011, Haridy *et al.*, 2012, Rimondi *et al.*, 2014) nên có thể không biểu hiện triệu chứng điển hình. Cũng do đây là nghiên cứu tương đối mới về CIAV ở nước ta nên mẫu bệnh phẩm đã được lấy từ gà ốm chưa rõ nguyên nhân, thuộc mọi lứa tuổi. Trong quá trình thực hiện, đã có 124 mẫu được thu thập ở 14 trại chăn nuôi. Mẫu được chia thành 3 nhóm (tuần tuổi): < 3, từ 3 - 5 và ≥ 6. Sau khi đồng nhất hoàn nguyên thành huyền dịch 10% trong dung dịch PBS 1x, bảo quản ở nhiệt độ -20°C cho đến khi xét nghiệm.

#### 2.2.2. Tách chiết ADN

ADN tổng số được tách và tinh sạch theo các bước như sau:

(i) Ly giải mẫu: 250 µl huyền dịch mẫu bệnh phẩm được trộn đều trong 500 µl dung dịch sucrose/proteinase K. Ủ ở 56°C/90 phút hoặc 37°C/12 giờ;

(ii) Tách pha ADN: bổ sung 200 µl dung dịch PCI vào ống mẫu sau khi ly giải, Vortex hỗn hợp, ly tâm 12.000 vòng/phút/15 phút ở 4°C;

(iii) Tủa ADN: thu 450 µl dịch nổi phía trên ở bước (ii), trộn đều với 450 µl isopropyl. Tủa ADN ở -20°C/15 phút, ly tâm 12.000 vòng/phút/15 phút ở 4°C;

(iv) Rửa tủa ADN: rửa bằng 1 ml cồn 70% (pha trong nước cất đã xử lý DEPC). Ly tâm 12.000 vòng/phút/15 phút ở 4°C, loại bỏ hết cồn, hong khô ở nhiệt độ phòng trong 15 phút;

(v) Hòa tan tủa ADN: tủa được hòa tan trong 30 µl đệm TE (pH = 8,0).

### 2.2.3. PCR phát hiện CIAV

Phản ứng PCR phát hiện CIAV được thực hiện bằng cặp mồi CAVVP3F/ CAV2 (van Santen *et al.*, 2001) với hiệu chỉnh điều kiện phản ứng: (i) nhiệt độ bắt mồi 58,5°C; (ii) nồng độ cuối cùng 0,5 µM cho mỗi xuôi/ ngược. Phân tích sản phẩm PCR bằng điện di trong thạch agarose 2% có bổ sung thuốc nhuộm ADN (RedSafe) 1x.

### 2.2.4. Giải trình tự gen

Sản phẩm PCR tinh sạch được giải trình tự theo hai chiều (xuôi và ngược) bằng phương pháp Sanger (thực hiện tại công ty 1<sup>st</sup> BASE, Singapore). Trình tự nucleotide sau đó được phân tích bằng chương trình tin sinh học BioEdit v7.1.3.0 (Hall, 1999) trên cơ sở đối chiếu so sánh (i) giữa trình tự nucleotide được giải trình tự theo chiều xuôi và chiều ngược và (ii) với trình tự gen ORF1 tham chiếu công bố trên ngân hàng gen.

### 2.2.5. Phân tích trình tự gen

Nhằm làm rõ mối liên hệ di truyền, 7 chủng CIAV đại diện trong nghiên cứu này được so sánh với (i) 6 chủng CIAV của Việt Nam thu thập năm 2013 (BN1, HN1, VP7- VP10, tương ứng với mã số truy cập từ KP780287- KP780292) và (ii) 3 chủng virus vaccin: Cux-1 (M55918), P4 (AJ890284) và 3711 (EF683159). Các trình tự gen được sắp xếp theo cột (alignment) bằng phần mềm ClustalW tích hợp trong chương trình BioEdit v7.1.3.0 (Hall,

1999). Công cụ Highlighter (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/highlight>) dùng để hiển thị sự sai khác trình tự nucleotide giữa các chủng CIAV thực địa với chủng virus vaccin.

Xây dựng cây phát sinh chủng loại (phylogenetic tree) bằng phương pháp Neighbor-joining (với số bootstrap là 1.000 lần), dựa trên mô hình Kimura-2 parameter mô phỏng sự biến đổi của nucleotide. Phân tích kể trên được thực hiện bởi phần mềm MEGA6 (Tamura *et al.*, 2013). Các chủng CIAV được phân chia thành 3 nhóm di truyền (nhóm 1, 2 và 3a, 3b) dựa theo nghiên cứu đã công bố trước đây (Olszewska-Tomczyk *et al.*, 2016).

### 2.2.6. Xử lý số liệu

Số liệu được tính toán bằng phần mềm Microsoft Excel 2007. Phép thử t (t- test) tích hợp trong phần mềm Minitab 14 dùng kiểm định sự sai khác về tỷ lệ dương tính.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Sự lưu hành CIAV ở gà nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận

#### 3.1.1. Kết quả PCR phát hiện CIAV

Bảng 1 trình bày kết quả PCR phát hiện CIAV trong 124 mẫu bệnh phẩm thu thập ở 14 trang trại.

Trong 124 mẫu gà ốm được kiểm tra, đã phát hiện 63 mẫu dương tính (chiếm tỷ lệ 50,81%). Tổng hợp kết quả theo trang trại cho biết có 13/14 trại có lưu hành CIAV, chiếm tỷ lệ 92,86%. Câu hỏi tiếp theo được đặt ra cho nhóm nghiên cứu là phải xác định virus lưu hành là chủng gây bệnh tự nhiên hay chủng virus vaccin. Trên thực tế, vaccin nhược độc phòng bệnh thiếu máu truyền nhiễm có giấy phép nhập khẩu vào Việt Nam từ năm 2007. Theo

**Bảng 1. Kết quả PCR phát hiện CIAV trong mẫu bệnh phẩm**

Phân nhóm	Số mẫu kiểm tra	Âm tính		Dương tính	
		Số mẫu	Tỷ lệ (%)	Số mẫu	Tỷ lệ (%)
Theo cá thể	124	61	49,19	63	50,81
Theo trang trại	14	1	7,14	13	92,86

thông tư 10/2016/TT-BNNPTNT, hiện có 2 loại vaccin phòng bệnh thiếu máu truyền nhiễm được phép lưu hành là Nobilis CAV P4 (Intervet) và AviPro Thymovac (Lohmann Animal Health GmbH). Theo tìm hiểu của chúng tôi, cho đến nay, người chăn nuôi gà ít biết tới bệnh thiếu máu truyền nhiễm nên đại đa số các cơ sở chăn nuôi (trong đó có 14 trang trại kể trên) không sử dụng vaccin phòng bệnh do CIAV gây ra. Vì vậy, mặc dù kỹ thuật PCR dùng trong nghiên cứu này không phân biệt được chủng virus vaccin và chủng virus gây bệnh nhưng kết quả dương tính CIAV ở gà chưa từng sử dụng vaccin phòng bệnh thiếu máu truyền nhiễm cho thấy 50,81% mẫu gà ốm dương tính CIAV là do nhiễm tự nhiên.

Trên thế giới, đã có nhiều công bố khẳng định CIAV lưu hành với tỷ lệ cao ở gà. Ví dụ, bằng phản ứng PCR đã xác định được 55,40% mẫu dương tính với CIAV tại vùng Ontario (Canada) (Eregae, 2014). Tại Thổ Nhĩ Kỳ, có tới 80% số trang trại kiểm tra dương tính với CIAV với tỷ lệ nhiễm virus trung bình là 55,80% (Hadimli *et al.*, 2008). Trong khi đó, tại Iran, CIAV còn được phát hiện ở gà không có biểu hiện triệu chứng lâm sàng của bệnh thiếu máu truyền nhiễm với tỷ lệ dao động từ 24,58 - 58,40% (Gholami-Ahangaran, 2011, Gholami-Ahangaran, 2012). Cùng với kết quả phát hiện 73,1% mẫu dương tính huyết thanh học với CIAV ở gà thu thập tại Hà Nội và Hà Nam năm 2013 (Trinh *et al.*, 2015), nghiên cứu này góp phần khẳng định CIAV lưu hành phổ biến không chỉ ở đàn gà nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận mà còn ở nhiều nước chăn nuôi gà trên thế giới, trong đó có Việt Nam.

### 3.1.2. Sự lưu hành của CIAV theo lứa tuổi

Bằng phản ứng huyết thanh học, một số nghiên cứu đã phát hiện được CIAV ở gà từ 1 - 43 ngày tuổi (Roussan, 2006) và từ 2 - 6 tuần tuổi (Karimi, 2010). Tuy nhiên, CIAV thường gây bệnh thể lâm sàng cho gà dưới 3 tuần tuổi (McIlroy *et al.*, 1992) và gây bệnh thể cận lâm sàng ở gà trên 3 tuần tuổi (Adair, 2000). Với căn cứ trên, nghiên cứu này đã phân tích sự lưu hành CIAV theo 3 nhóm tuổi (Bảng 2).

Bảng 2 cho biết tỷ lệ mẫu dương tính CIAV cao nhất ở nhóm gà 3 - 5 tuần tuổi (56,94%) và cao hơn so với nhóm gà  $\geq 6$  tuần tuổi (50,00%). Tuy nhiên, sự sai khác này không có ý nghĩa thống kê ( $P > 0,05$ ). Theo khuyến cáo sử dụng vaccin phòng bệnh thiếu máu truyền nhiễm (Nobilis CAV P4), trong mọi trường hợp, không được dùng vaccin cho gà nhỏ hơn 6 tuần tuổi. Do đó, việc phát hiện CIAV ở các đàn gà chưa được tiêm vaccin phòng bệnh thiếu máu truyền nhiễm (Bảng 1) và tỷ lệ dương tính cao ở nhóm gà 3 - 5 tuần tuổi một lần nữa khẳng định CIAV ở đàn gà nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận không phải là các chủng virus vaccin.

Mặc dù CIAV có thể nhiễm cho gà ở mọi lứa tuổi (McNulty, 1991) nhưng nghiên cứu này không phát hiện được CIAV ở nhóm gà  $< 3$  tuần tuổi. Cũng bằng kỹ thuật PCR, một nghiên cứu ở Ấn Độ đã xác định CIAV nhiễm cao nhất ở gà  $< 3$  tuần tuổi (80,30%), tiếp đến là ở gà 3 - 7 tuần tuổi (66,60%) và thấp nhất ở gà 7 - 12 tuần tuổi (25%) (Wani *et al.*, 2013). Khi so sánh tỷ lệ nhiễm CIAV ở nhóm gà  $< 3$  tuần tuổi, kết quả của nghiên cứu này (0%) và nghiên cứu kể trên (80,30%) là trái ngược. Sự tương phản kể trên, theo chúng tôi là do dung lượng mẫu nhỏ của nhóm gà  $< 3$  tuần tuổi (8/124 mẫu xét nghiệm).

**Bảng 2. Sự lưu hành CIAV theo lứa tuổi**

Tuần tuổi	Theo cá thể			Theo trang trại		
	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)	Số trại kiểm tra	Số trại dương tính	Tỷ lệ (%)
< 3	8	0	0	1	0	0
3 + 5	72	41	56,94	6	6	100
$\geq 6$	44	22	50,00	7	7	100
Tổng hợp	124	63	50,81	14	13	92,86

Chính vì hạn chế này, kết quả nghiên cứu hiện thời chưa phản ánh đầy đủ tình hình nhiễm CIAV theo nhóm tuổi. Để làm rõ đặc điểm lưu hành của CIAV theo lứa tuổi ở gà nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận, cần thực hiện các nghiên cứu tiếp theo với dung lượng lớn hơn.

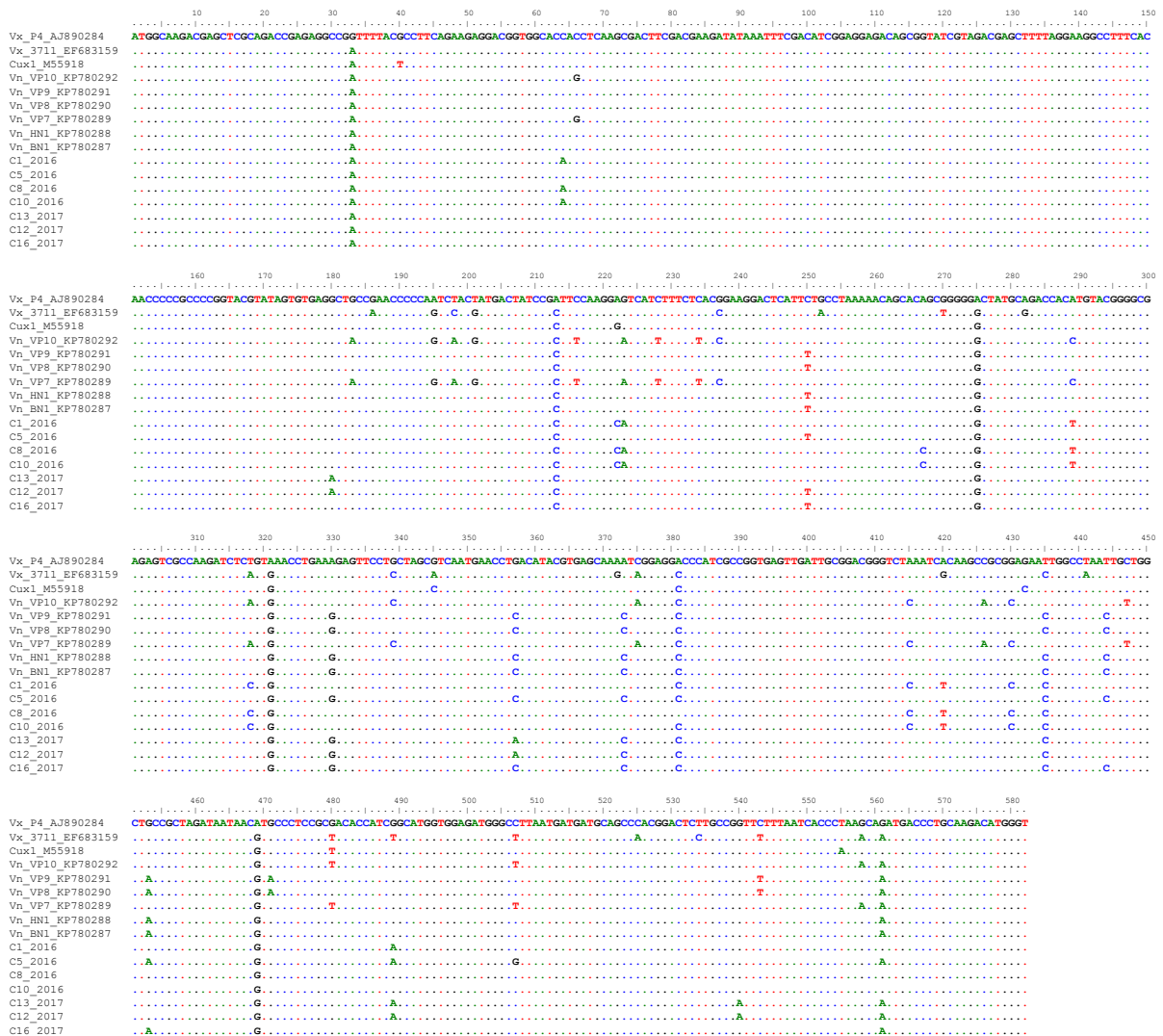
### 3.2. Đặc điểm sinh học phân tử của gen ORF1

#### 3.2.1. Trình tự nucleotide của gen ORF1

Trong số 63 mẫu dương tính CIAV của 13 trang trại, 2 mẫu ngẫu nhiên của một trại được chọn để giải trình tự. Sau khi lược bỏ mẫu có trình tự giống nhau, có 7 trình tự gen đại diện

được giữ lại (Hình 1). Kết quả so sánh trình tự phân đoạn gen ORF1 giữa 7 chủng CIAV thực địa (C1, C5, C8, C10, C12, C13 và C16) cho thấy giữa chúng có mức tương đồng rất cao về trình tự nucleotide (96,7 - 99,8%); có 561/582 (93,39%) vị trí không đột biến nucleotide và 21/582 (3,61%) vị trí đột biến (đa hình nucleotide, polymorphic).

Khi so sánh phân đoạn gen ORF1 (nucleotide 1 - 580) giữa các chủng CIAV của Việt Nam với 3 chủng CIAV dùng sản xuất vacxin phòng bệnh thiếu máu truyền nhiễm, kết quả được trình bày ở hình 2.



Hình 1. Trình tự gen ORF1 của CIAV (nucleotide 1-580)

Ghi chú: Dấu “.” biểu thị các nucleotide giống với trình tự của chủng virus tham chiếu Vx\_P4\_AJ890284



**Hình 2. Kết quả so sánh trình tự phân đoạn gen ORF1**

Ghi chú: 7 chủng CIAV lần lượt được so sánh với 3 chủng virus vaccin. Chủng P4 và Cux-1 có trong các vaccin tương ứng là Nobilis CAV P4 và AviPro Thymovac. Chủng 3711 được xác định là chủng virus vaccin qua thông tin truy cập ngân hàng gen (EF683159). Vị trí có trình tự khác so với chủng vaccin tham chiếu được biểu thị bằng màu tương ứng với nucleotide sai khác.

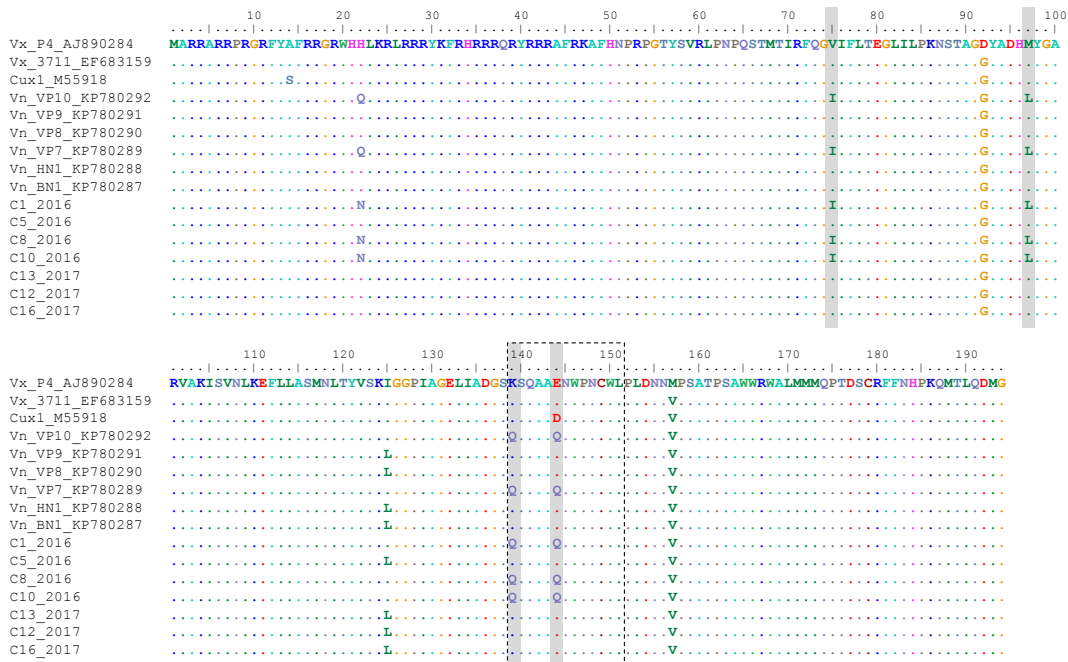
Đối với 7 chủng CIAV của nghiên cứu này (đóng khung nét đứt, hình 2), kết quả cho thấy trong khoảng nucleotide 1 - 200, chúng có mức tương đồng cao với 3 chủng virus vaccin (chỉ sai khác ở 3 vị trí đối với chủng Cux-1 hoặc P4 và ở 7 vị trí đối với chủng 3711). Tuy nhiên, sự sai khác tập trung trong khoảng nucleotide 201-582: có đến 24 đột biến điểm khi so sánh với chủng Cux-1 hoặc P4; và 32 đột biến điểm khi so sánh với chủng 3711. Tính chung trên chiều dài phân đoạn gen ORF1 được so sánh (582 nucleotide), 7 chủng CIAV này sai khác từ 4,64 - 6,70% so với 3 chủng virus vaccin. Nhận xét tương tự cũng được rút ra về đặc điểm đột biến

trong khoảng nucleotide 1 - 200 và 201- 582 khi so sánh 6 chủng CIAV của Việt Nam năm 2013 (BN1, HN1, VP7-VP10) với 3 chủng virus vaccin (Hình 2).

### 3.2.2. Trình tự amino acid của capsid protein

Với CIAV, capsid protein có trình tự amino acid đặc trưng theo nhóm di truyền: của nhóm 1 hoặc nhóm 3 là  ${}_{75}V_{97}M_{139}K_{144}E/K/N$  và của nhóm 2 là  ${}_{75}I/T_{97}L_{139}Q_{144}Q$  (Ducatez *et al.*, 2008). Vì vậy, nghiên cứu này tiếp tục phân tích trình tự amino acid của các chủng CIAV để làm rõ đặc điểm trên (Hình 3).

Sự lưu hành của virus gây bệnh thiếu máu truyền nhiễm ở gà (CIAV) tại Hà Nội và vùng phụ cận



**Hình 3. Trình tự amino acid suy diễn của một phần protein VP1**

Ghi chú: Các vị trí amino acid đặc trưng được đánh dấu màu xám. Đóng khung là vùng siêu biến đổi (amino acid 139-151) của protein VP1. Dấu “.” biểu thị các amino acid giống với trình tự tham chiếu Vx\_P4\_AJ890284

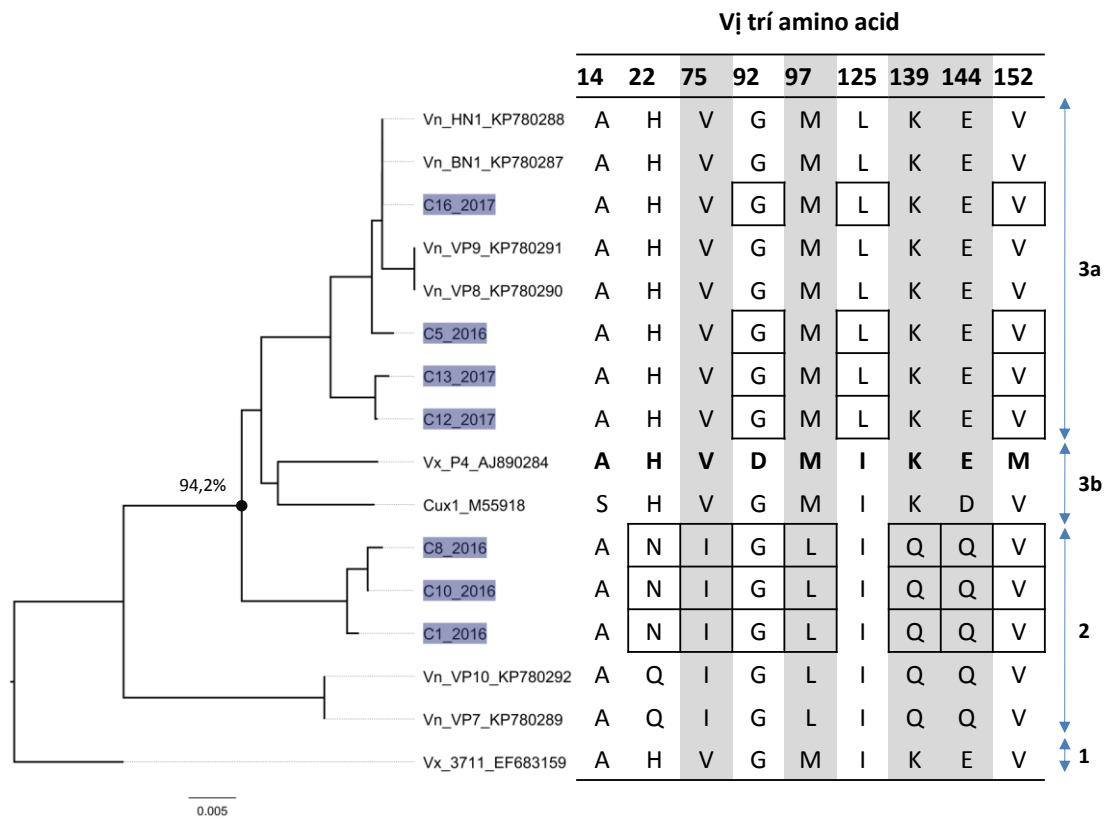
Phân tích trình tự amino acid suy diễn (vị trí 1 - 194 của protein VP1) của 7 chủng CIAV đại diện cho biết sự tương đồng rất cao (giống nhau ở 188/194 vị trí). Đối với trình tự amino acid đặc trưng, có 4 chủng (C5, C12, C13 và C16) mang trình tự amino acid  $75V_{97}M_{139}K_{144}E$  là đặc trưng của nhóm 1 hoặc nhóm 3; 3 chủng còn lại (C1, C8 và C10) mang trình tự amino acid  $75I_{97}L_{139}Q_{144}Q$  là đặc trưng của nhóm 2. Như vậy, dự đoán có ít nhất hai nhóm di truyền của CIAV lưu hành ở gà tại các địa điểm lấy mẫu. Ở 4 vị trí amino acid đặc trưng về nhóm di truyền, 2 vị trí nằm ở vùng siêu biến đổi. Một số nghiên cứu trước đây cho biết vùng siêu biến đổi có ảnh hưởng tới độc lực của CIAV (Renshaw *et al.*, 1996, Yamaguchi *et al.*, 2001). Vì vậy, cần tiếp tục nghiên cứu phân lập virus và đánh giá độc lực của các chủng CIAV lưu hành ở Việt Nam.

**3.2.3. Cây phát sinh chủng loại của CIAV dựa vào gen ORF1**

Bằng phân tích cây phát sinh chủng loại và sự sai khác trình tự amino acid của capsid

protein VP1, sự khác biệt giữa 7 chủng CIAV của nghiên cứu này với 3 chủng virus vaccin và 6 chủng CIAV của Việt Nam (công bố năm 2013) được làm rõ ở hình 4.

Giống như một số nghiên cứu đã công bố (Olszewska-Tomczyk *et al.*, 2016, Snoeck *et al.*, 2012), cây phát sinh chủng loại dựa vào một phần trình tự gen ORF1 (Hình 4) cho biết CIAV có thể chia thành 3 nhóm. Trong đó, 100% chủng virus lưu hành ở Việt Nam thuộc về nhóm 2 và 3. Đáng chú ý, 7/7 chủng CIAV của nghiên cứu này không nằm chung nhánh với các chủng virus vaccin (chủng P4, Cux-1 và 3711). Thêm vào đó, kết quả so sánh trình tự amino acid với chủng virus vaccin (P4) cho biết: (i) 4 chủng CIAV thực địa trong nghiên cứu này (chủng C5, C12, C13 và C16) có 3 vị trí sai khác và (ii) 3 chủng (C1, C8 và C10) có 7 vị trí sai khác (đóng khung, Hình 2). Như vậy, các kết quả trình bày ở trên cho thấy: (i) có hai nhóm di truyền của CIAV lưu hành ở gà nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận, (ii) các chủng virus này khác với chủng virus vaccin phòng bệnh thiếu máu



**Hình 4. Cây phát sinh chủng loại (phylogenetic tree) của CIAV dựa vào gen ORF1**

Ghi chú: Dựa vào các chủng tham chiếu đã biết nhóm di truyền, CIAV được chia thành nhóm 1, nhóm 2 và nhóm 3 (phân nhóm 3a, 3b). Giá trị bootstrap tại các nút (node) của cây phát sinh chủng loại được hiển thị cho phân nhánh chính. Bảng đính kèm liệt kê các vị trí có thay đổi amino acid được mã hóa, trong đó các vị trí amino acid đặc trưng nhóm di truyền được đánh dấu màu xám. Những vị trí amino acid có sai khác giữa 7 chủng CIAV trong nghiên cứu này với chủng virus vacxin P4 được đóng khung.

truyền nhiễm. Các kết quả thu được của nghiên cứu này góp phần làm rõ thêm sự lưu hành rất phổ biến và đa nhóm di truyền của CIAV ở Việt Nam và ở các nước trên thế giới (Kim *et al.*, 2010, Snoeck *et al.*, 2012, Wani *et al.*, 2013, van Santen *et al.*, 2001).

#### 4. KẾT LUẬN

CIAV lưu hành phổ biến ở đàn gà nuôi tại Hà Nội và vùng phụ cận với 92,86% số trang trại và 50,81% số gà ốm kiểm tra dương tính CIAV.

7 chủng CIAV năm 2016 - 2017 thuộc về 2 nhóm di truyền là nhóm 2 và nhóm 3. Các chủng này khác với chủng virus vacxin phòng bệnh thiếu máu truyền nhiễm.

#### LỜI CẢM ƠN

Tập thể tác giả xin chân thành cảm ơn dự án Việt- Bỉ năm 2017 (mã số 04/DAVB) đã tài trợ kinh phí cho nghiên cứu này.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adair, B. M. (2000). Immunopathogenesis of chicken anemia virus infection. *Dev Comp Immunol.*, 24, 247-255.
- Balamurugan, V. and J. M. Kataria (2006). Economically Important Non-oncogenic Immunosuppressive Viral Diseases of Chicken-Current Status. *Veterinary Research Communications*, 30: 541-566.
- Bougiouklis, P. A., M. Sofia, G. Brellou, I. Georgopoulou, C. Billinis and I. Vlemmas (2007). A clinical case of chicken infectious anemia disease and virus DNA



- detection in naturally infected broilers in Greece. *Avian Dis.*, 51: 639-642.
- Dohms, J. E. and Y. M. Saif, (1984). Criteria for evaluating immunosuppression. *Avian Dis.*, 28: 305-310.
- Ducatez, M. F., H. Chen, Y. Guan and C. P. Muller (2008). Molecular epidemiology of chicken anemia virus (CAV) in southeastern Chinese live birds markets. *Avian Dis.*, 52: 68-73.
- Ducatez, M. F., A. A. Owoade, J. O. Abiola and C. P. Muller (2006). Molecular epidemiology of chicken anemia virus in Nigeria. *Arch Virol.*, 151.
- Eregae, M. E. (2014). The Epidemiology of chicken anaemia virus, fowl adenovirus, and infectious bursal disease virus. Ontario broiler flocks, p. 350. Guelph, Ontario, Canada.
- Gholami-Ahangaran, M., Momtaz, H., Zia-Jahromi, N. and Momeni, M. (2011). Genomic detection of the chicken anaemia virus from apparently healthy commercial broiler chickens in Iran. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 162: 604-606.
- Gholami-Ahangaran, M. a. Z.-J., N. (2012). Serological and molecular identification of subclinical chicken anaemia virus infection in broiler chickens in Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 6: 4471-4474.
- Hadimli, H. H., O. Erganis, L. Guler and U. S. Ucan (2008). Investigation of chicken infectious anemia virus infection by PCR and ELISA in chicken flocks. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 32: 79-84.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, 41: 95-98.
- Haridy, M., J. Sasaki, M. Ikezawa, K. Okada and M. Goryo (2012). Pathological and immunohistochemical studies of subclinical infection of chicken anemia virus in 4-week-old chickens. *J Vet Med Sci.*, 74.
- Hoerr, F. J. (2010). Clinical aspects of immunosuppression in poultry. *Avian Dis.*, 54: 2-15.
- Islam, A. F., C. W. Wong, S. W. Walkden-Brown, I. G. Colditz, K. E. Arzey and P. J. Groves (2002). Immunosuppressive effects of Marek's disease virus (MDV) and herpesvirus of turkeys (HVT) in broiler chickens and the protective effect of HVT vaccination against MDV challenge. *Avian Pathol.*, 31: 449-461.
- Karimi, I., Mahzounieh, M., Bahadoran, S. and Azad, F. (2010). Chicken anemia virus infection in broiler chickens in Shahrekord, Iran: Serological, hematological, and histopathological findings. *Comparative Clinical Pathology*, 19: 63-67.
- Kim, H. R., Y. K. Kwon, Y. C. Bae, J. K. Oem and O. S. Lee (2010). Molecular characterization of chicken infectious anemia viruses detected from breeder and broiler chickens in South Korea. *Poult Sci.*, 89: 2426-2431.
- MacLachlan, N. J. and E. J. Dubovi (2017). Chapter 13 - Circoviridae and Anelloviridae. *In: Dubovi E. J. (Ed.), Fenner's Veterinary Virology (Fifth Edition)*, pp. 259-268. Academic Press, Boston.
- McIlroy, S. G., M. S. McNulty, D. W. Bruce, J. A. Smyth, E. A. Goodall and M. J. Alcorn (1992). Economic effects of clinical chicken anemia agent infection on profitable broiler production. *Avian Dis.*, 36: 566-574.
- McNulty, M. S., (1991). Chicken anaemia agent: a review. *Avian Pathol.*, 20: 187-203.
- McNulty, M. S., S. G. McIlroy, D. W. Bruce and D. Todd (1991). Economic effects of subclinical chicken anemia agent infection in broiler chickens. *Avian Dis.*, 35: 263-268.
- Noteborn, M. H., G. F. de Boer, D. J. van Roozelaar, C. Karreman, O. Kranenburg, J. G. Vos, S. H. Jeurissen, R. C. Hoeben, A. Zantema, G. Koch *et al.* (1991). Characterization of cloned chicken anemia virus DNA that contains all elements for the infectious replication cycle. *J Virol.*, 65: 3131-3139.
- Olszewska-Tomczyk, M., E. Swieton, Z. Minta and K. Smietanka (2016). Occurrence and phylogenetic studies of chicken anemia virus from Polish broiler flocks. *Avian Dis.*, 60: 70-74.
- Oluwayelu, D. O. (2010). Diagnosis and epidemiology of chicken infectious anemia in Africa. *African Journal of Biotechnology*, 9: 2043-2049.
- Renshaw, R. W., C. Soine, T. Weinkle, P. H. O'Connell, K. Ohashi, S. Watson, B. Lucio, S. Harrington and K. A. Schat (1996). A hypervariable region in VP1 of chicken infectious anemia virus mediates rate of spread and cell tropism in tissue culture. *J Virol*, 70: 8872-8878.
- Rimondi, A., S. Pinto, V. Olivera, M. Dibarbora, M. Perez-Filgueira, M. I. Craig and A. Pereda (2014). Comparative histopathological and immunological study of two field strains of chicken anemia virus. *Vet Res.*, 45: 102.
- Roussan, D. A. (2006). Serological survey on the prevalence of chicken infectious anemia virus in commercial broiler chicken flocks in Northern Jordan. *International Journal of Poultry Science*, 5: 544-546.
- Schonewille, E., A. Singh, T. W. Gobel, W. Gerner, A. Saalmuller and M. Hess (2008). Fowl adenovirus (FAdV) serotype 4 causes depletion of B and T cells in lymphoid organs in specific pathogen-free chickens following experimental infection. *Vet Immunol Immunopathol.*, 121: 130-139.
- Snoeck, C. J., G. F. Komoyo, B. P. Mbee, E. Nakoune, A. Le Faou, M. P. Okwen and C. P. Muller (2012). Epidemiology of chicken anemia virus in Central African Republic and Cameroon. *Virol J.*, 9: 189.

- Subler, K. A., C. S. Mickael and D. J. Jackwood (2006). Infectious bursal disease virus-induced immunosuppression exacerbates *Campylobacter jejuni* colonization and shedding in chickens. *Avian Dis.*, 50: 179-184.
- Sun, S., Z. Cui, J. Wang and Z. Wang (2009). Protective efficacy of vaccination against highly pathogenic avian influenza is dramatically suppressed by early infection of chickens with reticuloendotheliosis virus. *Avian Pathol.*, 38: 31-34.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipinski and S. Kumar (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol.*, 30: 2725-2729.
- Toro, H., S. Ewald and F. J. Hoerr (2006). Serological evidence of chicken infectious anemia virus in the United States at least since 1959. *Avian Diseases*, 50: 124-126.
- Trinh, D. Q., H. Ogawa, V. N. Bui, T. T. Nguyen, D. Gronsang, T. Baatartsogt, M. K. Kizito, M. AboElkhair, S. Yamaguchi, V. K. Nguyen and K. Imai (2015). Development of a blocking latex agglutination test for the detection of antibodies to chicken anemia virus. *J Virol Methods*, 221: 74-80.
- van Santen, V. L., L. Li, F. J. Hoerr and L. H. Lauerman (2001). Genetic characterization of chicken anemia virus from commercial broiler chickens in Alabama. *Avian Dis.*, 45: 373-388.
- Wani, M. Y., K. Dhama, R. Barathidasan, V. Gowthaman, R. Tiwari, P. Bhatt, N. K. Mahajan, M. M. Chawak, S. D. Singh and J. M. Kataria (2013). Molecular detection and epidemiology of chicken infectious anaemia virus in India. *South Asian Journal of Experimental Biology*, 3: 145-151.
- Yamaguchi, S., T. Imada, N. Kaji, M. Mase, K. Tsukamoto, N. Tanimura and N. Yuasa (2001). Identification of a genetic determinant of pathogenicity in chicken anaemia virus. *J Gen Virol.*, 82: 1233-1238.