



PHÂN BIỆT CHỦNG VIRUS GÂY BỆNH GUMBORO TRÊN ĐÀN GÀ VỚI CHỦNG VIRUS VACCINE QUÁ VÙNG SIÊU BIẾN ĐỔI GEN VP2 Ở TRÀ VINH

Trần Ngọc Bích¹, Nguyễn Văn Lộc², Ngô Phú Cường³ và Nguyễn Phúc Khanh¹

¹Khoa Nông nghiệp & Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

²Chi Cục quản lý chất lượng Nông Lâm Thủy sản Trà Vinh

³Trường Cao đẳng Đồng Tháp

Thông tin chung:

Ngày nhận: 20/07/2015

Ngày chấp nhận: 26/02/2016

Title:

Detection and differentiation of isolated infectious bursal disease (IBD) viruses collected from chickens in Tra Vinh province with IBD vaccine strains based on the VP2 hypervariable region

Từ khóa:

Gumboro, Fabricius, Gà, Vaccine, gen VP2, tỉnh Trà Vinh

Keywords:

Gumboro, Fabricius, Broiler, Vaccine, VP2gene, Tra Vinh province

ABSTRACT

A total of twenty bursa samples were collected from 16 outbreaks of suspected IBD in Tra Vinh province. Identification and differentiation of viruses were performed using conventional reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and sequencing particular VP2 hypervariable gene followed by a comparative sequence analysis with an appropriate database. In the present study, all suspected samples were positive with IBDV. Phenogenetic analysis based on VP2 hypervariable region showed that the IBDV isolates had high identity to most virulent strains in Viet Nam and China such as G202, GPT, GT1ST and GTG25 (Viet Nam) and QX110609, WM12061 and Xin1 (China). The IBDV isolates had the highest identity to virus strain of vaccine Medivac Gumboro A-Medion (Indonesia) (97.9% identity). IBDV isolates also had close sequence relationship (90.4%, 91.8% and 95.2% identity) with virus strains of vaccine Gumboro Navetco (Viet Nam), BUR-706(France), and IBD BLEN (US), respectively.

TÓM TẮT

Tổng số 20 mẫu bệnh phẩm (túi Fabricius) được thu thập từ 16 đàn gà bệnh trong tỉnh (những đàn có triệu chứng và bệnh tích đặc trưng của bệnh Gumboro). Phân tích di truyền cho thấy tất cả các mẫu đều dương tính với virus gây bệnh Gumboro (infectious bursal disease virus). Vật liệu di truyền của virus được sử dụng để xác định trình tự chuỗi nucleotide của vùng siêu biến đổi gen VP2, sau đó những trình tự này được so sánh với trình tự của 04 mẫu virus vaccine đang sử dụng tại Trà Vinh.

Kết quả cho thấy sự khác biệt về di truyền của chủng virus đang lưu hành với một số chủng virus vaccine như sau: dựa vào trình tự gen và phân tích phá hệ di truyền cho thấy các mẫu phân lập thuộc phân nhóm có độc lực cao và có quan hệ gần với các chủng virus cường độc khác của Việt Nam (G202, GPT, GT1ST, GTG25) và Trung Quốc (QX110609, WM12061, Xin1). Mức độ tương đồng về amino acid của chủng virus đang lưu hành với mẫu virus vaccine Gumboro Navetco – Việt Nam là 90,4%, với vaccine BUR-706 của MÈRIAL – PHÁP là 91,8%, và với vaccine IBD BLEN của MÈRIAL – MỸ là 95,2%, đặc biệt tương đồng cao với mẫu virus vaccine Medivac Gumboro A của Medion – Indonesia (97,9%). Kết quả này chứng tỏ vaccine Medivac Gumboro A của Medion – Indonesia có khả năng bảo hộ cao hơn 3 loại vaccine còn lại.

Trích dẫn: Trần Ngọc Bích, Nguyễn Văn Lộc, Ngô Phú Cường và Nguyễn Phúc Khanh, 2016. Phân biệt chủng virus gây bệnh gumboro trên đàn gà với chủng virus vaccine qua vùng siêu biến đổi gen VP2 ở Trà Vinh. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 42b: 29-37.

1 ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus gây bệnh Gumboro (IBDV) thuộc chi Avibirnavirus, họ Birnaviridae (Murphy *et al.*, 1999). Các chủng virus được chia thành 2 type huyết thanh (McFerran *et al.*, 1980). Serotype 1 bao gồm 6 subtypes có phạm vi rộng về độc lực từ gây bệnh cho đến rất độc cho gà (Jackwood and Saif, 1987). Những virus thuộc serotype 2 thì không gây bệnh (Cummings *et al.*, 1986).

Tùy thuộc vào mức độ độc lực mà người ta chia các virus thuộc serotype 1 ra thành 4 nhóm chính: nhóm cường độc, nhóm cổ điển, nhóm biến đổi và nhóm nhược độc (Wu *et al.*, 2007).

Gumboro là một trong những bệnh truyền nhiễm nguy hiểm trên gà. Hiện nay, mặc dù có nhiều loại vaccine phòng bệnh nhưng bệnh vẫn thường xuyên xảy ra. Do đó, mục tiêu được đặt ra của nghiên cứu này là xác định chủng virus gây bệnh ở tỉnh Trà Vinh và lựa chọn vaccine phòng bệnh phù hợp.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Đối tượng nghiên cứu

Đàn gà nuôi thả vườn nghi mắc bệnh Gumboro tại tỉnh Trà Vinh

Dụng cụ, hóa chất và vaccine dùng trong thí nghiệm

Máy giải trình tự ABI PRISM® 3730XL Analyzer, Máy PCR Agilent SureCycler 8800, Bộ điện di năm ngang Minis 150VS và bộ nguồn.

Các hóa chất, bộ kit dùng trong phản ứng RT-PCR.

Các loại vaccine dùng trong nghiên cứu:
Vaccine 1: Gumboro Navetco – Việt Nam; Vaccine 2: BUR-706 của Merial – Pháp; Vaccine 3: Medivac Gumboro A của Medion – Indonesia; Vaccine 4: IBD BLEN của Merial – Mỹ.

Phương pháp nghiên cứu

So sánh chủng virus gây bệnh ngoài thực địa với chủng vaccine thông qua lấy mẫu bệnh phẩm để tiếp tục xét nghiệm trong phòng thí nghiệm bằng phản ứng RT-PCR.

Cặp mồi được sử dụng trong phản ứng RT-PCR là GF-GR:

Mồi xuôi: 5'-CCAGAGTCTACACCATA-3'

Mồi ngược: 5'-GATCCTGTTGCCACTCTTTC-3'

Phương pháp xử lý số liệu:

Sử dụng chương trình Blast để truy cập và xác định bằng cách so sánh với trình tự chuỗi DNA của các chủng IBDV đã được công bố trong ngân hàng gen. Trình tự chuỗi amino acid được chuyển đổi bằng phần mềm DNAClub và chương trình SeqVerter (<http://www.genestudio.com>). Trình tự nucleotid và amino acid suy diễn được phân tích so sánh bằng phần mềm BioEdit 7.1.9.0 (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>).

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả xét nghiệm mầm bệnh trong phòng thí nghiệm

Để khẳng định một cách chắc chắn rằng những đàn gà khảo sát đã mắc bệnh Gumboro, chúng tôi tiến hành xác định sự có mặt của một đoạn gen của hệ gen IBDV trong mẫu tử Fabricius được thu thập từ các đàn gà nghi mắc bệnh Gumboro, đó chính là đoạn gen ở vùng siêu biến đổi của gen VP2 bằng phản ứng RT-PCR, sử dụng cặp mồi GF-GR, đây là cặp mồi đặc hiệu được sử dụng trong chẩn đoán phân tử bệnh Gumboro, cho sản phẩm RT-PCR có độ dài khoảng 0.47 kb (Hình 1).

Kết quả phân tích cho thấy đoạn gen trên đã được phát hiện trong tất cả các mẫu bệnh phẩm thu thập tại các ổ dịch trong tỉnh (Bảng 1). Do đó, có thể kết luận rằng 100% các mẫu thí nghiệm dương tính với virus bệnh Gumboro và kết quả này phù hợp với chẩn đoán lâm sàng thông qua những triệu chứng bệnh-tích đặc trưng của bệnh Gumboro trên đàn gà mắc bệnh.

Từ kết quả ở Bảng 1 và Hình 1 có thể kết luận biểu hiện triệu chứng và bệnh tích của những đàn gà bệnh Gumboro ở Trà Vinh là khá rõ nét, vì vậy tất cả các mẫu xét nghiệm đều cho kết quả dương tính với phản ứng RT-PCR. Điều này có thể khẳng định bệnh Gumboro đang xảy ra ở nhiều địa bàn trong tỉnh và có thể ở Trà Vinh đang lưu hành một dòng virus IBDV có độc lực cao.

Bảng 1: Kết quả xác định virus Gumboro từ 20 mẫu bệnh phẩm của 16 đàn gà bệnh

Địa điểm	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương tính	Tỉ lệ %
Càng Long	05	05	100
Tiểu Cần	04	04	100
Cầu Kè	04	04	100
Cầu Ngang	04	04	100
TP. Trà Vinh	03	03	100
Tổng	20	20	100

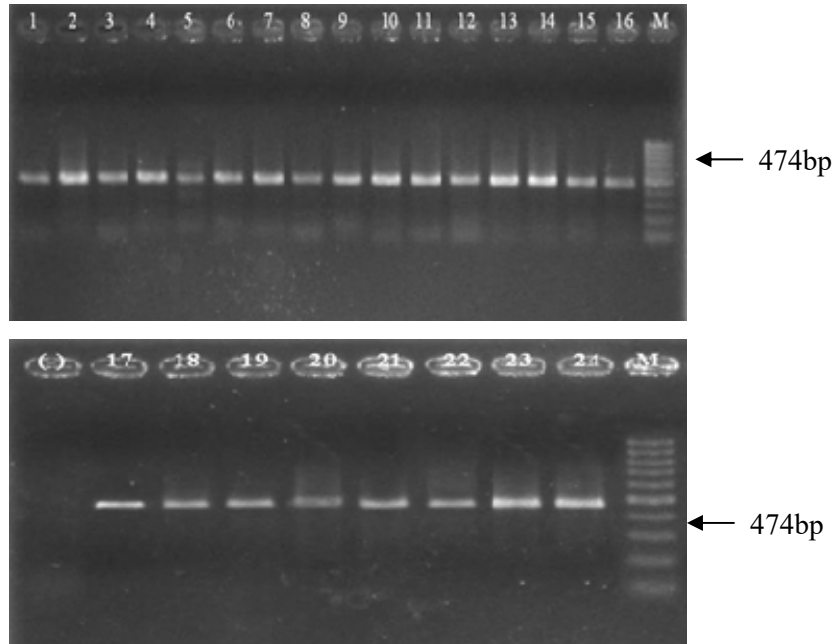
3.2 Kết quả so sánh virus chủng thực địa với chủng virus vaccine

3.2.1 Kết quả thực hiện RT-PCR

Kết quả thực hiện phản ứng RT-PCR của 20 mẫu bệnh và 4 mẫu vaccine được trình bày trong Hình 1.

Qua Hình 1, chúng ta nhận thấy trong 20 mẫu

bệnh phẩm và 4 loại vaccine dùng trong nghiên cứu đều có chứa đoạn gen ở vùng siêu biến đổi của gen VP2 của virus gây bệnh Gumboro với kích thước 474bp. Hình 1 cho thấy đoạn gen mục tiêu có kích thước 474bp thu được sau phản ứng RT-PCR là các băng gọn, rõ ràng, không bị đứt gãy, tập trung thành một phân đoạn đủ độ sạch để tiến hành giải trình tự.



Hình 1: Kết quả điện di sản phẩm RT-PCR nhân đoạn gen VP2 kích thước 474bp

<u>Ghi chú:</u>	9:	CLTV 01B	18:	TCTV 01B	
1:	CKTV 01	10:	CLTV 01A	19:	TCTV 02
2:	CLTV 02	11:	TPTV 03	20:	TCTV 03
3:	CLTV 03	12:	TPTV 02	21:	Gumboro Navetco
4:	CLTV 04	13:	CNTV 01A	22:	Bur – 706
5:	CKTV 02A	14:	CNTV 01B	23:	Medivac Gumboro A
6:	CKTV 02B	15:	CNTV 02	24:	IBD BLEN
7:	TPTV 01	16:	CNTV 03	M:	Marker
8:	CKTV 03	17:	TCTV 01A	(-):	Đối chứng âm

3.2.2 Kết quả giải trình tự, phân tích so sánh Aa và Nucleotide của các mẫu nghiên cứu

Sản phẩm của phản ứng RT-PCR (Hình 1) được sử dụng làm nguyên liệu cho quá trình giải trình tự trên máy giải trình tự tự động ABI PRISM® 3730XL Analyzer (Hình 2).

Hình 2 cho thấy mẫu đã được giải trình tự rõ ràng, mỗi đỉnh màu của giản đồ (chromatogram) đều xác định một loại nucleotide, chứng tỏ chuỗi nucleotide ở vùng siêu biến đổi của gen kháng

nguyên VP2 thu nhận sau quá trình giải trình tự có chất lượng tốt.

Trình tự đoạn gen 441 nucleotide (từ vị trí 628 - 1068) ở vùng siêu biến đổi của gen VP2 thu thập từ 20 mẫu IBDV tại thực địa được phân tích và so sánh với 04 loại virus vaccine phòng bệnh Gumboro đang sử dụng phổ biến tại địa phương bằng chương trình DNAClub và SeqVerter; sau đó phân tích so sánh bằng chương trình BioEdit 7.1.9.0. Kết quả phân tích được trình bày qua Bảng 2.



Hình 2: Giản đồ (chromatogram) một phần trình tự vùng siêu biến đổi gen kháng nguyên VP2

Ghi chú: Các nucleotide đánh dấu huỳnh quang ở ddNTPs khi đọc bằng tia laser cho hiển thị qua vi tính thì Adenine có màu xanh lá cây, Thymine có màu đỏ, Guanine có màu đen và Cytosine có màu xanh nước biển

Bảng 2: Sai khác về Aa tại các vị trí quan trọng có vai trò quyết định tính kháng nguyên và độc lực của IBDV tại đoạn gen VP2

Phân nhóm	Các vị trí amino acid biến đổi quan trọng								
	222	242	253	256	279	284	294	299	329
Độc lực yếu	P	V	H	V	N	T	L	N	R
Vaccine 1	P	V	H	V	N	T	L	N	A
Vaccine 2	P	V	H	V	N	T	L	N	A
Độc lực vừa	P/T	V	Q	V	D/N	A	L	N	R
Vaccine 4	P	V	Q	V	D	A	I	N	A
Độc lực cao	A	I	Q	I	I	A	I	S	A
Vaccine 3	A	I	Q	I	N	A	I	S	A
CKTV01	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CKTV02A	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CKTV02B	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CKTV03	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CLTV01A	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CLTV01B	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CLTV02	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CLTV03	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CLTV04	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
TPTV01	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
TPTV02	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
TPTV03	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CNTV01A	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CNTV01B	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CNTV02	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
CNTV03	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
TCTV01A	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
TCTV01B	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
TCTV02	A	I	Q	I	D	A	I	S	A
TCTV03	A	I	Q	I	D	A	I	S	A

Kết quả so sánh độc lực của 20 chủng virus thực địa và 4 chủng virus vaccine phòng bệnh IBDV được trình bày ở Bảng 2. Qua Bảng 2 cho thấy hai mẫu virus vaccine 1 và 2 chỉ sai khác duy nhất 1 amino acid ở vị trí 329 khi đối chiếu với motif của virus có độc lực yếu chúng tỏ 2 mẫu

vaccine này chứa chủng virus có độc lực thấp; ở motif của virus có độc lực trung bình bắt đầu có sự biến đổi Aa ở vị trí 253 từ Histidine (H) thành Glutamine (Q), sự thay đổi này tác dụng làm tăng độc lực của virus (Jackwood *et al.*, 2008) và khi so sánh mẫu vaccine 4 với motif này thì có sai khác ở

2 Aa ở vị trí 294 và 329; trong khi đó mẫu vaccine 3 và các mẫu virus thu thập được từ thực địa chỉ sai khác duy nhất 1 Aa ở vị trí 279 khi đối chiếu với motif có độc lực cao chứng tỏ đây là các chủng virus cường độc. Mặt khác, khi đối chiếu giữa mẫu virus vaccine 3 và các mẫu thực địa thì cũng chỉ sai khác ở vị trí Aa này qua đó cho thấy mẫu virus vaccine 3 tương đồng cao với mẫu thực địa về tính kháng nguyên-miễn dịch.

3.2.3 Phân tích tương đồng về nucleotide và amino acid

a. Tương đồng về nucleotide và Aa của các mẫu virus thực địa và mẫu vaccine

Đoạn gen 441 nucleotide mã hóa cho 147 Aa vùng siêu biến đổi ở gen VP2 của các mẫu virus thu thập được từ thực địa và 04 mẫu virus vaccine được đưa vào chương trình Bioedit để phân tích mức độ tương đồng về nucleotide và Aa giữa các nhóm độc lực với nhau (Bảng 3).

Kết quả phân tích Bảng 3 cho thấy giữa hai mẫu vaccine thuộc nhóm độc lực yếu (vaccine 1 và vaccine 2) với nhau có tỉ lệ tương đồng về nucleotide và amino acid khá cao lần lượt là 98% và 97%. Trái lại khi đối chiếu với các mẫu virus thực địa thì hai mẫu vaccine này có mức độ tương đồng thấp (tương đồng về nucleotide từ 91% đến 93%, tương đồng về Aa từ 90% đến 92%). Khi so sánh mẫu virus vaccine 4 và các mẫu virus thực địa

thì có mức độ tương đồng khá hơn 2 mẫu vaccine 1 và 2, cụ thể tương đồng về nucleotide từ 92% đến 94%, về amino acid là 95%. Trong các mẫu virus vaccine, thì vaccine 3 có mức độ tương đồng cao nhất với các mẫu virus thực địa: 96% đến 98% về nucleotide và 98% về amino acid.

Giữa các mẫu virus thuộc nhóm độc lực cao với nhau tỉ lệ tương đồng là khá cao. Trong các mẫu virus thực địa với nhau mức độ tương đồng nucleotide và amino acid là rất cao: từ 98%-100% về nucleotide và đồng nhất hoàn toàn về amino acid. Điều này một lần nữa khẳng định các mẫu virus thu thập được thuộc cùng một nhóm kháng nguyên có độc lực cao (cùng serotype).

Từ kết quả so sánh trên có thể đi đến nhận xét rằng: tính hiệu quả của vaccine phòng bệnh Gumboro trên đàn gà ở Trà Vinh sắp xếp theo thứ tự giảm dần từ vaccine 3 đến vaccine 4 đến vaccine 2 và cuối cùng là vaccine 1.

Vaccine 3 là loại vaccine hiệu quả nhất trong 4 loại vaccine phòng bệnh nhưng trong quá trình sử dụng cần phải thận trọng và tuyệt đối tuân thủ hướng dẫn của nhà sản xuất vì đây là loại vaccine chứa chủng virus có độc lực cao.

Vaccine 1 là loại vaccine kém hiệu quả nhất, thực tế khảo sát cho thấy nhiều đàn gà được phòng bệnh bằng vaccine 1 nhưng bệnh vẫn xảy ra. Nhưng đây là loại vaccine rất an toàn khi sử dụng.

Bảng 3: Tỷ lệ (%) tương đồng về nucleotide (trên đường chéo) và amino acid (dưới đường chéo) của các mẫu IBDV trong nghiên cứu

TT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
1	98	95	93	91	91	91	92	91	91	91	92	91	91	92	91	91	92	92	91	92	92	92	92	91	92
2	97	96	94	92	93	93	93	92	92	92	92	93	92	92	92	92	92	93	92	92	93	92	92	92	92
3	94	95	94	92	93	93	94	93	93	93	93	94	94	93	93	93	93	94	93	94	94	94	94	93	94
4	91	93	95	96	98	98	98	97	97	97	98	98	98	97	97	97	98	98	97	98	98	98	98	97	98
5	90	92	95	98	98	98	98	98	98	97	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98
6	90	92	95	98	100	100	100	99	99	99	99	99	99	99	98	98	98	98	98	98	99	100	100	98	100
7	90	92	95	98	100	100	100	99	99	99	99	99	99	98	98	98	98	98	98	98	99	100	100	98	100
8	90	92	95	98	100	100	100	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
9	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	98	99	98	99	99	99	99	99	99	99	99	99	98	99	98
10	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	98	99	98	99	99	99	99	99	99	99	99	99	98	99	98
11	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	99	99	99	98	98	98	98	98	98	98	99	99	99	98	99
12	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	99	99	99	98	98	98	98	98	98	98	99	99	99	99	99
13	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	99	98	98	98	98	98	98	98	99	99	99	99	99
14	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98
15	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98
16	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98
17	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98	98
18	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
19	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
20	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
21	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
22	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
23	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99
24	90	92	95	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99

- Ghi chú:
- 1: Vaccine 1
 - 2: Vaccine 2
 - 3: Vaccine 4
 - 4: Vaccine 3
 - 5: CKTV01
 - 6: CKTV02A
 - 7: CKTV02B
 - 8: CKTV03
 - 9: CLTV01A
 - 10: CLTV01B
 - 11: CLTV02
 - 12: CLTV03
 - 13: CLTV04
 - 14: TPTV01
 - 15: TPTV02
 - 16: TPTV03
 - 17: CNTV01A
 - 18: CNTV01B
 - 19: CNTV02
 - 20: CNTV03
 - 21: TCTV01A
 - 22: TCTV01B
 - 23: TCTV02
 - 24: TCTV03

b. Tương đồng về nucleotide và Aa của các mẫu virus trong nghiên cứu với một số chủng virus IBDV khác của Việt Nam và thế giới

Theo nghiên cứu của Lê Thị Kim Xuyên (2010) đã xác định đặc tính độc lực và nguồn gốc của một số chủng virus ở Việt Nam như Bảng 4.

Bảng 4: Phân nhóm độc lực virus tại Việt Nam

Phân nhóm	Chủng virus	Nguồn gốc
Độc lực thấp	Cu1	Châu Âu, Châu Mỹ
	D78	
Độc lực vừa	GSG4	Sài Gòn - VN
	GSG16	Sài Gòn - VN
	BDG23	Bình Dương - VN
	GTG25	Tiền Giang - VN
Độc lực cao	GTG	Tiền Giang - VN
	GT1ST	Sóc Trăng - VN
	GPT	Hà Nội - VN
	G202	Hà Nội - VN
	GBD	Bình Dương - VN
	HK46	Hong Kong - TQ

Kết quả phân tích tương đồng về chuỗi nucleotide và amino acid ở đoạn gen trên của các mẫu virus trong nghiên cứu với một số chủng khác của Việt Nam và thế giới (Bảng 5) cho thấy: các mẫu virus thu thập được từ thực địa có mức độ tương đồng về nucleotide khá cao từ 95,4% đến 97,9% với một số chủng khác của Việt Nam và châu Á (GTG25, GZ-96, Xin1, SDH1, G202, GPT, GT1ST, QX110609, WM12061) từ đó dẫn đến mức độ tương đồng amino acid cao với các chủng này, cụ thể: tương đồng 99,3% với các chủng GTG25 (Tiền Giang), GZ-96 (Singapore), Xin1

(Trung Quốc) và SDH1 (Malaysia); đặc biệt đồng nhất hoàn toàn với các chủng G202, GPT (Hà Nội), GT1ST (Sóc Trăng) và QX110609, WM12061 (Trung Quốc) mà đây là những chủng virus có độc lực cao. Điều này một lần nữa khẳng định chủng virus đang lưu hành ở Trà Vinh là loại có độc lực cao và có thể có quan hệ nguồn gốc với các tỉnh lân cận (Sóc Trăng, Tiền Giang) và Trung Quốc.

Một mức độ tương đồng cao về nucleotide và amino acid khi đối chiếu mẫu virus vaccine 4 với chủng GSG16 và BDG23 với tỉ lệ lần lượt là 98,6% và 99,7% về nucleotide; 99,3% và 100% về Aa. Những chủng virus này được ghi nhận là có độc lực trung bình do đó có thể thấy được mẫu virus vaccine 4 là loại có độc lực trung bình.

Trong 04 mẫu vaccine thì mẫu virus vaccine 3 có mức độ tương đồng về Aa với những chủng virus có độc lực cao ở Việt Nam và châu Á nhất: tương đồng 97,9% với các chủng G202, GPT, GT1ST, QX110609, WM12061 và các mẫu virus thực địa tương đồng 98,6% với các chủng GZ 96, Xin1 và SDH1. Kết quả này chứng tỏ đây là vaccine chứa chủng virus có độc lực cao và có thể đây là loại vaccine khá hiệu quả với những nơi bệnh Gumboro xảy ra thường xuyên và lưu hành dòng virus có độc lực cao, như tại Trà Vinh.

Mẫu virus vaccine 1 và 2 tương đồng Aa khá cao với các chủng virus nhược độc khác trên thế giới (châu Âu, châu Mỹ) như BursaG, GA-1, D78 với tỉ lệ từ 96,5% - 99,3%; đồng thời có tương đồng thấp hơn với các chủng cường độc (Việt Nam, Trung Quốc) như G202, GTG25, GT1ST, QX110609, WM12061 với tỉ lệ từ 90,4% - 91,8%.

Bảng 5: Tương đồng về nucleotide (trên đường chéo) và Aa (dưới đường chéo) của các mẫu IBDV trong nghiên cứu và một số chủng khác ở Việt Nam và thế giới

TT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
1	98	93	95	91	91	92	92	92	91	91	94	91	95	91	98	91	98	95	91	98	92	98	92	92	92	90	90	93	92
2	97	94	96	92	92	93	92	92	92	92	95	92	96	92	99	92	99	96	92	100	93	100	93	93	93	91	91	94	93
3	91	93	94	97	96	98	98	97	97	95	98	95	98	95	98	94	96	94	94	98	94	98	94	98	98	96	97	98	98
4	94	95	95	93	92	94	94	94	93	93	99	93	97	97	93	95	93	96	100	93	96	93	96	94	94	92	92	93	94
5	90	92	98	95	98	98	98	98	98	97	93	97	94	97	93	96	93	93	97	92	92	96	92	96	96	95	96	96	97
6	90	92	98	95	100	98	98	98	98	97	93	97	93	97	92	95	92	92	97	92	92	95	92	96	96	95	96	96	96
7	90	92	98	95	100	100	99	99	99	99	94	98	95	98	93	97	93	94	98	93	96	93	97	97	97	97	97	97	97
8	90	92	98	95	100	100	100	98	99	94	98	94	98	93	97	93	93	93	93	98	92	97	92	98	97	96	97	97	98
9	90	92	98	95	100	100	100	100	98	93	97	94	97	92	96	92	93	93	97	92	92	96	92	97	96	96	96	96	97
10	90	92	98	95	100	100	100	100	100	93	98	94	98	92	96	92	93	93	97	92	92	96	92	97	97	96	96	97	98
11	94	95	95	100	95	95	95	95	95	95	94	97	94	95	93	96	98	93	95	94	95	94	95	94	95	92	93	94	94
12	90	92	98	95	100	100	100	100	100	95	97	97	94	100	93	98	93	93	100	92	97	92	92	98	98	98	98	98	98
13	94	95	96	97	97	97	97	97	97	97	97	97	97	94	96	93	96	97	94	96	94	96	95	95	95	93	93	94	95
14	90	92	98	95	100	100	100	100	100	95	100	97	97	93	98	93	93	93	100	92	97	92	98	98	98	98	98	98	98
15	97	98	93	95	93	93	93	93	93	93	95	93	96	93	92	92	99	95	93	99	93	99	93	93	93	91	92	94	93
16	90	91	97	95	99	99	99	99	99	99	95	99	96	99	92	92	92	92	92	92	92	95	92	97	96	96	96	96	96
17	97	98	93	96	93	93	93	93	93	93	96	93	96	93	97	92	96	93	93	99	93	99	93	93	93	91	92	93	93
18	93	95	94	99	95	95	95	95	95	95	99	95	97	95	94	94	95	95	95	93	96	93	96	94	93	91	92	93	94
19	90	92	98	95	100	100	100	100	100	95	100	97	100	93	99	93	93	95	95	92	96	92	97	97	97	98	98	98	97
20	98	99	93	96	93	93	93	93	93	93	96	93	96	93	99	92	99	95	93	93	93	100	93	93	93	91	91	94	93
21	92	93	97	94	97	97	97	97	97	97	94	97	95	97	94	96	94	93	97	94	94	93	93	98	98	95	95	98	98
22	97	99	93	96	93	93	93	93	93	93	96	93	96	93	98	92	99	95	93	99	94	93	93	93	93	91	91	94	93
23	91	93	99	96	99	99	99	99	99	99	96	99	97	99	93	99	93	95	99	93	97	93	93	93	93	96	96	98	99
24	91	93	99	96	99	99	99	99	99	99	96	99	97	99	93	99	93	95	99	93	97	93	93	100	99	96	96	98	99
25	90	92	98	95	100	100	100	100	100	95	100	97	100	93	99	93	93	95	100	93	97	93	93	99	99	99	99	96	96
26	90	92	98	95	100	100	100	100	100	95	100	97	100	93	99	93	93	95	100	93	97	93	99	99	99	100	99	96	96
27	93	94	97	95	97	97	97	97	97	97	95	97	95	97	94	97	93	93	94	97	95	97	94	98	98	97	97	97	98
28	91	93	99	96	99	99	99	99	99	99	96	99	97	99	93	99	93	93	95	99	93	97	93	100	100	99	99	98	98

Ghi chú:

- 1: Vaccine 1
- 2: Vaccine 2
- 3: Vaccine 3
- 4: Vaccine 4
- 5: TPTV01
- 6: CKTV01
- 7: CNTV03
- 8: TCTV01A
- 9: TCTV02
- 10: CLTV02
- 11: BDG23
- 12: G202
- 13: 52-70
- 14: GPT
- 15: D78
- 16: GTG25
- 17: CS-2-35
- 18: GSG16
- 19: GT1ST
- 20: VIBursag
- 21: OKYMT
- 22: GA-1
- 23: GZ-96
- 24: Xin-1
- 25: QX110609
- 26: WM12061
- 27: NB
- 28: SDH1

4 KẾT LUẬN

Các mẫu virus thu thập được ở Trà Vinh thuộc cùng một nhóm và đây là nhóm virus cường độc. Đồng nhất hoàn toàn với các chủng độc lực cao ở Việt Nam (G202, GPT, GT1ST) và Trung Quốc (QX110609, WM12061) qua phân tích thành phần amino acid của vùng siêu biến đổi VP2 của virus gây bệnh Gumboro.

Trong 4 mẫu vaccine thì vaccine 3 có mức độ tương đồng cao nhất về nucleotide và amino acid với các mẫu thực địa, kế đến là mẫu vaccine 4, rồi đến vaccine 2 và cuối cùng là vaccine 1.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Cummings, T.S., C.T. Broussard, R.K. Page, S.G. Thayer and P.D. Lukert, 1986. Infectious bursal disease virus in turkeys. *Vet. Bulletin*, 56: 757-762.

Jackwood, D.J. and J.M. Saif, 1987. Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses. *Avian Dis*, 31: 766-770.

Jackwood, D.J., B. Sreedevi, L.J. Lefever and S.E. Sommer-wagner, 2008. Studies on naturally occurring infectious bursal disease viruses suggest that a single amino acid substitution at position 253 in VP2 increase pathogenicity. *Virology*, 377(1): 110-116.

Hồ Thị Việt Thu, 2012. Tình hình bệnh Gumboro trên các giống gà thả vườn tại tỉnh

Hậu Giang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, số 22a: 25-32.

Lê Thanh Hoà, 2002. Đặc tính phân tử của các chủng virus Gumboro cường độc Việt Nam qua khảo sát chuỗi gen kháng nguyên VP2. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật thú y*, số 4-2002: 6-14.

Lê Thị Kim Xuyên, 2010. Giải mã phân đoạn A hệ gen các chủng virus Gumboro phân lập ở Việt Nam nhằm cung cấp nguồn gen cho nghiên cứu vaccine thế hệ mới. Luận án tiến sĩ nông nghiệp ngành Vi sinh vật học thú y. Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội. Hà Nội.

McFerran, J.B., N.S. McNulty and E.R. McKillop, 1980. Isolation and serological studies with infectious bursal disease viruses from fowl, turkeys and ducks. Demonstration of a second serotype. *Avian Pathol*, 9: 395-404.

Murphy, F.A., E.P.J. Gibbs, M.C. Horzinek and M.J. Studdert, 1999. Birnaviridae. In: *Veterinary Virology*, 3rd edition. Academic Press. Orlando, 1999. 629 pages.

Wu, C.C., P. Rubinelli and T.L. Lin, 2007. Molecular detection and differentiation of infectious bursal disease virus. *Avian Dis*, 51(2): 515-526.

<http://www.genestudio.com>

<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>