

# Nghiên cứu khoa học

## GIÁM SÁT SỰ LƯU HÀNH CỦA VIRUS VIÊM NÃO NHẬT BẢN Ở LỢN NUÔI TẠI HUYỆN GIA LÂM, THÀNH PHỐ HÀ NỘI

*Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Hữu Nam, Nguyễn Thị Thu Hằng,  
Lê Thị Dung, Nguyễn Hồng Thái, Hoàng Cảnh Lâm, Trần Thị Vân Anh  
Khoa thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

### TÓM TẮT

Phương pháp RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) được ứng dụng để kiểm tra sự có mặt của virus viêm não Nhật Bản (VNNB) trong các mẫu huyết thanh lợn thu thập trên địa bàn huyện Gia Lâm, Thành phố Hà Nội và để tìm hiểu vai trò của lợn trong chu trình truyền bệnh trong tự nhiên. Kết quả nghiên cứu 80 mẫu huyết thanh lợn thu thập được cho thấy tỷ lệ mẫu huyết thanh dương tính với VNNB là 6,25% (5/80 mẫu). Trình tự nucleotide của đoạn gen prM của các chủng virus VNNB nghiên cứu có kích thước là 563 bp và mức độ tương đồng của chúng với nhau là 99,29% - 99,82%, và mức độ tương đồng về acid amin của các chủng dao động từ 98,27% - 100,0%. 5 chủng virus VNNB nghiên cứu có cùng nguồn gốc phát sinh với các chủng virus viêm não Nhật Bản, Hàn Quốc và Trung Quốc đã phân lập trước đây và thuộc về genotype 1. Kết quả của nghiên cứu này đã góp phần chỉ ra tình hình nhiễm bệnh VNNB trên lợn ở huyện Gia Lâm, Hà Nội, và đưa ra biện pháp phòng, khống chế có hiệu quả bệnh VNNB ở lợn.

*Từ khóa:* Lợn, Viêm não Nhật Bản, RT-PCR, Hà Nội

### Survey on circulation of Japanese encephalitis virus in pigs in Gia Lam district, Ha Noi City

*Nguyen Thi Lan, Nguyen Huu Nam, Nguyen Thi Thu Hang,  
Le Thi Dung, Nguyen Hong Thai, Hoang Canh Lam, Tran Thi Van Anh*

### SUMMARY

RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) method was applied to detect the presence of Japanese encephalitis virus (JEV) in the pig serum samples collecting from Gia Lam district and to investigate the role of pig in the natural infection cycle. The studied result showed that 6.25% (5/80) of the serum samples was positive with JEV. The length of prM gene of the studied JEV strains was 563 nucleotides and the similarity rate of them was from 99.29% to 99.82%; and the similarity rate on amino acid of them ranged from 98.27% to 100.0%. The studied result on the phylogenetic tree showed that five isolated JEV strains were the same origin with the previous isolation strain from Japan, Korea and China, all of them belonged to genotype 1. The results of this study contributed to show the infected situation of JEV in pig in Gia Lam district and to give the method in controlling JEV disease in pig.

*Keywords:* Pig, Japan encephalitis, RT-PCR, Ha Noi City

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, chăn nuôi lợn là một trong những ngành quan trọng hàng đầu cung cấp nguồn thực phẩm cho xã hội. Tuy nhiên, bên cạnh sự phát triển về số lượng và quy mô thì ngành chăn nuôi lợn đang phải liên tục đối mặt với các bệnh dịch nguy hiểm như: lở mồm long móng, hội chứng rối loạn hô hấp và sinh sản,... gây ra những thiệt hại lớn về kinh tế cũng như cho phát triển chăn nuôi lợn ở nước ta. Bên cạnh đó có rất nhiều bệnh truyền lây nguy hiểm giữa lợn và người như: bệnh xoắn khuẩn, bệnh viêm não Nhật Bản, bệnh trực cầu khuẩn,... Trong đó, virus viêm não Nhật Bản (VNNB) là một trong số virus gây viêm não lây truyền qua muỗi, nguy hiểm nhất trên người. Hằng năm, trên thế giới ước tính có từ 30000 - 50000 trường hợp mắc, trong đó có 10000 - 15000 ca chết (Ghosh và cs., 2009; Saxena, 2008). Viêm não do virus VNNB đặc biệt quan trọng vì thường là viêm não cấp, tỷ lệ tử vong có thể lên đến 30% và khoảng 50% bệnh nhân sống sót bị di chứng thần kinh. Ở nước ta, từ năm 1960 bệnh có chiều hướng gia tăng và trở thành một vấn đề nghiêm trọng đối với sức khỏe cộng đồng (Đỗ Quang Hà và cs., 1994). Ở Việt Nam, các ca viêm não trên người thường ở dạng viêm não cấp tính, và ở miền Nam Việt Nam có 1,9 ca mắc trong 100.000 người trong giai đoạn 1998 - 2007, với tỷ lệ trung bình các ca tử vong là 6,4% (Yen NT và cs., 2010). Do tính chất nguy hiểm nên bệnh không chỉ là mối quan tâm lớn của Ngành Y tế mà đối với cả Ngành Thú y... Bệnh viêm não Nhật Bản là bệnh truyền lây từ động vật sang người do Flavivirus gây ra. Trong tự nhiên, virus được duy trì và truyền lây qua chu trình bao gồm muỗi (chủ yếu là muỗi Culex), chim và động vật có vú. Lợn được coi là động vật cảm nhiễm cao nhất và là ký chủ chính cho sự nhân lên của virus VNNB. Ở những vùng có bệnh lưu hành, virus gây rối loạn sinh sản (chết phôi, thai khô, thai chết và vô sinh) trên lợn.

Theo kết quả khảo sát trong nghiên cứu của Hồ Thị Việt Thu và cộng sự (2007) thì có tới 10/11 loài động vật nuôi và hoang dã ở Cần Thơ

nh nhiễm virus VNNB, trong đó có thể heo là loài động vật có vai trò quan trọng nhất trong chu trình truyền bệnh này ở trong vùng. Sự hiện diện của virus VNNB không những là tác nhân làm giảm năng suất sinh sản của đàn heo mà còn là mối đe dọa đến sức khỏe con người trong vùng. Do vậy, nhằm tạo cơ sở để đưa ra được các biện pháp phòng và khống chế có hiệu quả bệnh do VNNB gây ra trên người, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu đề tài: “*Giám sát sự lưu hành của virus viêm não Nhật Bản trên lợn nuôi tại huyện Gia Lâm - Hà Nội*”.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

- Mẫu máu của lợn nghi nhiễm VNNB được lấy ở các xã Phù Đổng, Dương Xá, Lê Chi, Trâu Quỳ, Dương Quang thuộc địa bàn huyện Gia Lâm.

- Hóa chất cho phản ứng RT – PCR: Kít tách chiết RNA tổng số (Qiagen), kít dùng cho phản ứng RT-PCR,...

- Các trang thiết bị, máy móc khác phục vụ cho nghiên cứu tại Phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ sinh học, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp lấy mẫu máu lợn: Những lợn trong các trang trại và nông hộ chăn nuôi được đánh số ngẫu nhiên, được tiến hành lấy máu ở vịnh tĩnh mạch cổ, sau đó đưa về phòng thí nghiệm để chất huyết thanh và bảo quản ở -20°C trước khi xét nghiệm.

- Phương pháp RT-PCR: RNA của virus được tách chiết bằng kit QIAamp để tiến hành phản ứng RT-PCR. Quy trình tách chiết RNA của virus theo hướng dẫn của nhà sản xuất kit. Cặp mồi sử dụng cho phản ứng RT-PCR gồm mồi xuôi và mồi ngược nhằm khuếch đại đoạn gen prM dài 600 bp theo nghiên cứu của Hồ Thị Việt Thu và Phan Thị Nga (2012).

- Kỹ thuật giải trình tự gen: Sử dụng cặp mồi

(mỗi xuôi và mỗi ngược) để giải trình tự gen prM của virus JEV bằng máy giải trình tự gen tự động Beckman Coulter CEQ 8000 (Mỹ) tại Phòng thí nghiệm trọng điểm CNSH, Khoa Thú y. Kết quả thu được xử lý bằng phần mềm Seq 8000, Blast, Ngân hàng gen (GenBank) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) và xử lý kết quả bằng MEGA6 và gentyx version 5.0.

- Phân tích, xây dựng cây sinh học phân tử: Từ các trình tự gen prM, chúng tôi tiến hành truy cập Ngân hàng gen để có thông tin gen prM của các chủng virus tham chiếu và tiến hành so

sánh đặc điểm di truyền và thiết lập cây sinh học phân tử bằng phần mềm MEGA6.

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Hồ sơ mẫu sử dụng trong nghiên cứu

Nghiên cứu đã tiến hành thu thập các mẫu máu lợn từ 5 xã trên địa bàn huyện Gia Lâm, sau đó được chất huyết thanh và bảo quản ở -20°C tại Phòng thí nghiệm. Các thông tin về nguồn gốc các mẫu máu được ghi chép và hệ thống lại trong bảng 1.

**Bảng 1. Thông tin mẫu được sử dụng trong nghiên cứu**

STT	Xã	Số lượng mẫu máu	Đối tượng lợn	Ghi chú
1	Phù Đổng	15	Lợn thịt, lợn nái	Tiêm phòng 4 bệnh đỏ*
2	Dương Xá	7	Lợn thịt, lợn nái	Tiêm phòng 4 bệnh đỏ*
3	Lệ Chi	18	Lợn thịt, lợn nái, lợn đực giống	Tiêm phòng 4 bệnh đỏ*, PRRS
4	Trâu Quỳ	15	Lợn thịt, lợn nái, lợn đực giống	Tiêm phòng 4 bệnh đỏ*, PRRS, FMD
5	Dương Quang	25	Lợn thịt, lợn nái	Tiêm phòng 4 bệnh đỏ*
<b>Tổng</b>		<b>80</b>		

\* Tiêm phòng 4 bệnh đỏ: Tụ huyết trùng, đóng dấu, phó thương hàn, dịch tả

Từ bảng 1 cho thấy các mẫu huyết thanh được lấy ngẫu nhiên từ các nhóm lợn riêng biệt ở nhiều độ tuổi khác nhau. Và những lợn này đều chưa được tiêm phòng vacxin phòng bệnh viêm não Nhật Bản.

#### 3.2. Tình hình nhiễm bệnh VNNB trên lợn theo địa bàn các xã nghiên cứu

Từ các mẫu huyết thanh thu thập được, chúng tôi tiến hành kiểm tra sự có mặt của virus VNNB bằng phản ứng RT-PCR với cặp mồi đặc hiệu với gen prM của virus VNNB. Kết quả các mẫu huyết thanh được chẩn đoán dương tính bằng phản ứng RT-PCR của các xã nghiên cứu được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2. Tình hình nhiễm bệnh VNNB ở một số xã nghiên cứu**

STT	Xã	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)
1	Phù Đổng	15	0	0
2	Dương Xá	7	0	0
3	Lệ Chi	18	2	11,11
4	Trâu Quỳ	15	0	0
5	Dương Quang	25	3	12,0
<b>Tổng</b>		<b>80</b>	<b>5</b>	<b>6,25</b>

Kết quả ở bảng 2 cho thấy tỷ lệ nhiễm VNNB ở các xã nghiên cứu chiếm 5/80 mẫu (6,25%). Riêng ở 3 xã Phù Đổng, Dương Xá và Trâu Quỳ, không có mẫu huyết thanh nào có mặt của virus VNNB. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của Hồ Thị Việt Thu và cộng sự (2008) khi chỉ ra tỷ lệ dương tính với virus VNNB là 8,33% ở các mẫu não thu thập từ heo con, thai sẩy, thai chết lưu tại An Giang

và Vĩnh Long.

**3.3. Tình hình nhiễm bệnh theo hình thức chăn nuôi**

Các mẫu huyết thanh được thu thập từ các đàn lợn được chăn nuôi theo các quy mô khác nhau được chẩn đoán bằng phương pháp RT-PCR. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

**Bảng 3. Tình hình nhiễm bệnh VNNB theo hình thức chăn nuôi**

STT	Quy mô chăn nuôi	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu âm tính	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ dương tính (%)
1	Hộ gia đình	46	43	3	6,52
2	Trang trại	34	32	2	5,88
<b>Tổng</b>		<b>80</b>	<b>75</b>	<b>5</b>	<b>6,25</b>

Từ kết quả ở bảng 3, chúng tôi nhận thấy có sự sai khác giữa hai hình thức chăn nuôi quy mô hộ gia đình và trang trại. Trong đó, chăn nuôi quy mô trang trại có tỷ lệ dương tính với virus VNNB thấp hơn so với chăn nuôi quy mô hộ gia đình. Điều này có thể được lý giải là do các trang trại chăn nuôi lợn thường có công tác vệ sinh thú y phòng bệnh, diệt trừ ruồi muỗi cũng như thiết kế chuồng nuôi đảm bảo về nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng, mật độ đàn nuôi hợp lý nên giúp hạn chế tỷ lệ mắc bệnh VNNB so với lợn được chăn nuôi theo hộ gia đình. Trong nghiên cứu của Hồ Thị Việt Thu và cộng sự (2008) đã chỉ ra các yếu tố như bụi rậm (nơi trú ẩn của muỗi *Culex*), môi trường có nhiều ao nước tù đọng (nơi sinh sản của muỗi *Culex*) cũng có thể là yếu tố quan trọng làm tăng nguy cơ nhiễm virus VNNB. Điều này giúp giải thích cho kết quả nghiên cứu của chúng tôi khi tỷ lệ nhiễm bệnh VNNB ở trang trại thấp hơn ở hộ chăn nuôi.

**3.4. Kết quả giải trình tự gen của các chủng virus VNNB**

Từ 5 mẫu huyết thanh được chẩn đoán dương tính bằng RT-PCR (hình 1), chúng tôi tiến hành đặt tên cho các chủng virus VNNB (Japanese encephalitis virus - JEV) tương ứng lần lượt là

VNUA\_Vetlab\_JEV01, VNUA\_Vetlab\_JEV02, VNUA\_Vetlab\_JEV03, VNUA\_Vetlab\_JEV04, VNUA\_Vetlab\_JEV05. Việc giải trình tự gen được thực hiện trên máy giải trình tự tự động Beckman Coulter CEQ 8000 tại phòng thí nghiệm. Trình tự nucleotide được xử lý bằng phần mềm Seq 8000 và gentyx version 5.0 trên máy tính cho kết quả đoạn gen dài 563 bp. Trình tự nucleotide của 5 chủng virus VNNB đã được khẳng định chính xác lại bằng việc tham chiếu từ Ngân hàng gen thông qua chương trình Blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).



**Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm phản ứng RT-PCR**

(Thang chuẩn Maker:2000bp; giếng từ 1-7 là mẫu huyết thanh nghiên cứu; giếng 8 là đối chứng âm; giếng 9 là đối chứng dương – RNA của virus VNNB).

**3.5. Kết quả so sánh trình tự nucleotide giữa các chủng virus VNNB nghiên cứu**

Cùng với việc thực hiện giải trình tự gen prM của 5 chủng nghiên cứu, chúng tôi đồng thời tiến hành so sánh trình tự nucleotide để xác định mức độ tương đồng về nucleotide giữa

các chủng virus VNNB; từ đó thấy được mức độ biến đổi về thành phần nucleotide cũng như thấy được mối quan hệ cụ thể giữa các chủng virus VNNB đang lưu hành ở huyện Gia Lâm. Kết quả so sánh trình tự nucleotide của 5 chủng nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm gentyx version 5.0 và thể hiện ở hình 2.

VNUA_Vetlab_JEV01.nuc	1:	TCGTGATCCCCACCTCAAAAGGTGAAACAGATGCTGGGTCGGAGCAATCGACGTTGGTT	60
VNUA_Vetlab_JEV02.nuc	1:	TCGTGATCCCCACCTCAAAAGGTGAAACAGATGCTGGGTCGGAGCAATCGACGTTGGTT	60
VNUA_Vetlab_JEV03.nuc	1:	TCGTGATCCCCACCTCAAAAGGTGAAACAGATGCTGGGTCGGAGCAATCGACGTTGGTT	60
VNUA_Vetlab_JEV04.nuc	1:	TCGTGATCCCCACCTCAAAAGGTGAAACAGATGCTGGGTCGGAGCAATCGACGTTGGTT	60
VNUA_Vetlab_JEV05.nuc	1:	TCGTGATCCCCACCTCAAAAGGTGAAACAGATGCTGGGTCGGAGCAATCGACGTTGGTT	60
VNUA_Vetlab_JEV01.nuc	61:	ACATGTGTGAAGACACCATCACGTACGAATGTCCGAAGCTTGCCGTGGGCAACGATCCGG	120
VNUA_Vetlab_JEV02.nuc	61:	ACATGTGTGAAGACACCATCACGTACGAATGTCCGAAGCTTGCCGTGGGCAACGATCCGG	120
VNUA_Vetlab_JEV03.nuc	61:	ACATGTGTGAAGACACCATCACGTACGAATGTCCGAAGCTTGCCGTGGGCAACGATCCGG	120
VNUA_Vetlab_JEV04.nuc	61:	ACATGTGTGAAGACACCATCACGTACGAATGTCCGAAGCTTGCCGTGGGCAACGATCCGG	120
VNUA_Vetlab_JEV05.nuc	61:	ACATGTGTGAAGACACCATCACGTACGAATGTCCGAAGCTTGCCGTGGGCAACGATCCGG	120
VNUA_Vetlab_JEV01.nuc	121:	AAGATGTGGACTGCTGGTGCACAATCAAGAAGTCTACGTGCAGTATGGTCGCTGCACAC	180
VNUA_Vetlab_JEV02.nuc	121:	AAGATGTGGACTGCTGGTGCACAATCAAGAAGTCTACGTGCAGTATGGTCGCTGCACAC	180
VNUA_Vetlab_JEV03.nuc	121:	AAGATGTGGACTGCTGGTGCACAATCAAGAAGTCTACGTGCAGTATGGTCGCTGCACAC	180
VNUA_Vetlab_JEV04.nuc	121:	AAGATGTGGACTGCTGGTGCACAATCAAGAAGTCTACGTGCAGTATGGTCGCTGCACAC	180
VNUA_Vetlab_JEV05.nuc	121:	AAGATGTGGACTGCTGGTGCACAATCAAGAAGTCTACGTGCAGTATGGTCGCTGCACAC	180

**Hình 2. So sánh trình tự nucleotide đoạn gen prM của 5 chủng virus VNNB nghiên cứu ở vị trí 27, 56.**

*Chú giải: Sai khác về nucleotide được ký hiệu là các nucleotide ở ngoài đường giới hạn đỏ.*

Từ quá trình so sánh trình tự nucleotide của đoạn gen prM của 5 chủng VNNB trong nghiên cứu có độ dài 563 bp, kết quả cho thấy trong thành phần nucleotide của các chủng virus này đã có sự sai khác nhau tương đối và có 5 vị trí nucleotide sai khác nhau ở các vị trí như sau: 27 (A <-> T), 56 (T <-> G), 253 (A <-> C), 522 (T <-> G), 525 (G <-> T). Khi so sánh ở các vị trí sai khác thì giữa các chủng có sự sai khác là khác nhau. Giữa chủng VNUA\_Vetlab\_JEV01 và VNUA\_Vetlab\_JEV02 có 4 sự sai khác về nucleotide ở các vị trí như 27 (A <-> T), 253 (A <-> C), 522 (T <-> G), 525 (G <-> T). Khi so sánh chủng VNUA\_Vetlab\_JEV01 với chủng VNUA\_Vetlab\_JEV03 và JEV05 thì đều có sự sai khác ở 1 vị trí nucleotide, lần lượt là: 522 (G <-> T) trong khi với chủng VNUA\_Vetlab\_JEV04 có 2 vị trí sai khác ở nucleotide: 522 (G <-> T) và 525 (G <-> T). Như vậy, giữa các chủng VNNB mà chúng tôi nghiên cứu có sự sai khác không quá 0,88% tổng số nucleotide

của đoạn gen.

**3.6. Sự tương đồng về nucleotide trong đoạn gen prM của các chủng virus VNNB nghiên cứu**

Từ kết quả giải trình tự đoạn gen prM của các chủng virus VNNB nghiên cứu, chúng tôi tiến hành thu thập và xử lý bằng chương trình MEGA6 để so sánh mức độ tương đồng về nucleotide giữa các chủng nghiên cứu và tham chiếu với chủng virus VNNB được phân lập ở Trung Quốc (JN381850), Việt Nam (U3696). Kết quả được trình bày trong bảng 4.

Qua bảng 4 cho thấy 5 chủng virus VNNB nghiên cứu có mức độ tương đồng về nucleotide đạt tỷ lệ khá cao, từ 99,29% đến 99,82%. Sự tương đồng về nucleotide giữa 5 chủng VNNB nghiên cứu với chủng VNNB ở Sài Gòn (U3696) đạt tỷ lệ dao động trong khoảng 87,92% đến 88,10%. Khi so sánh sự tương đồng về nucleotide của 5 chủng VNNB với chủng

**Bảng 4. Mức độ tương đồng về nucleotide của các chủng virus VNNB nghiên cứu (%)**

Chủng virus	VNUA_Vetlab_JEV01	VNUA_Vetlab_JEV02	VNUA_Vetlab_JEV03	VNUA_Vetlab_JEV04	VNUA_Vetlab_JEV05	JN381850_(China_2011)	U3696_(Vietnam_1962)
VNUA_Vetlab_JEV01	100,0						
VNUA_Vetlab_JEV02	99,29	100,0					
VNUA_Vetlab_JEV03	99,82	99,47	100,0				
VNUA_Vetlab_JEV04	99,64	99,64	99,82	100,0			
VNUA_Vetlab_JEV05	99,64	99,29	99,82	99,64	100,0		
JN381850_(China_2011)	97,16	97,16	97,34	97,51	97,16	100,0	
U3696_(Vietnam_1962)	87,92	87,92	88,10	88,28	88,10	88,99	100,0

VNNB ở Trung Quốc (JN381850) cho mức độ dao động trong khoảng từ 97,16% đến 97,34%. Điều này cho thấy sự gần gũi trong mối quan hệ di truyền giữa 5 chủng VNNB tìm được ở huyện Gia Lâm với chủng VNNB phân lập được tại Trung Quốc.

**3.7. Kết quả so sánh trình tự amino acid của các chủng virus VNNB nghiên cứu**

Sau khi tiến hành so sánh trình tự nucleotide, chúng tôi tiếp tục so sánh trình tự acid amin bằng phần mềm gentyx (version 5.0). Kết quả được trình bày ở hình 3.

```

VNUA_Vetlab_JEV01_pro.nuc 1: VIPTSKGENRCWVRAIDVGYMCEDTITYECPKLA VGNDPFDVDCWCNDQEVYVQYGRCTR 60
VNUA_Vetlab_JEV02_pro.nuc 1: VIPTSKGEYRCWVRAIDVGYMCEDTITYECPKLA VGNDPFDVDCWCNDQEVYVQYGRCTR 60
VNUA_Vetlab_JEV03_pro.nuc 1: VIPTSKGENRCWVRAIDVGYMCEDTITYECPKLA VGNDPFDVDCWCNDQEVYVQYGRCTR 60
VNUA_Vetlab_JEV04_pro.nuc 1: VIPTSKGENRCWVRAIDVGYMCEDTITYECPKLA VGNDPFDVDCWCNDQEVYVQYGRCTR 60
VNUA_Vetlab_JEV05_pro.nuc 1: VIPTSKGENRCWVRAIDVGYMCEDTITYECPKLA VGNDPFDVDCWCNDQEVYVQYGRCTR 60

VNUA_Vetlab_JEV01_pro.nuc 61: TRHSKRSSRSVSVQTHGESSLVNKKAWLDSTKATRYLMKTENWIIIRNPGYAFLLAALGW 120
VNUA_Vetlab_JEV02_pro.nuc 61: TRHSKRSSRSVSVQTHGESSLVNKKAWLDSTKATRYLMKTENWIIIRNPGYAFLLAALGW 120
VNUA_Vetlab_JEV03_pro.nuc 61: TRHSKRSSRSVSVQTHGESSLVNKKAWLDSTKATRYLMKTENWIIIRNPGYAFLLAALGW 120
VNUA_Vetlab_JEV04_pro.nuc 61: TRHSKRSSRSVSVQTHGESSLVNKKAWLDSTKATRYLMKTENWIIIRNPGYAFLLAALGW 120
VNUA_Vetlab_JEV05_pro.nuc 61: TRHSKRSSRSVSVQTHGESSLVNKKAWLDSTKATRYLMKTENWIIIRNPGYAFLLAALGW 120
    
```

**Hình 3. So sánh trình tự acid amin giữa các chủng virus VNNB nghiên cứu ở vị trí 9, 84.**

*Chú giải: Sai khác về acid amin được ký hiệu là các acid amin ở ngoài đường giới hạn đỏ.*

Qua kết quả so sánh cho thấy trình tự acid amin mã hóa từ đoạn gen prM của 5 chủng VNNB trong nghiên cứu có cùng kết quả là 187 acid amin. Kết quả cho thấy trình tự acid amin của 5 chủng VNNB có 4 vị trí sai khác như 9 (N <-> Y), 84 (K <-> T), 174 (G <-> C), 175 (V <-> L). Chủng VNUA\_Vetlab\_JEV01 có 1 vị trí sai khác acid amin với chủng VNUA\_Vetlab\_JEV03 và JEV05 ở vị trí acid amin 174 (G <-> C); có 2 vị trí sai khác acid amin với chủng

VNUA\_Vetlab\_JEV04 lần lượt ở vị trí acid amin: 174 (G <-> C) và 175 (V <-> L); có 4 vị trí sai khác acid amin với chủng VNUA\_Vetlab\_JEV02 ở 4 vị trí acid amin lần lượt là 9, 84, 174 và 175. Như vậy, giữa các chủng VNNB mà chúng tôi nghiên cứu chỉ khác nhau từ 1 đến 4 acid amin, từ đó có thể thấy rằng thành phần acid amin của các chủng này là tương đối giống nhau (sai khác không quá 2,13% tổng số acid amin mã hóa từ đoạn gen).

### 3.8. Sự tương đồng về acid amin được mã hóa từ đoạn gen E của các chủng virus VNNB nghiên cứu

Sử dụng phần mềm MEGA6 để phân tích sự tương đồng về trình tự acid amin của 5 chủng

virus VNNB nghiên cứu với nhau và tham chiếu với chủng virus VNNB được phân lập ở Trung Quốc (JN381850) và Việt Nam (U3696). Dựa trên sự mã hóa nên các acid amin tương ứng, phần mềm đã xử lý và kết quả được trình bày ở bảng 5.

**Bảng 5. Mức độ tương đồng về acid amin của các chủng virus VNNB nghiên cứu (%)**

Chủng virus	VNUA_Vetlab_JEV01	VNUA_Vetlab_JEV02	VNUA_Vetlab_JEV03	VNUA_Vetlab_JEV04	VNUA_Vetlab_JEV05	JN381850 (China_2011)	U3696 (Vietnam_1962)
VNUA_Vetlab_JEV01	100,0						
VNUA_Vetlab_JEV02	98,84	100,0					
VNUA_Vetlab_JEV03	100,0	98,84	100,0				
VNUA_Vetlab_JEV04	100,0	98,84	100,0	100,0			
VNUA_Vetlab_JEV05	99,42	98,27	99,42	99,42	100,0		
JN381850_(China_2011)	93,64	92,49	93,64	93,64	93,06	100,0	
U3696_(Vietnam_1962)	67,05	66,47	67,05	67,05	67,05	70,52	100,0

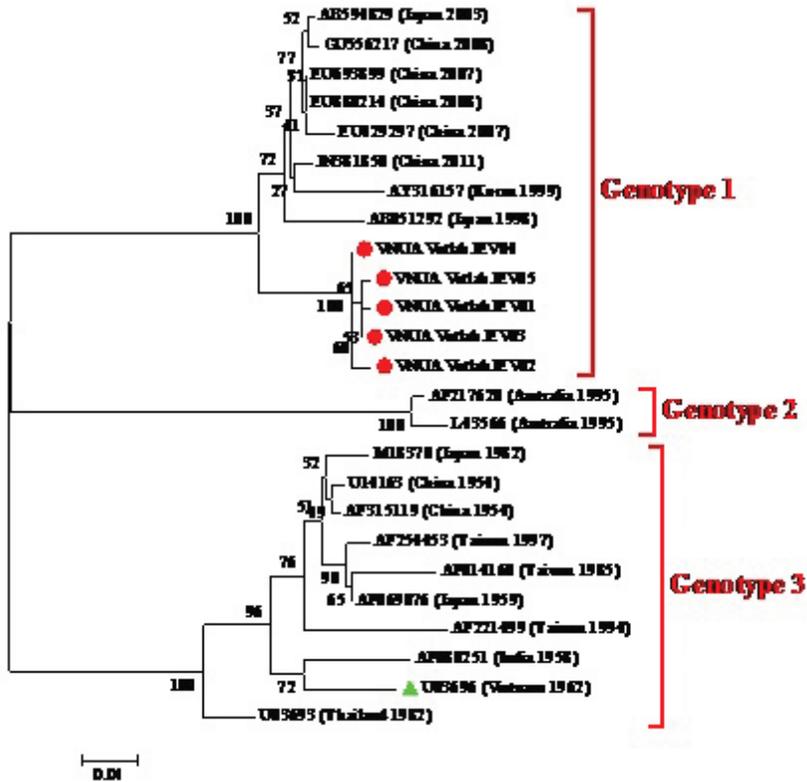
Qua bảng 5 cho thấy 5 chủng virus VNNB nghiên cứu có mức độ tương đồng về acid amin đạt tỷ lệ khá cao, từ 98,27% đến 100,0%. Sự tương đồng về acid amin giữa 5 chủng VNNB nghiên cứu so với chủng VNNB ở Sài Gòn (U3696) đạt tỷ lệ từ 66,47% đến 67,05%. Khi so sánh với chủng VNNB ở Trung Quốc (JN381850) có mức độ tương đồng về acid amin dao động trong khoảng từ 92,49% đến 93,64%. Trong đó, mức độ tương đồng về acid amin giữa 3 chủng VNUA\_Vetlab\_JEV01, 3 và 4 đạt tỷ lệ 100%. Sự khác nhau về kết quả so sánh mức độ tương đồng giữa trình tự nucleotide và acid amin trên đoạn gen prM của các chủng VNNB nghiên cứu có thể được lý giải do cơ chế dịch mã các acid amin từ đoạn gen đích có thể xuất hiện trường hợp cả 2 bộ ba mã hóa đều mã hóa ra một acid amin.

### 3.9. Kết quả xây dựng cây sinh học phân tử của các chủng virus VNNB trong nghiên cứu

Sau khi so sánh mức độ tương đồng về

nucleotide giữa các chủng virus VNNB, dựa vào phần mềm MEGA6, chúng tôi tiến hành xây dựng cây sinh học phân tử để xác định nguồn gốc phát sinh của 5 chủng virus nghiên cứu. Kết quả phân tích nguồn gốc phát sinh của các chủng virus VNNB nghiên cứu được thể hiện tại hình 4.

Kết quả ở hình 4 cho thấy 5 chủng virus VNNB cùng nằm trong 1 nhánh phát sinh nhưng không cùng nhánh phát sinh với các chủng virus VNNB của Australia (1995), Đài Loan (1985, 1994, 1997), Nhật Bản (1959), Trung Quốc (1954), Ấn Độ (1958), Thái Lan (1982). Ba chủng VNUA\_Vetlab\_JEV01, 3 và 5 nằm trong cùng một nhánh phát sinh khác với 2 nhánh phát sinh của chủng VNUA\_Vetlab\_JEV 2 và 4. Năm chủng nghiên cứu cùng nằm trong nhánh phát sinh với các chủng phân lập được ở Nhật Bản (1998, 2003), Hàn Quốc (1999), Trung Quốc (2007, 2008, 2011) đã chứng minh sự lây truyền mầm bệnh giữa các quốc gia trên



Hình 4. Cây sinh học phân tử của 5 chủng virus JEV nghiên cứu

Chú giải: ●: Ký hiệu cho các chủng virus VNNB nghiên cứu  
 ▲: Ký hiệu cho các chủng virus VNNB đã phân lập trước đây ở Việt Nam

thế giới (có thể do nhiều nguyên nhân). Đồng thời kết quả phân tích cây sinh học phân tử chỉ ra 5 chủng virus VNNB nghiên cứu đều thuộc genotype 1 và khác với các nhánh phát sinh của các genotype khác như genotype 2, 3.

**IV. KẾT LUẬN**

Bằng phương pháp RT-PCR đã chỉ ra tỷ lệ nhiễm VNNB ở các xã nghiên cứu chiếm 6,25%. Trình tự nucleotide của đoạn gen prM của các chủng virus VNNB nghiên cứu có kích thước 563 bp và tương đồng với nhau khoảng 99,29% đến 99,82%; mức độ tương đồng về acid amin dao động từ 98,27% đến 100,0%. 5 chủng virus VNNB nghiên cứu có cùng nguồn gốc phát sinh với các chủng Nhật Bản (1998, 2003), Hàn Quốc (1999) và các chủng Trung Quốc (2007, 2008, 2011) và đều thuộc

genotype 1.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

1. Hồ Thị Việt Thu, Huỳnh Ngọc Trang, Trần Thị Hoàng Oanh, Trần Đình Từ, Châu Bá Lộc (2007), “Khảo sát tỷ lệ lưu hành kháng thể viêm não Nhật Bản trên một số loài động vật nuôi và hoang dã ở Cần Thơ”, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, tập XIV, số 3, trang 10-13
2. Hồ Thị Việt Thu, Huỳnh Kim Loan, Huỳnh Ngọc Trang, Vũ Thị Quế Hương, Trần Đình Từ (2007), “Khảo sát tính chất mùa bệnh viêm não Nhật Bản trên heo tại thành phố Cần Thơ”, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, tập XIV, số 3, trang 14-19.
3. Hồ Thị Việt Thu, Huỳnh Kim Loan, Huỳnh

- Ngọc Trang, Trần Đình Từ (2008), “Chẩn đoán bệnh viêm não Nhật Bản trong hội chứng rối loạn sinh sản trên heo”, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, tập XV, số 1, trang 5-12.
4. Hồ Thị Việt Thu, Huỳnh Kim Loan, Nguyễn Thị Hoàng Oanh, Huỳnh Ngọc Trang, Trần Đình Từ (2008), “Ứng dụng kỹ thuật Mac-E-LISA để xác định tỷ lệ mới nhiễm virus viêm não Nhật Bản trên heo tại thành phố Cần Thơ”, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, tập XV, số 1, trang 13-18.
  5. Hồ Thị Việt Thu, Phan Thị Ngà (2012), “Phân tích di truyền của virus viêm não Nhật Bản chủng CTMP-7”, *Tạp chí Khoa học kỹ thuật thú y*, tập XIX, số 3, trang 10-17.
  6. Do Quang Ha, Vu Que Huong, Huynh Kim Loan, Dinh Quoc Thong, Vincent D. (1994), “Current situation of Japanese encephalitis in the South of Vietnam, 1976-1992”, *Tropical Medicine*, 36 (4), pp. 202-2014.
  7. Ghosh D, Basu A (2009): Japanese Encephalitis-Pathological and Clinical Perspective, *PloS Negl Trop Dis*, 3; e437
  8. Saxena SK (2008): Japanese encephalitis: perspectives and new developments. *Future Neurol*; 3:515-5201.
  9. Yen NT, Duffy MR, Hong NM, Hien NT, Fischer M (2010). Surveillance for Japanese Encephalitis in Vietnam, 1998-2007. *Am J Trop Med Hyg* 83:816-819.
- Nhận ngày 15-5-2015  
Phản biện ngày 10-6-2015

## NGHIÊN CỨU VACCIN PHÒNG VIRUS ZIKA ĐÃ ĐẠT BƯỚC TIỀN MỚI

Tập đoàn Dược phẩm Inovio cho biết, sẽ tiếp tục thử nghiệm vaccin trên linh trưởng cũng như bắt đầu sản xuất sản phẩm ứng dụng trong điều trị.

Chủ tịch tập đoàn Joseph Kim cho biết có kế hoạch tiến hành giai đoạn 1 của thử nghiệm trên người 3 giai đoạn trước cuối năm 2016, tức là thử sản phẩm thí nghiệm trên những đối tượng tình nguyện khỏe mạnh.

Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), có ít nhất 15 công ty và các nhóm chuyên gia đang nghiên cứu phát triển vaccin chống Zika.

Ngoài Inovio, một số tổ chức cũng đang tham gia cuộc chiến chống loại virus nguy hiểm hiện hoành hành tại Nam Mỹ, bao gồm Bharat Biotech của Ấn Độ, Sanofi của Pháp và Viện Y tế Quốc gia Mỹ. Tuy nhiên, WHO ước tính sẽ cần ít nhất 18 tháng nữa trước khi vaccin Zika có thể được thử nghiệm ở quy mô lớn trên người.

Vaccin của Inovio là sản phẩm hợp tác với công ty GeneOne Life Sciences của Hàn Quốc cùng một số đối tác khác.

Virus Zika thuộc họ virus Flaviviridae, lây nhiễm qua trung gian truyền bệnh là muỗi Aedes. Triệu chứng phổ biến nhất khi nhiễm virus là sốt, viêm kết mạc, nhức đầu, đau cơ và khớp, phát ban. Hiện giới y tế đang tập trung nghiên cứu xác định sự liên quan giữa virus này với hiện tượng trẻ sơ sinh có đầu và não nhỏ bất thường và chứng Guillain-Barre gây tê liệt thần kinh, thậm chí tử vong ở trẻ sơ sinh.

Theo TTXVN