

Phân tích di truyền của virus viêm não Nhật Bản chủng CTMP-7

Hồ Thị Việt Thu¹, Phan Thị Nga²

Tóm tắt

Nghiên cứu phân tích trình tự gen E của virus viêm não Nhật Bản chủng CTMP-7 phân lập từ muỗi tại thành phố Cần Thơ, đồng thời tìm hiểu mối quan hệ di truyền giữa chủng CTMP-7 với 52 chủng virus VNNB tham chiếu phân lập tại Việt Nam và một số nước Châu Á. Kết quả nghiên cứu cho thấy virus VNNB chủng CTMP-7 thuộc genotype 1, có mức độ tương đồng cao 94-96% với các chủng LAH-2097-05 và LA-H07-05 (Long An), chủng VN22 (miền Bắc Việt Nam), chủng JE-KK-116 (Thái Lan), chủng M859 (Campuchia), chủng SC04-17 (Trung Quốc), JaNar17-07 và JEV-254 (Nhật Bản), tính tương đồng thấp hơn ở mức 87% với chủng RFVL (Nhật Bản) và 84% với chủng JKT9092 (Indonesia) nhưng không có biến đổi lớn về trình tự amino acid ($\leq 6\%$).

Từ khóa: Virus VNNB, Chủng CTMP-7, Gen E, Giải trình tự, Phân tích quan hệ di truyền

Phylogenetic analysis of Japanese encephalitis virus strain CTMP-7

Ho Thi Viet Thu, Phan Thi Nga

Summary

Envelope (E) gene of Japanese encephalitis virus isolated from mosquito in Can Tho province, strain CTMP-7 was sequenced and compared with published E gene sequences of 52 strains of JEV isolated before in Vietnam and some countries of Asia. Established phylogenetic tree showed that this virus belonged to genotype I. Pairwise comparisons of the E gene nucleotide and deduced amino acid sequences between JEV CTMP-7 with certain isolates in Vietnam and some countries in Asia indicated that it had 94-96% similarity with LAH-2097-05 and LA-H07-05 (in Long An province), VN22 strains (in the North of Vietnam), JE-KK-1116 strain (in Thailand), SC04-17 strain (in China) JaNar17-07 and JEV-254 strain (in Japan). The nucleotide sequence of CTMP-7 strain had only 87% similarity with RFVL strain (Japan) and 84% similarity with JKT9092 strain but there were not much divergence in amino acid sequence ($\leq 6\%$).

Keywords: JEV, CTMP-7 strain, Gen E, Nucleotide sequencing, Phylogenetic analysis

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh viêm não Nhật Bản (VNNB) là một trong các bệnh viêm não lây truyền qua muỗi, nguy hiểm nhất trên người. Bệnh 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 (Akira, 1988). Do tính chất nguy hiểm, nên bệnh là mối quan tâm lớn của ngành y tế nhiều nước Châu Á (Đoàn Thị Thủy và ctv, 1991).

Ở nước ta bệnh được chú ý từ những thập niên 1960 và đã trở thành vấn đề nghiêm trọng của sức khỏe cộng đồng. Đặc biệt là ở những vùng trồng lúa nước, đông dân cư như đồng bằng sông Hồng và đồng bằng sông Cửu Long (Do Quang Ha et al, 1994). Năm 2006, một chủng virus VNNB lần đầu tiên được phân lập từ muỗi tại thành phố Cần Thơ được đặt tên CTMP-7 (Hồ Thị Việt Thu và ctv, 2006) và đã được chứng

1. Đại học Cần Thơ

2. Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương, Hà Nội

minh là chủng virus có độc lực cao (Hò Thị Việt Thu, 2010). Trong nghiên cứu này, chúng tôi khảo sát đặc điểm di truyền của chủng virus này dựa trên cơ sở phân tích trình tự nucleotid gen E của virus đồng thời so sánh mối quan hệ của virus này với các chủng virus VNNB tham khảo phân lập được ở Việt Nam và các nước Châu Á nhằm cung cấp thêm những thông tin hữu ích về dịch tễ học bệnh này.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

-Virus VNNB chủng CTMP-7 được phân lập từ muỗi *Culex pseudovisnui* tại TP. Cần Thơ (Hò Thị Việt Thu và ctv, 2006) được nhân lên trong môi trường tế bào C6/36.

-QIAamp viral RNA extraction kit (Qiagen).

-Cặp mồi sử dụng trong phản ứng RT-PCR:

Trình tự mồi xuôi Ef [5'-TGYTGGTCGCTCCGGCTTA-3'] vị trí 955-975 và mồi ngược Er [5'-AAGATGCCACTTCCAYCTC-3'] vị trí 2.516-2.536.

-Các cặp mồi dùng giải trình tự gen E (bảng 1)

Bảng 1. Các cặp mồi trong dùng giải trình tự gen E

STT	Tên cặp mồi	Trình tự
1	JEV 821-840F	GAAAGCCACACGGTATCTCA
2	JEV 1174-1193F	CTGACATCTCGACGGTGGCT
3	JEV 1559-1578F	TGGACTGAACACTGAAGCGT
4	JEV 1942-1961F	TTGTCATTGAACTATCCTAC
5	JEV 2326-2345F	GAACACTCTTTGGGGGAATG
6	JEV 2520-2539F	TGTGGAAGTGGCATCTTTGT
7	JEV 2746-2765F	TGAACAAGCCCGTGGGAAGA

2.2 Phương pháp giải trình tự cDNA gen E của virus VNNB chủng CTMP-7

Kỹ thuật cấy truyền virus: Các chủng virus CMP-7 lưu giữ ở tủ đông – 80°C, được cấy truyền lại trên tế bào muỗi *Aedes albopictus* dòng C6/36. Sau 3 ngày, nước nổi nuôi cấy virus được sử dụng để tách chiết ARN của virus.

Kỹ thuật tách chiết ARN: ARN của virus được tách chiết từ nước nổi tế bào gây nhiễm virus theo quy trình hướng dẫn của nhà sản xuất bộ sinh phẩm QIAamp Viral RNA (Qiagen, Clifton Hill, Australia).

Kỹ thuật RT-PCR trực tiếp: Sử dụng cặp mồi đặc hiệu đoạn gen E để khuếch đại sản phẩm PCR bằng bộ sinh phẩm RT-PCR của Promega với chu trình nhiệt phù hợp.

Phân tích trình tự gen: Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng bộ sinh phẩm của QIA Gel Extraction kit. Kiểm tra lại sản phẩm PCR trên gel agarose. Sản phẩm PCR tinh khiết được sử dụng làm khuôn mẫu để tổng hợp từng đoạn cDNA với các mồi xuôi và ngược được thiết kế đặc hiệu cho vùng gen E bằng bộ sinh phẩm DTCS Quick start, làm tinh sạch sản phẩm theo phương pháp Ethanol, làm khô và làm đồng nhất rồi giải trình tự bằng máy CEQ 8000. Sử dụng phần mềm Bioedit và MEGA 4.0 để nối ghép và kiểm tra toàn bộ gen E.

Phân tích, xây dựng cây di truyền: Sau khi có kết quả trình tự gen E, chúng tôi tiến hành truy cập ngân hàng gen (geneBank) để có thông tin gen E của các chủng virus tham khảo và tiến hành so sánh đặc điểm di truyền của virus chủng CTMP-7 với các chủng tham khảo bởi phần mềm MEGA 4.0.2 (Tamura và ctv, 2007) và thiết lập cây di truyền bằng phương pháp Neighbor joining (Saitou và Nei, 1987) với độ tin tưởng bootstrap 1000 chỉ

thể hiện giá trị bootstrap lớn hơn 70% như tiêu chuẩn để phân loại nhóm (Hillis và Bull, 1993). Quan sát cây di truyền bằng phần mềm Tree View (Page, 1996).

Tất cả các chủng virus sử dụng trong so sánh và phân tích di truyền trong nghiên cứu này được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2: Các chủng virus VNNB sử dụng cho so sánh và phân tích di truyền

<i>Chủng virus</i>	<i>Nơi phân lập</i>	<i>Năm phân lập</i>	<i>Mẫu phân lập</i>	<i>Mã số Genebank</i>
JaNAr17-07	Nagasaki – Nhật Bản	2007	Muối	FJ185149
JaNAr15-07	Nagasaki - Nhật Bản	2007	Muối	FJ185148
JaNAr114-07	Nagasaki - Nhật Bản	2007	Muối	FJ185147
JaNAr06-07	Nagasaki - Nhật Bản	2007	Muối	FJ185143
JaNAr13-04	Nagasaki - Nhật Bản	2004	Muối	FJ185146
JaNAr07-04	Nagasaki - Nhật Bản	2004	Muối	FJ185144
JaNAr10-04	Nagasaki - Nhật Bản	2004	Muối	FJ185145
95-91	Nhật Bản	1995	Heo	AY377578
JEV-377	Okinawa – Nhật Bản	2008	Heo	AB471669
JEV-420	Okinawa – Nhật Bản	2008	Heo	AB471670
JEV-254	Okinawa – Nhật Bản	2008	Heo	AB471667
JEV-154	Okinawa – Nhật Bản	2008	Heo	AB471666
JEV-215	Okinawa – Nhật Bản	2003	Heo	AB238693
RFVL	Nakayama – Nhật Bản	1935	Người	S75726
SC04-17	Sichuan - Trung Quốc	2004	Muối	DQ404093
SC04-25	Sichuan - Trung Quốc	2004	Muối	DQ404094
SA-14-2-8	Trung Quốc	(*)	Vaccine	JEU15763
SA14	Xian - Trung Quốc	1954	Muối	JEU14163
Beijing-1	Beijing - Trung Quốc	1949	Người	L48961
VN78	Hà Tây - Việt Nam	2002	Muối	AY376467
VN34	Việt Nam	2002	Muối	AY376466
VN22	Việt Nam	2002	Heo	AY376465
VN105	Hà Nam - Việt Nam	2002	Heo	AY376468
VN88	Hà Tây - Việt Nam	2001	Heo	AY376464
LAH-2097-05	Long An – Việt Nam	2005	Heo	FJ185155
LA-H07-05	Long An – Việt Nam	2005	Heo	FJ185154
LA-H06-05	Long An – Việt Nam	2005	Heo	FJ185153
Saigon	Việt Nam	1962	(*)	JEU03696
ThCMAr6793	Chiang Mai - Thái Lan	1993	Muối	D45363
ThCMAr4492	Chiang Mai - Thái Lan	1992	Muối	D45362
JE-KK-1116	KhonKhen - Thái Lan	2005	Heo	DQ343290
JK-KK-88	KhonKhen - Thái Lan	2004	Heo	DQ111786
JK-KK-82	KhonKhen - Thái Lan	2004	Heo	DQ111785
JK-KK-R83	KhonKhen - Thái Lan	2004	Heo	DQ111787
JK-KK-80	KhonKhen - Thái Lan	2004	Heo	DQ111784
JK-KK-R87	KhonKhen - Thái Lan	2004	Heo	DQ111788
B2239	Chiang Mai - Thái Lan	1984	Heo	JEU70391
P19Br	Chiang Mai - Thái Lan	1982	Người	JEU70416
Th2372	Thái Lan	1979	Người	JEU70401
M859	Campuchia	1967	Muối	JEU70410
JKT9092	Indonesia	1981	Muối	JEU70409
JKT7003	Indonesia	1981	Muối	JEU70408
JKT6468	Indonesia	1981	Muối	JEU70407
M40	Australia	1995	Muối	L47350

M15	Australia	1995	Muối	L47349
FU	Australia	1995	Người	L43565
NO	Australia	1995	Người	L43566
HVI	Đài Loan	1958	(*)	AF098735
RP-9	Đài Loan	1985	Muối	AF014161
826309	Ấn Độ	1982	Người	JEU21054
P20778	Ấn Độ	1958	Người	AF080251
NG156	Papua - New Guinea	(*)	(*)	EF015076
YFV-17D	(*)	(*)	Vaccine	X03700

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Kết quả giải trình tự gen E

Kết quả nghiên cứu đã giải mã được đoạn nucleotid trong chuỗi gen E bao gồm 1.500 nucleotid mã hóa protein E vùng vỏ của virus VNNB chủng CTMP-7. Kết quả được trình bày trong hình 1

```

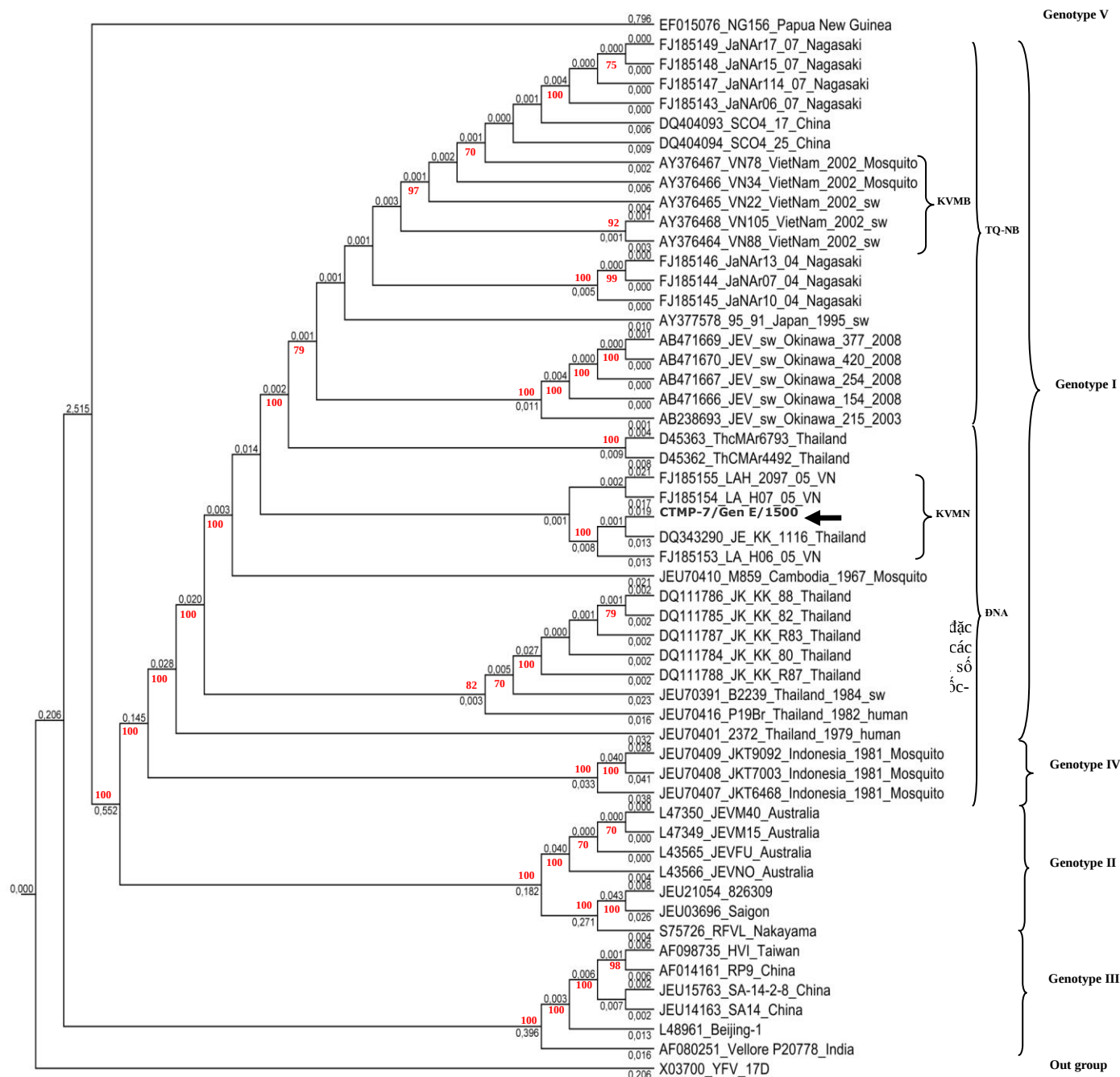
TTTAACTGTCTGGGAATGGGGAATGCGGATTTACTAGAAGGAGTCCGTGGAGCCACTTGGGTGGA
TCTGGTGCTAGAAAGGAGATAGTTGTTTGACAATCATGGCAAGCGACAAACCAACTAGATGTCC
GCATGATCAACATTGAAGCTAGCCAACCTTGCTGAAGTCAGGAGTTACTGCTATCACGCTTCAGTC
ACTGACATTTCAACAGTGGCTCGATGCCCCACGACTGGAGAAGCCCACAACGAGAAACGTGCTGA
CAGCAGCTACGTGTGCAAACAAGGCTTTACTGACCGTGGATGGGGGAATGGATGTGGACTTTTCG
GGAAAGGAAGCATTGATACATGCGCAAAATTTTCTTGACACCAGTAAGGCCATTGGAAGAATGATC
CAACCAGAGAACATCAAGTATGAGGTTGGCATATCCGTGCACGGAACCACCACTCCGGAAAACCA
TGGGAATTATTAGCGCAAGTAGGAGCGTCTCAAGCAGCAAAGTTTACTGTAACTCCAAATGCTC
CCTCAATAACCCTCAAGCTTGGTGATTATGGAGAAGTCACACTGGATTGTGAACCAAGGAGTGGA
CTGAACACTGAAGCGTTCTATGATTGACGTTGGTTCGAAGTCATTCTTAGTCCATAGGGAATG
GTTCCATGACCTTTCTCTTCCCTGGACGTCCCCCTCAAGCACGGCATGGAGAAACAGAGAACTCC
TCATGGAATTTGAAGAGGCACATGCCACAAAACAATCTGTCTAGCTCTTGGGTCACAGGAGGGA
GGCCTCCATCAAGCGCTGGCAGGAGCCATTGTGGTGGAGTACTCGAGCTCAGTGAAGTTGACATC
AGGTCACCTGAAATGCAGGCTGAAAATGGACAAACTGGCTCTGAAGGGCACGACTTATGGCATGT
GCACAGAAAAATTCTCGTTCGCGAAAAATCCAGCGGACACAGGCCATGGAACAGTTGTCATTGAG
CTCACATATTCAGGAAGTGATGGTCCCTGTAAAATTCGATTGTCTCAGTCGCGAGTCTAAACGA
CATGACCCCTGTGGGGAGGCTGGTAACAGTAAACCCCTTCGTGCGGACATCCAGCTCCAACCTCAA
AGGTGCTGGTTGAGATGGAACCTCCCTTCGGAGACTCTTACATCGTGGTTGGAAGAGGGGACAAG
CAGATTATTCATCACTGGCACAAAGCTGGAAGCACGCTGGGTAAAGCCTTCTCAACAACCTTTGAA
GGGGGCTCAGAGGCTAGCAGCGCTAGGTGACACAGCCTGGGACTTCGGCTCCATTGGAGGGGTAT
TCAACTCCATAGGGAAAGCTGTTTCATCAAGTTTTTGGTGGTGCATTTAGAACGCTCTTTGGGGGA
ATGTCTTGGATCACACAAGGATTAATGGGGGCCTTGCTTCTCTGGATGGGTGTCAACGCGCGAGA
CCGGTCAATCGCCCTGGCTTTTTTGGCCACGGGGGGTGTGCTCGTGTCTTAGCGACCAATGTGC
ACGCT

```

Hình 1. Trình tự nucleotid toàn bộ gen E của chủng virus CTMP-7

3.2 Kết quả phân tích và so sánh trình tự nucleotid

Khi có được trình tự nucleotid chuỗi gen E, chúng tôi tiến hành so sánh chuỗi trình tự nucleotid vừa giải được với chuỗi trình tự nucleotid của các chủng virus VNNB trong Ngân hàng dữ liệu gen. Kết quả so chuỗi trình tự được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Phân tích trình tự nucleotid và cây di truyền đoạn gen E của các chủng virut VNNB

Chủng virus Yellow fever (YFV_17D) được sử dụng như một nhánh so sánh riêng. Số ở các nút cuối của mỗi nhánh đặc trưng cho phần trăm kết quả lặp lại với độ tin tưởng bootstrap 1000 (chỉ thể hiện giá trị bootstrap hơn 70%). Chiều dài thật sự của các nhánh được viết dưới dạng số thập phân. Tất cả 52 chủng được sử dụng cho phân tích. Các chủng được trình bày như sau: (Mã số GenBank)_(tên chủng)_(quốc gia)_(năm phân lập). KVMB: Khu vực miền Bắc, KVMN: Khu vực miền Nam, TQ-NB: Trung Quốc- Nhật Bản

Kết quả phân tích trình tự nucleotid và cây di truyền đoạn gen E (hình 2) của các chủng virus VNNB được phân tích cho thấy CTMP-7 được xếp vào genotype I. Kết quả trên cũng phù hợp với nghiên cứu của nhiều tác giả về đặc điểm di truyền của các chủng virus VNNB phân lập được ở Việt Nam đã cho thấy trước đây genotype III là genotype chủ yếu lưu hành ở Nhật Bản, Triều Tiên và Việt Nam, nhưng đến giữa thập niên 1990 các chủng virus thuộc genotype III dường như không còn phổ biến ở Nhật Bản và Việt Nam và thay vào đó là các chủng thuộc genotype I (Vu Thi Que Huong, 1993, Phan Thi Nga et al, 2004; Nabeshima et al, 2009).

Bảng 3. So sánh mức độ tương đồng về trình tự nucleotid của chủng CTMP-7 với một số chủng trong nước và khu vực

<i>Tên chủng</i>	<i>Nơi phân lập mã số gen</i>	<i>Năm phân lập</i>	<i>Mẫu phân lập</i>	<i>Mức độ tương đồng (%)</i>
VN22	Vietnam 22_AY376465	2002	Heo	96
LA-H07-05	VietnamLAFH07_J185154	2005	Heo	96
LAH-2097-05	VietnamLAH2079_J185155	2005	Heo	95
JE-KK-1116	Thailand_DQ343290	2005	Heo	96
M859	Cambodia_JEU70410	1967	Muối	94
JaNAr17-07	Nagasaki_FJ185149	2007	Muối	96
JEV-254	Okinawa_AB471667	2008	Heo	95
RFVL	Nakayama_S75726	1935	Não người	87
SC04-17	China_DQ404093	2004	Muối	95
JKT9092	Indonesia_JEU70409	1981	Muối	84

Kết quả bảng 3 cho thấy virus VNNB chủng CTMP-7 có mức độ tương đồng nucleotid cao nhất (96%) với chủng virus VN22 phân lập ở Việt Nam năm 2002 (AY376465), chủng LA-H07-05 (FH07-J185154) phân lập ở tỉnh Long An năm 2005, chủng JE_KK_1116 (DQ343290) phân lập được ở Thái Lan năm 2005 và chủng JaNAr17-07 phân lập ở Nhật Bản năm 2007. Tính tương đồng thấp hơn ở mức (94-95%) với các chủng như LAH-2097-05 (JI85155) phân lập ở Long An năm 2005, chủng M85 (JEU704109) phân lập ở Campuchia năm 1967, chủng JEV-254(AB471667) phân lập ở Okinawa (Nhật Bản) năm 2008 và chủng SC04-17(DQ404093) phân lập ở Trung Quốc năm 2004. Tuy nhiên, nếu so với một số chủng phân lập trước năm 1990 như chủng Nakayama (S75726), phân lập ở Nhật Bản vào năm 1935 thuộc genotype III thì mức độ tương đồng với chủng CTMP-7 chỉ ở mức 87%, và so với chủng JKT9092 (JEU70409) phân lập ở Indonesia năm 1981, thuộc genotype IV thì mức độ tương đồng thấp hơn chỉ ở mức 84%. Sự sai khác này tập trung phần lớn ở đoạn từ 1-50 nucleotid đầu tiên, có thể được giải thích là do quá trình tiến hóa và thích nghi của virus trên vật chủ ở những vùng địa lý khác nhau.

Dựa trên cây di truyền vùng biến động của các chủng virus gây VNNB (hình 2) thì các chủng ở Long An và chủng CTMP-7 tạo thành một nhánh phụ riêng lẻ, cho thấy sự phân bố rõ về mặt địa lý của các chủng virus Long An và Cần Thơ cùng thuộc về khu vực Miền Nam Việt Nam, cụ thể là khu vực Đồng Bằng Sông Cửu Long. Chứng tỏ các chủng này đặc trưng cho khu vực Miền Nam Việt Nam. Kết quả phân tích cũng cho thấy các chủng virus gây VNNB ở Việt Nam được chia làm hai nhóm nhỏ: nhóm các chủng ở khu vực miền Nam thuộc về nhánh các chủng ở khu vực Đông Nam Á, và nhóm các

chủng ở khu vực miền Bắc thuộc về nhánh các chủng ở khu vực Trung Quốc – Nhật Bản. Vì xét ở mức độ khu vực quốc gia, chủng virus ở Cần Thơ và Long An được xác định rất gần với các chủng ở Campuchia và Thái Lan – khu vực Đông Nam Á hơn cả một số chủng ở miền Bắc. Điều này cũng phù hợp với sự phân bố về mặt địa lý, Campuchia và Thái Lan có điều kiện khí hậu cũng như khoảng cách địa lý gần nhau hơn so với miền Bắc Việt Nam. Trong khi đó, các chủng miền Bắc được xác định gần với các chủng ở Trung Quốc, Nhật Bản hơn, và kết quả này đã được chứng minh bởi Vu Thi Que Huong et al (1993), Phan Thi Nga et al (2004) và Vaughn and Hoke (1992).

Kết quả trình bày ở bảng 3 và hình 2 chứng tỏ có sự lây truyền virus này ở các nước lân cận trong vùng Đông Nam Á cũng như các nước xa hơn thuộc Đông Á như Trung Quốc và Nhật Bản. Điều này có thể được giải thích là do gió thổi từ miền Nam đến miền Bắc phổ biến suốt mùa hè trong vùng, những luồng gió đã góp phần mang những con muỗi bị nhiễm virus VNNB tới những quốc gia trong vùng (Asahina and Noguchi, 1968; Wada et al, 1969; Ree et al, 1975; Mackenzie và ctv, 2001; Ritchie và Rochester, 2001). Bên cạnh đó, sự hiện diện với số lượng đáng kể những con muỗi có mang virus trên tàu thủy và trên máy bay giữa khu vực Đông Nam Á và Đông Á cũng góp phần lan truyền virus VNNB trong khu vực (Laird, 1948;). Ngoài ra, một số nghiên cứu khác cũng đã chứng minh được sự lan truyền bệnh VNNB do số lượng lớn những loài chim di trú mang virus VNNB tới những vùng lãnh thổ mới theo đường hạ cánh của chúng (Innis, 1995; Solomon và ctv, 2003).

Bảng 4. So sánh mức độ tương đồng về trình tự amino acid của chủng CTMP-7 với các chủng virus VNNB trong nước và khu vực

<i>Tên chủng</i>	<i>Nơi phân lập_mã số gene</i>	<i>Năm phân lập</i>	<i>Mức độ tương đồng (%)</i>
VN22	Vietnam22_AY376465	2002	97
LA-H07-05	VietnamLAFH07_J185154	2005	97
LAH-2097-05	VietnamLAH2079_J185155	2005	96
JE-KK-1116	Thailand_DQ343290	2005	96
M859	Cambodia_JEU70410	1967	95
JaNAr17-07	Nagasaki_FJ185149	2007	96
JEV-254	Okinawa_AB471667	2008	96
RFVL	Nakayama_S75726	1935	95
SC04-17	China_DQ404093	2004	96
JKT9092	Indonesia_JEU70409	1981	94

Qua kết quả bảng 4 cho thấy, chủng CTMP-7 có mức độ tương đồng amino acid cao (96-97%) với các chủng virus VNNB trong nước như: VN22 phân lập ở Miền Bắc Việt Nam, LA-H07-05 và LAH-2097-05 phân lập ở Long An, ở Nhật Bản (JaNAr17-07 và JEV_254), Trung Quốc (SC04_17), Thái Lan (JE_KK_1116). Nhưng khi so với chủng M859 phân lập ở Campuchia, chủng Nakayama và chủng JKT9092 ở Indonesia thì mức độ giống nhau ở mức thấp hơn, chỉ đạt (94-95%) sự sai khác này tập trung phần lớn ở đoạn 40 amino acid đầu tiên. Tuy nhiên, sự sai khác này không lớn, chứng tỏ sự thay đổi nucleotid xảy ra trong đoạn gen này chưa dẫn đến biến đổi lớn đối với các amino acid ($\leq 6\%$).

IV. KẾT LUẬN

Virut VNNB chủng CTMP-7 thuộc genotype I, có quan hệ gần gũi với các chủng phân lập ở Long An và một số nước Đông Nam Á và Đông Á thuộc genotype I. Tuy có một số biến đổi về kiểu gen so với một số chủng được phân lập trước đây thuộc genotype III và IV nhưng chưa có biến đổi lớn về kiểu hình.

Tài liệu tham khảo

1. Hồ Thị Việt Thu, Huỳnh Kim Loan, Huỳnh Thị Phương Thảo, Huỳnh Ngọc Trang, Nguyễn Văn An, Trần Đình Từ (2006), “Phân lập virus viêm não Nhật Bản từ muỗi thu thập tại thành phố Cần Thơ”, *Tạp chí KHKT thú y*, 13(5), tr.19-23.
2. Hồ Thị Việt Thu (2010). “Độc lực virus viêm não Nhật Bản chủng CTMP-7 phân lập từ muỗi tại thành phố Cần Thơ”. *Tạp chí KHKT thú y*, 17(6), tr.17-24.
3. Đoàn Thị Thủy, Huỳnh Phương Liên, Nguyễn Hồng Hạnh, Hoàng Thủy Nguyên (1991). “Tình chế vaccine viêm não Nhật Bản để sản xuất vaccine tinh khiết trong dự phòng bệnh viêm não Nhật Bản”, *Tạp Chí Vệ Sinh Phòng Dịch*, 1(1), tr. 19-25.
4. Do Quang Ha, Vu Thi 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*, 12, pp.277-288.
5. Innis B.L. (1995), “Japanese encephalitis”, *Exotic viral infections*, Chapman & Hall Medical, pp. 147-174.
6. Nabeshima T., Huynh Kim Loan, Inoue S., Sumiyoshi, M., Haruta Y., Phan Thi Nga, Vu Thi Que Huong, Parquet M. del C., Hasebe F. and Morita K. (2009). “Evidence of frequent introduction of Japanese encephalitis virus from South-East Asia and continental East Asia to Japan”. *Journal of General Virology* 90, pp. 827-832.
7. Phan Thi Nga, Parquet M.C., Vuong Duc Cuong, Ma S.P., Hasebe F., Inoue S., Yoshihiro M., Takagi M., Vu Sinh Nam and Morita K. (2004), “Shift in Japanese encephalitis virus (JEV) genotype circulating in Northern Vietnam: implication for frequent introductions of JEV from Southeast Asia to East Asia”. *Journal of General Virology* 85, pp. 1625-1631.
8. Solomon T., Ni H., Beasley D.W.C., Ekkelenkamp M., Cardoso M.J., Barrett A.D.T. (2003), “Origin and evolution of Japanese encephalitis virus in Southeast Asia”, *Journal of Virology*, 77(5), pp. 3091-3098.
9. Vaughn D.W., and Hoke C.H., (1992), “The epidemiology of Japanese encephalitis: prospects for prevention” *Epidemiol Rev*, 14, pp. 197-221.
10. Vu Thi Que Huong, Do Quang Ha, Deubel V. (1993). Genetic study of Japanese encephalitis viruses from Vietnam. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, 49(5), pp.538-544.