

# XÁC ĐỊNH GENOTYPE VÀ PHÂN TÍCH PHẢ HỆ DI TRUYỀN CỦA VIRUS VIÊM GAN E ĐANG LƯU HÀNH TRÊN LỢN TẠI BẮC GIANG VÀ NGHỆ AN

*Lê Thành Duy<sup>1</sup>, Đào Duy Tùng<sup>1</sup>, Bùi Ngọc Anh<sup>1</sup>,  
Phạm Thị Huệ<sup>1</sup>, Ngô Thị Minh Quyên<sup>1</sup>, Kiều Anh Minh<sup>1</sup>, Hoàng Đức Trung<sup>1</sup>,  
Vũ Thị Thanh<sup>1</sup>, Trần Hoàng Long<sup>1</sup>, Nguyễn Quang Huy<sup>1</sup>, Hoàng Thị Thủy<sup>1</sup>,  
Đặng Văn Minh<sup>2</sup>, Hoàng Việt Hưng<sup>3</sup>, Nguyễn Mạnh Hiền<sup>4</sup>, Bùi Nghĩa Vương<sup>1</sup>*

## TÓM TẮT

Virus viêm gan E (HEV) phân bố trên toàn cầu, gây bệnh viêm gan truyền lây nguy hiểm giữa người và động vật. Mục tiêu của nghiên cứu này là nâng cao sự hiểu biết của người dân về HEV, đặc biệt là những người chăn nuôi và những người làm việc giết mổ lợn, bởi đây là những đối tượng có nguy cơ bị nhiễm HEV cao. Tổng số 252 mẫu phân lợn đã được thu thập trong thời gian từ tháng 11 đến tháng 12 năm 2019 tại 4 xã thuộc 2 tỉnh Nghệ An và Bắc Giang để làm vật liệu cho nghiên cứu này. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ lưu hành HEV trên đàn lợn ở tỉnh Nghệ An là 3,85% và ở tỉnh Bắc Giang là 0,82%. Kết quả nghiên cứu cũng cung cấp một cái nhìn tổng quát về con đường truyền lây của HEV giữa các loài động vật cũng như con đường truyền lây của HEV giữa các quốc gia. Kết quả phân tích phả hệ di truyền cho thấy HEV đang lưu hành tại hai tỉnh nói trên thuộc subgenotype 3a (là genotype gây bệnh truyền lây giữa người và động vật). Việc điều tra, nghiên cứu các con đường truyền lây của HEV cũng như thói quen, tập quán sinh sống của người dân tại một số vùng nông thôn, miền núi còn gặp nhiều khó khăn là hết sức cần thiết. Xác định được con đường truyền lây chính là cơ sở để ra biện pháp phòng chống sự lây nhiễm và phát tán HEV.

*Từ khóa:* Virus viêm gan E, bệnh truyền lây giữa động vật và người, sự lưu hành.

## Genetic characterization and phylogenetic analysis of Hepatitis E virus in pigs in Bac Giang and Nghe An provinces

*Le Thanh Duy, Dao Duy Tung, Bui Ngoc Anh,  
Pham Thi Hue, Ngo Thi Minh Quyen, Kieu Anh Minh, Hoang Duc Trung,  
Vu Thi Thanh, Tran Hoang Long, Nguyen Quang Huy, Hoang Thi Thuy,  
Dang Van Minh, Hoang Viet Hung, Nguyen Manh Hien, Bui Nghia Vuong*

## SUMMARY

Hepatitis E virus (HEV) causes a dangerous zoonotic hepatitis and distributes in the worldwide. The main objectives of this study aimed at improving the understanding and awareness on HEV for the people, especially the pig farmers and the people who work in the pig slaughterhouse, because they are the high-risk people groups with HEV infection. A total of 252 pig fecal samples were collected from November to December 2019, in 4 villages in Nghe An and Bac Giang provinces as the materials for this study. The studied result showed that the prevalence of HEV in pigs in Nghe An province was 3.85% and in Bac Giang province was 0.82%. The results of the study also provided an overview of the HEV transmission pathway among the animal species as well as among the countries. The result of analyzing phylogenetic showed that HEV circulating in two provinces belonged to sub-genotype 3a, which caused zoonotic hepatitis. The investigation on the ways of HEV transmission, as well as the habits and living customs of the people in some underdeveloped mountainous and rural areas would help to develop the preventive measures and to control the spread of HEV.

*Keywords:* Hepatitis E virus (HEV), zoonotic disease, prevalence.

<sup>1</sup> Viện Thú y

<sup>2</sup> Chi cục Chăn nuôi và Thú y Nghệ An

<sup>3</sup> Bộ môn Toán Tin, Đại học Y Hà Nội

<sup>4</sup> Chi cục Chăn nuôi và Thú y Bắc Giang

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm gan E là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm, do virus thuộc loài *Orthohepevirus*, họ *Hepeviridae* gây nên [10]. Virus viêm gan E (HEV) là ARN virus không có màng bao bọc. Bộ gen của HEV dài 7,2kb bao gồm 3 khung đọc mở: ORF1 mã hóa cho các protein phi cấu trúc, ORF2 mã hóa cho lớp vỏ capsid của virus, và ORF3 mã hóa các photpho-protein thường quy [11]. Bệnh viêm gan E là bệnh truyền lây giữa người và động vật. Bệnh đã được báo cáo tại một số nước châu Phi, châu Mỹ La Tinh và châu Á trong đó có Việt Nam [1, 11] (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>). Hàng năm trên thế giới có khoảng 20 triệu ca mắc bệnh, trong đó châu Á có số ca bệnh cao nhất (chiếm 60,6% tổng số ca bệnh), đồng thời số ca chết do nhiễm HEV của bệnh nhân châu Á chiếm 64,7% tổng số bệnh nhân chết do nhiễm HEV trên toàn thế giới [8]. Cho đến nay virus viêm gan E (HEV) được biết đến có ít nhất 8 genotype đang lưu hành trên người và động vật [7, 12]. Trong đó HEV genotype 1-4, và 7 gây bệnh truyền lây giữa người và động vật. HEV genotype 3, 4 và 7 truyền lây chủ yếu thông qua việc con người tiêu thụ các sản phẩm thịt, sữa hoặc nước uống có chứa mầm bệnh không được nấu chín [9, 12]. Một số nghiên cứu tại các nước châu Á, châu Âu và Mỹ cho thấy lợn là loài vật chính truyền lây HEV genotype 3 và 4 cho con người [9, 11, 13]. Tại Việt Nam, ca bệnh HEV trên người đầu tiên được ghi nhận vào năm 1994 trên lưu vực sông Hậu giáp ranh biên giới Campuchia [2]. Một nghiên cứu gần đây của chúng tôi trên mẫu phân lợn thu thập từ lò mổ tại Việt Nam cho thấy HEV đang lưu hành trên lợn với tỷ lệ 6,8% [6]. Mặc dù bệnh viêm gan E là bệnh truyền lây giữa người và động vật nguy hiểm, tuy nhiên hiểu biết về HEV tại Việt Nam vẫn còn nhiều hạn chế. Trong nghiên cứu này chúng tôi

đánh giá sự lưu hành của HEV trên các mẫu phân lợn thu thập tại các hộ chăn nuôi nhỏ và vừa thuộc địa bàn 2 tỉnh Bắc Giang và Nghệ An. Phân tích đánh giá phả hệ di truyền và xác định genotype của các chủng HEV đang lưu hành trong đàn lợn tại địa bàn hai tỉnh. Phân tích sự truyền lây HEV giữa các loài và giữa các quốc gia có bệnh HEV đang lưu hành trên thế giới.

## II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Địa điểm lấy mẫu

Mẫu phân lợn được thu thập tại các trại lợn chăn nuôi theo phương thức truyền thống với quy mô nhỏ hoặc vừa. Mẫu được thu thập tại 60 hộ chăn nuôi tại 2 xã Hiệp Hòa, Việt Yên tỉnh Bắc Giang và 60 hộ chăn nuôi thuộc 2 xã Đô Lương, Thanh Chương tỉnh Nghệ An. Tổng số 252 mẫu phân lợn đã được thu thập trong thời gian từ tháng 11 đến tháng 12 năm 2019. Trong đó 122 mẫu phân lợn được thu thập tại Bắc Giang và 130 mẫu được thu thập tại Nghệ An. Số lượng mẫu phân thu thập tại mỗi trại chăn nuôi dao động từ 1 đến 5 mẫu, tùy thuộc vào tổng số lợn có mặt trong trại tại thời điểm thu thập.

### 2.2. Tách chiết ARN và xét nghiệm sinh học phân tử HEV bằng phản ứng realtime-PCR

Mẫu phân lợn được xử lý thành huyền dịch theo tỷ lệ 20% trong PBS, huyền dịch được ly tâm 5.000 vòng/phút trong 5 phút để loại bỏ cặn bẩn và thu phần nước nổi. Sau đó 140 µl dung dịch nước nổi được sử dụng để tách chiết ARN của HEV, sử dụng kit tách chiết QIAamp viral RNA (Qiagen). Quy trình tách chiết ARN tuân theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Kit Invitrogen superscript III qRT-PCR được sử dụng để thực hiện phản ứng realtime-PCR. Master mix bao gồm 5µl mẫu tách chiết ARN, 10µM mỗi xuôi, 10µM mỗi ngược, 5µM probe:

Mỗi xuôi (F): 5'-GGTGGTTTCTGGGGTGAC-3'

Mỗi ngược (R): 5'-AGGGGTTGGTTGGATGAA-3'

Probe: 5'-FAM-TGATTCTCAGCCCTTCGC-BHQ-3'[4]

Chu trình nhiệt của phản ứng realtime-PCR: 50°C/15 phút, 95°C/2 phút, 45x (95°C/10 giây, 60°C/60 giây), 25°C/5 phút. Mẫu dương tính khi cho kết quả giá trị Ct (cycle threshold) ≤ 39, mẫu âm tính không cho giá trị Ct, mẫu nghi ngờ khi 39 < Ct ≤ 45.

### 2.3. Phản ứng Nested PCR

Phản ứng Nested PCR được sử dụng để khuếch đại 348bp nucleotide DNA mã hóa cho HEV ORF2. Sản phẩm PCR từ phản ứng Nested PCR được dùng cho việc giải trình tự gen của HEV. Đầu tiên kit Qiagen One-step RT-PCR được dùng để thực hiện phản ứng RT-PCR, sử dụng cặp môi:

Mồi xuôi HEV-F1: 5'-AATTATGCYCAGTAYCGRGTTG-3'

Mồi ngược HEV-R1: 5'-CCCTTRTCYTGCTGMGCATTCTC-3'[9]

Chu trình nhiệt của phản ứng: 50°C/30 phút, 95°C/15 phút, 40x (95°C/30 giây, 55°C/30 giây, 72°C/1 phút). Kế tiếp, phản ứng

Nested PCR được thực hiện, sử dụng master mix từ kit TaKaRa Extaq (Takara Bio Inc., Japan), cặp mồi:

Mồi xuôi HEV-F2: 5'-GTWATGCTYTGATWCATGGCT-3'

Mồi ngược HEV-R2: 5'-AGCCGACGAAATCAATTCTGTC-3' [9]

Và 5µl sản phẩm PCR từ phản ứng RT-PCR làm mẫu để khuếch đại 348bp HEV ORF2. Chu trình nhiệt của phản ứng Nested PCR: 95°C/2 phút, 35x (95°C/30 giây, 55°C/30 giây và 72°C/30 giây), 72°C/5 phút. Sản phẩm PCR từ phản ứng Nested PCR được điện di trên agarose 1,5%; sản phẩm 348bp được cắt khỏi gel điện di và được tinh sạch bằng kit Qiagen Gel purification phục vụ cho việc giải trình tự.

#### 2.4. Giải trình tự DNA nucleotide

Sản phẩm PCR tinh sạch thu được từ phản ứng Nested PCR được sử dụng để giải trình tự DNA của 348bp HEV ORF2 sử dụng kit ABI Prism Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosciences, Foster City, CA, USA), sử dụng mồi xuôi HEV-F2 và mồi ngược HEV-R2. Phản ứng giải trình tự được đọc và phân tích bằng máy giải trình tự 3500 Genetic Analyzer (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). Phân tích kết quả giải trình tự được thực hiện bằng phần mềm GENETYX ver.13.0.3 (GENETYX Corp., Tokyo, Japan).

#### 2.5. Phân tích phả hệ di truyền

Trình tự nucleotide DNA của 348bp HEV ORF2 của 4 chủng HEV Việt Nam được so sánh với 82 chủng HEV tham chiếu đã được công bố trên GenBank, sử dụng phương pháp ClustalW multiple alignments bằng phần mềm BioEdit version 7.2.5. Cây phả hệ di truyền được thiết lập sử dụng phương pháp Maximum Likelihood bằng phần mềm MEGA X [5], sử dụng model tối ưu GTR + G + I với độ lặp lại (bootstrap) 1.000 lần. Đồng thời số liệu trên cũng được sử dụng để thiết lập cây truyền lây HEV giữa các loài và giữa các quốc gia sử dụng phương pháp Bayesian maximum clade credibility (MCC) host/country discrete traits bằng phần mềm BEAST v1.8.4

(<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/blast/>). Sử dụng model tối ưu GTR + G + I, unrelated clock, strict clock và constant population size coalescent để thiết lập cây truyền lây HEV theo loài và theo quốc gia. Số lần lấy mẫu được thiết lập trong 50.000.000 lần, cứ mỗi 5.000 lần chạy lấy mẫu 1 lần. Tổng số 10.000 cây phả hệ được thu thập. Sử dụng phần mềm Tracer v1.6 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>) để đánh giá độ tin cậy của kết quả phân tích Bayesian. Cây truyền lây HEV giữa các loài và giữa các quốc gia được tổng hợp lại bằng phần mềm TreeAnnotator v1.10.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/blast/>) để cho giá trị tối ưu của phân tích, đồng thời được thiết lập lại bằng phần mềm FigTree v.1.4.3 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/>).

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tổng số 252 mẫu phân được thu thập tại 120 hộ chăn nuôi trong địa bàn 4 xã thuộc 2 tỉnh Bắc Giang và Nghệ An. Tổng quan, tỷ lệ lưu hành của HEV trên lợn qua xét nghiệm sinh học phân tử bằng phương pháp realtime-PCR là 2,38% (6 mẫu dương /252 tổng số mẫu xét nghiệm). Trong đó tỷ lệ lưu hành HEV trên lợn tại tỉnh Nghệ An cao hơn (3,85%) tại Bắc Giang (0,82%) (bảng 1).

Mặt khác tỷ lệ mẫu dương tính qua xét nghiệm bằng phương pháp Nested PCR thấp hơn so với xét nghiệm bằng phương pháp realtime-PCR. Số mẫu phân lợn dương tính HEV qua xét nghiệm Nested PCR tại Nghệ An và Bắc Giang lần lượt là 3 và 1 mẫu dương (bảng 1). Qua số liệu thống kê cho thấy những mẫu có kết quả realtime-PCR dương tính có giá trị Ct (cycle threshold) 39>Ct >36 cho kết quả âm tính khi thực hiện xét nghiệm bằng phản ứng Nested PCR (Số liệu chưa công bố).

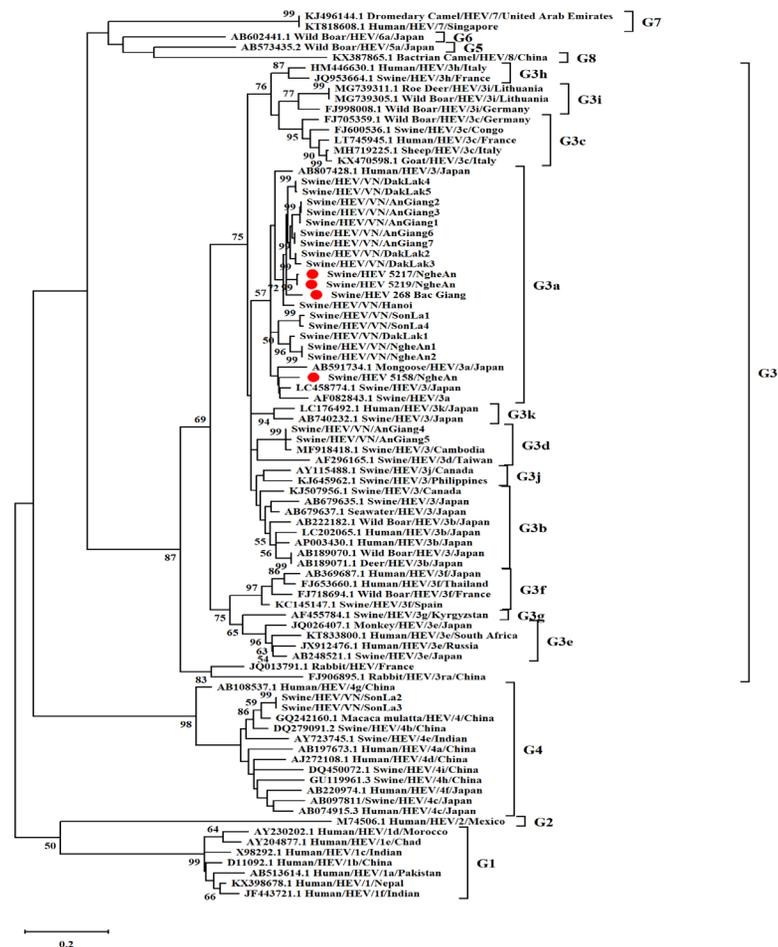
Tổng số 4 mẫu HEV dương tính (3 mẫu tại Nghệ An và 1 mẫu tại Bắc Giang) qua xét nghiệm

**Bảng 1. Tỷ lệ lưu hành của HEV trong mẫu phân lợn thu thập tại 2 tỉnh Nghệ An và Bắc Giang năm 2020**

Tỉnh (tổng số mẫu thu thập)	Số mẫu realtime-PCR dương tính (%)	Số mẫu Nested PCR dương tính
Nghệ An (130)	5 (3,85%)	3
Bắc Giang (122)	1 (0,82%)	1
<b>Tổng số (252)</b>	<b>6 (2,38%)</b>	<b>4</b>

Nested PCR được tinh sạch và giải trình tự thành công 348bp nucleotide gen HEV ORF2. Trình tự 348bp nucleotide HEV đã được công bố trên GenBank với mã nhận biết là MW367419 – MW367422. Phân tích phả hệ di

truyền 348bp nucleotide của gen HEV ORF2 cho thấy, cả 4 chủng HEV đang lưu hành trên đàn lợn tại hai tỉnh Nghệ An và Bắc Giang đều thuộc genotype 3, subgenotype 3a (hình 1).



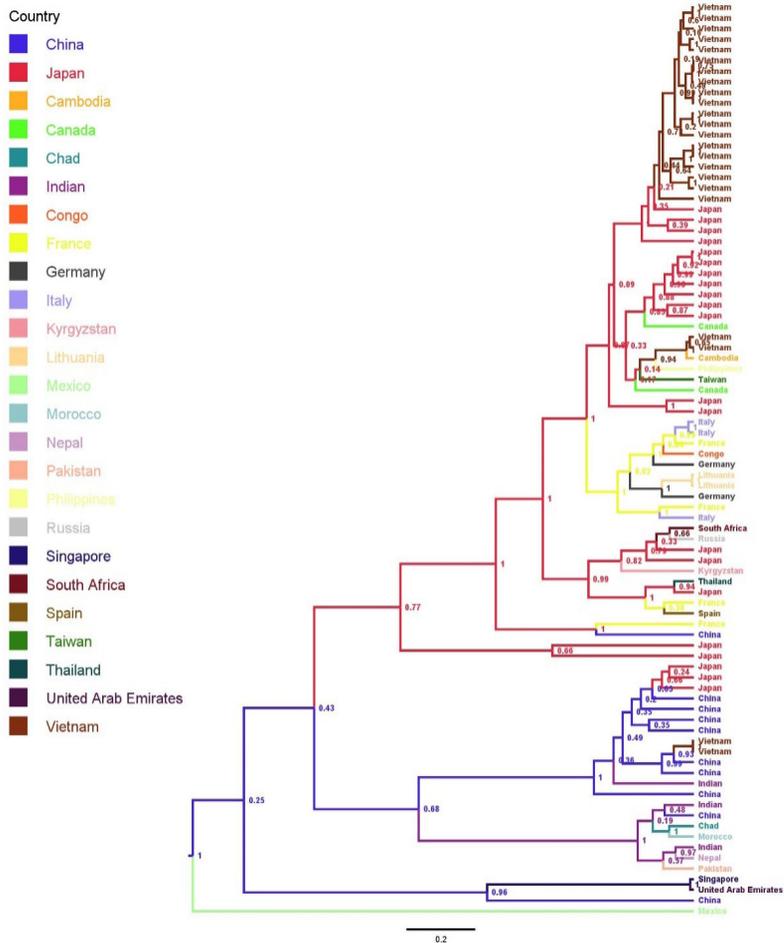
**Hình 1. Cây phả hệ di truyền thiết lập bằng phương pháp Maximum-likelihood cho 348bp HEV ORF2 của 4 chủng HEV Việt Nam (hiển thị ●) và các chủng tham chiếu trên GenBank. Genotype G1-G8 hiển thị bên phải của cây phả hệ. Số hiển thị tại các node thể hiện giá trị bootstrap. Thanh bar phía dưới hiển thị khoảng cách tiến hóa.**



thê lợn rừng (wild boar) truyền HEV cho hươu (deer), cừu (sheep) truyền HEV cho dê (goat) (hình 2). Một số nghiên cứu trước đây cho thấy có mối tương quan dịch tễ giữa việc tiêu thụ thịt lợn và các ca nhiễm HEV trên người [3, 13]. Tại Việt Nam, đặc biệt là các vùng nông thôn và miền núi kém phát triển, đại đa số các hộ chăn nuôi lợn thực hành an ninh và an toàn sinh học ở mức độ thấp. Người chăn nuôi thường làm việc trong môi trường vệ sinh kém và không có đồ bảo hộ. Thêm vào đó, một số địa phương vẫn còn thói quen ăn đồ ăn sống như gỏi thịt, nem sống, tiết canh, cá sống hay rau sống được trồng theo cách truyền thống. Đây có thể là lý do khiến HEV có khả năng lây nhiễm sang con

người. Chính vì vậy, việc điều tra, nghiên cứu các con đường truyền lây HEV cũng như thói quen, tập quán của người dân tại một số vùng nông thôn miền núi kém phát triển là hết sức cần thiết. Thông qua nghiên cứu có thể xác định con đường truyền lây chính, giúp đề ra biện pháp phòng chống, khuyến cáo người dân, giúp ngăn chặn lây nhiễm và phát tán HEV.

Hiện nay HEV phân bố khắp các châu lục, chính do quá trình giao thương giữa các quốc gia khiến HEV có cơ hội truyền lây và phân bố rộng như vậy. Kết quả phân tích cây truyền lây HEV giữa các quốc gia cho thấy HEV xuất hiện đầu tiên tại Trung Quốc (hình 3).



**Hình 3. Cây truyền lây HEV giữa các quốc gia thiết lập bằng phương pháp Bayesian maximum clade credibility (MMC) country discrete traits cho 348bp HEV ORF 2 của 4 chủng HEV Việt Nam và các chủng tham chiếu trên GenBank. Số hiển thị tại các node thể hiện giá trị posterior probability. Thanh bar phía dưới hiển thị khoảng cách tiến hóa.**

Phân tích đường truyền lây HEV giữa các quốc gia cho thấy một số con đường chính giúp HEV phân bố khắp thế giới. Con đường truyền lây thứ nhất từ Trung Quốc truyền sang Mexico. Thứ hai là từ Trung Quốc truyền sang Singapore, tiếp theo Singapore truyền sang các nước Tiểu vương quốc Ả Rập. Một con đường khác từ Trung Quốc truyền sang Việt Nam, Nhật Bản và Ấn Độ. Trong quá trình lưu hành tại Ấn Độ, HEV có cơ hội du nhập vào các nước Nam Á khác bao gồm Nepal, Pakistan, và các nước châu Phi bao gồm Chad, Morocco. Con đường cuối cùng là từ Trung Quốc truyền sang Nhật Bản rồi từ Nhật Bản phân bố đến châu Âu bao gồm các nước Đức, Pháp, Ý, Nga, Tây Ban Nha, Lithuania; đến châu Á bao gồm các nước Kyrgyzstan, Đài Loan, Thái Lan, Việt Nam, Campuchia và Philippin; cuối cùng đến các nước Nam Phi và Canada. Việt Nam ghi nhận hai con đường truyền lây HEV giữa các quốc gia. Đường thứ nhất từ Trung Quốc truyền sang Việt Nam. Đường thứ hai từ Nhật Bản truyền đến Việt Nam, sau đó thông qua Việt Nam HEV du nhập vào Campuchia và Philippin (hình 3). Ngày nay, với xu hướng toàn cầu hóa, việc giao thương kinh tế và du lịch giữa các quốc gia phát triển nhanh chóng. Bên cạnh những lợi ích của toàn cầu hóa, các nhà quản lý cũng gặp không ít khó khăn trong công tác quản lý dịch bệnh trên vật nuôi cũng như dịch bệnh trên con người, điển hình như đại dịch Covid-19 do virus SARS-CoV 2 đang hoành hành trên quy mô toàn cầu. Trong những năm gần đây, Việt Nam cũng phải đương đầu với những dịch bệnh lần đầu tiên xuất hiện trên đàn vật nuôi như bệnh dịch tả lợn châu Phi (African swine fever) xuất hiện đầu năm 2019 hay bệnh viêm da nổi cục (Lumpy skin disease) trên trâu, bò xuất hiện cuối năm 2020. Việc giám sát dịch bệnh mới nổi và tái nổi trong thời đại hiện nay là việc làm quan trọng và tối cần thiết trong công cuộc dự báo sớm và phòng chống dịch bệnh cho vật nuôi cũng như cho loài người.

#### IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã cung cấp thông tin và bằng chứng về sự lưu hành của HEV trên đàn lợn tại hai tỉnh Nghệ An và Bắc Giang. Đây là bệnh truyền lây nguy hiểm giữa người và động vật, việc nâng cao hiểu biết và khuyến cáo người dân, đặc biệt là

những người chăn nuôi và những người làm việc giết mổ là việc làm ưu tiên và cần thiết. Bởi đây là những đối tượng có nguy cơ lây nhiễm HEV cao. Kết quả của nghiên cứu dự đoán và thảo luận một cách tổng quát về các yếu tố truyền lây HEV giữa các loài cũng như giữa các quốc gia. Phân tích phá hệ di truyền cũng cho thấy HEV đang lưu hành tại hai tỉnh Nghệ An và Bắc Giang thuộc subgenotype 3a là genotype gây bệnh truyền lây giữa người và động vật. Việc tiến hành các nghiên cứu mới với quy mô quốc gia về dịch tễ và con đường truyền lây HEV, cũng như các đánh giá nguy cơ con người nhiễm HEV từ lợn và môi trường tại Việt Nam là hết sức cần thiết, có tầm quan trọng lớn trong việc phòng chống dịch bệnh HEV.

*Lời cảm ơn:* Kinh phí thực hiện nghiên cứu này thuộc đề tài nghiên cứu khoa học tiềm năng của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn cấp năm 2020. Kinh phí lấy mẫu thực địa được tài trợ bởi tổ chức CGIAR Research Program on Livestock, CGIAR Trust Fund, CGIAR. Nhóm nghiên cứu gửi lời cảm ơn chân thành đến các cán bộ nghiên cứu bộ môn Virus - Viện Thú y. Xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến các cán bộ Chi cục Chăn nuôi và Thú y tỉnh Bắc Giang, Chi cục Chăn nuôi và Thú y tỉnh Nghệ An đã giúp đỡ và phối hợp thực hiện nghiên cứu.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Berto A, Pham HA, 2018. Hepatitis E in southern Vietnam: Seroepidemiology in humans and molecular epidemiology in pigs. *Zoonoses Public Health* 2018 Feb;65(1):43-50.
2. Corwin AL, Khiem HB, Clayson ET, Pham KS, Vo TT, Vu TY, Cao TT, Vaughn D, Merven J, Richie TL, Putri MP, He J, Graham R, Wignall FS, Hyams KC, 1996. A waterborne outbreak of hepatitis E virus transmission in southwestern Vietnam. *The American journal of tropical medicine and hygiene* 54:559-562
3. Intharasongkroh D, Sa-Nguanmoo P, Tuanthap S, Thongmee T, Duang-In A, Klinfueng S, Chansaenroj J, Vongpunsawad S, Theamboonlers A, Payungporn S, Chirathaworn C, Poovorawan Y, 2017.

- Hepatitis E virus in pork and variety meats sold in fresh markets. *Food and environmental virology* 9:45-53.
4. Jothikumar N, Cromeans TL, Robertson BH, Meng XJ, Hill VR, 2006. A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *Journal of Virological Methods* 131:65-71.
  5. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K, 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Mol Biol Evol* 35:1547-1549.
  6. Lee HS, Dao DT, Bui VN, Bui NA, Le TD, Nguyen-Viet H, Grace D, Thakur KK, Hagiwara K, 2020. Prevalence and phylogenetic analysis of hepatitis E virus in pigs in Vietnam. *BMC Vet Res* 16:333.
  7. Purdy MA, Harrison TJ, Jameel S, Meng XJ, Okamoto H, Van der Poel WHM, Smith DB, Ictv Report C, 2017. ICTV Virus Taxonomy Profile: Hepeviridae. *J Gen Virol* 98:2645-2646.
  8. Rein DB, Stevens GA, Theaker J, Wittenborn JS, Wiersma ST, 2012. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology* (Baltimore, Md) 55:988-997.
  9. Slot E, Zaaijer HL, Molier M, Van den Hurk K, Prinsze F, Hogema BM, 2017. Meat consumption is a major risk factor for hepatitis E virus infection. *PLoS One*, 12:e0176414.
  10. Jameel S, Emerson SU, Harrison TJ, Meng XJ, Okamoto H, Van der Poel WHM, Purdy MA, 2014. Consensus proposals for classification of the family Hepeviridae. *J Gen Virol* 95:2223-2232.
  11. Sridhar S, Lau SK, Woo PC, 2015. Hepatitis E: A disease of reemerging importance. *Journal of the Formosan Medical Association* 114:681-690.
  12. Sridhar S, Teng JLL, Chiu TH, Lau SKP, Woo PCY, 2017. Hepatitis E virus genotypes and evolution: emergence of camel Hepatitis E variants. *International journal of molecular sciences* 18.
  13. Yazaki Y, Mizuo H, Takahashi M, Nishizawa T, Sasaki N, Gotanda Y, Okamoto H, 2003. Sporadic acute or fulminant hepatitis E in Hokkaido, Japan, may be food-borne, as suggested by the presence of hepatitis E virus in pig liver as food. *J Gen Virol* 84:2351-2357
- Ngày nhận 21-12-2020  
 Ngày phản biện 22-1-2021  
 Ngày đăng 1-3-2021