

PHÂN TÍCH TRÌNH TỰ MỘT PHẦN GEN NUCLEOPROTEIN (N) CỦA CHỦNG VIRUS DẠI TẠI HÀ TIÊN, KIÊN GIANG

Trương Phúc Vinh¹, Nguyễn Đức Hiền²

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện với mục đích xác định đặc điểm của virus dại (chi Lyssavirus, họ Rhabdoviridae, bộ Mononegavirales) bằng cách giải trình tự một phần gen nucleoprotein (N) để biết kiểu gen và phát sinh loài của chủng virus dại 1230.2019 phát hiện trên một chó mắc bệnh dại ở Hà Tiên, tỉnh Kiên Giang, Việt Nam. Mẫu não được thu, vô trùng từ chó chết để phát hiện virus dại. Mẫu này đã được phát hiện dương tính bằng phương pháp RT-PCR và giải trình tự cho nồng độ sản phẩm gen tốt.

Trình tự nucleotide và trình tự amino acid của chủng vi khuẩn dại 1230.2019 với các chủng virus dại tham chiếu có mức độ giống nhau lần lượt là 95,20–100% và 92,00–100%. Chủng virus dại 1230.2019 ở chó bệnh Hà Tiên (Việt Nam) cùng quan hệ di truyền với 8 chủng virus dại tham chiếu trong nghiên cứu. Chủng 1230.2019 có kết quả phân tích khoảng cách di truyền (0-0,16%) rất gần với 5 chủng virus dại vaccin tham chiếu và ba chủng virus dại ở chó bệnh ở GenBank. Phả hệ dựa vào chuỗi gen nucleoprotein (N), chủng 1230.2019 có mức độ đồng nhất gần như tuyệt đối và tương đồng cao với chủng vaccin Pháp 93127FRA (vaccin RABISIN ngừa dại đang được sử dụng rộng rãi ở Việt Nam).

Từ khóa: Chó dại, RT-PCR, giải trình tự, kiểu gen, phát sinh loài.

Sequence analysis of partial nucleoprotein (N) gene of Rabies virus strain in Ha Tien, Kien Giang

Truong Phuc Vinh, Nguyen Duc Hien

SUMMARY

This study was performed with the aim of characterization of the rabies virus (genus: Lyssavirus of the family Rhabdoviridae under the order Mononegavirales) by sequencing partial nucleoprotein (N) gene of the rabies virus and phylogenetic analysis to know genotype and genealogy of rabies virus 1230.2019 in the infected dogs in Ha Tien, Kien Giang province, Viet Nam. A brain sample was aseptically collected from a dead dog to detect rabies virus. This sample was found to be positive through RT-PCR assay, with high content genetic products through sequencing.

Arrangement of the nucleotide and amino acid sequences of the rabies strain 1230.2019 with reference rabies strains showed the similarity of 95.20–100% and 92.00–100%, respectively. Rabies virus strain 1230.2019 of infected dog in Ha Tien (Viet Nam) has the same genetic relationship with eight reference rabies virus in the study. Strain 1230.2019 has genetic distance analysis results (0-0.16%) very close to five reference rabies vaccine strains and three strains of rabies virus in infected dogs in GenBank. Genealogy based on nucleoprotein (N) gene sequence, strain 1230.2019 has almost absolute homogeneity and high similarity with French vaccine strain 93127FRA (RABISIN vaccine against rabies is widely used in Viet Nam).

Keywords: Rabies, RT-PCR, sequencing, genotype, phylogenetic.

¹ Trường Đại học Sư phạm kỹ thuật Vĩnh Long

² Chi cục Chăn nuôi và Thú y Cần Thơ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh dại là một trong những bệnh lây truyền từ động vật sang người nguy hiểm nhất, vì tỷ lệ tử vong gần 100% và phân bố phổ biến trên toàn cầu (Blanton, 2008). Bệnh dại có ở nhiều nơi trên thế giới kể từ thời cổ đại ngoại trừ Nam Cực, đặc biệt là ở các nước châu Á, châu Phi và châu Mỹ Latinh, nơi dịch bệnh hoành hành mặc dù có các công cụ phòng chống và kiểm soát hiệu quả nhưng hơn 95% số ca tử vong ở người vẫn xảy ra ở châu Á và châu Phi (Sudarshan, 2007).

Virus dại (RABV) là thành viên của chi *Lyssavirus* thuộc họ *Rhabdoviridae*, bộ *Mononegavirales* (Wunner, 1995). Virus dại là một virus RNA sợi đơn âm, *Lyssavirus* (kiểu gen 1) với kích thước bộ gen khoảng 12 kb (Bourhy, 1993). Bộ gen của virus mã hóa tổng cộng 5 gen cấu trúc được phân tách bởi 4 trình tự liên gen không mã hóa từ đầu cuối 3' đến đầu cuối 5' theo thứ tự N – P – M – G – L, mã hóa tương ứng nucleoprotein (N), phosphoprotein (P), protein nền (M), glycoprotein (G) và tiểu đơn vị lớn của enzym phiên mã (L) với hai vùng chưa được dịch mã (UTRs) ở các đầu của bộ gen (Wunner, 1995). Tất cả những cấu trúc này đều rất quan trọng đối với việc sao chép RNA của virus bệnh dại (Wilde, 2003).

Virus dại gây bệnh dại ở động vật và người là một loại viêm não-màng não, thường gây tử vong ở Việt Nam. Chó là nguyên nhân chính trong việc

truyền bệnh dại cho người ở Việt Nam; động vật hoang dã đóng một vai trò ít hơn, không đáng kể trong việc truyền bệnh. Virus theo đường lâm ba hoặc đường máu về thần kinh trung ương, sinh sản rất nhanh rồi vào tuyến nước bọt, lúc này cơ năng thần kinh chưa bị rối loạn đáng kể, sau đó virus phá hoại dần các tế bào thần kinh, do đó lúc đầu con vật bị kích thích, rồi xuất hiện những dấu hiệu tâm lý như hung dữ hay sợ sệt rồi chuyển dần thành bại liệt và chết. Do đó, việc chẩn đoán bệnh dại trước và sau khi giết mổ động vật là vô cùng quan trọng, vì động vật và người tiếp xúc với những động vật mắc bệnh dại này có nguy cơ mắc bệnh cao hơn.

Nghiên cứu này giới thiệu một chủng virus dại trên chó bệnh ở Hà Tiên được phát hiện theo phương pháp RT-PCR và phân tích một phần trình tự gen với một số chủng virus dại khác, kết hợp với phân tích phả hệ nguồn gốc, nhằm nhanh chóng xác định sự lưu hành của virus dại.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu nhận và bảo quản mẫu

Mẫu bệnh phẩm là não của chó được chẩn đoán nhiễm RABV tại Hà Tiên, tỉnh Kiên Giang được bảo quản -20°C, tạm đặt tên là chủng 1230.2019.

Bảng 1. Danh sách chủng virus dại 1230/2019 và các chủng virus tham chiếu, sử dụng gen N để phân tích so sánh thành phần gen và mối quan hệ nguồn gốc phả hệ

TT	Ký hiệu chủng	Số đăng ký GenBank	Năm phân lập	Nước phân lập/Xuất xứ	Ghi chú về nguồn gốc
1	1230.2019	MK790256.1	2019	Việt Nam	Chó bệnh
2	93127FRA	GU992320.1	2010	Pháp	Vacxin Rabisin Merial
3	U0520629	KM366216.1	2016	Campuchia	Chó bệnh
4	V0808656	KM366221.1	2016	Campuchia	Chó bệnh
5	V0627625	KM366222.1	2016	Campuchia	Chó bệnh
6	sadWistar_3_var01	LN713659.1	2015	Đức	Vacxin
7	RB/E3-15	EU182346.1	2007	Trung Quốc	Vacxin
8	sadBatch793_3_var01	LN713576.1	2015	Đức	Vacxin
9	RABV vaccine	M13215.1	1988	Mỹ	Vacxin

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Mẫu được thực hiện theo phương pháp RT-PCR tại Viện Pasteur TP. Hồ Chí Minh năm 2019.

Phản ứng RT-PCR thực hiện với N7: 5' - ATGTAACACCTCTACAATGG - 3'

JW6E: 5' - CAGTTGGCACACATCTTGTG - 3'

Mẫu được làm tan băng ở nhiệt độ phòng (25°C-27°C)

Các hóa chất cần thiết (AVE, AW1, AW2, AVL, chất mang RNA) được chuẩn bị theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Chiết xuất RNA virus

Cho 560µL đệm AVL và 5,6µL chất mang RNA vào eppendorf 1,5 mL. Cho 140µL mẫu bệnh phẩm. Vortex 15 giây. Để 10 phút/nhiệt độ phòng. Cho 560µL Ethanol 96-100%, vortex 15 giây. Chuyển 630µL dung dịch vào cột đặt trong eppendorf ly tâm 2mL. Ly tâm 8.000 vòng/phút, chuyển cột cho vào eppendorf 2mL mới, bỏ dịch qua lọc. Cho hết lượng dung dịch còn lại vào cột. Ly tâm 8.000 vòng/1 phút, chuyển cột cho vào eppendorf 2mL mới, bỏ dịch qua lọc. Cho 500µL đệm AW1 vào cột. Ly tâm 8.000 vòng/1 phút, chuyển cột cho vào eppendorf 2mL mới, bỏ dịch qua lọc. Cho 500µL đệm AW2 vào cột. Ly tâm 14.000 vòng/ 3 phút, chuyển cột cho vào eppendorf 1,5 mL mới, bỏ dịch qua lọc. Ly tâm 14.000 vòng/1 phút để loại hết dịch qua lọc. Chuyển cột sang eppendorf mới. Cho 60µL dung dịch AVE vào cột, để 1 phút ở nhiệt độ phòng. Ly tâm 8.000 vòng/phút. Dịch qua lọc là nguyên liệu cho phản ứng RT-PCR.

Tổng hợp và khuếch đại cDNA

Đọc kết quả

Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 2%. Chuẩn bị gel agarose 2% trong dung dịch TAE 1x, có bổ sung thuốc nhuộm (5µL/100ml). Chạy điện di 100V/30-40 phút.

Đọc kết quả bằng máy chụp hình gel Chemdoc XRS. Đối chứng âm: không có vạch, đối chứng dương: vạch điện di có kích thước

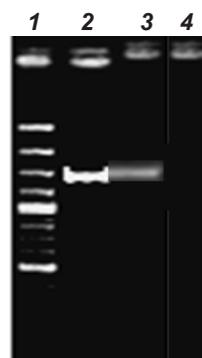
498bp. Mẫu xét nghiệm là dương tính nếu có vạch điện di trên gel agarose có kích thước tương ứng với chứng dương, mẫu âm tính nếu không có vạch trên gel.

Các chuỗi nucleotide gen N được sắp xếp so sánh bằng chương trình BioEdit, xây dựng phả hệ nguồn gốc bằng chương trình MEGA7.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thực hiện phản ứng RT-PCR

Sản phẩm PCR thu được có kích thước khoảng 0,5kb, kết quả điện di thể hiện chất lượng tốt (hình 1).



Hình 1. Điện di sản phẩm PCR của chủng 1230.2019 trên thạch agarose 2%

Giếng 1: thang chuẩn 100bp, giếng 2: mẫu não chó bệnh, giếng 3: đối chứng dương, giếng 4: đối chứng âm

Kết quả giải trình tự cho phần gen N có kích thước 533bp của chủng 1230.2019. Chuỗi gen này được sử dụng phân tích đặc điểm so sánh với các chủng virus đại vacxin và tìm phả hệ nguồn gốc.

Các giá trị đo OD cho thấy mẫu DNA ly trích được có chất lượng tốt (tỷ lệ hấp thụ ánh sáng giữa hai bước sóng 260nm/280nm trong khoảng 0,9096 đến 1,8787) và nồng độ DNA thu được 454,8 µg/mL. Nhóm tác giả đã tiến hành đăng ký chủng virus đại 1230.2019 lên GenBank tại địa chỉ [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MK790256.1?report=genbank&log\\$=nucltop&blast_rank=1&RID=6ZAN89W501R](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/MK790256.1?report=genbank&log$=nucltop&blast_rank=1&RID=6ZAN89W501R). Kết quả đăng ký thể hiện ở hình 2.

```

Rabies lyssavirus isolate 1230.2019 nucleoprotein gene, partial cds
GenBank: MK790256.1
FASTA Graphics PopSet
Go to:
LOCUS MK790256 573 bp cRNA linear VRL 30-OCT-2019
DEFINITION Rabies lyssavirus isolate 1230.2019 nucleoprotein gene, partial cds.
ACCESSION MK790256
VERSION MK790256.1
KEYWORDS
SOURCE Rabies lyssavirus
ORGANISM Rabies lyssavirus
Viruses; Riboviria; Orthornavirae; Negarnaviricota;
Haploviricotina; Monjiviricetes; Mononegavirales; Rhabdoviridae; Lyssavirus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 573)
AUTHORS Huynh, T.P., Huynh, L.T.K., Truong, V.P., Pham, H.T.T., Vu, N.P.H., Nguyen, V.T. and Nguyen, Q.H.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (12-APR-2019) Microbiology and Immunology, Pasteur Institute, 167 Pasteur, Ho Chi Minh 848, Vietnam
COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##AssemblyData-END##
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..573
/organism="Rabies lyssavirus"
/mol_type="viral cRNA"
/isolate="1230.2019"
/isolation_source="brain"
/host="dog"
/db_xref="taxon:11292"
/country="Viet Nam: Kien Giang"
/collection_date="03-Mar-2019"
/collected_by="Truong Phuoc Vinh"

```

Hình 2. Kết quả đăng ký trình tự gen chủng 1230.2019 trên GenBank

3.2. Khoảng cách di truyền, phân tích trình tự và nghiên cứu phát sinh loài

Trình tự nucleotide gen N của 9 chủng RABV (bảng 1) được đưa vào chương trình BioEdit để so sánh và Mega 7.0 để phân tích mức độ đồng nhất về thành phần nucleotide (bảng 2). Khoảng cách di truyền (pairwise genetic distance) theo cặp giữa 9 chủng bao gồm chủng 1230.2019 ở Hà Tiên (Việt Nam) và 8 trình tự tham chiếu của các chủng khác nhau trên thế giới (liệt kê ở bảng 1) được tính toán bằng phương pháp pairwise distances của phần mềm Mega 7.0. Giữa chủng 1230.2019 và 8 chủng tham chiếu có khoảng cách di truyền rất thấp cụ thể 0,0 – 0,16% giữa các chủng này. Chủng 1230.2019 mặc dù được định danh từ não chó bệnh dại

nhưng có sai khác rất thấp (0-0,16%) hay nói cách khác, có mức độ đồng nhất gần như tuyệt đối với năm chủng virus vaccin tham chiếu (bảng 1): chủng virus vaccin Pháp 93127FRA (Genbank: GU992320.1), chủng virus vaccin Đức sadWistar_3_var01 (Genbank: LN713659.1), chủng virus vaccin Đức sadBatch793_3_var01 (GenBank: LN713576.1), chủng virus vaccin Trung Quốc RB/E3-15 (GenBank: EU182346.1), chủng virus vaccin Mỹ (GenBank: M13215.1) và phân tích phá hệ (hình 4) cũng cho thấy chuỗi nucleotide chủng 1230.2019 có sự sắp xếp cùng một phân nhánh với chủng vaccin 93127FRA. Chủng vaccin 93127FRA là loại vaccin có tên thương mại là RABISIN do Công ty Merial (Pháp) sản xuất.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. RABV M13215_1		0.01							
2. EU182346_1	0.01								
3. GJ992320.1 Rabies virus strain Pasteur (PV) isolate 93127FRA nucleoprotein (N) gene complete cds	0.01	0.00							
4. KM366216.1 Rabies virus isolate U0520629 nucleoprotein (N) gene partial cds	0.16	0.15	0.15						
5. KM366221.1 Rabies virus isolate V0808656 nucleoprotein (N) gene partial cds	0.16	0.15	0.15	0.00					
6. KM366222.1 Rabies virus isolate V0627625 nucleoprotein (N) gene partial cds	0.16	0.15	0.15	0.00	0.00				
7. LN713659.1 Rabies virus complete genome isolate sadWistar_3_var01	0.01	0.00	0.00	0.15	0.15	0.15			
8. LN713576.1 Rabies virus complete genome isolate sadBatch793_3_var01	0.01	0.00	0.01	0.15	0.16	0.16	0.00		
9. 1230.19-HaTien	0.16	0.15	0.15	0.02	0.02	0.02	0.15	0.16	

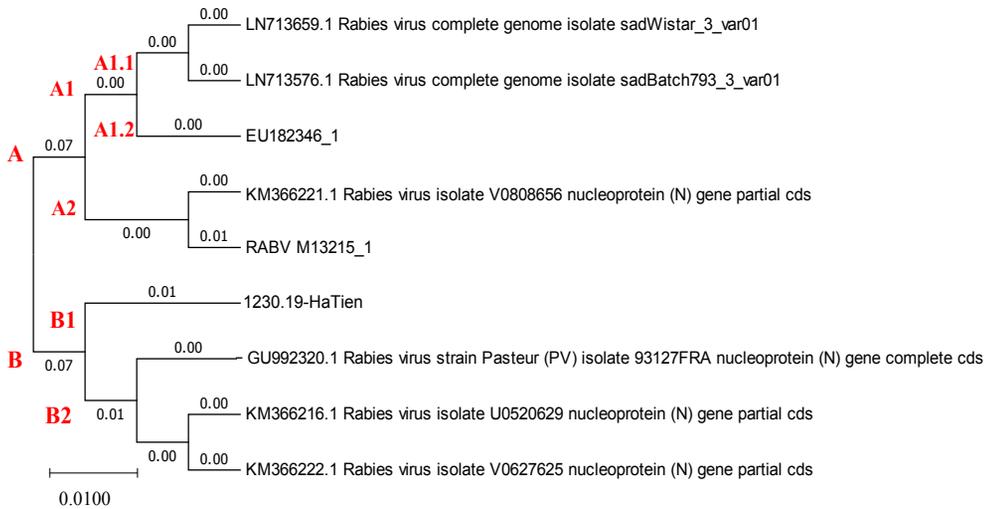
Hình 3. Khoảng cách di truyền (%) giữa chủng 1230.2019 với một số chủng vaccin và một số chủng virus dại chó bệnh tham chiếu

Tra cứu các chủng virus dại này trên GenBank cho thấy sự tương đồng 95,20–100% giữa chúng. Sự sắp xếp của các trình tự amino acid bằng cách sử dụng ClustalW cho thấy sự giống nhau từ 92,00-100% giữa chúng. Dùng ClustalW của phần mềm

BioEdit để so sánh trình tự nucleotide của chủng 1230.2019 với một số chủng virus vaccin và chủng virus dại chó bệnh có sẵn với kết quả cho thấy độ đồng nhất tương ứng là 95,20-100% và trình tự amino acid cho thấy sự đồng nhất 92,00 – 100%.

Hình 4. So sánh trình tự của chủng 1230.2019 ở Hà Tiên với các chủng virus dại vaccin, chủng virus dại chó bệnh có sẵn ở Campuchia

3.3. Phân tích cây phát sinh loài



Hình 5. Cây phát sinh loài [Maximum Likelihood] thể hiện liên hệ di truyền chủng 1230.2019 ở Hà Tiên với các chủng virus dại vaccin, chủng virus dại chó bệnh Campuchia (tham chiếu)

Hình 5 thể hiện cây phát sinh loài (phylogenetic tree) với hệ số Bootstrap là 1000 được chia thành 2 nhánh lớn: nhánh A và nhánh B, trong nhánh A gồm 5 chủng virus dại và được chia thành 2 nhánh A1 và A2. Nhánh A1 gồm 3 chủng virus dại được chia thành 2 nhánh nhỏ A1.1 và A1.2. Nhánh A1.1 gồm bốn chủng virus dại vaccin: sadWistar_3_var01 (virus vaccin Đức), sadBatch793_3_var01 (virus vaccin Đức). Nhánh A1.2 gồm RB/E3-15 (virus vaccin Trung Quốc). Nhánh A2 gồm 2 chủng virus dại: V0808656 (virus chó bệnh) và chủng RABV vaccin (Mỹ vaccin virus). Nhánh B gồm 4 chủng virus dại được chia thành 2 nhánh nhỏ B1.1 và B1.2. Nhánh B1.1 gồm chủng 1230.2019. Nhánh B2 gồm 3 chủng virus dại chó bệnh ở Campuchia trình tự đã đăng ký sẵn có trên GenBank: U0520629, V0627625. Chủng 1230.2019 nằm chung phân nhánh với chủng virus vaccin Pháp 93127FRA và các chủng RABV thuộc các dòng xuất hiện gần đây là KM 366221.1 và KM 366216.1, cho thấy rất có thể chủng 1230.2019 ở Hà Tiên (Việt Nam) có xuất xứ xâm nhập từ Campuchia.

3.4. Một số thảo luận

Chủng 1230.2019 đã được phát hiện, định danh và khảo sát đặc điểm sinh học phân tử trên chó bệnh tại Hà Tiên Việt Nam và bước đầu genotype/ dòng

xuất xứ đã được xác định. Như vậy, chủng 1230.2019 tương đồng cao với chủng virus vaccin Pháp 93127FRA (vaccin RABISIN ngừa dại đang được sử dụng rộng rãi ở Việt Nam) và chủng 1230.2019 thuộc các loại RABV cùng với chủng KM 366221.1 và KM 366216.1 của Campuchia.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phát hiện chủng virus dại 1230.2019 được tìm thấy 95,20–100% có trình tự nucleotide tương ứng với các chủng virus dại tham chiếu. Sự liên kết trình tự nhiều amino acid cho thấy sự tương đồng 92,00–100% với các chủng virus dại vaccin. Chủng 1230.2019 mặc dù được phát hiện trong chó bệnh nhưng có sai khác rất thấp (0-0,16%), hay nói cách khác có mức độ đồng nhất gần như tuyệt đối với chủng 93127FRA. Điều đặc biệt là chủng 1230.2019 Hà Tiên (Việt Nam) có sự đồng nhất cao với các chủng RABV tham chiếu của Campuchia được xác định có xu hướng thuộc về KM 366221.1 và KM 366216.1 (Mey, 2016). Chiou *et al.* (2016) đã tìm thấy 97–99% nhận dạng nucleotide của gen N của virus bệnh dại trong 3 chủng phân lập từ Taiwan Ferret Badgers. Jamil *et al.* (2012) cũng cho biết 98–100% nhận dạng nucleotide giữa các chuỗi gen N của virus bệnh dại từ bảy mẫu não. Reddy *et al.* (2011) tìm thấy 88,8–99,7% sự tương đồng của gen nucleoprotein giữa 30 chủng virus dại Ấn Độ và chủng virus Pasteur tiêu chuẩn. Nagrajan *et al.*

(2009) nhận thấy rằng các chủng virus dại Nam Ấn Độ tương đồng hơn 95% và phân tích trình tự amino acid cũng cho thấy các chủng virus dại Nam Ấn Độ khác với các chủng virus dại Bắc Ấn Độ ở amino acid 134 (aa134), nhưng tất cả các chủng virus Nam Ấn Độ thể hiện 100% tính tương đồng amino acid. Marston *et al.* (2009) tìm thấy aspartic acid ở vị trí 106 (Asp106), chỉ có ở các chủng virus dại nhóm 1a châu Phi, ngược lại Glu106 là duy nhất ở chủng virus dại Sudan, điều này bắt được ý nghĩa một chủng virus riêng biệt duy nhất lưu hành ở Sudan. Susetya *et al.* (2008) so sánh 34 chủng virus dại đã phân lập với 20 chủng virus dại từ các vùng khác hoặc ba chủng virus vaccin đã cho thấy sự tương đồng nucleotide là 88,4–90,2%; 86,1–88,4%; 85,9–87,4% và 86,2–87,4% với trình tự chủng virus dại từ Trung Quốc, Thái Lan, Ấn Độ và Sri Lanka, tương ứng. Kết quả nghiên cứu này tương tự với phát hiện của Chiou *et al.* (2016), Jamil *et al.* (2012) và Nagarajan *et al.* (2009).

IV. KẾT LUẬN

Chủng virus dại 1230.2019 ở chó bệnh Hà Tiên cùng quan hệ di truyền với 3 chủng virus dại tham chiếu ở Campuchia (đã đăng ký sẵn trên GenBank) cũng như 5 chủng virus dại vaccin tham chiếu. Kết quả phân tích khoảng cách di truyền và phá hệ dựa vào chuỗi gen nucleoprotein (N) thể hiện chủng 1230.2019 có khoảng cách di truyền rất thấp (0,0 – 0,16%) và gần gũi với 8 chủng RABV tham chiếu. Đặc biệt mức độ đồng nhất gần như tuyệt đối và tương đồng cao với chủng vaccin Pháp 93127FRA (vaccin RABISIN ngừa dại đang được sử dụng rộng rãi ở Việt Nam).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Blanton JD, Rupprecht CE.,2008. Travel vaccination for rabies. *Expert Rev Vaccines*. 2008; 7:613–20.
- Bourhy H, Kissi B, Tordo N., 1993. Molecular diversity of the Lyssavirus genus. *J Virol*. 1993; 194:70–81.
- Channa Mey, Artem Metlin, Veasna Duong, Sivuth Ong, Sotheary In, Paul F Horwood, Jean-Marc Reynes, Hervé Bourhy, Arnaud Tarantola, Philippe Buchy, 2015. Evidence of two distinct phylogenetic lineages of dog rabies virus circulating in Cambodia. *Vaccine*. 26; 33(43):5829-5837.
- Chiou HY, Jeng CR, Wang HY, Inoue S, Chan FT, Liao JW, Chiou MT, Pang VF, 2016. Pathology and molecular detection of rabies virus in ferret badgers associated with a rabies outbreak in Taiwan. *J Wildl Dis*; 52(1):57-69.
- Dirk Höper, Conrad M Freuling, Thomas Müller, Dennis Hanke, Veronika von Messling, Karin Duchow, Martin Beer, Thomas C Mettenleiter, 2016. High definition viral vaccine strain identity and stability testing using full-genome population data. *The next generation of vaccine quality control*; 5(2):61-63
- Jamil KM, Ahmed K, Hossain M, Matsumoto T, Ali MA, Hossain S, Hossain S, Islam A, Nasiruddin M, Nishizono A, 2012. Arctic-like rabies virus, Bangladesh. *Emerg Infect Dis*; 18(12):2021-4.
- Marston DA, McElhinney LM, Ali YH, Intisar KS, Ho SM, Freuling C, Müller T, Fooks AR, 2009. Phylogenetic analysis of rabies viruses from Sudan provides evidence of a viral clade with a unique molecular signature. *Virus Res*. 145(2):244-50.
- Nagarajan T, Nagendrakumar SB, Mohanasubramanian B, Rajalakshmi S, Hanumantha NR, Ramya R, Thiagarajan D, Srinivasan VA, 2000. Phylogenetic analysis of nucleoprotein gene of dog rabies virus isolates from Southern India. *Infect Genet Evol*. Sep; 9(5):976-82.
- Reddy GB, Singh R, Singh RP, Singh KP, Gupta PK, Mahadevan A, Shankar SK, Ramakrishnan MA, Verma R, 2011. Molecular characterization of Indian rabies virus isolates by partial sequencing of nucleoprotein (N) and phosphoprotein (P) genes. *Virus Genes*. 2011 Aug; 43(1):13-7.
- Sudarshan MK, Madhusudana SN, Mahendra BJ, Rao NS, Ashwath Narayana DH, Abdul Rahman S, Meslin F, Lobo X, Ravikumar D, Gangaboraiah K. Assessing the burden of human rabies in India: results of a national multicentre epidemiological survey. *Int J Infect Dis*. 2007; 11:29–35.
- Susetya H, Sugiyama M, Inagaki A, Ito N, Mudiarto G, Minamoto N, 2008. Molecular epidemiology of rabies in Indonesia. *Virus Res*. 2008 Jul; 135(1):144-9.
- Wilde H, Briggs DJ, Meslin FX, Hemachudha T, Sitprija V. Rabies update for travel medicine advisors. *Clin Infect Dis*. 2003; 37:96–100.
- Wunner WH, Calisher CH, Dietzgen RG, Jackson RG, Kitajima AO, Lafon MF, Leong JC, Nichol ST, Peters D, Smith JS, Walker PJ., 1995. *Rhabdoviridae. In: Classification and nomenclature of viruses*. Sixth report of the international committee on taxonomy of viruses, in press. New York: Springer; 1995.

Ngày nhận 15-2-2021

Ngày phản biện 2-4-2021

Ngày đăng 1-6-2021