

PHÂN TÍCH PHẢ HỆ DI TRUYỀN VÀ ĐẶC ĐIỂM BỘ GEN CỦA CÁC CHỦNG VIRUS CÚM GIA CẦM H5N6 PHÂN LẬP TẠI VIỆT NAM TRONG NĂM 2014-2015

*Cần Xuân Minh^{1,2}, Phạm Thị Huệ¹, Bùi Ngọc Anh¹,
Phạm Thị Nga¹, Nguyễn Thanh Hòa¹, Ngô Thị Minh Quyên¹, Hoàng Thị Thủy¹,
Nguyễn Hoàng Giang¹, Hoàng Việt Hưng³, Đào Duy Tùng¹, Bùi Nghĩa Vương¹*

TÓM TẮT

Virus cúm gia cầm H5N6 độc lực cao được phát hiện trên đàn gia cầm tại Việt Nam vào cuối năm 2013, các chủng virus này đã gây thiệt hại nghiêm trọng cho ngành chăn nuôi gia cầm ở nước ta. Cho đến nay, virus cúm A/H5N6 vẫn tiếp tục gây ra các ổ dịch rải rác trên toàn lãnh thổ Việt Nam. Phân tích đặc điểm bộ gen và phả hệ di truyền của 5 chủng virus H5N6 phân lập trong năm 2014-2015 hiện đang lưu giữ tại Viện Thú y cho thấy, đây là những chủng virus độc lực cao và thuộc clade 2.3.4.4. Trong số 5 chủng H5N6, có 4 chủng có đột biến mất đoạn ở vị trí 49-68 trên gen NA và cả 5 chủng có đột biến T160A trên gen HA, những đột biến này có khả năng làm tăng khả năng liên kết với thụ thể trên tế bào người và cường hóa độc lực của virus. Các virus này có khả năng lây nhiễm cho con người thông qua tiếp xúc trực tiếp, do vậy việc xuất hiện virus H5N6 ở thể độc lực cao đã gây ra mối lo ngại về virus có thể gây ra đại dịch. Phân tích các đột biến gây kháng thuốc kháng virus như amantadine hay taminflu cho thấy cả 5 chủng đều mẫn cảm với thuốc kháng virus. So sánh trình tự nucleotide trên gen HA của 5 chủng virus H5N6 đang lưu hành tại Việt Nam với các chủng vaccin của Trung Quốc cho thấy các chủng virus này có mức tương đồng là 90,76% - 98,18%. Kết quả phân tích cho thấy đã có nhiều biến đổi giữa các chủng H5N6 đang lưu hành và các chủng vaccin. Điều này lý giải vì sao nhiều đàn gà mặc dù đã được tiêm phòng vaccin cúm gia cầm nhưng dịch vẫn nổ ra. Do virus cúm độc lực cao liên tục biến đổi, nên việc tiếp tục giám sát sự biến đổi và lưu hành của virus cúm H5 độc lực cao là cần thiết và quan trọng.

Từ khóa: Virus cúm gia cầm, H5N6, virus độc lực cao, đột biến, trình tự nucleotide, mức tương đồng.

Phylogenetic analysis and genetic characteristics of Avian influenza H5N6 virus strains isolated in Viet Nam in 2014-2015

*Can Xuan Minh, Pham Thi Hue, Bui Ngoc Anh,
Pham Thi Nga, Nguyen Thanh Hoa, Ngo Thi Minh Quyen, Hoang Thi Thuy,
Nguyen Hoang Giang, Hoang Viet Hung, Dao Duy Tung, Bui Nghia Vuong*

SUMMARY

Highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N6 virus was detected in poultry flocks in Viet Nam at the end of 2013, these virus strains caused serious economic loss for the poultry husbandry industry in the country. So far, the outbreaks caused by influenza A/H5N6 virus strains have still occurred scatteredly throughout the territory of Viet Nam. Genetic characteristics and phylogenetic analysis of 5 H5N6 virus strains which were isolated in 2014-2015 and currently kept at the National Institute of Veterinary Research showed that, these virus strains were highly virulent and belonged to clade 2.3.4.4. There were 4 out of 5 H5N6 virus strains appeared a fragmentary mutation at the positions 49-68 in the NA gene and all 5 virus strains possessed a T160A mutation in the HA gene, these mutations have the ability to increase binding with receptors form on human cells and enhance virulence of the virus. These viruses have the potential to infect humans through direct contact; so far the presence of the highly pathogenic H5N6 virus has raised the concerns about the pandemic.

¹. Bộ môn Virus – Viện Thú y

². Chi cục Chăn nuôi và Thú y Hà Nội

³. Bộ môn Toán Tin – Đại học Y Hà Nội

Analysis of mutations causing resistance to antiviral drugs, such as amantadine or taminflu showed that all 5 virus strains were susceptible to antiviral drugs. When comparing nucleotide sequence on HA gene of 5 H5N6 virus strains that were circulating in Viet Nam with the Chinese vaccine strains showed that, the homogeneity level of these virus strains was 90.76% - 98.18%. The analysis result showed the variation diversity between the circulating H5N6 viruses and the vaccine strains. This might explain the phenomenon that avian influenza outbreaks still occurred in many vaccinated chicken flocks. Since the highly virulent influenza virus is constantly changing, it is important and necessary to continue monitoring the variability and circulation of the highly virulent H5 virus.

Keywords: Avian influenza virus, H5N6, highly pathogenic virus, mutation, nucleotide sequence, homogeneity level.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus H5N1 gây bệnh cúm gia cầm tái xuất hiện vào năm 2003. Từ đó đến nay, virus H5N1 lây lan rộng khắp ở đàn gia cầm cũng như trên người tại 17 quốc gia và vùng lãnh thổ trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Năm 2014, Việt Nam đã phát hiện chủng virus cúm gia cầm type A/H5N6 ở Lạng Sơn, Hà Tĩnh, Lào Cai, Quảng Trị, Quảng Ngãi, Bắc Giang, Phú Thọ, Thừa Thiên-Huế, Quảng Nam, Nghệ An; gây ra những ổ dịch tại các địa phương này.

Ở Việt Nam, H5N6 tuy chưa phát hiện trường hợp nào trên người, nhưng tại Trung Quốc đến đầu năm 2017 đã có một số trường hợp nhiễm virus H5N6 trên người, thậm chí gây tử vong. Vì vậy dịch cúm H5N6 đe dọa sức khỏe cộng đồng và sức khỏe động vật với nguy cơ của virus biến đổi và gây đại dịch. Những diễn biến dịch nêu trên cho thấy bệnh cúm gia cầm vẫn hiện hữu và ngày càng trở nên nguy hiểm do sự biến đổi các chủng gây bệnh trên gia cầm. Virus biến đổi có thể gây ra sự giảm hiệu quả của vaccin phòng bệnh. Đặc biệt nguy hiểm hơn khi virus cúm gia cầm được cho là dễ “vượt hàng rào về loài”, có khả năng lây sang người, gây bệnh với tỷ lệ tử vong rất cao. Bệnh biến đổi phức tạp với nhiều subtype H5 khác nhau, cho đến nay bệnh cúm gia cầm type A/ H5Ny thể độc lực cao HPAI là bệnh truyền nhiễm cấp tính cực kỳ nguy hiểm, cần được quan tâm để khống chế và thanh toán bệnh này trên đàn gia cầm.

Virus cúm gia cầm có khả năng biến chủng phức tạp, dẫn đến mỗi đợt dịch nhiều chủng virus mới xuất hiện như chủng virus H5N6 mới xuất hiện ở Việt Nam trong những năm gần đây. Để góp phần vào việc phòng, chống bệnh cúm gia cầm do virus cúm A/H5N6 đạt hiệu quả cao,

nguyên cứu về chủng virus cúm gia cầm A/ H5N6 nhằm cung cấp thêm một phần thông tin về đặc tính gen của chủng virus được phân lập tại Việt Nam, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: *“Phân tích phả hệ di truyền và đặc điểm bộ gen của các chủng virus cúm gia cầm H5N6 phân lập tại Việt Nam trong năm 2014-2015”*.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Phương pháp phục hồi virus trên phôi trứng

Virus sau khi được phân lập thành công trên trứng gà có phôi từ các mẫu bệnh phẩm thì sẽ được bảo quản tại -80°C. Để phục hồi chủng virus này, chúng tôi tiến hành đông tan nước trứng có chứa virus, sau đó pha loãng 1:100 trong PBS rồi tiến hành tiêm cho 10 trứng gà có phôi. Nuôi cấy virus cúm gia cầm trên phôi gà 9-11 ngày tuổi. Sau khi theo dõi, tiến hành thu nước trứng và giám định lại các chỉ số, đặc biệt kiểm tra hiệu giá HA theo quy trình của Viện Thú y và giám định lại bằng phương pháp realtime RT-PCR để chắc chắn là virus H5N6.

2.2. Phương pháp RT-PCR

Để xác định virus là H5N6, chúng tôi tiến hành phản ứng realtime reverse transcription PCR (RT-qPCR) sử dụng các môi đặc hiệu. PCR để phát hiện cúm A sử dụng môi và đầu dò của Matrix gene, tương tự như vậy cho việc xác định H5 và N6 theo quy trình của Viện Thú y. Cho 5 µl mẫu ARN vào ống phản ứng bằng pipet chuyên dùng cho lấy mẫu ARN. Đóng nắp ống, ký hiệu ống phản ứng tương ứng với phiếu xét nghiệm. Cho 5 µl ARN đối chứng dương vào ống đối chứng dương và 5 µl nước sạch RNase vào

ống đối chứng âm. ARN đối chứng dương được pha loãng ở độ pha loãng thích hợp có chu kỳ ngưỡng khoảng 25. Đặt ống phản ứng vào máy chu kỳ nhiệt và chọn chương trình chạy PCR. Đối chứng dương ARN đã sao mã được pha loãng ở hàm lượng sử dụng cho giá trị C_t khoảng 25. Khi đối chứng có C_t cao hơn 29 thì phải làm lại để đảm bảo kết quả xét nghiệm. Nếu C_t của đối chứng dương thấp hơn 20, nên chuẩn độ lại độ pha loãng của đối chứng. Bất kỳ thời điểm nào C_t của đối chứng dương hoặc đường biểu diễn khuếch đại khác thấp hơn 14, giá trị trừ nền có thể bị sai lệch.

2.3. Phương pháp giải trình tự gen và phân tích gen

Đặc tính di truyền phân tử của 8 gen của 5 chủng H5N6 lựa chọn được phân tích bằng phương pháp giải trình tự gen. ARN sau khi được xác định là dương tính với H5N6 bằng phương pháp realtime RT-PCR. ARN được gửi sang Nhật để tiến hành giải trình tự bằng phương pháp Next Generation Sequencing thế hệ II (NGS) sử dụng máy Miseq Illuminar. Kết quả thu được từ hệ thống NGS được phân tích bằng phần mềm CLC

để loại nối các đoạn với nhau và loại bỏ primer. Kết quả trình tự sau khi đã được xử lý bằng phần mềm CLC được tiến hành so sánh với các trình tự trên GenBank bằng phần mềm BLAST-N. Để phát hiện các biến đổi trên gen cũng như đặc tính nổi bật của chủng virus H5N6 được phân tích bằng phần mềm BioEdit ver 7. Cây phả hệ gen HA của các virus trong thí nghiệm này cùng các trình tự khác được vẽ và phân tích bằng phần mềm MEGA 6.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Trong năm 2014 và 2015, Viện Thú y đã tiến hành phân lập thành công một số chủng virus H5N6 từ các mẫu bệnh phẩm trên gia cầm tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam và tại một số chợ gia cầm sống của Hà Nội. Các chủng này được phân lập thành công trên trứng có phôi và được xác định là virus cúm type A/H5N6 bằng phương pháp realtime RT-PCR. Trong thí nghiệm này chúng tôi sử dụng 5 chủng bao gồm chủng phân lập được từ gà, vịt, ngan và chim cú. Thông tin về các chủng sử dụng trong thí nghiệm này được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Thông tin của các chủng virus H5N6 được sử dụng trong nghiên cứu

STT	Ký hiệu chủng	Thời gian lấy mẫu	Loài	HA titer	Tên chủng
1	19/14	6/10/2014	Ngan	11	A/MDk/VNHN/19/14
2	53/14	8/12/2014	Vịt	8	A/Dk/VNVP/53/14
3	46/15	26/7/2015	Cút	9	A/Quail/VNHN/46/15
4	49/15	21/8/2015	Ngan	7	A/MDk/VNHN/49/15
5	61/15	9/9/2015	Gà	9	A/Ck/VNHN/61/15

Ở Việt Nam, vaccin phòng bệnh cúm gia cầm được áp dụng từ năm 2005 và chương trình tiêm phòng cúm vẫn đang tiếp tục được tiến hành cho tới nay mặc dù đã có nhiều thay đổi ở các chủng lưu hành. Giai đoạn đầu, vaccin được tiêm 2 đợt một năm sử dụng vaccin Trung Quốc RE-1 với chủng vaccin thuộc clade 0 chủng A/Gs/GD/1/1996 (H5N1). Sau đó đến năm 2010, do xuất hiện nhiều sub clades và clades mới nên Chính phủ và ngành Thú y đã cho nhập vaccin RE-5 có nguồn gốc từ chủng A/Dk/Anhui/1/2006 (H5N1) thuộc

clade 2.3.4. Do virus tiếp tục phát triển và tiến hóa trong quần thể gia cầm, các vaccin RE-6 có chủng vaccin là A/Dk/Guang Dong/S1222/2010 (H5N1) thuộc clade 2.3.2.1 và vaccin RE-8 có nguồn gốc từ chủng A/Ck/GuiZho/4/2013 thuộc clade 2.3.4.4 đã được nhập về để phục vụ công tác tiêm phòng cho đàn gia cầm. Mặc dù đã áp dụng chương trình tiêm phòng nhưng dịch vẫn xuất hiện lác đác trên đàn gia cầm. Việc này đã tạo ra những mối lo ngại về khả năng bảo hộ của vaccin hiện hành. Do đó chúng tôi tiến hành so sánh tính tương đồng gen

HA của các chủng H5N6 với các chủng vaccin nhập từ Trung Quốc mà Việt Nam đang sử dụng. Đối với virus cúm, HA protein là một protein quan trọng vừa có tác dụng bám vào thụ thể của tế bào vật chủ vừa là protein kích thích sinh miễn dịch, vì vậy việc so sánh tương đồng HA protein là quan trọng để sơ bộ đánh giá về khả năng bảo hộ của vaccin. Trước tiên các chủng virus H5N6 trong thí nghiệm này khá tương đồng với nhau về nucleotide từ 94,68 đến 98,67%. Tuy nhiên các chủng H5N6 có tỷ lệ tương đồng về nucleotide thấp hơn khi so sánh với các chủng vaccin trong đó chủng vaccin RE-6 thuộc clade 2.3.2.1 là thấp nhất khoảng 90,59% và RE-8 thuộc clade 2.3.4.4 có tính tương đồng cao với các chủng H5N6 của Việt Nam với chỉ số từ 94,98% đến 97,82%. Khi so sánh tính tương đồng bằng amino acid thì kết quả tương tự như so sánh bằng nucleotide, các

chủng H5N6 của Việt Nam khá giống nhau và có tỷ lệ tương đồng cao nhất với chủng vaccin RE-8 thuộc clade 2.3.4.4.

Từ kết quả phân tích tương đồng về nucleotide và amino acid trên, chúng ta có thể nhận xét các chủng H5N6 có liên quan họ hàng gần nhất hay có nguồn gốc từ chủng virus thuộc clade 2.3.4. Việc xác định nguồn gốc tiến hóa của virus đang lưu hành có ý nghĩa quan trọng trong việc lựa chọn vaccin phù hợp để ứng phó với dịch bệnh, đặc biệt trong bối cảnh Việt Nam đã nhập rất nhiều loại vaccin như RE-6, RE-8, RE-5 và RE-1. Tuy nhiên việc nghiên cứu gen trên có tính chất dự báo và dự đoán sự tương đồng và vaccin phù hợp với chủng virus đang lưu hành trên thực địa. Trên thực tế, việc sử dụng và đánh giá vaccin cần phải có kiểm chứng bằng phương pháp công cường độc trong phòng thí nghiệm. Kết quả so sánh gen HA được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. So sánh tương đồng về trình tự nucleotide (phía dưới) và amino acid (phía trên) trên gen HA

Clade	Ký hiệu chủng	KH chủng trong nghiên cứu này					Chủng vaccin			
		19/14	53/14	61/15	49/15	46/15	GD01	An-hui06	Guizhou	S1322
2.3.4.4	19/14		97,09	96,55	97,27	97,27	91,84	95,09	97,09	92,21
2.3.4.4	53/14	94,92		98,54	99,09	99,09	90,76	93,82	98,18	91,84
2.3.4.4	61/15	94,68	98,12		98,72	98,72	90,94	93,64	97,64	92,21
2.3.4.4	49/15	94,68	98,36	98,67		99,63	90,94	94,01	98,18	91,84
2.3.4.4	46/15	94,68	98,36	98,67	98,67		90,94	94,01	98,18	91,84
0	A/gs/Guangdong/1/96	91,19	91,44	91,25	91,5	91,5		95,28	91,3	92,02
2.3	A/dk/Anhui/1/06	93,53	93,9	93,47	93,84	93,84	95,78		94,55	93,47
2.3.4	A/ck/Guizhou/4/13	94,98	97,88	97,46	97,82	97,82	91,86	94,38		91,66
2.3.2.1	A/dk/Guangdong/S1322/10	90,71	90,65	90,59	90,71	90,71	92,82	94,45	90,89	

Kết quả bảng 2 cũng cho thấy so sánh nucleotide và amino acid các chủng H5N6 không giống nhau hoàn toàn và chủng 19/14 khác hơn các chủng khác trong đó có chủng 53/14 và các chủng phân lập trong năm 2015. Điều này cho thấy virus H5N6 cũng đang biến đổi. Kết quả phân tích ở bảng 3 cho thấy việc tiếp tục nghiên cứu về gen và theo dõi sự biến đổi của virus cúm là hết sức quan trọng để có thể phát hiện ra chủng virus cúm biến đổi mới.

Để tìm hiểu kỹ hơn về đặc tính gen của các chủng virus H5N6, chúng tôi tiến hành phân tích một số đặc

trung của virus bằng sử dụng phần mềm BioEdit. Kết quả phân tích HA protein của các chủng H5N6 cho thấy các virus này có chứa các nhiều base amino acid tại điểm cắt giữa HA1 và HA2 (bảng 3).

Các amino acid tại điểm cắt của các chủng Việt Nam H5N6 được xác định thành 2 loại trong đó một loại đại diện cho chủng của năm 2014 (REKRRKR/GLF) và loại còn lại đại diện cho các chủng phân lập năm 2015 (RERRRKR/GLF). Hai dạng này chỉ khác nhau đúng một điểm đột biến từ K sang R. Mặc dù vậy, các trình tự trên vẫn

là đặc trưng cho chủng virus độc lực cao. Protein HA của các chủng đều có thụ thể của gia cầm Q226 và G228 (đánh số theo H3). Protein HA của

các chủng đều có T160, nếu có biến đổi tại điểm T160A thì có thể tương thích cho các thụ thể của người (Zang *et al.*, 2013; Gao *et al.*, 2009).

Bảng 3. Đặc điểm di truyền của các virus H5N6 liên quan đến HA, PB2, NA, M2 và PB1-F2

KH chủng	Cleavage site	HA				PB2			NA	M2	PB1-F2
		156	222	224	591	627	701	274	Xóa đoạn	31	ghép 50-90
19/14	REKRRKR/GLF	A	Q	G	Q	E	D	H	Không	S	Có
53/14	REKRRKR/GLF	A	Q	G	Q	E	D	H	58-68	S	Có
61/15	RERRRKR/GLF	A	Q	G	Q	E	D	H	58-68	S	Có
49/15	RERRRKR/GLF	A	Q	G	Q	E	D	H	58-68	S	Có
46/15	RERRRKR/GLF	A	Q	G	Q	E	D	H	58-68	S	Có

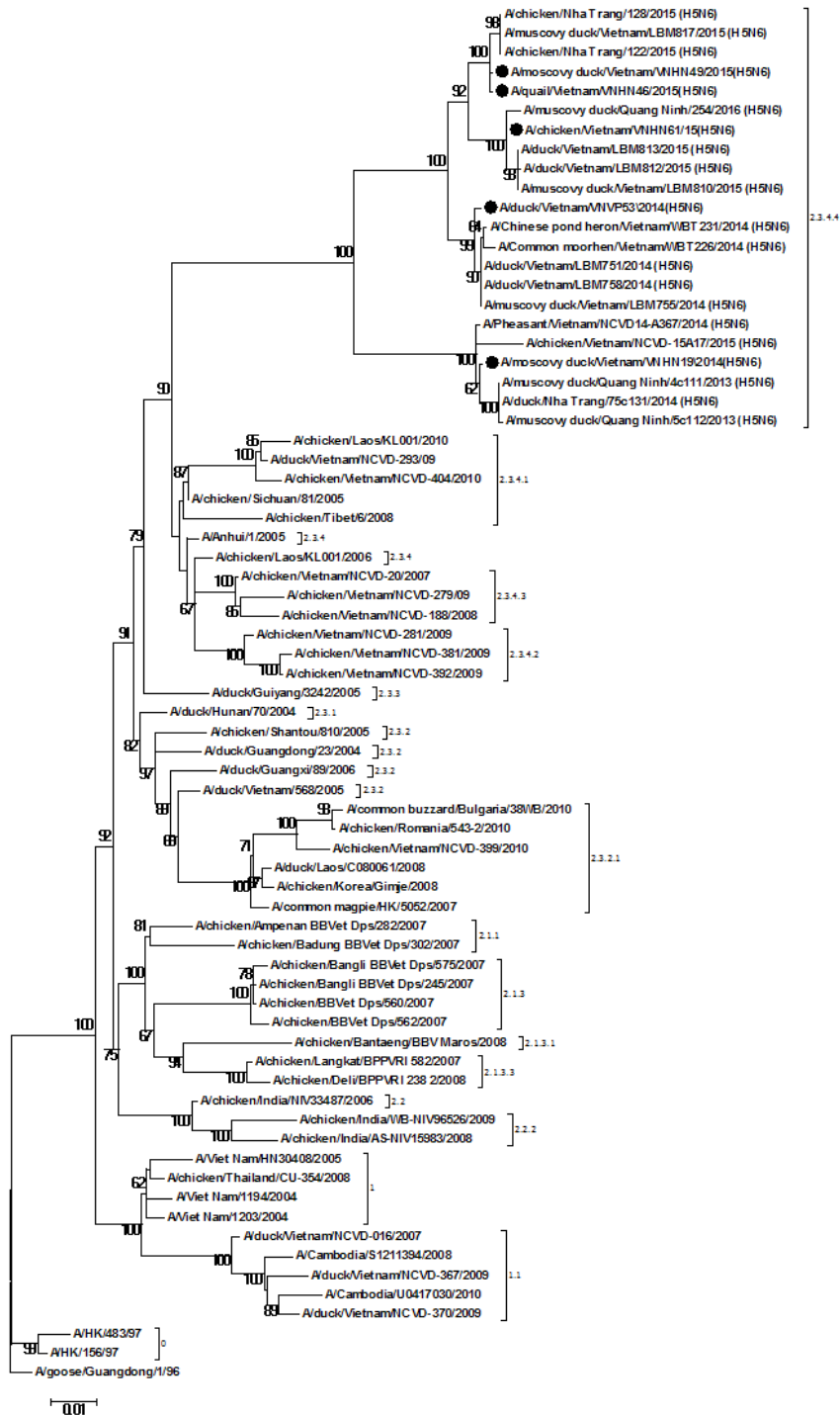
Phân tích trên gen NA cho thấy các chủng H5N6 có đột biến mất đoạn khoảng 11 amino acid (ở vị trí 58 đến 68) trừ chủng virus 19/14. Đột biến mất đoạn này có thể làm tăng khả năng nhân lên của virus trên gia cầm và cũng làm tăng độc lực của virus trên động vật (Matsuoka *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2009). Các nghiên cứu trên động vật cần được tiến hành để đánh giá khả năng gây bệnh của các chủng H5N6. Các thí nghiệm trên động vật có thể có ý nghĩa quan trọng trong việc sinh bệnh trên con người. Tuy nhiên phân tích các đột biến mất đoạn này không thấy xuất hiện trên các chủng H5N6 gây bệnh ở người.

Các amino acid Q591, E672 và D701 được ghi nhận trên PB2 protein của các chủng H5N6, điều này chỉ ra sự thích nghi của virus nhân lên trên động vật ở mức độ thấp. Tuy nhiên các chủng H5N6 của người có đột biến D701N, đột biến này sẽ làm tăng độc lực của virus đối với con người. Thêm vào đó các chủng H5N6 này có đoạn ghép nối của PB1-F2 với độ dài 57 amino acid, biến đổi này cũng có tác dụng làm tăng khả năng gây bệnh của virus trên động vật (Zamarin *et al.*, 2006; McAuley *et al.*, 2010).

Hiện nay để điều trị virus cúm trên người có hai loại thuốc được dùng phổ biến đó là amantidine và taminflu. Tuy nhiên, một số chủng virus cúm H5 đã được ghi nhận khi có biến đổi tại vị trí S31N trên gen M2 có thể làm cho virus kháng lại thuốc amantidine. Tương tự như vậy

đột biến tại vị trí H274Y có thể gây giảm hoặc mất hiệu lực của thuốc taminflu. Phân tích sự kháng thuốc như amantidine hay taminflu cho thấy các chủng H5N6 đều không phát hiện các đột biến gen HA với đột biến như H274Y và trên gen M2 và S31N. Điều này chứng tỏ các chủng H5N6 vẫn mẫn cảm với các thuốc kháng virus hiện nay. Tuy nhiên việc tiếp tục theo dõi các đột biến có liên quan đến kháng thuốc là cần thiết và quan trọng vì virus cúm có thể nhận gen kháng thuốc từ virus kháng thuốc và tạo nên virus kháng thuốc mới. Do đó việc tiếp tục theo dõi sự kháng thuốc của các virus cúm A/H5 mới rất quan trọng, đặc biệt khi virus độc lực cao có khả năng gây bệnh cho người.

Để xác định xem chủng virus H5N6 của Việt Nam thuộc vào phân nhóm, clade nào, chúng tôi tiến hành phân tích 71 trình tự bao gồm trình tự của 5 chủng virus H5N6 và một số trình tự của chủng tham khảo và một số chủng virus H5 của Việt Nam trong nghiên cứu này. Phân tích phả hệ cho thấy tất cả 5 trình tự của 5 chủng H5N6 trong thí nghiệm này đều thuộc clade 2.3.4.4 cùng với chủng H5N6 khác của Việt Nam. Trong đó 5 chủng phân thành 4 phân nhánh khác nhau trong đó 3 chủng phân lập trong năm 2015 ở gần nhau chứng tỏ có chung một nguồn gốc và gần với chủng A/duck/Vietnam/VNVP53/2014. Ngược lại chủng A/moscovy duck/VNHN/19/2014 đứng riêng một nhánh và tách biệt so với các chủng H5N6 khác trong thí nghiệm này. Điều



Hình 1. Cây phả hệ của gen HA các chủng virus phân lập tại Việt Nam so sánh với các chủng virus H5 khác trên thế giới

Các chủng virus của Việt Nam được sử dụng trong thí nghiệm này được đánh dấu bằng hình tròn màu đen. Cây phả hệ được xây dựng trên nền dữ liệu của 71 trình tự, với model Maximum Likelihood sử dụng phần mềm MEGA với sự hỗ trợ của bootstrap ở mức 1000. Cây phả hệ được lấy gốc là clade 0.

này chứng tỏ virus H5N6 vẫn tiếp tục biến đổi và các chủng H5N6 trong thí nghiệm này là không hoàn toàn giống nhau. Kết quả phân tích phả hệ cũng tương tự như phân tích gen là các virus trên tuy đều là H5N6 nhưng có nguồn gốc khác nhau. Cây phả hệ của virus H5N6 của Việt Nam với các chủng tham chiếu được trình bày tại hình 1. Kết quả cây phả hệ của H5 cho thấy bắt nguồn từ gốc A/goose/GD/1/1996 (H5N1) virus đã tiến hóa nhanh, các clade 1 và clade đều có nhiều sub-clades trong đó các H5N6 rơi cùng vào sub-clade 2.3.4.4.

IV. KẾT LUẬN

Các chủng virus cúm H5N6 phân lập tại Việt Nam năm 2014 và 2015 được tiến hành phân tích về đặc tính gen trong thí nghiệm này nhằm cung cấp các thông tin cần thiết và hữu ích cho nhà quản lý, người chăn nuôi để phòng bệnh do virus cúm gây ra.

Phân tích gen và phân tích sự tiến hóa đã chỉ ra rằng cả năm chủng này thuộc vào nhóm virus có độc lực cao và clade 2.3.4.4 là chủng tiến hóa từ chủng virus H5N1 clade 2.3.4.

Mặc dù 5 virus đều có subtype là H5N6 tuy nhiên bộ gen của các virus này không hoàn toàn giống nhau cho thấy các chủng này tiến hóa riêng rẽ trong tự nhiên và các chủng phân lập năm 2014 có sự tương đồng thấp hơn các chủng phân lập năm 2015. Điều này cho thấy các virus cúm H5N6 đang tiếp tục thay đổi.

Một số đột biến cho thấy các virus này có khả năng gây bệnh trên động vật có vú. Tuy nhiên những virus này vẫn miễn cảm với các thuốc điều trị cúm như amantidine và taminflu.

Chủng vaccin thử nghiệm của Viện Thú y cho phản ứng tốt nhất với 3 chủng lựa chọn vì chúng vaccin cùng clade 2.3.4.4 và cùng phân lập ở Việt Nam. Kết quả này nhấn mạnh việc sản xuất trong nước với các chủng thực địa là cần thiết và quan trọng.

Tổng hợp các kết luận trên chúng tôi đã nhận định việc phân tích các đặc tính của chủng phân lập là vô cùng quan trọng và cần thiết cho việc sản xuất vaccin và không chế dịch bệnh trong

tương lai. Vì vậy, việc tiếp tục giám sát, phân tích đặc tính gen và đặc tính miễn dịch là cần thiết với các chủng H5 mới hoặc tái nổi ở Việt Nam.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin cảm ơn GS. TS. Kunitoshi Imai và GS. TS. Haruko Ogawa thuộc Đại học Nông nghiệp và Thú y Obihiro đã tài trợ cho việc giải trình tự gen bằng phương pháp NGS. Chúng tôi cũng xin cảm ơn GS. TS. Tesnia Mizutani thuộc Đại học Nông nghiệp và Kỹ thuật Tokyo đã giúp phân tích và giải trình tự. Nghiên cứu được hoàn thành với sự tài trợ của ngân sách nhiệm vụ thường xuyên năm 2017.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gao, Y. *et al.*, 2009. Identification of amino acids in HA and PB2 critical for the transmission of H5N1 avian influenza viruses in a mammalian host. *PLoS Pathog.* 5(e1000709).
2. Matsuoka, Y. *et al.*, 2009. Neuraminidase stalk length and additional glycosylation of the hemagglutinin influence the virulence of influenza H5N1 viruses for mice. *J Virol*, 83: p. 4704-4708.
3. McAuley, J.L. *et al.*, 2010. PB1-F2 proteins from H5N1 and 20 century pandemic influenza viruses cause immunopathology. *PLoS Pathog*, 6(e1001014).
4. Zamarin, D., M.B. Ortigoza, and P. Palese, 2006. Influenza A virus PB1-F2 protein contributes to viral pathogenesis in mice. *J Virol*, 80: p. 7976-7983.
5. Zhang, W. *et al.*, 2013. An airborne transmissible avian influenza H5 hemagglutinin seen at the atomic level. *Science*, 340: p. 1463-1467.
6. Zhou, H. *et al.*, 2009. The special neuraminidase stalk-motif responsible for increased virulence and pathogenesis of H5N1 influenza A virus. *PLoS One*, 4: p. e6277.

Ngày nhận 15-3-2021

Ngày phản biện 20-4-2021

Ngày đăng 1-7-2021