

PHÂN TÍCH TRÌNH TỰ GEN S1 CỦA CHỦNG VIRUS GÂY BỆNH VIÊM PHẾ QUẢN TRUYỀN NHIỄM PHÂN LẬP ĐƯỢC TẠI HUYỆN BA VÌ, HÀ NỘI NĂM 2014

Nguyễn Thị Loan^{1,2}, Lê Trần Bắc³, Lại Thị Lan Hương¹,
Lê Huỳnh Thanh Phương¹, Thân Văn Thái^{4*}, Lê Văn Phan^{1*}

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Công ty cổ phần tập đoàn DABACO Việt Nam

³Cục Kiểm dịch Động vật và Thực vật, Hàn Quốc

⁴Khoa Nông nghiệp công nghệ cao và Công nghệ sinh học, Đại học Nguyễn Tất Thành

Email*: letranphan@vnua.edu.vn/mr.thaivn@gmail.com

Ngày gửi bài: 28.08.2017

Ngày chấp nhận: 25.10.2017

TÓM TẮT

Nghiên cứu về dịch tễ học phân tử trên cơ sở giải mã và phân tích trình tự gen S1 của các chủng vi rút viêm phế quản truyền nhiễm (Infectious bronchitis viruses, IBVs) trên thế giới cho thấy sự đa dạng di truyền của IBVs đã và đang lưu hành, đặc biệt đã có nhiều biến chủng mới được phân lập. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành giải mã và phân tích trình tự gen S1 của chủng IBV ck/VN/VNUA-HN01/2014 (VNUA-HN01), phân lập được tại huyện Ba Vì, Hà Nội năm 2014. Kết quả phân tích cây phả hệ cho thấy chủng VNUA-HN01 nằm trong phân nhóm Q1-like cùng với các chủng phân lập được tại Trung Quốc (DY09, LDL/97, LDL/98, Q1, G2, SCLS/140104, LSD/08-10 và Chongqing 0908) và Italy (Italy/I2022). Kết quả so sánh trình tự nucleotide (nt) và amino acid (aa) giữa chủng VNUA-HN01 với các chủng IBVs tham chiếu cùng phân nhóm cho tỷ lệ tương đồng cao, lần lượt là 99,6 - 99,9% và 99,3 - 100%. Ngược lại, tỷ lệ tương đồng thấp về nt và aa của chủng VNUA-HN01 khi so sánh với các chủng vắc xin IBVs (IB 4/91 và Ma5) đang sử dụng phổ biến ở Việt Nam lần lượt là 72,6 - 75% và 71,2 - 73,2%.

Từ khóa: Vi rút viêm phế quản truyền nhiễm, S1 gen, Q1-like.

Analysis of S1 Gene Sequence of Infectious Bronchitis Virus Isolated From Chickens in Ba Vi, Ha Noi in 2014

ABSTRACT

Characterization of S1 gene indicated the genetic diversity of the worldwide circulating infectious bronchitis virus (IBV) with variation of novel isolates. In this study, a IBV strain, named ck/VN/ VNUA-HN01/2014 (VNUA-HN01), was isolated from a IBV outbreak in Ba Vi, Ha Noi that occurred in 2014 and its S1 gen was sequenced and analyzed to better understand the origin and genetic composition. Phylogenetic analysis indicated that the VNUA-HN01 strain is the Q1-like IBV variant. The S1 gene of the VNUA-HN01 strain showed high homology to the reference strains, ranging from 99.6 - 99.8% at the nucleotide level and 99.3 - 100% at the amino acid level. In contrast, the VNUA-HN01 strain shared low sequence homology with the vaccine strains (IB 4/91 and Ma5), ranging from 72.6 - 75% and 71.2 - 73.2% at the nucleotide level and the amino acid level, respectively.

Keywords: Infectious bronchitis virus, S1 gen, Q1-like.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh viêm phế quản truyền nhiễm (infectious bronchitis, IB) là bệnh truyền

nhiễm cấp tính nguy hiểm trên gà do vi rút viêm phế quản truyền nhiễm (IBVs) gây ra. IBVs là vi rút RNA sợi đơn, thuộc họ Coronaviridae, giống Gammacoronavirus (Adams *et al.*, 2016). Gà

nhễm IBVs có thời gian ủ bệnh ngắn (khoảng 18 - 36 giờ) và có khả năng lây lan nhanh chóng trong đàn gà thông qua đường không khí và dụng cụ chăn nuôi. Gà nhiễm IBVs biểu hiện các triệu chứng đặc trưng về đường hô hấp như thở khó kèm tiếng ran, chảy dịch mũi. Gà nhiễm IBVs khi mổ khám thường xuất hiện các bệnh tích đặc trưng như xuất huyết khí quản, túi khí mờ đục; thận sưng to, bể thận chứa muối urat; ống dẫn trứng và buồng trứng teo và có tổn thương xuất huyết. Bệnh gây thiệt hại kinh tế nghiêm trọng như gây chết với tỷ lệ cao ở đàn gà dưới 1 tháng tuổi, làm giảm số lượng, chất lượng trứng ở gà mái đẻ trứng, đồng thời làm tăng nguy cơ nhiễm các bệnh kế phát (Bande *et al.*, 2016). Do khả năng bảo hộ chéo giữa các serotype của IBVs thấp nên mặc dù gà đã có miễn dịch với một serotype nhưng khả năng bảo hộ với các serotypes khác vẫn thấp (Liu & Kong, 2004).

Bộ gen IBV có chiều dài khoảng 27,6 kb với 7 đến 10 vùng dịch mã (open reading frames, ORFs) mã hóa cho protein cấu trúc (structural protein) và protein không cấu trúc (non structural protein) (Adams *et al.*, 2016). Vùng gen 1 chứa hai vùng liên kết (overlapping regions, ORF1a và ORF1b) mã hóa ra một polyprotein bao gồm 15 protein không cấu trúc khác nhau (Nsp2 đến Nsp16). Gen cấu trúc còn lại mã hóa cho bốn protein cấu trúc bao gồm: spike glycoprotein (S), membrane glycoprotein (M), nucleocapsid protein (N) và envelope protein (E) (Cavanagh, 2007). Gen S chứa một vùng dịch mã cho hai tiểu phần S1 (amino-terminal S1, 92 kDa) và S2 (carboxyl-terminal S2, 84 kDa), tương ứng khoảng 500 và 600 amino acids. Tiểu phần S1 được đánh giá là vùng có tính biến đổi cao với mức độ amino acid không tương đồng giữa các chủng khác nhau giao động từ 2 - 25% (Cavanagh & Davis, 1986; Cavanagh *et al.*, 1992). Đặc biệt S1 glycoprotein có vai trò chủ yếu kích thích hình thành kháng thể trung hòa và điều chỉnh một số đáp ứng quan trọng của vi rút như hoạt động xâm nhập vào tế bào vật chủ hay quá trình hợp nhất vỏ với màng tế bào vật chủ. Tiểu phần S2 chứa hai vùng trình diện kháng

nguyên và có khả năng ảnh hưởng việc gắn thụ thể của tiểu phần S1 (Cavanagh, 1983). Ngoài ra, có 5 protein phụ trợ bao gồm protein 3a, 3b, 3c, 5a và 5b mặc dù không đóng vai trò trong quá trình nhân lên của vi rút nhưng có thể có vai trò quan trọng trong quá trình bệnh lý học (Hodgson *et al.*, 2006).

Hiện nay trên thế giới đã có nhiều báo cáo về sự lưu hành của các biến chủng IBVs, đây là kết quả của quá trình tích lũy từ đột biến điểm, tổ hợp và tái tổ hợp gen (Jackwood, 2012). Dựa trên trình tự hoàn chỉnh của gen S1, các chủng IBVs đã và đang lưu hành trên thế giới được phân chia trong 6 genotype (ký hiệu GI-GVI), với 32 lineage (trong đó có 27 lineage thuộc genotype GI, ký hiệu từ GI-1 đến GI-27) (Yan *et al.*, 2011; Valastro *et al.*, 2016). Kết quả trên cho thấy sự lưu hành đa dạng của IBVs và tính phức tạp trong phòng và điều trị bệnh do IBVs gây ra.

Tính đến nay, đã có một số công bố nghiên cứu về bệnh IB và IBVs trên đàn gà ở Việt Nam (Võ Thị Trà An và cs., 2012; Huỳnh Thị Mỹ Lệ và cs., 2014; Nguyễn Thị Loan và cs., 2016; Tran Ngoc Bich *et al.*, 2017). Các nghiên cứu chủ yếu tập trung vào phương pháp chẩn đoán phát hiện, phân lập và đánh giá đặc điểm di truyền của các chủng IBVs lưu hành. Do đó, để xây dựng cơ sở dữ liệu nhằm kiểm soát và lựa chọn vắc xin sử dụng phù hợp tại Việt Nam thì cần tiếp tục tiến hành những nghiên cứu về dịch tễ học phân tử của IBVs. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành giải trình tự và đánh giá so sánh gen S1 của chủng vi rút ck/VN/VNUA-HN01/2014 (VNUA-HN01) phân lập được tại trại gà thịt nhiễm bệnh viêm phế quản truyền nhiễm tại Ba Vì, Hà Nội với các chủng tham chiếu lưu hành trên thế giới.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Chủng VNUA-HN01 được phân lập từ mẫu bệnh phẩm khí quản của gà thịt nhiễm bệnh viêm phế quản truyền nhiễm tại Ba Vì, Hà Nội vào tháng 10 năm 2014.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tách chiết RNA và thực hiện phản ứng RT-PCR

RNA của IBVs được tách chiết bằng bộ kit RNeasy Mini Kit (QIAGEN) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. cDNA được tổng hợp từ ARN nhờ phản ứng sử dụng enzyme phiên mã ngược (reverse transcriptase) từ bộ kit SuperScript™ (Invitrogen). Thành phần phản ứng và điều kiện tổng hợp cDNA như sau: 5 µl ARN tinh sạch, 4,5 µl nước đã loại RNase, 3 µl dNTPs (2,5 mM mỗi loại), 2 µl mỗi oligo dT (200 pM/µl), 1 µl Superscript™ II RNase H-reverse transcriptase (200 U/µl), 0,5 µl RNase inhibitor (10 U/µl) và 4 µl 5x first strand buffer. Chu trình nhiệt của phản ứng như sau: 37°C trong 60 phút, 94°C trong vòng 5 phút. Tiếp theo, cDNA được bổ sung trực tiếp vào ống phản ứng PCR sử dụng bộ kit AccuPower PCR PreMix (BIONEER) chứa DNA taq-polymerase và các thành phần cần thiết cho quá trình khuếch đại ADN. Cặp mồi (primers) sử dụng để khuếch đại gen S1 (Mồi xuôi, 5'- AAGACTGAACAAA ARA CCGACT -3' và Mồi ngược, 5'- CAAAACCTRC CATAACTWACATA -3') được lấy và chỉnh sửa từ nghiên cứu của Feng *et al.* (2014). Chu trình nhiệt của phản ứng PCR như sau: 94°C trong 3 phút; 35 chu kỳ ở 94°C trong 1 phút, 52°C trong 1 phút và 72°C trong 2 phút và kéo dài chuỗi ở

72°C trong 8 phút. Sản phẩm PCR sẽ được kiểm tra trên gel agarose 1,2%.

2.2.2. Lai vector và giải trình tự gen

Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng bộ kit QIAquick PCR Purification (QIAGEN) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sản phẩm PCR tinh sạch sau đó được gắn vào pGEM™-T Easy vector sử dụng enzyme T4 DNA ligase (Promega). Vector sau đó được biến nạp vào tế bào khả biến DH5α, nuôi cấy trên đĩa thạch LB broth bổ sung Ampiciline nồng độ 100 µg/ml ở 37°C trong khoảng 24 - 36 giờ. Khuẩn lạc chứa vector gắn gen S1 tiếp tục được nuôi cấy trong môi trường LB broth lỏng ở 37°C trong khoảng 24 giờ. Plasmid DNA được tách chiết bằng bộ kit Plasmid Miniprep (QIAGEN). Plasmid DNA chứa gen S1 được giải trình tự (Macrogen, Hàn Quốc) sử dụng cặp mồi đặc hiệu vector M13F và M13R.

2.2.3. Phân tích trình tự gen S1 và xây dựng cây phả hệ

Phân tích trình tự gen S1: Kết quả giải trình tự gen S1 của chủng VNUA-HN01 được phân tích bằng phần mềm DNASTAR Lasergene (DNASTAR). Trình tự nucleotide (nt) và amino acid (aa) của chủng VNUA-HN01 và các chủng tham chiếu (Bảng 1) được phân tích, so sánh bằng phần mềm BioEdit 6.0 (Hall, 2009).

Bảng 1. Các chủng IBVs tham chiếu được sử dụng

Tên chủng	Năm phân lập	Trình tự aa nhận diện protein S1	Mã số NCBI
SCLS/140104	2014	Arg-Arg-Thr-Gly-Arg	KU364607
I2022/13	2013	Arg-Arg-Thr-Gly-Arg	KP780179
DY09	2009	Arg-Arg-Thr-Gly-Arg	HM113491
Chongqing/0908	2009	Arg-Arg-Thr-Gly-Arg	GU938413
LSD/08-10	2008	Arg-Arg-Thr-Gly-Arg	GQ258325
LDL/97I	1997	Arg-Arg-Thr-Gly-Arg	JX195177
LDL/98I	1998	Arg-Arg-Thr-Gly-Arg	DQ167132
Q1	1996-1999	Ser-Arg-Thr-Gly-Arg	AF286302
J2	1996-1998	Arg-Arg-Thr-Gly-Arg	AF286303
4/91 vaccin	-	Arg-Arg-Ser-Arg-Arg	KF377577
Ma5 vaccin	-	Arg-Arg-Phe-Arg-Arg	KU736747

Ghi chú: Arg, Arginine; Thr, Threonine; Phe, Phenyl alanine; Ser, Serine; Gly, Glycine

Xây dựng và phân tích cây phả hệ: Trình tự di truyền gen cấu trúc S1 của chủng VNUA-HN01 được so sánh với các chủng IBVs tham chiếu (Bảng 1). Trình tự gen được sắp xếp sử dụng chương trình CLUSTAL X alignment (Thompson *et al.*, 1997). Cây phả hệ được xây dựng dựa vào phần mềm MEGA 7.0 với tham số model Kimura-2 parameter mô phỏng sự thay đổi nucleotide và Bootstrap re-sampling 1,000 lần (Kumar *et al.*, 2016).

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Chẩn đoán, khuếch đại và giải trình tự gen S1

IBVs trong mẫu bệnh phẩm khí quản và thận của gà nhiễm bệnh được chẩn đoán bằng phản ứng RT-PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu trên gen S1 (mồi xuôi: 5'-TTTTGGTGATGACAAGATGAA-3' và mồi ngược: 5'-CGCATTTGTTCCCTCTCCTC-3'). Sản phẩm RT-PCR (kích thước 403 bp) quan sát trên gel agarose 1,2% (FMC, Rockland) cho kết quả dương tính với IBVs (Hình 1a). Chủng IBV được đặt tên ck/VN/VNUA-HN01/2014 (VNUA-HN01).

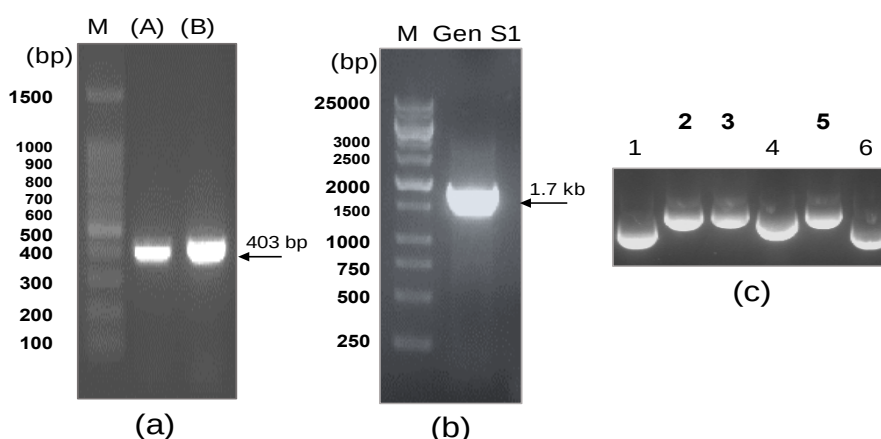
Gen S1 mã hóa cho protein bề mặt có vai trò quan trọng trong việc gắn vào thụ thể, kích

thích hệ miễn dịch vật chủ tạo kháng thể trung hòa, cũng như giải phóng hệ gen vào tế bào vật chủ. Gen S1 chứa nhiều vùng biến đổi như vùng thêm đoạn, mất đoạn, đột biến điểm, hay quá trình tái tổ hợp tạo chủng vi rút mới. Gen S1 của chủng VNUA-HN01 được khuếch đại bằng phương pháp RT-PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu (mồi xuôi, 5'-AAGACTGAACAAAARACCGA CT-3' và mồi ngược, 5'-CAAAACCTRCCATA ACTWACATA-3'). Sản phẩm RT-PCR được kiểm tra trên gel agarose 1,2% (FMC, Rockland) với kích thước sản phẩm đạt được là 1,7 kb (Hình 1b) (Feng *et al.*, 2014).

Sản phẩm PCR của gen S1 sau khi tinh sạch được lai vào pGEM -T Easy vector sử dụng enzyme T4 DNA ligase (Promega). Plasmid chứa Gen S1 được kiểm tra sàng lọc bằng phương pháp chạy điện di trên gel agarose 1,2% (FMC, Rockland) (Hình 1c).

3.2. Phân tích và so sánh trình tự gen S1

Kết quả giải trình tự gen S1 của chủng VNUA-HN01 được dùng để phân tích đối chiếu với các chủng tham chiếu (Bảng 1), đặc biệt là so sánh với các chủng IBVs có trong các loại vắc xin phòng bệnh IB đang lưu hành nhằm xác định đặc điểm tiến hóa của IBVs lưu hành tại



Hình 1. (a) RT-PCR chẩn đoán phát hiện chủng IBV ck/VN/VNUA-HN01/2014 trong mẫu (A) khí quản và (B) thận của gà bệnh; (b) RT-PCR khuếch đại 1,7 kb của gen S1 chủng ck/VN/VNUA-HN01/2014 và (c) Kết quả phân biệt plasmid DNA mang gen S1 (làn 2, 3 và 5) và không mang gen S1 (làn 1, 4 và 6)

Ghi chú: M - DNA marker (iNtRON Biotechnology)

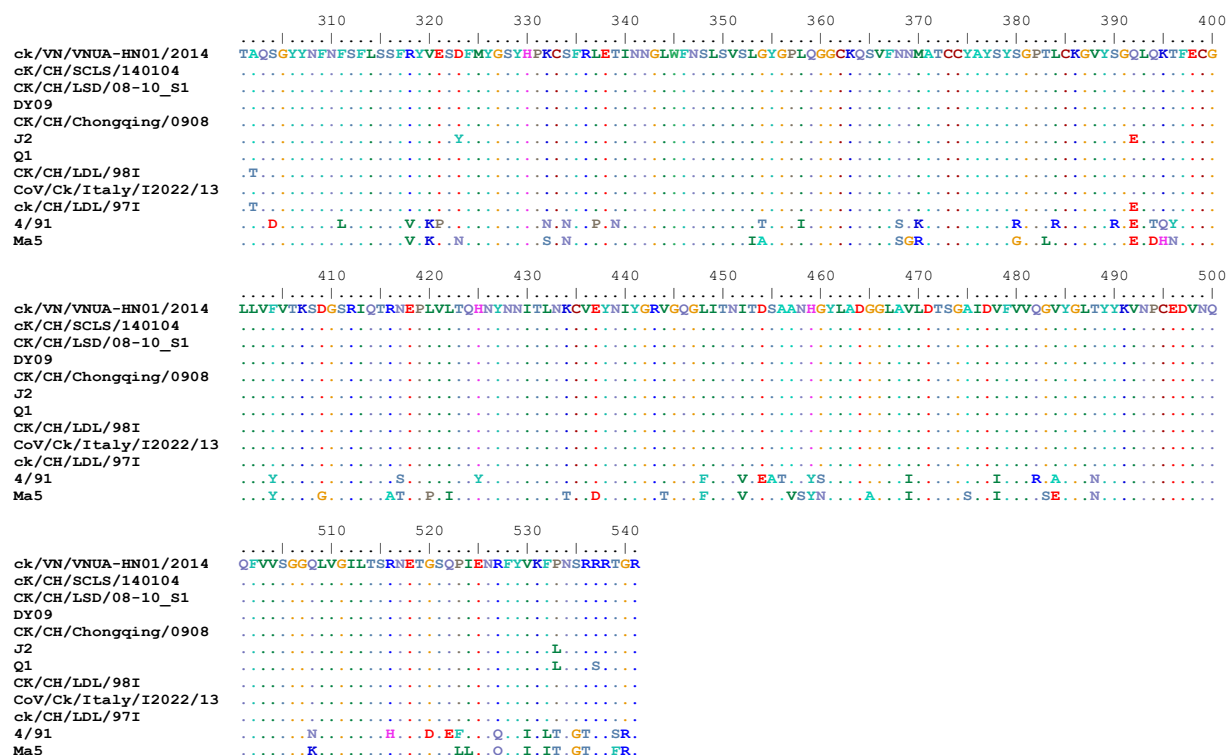
Bảng 2. Mức độ tương đồng về nucleotide và amino acid của chủng VNUA-HN01 so sánh với các chủng tham chiếu

Chủng	VNUA-HN01	SCLS/140104	LSD/08-10	DY09	Chongqing/0908	J2	Q1	LDL/98I	I2022/13	LDL/97I	4/91	Ma5
Tương đồng amino acid (%)												
VNUA-HN01		100	100	100	99.81	99.44	99.44	99.63	100	99.25	73.2	71.23
SCLS/140104	99.88		100	100	99.81	99.44	99.44	99.63	100	99.25	73.2	71.23
LSD/08-10	99.88	100		100	99.81	99.44	99.44	99.63	100	99.25	73.2	71.23
DY09	99.81	99.94	99.94		99.81	99.44	99.44	99.63	100	99.25	73.2	71.23
Chongqing/0908	99.81	99.94	99.94	99.88		99.25	99.25	99.44	99.81	99.06	72.96	70.98
J2	99.69	99.81	99.81	99.75	99.75		99.25	99.06	99.44	99.06	73.2	71.48
Q1	99.69	99.81	99.81	99.75	99.75	99.75		99.06	99.44	98.69	72.96	70.98
LDL/98I	99.63	99.75	99.75	99.69	99.69	99.56	99.56		99.63	99.63	72.71	70.73
I2022/13	99.88	100	100	99.94	99.94	99.81	99.81	99.75		99.25	73.2	71.23
LDL/97I	99.56	99.69	99.69	99.63	99.63	99.63	99.5	99.94	99.69		72.96	70.98
4/91	74.99	74.99	74.99	75.08	74.9	74.9	74.81	74.63	74.99	74.72		70.73
Ma5	72.62	72.62	72.62	72.71	72.53	72.62	72.44	72.34	72.62	72.43	74.43	
Tương đồng nucleotide (%)												

Việt Nam cũng như xác định mức độ phù hợp của vắc xin sử dụng trong phòng và trị bệnh do IBVs gây ra. Kết quả so sánh trình tự nt và aa giữa chủng VNUA-HN01 với các chủng tham chiếu (SCLS/140104, I2022/13, DY09, Chongqing/0908, LSD/08-10, LDL/97I, LDL/98I, Q1 và J2) cho thấy mức độ tương đồng cao giữa

chúng, tương đương với 99,6 - 99,9% về nt và 99,3 - 100% về aa (Bảng 2, Phụ lục 1). Ngược lại, VNUA-HN01 chia sẻ mức độ tương đồng về nt và aa thấp hơn nhiều khi so sánh với hai chủng sử dụng trong vắc xin IBVs (4/91 và Ma5) sử dụng tại Việt Nam, tương đương với 72,6 - 74,9% về nt và 71,2 - 73,2% về aa (Bảng 2, Phụ lục 1).

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
ck/VN/VNUA-HN01/2014	MLGKSLFIVTLLFALCSAALFDNNE	TVYYQSAFRPADGWHLEGGAYAVVNV	SLSTNNAGTASQCIAGAI	SWSKNFSASAVAMTAP	ELGMTWSTGQFCTA					
ck/CH/SCLS/140104										
ck/CH/LSD/08-10_S1										
DY09										
CK/CH/Chongqing/0908										
J2										
Q1										
CK/CH/LDL/98I										
CoV/ck/Italy/I2022/13										
ck/CH/LDL/97I										
4/91	P.LL.WY.L.Y.K.TY.GQ.DK.FNG.VSV.D.T.TFYE.Y.I.AS.V.PA.S.VA.									
Ma5	VTP.LL.C.Y.SSSY.P.I.S.S.SS.G.TV.I.HGGRVVM.SI.SS.A.SS.									
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
ck/VN/VNUA-HN01/2014	HCNFSDFTVFVTHCFKHGNGLCPLTGLIPSGFIRVSAMRKGSNSLFYNLT	VSVTKYPRFKSLQCVNNYTSVYLNGLDVF	TSNETKPVSAAGVSFKAGGPI							
ck/CH/SCLS/140104										
ck/CH/LSD/08-10_S1										
DY09										
CK/CH/Chongqing/0908										
J2										
Q1										
CK/CH/LDL/98I										
CoV/ck/Italy/I2022/13										
ck/CH/LDL/97I										
4/91	SQQ.S.M.QNH.I.S.--F.S.K.G.S.P.TH.TG.Y.S.V									
Ma5	Y.T.Y.G--I.MLQQHS.KN.--Q.A.T.F.L.Y.A.TD.TS.Y.									
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300
ck/VN/VNUA-HN01/2014	TYKTMSEVKVLAYFVNGTAQTVIPCDGSPRGLLACQYNTGNFSDGFYPYTNSSLVKERFIVYRESSVNTTLVLTNFTFSNVSNAPPNTGGVHSIVLHQ									
ck/CH/SCLS/140104										
ck/CH/LSD/08-10_S1										
DY09										
CK/CH/Chongqing/0908										
J2										
Q1										
CK/CH/LDL/98I										
CoV/ck/Italy/I2022/13										
ck/CH/LDL/97I										
4/91	V.K.A.I.E.L.N.F.D.T.E.T.S.S.DTFQ.Y.H									
Ma5	V.R.RA.D.L.F.F.QK.N.FT.H.H.ETG.N.PS.QN.QTY.									



Hình 2. So sánh trình tự amino acid giữa chủng IBV ck/VN/VNUA-HN01/2014 với các chủng tham chiếu

So sánh trình tự amino acid cho thấy chủng VNUA-HN01 có nhiều hơn 2 aa ở vị trí 142^S, 143^N so sánh với chủng vắc xin 4/91 và nhiều hơn 4 aa ở vị trí 120^G, 121^L, 142^S và 143^N khi so sánh với chủng vắc xin Ma5 (Hình 2).

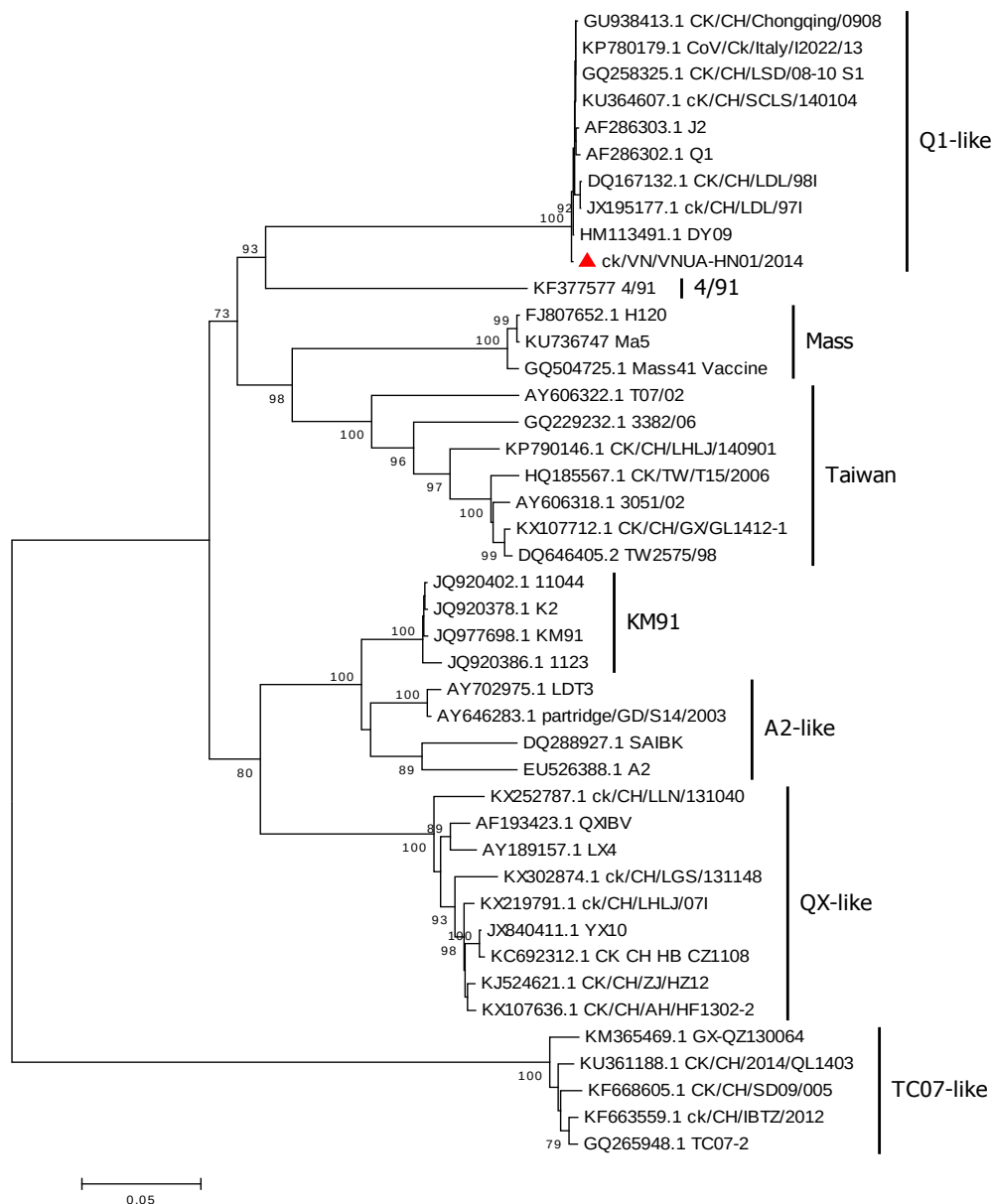
3.3. Phân tích cây phả hệ

Cây phả hệ cho gen S1 được xây dựng để phân tích mối quan hệ của trình tự gen S1 của chủng VNUA-HN01 với trình tự gen S1 của các chủng tham chiếu thu thập trên dữ liệu GenBank-NCBI. Phân tích cây phả hệ cho thấy gen S1 của chủng VNUA-HN01 thuộc vào nhóm Q1-like cùng với các chủng phân lập từ Trung Quốc (DY09, LDL/97, LDL/98, Q1, G2, SCLS/140104, LSD/08-10 và Chongqing 0908) và Italy (Italy/I2022) (Hình 3). Nghiên cứu của Trần Ngọc Bích và cộng sự (2017) cho thấy sự lưu hành đa dạng các chủng IBVs ở nước ta với mức độ không tương đồng về trình tự gen từ 8-10% và phân chia trong các genotype khác nhau như 793/B, QX-like, Malaysia-like (Tran Ngọc Bích *et al.*, 2017).

4. THẢO LUẬN

Việt Nam là quốc gia nhiệt đới gió mùa nằm ở phía đông của bán đảo Đông Dương. Nông nghiệp vẫn đóng vai trò quan trọng trong nền kinh tế quốc gia. Các sản phẩm từ động vật như thịt, trứng, sữa ước tính đóng góp khoảng 32% tổng sản phẩm từ sản xuất nông nghiệp. Bệnh viêm phế quản truyền nhiễm là một bệnh truyền nhiễm cấp tính đặc biệt nguy hiểm cho ngành chăn nuôi gà công nghiệp, bệnh dễ lây lan và phát triển nhanh, từ đó gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến năng suất và chất lượng thịt và trứng, gây thiệt hại to lớn cho nền kinh tế và công tác giống gia cầm (Cavanagh & Naqi, 2003). Hạt vi rút IB được cấu tạo bởi 3 protein cấu trúc chủ yếu bao gồm spike glycoprotein (S), membrane protein (M) và nucleocapsid protein (N), trong đó protein S (với hai tiểu phần S1 và S2) đóng vai trò kháng nguyên bề mặt quan trọng trong việc kích thích hệ thống miễn dịch vật chủ hình thành kháng thể trung hòa đặc hiệu (Cavanagh & Davis, 1986). Dựa trên các

Phân tích trình tự gen S1 của chủng virus gây bệnh viêm phế quản truyền nhiễm phân lập được tại huyện Ba Vì, Hà Nội năm 2014



Hình 3. Cây phả hệ phân tích mối tương quan giữa gen S1 của chủng IBV ck/VN/VNUA-HN01/2014 với các chủng tham chiếu

kết quả nghiên cứu về quá trình tích lũy biến đổi trình tự gen như đột biến điểm, tổ hợp và tái tổ hợp thì gen S1 được xác định là vùng có tỷ lệ biến đổi cao nhất. Do đó các nghiên cứu về tiến hóa của IBVs cũng chủ yếu dựa trên phân tích biến đổi của vùng gen S1 hay các đặc tính biểu hiện của protein S1 (Fellahi *et al.*, 2015). Phân tích cây phả hệ xây dựng dựa trên trình tự hoàn chỉnh của gen S1 cho thấy các chủng IBVs được phân chia thành 6 genotype với 32 nhóm di

truyền khác nhau (Yan *et al.*, 2011; Valastro *et al.*, 2016). Trong nghiên cứu này, chủng VNUA-HN01 thuộc vào GI-16 lineage cùng với các chủng IBVs Q1-like phân lập từ Trung Quốc và Italy. IBVs chủng Q1-like được phân lập đầu tiên tại Trung Quốc vào khoảng năm 1996 - 1998, sau đó lần lượt được phát hiện tại Đài Loan năm 2012, Nam Phi năm 2009, một số quốc gia Trung Đông và Italy năm 2011 và Colombia năm 2012 (Valastro *et al.*, 2016). Từ

kết quả trên cho thấy VNUA-HN01 quan hệ tổ tiên gần gũi với các chủng IBVs thuộc nhóm GI-16 lineage.

Do không có thuốc điều trị đặc hiệu cho gia cầm nhiễm bệnh do IBVs gây ra nên IB vắc xin vẫn đóng vai trò quan trọng trong phòng bệnh và giảm thiểu tối đa nguy cơ lây nhiễm cũng như gây chết trên đàn gia cầm. Tuy nhiên, việc sử dụng IB vắc xin lại phụ thuộc vào nhiều yếu tố quan trọng như thời gian bảo hộ ngắn nên cần tiêm nhắc lại, lựa chọn chủng IBVs đặc hiệu theo vùng địa lý, thời gian và phương pháp tiêm chủng cần điều chỉnh cho phù hợp với từng lứa tuổi của gia cầm. Hơn nữa việc lưu hành đa dạng của các serotype IBV hiện nay là thách thức rất lớn đối với các loại IB vắc xin đang được sử dụng (Cook *et al.*, 2012). Tại Việt Nam, có nhiều loại IB vắc xin đang lưu hành trên thị trường như H120 (Massachusetts serotype), IB 4/91, Ma5. Phân tích về nucleotides và amino acids gen S1 của chủng VNUA-HN01 cho thấy mức độ tương đồng rất thấp khi so sánh với các chủng vắc xin như IB 4/91 và Ma5. Kết quả này có thể là nguyên nhân dẫn đến khả năng bảo hộ miễn dịch thấp xảy ra ở những đàn gà đã tiêm IB vắc xin được phát hiện có nhiễm IBVs.

Hiện nay việc kiểm soát bệnh IB tại Việt Nam và các quốc gia trong khu vực Đông Nam Á và các nước lân cận như Trung Quốc rất khó vì nhiều lý do, trong đó có nguyên nhân quan trọng là sự lưu hành phổ biến của các chủng IBVs tại các quốc gia nói trên tạo điều kiện thuận lợi cho sự lây lan của vi rút thông qua các con đường giao thương động vật và các sản phẩm từ động vật như thịt và trứng (Promkuntod, 2016). Do đó, vấn đề quản lý và thực hiện chương trình tiêm chủng IB vắc xin cần được ưu tiên với độ an toàn, hiệu quả miễn dịch và hiệu quả kinh tế.

5. KẾT LUẬN

Chủng lưu hành VNUA-HN01 phân lập tại Ba Vì, Hà Nội năm 2014 thuộc GI-16 lineage cùng với các chủng IBVs Q1-like phân lập được từ Trung Quốc và Italy, nhưng khác xa với các chủng IBVs sử dụng trong các loại IB vắc xin. Do đó, để

kiểm soát sự lưu hành của IBVs cần tiếp tục tiến hành các nghiên cứu để xác định vi rút theo không gian và thời gian, đồng thời đánh giá tính tương đồng kháng nguyên và đáp ứng bảo hộ miễn dịch của các loại IB vắc xin sử dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Adams, M.J., Lefkowitz, E.J., King, A.M., Harrach, B., Harrison, R.L., Knowles, N.J., Kropinski, A.M., Krupovic, M., Kuhn, J.H., Mushegian, A.R., Nibert, M., Sabanadzovic, S., Sanfacon, H., Siddell, S.G., Simmonds, P., Varsani, A., Zerbini, F.M., Gorbalenya, A.E. and Davison, A.J. (2016). Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Arch. Virol.*, 161: 2921-49.
- Bande, F., Arshad, S.S., Omar, A.R., Bejo, M.H., Abubakar, M.S., Abba, Y. (2016). Pathogenesis and Diagnostic Approaches of Avian Infectious Bronchitis. *Adv. Virol.*, 4621659.
- Bich, T.N., Khanh, N.P., Dung, P.H., Loan, N.T.C. (2017). Molecular characterization of infectious bronchitis virus (IBV) isolated from commercial chicken farms. *Can Tho University Journal of Science*, 6: 56-62.
- Cavanagh, D. (1983). Coronavirus IBV: further evidence that the surface projections are associated with two glycopolypeptides. *J. Gen. Virol.*, 64: 1787-1791.
- Cavanagh, D. (2007). Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Vet. Res.*, 38: 281-297.
- Cavanagh, D. and Davis, P.J. (1986). Coronavirus IBV: removal of spike glycopolypeptide S1 by urea abolishes infectivity and haemagglutination but not attachment to cells. *J. Gen. Virol.*, 67: 1443-1448.
- Cavanagh, D., Davis, P.J., Cook, J.K., Li, D., Kant, A. and Koch, G. (1992). Location of the amino acid differences in the S1 spike glycoprotein subunit of closely related serotypes of infectious bronchitis virus. *Avian. Pathol.*, 21: 33-43.
- Cavanagh, D. and Naqi, S. (2003). Infectious bronchitis. *Diseases. of. Poultry*, 11: 101-119.
- Cook, J.K., Jackwood, M. and Jones, R.C. (2012). The long view: 40 years of infectious bronchitis research. *Avian. Pathol.*, 41: 239-250.
- Fellahi, S., Harrak, M.E., Ducatez, M., Loutfi, C., Koraichi, S.S., Kuhn, S.H., Khayi, S., Houadfi, M.D. (2015). Phylogenetic analysis of avian infectious bronchitis virus S1 glycoprotein regions reveals emergence of a new genotype in Moroccan broiler chicken flocks. *Virol. J.*, 12: 116.
- Feng, J., Hu, Y., Ma, Z., Yu, Q., Zhao, J., Liu, X. and Zhang, G. (2012). Virulent avian infectious

- bronchitis virus, People's Republic of China. *Emerg. Infect. Dis.*, 18: 1994-2001.
- Feng, K., Xue, Y., Wang, F., Chen, F., Shu, D. and Xie, Q. (2014). Analysis of S1 gene of avian infectious bronchitis virus isolated in southern China during 2011-2012. *Virus. Genes.*, 49: 292-303.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.*, 41: 95-98.
- Hodgson, T., Britton, P. and Cavanagh, D. (2006). Neither the RNA nor the proteins of open reading frames 3a and 3b of the coronavirus infectious bronchitis virus are essential for replication. *J. Virol.*, 80: 296-305.
- Huỳnh Thị Mỹ Lệ và Lê Văn Phan. (2014). Một số biểu hiện lâm sàng và kết quả chẩn đoán ô dịch ở đàn vịt trời (*Anas platyrhynchos*). *Khoa học kỹ thuật Thú y*, 21: 59-67.
- Jackwood, M.W. (2012). Review of infectious bronchitis virus around the world. *Avian. Dis.*, 56: 634-41.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.*, 33: 1870-1874.
- Liu, S. and Kong, X. (2004). A new genotype of nephropathogenic infectious bronchitis virus circulating in vaccinated and non-vaccinated flocks in China. *Avian. Pathol.*, 33: 321-327.
- Loan, N.T., Quyền, L.Đ., Quân, D.H., Thanh Phương, L.H., Hiền, N.B., Phan, L.V. (2016). Ứng dụng kỹ thuật RT-PCR để chẩn đoán bệnh viêm phế quản truyền nhiễm (infectious bronchitis) ở gà đẻ trứng tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. *Vietnam J. Agri. Sci.*, 14: 1387-1394.
- Pickett, B.E., Greer, D.S., Zhang, Y., Stewart, L., Zhou, L., Sun, G., Gu, Z., Kumar, S., Zaremba, S., Larsen, C.N., Jen, W., Klem, E.B., Scheuermann, R.H. (2012). Virus pathogen database and analysis resource (ViPR): a comprehensive bioinformatics database and analysis resource for the coronavirus research community. *Viruses*, 4: 3209-3226.
- Promkuntod, N. (2016). Dynamics of avian coronavirus circulation in commercial and non-commercial birds in Asia-a review. *Vet. Q.*, 36: 30-44.
- Trà An, V.T., Kim Yến, N.T., Dũng, H.H. (2012). Phân lập, định serotype virut viêm phế quản truyền nhiễm từ gà thịt. *Khoa học kỹ thuật thú y*, 19: 5-9.
- Valastro, V., Holmes, E.C., Britton, P., Fusaro, A., Jackwood, M.W., Cattoli, G., Monne, I. (2016). S1 gene-based phylogeny of infectious bronchitis virus: An attempt to harmonize virus classification. *Infect Genet Evol.*, 39: 349-364.
- Yan, F., Zhao, Y., Yue, W., Yao, J., Lihua, L., Ji, W., Li, X., Liu, F., Wu, Q. (2011). A Phylogenetic analysis of S1 gene of infectious bronchitis virus isolates from China. *Avian Dis.*, 55: 451-458.

Phụ lục 1. So sánh trình tự nucleotide giữa chủng ck/VN/VNUA-HN01/2014 với các chủng tham chiếu

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
ck/VN/VNUA-HN01/2014	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
cK/CH/SCLS/140104	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
CK/CH/LSD/08-10 S1	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
DY09	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
CK/CH/Chongqing/0908	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
J2	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
Q1	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
CK/CH/LDL/98I	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
CoV/CK/Italy/I2022/13	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
ck/CH/LDL/97I	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
4/91	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
Ma5	ATGTTGGGGAAGTCACTGTTTATAGTACTCTTTGTTTGCACATGATGAGTCCGCTTTGTTGATAAATGAAACCGTTTACTACTACCAAGTGCT									
	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
ck/VN/VNUA-HN01/2014	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
cK/CH/SCLS/140104	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
CK/CH/LSD/08-10 S1	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
DY09	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
CK/CH/Chongqing/0908	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
J2	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
Q1	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
CK/CH/LDL/98I	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
CoV/CK/Italy/I2022/13	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
ck/CH/LDL/97I	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
4/91	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
Ma5	TTAGACCGGCTGATGGATGGCATTGTCATGGTGGTGCCTATGACAGTAGTAAACGTTTCTTTAGAACTAATAATGCAGGCACAGCTTCACAAATGCATTGC									
	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300
ck/VN/VNUA-HN01/2014	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
cK/CH/SCLS/140104	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
CK/CH/LSD/08-10 S1	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
DY09	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
CK/CH/Chongqing/0908	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
J2	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
Q1	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
CK/CH/LDL/98I	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
CoV/CK/Italy/I2022/13	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
ck/CH/LDL/97I	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
4/91	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									
Ma5	AGGGGCTATTTCTTGGAGTAAATTTCTCTGCTTCTGCTGAGTACCATGACTGCACCTGAGTTAGGGATGACGTGGTCAACTGGGCAATCTGCACGGCT									

	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400
ck/VN/VNUA-HN01/2014	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
ck/CH/SCLS/140104	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
CK/CH/LSD/08-10 S1	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
DY09	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
CK/CH/Chongqing/0908	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
J2	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
Q1	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
CK/CH/LDL/98I	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
CoV/Ck/Italy/I2022/13	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
ck/CH/LDL/97I	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
4/91	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
Ma5	C	A	C	T	G	T	A	A	C	T
	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500
ck/VN/VNUA-HN01/2014	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
ck/CH/SCLS/140104	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
CK/CH/LSD/08-10 S1	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
DY09	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
CK/CH/Chongqing/0908	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
J2	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
Q1	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
CK/CH/LDL/98I	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
CoV/Ck/Italy/I2022/13	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
ck/CH/LDL/97I	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
4/91	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
Ma5	G	T	G	T	T	C	T	G	T	A
	510	520	530	540	550	560	570	580	590	600
ck/VN/VNUA-HN01/2014	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
ck/CH/SCLS/140104	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
CK/CH/LSD/08-10 S1	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
DY09	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
CK/CH/Chongqing/0908	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
J2	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
Q1	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
CK/CH/LDL/98I	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
CoV/Ck/Italy/I2022/13	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
ck/CH/LDL/97I	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
4/91	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
Ma5	T	T	A	C	A	T	C	T	G	T
	610	620	630	640	650	660	670	680	690	700
ck/VN/VNUA-HN01/2014	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
ck/CH/SCLS/140104	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
CK/CH/LSD/08-10 S1	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
DY09	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
CK/CH/Chongqing/0908	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
J2	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
Q1	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
CK/CH/LDL/98I	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
CoV/Ck/Italy/I2022/13	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
ck/CH/LDL/97I	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
4/91	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
Ma5	A	C	T	T	A	C	A	G	A	T
	710	720	730	740	750	760	770	780	790	800
ck/VN/VNUA-HN01/2014	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
ck/CH/SCLS/140104	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
CK/CH/LSD/08-10 S1	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
DY09	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
CK/CH/Chongqing/0908	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
J2	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
Q1	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
CK/CH/LDL/98I	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
CoV/Ck/Italy/I2022/13	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
ck/CH/LDL/97I	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
4/91	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
Ma5	C	T	T	A	C	A	G	A	T	T
	810	820	830	840	850	860	870	880	890	900
ck/VN/VNUA-HN01/2014	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
ck/CH/SCLS/140104	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
CK/CH/LSD/08-10 S1	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
DY09	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
CK/CH/Chongqing/0908	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
J2	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
Q1	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
CK/CH/LDL/98I	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
CoV/Ck/Italy/I2022/13	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
ck/CH/LDL/97I	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
4/91	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A
Ma5	T	A	C	A	C	T	T	A	C	A

Phân tích trình tự gen S1 của chủng virus gây bệnh viêm phế quản truyền nhiễm phân lập được tại huyện Ba Vì, Hà Nội năm 2014

	910	920	930	940	950	960	970	980	990	1000
ck/VN/VNUA-HN01/2014	ACAGCTCAGAGTGGTTATTATAATTTTAAATTTCTCCCTTCGTAGTAGTTTCCGTTATGTAGAAATCAGATTTTATGTTGGGT	CATACCACCCAAATGTT								
ck/CH/SCLS/140104										
CK/CH/LSD/08-10 S1										
DY09										
CK/CH/Chongqing/0908										
J2							T			
Q1										
CK/CH/LDL/98I	A									
CoV/ck/Italy/I2022/13										
ck/CH/LDL/97I	A									
4/91	T	GA		A	A	TGTG	AA	CC	T	T
Ma5			T		TGT	AAG	G	TA	A	T
	1010	1020	1030	1040	1050	1060	1070	1080	1090	1100
ck/VN/VNUA-HN01/2014	CATTTAGACTAGAACTATTATAATGGTTTGTGGTTTAATTCACCTTCGGTTTCTCTGGTTATGGTCCACTACAGGGTGGTTGTAAGCAATCTGTGTT									
ck/CH/SCLS/140104							C			
CK/CH/LSD/08-10 S1							C			
DY09							C			
CK/CH/Chongqing/0908							C			
J2							C			
Q1							C			
CK/CH/LDL/98I							C			
CoV/ck/Italy/I2022/13							C			
ck/CH/LDL/97I							C			
4/91	AT	C	G	A		C	A		T	A
Ma5	AT					A	AA	C	C	T
	1110	1120	1130	1140	1150	1160	1170	1180	1190	1200
ck/VN/VNUA-HN01/2014	TAAATAATGGCACTTGTTGTTATGCTTATTCATATAGTGGTCCACACATATGTAAGGTGTTTATAGTGGTCAGTTACAAAAAC	TTTTGAGTGTGGG								
ck/CH/SCLS/140104										
CK/CH/LSD/08-10 S1										
DY09										
CK/CH/Chongqing/0908										
J2								G		
Q1										
CK/CH/LDL/98I										
CoV/ck/Italy/I2022/13										
ck/CH/LDL/97I								G		
4/91	G	AA		C		T	CC	A		T
Ma5	G	GG	GA		C					
	1210	1220	1230	1240	1250	1260	1270	1280	1290	1300
ck/VN/VNUA-HN01/2014	TTGCTGGTTTTTGTGACTAAGAGCGATGGCTCTCGTATACAACTAGAAATGAACCACTTGTTGTTAACTCAGCACAAATTCAATATATATTACTTTAAATA									
ck/CH/SCLS/140104										
CK/CH/LSD/08-10 S1										
DY09										
CK/CH/Chongqing/0908										
J2										
Q1										
CK/CH/LDL/98I										
CoV/ck/Italy/I2022/13										
ck/CH/LDL/97I										
4/91	C	T	A		A		A		T	
Ma5	C	T	A		A		T		G	
	1310	1320	1330	1340	1350	1360	1370	1380	1390	1400
ck/VN/VNUA-HN01/2014	AGTGTGTGAGTATAATATATATGGCAGAGTTGGCCAGGTCTTATTACTAACATAACAGATTTCAGCTGCTAATCATGGCTATTTGGCAGATGGCGGGT									
ck/CH/SCLS/140104										
CK/CH/LSD/08-10 S1										
DY09										
CK/CH/Chongqing/0908										
J2										
Q1										
CK/CH/LDL/98I										
CoV/ck/Italy/I2022/13										
ck/CH/LDL/97I										
4/91			T		T		T		AG	A
Ma5	CT		T		AC		T		TG	C
	1410	1420	1430	1440	1450	1460	1470	1480	1490	1500
ck/VN/VNUA-HN01/2014	GGCTGTTTGTAGTACTTCAGGTGCCATAGAGTTTTTGTGTACAGGTGTTTATGGCCTAACTTATTATAAGGTTAATCCCTGTGAAGATGTTAACCAA									
ck/CH/SCLS/140104										
CK/CH/LSD/08-10 S1										
DY09										
CK/CH/Chongqing/0908										
J2										
Q1										
CK/CH/LDL/98I										
CoV/ck/Italy/I2022/13										
ck/CH/LDL/97I										
4/91	A	A			A		A		T	G
Ma5	A			A	T	T		A	C	

```

1510      1520      1530      1540      1550      1560      1570      1580      1590      1600
ck/VN/VNUA-HN01/2014 CAATTGTAGTCTCTGGTGGACAGTTAGTTGGCATACTTACATCTCGTAATGAACTGGTTCCTCAACCTATTGAGAACCGGTTTATGTTAAATTTCCTA
cK/CH/SCLS/140104
CK/CH/LSD/08-10 S1
DY09
CK/CH/Chongqing/0908
J2
Q1
CK/CH/LDL/98I
CoV/Ck/Italy/I2022/13
ck/CH/LDL/97I
4/91
Ma5

1610      1620
ck/VN/VNUA-HN01/2014 ATAGTAGACGTCGCACGGGACGT
cK/CH/SCLS/140104
CK/CH/LSD/08-10 S1
DY09
CK/CH/Chongqing/0908
J2
Q1
CK/CH/LDL/98I
CoV/Ck/Italy/I2022/13
ck/CH/LDL/97I
4/91
Ma5

```