

BÀI TÓNG QUAN

NGUỒN GEN VÀ CƠ CHẾ TIẾN HÓA PHÂN TỬ CỦA VIRUS CÚM A/H1N1 - 2009 GÂY ĐẠI DỊCH Ở NGƯỜI HIỆN NAY

Lê Thanh Hòa, Trương Nam Hải, Nông Văn Hải, Đinh Duy Kháng, Phan Văn Chi, Quyền Đình Thi, Lê Trần Bình

Viện Công nghệ sinh học

TÓM TẮT

Virus cúm A (Influenza A virus) là một loại virus đặc biệt, có mức độ và điều kiện tiến hóa nhanh do khả năng thay đổi hệ gen tạo nên phân type và biến chủng mới thông qua cơ chế đột biến "lệch kháng nguyên" (antigenic drift) hoặc/và tái tổ hợp "trộn kháng nguyên" (antigenic shift). Trộn kháng nguyên là hiện tượng trao đổi các phân đoạn gen hay còn gọi là tái tổ hợp trao đổi (reassortment) giữa các virus thuộc cùng một phân type hoặc giữa các phân type khác nhau, dẫn đến sự hình thành một loại virus mới có đặc tính gây bệnh và kháng nguyên hoàn toàn khác có khả năng gây đại dịch toàn cầu. Virus cúm A/H1N1 - 2009 (A/(H1N1)v; S-OIV) hiện nay là điển hình của quá trình tiến hóa đặc biệt như vậy giữa các dòng virus cúm A. Một loạt virus cúm A gây đại dịch trong thế kỷ 20 và virus H1N1 hiện nay (2009) được hình thành là hệ quả của quá trình tiến hóa tái tổ hợp nhiều dòng của virus cúm ở động vật và người. Trong đó phải kể đến các dòng/phân type: i) H1N1 gây đại dịch cúm Tây Ban Nha (Spanish flu) năm 1918 - 1919; ii) H2N2 gây đại dịch cúm châu Á (Asian flu) năm 1957 - 1958; iii) H3N2 gây đại dịch cúm Hồng Kông (Hong Kong flu) năm 1968 - 1969; và iv) H1N1 mới hình thành, gây đại dịch cúm hiện nay, năm 2009. Dòng virus cúm A/H1N1 - 2009 có đặc tính di truyền, gây bệnh và kháng nguyên khác hẳn các dòng virus cúm A/H1N1 trước đó, đây là virus của người, được hình thành qua nhiều lớp tiến hóa từ nhiều nguồn gen và dòng gen của virus cúm A khác nhau. Đây là kết quả của sự tiến hóa "lệch kháng nguyên" và tái tổ hợp "trộn kháng nguyên" từ nhiều dòng virus của lợn, người và chim có xuất xứ Bắc Mỹ và Âu - Á. Gen polymerase PB2 và PA lấy từ nguồn gen cúm lợn H1N1/H3N2 mà trước đó tái tổ hợp từ cúm chim/lợn Bắc Mỹ; gen PB1 lấy từ cúm A/H3N2 của người; gen H1, NP và NS thu thập từ cúm lợn có điển H1N1 và cúm lợn H3N2; gen N1, M lấy từ cúm lợn H1N1/H3N2 nguồn gen Âu - Á. Tất cả các phân đoạn gen kiến tạo virus H1N1 - 2009 đã có những đột biến lớn so với nguồn gen tiền nhiệm, đặc biệt là gen HA(H1), có sai khác đến khoảng 28% về nucleotide và amino acid của HA<sub>1</sub> và nhiều vị trí glycosyl hóa khác lạ so với HA của H1N1(1918) và H1N1(2008). Gen NA(N1) cũng có mức độ biến đổi tương tự. Việt Nam đang là một trong gần 150 quốc gia đang có đại dịch H1N1 - 2009, lây lan nhiều tỉnh/thành và con số nhiễm H1N1 - 2009 đang gia tăng nhanh chóng. Trong bài báo này chúng tôi trình bày những dữ liệu thông tin về nguồn gen và cơ chế tiến hóa phân tử của dòng/phân type cúm A/H1N1 - 2009 trở thành virus của người, cụ thể về sự xuất hiện, lưu hành; đặc điểm chung về tiến hóa; cơ chế của sự hình thành, quá trình biến đổi độc lực và di truyền; một số nét về can thiệp và phòng chống cần giải quyết. Sự xuất hiện và lưu hành cúm A/H1N1 - 2009 của người tại Việt Nam tạo thêm một đối mặt dịch tễ mới tại nước ta, song song với cúm A/H5N1 đã và đang hoành hành trong nước nhiều năm qua.

**Từ khóa:** Cúm A, dòng gen, đại dịch, H1N1 2009, H2N2, H3N2, H5N1, nguồn gen, S-OIV, tiến hóa phân tử

GIỚI THIỆU SỰ XUẤT HIỆN VÀ LƯU HÀNH CỦA CÚM A/H1N1 TRONG LỊCH SỬ

Từ tháng 4/2009 đến nay, một phân dòng mới của virus cúm A/H1N1 bùng nổ ở Mexico, nhanh chóng lan sang nhiều nước Bắc Mỹ, châu Âu và đến nay, gần 150 quốc gia trên thế giới, 134.500 người nhiễm, 816 người chết (đến 22/7/2009), trong đó có Việt Nam đã và đang lưu hành dịch cúm H1N1 mới này (Gallaher, 2009; IT, 2009; Kuntz-Simon, Madec,

2009; Neumann *et al.*, 2009) (Hình 1). Có lẽ, vận chuyển hàng không đã nhanh chóng đưa virus phân phối khắp toàn cầu (Khan *et al.*, 2009). Virus cúm mới, xuất hiện năm 2009, với tên viết tắt là A/H1N1 - 2009 hay A/(H1N1)v (variant), hoặc còn được gọi là virus cúm A có nguồn gốc từ lợn (swine-origin influenza A (H1N1) virus), ký hiệu S-OIV, được khẳng định một cách chắc chắn đó là H1N1 của người và người chính là vật chủ thích hợp cho sự truyền lây trực tiếp người - người (Naffakh, van der

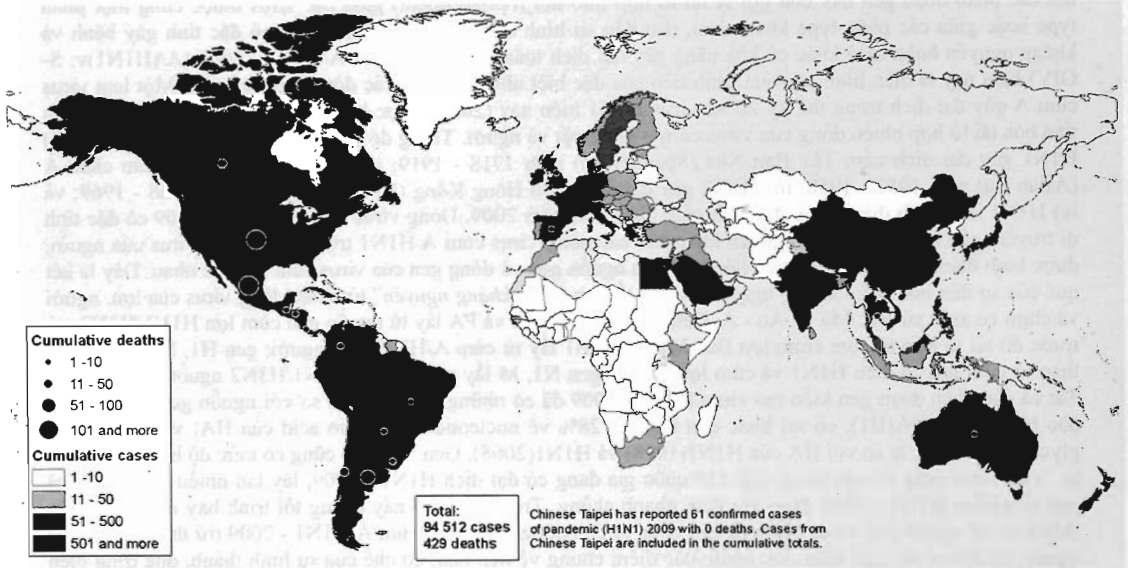
Werf, 2009; Michaelis *et al.*, 2009). Do vận tốc, hình thức lây lan và mức độ gây bệnh của virus H1N1 - 2009 trên phạm vi toàn cầu, ngày 11 tháng 6 năm 2009, Tổ chức Y tế thế giới (WHO) đã chính thức thông báo nâng lên cấp độ 6, cấp độ cao nhất và công bố đại dịch cúm A/H1N1 trên phạm vi toàn thế giới (WHO, 2009).

Cúm A phân type H1N1 (A/H1N1) chưa rõ được hình thành từ bao giờ, mà chỉ được biết đến lần đầu tiên vào năm 1918 trong đại dịch cúm mang tính khốc liệt nhất trong lịch sử còn gọi là cúm Tây Ban Nha (Spanish flu), bởi quy mô dịch bệnh toàn cầu

với trên 40 triệu người tử vong (Nelson *et al.*, 2008; Vana *et al.*, 2008; Investigation Team, 2009). Sau đại dịch đó, phân type cúm A/H1N1 tiếp tục lưu hành trong cộng đồng loài người trong giai đoạn 1918 - 1957, sau đó biến mất trong vòng 20 năm, rồi lại xuất hiện từ 1977 cho đến nay. Một trong những câu hỏi về tiến hóa chưa được giải đáp một cách triệt để đó là, bằng cách nào virus H1N1 độc lực cao nhất trong lịch sử được hình thành; và ở đâu, lúc nào, virus xuất hiện đầu tiên để rồi gây nên vụ dịch thảm khốc trong lịch sử loài người vào năm 1918 - 1919 (Taubenberger, Morens, 2006).

### Pandemic (H1N1) 2009, Number of laboratory confirmed cases as reported to WHO

Status as of 06 July 2009  
09:00 GMT



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.

Map produced: 06 July 2009 09:00 GMT

Data Source: World Health Organization  
Map Production: Public Health Information  
and Geographic Information Systems (GIS)  
World Health Organization



© WHO 2009. All rights reserved

**Hình 1.** Bản đồ phân bố đại dịch cúm A/H1N1 - 2009 trên phạm vi toàn cầu của Tổ chức Y tế thế giới (tính đến ngày 06/7/2009). (Nguồn: WHO tại [http://www.who.int/csr/don/h1n1\\_20090706a\\_1100.png](http://www.who.int/csr/don/h1n1_20090706a_1100.png))

Mặc dù theo ghi nhận, những năm 1847, 1889 cũng đã có nhiều vụ dịch có biểu hiện lâm sàng và quy mô tương tự như đại dịch cúm, nhưng liệu đó có phải là dịch cúm tiền nhiệm của đại dịch cúm A/H1N1 - 1918 hay không? Đến những năm 1930, khi những chủng virus cúm A thuộc phân type H1N1 được phân lập đầu tiên ở lợn, sau đó là ở người; và

bằng phương pháp huyết thanh học người ta đã chứng minh chúng có mối liên quan kháng nguyên với virus cúm gây đại dịch năm 1918 (Shope, 1936; Zhou *et al.*, 1999). Những năm cuối 1990, khi kỹ thuật giải trình tự được ứng dụng và những chuỗi gen đầu tiên của một số chủng virus đại dịch cúm cổ điển H1N1 - 1918 đã được giải mã, đó là những

chuỗi gen thuộc về các chủng A/South Carolina/1/1918 (H1N1); chủng A/Breivig Mission/1/1918(H1N1) và chủng A/New York/1/1918(H1N1) (Taubenberger *et al.*, 1997; 2005; Reid *et al.*, 1999; 2000; 2002; 2004a) cho phép có những hiểu biết phân tích liên quan sâu xa hơn giữa các chủng của phân type H1N1 tiền nhiễm và hậu nhiễm trong quần thể động vật và người (Fanning *et al.*, 2002; Reid *et al.*, 2003; Taubenberger *et al.*, 2000; Vana *et al.*, 2008; Zimmer, Burke, 2009).

Những nghiên cứu tiếp tục sau đó cho thấy, sau năm 1918, virus cúm A/H1N1 vẫn tiếp tục lưu hành trong tự nhiên, bắt đầu phân hóa tạo thành các dòng lây nhiễm; hoặc có thể đã phân hóa trước đó, nhưng đến những năm 1918 - 1950 mới phát hiện thấy trong quần thể gia súc và người (Jordan, 1927; Oxford *et al.*, 2002). Dòng H1N1 lưu hành trong quần thể loài lợn, có thể cũng vẫn song hành trong cộng đồng loài người, thực hiện quá trình tái tổ hợp đổi gen (antigenic shift) gây nên các ổ dịch hàng năm cho đến những năm 1950. Với sự xuất hiện của virus cúm H2N2 gây đại dịch trên người năm 1957 (còn gọi là đại dịch “*cúm châu Á*”), một hiện tượng thật lạ kỳ đã xảy ra là, những phân dòng trực tiếp của H1N1 từ dòng A/H1N1 - 1918 hoàn toàn biến mất khỏi cộng đồng loài người, nhưng “*hậu duệ*” của chúng vẫn cứ còn tồn tại trong quần thể loài lợn. Năm 1977, H1N1 của người lại xuất hiện, với nhiều bằng chứng cho rằng đó có thể là virus H1N1 của những năm 1950 lưu giữ trong phòng thí nghiệm bị thất thoát ra tự nhiên, do mức độ tương đồng gần như tuyệt đối giữa kháng nguyên các chủng sau 1977 với các chủng H1N1 gây bệnh trước đó 20 năm (Kendal *et al.*, 1978). Các dòng virus này vẫn tiếp tục tồn tại trong tự nhiên, để cung cấp nguồn gen đa dòng kiến tạo nên các phân dòng virus cúm A mới (Taubenberger, Morens, 2006; Bahl *et al.*, 2009).

Năm 2006, hai dòng “*hậu duệ*” H1N1 của A/H1N1 - 1918 và hai dòng mới tái tổ hợp khác nguồn là dòng H1N1 của người và dòng H1N1 của lợn (cúm lợn “*cổ điển*”), đã tiến hành tái tổ hợp nhiều lần tạo nên dòng virus cúm A/H3N2 của người (Scholtissek *et al.*, 1978; Zhou *et al.*, 1999; Sun *et al.*, 2009). Cũng từ dòng H3N2 này của người, cũng giống như sự phân hóa H1N1 trước đây, một dòng thích ứng H3N2 của lợn cũng được hình thành (Taubenberger, Morens, 2006; Yu *et al.*, 2007; 2008; Sun *et al.*, 2009). Mức độ gây bệnh đối với người của các phân type mới này không cao, bệnh xảy ra lẻ tẻ, cả

hai dòng H1N1 và H3N2 của lợn hầu như không gây bệnh mà chỉ gây nhiễm đối với người (Olsen, 2002; Taubenberger, Morens, 2006). Từ đó trở đi, cúm A/H1N1 vẫn giữ mức độ độc lực gây nhiễm và gây bệnh “*ôn hòa*” trong quần thể lợn và cộng đồng người mãi cho đến tháng 4 năm 2009. Với nỗ lực nghiên cứu vaccine cấp tốc, cuối tháng 5 năm 2009, Viện Tiêu chuẩn và Kiểm định Sinh phẩm Quốc gia (NIBSC) Vương quốc Anh đã tạo được giống virus vaccine chủng NIBRG-121 theo phương pháp di truyền ngược, lấy gen HA(H1) và NA(N1) từ chủng A/California/7/2009(H1N1)v; và ngày 27 tháng 5 năm 2009, Tổ chức Y tế thế giới công bố và khuyến cáo sử dụng chủng NIBRG-121 để sản xuất vaccine cho người phòng chống đại dịch H1N1 - 2009 hiện nay ([http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/2009\\_05\\_27IDCDC RG15a.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/2009_05_27IDCDC RG15a.pdf)). Cùng với NIBSC, Trung tâm Kiểm soát và Phòng ngừa bệnh tật Hoa Kỳ (CDC) cũng đã thành công tạo giống vaccine H1N1 ký hiệu IDCDC-RG15; và một số giống vaccine khác CBER-RG2, X-179A, IVR-153 phát triển ở các quốc gia khác cũng đã được WHO khuyến cáo sử dụng làm vaccine (<http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/en/>).

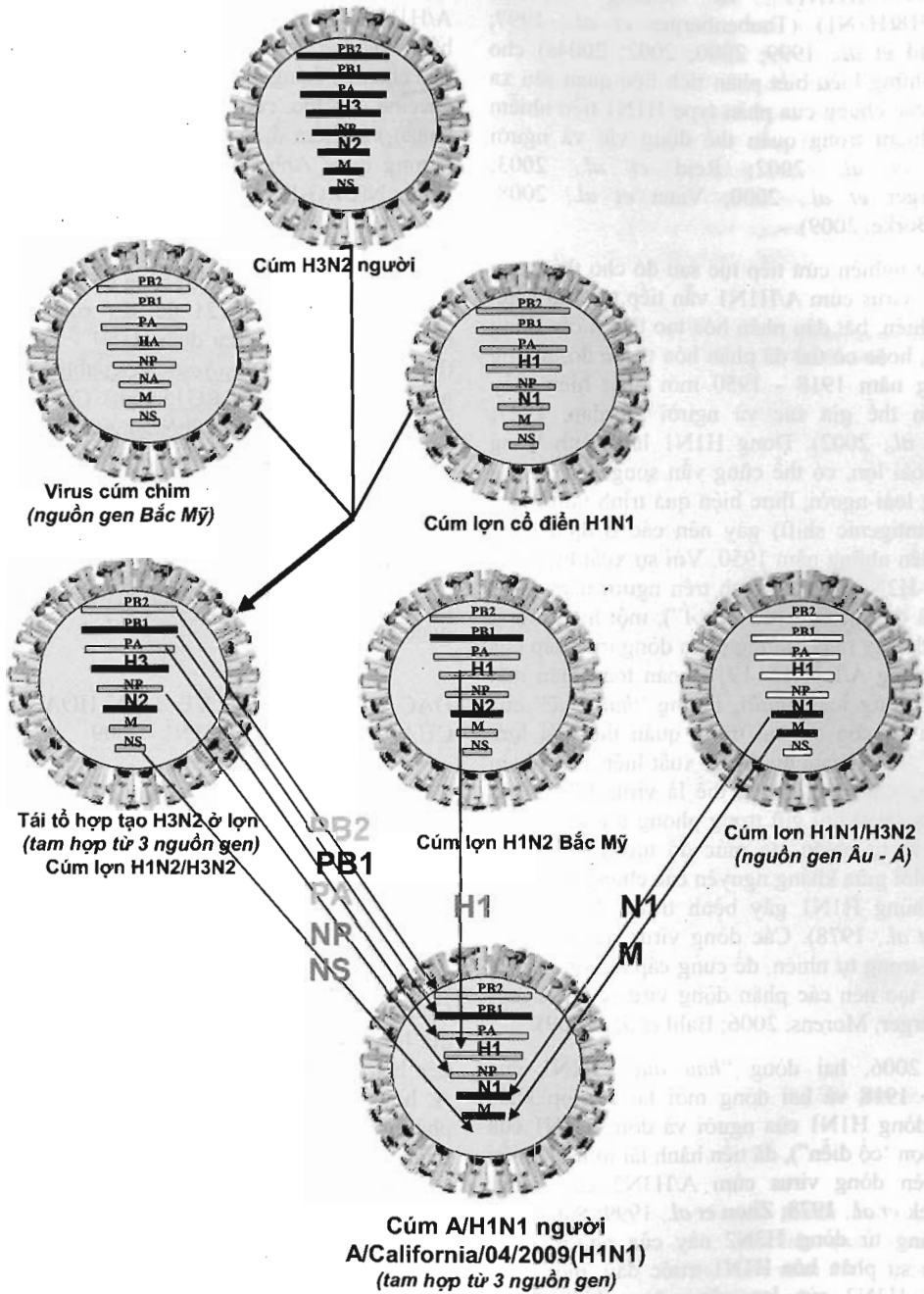
## ĐẶC ĐIỂM CHUNG VỀ TIẾN HÓA PHÂN TỬ CỦA VIRUS CÚM A/H1N1 - 2009

### Tái tổ hợp tạo nên virus cúm A/H1N1 - 2009 từ nguồn gen đa dòng

Cúm A/H1N1 - 2009 đương nhiễm trên người hiện nay, có thể nói là kết quả của một quá trình tiến hóa hết sức đặc biệt để tạo nên một sản phẩm H1N1 qua nhiều lớp tiến hóa tái tổ hợp đa dòng (Shinde *et al.*, 2009; Investigation Team, 2009; Gallaher, 2009). Giai đoạn đầu và giữa của thế kỷ 20, tính cách biệt địa lý và sự cạnh tranh loài vật chủ, đã tạo nên thể tiến hóa tách biệt của các lớp tổ hợp nguồn gen cúm A, hay còn gọi là *bể gen* (gene pool) theo hai lớp phân dòng: lớp phân dòng tổ tiên Âu - Á (Eurasian lineages) và lớp phân dòng tổ tiên châu Mỹ (American lineages) (Bahl *et al.*, 2009). Những thập kỷ cuối thế kỷ 20 đầu thế kỷ 21, nguồn gen có cơ hội trộn nhập, mà một trong những loài vật chủ giao lưu nguồn gen chính là con người và phương tiện giao thông của con người (Khan *et al.*, 2009; Naffakh, van der Werf, 2009). Cúm chim Bắc Mỹ có dịp tiếp xúc với cúm lợn Âu - Á; cúm người và cúm lợn cổ điển có dịp trao đổi gen cùng nhau để có cơ hội tái tổ

hợp tạo nên các phân type và biến chủng mới, trong đó điển hình là H1N1 - 2009 (Zhou *et al.*, 1999;

Taubenberger, Morens, 2006; Bahl *et al.*, 2009; Zimmer, Burke, 2009).



**Hình 2.** Sơ đồ tiến hóa phân tử tái tổ hợp trao đổi (reassortment) tạo nên virus A/H1N1 - 2009 gây đại dịch hiện nay từ nhiều nguồn gen khác nhau (thiết kế lại dựa trên tài liệu tham khảo).

Các bước tiến hóa tái tổ hợp của virus cúm A/H1N1 - 2009 có thể được mô tả qua 2 **giai đoạn tam hợp** (tái tổ hợp từ 3 dòng gen) (Hình 2). Có thể tóm lược vắn tắt như sau: Từ 3 dòng gen là cúm A/H3N2 của người (human A/H3N2), cúm chim tồn tại ở Bắc Mỹ (North American Avian Influenza) và cúm lợn cổ điển A/H1N1 (classical swine A/H1N1) có tại Bắc Mỹ, một phân type trung gian là cúm A/H3N2 của lợn và một dòng gen là cúm lợn H1N2 Bắc Mỹ được hình thành. Đây là giai đoạn **tam hợp thứ nhất** từ 3 nguồn gen "nội địa Bắc Mỹ" tạo nên dòng virus trung gian H3N2 ở lợn (còn gọi là cúm lợn H3N2) (Nelson *et al.*, 2008; Zimmer, Burke, 2009). Song song như vậy, các phân type trung gian khác của lớp phân dòng tổ tiên Âu - Á cũng được hình thành, đó là cúm H1N1 và H3N2 của lợn (nguồn gen Âu - Á). Tham gia giai đoạn **tam hợp thứ hai** gồm 3 thành phần: dòng virus trung gian H3N2 ở lợn, dòng gen cúm lợn H1N2 Bắc Mỹ và dòng gen cúm lợn H1N1 Âu - Á. Quá trình tái tổ hợp

diễn ra lúc này là tương đối phức tạp: Từ dòng gen H3N2 của lợn hình thành sau quá trình tam hợp lần 1, gen PB2, PB1, PA, NP và NS được gộp cùng với gen H1 lấy từ cúm lợn H1N2 Bắc Mỹ và gen N1 và M lấy từ cúm lợn H1N1 có nguồn gốc Âu - Á để tạo nên dòng cúm A/H1N1 ngày nay (Hình 2) (Shinde *et al.*, 2009; Michaelis *et al.*, 2009; Smith *et al.*, 2009).

Cúm A/H1N1 - 2009 được hình thành sau hai quá trình tam hợp, đó là phân type của một tổ hợp các phân đoạn gen có mức độ biến đổi khác rất nhiều so với cúm A/H1N1 vốn vẫn đang lưu hành ở châu Mỹ trong các năm trước đó (cho đến 2008), đặc biệt đối với các gen kháng nguyên H1 và N1 (Gallagher, 2009; Shinde *et al.*, 2009; Zimmer, Burke, 2009). Nguồn gốc tiến hóa tái tổ hợp tạo nên cúm A/H1N1 của người năm 2009 đặc trưng bằng sự trộn lẫn hỗn tạp của nhiều dòng gen từ cúm chim, người, lợn để tạo nên các chủng trung gian tái tổ hợp, cung cấp các phân đoạn gen cho sự hình thành cúm A/H1N1 ngày nay (Smith *et al.*, 2009) (Bảng 1).

**Bảng 1.** Lý lịch "trích ngang" của 8 phân đoạn gen cúm A/H1N1 (A/California/04/2009(H1N1)).

Phân đoạn gen	Độ dài (bp)	Nguồn gốc gen tiến hóa	Trung gian tái tổ hợp	Cúm A/H1N1 của người (ví dụ đại diện)
PB2	2280	Cúm chim Bắc Mỹ	Cúm lợn Bắc Mỹ (H1N2/H3N2)	A/California/04/2009(H1N1)
PB1 *PB1-F2	2174	Cúm H3N2 người	Cúm lợn Bắc Mỹ (H1N2/H3N2)	A/California/04/2009(H1N1)
PA	2151	Cúm chim Bắc Mỹ	Cúm lợn Bắc Mỹ (H1N2/H3N2)	A/California/04/2009(H1N1)
H1	1701	Cúm lợn cổ điển (H1N1)	Cúm lợn Bắc Mỹ (H1N2)	A/California/04/2009(H1N1)
NP	1497	Cúm lợn cổ điển (H1N1)	Cúm lợn Bắc Mỹ (H1N2/H3N2)	A/California/04/2009(H1N1)
N1	1410	Cúm chim Âu - Á	Cúm lợn Âu - Á (H1N2/H3N2)	A/California/04/2009(H1N1)
M	982	Cúm chim Âu - Á	Cúm lợn Âu - Á (H1N2/H3N2)	A/California/04/2009(H1N1)
**M1 ***M2				
NS ****NS1 *****NS2	838	Cúm lợn cổ điển (H1N1)	Cúm lợn Bắc Mỹ (H1N2/H3N2)	A/California/04/2009(H1N1)

**Ghi chú:** \* PB1-F2 (273 bp): Lồng vào gen PB1 nhưng bị gián đoạn do đột biến; \*\*M1 (759 bp); \*\*\*M2 (294 bp): hình thành do nối gen (splicing) trong phân đoạn M; \*\*\*\*NS1 (660 bp); \*\*\*\*\*NS2 (NEP) (366 bp): hình thành do nối gen (splicing) trong phân đoạn NS.

## Lược tóm lịch sử hình thành các dòng cúm A cung cấp nguồn gen tiến hóa

### Dòng virus cúm A/H1N1 gây đại dịch 1918 - 1919 (cúm Tây Ban Nha)

Đại dịch đầu tiên được ghi nhận trong lịch sử là cúm Tây Ban Nha do virus thuộc phân type H1N1 gây nên mà tính đặc hiệu kết hợp kháng nguyên của dòng virus H1N1 - 1918 này khác hoàn toàn với H1N1 của lợn lúc đó, cho phép nhận xét, dòng cúm A gây đại dịch trên người này đã tiến hóa và biến đổi (Shop, 1936). Đối với virus cúm A/H1N1 ở lợn, sau này được gọi là dòng virus “H1N1 cổ điển” của lợn (classical swine H1N1), cho đến khi phân lập vào năm 1930, có các đặc tính sinh học kháng nguyên và phân tử sau hơn 10 năm tiến hóa, đã khác xa nhiều so với H1N1 - 1918 của lợn năm 1918 và H1N1 - 1918 của người năm 1918 (Kanegae *et al.*, 1994).

Nhiều nhà nghiên cứu cho rằng, dòng virus cúm H1N1 - 1918 bắt nguồn từ Mỹ (vùng Kansas) và tràn sang châu Âu (Barry *et al.*, 2008), nhưng cũng có nghiên cứu cho thấy, dòng virus H1N1 đầu tiên này vốn sinh ra ở các nước Đại Tây Dương ngay tháng 2 năm 1918 (Simonsen, 2004; Zimmer, Burke, 2009). Trước đó, năm 1916 - 1917, cũng đã có một số ổ dịch cúm xảy ra tại các căn cứ quân sự của Pháp, có lẽ, đây là nguồn virus tiền nhiệm để tiến hóa phát sinh đại dịch 1918. Cho dù còn tranh cãi thời gian nào là chính xác và ở đâu phát sinh nguồn gen đầu tiên của virus cúm A/H1N1 - 1918, nhưng thực tế hiển nhiên cho thấy đại dịch này không khởi phát tại châu Á, mặc dù sự góp nhặt nguồn gen kiến tạo vẫn còn là vấn đề bí ẩn cần làm sáng tỏ (Knobler *et al.*, 2005).

Đại dịch 1918 khởi phát bằng một đợt dịch “nhẹ” vào mùa xuân năm 1918 và “nặng” dần trong các tháng cuối 1918 đầu 1919. Cùng lúc, dịch phát ra ở châu Âu và Bắc Mỹ, chủ yếu là ở Mỹ tại các trung tâm huấn luyện và cơ sở quân sự của Mỹ chuẩn bị đưa quân sang châu Âu (Reid *et al.*, 2001). Đợt dịch thứ hai tiếp nối vào mùa thu năm 1918; và trong gần 2 tháng, dịch bệnh đã lan toả khắp thế giới với tỷ lệ gây chết 5 - 10% (Knobler *et al.*, 2005). Đợt thứ hai, do chịu ảnh hưởng của miễn dịch thu được từ đợt trước nên tỷ lệ được bảo vệ là 56 - 89% so với 35 - 94% trước đó, còn những đợt tiếp theo trong năm 1919 - 1920 dịch bệnh đã không còn mãnh liệt như trước (Barry *et al.*, 2008). Cũng như các đại dịch cúm về sau, dịch cúm Tây Ban Nha (1918 - 1919)

cũng bắt đầu bằng gây chết với tỷ lệ lớn do phá vỡ cân bằng miễn dịch bởi cơ chế của “cơn bão cytokine” (cytokine storm), rồi sau đó trong cộng đồng mất bằng miễn dịch được nâng dần và sự mãnh liệt của dịch bệnh thuyên giảm dần rồi mất hẳn (Kobasa *et al.*, 2007).

Về đặc điểm di truyền học, dòng cúm A/H1N1 - 1918 trên cơ sở phân tích gen/hệ gen mới được giải mã gần đây cho thấy, khác với các chủng/dòng cúm gây đại dịch về sau này, các chủng phát sinh năm 1918 đều thực hiện quá trình kiến tạo hệ gen bắt nguồn từ cúm chim và chuyển đổi tính thích ứng sang người rồi lan truyền gây nhiễm trực tiếp người - người (Reid, Taubenberger, 1999; Taubenberger *et al.*, 2005). Hệ gen của H1N1 - 1918 chắc chắn được lấy từ thành phần góp nhặt phân đoạn gen của cúm chim chưa biết rõ nguồn gốc phát sinh (Taubenberger, Morens, 2006; Vana, Westover, 2008).

### Các dòng virus cúm cổ điển và thường trực của lợn H1N1, H1N2, H3N1, H3N2

Sơ khai nhất, cúm A gây nhiễm trên lợn lần đầu tiên được ghi nhận lâm sàng là vào năm 1918, cùng lúc với đại dịch cúm trên người giai đoạn 1918 - 1919. Một điều cần phân biệt rõ ràng là, virus đại dịch cúm H1N1 - 1918 hình thành từ nguồn gen virus cúm chim mà không phải phát sinh từ nguồn gen đương nhiễm lúc đó đang có trên lợn (CIDRAP, 2009). Chủng cúm lợn H1N1 đầu tiên được phân lập vào năm 1930 ở Mỹ, từ đó cúm lợn H1N1 hầu như thường trực trong quần thể lợn ở mọi thời gian cho đến nay (Kanegae *et al.*, 1994; Olsen, 2002), trở thành dòng virus cúm lợn cổ điển (classical swine strain/lineage). Dòng virus cúm lợn cổ điển H1N1 được phát hiện tồn tại gây bệnh đường hô hấp ở nhiều nước trên thế giới (Liu *et al.*, 2009a). Bên cạnh đó, còn có một số phân type khác tạo nên các dòng gây nhiễm cúm A trên lợn, bao gồm H1N2, H3N1 và H3N2, làm phức tạp hóa các dòng virus cúm A gây nhiễm và gây bệnh có nguồn gen tàng trữ trong lợn (Saito *et al.*, 2008; Chutinimitkul *et al.*, 2008; Moreno *et al.*, 2009), tạo điều kiện cho sự trao đổi chéo hình thành phân type hoặc các chủng mới có độc lực cao hơn (Yu *et al.*, 2007; 2008; Sun *et al.*, 2009).

Cúm lợn (swine influenza) được hiểu theo nghĩa dịch tễ học là dịch cúm gây ra do các chủng virus cúm A thông thường thích ứng và tồn tại thường

xuyên trong vật chủ là lợn. Như đã nói, chủng nổi trội gây dịch cúm ở lợn là thuộc phân type H1N1, một dòng virus cúm A tiếp tục tồn tại có thời gian xuất xứ từ những năm 1918, nhưng các chủng thuộc các phân type khác là H1N2, H3N1 và H3N2 cũng gây bệnh với triệu chứng bệnh tích tương tự và cũng được phân lập thường xuyên từ lợn (Taubenberger, Morens, 2006; Kothalawala *et al.*, 2006; Ducatez *et al.*, 2008; Michaelis *et al.*, 2009).

Cúm lợn xảy ra thường xuyên ở lợn tại nhiều nước trên thế giới với tỷ lệ nhiễm cao và tỷ lệ chết thấp (1 - 4%), trong đó có các tiểu bang miền Trung nước Mỹ, Mexico, Canada, Nam Mỹ, châu Âu (gồm Vương quốc Anh, Thụy Điển, Italy), Kenya, Trung Quốc, Đài Loan, Nhật Bản, Hàn Quốc, Thái Lan và một số nước khác (Olsen, 2002; Yu *et al.*, 2007; 2008; Chutinimitkul *et al.*, 2008; Kuntz-Simon, Madec, 2009). Lợn, một vật chủ có vai trò thiết yếu trong vòng tiến hóa của cúm A thích ứng gây bệnh trên và của người, có thể bị gây nhiễm bởi một loạt các phân type cúm A dịch cúm mùa vụ (seasonal influenza A viruses) của lợn, chim, người; trong đó dòng H3N2 vốn sở hữu của người cũng tồn tại thường xuyên ở lợn tạo nên một thể tái tổ hợp trộn gen hình thành các chủng mới (Kothalawala *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2009). Dòng H3N2 gây đại dịch ở người những năm 1968 (còn gọi là dịch cúm Hồng Kông) được coi là phát sinh từ lợn, sau khi giết chết gần 1 triệu người, lại "ôn hòa" trở lại và là virus cúm mùa vụ thường xuyên có mặt ở cộng đồng người và quần thể lợn (Yu *et al.*, 2007; 2008), bắt buộc một số nước phải áp dụng chương trình vaccine theo mùa cho lợn và cho người (Baras *et al.*, 2008). Các vụ dịch nổi trội do cúm lợn gây ra ở người được ghi nhận năm 1976 và vaccine cúm lợn sử dụng cho người được tiến hành ở Mỹ cho gần 40 triệu người, đã đẩy lùi virus gây bệnh trên người, mặc dù có hiện tượng phản ứng vaccine tạo nên hội chứng Guillain-Barre (Sencer, Millar, 2006).

Có thể tóm lược, các giai đoạn và quá trình hình thành các chủng/dòng/phân type cúm lợn như sau:

- Từ 1930 đến 1998, cúm lợn vùng Bắc Mỹ chủ yếu do phân dòng cúm lợn cổ điển A/H1N1 gây ra.

- Từ 1998, dòng virus cúm A/H3N2 với sự tái tổ hợp các phân đoạn gen từ các nguồn gen cúm A ở người, lợn, chim (quá trình tam hợp, triple reassortment) trở nên nổi trội gây bệnh ở lợn vùng Bắc Mỹ, song hành cùng dòng virus cúm lợn cổ điển H1N1.

- Cùng trong giai đoạn này, các chủng virus thuộc dòng mới H1N2, kết quả của tái tổ hợp trao đổi chéo giữa dòng trung gian H3N2 tam hợp trước đó với dòng virus cúm lợn cổ điển H1N1, cũng được phân lập tại Mỹ.

- Dòng phân hóa khác là H3N1 cũng được phân lập trên lợn ở Mỹ trong 10 năm gần đây, có thể là kết quả tái tổ hợp của H3N2 của gà tây với H1N1 trên người (loại cổ điển, trước 2009) và các virus cúm A đương nhiễm trong quần thể lợn, trở nên một dòng mới góp tay cho tiến hóa tái tổ hợp trao đổi gen hình thành cúm A/H1N1 - 2009 (Lekcharoensuk *et al.*, 2006; Michaelis *et al.*, 2009; Peiris *et al.*, 2009).

- Dòng virus mới H1N1 - 2009 được phát hiện trên người từ tháng 4 năm 2009. Ngày 02/5/2009, Cơ quan giám sát thực phẩm Canada (CFIA, Canadian Food Inspection Agency) thông báo tìm thấy virus mới H1N1 - 2009 trên đàn lợn ở Alberta (CFIA, 2009), ví dụ đó là chủng A/swine/Alberta/OTH-33-24/2009(H1N1) (số đăng ký: GQ369425). Mới đầu, CFIA nghĩ rằng lợn bị nhiễm do tiếp xúc với người nuôi mang virus H1N1 - 2009, nhưng sau đó loại virus mới này được xác định là virus H1N1 - 2009 của lợn, nguồn lây chưa được rõ. Giữa tháng 6/2009, tương tự, loại virus mới H1N1 - 2009 của lợn cũng gây ra ô dịch tại một trang trại ở Argentina theo thông báo của Tổ chức Thú y thế giới (OIE) với 30% có triệu chứng lâm sàng, không có tỷ lệ chết (OIE, 2009). Các chủng cúm A/H1N1 - 2009 trên lợn có thành phần gen HA(H1) và NA(N1) đồng nhất tới 99 - 100% với cúm A/H1N1 - 2009 của người.

Sự phức tạp của quá trình tiến hóa phân dòng cúm A ở lợn, cộng thêm một điều kiện sinh học là lợn là loài vật chủ thích ứng chuyên đôi cấu trúc của virus cúm A lên người, cũng như đây là loài vật quá gần với cộng đồng người trong mối quan hệ lây nhiễm, đã tạo lợi thế hết sức thuận lợi cho việc hình thành các dòng mới gây đại dịch của virus cúm A.

### **Các dòng virus cúm gây đại dịch ở người H2N2 (cúm châu Á) và H3N2 (cúm Hồng Kông)**

Cả hai dòng virus cúm A H2N2 và H3N2 này đều xuất phát tại châu Á, gây đại dịch cách nhau khoảng trên dưới 10 năm, trong giai đoạn 1957 - 1958 và 1968 - 1969.

Đại dịch cúm châu Á (Asian flu) do dòng virus cúm A phân type H2N2 gây ra, được sinh ra nội tại tại Trung Quốc vào khoảng thời gian đầu năm 1957

(Scholtissek *et al.*, 1978; Lindstrom *et al.*, 2004). Virus H2N2 được phân lập tại Singapore tháng 2/1957 và Hồng Kông tháng 4/1957, nhưng đại dịch H2N2 lại xuất hiện ở Trung Quốc, Hồng Kông, tràn xuống phương Nam vào mùa hè 1957, sang Mỹ tháng 6/1957, gây chết khoảng 1 triệu người trong các năm 1957 - 1958 (Glezen, 1996). Dòng virus cúm A/H2N2 - 1957, tiếp nhận 3 phân đoạn gen có nguồn gốc thủy cầm, từ vịt hoang dã và 5 phân đoạn gen khác từ chủng virus cúm A đang lưu hành trên người lúc đó, trong đó gen HA(H2) được thu nhận từ vịt (Schäfer *et al.*, 1993; Scholtissek *et al.*, 1978; Lindstrom *et al.*, 2004).

Sau đó 10 năm, đại dịch cúm Hồng Kông xuất hiện với một dòng virus cúm A mới gây bệnh, đó là H3N2. Dòng virus gây đại dịch này thu nhận 2 phân đoạn gen mới, thông qua tái tổ hợp trao đổi gen (reassortment) từ nguồn tăng trừ vịt trời và giữ lại 6 phân đoạn gen có nguồn gốc từ virus cúm người vốn lưu hành lúc đó. Số người chết do H3N2 trong đại dịch này không nhiều, một phần do nguyên nhân là, tuy gen HA có thay đổi từ H2 sang H3 (theo cơ chế trộn gen tái tổ hợp), nhưng gen N2 vẫn giữ nguyên vẹn. Tuy N2 không phải là một kháng nguyên gây miễn dịch bảo vệ hoàn toàn khi virus xâm nhập, nhưng kháng thể do N2 sinh ra cũng góp phần trung hòa virus sau nhiễm và do vậy, làm biến đổi mức độ ác liệt của dịch cúm (Glezen, 1996; Scholtissek *et al.*, 1978; Lindstrom *et al.*, 2004). Một lý do khác, là trước đó trong lịch sử, phân đoạn gen H3 đã có tồn tại nên ít nhiều cũng có tạo nên mặt bằng miễn dịch ở một số người lớn tuổi, làm kim hãm đáng kể mức độ và tốc độ lây truyền của virus H3N2 trong đại dịch những năm 1968 - 1969 (Simonsen *et al.*, 2005). Cũng có thể, do áp lực như vậy, nên virus H3N2 tuy “ác liệt” lúc khởi đầu đại dịch, nhưng không lâu và trở nên “ôn hòa” tồn tại cùng con người để thỉnh thoảng gây “cúm mùa vụ”, đặc biệt ở các nước Bắc Mỹ từ đó cho đến nay (Baras *et al.*, 2008). Tuy nhiên, điều đáng lo ngại là sự lưu giữ thường xuyên của một nguồn gen cúm A trong quần thể người, sẽ tạo điều kiện tái tổ hợp sinh ra những chủng virus mới; và chính xác điều đó đã xảy ra với dòng H1N1 - 2009 đương đại có sự góp phần đặc lực của dòng gen H3N2 của người này (Michaelis *et al.*, 2009; Neumann *et al.*, 2009; Smith *et al.*, 2009; Zimmer, Burke, 2009). Cũng giống như sự song hành tồn tại của H1N1, các dòng H3N2 của người và H3N2 của lợn cũng đồng thời lưu hành trong cộng đồng loài người và quần thể loài lợn từ đó cho đến nay (Yu *et al.*, 2008; Chutinimitkul *et al.*, 2008;

Sun *et al.*, 2009).

## CƠ CHẾ CỦA QUÁ TRÌNH BIẾN ĐỔI DI TRUYỀN TẠO NÊN VIRUS CÚM A/H1N1 - 2009 CỦA NGƯỜI

### Biến đổi yếu tố độc lực gây nhiễm giữa các loài

Virus cúm A đã được phân lập từ nhiều loài động vật, gia súc, gia cầm, thủy cầm, chim di cư và động vật hoang dã, chính chúng là nguồn tăng trừ nguồn gen cho quá trình tái tổ hợp kiến tạo các biến chủng gây nên tất cả dịch cúm A trên thế giới (Bahl *et al.*, 2009). Động vật và người cũng chính là tập hợp vật chủ lưu trữ nguồn gen lây nhiễm giữa các loài với nhau, kể cả nguồn gen tạo nên virus cúm ở người (Horimoto, Kawaoka, 2001). Chi phối quá trình lây nhiễm giữa các loài là quy luật “rào cản loài sinh học” (species-barrier), mà theo đó, virus của loài này không hoặc khó gây nhiễm đối với vật chủ thuộc loài khác. Đối với cúm A, hạn chế thích ứng vật chủ vẫn tuân thủ theo cơ chế nói trên, tuy nhiên có phần lỏng lẻo hơn, do các phân đoạn của hệ gen virus cúm A có thể được vay mượn giữa các phân type của virus ở các loài khác nhau một cách dễ dàng (Horimoto, Kawaoka, 2001; Bahl *et al.*, 2009). Virus cúm A của loài chim thường nhân lên rất kém ở người (Beare, Webster, 1991), còn virus cúm ở người lại không hoàn toàn thích ứng nhân lên ở thủy cầm (Vines *et al.*, 1998; Ito *et al.*, 2000).

Một điều hết sức đáng quan tâm là ở chỗ, hầu như tất cả các biến chủng tái tổ hợp của virus cúm A đều chọn lợn (*Sus scrofa*) làm vật chủ thích ứng trung gian trong quá trình biến đổi hoặc/và chuyển đổi cơ chế thích ứng vật chủ cảm nhiễm của mình (Horimoto, Kawaoka, 2001). Không giống như loài lợn có vai trò tăng trừ, lưu giữ và cung ứng nguồn lây, các loại virus cúm A ở loài ngựa (*Equus caballus*) chưa thấy có bằng chứng xác thực truyền lây trực tiếp sang người (Medeiros *et al.*, 2004). Rõ ràng, loài chim và loài lợn vẫn là các loài tiếp tay đắc lực cho việc chuyển đổi một biến chủng virus cúm A từ chỗ “thích ứng cảm nhiễm và gây nhiễm” trở thành chủng (hoặc phân type) virus “cúa” người và “gây bệnh” trên người (*Homo sapiens*). Quá trình này, đối với nhiều loại virus khác gây bệnh của người phải mất hàng trăm/nghìn năm, nhưng đối với cúm A, có thể chỉ được thực hiện trong vòng vài chục năm (Zhou *et al.*, 1999; Olsen, 2002; Xu *et al.*, 2004). Virus cúm A/H1N1 - 2009 của người xuất hiện năm 2009 hiện

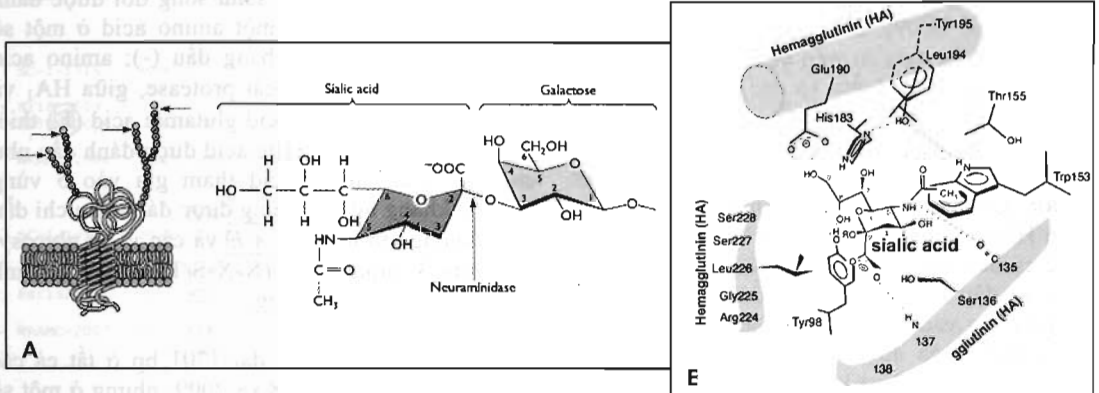


đang gây dịch tại 150 quốc gia trên thế giới, trong đó có Việt Nam, là một minh chứng hết sức xác thực của quá trình tiến hóa đó (Shinde *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2009b; Kuntz-Simon, Madec, 2009).

Vậy, cơ chế chuyển đổi yếu tố độc lực trong quá trình tiến hóa tạo nên biến chủng mới hoặc phân type mới có độc lực đặc hiệu theo loài như thế nào?

Đặc hiệu loài vật chủ (host specificity), khác với thích ứng vật chủ (host adaptivity) là ở chỗ thích ứng vật chủ chỉ giúp virus thích ứng gây nhiễm một thời gian mà không coi vật chủ đó là nguồn môi giới

truyền lây trực tiếp; còn đặc hiệu loài vật chủ là một loại hình tương tác giữa virus cảm nhiễm và tế bào/cơ thể thích ứng hình thành do tiến hóa, mà ở đó, virus thực hiện được một cách hoàn toàn quá trình gây nhiễm và truyền lây trực tiếp giữa cá thể này với cá thể khác (Manrubia, Lazaro, 2006). Đối với cúm A và cúm A/H1N1, yếu tố độc lực quyết định rất lớn quá trình xâm nhiễm là mối liên kết và mức độ tương tác biểu hiện giữa protein hemagglutinin (HA) bề mặt của virus với thụ thể tế bào cảm nhiễm của vật chủ có cấu trúc từ sialic acid (SA) (Kumlin *et al.*, 2008; Qi *et al.*, 2009) (Hình 3).



**Hình 3.** Thụ thể tế bào và liên kết sialic acid của thụ thể với hemagglutinin. A. Phân tử thụ thể bề mặt cắm gốc vào màng tế bào và sialic acid được gắn vào cuối của chuỗi polypeptide thụ thể; sialic acid liên kết với galactose tạo nên góc quay  $\alpha,3$  hoặc  $\alpha,6$  tiếp nhận HA (hemagglutinin), mà ở giữa là điểm cắt của enzyme neuraminidase (NA). B. Mô hình liên kết hemagglutinin với sialic acid; các amino acid 224-228 và 135-138 của phân tử HA tạo nên "hốc lõm" liên kết với sialic acid (Nguồn: Expert Reviews in Molecular Medicine (2001): <http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk>).

Các loại sialic acid, trong tự nhiên, phần lớn ở dạng polysialic acid (polymer) liên quan đến thụ thể tế bào, là những dẫn chất có nguồn gốc từ neuraminic acid đã được N-acylate hóa (acetylation) tại vị trí của amino acid Asparagine (N) (Suzuki *et al.*, 2000). Hai phân tử cơ bản có vai trò quan trọng của thụ thể tế bào là N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac) kết quả của quá trình acetyl hóa và N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc), sản phẩm của quá trình glycolyl hóa (Schauer *et al.*, 1995). Bản chất và cấu trúc của sialic acid biểu hiện trên bề mặt tế bào động vật quyết định đặc tính giới hạn vật chủ của sự cảm nhiễm ngoại lai (host restriction) hay nói cách khác đó chính là yếu tố cơ bản của quy luật "rào cản loài sinh học" (Qi *et al.*, 2009). Ở người, tế bào biểu mô đường hô hấp vùng khí quản chủ yếu có cấu trúc thụ thể bề mặt thuộc chuỗi liên kết NeuAca2,6Gal với galactose hay gọi tắt là liên kết

góc quay  $\alpha,6$  (Couceiro *et al.*, 1993) và chỉ có virus cúm của người có protein HA nhận biết và liên kết (Stevens *et al.*, 2005). Ở loài chim và loài ngựa, tế bào biểu mô hô hấp và biểu mô tiêu hóa của cơ thể, nơi virus xâm nhập và nhân lên, có thụ thể bề mặt tế bào cấu trúc từ NeuGca2,3Gal hay gọi tắt là liên kết góc quay  $\alpha,3$  (Ito *et al.*, 2000). Do vậy, virus cúm A của gia cầm và ngựa chỉ có khả năng nhận biết và liên kết với sialic acid nối galactose với góc quay  $\alpha,3$  ở cả hai dạng acylate hóa, Neu5Ac và glycolyl hóa, Neu5Gc (Vines *et al.*, 1998; Suzuki *et al.*, 2000; Ito *et al.*, 2000).

Virus cúm A/H1N1 - 2009 đã biến đổi các vị trí ở chuỗi polypeptide HA(H1) không còn giới hạn nhận biết sialic acid ở góc quay  $\alpha,3$  mà hoàn toàn chỉ nhận biết sialic acid ở góc quay  $\alpha,6$  ở thụ thể tế bào cảm nhiễm của người (Qi *et al.*, 2009). Do vậy,

người - người là chuỗi xích vật chủ hoàn toàn phù hợp của cúm A/H1N1 - 2009.

### **Biến đổi gen thành phần của hệ gen cúm A/H1N1 - 2009**

#### **Đặc điểm biến đổi của gen hemagglutinin (HA(H1))**

Phân đoạn gen quan trọng nhất trong 8 phân đoạn gen cấu trúc hệ gen của một virus cúm A là HA (hemagglutinin), một protein vỏ, mang tính kháng nguyên và do tham gia và tác động vào quá trình xâm nhiễm của virus, nên HA còn được coi là protein độc lực của virus (Kanegae *et al.*, 1994; Gallaher *et al.*, 2009). HA mang đặc tính kết hợp thụ thể với sialic acid có trên bề mặt tế bào nhiễm trong quá trình gây nhiễm và đặc tính gây ngưng kết khi tiếp xúc với bề mặt hồng cầu gà và ngựa, do vậy, HA dễ dàng sử dụng trong chẩn đoán sự có mặt của virus (Stevens *et al.*, 2005; Kalbfuss *et al.*, 2008; Qi *et al.*, 2009). Điểm nhô ra ở đỉnh của protein HA tạo nên một "hốc lõm" để liên kết với thụ thể carbon hydrate qua cầu nối sialic acid của tế bào, và đây là vai trò thiết yếu, do vậy, trong nguyên lý tạo vaccine cần bảo đảm có kháng thể sinh ra trung hòa được hemagglutinin. Mức độ sinh ra của kháng thể và khả năng trung hòa kháng nguyên bề mặt HA của virus cúm A được lượng hóa bằng phương pháp chuẩn độ (titration) thông qua phản ứng ngăn trở hồng cầu (Kalbfuss *et al.*, 2008). Về đặc tính kháng nguyên - miễn dịch tương quan với độc lực virus, trên phân tử protein HA có nhiều vị trí quyết định kháng nguyên (*epitope*) và vị trí bám dính thụ thể (receptor - binding site), mà ở đó, nếu có đột biến (thay đổi amino acid) hoặc/và gắn kết carbon hydrate, thì rất có thể, tính kháng nguyên và độc lực bị thay đổi tùy theo mức độ khác nhau (Schwarzer *et al.*, 2009).

Hình 4 trình bày so sánh đối chiếu trình tự amino acid protein hemagglutinin (HA(H1)) của virus cúm A/H1N1 phân lập trên người, bao gồm H1N1 - 2009 (virus đại dịch cúm 2009, một chủng châu Mỹ và một chủng châu Âu), virus H1N1 - 1918 và H1N1 - 2008. Hai chủng virus H1N1 mới phát sinh đại diện cho đại dịch cúm năm 2009 là A/New York/18/2009(H1N1), phân lập tại Mỹ (số đăng ký: FJ984355) và A/Paris/2591/2009(H1N1), phân lập tại Pháp (số đăng ký: GQ249333) được sử dụng song đôi, giữa chúng chỉ có sai khác

amino acid tại vị trí 221 (T221S) và 240 (D240E), chủng tổ H1N1 - 2009 gây đại dịch toàn cầu có mức độ tương đồng rất cao. Một chủng virus H1N1 gây đại dịch năm 1918 là A/South Carolina/1/18 (H1N1) (số đăng ký: AF117241); và một chủng virus H1N1 phân lập ở người năm 2008 là A/DistColumbia/WRAMC-1154048/2008(H1N1) tại Mỹ (số đăng ký: CY038770) được đưa vào so sánh với mục đích xác định mức độ không tương đồng giữa chủng gây đại dịch hiện tại (2009) với chủng H1N1 gây đại dịch cổ điển năm 1918 và với chủng H1N1 - 2008 trước khi đại dịch phát sinh (Hình 4). Sai khác amino acid khi so sánh song đôi được đánh dấu (X); đột biến mất một amino acid ở một số chủng được biểu hiện bằng dấu (-); amino acid arginine (R) của điểm cắt protease, giữa HA<sub>1</sub> và HA<sub>2</sub>, cũng như amino acid glutamic acid (E) thiết yếu cho liên kết với sialic acid được đánh dấu như chỉ dẫn. Các amino acid tham gia vào 5 vùng *epitope* kháng nguyên cũng được đánh dấu chỉ dẫn bằng khung tên là [vị trí A-E] và các vị trí glycosyl hóa gồm 3 amino acid (N-X-S/T) được xác định để so sánh giữa các chủng.

Gen HA(H1) có độ dài 1701 bp ở tất cả các chủng gây đại dịch 1918 và 2009; nhưng ở một số chủng H1N1 - 2008 gen này chỉ có kích thước 1698 bp. Vị trí cắt của protease ở giữa HA<sub>1</sub> và HA<sub>2</sub> chỉ có một amino acid kiềm là arginine (R), amino acid chịu trách nhiệm chính trong liên kết với sialic acid là glutamic acid (E) vẫn bảo tồn trong tất cả các chủng. Kết quả so sánh trình tự amino acid các chủng H1N1 - 2009 với H1N1 - 2008 cho thấy, 166 trên 566 amino acid có sai khác trong toàn bộ chuỗi polypeptide H1, chiếm tỷ lệ 18,73%; nếu chỉ so sánh 343 amino acid của HA<sub>1</sub> thì có đến 93 amino acid sai khác, chiếm tỷ lệ 27,4%, còn trong chuỗi HA<sub>2</sub>, chỉ có 5,4% (12/223 amino acid) không tương đồng (Hình 4).

Năm vị trí kháng nguyên tại HA<sub>1</sub> trong H1N1 - 2009 đều bị đột biến so với chủng H1N1 - 2008 (WRAMC-2008); trong H1N1 - 2008 (WRAMC-2008) và trong A/H1N1 - 2009 đều có 7 vị trí glycosyl hóa; trong đó 6 vị trí giống nhau, 1 vị trí khác nhau đó là vị trí số IVa và IVb (Hình 4). Tại vị trí IVa, trong A/H1N1 - 2008 vị trí này bị glycosyl hóa (các amino acid: NHT) còn ở các chủng còn nguyên vẹn. Tại vị trí IVb, chủng H1N1 - 1918 và H1N1 - 2008 không bị glycosyl hóa (các amino acid: