

DỊCH TỄ HỌC PHÂN TỬ CỦA MAMMALIAN ORTHOREOVIRUS (MRV) TRÊN CHÓ NUÔI TẠI THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Nguyễn Văn Dũng¹, Lê Việt Bảo¹, Ken Maeda²

TÓM TẮT

Mammalian orthoreovirus (MRV) có thể gây bệnh trên người và nhiều loài động vật, trong đó, chó là loài vật nuôi thường tiếp xúc với con người nên nguy cơ lây bệnh từ loài vật này rất cao. Bệnh do MRV trên chó được báo cáo ở nhiều nước, tuy nhiên ở Việt Nam hiện nay thiếu thông tin về MRV. Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá sự lưu hành và phân tích các đặc điểm dịch tễ học phân tử của MRV. Qua kiểm tra 80 mẫu swab phân của chó (30 chó tiêu chảy, 50 chó khỏe) bằng RT-PCR, cho thấy tỷ lệ lưu hành MRV trên nhóm chó bệnh (50%) cao hơn nhóm chó khỏe (2%), chứng tỏ MRV là tác nhân chính gây tiêu chảy trên chó. Tổng cộng có 4 chủng MRV được phân lập thành công trên môi trường tế bào A72/cSLAM. Kết quả định genotype cho thấy 1 chủng thuộc genotype 2 và 3 chủng thuộc genotype 3. Các chủng genotype 3 phân lập được có độ tương đồng cao so với các chủng MRV phân lập trên heo từ Trung Quốc. Chủng MRV-2 có độ tương đồng cao với chủng gây bệnh phân lập trên người từ Trung Quốc. Điều này cho thấy có sự truyền lây MRV giữa các loài động vật khác nhau, cũng như lây lan giữa động vật và người. Các chủng MRV phân lập được có thể là ứng viên tiềm năng cho việc nghiên cứu sản xuất vacxin và chế phẩm sinh học khác.

Từ khóa: Chó, Mammalian orthoreovirus, genotype, Tp. Hồ Chí Minh.

Molecular epidemiology of Mammalian orthoreovirus from domestic dogs in Ho Chi Minh City, Viet Nam

Nguyen Van Dung, Le Viet Bao, Ken Maeda

SUMMARY

Mammalian orthoreovirus (MRV) is a pathogen which can cause diseases in human and many species of animals. Dogs are companion animals which often expose to human, so infection risks from this species is very high. The prevalence of MRV in dogs has been reported in many countries. However, there is currently lack of MRV information in dogs in Viet Nam. The objective of this study was to investigate and characterize MRV circulating in Viet Nam. A total of 80 fecal swab samples from dogs (30 samples from diarrheic dogs, 50 samples from healthy dogs) were detected for MRV by RT-PCR. The studied result showed that prevalence of MRV in the diarrheic dogs was higher than prevalence of MRV in the healthy dogs. A total of four MRV strains were successfully isolated on cell A72/cSLAM. Phylogenetic analysis showed that one Vietnamese MRV strain belonged to genotype 1 (MRV-1) and three Vietnamese MRV strains belonged to genotype 3 (MRV-3). Vietnamese isolates - MRVs-3 were high identity in comparison to the Chinese MRV isolated from pigs. The Vietnamese isolates - MRV-2 was high identity in comparison to the Chinese isolates - MRV, which caused disease in human. These results indicated that there was transmission of MRV among different animals, also spread between animals and human. The Vietnamese isolates - MRV can be potential candidates for development of vaccine or probiotics in Viet Nam.

Keywords: Dogs, Mammalian orthoreovirus, genotype, Ho Chi Minh City.

¹ Chi cục Chăn nuôi và Thú y Thành phố Hồ Chí Minh

² Phòng thí nghiệm Vi sinh vật Thú y, Đại học Yamaguchi, Nhật Bản

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, nhiều loại virus gây bệnh chung giữa người và động vật đã có xu hướng ngày càng gia tăng, đặc biệt là các mầm bệnh từ những vật nuôi thường xuyên tiếp xúc với con người như chó, mèo; trong đó, Mammalian orthoreovirus (MRV) được ghi nhận là một căn nguyên gây bệnh viêm dạ dày-ruột và gây viêm não trên người (Steyer và ctv., 2013), trên chó ghi nhận gây các triệu chứng chảy nước bọt, ói, tiêu chảy và gây các hội chứng trên hệ thống hô hấp (Lou và ctv., 1963).

MRV có cấu trúc di truyền là RNA sợi đôi, thuộc giống Orthoreovirus trong họ Reoviridae. MRV có cấu trúc gồm 10 đoạn gen được đặt tên theo kích thước của gen lần lượt là gen “lớn” (Large) L1, L2, L3; gen “vừa” (Medium), M1, M2 và M3; gen “nhỏ” (Small), S1, S2, S3 và S4. Trong đó, gen S1 mã hóa protein $\sigma 1$, là một protein nằm trên vỏ của virus có vai trò quan trọng trong việc tấn công vào các thụ thể trên bề mặt tế bào. Vì vậy protein $\sigma 1$ là yếu tố chính xác định serotype của virus (Decaro và ctv., 2005). MRV được phân chia thành 4 serotype bao gồm serotype 1 (Lang), serotype 2 (D5/Jones), serotype 3 (Dearing) và serotype 4 (Ndelle) bằng phản ứng trung hòa virus và ức chế ngưng kết hồng cầu (Sabin và ctv., 1959). Sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử, phân tích trình tự nucleotide của S1 cũng xác định được genotype của virus do có sự tương đồng với serotype của virus.

Bệnh do MRV gây ra trên chó đã được báo cáo tại một số nước như Ý, Mỹ (Lou và ctv., 1963; Decaro và ctv., 2005). Tuy nhiên, hiện tại thiếu thông tin về bệnh do MRV trên chó tại Việt Nam, đặc biệt tại Thành phố Hồ Chí Minh. Vì vậy mục tiêu của nghiên cứu này là tìm hiểu sự lưu hành cũng như các đặc điểm dịch tễ học phân tử của MRV tại Việt Nam.

II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Đánh giá tỷ lệ lưu hành MRV trên nhóm chó khỏe và chó bệnh tiêu chảy

- Phân lập và xác định genotype các chủng MRV phân lập được trên chó nuôi.

2.2. Nguyên liệu

Mẫu xét nghiệm: Tổng cộng 80 mẫu swab trực tràng (30 trên chó có triệu chứng viêm ruột, tiêu chảy và 50 mẫu trên chó khỏe mạnh, không có biểu hiện lâm sàng của bệnh) được thu thập khu vực Thành phố Hồ Chí Minh. Các mẫu bệnh phẩm được bảo quản trong dung dịch PBS ở nhiệt độ -80°C cho đến khi thực hiện các phân tích xét nghiệm.

Bộ kit ly trích RNA và bộ kit sử dụng phản ứng RT-PCR: sử dụng kit thương mại Viral RNA mini kit và One step RT-PCR kit (Qiagen, Đức). Tinh sạch sản phẩm PCR dùng cho giải trình tự nucleotide sử dụng QIAquick PCR Purification (Qiagen).

Tế bào nuôi cấy virus: tế bào A72cSLAM nuôi cấy trong môi trường DMEM với 10% FCS.

Thiết bị: máy luân nhiệt Real-time RT-PCR, bộ điện di, kính hiển vi đảo ngược, tủ ẩm, máy ly tâm lạnh, máy giải trình tự nucleotide tự động ABI-PRISM 310 (Applied Biosystem, USA) và các dụng cụ thường quy khác phòng thí nghiệm.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

RT-PCR phát hiện RNA virus: Để phát hiện sự lưu hành MRV trên đàn chó, RT-PCR được thực hiện với cặp mồi L1-RV5, 5'- GCA TCC ATT GTA AAT GAC GAG TCT G-3' và L1-RV6, 5'- CTT GAG ATT AGC TCT AGC ATC TTC TG-3 (Leary và ctv., 2002), khuếch đại vùng gen L1 với sản phẩm PCR có kích cỡ 416bp. Bộ kit Viral RNA mini kit (Qiagen) được sử dụng cho việc ly trích RNA virus từ mẫu bệnh phẩm, bộ kit One step RT-PCR (Qiagen) được sử dụng cho việc khuếch đại gen L1, phản ứng được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sản phẩm PCR có kích cỡ 416bp được phát hiện bằng kỹ thuật điện di trên gel agarose 2%. Sản phẩm PCR của các mẫu dương tính được tinh sạch bằng kit QIAquick PCR Purification (Qiagen) và dùng cho việc giải trình tự.

Phân lập virus: mẫu dịch swab được lọc qua lọc 0,22 μm và được gây nhiễm trên tế bào A72cSLAM/ DMEM 10% FCS, ở nhiệt độ 37°C , theo dõi quan sát bệnh tích tế bào hàng ngày, cứ mỗi 5 ngày cấy chuyển tế bào một lần, nếu qua 5 lần cấy chuyển không quan sát thấy bất cứ bệnh

tích tế bào nào, mẫu được xem là âm tính. Đối với mẫu xuất hiện bệnh tích tế bào, sử dụng RT-PCR để xác định sự hiện diện của virus được phân lập.

Xác định genotype của MRV: RT-PCR thực hiện với cặp mồi S1F, 5'-GCT ATT SGY RCB KAT G-3' và S1R, 5'- GAT KRR WNB CCV YHG TGC CG-3' để xác định MRV-1 và MRV-2. Cặp mồi S1-R3F, 5'-TGG GAC AAC TTG AGA CAG GA-3' và S1R được dùng xác định genotype MRV-3. Sản phẩm PCR được tinh sạch và giải trình tự nucleotide tự động bằng ABI-PRISM 310. Trình tự toàn bộ gen S1 của MRV từ các chủng phân lập được so với 4 genotype đại diện của MRV (MRV-1, M35963; MRV-2, M35964; MRV-3, M10262.2 và MRV-4, AF368035.1) để xác định genotype.

Phân tích dữ liệu: Xây dựng cây phát sinh loài theo phương pháp Neighbor-Joining sử dụng phần mềm MEGA 7.0, giá trị bootstrap được tính trên

1000 lần lặp lại. Trắc nghiệm Chi bình phương được dùng phân tích khi so sánh các tỷ lệ, giá trị $P < 0.05$ được xem là có ý nghĩa thống kê (sử dụng mềm thống kê Minitab ver 16.0)

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm MRV trên chó bệnh tiêu chảy và chó khỏe mạnh

Tỷ lệ MRV nhiễm trên chó tiêu chảy (50%, 15/30) cao hơn có ý nghĩa so với tỷ lệ nhiễm trên chó khỏe mạnh (4%, 2/50). Tỷ lệ nhiễm MRV khác biệt không có ý nghĩa khi so sánh theo lứa tuổi, giống và giới tính.

Tỷ lệ nhiễm đơn được ghi nhận trên 3 chó tiêu chảy, tỷ lệ nhiễm kép MRV với CPV hay với CDV được ghi nhận trên 8 chó tiêu chảy, tỷ lệ nhiễm 3 mầm bệnh gồm MRV, CDV và CKoV được ghi nhận trên 1 chó tiêu chảy (bảng 1).

Bảng 1. Thông tin mẫu dương tính với MRV bằng RT-PCR hoặc phân lập virus

Ký hiệu	Triệu chứng lâm sàng	RT-PCR	Phân lập virus	Sự đồng nhiễm với các loại virus khác*
		MRV	MRV	
3	Tiêu chảy, tiết dịch mắt	+		-
5	Tiêu chảy	+		CPV
6	Tiêu chảy, tiết dịch mắt	+		CPV
7	Tiêu chảy	+		CPV
9	Tiêu chảy, tiết dịch mũi	+	MRV-2	CPV, CDV, CKoV
10	Tiêu chảy	+		CDV
11	Tiêu chảy, ho	+		CDV
12	Tiêu chảy, tiết dịch mắt	+		CDV
14	Tiêu chảy, ho	+		CDV, CPV
15	Tiêu chảy	+		-
16	Tiêu chảy	+	MRV-3	CDV, CKoV
17	Tiêu chảy	+		
18	Tiêu chảy, ho	+		CPV
19	Tiêu chảy, tiết dịch mắt	+	MRV-3	CDV
20	Tiêu chảy	+		CPV, CDV
52	Không	+		CDV
69	Không	+	MRV-3	CKoV

CPV: canine parvovirus; CDV: canine distemper virus; CCoV: canine coronavirus; MRV: mammalian orthoreovirus; CKoV: canine kobuvirus; "+": positive; "-": negative.

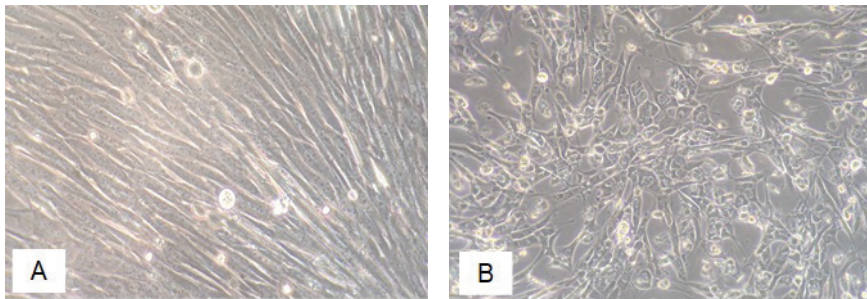
(*): CPV, CDV và CCoV được xét nghiệm trong các nghiên cứu trước bằng kỹ thuật PCR hoặc RT-PCR.

Tỷ lệ lưu hành MRV trên chó tiêu chảy (50%) cao hơn trên chó khỏe mạnh (2%), cho thấy các chủng MRV tại Việt Nam là một trong những tác nhân trong gây bệnh tiêu chảy trên chó, có thể kết hợp đồng nhiễm với một số virus đường ruột khác. Đặc biệt, có 3 chó tiêu chảy chỉ phát hiện nhiễm MRV, điều này minh chứng rõ ràng MRV là một tác nhân gây bệnh tiêu chảy trên chó. Một thử nghiệm gây nhiễm chủng IU41 (MRV-1, phân lập từ nước tiểu chó khỏe mạnh) trên chó trưởng thành không biểu hiện bất kỳ dấu hiệu lâm sàng nào (Murakami và ctv., 1979). Trái lại, khi gây nhiễm chủng MRV-1 phân lập từ chó bệnh biểu hiện lâm sàng như chảy nước bọt, ói, tiêu chảy máu thì chó gây nhiễm biểu hiện dấu hiệu lâm sàng của bệnh (Lou và ctv., 1963). Điều này cho thấy tính gây bệnh của MRV rất khác nhau tùy thuộc vào từng chủng, có nghĩa là các chủng khác nhau rất khác nhau về độc lực.

3.2. Phân lập virus và phân tích trình tự gen S1 của các chủng phân lập tại Việt Nam

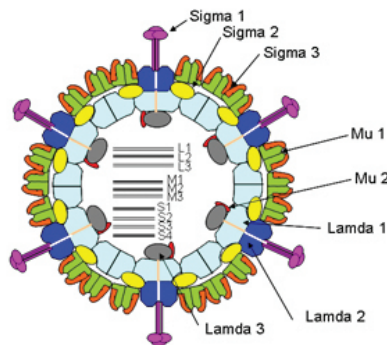
Tổng cộng có 4 chủng MRV được phân lập thành công và được đặt tên chủng như sau: MRV/dog/HCM9, MRV/dog/HCM16, MRV/dog/HCM19 và MRV/dog/HCM69 (bảng 1). Trên môi trường nuôi cấy tế bào A72/cSALM, MRV gây bệnh tích tế bào trong vòng 3-4 ngày sau nuôi cấy. Tế bào nhiễm biểu hiện các bệnh tích như tạo hạt, co lại, bong tróc khỏi đĩa nuôi cấy (hình 1).

Phân tích cây phát sinh loài dựa trên gen S1 (hình 2) cho thấy chủng phân lập MRV/dog/HCM9 thuộc genotype 2, các chủng còn lại thuộc genotype 3 (hình 3). Chủng MRV/dog/HCM9 (genotype 2, MRV-2) tương đồng cao (94,6%,aa) với chủng 302II, chủng gây bệnh trên người được phân lập từ Trung Quốc (Song và ctv., 2017) , trong khi các chủng còn lại tương đồng cao (từ 95,2-96,1%,aa) với các chủng MRV phân lập từ heo tại Trung Quốc (SC-A) (bảng 2). Mức độ tương đồng giữa 3 chủng MRV-3 phân lập tại Việt Nam khi so sánh nucleotide và amino acid từ 98,0%-99,5% và 97,3%-98,6%, tương ứng.



Hình 1. Kết quả phân lập MRV trên tế bào A72/cSLAM

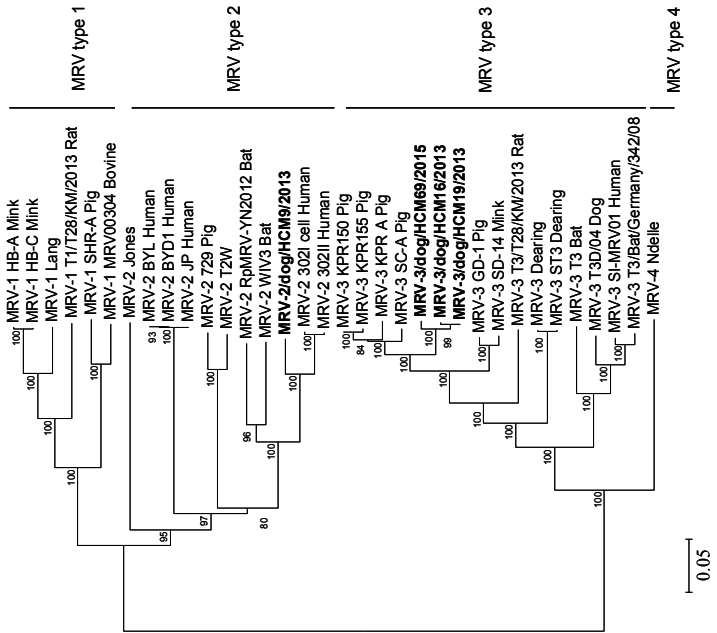
A: Tế bào phát triển bình thường, B: Tế bào nhiễm MRV gây bệnh tích tế bào (tế bào co tròn, tạo hạt, bong tróc khỏi đáy đĩa nuôi cấy)



Hình 2. Sơ đồ cấu tạo và tổ chức hệ gen của MRV. Gen S1 (Small gene) được nghiên cứu định type virus

Bảng 2. So sánh mức độ tương đồng gen S1 của các chủng MRV phân lập được và các chủng MRV khác đã công bố (nt/aa)

Chủng phân lập	MRV prototype				Bat reovirus			Human reovirus			Pig reovirus		
	T1L	T2J	T3D	T4N	RpMRV -YN2012	T3/Bat/ 342/08	302II	SI-MRV01	GD-1	SC-A			
MRV/dog/HCM9/2013	58.5/52.4	62.4/61.8	41.9/25.4	42.6/23.2	41.4/24.5	83.3/91.0	93.2/94.6	41.2/24.3	42.2/24.5	41.4/24.9			
MRV/dog/HCM16/2013	41.4/27.5	42.8/27.6	84.4/90.6	68.2/66.4	41.6/25.6	79.5/86.9	41.8/24.5	79.9/87.2	93.1/94.3	94.8/95.2			
MRV/dog/HCM19/2013	41.3/25.6	42.7/27.0	84.2/90.2	68.3/66.8	41.7/25.6	79.4/86.0	41.9/24.9	79.8/87.4	92.9/94.0	94.7/95.2			
MRV/dog/HCM69/2015	41.0/25.4	42.8/26.8	84.1/90.2	68.3/67.0	42.0/25.4	79.9/87.4	41.8/24.9	80.2/87.9	92.9/94.5	95.0/96.1			



Hình 3. Phân tích cây phát sinh loài dựa vào trình tự nucleotide gen S1 của MRV

Tỷ lệ nhiễm MRV ghép với các chủng virus gây bệnh đường ruột khác như CPV, CDV, CCoV... gây nhiều khó khăn trong chẩn đoán nếu dựa vào các dấu hiệu lâm sàng để chẩn đoán, và cũng gây không ít khó khăn trong phòng bệnh, đặc biệt là phòng bệnh bằng vaccin do phải sử dụng nhiều loại vaccin với các serotype phù hợp với virus hiện trường. Hiện tại, nhiều loại vaccin thương mại sẵn có cho phòng bệnh CDV, CPV và CCoV. Tuy nhiên, vaccin phòng bệnh cho MRV thì chưa được quan tâm nghiên cứu. Việc phân lập thành công 4 chủng MRV của Việt Nam tạo điều kiện thuận lợi cho việc nghiên cứu sâu hơn về các đặc tính sinh học, tính kháng nguyên để tìm ra chủng ứng viên cho việc sản xuất vaccin phòng bệnh do MRV, hoặc các sinh phẩm dùng cho việc chẩn đoán, phòng trị bệnh. Nhiều chủng MRV-3 đã được nghiên cứu ứng dụng trong điều trị bệnh ung thư trên người.

Các chủng phân lập được cũng có thể là ứng viên sử dụng trong liệu pháp điều trị ung thư trên người. Tuy nhiên, cần có những nghiên cứu tiếp theo về độc lực của MRV.

Các chủng MRV-3 phân lập được trên chó có mức độ tương đồng cao với các chủng MRV phân lập trên heo từ Trung Quốc (SC-A), điều này cho thấy có sự lây qua lại giữa các loài động vật, và có sự truyền lây giữa các nước. Chủng MRV-2 phân lập được trên chó tại Việt Nam có mức độ tương đồng cao với chủng gây bệnh trên người ở Trung Quốc (302II), chỉ ra rằng có sự lây nhiễm bệnh giữa động vật và người. Nếu trên chó có nhiễm chủng MRV có độc lực cao thì khả năng lây nhiễm cho người là rất lớn, do có nhiều cơ hội tiếp xúc giữa người và vật nuôi như đùa giỡn, chăm sóc hàng ngày của chủ vật nuôi, hoặc sự tiếp xúc trong quá trình khám chữa bệnh vật nuôi của các bác sĩ thú y, kỹ thuật viên thú y. Cần có các nghiên cứu sâu hơn về đặc tính sinh học, tính kháng nguyên và độc lực của MRV nhằm tìm ra chủng ứng viên cho sản xuất vaccin, sinh phẩm chẩn đoán và xa hơn, có thể ứng dụng các chủng này trong liệu pháp điều trị ung thư.

IV. KẾT LUẬN

MRV là một trong những tác nhân chính gây bệnh rối loạn tiêu hóa, tiêu chảy trên chó nuôi tại Thành phố Hồ Chí Minh.

Trên chó bệnh tiêu chảy có sự lưu hành của MRV-2 và MRV-3, các chủng này có mức độ tương

đồng cao với các chủng gây bệnh phân lập được trên người và heo có nguồn gốc từ Trung Quốc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Steyer, A., Gutiérrez-Aguire, I., Kolenc, M., Koren, S., Kutnjak, D., Pokorn, M., Poljšak-Prijatelj, M., Rač'ki, N., Ravnikar, M., Sagadin, M., Fratnik Steyer, A. and Toplak, N. 2013. High similarity of novel orthoreovirus detected in a child hospitalized with acute gastroenteritis to mammalian orthoreoviruses found in bats in Europe. *J. Clin. Microbiol.* 51: 3818-3825.
2. Lou, T. Y., Wender, H. A. and Millien, J. M. 1963. Natural and experimental infection of dogs with reovirus, type 1: pathogenicity of the strain for other animals. *Am. J. Epidemiol.* 77: 293-304.
3. Decaro, N., Campolo, M., Desario, C., Ricci, D., Camero, M., Lorusso, E., Elia, G., Lavazza, A., Martella, V. and Buonavoglia, C. 2005. Virological and molecular characterization of a mammalian orthoreovirus type 3 strain isolated from a dog in Italy. *Vet. Microbiol.* 109: 19-27.
4. Sabin, A. B. 1959. Reoviruses: A new group of respiratory and enteric viruses formerly classified as ECHO type 10 is described. *Science* 130: 1387-1389
5. Leary, T. P., Erker, J. C., Chalmers, M. L., Cruz, A. T., Wetzel, J. D., Desai, S. M., Mushahwar, I. K. and Dermody, T. S. 2002. Detection of mammalian reovirus RNA by using reverse transcription PCR: sequence diversity within the lambda 3 encoding L1 gene. *J. Clin. Microbiol.* 40: 1368-1375.
6. Murakami, T., Ogawa, T., Abe, K. and Hirano, N. 1979. Reovirus isolation from healthy dogs in Japan. *Vet. Microbiol.* 4: 255-259.
7. Song L, Zhou Y, He J, Zhu H, Huang R, Mao P, Duan Q. 2008. Comparative sequence analyses of a new mammalian reovirus genome and the mammalian reovirus S1 genes from six new serotype 2 human isolates. *Virus genes*, 37:392-399

Ngày nhận 12-1-2019

Ngày phản biện 25-4-2019

Ngày đăng 1-6-2019

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT RT-PCR TRONG CHẨN ĐOÁN BỆNH DO CORONAVIRUS TRÊN CHÓ NUÔI

Bùi Thị Tố Nga¹, Bùi Trần Anh Đào¹, Nguyễn Văn Dũng²

TÓM TẮT

CCoV (Canine Coronavirus) là một tác nhân gây viêm ruột trên chó, được phát hiện ở nhiều nước trên thế giới. Việc ứng dụng các kỹ thuật chẩn đoán nhanh, chính xác và kịp thời bệnh là hết sức cần thiết. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật RT-PCR đã được thiết lập và ứng dụng trong chẩn đoán bệnh do CCoV-II và khảo sát sự lưu hành CCoV trên chó nuôi tại Hà Nội và khu vực lân cận. Kết quả nghiên cứu cho thấy, phản ứng RT-PCR với cặp mồi 2bF, 2bR đã phát hiện được CCoV-II trên mẫu lâm sàng và mẫu thí nghiệm với độ nhạy 1copy/ μ l, cao hơn so với cặp mồi S5, S6 (10 copy/ μ l). Độ đặc hiệu của cả hai cặp mồi 2bF, 2bR và S5, S6 là khá cao để phát hiện CCoV-II, và không phát hiện dương tính trên các mẫu virus Carré, Parvo thử nghiệm. Kết quả khảo sát sự lưu hành của CCoV-II cho thấy tỷ lệ lưu hành chung là 30%, tỷ lệ lưu hành của CCoV-II trên nhóm giống chó ngoại (77,23%) cao hơn so với trên nhóm giống chó nội (22,27%), tỷ lệ lưu hành của CCoV-II trên chó ở giai đoạn từ 2 tháng đến dưới 5 tháng tuổi là cao nhất (68,18%).

Từ khóa: Chó, CCoV, RT-PCR, tỷ lệ bệnh, Hà Nội.

The application of RT-PCR for diagnosing canine coronavirus in domestic dogs

Bui Thi To Nga, Bui Tran Anh Dao, Nguyen Van Dung

SUMMARY

CCoV is a pathogen causing enteritis in dogs in many countries around the world. The application of fast, accuracy and timely diagnostic techniques is essential. In this study, RT-PCR technique was established and applied for diagnosing and investigating the prevalence of CCoV-II in the domestic dogs raising in Ha Noi and surrounding area. The studied result showed that RT-PCR with a pair of 2bF- 2bR primers (detected 1copy/ μ l) was more sensitive in comparison with S5-S6 primers (detected 10 copies/ μ l) in identifying CCoV-II. The specificity of both primers 2bF-2bR and S5-S6 was high for detecting CCoV, and not to detect the CDV and CPV-positive samples. The prevalence of CCoV-II in Ha Noi and surrounding area was 30%, the infection rate of the exotic dog breeds (77.23%) was higher than that of the indigenous dog breeds (22.27%) and prevalence in the dog group from 2 months old to less than 5 months old was the highest (68.18%).

Keywords: Dogs, CCoV, RT-PCR, prevalence, Ha Noi City.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, cùng với sự phát triển kinh tế của đất nước, phong trào nuôi thú cảnh ngày càng phát triển đa dạng, phong phú với nhiều loại vật nuôi khác nhau, trong đó có

việc nuôi chó. Việc phát triển nuôi chó tăng về mật độ, số lượng thường kèm theo sự gia tăng các mầm bệnh, đặc biệt là các bệnh truyền nhiễm. Bệnh do Coronavirus là một trong những bệnh trên chó có thể ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe chó nuôi nếu không phát hiện kịp thời và phòng trị bệnh hợp lý.

Virus Corona gây bệnh trên chó (CCoV) có cấu trúc là một sợi ARN đơn dương. CCoV

¹ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Chi cục Chăn nuôi và Thú y Tp. Hồ Chí Minh