

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ VÀ DI TRUYỀN CỦA VIRUS GÂY BỆNH CARRÉ PHÂN LẬP ĐƯỢC TRÊN CHÓ TẠI TỈNH AN GIANG

Lê Thị Thúy Loan¹, Trần Ngọc Bích¹, Lê Quang Trung²,
Vân Mỹ Tiên², Trần Thị Anh Đào³

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện bằng phương pháp nghiên cứu cắt ngang trên 840 con chó tại tỉnh An Giang từ tháng 12 năm 2019 đến tháng 6 năm 2020, sử dụng kit chẩn đoán nhanh Asan easy test Distemper (Hàn Quốc). Kết quả nghiên cứu cho thấy, tổng số 96 con chó dương tính với *Canine Distemper Virus* (CDV) trong số 365 con chó có biểu hiện lâm sàng của bệnh. Tỷ lệ nhiễm bệnh cao nhất ở chó <6 tháng tuổi (52,54%) và thấp nhất là giai đoạn 6 tháng <2 năm tuổi (6,67%). Tỷ lệ mắc bệnh ở chó nuôi nhốt (13,95%), thấp hơn chó nuôi thả (30,11%). Chó được tiêm vaccine đủ liều có tỷ lệ mắc bệnh 3,95%, thấp hơn so với chó không tiêm phòng (32,18%). Kết quả phân tích các đoạn gen khuếch đại cho thấy mức độ tương đồng về trình tự nucleotide với nhau từ 99,11-99,89%, so với các chủng CDV từ Genbank, mức độ tương đồng đạt 88,57-98,55%. Mức độ tương đồng về axit amin của đoạn gen H giữa các chủng virus thực địa rất cao (99,17-100%), mức độ tương đồng axit amin của chủng CDV thực địa so với axit amin của các chủng CDV từ Genbank là 88,57-99,83%. Phân tích cây phát sinh loài cho thấy các chủng CDV tại An Giang thuộc kiểu gen Asia 1.

Từ khóa: Asia 1, bệnh Carré, chó, gen Hemagglutinin, tỉnh An Giang.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Carré hay còn được gọi là bệnh sài sốt trên chó, gây ra bởi *Canine Distemper Virus* (CDV), đây là một bệnh truyền nhiễm nguy hiểm với tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ chết cao trên đàn chó (Lan *et al.*, 2009; Piewbang *et al.*, 2020). Theo kết quả nghiên cứu của Trần Thị Thảo và *ctv.* (2019), tỷ lệ chó nhiễm bệnh Carré tại thành phố Trà Vinh là khá cao (10,10%). CDV thuộc giống Morbillivirus, họ Paramyxoviridae là một virus với cấu trúc xoắn ốc, nhân là một ARN sợi đơn, có một lớp vỏ lipoprotein (Kennedy *et al.*, 1989; Piewbang *et al.*, 2020). CDV chỉ có một serotype duy nhất nhưng có nhiều chủng được phân lập ở nhiều khu vực địa lý khác nhau trên thế giới và có đặc trưng riêng. Các type của CDV bao gồm: America 1 (phần lớn các chủng vaccine), America 2, Asia 1, Asia 2, Europe/Europe wildlife, Africa và Artic (Gamiz *et al.*, 2011; Dung *et al.*, 2017). Tại Việt Nam, chúng gây bệnh phổ biến ở các tỉnh miền Nam là chủng CDV thuộc type Asia 1 (Võ Tấn Đại và Dương Tấn Đạt, 2016; Dung *et al.*, 2017; Trần Thị Thảo và *ctv.*, 2020). Hầu hết các nghiên cứu về đặc điểm di truyền của CDV đều dựa trên sự biến đổi

trình tự nucleotide trên đoạn gen mã hóa cho protein H (Gamiz *et al.*, 2011; Dung *et al.*, 2017; Trần Thị Thảo và *ctv.*, 2020).

Bệnh do CDV gây ra có thể khác nhau về mức độ nghiêm trọng từ các biểu hiện lâm sàng cho đến tỷ lệ chết nhưng thường được đặc trưng bởi các biểu hiện trên đường hô hấp, đường ruột và triệu chứng thần kinh (Piewbang *et al.*, 2020). Hiểu được sự phát triển của CDV có thể sẽ cung cấp những hiểu biết quan trọng về sự biến đổi của virus trong tương lai, điều này không chỉ quan trọng trong việc kiểm soát dịch bệnh mà còn ảnh hưởng đến chiến lược sản xuất vaccine trong tương lai. Tuy nhiên, vẫn chưa có nghiên cứu nào được tiến hành nhằm cung cấp thêm các đặc điểm dịch tễ học và di truyền của virus trên địa bàn tỉnh An Giang. Trên cơ sở đó, nghiên cứu được tiến hành nhằm cung cấp một số đặc điểm dịch tễ và sự biến đổi di truyền của virus, góp phần làm sáng tỏ đặc điểm của các chủng virus thực địa đang lưu hành tại tỉnh An Giang và tại Việt Nam.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 12 năm 2019 đến tháng 6 năm 2020 tại Phòng khám thú y Cộng Đồng, thành phố Long Xuyên, tỉnh An Giang.

¹ Trường Đại học An Giang

² Bộ môn Thú y, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

³ Trường Đại học Sư phạm Kỹ thuật Vĩnh Long

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là tất cả các chó ở các lứa tuổi, phương thức nuôi và các giống khác nhau được đưa đến khám, điều trị bệnh tại Phòng khám thú y Cộng Đồng, tỉnh An Giang; với các triệu chứng lâm sàng nghi nhiễm bệnh Carré như sốt cao, biếng ăn hoặc không ăn, nôn mửa đối với chó con, ho ở chó trưởng thành, có nốt sùi tại vùng da mỏng ở vùng bụng, tiêu chảy và có triệu chứng thần kinh.

2.3. Phương pháp nghiên cứu**2.3.1. Thu thập mẫu bệnh phẩm**

Tất cả chó được đem đến khám và điều trị sẽ được nhận biết bệnh và thực hiện theo quy trình chẩn đoán bệnh thường quy tại phòng khám. Tiến hành ghi nhận thông tin triệu chứng lâm sàng, tình hình tiêm phòng, bệnh sử vào bệnh án. Những chó sau khi chẩn đoán có biểu hiện lâm sàng nghi nhiễm bệnh Carré sẽ được xét nghiệm nhanh bằng kit Asan easy test Distemper (Asan Pharmaceutical Co., Ltd; Hàn Quốc). Quy trình thực hiện và đọc kết quả dựa trên hướng dẫn của nhà sản xuất. Những chó có biểu hiện lâm sàng nghi nhiễm bệnh Carré và dương tính với CDV dựa vào kết quả của kit Asan easy test Distemper sẽ được tiến hành thu thập mẫu bệnh phẩm từ dịch tiết mắt, mũi. Các mẫu bệnh phẩm được cho vào ống Eppendorf có chứa sẵn 300 μ l dung dịch đệm PBS (phosphate buffer saline) và được vận chuyển ngay trong ngày về phòng thí nghiệm chuyên ngành, Trường Đại học Cần Thơ và bảo quản ở 70°C cho đến khi được phân tích.

2.3.2. Tách chiết ARN

Việc tách chiết ARN tổng số từ các mẫu bệnh phẩm được thực hiện theo quy trình của bộ kit thương mại Total RNA isolation, Promega (Madison, USA). Mẫu sau khi được tách chiết ARN được sử dụng ngay cho phản ứng RT-PCR hoặc bảo quản ở 70°C tới khi được sử dụng.

2.3.3. Khuếch đại vùng gen H và giải trình tự

Khuếch đại toàn bộ vùng gen H của CDV bằng cặp mồi đặc hiệu: mồi xuôi DHI-F (5'-TGGTTCACAAGATGGTATTC-3'), mồi ngược DHI-R (5'-CAACACCACTAAATTGGACT-3') với chiều dài sản phẩm là 613 bp (Gamiz *et al.*, 2011). Chu trình nhiệt cho phản ứng như sau: tiền biến tính ở 94°C trong 5 phút, sau đó lặp lại 30 chu kỳ, giai đoạn biến tính ở 94°C trong 30 giây, gắn mồi ở 51°C trong 30

giây, tổng hợp sợi mới ở 72°C trong 45 giây và hoàn chỉnh ở 72°C trong 10 phút. Thành phần cho một phản ứng RT-PCR như sau: 10 μ l Go taq® green master mix 2X (Promega, Mỹ); 1 μ l MgCl₂ (25 mM); 0,5 μ l M-MLV (Moloney Murine Leukemia Virus); 0,5 μ l mỗi xuôi; 0,5 μ l mỗi ngược; 4 μ l mẫu RNA chiết tách và 8,5 μ l nước tinh sạch. Sản phẩm RT-PCR được điện di trên gel agarose với nồng độ 1,50%. Điện di sản phẩm RT-PCR (10 μ l) ở 100 Volt trong 40 phút. Sản phẩm khuếch đại được đọc trực tiếp qua máy chiếu tia UV (Vilber-Lourmat, Pháp) và chụp lại hình ảnh. Những mẫu dương tính được tinh sạch bằng Gel Extraction Kit (Jena Bioscience, Đức) theo quy trình tinh sạch của nhà sản xuất. Sản phẩm RT-PCR sau khi được tinh sạch sẽ được gửi tới phòng xét nghiệm Công ty TNHH MTV Sinh hoá Phù Sa (Cần Thơ) để giải trình tự gen H.

2.3.4. Phân tích phát sinh loài

Các trình tự nucleotide từ các mẫu thực địa được so sánh với các trình tự tham chiếu trên Genbank bằng phần mềm BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Xác định nguồn gốc phát sinh loài của CDV dựa trên cơ sở trình tự nucleotide của gen H của chủng virus thực địa tại An Giang bằng phần mềm MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) version 7. Sử dụng phương pháp test Maximum likelihood với giá trị bootstrap 1.000 lần lặp lại. Các gen H tham chiếu sử dụng để xây dựng cây phả hệ được thu thập từ dữ liệu trên Genbank.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu khảo sát được tính toán bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phân tích thống kê bằng trắc nghiệm Chi-square trong phần mềm Minitab Version 16.0. Xác định nguồn gốc phát sinh loài của CDV dựa trên cơ sở trình tự nucleotide gen H của chủng virus thực địa bằng phần mềm MEGA version 7.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**3.1. Tỷ lệ chó mắc bệnh Carré tại An Giang**

Khảo sát ngẫu nhiên trên 840 con chó được mang đến khám và điều trị tại Phòng khám thú y Cộng Đồng, tỉnh An Giang đã xác định được 365 con có triệu chứng nghi ngờ nhiễm bệnh Carré. Từ 365 ca nghi nhiễm này, tiến hành xét nghiệm nhanh bằng kit Asan easy test Distemper. Kết quả khảo sát được ghi nhận trong bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ chó mắc bệnh Carré tại An Giang theo tuổi, giống, phương thức nuôi và tình hình tiêm phòng

Chỉ tiêu		Số ca nghi ngờ (con)	Số ca dương tính (con)	Tỷ lệ (%)
Tuổi (tháng)	<6	118	62	52,54 ^a
	6 - <24	90	06	6,67 ^c
	24 - <60	83	09	10,84 ^c
	>60	74	19	25,68 ^b
Giống	Nội	291	86	29,55 ^a
	Ngoại	74	10	13,51 ^b
Phương thức nuôi	Nuôi nhốt	86	12	13,95 ^b
	Nuôi thả	279	84	30,11 ^a
Tình hình tiêm phòng	Chưa được tiêm phòng	289	93	32,18 ^a
	Đã được tiêm phòng	76	3	3,95 ^b
Tổng cộng		365	96	26,30

Ghi chú: a, b, c: Trong cùng một cột những số có chữ theo sau khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$)

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tổng số 96 trường hợp chó dương tính với CDV thông qua kết quả xét nghiệm nhanh, chiếm tỷ lệ 26,30% trên tổng số 365 chó nghi ngờ. Kết quả này thấp hơn nghiên cứu của Võ Tấn Đại và Dương Tấn Đạt (2016), tỷ lệ chó dương tính với CDV (sử dụng bộ kit Asan Pharm, Hàn Quốc) tại Trạm thú y Hóc Môn và Bệnh viện Thú y, Trường Đại học Nông Lâm, thành phố Hồ Chí Minh là 58,33% (42/72 ca). Diệp Thị Diễm My và *ctv.* (2020), đã xác định tỷ lệ nhiễm bệnh Carré trên chó tại thành phố Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp là 41/93 ca có triệu chứng lâm sàng (chiếm tỷ lệ 44,09%) dựa vào kit chẩn đoán nhanh Rapid Test Immuno (Asan, Hàn Quốc). Điều này có thể do hiểu biết và điều kiện của người nuôi chó trong chăm sóc và nuôi dưỡng đã được nâng cao. Do đó, tỷ lệ nhiễm bệnh có xu hướng thấp hơn những nghiên cứu trước. Ngoài ra, độ nhạy và độ đặc hiệu cũng khác nhau giữa các bộ kit chẩn đoán nhanh. Do đó, dẫn đến sự sai khác về kết quả khảo sát giữa các nghiên cứu với nhau. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Huyền và *ctv.* (2019), số lượng và tỷ lệ chó nhiễm bệnh Carré ở khu vực Hà Nội có xu hướng giảm dần trong 6 năm từ năm 2013-2018 (giảm từ 3,84% năm 2013 xuống còn 2,66% năm 2018).

Từ kết quả ở bảng 1 cho thấy, chó con dưới 6 tháng tuổi có tỷ lệ nhiễm CDV (52,54%) cao hơn so với các nhóm tuổi khác, sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê ($P<0,05$). Giai đoạn này chó con rất dễ mắc cảm với các mầm bệnh do chịu nhiều biến đổi từ cai sữa, tập ăn, thay đổi môi trường sống. Vì vậy, sức đề kháng của cơ thể giảm sút nên mầm

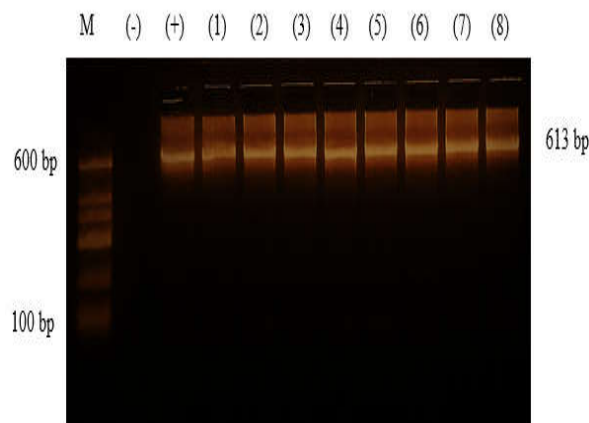
bệnh dễ xâm nhập. Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Huyền và *ctv.* (2019) cho thấy, chó ở độ tuổi từ 2-6 tháng tuổi mắc bệnh Carré cao nhất với 60,35% so với các độ tuổi khác, sau đó giảm dần theo độ tuổi; sự khác biệt này là rất có ý nghĩa thống kê ($P<0,01$). Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Nguyễn Thị Ngân và *ctv.* (2019), ở nhóm chó nhỏ hơn 6 tháng tuổi và lớn hơn 5 năm tuổi có tỷ lệ nhiễm bệnh Carré cao nhất vì chó nhỏ hơn 6 tháng tuổi hệ thống miễn dịch chưa hoàn chỉnh, còn chó trên 5 năm tuổi đã già và hệ thống miễn dịch bắt đầu suy giảm nên dễ bị nhiễm bệnh hơn so với các nhóm tuổi khác. Bên cạnh, giống chó nội có tỷ lệ dương tính với CDV (29,55%) cao hơn có ý nghĩa so với giống chó ngoại (13,51%) ($P<0,05$). Thực tế ghi nhận tại tỉnh An Giang cho thấy, hầu hết chó chưa được tiêm vaccine phòng bệnh Carré đều thuộc giống chó nội, chó địa phương. Nguyên nhân do điều kiện kinh tế - xã hội tại địa phương còn nhiều khó khăn, người dân nuôi chó chủ yếu để giữ nhà, có giá trị thấp và chúng hầu như không mang lại lợi ích kinh tế cho người nuôi; dẫn đến tình trạng chủ nuôi chưa thật sự quan tâm đến việc tiêm phòng bệnh cho những con chó nội. Điều đó dẫn đến tỷ lệ mắc bệnh Carré ở nhóm giống chó nội cao hơn so với giống chó ngoại. Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ chó nhiễm CDV ở nhóm chưa được tiêm phòng (32,18%) cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chó đã được tiêm phòng (3,95%) ($P<0,05$). Hiện nay, bệnh Carré vẫn chưa có thuốc điều trị đặc hiệu, nên tiêm phòng được coi như một phương pháp hiệu quả trong việc phòng ngừa bệnh. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Trần Thị Thảo và *ctv.* (2019), chó được tiêm phòng bệnh

Carré có tỷ lệ nhiễm bệnh thấp hơn rõ rệt so với chó không được tiêm phòng. Vì vậy, việc tiêm phòng đầy đủ cho chó rất quan trọng, đặc biệt là đối với bệnh Carré.

Kết quả ở bảng 1 cũng cho thấy, chó mắc bệnh Carré ở phương thức nuôi thả (30,11%) cao hơn so với chó nuôi nhốt (16,15%), sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Việc nuôi chó thả rông làm con vật dễ tiếp xúc với tác nhân gây bệnh truyền nhiễm từ một số loại thức ăn bên ngoài có mang mầm bệnh hoặc từ những chó đang ủ bệnh nên tỷ lệ nhiễm bệnh cao hơn so với nuôi nhốt. Khi nuôi nhốt, con vật được quản lý về nguồn thức ăn, các vật dụng, điều kiện tiểu khí hậu và môi trường cho nên khả năng nhiễm bệnh của chó nuôi nhốt thấp hơn.

3.2. Kết quả giải trình tự gen H của các chủng CDV tại An Giang

Các sản phẩm thu được từ 8 mẫu thực địa (dương tính với CDV) được sử dụng để phân tích các đặc điểm phân tử và để thiết lập cây phát sinh loài. Kết quả điện di cho thấy sản phẩm RT-PCR là một băng đơn, sáng, rõ, có chất lượng tốt (Hình 1).



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm RT-PCR của các mẫu CDV thực địa

Ghi chú: M: thang chuẩn 100 bp; (-) đối chứng âm; (+) đối chứng dương

Các trình tự gen sau khi giải trình tự được kiểm tra bằng phần mềm BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) nhằm khẳng định chính xác trình tự gen giải trình tự là virus Carré. Kết quả so sánh trình tự gen H của CDV gây bệnh trên chó tại An Giang với các chủng virus trên Genbank cho thấy, có tỷ lệ tương đồng rất cao (tỷ lệ tương

đồng cao nhất 98,67%) với các chủng CDV khác lưu hành trên thế giới.

3.3. So sánh mức độ tương đồng về trình tự nucleotide và axit amin của các chủng CDV phân lập được tại An Giang

Các chuỗi trình tự gen H của 8 chủng CDV được phân lập từ thực địa sau khi được giải trình tự có độ dài 613 bp. Kết quả so sánh trình tự nucleotide của gen H giữa các chủng CDV thực địa có độ tương đồng cao với nhau từ 99,11-99,89%. Điều này cho thấy, các chủng CDV gây bệnh trên chó được phân lập có thể cùng chung một nguồn gốc và lưu hành phổ biến trong khu vực nghiên cứu. Ngoài ra, so sánh sự tương đồng nucleotide giữa các chủng thực địa và các chủng khác trên Genbank dao động từ 88,57-98,55%. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Võ Tấn Đại và Dương Tấn Đạt (2016), mức độ tương đồng giữa các chủng CDV thực địa rất cao (99,30%-100%). Trần Văn Nền và ctv. (2017) cho rằng, mức độ tương đồng về trình tự nucleotide giữa các chủng CDV được phân lập tại các tỉnh phía Bắc Việt Nam dao động từ 90,05-99,61%. Kết quả nghiên cứu của Dung *et al.* (2017) cũng cho thấy, mức độ tương đồng về trình tự nucleotide giữa các chủng CDV thực địa được phân lập tại thành phố Hồ Chí Minh là tương đối cao so với các chủng khác trên Genbank; dao động từ 92,40-98,70%. Trần Thị Thảo và ctv. (2020) đã so sánh sự tương đồng trình tự nucleotide của 7 chủng CDV được thu thập tại thành phố Cần Thơ với nhau và so sánh với các chủng khác trên Genbank, với tỷ lệ dao động từ 99,82-99,96% và 93,26-99,56%, tương ứng.

Do sự tương đồng cao về trình tự nucleotide của gen H giữa các chủng CDV phân lập được và các chủng tham chiếu, nên các chủng virus này cũng có mức độ tương đồng cao về trình tự axit amin trên gen H từ 99,17-100% (Bảng 2). Sự tương đồng về axit amin giữa các chủng nghiên cứu với các chủng khác trên Genbank dao động từ 88,57-99,83%. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Trần Văn Nền và ctv. (2017), mức độ tương đồng trình tự về amino acid giữa các chủng CDV thực địa từ 89,38-99,50%. Dung *et al.* (2017) cho rằng, mức độ tương đồng trình tự amino acid giữa các chủng CDV thực địa được phân lập tại thành phố Hồ Chí Minh từ 98,50-100% so với các chủng khác trên thế giới. Một nghiên cứu khác của Trần Thị Thảo và ctv. (2020) đã so sánh sự tương đồng trình tự amino acid của 7 chủng CDV được thu thập tại thành phố Cần Thơ với nhau

và so sánh với các chủng khác trên Genbank, tỷ lệ dao động từ 93,17-100% và 99,03-99,56%, tương ứng.

Bảng 2. Sự tương đồng về trình tự nucleotide (dưới đường chéo) và amino acid (trên đường chéo) của gen H giữa những chủng CDV thực địa và một số chủng khác trên Genbank

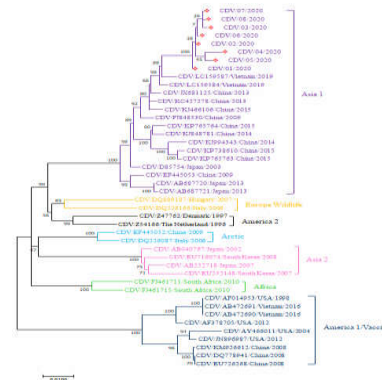
Chủng	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1		99,89	99,61	99,17	99,33	99,78	99,61	99,78	99,31	93,61	94,59	94,65	94,59	91,35	92,37	92,52	89,58	89,90	92,84	92,66	98,32	98,83
2	99,89		99,72	99,33	99,45	99,89	99,72	99,67	99,17	93,61	94,47	94,53	94,47	91,22	92,25	92,39	89,45	89,76	92,72	92,54	98,21	98,44
3	99,61	99,72		99,33	99,28	99,72	99,89	99,89	99,03	93,78	94,28	94,34	94,28	91,02	92,05	92,26	89,43	89,62	92,52	92,47	98,04	98,15
4	99,17	99,17	99,33		99,28	99,17	99,22	99,28	98,57	92,72	93,79	93,85	93,79	90,51	91,54	91,75	88,90	89,09	92,02	91,97	97,58	97,81
5	99,33	99,45	99,28	99,22		99,17	99,17	99,17	99,06	93,17	94,35	94,41	94,35	91,11	92,07	92,28	89,34	89,65	92,61	92,43	98,04	98,33
6	99,78	99,89	99,72	99,17	99,45		99,72	98,94	99,04	93,17	94,34	94,40	94,34	91,09	92,12	92,27	89,32	89,63	92,59	92,41	98,10	98,32
7	99,61	99,72	99,78	99,22	99,17	99,72		100	98,90	92,95	94,16	94,22	94,16	90,90	91,93	92,14	89,31	89,49	92,40	92,35	97,92	98,15
8	99,78	99,67	99,72	99,28	99,11	99,67	99,83		99,10	93,35	94,34	94,40	94,34	91,09	92,12	92,33	89,51	89,69	92,59	92,54	98,10	98,32
9	89,31	89,17	89,03	88,57	89,06	89,04	88,90	89,10		91,33	92,19	92,25	92,19	90,13	91,11	91,07	96,30	98,94	90,64	91,02	90,10	90,16
10	93,38	93,26	93,07	92,57	93,09	93,14	92,95	93,14	91,56		97,30	97,35	97,30	93,53	94,52	94,36	91,64	92,19	95,39	95,33	94,18	94,06
11	94,59	94,47	94,28	93,79	94,35	94,34	94,16	94,34	92,19	97,30		99,72	99,67	94,84	95,83	95,61	92,45	92,81	96,44	96,49	95,55	95,19
12	94,65	94,53	94,34	93,85	94,41	94,40	94,22	94,40	92,25	97,35	99,72		99,94	94,78	95,89	95,66	92,51	92,87	96,49	96,55	95,60	95,25
13	94,59	94,47	94,28	93,79	94,35	94,34	94,16	94,34	92,19	97,30	99,67	99,94		94,72	95,83	95,61	92,45	92,81	96,44	96,49	95,55	95,19
14	91,35	91,22	91,02	90,51	91,11	91,09	90,90	91,09	90,13	93,53	94,84	94,78	94,72		93,69	93,35	90,53	90,77	93,05	93,17	92,54	92,05
15	92,37	92,25	92,05	91,54	92,07	92,12	91,93	92,12	91,11	94,52	95,83	95,89	95,83	93,69		94,53	91,63	91,75	93,81	93,93	93,43	93,06
16	92,52	92,39	92,26	91,75	92,28	92,27	92,14	92,33	91,07	94,36	95,61	95,66	95,61	93,35	94,53		91,33	91,71	93,65	93,77	93,63	93,15
17	89,58	89,45	89,43	88,90	89,34	89,32	89,31	89,51	96,30	91,64	92,45	92,51	92,45	90,53	91,63	91,33		97,00	90,97	91,35	90,49	90,37
18	89,90	89,76	89,62	89,09	89,65	89,63	89,49	89,69	98,94	92,19	92,81	92,87	92,81	90,77	91,75	91,71	97,00		91,22	91,65	90,68	90,74
19	92,84	92,72	92,52	92,02	92,61	92,59	92,40	92,59	90,64	95,39	96,44	96,49	96,44	93,05	93,81	93,65	90,97	91,22		94,74	93,83	93,47
20	92,66	92,54	92,47	91,97	92,43	92,41	92,35	92,54	91,02	95,33	96,49	96,55	96,49	93,17	93,93	93,77	91,35	91,65	94,74		93,77	93,29
21	98,32	98,21	98,04	97,58	98,04	98,10	97,92	98,10	90,10	94,18	95,55	95,60	95,55	92,54	93,43	93,63	90,49	90,68	93,83	93,77		98,83
22	98,55	98,44	98,15	97,81	98,33	98,32	98,15	98,32	90,16	94,06	95,19	95,25	95,19	92,05	93,06	93,15	90,37	90,74	93,47	93,29	98,83	

Ghi chú: (1) CDV/01/2020; (2) CDV/02/2020; (3) CDV/03/2020; (4) CDV/04/2020; (5) CDV/05/2020; (6) CDV/06/2020; (7) CDV/07/2020; (8) CDV/08/2020; (9) CDV/AB472690/Vietnam/2016; (10) CDV/Z54166/The Netherlands/1996; (11) CDV/FJ461702/South Africa/2010; (12) CDV/EF095750/Hungary/2016; (13) CDV/FJ705238/Taiwan/2010; (14) CDV/AB040767/Japan/2002; (15) CDV/DQ226087/Italy/2006; (16) CDV/FJ461715/South Africa/2010; (17) CDV/HM063009/Kazakhstan/2010; (18) CDV/AF378705/USA/2012; (19) CDV/FJ416339/Germany/2016; (20) CDV/DQ228166/Italy/2006; (21) CDV/JX681125/China/2013; (22) CDV/LC159587/Vietnam/2019

3.4. Mối quan hệ di truyền giữa các chủng CDV thực địa và các chủng virus lưu hành ở Việt Nam và thế giới

Kết quả xây dựng cây phả hệ (Hình 2) cho thấy, tổng số 8 chủng CDV thực địa đều nằm trong cùng một phân nhánh thuộc genotype Asia 1 và nằm cùng phân nhánh với các chủng CDV phân lập được tại Việt Nam (LC159584 và LC159587), Trung Quốc và Nhật Bản. Trong cùng một nhóm, các chủng CDV lại phân chia thành các phân nhóm nhỏ theo từng cá thể chó được thu thập. Dựa trên kết quả phân tích nguồn gốc phát sinh loài theo sự sai khác nucleotide ở đoạn gen H của 8 chủng CDV thực địa, nhận thấy tất cả 8 chủng CDV thực địa nằm trong cùng một phân nhánh (thuộc genotype Asia 1), khác với nhánh phát sinh của các chủng tham chiếu trên Genbank thuộc các genotype khác như Europe wildlife, America 1, America 2, Africa, Arctic, Asia 2. Chủng virus vaccine nằm trong cùng một phân nhánh khác và thuộc phân nhóm vaccine. Mặc dù có sự tương đồng cao về trình tự nucleotide và amino acid, các chủng CDV phân lập được tại An Giang biểu hiện thuộc tiểu phân nhóm khác biệt. Điều này cho thấy, có sự hiện diện của

những chủng CDV lưu hành tại Việt Nam; do đó việc lựa chọn vaccine sử dụng phù hợp là điều cần được quan tâm.



Hình 2. Cây phả hệ dựa trên trình tự nucleotide gen H của các chủng CDV thực địa

Ghi chú: Các chủng CDV thực địa trong nghiên cứu được thể hiện bằng dấu hoa thị màu đỏ. Số truy cập Genbank được thể hiện ở đầu phân nhánh và được ngăn cách bởi dấu /.

Kết quả này khác với nghiên cứu của Lan *et al.* (2009), đã xác định chủng CDV tại miền Bắc Việt

Nam thuộc genotype America 1. Tuy nhiên, các nghiên cứu của Võ Tấn Đại và Dương Tấn Đạt (2016), Dung *et al.* (2017) lại cho thấy, chủng CDV thu thập tại các phòng khám thú y trên địa bàn thành phố Hồ Chí Minh thuộc genotype Asia 1 và giống với các chủng virus đang lưu hành ở các quốc gia và vùng lãnh thổ ở châu Á khác (Đài Loan, Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản, Thái Lan) và khác với các nghiên cứu trước đây tại Việt Nam. Tương tự, Tan *et al.* (2011), Guo *et al.* (2013) và Piewbang *et al.* (2020) cho rằng, genotype Asia 1 và Asia 2 là 2 genotype chính của CDV đang lưu hành tại Nhật Bản, Trung Quốc và một số quốc gia châu Á. Gần đây, nghiên cứu của Trần Thị Thảo và *ctv.* (2020) cũng cho rằng, Asia 1 là genotype chính của các chủng CDV phân lập tại thành phố Cần Thơ. Bên cạnh đó, Trần Văn Nền và *ctv.* (2017) tiến hành phân lập các chủng CVD trên đàn chó tại miền Bắc Việt Nam cho thấy, các chủng virus thực địa nằm trong 3 nhánh phát sinh khác nhau thuộc 3 genotype lần lượt là Asia 1, Asia 2, Classic. Điều này cho thấy có sự biến đổi di truyền giữa các chủng CDV dựa vào vùng gen H tại các vùng địa lý khác nhau. Sự phân bố về địa lý và điều kiện môi trường cũng ảnh hưởng đến sự biến đổi của virus (Võ Tấn Đại và Dương Tấn Đạt, 2016). Kết quả của nghiên cứu này có ý nghĩa quan trọng trong việc lựa chọn chủng virus để nhập khẩu vaccine hoặc chế tạo vaccine từ các chủng virus đang gây bệnh Carré trong nước để phòng bệnh.

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ chó nhiễm CDV tại An Giang chiếm 26,30%; bệnh phụ thuộc hoàn toàn vào độ tuổi, giống, phương thức nuôi và tỷ lệ tiêm phòng. Mức độ tương đồng về nucleotide giữa chủng CDV thực địa dao động từ 99,11-99,89% và với các chủng khác trên Genbank từ 88,57-98,55%. Mức độ tương đồng axit amin mã hóa cho gen H giữa 8 chủng virus thực địa đạt tỷ lệ khá cao, từ 99,17-100%, giữa các chủng thực địa với các chủng khác trên Genbank từ 88,57-99,83%. Kết quả xây dựng cây phả hệ của các chủng CDV thực địa được phân lập tại tỉnh An Giang cùng nằm trong 1 nhánh phát sinh duy nhất thuộc genotype Asia 1.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Diệp Thị Diễm My, Trần Ngọc Bích, Trần Thị Thảo, Nguyễn Khánh Thuận, Huỳnh Kim Diệu, 2020. Bệnh Carré trên chó tại thành phố Sa Đéc, tỉnh Đồng Tháp. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*. 27(4): 35-41.

2. Dung, V.N., Suzuki, J., Minami, S., Yonemitsu, K., Nagata, N., Kuwata, R., Shimoda, H., Vu, C. K., Truong, T.Q. and Maeda, K., 2017. Isolation and phylogenetic analysis of canine distemper virus among domestic dogs in Vietnam. *J. Vet. Med. Sci.* 79(1): 123-127.

3. Gamiz, C., Martella, V., Ulloa, R., Fajardo, R., Quijano-Hernandez, I. and Martinez, S., 2011. Identification of a new genotype of Canine Distemper Virus circulating in America. *Vet. Res. Commun.* 35: 381-390.

4. Guo, L., Yang, S.L., Wang, C.D., Hou, R., Chen, S.J., Yang, X.N., Liu, J., Pan, H.B., Hao, Z.X., Zhang, M.L., Cao, S.J., Yan, Q.G., 2013. Phylogenetic analysis of the haemagglutinin gene of Canine Distemper Virus strains detected from giant panda and raccoon dogs in China. *Virology*. 10(109) (virologyj.com/content/10/1/109).

5. Kennedy, S., Smyth, J., Cush, P., Duignan, P., Platten, M., McCullough, S.J., Allan, G., 1989. Histopathologic and immunocytochemical studies of distemper in seals. *Vet. Pathol.* 26(2): 97-103.

6. Lan, N.T., Yamaguchi, R., Kien, T. T., Hirai, T., Hidaka, Y. and Nam, N. H., 2009. First isolation and characterization of Canine Distemper Virus in Vietnam with the immunohistochemical examination of the dog. *J. Vet. Med. Sci.* 71(2): 155-162.

7. Nguyễn Thị Huyền, Phạm Ngọc Thạch, Nguyễn Vũ Sơn, Nguyễn Hữu Nam, 2019. Một số đặc điểm dịch tễ của bệnh Carré trên chó tại Hà Nội. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 17(4): 279-287.

8. Nguyễn Thị Ngân, Phạm Thị Hồng Phúc, Phạm Thị Diệu Thùy, Nguyễn Hữu Hòa, Đào Văn Cường, Cao Thị Trang, 2019. Một số đặc điểm dịch tễ và bệnh lý lâm sàng bệnh Carré ở chó tại thành phố Bắc Giang, tỉnh Bắc Giang. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Nông nghiệp*. 3(1): 1.107-1.116.

9. Piewbang, C., Chansaenroj, J., Kongmakee, P., Banlunara, W., Poovorawan, Y. and Techangamsuwan, S., 2020. Genetic adaptations, biases, and evolutionary analysis of Canine Distemper Virus Asia-4 lineage in a fatal outbreak of wild-caught civets in Thailand. *Viruses*. 12(361) (doi:10.3390/v12040361).

10. Tan, B., Wen, Y. J., Wang, F. X., Zhang, S. Q., Wang, X. D., Hu, J. X., Shi, X. C., Yang, B. C., Chen, L. Z., Cheng, S. P. and Wu, H., 2011. Pathogenesis and phylogenetic analyses of Canine Distemper Virus strain ZJ7 isolate from domestic dogs in China. *Virol. J.* 16(8) (doi: 10.1186/1743-422X-8-520).
11. Trần Thị Thảo, Trần Ngọc Bích, Nguyễn Phúc Khánh, 2019. Bệnh Carré trên chó tại tỉnh Trà Vinh. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y.* 26(8): 22-28.
12. Trần Thị Thảo, Nguyễn Khánh Thuận, Văn Mỹ Tiên, Lê Quang Trung, Trần Ngọc Bích, 2020. Đặc điểm di truyền của virus Carré được phân lập trên chó tại Bệnh xá thú y, Đại học Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y.* 27(8): 35-41.
13. Trần Văn Nền, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Văn Thanh, Lương Quốc Hưng, 2017. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học phân tử của virus Carré phân lập được tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.* 15(1): 44-57.
14. Võ Tấn Đại và Dương Tấn Đạt, 2016. So sánh hiệu quả chẩn đoán bệnh Carré trên chó bằng phương pháp xét nghiệm nhanh và kỹ thuật RT-PCR, phân tích một đoạn gen Hemagglutinin của virus gây bệnh. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y.* 23(8): 29-36.

THE EPIDEMIOLOGICAL AND GENETIC CHARACTERIZATIONS OF CANINE DISTEMPER VIRUS ISOLATED AMONG DOGS IN AN GIANG PROVINCE

**Le Thi Thuy Loan, Tran Ngoc Bich, Le Quang Trung,
Van My Tien, Tran Thi Anh Dao**

Summary

The study was performed by a cross-sectional study in 840 dogs in An Giang province from december 2019 to june 2020, using the quick test Asan easy test Distemper (Korea). The results indicated that a total of 96 dogs were positive with *Canine Distemper Virus* (CDV) out of 365 dogs presenting the clinical symptoms. The highest infected rate was the dogs of less than 6 month olds (52.54%) and the lowest rate was 6 month olds-under 2 year olds (6.67%). The infected rate of dogs in the captive (13.95%) was lower than dogs in the free kept (30.11%). The infected rate of vaccinated dogs (3.95%) was lower than that of unvaccinated dogs (32.18%). The analyzed results on these amplified gene segments indicated that the similarity level of nucleotides of an H gene segment among fields CDV samples was 99.11-99.89%, comparison with the H gene segment of the CDV strains from Genbank, the similarity level reached 88.57-98.55%. The similarity level of amino acid of the H gene segment was very high (99.17-100%); the similarity level of amino acid of the field CDVs comparison with the amino acid of the CDV strains from Genbank were 88.57-99.83%. Phylogenetic analysis showed that the CDV strains in An Giang belonged to the Asia 1 genotype.

Keywords: *Asia 1, Canine Distemper, dog, Hemagglutinin gene, An Giang province.*

Người phản biện: PGS.TS. Tô Long Thành

Ngày nhận bài: 20/01/2021

Ngày thông qua phản biện: 22/02/2021

Ngày duyệt đăng: 01/3/2021