

SO SÁNH HIỆU QUẢ CHẨN ĐOÁN BỆNH CARE TRÊN CHÓ BẰNG PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM NHANH VÀ KỸ THUẬT RT-PCR, PHÂN TÍCH MỘT ĐOẠN GEN HEMAGGLUTININ CỦA VIRUS GÂY BỆNH

Võ Tấn Đại, Dương Tấn Đạt

Khoa Chăn nuôi Thú y - Trường Đại học Nông Lâm Tp. Hồ Chí Minh

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm so sánh hiệu quả chẩn đoán bệnh Care bằng phương pháp xét nghiệm nhanh và kỹ thuật RT-PCR trên chó có biểu hiện lâm sàng của bệnh Care như sốt cao, viêm phổi, ho, dịch tiết ở mắt, mũi, biếng ăn hoặc bỏ ăn, nôn mửa, tiêu chảy, có mụn mủ ở vùng bụng, sưng hóa gan bàn chân và có triệu chứng thần kinh. Nghiên cứu được tiến hành trên chó được đưa đến khám, điều trị tại Trạm Thú y Hóc Môn và Bệnh viện Thú y trường Đại học Nông Lâm, Thành phố Hồ Chí Minh. 42/72 ca dương tính với virus Care bằng phương pháp xét nghiệm nhanh, chiếm tỷ lệ 58,33%. Trong khi đó bằng kỹ thuật RT-PCR cho kết quả dương tính với tỷ lệ là 66,67% (48/72). Phương pháp xét nghiệm nhanh có độ nhạy thấp hơn, do đó cần sử dụng kỹ thuật RT-PCR để tăng mức độ chính xác trong việc chẩn đoán bệnh Care, đặc biệt là đối với những ca có dấu hiệu lâm sàng của bệnh nhưng bằng xét nghiệm nhanh lại cho kết quả âm tính. 5 mẫu virus thực địa và 1 mẫu virus vaccin thương mại được chọn để khuếch đại một đoạn 613 bp của gen Hemagglutinin của virus Care. Kết quả phân tích các đoạn gen khuếch đại cho thấy mức độ tương đồng nucleotide của các mẫu virus thực địa là rất cao (99,3% – 100%), mức tương đồng này của các mẫu virus thực địa so với mẫu virus vaccin nằm trong khoảng 96,1% – 96,6% và so với các chủng virus Care trên ngân hàng gen đạt 89,1% – 98,0%.

Từ khóa: Chó, Bệnh Care, Khám lâm sàng, Xét nghiệm nhanh, RT-PCR.

Comparison of diagnostic efficacy of Canine distemper between quick test and RT-PCR method, analysis of a hemagglutinin gene segment of field viruses

Vo Tan Dai, Duong Tan Dat

SUMMARY

The objective of this study aimed at comparing the diagnostic results of Canine distemper Virus by quick test (CDV Ag – Canine distemper Virus Antigen) and RT-PCR technique. The study was conducted at Hoc Mon Veterinary Station and Nong Lam University Veterinary Hospital, Ho Chi Minh city. Clinical symptoms of the CD infected dogs were high fever, pneumonia, cough, mucous discharging from eyes and nose, loss of appetite or anorexia, vomiting, diarrhea, pustules on abdominal skin, claw hyperkeratosis and nervous symptoms. The studied result indicated that 42 out of 72 dogs were positive with CDV by quick test method, accounting for 58.33%. Meanwhile, 48 out of 72 cases were positive with CDV by the RT-PCR technique, accounting for 66.67%. CDV Ag-Quick test had a lower sensitivity. Therefore, it is necessary to use RT-PCR technique to increase the accuracy in diagnosis of CDV, especially in the cases are negative by quick tests but having the suspected clinical signs of CDV. Five samples of the field CDV and one commercial vaccine virus were selected to amplify a 613 bp segment of hemagglutinin gene. The analysed result on these amplified gene segments indicated that the similarity level of nucleotides of a hemagglutinin gene segment among five field CDV samples was very high (99.3% – 100%), meanwhile, the similarity level of the same gene segments of the field CDVs and vaccine virus was 96.1% – 96.6% and comparison with the hemagglutinin gene segment of the CDV strains from gene bank, the similarity level reached 89.1 – 98.0%.

Keywords: Dog, Canine distemper, Clinical examination, Quick test, RT-PCR.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Care (*Canine distemper*) là bệnh truyền nhiễm nguy hiểm thường xảy ra trên chó con do bệnh lây lan nhanh, có tỷ lệ chết cao và chi phí điều trị tốn kém (Trần Thanh Phong, 1996; Bùi Trần Anh Đào, 2013). Có hai thể bệnh do *Canine distemper virus* (CDV) gây ra là thể cấp tính và bán cấp tính với diễn biến phức tạp, làm ảnh hưởng lớn đến sức khỏe chó bệnh (Moritz và ctv, 2000). Chẩn đoán sớm, nhanh và chính xác là rất cần thiết để có thể cách ly và điều trị sớm những chó bị nhiễm bệnh, từ đó giảm tỷ lệ lây lan và tỷ lệ tử vong (Kim và ctv, 2006).

CDV chỉ có một serotype duy nhất, tuy nhiên dựa trên trình tự nucleotid của đoạn gen H (Hemagglutinin), người ta đã chia ra thành 5 typ virus lớn được phân lập từ những vùng địa lý khác nhau: typ châu Âu, cổ điển (Classic type), châu Á 1, châu Á 2 và Mỹ (Lan và ctv, 2006). Đoạn gen H của CDV đóng vai trò quan trọng trong việc biến đổi di truyền giữa các chủng virus này (Hashimoto và ctv, 2001). Vì vậy việc tìm hiểu về gen H của CDV nhằm giúp hiểu rõ hơn về tính đa dạng di truyền, dịch tễ học phân tử và cung cấp thêm thông tin về nguồn gốc của virus thực địa.

Mục đích của nghiên cứu này là so sánh hiệu quả chẩn đoán giữa hai phương pháp: xét nghiệm nhanh và RT-PCR đối với bệnh Care, nhằm nâng cao hiệu quả chẩn đoán nhanh, chính xác bệnh do CDV gây ra, ứng dụng vào công tác phòng, trị bệnh đạt kết quả tốt hơn. Đồng thời, phân tích một đoạn gen H của CDV nhằm giúp hiểu rõ hơn về tính đa dạng di truyền, dịch tễ học phân tử và cung cấp thêm thông tin về nguồn gốc của virus thực địa.

II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nguyên liệu

Mẫu dịch tiết mắt, mũi trên chó chưa tiêm vaccin có biểu hiện nghi ngờ của bệnh Care

như: sốt, chảy ghèn, chảy dịch mũi, ho, mụn mủ ở vùng da mỏng, sưng hóa gan bàn chân, tiêu chảy, triệu chứng thần kinh, được đưa đến khám và điều trị tại Trạm Thú y Hóc Môn và Bệnh viện Thú y trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh. Mẫu được thu thập, thực hiện xét nghiệm nhanh và chuyển về phòng thí nghiệm của Bệnh viện Thú y, Đại học Nông Lâm Tp HCM để thực hiện kỹ thuật RT-PCR.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Phương pháp xét nghiệm nhanh

Các ca bệnh được lập hồ sơ và ghi chép bệnh án cẩn thận trước khi tiến hành các bước chẩn đoán lâm sàng. Thông qua việc tìm hiểu bệnh sử, cũng như triệu chứng lâm sàng ghi nhận được khi thăm khám trực tiếp để xác định nhóm chó nghi mắc bệnh Care. Chó nghi mắc bệnh Care có các triệu chứng sau: sốt; xáo trộn hô hấp (ho, khó thở, chảy nhiều dịch tiết ở mắt, mũi, âm ran phổi); kết hợp với xáo trộn tiêu hóa (phân sệt đen hay tiêu chảy máu lẫn chất nhầy, tanh); có thể có dấu hiệu thần kinh (co giật, bại liệt, đi loạng choạng) và sưng hóa gương mũi, sưng hóa gan bàn chân, nổi mụn ở vùng bụng.

Xét nghiệm nhanh được thực hiện theo quy trình của bộ kit thương mại (Asan Pharm, Hàn Quốc). Xét nghiệm này dựa vào nguyên lý ELISA để phát hiện kháng nguyên của CDV. Đầu tiên dùng tăm bông vô trùng thấm dịch mắt và mũi của chó, cho tăm bông chứa mẫu dịch vào ống nghiệm có dung dịch bảo quản pha loãng, trộn đều mẫu trong ống nghiệm, để lắng trong 1 phút cho phần cặn lắng xuống đáy ống. Xé bao đựng thiết bị xét nghiệm, đặt lên mặt phẳng. Dùng ống hút hút dịch nổi, nhỏ 3 – 4 giọt vào vùng S (vị trí nhỏ mẫu). Đọc kết quả sau 5 – 10 phút (hình 1). Kết quả dương tính khi xuất hiện hai vạch màu đỏ (test line) ở vị trí T và C (hình 1A), kết quả âm tính khi chỉ xuất hiện vạch màu đỏ ở vạch đối chứng C (hình 1B). Xét nghiệm cần được thực hiện lại khi vạch đối chứng C không xuất hiện.



Hình 1. Thiết bị dùng trong xét nghiệm nhanh

A: dương tính; B: âm tính (S, vị trí nhỏ giọt; C, vạch đối chứng; T, vạch mẫu để xác định sự hiện diện của kháng nguyên virus)

2.2.2 Phương pháp RT-PCR

Thu thập và xử lý mẫu

Dùng tăm bông vô trùng lấy dịch mắt và mũi của 72 chó nghi bệnh Care, cho tăm bông đã lấy mẫu vào ống eppendorf vô trùng có chứa sẵn 300 μ l dung dịch đệm PBS (Phosphat buffer saline), mỗi ống eppendorf đựng 2 đến 3 que tăm bông trên cùng một ca bệnh. Mẫu được bảo quản lạnh có đá khô và chuyển về phòng thí nghiệm trong vòng 24 giờ sau khi lấy mẫu. Mẫu được tách chiết RNA hoặc bảo quản ở -70°C tới khi được chiết tách RNA.

Mẫu được lắc mạnh (vortex), các que tăm bông được vắt khô và loại bỏ, chỉ giữ lại dung dịch đệm PBS có chứa dịch mắt và mũi, sau đó đem ly tâm trong 5 phút với tốc độ 3000 vòng/phút để thu phần dịch nổi. Mẫu được chiết tách RNA theo quy trình hướng dẫn của bộ kit thương mại (Total RNA Isolation, Promega, Madison, Mỹ).

Đoạn mồi và phản ứng RT-PCR

Cặp mồi đặc hiệu với gen N được sử dụng trong phản ứng RT-PCR bao gồm mồi xuôi N-F 5'-ACAGGATTGCTGAGGACCTAT-3', mồi ngược N-R 5'-CAAGATAACCATGTACGGTGC-3' với kích thước sản phẩm 287 bp và chu trình luân nhiệt như sau: phiên mã ngược ở nhiệt độ 42°C trong 15 phút, giai đoạn tiền biến tính ở nhiệt độ 94°C trong 10 phút; với 40 chu kỳ được

lặp lại: giai đoạn biến tính ở nhiệt độ 94°C trong 1 phút, giai đoạn bắt cặp ở nhiệt độ $59,5^{\circ}\text{C}$ trong 2 phút, giai đoạn kéo dài ở nhiệt độ 72°C trong 1 phút; cuối cùng là giai đoạn hoàn thành ở nhiệt độ 72°C trong 10 phút (Frisk và ctv, 1999). Tương tự, cặp mồi đặc hiệu với một đoạn gen H được sử dụng trong phản ứng RT-PCR với kích thước sản phẩm là 613 bp gồm mồi xuôi DHI-F 5'-TGGTTCACAAGATGGTATTC-3', mồi ngược DHI-R 5'-CAACACCACTAAATTG-GACT-3' và chu trình luân nhiệt như sau: phiên mã ngược ở nhiệt độ 45°C trong 45 phút, giai đoạn tiền biến tính ở nhiệt độ 94°C trong 5 phút, với 30 chu kỳ được lặp lại: giai đoạn biến tính ở nhiệt độ 94°C trong 30 giây, giai đoạn bắt cặp ở nhiệt độ 51°C trong 30 giây, giai đoạn kéo dài ở nhiệt độ 72°C trong 30 giây; cuối cùng là giai đoạn hoàn thành ở nhiệt độ 72°C trong 10 phút (Gámiz và ctv, 2011).

Quy trình RT-PCR được thiết kế với thành phần phản ứng như sau: 10 μ l Go taq[®] green master mix 2X (Promega, Mỹ); 1 μ l MgCl_2 (25 mM); 0,5 μ l M-MLV (Moloney Murine Leukemia Virus); 0,5 μ l mồi xuôi; 0,5 μ l mồi 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 1,5% (trong TBE 0,5X) đã hòa tan với (3 μ l/100ml TBE 0,5X) ethidium bromide. 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. Trên gel điện di, sản phẩm đặc trưng có kích thước 287 bp (gen N) và 613 bp (gen H) so với thang chuẩn 100 bp (Promega, Mỹ).

Giải trình tự và phân tích một đoạn gene H

Sáu sản phẩm RT-PCR dương tính với virus Care (khuếch đại một đoạn 613 bp gen H) được gửi tới phòng xét nghiệm Nam Khoa Biotek để giải trình tự gen. Kết quả giải trình tự được

phân tích và so sánh bằng phần mềm Bioedit. Truy cập ngân hàng gen thu thập và xác định sự tương đồng nucleotid của các chuỗi gen CDV với đoạn gen thu được trong nghiên cứu thông qua chương trình Blast trên ngân hàng gen (GenBank). Tỷ lệ (%) tương đồng của năm mẫu thu thập so với các chủng tham khảo và tìm vị trí biến đổi nucleotid của năm mẫu thu thập thực địa. Phần mềm Mega 6.06 được sử dụng để xây dựng cây sinh dòng.

Bảng 1. Các mẫu bệnh phẩm và vaccin được thu thập để giải trình tự

Thứ tự	Kí hiệu	Năm thu thập	Nguồn gốc mẫu
1	HM1/VN	2015	Trạm Thú y huyện Hóc Môn
2	HM2/VN	2015	Trạm Thú y huyện Hóc Môn
3	BV3/VN	2015	Bệnh Viện Thú y Đại học Nông Lâm
4	BV4/VN	2015	Bệnh Viện Thú y Đại học Nông Lâm
5	BV5/VN	2015	Bệnh Viện Thú y Đại học Nông Lâm
6	VX/VP5	2015	Vanguard® Plus 5

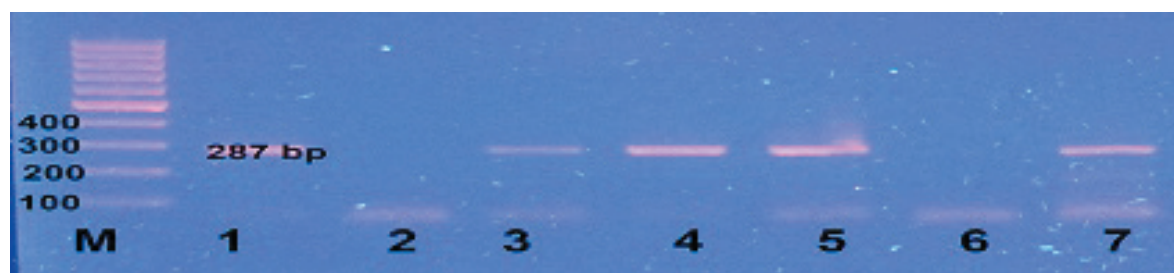
2.2.3 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập sẽ được tính toán bằng phần mềm Excel 2010 và xử lý thống kê (χ^2) bằng phần mềm Minitab 16.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 So sánh hiệu quả chẩn đoán bệnh Care trên chó bằng xét nghiệm nhanh và kỹ thuật RT-PCR

Kết quả điện di sản phẩm RT-PCR khuếch đại đoạn gen N được thể hiện ở hình 2.



Hình 2. Sản phẩm khuếch đại gen N phát hiện CDV

M: thang chuẩn; Giếng 1: mẫu đối chứng dương (vaccin Vanguard® Plus 5); Giếng 2: mẫu đối chứng âm với nước cất vô trùng; Giếng 3,4,5,7: mẫu dương tính, Giếng 6: mẫu âm tính.

Kỹ thuật RT-PCR đã và đang được áp dụng để chẩn đoán sự nhiễm CDV trên chó do kỹ thuật này có độ nhạy và độ đặc hiệu cao; đồng thời cho kết quả nhanh, chính xác và có thể

phát hiện bệnh ở giai đoạn sớm so với một số phương pháp khác (Lan và ctv, 2015; Võ Tấn Đại và Dương Tấn Đạt, 2015). Kết quả ở bảng 2 cho thấy kỹ thuật RT-PCR có khả năng phát

Bảng 2. Kết quả phát hiện CDV bằng xét nghiệm nhanh so với kỹ thuật RT-PCR

Phương pháp		Kỹ thuật RT-PC (Phương pháp chuẩn)		
		Dương tính	Âm tính	Tổng
Xét nghiệm nhanh bằng kit thử (CDV Ag)	Dương tính	40	2	42
	Âm tính	8	22	30
	Tổng	48	24	72

hiện CDV (66,67%), cao hơn phương pháp xét nghiệm nhanh (58,33%).

Kỹ thuật RT-PCR được xem là tiêu chuẩn vàng để kết luận độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật RT-LAMP (reverse transcription loop mediated isothermal amplification) (Cho và Park, 2005) và phương pháp xét nghiệm nhanh (Cuong và Berezaie, 2011) để phát hiện CDV trong mẫu dịch mắt và mũi chó. Trong nghiên cứu này, phương pháp RT-PCR cũng được chọn là phương pháp chuẩn để tính độ nhạy (Se) và độ đặc hiệu (Sp) của phương pháp xét nghiệm nhanh bằng kit thử; đồng thời trị số thống kê kappa (K) cho thấy mức độ phù hợp giữa hai phương pháp chẩn đoán.

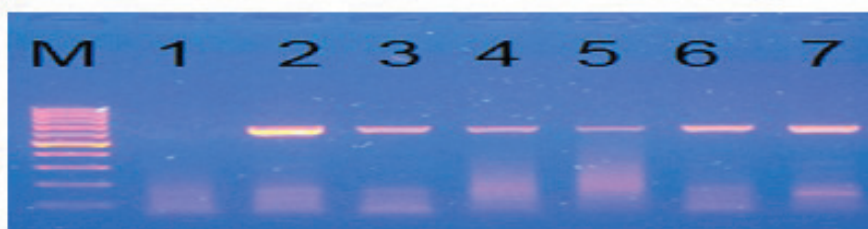
Độ nhạy (Se), độ đặc hiệu (Sp) của phương pháp xét nghiệm nhanh được tính dựa vào công thức tính thống kê theo Trần Thị Dân và Lê Thanh Hiền (2007). Theo công thức cho thấy độ nhạy với chỉ số Se: $(40/48) \times 100 = 83,33\%$ và độ đặc hiệu của phương pháp với chỉ số Sp: $(22/24) \times 100 = 91,67\%$. Kết quả cho thấy giữa hai phương pháp có sự thống nhất cao (0,6 – 0,8) với trị số kappa (K = 0,83). Kết quả này

thấp hơn kết quả công bố của Cuong và Berezaie (2011) với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 98,98% và 97,7%.

Tất cả các mẫu dương tính bằng kỹ thuật RT-PCR đều dương tính với phương pháp xét nghiệm bằng kit thử nhanh; tuy nhiên, một số mẫu dương tính với virus Care bằng kit thử nhanh cho kết quả âm tính với kỹ thuật RT-PCR. Điều này cho thấy độ nhạy cao và độ đặc hiệu cao của kỹ thuật RT-PCR phù hợp với nhận định của Frisk và ctv (1999). Kết quả cho thấy xét nghiệm bằng kit chẩn đoán nhanh xuất hiện 8 trường hợp âm tính giả, nên cần áp dụng PCR để khẳng định nguyên nhân gây bệnh. Mỗi phương pháp chẩn đoán có những ưu nhược điểm khác nhau, nên tùy thuộc vào điều kiện trang thiết bị và mục đích mà người làm công tác chẩn đoán có thể lựa chọn phương pháp cho phù hợp.

3.2. Phân tích một đoạn gene H của virus Care thực địa

Mẫu thu thập thực địa để thực hiện RT-PCR khuếch đại một đoạn gen H và sản phẩm được thể hiện qua hình 3.



Hình 3. Sản phẩm khuếch đại một đoạn gene H của virus Care

M: thang chuẩn (ladder) 100 bp; giếng 1: mẫu đối chứng âm; giếng 2: mẫu đối chứng dương: Vanguard® Plus 5 (Pfizer); giếng 3-HM1, 4-HM2, 5-BV3, 6-BV4, 7-BV5: mẫu dương tính

3.2.1. Tương đồng giữa các mẫu virus Care thu thập và chủng tham khảo

Kết quả giải trình tự 6 sản phẩm RT-PCR trên gen H của virus Care và phân tích mức độ tương đồng trình tự nucleotid được thể hiện qua bảng 3. Độ tương đồng giữa các chủng virus thực địa rất cao, ở mức 99,3% – 100% và sự tương đồng về trình tự nucleotid của các virus thực địa so với chủng virus vaccin là 96,1% – 96,6%. Trong khi đó, sự tương đồng virus Care thực địa so với các chủng từ nhiều khu vực địa lý khác nhau ở

các nước trên thế giới không có biến động lớn: Hamamatsu-D85754 (chủng virus Care châu Á 1 phân lập đầu tiên ở Nhật Bản, 1996) là 98,5% so với 98,9%, Vn99 (chủng virus Care phân lập đầu tiên ở Việt Nam, 2008) là 89,1% so với 89,5%, 97Jindo-EU716073 (chủng virus Care châu Á 2 phân lập đầu tiên ở Hàn Quốc, 1997) là 92,5% so với 92,7%, Danish dog-Z47761 (chủng virus Care châu Âu phân lập đầu tiên ở Đan Mạch, 1995) là 94,9% so với 95,3% và Onderstepoort-AF378705 (chủng virus Care phân lập ở Mỹ, 2001) là 90,2% – 90,4%.

Bảng 3. Mức độ tương đồng nucleotid giữa các mẫu virus Care thu thập

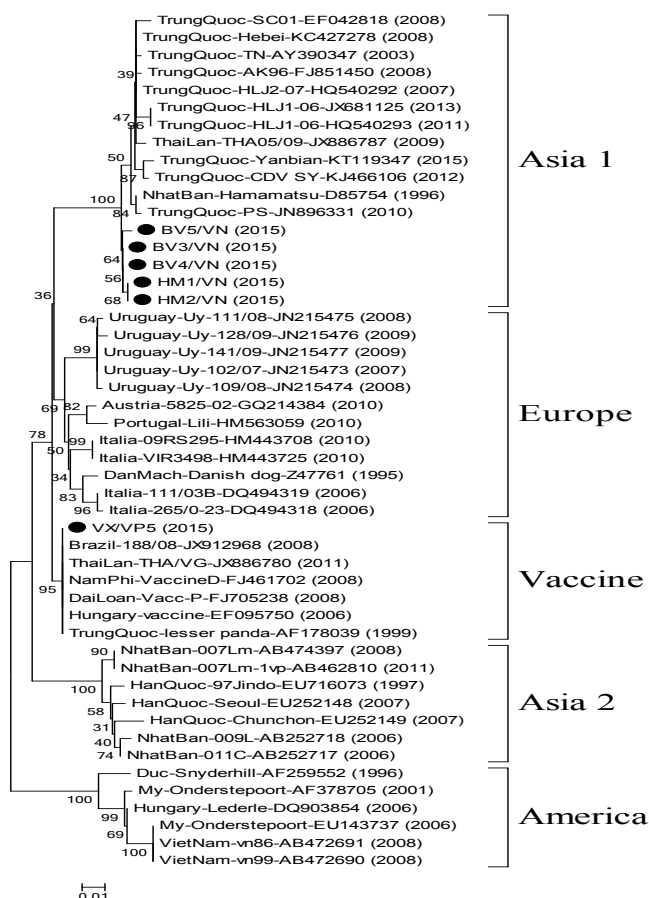
Tương đồng theo mẫu	Nucleotid (%)					
	VX/VP5	HM1/VN	HM2/VN	BV3/VN	BV4/VN	BV5/VN
VX/VP5	–	96,3	96,3	96,6	96,6	96,1
HM1/VN	96,3	–	100	99,7	99,7	99,3
HM2/VN	96,3	100	–	99,7	99,7	99,3
BV3/VN	96,6	99,7	99,7	–	100	99,5
BV4/VN	96,6	99,7	99,7	100	–	99,5
BV5/VN	96,1	99,3	99,3	99,5	99,5	–

3.2.2. Phân tích cây sinh dòng dựa vào gene H của các chủng virus Care

Kết quả phân tích cây sinh dòng gen H của các chủng virus Care chia thành hai nhóm chính (hình 4). Trong mỗi nhóm, các chủng virus lại phân chia thành các phân nhóm nhỏ theo vùng dịch tễ thu thập. Các mẫu thực địa trong nghiên cứu này đều nằm trong cùng 1 nhánh thuộc phân nhóm châu Á 1. Virus vaccin (VX/VP5) nằm trong một nhánh khác và thuộc phân nhóm vaccin. Ngoài ra, virus thực địa có quan hệ gen tương đồng cao so với chủng virus THA05/09 ở

Thái Lan (2009) và các chủng 23, AK96, Hebei ở Trung Quốc (2008).

Những kết quả nghiên cứu về sự đa dạng di truyền của các chủng virus Care dựa vào vùng gen H cho thấy có sự biến đổi di truyền rất cao. Ngoài ra, sự phân bố về địa lý và điều kiện môi trường cũng ảnh hưởng đến sự tiến hóa của virus Care (Espinal và ctv, 2014; Willi và ctv, 2015). Tuy nhiên, nghiên cứu của Lan và ctv (2009) lại cho rằng sự phân bố về địa lý và thời gian thu nhận mẫu không ảnh hưởng đến đa dạng di truyền.



Hình 4. Cây sinh dòng đoạn gene H của các mẫu CDV thu thập (•) và các chủng CDV từ ngân hàng gene

IV. KẾT LUẬN

Kết quả của nghiên cứu cho thấy chẩn đoán bệnh Care dựa trên triệu chứng lâm sàng cho tỷ lệ dương tính lần lượt là 58,33% và 66,67% khi so sánh với phương pháp xét nghiệm nhanh và kỹ thuật RT-PCR. Phương pháp dùng kit thử nhanh có độ nhạy (Se) và độ đặc hiệu (Sp) cao với chỉ số lần lượt là Se = 83,33% và Sp = 91,67%.

Mức độ tương đồng về nucleotid trên một đoạn gen H của virus Care trong phạm vi nghiên cứu với một số chủng ở các nước trên thế giới không có biến động lớn. Virus Care thu thập tại thực địa có sự tương đồng gen H cao so với các

chủng virus Thái Lan (THA05/09), Trung Quốc (23, AK96, Hebei) và Nhật Bản (Hamamatsu).

Cần tiếp tục nghiên cứu xác định chủng CDV thu thập tại thực địa dựa trên việc giải trình tự toàn bộ gen H (Hemagglutinin) so với trình tự của vaccin đang sử dụng để phục vụ cho việc sản xuất vaccin có hiệu quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cuong T.B. and Berezaie C., 2011. Sensitivity and specificity of rapide – distemper and adenovirus Ag test kit. *Modern Veterinary Therapeutics*: 1-5.
2. Bùi Trần Anh Đào, 2013. Một số đặc điểm dịch tễ học và bệnh lý của chó mắc bệnh

- Care tại Hà Nội. *Khoa học kỹ thuật thú y – chuyên đề thú nhỏ* 20 (4): 31-37.
3. Võ Tấn Đại và Dương Tấn Đạt, 2015. Ứng dụng kỹ thuật RT-PCR để phát hiện virus Care trên chó. *Khoa học kỹ thuật thú y – chuyên đề thú nhỏ* 22 (8): 28-32.
 4. Frisk A., Moritz A. and Baumgärtner W., 1999. Detection of Canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription - PCR using serum, whole blood, and cerebrospinal fluid from dogs with distemper. *J Clin Microbiol* 37: 3634-3643.
 5. Hashimoto M., Une Y. and Mochizuki M., 2001. Hemagglutinin genotype profiles of Canine distemper virus from domestic dogs in Japan. *Arch Virol* 146: 149–155.
 6. Kim D., Jeoung S.Y., Ahn S.J., Lee J.H., Pak S. and Kwon H.M., 2006. Comparison of Tissue and Fluid Samples for the Early Detection of Canine Distemper Virus in Experimentally Infected Dogs. *J Vet Med Sci* 68 (8): 877-879.
 7. Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Thị Yên , Nguyễn Hữu Nam, 2015. Một số đặc điểm bệnh lý của chó được gây bệnh thực nghiệm bằng chủng virus Care (CDV-768). *Tạp chí khoa học và phát triển* 13 (1): 56-64.
 8. Lan N.T., Yamaguchi R., Inomata A., Furuya Y., Uchida K., Sugano S. and Tateyama S., 2006. Comparative analyses of Canine distemper viral isolates from clinical cases of Canine distemper in vaccinated dogs. *Veterinary Microbiology* 115: 32–42.
 9. 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.
 10. Moritz A., Frisk A.L. and Baumgärtner W., 2000. The evaluation of diagnostic procedures for the detection of Canine distemper virus infection. *J. Comp Anim Pract* 10: 37-45.

CÔ GÁI TRẺ KẾT HÔN VỚI MỘT CHÚ CHÓ ĐỂ HÓA GIẢI LỜI NGUYỄN

Tại ngôi làng xa xôi hẻo lánh ở bang Jharkhand, phía Đông Ấn Độ, đám cưới linh đình giữa một cô gái trẻ và một con chó đã được diễn ra trước sự chứng kiến của đông đảo già trẻ, gái trai trong làng. Đây là một nghi thức truyền thống nhằm hóa giải lời nguyền cho cô dâu.

Đám cưới lập tức được tổ chức dưới sự sắp đặt của các già làng sau khi một thầy cúng địa phương phán rằng, cô gái trẻ 18 tuổi Mangli Munda bị ám bởi một lời nguyền, nếu cưới một người đàn ông thì cô sẽ gây ra cái chết cho cả gia đình và cộng đồng. Vì vậy, Sheru - con chó đi lạc mà bố của Mangli tìm thấy đã được chỉ định làm chú rể. Giống như một người chú rể thực thụ, Sheru được người lái ô tô đưa đến và dân làng vui mừng chào đón. Trong ngày lễ kết hôn của Mangli, người dân cùng nhau nhảy theo điệu múa truyền thống.

Ông Sri Amnmunda - bố của Mangli cho biết, theo tục lệ dân tộc ông, cưới một con chó là cách duy nhất giúp hóa giải mọi vận xui.. Được biết, đây cũng không phải là lần đầu tiên tại làng, diễn ra đám cưới giữa một cô gái và một con chó.

Cũng theo tục lệ của làng, cuộc hôn nhân kỳ lạ này sẽ không ảnh hưởng gì tới cuộc sống của Mangli cả. Cô sẽ được tái hôn sau đó mà không phải làm thủ tục ly dị với chú chó Sheru.

(Nguồn: Daily Mail) Theo Mask Online

