

NGHIÊN CỨU PHÂN TÍCH VÀ SO SÁNH GENOME CỦA MỘT SỐ CHỦNG VIRUS CORONA TRONG THÚ Y

Nguyễn Thành Luân

Viện Khoa học ứng dụng HUTECH, Đại học Công nghệ Tp. Hồ Chí Minh (HUTECH)

TÓM TẮT

Coronavirus (CoV) là một tác nhân phổ biến gây ra bệnh đường ruột, hô hấp và nhiễm trùng hệ thống ở nhiều loài động vật và con người. Tuy nhiên, hiện có ít bằng chứng cho thấy các động vật đồng hành có thể là nguồn lây nhiễm cho các loài động vật khác kể cả cho người. Để hiểu rõ sự phức tạp về mặt di truyền của CoV trong thú y, nghiên cứu so sánh các trình tự genome của CoV phân lập từ động vật đã được thực hiện. Phân tích xác định nucleotide trung bình (ANI) đã hỗ trợ đánh giá nhanh mối quan hệ rất chặt chẽ giữa CoV phân lập từ mèo (FCoV) và từ chó (CCoV). Phân tích cây phát sinh loài dựa trên ANI có thể nhóm các chủng CoV theo nguồn gốc vật chủ bị nhiễm, trong khi phân tích pan-genome đã giúp phân tách rõ ràng mối quan hệ giữa các chủng khảo sát. Sự phân bố của các chủng CoVs phân lập từ mẫu lâm sàng trong mô hình phân tích toàn bộ hệ gen đã cho phép quan sát các ổ sinh thái ban đầu của CoV chứ không phải nguồn phân lập từ vật chủ. Ngoài ra, chúng tôi còn nhận thấy rằng các chủng FCoV độc lực nằm cùng nhóm với một số chủng NL63 và 229E (HCoV) ở người, cho thấy mèo có thể nhạy cảm với HCoV hơn là chó. Như vậy, kết hợp các phương pháp phân tích đã cho phép nâng cao độ phân giải của cây phát sinh loài, chỉ ra nguồn gốc có thể của virus, tái tổ hợp và tương tác giữa virus - vật chủ, cũng như phát triển dấu chỉ thị sinh học trong chẩn đoán.

Từ khóa: Mèo, chó, Coronavirus, genome, phát sinh loài.

Analytical and comparative research of genome of some Coronavirus strains in veterinary

Nguyen Thanh Luan

SUMMARY

Coronaviruses (CoVs) are a well-known causative agent of severe enteric, respiratory, and systemic diseases in a wide range of animals and in humans but there is currently limited evidence that companion animals can be a source of infection to other animals or to humans. To address the genetic complexity of veterinary CoVs, a comparative pan-genomic analysis of CoVs sequences originating from veterinary animals were conducted. The average nucleotide identity (ANI) analysis was a rapid procedure for assessing the very close antigenic relationship between feline CoV (FCoV) and canine CoV (CCoV). ANI-based phylogenetic tree clustered CoVs according to their respective host species while pan-genomic analysis demarcated strains clearly. The distribution of the clinical isolates all across the categories in the hierarchical phylogenetic model enabled the visualization of their original ecological niches rather than their isolation source. Also, we found that the virulent FCoV strains grouped with human CoV strains NL63 and 229E confirming hypotheses stating that cats were highly susceptible to HCoVs, while dogs were low susceptible to this virus. In conclusion, the combined analysis allowed better phylogenetic resolution and the implication of virus origins, recombination, and virus–host interaction, as well as biomarker development.

Keywords: Canine, feline, Coronavirus, pan-genome, phylogenetic.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Coronavirus (CoVs) là một họ virus lớn có vỏ bọc. Các virus có nhân RNA không phân đoạn, mạch đơn dương này là nguyên nhân nổi bật của các bệnh

nhiễm trùng đường hô hấp cấp, đường ruột và nhiễm trùng hệ thống nghiêm trọng ở nhiều loài vật chủ, bao gồm chó, mèo, gặm nhấm, ngựa và con người. Nhìn chung, họ Coronavirus được chia thành bốn chi:

Alpha-, Beta-, Gamma- và Delta-coronavirus (Woo và cs., 2012). *Alpha- và Beta-coronavirus* thường lây nhiễm cho động vật có vú, trong khi *Gamma- và Delta-coronavirus* thường lây nhiễm cho chim và các loài cá. Đặc biệt, Coronavirus có nguồn gốc từ các loài có liên quan đến động vật được coi là nguồn gốc của đợt bùng phát dịch bệnh do Coronavirus ở người trên toàn cầu năm 2019 (COVID-19, Hội chứng hô hấp cấp tính nghiêm trọng do SARS-CoV-2) có thể bắt nguồn từ nguồn động vật và/hoặc lây truyền thông qua vật nuôi trong nhà.

Bộ gen của Coronavirus chứa 5 khung đọc mở (ORF) chính được đánh dấu bởi các vùng không dịch mã 5' và 3'. Ngoài nhân chứa ribonucleic axit (RNA mạch đơn dương) phiên mã thành các protein cấu trúc như protein vỏ nhân (nucleocapsid N), protein gai (S), protein vỏ (E) và protein màng (M), một số Coronavirus có thêm glycoprotein màng, hemagglutinin esterase, và các protein phụ (accessory proteins) như 3a-c và 7a-b cho FCoV và CCoV (Masters và cs., 2006). Dựa trên sự khác biệt đáng kể về vị trí kháng nguyên giữa các chủng, cả hai chủng CCoV và FCoV thường được phân biệt thành chủng có độc lực thấp (chủng chủ yếu gây bệnh viêm ruột, hoặc type I) và chủng độc lực cao (chủng điển hình, gây bệnh đa hệ thống trên tỷ lệ nhỏ động vật, hoặc type II). Chủng CCoV độc lực thấp có mối quan hệ di truyền chặt chẽ với các chủng FCoV (được gọi là chủng CCoV giống với FCoV) hơn là các chủng CCoV điển hình. Trong một số trường hợp ngoại lệ, một số chủng CCoV giống FCoV biểu hiện độc lực cao hơn các chủng CCoV điển hình, và gây tiêu chảy xuất huyết nghiêm trọng (Benetka và cs., 2006). Ngược lại với FCoV, cả CCoV type I và II thường được phát hiện đồng thời trên cùng một vật chủ (36,9–76,8% chó bị tiêu chảy) (Terada và cs., 2014), điều này cho phép chúng thực hiện tái tổ hợp di truyền và làm tăng mức độ bệnh nghiêm trọng khi nhiễm CCoV và sự xuất hiện của nhiều biến thể CCoV ở chó (Pratelli và cs., 2004; Escutenaire và cs., 2007).

Đối với CCoV type II (chiếm khoảng 44% các trường hợp nhiễm CCoV), ba kiểu gen phụ bao gồm CCoV-IIa, IIb và IIc đã được phân loại dựa trên trình tự của 300 amino acid đầu tiên của đầu N (NTD) trong protein S liên quan đến việc xâm nhiễm đường ruột và có mối liên quan di truyền chặt chẽ với các Coronavirus trên lợn (TGEV, virus gây viêm ruột truyền nhiễm) (Decaro và cs.,

2009). Sự lây nhiễm bởi chủng CCoV type IIa còn được gọi là chủng pantropic CCoV có độc lực cao (như chủng CB/05 gây đại dịch bệnh), đã được phát hiện trong các mô khác ngoài ruột, bao gồm phổi, lá lách, gan, thận và não; và bệnh nhân có các dấu hiệu lâm sàng như sốt, hôn mê, nôn mửa, tiêu chảy ra máu, giảm bạch huyết cấp tính và các dấu hiệu thần kinh, sau đó là tử vong (Decaro và cs., 2007). CCoV type IIb được phát hiện trong 20% trường hợp nhiễm CCoV type II và được cho là xuất hiện thông qua sự tái tổ hợp kép giữa CCoV type IIa và TGEV (nên type IIb được gọi là CCoV giống TGEV), cho thấy rằng sự đồng nhiễm đã xảy ra trên cùng một ký chủ (Decaro và cs., 2009; 2010). Đối với CCoV type IIc (chủng A76) đã được báo cáo gần đây ở Thụy Điển và Hoa Kỳ. Chủng A76 chứa protein S tái tổ hợp giữa trình tự CCoV type I và II với một protein NTD S1 giống type I, trong khi phần còn lại của protein S giống type II (Regan và cs., 2012).

Trong nghiên cứu tiến hóa của FCoV và CCoV, FCoV và CCoV type I được đề xuất có nguồn gốc từ một tổ tiên chung. Có lẽ, việc thu nhận gen ORF3 sau sự phân kỳ của FCoV type I hoặc mất gen này trong tổ tiên chung của chúng có thể dẫn đến CCoV type I (chiếm 20% trường hợp nhiễm CCoV). Trong khi đó, việc thu nhận gen S mới và mất đi gen ORF3 đã dẫn đến sự xuất hiện của các CCoV type II và sau đó làm phát sinh các FCoV type II thông qua tái tổ hợp với các FCoV type I (Lorusso cs., 2008). Hơn nữa, không có sự bảo vệ chéo nào khỏi sự nhiễm chủng pantropic CCoV được ghi nhận khi chó được chủng ngừa bởi một chủng CCoV có nguồn gốc từ ruột (Decaro và cs., 2010). Những kết quả này cho thấy rằng sự biến đổi trong việc thu nhận/biến mất các gen phụ có thể gây ra sự thay đổi lây nhiễm trên vật chủ và sau đó tạo ra nhiều chủng độc lực hơn và tăng mức độ nghiêm trọng của bệnh viêm ruột.

Các CoV phân lập từ động vật nuôi như mèo và chó được xác định rất phổ biến và chúng khác biệt với SARS-CoV và SARS-CoV-2. Tuy nhiên, những động vật này rõ ràng là nhạy cảm với SARS-CoV-2 (OIE, 2020; Shi và cs., 2020). Hiện tại, một số bằng chứng hạn chế cho thấy các động vật đồng hành có thể là nguồn lây nhiễm cho các động vật khác hoặc cho con người. Ngoài ra, một phương tiện để thu được thông tin hữu ích và có ý nghĩa từ

dữ liệu lớn về bộ gen của CoV thông qua phân tích so sánh bộ gen. Trong nghiên cứu này, chúng tôi mô tả pan-genome của CoV được phân lập từ một số động vật đồng hành, bao gồm CCoV và FCoV, dựa trên dữ liệu bộ gen hoàn chỉnh sẵn có để đánh giá các chức năng có thể có của các gen trung tâm/phụ kiện và khám phá các phương pháp phát hiện và điều trị phù hợp.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Trích xuất và phân tích dữ liệu

Để thiết lập đặc điểm nhận dạng loài của 126 bộ gen CoV bao gồm các chủng CCoV và FCoV, ANI đã được tính toán với các đại diện phát sinh loài của các bộ gen được giải trình tự cho đến nay gần giống thu được từ cơ sở dữ liệu bộ gen vi khuẩn NCBI (<ftp://ftp.ncbi.nih.gov/genomes/>) (bảng 1) sử dụng công cụ phân tích ANI được tích

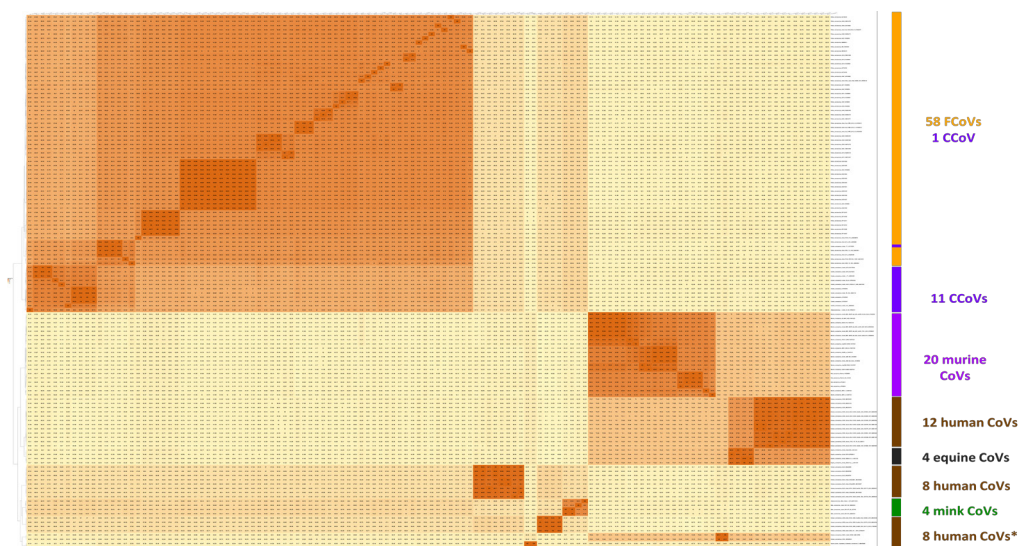
hợp trong máy chủ EDGAR v2.2 (Blom và cs., 2016). Ngoài ra, nguồn gốc của CoVs ở mèo và chó cũng như khả năng gây bệnh của nó đã được liệt kê để hiểu mối quan hệ giữa những thay đổi di truyền của virus và bối cảnh lâm sàng.

2.2. Xây dựng cây phát sinh loài

Sử dụng EDGAR v2.2, cả gen chính thống và hàm lượng gen được chia sẻ tương đối giữa các chủng CoV đã chọn đều được truy xuất và cây phát sinh loài được tạo ra. Trong khi cây phân cụm dựa trên phân tích nhị phân của các kho gen bằng Genesis v1.8.1 (Sturn và cs., 2002). Theo phân tích pan-genome, các cụm gen lõi và phụ đã được trích xuất để tìm hiểu đánh giá về việc theo dõi thông lượng gen theo chiều ngang giữa các chủng và thu thập thông tin chi tiết về sự tiến hóa của chúng.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân tích ANI



Hình 1. Biểu đồ nhiệt phân tích giá trị ANI và mối quan hệ phát sinh loài của 126 bộ gen CoV phân lập từ các loài động vật khác nhau. FCoV từ họ mèo, CCoV từ họ chó, murine CoV từ các loài gặm nhấm, equine CoV từ ngựa, mink CoV từ chồn, human CoV từ người. Thanh màu đại diện cho loài CoV được nhóm lại theo ký chủ xâm nhiễm.

Giá trị phân tích xác định nucleotide trung bình (ANI) dựa trên bộ gen hoàn chỉnh của CoV phân lập từ một số loài động vật được thể hiện trong hình 1 và cho thấy các chủng FCoV từ mèo có độ tương đồng 85,26–100%; trong

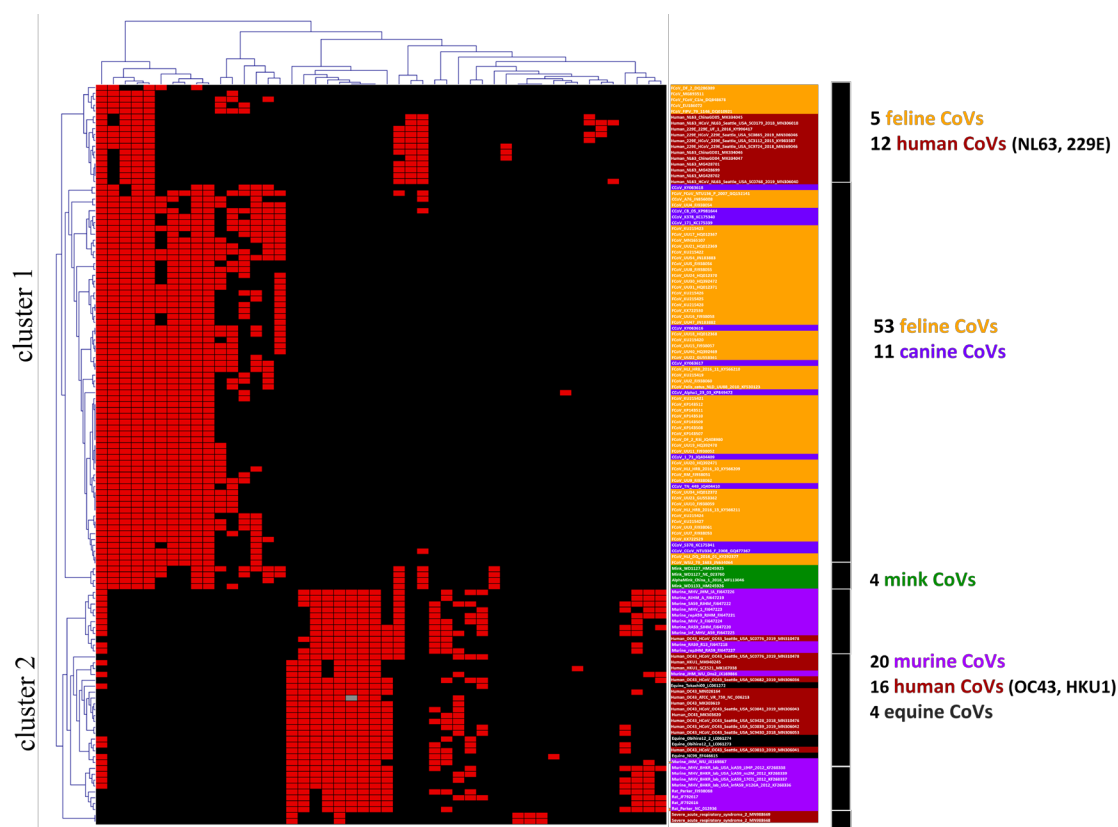
khí đó mức độ tương đồng ANI của các chủng CCoV từ chó là 84,45–100%; từ các loài gặm nhấm và chuột là 89,88–100%; từ chồn (mink) là 91,15–100%; từ ngựa là 98,74–100% và các dòng CoV ở người (HCoV) là 61,03–100% (hình

1). Phân tích cây phát sinh loài dựa trên giá trị ANI cho kết quả là những tập hợp các chủng CoV tùy theo nguồn gốc vật chủ tương ứng của các chủng CoV. ANI phân tích dựa trên bộ gen giữa các chủng FCoV và CCoV cho thấy sự giống nhau là 80,34–88,72%; ngoại trừ chủng CCoV type II KC175339 (giá trị ANI là 85,65–99,89% khi so sánh với bộ gen FCoV). Chủng CCoV type II KC175339 này thể hiện độ tương đồng cao (> 99%) với các chủng FCoV (cũng thuộc serotype II) DQ010921, DQ286389, JQ408980, GQ152141 và JN634064; cho thấy khả năng lan truyền chéo của các CoV trên mèo và chó. Ngoài ra, kết quả này cho thấy phương pháp phân tích ANI có thể được tiến hành nhanh chóng để xác định mối quan hệ có tính kháng nguyên rất chặt chẽ giữa FCoV và CCoV cũng như khả năng lây truyền giữa các động vật khác loài (McArdle và

cs., 1992; Horzinek và cs., 1982).

3.2. Kết quả phân tích pan-genome của FCoV và CCoV

Phân tích pan-genome mô tả tập hợp tất cả các trình tự (bao gồm khung đọc mở [ORF], gen, v.v.) thuộc về bộ gen của virus được chọn nghiên cứu. Trong phân tích này, các 126 bộ gen CoV được chọn thực hiện so sánh bằng công cụ phân tích pan-genome EDGAR v2.2 (Blom và cs., 2016), và kết quả cho thấy tổng số 45 nhóm gen đã được xác định, cấu thành pangenome của CoV có nguồn gốc từ động vật (hình 2). Trái ngược với phân tích phát sinh loài dựa trên giá trị ANI, phân tích pan-genome cho thấy sự phân vùng khác nhau của các chủng CoV được kiểm tra dựa trên hàm lượng gen so sánh (hình 2). Các chủng CoV có nguồn gốc từ 7 loài vật chủ khác nhau được phân nhóm theo thứ bậc thành bốn cụm riêng biệt và không phụ thuộc vào vật chủ.



Hình 2. So sánh và phân nhóm theo các bộ gen CoV có nguồn gốc từ nhiều loài vật chủ khác nhau bằng phân tích pan-genome. Kết quả cho thấy mối quan hệ tiềm năng của kiểu gen FCoV và HCoV (NL63 và 229E). Sự hiện diện gen và không có gen trong mỗi bộ gen được biểu thị bằng màu đỏ và màu đen, tương ứng.

3.3. Phân biệt và nhận diện CoV trong phân tích pan-genome

Đáng chú ý, hầu hết các chủng có nguồn gốc từ mèo, chó, chồn và con người (NL63 và 229E) đều thuộc cluster 1 (*alphacoronavirus*) và được phân biệt với các chủng CoV từ ngựa, chó và con người (OC43 và HKU1) thuộc cluster 2 (*betacoronavirus*). Cụm CoV có nguồn gốc từ mèo và chó được chia thành các cụm phụ bao gồm [mèo – chó] và [mèo], [mèo – chó – người] (ví dụ: HCoV_NL63, accession no. MK334045 có nguồn gốc từ Trung Quốc)]. Phân tích này phù hợp với phát hiện rằng chủng CCoV HLJ-073 tái tổ hợp (mã số KY063618) có thể sao chép hiệu quả trong cả tế bào lympho ở chó và tế bào THP-1 của con người (Chen và cs., 2019). Ở Trung Quốc, chủng HLJ-073 này có các đặc điểm sinh học khác với các CCoV được báo cáo, vì vậy việc phân nhóm theo thứ bậc (hierarchical clustering) có thể hữu ích để sàng lọc các chủng CCoV đặc biệt. Ngược lại, các chủng từ các loài gặm nhấm và chuột trong cluster 2 được chia thành các cụm phụ gồm [gặm nhấm], [chuột - ngựa - người] và [gặm nhấm - chuột], và các cụm phụ này có liên quan chặt chẽ hơn với các chủng HCoV mới (SARS-CoV-2).

Đặc biệt, các chủng FCoV có độc lực được xếp chung nhóm với các chủng HCoV-NL63 và HCoV-229E (hình 2). Ở người, hai chủng HCoV-229E và HCoV-OC43 được biết đến với khả năng gây ra các triệu chứng hô hấp trên nhẹ khi được tiêm thử nghiệm cho những người tình nguyện trưởng thành khỏe mạnh. Tương tự như các chủng SARS-CoV và MERS-CoV, HCoV-NL63 và HCoV-229E có nguồn gốc từ dơi, trong khi HCoV-OC43 và HCoV-HKU1 có thể có nguồn gốc từ loài gặm nhấm (Li và cs., 2020). Kết quả của chúng tôi cũng có thể ủng hộ giả thuyết trước đó cho rằng mèo rất nhạy cảm với HCoV trong khi chó có độ nhạy cảm thấp với virus này (Shi cs., 2020). Tuy nhiên, sự gia tăng lây nhiễm CCoV có độc lực cao đã được ghi nhận ở chó con không có dấu hiệu lâm sàng rõ ràng (Escutenaire và cs., 2007; Decaro và cs., 2007; Zicola và cs., 2012) thông qua các sự kiện tái tổ hợp có thể lan truyền từ các hồ chứa tự nhiên của chúng sang vật chủ nhạy cảm, bao gồm cả con người theo những cách khác nhau (ví dụ như trong trường hợp chủng CCoV HLJ-073, mã số KY063618), vì chó và mèo tiếp xúc gần và trực tiếp với con người.

3.4. So sánh phương pháp phân tích bằng ANI và phân tích cụm

Việc so sánh bằng cả hai phương pháp phân nhóm theo thứ bậc và cây phát sinh loài thể hiện một mức độ bảo tồn trong việc phân nhóm các chủng virus. Trong lĩnh vực phân tích cây phát sinh loài và động lực học virus, sự tiến hóa thấp trong bộ gen của virus, tức là các đột biến điểm liên quan đến sự phát tán hoặc mức độ nghiêm trọng của bệnh. Trong khi đó, cây phân nhóm theo thứ bậc (dựa trên bộ gen hoàn chỉnh của virus) có thể mô tả sự khác biệt về gen và động lực học (kiểu gen và kiểu gen phụ) của quần thể virus, cơ chế sinh bệnh và vector liên quan đến sự lan truyền virus giữa các quần thể (Faria và cs., 2018). Phân tích pan-genome này phân định rõ ràng các chủng, do đó phân tích kết hợp cho phép xây dựng cây tiến hóa có độ phân giải phát sinh loài tốt hơn và liên quan rõ ràng đến nguồn gốc của virus, sự tái tổ hợp và tương tác giữa virus và vật chủ.

IV. KẾT LUẬN

Tóm lại, lượng thông tin di truyền CoV có sẵn trong cơ sở dữ liệu bộ gen của NCBI (GenBank) cho phép chúng tôi tiếp cận tìm hiểu sự phức tạp về di truyền của CoV trong thú y. Tất nhiên, phân tích pan-genome là một công cụ hiệu quả có thể mang lại những hiểu biết sâu sắc về việc so sánh các gen khác nhau giữa các chủng virus và cũng có thể cho phép hiểu thêm về sự tương tác lẫn nhau giữa các chủng virus và/hoặc sự tương tác giữa vật chủ và virus.

Các phân tích tổng hợp sử dụng các công cụ như ANI, pan-genome và phân tích phylogenomic được sử dụng để phân loại các chủng virus được phân lập từ các hệ sinh thái vật chủ khác nhau. Ví dụ, serotype II của chủng CCoV (mã số KC175339) được phát hiện có độ tương đồng cao (ANI > 99%) với các serotype II chủng FCoV (mã số DQ010921, DQ286389, JQ408980, GQ152141, JN634064), cho thấy rằng phân tích ANI có thể được tiến hành nhanh chóng để đánh giá mối quan hệ kháng nguyên rất chặt chẽ giữa FCoV và CCoV và khả năng lây nhiễm giữa các loài. Do đó, các phân tích theo dòng (downstream) có thể giúp phân biệt một chủng mới phân lập có khả năng gây bệnh truyền bệnh từ động vật sang

người hay gây dịch bệnh bùng phát hay không. Ví dụ, chủng HLJ-073 ở Trung Quốc có sự khác biệt về đặc tính sinh học so với các CCoV được báo cáo khác và việc phân nhóm theo thứ bậc có thể hữu ích để sàng lọc các chủng CCoV đặc biệt này.

Lời cảm ơn: Quỹ nghiên cứu Khoa học và công nghệ, Trường đại học Công nghệ, TP. HCM đã tài trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Blom, J., Kreis, J., *et al.*, 2016. EDGAR 2.0: An enhanced software platform for comparative gene content analyses. *Nucleic Acids Res.* 44:W22-W28.
- Benetka, V., Kolodziejek, J., *et al.*, 2006. M gene analysis of atypical strains of feline and canine coronavirus circulating in an Austrian animal shelter. *Vet Rec.* 159:170-175.
- Chen, S., Liu, D., *et al.*, 2019. Molecular characterization of HLJ-073, a recombinant canine coronavirus strain from China with an ORF3abc deletion. *Arch Virol.* 164(8):2159-2164.
- Decaro, N., Mari, V., *et al.*, 2009. Recombinant canine coronaviruses related to transmissible gastroenteritis virus of Swine are circulating in dogs. *J Virol.* 83:1532-1527.
- Decaro, N., *et al.*, 2010. Recombinant canine coronaviruses in dogs. *Europe. Emerg Infect Dis.* 16:41-47.
- Decaro, N., Martella, V., Elia, G., *et al.*, 2007. Molecular characterisation of the virulent canine coronavirus CB/05 strain. *Virus Research.* 125, 1:54-60.
- Escutenaire, S., Isaksson, *et al.*, 2007. Characterization of divergent and atypical canine coronaviruses from Sweden. *Arch. Virol.* 152:1507-1514.
- Faria, N.R., Kraemer, M.U., *et al.*, 2018. Genomic and epidemiological monitoring of yellow fever virus transmission potential. *Science.* 361, 6405:894-899.
- Horzinek, M.C., Lutz, H., Pedersen, N.C., 1982. Antigenic relationships among homologous structural polypeptides of porcine, feline, and canine coronaviruses. *Infect Immun.* 37:1148-1155.
- Lorusso, A., Decaro, N., *et al.* 2008. Gain, preservation, and loss of a group 1a coronavirus accessory glycoprotein. *J Virol.* 82: no. 20:10312-10317.
- Masters, P.S., 2006. The molecular biology of coronaviruses. *Advances in Virus Research.* 65:193-292.
- McArdle, F., *et al.*, 1992. Induction and enhancement of feline infectious peritonitis by canine coronavirus. *Am J Vet Res.* 53:1500-1506.
- OIE report 2020, https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=33892
- Pedersen, N.C., 2014. An update on feline infectious peritonitis: virology and immunopathogenesis. *Vet J.* 201(2):123-32.
- Regan, A.D., *et al.*, 2012. Characterization of a recombinant canine coronavirus with a distinct receptor-binding (S1) domain. *Virology.* 430:90-99.
- Shi, J., *et al.*, 2020. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science.* 368(6494):1016-1020.
- Sturn, A., Quackenbush, J., Trajanoski, Z., 2002. Genesis: cluster analysis of microarray data. *Bioinformatics.* 18:207-208
- Terada, Y., *et al.*, 2014. Emergence of pathogenic coronaviruses in cats by homologous recombination between Feline and Canine Coronaviruses. *PLoS ONE* 9(9): e106534.
- Pratelli, A., *et al.*, 2004. Two genotypes of canine coronavirus simultaneously detected in the fecal samples of dogs with diarrhea. *J Clin Microbiol.* 42:1797-1799.
- Woo, P. C., *et al.*, 2012. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *Journal of virology*, 86(7), 3995–4008.
- Zicola, A., *et al.*, 2012. Fatal outbreaks in dogs associated with pantropic canine coronavirus in France and Belgium. *J. Small Anim. Pract.* 53:297-300.

Ngày nhận 15-6-2021

Ngày phản biện 5-7-2021

Ngày đăng 1-12-2021