

Nghiên cứu khoa học

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH VÀ ĐỊNH TYPE CORONAVIRUS Ở MÈO NUÔI TẠI HÀ NỘI NĂM 2023

*Đông Văn Hiếu, Thân Thị Tâm, Trần Thị Hương Giang**

Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

**Tác giả liên hệ email: tthgiang@vnua.edu.vn*

TÓM TẮT

Phương pháp polymerase chain reaction (PCR) và nested PCR đã được sử dụng để xác định feline coronavirus (FCoV) và định type trong nghiên cứu này. Tổng số 30 mẫu phân đã được thu thập từ mèo được đưa tới các phòng khám thú y trên địa bàn Thành phố Hà Nội từ tháng 1 đến tháng 5 năm 2023 để xét nghiệm, xác định FCoV. Kết quả xét nghiệm cho thấy có 4/30 (13,33%) mẫu dương tính với FCoV bằng phương pháp PCR. Tỷ lệ mèo dương tính với FCoV ở nhóm tuổi <12 tháng và 12-24 tháng tuổi lần lượt là 7,14% và 27,27%; trong khi đó không có mẫu dương tính ở nhóm tuổi >24 tháng tuổi. Tỷ lệ dương tính ở mèo đực và mèo cái lần lượt là 21,43% và 6,25%. Trong khi đó, tỷ lệ dương tính ở nhóm mèo ốm và mèo khỏe là không có sự khác biệt có ý nghĩa. 4 chủng FCoV đã được xác định thuộc type I bằng phương pháp nested PCR.

Từ khóa: Mèo, feline coronavirus, Hà Nội, nested PCR, PCR.

Detection and genotyping coronavirus in cats raised in Ha Noi City, 2023

Dong Van Hieu, Than Thi Tam, Tran Thi Huong Giang

SUMMARY

Polymerase chain reaction (PCR) and nested PCR methods were used to identify the feline coronavirus (FCoV) and to determine its type in this study. A total of 30 fecal samples were collected from cats brought to the pet clinics in Ha Noi from January to May of 2023 for testing, identifying FCoV. The tested result showed that there were 4/30 (13.33 %) samples were positive with FCoV through PCR method. The positive rate of cats at <12 months and 12-24 months of age were 7.14 and 27.27%, respectively, while no positive sample was detected in the cats at >24 months of age. The positive rate in male and female cats were 21.43% and 6.25%, respectively. Whereas, the positive rates in the healthy and ill cats was not significantly different. Four FCoV obtained in this study belonged to type I through nested PCR method.

Keywords: Cat, feline coronavirus, Ha Noi City, nested PCR, PCR.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đại dịch Covid-19 do coronavirus đã gây ra những ảnh hưởng và các vấn đề y tế nghiêm trọng, tỷ lệ lây lan cao, tỷ lệ chết cao, ảnh hưởng lớn tới kinh tế và giao thương toàn cầu (United Nations, 2022). Chính vì vậy, các vấn đề liên quan tới coronavirus như đặc điểm dịch tễ, phương pháp phòng và trị bệnh được quan tâm nghiên cứu

(Du và cs., 2021). Feline coronavirus (FCoV) là một Alphacoronavirus, một thành viên thuộc họ *Coronaviridae*. FCoV được báo cáo lần đầu tiên ở Mỹ năm 1968, sau đó căn bệnh này được báo cáo ở nhiều quốc gia trên thế giới gây ảnh hưởng nghiêm trọng tới sức khỏe của mèo (Pedersen, 2009). FCoV tồn tại ở hai kiểu sinh học (biotype) có khả năng gây bệnh. Trong đó, FCoV ở đường ruột gây tiêu chảy thể nhẹ, trong khi một loại khác

nhân lên ở tế bào đơn nhân hoặc đại thực bào và gây bệnh viêm phúc mạc truyền nhiễm (Feline infectious peritonitis – FIP). FIP là một thể bệnh tạo u dạng hạt, gây tử vong cao khi mèo mắc bệnh (Herrewegh và cs., 1995; Pedersen, 2009; Soma và cs., 2013; Ehmann và cs., 2018).

FCoV là một loại virus có vỏ bọc. Hệ gen của virus gồm một sợi đơn dương ARN có kích thước khoảng 2.900 bp (Pedersen, 2009). Hệ gen của viirus có chứa 11 khung đọc mở (Open reading frame – ORF) mã hóa protein gai (Spike), vỏ (Envelop), màng (Membrane), nucleocapsid (N) và các protein phi cấu trúc (Nonstructural protein – NS) 1a, 1b, 3a, 3b, 3c, 7a và 7b (Dye và Siddell, 2005; Pedersen, 2009). Trong đó, protein S có vai trò quan trọng trong việc tiếp cận và xâm nhập vào tế bào vật chủ của FCoV (Bosch và cs., 2003; Jaimes và Whittaker, 2018). Đột biến trên gen S ở vị trí 23.531 và 23.537 có liên quan tới sự thay đổi độc lực của virus, từ loại gây tiêu chảy thể nhẹ có thể chuyển thành FIP ở mèo (Licitra và cs., 2013). Tuy nhiên, Porter và cs. (2014) đã báo cáo rằng ở những con mèo mắc FIP lại không tìm thấy các đột biến này trên gen S. Vì vậy, cơ chế gây bệnh FIP tới nay vẫn còn là vấn đề cần được quan tâm nghiên cứu làm rõ.

FCoV đã được báo cáo ở nhiều nơi trên thế giới, chủ yếu là FCoV type I gây tiêu chảy thể nhẹ, type II được báo cáo nhiều ở các quốc gia châu Á trong những năm gần đây như ở Trung Quốc (Li và cs., 2019), Thái Lan (Tuanthap và cs., 2021), Hàn Quốc (An và cs., 2011),... Ở Việt Nam, chưa có báo cáo nào về việc phát hiện sự lưu hành của FCoV ở loài mèo. Mục đích của nghiên cứu này là xác định sự có mặt của FCoV trong đường tiêu hóa của mèo, bước đầu định type của một số chủng virus xác định được. Kết quả của nghiên cứu là cơ sở cho các nghiên cứu sâu hơn về đặc tính sinh học phân tử, đặc tính gây bệnh, phòng và trị bệnh gây ra do FCoV ở mèo.

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

2.1. Nội dung

- Xác định FCoV genome bằng phương pháp PCR trong mẫu phân mèo nuôi ở Hà Nội

- Bước đầu ứng dụng phương pháp nested PCR để định type FCoV xác định được.

2.2. Vật liệu

Tổng số 30 mẫu phân mèo được thu thập từ 30 mèo từ 3 tới 36 tháng tuổi được mang tới khám bệnh, làm đẹp hoặc tiêm vaccin ở một số phòng khám tại huyện Gia Lâm, quận Hà Đông và Bắc Từ Liêm thuộc Hà Nội trong thời gian từ tháng 1 tới tháng 5 năm 2023. Tất cả các mèo được lấy mẫu đều chưa sử dụng vaccin phòng bệnh do FCoV gây ra. Mẫu được thu thập từ cả mèo ốm và mèo khỏe mạnh. Mẫu sau khi thu thập được xử lý tại Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thu thập và xử lý mẫu

Tổng số 30 phân được thu thập bằng tăm bông vô trùng và bảo quản trong 1 mL dung dịch phosphate-buffered saline (PBS) và gửi tới phòng thí nghiệm trong ngày. Hỗn dịch đồng nhất được bảo quản ở -80°C tới khi sử dụng.

2.3.2. Tách ARN và tổng hợp cDNA

ARN tổng số trong mẫu đã được đồng nhất được chiết tách dựa trên kit thương mại Viral Gene-spin™ Viral DNA/RNA Extraction (Intron, Hàn Quốc). Quy trình tách chiết theo hướng dẫn của nhà sản xuất. ARN tổng số được hòa tan trong 50 µl đệm Elution và được bảo quản ở -30°C cho tới khi sử dụng.

Quá trình tổng hợp cDNA được thực hiện có sử dụng enzyme M-MLV (Promega). Thành phần trong 20 µl gồm có 4 µl 5X M-MLV buffer, 1 µl dNTP, 1 µl DTT, 1 µl Random primer, 1 µl M-MLV, 8 µl nước tinh khiết và 4 µl ARN đã tách chiết (hàm lượng ARN tối thiểu được sử dụng là 500 nanogram/25 µl hỗn dịch phản ứng được xác định bằng phương pháp quang phổ bằng máy SpectraMax® QuickDrop™ (Molecular Devices, LLC., California, Mỹ). Chu trình nhiệt sử dụng để tổng hợp cDNA gồm: 37°C trong 60 phút và 72°C trong 5 phút.

2.3.3. Phản ứng PCR và nested PCR

Cặp mồi FCV-P205/FCV-P211 (bảng 1) được sử dụng cho phản ứng PCR xác định FCoV trong mẫu phân đã được công bố trước đây (Vennema và cs., 1998).

Bảng 1. Thông tin các cặp mồi sử dụng trong nghiên cứu

Mục đích sử dụng	Tên mồi	Trình tự nucleotide (5'-3')	Sản phẩm PCR (bp)	Tài liệu tham khảo
PCR	FCV-P205	GGCAACCCGATGTTTAAACTGG	233	Vennema và cs. (1998)
	FCV-P211	CACTAGATCCAGACGTTAGCTC		
Định type (nested PCR- Vòng 1)	lffs	GTTTCAACCTAGAAAGCCTCAGAT	376	Addie và cs. (2003)
	lcfs	GCCTAGTATTATACCTGACTA		
	lubs	CCACACATACCAAGGCC		
Định type (nested PCR- Vòng 2)	nlffles	CCTAGAAAGCCTCAGATGAGTG	360	
	nlcfs	CAGACCAAAGTGGACTGTAC		
	nlubs	CCAAGGCCATTTTACATA		

Phản ứng PCR được thiết lập để khuếch đại sản phẩm PCR của FCoV có kích thước 233 bp. 25 µl hỗn dịch phản ứng gồm có 12,5 µl GoTag® Green Master Mix (Promega, Mỹ); 1 µl mỗi loại mồi xuôi và mồi ngược (10 µM) (bảng 1); 8,5 µl nước tinh khiết và 2 µl cDNA khuôn mẫu. Phản ứng PCR được thực hiện ở điều kiện 90°C trong 5 phút; 40 chu kỳ gồm 94°C trong 50 giây, 55°C

trong 1 phút, 72°C trong 1 phút; và hoàn tất phản ứng ở 72°C trong 10 phút.

Phản ứng nested PCR được tiến hành để định type một số chủng FCoV xác định được. Các mồi được sử dụng trong nghiên cứu này được trình bày ở bảng 1 và đã được báo cáo trước đây (Addie và cs., 2003). Thành phần phản ứng nested PCR vòng 1 và vòng 2 được trình bày tại bảng 2 và 3.

Bảng 2. Thành phần phản ứng nested PCR (vòng 1)

STT	Thành phần phản ứng	Nồng độ cuối (pM)	Hàm lượng (µl)
1	GoTag® Green Master Mix		12,5
2	Mồi lffs	0,25	1
3	Mồi lcfs	0,25	1
4	Mồi lubs	0,25	1
5	Nước tinh khiết (DW)		7,5
6	cDNA		2
Tổng			25

Bảng 3. Thành phần phản ứng nested PCR (vòng 2)

STT	Thành phần phản ứng	Nồng độ cuối (pM)	Hàm lượng (µl)
1	GoTag® Green Master Mix		12,5
2	Mồi nlffles	0,25	1
3	Mồi nlcfs	0,25	1
4	Mồi nlubs	0,25	1
5	Nước tinh khiết (DW)		7,5
6	Sản phẩm PCR (vòng 1)		2
Tổng			25

Chu kỳ nhiệt được thực hiện như sau (i) vòng 1: 90°C trong 5 phút; 35 chu kỳ gồm 94°C trong 1

phút, 50°C trong 1 phút, 72°C trong 1 phút; hoàn thiện ở 72 °C trong 7 phút; (ii) vòng 2: 90°C trong 5

phút; 35 chu kỳ gồm 94°C trong 1 phút, 47°C trong 1 phút, 72°C trong 1 phút; hoàn thiện ở 72 °C trong 51 phút. Sản phẩm PCR được điện di trên thạch 1,5% agarose có bổ sung thuốc nhuộm RedSafe™ Nucleic Acid Staining Solution (Intron, Hàn Quốc).

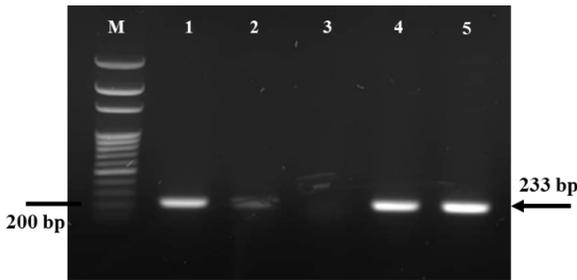
2.3. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện tại Bộ môn Thú y cộng đồng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định FCoV genome bằng phản ứng PCR

Phản ứng PCR được tiến hành với một số mẫu phân thu thập tại thực địa cho thấy, sản phẩm PCR được khuếch đại chỉ có duy nhất 1 vạch có kích thước bằng 233 bp, trong khi đó giếng đối chứng âm chỉ bổ sung nước tinh khiết không xuất hiện vạch (hình 1).



Hình 1. Minh họa phản ứng PCR chẩn đoán FCoV trong mẫu phân mèo

Ghi chú: M là thang ADN chuẩn với khoảng cách giữa các vạch là 100 bp, các mẫu thực địa được bố trí từ giếng 1, 2, 4 và 5, mẫu đối chứng âm chỉ bổ sung nước tinh khiết được bố trí ở giếng số 3. Vạch sản phẩm PCR đặc hiệu có kích thước 233bp được đánh dấu bằng mũi tên màu đen.

Cặp mồi FCV-P205/P211 lần đầu được công bố năm 1998 tại Mỹ (Vennema và cs., 1998). Cặp mồi này sau đó được sử dụng để xác định FCoV ở nhiều quốc gia ở châu Á như Hàn Quốc, Nhật Bản và Thái Lan (An và cs., 2011; Soma và cs., 2013; Tuanthap và cs., 2021). Trong nghiên cứu này, cặp mồi FCV-P205/P211 đã được sử dụng và phát hiện được các mẫu dương tính với sản phẩm PCR rõ ràng, không có vạch gây nhiễu. Kết quả điện di trên thạch agarose cho thấy cặp mồi này có thể sử dụng để chẩn đoán FCoV ở một số địa phương thuộc Hà Nội. Các nghiên cứu tiếp theo cần mở rộng khu vực lấy mẫu

và dung lượng mẫu và kiểm tra tính hiệu quả của việc sử dụng cặp mồi này trong chẩn đoán FCoV.

Tỷ lệ mẫu dương tính với FCoV được xác định bằng phản ứng PCR được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả xác định FCoV theo địa điểm lấy mẫu tại Hà Nội bằng phản ứng PCR

Quận/Huyện	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Gia Lâm	20	3	15
Hà Đông	4	1	25
Bắc Từ Liêm	6	0	0
Tổng	30	4	13,33

Cụ thể, tỷ lệ dương tính với FCoV ở các quận/huyện thuộc Hà Nội lần lượt là 25% (quận Hà Đông), 15% (huyện Gia Lâm), trong khi không phát hiện mẫu dương tính đối với các mẫu thu thập được ở quận Bắc Từ Liêm. Tỷ lệ dương tính chung là 13,33% (4/30 mẫu).

Tỷ lệ mẫu dương tính với FCoV sau đó được thống kê theo một số tiêu chí như lứa tuổi, tính biệt và tình trạng sức khỏe của mèo. Về lứa tuổi, mèo được chia làm 3 nhóm tuổi (<12 tháng, 12-24 tháng và > 24 tháng tuổi); kết quả cho thấy có 7,14% (1/14) mèo < 12 tháng tuổi dương tính với FCoV, trong khi tỷ lệ này cao hơn ở nhóm mèo ở 12-24 tháng tuổi chiếm tỷ lệ 27,27%; không xác định được mẫu dương tính ở nhóm mèo > 24 tháng tuổi. Về tính biệt, có 3/14 (21,43%) mẫu mèo đực dương tính với FCoV cao hơn tỷ lệ dương tính ở mèo cái (6,25%). Không có sự sai khác rõ rệt đối với tỷ lệ dương tính ở nhóm mèo ốm (12,50%) và nhóm mèo khỏe (14,29%) (bảng 5).

FCoV lưu hành rộng rãi và gây bệnh tiêu chảy hoặc viêm phúc mạc ở mèo nuôi trên thế giới (Amer và cs., 2012; Li và cs., 2019; Klein-Richers và cs., 2020; Luo và cs., 2020; McKay và cs., 2020; Tuanthap và cs., 2021). Hiện nay chưa có vaccine phòng bệnh hiệu quả. Các biện pháp hạn chế ảnh hưởng của căn bệnh này chủ yếu dựa trên phòng bệnh và kiểm soát an toàn sinh học (Haake và cs., 2020). Tỷ lệ dương tính với virus trong các mẫu bệnh phẩm thu được dao động từ thấp (6,6%) đến cao (95%) (An và cs., 2011; Amer và cs., 2012; Li và cs., 2019; Klein-Richers và cs., 2020; Luo và cs., 2020; McKay và cs., 2020; Tuanthap và cs., 2021). Tỷ lệ dương

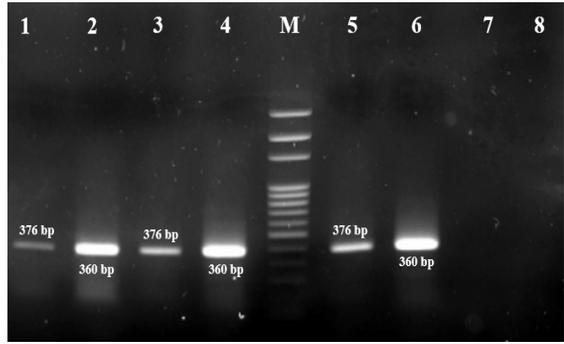
tính với FCoV trong nghiên cứu này là 13,33% cao hơn so với tỷ lệ 6,6% được xác định trong 212 mèo ở Hàn Quốc năm 2009 bằng phản ứng PCR (An và cs., 2011), thấp hơn nhiều so với tỷ lệ 95% được xác định ở mèo nghi mắc FIP (Amer và cs., 2012). FCoV có thể được phát hiện ở cả mèo khỏe và mèo ốm. Trong đó, tỷ lệ dương tính ở nhóm mèo ốm là 13,5%; cao hơn so với nhóm mèo khỏe (2,3%) (An và cs., 2011). Tuy nhiên, không có sự khác biệt rõ rệt trong tỷ lệ dương tính (12,50) ở cả nhóm mèo ốm và mèo khỏe mạnh (14,29%). Tỷ lệ dương tính với FCoV ở nhóm mèo đực cao hơn nhóm mèo cái (Soma và cs., 2013). Mèo dưới 1 năm tuổi tới dưới 13 năm tuổi đều có thể nhiễm FCoV (Soma và cs., 2013). Trong nghiên cứu này, không xác định được mẫu dương tính với FCoV ở mèo trên 24 tháng tuổi, tỷ lệ dương tính ở mèo đực cao hơn mèo cái. Tuy nhiên, do dung lượng mẫu phân tích trong nghiên cứu này còn thấp, các nghiên cứu tiếp theo cần mở rộng địa bàn và số lượng mẫu để làm rõ ảnh hưởng của giới tính và độ tuổi có liên quan tới tỷ lệ dương tính với FCoV.

Bảng 5. Kết quả xác định FCoV trong phân mèo theo lứa tuổi, tính biệt và tình trạng sức khỏe

Tiêu chí	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Tuổi (tháng)			
< 12	14	1	7,14
12-24	11	3	27,27
> 24	5	0	0
Tính biệt			
Đực	14	3	21,43
Cái	16	1	6,25
Tình trạng sức khỏe			
Ốm	16	2	12,50
Khỏe	14	2	14,29

3.2. Kết quả bước đầu ứng dụng kỹ thuật nested PCR định type một số chủng FCoV xác định được ở Hà Nội

Để định type FCoV, các mẫu dương tính được sử dụng cho phản ứng nested PCR. Kết quả điện di trên thạch agarose cho thấy, sản phẩm PCR các mẫu kiểm tra ở vòng 1 và vòng 2 lần lượt là 376 bp và 360 bp. Kết quả điện di trên thạch agarose cho thấy vạch sản phẩm PCR đặc hiệu, không có vạch phụ (hình 2).



Hình 2. Minh họa phản ứng nested PCR định type FCoV

Ghi chú: M là thang ADN chuẩn với khoảng cách giữa các vạch là 100 bp. Mẫu thực địa được bố trí ở các giếng 1, 3, 5 (vòng 1), 2, 4, 6 (vòng 2), mẫu đối chứng âm chỉ bổ sung nước tinh khiết được bố trí ở giếng 7 (vòng 1) và 8 (vòng 2).

Addie và cs. (2003) đã thành công khi định type FCoV bằng phản ứng nested PCR bằng bộ mồi được thiết kế ở đầu 3' trên gen S. Type I và type II FCoV cho kích thước sản phẩm PCR lần lượt là 360 bp và 218 bp. Kết quả định type bằng phản ứng nested PCR cho thấy, 4 chủng FCoV được xác định trong nghiên cứu này đều thuộc type 1 với kích thước sản phẩm PCR vòng 2 là 360 bp (bảng 6).

Bảng 6. Kết quả định type một số chủng FCoV bằng phản ứng nested PCR

STT	Ký hiệu mẫu	Sản phẩm PCR		Kết quả định type
		Vòng 1	Vòng 2	
1	HĐ-01	376	360	1
2	GL-02	376	360	1
3	GL-08	376	360	1
4	GL-11	376	360	1

FCoV tồn tại ở 2 dạng sinh học (biotype) và đều có khả năng gây bệnh cho mèo từ nhẹ tới nặng. Cả type I và II đều được phát hiện ở nhóm mèo khỏe mạnh và ốm (An và cs., 2011). Giữa 2 type lưu hành của virus, type I được phát hiện phổ biến và gây bệnh nhẹ hơn type II (Vennema và cs., 1998; Addie và cs., 2003; Pedersen, 2009). Trong nghiên cứu này, phản ứng nested PCR bước đầu được ứng dụng để định type FCoV tại Hà Nội. Thêm vào đó, nghiên cứu này bước đầu xác định FCoV type I trong các mẫu phân thu thập được trong phân của mèo nuôi tại khu vực thành phố Hà Nội.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này lần đầu xác định FCoV ở mèo nuôi tại Hà Nội với tỷ lệ dương tính là 13,33%. Mèo dưới 24 tháng tuổi phát hiện dương tính, trong khi đó không phát hiện virus ở mèo trên 24 tháng tuổi. FCoV được phát hiện ở cả mèo ốm và mèo khỏe mạnh. Các chủng FCoV trong nghiên cứu này đều thuộc type I.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Addie, D.D., Schaap, I.A.T., Nicolson, L. & Jarrett, O., 2003. Persistence and transmission of natural type I feline coronavirus infection. *J Gen Virol*, 84: 2735-2744.
- Amer, A., Siti Suri, A., Abdul Rahman, O., Mohd, H.B., Faruku, B., Saeed, S. & Tengku Azmi, T.I., 2012. Isolation and molecular characterization of type I and type II feline coronavirus in Malaysia. *Virol J*, 9: 278.
- An, D.J., Jeoung, H.Y., Jeong, W., Park, J.Y., Lee, M.H. & Park, B.K., 2011. Prevalence of Korean cats with natural feline coronavirus infections. *Virol J*, 8: 455.
- Bosch, B.J., van der Zee, R., de Haan, C.A. & Rottier, P.J., 2003. The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. *J Virol*, 77: 8801-8811.
- Du, B., Zhao, Z., Zhao, J., Yu, L., Sun, L. & Lv, W., 2021. Modelling the epidemic dynamics of COVID-19 with consideration of human mobility. *Int J Data Sci Anal*, 12: 369-382.
- Dye, C. & Siddell, S.G., 2005. Genomic RNA sequence of Feline coronavirus strain FIPV WSU-79/1146. *J Gen Virol*, 86: 2249-2253.
- Ehmann, R., Kristen-Burmann, C., Bank-Wolf, B., Konig, M., Herden, C., Hain, T., Thiel, H.J., Ziebuhr, J. & Tekes, G., 2018. Reverse genetics for type I feline coronavirus field isolate to study the molecular pathogenesis of feline infectious peritonitis. *mBio*, 9.
- Haake, C., Cook, S., Pusterla, N. & Murphy, B., 2020. Coronavirus Infections in Companion Animals: Virology, Epidemiology, Clinical and Pathologic Features. *Viruses*, 12.
- Herrewegh, A.A., de Groot, R.J., Cepica, A., Egberink, H.F., Horzinek, M.C. & Rottier, P.J., 1995. Detection of feline coronavirus RNA in feces, tissues, and body fluids of naturally infected cats by reverse transcriptase PCR. *J Clin Microbiol*, 33: 684-689.
- Jaimes, J.A. & Whittaker, G.R., 2018. Feline coronavirus: Insights into viral pathogenesis based on the spike protein structure and function. *Virology*, 517: 108-121.
- Klein-Richers, U., Hartmann, K., Hofmann-Lehmann, R., Unterer, S., Bergmann, M., Rieger, A., Leutenegger, C., Pantchev, N., Balzer, J. & Felten, S., 2020. Prevalence of Feline Coronavirus Shedding in German Catteries and Associated Risk Factors. *Viruses*, 12.
- Li, C., Liu, Q., Kong, F., Guo, D., Zhai, J., Su, M. & Sun, D., 2019. Circulation and genetic diversity of Feline coronavirus type I and II from clinically healthy and FIP-suspected cats in China. *Transbound Emerg Dis*, 66: 763-775.
- Licitra, B.N., Millet, J.K., Regan, A.D., Hamilton, B.S., Rinaldi, V.D., Duhamel, G.E. & Whittaker, G.R., 2013. Mutation in spike protein cleavage site and pathogenesis of feline coronavirus. *Emerg Infect Dis*, 19: 1066-1073.
- Luo, Y.C., Liu, I.L., Chen, Y.T. & Chen, H.W., 2020. Detection of Feline Coronavirus in Feline Effusions by Immunofluorescence Staining and Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction. *Pathogens*, 9.
- McKay, L.A., Meachem, M., Snead, E., Brannen, T., Mutlow, N., Ruelle, L., Davies, J.L. & van der Meer, F., 2020. Prevalence and mutation analysis of the spike protein in feline enteric coronavirus and feline infectious peritonitis detected in household and shelter cats in western Canada. *Can J Vet Res*, 84: 18-23.
- Pedersen, N.C., 2009. A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963-2008. *J Feline Med Surg*, 11: 225-258.
- Porter, E., Tasker, S., Day, M.J., Harley, R., Kipar, A., Siddell, S.G. & Helps, C.R., 2014. Amino acid changes in the spike protein of feline coronavirus correlate with systemic spread of virus from the intestine and not with feline infectious peritonitis. *Vet Res*, 45: 49.
- Soma, T., Wada, M., Taharaguchi, S. & Tajima, T., 2013. Detection of ascitic feline coronavirus RNA from cats with clinically suspected feline infectious peritonitis. *J Vet Med Sci*, 75: 1389-1392.
- Tuanthap, S., Chiteafea, N., Rattanasrisomporn, J. & Choowongkamon, K., 2021. Comparative sequence analysis of the accessory and nucleocapsid genes of feline coronavirus strains isolated from cats diagnosed with effusive feline infectious peritonitis. *Arch Virol*, 166: 2779-2787.
- United Nations, 2022. *COVID-19 pandemic stalls global economic recovery: UN report*. <https://news.un.org/en/story/2022/01/1109702>. Accessed 21st June 2023.
- Vennema, H., Poland, A., Foley, J. & Pedersen, N.C., 1998. Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology*, 243: 150-157.

Ngày nhận: 16-6-2023

Ngày phản biện: 20-9-2023

Ngày đăng: 1-6-2024