THIẾT KẾ PHẢN ỨNG ONE-STEP MULTIPLEX (RT)-PCR TRONG CHẨN ĐOÁN MỘT SỐ BỆNH HÔ HẤP DO VIRUS TRÊN CHÓ

Đào Huyền Trân[1], Nguyễn Thị Lan Anh[2], Phạm Công Uẩn[3], Đinh Nguyễn Lan Phương[4], Nguyễn Phạm Nhã Quân[1], Tô Mỹ Quyên[1], Châu Thị Huyền Trang[1], Nguyễn Thanh Lãm[1]

Ngày nhận bài: 29/12/2022; Ngày phản biện thông qua: 07/4/2023; Ngày duyệt đăng: 31/5/2023

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 01/2022 – 12/2022 nhằm xây dựng phản ứng one-step multiplex (RT)-PCR chẩn đoán một số bệnh hô hấp do virus trên chó. Nghiên cứu đã thu thập 15 mẫu dịch ngoáy mũi từ những chó có triệu chứng nghi bị bệnh đường hô hấp như ho, chảy nước mắt, nước mũi tại thành phố Hồ Chí Minh và tỉnh Kiên Giang để tiến hành xét nghiệm chẩn đoán sự hiện diện của canine adenovirus type 2 (CAV-2), canine distemper virus (CDV) và canine parainfluenza virus (CPIV) bằng phản ứng one-step multiplex (RT)-PCR. Kết quả nghiên cứu đã thiết kế thành công các cặp mồi đặc hiệu chẩn đoán CAV-2, CDV và CPIV lần lượt là 135F/1366R, 132F/866R, 359F/1407R và hiệu chỉnh chu trình nhiệt cho phản ứng one-step multiplex (RT)-PCR. Kết quả khuếch đại từ phản ứng PCR đồng thời và phân biệt các trình tự gene của CAV-2, CDV và CPIV có kích thước lần lượt là 1.231, 734 và 1.048 bp. Số mẫu dương tính với CAV-2, CDV và CPIV lần lượt là 10/15, 11/15 và 13/15 mẫu xét nghiệm. Nghiên cứu đã thành công xây dựng phản ứng one-step multiplex (RT)-PCR nhằm góp phần chẩn đoán nhanh, chính xác và phân biệt các tác nhân virus gây bệnh hô hấp trên chó.

Từ khóa: *CAV-2, CDV, chó, CPIV, one-step multiplex (RT)-PCR, hô hấp.*

1. MỞ ĐẦU

Phức hợp các bệnh hô hấp truyền nhiễm trên chó (Canine infectious respiratory disease complex – CIRDC) là một hội chứng đặc hữu gây ra các bệnh hô hấp cấp tính trên chó. Đây là một bệnh phức tạp, đa yếu tố, gây ra bởi một số virus trên đường hô hấp điển hình như canine adenovirus type 2 (CAV-2), canine distemper virus (CDV), canine parainfluenza virus (CPIV), canine influenza virus (CIV), canine respiratory coronavirus (CRCoV), canine herpesvirus 1 (CaHV-1). Trong số đó, nhiễm trùng kép với CAV-2, CDV và CPIV thường được phát hiện trên chó (Erles et al., 2004; Posuwan et al., 2010). Chó bị bệnh đường hô hấp thường nhiễm đơn hoặc nhiễm kép với nhiều loài virus và biểu hiện các triệu chứng lâm sàng tương tự nhau như ho, chảy nước mắt, chảy nước mũi, khó thở, gây khó khăn cho việc chuẩn đoán chính xác tác nhân gây bệnh.

Vì vậy, chẩn đoán các virus liên quan đến CIRDC là rất quan trọng để tư vấn chẩn đoán, đưa ra kế hoạch điều trị, tiên lượng và chiến lược phòng bệnh thích hợp. Hiện nay, nhiều phương pháp xét nghiệm như sử dụng kit test nhanh, phản ứng (RT)-PCR truyền thống, huyết thanh học… được ứng dụng trong chẩn đoán, tuy nhiên các phương pháp này thường có độ nhạy thấp hoặc tốn nhiều thời gian và công sức, và quan trọng không thể chẩn đoán phát hiện các trường hợp nhiễm trùng kép. Do đó, chúng tôi đã xây dựng và tối ưu hóa phản ứng one-step multiplex Reverse transcription - Polymearase chain reaction ((RT)-PCR) để chẩn đoán phát hiện đồng thời và phân biệt nhiễm trùng CAV-2 CDV và CPIV trên chó.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: CAV-2, CDV và CPIV trên chó có triệu chứng nghi bị bệnh đường hô hấp.

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 01 đến tháng 12 năm 2022.

Địa điểm nghiên cứu: phòng thí nghiệm chuyên ngành, Khoa Thú y, Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ.

2.2. Nội dung nghiên cứu

Nội dung 1: Thiết kế các đoạn mồi đặc hiệu và tối ưu hóa nhiệt độ chẩn đoán phát hiện CAV-2, CDV và CPIV.

Nội dung 2: Xây dựng phản ứng one-step muliplex (RT)-PCR.

Nội dung 3: Chẩn đoán phát hiện sự hiện diện của CAV-2, CDV và CPIV trên chó có triệu chứng nghi bị bệnh đường hô hấp.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp chọn mẫu

[1]Khoa Thú y, Trường Nông nghiệp, Đại học Cần Thơ;
[2]Khoa Thú y - Chăn nuôi, Đại học Công nghệ TP. HCM (Hutech);
[3]Khoa Nông nghiệp và Phát triển Nông Thôn, Đại học Kiên Giang;
[4]Công ty Thương mại và Dịch vụ Phát triển Tiến Thắng;
Tác giả liên hệ: Nguyễn Thanh Lãm, ĐT: 0939468525; Email: ntlam@ctu.edu.vn.