

DỊCH TỄ HỌC PHÂN TỬ *PARVOVIRUS* TRÊN CHÓ NUÔI TẠI THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Nguyễn Văn Dũng¹, Phan Xuân Thảo¹, Vũ Kim Chiến¹, Ken Maeda²

TÓM TẮT

Canine Parvovirus type 2 (CPV-2) là một trong những mầm bệnh quan trọng gây bệnh viêm ruột ở chó nuôi. Mặc dù đã có một vài nghiên cứu trước đây về CPV tại Việt Nam, nhưng thông tin về sự lưu hành của CPV ở Thành phố Hồ Chí Minh cho đến nay vẫn rất hạn chế. Để kiểm tra tỷ lệ lưu hành của virus này trên quần thể chó nuôi, mẫu phân từ 30 chó nuôi tiêu chảy và 50 chó nuôi khỏe mạnh đã được thu thập và xác định sự nhiễm CPV-2 bằng kỹ thuật PCR. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ lưu hành CPV-2 trên nhóm chó tiêu chảy là 43,3%, cao hơn rất nhiều so với nhóm chó khỏe (4,0%), kết quả này cũng chỉ ra rằng CPV-2 là một tác nhân gây bệnh tiêu chảy trên chó nuôi. Kết quả định genotyp của 15 chủng CPV-2 cho thấy chủng New CPV-2a và CPV-2c đang lưu hành tại Thành phố Hồ Chí Minh và CPV-2c là genotyp chính gây bệnh tiêu chảy. Phân lập virus được thực hiện trên tế bào A72/cSLAM, 9 chủng CPV-2 đã được phân lập thành công. Kết quả phân tích về di truyền cho thấy nhiều đột biến xảy ra trên gen VP2 của chủng CPV-2c (A5G, Y324I, F267Y, Q370R) và New CPV-2a (Y324I, F267Y, T440A). Những đột biến này có thể ảnh hưởng tính kháng nguyên và tính gây bệnh của CPV-2.

Từ khóa: chó nuôi, CPV-2, lưu hành, đột biến

Molecular epidemiology of Canine *Parvovirus* from domestic dogs in Ho Chi Minh City

Nguyen Van Dung, Phan Xuan Thao, Vu Kim Chien, Ken Maeda

SUMMARY

CPV-2 is one of the most important pathogens causing enteritis in domestic dogs. Although there were some reports of CPV in Viet Nam, recent information on CPV infection in domestic dogs in Ho Chi Minh City is limited. To examine the prevalence of CPV-2 in the domestic dog herds, fecal samples from 30 diarrheic and 50 healthy dogs were collected and detected for CPV-2 by PCR technique. The studied result showed that the prevalence of CPV in the diarrheic dogs was 43.3% (13/30), significantly higher than that in the healthy dogs (4.0%, 2/50), indicating that CPV-2 was a pathogen causing diarrhea in the domestic dogs. The result of genotyping 15 CPV strains showed that the New CPV-2a and CPV-2c were circulating in Ho Chi Minh City and CPV-2c was a predominant genotype causing diarrheic disease. Virus isolation was performed from the fecal samples by using A72/cSLAM cells, and nine CPV strains were successfully isolated. Genetic analysis showed that mutations in VP2 protein were found in Viet Nameese CPV-2c (A5G, Y324I, F267Y, Q370R) and New CPV-2a (Y324I, F267Y, T440A). These mutations might affect to antigenicity and pathogenicity of them.

Keywords: domestic dogs, CPV-2, prevalence, mutation.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Parvovirus trên chó (hay còn gọi bệnh viêm dạ dày-ruột) có tính chất lây nhiễm cao và tỷ lệ tử vong lớn trên chó, đặc biệt trên chó non.

Bệnh do Canine *parvovirus* type 2 (CPV-2) gây ra. Khác với CPV-1 (trước đây gọi là Minute virus), CPV-2 được biết như là mầm bệnh có độc lực cao trên chó. CPV-2 là một DNA virus sợi đơn, thuộc họ *Parvoviridae*, giống

¹ Chi cục Chăn nuôi và Thú y Tp. Hồ Chí Minh

² Phòng Thí nghiệm Vi sinh vật Thú y, Đại học Yamaguchi, Nhật Bản

Protopavovirus. Bộ gen của CPV mã hóa 3 protein cấu trúc (gồm VP1, VP2 và VP3) và 2 protein không cấu trúc. Protein VP2 có thể phân cắt tạo thành protein VP3 bởi enzyme protease của vật chủ sau giai đoạn lắp ráp hạt virion. Protein VP2 đóng vai trò rất quan trọng trong tính kháng nguyên cũng như xác định các loài vật chủ (Phromnoi và ctv., 2010).

CPV-2 đầu tiên được xác định vào cuối thập niên 1970 như là tác nhân gây bệnh viêm dạ dày-ruột xuất huyết trên chó. Vào thập niên 1980, CPV-2 có sự biến đổi kháng nguyên và được đặt tên là CPV-2a (VP2 87Leu, 101Thr, 300Gly, 305Tyr, 375Asp, 426Asn, 555Ile) và CPV-2b (VP2 87Leu, 101Thr, 300Gly, 305Tyr, 375Asp, 426Asp). Sau đó, CPV-2a và CPV-2b có sự thay đổi amino acid tại vị trí 297 từ Ser thành Ala trên VP2 được xác định là CPV-2a mới (New CPV-2a) và CPV-2b mới (New CPV-2b). Năm 2000, CPV-2c (VP2: 426Glu) được phát hiện ở Italy và sau đó lan rộng nhiều nước châu Âu, Mỹ và châu Á. Tại Việt Nam, một vài báo cáo trước đây cho thấy CPV-2b được xác định là genotype chính lưu hành trên chó tại Việt Nam (Tp. Hồ Chí Minh và Hà Nội), và một trường hợp chó nhiễm CPV-2c đầu tiên được phát hiện tại Hà Nội (Ikeda và ctv, 2000; Nakamura và ctv, 2004). Tuy nhiên, hiện tại thông tin về dịch tễ học phân tử của CPV-2 rất hạn chế, đặc biệt tại Thành phố Hồ Chí Minh. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là phân tích các đặc tính di truyền của các CPV-2 đang lưu hành trên chó nuôi tại Thành phố Hồ Chí Minh.

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

2.1. Nội dung

- Đánh giá tỷ lệ nhiễm, xác định genotype CPV-2 lưu hành trên chó nuôi.

- Nuôi cấy phân lập và phân tích trình tự gen của CPV-2.

2.2. Nguyên liệu

- Mẫu swab phân: mẫu được thu thập từ 30

chó biểu hiện viêm ruột, tiêu chảy và 50 chó khỏe mạnh không có biểu hiện lâm sàng. Mẫu swab được hòa tan trong 2ml dung dịch đệm PBS (phosphate-buffer saline), mẫu dịch ngoáy được lọc qua lọc 0,22 μ m và được bảo quản -80°C cho đến khi thực hiện các xét nghiệm. Các thông tin về tuổi, giống, giới tính... được ghi nhận trong quá trình thu mẫu.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- **Ly trích DNA virus và PCR:** DNA virus được ly trích từ mẫu swab bằng bộ kit QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Phản ứng PCR được thực hiện sử dụng bộ kit TaKaRa Ex Taq kit (TaKaRa) với cặp primer 555F (5'-CAGGAAGATATCCAGAAGGA-3') và 555R (5'-GGTGCTAGTTGATATGTAATAAAC A-3') (Buonavoglia và ctv., 2001). Chu kỳ nhiệt của PCR như sau: 94°C trong 2 phút, và 40 chu kỳ với 98°C trong 10 giây, 50°C trong 30 giây và 72°C trong 1 phút, kết thúc 40 chu kỳ nhiệt với bước kéo dài ở 75°C trong 5 phút. Sản phẩm của phản ứng PCR (583bp) được phát hiện dựa trên việc điện di trên agarose 2% và sử dụng bộ kit QIAquick PCR Purification kit (Qiagen) để tinh sạch sản phẩm PCR dùng cho việc phân tích trình tự nucleotide.

- **Phân lập virus:** CPV-2 được phân lập trên tế bào A72/cSLAM với môi trường DMEM (Life Technologies) chứa 10% FCS, bổ sung kháng sinh 100 đơn vị/ml penicilline và 100 μ g/ml streptomycin (Life Technologies). Tế bào A72/cSLAM ủ trên đĩa nuôi cấy tế bào 6 giếng và gây nhiễm dịch lọc trích từ mẫu swab. Sau đó ủ đĩa ở 37°C với 5% CO₂. Quan sát sự phát triển và bệnh tích tế bào (CPE) hàng ngày. Nếu tế bào xuất hiện bệnh tích, tế bào nhiễm được thu thập cho việc xác định virus bằng PCR.

- **Giải trình tự gen VP2 và toàn bộ vùng gen mã hóa của CPV-2:**

Toàn bộ gen VP2 (1.755nt) được khuếch đại bằng việc sử dụng bộ kit KOD-Plus Ver.2 kit (TOYOBO) cho phản ứng PCR với mỗi xuôi VP2FLf, 5'-GTG CAG GAC AAG TAA AA-

3' (Gallo và ctv., 2012) và mỗi ngược 555R, 5'-GGT GCT AGT TGA TAT GTA ATA AAC A-3' (Buonavoglia và ctv., 2001). Chu kỳ nhiệt được thực hiện ở 94°C trong 2 phút, 40 chu kỳ gồm 98°C trong 10 giây, 55°C trong 30 giây và 68°C trong 2 phút, bước kéo dài ở 68°C trong 5 phút. Để khuếch đại toàn bộ bộ gen của CPV-2 phân lập, PCR được thực hiện với các cặp mồi thiết kế theo chiến lược lồng ghép (overlapping fragments), 210F 5'-AGA CCG TTA CTG ACA TTC GC-3' và 3469R 5'-GTG CCA CTA GTT CCA GTA TGA G-3'. Chu kỳ nhiệt tương tự như PCR với cặp mồi VP2FLf, 555R, chỉ thay đổi nhiệt độ ở giai đoạn bắt cặp từ 55°C xuống 50°C và bước kéo dài cuối cùng ở 68°C từ 5 phút thành 10 phút.

Các sản phẩm PCR được tinh sạch bằng kit QIAquick PCR Purification kit (Qiagen) cho giải trình tự. Giải trình tự nucleotid được thực hiện trên máy giải trình tự tự động ABI 3100.

Phân tích dữ liệu: Xây dựng cây phát sinh dòng sử dụng phương pháp Neighbor-Joining với phần mềm MEGA 6.0 (Tamura và ctv., 2013). Giá trị Bootstrap được tính toán với 1.000 lặp lại. Trình tự amino acid được suy diễn từ trình tự nucleotid dựa vào phần mềm MEGA 6. Trắc nghiệm "Khi bình phương" (χ^2) được sử dụng cho so sánh các tỷ lệ (Minitab ver 16).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ lưu hành CPV-2 trên chó nuôi và xác định genotyp của CPV-2

Tỷ lệ nhiễm CPV-2 trên chó tiêu chảy cũng đã được báo cáo ở nhiều nước như Thái Lan, Nhật Bản, Trung Quốc...(Chollom và ctv., 2013; Soma và ctv., 2013; Yi và ctv., 2016; Csagola và ctv., 2014) với tỷ lệ từ 40,0% - 84,0%. Trong nghiên cứu này, CPV-2 được phát hiện trên 13 chó tiêu chảy (43,3%, 13/30) và 2 chó khỏe (4,0%, 2/50). Tỷ lệ lưu hành trên nhóm chó tiêu chảy cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chó khỏe ($P < 0,05$). Điều này cho thấy CPV-2 là một trong những tác nhân chính gây tiêu chảy trên chó tại Thành phố Hồ Chí Minh. Kết quả phân tích

cũng cho thấy tỷ lệ nhiễm CPV-2 không có sự khác biệt theo giới tính, giống và tuổi (<6 tháng và >6 tháng tuổi) trên nhóm chó tiêu chảy.

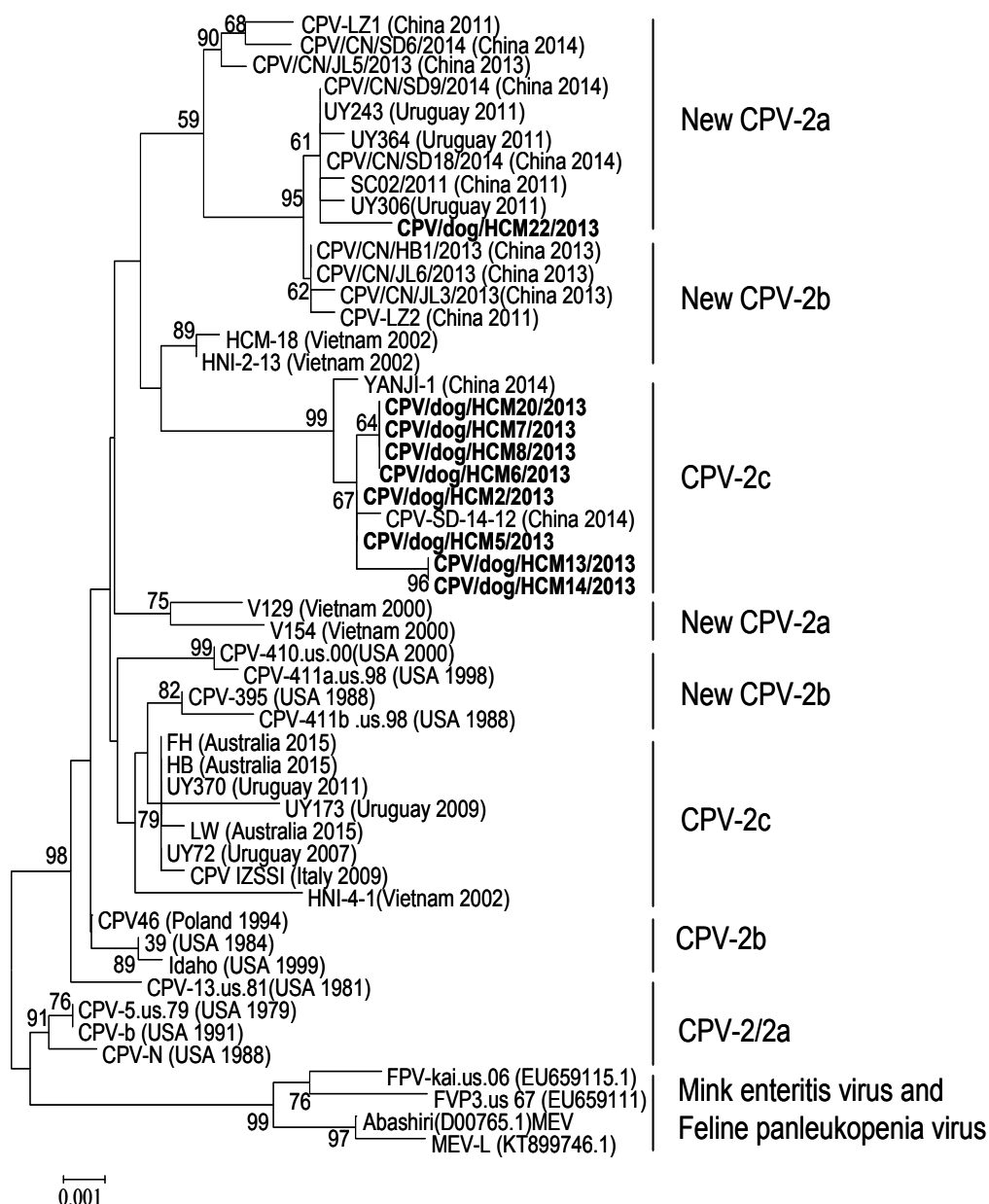
Qua phân tích xác định genotyp trong tổng số 15 mẫu (13 mẫu trên chó tiêu chảy và 2 mẫu trên chó khỏe) phát hiện dương tính PCR, cho thấy CPV-2c (amino acid ở vị trí 426 trong protein VP2 là Glutamic acid) chiếm tỷ lệ là 93,33% (14/15) và New CPV-2a (Asparagine ở vị trí 426 trên protein VP2: phân biệt với CPV-2b và CPV-2c; 87 Leucine, 101 Threonine 297 Alanine: phân biệt CPV-2, CPV-2a và New CPV-2a) là 6,67% (1/15). Một số kết quả nghiên cứu trước đây tại Việt Nam cho thấy CPV-2b là genotyp chính lưu hành trên mèo nhà, loài báo (Ikeda và ctv., 2000). Năm 2004, kết quả nghiên cứu tại Việt Nam của Nakamura và ctv. cho thấy tỷ lệ nhiễm CPV-2b là 87,5% (7/8) và CPV-2c là 12,5% (1/8). CPV-2a và CPV-2b đã được báo cáo là genotyp chính lưu hành tại châu Á, Úc (Meer và ctv., 2007; Lin và ctv., 2014), và CPV-2c là genotyp không phổ biến. Gần đây, CPV-2c đã được báo cáo là genotyp chính lưu hành ở nhiều quốc gia châu Âu như Ý, Đức, Tây Ban Nha (Buonavoglia và ctv., 2001; Decaro và ctv., 2012; Gallo và ctv., 2012; Csagola và ctv., 2014). Trong nghiên cứu này, kết quả có 14 chủng CPV-2 thuộc CPV-2c và một chủng thuộc New CPV-2a. Như vậy, genotyp chính gây bệnh trên chó nuôi tại Thành phố Hồ Chí Minh chuyển từ CPV-2b sang CPV-2c. Điều này có thể dẫn đến công tác phòng chống bệnh có thể khó khăn hơn do các chủng CPV-2 vacxin hiện nay thuộc CPV-2a hoặc CPV-2b.

3.2. Phân lập virus và phân tích trình tự bộ gen của CPV-2

Tổng cộng 9 chủng CPV-2 được phân lập thành công từ mẫu dịch swab phân. Tất cả các chủng được giải trình tự toàn bộ gen VP2 gồm: CPV/dog/HCM/2/2013, CPV/dog/HCM/5/2013, CPV/dog/HCM/6/2013, CPV/dog/HCM/8/2013, CPV/dog/HCM/13/2013, CPV/dog/HCM/14/2013, CPV/dog/HCM/20/2013, CPV/dog/HCM/7/2013, CPV/

dog/HCM/22/2013 (New CPV-2a). Trong đó, 2 chủng đại diện cho genotyp CPV-2c (CPV/dog/HCM/7/2013) và New CPV-2a (CPV/dog/HCM/22/2013) được lựa chọn phân tích toàn bộ vùng gen mã hóa của CPV-2 (vùng không dịch mã ở đầu vòng lặp 3' và vùng 5' không phân tích). Trình tự nucleotid được đăng ký trên Ngân hàng gen với mã số (Accession

numbers): LC216904-LC216910, LC214969 và LC214970). Qua kết quả phân tích cây phát sinh dòng dựa trên gen VP2 cho thấy chủng New CPV-2a ở Việt Nam có quan hệ họ hàng gần với chủng New CPV-2a ở Trung Quốc và Uruguay, chủng CPV-2c Việt Nam quan hệ họ hàng gần với các chủng CPV-2c ở Trung Quốc (hình 1).



Hình 1. Cây phát sinh dòng dựa trên trình tự nucleotid gen VP-2 của CPV-2

Điều này cho thấy có thể có sự truyền lây xuyên quốc gia.

Khi so sánh với genotyp CPV-2 (chủng CPV-b), chủng New CPV-2c của Việt Nam có 2 đột biến vùng gen NS1 gồm I60V (Ile thay thế bởi Val) và L630P (Leu thay thế bởi Pro) và 11 đột biến vùng gen VP2, A5G (Ala thay thế bởi Gly), M87L (Met thay thế bởi Leu), I101T (Ile thay thế bởi Thr), F267Y (Phe thay thế bởi Tyr), S297A (Ser thay thế bởi Ala), A300G (Ala thay thế bởi Gly), D305V (Asp chuyển thành thay thế bởi o Val), Y324I (Tyr thay thế bởi h Ile), Q370R (Gln thay thế bởi Arg), N375D (Asn thay thế bởi Asp) và N426E (Asn thay thế bởi Glu). Chủng New CPV-2a có 3 đột biến vùng gen NS1 gồm: A13G (Ala chuyển thành Gly), V115I (Val thay thế bởi Ile) và N624K (Asn thay thế bởi Lys); có 9 đột biến vùng gen VP2 gồm: M87L, I101T, F267Y, S297A, A300G, D305V, Y324I, N375D và T440A (Thr thay thế bởi Ala) (bảng 1).

Khi so sánh với chủng CPV-2 trên Ngân hàng gen cho thấy, chủng CPV-2c của Việt Nam có 4 đột biến quan trọng trên protein VP2 ở amino acid vị trí 5 (Ala thay thế bởi Gly), 267 (Phe thay thế bởi Tyr), 324 (Tyr thay thế bởi Ile), 370 (Gln thay thế bởi Arg). Chủng New CPV-2a của Việt Nam có 3 đột biến quan trọng tại amino acid vị trí 267 (Phe thay thế bởi Tyr), 324 (Tyr thay thế bởi Ile) và 440 (Thr thay thế bởi Ala). Nghiên cứu trước đây các chủng CPV-2a, CPV-2b tại Việt Nam có đột biến đơn trên VP2 tại vị trí amino acid số 5 (Ala thay thế bởi Gly) trên mèo, 267 (Phe thay thế bởi Tyr) trên chó, và 440 (Thr thay thế bởi Ala) trên loài báo (Ikedaet và ctv., 2000; Nakamura và ctv., 2004). Đột biến tại vị trí amino acid số 5 cũng đã được tìm thấy trên chó nuôi tại Trung Quốc (Wang et al., 2016). Đột biến amino acid vị trí 324 gần vị trí 323, đây là vị trí liên quan đến sự kết hợp với thụ thể vận chuyển sắt trên chó (canine transferrin receptor), sự đột biến vị trí 324 có thể ảnh hưởng sự lây nhiễm trên các tế bào. Nhiều báo cáo cho thấy đột biến vị trí 267 có thể

ảnh hưởng sự truyền lây và và gây nhiễm của CPV (Chang và ctv., 1992; Xu và ctv., 2012). Do đó, những đột biến này có thể thay đổi tính kháng nguyên của CPV trên chó nuôi tại Việt Nam. Theo kết quả nghiên cứu trước đây tại Trung Quốc của Lin và ctv. cho thấy chó nhiễm tự nhiên CPV-2c với đột biến amino acid vị trí 324 (Tyr thay thế bởi Ile) có sự bài thải virus trong thời gian dài (63 ngày). Ngoài ra, tất cả các chủng CPV-2c Việt Nam sở hữu arginine ở vị trí 370, đột biến này cũng được thấy trên một vài chủng CPV-2a (Guo ctv., 2013) và CPV-2c ở Trung Quốc (Zhao và ctv., 2015). Vị trí amino acid này gần với vị trí có liên quan đến ngưng kết tế bào hồng cầu (vị trí 375 và 377). Vị trí amino acid 370 cũng gần vị trí 379 và 384, đây là những vị trí mà ảnh hưởng sự kết hợp giữa thụ thể của virus và các loài vật chủ (Guo và ctv., 2013). Như vậy, những dữ liệu nghiên cứu đã chỉ ra rằng có sự tiến hóa của chủng CPV cổ điển tại Việt Nam. Nhiều đột biến quan trọng xảy ra đồng thời trên protein VP2 có thể ảnh hưởng đến tính kháng nguyên và tính gây bệnh của các chủng CPV-2c tại Việt Nam. Hiệu quả của các vaccin phòng bệnh do CPV-2 hiện nay (chủ yếu chủng virus vaccin là CPV-2a và CPV-2b) cần được nghiên cứu đánh giá do CPV-2c đang lưu hành chứa nhiều đột biến đồng thời trên protein VP2.

IV. KẾT LUẬN

CPV-2 là một trong những tác nhân chính gây tiêu chảy trên chó. Tỷ lệ lưu hành CPV-2 trên nhóm chó viêm ruột tiêu chảy (43,3%) cao hơn nhóm chó khỏe không biểu hiện lâm sàng (4,0%).

Có sự thay đổi genotyp chính lưu hành trên chó nuôi tại Thành phố Hồ Chí Minh từ genotyp CPV-2b sang genotyp CPV-2c.

Nhiều đột biến ở vị trí quan trọng đồng thời xảy ra trên protein VP2 (A5G, Y324I, F267Y, Q370R) ở các chủng CPV-2c được phát hiện, những đột biến này có thể ảnh hưởng tính kháng nguyên và tính sinh bệnh của virus hiện trường.

Bảng 1. Sự thay đổi amino acid trên gen VP2 của các chủng CPV-2 ở Việt Nam

		Vị trí thay đổi amino acid trên gen VP2 của các chủng CPV-2 ở Việt Nam																
Genotyp	5	13	87	101	265	267	F	S	300	305	D	Y	324	370	375	N	426	440
CPV-b (M38245)	A	P	M	I	T				A									
Các chủng CPV-2 trong nghiên cứu trước đây																		
HNI-2-13 (AB120724)	.	.	L	T	.	Y		A	G	Y		.	.	.	D	D	.	.
HNI-3-4 (AB120725)	.	.	L	T	.	.		A	G	Y		.	.	.	D	D	.	.
HNI-3-1 (AB120726)	.	.	L	T	.	.		A	G	Y		.	.	.	D	D	.	.
HCM-6 (AB120720)	.	.	L	T	.	.		A	G	Y		.	.	.	D	D	.	.
HCM-8 (AB120721)	.	S	L	T	K	.		A	G	Y		.	.	.	D	D	.	.
HCM-18 (AB120722)	.	.	L	T	.	Y		A	G	Y		.	.	.	D	D	.	.
HCM-23 (AB120723)	.	.	L	T	.	.		A	G	Y		.	.	.	D	D	.	.
HCM-4-1 (AB120727)	.	.	L	T	.	.		A	G	Y		.	.	.	D	E	.	.
Các chủng CPV-2 trong nghiên cứu này																		
Toàn bộ gen VP2 (các chủng phân lập) 1.755nt																		
CPV/dog/HCM2/2013	G	.	L	T	.	Y		A	G	Y		I	R	R	D	E	.	.
CPV/dog/HCM5/2013	G	.	L	T	.	Y		A	G	Y		I	R	R	D	E	.	.
CPV/dog/HCM6/2013	G	.	L	T	.	Y		A	G	Y		I	R	R	D	E	.	.
CPV/dog/HCM7/2013	G	.	L	T	.	Y		A	G	Y		I	R	R	D	E	.	.
CPV/dog/HCM8/2013	G	.	L	T	.	Y		A	G	Y		I	R	R	D	E	.	.
CPV/dog/HCM13/2013	G	.	L	T	.	Y		A	G	Y		I	R	R	D	E	.	.
CPV/dog/HCM14/2013	G	.	L	T	.	Y		A	G	Y		I	R	R	D	E	.	.
CPV/dog/HCM20/2013	G	.	L	T	.	Y		A	G	Y		I	R	R	D	E	.	.
CPV/dog/HCM22/2013	.	.	L	T	.	Y		A	G	Y		I	.	.	D	.	A	.
Một phần gen VP2 (phát hiện bằng PCR) 519nt																		
CPV/dog/HCM1/2013	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-	-	-	E	.	.
CPV/dog/HCM4/2013	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-	-	-	E	.	.
CPV/dog/HCM9/2013	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-	-	-	E	.	.
CPV/dog/HCM18/2013	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-	-	-	E	.	.
CPV/dog/HCM82/2015	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-	-	-	E	.	.
CPV/dog/HCM88/2015	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-	-	-	E	.	.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Buonavoglia C, Martella V, Pratelli A, Tempesta M, Cavalli A, Buonavoglia D, Bozzo, G, Elia G, Decaro N, Carmichael L. (2001). Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *J. Gen. Virol.* 82: 3021-3025.
2. Chang S.F, Sgro J.Y, Parrish C.R. (1992). Multiple amino acids in the capsid structure of canine parvovirus coordinately determine the canine host range and specific antigenic and hemagglutination properties. *J. Virol.* 66: 6858-6867.
3. Chollom S.C, Fyaktu E.J, Okwori A.E.J, Agada G.O.A, Hashimu G, Akele R.Y, Voumangai E.I, Dashe T, Egah D.Z.(2013). Molecular detection of canine parvovirus in Jos, Nigeria. *J. Vet. Med. Anim. Health* 5: 57-59.
4. Csagola A, Varga S, Lorincz M, Tuboly T. (2014). Analysis of the full length VP2 protein of canine parvoviruses circulating in Hungary. *Arch. Virol.* 159: 2441-2444.
5. Decaro N, Desario C, Addie D.D, Martella V, Vieira M.J, Elia G, Zicola A, Davis C, Thompson G, Thiry E, Truyen U, Buonavoglia C.(2007). Molecular epidemiology of canine parvovirus, Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 13: 1222-1224.
6. Gallo Calderón M, Wilda M, Boado L, Keller L, Malirat V, Iglesias M, Mattion N, La Torre J.(2012). Study of canine parvovirus evolution: comparative analysis of full-length VP2 gene sequences from Argentina and international field strains. *Virus Genes* 44:32-39.
7. Lin C.N, Chien C.H, Chiou M.T, Chueh L.L, Hung, M.Y, Hsu H.S.(2014). Genetic characterization of type 2a canine parvoviruses from Taiwan reveals the emergence of an Ile324 mutation in VP2. *Virol. J.*, 2014, 11: 39.
8. Nakamura M, Tohya Y, Miyazawa T, Mochizuki M, Phung H.T.T, Nguyen N.H, Huynh L.M.T, Nguyen L.T, Nguyen P.N, Nguyen P.V, Nguyen N.P.T, Akashi H. (2004). A novel antigenic variant of canine parvovirus from a Viet Nameese dog. *Arch. Virol.* 149: 2261-2269.
9. Phromnoi S, Sirinarumitr K, Sirinarumitr T.(2010). Sequence analysis of VP2 gene of canine parvovirus isolates in Thailand. *Virus Genes* 41, 23-29.
10. Xu J, Guo H.C, Wei Y.Q, Shu L, Wang J, Li J.S, Cao S.Z, Sun S.Q. (2012). Phylogenetic Analysis of canine parvovirus isolates from Sichuan and Gansu provinces of China in 2011. *Transbound. Emerg. Dis.* 62: 91-95.

Ngày nhận 20-11-2017

Ngày phản biện 15-2-2017

Ngày đăng 1-6-2018