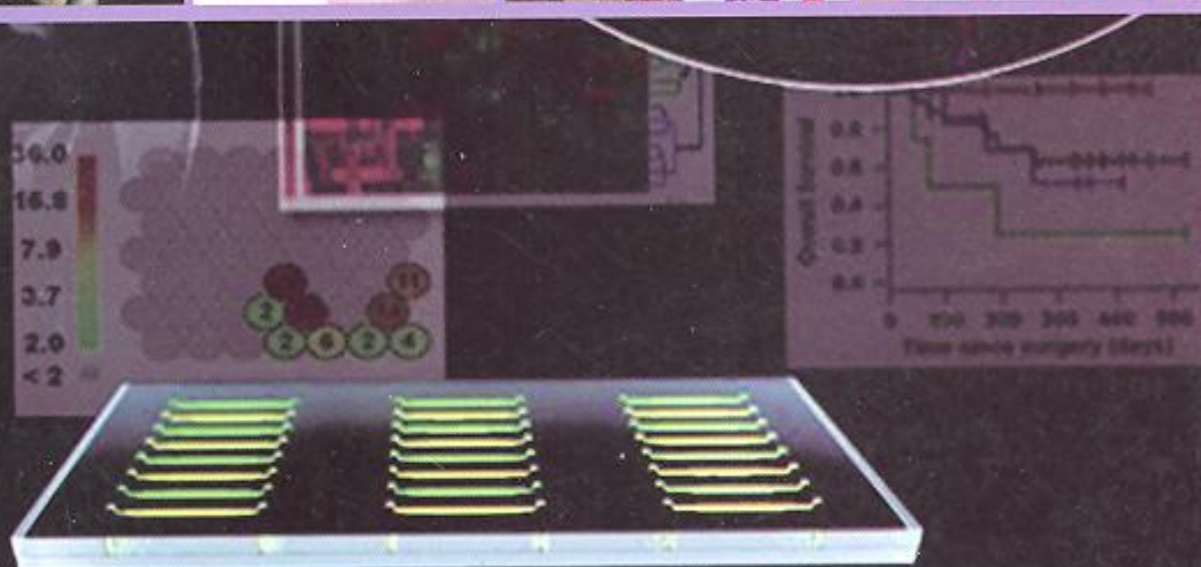
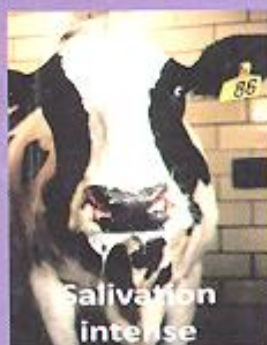


PGS. TS. NGUYỄN NGỌC HẢI

CHẨN ĐOÁN BỆNH ĐỘNG VẬT THEO KỸ THUẬT SINH HỌC PHÂN TỬ



NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP

PGS. TS. NGUYỄN NGỌC HẢI

**CHẨN ĐOÁN BỆNH ĐỘNG VẬT
THEO KỸ THUẬT SINH HỌC PHÂN TỬ**

NHÀ XUẤT BẢN NÔNG NGHIỆP
TP. Hồ Chí Minh - 2014

Nguyễn Ngọc Hải

Chẩn đoán bệnh động vật bằng kỹ thuật sinh học phân tử / Nguyễn Ngọc Hải. - H. : Nông nghiệp, 2014. - 304tr. ; 21cm

Thư mục: tr. 290-301

ISBN 9876046011637

1. Thú y 2. Bệnh động vật 3. Chẩn đoán 4. Kỹ thuật sinh học phân tử
636.089 - dc23

NNF0004p-CIP

MỤC LỤC

Lời nói đầu	9
Mở đầu	11
Chương 1: Nguyên lý chẩn đoán bệnh	19
1.1. Mục đích của xét nghiệm	19
1.2. Mục tiêu chẩn đoán bệnh	20
1.3. Một số khái niệm	21
1.4. Nhiễm trùng và bệnh nhiễm trùng	24
1.4.1. Chẩn đoán lâm sàng	25
1.4.2. Chẩn đoán phi lâm sàng	25
1.4.3. Tình trạng nhiễm trùng.....	26
1.4.4. Bệnh nhiễm trùng	27
1.4.5. Mẫu bệnh phẩm.....	31
1.5. Một vài nguyên tắc trong chẩn đoán phi lâm sàng	34
1.5.1. Độ tin cậy của kết quả xét nghiệm tùy thuộc vào nơi thực hiện các xét nghiệm và kỹ thuật xét nghiệm.....	34
1.5.2. Kết quả chỉ có giá trị trên mẫu và tại thời điểm xét nghiệm	35
1.5.3. Mẫu xét nghiệm phải đảm bảo 3 yếu tố: đồng đều, đại diện và tin cậy	36

1.5.4. Loại mẫu phù hợp với mục tiêu và kỹ thuật xét nghiệm	39
1.5.5. Bảo quản và vận chuyển mẫu đúng cách, phù hợp với mục tiêu và kỹ thuật xét nghiệm	40
1.5.6. Kỹ thuật xét nghiệm phải phù hợp với mục tiêu chẩn đoán.....	41
1.5.7. Sử dụng kết hợp các kỹ thuật xét nghiệm	42
1.6. Đọc và giải thích kết quả xét nghiệm trong chẩn đoán bệnh	44
Chương 2: Một số kỹ thuật phân tử ứng dụng trong chẩn đoán bệnh động vật.....	55
2.1. Các kỹ thuật xét nghiệm gen, DNA, RNA.....	56
2.1.1. Kỹ thuật PCR (Polymerase Chain Reaction)	57
2.1.2. Kỹ thuật nested PCR (nPCR).....	63
2.1.3. Kỹ thuật RT-PCR (Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction)	66
2.1.4. Kỹ thuật PCR định lượng (realtime PCR = rtPCR)	68
2.1.5. Kỹ thuật LAMP (Reverse Transcriptase Loop-Mediated Isothermal-Amplification).....	70
2.1.6. Kỹ thuật lai phân tử (Hybridization - Southern, Northern)	74
2.1.7. Kỹ thuật cắt phân đoạn đa hình (Restriction Fragment Length Polymorphism)	78
2.1.8. Kỹ thuật giải trình tự gen (Gene Sequencing).....	81

2.2. Kỹ thuật phát hiện virus, kháng nguyên, kháng thể ..	86
2.2.1. Kỹ thuật hóa mô miễn dịch (Immunohistochemistry - IHC).....	86
2.2.2. Kỹ thuật nuôi cấy tế bào (Cell culture).....	87
2.2.3. ELISA (Enzyme Link Immunosorbent Assay).....	92
2.2.4. Miễn dịch huỳnh quang (Immunofluorescence).....	97
Chương 3: Chẩn đoán bệnh do vi khuẩn	105
3.1. Chẩn đoán vi khuẩn <i>Salmonella</i>	108
3.1.1. Phương pháp miễn dịch.....	110
3.1.2. Chẩn đoán phân tử.....	114
3.1.3. Chẩn đoán bằng thực khuẩn thể (Bacteriophage) .	120
3.2. Chẩn đoán vi khuẩn <i>E. coli</i> nhóm STEC (Shiga-like toxin producing <i>E. coli</i>).....	123
3.2.1. Xác định độc tố Stx	126
3.2.2. Kỹ thuật miễn dịch từ phân tách (Immunomagnetic separation – IMS).....	137
3.3. Vi khuẩn <i>Pasteurella</i>	139
3.3.1. Đặc tính kháng nguyên của <i>Pasteurella multocida</i>	140
3.3.2. Giám định vi khuẩn <i>P. multocida</i> serotype B bằng kỹ thuật PCR	142
3.3.3. Kỹ thuật REP-PCR (Repetitive extragenic palindromic PCR).....	146
3.3.4. Phương pháp nested-PCR xác định serotype vi khuẩn <i>P. multocida</i>	147

3.4. Vi khuẩn <i>Mycoplasma</i>	148
3.4.1. Chẩn đoán phát hiện tác nhân	149
3.4.2. Phát hiện kháng thể	149
3.4.3. Quy trình chẩn đoán bệnh do <i>M. hyopneumoniae</i>	150
Chương 4: Chẩn đoán bệnh do virus	161
4.1. Bệnh Dịch tả heo (Classical Swine Fever hay Hog cholera).....	161
4.1.1. Xét nghiệm tìm kháng nguyên DTH.....	165
4.1.2. Xét nghiệm tìm kháng thể kháng virus DTH.....	176
4.2. Hội chứng rối loạn sinh sản hô hấp trên heo (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome – PRRS)	181
4.2.1. Phát hiện virus hoặc kháng nguyên virus PRRS... ..	189
4.2.2. Phương pháp phát hiện kháng thể trong huyết thanh (serology).....	207
4.3. Hội chứng suy nhược, còi trên heo sau cai sữa (Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome - PMWS) và Hội chứng viêm da thận trên heo thịt (Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome - PDNS).....	213
4.3.1. Xét nghiệm tìm virus PCV2 hoặc DNA của virus	219
4.3.2. Xét nghiệm ELISA tìm kháng thể đặc hiệu với PCV2	234
4.4. Bệnh Tiêu chảy thành dịch trên heo (Porcine Epidemic Diarrhea – PED)	236

4.4.1. Xét nghiệm tìm virus PED hoặc axit nhân của virus	238
4.4.2. Xét nghiệm ELISA tìm kháng thể đặc hiệu với virus PED	244
4.5. Bệnh Lở mồm long móng (Food and Mouth Disease - FMD)	246
4.5.1. Bệnh lở mồm long móng.....	249
4.5.2. Chẩn đoán bệnh FMD	251
4.5.3. Xác định tác nhân gây bệnh	255
4.5.4. Chẩn đoán phân biệt kháng thể thú nhiễm LMLM và được tiêm virus.....	269
4.6. Virus cúm (Influenzae virus)	270
4.6.1. Xác định tác nhân virus cúm gia cầm	274
4.6.2. Xét nghiệm xác định RNA của virus	281
Tài liệu tham khảo	290

LỜI NÓI ĐẦU

Chăn nuôi ngày càng phát triển theo xu hướng công nghiệp. Sự gia tăng quy mô đàn, cùng với sự hòa nhập của thế giới trong mọi lĩnh vực, việc mua bán vận chuyển thú gần như không có giới hạn về địa lý... dẫn đến áp lực dịch bệnh ngày càng cao, việc kiểm soát dịch bệnh trở nên khó khăn hơn rất nhiều so với trước đây. Ngày nay, chiến lược kiểm soát, phòng chống các bệnh truyền nhiễm nguy hiểm không thể có hiệu quả nếu chỉ dựa vào các phương pháp truyền thống thông thường, mà cần phải dựa vào những tiến bộ khoa học mới, những kỹ thuật sinh học phân tử. Nếu như trước đây, các kỹ thuật như ELISA, nhân bản gen (PCR), giải trình tự gen (sequencing), tạo dòng (cloning)... chỉ được sử dụng phổ biến trong chẩn đoán bệnh trên người, thì ngày nay những kỹ thuật này ngày càng được áp dụng rộng rãi trong chẩn đoán bệnh trên động vật. Quyển sách "Chẩn đoán bệnh động vật bằng kỹ thuật sinh học phân tử" được viết với mục đích giới thiệu với Quý độc giả một số kỹ thuật và nguyên tắc cơ bản trong chẩn đoán bệnh nhiễm trùng trên động vật. Ngoài ra, tác giả cũng muốn chia sẻ với Quý độc giả những kinh nghiệm trong việc chọn lựa các kỹ thuật và đánh giá kết quả xét nghiệm.