

ESTABLISHMENT OF A MOLECULAR PCR METHOD FOR THE DETECTION OF MURINE HEPATITIS VIRUS IN ICR MOUSE MODELS

Ngo Phi Phuong, Nguyen Chi Hieu, Nguyen Viet Anh, Nguyen Thi Ly,
Tran Thi Hong, Quach Thu Thao, Hoang Trung Hung*

National Institute for Control of Vaccines and Biologicals

Received 01 April 2026

Accepted 18 June 2026

Abstract: Mouse hepatitis virus (MHV) is one of the major viral pathogens requiring surveillance in laboratory mice. Various methods are currently available for MHV detection; among these, reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) is well suited to the needs and technical capacity of the Laboratory Animal Department. Using a cross-sectional descriptive design, we compared two primer pairs under different annealing temperatures and MHV concentrations and selected the optimal pair to assess specificity. The results showed that the RT-PCR protocol, employing primers targeting the membrane protein gene, successfully detected MHV at an optimal concentration of 2.8×10^2 TCID₅₀/mL, with an annealing temperature of 60°C.

Keywords: *Murine hepatitis virus (MHV), RT-PCR, laboratory mice.*

* Corresponding author:
E-mail address: Hthung210394@gmail.com
<https://doi.org/10.56086/jcvb.v6i2.260>

XÂY DỰNG QUY TRÌNH NHẬN DIỆN VI RÚT VIÊM GAN CHUỘT TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG ICR BẰNG PHƯƠNG PHÁP RT-PCR

Ngô Phi Phương, Nguyễn Chí Hiếu, Nguyễn Việt Anh,

Nguyễn Thị Lý, Trần Thị Hồng, Quách Thu Thảo, Hoàng Trung Hưng*

Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế

Nhận ngày 01 tháng 04 năm 2026

Chấp nhận đăng ngày 18 tháng 06 năm 2026

Tóm tắt: Vi rút gây viêm gan chuột (Mouse hepatitis virus - MHV) là một trong những tác nhân vi rút quan trọng cần tiến hành giám sát trên chuột nhắt thí nghiệm. Hiện nay có nhiều phương pháp nhận diện MHV, trong đó phương pháp RT-PCR phù hợp với nhu cầu và cơ sở vật chất của khoa Động vật Thực nghiệm. Bằng phương pháp mô tả cắt ngang, chúng tôi tiến hành so sánh 2 cặp môi ở các nhiệt độ bắt cặp và nồng độ MHV khác nhau, lựa chọn cặp môi tối ưu để đánh giá độ đặc hiệu. Kết quả cho thấy quy trình RT-PCR với cặp môi thiết kế trên đoạn gen protein màng nhận diện tác nhân MHV ở nồng độ tối ưu $2,8 \times 10^2$ TCID₅₀/ml với nhiệt độ bắt cặp môi là 60°C.

Từ khóa: Vi rút viêm gan chuột, RT-PCR, chuột nhắt.

1. Đặt vấn đề

Hàng năm, khoa Động vật Thực nghiệm (ĐVTN) – Viện Kiểm định Quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế (NICVB) cung cấp gần 25.000 con chuột nhắt cho các thử nghiệm như công hiệu, an toàn chung, an toàn đặc hiệu. Vì vậy, để đảm bảo chất lượng động vật trước khi giao cần tiến hành giám sát sức khỏe động vật định kỳ thông qua các phương pháp mổ khám, xét nghiệm huyết học, ký sinh trùng, xét nghiệm các tác nhân vi sinh. Trong đó, vi rút gây viêm gan chuột (Mouse hepatitis virus - MHV) là một trong những tác nhân vi rút quan trọng đầu tiên cần tiến hành giám sát trên chuột nhắt thí nghiệm. Theo khuyến cáo của Hiệp hội Động vật thí nghiệm Châu Âu (FELASA), tùy thuộc vào điều kiện của từng cơ sở nuôi động vật thí nghiệm cần giám sát khoảng 18 tác nhân vi khuẩn và

17 tác nhân vi rút có nguy cơ gây bệnh trên động vật thí nghiệm, có thể gây sai lệch kết quả nghiên cứu, thử nghiệm [1].

Trên thế giới đã có một số nghiên cứu về phương pháp nhận diện tác nhân MHV như: ELISA, RT-PCR, Realtime PCR, hóa mô miễn dịch. Tuy nhiên, tùy thuộc vào điều kiện cơ sở vật chất, mục đích nghiên cứu khác nhau mà mỗi cơ sở chăn nuôi lựa chọn phương pháp phát hiện khác nhau. Do nhu cầu thực tiễn tại khoa ĐVTN cần phát hiện định tính tác nhân MHV và nhằm giảm thời gian cũng như chi phí xét nghiệm, nhóm nghiên cứu lựa chọn phương pháp RT - PCR để xây dựng quy trình tại NICVB.

Căn cứ vào những lý do trên chúng tôi tiến hành “Xây dựng quy trình nhận diện tác nhân vi rút viêm gan chuột trên chuột nhắt trắng ICR bằng phương pháp RT-PCR” với 2 mục tiêu:

(1) Xây dựng quy trình nhận diện tác nhân vi rút viêm gan chuột trên chuột nhắt trắng ICR bằng phương pháp RT-PCR tại NICVB.

(2) Đánh giá độ đặc hiệu của quy trình nhận diện vi rút viêm gan chuột trên chuột nhắt trắng ICR bằng phương pháp RT-PCR tại NICVB.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: Quy trình nhận diện tác nhân vi rút viêm gan trên chuột nhắt trắng ICR bằng phương pháp RT-PCR.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

- Địa điểm nghiên cứu: Khoa Động vật thực nghiệm, Viện kiểm định Quốc gia Vắc xin và sinh phẩm y tế.

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 3 năm 2025 đến tháng 12 năm 2025.

2.3. Nguyên vật liệu, thiết bị sử dụng trong nghiên cứu

2.3.1. Mẫu thử

- Huyết thanh chuột nhắt ICR.

2.3.2. Mẫu chuẩn

Bảng 1. Mẫu đối chứng dùng trong nghiên cứu

STT	Tên mẫu	Hãng sản xuất	Mã chủng
1	Chứng dương Murine hepatitis virus	ATCC	VR-764
2	Chứng âm MCQG Rota virus	NICVB	MCQG.Ro.01
3	Chứng âm MCQT Parvo virus	NIBSC	12/208
4	Chứng âm MCQT SARS – CoV2 (NAT)	NIBSC	20/110

2.3.3. Chuẩn bị chủng chứng dương, chứng âm

- Hoàn nguyên các chủng với nước hồi chính theo COA của từng loại.

- Pha loãng thập phân chủng về nồng độ theo thiết kế thử nghiệm.

Bảng 2. Mẫu pha loãng đối chứng dùng trong nghiên cứu

STT	Tên mẫu	Nồng độ gốc IU/ml	Nồng độ pha loãng IU/ml
1	Murine hepatitis virus (MHV- A59)	$2,8 \times 10^6$ TCID50/ml ~ $4,00 \times 10^6$ IU/ml	$2,8 \times 10^3$ TCID50/ml ~ $4,00 \times 10^3$
2	MCQG Rota virus	$3,89 \times 10^6$	$3,89 \times 10^3$
3	MCQT Parvo virus	$1,41 \times 10^6$	$1,41 \times 10^3$
4	MCQT SARS – CoV2 (NAT)	$1,41 \times 10^4$	$1,41 \times 10^3$

2.3.4 Tiến hành quy trình RT - PCR

- RNA được tách chiết từ mẫu huyết thanh chuột ICR, thực hiện theo hướng dẫn của bộ kit QIAamp® Viral RNA.

- Phản ứng RT-PCR

Bảng 3. Công thức hóa chất chạy phản ứng RT-PCR

STT	Hóa chất	Thể tích (μL)
1	Buffer 5X One step	10
2	dNTP	2
3	Mồi xuôi	3
4	Mồi ngược	3
5	Enzyme	2
6	Nước DNA, RNA free	20
7	Mẫu	10
	Tổng thể tích	50

- Chu trình nhiệt:

Bảng 4. Chu trình nhiệt chạy RT-PCR

STT	Nhiệt độ	Thời gian	Số chu kỳ
1	50°C	30 phút	1 chu kỳ
2	95°C	15 phút	1 chu kỳ
3	94°C	0,5 phút	35 chu kỳ
4	Nhiệt độ nóng chảy (T _m)	0,5 phút	
5	72°C	1 phút	
6	4°C	∞	∞

- Điện di sản phẩm: sử dụng thạch agarose và dung dịch đệm TAE 1X.

- Đọc kết quả dưới đèn UV huỳnh quang.

2.3.5. Thiết bị, dụng cụ, hoá chất

- Thiết bị: Tủ an toàn sinh học cấp 2 (mã quản lý: LH 29-TN); Tủ âm (mã quản lý: IC 33-TN); Đèn đọc UV huỳnh quang (mã quản lý: EP 06-VR); Lò vi sóng (mã quản lý: MO 02-VR); Máy điện di ngang (mã quản lý: EP 08-VR); Máy lắc (mã quản lý: VT 29-VR); Máy li tâm (mã quản lý: CF 13-VR); Máy PCR (mã quản lý: PC 03-VR); Micropipet các loại đã được hiệu chuẩn, bảo dưỡng hàng năm theo tiêu chuẩn ISO/IEC 17025.

- Môi trường, hóa chất: One step RT-PCR, QIAamp® Viral RNA, Agarose, Buffer TAE 10X, 100bp ladder, Distilled

water DNase, RNase-free, Safeview, TE buffer, Cặp mồi.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp nghiên cứu: Mô tả cắt ngang.

2.5. Nội dung nghiên cứu

- Xây dựng quy trình nhận diện tác nhân MHV.

- Đánh giá độ đặc hiệu của quy trình nhận diện tác nhân MHV.

2.6. Thiết kế nghiên cứu

Bảng 5. Thiết kế nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu	Các bước thực hiện
Nội dung 1: Xây dựng quy trình nhận diện tác nhân MHV	<ul style="list-style-type: none"> - Lựa chọn và thiết kế môi: Chọn 1 cặp môi từ bài báo đã được công bố (môi 1) và thiết kế 1 cặp môi (môi 2) cùng trên protein màng (prM) là vị trí đặc hiệu của vi rút sử dụng bằng phần mềm BLAST. - Chạy quy trình thử nghiệm RT-PCR sử dụng chứng dương với 2 cặp môi và tối ưu hóa quy trình ở 3 dải nhiệt độ 60°C, 55°C, 50°C. - Chạy quy trình thử nghiệm với chứng dương, chứng âm để lựa chọn cặp môi tối ưu cho quy trình: + Chứng dương: Chủng MHV A59. + Chứng âm: dung dịch pha loãng và mẫu chứng Rota vi rút, Parvo vi rút, SARS-CoV-2. - Thử nghiệm được lặp lại 3 lần.
Nội dung 2: Đánh giá độ đặc hiệu của quy trình nhận diện vi rút viêm gan chuột	<ul style="list-style-type: none"> - Mẫu thử: Chủng MHV ở 3 nồng độ $2,8 \times 10^3$ TCID50/ml, $2,8 \times 10^2$ TCID50/ml, $2,8 \times 10^1$ TCID50/ml + huyết thanh 06 chuột đã được trộn với nhau. - Mẫu đối chứng: Huyết thanh chuột theo tỷ lệ 1:1 pha với chủng Rota vi rút, Parvo vi rút, SARS-CoV-2 nồng độ $2,8 \times 10^3$ TCID50/ml; - Chứng dương: Chủng MHV A59. - Chứng âm: Dung dịch pha loãng. - Chạy RT-PCR với cặp môi tối ưu với 3 lần thực hiện.

2.7. Phương pháp phân tích số liệu

Phân tích thống kê xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

3. Kết quả

3.1. Xây dựng quy trình nhận diện tác nhân MHV.

3.1.1. Lựa chọn cặp môi

Xác định trình tự gen của MHV chủng A59, sử dụng ngân hàng gen của NCBI [2].

- Xác định trình tự đoạn gen đích: Protein màng (Membrane protein) [2].

- Thiết kế môi trên đoạn gen đích:

+ Cặp môi theo TLTK [3]:

Môi xuôi: 5'- GGAAGTCTCTC-

GTTGGGCATTATACT -3'

Môi ngược: 5'- ACCACAAGATTAT-CATTTTCACAACATA -3'

Kích thước sản phẩm: 108 bp

+ Cặp môi thiết kế: Môi 2.

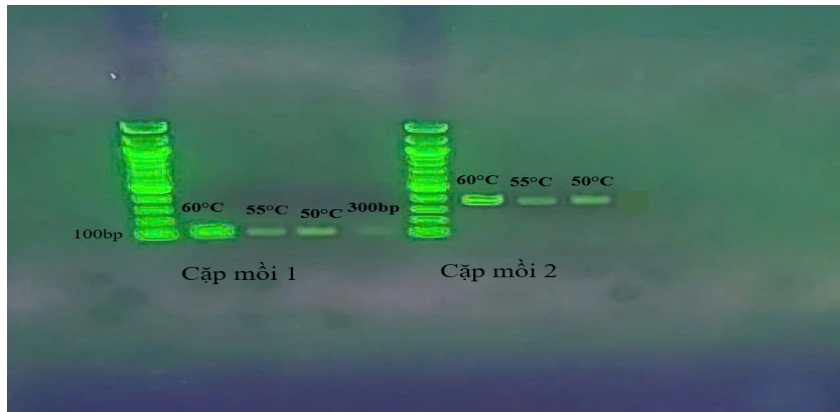
Môi xuôi: 5'- TTC GGT TAC ACG AGC CGT AG -3

Môi ngược: 5'- GAG AAA CCG GTG CCT AGC TT -3

Kích thước sản phẩm: 374 bp

3.1.2. Tối ưu nhiệt độ bắt cặp môi

Kết quả tối ưu hóa 2 cặp môi bằng cách chạy RT-PCR trên 3 dải nhiệt độ 50°C, 55°C và 60°C được thể hiện tại hình 1.



Hình 1. Kết quả chạy mẫu chứng dương trên 3 dải nhiệt độ theo thứ tự 60°C, 55°C, 50°C của cặp môi 1 (bên trái) và cặp môi 2 (bên phải).

Từ hình 1 cho thấy, cả 2 cặp môi đều phát hiện được chủng MHV-A59 với băng sáng ở vị trí 108 bp đối với cặp môi 1 và vị trí 374 bp đối với cặp môi 2. Ở nhiệt độ 60°C, băng điện di sáng rõ hơn so với hai nhiệt độ còn lại. Vì vậy, nhiệt độ này là nhiệt độ tối ưu cho quy trình nhân điện tác nhân MHV.

3.1.3. Chạy quy trình RT-PCR với chứng âm, chứng dương:

Kết quả chạy RT-PCR với chứng dương MHV, chứng âm SARS-CoV-2, Rota vi rút, Parvo vi rút, và dung dịch pha loãng (DIL) của 2 cặp môi sau khi thực hiện 6 lần được thể hiện tại bảng 6.

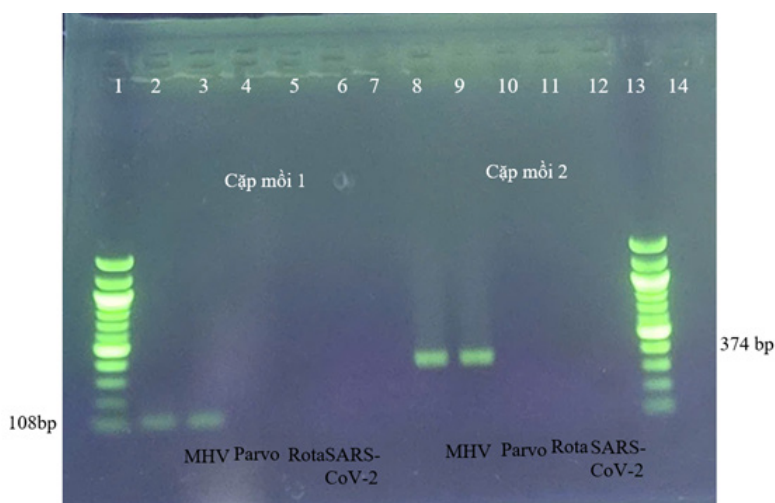
Bảng 6. Kết quả RT-PCR với chứng dương, chứng âm của hai cặp môi

Lần thực hiện	Cặp môi 1					Cặp môi 2				
	MHV	SARS CoV2	Rota	Parvo	DIL	MHV	SARS CoV2	Rota	Parvo	DIL
Lần 1	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Lần 2	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Lần 3	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Lần 4	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Lần 5	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Lần 6	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)

Trong đó: (+): Dương tính; (-): Âm tính

Kết quả chạy RT-PCR cho thấy 2 cặp môi đều phát hiện được chính xác tác nhân MHV mà không bắt cặp chéo với các tác nhân khác ở tất cả các lần thử

thử nghiệm. Tuy nhiên, cặp môi 2 (môi tự thiết kế) cho thấy băng sáng rõ hơn cặp môi đã được công bố.



Hình 2. Kết quả chạy điện di RT-PCR chứng dương và chứng âm đối với 2 cặp mồi

Thứ tự (từ trái sang phải): (1)(13) Thang chuẩn, (2)(3)(8)(9) Mẫu chứng dương, (4)(10) Parvo vi rút, (5)(11) Rota vi rút, (6)(12) SARS-CoV-2 vi rút, (7) Chứng âm DIL

Kết quả cho thấy mẫu chứng dương cho băng sáng trên thạch điện di và không bắt cặp với các tác nhân vi rút khác. Hơn nữa, cặp mồi thiết kế cho kết quả dễ quan sát hơn cho quy trình RT-PCR nhận diện tác nhân MHV thực hiện tại Viện. Vì vậy, cặp mồi này được lựa chọn để đánh giá độ đặc hiệu của quy trình.

3.2. Đánh giá độ đặc hiệu của quy trình RT-PCR nhận diện tác nhân MHV

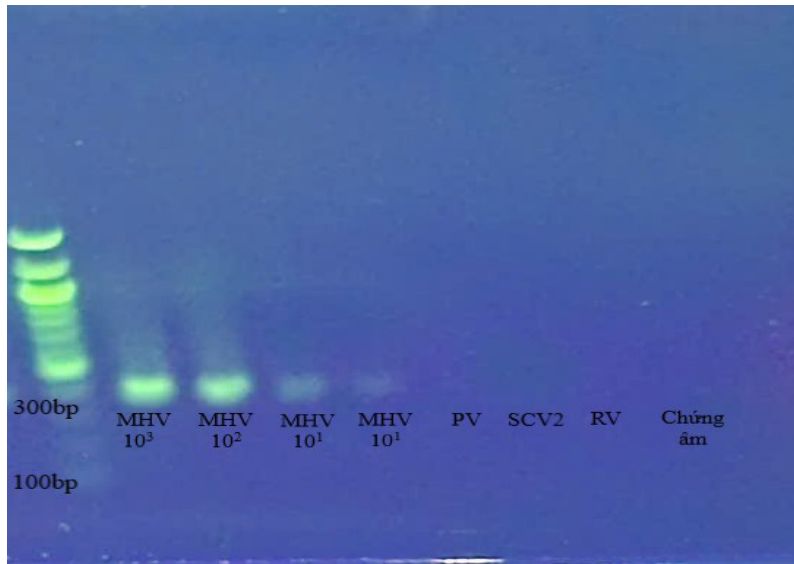
Độ đặc hiệu của quy trình nhận diện tác nhân MHV được thực hiện 3 lần với cặp mồi thiết kế (mồi 2) và chứng dương ở 3 nồng độ $2,8 \times 10^3$ TCID₅₀/ml, $2,8 \times 10^2$ TCID₅₀/ml, $2,8 \times 10^1$ TCID₅₀/ml, trộn với huyết thanh (HT) chuột nhắt. Mẫu đối chứng được trộn giữa huyết thanh chuột nhắt và một trong ba loại chủng vi rút Parvo, Rota và SARS-CoV-2. Kết quả độ đặc hiệu của quy trình được trình bày ở bảng 7.

Bảng 7. Kết quả đánh giá độ đặc hiệu

Mẫu	Lần TH	1	2	3
MHV (10 ³) + HT		(+)	(+)	(+)
MHV (10 ²) + HT		(+)	(+)	(+)
MHV (10 ¹) + HT		(+)	(+)	(+)
Sars CoV2 + HT		(-)	(-)	(-)
Parvo + HT		(-)	(-)	(-)
Rota + HT		(-)	(-)	(-)
Chứng dương		(+)	(+)	(+)
Chứng âm DIL		(-)	(-)	(-)

Trong đó: HT: Huyết thanh; (+): Dương tính; (-): Âm tính; Lần TH: lần thực hiện.

Ở tất cả 3 lần kiểm tra quy trình đã nhận trong thử nghiệm, không bắt cặp chéo với diện chính xác chứng dương ở cả 3 nồng độ các chứng âm khác.



Hình 3. Kết quả chạy điện di RT-PCR chứng dương và chứng âm đối với 2 cặp mồi

Thứ tự (Từ trái sang phải): Thang chuẩn, mẫu chứng dương (10^3) + HT, MHV (10^2) + HT, MHV (10^1) + HT, MHV (10^1) + HT, Parvo vi rút + HT, Sars CoV2 + HT, Rota vi rút + HT, mẫu chứng âm DIL.

Từ hình 3 cho thấy băng điện di sáng ở các mẫu đặc hiệu với mẫu thử, không có băng ở các mẫu đối chứng (mẫu Parvo, Rota và SARS-CoV-2 và mẫu chứng âm) chứng tỏ cặp mồi đặc hiệu với chủng MHV và không bắt chéo với các chủng khác. Ngoài ra, quy trình có thể phát hiện được tác nhân MHV ở nồng độ $2,8 \times 10^1$ TCID₅₀/ml có thể thấy vạch dương tính mờ hơn ở nồng độ $2,8 \times 10^2$ TCID₅₀/ml. Ở nồng độ $2,8 \times 10^3$ TCID₅₀/ml vạch dương tính có độ đậm và sáng rõ tương đương với nồng độ $2,8 \times 10^3$ TCID₅₀/ml nên được lựa chọn là nồng độ tối ưu phát hiện của quy trình này.

4. Bàn luận

4.1 Xây dựng quy trình nhận diện tác nhân vi rút viêm gan chuột

Theo David G. Besselsen và cộng sự năm 2002, vùng gen M của vi rút Corona ở loài gặm nhấm là vùng gen được bảo tồn cao, thích hợp được sử dụng cho việc thiết kế mồi và đầu dò đặc hiệu với tất cả các chủng MHV và RCV (Rat Corona virus) [3]. Các nghiên cứu độc lập của tác giả Hye-young Wang (2024) và Xiao Wang (2022) sử dụng phương pháp realtime PCR để phát hiện tác nhân MHV cũng xây dựng các cặp mồi và đầu dò dựa trên vùng đặc hiệu của gen M [4,5].

David G. Besselsen và cộng sự năm 2002 thiết kế cặp mồi đặc hiệu phát hiện gen M của vi rút MHV có kích thước 108 bp [3]. Trình tự đoạn gen đích này đã phát hiện được chính xác MHV ở tất cả các lần

thử nghiệm, tuy nhiên đoạn gen khá ngắn, dễ gây nhầm lẫn với sản phẩm phụ của kỹ thuật PCR tạo ra hay khi cặp mồi bị bắt cặp với nhau. Do đó, để dễ dàng quan sát hơn, chúng tôi tự thiết kế cặp mồi phát hiện gen M của vi rút MHV có kích thước là 374 bp. Nhờ đó, sản phẩm PCR nhận diện MHV tách biệt với các sản phẩm phụ RT-PCR và kích thước này tăng độ đặc hiệu cho chủng MHV.

Tối ưu nhiệt độ gắn mồi của phản ứng RT-PCR

Mỗi cặp mồi sẽ có một nhiệt độ tối ưu riêng mà ở đó các đoạn mồi sẽ gắn đặc hiệu và hiệu quả nhất vào đoạn gen đích. Nhiệt độ này thường nằm trong khoảng 50°C - 60°C và được tính toán dựa trên nhiệt độ nóng chảy của cặp mồi (T_m). Tuy nhiên, nhiệt độ bắt cặp cũng bị ảnh hưởng theo công nghệ của công ty tổng hợp mồi, kit RT-PCR đang dùng tại phòng thí nghiệm, máy PCR sử dụng trong phản ứng. Do đó, việc tìm kiếm nhiệt độ tối ưu của cặp mồi phát hiện MHV phù hợp với hoá chất và thiết bị đang được sử dụng tại Khoa ĐVTN, NICVB là yêu cầu cần thiết.

Trong việc xây dựng quy trình RT-PCR để phát hiện MHV tại Khoa ĐVTN, chúng tôi tối ưu nhiệt độ cho 2 cặp mồi bằng phương pháp Gradient nhiệt độ. Cố định nhiệt độ các bước biến tính và kéo dài, trong khi thiết lập nhiệt độ gắn mồi dao động tại 3 mức nhiệt độ 50°C, 55°C và 60°C. Thử nghiệm được lặp lại 3 lần để đảm bảo xác thực độ lặp lại của quy trình thí nghiệm. Nhiệt độ gắn mồi tối ưu nhất được chọn là nhiệt độ mà ở đó sản phẩm RT-PCR thu được không có vạch phụ và độ đậm của băng trên thạch điện di cao nhất.

Kết quả cho thấy cả 2 cặp mồi trong thí nghiệm đều tương thích với nhiệt độ gắn mồi là 60°C, đều nhận diện chính xác tác nhân MHV và không có sự bắt cặp chéo trong nghiên cứu.

4.2. Đánh giá độ đặc hiệu của quy trình nhận diện tác nhân MHV

Một số vi rút có thể gây bệnh trên chuột được sử dụng trong thí nghiệm để khẳng định cặp mồi chúng tôi sử dụng chỉ đặc hiệu với vi rút MHV mà không bắt cặp với các vi rút khác gây nên hiện tượng dương tính giả.

Đối với các phương pháp nhận diện tác nhân MHV đã được công bố trên thế giới, phương pháp nhận diện bằng RT-PCR có độ nhạy và nồng độ phát hiện tối ưu tương đối tốt. Nhóm nghiên cứu đã xác định độ nhạy của phương pháp này khoảng $2,8 \times 10^2$ TCID₅₀/ml và có thể thấy vạch dương tính mờ hơn ở nồng độ $2,8 \times 10^1$ TCID₅₀/ml. Trong khi phương pháp ELISA có giới hạn phát hiện cao hơn tương đương khoảng $10^3 - 10^5$ TCID₅₀/ml [6]. Điều đó chứng tỏ phương pháp RT-PCR có hiệu quả tốt và phù hợp áp dụng để nhận diện tác nhân MHV tại khoa Động vật thực nghiệm.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã xác định được nhiệt độ tối ưu để chạy phản ứng RT-PCR là 60°C, cặp mồi tối ưu cho phản ứng là cặp mồi thiết kế gồm: Mồi xuôi: 5'- TTC GGT TAC ACG AGC CGT AG -3'; Mồi ngược: 5'- GAG AAA CCG GTG CCT AGC TT -3'; Kích thước sản phẩm: 374 bp

Quy trình nhận diện vi rút viêm gan chuột trên chuột nhắt trắng ICR bằng phương pháp RT-PCR được xây dựng đạt tiêu chí độ đặc hiệu cao.

Tài liệu tham khảo

- [1] Mähler M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen-Wilcke B, Pritchett-Corning K, et al. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab Anim.* 2014;48(3):178-192. doi:10.1177/0023677213516312
- [2] National Center for Biotechnology Information (NCBI). Murine hepatitis virus strain A59, complete genome [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2020 [cited 2026 Mar 11]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_048217.1/
- [3] Besselsen DG, Wagner AM, Loganbill JK. Detection of rodent coronaviruses by use of fluorogenic reverse transcriptase-polymerase chain reaction analysis. *Comp Med.* 2002;52(2):111-116.
- [4] Wang X, Sui X, Ma Y, Li M, Zhang X, Fei D, et al. Real-time reverse transcription recombinase polymerase amplification for rapid detection of murine hepatitis virus. *Front Microbiol.* 2022;13:955268. doi:10.3389/fmicb.2022.955268
- [5] Wang HY, Ahn J, Lee J, Kang SC, Kim H. Performance of three multiplex real-time PCR assays for simultaneous detection of 12 infectious pathogens in mice affected with respiratory and digestive diseases. *Front Microbiol.* 2024;15:1335042. doi:10.3389/fmicb.2024.1335042
- [6] MyBioSource. Mouse Hepatitis Virus (MHV) ELISA Kit [Internet]. San Diego (CA): MyBioSource, Inc.; c2025 [cited 2026 Mar 11]. Available from: <https://www.mybiosource.com/mouse-elisa-kits/hepatitis-virus-mhv/9718202>