

ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC PHÂN TỬ CỦA VIRUS GÂY BỆNH CA-RÊ (CDV) PHÂN LẬP ĐƯỢC TRÊN CHÓ TẠI TỈNH TRÀ VINH

Nguyễn Thị Anh Thu¹, Châu Công Đáng², Trần Ngọc Bích^{3*},
Lê Quang Trung³, Đặng Thị Mỹ Tú⁴, Vân Mỹ Tiên⁵, Nguyễn Thúy An⁶

*Tác giả liên hệ email: tnbich@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Bệnh Ca-rê (CD) do *Canine distemper virus* (CDV) gây ra là một bệnh có tỷ lệ mắc và tỷ lệ chết cao trên đàn chó cảnh ở Việt Nam. Phân tích trình tự gen của các chủng CDV từ các khu vực địa lý khác nhau cho thấy có rất nhiều sự biến đổi trong bộ gen của virus, đặc biệt là ở gen H. Trong nghiên cứu này, gen H được phân lập từ 5 mẫu bệnh phẩm của chó dương tính với CDV thông qua bộ kit xét nghiệm nhanh (Gemc Technology - Trung Quốc). Các gen H được khuếch đại bằng cách sử dụng cặp mồi đặc hiệu, khuếch đại một đoạn 1.642 bp của gen H. Các sản phẩm PCR sau khi khuếch đại được xác định bằng phương pháp điện di trên gel agarose 2,0%. Các sản phẩm PCR dương tính tiếp tục được tinh sạch và gửi đến phòng xét nghiệm công ty Sinh hóa Phù Sa để giải trình tự DNA bằng phương pháp Sanger. Kết quả phân tích các đoạn gen khuếch đại cho thấy mức độ tương đồng về trình tự amino acid của đoạn gen H giữa các chủng virus thực địa là rất cao (87,74 - 100%); mức độ tương đồng amino acid của chủng CDV thực địa so với amino acid của các chủng CDV từ GenBank là 78,82 - 98,64%. Phân tích cây phát sinh loài cho thấy các chủng CDV ở Trà Vinh thuộc kiểu gen Asia 1 và America 1.

Từ khóa: Bệnh Ca-rê, cây phả hệ, chó, gen hemagglutinin, tỉnh Trà Vinh.

Molecular biology characteristics of *Canine distemper virus* (CDV) isolated in dog in Tra Vinh province

Nguyen Thi Anh Thu, Chau Cong Dang, Tran Ngoc Bich,
Le Quang Trung, Dang Thi My Tu, Van My Tien, Nguyen Thuy An

SUMMARY

Carré disease (CD) caused by *Canine distemper virus* (CDV) is a disease having the high mortality and infection rate in the ornamental/pet dogs in Viet Nam. The result of analyzing gene sequences of the CDV strains in the different geographical areas showed that the genome of CDV had a lot of variations, especially in the H gene. In this study, H gene was isolated from 5 positive dog samples with CDV by using rapid test kit (Gemc Technology - China). The H gene was amplified by the specific primers, amplifying a H gene fragment with 1.642 bp. The PCR products after amplifying were determined by electrophoresis on 2.00% agarose gel. The positive PCR products were continuously purified and sent to the laboratory of Phu Sa Biochemical Company for DNA sequencing by using Sanger method. The result of analyzing the gene fragments showed that similarity level on amino acid sequence of H gene fragment among the CDV field virus strains was very high (87.74 - 100%); the amino acid similarity level of the CDV field virus strains compared to the amino acid similarity level of CDV strains in GenBank was 78.82 - 98.64%. The result of analyzing phylogenetic tree showed that the CDV strains isolated in Tra Vinh province belonged to genotypes Asia 1 and America 1.

Keywords: Carré disease, phenogenetic tree, dog, hemagglutinin gene, Tra Vinh province.

¹. Bộ môn Chăn nuôi - Thú y, khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

². Học viên cao học ngành Thú y, Khoa Nông nghiệp - Thủy sản, Trường Đại học Trà Vinh

³. Bộ môn Thú y, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

⁴. Trường đại học Cửu Long

⁵. Công ty Bảo Minh Châu

⁶. Công ty thuốc Thú y - Thủy sản Sagophar

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Canine distemper virus (CDV) thuộc chi *Morbillivirinae*, họ *Paramyxoviridae* là một trong những tác nhân chính gây bệnh đường ruột nguy hiểm ở chó con (3 - 6 tháng tuổi) với các triệu chứng đặc trưng trên hệ tiêu hóa, hô hấp và thần kinh (Luo *et al.*, 2016; Marin *et al.*, 2019). CDV là một virus tương đối lớn (đường kính 150 - 250 nm) với cấu trúc xoắn ốc được bao bọc bởi một lớp vỏ lipoprotein. Nucleocapsid chứa một sợi đơn RNA không phân đoạn gồm khoảng 15.690 nucleotide mã hóa cho 1 protein không cấu trúc (C) và 6 protein cấu trúc gồm: large protein (L), haemagglutinin (H), phosphoprotein (P), nucleocapsid protein (N), fusion protein (F) và matrix protein (M) (Sidhu *et al.*, 1993; Gamiz *et al.*, 2011). Gen haemagglutinin (gen H) mã hóa cho protein H là một trong những gen phổ biến được sử dụng để phân tích mối quan hệ di truyền giữa các chủng CDV khác nhau trên thế giới dựa vào đặc tính dễ biến đổi của đoạn gen này (Gamiz *et al.*, 2011; Dung *et al.*, 2017).

Dựa trên cơ sở giải trình tự đầy đủ gen H của các chủng CDV được xác định trên toàn thế giới, có ít nhất 14 kiểu gen chính đang lưu hành bao gồm America 1 (phần lớn các chủng vaccine), America 2, South America 1, South America 2, South America 3, Asia 1, Asia 2, Asia 3, Asia 4, Europe, European wildlife, Rockborn like, Africa và Artic (Guo *et al.*, 2013; Espinal *et al.*, 2014; Dung *et al.*, 2017). Mặc dù đã có rất nhiều nghiên cứu về đặc điểm di truyền của CDV được thực hiện và đã giải mã thành công các trình tự gen đầy đủ của virus. Các nghiên cứu về sự biến đổi đặc điểm di truyền của CDV vẫn đang được tiếp tục thực hiện bởi đặc tính dễ biến đổi của virus và tính phổ biến của bệnh Ca-rê trên thực địa.

Mặc dù đã có vaccine phòng bệnh Ca-rê lưu hành phổ biến trên thị trường, bệnh Ca-rê vẫn là một bệnh rất phổ biến trên đàn chó tại Việt Nam (Tô Du và Xuân Giao, 2006; Trần Văn Nền và *ctv.*, 2017). Theo kết quả nghiên cứu của Trần Thị Thảo và *ctv.* (2019), tỷ lệ chó mắc bệnh Ca-rê tại thành phố Trà Vinh là khá cao (10,10%).

Tuy nhiên, các nghiên cứu hiện nay chỉ tập trung vào các đặc điểm dịch tễ học và sự lưu hành của virus trên địa bàn, vẫn chưa có nghiên cứu về các đặc điểm di truyền của CDV được báo cáo tại tỉnh Trà Vinh. Do đó, nghiên cứu về đặc điểm di truyền của virus gây bệnh Ca-rê vẫn là một vấn đề rất cần thiết tại tỉnh Trà Vinh hiện nay. Trên cơ sở đó, nghiên cứu góp phần giúp hiểu rõ hơn về đặc điểm di truyền và sự biến đổi của virus, góp phần làm sáng tỏ đặc điểm của các chủng virus thực địa đang lưu hành tại tỉnh Trà Vinh.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu thập mẫu bệnh phẩm

Tổng số 5 mẫu bệnh phẩm từ dịch tiết mắt, mũi của chó mắc bệnh Ca-rê (được chẩn đoán dương tính bằng kit CDV test của công ty Gemc Technology - Trung Quốc) được thu thập từ tháng 1 đến tháng 6 năm 2020 ở các phòng mạch Thú y tại tỉnh Trà Vinh. Các mẫu bệnh phẩm được cho vào ống eppendorf có chứa sẵn 300 µl dung dịch đệm PBS (phosphate buffer saline) và bảo quản ở -70°C tại phòng thí nghiệm chuyên khoa, trường Đại học Trà Vinh cho đến khi được phân tích.

2.2. Tách chiết ARN

Việc tách chiết ARN tổng số từ các mẫu bệnh phẩm (bảo quản trong điều kiện -70°C) được thực hiện theo quy trình tại phòng thí nghiệm của công ty Phù Sa Biochem. Mẫu sau khi được tách chiết ARN được sử dụng ngay cho phản ứng RT-PCR hoặc bảo quản ở -70°C tới khi được sử dụng.

2.3. Phản ứng phiên mã ngược

Thực hiện phản ứng phiên mã ngược tạo cDNA theo hướng dẫn của bộ cDNA Synthesis kit (Công ty Phù Sa Biochem). Chu trình nhiệt cho phản ứng tạo cDNA trên máy luân nhiệt P25 (Công ty Phù Sa Biochem) như sau: tổng hợp cDNA ở 50°C trong 30 phút, giai đoạn biến tính enzyme ở 95°C trong 5 phút.

2.4. Khuếch đại vùng gen H và giải trình tự

Khuếch đại toàn bộ vùng gen H của CDV bằng cặp mồi đặc hiệu: mồi xuôi ITS1 (5'-CGTC-CACTGTGCGTGGATCT-3') và mồi ngược ITS2 (5'-CCATGGTATAGCCTCAGCC-3') với chiều dài sản phẩm là 821 bp (Bi *et al.*, 2015). Phản ứng khuếch đại sản phẩm được tiến hành trong máy luân nhiệt P25 (Công ty Phù Sa Biochem) theo chu kỳ nhiệt như sau: tiền biến tính ở 95°C trong 3 phút, sau đó lặp lại 30 chu kỳ của giai đoạn biến tính ở 94°C trong 30 giây, gắn mồi ở 45°C trong 1 phút, tổng hợp sợi mới ở 72°C trong 1 phút 30 giây và hoàn chỉnh ở 72°C trong 15 phút. Các sản phẩm PCR sau khi khuếch đại được quan sát bằng cách sử dụng điện di trên gel agarose 2,00% ở hiệu điện thế 90V trong 30 phút trên máy điện di E100 (Công ty Phù Sa Biochem). Những mẫu PCR dương tính được tinh sạch bằng Gel extraction kit (Jena Bioscience, Đức) theo quy trình tinh sạch của nhà sản xuất. Giải trình tự sản phẩm PCR bằng phương pháp Sanger cải tiến trên hệ thống ABI 3130 (Applied biosystem 3s, Mỹ).

2.5. Phân tích phát sinh loài

Các trình tự nucleotide từ các mẫu thực địa được so sánh với các trình tự tham chiếu của chủng America 1 (AB472690) và Asia 1 (LC159584) trên GenBank bằng phần mềm BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Xác định nguồn gốc phát sinh loài của CDV dựa trên cơ sở trình tự amino acid gen H của chủng virus thực địa tại Trà Vinh bằng phần mềm MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) version 6 (Tamura *et al.*, 2013). Sử dụng phương pháp test Maximum likelihood với giá trị bootstrap 1.000 lần lặp lại. Các gen H tham chiếu sử dụng để xây dựng cây phả hệ được thu thập từ dữ liệu trên GenBank.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả giải trình tự gen H của các chủng CDV tại Trà Vinh

Gen H là một trong những gen phổ biến được

sử dụng để phân tích mối quan hệ di truyền giữa các chủng CDV khác nhau trên thế giới dựa vào đặc tính dễ biến đổi của đoạn gen này (Gamiz *et al.*, 2011; Dung *et al.*, 2017). Sử dụng cặp mồi dựa theo nghiên cứu của Bi *et al.* (2015) để giải trình tự gen H của CDV, các sản phẩm thu được từ 5 mẫu virus thực địa có kích thước 1.642 bp (546 amino acid) được sử dụng để phân tích các đặc điểm phân tử và để thiết lập cây phát sinh loài. Các trình tự gen sau khi giải trình tự được kiểm tra bằng phần mềm BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) nhằm khẳng định chính xác trình tự gen giải trình tự là virus Ca-rê. Kết quả so sánh trình tự gen H của virus Ca-rê gây bệnh trên chó tại Trà Vinh với các chủng virus của GenBank cho thấy có tỷ lệ tương đồng rất cao (tỷ lệ tương đồng cao nhất 98,45%) với các chủng virus Ca-rê khác lưu hành trên thế giới, đặc biệt là các chủng đã được công bố trước đó tại Việt Nam và Trung Quốc. Điều này khẳng định đã giải trình tự thành công đoạn gen H của virus Ca-rê gây bệnh trên chó tại Trà Vinh.

3.2. So sánh mức độ tương đồng về trình tự amino acid

Dựa trên sự mã hóa nên các amino acid tương ứng từ gen H, sử dụng phần mềm MEGA 6 để phân tích sự tương đồng về trình tự amino acid của 5 chủng CDV thực địa. Kết quả được trình bày ở bảng 1.

Kết quả phân tích cho thấy, chủng virus thực địa có mức độ tương đồng về trình tự amino acid ở gen H đạt tỷ lệ khá cao từ 87,74 - 100%. Sự tương đồng về amino acid giữa các chủng thực địa với các chủng khác trên GenBank là 78,82 - 98,64%. Chủng TV3 và TV10 có tỷ lệ tương đồng rất cao (98,64%) so với chủng CDV phân lập tại Trung Quốc năm 2010 (HM623891). Tương tự, nghiên cứu của Trần Văn Nền và ctv. (2017), chủng CDV thực địa có mức độ tương đồng về amino acid ở gen H đạt tỷ lệ là 89,38 - 99,50%; sự tương đồng về amino acid của gen H giữa chủng virus thực địa với chủng virus trong vacxin đạt tỷ lệ là 89,39 - 99,17%. Guo *et al.* (2013) đã chứng minh rằng, chủng CDV phát hiện

Bảng 1. Sự tương đồng về trình tự amino acid của gen H giữa những chủng virus nghiên cứu và một số chủng khác trên GenBank

Chủng	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1																	
2	87,74																
3	88,79	99,15															
4	88,79	99,15	100,00														
5	88,37	99,49	99,66														
6	88,16	97,94	98,64	98,64	98,29												
7	88,16	92,41	92,99	92,99	92,60	92,41											
8	78,82	84,24	84,91	84,91	84,69	84,02	90,83										
9	88,58	93,94	94,50	94,50	94,13	93,94	92,60	83,56									
10	88,99	92,79	92,99	92,99	92,60	92,41	91,82	82,87	92,79								
11	98,64	87,95	88,99	88,99	88,58	88,37	88,16	79,07	88,79	88,99							
12	89,20	92,99	93,56	93,56	93,18	92,99	92,99	84,24	94,13	92,21	89,41						
13	88,99	93,56	94,13	94,13	93,75	93,75	92,99	84,24	93,94	92,99	89,20	94,50					
14	89,81	94,88	95,43	95,43	95,06	94,88	93,56	84,69	96,16	94,13	90,02	95,25	95,06				
15	90,02	94,50	95,06	95,06	94,69	94,50	93,18	84,69	95,80	93,56	90,22	94,88	94,50	96,70			
16	88,99	93,56	94,13	94,13	93,75	93,37	92,21	83,10	94,69	93,18	89,20	94,69	93,75	95,80	95,98		
17	89,20	93,94	94,50	94,50	94,13	93,75	92,79	83,33	95,06	94,13	89,41	94,50	94,13	96,16	95,98	96,88	

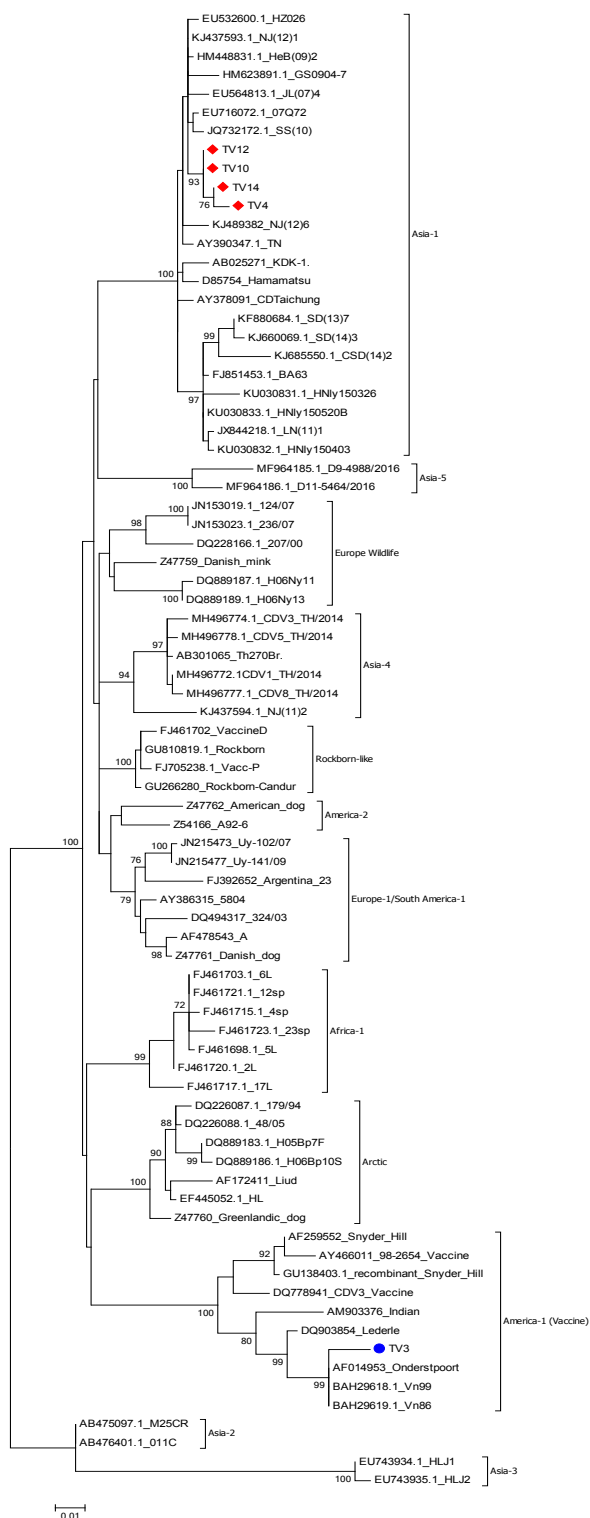
(1) CDV/Dog/TV3/2020, (2) CDV/Dog/TV4/2020, (3) CDV/Dog/TV10/2020, (4) CDV/Dog/TV12/2020, (5) CDV/Dog/TV14/2020, (6) CDV/Dog/China/HM623891/2010, (7) CDV/Dog/Japan/AB475097/2013, (8) CDV/Dog/China/EU743934/2008, (9) CDV/Dog/Thailand/MH496778/2019, (10) CDV/Dog/Indan/MF964186/2018, (11) CDV/Dog/Vietnam/BAH29619/2016, (12) CDV/Dog/Denmark/Z47760/1997, (13) CDV/Dog/South Africa/FJ461720/2010, (14) CDV/Dog/Italy/GU810819/2011, (15) CDV/Mink/Denmark/Z47759/1997, (16) CDV/Dog/America/Z47762/1997, (17) CDV/Dog/Denmark/Z47761/1997

tại Trung Quốc có mức độ tương đồng về amino acid ở gen H là 94,40 - 99,80% so với các chủng CDV trên thế giới. Ngoài ra, nghiên cứu của Swati *et al.* (2015) cho biết mức độ tương đồng về trình tự amino acid ở gen H của chủng CDV tại Ấn Độ đạt tỷ lệ khá cao (96,30 - 97,00%).

Protein H nằm trong lớp vỏ lipoprotein của CDV, đóng vai trò quan trọng trong việc bám dính của virus vào tế bào vật chủ và là một yếu tố quyết định khả năng gây bệnh. Protein H có mức độ biến đổi trình tự cao

và sự thay đổi nhỏ trong trình tự amino acid có thể làm thay đổi khả năng xâm nhập của *morbillivirus* với các loại tế bào khác nhau; đồng thời dẫn tới sự thay đổi độc lực của virus (Greene và Appel, 1998; Carpenter *et al.*, 1998). Mặt khác, có nhiều bộ ba nucleotide cùng mã hóa cho một amino acid duy nhất, do đó dẫn đến sự sai khác khi so sánh trình tự nucleotide và amino acid giữa các chủng virus với nhau (Trần Văn Nền và ctv., 2017).

3.3. Xây dựng cây phả hệ của các chủng CDV phân lập được tại Trà Vinh



Hình 1. Cây phả hệ dựa trên trình tự amino acid gen H của các chủng CDV thực địa (546 amino acid)

Các chủng CDV được phân lập trong nghiên cứu được thể hiện bằng màu sắc khác so với các chủng CDV trên GenBank. Số truy cập GenBank được thể hiện ở đầu phân nhánh và được ngăn cách bởi dấu cách. Số truy cập của 73 chủng tham chiếu đã được thu gọn trong các nhánh như sau: Asia 1: Nhật Bản (AB025271), Trung Quốc (AY390347), Nhật Bản (D85754), Hàn Quốc (EU716072), Trung Quốc (EU564813), Trung Quốc (EU532600), Đài Loan (AY378091), Trung Quốc (FJ851453), Trung Quốc (HM448831), Trung Quốc (HM623891), Trung Quốc (JQ732172), Trung Quốc (KJ437593), Trung Quốc (KJ489382), Trung Quốc (KJ489384), Trung Quốc (KJ660069), Trung Quốc (KJ685550), Trung Quốc (JX844218), Trung Quốc (KU030833), Trung Quốc (KU030832). Asia 2: Nhật Bản (AB475097), Nhật Bản (AB476401). Asia 3: Trung Quốc (EU743934), Trung Quốc (EU743935). Asia 4: Thái Lan (MH496772), Thái Lan (MH496774), Thái Lan (MH496777), Thái Lan (MH496778). Asia 5: Ấn Độ (MF964185), Ấn Độ (MF964186). America 1: Hoa Kỳ (AF014953), Đức (AF259552), Ấn Độ (AM903376), Hungary (DQ903854), Canada (GU138403), Việt Nam (BAH29618), Việt Nam (BAH29619). America 2: Hà Lan (Z54166), Đan Mạch (Z47762). Vaccine/America 1: Hoa Kỳ (AY466011), Trung Quốc (DQ778941), Nam Phi (FJ461702), Đài Loan (FJ705238), Thụy Điển (GU810819), Đan Mạch (GU266280). South America 1: Argentina (FJ392652), Uruguay (JN215473), Uruguay (JN215477). Europe 1: Đan Mạch (Z47761), Hoa Kỳ (AY386315), Đan Mạch (AF478543), Italy (DQ494317). Europe Wildlife: Đan Mạch (Z47759), Italy (DQ228166), Hungary (DQ889187), Hungary (DQ889189), Đức (JN153023), Đức (JN153019). Arctic: Đan Mạch (Z47760), Trung Quốc (AF172411), Italy (DQ226087), Italy (DQ226088), Hungary (DQ889183), Hungary (DQ889186), Trung Quốc (EF445052). Africa: Nam Phi (FJ461703), Nam Phi (FJ461715), Nam Phi (FJ461717), Nam Phi (FJ461720), Nam Phi (FJ461721), Nam Phi (FJ461723), Nam Phi (FJ461698).

Kết quả xây dựng cây phả hệ (hình 1) cho thấy 4 chủng virus nghiên cứu bao gồm TV4, TV10, TV12, TV14 đều nằm trong cùng một phân nhánh thuộc genotype Asia 1 và nằm cùng phân nhánh với các chủng CDV phân lập được tại Trung Quốc (JQ732172, EU564813, HM623891, KJ437593 và EU532600) và Hàn Quốc (EU716072). Trong cùng một nhóm, các chủng virus lại phân chia thành các phân nhóm nhỏ theo từng cá thể chó được thu thập, chủng TV4 và TV14 nằm tách biệt với chủng TV10 và TV12. Đặc biệt, chủng TV3 nằm khác phân nhánh với 4 chủng virus nghiên cứu còn lại, thuộc genotype America 1, cùng phân nhánh với chủng vaccin và 2 chủng CDV phân lập tại Hà Nội là Vn86 và Vn99 (BAH29619 và BAH29618). Đây là nghiên cứu đầu tiên phân lập được chủng CDV thuộc genotype America 1 tại Trà Vinh. Mặc dù bệnh Ca-rê được phát hiện tại Việt Nam từ năm 1950, tuy nhiên nghiên cứu của Lan *et al.* (2009) lần đầu tiên công bố chủng virus Ca-rê tại miền Bắc Việt Nam thuộc genotype America 1. Mặt khác, kết quả nghiên cứu của Dung *et al.* (2017) lại cho thấy, chủng CDV thu thập tại các phòng khám thú y trên địa bàn thành phố Hồ Chí Minh thuộc genotype Asia 1 và giống với các chủng virus đang lưu hành ở các quốc gia châu Á khác (Đài Loan, Trung Quốc, Hàn Quốc,

Nhật Bản, Thái Lan) và khác với các nghiên cứu trước đây tại Việt Nam. Tương tự, Tan *et al.* (2011) và Guo *et al.* (2013) cho rằng, genotype Asia 1 và Asia 2 là 2 genotype chính của CDV đang lưu hành tại Nhật Bản, Trung Quốc và một số quốc gia châu Á.

Kết quả nghiên cứu của Võ Tấn Đại và Dương Tấn Đạt (2016) cho thấy, chủng CDV thực địa được thu thập tại các phòng khám thú y trên địa bàn thành phố Hồ Chí Minh thuộc genotype Asia 1. Bên cạnh đó, Trần Văn Nền và ctv. (2017) tiến hành phân lập các chủng CDV trên đàn chó tại miền Bắc Việt Nam cho biết virus nghiên cứu nằm trong 3 nhánh phát sinh khác nhau thuộc 3 genotype lần lượt là Asia 1, Asia 2, Classic. Điều này cho thấy có sự biến đổi di truyền rất cao của các chủng CDV dựa vào vùng gen H. Ngoài ra, sự phân bố về địa lý và điều kiện môi trường cũng ảnh hưởng đến sự biến đổi của virus (Espinal *et al.*, 2014; Võ Tấn Đại và Dương Tấn Đạt, 2016).

Kết quả của nghiên cứu này có ý nghĩa quan trọng trong việc lựa chọn chủng virus để nhập khẩu vaccin hoặc chế tạo vaccin từ các chủng virus đang gây bệnh Ca-rê trong nước để phòng bệnh.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả giải trình tự gen H và xây dựng cây phả hệ của 5 chủng CDV thực địa được phân lập tại tỉnh Trà Vinh nằm trong 2 nhánh phát sinh khác nhau thuộc 2 genotype lần lượt là Asia 1 và America 1. Mức độ tương đồng về amino acid mã hóa từ gen H giữa 5 chủng virus thực địa đạt tỷ lệ khá cao là 87,74 - 100%. Sự tương đồng về amino acid giữa các chủng thực địa với các chủng khác trên GenBank là 78,82 - 98,64%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bi, Z., Y. Wang, X. Wang, X. Xia, 2015. Phylogenetic analysis of canine distemper virus in domestic dogs in Nanjing, China. *Archives of Virology*. 160(2): 523-527.
- Carpenter, M.A., M.J.G. Appel, M.E. Roelkeparker, L. Munson, H. Hofer, M. East, S.J. O'Brien, 1998. Genetic characterization of canine distemper virus in Serengeti carnivores. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 65: 259-266.
- Dung, V.N., J. Suzuki, S. Minami, K. Yonemitsu, N. Nagata, R. Kuwata, H. Shimoda, C.K. Vu, T.Q. Truong and K. Maeda, 2017. Isolation and phylogenetic analysis of canine distemper virus among domestic dogs in Vietnam. *J. Vet. Med. Sci*. 79(1): 123-127.
- Espinal, M.A., F.J. Diaz, J. Ruiz-Saenz, 2014. Phylogenetic evidence of a new canine distemper virus lineage among domestic dogs in Colombia, South America. *Vet. Microbiol*. 172: 168-176.
- Gamiz, C., V. Martella, R. Ulloa, R. Fajardo, I. Quijano-Hernandez and S. Martinez, 2011. Identification of a new genotype of Canine Distemper Virus circulating in America. *Vet. Res. Commun*. 35: 381-390.
- Greene, C.E., J.G. Appel, 1998. *Infectious diseases of the dog and cat*. 2nd edition. W.B. Saunders Company. USA.
- Guo, L., S.L. Yang, C.D. Wang, R. Hou, S.J. Chen, X.N. Yang, J. Liu, H.B. Pan, Z.X. Hao, M.L. Zhang, S.J. Cao and Q.G. Yan, 2013. Phylogenetic analysis of the haemagglutinin gene of canine distemper virus strains detected from giant panda and raccoon dogs in China. *Virology Journal*. 10(109) (10:109 <http://www.virologyj.com/content/10/1/109>).
- Lan, N.T., R. Yamaguchi, T.T. Kien, T. Hirai, Y. Hidaka and N.H. Nam, 2009. First isolation and characterization of canine distemper virus in Vietnam with the immunohistochemical examination of the dog. *J. Vet. Med. Sci*. 71(2): 155-162.
- Luo, H., L.I. Kun and H. Zhang, 2016. Epidemiology of Canine distemper and Canine parvovirus in pet dogs in Wenzhou, China. *Indian Journal of Animal Research*. (10.18805/ijar.9553).
- Marin, S.R., R.D.F. Budaszewski, C.W. Canal and J.R. Saenz, 2019. Tropism and molecular pathogenesis of canine distemper virus. *Virology Journal*. 16:30 (<https://doi.org/10.1186/s12985-019-1136-6>).
- Sidhu, M.S., W. Husar, S.D. Cook, P.C. Dowling and S.A. Udem, 1993. Canine distemper terminal and intergenic non-protein coding nucleotide sequences: completion of the entire CDV genome sequence. *Virology*. 193(1): 66-72.
- Swati, D. Deka, S.K. Uppal, R. Verma, 2015. Isolation and phylogenetic characterization of Canine distemper virus from India. *Virus. Dis*. 26(3): 133-140.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, and S. Kumar, 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol*. 30: 2.725-2.729.
- Tan, B., Y.J. Wen, F.X. Wang, S.Q. Zhang, X.D. Wang, J.X. Hu, X.C. Shi, B.C. Yang, L.Z. Chen, S.P. Cheng, H. Wu, 2011. Pathogenesis and phylogenetic analyses of Canine distemper virus strain ZJ7 isolate from domestic dogs in China. *Virol. J*. 16(8) (doi: 10.1186/1743-422X-8-520).
- Tô Du và Xuân Giao, 2006. *Kỹ thuật nuôi chó mèo và phòng trị bệnh thường gặp*. Nhà xuất bản Lao động xã hội. Hà Nội.
- Trần Thị Thảo, Trần Ngọc Bích, Nguyễn Phúc Khánh, 2019. Bệnh Ca-rê trên chó tại tỉnh Trà Vinh. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*. Số chuyên đề Thú y thú nhỏ. 26(8): 22-28.
- Trần Văn Nền, Nguyễn Thị Lan, Nguyễn Văn Thanh, Lương Quốc Hưng, 2017. Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học phân tử của virus Ca-rê phân lập được tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. 15(1): 44-57.
- Võ Tấn Đại, Dương Tấn Đạt, 2016. So sánh hiệu quả chẩn đoán bệnh Ca-rê trên chó bằng phương pháp xét nghiệm nhanh và kỹ thuật RT-PCR, phân tích một đoạn gen Hemagglutinin của virus gây bệnh. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*. 23(8): 29-36.

Ngày nhận 15-1-2022

Ngày phản biện 4-4-2022

Ngày đăng 1-12-2022

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM BỆNH LÝ Ở CHÓ MẮC BỆNH KÝ SINH TRÙNG ĐƯỜNG MÁU DO *BABESIA* SPP. GÂY RA VÀ ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ ĐIỀU TRỊ BỆNH BẰNG IMIDOCARB DIPROPIONATE

Đàm Văn Phái^{*}, Nguyễn Thị Phương¹, Nguyễn Thị Mỹ Linh²,
Tống Thị Khánh Linh², Nguyễn Thị Thanh Lam², Bùi Trần Anh Đào³

^{*}Tác giả liên hệ email: dvphai@vnua.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đã được tiến hành trên 17 ca chó mắc bệnh ký sinh trùng đường máu trong tự nhiên do *Babesia* spp. gây ra nhằm xác định các biến đổi lâm sàng, huyết học của chó bệnh và đánh giá hiệu quả điều trị của phác đồ có sử dụng thuốc imidocarb dipropionate. Chó mắc Babesiosis được xác định dựa trên các triệu chứng lâm sàng, kết quả soi tiêu bản máu nhuộm diff-quick và phân tích huyết học. Kết quả nghiên cứu cho thấy ở giai đoạn đầu, chó bệnh thường có các triệu chứng như: mệt mỏi, giảm ăn, tần số hô hấp và tần số nhịp tim tăng; sốt; niêm mạc nhợt nhạt hoặc hoàng đản; đôi khi có xuất huyết điểm ở niêm mạc miệng và da dưới bụng. Giai đoạn tiếp theo, chó bệnh thường có thêm các triệu chứng: tiêu chảy; phân lỏng, đậm màu; chảy máu mũi; hai chân sau bị yếu. Các chỉ tiêu huyết học bị thay đổi rõ rệt: số lượng hồng cầu, tỷ khối huyết cầu, số lượng tiểu cầu và tỷ lệ bạch cầu đa nhân trung tính bị giảm mạnh; độ phân bố hồng cầu, tỷ lệ bạch cầu lympho, hàm lượng bilirubin (tổng số, trực tiếp và gián tiếp) trong huyết thanh đều tăng cao. Các chỉ tiêu này tại các mốc 7, 14, 21 và 28 ngày sau điều trị bằng phác đồ có sử dụng thuốc imidocarb dipropionate đều được cải thiện rõ rệt, tỷ lệ khỏi bệnh đạt xấp xỉ 80%.

Từ khóa: Bệnh ký sinh trùng máu chó, *Babesia* spp., thuốc imidocarb dipropionate.

Study on some pathological features of dogs infected with *Babesia* spp. and evaluating treatment efficacy by imidocarb dipropionate medicine

Dam Van Phai, Nguyen Thi Phuong, Nguyen Thi My Linh,
Tong Thi Khanh Linh, Nguyen Thi Thanh Lam, Bui Tran Anh Dao

SUMMARY

This study was conducted on 17 dogs naturally infected with *Babesia* spp. to determine the clinical and hematological alterations of the disease dogs; and to evaluate the treatment efficacy for the disease cases by using imidocarb dipropionate medicine. The *Babesia* infected dogs were identified basing on the clinical symptoms, hematological analysis and confirmed by the presence of *Babesia* in the diff-quick staining blood smears. The studied result showed that at the beginning stage of infection, the dogs usually showed the symptoms, such as: depression, anorexia, tachypnea, tachycardia, fever, pale mucus membrane or jaundice. Some of the patients had petechiae in oral mucosa and in skin under belly. In the following stage, the infection dogs appeared other additional symptoms, such as: diarrhea with darken yellowish-stool, nasal hemorrhagic and weak hind legs. The hematological parameters were altered obviously, such as: the red blood cell counts (RBC), hematocrits (HCT), platelet (PLT) and neutrophil proportion were decreased. On the other hand, the red blood cell distribution width (RDW), lymphocyte proportion and total serum bilirubin were increased. Interestingly, these alterations were well improved at the day 7th, 14th, 21th and 28th post-treatment by using imidocarb dipropionate medicine, 80% of the patients were recovered from treatment.

Keywords: Canine babesiosis, *Babesia* spp., imidocarb dipropionate medicine.

¹ Bộ môn Nội - Chấn - Dược, khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Sinh viên khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

³ Bộ môn Bệnh lý, khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh ký sinh trùng (KST) máu do *Babesia* gây ra là một bệnh gây thiếu máu rất nguy hiểm, xảy ra khá phổ biến ở chó nhiều nơi trên thế giới. Bệnh nguyên ký sinh trong hồng cầu của chó ở mọi lứa tuổi, đặc biệt là chó còn non gây dung huyết với tỷ lệ tử vong cao, gây nhiều thiệt hại cho người chăn nuôi.

Có nhiều chủng *Babesia* gây bệnh ở chó; căn cứ vào kích thước và hình thái, chúng được chia thành 2 nhóm chính: dạng lớn (large form) và dạng nhỏ (small form) [1]. Các chủng gây bệnh phổ biến thuộc dạng lớn bao gồm *B. rosi*, *B. canis* và *B. vogeli*. Các chủng này thường được lây truyền qua ve *Rhipicephalus sanguineus*, *Dermacentor* spp. và *Haemaphysalis ellipticum*. Các chủng thuộc dạng nhỏ bao gồm *B. gibsoni* (chủng phân lập từ California hoặc từ châu Á) và *B. annea*, được lây truyền bởi các loài ve *Haemaphysalis bispinosa* và *Haemaphysalis longgicornis* [2]. Khi các loài ve này ký sinh và hút máu của chó bị bệnh, *Babesia* sẽ vào đường tiêu hoá của ve và ve trở thành vật mang mầm bệnh và có thể truyền mầm bệnh qua nhiều thế hệ.

Thời gian nung bệnh ở chó có thể dao động từ 1 đến 4 tuần, phụ thuộc nhiều theo từng loài *Babesia* mà chúng bị nhiễm: từ 1 đến 3 tuần với chủng *B. canis* và 2-4 tuần với chủng *B. gibsoni* [2]. Mức độ nguy hiểm của bệnh cũng phụ thuộc vào chủng gây bệnh, cường độ nhiễm và tình trạng thể lực của chó. Tỷ lệ nhiễm càng cao thì tốc độ dung huyết càng nhanh làm cho bệnh thường tiến triển ở dạng cấp tính và chết nhanh.

Babesia gây bệnh bằng nhiều cơ chế khác nhau. (i) ký sinh trong hồng cầu, khi nhân lên sẽ phá vỡ hồng cầu làm cho con vật bị thiếu máu cấp tính, niêm mạc nhợt nhạt, suy giảm khả năng cung cấp oxy cho mô bào, làm tăng lượng bilirubin huyết thanh gây hoàng đản [3]; (ii) kích hoạt hội chứng đáp ứng viêm toàn thân (systemic inflammatory response syndrome - SIRS) [4] gây tổn thương kế phát ở nhiều cơ quan bộ phận khác nhau trong cơ thể như viêm tụy, viêm thận [1, 5]; (iii) rối loạn cân bằng kiềm – toan [3]. Do vậy, tỷ lệ tử vong thường cao nếu không được phát hiện và điều trị kịp thời.

Triệu chứng lâm sàng ở chó mắc Babesiosis cũng rất thay đổi tùy theo mức độ và giai đoạn tiến triển

của bệnh. Ở giai đoạn đầu, chó bệnh thường có các biểu hiện như sốt, mệt mỏi, giảm ăn hoặc bỏ ăn, tần số hô hấp và tim mạch tăng. Đây không phải là triệu chứng đặc trưng của bệnh nên trong lâm sàng rất dễ nhầm lẫn với các bệnh nhiễm khuẩn thông thường. Khi bệnh tiếp tục tiến triển, số lượng hồng cầu bị vỡ nhiều thì các triệu chứng trên sẽ biểu hiện nặng hơn đồng thời xuất hiện thêm các triệu chứng như niêm mạc nhợt nhạt, trường hợp nặng sẽ có hoàng đản, nôn mửa, tiêu chảy phân và nước tiểu có màu vàng đậm. Các triệu chứng lâm sàng này dễ bị nhầm lẫn với bệnh gan và bệnh thận dẫn đến điều trị sai, làm cho bệnh tiến triển phức tạp và nghiêm trọng hơn.

Mặc dù hiện nay tại Việt Nam bệnh xảy ra khá phổ biến song các kết quả công bố về bệnh ở trong nước gần như không có. Việc chẩn đoán và điều trị thường gặp nhiều khó khăn do rất dễ nhầm lẫn với các bệnh của gan, thận hoặc bệnh do *Leptospira* gây ra, vì vậy tỷ lệ tử vong của bệnh còn khá cao gây nhiều thiệt hại cho người chăn nuôi. Do vậy, việc tiến hành nghiên cứu về đặc điểm bệnh lý ở chó bệnh và tìm ra phác đồ điều trị bệnh có hiệu quả là cần thiết và cấp bách.

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

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Chẩn đoán xác định chó mắc bệnh KST máu do *Babesia* spp. gây ra
- Xác định các triệu chứng lâm sàng và chỉ tiêu lâm sàng ở chó mắc Babesiosis
- Xác định các chỉ tiêu sinh lý và một số chỉ tiêu sinh hoá ở chó mắc Babesiosis trước và sau khi điều trị
- Đánh giá sự ảnh hưởng của phác đồ điều trị có sử dụng imidocarb dipropionate đến các chỉ tiêu lâm sàng và huyết học của chó mắc Babesiosis.

2.2. Đối tượng và nguyên liệu nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu của đề tài là các ca chó (ở mọi giống, mọi lứa tuổi, tính biệt) bị mắc bệnh KST máu do *Babesia* spp. gây ra và được chủ đưa đến khám và chữa tại một số phòng khám và bệnh viện Thú y trên địa bàn thành phố Hà Nội trong thời gian từ tháng 1 đến tháng 12 năm 2021.

Vật liệu nghiên cứu chính: mẫu máu của chó mắc Babesiosis được lấy từ tĩnh mạch bàn ở các thời điểm nhập viện D0 (ngay trước khi điều trị), D7, D14, D21 và D28 ngày sau điều trị. Các thuốc chính bao gồm: imidocard dipropionate (Imochem 120, Interchemie); amoxicillin (Amoxisol LA, Bayer); Catosal (Bayer) và dexamethasone (Dexajec, EcoVet).

2.3. Phương pháp xác định chó mắc Babesiosis

Chó được chẩn đoán xác định mắc bệnh KST đường máu do *Babesia* spp. gây ra dựa trên 3 căn cứ: i) các triệu chứng lâm sàng: sốt, giảm ăn hoặc bỏ ăn, thờnh nhanh hoặc thờnh khó, tần số tim tăng, nước tiểu đậm màu và đục, niêm mạc nhợt nhạt hoặc hoàng đản; ii) kết quả tìm *Babesia* dưới kính hiển vi quang học trong tiêu bản máu nhuộm diff - quick; iii) biến đổi của các chỉ tiêu huyết học. Trong đó việc phát hiện *Babesia* spp. trong tiêu bản máu nhuộm diff-quick đóng vai trò quyết định. Những ca có kết quả này dương tính mới được coi là mắc Babesiosis.

2.4. Phương pháp xác định các chỉ tiêu lâm sàng

Thân nhiệt: đo ở trực tràng của chó bằng nhiệt kế điện tử (Iproven-DT-K117A). Tần số tim được xác định bằng cách sử dụng ống nghe (3M Littmann Classic) đếm số lần tim đập trong 3-5 phút sau đó lấy giá trị trung bình trong một phút. Tần số hô hấp được xác định bằng phương pháp

quan sát và đếm số lần hô hấp của con vật trong 3-5 phút sau đó lấy giá trị trung bình trong một phút. Các chỉ tiêu này được xác định 2 lần/ngày: buổi sáng từ 7h30-8h00 và buổi chiều từ 16h00-18h00 trước khi dùng thuốc.

2.5. Phương pháp lấy máu và làm tiêu bản

Bệnh phẩm máu được lấy từ các cá thể chó mắc bệnh KST đường máu để xét nghiệm và làm tiêu bản theo QCVN 01 - 83: 2011/BNNPTNT [6]. Tiêu bản máu được nhuộm bằng phương pháp diff - quick [7] và soi dưới kính hiển vi quang học (Olympus CX23) với độ phóng đại 400 và 1000x.

2.6. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu sinh lý - sinh hóa máu

Các chỉ tiêu sinh lý, sinh hoá máu của chó bệnh ở các thời điểm D0, D7, D14, D21 và D28 ngày sau điều trị được phân tích bằng máy phân tích huyết học tự động (Awarenes Stat Fax 3300). Trong đó mỗi ca bệnh đều được lựa chọn chương trình phân tích và khoảng tham chiếu phù hợp với giống, tính biệt và độ tuổi của ca bệnh đó.

2.7. Thử nghiệm phác đồ điều trị

Chó mắc Babesiosis được điều trị bằng imidocarb dipropionate kết hợp với thuốc kháng sinh, kháng viêm và tăng cường sức đề kháng (bảng 1).

Bảng 1. Phác đồ điều trị bệnh do *Babesia* spp. gây ra ở chó

Tên thuốc	Liều lượng	Đường đưa thuốc	Thời gian dùng thuốc
Imidocarb dipropionate	3mg/kgP	IM	1lần/tuần x 4 tuần
Amoxicillin	25mg/kgP	IM	12h/lần, 5-7 ngày
Catosal	1ml/ 5kgP	IV	12h/lần, 5-7 ngày
Ringer lactate	25ml/kgP	IV	1 ngày/lần, 5-7 ngày
Dung dịch G5	25ml/kgP	IV	1 ngày/lần, 5-7 ngày
Calci B12	5ml/kgP	IV	12h/lần, 5-7 ngày
Dexamethasone	0,5ml/10kgP	IM	12h/lần, 5-7 ngày

Để đánh giá hiệu quả điều trị của phác đồ nêu trên, các triệu chứng và chỉ tiêu lâm sàng ở chó bệnh được theo dõi 2 lần/ngày (như mô tả trong

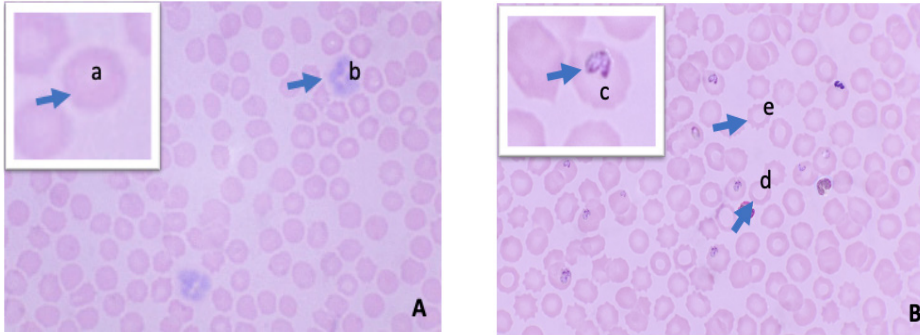
mục 2.4), các chỉ tiêu huyết học được đánh giá vào các ngày thứ 7, 14, 21 và 28 ngày sau điều trị (như mô tả trong mục 2.6).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định chó mắc Babesiosis bằng kiểm tra tiêu bản máu

Tiêu bản máu của chó khỏe (hình 1A) cho thấy các tế bào hồng cầu có hình dạng, kích thước và màu

sắc đồng đều. Hồng cầu có màu hồng nhạt, vùng trung tâm có màu hơi nhạt hơn so với vùng rìa; bên trong hồng cầu không có *Babesia* hoặc bất kỳ vật thể/ cấu trúc lạ nào (a). Bạch cầu đa nhân trung tính có hình thái, kích thước, tính chất bắt màu và cấu trúc đặc trưng: có nhân phân đoạn và bắt màu xanh (b).



Hình 1. Tiêu bản máu của chó khỏe (A) và chó mắc Babesiosis (B)

Tiêu bản máu được nhuộm bằng phương pháp diff-quick, soi dưới kính hiển vi quang học với độ phóng đại 1000X. (a): hồng cầu bình thường và không bị nhiễm *Babesia*, (b): bạch cầu đa nhân trung tính, (c): hồng cầu bị nhiễm *Babesia*

Tiêu bản máu của chó bị mắc Babesiosis (hình 1B) có các hồng cầu có chứa *Babesia* (thường có dạng từng cặp giống hình quả lê) bắt màu xanh – tím (c). Các tế bào hồng cầu thường có hình dạng, kích thước và mức độ bắt màu rất khác nhau. Trong đó thường có nhiều hồng cầu bắt màu nhạt hơn nên quang trung tâm sáng màu hơn (d). Đây là những dấu hiệu quan trọng cho thấy các ca bệnh này đang bị thiếu sắt [8]. Ngoài ra ở các ca này còn có nhiều hồng cầu có viền bị gấp nếp như hình hoa thị (e), đây thường là dấu hiệu xuất hiện ở

các ca bệnh có sự tổn thương ở gan [8].

3.2. Các triệu chứng lâm sàng thường gặp ở chó mắc Babesiosis

Theo dõi các triệu chứng lâm sàng ở 17 ca chó bị mắc bệnh KST máu do *Babesia* spp. gây ra, các kết quả cho thấy: ở giai đoạn đầu chó mắc bệnh thường bị sốt (thân nhiệt trên 39,2°C), mệt mỏi, giảm ăn hoặc bỏ ăn, tần số hô hấp và tim mạch tăng, niêm mạc nhợt nhạt, nước tiểu màu vàng (hình 2).



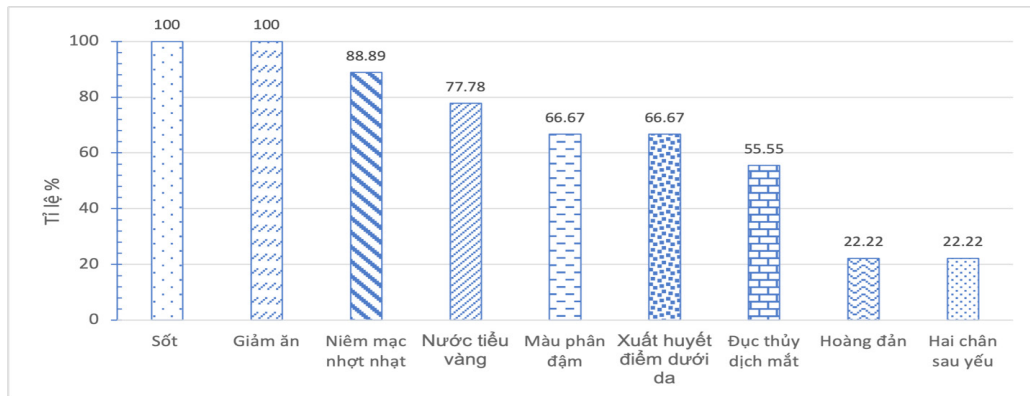
Hình 2. Một số triệu chứng lâm sàng ở ca chó maninois được 4 năm tuổi mắc Babesiosis

Hoàng dẫn: niêm mạc miệng bị vàng (A), lòng trắng của mắt bị vàng (B), xuất huyết dưới da mặt trong của tai (C)

Đây là những hậu quả do quá trình lây nhiễm và nhân lên của *Babesia* trong tế bào hồng cầu và phá vỡ hồng cầu của chó bệnh [3]. Số lượng và tốc độ hồng cầu bị vỡ càng nhiều và tốc độ dung huyết càng cao thì bệnh càng nghiêm trọng và tiên lượng càng xấu.

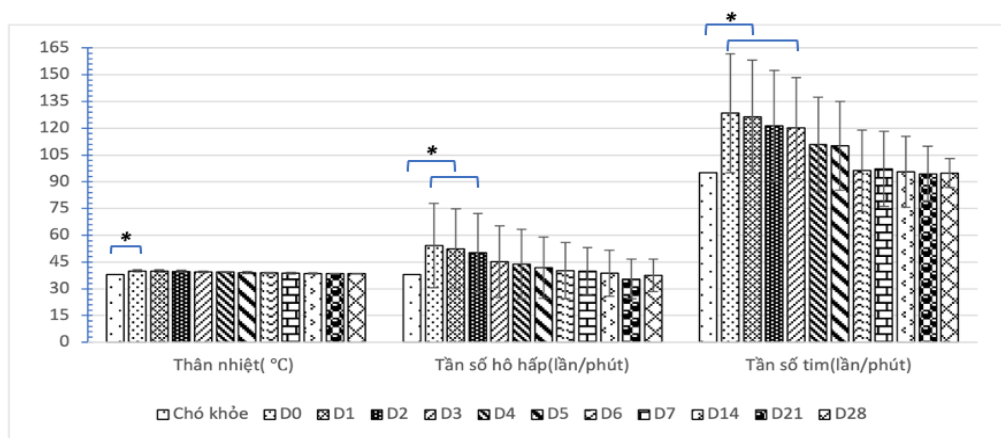
Khi bệnh tiếp tục tiến triển nặng hơn, các triệu chứng trên sẽ rõ ràng hơn; đồng thời con bệnh sẽ

xuất hiện thêm các triệu chứng điển hình của bệnh bao gồm: hoàng đản, xuất huyết điểm ở niêm mạc và da dưới bụng (hình 3); phân lỏng, đậm màu; và đục thủy dịch của mắt, yếu hai chân sau nên lười vận động hoặc đi đứng xiêu vẹo thường xuất hiện ở giai đoạn muộn của bệnh với các tỷ lệ rất khác nhau (hình 2). Các biến đổi bệnh lý này có thể là hậu quả từ cơ chế kích hoạt hội chứng phản ứng viêm toàn thân (SIRS) gây ra [4].



Hình 3. Tần suất xuất hiện các triệu chứng lâm sàng thường gặp ở chó mắc Babesiosis (n=17)

3.3. Các chỉ tiêu lâm sàng ở chó mắc Babesiosis trước và sau khi điều trị



Hình 4. Các chỉ tiêu lâm sàng ở chó mắc Babesiosis trước và sau điều trị

Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (số chó khỏe là 10, số chó bệnh là 17), dấu (*) biểu diễn sự sai khác thống kê giữa chó bệnh và chó khỏe với mức ý nghĩa (ANOVA, $\alpha < 0,05$). D0 là thời điểm trước điều trị, D1, D2 ... D28 tương ứng với số ngày sau điều trị.

Ở chó bị mắc Babesiosis, tất cả chỉ tiêu lâm sàng bao gồm thân nhiệt, tần số tim mạch, tần số hô hấp trước khi điều trị (D0) đều tăng cao

rõ rệt so với chó khỏe (hình 4). Chó bệnh ở thời điểm trước điều trị thường bị sốt cao, thân nhiệt dao động trong khoảng $40,8 \pm 1,2^{\circ}\text{C}$. Đây là một

trong các phản ứng phòng vệ của toàn thân nhằm chống lại sự xâm nhiễm của *Babesia*, tuy nhiên khi bị sốt cao kéo dài thường để lại nhiều biến chứng phức tạp như: (i) giảm nhu động, tiết dịch tiêu hoá làm chó bệnh bị giảm ăn hoặc bỏ ăn, táo bón; (ii) phá huỷ tiểu cầu làm giảm tốc độ đông máu do đó thường gây xuất huyết ở niêm mạc và dưới da, viêm xuất huyết ống tiêu hoá [9].

Các hậu quả này gây thiếu máu và suy giảm khả năng dưỡng khí mô bào. Đây cũng là một trong các nguyên nhân làm tăng tần số hô hấp và tim mạch ở chó bệnh (lần lượt là $54,25 \pm 7,5$ và $128,9 \pm 9,7$ lần/phút) nhằm mục đích bù đắp lại sự thiếu hụt oxy ở mô bào. Tuy nhiên khi bệnh tiến triển nặng, con bệnh thở quá nhanh sẽ làm giảm khả năng trao đổi oxy ở vách phế nang của phổi gây loạn cân bằng kiềm-toan do rối loạn chuyển hóa và làm cho bệnh càng trở nên nghiêm trọng [10]. Đây cũng là nguyên nhân thuận lợi cho kẻ phát viêm nhiễm đường hô hấp làm cho bệnh trở nên phức tạp.

Các chỉ tiêu lâm sàng trên được cải thiện rõ rệt

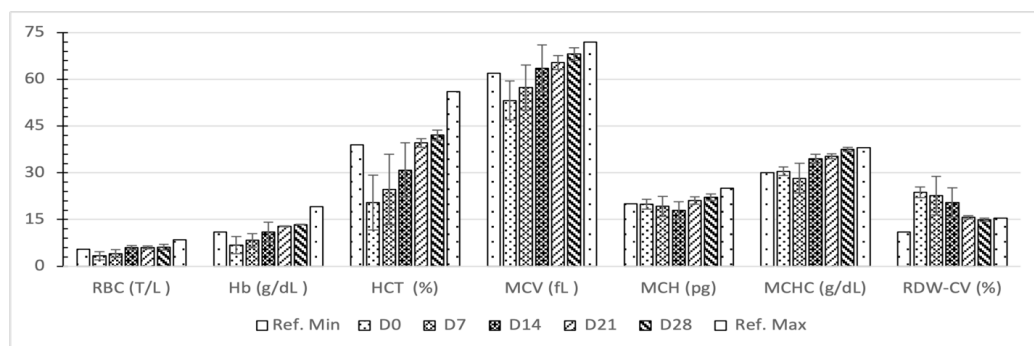
và dần hồi phục trở lại trạng thái bình thường sau 3-5 ngày điều trị tùy theo mức độ nặng, nhẹ của từng ca (hình 4). Đây là các dấu hiệu lâm sàng quan trọng giúp cho việc đánh giá tiến triển của bệnh cũng như hiệu quả điều trị của từng phác đồ; tốc độ hồi phục của các chỉ tiêu này càng nhanh chứng tỏ thuốc và phác đồ điều trị càng hiệu quả và ngược lại.

3.4. Các chỉ tiêu huyết học ở chó bị mắc Babesiosis trước và sau khi điều trị

3.4.1. Các chỉ tiêu sinh lý máu

* Các chỉ tiêu hồng cầu

Các chỉ tiêu hồng cầu ở chó mắc Babesiosis trước khi điều trị (D0) đều bị thay đổi rõ rệt. Nhóm chỉ tiêu bị giảm mạnh bao gồm số lượng hồng cầu (RBC), hàm lượng hemoglobin (Hb), tỷ khối huyết cầu/hematocrit (HCT), thể tích trung bình hồng cầu (MCV), lượng huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCH) và nồng độ huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCHC). Trái lại, độ phân bố hồng cầu (RDW-CV) tăng mạnh (hình 5).



Hình 5. Các chỉ tiêu hồng cầu của chó mắc Babesiosis trước và sau điều trị

Số liệu của chó bệnh được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n=17$), chỉ số của chó khỏe được lấy theo khoảng tham chiếu tích hợp sẵn theo phần mềm của máy phân tích (Awarenes Stat Fax 3300). Nếu chỉ số của chó bệnh thấp hơn giá trị tham chiếu tối thiểu sẽ bị coi là giảm, còn lớn hơn giá trị tối đa thì được coi là tăng.

Cơ chế của các biến đổi này xuất phát từ việc *Babesia* ký sinh trong hồng cầu, nhân lên và phá huỷ hồng cầu, giải phóng hemoglobin vào huyết tương từ đó tăng chuyển hoá tạo bilirubin ở gan đồng thời thất thoát một phần qua nước tiểu [1]. Các tổn thương này dẫn đến số lượng hồng cầu

của chó bệnh bị giảm, con bệnh bị thiếu máu từ đó tăng cường huy động hồng cầu dự trữ làm trong máu xuất hiện nhiều hồng cầu non nên độ phân bố hồng cầu bị tăng theo. Sự biến đổi này là nguyên nhân quan trọng làm tăng thân nhiệt, tần số hô hấp và tần số tim mạch cũng như xuất

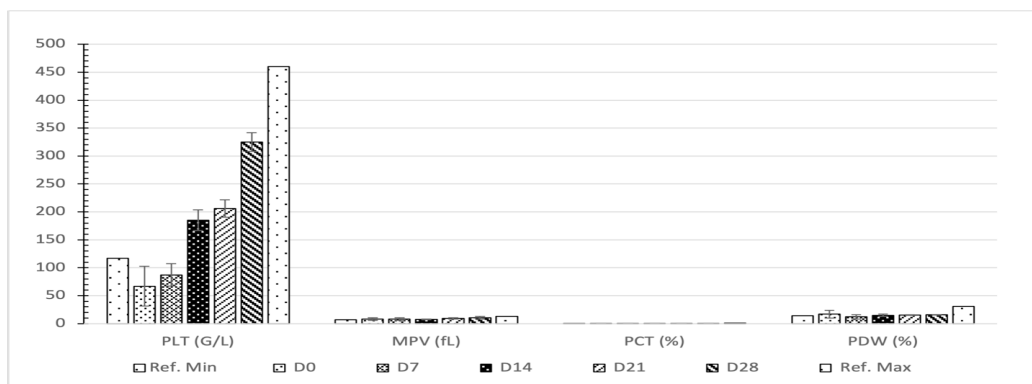
hiện các triệu chứng lâm sàng như mệt mỏi, da và niêm mạc bị nhợt nhạt do thiếu máu.

Ở các mốc thời gian 7, 14, 21 và 28 ngày sau điều trị, 100% các chỉ tiêu hồng cầu của chó bệnh đều được hồi phục rõ rệt, tuy nhiên chỉ có nồng độ huyết sắc tố trung bình hồng cầu (MCHC) và độ phân bố hồng cầu (RDW-CV) đã hồi phục hoàn toàn, các chỉ tiêu còn lại

vẫn tiếp tục có xu hướng hồi phục tốt (hình 5).

* Các chỉ tiêu tiểu cầu

Trước điều trị, các chỉ tiêu bao gồm số lượng tiểu cầu (PLT), thể tích trung bình tiểu cầu (MPV) và thể tích khối tiểu cầu (PCT) của chó mắc Babesiosis đều bị giảm rõ rệt, đặc biệt là số lượng tiểu cầu. Ngược lại, độ phân bố tiểu cầu (PDW) bị tăng đáng kể (hình 6).



Hình 6. Các chỉ tiêu tiểu cầu của chó mắc Babesiosis trước và sau điều trị

Số liệu của chó bệnh được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n=17$), chỉ số của chó khỏe được lấy theo khoảng tham chiếu tích hợp sẵn theo phần mềm của máy phân tích (Awarenes Stat Fax 3300). Nếu chỉ số của chó bệnh thấp hơn giá trị tham chiếu tối thiểu sẽ bị coi là giảm, còn lớn hơn giá trị tối đa thì được coi là tăng.

Ở chó bệnh, số lượng tiểu cầu bị giảm mạnh có thể là một hậu quả trực tiếp do tác động của *Babesia*, song đây cũng có thể là hậu quả gián tiếp từ việc sốt cao kéo dài gây ra vì sự biến đổi tương tự về các chỉ tiêu tiểu cầu cũng được chúng tôi quan sát thấy ở những ca chó bị sốt cao khi mắc các bệnh khác như cảm nóng, cảm nắng hoặc viêm phổi cấp.

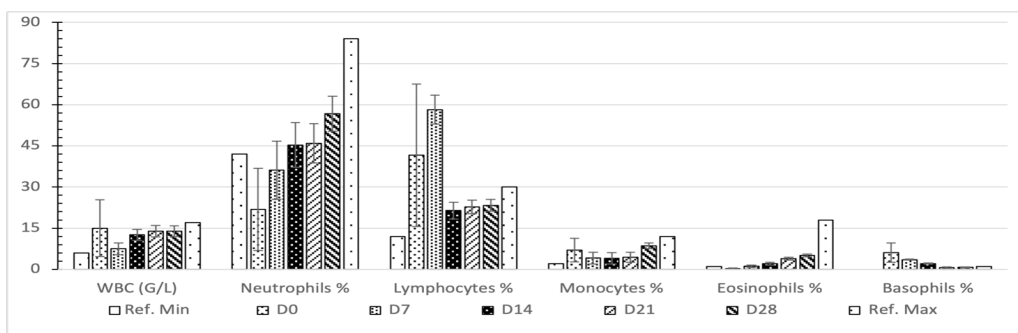
Sự sụt giảm rõ rệt số lượng tiểu cầu là nguyên nhân dẫn đến giảm tốc độ đông máu. Do vậy, chó mắc Babesiosis giai đoạn cuối thường bị xuất huyết dưới da và niêm mạc hoặc xuất huyết ống tiêu hoá, làm cho mức độ mất máu, thiếu máu càng trở nên nghiêm trọng. Chỉ tiêu này là cơ sở khoa học lý giải triệu chứng xuất huyết ở các vùng da mỏng như da bụng hoặc da mặt trong của tai (hình 6).

Sau khi được điều trị, các chỉ tiêu tiểu cầu ở

các mốc D7, D14D28 của chó bệnh đều được phục cải thiện rõ rệt. Số lượng tiểu cầu ở 28 ngày sau điều trị (D28) đã hồi phục gần bằng chỉ số tham chiếu ở chó khỏe.

* Các chỉ tiêu bạch cầu

Một số chỉ tiêu bạch cầu của chó mắc Babesiosis bị thay đổi rõ rệt. Trong đó, tỷ lệ bạch cầu lymphocytes (%) và bạch cầu ái kiềm (basophils %) ở thời điểm trước điều trị (D0) đều tăng cao hơn nhiều so với khoảng tham chiếu của chó khỏe. Các chỉ tiêu còn lại bao gồm số lượng bạch cầu (WBCs), tỷ lệ bạch cầu đa nhân trung tính (neutrophils %), tỷ lệ bạch cầu đơn nhân (monocytes %) và tỷ lệ bạch cầu ái toan (eosinophils %) có sự biến động không đáng kể và vẫn nằm trong khoảng bình thường (hình 7).



Hình 7. Các chỉ tiêu bạch cầu ở chó mắc Babesiosis trước và sau điều trị

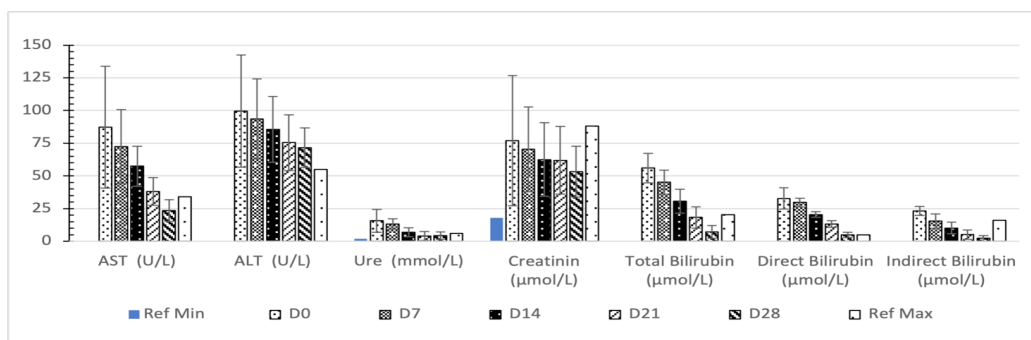
Số liệu của chó bệnh được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n=17$), chỉ số của chó khỏe được lấy theo khoảng tham chiếu tích hợp sẵn theo phần mềm của máy phân tích (Awarenes Stat Fax 3300). Nếu chỉ số của chó bệnh thấp hơn giá trị tham chiếu tối thiểu sẽ bị coi là giảm, còn lớn hơn giá trị tối đa thì được coi là tăng.

Trong lâm sàng, sự biến đổi các chỉ tiêu bạch cầu là chỉ báo quan trọng giúp cho việc định hướng nhóm nguyên nhân gây bệnh. Tỷ lệ bạch cầu đa nhân trung tính tăng cao trong khi tỷ lệ bạch cầu đơn nhân và lymphocytes bị giảm thường xảy ra khi chó bị nhiễm khuẩn. Trái lại, khi bị nhiễm virus, tỷ lệ bạch cầu đơn nhân và tỷ lệ lymphocytes sẽ tăng cao trong khi tỷ lệ bạch cầu đa nhân trung tính bị giảm. Kết quả theo dõi cho thấy, các ca chó mắc Babesiosis trong nghiên cứu này chưa có dấu hiệu bị bội nhiễm khuẩn. Tuy nhiên, tỷ lệ bạch cầu lympho tăng cao có thể là dấu hiệu bội nhiễm virus hoặc đây cũng có thể là dấu hiệu của hội chứng phản ứng viêm toàn thân [4].

Sau khi được điều trị, các biến đổi của các chỉ tiêu bạch cầu đều dần hồi phục và trở về trạng thái bình thường. Tuy nhiên, tốc độ hồi phục của các chỉ tiêu này khá khác nhau, tỷ lệ bạch cầu ái kiềm (Basophils) trở về trạng thái bình thường sau một tuần điều trị; trong khi tỷ lệ bạch cầu lympho tiếp tục tăng đến tuần thứ 2 trước khi trở lại trạng thái bình thường (hình 7).

3.4.2. Một số chỉ tiêu sinh hóa máu ở chó mắc Babesiosis

Các chỉ tiêu sinh hoá máu ở chó bị mắc Babesiosis đều bị biến đổi rất rõ rệt (hình 8).



Hình 8. Các chỉ tiêu sinh hóa máu ở chó mắc Babesiosis

Số liệu của chó bệnh được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($n=17$), chỉ số của chó khỏe được lấy theo khoảng tham chiếu tích hợp sẵn theo phần mềm của máy phân tích (Awarenes Stat Fax 3300). Nếu chỉ số của chó bệnh thấp hơn giá trị tham chiếu tối thiểu sẽ bị coi là giảm, còn lớn hơn giá trị tối đa thì được coi là tăng.

Ở thời điểm trước khi điều trị (D0), các men gan bao gồm Aspartate Aminotransferase (AST) tăng gần gấp 2 lần và Alanine Aminotransferase (ALT) tăng khoảng 5% so với ngưỡng tham chiếu tối đa với biên độ của sai số khá rộng. Đây là chỉ báo cho thấy ở chó mắc Babesiosis có sự tổn thương gan khá rõ ràng, tuy nhiên mức độ tổn thương phụ thuộc nhiều vào từng cá thể và giai đoạn được can thiệp và điều trị. Những ca được chẩn đoán và điều trị muộn thường có AST tăng rất cao và ngược lại.

Cơ chế dẫn đến tổn thương gan ở chó trong các trường hợp này có thể là do tác động trực tiếp của mầm bệnh hoặc cũng có thể là hậu quả của Hội chứng đáp ứng miễn dịch toàn thân (SIRS) gây ra [4]. Ngoài ra, nồng độ của bilirubin tổng số, bilirubin trực tiếp và bilirubin gián tiếp trong huyết thanh chó bệnh cũng tăng cao đáng kể. Đây là các chỉ số phản ánh chức năng của gan trong tổng hợp sắc tố mật từ hemoglobin dung giải từ hồng cầu. Do vậy, kết quả này phản ánh logic với các triệu chứng thiếu máu và hoàng đản của chó bệnh. Ở chó bệnh, hàm lượng ure và creatinine trong máu cũng tăng cao, điều đó cho thấy chó bệnh đã có

các tổn thương ở thận gây cản trở quá trình đào thải ure và creatine ra khỏi cơ thể.

Kết quả này cho thấy khi điều trị bệnh ký sinh trùng đường máu do *Babesia* gây ra ở chó, để đạt được hiệu quả tối đa, ngoài việc sử dụng thuốc đặc hiệu để tiêu diệt và loại trừ trực tiếp *Babesia* thì việc kết hợp thuốc để bảo vệ và tăng cường chức năng gan và thận là vô cùng quan trọng.

Kết quả theo dõi sau khi được điều trị cho thấy, các chỉ số sinh hoá máu ở các mốc 7, 14, 21, và 28 ngày đều được cải thiện rõ rệt, đặc biệt là sau tuần thứ 2 trở đi. Kết quả này cho thấy phác đồ điều trị đã có tác động rõ rệt đến loại trừ *Babesia* và giúp phục hồi các chức năng của gan và thận.

3.5. Một số chỉ tiêu kinh tế và kỹ thuật của phác đồ điều trị Babesiosis ở chó bằng imidocarb dipropionate

Từ các dữ liệu nghiên cứu về biến đổi bệnh lý lâm sàng và huyết học của chó mắc Babesiosis trước và sau khi điều trị cho thấy phác đồ điều trị đã có những hiệu quả làm giảm các tổn thương bệnh lý ở chó bệnh rất rõ rệt.

Bảng 2. Kết quả điều trị chó bị mắc bệnh ký sinh trùng máu do *Babesia* spp. gây ra (n=17)

Chỉ tiêu đánh giá	Số con	Tỷ lệ (%)
Khỏi bệnh	14	82,36
Tử vong	2	11,76
Số con tái phát sau 4 tháng	1	5,88
Thời gian điều trị TB hết TCLS (ngày)	7,22 ± 0,916	
Chi phí thuốc điều trị TB/kgP/liệu trình (VND)	210.000	

Ghi chú: TB: trung bình, TCLS: triệu chứng lâm sàng.

Ngoài ra, phác đồ cũng có các chỉ tiêu về kinh tế, kỹ thuật chính khá tốt. Sau 2 ngày dùng thuốc những cá thể chó được điều trị đã hạ sốt; niêm mạc mắt, miệng dần hồng hào hơn và bắt đầu ăn uống trở lại. Sau 4-5 ngày điều trị, tình trạng phân và nước tiểu được cải thiện rõ rệt, nước tiểu trong và nhạt màu hơn, phân khuôn và khô hơn. Ngoài ra, thể trạng của con vật tươi tỉnh và nhanh nhẹn hơn.

Tùy thuộc vào thể trạng và mức độ rối loạn các chỉ số huyết học mà tốc độ hồi phục và thời gian khỏi bệnh của từng cá thể khác nhau. Trong tổng số 17 con được điều trị, có 14 con khỏi bệnh hoàn toàn (chiếm 82,36%) và không tìm thấy *Babesia* spp. trong máu ở thời điểm 21 ngày sau điều trị. Có 2 ca bị tử vong chiếm 11,76%; đây là những ca có rối loạn bệnh lý nghiêm trọng như hoàng đản, liệt 2 chân sau,

tỷ khối huyết cầu dưới 15% và số lượng hồng cầu dưới 1,8T/L. Ngoài ra có 1 ca bị tái phát (5,88%) sau điều trị 4 tháng. Thời gian điều trị trung bình để hết các triệu chứng lâm sàng (mệt mỏi, sốt, bỏ ăn, tiêu chảy) dao động từ 5-8 ngày (trung bình là $7,22 \pm 0,92$ ngày). Chi phí thuốc điều trị trung bình cho 1 liệu trình 210.000 VNĐ/kgP/liệu trình. Kết quả này cho thấy phác đồ trên cho hiệu quả điều trị khá cao với chi phí thuốc hợp lý.

IV. KẾT LUẬN

Chó bị mắc Babesiosis thường có các triệu chứng lâm sàng đặc trưng bao gồm: mệt mỏi, giảm ăn hoặc bỏ ăn, sốt, thờ ơ, tần số tim tăng. Ở giai đoạn đầu, da và niêm mạc bị nhợt nhạt; giai đoạn sau thường bị hoàng đản, hai chân sau bị yếu nên đi đứng thường xiêu vẹo. Con bệnh có thể bị ỉa chảy, phân lỏng có màu vàng đậm, nước tiểu đậm. Bệnh nặng có thể có xuất huyết điểm ở niêm mạc và dưới vùng da mỏng.

Các biến đổi sinh lý máu điển hình gồm: lượng hồng cầu (RBC), tỷ khối huyết cầu (HTC%), số lượng tiểu cầu và tỷ lệ bạch cầu đa nhân trung tính (neutrophils %) bị giảm rõ rệt. Ngược lại, các chỉ tiêu tăng mạnh bao gồm độ phân bố hồng cầu (RDW), độ phân bố tiểu cầu (PDW) và tỷ lệ bạch cầu lympho.

Các biến đổi sinh hoá máu điển hình bao gồm: hàm lượng AST, ALT, bilirubin tổng số, bilirubin trực tiếp, bilirubin gián tiếp, BUN và creatinine đều tăng cao với các mức độ khác nhau tùy theo mức độ và giai đoạn tiến triển của bệnh.

Phác đồ điều trị sử dụng imidocarb dipropionate kết hợp với thuốc kháng sinh, kháng viêm, trợ sức, trợ lực và bù nước, điện giải cho hiệu quả điều trị khá tốt (tỷ lệ khỏi đạt gần 83%, tỷ lệ tử vong gần 12%, tỷ lệ tái phát sau 4 tháng khoảng 12% và chi phí trung bình cho thuốc 210.000 vn đồng/kgP/liệu trình). Các chỉ tiêu lâm sàng và huyết học được cải thiện và phục hồi rõ rệt ở các mốc 7, 14, 21 và 28 ngày sau điều trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. P.J. Irwin, 2010. *Canine babesiosis*. Veterinary Clinics: Small animal practice, 2010. 40(6): p. 1141-1156.
2. P.J. Irwin, 2009. Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. *Parasites & vectors*, 2009. 2(S1): p. S4.
3. A.L. Leisewitz, L.S. Jacobson, H.S. De Moraes, and F. Reyers, 2001. The mixed acid-base disturbances of severe canine babesiosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2001. 15(5): p. 445-452.
4. M. Day, D. Peeters, and C. Clercx, 2012. *Infectious Diseases of the Dog and Cat 4th Edition*.
5. J.P. Schoeman, 2009. Canine babesiosis. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 2009. 76(1): p. 59-66.
6. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2011. *Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về bệnh động vật – yêu cầu chung lấy mẫu bệnh phẩm, bảo quản và vận chuyển*, in *QCVN 01-83:2011/BNNPTNT*.
7. D. Davitkov, M. Vucicevic, J. Stevanovic, V. Krstic, S. Tomanovic, U. Glavinic, and Z. Stanimirovic, 2015. Clinical babesiosis and molecular identification of *Babesia canis* and *Babesia gibsoni* infections in dogs from Serbia. *Acta Veterinaria Hungarica*, 2015. 63(2): p. 199-208.
8. Jennifer A. Neel, 2016. *Blood smear basics*. Clinical pathology NC state, College of Veterinary medicine raleigh, 27607, Editor. 2016. p. 18.
9. L.S. Jacobson, 2006. The South African form of severe and complicated canine babesiosis: clinical advances 1994–2004. *Veterinary parasitology*, 2006. 138(1-2): p. 126-139.
10. C. Terzano, F. Di Stefano, V. Conti, M. Di Nicola, G. Paone, A. Petroianni, and A. Ricci, 2012. Mixed acid-base disorders, hydroelectrolyte imbalance and lactate production in hypercapnic respiratory failure: the role of noninvasive ventilation. *PloS ONE*, 2012. 7(4): p. e35245.

Ngày nhận 28-3-2022

Ngày phản biện 21-4-2022

Ngày đăng 1-12-2022