

ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ BỆNH LÝ CỦA CHÓ MẮC BIẾN THỂ CPV - 2C MỚI TẠI VIỆT NAM

Bùi Thị Tố Nga^{1*}, Võ Văn Hải²

*Tác giả liên hệ email: buitonga@gmail.com

TÓM TẮT

Canine parvo virus type 2 (CPV-2) gây bệnh viêm ruột tiêu chảy cấp tính ở chó nuôi dẫn đến tử vong trên phạm vi toàn thế giới. CPV-2 hiện hữu đa dạng các biến thể, với nhiều kiểu gen khác nhau và xuất hiện dần theo thời gian. Trong những năm gần đây, một biến thể mới CPV-2c xuất hiện và đã trở nên phổ biến tại Việt Nam. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào khảo sát các đặc điểm bệnh lý lâm sàng của bệnh do biến thể mới này gây ra trên chó. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nghiên cứu các đặc điểm lâm sàng và bệnh lý của biến thể mới ("new-var") tại Việt Nam. Kết quả nghiên cứu cho thấy có 43 ca dương tính với biến thể CPV-2c. Biểu hiện lâm sàng của chó khi mắc bệnh CPV-2c bao gồm mệt mỏi, nôn mửa, chán ăn, sốt, đặc biệt là tiêu chảy ra máu chiếm tỷ lệ 60,47% trong tổng số ca bệnh trong nghiên cứu này. Kết quả mô khám đã ghi nhận có các tổn thương nghiêm trọng trên hệ thống tiêu hoá. Bệnh tích vi thể tập trung chủ yếu ở đường tiêu hóa như xung huyết, xuất huyết dạ dày, hạch màng treo; tế bào biểu mô ruột hoại tử, lông nhung đứt nát. 9/9 cơ quan trong nghiên cứu đều dương tính với kháng nguyên của CPV-2c bằng phương pháp nhuộm hoá mô miễn dịch. Những phát hiện trên nhấn mạnh sự thay đổi độc lực của chủng CPV-2c và tầm quan trọng trong việc giám sát để nhận biết các biến thể mới nổi cũng như tối ưu hoá chiến lược quản lý bệnh.

Từ khóa: Canine parvovirus, bệnh lý lâm sàng, biến thể CPV-2c mới, Việt Nam.

Clinical and pathological characterization of a novel canine parvovirus type 2c variant in dogs in Viet Nam

Bui Thi To Nga, Vo Van Hai

SUMMARY

Canine parvovirus type 2 (CPV-2) is a highly contagious pathogen causing fatal enteric and myocardial diseases in domestic dogs in the worldwide. CPV-2 exhibits genetic variations, with different genotypes emerging over time. In recent years, a new CPV-2c variant named "new-var" has become popularly in Viet Nam. Despite its prevalence, a comprehensive survey of the variant's prevalence and clinical-pathological characteristics is lacking. This study investigated the clinical and pathological features of the emerging CPV-2 "new-var" in Viet Nam. The studied result showed that there were 43 cases positive with the canine parvovirus type 2c (CPV-2c) variant. The clinical manifestations of dogs with CPV-2c disease included lethargy, vomiting, loss of appetite, fever, especially bloody diarrhea, accounting for 60.47% of the total cases in this study. The result of autopsy revealed that there were the severe gastrointestinal and systemic lesions, suggesting that more impactful disease manifestations compared to previous CPV-2c strains. Histological lesions were concentrated mainly in the digestive tract, such as congestion, hemorrhage in the stomach and mesenteric lymph nodes, necrotic intestinal epithelial cells, and broken villi. 9/9 organs of dogs in the study were positive with CPV-2c antigen by immunohistochemistry method. These findings underscore the dynamic evolution of CPV-2 strains and emphasize the importance of continuous surveillance to address emerging viral variants and optimize disease management strategies.

Keywords: Canine parvovirus, clinical pathology, new CPV-2c variant, Viet Nam.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Canine parvovirus type 2 (CPV-2), thuộc họ *Protoparvovirus*, chi *Parvoviridae*, là một virus

chứa DNA sợi đơn, kích thước nhỏ và không có vỏ bọc (Cotmore và cs., 2019). CPV-2 có khả năng lây nhiễm cao và gây bệnh lý viêm ruột, viêm cơ tim nghiêm trọng trên chó nhà lẫn các giống chó hoang dã (Truyen, 1999).

¹ Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

² Hệ thống thú y 2Vet

Tỷ lệ mắc bệnh và tỷ lệ tử vong do CPV-2 chủng biến đổi tương ứng là 3,90-95,8% và 20,17-73,47% (Qi và cs., 2020). Chó con từ 0-6 tháng tuổi là nhóm dễ bị nhiễm CPV-2 nhất, tiếp theo là từ 6-12 tháng tuổi với hai thể bệnh hay gặp là thể tiêu hoá và thể tim, bệnh tiến triển gây tỷ lệ chết rất cao (Biswas và cs., 2006; Goddard và Leisewitz., 2010). Ở thể tiêu hóa, biểu hiện nhiều triệu chứng đường tiêu hoá như nôn mửa và tiêu chảy, trong khi thể tim gây ra viêm cơ tim ngay đối với chó con trong bụng mẹ hoặc sau khi sinh (Ain-Fatin và cs., 2020).

Bộ gen của CPV-2 chứa hai khung đọc mở lớn (ORFs) mã hóa hai protein cấu trúc (VP1 và VP2) và hai protein không cấu trúc (NS1 và NS2). VP2 là protein chính cấu thành vỏ bọc, giữ vai trò quan trọng trong định hướng mô bị ảnh hưởng, phạm vi vật chủ, khả năng gây bệnh và kháng kháng nguyên của virus (Hao và cs., 2022). Ngoài ra, hầu hết các chủng CPV2 được phân loại dựa trên trình tự nucleotide của gen VP2. Giữa năm 1979 đến 1980, CPV-2a đã có 5 biến đổi amino acid trong VP2 so với nghiên cứu trước đây đã báo cáo tại Mỹ (Charoenkul và cs., 2019). Năm 1986, CPV-2a đã được thay thế bởi CPV-2b với các đột biến amino acid N426D và I555V (Parrish và cs., 1991). Từ năm 2001, CPV-2c khác biệt bởi đột biến D426E đã được xác định tại Ý (Buonavoglia và cs., 2001). Một biến thể mới có tên là CPV-2c châu Á với sự thừa 4 amino acid điển hình (5G, 267Y, 324I và 370R) đã lan rộng ở châu Á từ năm 2013 (Liu và cs., 2021). Gần đây, một biến thể mới ("new-var" CPV-2c của Việt Nam) mang theo sự thay thế I447M so với biến thể CPV-2c châu Á đã được xác định tại Việt Nam (Nguyen Manh và cs., 2021). Các dòng biến thể này đã trở nên phổ biến nhất, chiếm 65,5% tổng số chủng CPV-2 ở Việt Nam từ năm 2016 đến 2019 (Doan và cs., 2021).

Trong những năm gần đây, số lượng chó đang tăng lên khá nhanh ở Việt Nam với 7,5 triệu con (Cục Thú y, 2021). Tuy nhiên, những khoảng trống quan trọng về kiến thức và nhận thức về sức khỏe động vật cũng như các bệnh truyền nhiễm của người nuôi thú nhỏ vẫn luôn tồn tại (Nguyen và cs., 2015). Điều này có thể làm cho tình hình dịch tễ học của các bệnh truyền nhiễm trên chó ở Việt Nam trở nên phức tạp hơn, đặc biệt là đối với các chủng virus mới. Một biến thể mới "new-var" đã

xuất hiện trong quần thể chó mắc CPV-2 tại Việt Nam, nhưng chưa có một cuộc khảo sát toàn diện về sự phổ biến và các đặc điểm bệnh lý lâm sàng của biến thể này. Do đó, nghiên cứu này nhằm mô tả chi tiết các khía cạnh lâm sàng và bệnh lý của biến thể mới, từ đó cung cấp cơ sở quan trọng cho việc chẩn đoán các chó nhiễm CPV-2.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

43 chó có biểu hiện viêm dạ dày-ruột và đã có kết quả dương tính với kit test nhanh (Canine Parvovirus One - step Test Kit) tại các phòng khám thú y ở cả 3 vùng Bắc, Trung, Nam của Việt Nam.

Vật tư, hóa chất bao gồm:

Bộ dụng cụ mổ khám (dao, kéo, phanh, kẹp), đồ bảo hộ

Hệ thống máy móc và vật tư phục vụ làm tiêu bản bệnh lý và nhuộm hóa mô miễn dịch như: máy đúc mẫu tự động, máy cắt tiêu bản Microm, phiến nhiệt làm khô tiêu bản, nồi hấp ướn, kính hiển vi quang học, bộ nhuộm tiêu bản, phiến kính cho hóa mô miễn dịch, kháng thể sơ cấp kháng CPV (LS - C57655, LSBio, Hoa Kỳ), kháng thể thứ cấp (Histofine MAX-PO Multi, Nichirei Bioscience, Nhật), cồn, parafin, PBS, xylene, thuốc nhuộm Hematoxylin – Eosin.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu thập mẫu

Mẫu phân của 43 chó có biểu hiện viêm dạ dày-ruột và dương tính với kit test nhanh (Canine Parvovirus One - step Test Kit) tại các phòng khám thú y ở cả 3 vùng Bắc, Trung, Nam của Việt Nam đã được thu thập. Thông tin về giống, lứa tuổi, tình trạng vaccin, biểu hiện lâm sàng của các chó này được cung cấp bởi bác sĩ thú y ở các phòng khám.

Những mẫu này sau đó được tách chiết DNA tổng số và kiểm tra lại bằng phương pháp PCR.

2.2.2. Mổ khám

11 trường hợp chó chết và được sự đồng ý của chủ nuôi đã được mổ khám để kiểm tra bệnh tích đại thể. Quy trình mổ khám được tiến hành theo

TCVN – 8402:2010. Các tổn thương được chụp ảnh, kiểm tra chi tiết về đặc tính, cấu trúc, màu sắc, kích thước cũng như đánh giá tình trạng, mức độ của tổn thương. Đồng thời tiến hành thu thập mẫu bệnh phẩm gồm 9 cơ quan của 8/11 chó bao gồm: hạch lympho, ruột non, gan, lách, thận, phổi, tim, dạ dày, não và cổ định trong formalin trung tính 10% từ 24 đến 48 giờ để đánh giá mô bệnh học và xét nghiệm IHC nhằm xác định đích tấn công của virus trong cơ quan của chó mắc bệnh.

2.2.3. Làm tiêu bản vi thể

Tiêu bản mô học được làm theo quy trình của Bộ môn Bệnh lý Thú y, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Các mẫu mô sau khi ngâm formol trung tính 10% từ 24-48 giờ, sẽ pha mẫu bằng việc cắt thành các miếng có kích thước 1cm × 0,5cm × 0,3cm và đặt trong casset, tiếp tục cố định mẫu trong formol cho đến khi chuyển đục. Mẫu bệnh phẩm sau khi được chuyển qua hệ thống cồn, xylen sẽ được tẩm đục khối paraffin và đục thành khuôn. Cắt mẫu mô với độ dày 3-5 µm, nhuộm mẫu bằng Hematoxylin – Eosin (HE) và các tổn thương vi thể được quan sát dưới kính hiển vi quang học.

2.2.4. Hóa mô miễn dịch (IHC)

Để xác định sự phân bố của virus trong cơ quan của chó mắc bệnh bằng phương pháp IHC sử dụng kháng thể đơn dòng LS - C57655, LSBio, Hoa Kỳ và được tiến hành theo quy trình như sau: Tiêu bản sau khi khử parafin được ngâm 30 phút trong dung dịch Peroxidase Blocking (DAKO) để khóa men nội sinh. Sau đó, rửa kỹ bằng dung dịch PBS (5% Tween 20) trước khi ủ với 10% huyết thanh dê trong 30 phút nhằm ngăn chặn các phản ứng miễn dịch không đặc hiệu. Kháng thể sơ cấp được gắn lên tiêu bản và để qua đêm ở nhiệt độ 4°C (tiêu bản đối chứng âm không gắn kháng thể sơ cấp). Tiếp theo, kháng thể được gắn lên tiêu bản ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, rửa lại tiêu bản bằng dung dịch PBS (5% Tween 20) trước khi nhỏ dung dịch 3, 3'diaminobenzidine (DAB - Dako, Japan). Cuối cùng, rửa tiêu bản dưới vòi nước sạch và nhuộm nhân bằng dung dịch hematoxylin, gắn lamén và đọc kết quả.

Kết quả đánh giá sự phân bố của virus dựa vào

phản ứng miễn dịch của virus (kháng nguyên) có trong mẫu mô đối với kháng thể kháng virus CPV2 (KT1- LS/C57655). Sự bắt cặp của virus đối với kháng thể LS/ C57655 cùng chất chỉ thị DAB sẽ cho kết quả dương tính là màu nâu đen đặc trưng có thể quan sát dưới kính hiển vi quang học.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Triệu chứng lâm sàng của chó mắc bệnh do biến thể CPV-2c mới

Tất cả 43 mẫu trong nghiên cứu này đều cho kết quả dương tính với CPV-2 bằng phương pháp PCR, sản phẩm PCR thu được có kích thước khoảng 583 bp, đúng với kích thước thiết kế của cặp mồi đã được công bố trước đây của Buonavoglia và cs. (2000). Để xác định những con chó bị nhiễm biến thể mới, chúng tôi đã sử dụng 43 mẫu này để giải trình tự một phần gen VP2 và xây dựng cây phát sinh loài. Kết quả cho thấy, cả 43 mẫu đều là chủng CPV-2 thuộc kiểu gen CPV-2c, cùng với các chủng CPV-2c được phân lập gần đây ở Thái Lan, Trung Quốc, Ấn Độ và Việt Nam. Đặc biệt, 43 chủng này được xếp cùng nhóm với biến thể CPV-2c mới của Việt Nam. Chủng CPV-2c mang amino acid thay thế I447M so với biến thể CPV-2c mới (kết quả không được trình bày).

Toàn bộ dấu hiệu lâm sàng của 43 con chó mắc bệnh do biến thể CPV-2c mới Việt Nam được đánh giá và ghi nhận trong bảng 1.

Bảng 1. Triệu chứng lâm sàng ở chó nhiễm biến thể CPV-2c mới (n=43)

Dấu hiệu lâm sàng	Số chó có triệu chứng (con)	Tỷ lệ (%)
Mệt mỏi	43	100,00
Tiêu chảy	41	95,35
Bỏ ăn	40	93,02
Nôn	39	90,69
Sốt (>40°C)	38	88,37
Tiêu chảy kèm máu	26	60,47

Hầu hết những con chó bị nhiễm bệnh (>90%) đều có dấu hiệu lâm sàng của nhiễm virus, bao gồm mệt mỏi, nôn mửa và chán ăn. 88,37% tổng số chó sốt, nhiệt độ cơ thể trên 40°C. Ngoài ra, triệu chứng tiêu chảy thường gặp ở chó nhiễm

CPV-2 biến thể mới với 95,35% số chó được khảo sát. 60,47% chó tiêu chảy có lẫn máu và màng nhầy, tuy nhiên phát hiện này khác với các nghiên cứu trước đây về nhiễm CPV-2, khi hiện tượng tiêu chảy kèm xuất huyết rất hiếm

hoặc không được phát hiện ở những trường hợp bị ảnh hưởng (de Oliveira và cs., 2018; Decaro và cs., 2005). Các dấu hiệu lâm sàng khác như mệt mỏi, nôn mửa, bỏ ăn được ghi nhận với tỷ lệ cao (>90%).



Hình 1. Triệu chứng lâm sàng của chó mắc bệnh do CPV – 2c
A: Chó mệt mỏi, ủ rũ; B: Tiêu chảy phân lẫn máu

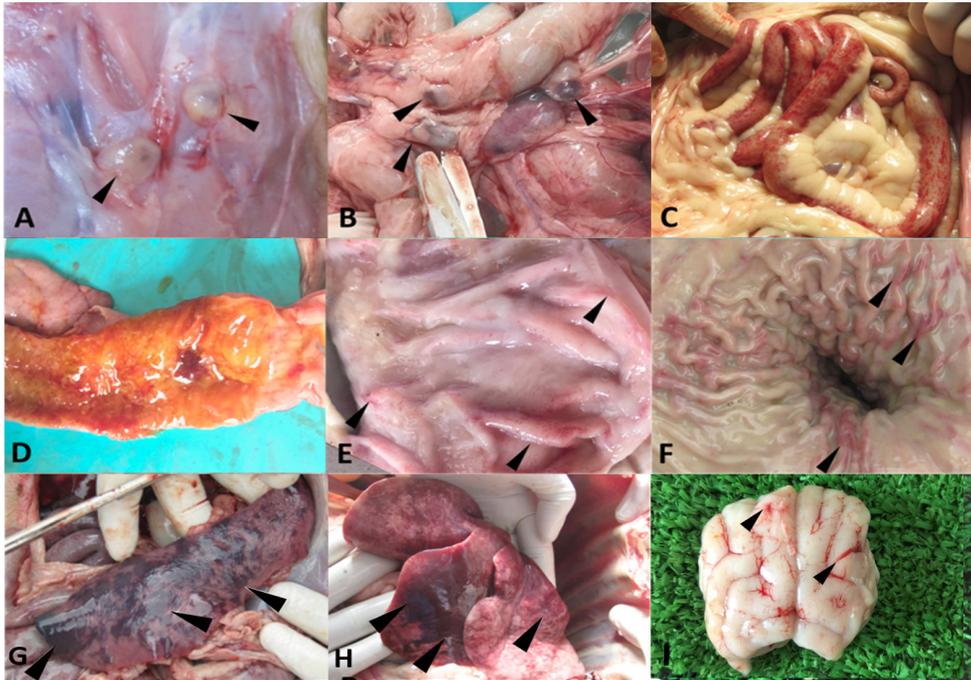
3.2. Bệnh tích đại thể chủ yếu của chó mắc bệnh do biến thể CPV-2c mới

Nghiên cứu được tiến hành trên 43 con chó bị nhiễm biến thể CPV-2c mới nhưng chỉ có thể thực hiện mổ khám 11 con chó khi có sự đồng ý của chủ nuôi. Tổn thương nổi bật nhất ở những con chó này là xung huyết và xuất huyết ở nhiều cơ quan nội tạng (bảng 2). Đáng chú ý, một tỷ lệ rất lớn chó mắc bệnh có biểu hiện xung huyết, xuất huyết ở các cơ quan của hệ tiêu hóa như ruột non (100%), dạ dày (90,91%). Màu sắc của niêm mạc ruột từ hơi vàng đến hơi đỏ hoặc có thể chuyển

sang màu nâu (hình 2C). Ngoài ra, tình trạng sung to, xuất huyết, xung huyết ở các cơ quan tạo máu (lách, gan) cũng được ghi nhận ở nhiều chó khảo sát (lần lượt là 72,73% và 63,64%). 54,55% chó mắc bệnh có biểu hiện xung huyết, xuất huyết ở thận; xuất huyết và phù phổi. Tiến hành kiểm tra tim của chó chết do CPV-2c nhận thấy có hiện tượng tim giãn và cơ tim xuất huyết, tuy nhiên chiếm tỷ lệ thấp (27,27%). Đặc biệt, 1 trường hợp được ghi nhận có xung huyết màng não (9,09%).

Bảng 2. Tổn thương đại thể ở chó nhiễm biến thể CPV-2c mới (n=11)

Cơ quan	Tổn thương đại thể	Số chó có tổn thương (con)	Tỷ lệ (%)
Ruột non	Xung huyết, xuất huyết	11	100
Dạ dày	Xung huyết, xuất huyết	10	90,91
Hạch lympho	Xung huyết, xuất huyết	10	90,91
Lách	Sưng, xuất huyết	8	72,73
Gan	Sung to, xuất huyết	7	63,64
Phổi	Xuất huyết, phù	6	54,55
Thận	Xung huyết, xuất huyết	6	54,55
Tim	Tim giãn, xuất huyết cơ tim	3	27,27
Não	Xung huyết màng não	1	9,09



Hình 2. Một số hình ảnh bệnh tích đại thể chó mắc CPV-2c

A: Hạch dưới hàm sưng nhẹ và đổi màu do xung huyết (đầu mũi tên); B: Hạch màng treo ruột sưng, tối màu do xung huyết (đầu mũi tên); C: Ruột non xuất huyết thành từng đám dày đặc với kích thước đa dạng; D: Niêm mạc ruột bong tróc, xuất huyết, phủ lớp dịch nhầy lợn cợn màu vàng; E: Niêm mạc dạ dày xuất huyết điểm nhẹ (đầu mũi tên); F: Niêm mạc dạ dày xuất huyết nghiêm trọng (đầu mũi tên); G: Lách xung huyết, xuất huyết đa điểm, hình thành từng mảng lớn (đầu mũi tên); H: Nhu mô phổi không đồng nhất, phù, xuất huyết (đầu mũi tên); I: Xung huyết màng não (đầu mũi tên).

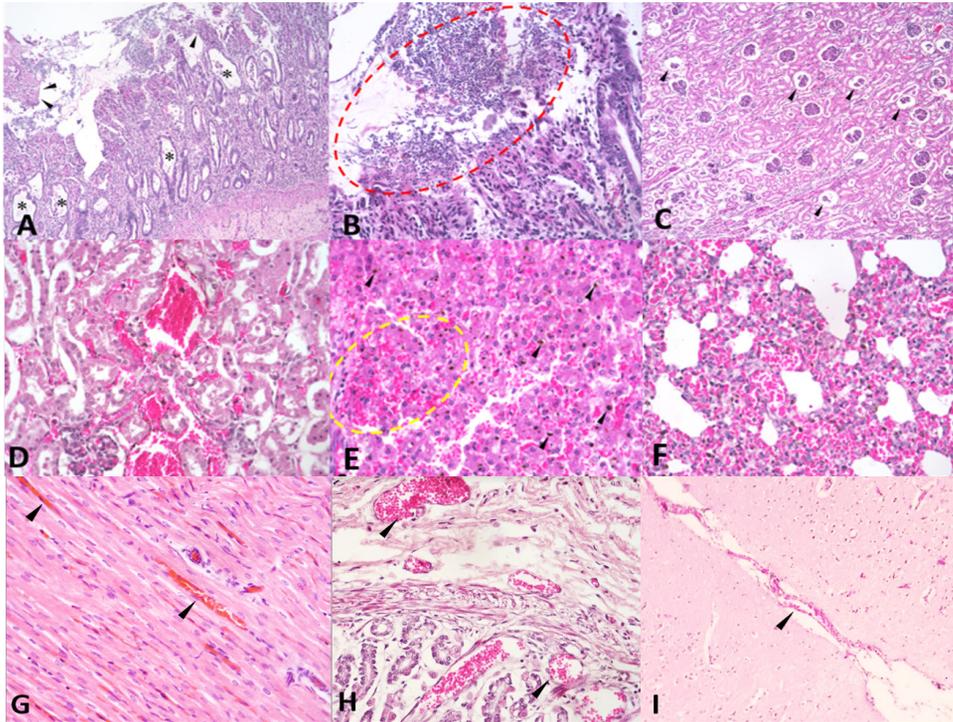
3.3. Bệnh tích vi thể chủ yếu của chó mắc bệnh do biến thể CPV-2c mới

Các cơ quan nội tạng của 8 con chó có tổn

thương đại thể đặc trưng của bệnh đã được thu thập và làm tiêu bản vi thể để đánh giá các tổn thương (bảng 3).

Bảng 3. Tổn thương vi thể ở chó nhiễm biến thể CPV-2c mới (n=8)

Cơ quan	Tổn thương vi thể	Số chó có tổn thương (con)	Tỷ lệ (%)
Hạch lympho	Xung huyết, xuất huyết	8	100
Dạ dày	Xung huyết, xuất huyết	8	100
Ruột	Lông nhung đứt nát, tế bào biểu mô ruột bị hoại tử	8	100
Phổi	Thành phế nang bị phá hủy, phù phổi	6	75
Thận	Teo cầu thận, dẫn xoang Bowman	5	62,5
Gan	Xuất huyết nghiêm trọng	5	62,5
Lách	Xuất huyết	5	62,5
Tim	Xung huyết, xuất huyết cơ tim	3	37,5
Não	Xung huyết màng não	1	12,5



Hình 3. Một số hình ảnh bệnh tích vi thể chó mắc CPV-2c

A: Tế bào biểu mô ruột đứt nát trở thành từng đám lớn (đầu mũi tên) rơi vào trong lòng ruột, phần kẽ giữa các lông nhung giãn rộng (đầu hoa thị) (HE 100X); B: Tế bào biểu mô ruột hoại tử, các vi khuẩn dạng tròn và dạng que dài kể phát trên bề mặt (đường đứt nét màu đỏ) (HE 400X); C: Cầu thận bị teo, bụi mao quản co lại, lòng xoang Bowman giãn rộng (đầu mũi tên) (HE 100X); D: Kê thận xuất huyết với những đám hồng cầu lớn, rải rác các đám hemosiderin (HE 400X); E: Gan xuất huyết thành những đám lớn nhỏ (đường đứt nét màu vàng), các đám hemosiderin nằm rải rác (đầu mũi tên) (HE 400X); F: Phổi xuất huyết nghiêm trọng, các lồng phế nang chứa đầy hồng cầu nằm xen kẽ các phế nang trống (HE 400X); G: Cơ tim xuất huyết (đầu mũi tên) (HE 400X); H: Dạ dày xung huyết ở lớp hạ niêm mạc (đầu mũi tên) (HE 400X); I: Xung huyết màng não (đầu mũi tên) (HE 400X).

Dưới kính hiển vi quang học, hiện tượng xung huyết và xuất huyết được tìm thấy ở các hạch bạch huyết, dạ dày, gan, lách, tim và não của những con chó bị nhiễm bệnh. 100% chó bị nhiễm bệnh biểu hiện các tế bào biểu mô ruột bị đứt nát, bong tróc và sự giãn rộng của các tế bào hèm tuyến ở ruột (hình 3A). Các tế bào biểu mô bị bào mòn, hoại tử, ngăn lại tạo điều kiện thuận lợi cho nhiễm trùng kế phát từ vi khuẩn (hình 3B). 62,5% số chó được khảo sát có biểu hiện teo cầu thận và giãn xoang Bowman trong thận (hình 3C) cùng với hiện tượng xuất huyết kê thận cũng được quan sát thấy ở 1 con chó (hình 3D). Gan xuất huyết nghiêm trọng với hồng cầu trong các kẽ tế bào gan (hepatic sinusoids) nằm rải rác cùng các đám hemosiderin do hồng cầu vỡ (hình 3E). Sự phá hủy thành phế nang và phù nề, xuất huyết với lòng các phế nang chứa đầy máu (hình 3F) xuất hiện ở phổi của 75% số chó bị nhiễm bệnh.

3.4. Sự phân bố của virus trong các cơ quan của chó mắc biến chủng CPV-2c mới

Kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch được tổng hợp chi tiết ở bảng 4.

Kết quả nghiên cứu cho thấy CPV-2c được phát hiện thấy ở 9/9 cơ quan của chó mắc bệnh trong nghiên cứu. Trong đó, 100% các mẫu ruột non, hạch lympho và gan đều cho kết quả dương tính với kháng thể CPV-2c (hình 4). Ở các cơ quan khác như lách, phổi, dạ dày và tim tuy từng ca bệnh mà có thể phát hiện hay không phát hiện được CPV-2c nên các kết quả dương tính thay đổi từ 50-87,5%. CPV-2c ít phát hiện được ở thận và não, chỉ có 3 mẫu thận (37,50%) và 1 mẫu não (12,50%) dương tính với kháng thể CPV-2c. Riêng với hai ca bệnh, số 1 (P19-10) và 5 (P20-

08), sự kết hợp kháng nguyên (CPV-2c) - kháng thể phát hiện ở 8/9 cơ quan được kiểm tra. Số lượng tế bào dương tính với kháng thể CPV-2c cũng đa dạng, không giống nhau giữa các cơ quan, cũng như giữa các ca bệnh. Theo bảng 4,

hạch lympho và ruột non có mật độ tín hiệu miễn dịch dương tính nhiều nhất trong các cơ quan (hình 4A, B). Các cơ quan khác có mật độ dương tính giảm dần, lần lượt là lách, phổi, gan, tim, dạ dày, thận và não (hình 4C, D, E, F, G, H, I).

Bảng 4. Kết quả phát hiện tế bào dương tính với kháng nguyên là virus CPV-2

Cơ quan	Ca bệnh/Mã số mẫu								Tỷ lệ dương tính (%)
	1/P19-10	2/P20-07	3/P20-07	4/P20-08	5/P20-08	6/P20-09	7/P20-10	8/P20-10	
Hạch lympho	+++	+++	+	+	+++	+++	+	++	100
Ruột non	+++	++	++	+	+++	+++	++	+	100
Gan	+	+	+	+	+	++	+	+	100
Lách	++	++	+	+	+	+	-	+	87,50
Phổi	++	+	+	-	++	+	-	+	75,00
Dạ dày	+	+	-	+	-	+	+	-	62,50
Tim	++	-	+	-	-	-	-	-	20,00
Thận	+	-	-	+	+	-	-	-	37,50
Não	-	-	-	-	+	-	-	-	12,5

Ghi chú: Mức độ phân bố kháng nguyên virus CPV-2 chia theo các mức độ: -: Không có tế bào dương tính; +: Ít (có từ 1-10 tế bào dương tính); ++: Trung bình (có từ 11-20 tế bào dương tính); +++: Nhiều (có trên 20 tế bào dương tính)

Ở các hạch lympho ngoại vi và lách, CPV-2c được phát hiện thấy trong tế bào chất của các bạch cầu đơn nhân lớn, các đại thực bào và một số lympho bào (hình 4C). Ở hạch màng treo ruột, ruột non, dạ dày, phổi, gan, thận, tim và não, CPV-2c tập trung chủ yếu ở tế bào chất của các đại thực bào khu trú tại các cơ quan hoặc do quá trình thâm nhiễm tế bào viêm. Với ruột, CPV-2c không chỉ quan sát được ở các đại thực bào mà một số tế bào biểu mô của ruột cũng có tế bào chất bắt màu vàng nâu đặc trưng của chất chỉ thị DAB (hình 4B).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, bằng phương pháp nhuộm hoá mô miễn dịch, CPV-2c được phát hiện thấy ở tất cả các cơ quan như: hạch lympho, ruột non, gan, lách, phổi, dạ dày, tim, thận, não. Kết quả này hỗ trợ và củng cố cho các nghiên cứu trước đây về luận điểm CPV có tính toàn thân, ảnh hưởng đến nhiều cơ quan của bệnh súc (Hoskins, 1997; Macartney và cs., 1984; Zhao và cs., 2013). Kết quả phát hiện được CPV-2c với mật độ lớn ở hạch và ruột của chó mắc viêm ruột tiêu chảy do CPV-2c trong nghiên cứu này tương đồng với một số kết quả đã được công bố trước đây và phù hợp với cơ chế sinh bệnh khi virus nhân lên trong tế bào lympho của hạch, tuyến ức, màng treo ruột và

tính hướng tế bào biểu mô đường ruột của virus sau khi vào máu (Smith và cs., 1997; Hoskins, 1997).

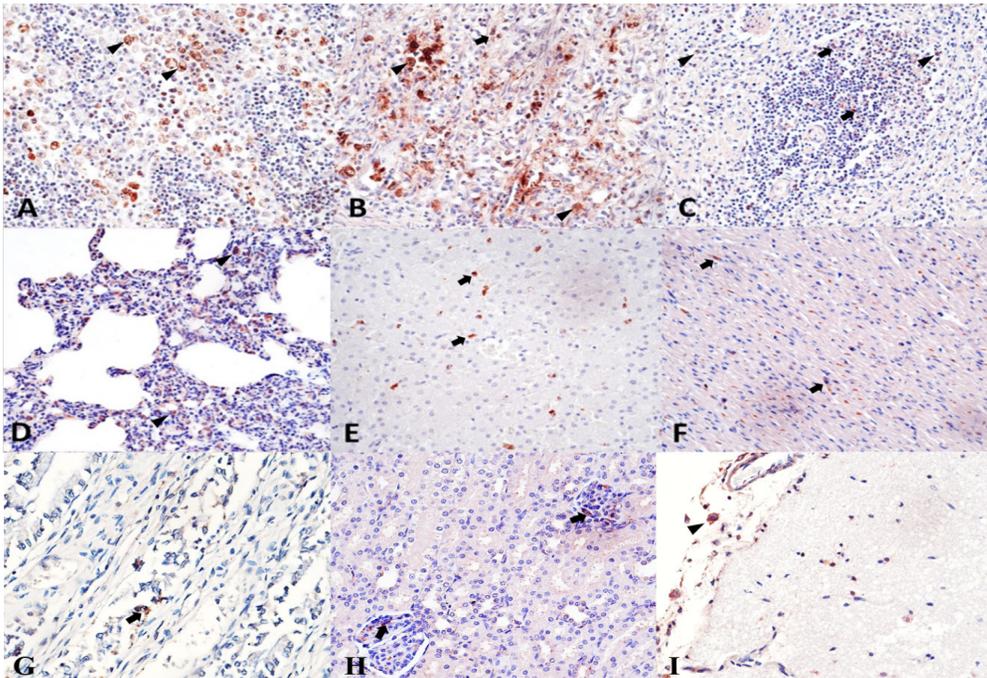
Trong nghiên cứu của Svava và cs. (2003), CPV-2 không chỉ được tìm thấy ở nhiều phần khác nhau của ruột chó mắc bệnh mà còn các cơ quan khác được kiểm tra cũng tìm thấy CPV-2. CPV-2 đã được phát hiện ở các cơ quan như: gan, thận, lách, tuyến ức, hệ thống hạch và phổi, tuy nhiên không phát hiện thấy ở cơ tim. Như vậy, kết quả kiểm tra, đánh giá của phần lớn các cơ quan trong nghiên cứu này phù hợp với kết quả đã được công bố trước đây ngoại trừ ở cơ tim. Hai trường hợp phát hiện thấy virus ở cơ tim đều trên giống chó Việt Nam chưa tiêm vaccin và không có thông tin về nguồn gốc. Các giống chó Việt Nam nuôi phổ biến tại các khu vực nông thôn để trông nhà hoặc thậm chí giết thịt và thường không được tiêm vaccine phòng bệnh. Theo Mathios và cs., bệnh tích trên cơ tim hiếm khi quan sát được và có liên quan tới việc chó có miễn dịch do tiêm phòng hoặc phơi nhiễm tự nhiên (việc tiêm chủng rộng rãi hoặc phơi nhiễm tự nhiên ở động vật trưởng thành, bệnh viêm cơ tim do CPV-2 gây ra trên lâm sàng hiện là một biểu hiện cực kỳ hiếm gặp trong môi trường lâm sàng, trừ khi quá trình nhiễm xảy ra trong bụng chó mẹ hoặc ở chó con được sinh ra từ chó cái chưa

được tiêm phòng). Ngoài ra với các nghiên cứu thực nghiệm, CPV có mặt ở các cơ quan sau từ 4 – 7 ngày sau khi gây bệnh, do vậy, không thể loại trừ khả năng các mẫu thực hiện kiểm tra ở các giai đoạn diễn biến khác nhau của bệnh cũng có thể dẫn đến sự sai lệch trong kết quả kiểm tra (Svara và cs., 2003).

Sự ảnh hưởng của CPV-2 đến hệ thần kinh trung ương vẫn còn chưa sáng tỏ và cần được nghiên cứu. Theo Url và Schmidt (2005), nghiên cứu tập trung nghiên cứu sự tác động của CPV tới tảo khi kiểm tra có mặt của kháng nguyên virus trong 40 não chó mắc bệnh viêm dạ dày ruột truyền nhiễm do CPV gây ra. Kết quả là 40/40 mẫu đều không tìm thấy kháng nguyên CPV. Tuy nhiên, kháng nguyên đã được phát hiện ở não của chó mắc bệnh tự nhiên (Schaudien và cs., 2010) và cả trong nghiên cứu gây bệnh thực nghiệm (Zhao và cs., 2013). Như vậy, nhiều khả năng virus này có khả năng gây ảnh hưởng tới hệ thần kinh của chó. Trong nghiên cứu này, chỉ có duy nhất một mẫu não của ca bệnh

số 5 (P20-08) phát hiện thấy sự có mặt của kháng nguyên CPV-2. Kết quả này góp phần hỗ trợ cho giả thuyết virus có khả năng gây ảnh hưởng tới hệ thần kinh của chó mắc viêm ruột tiêu chảy do CPV-2 (Schaudien và cs., 2010; Zhao và cs., 2013). Sự khác nhau đáng kể trong kết quả có thể do các chủng virus với độc lực khác nhau gây ra và khả năng miễn dịch của chó tại các thời điểm lây nhiễm khác nhau tạo ra.

Ngoài các đại thực bào, tế bào đơn nhân lớn các cơ quan thuộc hệ thống lympho, CPV-2 cũng lây nhiễm ở tế bào lympho và gây hiện tượng hoại tử tế bào. Tuy nhiên, có sự khác nhau về mật độ giữa các hạch lympho, ruột và các cơ quan khác, chỉ một lượng nhỏ kháng nguyên CPV-2 được phát hiện ở phổi, gan, thận, tim,...so với ruột, hạch màng treo ruột. Kết quả này cũng phù hợp với phát hiện của Thaiwong và cs. (2016) khi nghi ngờ kháng nguyên của virus có thể đã bị loại bỏ sau khi gây ra hiện tượng hoại tử ở các cơ quan.



Hình 4. Hình ảnh các tế bào dương tính với kháng nguyên virus CPV-2 trên chó mắc bệnh (400X)

A: Kháng nguyên virus phát hiện ở đại thực bào (đầu mũi tên) ở hạch màng treo ruột; B: Kháng nguyên virus phát hiện ở đại thực bào (đầu mũi tên) và một số tế bào biểu mô ruột (mũi tên); C: Kháng nguyên virus phát hiện ở đại thực bào (đầu mũi tên) và bạch cầu đơn nhân lớn (mũi tên) ở lách; D: Kháng nguyên virus phát hiện ở đại thực bào phế nang ở phổi (đầu mũi tên); E: Kháng nguyên virus phát hiện ở các tế bào Kuffer ở gan (mũi tên); F: Kháng nguyên virus phát hiện ở cơ tim (mũi tên). Kháng nguyên virus phát hiện ở đại thực bào thâm nhiễm ở dạ dày (G), ở đại thực bào thâm nhiễm ở thận (H) và ở đại thực bào (đầu mũi tên) của màng não (I).

IV. KẾT LUẬN

Các đặc điểm bệnh lý lâm sàng trong nghiên cứu này cho thấy rằng, những con chó nhiễm biến thể CPV-2c mới hay còn được gọi là "new-var" Việt Nam có thể gây ra những ảnh hưởng nghiêm trọng hơn so với các chủng CPV-2 trước đó. Bệnh tích đại thể tập trung chủ yếu ở hệ tiêu hóa với tỷ lệ xung huyết và xuất huyết cao. Dưới kính hiển vi quang học, tế bào biểu mô ruột hoại tử và teo nhung mao, dạ dày- hạch màng treo ruột xung huyết và xuất huyết thường được quan sát thấy. Kháng nguyên của virus CPV-2c phát hiện ở cả 9/9 cơ quan trong nghiên cứu bằng phương pháp IHC với mức độ tập trung nhiều nhất ở hệ thống hạch lympho, ruột non và gan. Nghiên cứu này đã cung cấp bằng chứng quan trọng về cơ chế gây bệnh của chủng mới này, từ đó có thể hỗ trợ cho các bác sĩ lâm sàng nhận biết bệnh sớm và điều trị kịp thời.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được Quỹ NAFOSTED tài trợ (No.106.05-2018.337). Nghiên cứu được sự giúp đỡ, hỗ trợ của Hệ thống thú y 2Vet, Bệnh viện Thú cưng Thanh Xuân Đắc Lắc, Bệnh viện Thú y Thành phố Vinh (Nghệ An), Chi cục Thú y Thành phố Hồ Chí Minh, các cán bộ và sinh viên thuộc bộ môn Bệnh lý Thú y - Khoa Thú y - Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ain-Fatin, R., Nur-Fazila, S., Yasmin, A., Sifa-Shaida, A., Ayuni, W., and Muhamad-Alif, Z., 2020. Canine parvovirus (CPV) infection in a great dane puppy: a case report. *Adv. Anim. Vet. Sci* 8, 1075-1078.
2. Biswas, S., Das, P., Ghosh, S., and Pradhan, N., 2006. Detection of canine parvovirus (CPV) DNA by polymerase chain reaction assay and its prevalence in dogs in and around Kolkata, West Bengal. *Indian Journal of Animal Sciences* 76, 324.
3. Buonavoglia, C., Martella, V., Pratelli, A., Tempesta, M., Cavalli, A., Buonavoglia, D., Bozzo, G., Elia, G., Decaro, N., and Carmichael, L., 2001. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *Journal of General Virology* 82, 3021-3025.
4. Buonavoglia, D., Cavalli, A., Pratelli, A., Martella, V., Greco, G., Tempesta, M., and Buonavoglia, C., 2000. Antigenic analysis of canine parvovirus strains isolated in Italy. *The new microbiologica* 23, 93-96.
5. Charoenkul, K., Tangwangvivat, R., Janetanakit, T., Boonyapisitsopa, S., Bunpapong, N., Chaiyawong, S., and Amonsin, A., 2019. Emergence of canine parvovirus type 2c in domestic dogs and cats from Thailand. *Transboundary and emerging diseases* 66, 1518-1528.
6. Cotmore, S. F., Agbandje-McKenna, M., Canuti, M., Chiorini, J. A., Eis-Hubinger, A.-M., Hughes, J., Mietzsch, M., Modha, S., Ogliastro, M., and Péntzes, J. J., 2019. ICTV virus taxonomy profile: Parvoviridae. *Journal of General Virology* 100, 367-368.
7. De Oliveira, P. S., Cargnelutti, J. F., Masuda, E. K., Figuera, R. A., Kommers, G. D., Silva, M. C. d., Weiblen, R., and Flores, E. F., 2018. Epidemiological, clinical and pathological features of canine parvovirus 2c infection in dogs from southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 38, 113-118.
8. Decaro, N., and Buonavoglia, C., 2012. Canine parvovirus-a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Veterinary microbiology* 155, 1-12.
9. Decaro, N., Buonavoglia, C., and Barrs, V., 2020. Canine parvovirus vaccination and immunisation failures: Are we far from disease eradication? *Veterinary microbiology* 247, 108760.
10. Decaro, N., Desario, C., Campolo, M., Elia, G., Martella, V., Ricci, D., Lorusso, E., and Buonavoglia, C., 2005. Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. *Journal of veterinary diagnostic investigation* 17, 133-138.

11. Decaro, N., Martella, V., Elia, G., Desario, C., Campolo, M., Lorusso, E., Colaianni, M. L., Lorusso, A., and Buonavoglia, C., 2007. Tissue distribution of the antigenic variants of canine parvovirus type 2 in dogs. *Veterinary microbiology* 121, 39-44.
 12. Doan, H. T. T., Le, X. T. K., Do, R. T., Nguyen, K. T., and Le, T. H., 2021. Canine parvovirus type 2c in Vietnam continues to produce distinct descendants with new mutations restricted to Vietnamese variants. *Archives of Virology* 166, 1741-1749.
 13. Goddard, A., and Leisewitz, A. L., 2010. Canine parvovirus. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 40, 1041-1053.
 14. Hao, X., Li, Y., Xiao, X., Chen, B., Zhou, P., and Li, S., 2022. The Changes in Canine Parvovirus Variants over the Years. *International Journal of Molecular Sciences* 23, 11540.
 15. Hoang, M., Lin, W.-H., Le, V. P., Nga, B. T. T., Chiou, M.-T., and Lin, C.-N., 2019. Molecular epidemiology of canine parvovirus type 2 in Vietnam from November 2016 to February 2018. *Virology Journal* 16, 1-11.
 16. Johnson, A., 2014. Canine parvovirus type 2 (CPV-2). *Small Animal Pathology for Veterinary Technicians*. Wiley-Blackwell, 10-13.
 17. Liu, C., Gao, J., Li, H., Sun, F., Liang, H., Liu, H., and Yi, J., 2021. Phylogenetic Characteristics of Canine Parvovirus Type 2c Variant Endemic in Shanghai, China. *Viruses* 13, 2257.
 18. Nakamura, M., Tohya, Y., Miyazawa, T., Mochizuki, M., Phung, H., Nguyen, N., Huynh, L., Nguyen, L., Nguyen, P., and Nguyen, P., 2004. A novel antigenic variant of canine parvovirus from a Vietnamese dog. *Archives of virology* 149, 2261-2270.
 19. Nguyen, A., Nguyen, H., Pham, T., Hoang, T., and Olowokure, B., 2015. Awareness of rabies prevention and control measures among public health workers in Northern Vietnam. *Public health* 129, 1591-1596.
 20. Nguyen Manh, T., Piewbang, C., Rungsipipat, A., and Techangamsuwan, S., 2021. Molecular and phylogenetic analysis of Vietnamese canine parvovirus 2C originated from dogs reveals a new Asia-IV clade. *Transboundary and emerging diseases* 68, 1445-1453.
 21. Novosel, D., Tuboly, T., Balka, G., Szeredi, L., Lojkic, I., Jungic, A., Acinger-Rogic, Z., Ait-Ali, T., and Csagola, A., 2019. Evidence of CPV2c introgression into Croatia and novel insights into phylogeny and cell tropism. *Scientific Reports* 9, 1-12.
 22. Parrish, C. R., Aquadro, C. F., Strassheim, M., Evermann, J., Sgro, J., and Mohammed, H., 1991. Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. *Journal of virology* 65, 6544-6552.
 23. Pollock, R., 1982. Experimental canine parvovirus infection in dogs. *The Cornell veterinarian* 72, 103-119.
 24. Qi, S., Zhao, J., Guo, D., and Sun, D., 2020. A mini-review on the epidemiology of canine parvovirus in China. *Frontiers in veterinary science* 7, 5.
- Ngày nhận: 25-2-2024
Ngày phản biện: 2-4-2024
Ngày đăng: 1-6-2024