

# MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM BỆNH LÝ CHỦ YẾU CỦA CHÓ ĐƯỢC GÂY NHIỄM THỰC NGHIỆM BẰNG CHỦNG VIRUS CDV-HV

*Nguyễn Thị Huyền<sup>1</sup>, Nguyễn Vũ Sơn<sup>2</sup>, Phạm Ngọc Thạch<sup>2</sup>, Nguyễn Hữu Nam<sup>2</sup>*

## TÓM TẮT

Bệnh Ca-rê (Canine Distemper) là bệnh truyền nhiễm cấp tính do virus gây ra ở chó. Kết quả gây nhiễm 5 con chó vàng, Việt Nam, 2 tháng tuổi bằng phương pháp khí dung qua niêm mạc mũi, hầu họng với chủng virus Ca-rê CDV-HV, liều  $10^6$ TCID<sub>50</sub>/ml/ con cho thấy:

Triệu chứng lâm sàng chủ yếu của chó được gây nhiễm chủng virus Ca-rê (CDV-HV) là sốt, ho, chảy nước mũi, khó thở, giảm ăn, nôn mửa, tiêu chảy có máu và xuất hiện các nốt sần đỏ trên vùng da bụng.

Chó mắc bệnh có số lượng bạch cầu, số lượng hồng cầu, hàm lượng Hb, tỷ khối huyết cầu đều giảm so với chó đối chứng.

Bệnh tích đại thể của chó được gây nhiễm là viêm phổi xuất huyết, viêm ruột xuất huyết, tích nước ở các xoang, hạch lympho sưng và não sung huyết.

Bệnh tích vi thể chủ yếu là sung huyết, xuất huyết và thâm nhiễm tế bào viêm ở các cơ quan: phổi, ruột, hạch lympho, thận, gan. Tế bào nhu mô của gan, thận, hạch lympho, tế bào biểu mô ruột thoái hóa, hoại tử. Bệnh tích vi thể ở não là sung huyết mạch quản và thâm nhiễm tế bào viêm xung quanh mạch quản não, xuất hiện thể vùi trong nhân tế bào thần kinh (*neuron*).

Tế bào biểu mô phế quản, ruột, tế bào hạch lympho là nơi tập trung nhiều virus Ca-rê được phát hiện bằng phương pháp hóa mô miễn dịch.

*Từ khóa:* chó vàng, bệnh Ca-rê, chủng virus CDV-HV, gây nhiễm thực nghiệm, đặc điểm bệnh lý

## Major pathological characteristics of experimentally infected dogs with Canine Distemper Virus CDV-HV strain

*Nguyen Thi Huyen, Nguyen Vu Son, Pham Ngoc Thach, Nguyen Huu Nam*

## SUMMARY

Canine Distemper is an acute viral infectious disease in dogs. This study was conducted to characterize the pathological features of the infected dog by experimental infection. Five Viet Nameese, yellow dogs at 2-months-old were infected with the CDV-HV strain via nasal and oropharyngeal mucosa with a dose of  $10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml/dog. The studied result showed that the main clinical symptoms of the infected dogs were fever, cough, nasal discharge, dyspnea, decreased appetite, vomiting, bloody diarrhea and nodules on the skin. All the values of white and red blood cell counts, Hb content as well as blood cell density were decreased in comparison to those of the control dogs. The gross lesions of the infected dogs exhibited hemorrhagic pneumonia, hemorrhagic enteritis, fluid storage in the cavities, swollen lymph nodes and brain congestion. Major histological lesions included congestion, haemorrhage and existence of inflammatory cells in the organs (lung, intestine, lymph node, kidney, liver). The liver, kidneys, lymph nodes, intestinal epithelial cells showed the degeneration and necrosis. The brain tissues were congested and infiltration of inflammatory cells surrounding the cerebral vascular system, viral inclusions occurred in the nerve cells. The bronchial epithelial cells, intestines, lymph nodes exhibited the aggression of virus particles.

*Keywords:* domestic yellow dogs, canine distemper, CDV-HV strain, experimental infection, pathological characteristic.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh sài sốt chó (Canine Distemper) được phát hiện từ lâu. Nhưng mãi đến năm 1905, căn bệnh

mới được bác sĩ thú y người Pháp tên là Henri Carré phân lập được từ nước mũi của chó bệnh qua nền lọc vi khuẩn và gây được bệnh thực nghiệm trên chó. Ông cho rằng nguyên nhân của bệnh là virus.

<sup>1</sup> Công ty thuốc Thú y Hanvet

<sup>2</sup> Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Vì vậy bệnh này được gọi là bệnh Ca-rê (David T.S., 1979).

Sau đó, bệnh Ca-rê được phát hiện trên chó khắp thế giới. Gần đây, bệnh phân bố nhiều ở các nước châu Á như Nhật Bản (Lan và cs., 2006), Thái Lan (Keawcharoen và cs., 2005), Hàn Quốc (An và cs., 2008) và Ấn Độ (Latha và cs., 2007). Ở Việt Nam, bệnh Ca-rê được phát hiện từ năm 1920 và cho đến nay bệnh đã xảy ra ở hầu hết các tỉnh và gây thiệt hại lớn do tỷ lệ tử vong của bệnh rất cao, nhưng các nghiên cứu để chẩn đoán bệnh còn nhiều hạn chế. Chủng virus Ca-rê (CDV-HV) được phân lập từ chó mắc bệnh Ca-rê tại địa bàn thành phố Hà Nội. Chó thuộc giống Phú Quốc 2 tháng tuổi có triệu chứng lâm sàng điển hình của bệnh Ca-rê như chó có biểu hiện nôn mửa, ỉa chảy, ỉa ra máu, có nốt sùi trên da, bàn chân sưng. Điều này đã gây thiệt hại rất lớn về mặt kinh tế cũng như tinh thần của người nuôi chó.

Khi mắc bệnh Ca-rê, con vật thường có biểu hiện sốt cao trên 40°C. Tất cả các giống và lứa tuổi đều mẫn cảm với bệnh Ca-rê, tuy nhiên giống chó ngoại và chó non thì mẫn cảm hơn... (Hồ Đình Chúc, 1993; Tô Du và Xuân Giao, 2006; Nguyễn Thị Lan và cs., 2010). Bệnh Ca-rê ở Việt Nam đã có từ lâu nhưng những nghiên cứu về bệnh cũng như virus gây bệnh còn rất hạn chế so với thế giới.

Nghiên cứu này nhằm xác định được khả năng gây bệnh thực nghiệm của chủng virus Ca-rê CDV-HV phân lập từ chó bệnh ở khu vực Hà Nội, xác định các đặc điểm gây bệnh, phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo như sản xuất vắc xin và các chế phẩm sinh học dùng trong chẩn đoán và điều trị bệnh.

## II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Động vật thí nghiệm gồm 10 con chó 2 tháng tuổi có trọng lượng từ 2 - 3 kg/con.

Chó thí nghiệm được chọn là chó không mắc bệnh Ca-rê và các bệnh khác (bệnh Parvovirus, bệnh viêm gan chó....) và không có kháng thể kháng virus Ca-rê.

Virus sử dụng là chủng virus Ca-rê ký hiệu là CDV-HV, được phân lập từ chó mắc bệnh Ca-rê tại địa bàn Hà Nội. Chó này có biểu hiện kém ăn, sốt 40 - 41°C, ủ rũ, mệt mỏi... Ngoài ra còn có hiện tượng

tiêu chảy, thở khó, có nốt sùi và có triệu chứng thần kinh. Virus được nuôi cấy, phân lập trên dòng tế bào VERO - DST tại phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Sinh học Thú y, đạt hiệu giá virus là 10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub>/ml.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Mười chó thí nghiệm được chia thành 2 lô: Lô thí nghiệm gồm 5 con chia 5 chuồng khác nhau ở khu nuôi động vật thí nghiệm đạt tiêu chuẩn an toàn sinh học cấp 2 của khoa Thú y (Học viện Nông nghiệp Việt Nam).

Khu nuôi động vật thí nghiệm được vệ sinh sạch sẽ, thường xuyên phun thuốc sát trùng. Các dụng cụ sử dụng luôn đúng quy định vô trùng, không để lây nhiễm mầm bệnh từ bên ngoài vào và từ phòng thí nghiệm sang phòng đối chứng (các dụng cụ phòng đối chứng và phòng gây nhiễm luôn riêng biệt, trong khu thí nghiệm luôn luôn phải mặc áo blouse, đi ủng, đeo khẩu trang, sát trùng trước khi vào phòng thí nghiệm...).

Lô đối chứng gồm 5 con nuôi ở khu nuôi đối chứng riêng biệt và cách xa khu nuôi thí nghiệm, đảm bảo tiêu chuẩn vệ sinh và an toàn sinh học.

#### 2.2.2. Gây bệnh thực nghiệm

Trước khi gây nhiễm, chó được nuôi 7 ngày để theo dõi tình hình sức khỏe, đo nhiệt độ, và đồng thời để chó thích nghi với điều kiện mới (trong phòng thí nghiệm).

Lấy máu kiểm tra các chỉ tiêu huyết học, chất huyết thanh kiểm tra kháng thể Ca-rê bằng phương pháp ELISA, kiểm tra sự có mặt của virus Ca-rê bằng phương pháp RT - PCR để khẳng định chó thí nghiệm chưa từng tiếp xúc với virus Ca-rê.

Gây nhiễm bằng phương pháp khí dung qua niêm mạc mũi, hầu họng bằng chủng CDV-HV, liều 10<sup>6</sup>TCID<sub>50</sub>/ml/con.

Sau khi gây nhiễm, tiến hành theo dõi chó chặt chẽ, lấy phân và dịch swab vào tất cả các ngày sau khi gây nhiễm để kiểm tra sự đào thải virus (thời gian đầu tiên đào thải virus, số lượng virus đào thải qua từng con đường và thời gian đào thải hết mầm bệnh ra khỏi cơ thể).

Lấy máu vào các ngày 1, 3, 7, 10, 14, 21 sau khi

gây nhiễm để kiểm tra sự có mặt của virus và các chỉ tiêu huyết học so sánh với đối chứng.

### 2.2.3. Phương pháp khám lâm sàng

Triệu chứng lâm sàng của chó mắc bệnh Ca-rê được xác định thông qua theo dõi, quan sát và ghi chép đầy đủ từ bước bắt đầu nuôi chó, sau khi gây nhiễm cho đến khi chó có triệu chứng bệnh điển hình hoặc chết. Đồng thời, chó ở lô đối chứng được theo dõi để so sánh với chó ở lô thí nghiệm.

### 2.2.4. Các phương pháp nghiên cứu phòng thí nghiệm

Xác định sự có mặt của virus Ca-rê trong máu, dịch mũi, mắt, phân bằng phương pháp RT-PCR với các cặp mồi đặc hiệu với đoạn gen P của CDV theo quy trình của Lan và cs. (2005).

Đo các chỉ tiêu huyết học bằng máy Cell – DYN 3700.

Sử dụng phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch (Immunohistochemistry – IHC) đối với các mẫu bệnh phẩm (phổi, hạch, ruột, lách...) theo phương pháp của Lan và cs. (2009). Khi có mặt virus trong mô sẽ biểu hiện màu nâu vàng (màu DAB). Virus tập trung càng nhiều thì màu càng rõ, mức dương tính càng cao.

Mổ khám, quan sát bệnh tích đại thể của chó được gây nhiễm theo tiêu chuẩn TCVN 8402: 2010.

### Phương pháp làm và nhuộm tiêu bản vi thể

Từ những mẫu bệnh phẩm có các biến đổi đại thể được lấy mẫu ngâm trong dung dịch formol 10% để làm tiêu bản xác định bệnh tích vi thể chủ yếu của bệnh.

Tiêu bản vi thể được làm theo phương pháp của Prophet, E.B (1992) bao gồm các bước: (1) lấy mẫu; (2) khử nước, làm trong; (3) tẩm parafin; (4) đúc block; (5) cắt dán mảnh; (6) nhuộm Hematoxinil và Eosin; (7) gắn lamén, dán nhãn và đọc kết quả bằng kính hiển vi (Prophet và A.F.I.O Pathology, 1992).

### 2.3. Phương pháp thống kê, xử lý số liệu

Thống kê triệu chứng, nhiệt độ, số lượng bạch cầu..., xử lý số liệu và vẽ biểu đồ biểu diễn tiến triển của bệnh, nhiệt độ, số lượng bạch cầu... bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2010, Minitab 15.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Thời gian virus xuất hiện trong máu, dịch mắt, mũi và trong phân

Sau khi gây bệnh thực nghiệm bằng chủng virus Ca-rê (CDV-HV), mẫu máu, dịch swab (nhử mắt, nhử mũi) và phân được thu vào ngày thứ 1, 3, 5, 7 ở cả chó thí nghiệm và chó đối chứng. Kết quả về sự có mặt của virus Ca-rê bằng phương pháp RT – PCR được trình bày ở bảng 1.

**Bảng 1. Kết quả xét nghiệm virus Ca-rê bằng phương pháp RT – PCR**

Ngày sau gây nhiễm	Số mẫu dương tính/ Số mẫu kiểm tra					
	Lô thí nghiệm			Lô đối chứng		
	Máu	Swab	Phân	Máu	Swab	Phân
1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
3	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5
7	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5

Từ bảng 1, kết quả xét nghiệm CDV-HV bằng phương pháp RT – PCR cho thấy:

Ở ngày thứ nhất sau gây nhiễm chưa phát hiện thấy virus, có lẽ số lượng virus nhân lên chưa đủ lượng để phát hiện. Ở ngày thứ 3 sau khi gây nhiễm, cả 5 chó TN1, TN2, TN3, TN4 và TN5 đều cho kết quả dương tính. Cụ thể, virus đã xuất hiện trong máu

ở cả 5 chó, chưa thấy virus trong dịch swab và phân.

Đến ngày thứ 5 và ngày thứ 7 thì cả 5 chó thí nghiệm đều có virus trong máu, dịch swab và phân. Chó đối chứng ở cả 3 lần lấy mẫu (ngày thứ 3, 5 và 7) đều cho kết quả âm tính. Từ những kết quả trên chúng mình chúng tôi đã gây nhiễm thành công chủng virus CDV-HV.

### 3.2. Triệu chứng lâm sàng chủ yếu của chó được gây nhiễm CDV-HV thực nghiệm

Chó được gây bệnh thực nghiệm có các biểu hiện lâm sàng như sốt, bỏ ăn, giảm ăn, nôn mửa,

khó thở, chảy nước mũi, ỉa chảy, xuất hiện nốt sùi ở bụng, triệu chứng thần kinh, có con không đi lại được do sưng khớp xương... Diễn biến các triệu chứng lâm sàng được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2. Triệu chứng lâm sàng chủ yếu của chó gây nhiễm CDV-HV thực nghiệm**

Ngày	Sốt	Nước mắt, nước mũi	Ho	Khó thở	Giảm ăn	Nốt sùi dưới da	Tiêu chảy	Nôn mửa	Thần kinh
1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
2	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
3	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5
4	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5
5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	0/5
6	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
7	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
8	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/5
9	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
10	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
11	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	0/4	4/4	3/4	0/4
12	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	1/4	4/4	3/4	0/4
13	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	3/4	4/4	3/4	0/4
14	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	0/3
15	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	0/3
16	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	0/3
17	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2
18	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	2/2
19	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	2/2
20	0/2	0/2	2/2	2/2	2/2	2/2	0/2	0/2	2/2
21	0/2	0/2	2/2	2/2	2/2	2/2	0/2	0/2	2/2
TBĐC	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

*Ghi chú: 0/5 thể hiện số chó có biểu hiện triệu chứng/số chó thí nghiệm theo dõi (n=5 là số chó thí nghiệm, n=5 là số chó đối chứng). TBĐC: Trung bình đối chứng*

Kết quả nghiên cứu cho thấy cả 5 chó thí nghiệm đều có hiện tượng sốt lên xuống, sốt nặng vào ngày thứ 5, sau đó nhiệt độ hạ xuống bình thường, đến ngày thứ 11 chó lại sốt cao lần thứ 2 kéo dài đến ngày 15, trong đợt sốt này chó xuất hiện các nốt sần đỏ ở vùng da bụng, nôn mửa, ho, khó thở. Cả 5 chó đều có hiện tượng giảm ăn, bỏ ăn, tiêu chảy nặng, phân có màu café, chó TN2 phân có lẫn máu tươi và niêm mạc ruột, mùi khó chịu đặc trưng (mùi mắm thối). Các chó thí nghiệm có triệu chứng thần kinh gây co cơ cục bộ, đi lại khó khăn.

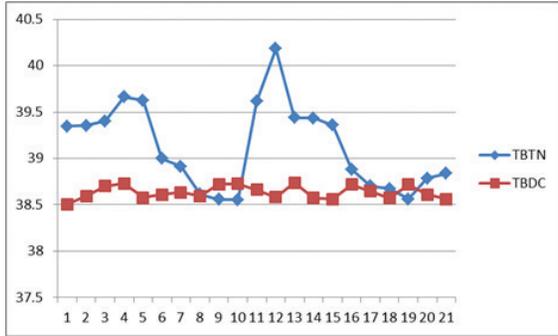
Thân nhiệt của chó được gây nhiễm CDV-HV thực nghiệm:

Trong thí nghiệm, hàng ngày chúng tôi tiến hành kiểm tra, đo thân nhiệt của chó. Kiểm tra thân nhiệt là một trong những khâu quan trọng không thể thiếu được trong chẩn đoán lâm sàng. Căn cứ vào nhiệt độ của cơ thể, có thể thấy phần nào mức độ ảnh hưởng của bệnh với cơ thể chó và phản ứng đáp ứng của chó với bệnh đó.

Sau 3 ngày gây bệnh thực nghiệm, chó bắt

đầu có biểu hiện đầu tiên là sốt, con sốt cao nhất là 40,3°C. Hiện tượng sốt biểu hiện ở cả 5 chó thí nghiệm.

Theo dõi thân nhiệt của chó qua từng ngày sau khi gây bệnh thực nghiệm, kết quả được thể hiện qua biểu đồ 1 dưới đây.



**Biểu đồ 1. Thân nhiệt của chó sau khi gây nhiễm CDV-HV thực nghiệm**

Ghi chú: TBTN: trung bình thí nghiệm; TBĐC: trung bình đối chứng

Căn cứ vào biểu đồ 1 ta thấy sau khi gây nhiễm,

cả 5 chó thí nghiệm đều sốt lên xuống. Cao nhất là vào ngày thứ 11, sau đó giảm dần, kèm theo đó con vật mệt mỏi, giảm ăn, thờ khó.

**3.3. Kết quả khảo sát các chỉ tiêu huyết học của chó**

Máu là một tấm gương phản chiếu tình trạng sức khỏe của gia súc, vì vậy nghiên cứu sự biến đổi của máu là chỉ tiêu rất quan trọng không thể thiếu được trong quá trình chẩn đoán bệnh. Chúng tôi tiến hành khảo sát biến động số lượng bạch cầu và hồng cầu của chó mắc Ca-rê gây nhiễm thực nghiệm.

Để theo dõi sự biến động số lượng bạch cầu, hồng cầu của chó được gây bệnh thực nghiệm, chúng tôi tiến hành lấy máu trước và sau khi gây nhiễm CDV-HV vào các ngày 1, 3, 5, 7, 14, 21.

Kết quả bảng 3 cho thấy từ ngày thứ 3 sau gây nhiễm, số lượng bạch cầu, số lượng hồng cầu, hàm lượng Hb, tỷ khối huyết cầu đều bắt đầu giảm thấp, đến ngày thứ 7 sau gây nhiễm các chỉ tiêu huyết học giảm thấp nhất: số lượng bạch cầu là 4,75 nghìn/ $\mu$ l; số lượng hồng cầu là 2,89 triệu/ $\mu$ l; hàm lượng hemoglobin chỉ còn 70,25 g/l và tỷ khối huyết cầu là 28,2%.

**Bảng 3. Kết quả khảo sát một số chỉ tiêu huyết học chủ yếu của chó mắc Ca-rê thực nghiệm**

Các giá trị trung bình	Số lượng hồng cầu (triệu/ $\mu$ l)	Hàm lượng Hb (g/l)	Tỷ khối huyết cầu (%)	Số lượng bạch cầu (nghìn/ $\mu$ l)
Đối chứng	6,25 $\pm$ 0,05	128,5 $\pm$ 0,50	42,7 $\pm$ 0,52	10,55 $\pm$ 1,35
Trước gây nhiễm	6,17 $\pm$ 0,11	127,50 $\pm$ 0,40	42,0 $\pm$ 0,22	11,10 $\pm$ 0,90
1 ngày	6,20 $\pm$ 0,07	128,00 $\pm$ 0,45	41,7 $\pm$ 0,20	11,05 $\pm$ 1,05
3 ngày	4,14 $\pm$ 0,10	87,50 $\pm$ 0,30	32,8 $\pm$ 0,41	8,50 $\pm$ 0,85
Sau gây nhiễm	5 ngày	3,50 $\pm$ 0,04	78,15 $\pm$ 0,25	5,35 $\pm$ 1,10
7 ngày	2,89 $\pm$ 0,15	70,25 $\pm$ 0,20	28,2 $\pm$ 0,24	4,75 $\pm$ 0,65
14 ngày	3,85 $\pm$ 0,20	82,70 $\pm$ 0,50	31,5 $\pm$ 0,52	5,15 $\pm$ 0,50
21 ngày	4,08 $\pm$ 0,12	89,50 $\pm$ 0,50	34,1 $\pm$ 0,40	6,05 $\pm$ 0,55

Số lượng hồng cầu ở chó trước khi gây nhiễm và chó đối chứng là 6,25 và 6,17 triệu/ $\mu$ l. Khi chó mắc bệnh thì số lượng hồng cầu giảm 2 – 3 triệu. Sự khác biệt số lượng hồng cầu giữa chó bệnh so với chó khỏe là do virus tấn công làm suy yếu các chức năng của cơ thể, trường hợp chó bệnh bị tiêu chảy ra máu làm lượng máu giảm, qua đó làm giảm số lượng hồng cầu. Ngoài ra còn do virus tác động làm chó bệnh ăn ít hoặc bỏ ăn làm chó thiếu chất dinh dưỡng gây ảnh hưởng đến quá trình tạo máu của cơ thể.

Theo Weiss D.J et al. (2010), khi chó bị bệnh, chức năng gan bị suy giảm, sự thiếu sắt đã làm cho số lượng hồng cầu và hàm lượng hemoglobin giảm thấp.

Số lượng hồng cầu của chó khỏe dao động từ 5-8 triệu/ $\mu$ l (Hồ Văn Nam và cs., 1997, Nguyễn Xuân Tịnh và cs., 1996, Weiss D.J. et al., 2010, Wintrobe, M et al., 1967). Kết quả nghiên cứu đã cho thấy chó mắc bệnh Ca-rê, số lượng hồng cầu giảm rõ rệt chỉ còn 2,89 triệu/ $\mu$ l và các chỉ tiêu hệ hồng cầu khác cũng giảm tương ứng.

### 3.4. Tổn thương đại thể của chó được gây nhiễm thực nghiệm bằng chủng virus CDV-HV

Sau khi gây bệnh thực nghiệm, lần lượt 3 con chó thí nghiệm đã chết vào các ngày thứ 7, 13 và 16 và 2 con còn lại sau 21 ngày được chúng tôi mổ khám để kiểm tra bệnh tích đại thể và thu thập mẫu bệnh phẩm để nghiên cứu bệnh tích vi thể.

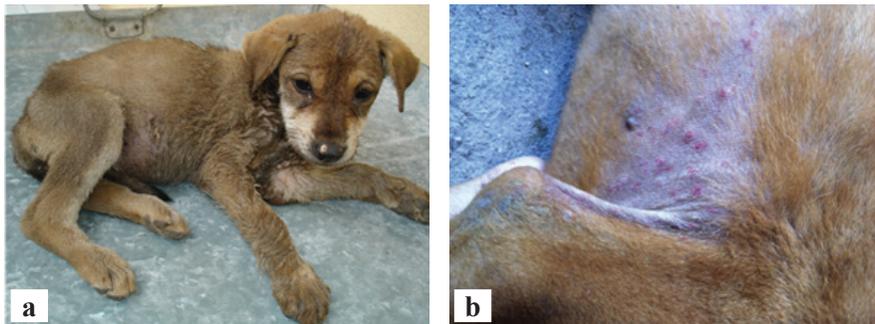
Kết quả mổ khám cho thấy: Phổi viêm, sưng to, màu đỏ sẫm, khí quản, phế quản có nhiều bọt, nhiều vùng phổi chắc đặc, hạch lympho sưng và xuất huyết, trên vùng da mỏng có nốt sùi, xoang bao tim, xoang ngực và xoang bụng tích nước và não sưng huyết.

Ruột bị viêm cata xuất huyết khiến thành niêm mạc ruột bong ra lẫn máu với phân ra ngoài. Đây chính là nguyên nhân khiến phân có mùi đặc trưng.

Bệnh tích ở gan có xuất huyết ở chó TN1 và TN2. Gan sưng to, túi mật sưng ở chó TN3 và TN4.

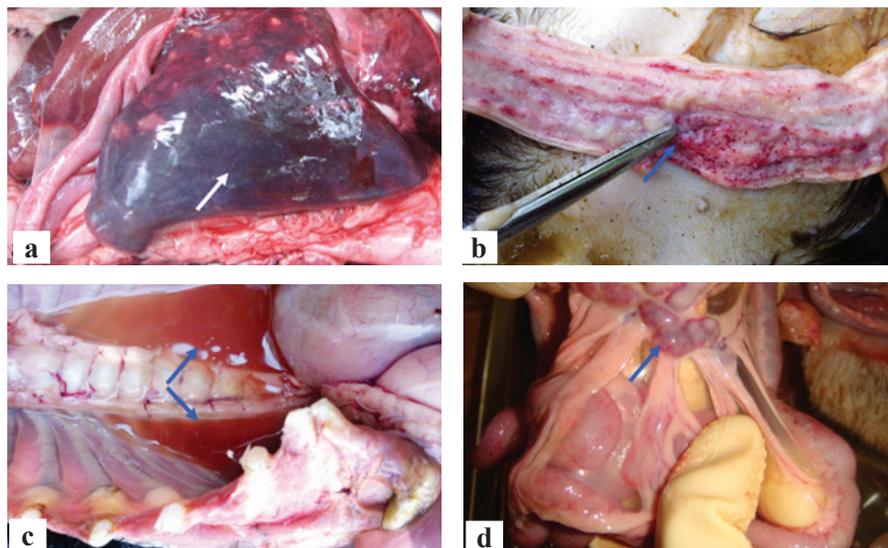
Bệnh tích thận tập trung xuất hiện xuất huyết ở 3 chó TN1, TN3, TN4. Đối với chó TN2, chúng tôi thấy thận thay đổi kích thước lớn hơn.

Bệnh tích ở não chủ yếu là xuất huyết, sưng huyết ở những vị trí không đồng nhất trên não ở 5 chó thí nghiệm.



**Hình 1. Chó gây nhiễm thực nghiệm bằng chủng CDV-HV**  
a. Chó ủ rũ, mắt có dử; b. Trên da xuất hiện các nốt sần đỏ

Hình ảnh bệnh tích đại thể của chó mắc bệnh Ca-rê thực nghiệm được thể hiện ở hình 2.



**Hình 2. Chó gây nhiễm Ca-rê thực nghiệm chủng CDV-HV**  
(a. Phổi viêm đỏ sẫm; b. Ruột xuất huyết; c. Xoang bụng tích nước; d. Hạch lympho sưng, xuất huyết)

### 3.5. Bệnh tích vi thể chủ yếu của chó được gây nhiễm CDV-HV thực nghiệm

Với chó thí nghiệm, sau khi mổ khám quan sát các

biến đổi đại thể, mẫu các cơ quan: phổi, lách, hạch lympho, thận, ruột, gan, não được thu, ngâm bảo quản formalin 10% sau đó làm tiêu bản vi thể. Bệnh tích vi thể của chó thí nghiệm được trình bày ở bảng 4.

**Bảng 4. Bệnh tích vi thể chủ yếu của chó được gây nhiễm CDV-HV thực nghiệm**

Cơ quan chó	Phổi			Hạch lympho	Lách	Gan	Thận	Ruột	Não
	Viêm kẽ phổi	Xuất huyết, sung huyết	Phế quản- phế viêm	Xuất huyết	Nhồi huyết	Sung huyết, thoái hóa mỡ	Cầu thận viêm, xuất huyết	Sung huyết, lỏng nhưng đứt nát	Sung huyết, thâm nhiễm tế bào viêm
TN1	+	+	-	+	+	+	+	+	+
TN2	+	+	+	+	-	+	+	+	+
TN3	+	+	+	+	-	+	+	+	+
TN4	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TN5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ĐC1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ĐC2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ĐC3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ĐC4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ĐC5	-	-	-	-	-	-	-	-	-

*Ghi chú: + Có bệnh tích; - Không có bệnh tích*

Kết quả bảng 4 cho thấy các biến đổi vi thể quan sát được ở các cơ quan của chó mắc bệnh do virus CDV-HV là rõ rệt.

Trên cả 5 chó thí nghiệm đều quan sát thấy viêm phổi, xuất huyết, phế quản - phế viêm.

Trong lòng phế quản và phế nang chứa đầy tế bào viêm, nước phù và hồng cầu, vách phế nang giãn rộng, mạch quản sung huyết. Lòng phế nang hẹp lại.

Chó bệnh có hiện tượng viêm kẽ phổi tăng sinh các tế bào đại thực bào và tế bào lymphocyte nằm trong kẽ phổi, đồng thời phổi xuất hiện tế bào xơ non.

Trong lòng phế quản chứa đầy bạch cầu đa nhân trung tính thoái hoá hoặc không thoái hoá, đại thực bào, tế bào biểu mô bong ra. Vách phế quản sung huyết, thâm nhiễm bạch cầu đa nhân trung tính, có khi tập trung thành từng đám lớn che khuất cả cấu trúc phế quản. Ngoài ra, thể vùi còn tìm thấy trong nguyên sinh chất những tế bào bị virus phá huỷ.

Phổi xuất huyết rõ, lòng phế quản và phế nang chứa đầy hồng cầu màu đỏ tươi.

Ruột bị viêm cata xuất hiện trên cả 5 con, có sự thâm nhiễm của tế bào plasmocyte. Do sự tấn công làm cho lòng nhung bị đứt nát và xếp lộn xộn, hoại tử dẫn đến xơ hóa.

Theo Watson, A. và Wright, N. (1974), khi chó mắc bệnh Ca-rê, tế bào biểu mô không tràng bị thoái hóa, hoại tử.

Quan sát bệnh tích hạch lympho trên 5 chó chúng tôi thấy các hạch lympho đều sung huyết, xuất huyết vùng rìa hạch, có các điểm thoái hóa và hoại tử tế bào.

Quan sát 2 chó TN1 và TN4 thấy lách sung huyết, thoái hoá và hoại tử. Trên tiêu bản lách thấy vách đứt nát, các tế bào thoái hoá xen kẽ với các tế bào lành, thâm nhiễm hồng cầu lan tràn trong nhu mô lách, tế bào lympho giảm.

Thận có những biến đổi bệnh lý như thâm nhiễm tế bào viêm, kẽ thận xuất huyết. Cầu thận viêm có chứa dịch rỉ viêm, tế bào ống thận teo nhỏ, lòng ống rộng, có trụ trong. Ở các vùng lành có hoạt động bù, mạch quản giãn rộng, tế bào ống thận to hơn bình thường.

Bệnh tích vi thể ở não cho thấy: sung huyết mạch quản não và thâm nhiễm tế bào viêm xung quanh mạch quản não, xuất hiện thể vùi trong nhân của tế bào thần kinh (*neuron*). Theo Watson, A. và Wright, R. (1974), xuất hiện thể vùi trong nhân (*intranuclear inclusion body*) ở tế bào biểu mô, tế bào lưới, tế bào lympho, tế bào thần kinh đệm và tế bào thần kinh là bệnh tích vi thể điển hình của bệnh Ca-rê.

Tế bào gan thoái hóa mỡ, thoái hóa không bào, thâm nhiễm nhiều tế bào viêm ở quanh cửa.

Các kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả như Blixenkroner et al. (1993), Appel, et al. (1994), Harder, et al. (1997), Lan, et al. (2005, 2006, 2009) Greene, et al. (2013) đã công bố.

**Bảng 5. Kết quả nhuộm hóa mô miễn dịch của các cơ quan**

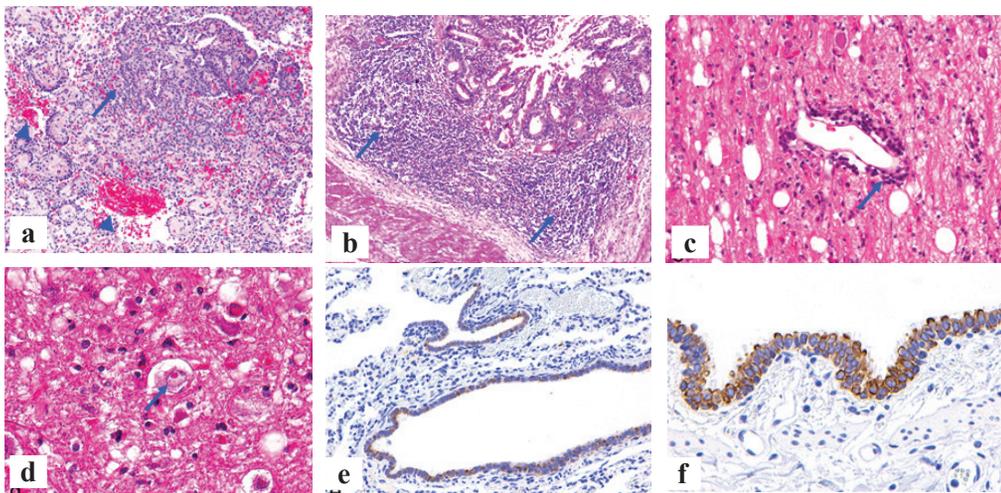
	Phổi	Hạch lympho	Ruột	Não
Chó thí nghiệm	+++	+++	++	+
Chó đối chứng	-	-	-	-

*Ghi chú:* +++ đậm hạt bắt màu nâu nhiều và rõ, ++ hạt màu nâu trung bình, + hạt màu nâu nhỏ, ít, - không có các hạt màu nâu

Phương pháp nhuộm hóa mô miễn dịch cho thấy virus tập trung chủ yếu ở tế bào biểu mô phế quản và phế nang và các hạch lympho (hình 3e, f). Từ kết quả nghiên cứu này cho thấy lấy mẫu phổi và hạch

phổi cho phép phát hiện virus nhanh hơn và nhạy hơn trong chẩn đoán bệnh.

Hình ảnh bệnh tích vi thể và hoá mô miễn dịch của chó mắc Ca-rê thực nghiệm được thể hiện ở hình 3.



**Hình 3. Chó gây nhiễm Ca-rê thực nghiệm chủng CDV-HV**

a. Phổi xuất huyết (đầu mũi tên), thâm nhiễm tế bào viêm trong lòng phế nang (mũi tên), HE.x100; b. Thâm nhiễm tế bào viêm ở ruột (mũi tên), HE.x200; c. Tế bào viêm thâm nhiễm xung quanh mạch máu não (mũi tên), HE.x200; d. Thể vùi (*intranuclear inclusion body*) của virus Ca-rê xuất hiện ở não (mũi tên), HE.x400; e. Tế bào biểu mô nhánh cuống phổi nhỏ dương tính với kháng thể CDV, IHC.x200; f. Tế bào biểu mô nhánh cuống phổi lớn dương tính với kháng thể CDV, IHC.x400.

## IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

### 4.1. Kết luận

Chủng virus Ca-rê (CDV-HV) phân lập từ chó

mắc bệnh ở Hà Nội có khả năng gây bệnh cho chó, làm chết 3/5 chó thí nghiệm.

Triệu chứng lâm sàng chủ yếu của chó được gây nhiễm chủng virus Ca-rê (CDV-HV) là sốt, ho, chảy

nước mũi, khó thở, giảm ăn, nôn mửa, tiêu chảy có máu và có các nốt sần trên da.

Chó mắc bệnh có số lượng bạch cầu, số lượng hồng cầu, hàm lượng Hb, tỷ khối huyết cầu đều giảm so với chó đối chứng.

Bệnh tích đại thể của chó được gây nhiễm là viêm phổi xuất huyết, viêm ruột xuất huyết, tích nước các xoang, hạch lympho sưng to và não sung huyết.

Bệnh tích vi thể chủ yếu là sung huyết, xuất huyết và thâm nhiễm tế bào viêm ở các cơ quan: (phổi, ruột, hạch lympho, thận, gan). Tế bào nhu mô của gan, thận, hạch lympho, tế bào biểu mô ruột thoái hóa, hoại tử.

Bệnh tích vi thể ở não là sung huyết mạch quản và thâm nhiễm tế bào viêm xung quanh mạch quản não, xuất hiện thể vùi trong nhân của tế bào thần kinh (*neuron*).

Tế bào biểu mô phế quản, ruột, tế bào hạch lympho là nơi tập trung nhiều virus Ca-rê trong nhuộm hoá mô miễn dịch.

#### 4.2. Đề nghị

Đề đề tài nghiên cứu này được hoàn thiện hơn nữa, chúng tôi mong muốn:

Cần tiến hành gây bệnh thực nghiệm với các chủng virus khác, các giống chó khác nhau và thuộc các lứa tuổi khác nhau, để nắm được các thể bệnh lâm sàng khác nhau.

Nghiên cứu sâu hơn về các đặc tính sinh học phân tử và đặc tính di truyền của các chủng CDV phân lập ở các vùng khác nhau tại Việt Nam. Trên cơ sở đó sẽ lựa chọn được chủng sản xuất vacxin phòng bệnh hiệu quả và phù hợp nhất với yêu cầu thực tế sản xuất.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hồ Đình Chúc (1993), Bệnh Caré trên đàn chó ở Việt Nam và kinh nghiệm điều trị, Công trình nghiên cứu Hội thú y Việt Nam.
- Nguyễn Thị Lan, Trần Trung Kiên (2010), Nghiên cứu bệnh Caré trên chó vùng Hà Nội bằng phương pháp giải phẫu bệnh lý và hóa mô miễn dịch. *Tạp chí khoa học kỹ thuật thú y- tập XVII- số 2*, 14-18.
- An, D.-J., Kim, T.-Y., Song, D.-S., Kang, B.-K., & Park, B.-K. (2008). An immunochromatography assay for rapid antemortem diagnosis of dogs suspected to have canine distemper. *Journal of virological methods*, 147, 244-249.

- Appel, M. J., Yates, R. A., Foley, G. L., Bernstein, J. J., Santinelli, S., Spelman, L. H., Miller, L. D., Arp, L. H., Anderson, M., Barr, M. (1994). Canine distemper epizootic in lions, tigers, and leopards in North America. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 6, 277-288.
- Blixenkroner-Møller, M., Svansson, V., Have, P., Örvell, C., Appel, M., Pedersen, I.R., Dietz, H.H. & Henriksen, P. 1993. Studies on manifestations of canine distemper virus infection in an urban dog population. *Vet. Microbiol.* 37, 163-173.
- Harder, T. C., & Osterhaus, A. D. (1997). Canine distemper virus - a morbillivirus in search of new hosts? *Trends in microbiology*, 5, 120-124.
- Kai, C.; F. Ochikubo; M. Okita; T. Mikami; F. Kobune & K. Yamanouchi (1993). Use of B95a cells for isolation of canine distemper virus from clinical cases. *Journal of Veterinary Medical Science*, 55(6), 1067-1070.
- Keawcharoen, J., Theamboonlers, A., Jantaradsamee, P., Rungsipipat, A., Poovorawan, Y., & Oraveerakul, K. (2005). Nucleotide sequence analysis of nucleocapsid protein gene of canine distemper virus isolates in Thailand. *Veterinary microbiology*, 105, 137-142.
- Lan, N.T, Yamaguchi, R., Furuya, Y., Inomata, A., Ngamkala, S., Naganobu, K., Kai, K., Mochizuki, M., Kobayashi, Y., Uchida, K. & Tateyama, S. (2005). Pathogenesis and phylogenetic analyses of canine distemper virus strain 007Lm, a new isolate in dogs. *Veterinary Microbiology*, 110, 197-207.
- Lan, N.T, Yamaguchi, R., Inomata, A., Furuya, Y., Uchida, K., Sugano, S., & Tateyama, S. (2006). Comparative analyses of canine distemper viral isolates from clinical cases of canine distemper in vaccinated dogs. *Veterinary Microbiology*, 115, 32-42.
- Lan, N.T., Yamaguchi, R., Kien, T. T., Hirai, T., Hidaka, Y., & Nam, N. H. (2009). First isolation and characterization of canine distemper virus in Viet Nam with the immunohistochemical examination of the dog. *Journal of Veterinary Medical Science*, 71, 155-162.
- Latha, D., Geetha, M., Ramadass, P., & Narayanan, R. (2007). Evaluation of ELISA based on the conserved and functional middle region of nucleocapsid protein to detect distemper infection in dogs. *Veterinary microbiology*, 120, 251-260.
- Prophet, E.B. and A.F.I.O. Pathology.(1992). *Laboratory methods in histotechnology*, American Registry of Pathology.
- Watson, A., & Wright, R. (1974). The ultrastructure of inclusions in blood cells of dogs with distemper. *Journal of comparative pathology*, 84, 417-427.

Ngày nhận 15-1-2018

Ngày phản biện 1-2-2018

Ngày đăng 1-6-2018