

# TỶ LỆ LƯU HÀNH HUYẾT THANH ĐỐI VỚI VIRUS GÂY BỆNH CA-RÊ TRÊN CHÓ NUÔI TẠI THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

*Nguyễn Văn Dũng, Lê Việt Bảo, Lê Đình Hà Thanh*  
*Chi cục Chăn nuôi và Thú y Thành phố Hồ Chí Minh*

## TÓM TẮT

Tổng cộng 132 mẫu huyết thanh trên chó nuôi không chủng ngừa vaccin phòng bệnh Ca-rê tại Thành phố Hồ Chí Minh được dùng kiểm tra sự lưu hành huyết thanh kháng virus Ca-rê. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ lưu hành huyết thanh kháng virus Ca-rê trên đàn chó là 42,20%. Phân tích tỷ lệ lưu hành kháng thể kháng virus Ca-rê theo nhóm giống và lứa tuổi đã cho kết quả không phát hiện sự khác biệt tỷ lệ lưu hành kháng thể kháng virus Ca-rê. Tuy nhiên, tỷ lệ lưu hành kháng thể kháng virus Ca-rê trên nhóm chó cái (51,56%) cao hơn trên nhóm chó đực (33,83). Khi sử dụng chủng virus CDV/dog/HCM/33140816 (Asia-1, chủng phân lập tại Việt Nam) để chẩn đoán huyết thanh trên chó nuôi đã cho tỷ lệ lưu hành kháng thể kháng virus Ca-rê cao hơn chủng Onderstepoort (America-1, chủng virus vaccin sống). Tính kháng nguyên giữa chủng CDV/dog/HCM/33140816 và chủng Onderstepoort được kiểm tra bằng PRNT, kết quả cho thấy tính kháng nguyên của virus Ca-rê genotype Aisa-1 cao hơn so với virus Ca-rê genotype America-1.

*Từ khóa:* Chó nuôi, tỷ lệ lưu hành huyết thanh, Canine distemper virus.

## Seroprevalence of Canine distemper virus in domestic dogs in Ho Chi Minh City

*Nguyen Van Dung, Le Viet Bao, Le Dinh Ha Thanh*

## SUMMARY

A total of 132 sera from the CDV unvaccinated dogs in Ho Chi Minh City were used for detecting antibody against CDV. The studied result indicated that seroprevalence of CDV in the domestic dogs in Ho Chi Minh City was 42.2% (56/132). The result of analysing seroprevalence of CDV showed that there was no significant difference in seroprevalence of CDV by the dog breed and age groups. However, seroprevalence of CDV in the female dog group (51.56%) was higher than that of the male dog group (33.38%). The result of using CDV/dog/HCM/33140816 (Asia-1, a CDV strain isolated in Viet Nam) in serological diagnosis of CDV in dogs indicated that seroprevalence of Asia -1 CDV strain was higher than seroprevalence of Onderstepoort strain (America-1 CDV- a live vaccine virus strain). The antigenicity between CCV/dog/HCM/33140816 strain and Onderstepoort strain was compared by PRNT, as a result antigenicity of the Asia-1 genotype was higher than that of the America-1 genotype.

*Keywords:* Domestic dogs, seroprevalence, Canine distemper virus.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus Ca-rê (CDV- Canine Distemper Virus) là một tác nhân gây bệnh sởi sốt chó (hay còn gọi là bệnh chó non), CDV có thể gây bệnh trên nhiều loài động vật ăn thịt (Apple và ctv, 1994, Appel và ctv, 1995; Harder và ctv, 1996; Beineke và ctv, 2009). Trong thời gian gần đây, CDV đã

được báo cáo gây nên những ổ dịch nghiêm trọng trên loài linh trưởng (khỉ) tại Trung Quốc và Nhật Bản (Sakai và ctv, 2008; Qiu và ctv, 2011). CDV là một RNA virus, chuỗi đơn âm, thuộc họ *Paramyxoviridae*, chi *Morbillivirus*. Bộ gen của CDV mã hóa 6 protein cấu trúc (gồm N, M, F, H, P và L) và 2 protein không

cấu trúc (gồm C và V). Hiện nay, có ít nhất 14 genotype khác nhau đã được phát hiện gồm: Asia-1, Asia-2, Asia-3, Asia-4, Europe, Europe wildlife, Arctic like, Rockborn like, America-1, America-2, Africa, South America-1, South America-2, South America-3. Mặc dù, vaccin phòng bệnh Ca-rê trên chó đã được sử dụng nhiều năm nhưng vẫn còn số lượng lớn chó chưa tiêm phòng vaccin. Việc nghiên cứu đánh giá mức độ lây lan CDV trong quần thể chó thông qua việc kiểm tra huyết thanh cũng cần thiết để có thể có dữ liệu phục vụ cho công tác kiểm soát dịch bệnh. Hiện nay, nghiên cứu lưu hành huyết thanh CDV trên chó rất hạn chế ở Việt Nam. Trong nghiên cứu này, kháng thể kháng CDV được kiểm tra để đánh giá mức độ lưu hành trên quần thể chó nuôi tại Thành phố Hồ Chí Minh.

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

### 2.1. Nội dung

- Đánh giá tỷ lệ lưu hành huyết thanh học đối với CDV trên chó nuôi tại Thành phố Hồ Chí Minh.

- So sánh hàm lượng kháng thể bằng trung hòa virus với chủng CDV/dog/HCM/33140816 (genotype Asia-1) và chủng CDV vaccin (chủng Onderstepoort, genotype American -1).

### 2.2. Nguyên liệu

**Mẫu huyết thanh:** Tổng cộng 132 mẫu huyết thanh được thu thập từ chó nuôi tại các quận, huyện trên địa bàn Thành phố Hồ Chí Minh, có độ tuổi từ 1 đến 8 năm tuổi. Tất cả các chó được lấy mẫu đều không chủng ngừa vaccin phòng bệnh do CDV. Mẫu huyết thanh được bảo quản ở  $-20^{\circ}\text{C}$  cho đến khi thực hiện các thí nghiệm.

**Tế bào:** tế bào CRFK/cSLAM, tế bào A72/cSLAM (Nakano và ctv, 2009), tế bào Vero (ATCC) được nuôi cấy môi trường DMEM (Dulbecco's minimum essential medium (Life Technologies, USA).

Chủng virus phân lập tại Việt Nam được chuẩn bị trên tế bào A72/cSLAM trong môi trường DMEM và chủng Onderstepoort (chủng vaccin sống) được chuẩn bị trên tế bào Vero trong môi trường MEM.

**Vật tư, hóa chất và thiết bị:** tủ an toàn sinh học cấp II, tủ âm, máy ly tâm, kính hiển vi đảo ngược...v.v và các hóa chất, vật dụng thường quy phòng thí nghiệm khác.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### Lấy mẫu huyết thanh:

Mẫu máu được lấy từ tĩnh chân trước hoặc sau, mẫu sau khi lấy được đặt nằm nghiêng và để yên khoảng 45-60 phút ở nhiệt độ phòng, bảo quản mát chuyển về phòng thí nghiệm. Sau đó chất lấy huyết thanh cho vào ống trữ mẫu, bảo quản lạnh ở  $4^{\circ}\text{C}$  nếu kiểm tra trong vòng vài ngày, nếu lâu hơn thì phải trữ ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$ .

**Phương pháp xét nghiệm:** sử dụng kỹ thuật trung hòa giảm đám hoại tử 75% (Plaque Reduction Neutralization Test- PRNT<sub>75</sub>). Kỹ thuật được thực hiện trên tế bào CRFK/cSLAM được mô tả trước đây (Nakano và cs., 2009; Mochizuki và cs., 2002) với một số cải tiến. Chủng Onderstepoort (Mochizuki và cs., 2002) và chủng CDV/dog/HCM/33/140816 (phân lập tại Việt Nam) được tinh sạch.

Tóm tắt kỹ thuật như sau: huyết thanh chó được bất hoạt bổ thể ở nhiệt độ  $56^{\circ}\text{C}$  trong 30 phút trước khi thực hiện phản ứng. Một lượng thể tích tương đương giữa huyết thanh pha loãng bậc 2 (bắt đầu bằng độ pha loãng 1:10) và virus CDV (chủng CDV/dog/HCM/33140816 hoặc chủng Onderstepoort) chứa 100 PFU/ml pha loãng trong môi trường DMEM với 2% FCS được trộn đều và ủ  $37^{\circ}\text{C}$  trong 1 giờ. Tiếp theo, lấy 50  $\mu\text{l}$  của hỗn dịch này nhỏ vào giếng trong đĩa 24 giếng chứa tế bào CRFK/cSLAM một lớp. Ủ đĩa 2 giếng đã nhỏ hỗn dịch  $37^{\circ}\text{C}$  trong 1 giờ, sau đó hút loại bỏ hỗn dịch, rửa 3 lần với môi trường nuôi cấy. Sau đó, phủ agarose 0,8% (Lonza, Rockland, ME, USA) trong môi trường DMEM chứa 10% FCS. Để nhiệt độ phòng cho

agarose đặc lại và đặt ủ trong tủ ẩm 37°C cho đến khi bệnh tích tế bào (CPE) được quan sát thấy. Sau cùng cố định bằng dung dịch đệm formalin và nhuộm với crystal violet. Khi số lượng plaque ở giếng xét nghiệm ít hơn 75% so với giếng đối chứng thì huyết thanh pha loãng được xem là dương tính. Hàm lượng kháng thể được xác định là ở nồng độ pha loãng huyết thanh cao nhất nhưng có số lượng plaque ít hơn 75% so với giếng đối chứng.

**Phân tích dữ liệu:** Số liệu thu thập được xử lý và phân tích thống kê sinh học. Trắc nghiệm

Chi-Square và Fisher Extract được sử dụng phân tích, so sánh tỷ lệ lưu hành.

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Tỷ lệ lưu hành huyết thanh CDV trên đàn chó nuôi

Tổng cộng có 56 chó (42,2%) trong số 132 chó xét nghiệm được phát hiện dương tính với kháng thể kháng CDV khi sử dụng chủng CDV/dog/HCM/33140816 trong phản ứng trung hòa virus (bảng 1).

**Bảng 1. Tỷ lệ lưu hành huyết thanh trên chó nuôi tại Thành phố Hồ Chí Minh**

Quận/huyện	Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương	Tỷ lệ dương (%)
Quận 2	11	6	54,55
Quận 3	1	0	0,00
Quận 4	7	3	42,86
Quận 5	2	2	100
Quận 6	9	1	11,11
Quận 8	1	1	100
Quận 10	1	0	0,00
Quận 11	4	1	25,00
Quận 12	28	11	39,29
Gò Vấp	4	1	25,00
Bình Thạnh	6	4	66,67
Tân Phú	2	1	50,00
Tân Bình	3	2	66,67
Bình Tân	4	0	0,00
Bình Chánh	8	6	75,00
Hóc Môn	28	11	39,29
Củ Chi	13	6	46,15
<b>Tổng cộng</b>	<b>132</b>	<b>56</b>	<b>42,2</b>

Điều này cho thấy CDV đã lưu hành và lan rộng trên đàn chó nuôi tại Thành phố Hồ Chí Minh. Tỷ lệ lưu hành huyết thanh CDV cũng đã ghi nhận tại nhiều nước như: Tại Úc, nghiên cứu trên quần thể chó nuôi cho tỷ lệ dương tính CDV là 8,3% (Ruffalo và cs., 2020), tỷ lệ lưu hành huyết thanh tại Bhutan là 11,3% (Dorji và cs., 2020) và tại

Thổ Nhĩ Kỳ là 9,3% (Gengay và cs., 2004), tại Nigeria là 7,5% (Temilade và cs., 2015) và Chilê là 61% (Acosta-Jamett và cs., 2015). Như vậy so với một số nghiên cứu đã công bố, tỷ lệ lưu hành huyết thanh CDV tại Thành phố Hồ Chí Minh khá cao (42,2%). Tỷ lệ lưu hành huyết thanh CDV cũng thay đổi theo vùng địa lý.

Tỷ lệ lưu hành huyết thanh CDV trên chó theo lứa tuổi khác biệt không có ý nghĩa thống kê ( $P>0,05$ ). Tương tự, tỷ lệ lưu hành

huyết thanh CDV giữa nhóm giống chó ta và chó ngoại khác biệt cũng không có ý nghĩa ( $P>0,05$ ) (bảng 2).

**Bảng 2. Tỷ lệ lưu hành huyết thanh đối với CDV trên chó nuôi theo tuổi, giống, giới tính**

Chi tiêu		Số mẫu xét nghiệm	Số mẫu dương	Tỷ lệ dương (%)
Giới tính	Đực	68	23	33,83 <sup>a</sup>
	Cái	64	33	51,56 <sup>b</sup>
Tuổi (năm)	1	25	9	36,00
	2	27	10	37,04
	3	24	11	45,83
	>3	56	26	46,43
Giống	Chó ta	86	38	44,19
	Chó ngoại	46	18	39,10

Tuy nhiên, tỷ lệ lưu hành huyết thanh CDV trên chó đực (33,8%) thấp hơn trên chó cái (51,56%) ( $P<0,05$ ). Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự như nghiên cứu của Temilade và cs. (2015) tại Nigeria cho biết nhóm chó cái có tỷ lệ lưu hành cao. Một số nghiên cứu của Gengay và cs. (2015), McCaw và cs. (1998), Twark và cs. (2000) cũng cho thấy tỷ lệ lưu hành huyết thanh CDV không ảnh hưởng bởi tuổi của chó. Trong khi đó, kết quả nghiên cứu của Guo và cs. (1986), Temilade và cs. (2015) cho biết nhóm chó trưởng thành có tỷ lệ lưu hành cao hơn. Tỷ lệ lưu hành huyết thanh CDV khác nhau ở các nghiên cứu có thể do nhiều yếu tố ảnh hưởng như: mật độ quần thể chó, tập quán nuôi, đặc tính của chủng CDV đang lưu hành, tình hình sử dụng vacxin,... Trong nghiên cứu này, mẫu chỉ thu thập được ở chó 1 năm tuổi đến 8 năm tuổi nên dữ liệu lưu hành huyết thanh trên chó dưới 1 năm tuổi vẫn cần tiếp tục nghiên cứu để có thể

đánh giá đầy đủ và toàn diện hơn.

### 3.2. So sánh hàm lượng kháng thể kháng CDV trên chó nuôi với kháng nguyên CDV genotype Asia-1 (CDV/dog/HCM/33140816) và America-1 (Onderstepoort)

Để so sánh hàm lượng kháng thể trên chó nuôi với CDV genotype Asia-1 và America-1, 60 mẫu máu chó được thực hiện phản ứng trung hòa với chủng virus CDV/dog/HCM/33140816 và Onderstepoort. Kết quả cho thấy tỷ lệ dương tính kháng thể CDV/dog/HCM/33140816 (50,0%) cao hơn kháng thể kháng Onderstepoort (38,3%).

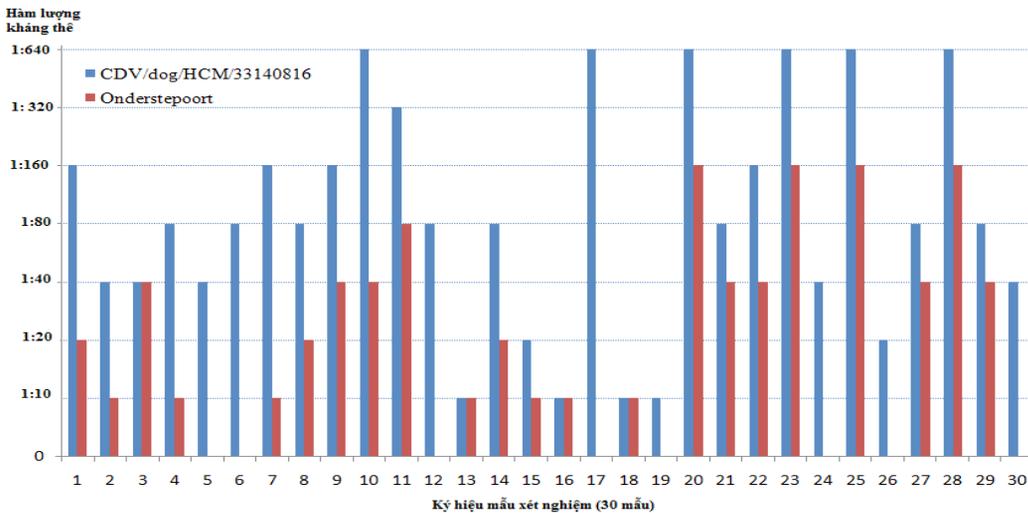
Có 7 chó phát hiện dương tính khi sử dụng virus CDV/dog/HCM/33140816 thực hiện xét nghiệm nhưng âm tính khi sử dụng chủng virus chủng Onderstepoort để xét nghiệm (bảng 3).

**Bảng 3. So sánh tính kháng nguyên giữa chủng Onderstepoort và CDV/dog/HCM33140816**

		CDV/dog/HCM/33140816		Tổng cộng
		Mẫu dương	Mẫu âm	
CDV (Onderstepoort)	Mẫu dương	23	0	23 (38,3%)
	Mẫu âm	7	30	37 (61,7%)
<b>Tổng cộng</b>		<b>30 (50,0%)</b>	<b>30(50,0%)</b>	<b>60 (100,0%)</b>

Như vậy, khi sử dụng chủng CDV phân lập được tại Việt Nam (genotype Asia-1) trong chẩn đoán sẽ phát hiện sự lưu hành bệnh cao hơn so với chủng Onderstepoort (America-1) bằng kỹ thuật trung hòa virus. Mặc dù, hiện nay CDV đã được phát hiện trên 13 genotype ở các vùng địa lý, quốc gia khác nhau nhưng các nghiên cứu cho thấy chỉ có một serotype (Loots và cs., 2017). Điều này có nghĩa là các kháng thể tạo ra từ các genotype khác nhau của CDV có

thể bảo hộ lẫn nhau. Tuy nhiên, với sự tiến hóa không ngừng của CDV, sự bảo hộ chéo giữa các genotype có thể ngày càng giảm hiệu quả. Trong số 30 mẫu dương tính được định lượng so sánh giữa hàm lượng kháng thể kháng chủng CDV/dog/HCM/33140816 và chủng Onderstepoort, có 13 mẫu có hàm lượng kháng thể đối với CDV genotype Asia-1 cao hơn có ý nghĩa ( $\geq 4$  lần) so với chủng CDV America-1 (hình 1).



**Hình 1. So sánh hiệu giá kháng thể kháng CDV giữa chủng Onderstepoort và chủng CDV/dog/HCM/33140816**

Điều này có nghĩa có tỷ lệ nhất định thú gây miễn dịch chủng Onderstepoort sẽ bảo hộ có thể không hoàn hảo khi thú nhiễm chủng virus genotype Asia-1, một genotype đang lưu hành phổ biến tại Việt Nam (Nguyễn Văn Dũng và cs., 2018). Tuy nhiên, điều này cần có nghiên cứu sâu hơn để có thể kết luận chính xác hơn.

#### IV. KẾT LUẬN

Tỷ lệ lưu hành kháng thể kháng virus Ca-rê trên chó nuôi tại Thành phố Hồ Chí Minh là 42,2%. Điều này cho thấy virus Ca-rê đang lây lan trong quần thể chó nuôi.

Tỷ lệ lưu hành kháng thể kháng virus Ca-rê khác biệt không có ý nghĩa trên các nhóm chó theo lứa tuổi, giống chó. Tuy nhiên, tỷ lệ lưu

hành kháng thể kháng virus Ca-rê trên nhóm chó cái cao hơn trên nhóm chó đực.

Hiệu giá kháng thể kháng virus Ca-rê trên chó nuôi đối với genotype Asia-1 cao hơn đối với genotype America-1.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nakano H., Kameo Y., Sato H., Mochizuki M., Yokoyama M., Uni S., Shibasaki T. và Maeda K., 2009. Detection of antibody to Canine Distemper Virus in wild raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 71(12): 1661–1663.
2. Masami Mochizuki M., Motoyoshi M., Maeda K. và Kai K., 2002. Complement-

- mediated neutralization of Canine Distemper Virus *in vitro*: Cross-reaction between vaccine Onderstepoort and field KDK-1 strains with different hemagglutinin gene characteristics. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*9(4): 921–924.
3. Dorji T., Tenzin T., TenzinK. *et al.*, 2020. Seroprevalence and risk factors of canine distemper virus in the pet and stray dogs in Haa, western Bhutan. *BMC Vet Res* 16, 135 . <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02355-x>
  4. Ruffalo G., Byers M., Ward MB., 2020. A canine distemper virus seroprevalence study of dogs on three islands in the Torres Strait region, Australia. *Journal Veterinary* 98(8): 371-374. <https://doi.org/10.1111/avj.12983>.
  5. Gengay A., , Oncel T., Karaiglu T., Sancak A., Demir AB., Ozkul A., 2015. Antibody prevalence to Canine Distemper Virus (CDV) in stray dogs in Turkey. *Revue de médecine vétérinaire* 155(8):432-434.
  6. Acosta-Jamett A. *et al.*, 2015. Epidemiology of canine distemper and canine parvovirus in domestic dogs in urban and rural areas of the Araucanía region in Chile. *Vet. Microbiol.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.05.012>.
  7. Temilade BE., Solomon OO., Omoshab OE., Omotayo E., Omezuruike OI, 2015. Seropositivity of Canine Distemper Virus (CDV) in dogs presenting at Abeokuta, Nigeria. *Public Health Research* 5(4): 109-119. <http://doi: 10.5923/j.phr.20150504.05>.
  8. McCaw DL, Thompson M, Tate D. *et al.*, 1998. Serum distemper virus and parvovirus antibody titers among dogs brought to a veterinary hospital for revaccination. *Journal of American Veterinary Medical Association* 213:72–75.
  9. Twark L., Dodds WJ., 2000. Clinical use of serum parvovirus and distemper virus antibody titers for determining revaccination strategies in healthy dogs. *Journal of American Veterinary Medical Association* 217(7):1021-1024.
- Ngày nhận 2-2-2021  
 Ngày phản biện 28-2-2021  
 Ngày đăng 1-6-2021