

# CHẾ TẠO KHÁNG HUYẾT THANH TỐI MIỄN DỊCH TRÊN NGỰA ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH CA-RÊ DO CANINE DISTEMPER VIRUS TRÊN CHÓ

*Đào Lê Anh, Trương Quang Lâm, Nguyễn Thị Lan,  
Nguyễn Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Thu Hương, Hoàng Thị Phương  
Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

## TÓM TẮT

Miễn dịch dịch thể đóng một vai trò quan trọng trong việc ngăn ngừa bệnh Ca-rê ở chó. Kháng huyết thanh chứa kháng thể đặc hiệu chống virus gây bệnh Ca-rê là một trong những liệu pháp được sử dụng trong trường hợp khẩn cấp khi điều trị bệnh Ca-rê. Tuy nhiên, với sự gia tăng của các trường hợp nhiễm bệnh CDV, sự sẵn có của kháng huyết thanh/kháng thể đặc hiệu từ chó hoặc kháng thể có hiệu quả điều trị thấp hiện chưa đáp ứng được nhu cầu điều trị lâm sàng. Kết quả kháng huyết thanh thu được từ quy trình tối miễn dịch trên ngựa bằng chủng virus VNUA.CDV.NA04 kết hợp với vaccin CDV nhược độc cho hiệu giá kháng thể đặc hiệu cao, hoạt tính trung hòa virus đảm bảo chống lại CDV. Kháng huyết thanh CDV bao gồm kháng thể đặc hiệu kháng CDV từ huyết thanh ngựa được xác định là có khả năng trung hoà ( $>8\log_2$ ) và ức chế đáng kể sự nhân lên của CDV trong các tế bào Vero - DST và làm giảm hiệu quả các triệu chứng lâm sàng và tăng tỷ lệ sống sót (60,00-100%) của những con chó bị nhiễm CDV, tương tự như được điều trị bằng kháng huyết thanh kháng CDV có nguồn gốc từ chó. Những kết quả này chỉ ra rằng kháng huyết thanh có nguồn gốc từ ngựa là một nguồn thay thế tiềm năng cho kháng thể có nguồn gốc từ chó để phục vụ điều trị CDV tại các phòng khám. Nghiên cứu này mở ra một nguồn trị liệu mới sử dụng kháng huyết thanh ngựa chứa kháng thể đặc hiệu kháng CDV nhằm đáp ứng kịp thời nhu cầu cấp thiết của thị trường trong điều trị lâm sàng.

*Từ khóa:* Virus Ca-rê, kháng huyết thanh, kháng thể đặc hiệu kháng CDV, ngựa.

## Production of hyperimmune serum in horses for the treatment of Canine distemper virus in dogs

*Dao Le Anh, Trương Quang Lâm, Nguyễn Thị Lan,  
Nguyễn Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Thu Hương, Hoàng Thị Phương*

## SUMMARY

Humoral immunity plays an important role in the prevention of Canine distemper in dogs. Antisera containing specific antibodies against the virus that causes craze disease is one of the therapies used in emergency cases when treating char disease. However, with the increasing incidence of CDV infections, the availability of canine-specific antisera/antibodies or antibodies with low therapeutic efficacy does not currently meet the clinical need. Antisera results obtained from hyper immuno in horses with VNUA.CDV.NA04 virus strain combined with attenuated CDV vaccine gave high specific antibody titers, guaranteed virus neutralization activity against CDV. Anti-CDV sera including anti-CDV-specific antibodies purified from equine serum were found to be able to neutralize ( $>8\log_2$ ) and significantly inhibit CDV replication in Vero cells - DST and effectively reduced clinical symptoms and increased survival (60.00-100%) of the CDV-infected dogs, similar to those treated with anti-CDV serum. These results indicate that equine - antisera are a potential alternative source of canine - antibodies for the treatment of CDV in clinics. This study opens up a new therapeutic source using equine antiserum containing specific anti-CDV antibodies to promptly respond to the urgent market needs in clinical treatment.

*Keywords:* Canine distemper virus, antiserum, anti-CDV antibody, horse.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Virus gây bệnh Ca-rê trên chó (Canine distemper virus – CDV) là virus thuộc giống Morbillivirus, họ Paramixoviridae, virus gây nhiễm hướng mô lympho, niêm mạc và mô thần kinh. Virus có chứa sợi đơn âm RNA, mã hóa cho 6 protein cấu trúc (nucleocapsid N, M, fusion F, H hemagglutinin, phospho-P và L protein) và 2 protein phi cấu trúc (C và V protein) (Kotani *et al.*, 1989). Các chủng virus Ca-rê được phân loại dựa trên sự thay đổi của các Haemagglutinin (H) và protein phản ứng tổng hợp tín hiệu – peptide (FSP) (Hur *et al.*, 1999; Roscoe, 1993). Bệnh được đặc trưng bởi một số dấu hiệu lâm sàng thể hiện ở đường hô hấp, tiêu hóa và hệ thống thần kinh trung ương, virus có tính lây nhiễm cao như virus sởi (MV). Ngoài dấu hiệu hô hấp và tiêu hóa, bệnh Ca-rê được đặc trưng bởi giảm bạch cầu nghiêm trọng và mất khả năng tăng sinh tế bào lympho. Điều này dẫn đến ức chế miễn dịch và làm tăng tính nhạy cảm với nhiễm trùng cơ hội, bệnh gây tỷ lệ chết cao (Perpiñán *et al.*, 2008; Qiu *et al.*, 2011; Takeuchi *et al.*, 2012). Dấu hiệu lâm sàng khi chó mắc Ca-rê bao gồm chán ăn, viêm kết mạc, có dử mắt, dử mũi, viêm phế quản và viêm thanh quản, nôn mửa và tiêu chảy, mụn mủ đỏ ở bụng và đùi (Qiu *et al.*, 2011). Khi hệ thống thần kinh bị ảnh hưởng, chó bị mất điều hòa cơ thể, liệt hai chân, liệt tứ chi, teo cơ, rung giật cơ, run, không tự chủ, co giật ban đêm, hôn mê, khô võng mạc và có thể bị mù (Osterhaus *et al.*, 1988). Virus Ca-rê có thể được tìm thấy trong các tế bào của đường hô hấp, tiết niệu và đường tiêu hóa, các tế bào nội tiết, mô bạch huyết, tế bào thần kinh, mạch máu nguyên bào sợi và tế bào sừng. Trong nhiều thập kỷ, bệnh đã được kiểm soát bằng cách sử dụng vaccin giảm độc lực. Tuy nhiên, sự bùng phát Ca-rê liên tục được báo cáo ở chó và động vật hoang dã, với sự gia tăng số lượng chó bị nhiễm bệnh, cả chó đã được tiêm phòng và chưa được tiêm phòng (Hirama *et al.*, 2004).

Để điều trị bệnh sài sót ở chó, các bệnh viện hay phòng khám thú y tại Việt Nam vẫn sử dụng

các sản phẩm chế phẩm sinh học nhập khẩu từ nước ngoài với giá thành cao, thời gian đợi chờ đặt hàng lâu, công tác bảo quản, vận chuyển hàng về nước khó khăn do yêu cầu điều kiện bảo quản nghiêm ngặt, khi hàng về đến nơi chất lượng đã bị giảm đi rất nhiều do quá trình vận chuyển bảo quản không đảm bảo. Do đó, kết quả điều trị bệnh Ca-rê sử dụng chế phẩm sinh học nhập ngoại ở chó đôi khi chưa được như mong muốn, và tỷ lệ khỏi bệnh thấp.

Chủng virus VNUA.CDV.NA04 được nhóm nghiên cứu lựa chọn thông qua đánh giá tính đại diện về đặc điểm di truyền, đặc tính sinh học và kháng nguyên và đặc biệt khả năng tạo kháng thể trung hoà chéo tốt với các chủng CDV phân lập tại Việt Nam. Chúng tôi đặt vấn đề nghiên cứu chế tạo kháng huyết thanh ngựa thông qua quy trình tối miễn dịch bằng chủng virus này nhằm thu được sản phẩm kháng huyết thanh chứa hàm lượng kháng thể đặc hiệu cao nhất phục vụ điều trị bệnh Ca-rê do CDV ở chó. Kết quả của nghiên cứu này sẽ góp phần giảm thiệt hại kinh tế và nâng cao hiệu quả điều trị bệnh cho đàn chó tại Việt Nam.

## II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Chó khỏe mạnh: Chó bergie lai khỏe mạnh, được tiêm phòng vaccin 5 bệnh thường gặp ở chó, không mắc bệnh truyền nhiễm (bệnh Ca-rê, bệnh Parvo, bệnh dại). Chó có trọng lượng 12-15kg.

- Ngựa khỏe mạnh: ngựa đực 2-3 tuổi, khỏe mạnh, trọng lượng 250 - 350 kg; chăm sóc, nuôi dưỡng trong chuồng nuôi riêng biệt.

- Chủng virus VNUA.CDV.NA04.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Kháng nguyên chủng virus VNUA.CDV.NA04

- Chủng giống virus VNUA.CDV.NA04 được phân lập từ chó mắc bệnh Ca-rê thu thập ở tỉnh Nghệ An năm 2020. Chủng virus được

nuôi cấy trên môi trường tế bào Vero-DST. Thu hoạch huyền dịch virus tại thời điểm tế bào Vero-DST bị phá hủy hoàn toàn với CPE đạt 85 – 100%. Hiệu giá virus CDV của chủng giống (TCID<sub>50</sub>/ml) đạt hiệu giá 10<sup>6</sup>TCID<sub>50</sub>/ml. Tinh chế kháng nguyên virus CDV để huyền dịch virus CDV đạt hiệu giá 5x10<sup>8</sup> TCID<sub>50</sub>/ml. Chủng giống virus CDV đảm bảo không tạp nhiễm virus, vi khuẩn, nấm và *Mycoplasma* theo TCVN 8684:2011.

- Vô hoạt virus bằng dung dịch BEI: Thêm vào dịch nổi virus với dung dịch BEI 0,001M. Dịch nổi virus được ủ ở 37°C trong 24h. BEI còn lại được trung hòa bằng cách bổ sung 10% thể tích BEI bằng dung dịch Natri thiosulfat (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sau 2h. Phối trộn với tá dược Freund's Complete Adjuvant theo tỷ lệ 1:1.

### 2.2.2. Gây tối miễn dịch và theo dõi hình thành kháng thể đặc hiệu ở chó và ngựa

- Gây tối miễn dịch cho chó:

Bố trí thí nghiệm gây tối miễn dịch ở chó: 3 lô thí nghiệm tương ứng số lần tiêm 3, 4, 5 lần; 3 chó/lô. Thực hiện thí nghiệm theo hình 1:

Liều kháng nguyên: 1x10<sup>8</sup>TCID<sub>50</sub>/ml

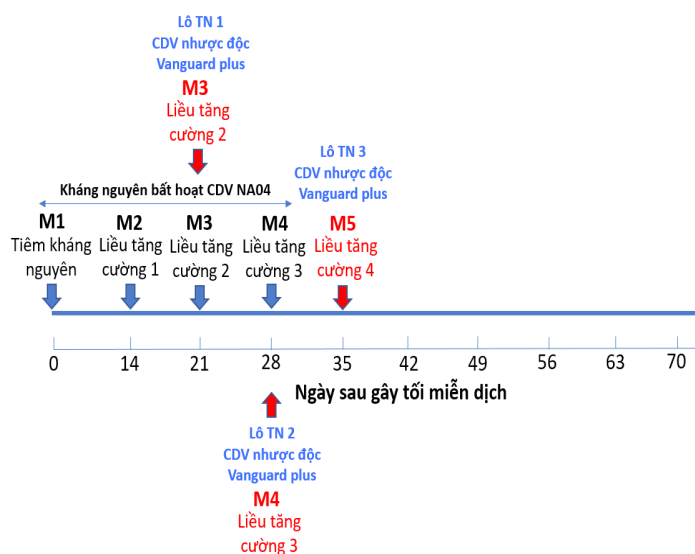
Số lần đưa kháng nguyên: Tiêm 3, 4, 5 lần; mũi thứ hai cách mũi thứ nhất 14 ngày, các mũi còn lại cách nhau 7 ngày, mũi cuối cùng sử dụng virus vaccin nhược độc Vanguard Plus 5 với liều gấp 2 lần liều tiêm vaccin.

- Gây tối miễn dịch cho ngựa:

Bố trí thí nghiệm gây tối miễn dịch ở ngựa: 3 lô thí nghiệm tương ứng số lần tiêm 3, 4, 5 lần; 2 ngựa/lô. Thực hiện thí nghiệm theo hình 1.

Liều kháng nguyên: 1x10<sup>9</sup>TCID<sub>50</sub>/ml

Số lần đưa kháng nguyên: Tiêm 3, 4, 5 lần; mũi thứ hai cách mũi thứ nhất 14 ngày, các mũi còn lại cách nhau 7 ngày, mũi cuối cùng sử dụng virus vaccin nhược độc Vanguard Plus 5 với liều gấp 10 lần liều tiêm vaccin.



Hình 1. Bố trí thí nghiệm gây tối miễn dịch trên chó và ngựa

### 2.2.3. Phương pháp ELISA

- Xác định hàm lượng kháng thể CDV trong huyết thanh chó bằng kit INgezim Moquillo IgG (Canine Distemper Virus (CDV) 15.CDV.K1 của hãng Ingenasa).

- Xác định hàm lượng kháng thể CDV trong huyết thanh ngựa theo các bước:

Phủ 200 μL dung dịch pha loãng kháng nguyên CDV với dung dịch đệm phủ (0,05 mol/ Đệm cacbonat L; pH 9,6) trên khay 96 giếng

(Corning Costar, Mỹ), ủ ở 4°C qua đêm. Sau khi ngăn chặn bằng 100 µL atin gel 3% trong PBS chứa 0,05% Tween-20 (PBST) ở 37°C trong 2 giờ, 100µL huyết thanh ngựa pha loãng hai lần các mẫu đã được thêm vào giếng, và ủ ở 37°C trong 1 giờ. Sau khi rửa bằng PBS, các giếng được ủ với 100 µL peroxidase (HRP) thô liên hợp IgG ở 37°C trong 1 giờ. Sau khi rửa bằng PBS, 100 µL dung dịch mới chuẩn bị 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) đã được thêm vào mỗi giếng và ủ trong bóng tối ở 37°C trong 20–30 phút. Cho 50 µL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 mol/L vào mỗi giếng để dừng phản ứng và đọc kết quả ở giá trị OD450 (Bio-Rad, Hoa Kỳ).

**2.2.4. Phương pháp trung hòa trên môi trường tế bào**

Cho 100µL của Dulbecco’s Modified

Eagle Medium (DMEM) môi trường chứa 5% huyết thanh thai bò (FBS) đã được thêm vào mỗi giếng của đĩa 96 giếng, và 100 µL huyết thanh chó/ngựa được xử lý nhiệt (56°C) vào hàng giếng đầu tiên, và sau đó pha loãng hai lần trên các đĩa với 3 lần lặp lại. 20 µL virus CDV với liều 10<sup>6</sup>TCID<sub>50</sub>/ml được thêm vào mỗi giếng và được ủ ở 37°C trong 1 giờ, và sau đó thêm 1 × 10<sup>4</sup> tế bào Vero vào mỗi giếng và nuôi cấy trong 2 ngày. Đánh dấu các giếng xuất hiện bệnh tích tế bào (CPE). Hiệu giá trung hòa của virus được xác định là của độ pha loãng cao nhất tại đó không có bệnh tích tế bào CPE có thể nhìn thấy được.

**2.2.5. Bố trí thí nghiệm đánh giá hiệu quả điều trị bệnh Ca-rê bằng chế phẩm kháng huyết thanh ở chó thí nghiệm**

**Bảng 1. Bố trí thí nghiệm đánh giá hiệu quả điều trị bệnh Ca-rê bằng chế phẩm kháng huyết thanh**

Chỉ tiêu	Tổng	Các lô thí nghiệm						Đối chứng
		G1	G2	G3	G4	G5	G6	
Số chó thí nghiệm	33	5	5	5	5	5	5	3
Chủng virus CDV gây nhiễm	1	Chủng virus VNUA.CDV.NA04						
Liều gây nhiễm		10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml						
Đường gây nhiễm		Đường xoang mũi						
Điều trị bằng KHT chó (1ml/4-5kg thể trọng/liều/ngày)	15	3 liều	4 liều	5 liều				
Điều trị bằng KHT ngựa (1ml/4-5kg thể trọng/liều/ngày)	15				3 liều	4 liều	5 liều	Không điều trị
Đường tiêm kháng huyết thanh		Tiêm bắp						

Gây nhiễm cho chó thí nghiệm và theo dõi triệu chứng lâm sàng, bắt đầu điều trị khi chó có biểu hiện lâm sàng, theo dõi hiệu quả điều trị trong thời gian 14 ngày.

Bố trí 6 lô thí nghiệm:

Lô G1, G2, G3: gồm 5 chó/lô thí nghiệm, được điều trị tương ứng 3, 4, 5 liều KHT chó, mỗi liều 1ml/con/ngày; tiêm bắp, liên tục trong 3, 4, 5 ngày.

Lô G4, G5, G6: gồm 5 chó/lô thí nghiệm, được điều trị 3, 4, 5 liều KHT ngựa; mỗi liều 1ml/con/ngày; tiêm bắp, liên tục trong 3, 4, 5 ngày.

Lô đối chứng; gồm 3 chó sau gây nhiễm CDV không điều trị bằng kháng huyết thanh Ca-rê.

Theo dõi triệu chứng lâm sàng của chó thí nghiệm sau khi điều trị trong thời gian 14 ngày. Theo dõi chó lô đối chứng để so sánh với chó lô thí nghiệm.

### 2.2.6. Xử lý số liệu

Các số liệu được tính toán và xử lý bằng phần mềm Excel.

## III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả hiệu giá kháng thể kháng CDV của kháng huyết thanh chó và ngựa được tối miễn dịch

Sau khi gây tối miễn dịch với số lần tiêm kháng nguyên khác nhau (3, 4, 5 lần) ở các lô chó thí nghiệm, định kỳ tại thời điểm 7 ngày, 14 ngày và 28 ngày sau mũi tiêm kháng nguyên cuối cùng và tiến hành lấy máu kiểm tra kháng thể kháng CDV bằng phương pháp ELISA để đánh giá đáp ứng miễn dịch đặc hiệu trên chó. Kết quả phân tích chỉ ra sau khi tiêm hỗn dịch kháng nguyên virus Ca-rê thì các lô thí nghiệm có hàm lượng kháng thể khác nhau giữa các lô thí nghiệm có số lần tiêm kháng nguyên khác nhau. Ở các lô chó thí nghiệm, hàm lượng kháng thể cao nhất sau khi tiêm kháng nguyên virus Ca-rê 4 mũi và 5 mũi, hiệu giá kháng thể thể hiện qua giá trị OD dao động từ 2,79-2,95 ở ngày thứ 14 sau mũi tiêm cuối cùng; cao hơn nhiều so với hiệu giá kháng thể khi tiêm 3 mũi kháng nguyên CDV (hình 2-5). Đánh giá kháng thể qua phản ứng trung hòa trên tế bào của 3 lô thí nghiệm đều có khả năng trung hòa với virus Ca-rê, tuy nhiên mức độ trung hòa ở mỗi loại là khác nhau. Cụ thể lô tiêm 4 và 5 mũi kháng nguyên cho khả năng trung hòa cao hơn lô còn lại (kháng thể ở hiệu giá pha loãng 1/512 vẫn trung hòa được virus Ca-rê). Trong khi đó ở lô tiêm 3 mũi kháng nguyên mức độ trung hòa của kháng thể thấp hơn (ở độ pha loãng 1/256). Vì vậy để lựa chọn số lần tiêm kháng nguyên virus CDV gây tối miễn dịch thích hợp, chúng tôi khuyến cáo chọn 5 lần đưa kháng nguyên.

Tương tự, kết quả đánh giá đáp ứng miễn dịch kháng huyết thanh ngựa cho thấy kháng thể của lô thí nghiệm tiêm 5 mũi kháng nguyên đạt giá trị cao nhất; OD dao động từ 2,98 – 3,07 ở ngày thứ 14 và 28 sau gây miễn dịch ở mũi cuối cùng.

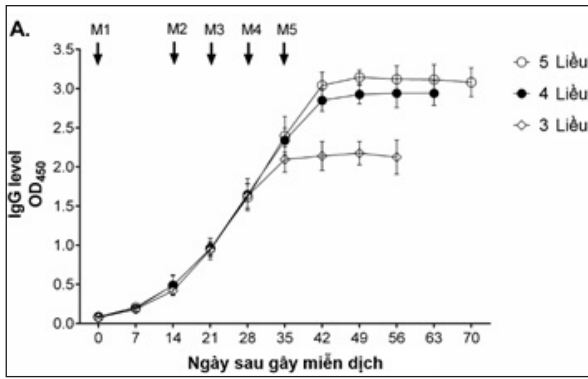
Kết quả đánh giá khả năng trung hòa với CDV của kháng huyết thanh ngựa cho thấy lô

tiêm kháng nguyên 5 lần cho khả năng trung hòa cao hơn lô tiêm 3 và 4 lần; lô tiêm kháng nguyên 5 lần có hiệu giá kháng thể pha loãng 1/512 vẫn trung hòa được CDV. Trong khi đó lô tiêm 3, 4 lần mức độ trung hòa của kháng thể thấp hơn (đều trung hòa ở mức pha loãng 1/128-1/256). Vì vậy để lựa chọn gây tối miễn dịch hiệu quả cho ngựa nên chọn tiêm 5 lần kháng nguyên cho ngựa và thu kháng huyết thanh ở thời điểm 14 ngày sau tiêm.

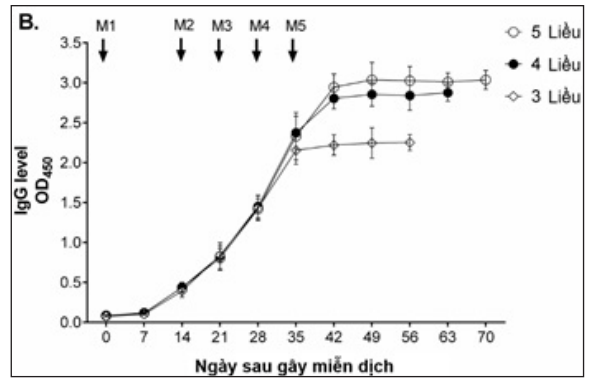
Dựa trên kết quả thu được từ quá trình tối miễn dịch trên chó và ngựa, chúng tôi thấy rằng lượng kháng huyết thanh chó và ngựa đều thu được hàm lượng kháng thể đặc hiệu như nhau và chỉ số hiệu giá kháng thể trung hòa trên môi trường tế bào là tương đương, đều có khả năng ức chế đáng kể sự nhân lên của CDV trong các tế bào Vero – DST (hình 4, 5).

Trong quá trình gây miễn dịch cho ngựa, chúng tôi nhận thấy sẽ thuận lợi hơn nếu việc chăm sóc ngựa có nhân viên chuyên nghiệp, hiểu biết về tập tính, các bệnh thường gặp, các loại thức ăn ưa thích có giá trị dinh dưỡng cao của ngựa,... Người chăn và chăm sóc ngựa chuyên nghiệp sẽ tạo được sự thân thiện dễ gần với ngựa, giúp cho tiếp cận ngựa để gây mất cảm, lấy máu dễ dàng hơn, bảo đảm an toàn, không bị ngựa đá hay đứt đứt dây trói khi lấy máu. Thực tế cho thấy sử dụng kháng huyết thanh ngựa có nhiều lợi thế như lượng huyết thanh mỗi lần khai thác lớn (gấp 20 lần ở chó), có thể tái lập để tiếp tục khai thác đáp ứng, phù hợp với nhu cầu nghiên cứu sản xuất thương mại phục vụ điều trị lâm sàng tại các bệnh viện và phòng khám Thú y. Nhược điểm duy nhất của phương pháp gây miễn dịch trên ngựa là cần lượng kháng nguyên lớn, do đó việc tối ưu quy trình nuôi cấy CDV trên tế bào dòng đạt hiệu giá cao  $>10^7$  TCID<sub>50</sub>/ml là cần thiết. Hiện nay, phòng thí nghiệm trọng điểm công nghệ sinh học Thú y đã làm chủ công nghệ tế bào và đã nuôi cấy sinh khối thành công VNVA.CDV.NA04 đạt hiệu giá cao, phục vụ cho công tác chế tạo kháng nguyên; nghiên cứu chế tạo, sản xuất chế phẩm kháng thể và điều trị bệnh lâm sàng.

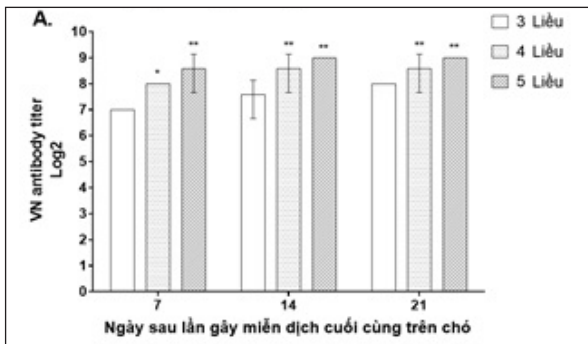




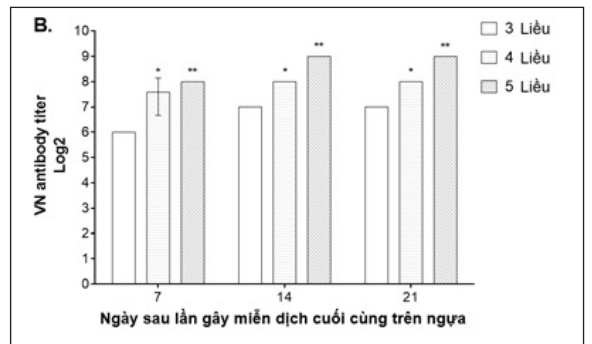
**Hình 2. Hiệu giá kháng thể kháng CDV của kháng huyết thanh chó theo số lần đưa kháng nguyên**



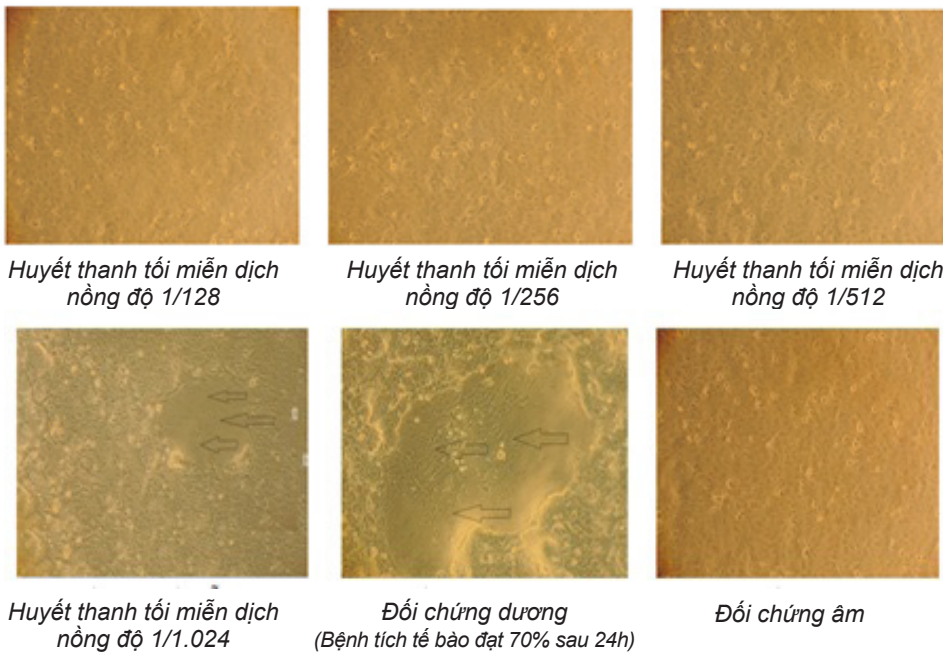
**Hình 3. Hiệu giá kháng thể kháng CDV của kháng huyết thanh ngựa theo số lần đưa kháng nguyên**



**Hình 4. Hiệu giá kháng thể trung hòa kháng CDV của kháng huyết thanh chó theo số lần đưa kháng nguyên**



**Hình 5. Hiệu giá kháng thể trung hòa kháng CDV của kháng huyết thanh ngựa theo số lần đưa kháng nguyên**



**Hình 6. Bệnh tích tế bào của phản ứng trung hòa ở các nồng độ kháng huyết thanh khác nhau trên môi trường tế bào**

Như vậy, chúng tôi đánh giá kháng huyết thanh tối miễn dịch trên ngựa và chó đều có khả năng trung hòa CDV, kháng huyết thanh tối miễn dịch trên ngựa có thể trung hòa chủng virus ở hiệu giá pha loãng 1/512, còn kháng huyết thanh tối miễn dịch trên chó trung hòa chủng virus ở hiệu giá pha loãng từ 1/256-1/512.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với công bố của Albehwar A.M. *et al.* (2018), tác giả này đã xác định hiệu giá kháng thể trong kháng huyết thanh ngựa đạt 512 sau 5 lần gây miễn dịch bằng phương pháp sử dụng kit ELISA thương mại.

### 3.2. Kết quả sử dụng kháng huyết thanh chứa kháng thể đặc hiệu Ca-rê trong điều trị bệnh ở phòng thí nghiệm

Kết quả sau gây nhiễm, các chó ở lô thí nghiệm có triệu chứng bệnh đặc trưng và sốt vào ngày thứ 3 (39,5°C), kéo dài đến ngày thứ 5 (40°C). Chó thí nghiệm có biểu hiện mệt mỏi, ăn ít, có đi mắt, đi mũi.

Kết quả đánh giá hiệu quả điều trị bệnh Ca-rê của chế phẩm kháng huyết thanh được trình bày ở bảng 2.

**Bảng 2. Kết quả đánh giá hiệu quả phòng điều trị bệnh Ca-rê của chế phẩm kháng huyết thanh chó và ngựa**

Chỉ tiêu	Các lô thí nghiệm						ĐỐI CHỨNG
	G1	G2	G3	G4	G5	G6	
	Điều trị bằng KHT chó			Điều trị bằng KHT ngựa			
Số lượng chó được điều trị	5	5	5	5	5	5	3
Số liều điều trị (1ml/4-5kg thể trọng/liều/ngày)	3	4	5	3	4	5	
Ghi nhận triệu chứng lâm sàng tại thời điểm điều trị	Sốt, bỏ ăn, có dử mắt, ho						
Số lượng chó sống sót	3	5	5	3	5	5	0
Ghi nhận triệu chứng lâm sàng sau 14 ngày điều trị	Khỏe mạnh, không có triệu chứng lâm sàng bệnh, ăn uống bình thường						Sốt, bỏ ăn, có dử mắt, ho, tiêu chảy phân màu cà phê, dấu hiệu thần kinh
Tỷ lệ bảo hộ (%)	60,0	100	100	60,0	100	100	0

Kết quả bảng 2 cho thấy hiệu quả điều trị bệnh ở các lô G2, G3 và G5, G6 tương ứng với từ 4 đến 5 liều liên tục trong 4 - 5 ngày đều đạt tỷ lệ khỏi bệnh 100%, sau điều trị 20/20 chó thí nghiệm khỏe mạnh, không có triệu chứng lâm sàng bệnh, ăn uống bình thường.

Thử nghiệm hiệu quả điều trị bệnh Ca-rê ở lô G1 và G4 tương ứng, chó thí nghiệm được điều trị bằng chế phẩm kháng huyết thanh sau gây nhiễm, điều trị với 3 liều 1ml/4-5kg thể

trọng/liều/ngày đạt hiệu quả điều trị là 60,0% khỏi bệnh.

Như vậy kháng huyết thanh CDV bao gồm kháng thể đặc hiệu kháng CDV được tinh chế từ huyết thanh ngựa được xác định là có khả năng làm giảm hiệu quả các triệu chứng lâm sàng và tăng tỷ lệ sống sót (60,0-100%) của những con chó bị nhiễm CDV, tương tự như được điều trị bằng kháng huyết thanh kháng CDV có nguồn gốc từ chó.

#### IV. KẾT LUẬN

Quy trình tối miễn dịch chế tạo kháng huyết thanh chứa kháng thể đặc hiệu kháng CDV trên ngựa cho kết quả tương đương với quy trình gây miễn dịch chế tạo kháng huyết thanh kháng CDV trên chó, cùng đạt ngưỡng hiệu giá trên  $8\log_2$  kháng thể trung hoà VNVA.CDV.NA04 và khả năng điều trị lâm sàng với hiệu quả cao. Nghiên cứu này mở ra một nguồn trị liệu mới là sử dụng kháng huyết thanh ngựa chứa kháng thể đặc hiệu kháng CDV nhằm đáp ứng kịp thời nhu cầu cấp thiết của thị trường trong điều trị lâm sàng.

**Lời cảm ơn:** Nghiên cứu này được thực hiện từ nguồn kinh phí của đề tài: “Nghiên cứu chế tạo kháng huyết thanh tối miễn dịch để điều trị bệnh Ca-rê do Canine distemper virus gây ra trên chó”, mã số đề tài: ĐTKHCN.WB.08/2020.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hirama, K., Goto, Y., Uema, M., Endo, Y., Miura, R., & Kai, C., 2004. Phylogenetic analysis of the hemagglutinin (H) gene of Canine distemper viruses isolated from wild masked palm civets (*Paguma larvata*). *Journal of Veterinary Medical Science*, 66(12), 1575-1578.
- Hur, K., Bae, J.S., Choi, J.H., Kim, J.H., Kwon, S.W., Lee, K.W., & Kim, D.Y., 1999. Canine distemper virus infection in binturongs (*Arctictis binturong*). *Journal of comparative pathology*, 121(3), 295-299.
- Kotani, T., Jyo, M., Odagiri, Y., Sakakibara, Y., & Horiuchi, T., 1989. Canine distemper virus infection in lesser pandas (*Ailurus fulgens*). *Nihon juigaku zasshi. The Japanese journal of veterinary science*, 51(6), 1263-1266.
- Roscoe, D. E., 1993. Epizootiology of canine distemper in New Jersey raccoons. *Journal of Wildlife Diseases*, 29(3), 390-395.
- Takeuchi, K., Soda, M., Togashi, Y., Suzuki, R., Sakata, S., Hatano, S., Uehara, H., 2012. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nature medicine*, 18(3), 378-381.
- Qiu, W., Zheng, Y., Zhang, S., Fan, Q., Liu, H., Zhang, F., Hu, R., 2011. Canine distemper outbreak in rhesus monkeys, China. *Emerging infectious diseases*, 17(8), 1541.
- Jianlou Zhang, Dan Cui, Yuzhu Zuo, Zhiqiang Zheng, Fengyang Wu, Wenyan Li, Yonghong Zhang, Shanshan Huo, Nan Li, Lanhui Li, Yueqiang Guan and Fei Zhong, 2021. Donkey-derived anti-CDV IgG, as a passive immunotherapy agent, can effectively increase survival rates of the experimental CDV-infected dogs. *MC Veterinary Research* (2021) 17:266

Ngày nhận 1-12-2021

Ngày phản biện 18-3-2022

Ngày đăng 1-6-2022