

ĐẶC ĐIỂM BỆNH LÝ CỦA CHÓ PHÚ QUỐC MẮC BỆNH CARE VÀ ỨNG DỤNG KỸ THUẬT MIỄN DỊCH HUỖNH QUANG ĐỂ CHẨN ĐOÁN BỆNH

Nguyễn Thị Lan*, Khao KEONAM

Khoa Thú y, Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

Email: lanjp2000@yahoo.com*

Ngày gửi bài: 12.05.2012

Ngày chấp nhận: 29.10.2012

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định một số đặc điểm bệnh lý của chó Phú Quốc và chẩn đoán bệnh Care cho loại chó này. Các dấu hiệu lâm sàng đầu tiên khi mắc bệnh Care là sốt cao, biếng ăn hoặc không ăn, nôn mửa đối với chó con, ho ở chó trưởng thành, có nốt sùi tại vùng da mỏng ở vùng bụng, ỉa chảy và có triệu chứng thần kinh như đi thành vòng tròn. Biến đổi đại thể tập trung chủ yếu ở phổi và ruột. Mặt cắt phổi có nhiều dịch chảy ra; ruột có hiện tượng sung huyết, xuất huyết; đại não bị sung huyết. Các dấu hiệu bệnh tích khác là: Lách sưng, mặt cắt lồi, hạch lympho sưng, gan thoái hóa, túi mật sưng to. Các bệnh tích vi thể bao gồm nhiều hồng cầu trong lòng phế nang, vách phế nang đứt nát, thoái hóa tế bào nhu mô, lông nhung bị đứt nát, thâm nhiễm tế bào viêm ở não. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã ứng dụng phương pháp miễn dịch huỳnh quang (Immuno Fluorescent - IF) để chẩn đoán và xác định sự có mặt của virus Care ở các cơ quan tổ chức của chó bị mắc bệnh Care.

Từ khóa: Chó Phú Quốc, bệnh Care, miễn dịch huỳnh quang, virus Care.

Pathological Characteristics in Phu Quoc Dog Infected with Canine Distemper and Application of Immunofluorescence for Diagnosis

ABSTRACT

The clinical symptoms and pathological characteristics of Phu Quoc dogs infected with Canine Distemper Virus (CDV) were studied. The first clinical signs of infected dogs were high fever, loss of appetite or not eating, vomiting or coughing, sketchy notes in abdominal skin, diarrhea and neurologic signs - walking in a circle. The gross changes were mainly found in lung and intestine including congestion and hemorrhage in lung and intestine, congestion in brain. The other gross changes were enlarged spleen, lymph nodes, swollen gall bladder, and degenerated liver. The microscopic findings were mainly in lung, intestine and brain. There were lots of red blood cells in alveoli, inflammatory brain cells, alveoli and damaged villi of intestine. In the present research, the distribution of CDV in different organs of dogs was identified by using immunofluorescent test.

Keywords: Canine distemper, canine distemper virus, immunofluorescent test, Phu Quoc dog.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Care xảy ra khá phổ biến trên đàn chó đặc biệt là chó nhập ngoại và chó nghiệp vụ, gây thiệt hại lớn cho người chăn nuôi và người yêu thích chó. Bệnh Care hay còn gọi là bệnh sùi sốt chó, tên khoa học là *canine distemper* (CD) xuất hiện ở châu Âu, một số nước châu Á và Nam Mỹ từ giữa thế kỷ 18 (Timothy và cs., 2009).

Năm 1905, bác sĩ thú y người Pháp Henri Carré phân lập được mầm bệnh từ dịch mũi của chó mắc bệnh. Mầm bệnh phẩm được ông đem lọc qua màng lọc vi khuẩn và đem gây bệnh thực nghiệm cho những con chó khỏe mạnh khác thì thấy chúng mắc bệnh. Vì thế, ông kết luận nguyên nhân của bệnh là do virus. Sau này, người ta lấy tên ông để đặt tên cho mầm bệnh và tên bệnh (David và cs., 1979; Kai và cs., 1993; Trần Thanh Phong, 1996). Hiện nay bệnh

Care có ở khắp nơi trên thế giới, không những xảy ra ở đàn chó nuôi mà còn ở nhiều động vật hoang dã khác. Chó mắc bệnh Care thường biểu hiện triệu chứng không rõ ràng đã trở thành mối đe dọa nghiêm trọng cho việc bảo tồn nhiều loài thú ăn thịt và thú có túi.

Trong tự nhiên, chó từ 2 đến 12 tháng tuổi dễ mắc bệnh, chủ yếu ở chó từ 3 đến 6 tháng tuổi. Những chó đang bú sữa mẹ ít mắc bệnh do được miễn dịch thụ động qua sữa đầu, việc gây nhiễm trên chó 6 tháng tuổi dễ mắc bệnh hơn chó mới 3 tuần tuổi (Simpson và cs., 1994).

Chó bị bệnh thường thải virus qua các chất bài tiết của cơ thể như phân, nước tiểu, dịch mũi, các dịch tiết khác... qua đó khuếch tán vào không khí. Trong các giọt nước nhỏ ngoài môi trường, virus có thể tồn tại được từ 6 tới 22 ngày. Những con chó khỏe mạnh có thể nhiễm bệnh do tiếp xúc trực tiếp với chó mắc bệnh hoặc do tiếp xúc với chất bài tiết chứa virus, thức ăn, nước uống bị nhiễm virus từ môi trường không khí. Do vậy, bệnh Care có tính lây lan rất cao. Nhưng virus được thải ra theo nước tiểu thì ít có khả năng gây bệnh so với các chất bài tiết khác của chó mắc bệnh Care. Dịch tiết của đường hô hấp do chó mắc bệnh ho bắn ra dễ gây bệnh cho những con chó khác. Ngoài ra virus có thể xâm nhập vào cơ thể qua da (Nguyễn Vinh Phước, 1978). Chó Phú Quốc là loại chó riêng của Đảo Phú Quốc, Việt Nam, có đặc điểm phân biệt với các loại chó khác là có các xoáy lông ở trên sống lưng, chân màng vệt, rất đẹp và nhanh nhẹn. Đã có một số công trình nghiên cứu công bố đặc điểm bệnh lý của chó nói chung nhưng hầu như chưa có công bố nào tập trung nghiên cứu những đặc điểm bệnh lý của chó Phú Quốc mắc bệnh Care.

Để chẩn đoán bệnh Care, có rất nhiều phương pháp đã được các nhà nghiên cứu sử dụng như: miễn dịch gắn với Enzyme (ELISA), phản ứng hóa mô miễn dịch (Immunohistochemistry), phản ứng Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) để chẩn đoán bệnh Care ở Việt Nam (Lan và cs, 2006). Tuy nhiên, phương pháp miễn dịch huỳnh quang (IF) hầu như chưa được ứng dụng để chẩn đoán bệnh Care trên chó Phú Quốc tại Việt Nam.

Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi đã áp dụng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang để chẩn đoán bệnh Care.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Nguyên liệu

Mẫu bệnh phẩm gồm: Phổi, tim, gan, ruột, hạch, não của chó Phú Quốc nghi mắc bệnh Care tại địa bàn Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chọn 4 con chó Phú Quốc (ký hiệu lần lượt là C1, C2, C3, C4) nghi mắc Care có triệu chứng lâm sàng điển hình, sau đó tiến hành mổ khám quan sát các bệnh tích đại thể, lấy mẫu làm tiêu bản nhuộm Hematoxyline Eosin (HE) quan sát các biến đổi bệnh tích vi thể dưới kính hiển vi quang học.

Để khẳng định cho kết quả nghiên cứu về bệnh tích đại thể và vi thể trên những chó Phú Quốc nghi mắc Care, đồng thời làm cơ sở cho việc chọn mẫu bệnh phẩm tiến hành phân lập virus, phương pháp miễn dịch huỳnh quang được tiến hành cụ thể như sau: Mẫu như hạch phổi, ruột, não, gan, lách, thận, tim sẽ được đem đúc parafin và cắt mỏng giống như phương pháp làm tiêu bản vi thể. Ngâm ngập tiêu bản trong dung dịch EDTA - PBS có pH= 8,0; đun sôi trong lò vi sóng 15 phút, để nguội từ từ rồi lau khô, nhỏ BSA - 1% vào phễu tiêu bản, ủ trong hộp 37°C/2giờ, lau khô xung quanh tiêu bản, nhỏ kháng thể vào tiêu bản, lấy tiêu bản vào hộp và ủ trong tủ ấm 37°C/1h, nhúng nhanh tiêu bản vào PBS tween 0,01% 3-4 lần, lau khô xung quanh tiêu bản và nhỏ Fluorescent Isothiocyanat vào tiêu bản, để trong hộp ủ trong tủ ấm 37°C/1giờ 30 phút, rửa nước nhanh. Quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang (ánh sáng tia tử ngoại) đọc kết quả.

Phản ứng dương tính: có hiện tượng phát sáng màu (xanh lá mạ) do sự kết hợp giữa kháng nguyên và kháng thể đã gắn chất phát huỳnh quang. Phản ứng âm tính thì không có chất phát huỳnh quang vì không có sự kết hợp kháng nguyên và kháng thể khi mình rửa nước thì kháng thể gắn chất phát huỳnh quang sẽ trôi đi (Nguyễn Bá Hiên và cs., 2009).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Triệu chứng lâm sàng của chó nghi mắc bệnh Care

Các triệu chứng lâm sàng của các chó Phú Quốc nghi mắc Care được thể hiện ở bảng 1.

Các triệu chứng của chó nghi mắc bệnh Care được biểu hiện ở các mức độ khác nhau trong đó các triệu chứng chủ yếu đó là: sốt cao (C1 và C4), chán ăn hay bỏ ăn, nôn mửa và ỉa chảy nặng đối với chó con (C2), xuất hiện các triệu chứng thần kinh trong thời kỳ cuối của bệnh, co giật cơ chân, cơ mắt không đi được (C1 và C3), lắc đầu đi lại khó khăn (C2, C4), ho ở chó trưởng thành, có các nốt sùi ở bụng, ben, ngực, phía trong đùi. Ngoài ra, trên chó nghi mắc bệnh Care còn có một số triệu chứng khác như chó chảy nước mũi, khó thở, rỉ mắt xuất hiện rải rác và ở mức độ nhẹ.

3.2. Biến đổi bệnh tích đại thể của chó nghi mắc bệnh Care

Các biến đổi bệnh tích đại thể của chó nghi mắc Care chủ yếu thể hiện ở hệ hô hấp (phổi, họng), ở hệ tiêu hóa (ruột non), hạch là nhiều nhất. Kết quả được thể hiện trong bảng 2.

Có thể nói, các chó Phú Quốc đều bệnh tích đặc trưng của bệnh Care. Phổi có hiện tượng viêm xuất huyết (Hình 1) ở chó C1, C3, C4. Ngoài ra, còn thấy phổi sưng hay xốp dai, có trường hợp phổi viêm dính với thành ngực. Bên cạnh đó, sung huyết mạch máu ruột và xuất huyết ruột non quan sát được ở hầu hết các chó nghiên cứu. Hạch lympho của chó nghi mắc Care sưng to, xuất huyết, mặt cắt của chúng lồi có dịch màu hồng chảy ra. Ở các cơ quan còn lại, có sự sung huyết, xuất huyết ở mạch máu não (Hình 2), lách nhồi huyết, dạ dày sung huyết, gan

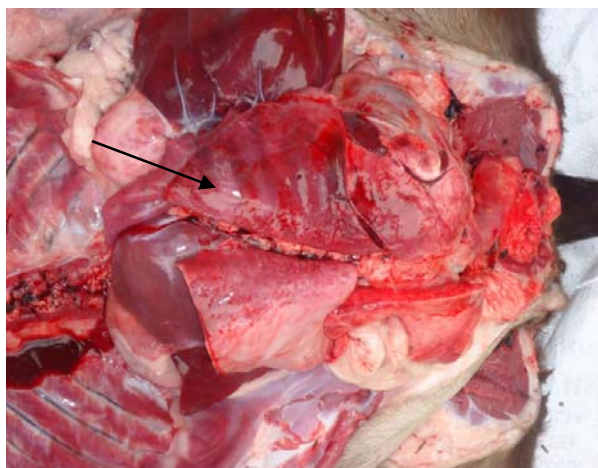
Bảng 1. Triệu chứng lâm sàng chủ yếu của chó Phú Quốc nghi mắc bệnh Care

STT	Kí hiệu	Triệu chứng lâm sàng									
		Sốt	Chán ăn, bỏ ăn	Chảy nước mũi	Ho	Nôn mửa	Khó thở	Ỉa chảy	Nốt sùi	Thần kinh	Dử mắt
1	C1	+++	++	+	+	++	+	++	++	+++	+
2	C2	++	+++	-	++	+++	+	+++	+	++	-
3	C3	++	+	+	+	++	-	+++	++	+++	+
4	C4	+++	++	+	++	+	+	++	++	++	-

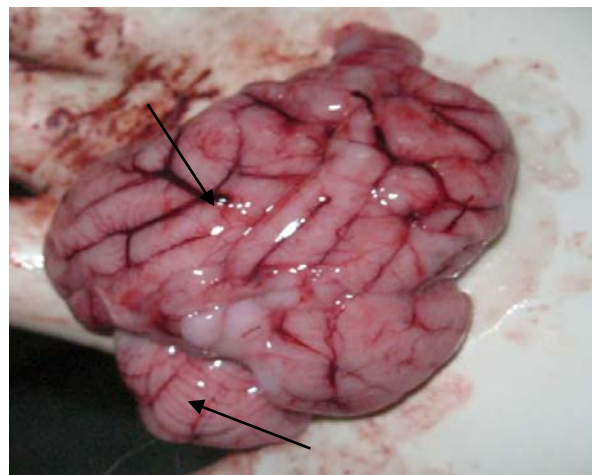
Chú thích: +++ Nặng; ++Trung bình; + Nhẹ; - Không biểu hiện

Bảng 2. Biến đổi bệnh lý đại thể chủ yếu trên chó nghi mắc bệnh Care

STT	Kí hiệu	Cơ quan				
		Phổi	Ruột	Hạch lympho	Não	Cơ quan khác
1	C1	Viêm Xuất huyết nặng.	Niêm mạc trực tràng xuất huyết	Sưng to, xuất huyết, mặt cắt lồi chảy dịch màu hồng	Sung huyết đại não	Lách nhồi huyết, Gan hơi sưng
2	C2	Viêm dính thành ngực, thùy trái xuất huyết nặng	Sung huyết nhẹ, màng treo ruột tụ huyết	Sưng to, xuất huyết nhẹ	Xuất huyết, mạch máu xung huyết	Túi mật sưng to, mạch máu ở dạ dày sung huyết
3	C3	Xốp dai, có đám xuất huyết	Xuất huyết nhẹ	Sung nhẹ	Xuất huyết	Lách nhồi huyết Màng thận khó bóc, nhũn nát
4	C4	Sung, xuất huyết nặng	Có đám xuất huyết	Không sưng	Sung, xuất huyết	Thận sưng, màng khó bóc



Hình 1. Xuất huyết phổi của chó mắc bệnh Care



Hình 2. Xuất huyết đại não và tiểu não ở chó mắc bệnh Care

Bảng 3. Biến đổi bệnh tích vi thể của chó nghi mắc bệnh Care

S TT	Kí hiệu	Cơ quan				
		Phổi	Ruột	Hạch lympho	Não	Cơ quan khác
1	C1	Phế quản phế viêm Xuất huyết lan tràn	Lông nhung ruột đứt nát, sung huyết màng treo	Viêm xuất huyết, không phân biệt được vùng của hạch	Thâm nhiễm tế bào viêm	Tiểu thùy gan bị phá vỡ
2	C2	Xuất huyết lan tràn, vách phế nang đứt nát	Xuất huyết nhẹ, thâm nhiễm tế bào viêm	Nang lympho biến dạng, teo nhỏ	Sung huyết đại não	Gan: màng tế bào cắt đứt
3	C3	Xuất huyết phế quản	Lông nhung đứt nát	Xuất huyết	Bệnh tích không rõ	Có đám xuất huyết ở thận
4	C4	Xuất huyết phế quản	Lông nhung đứt nát, thoái hóa tế bào nhu mô	Tế bào thoái hóa	Tế bào não bị thoái hóa	Xuất huyết cầu thận

hoi sung, túi mật sưng to, thận sưng và màng thận khó bóc. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Appel và Summer (1995).

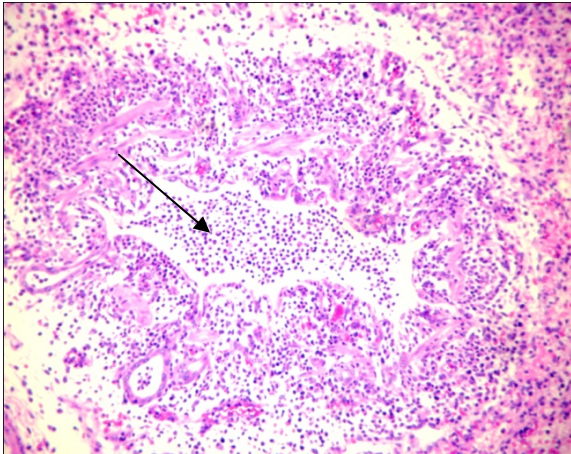
3.3. Biến đổi bệnh tích vi thể

Sau khi làm tiêu bản vi thể, nhuộm HE, soi dưới kính hiển vi quang học để quan sát bệnh tích vi thể, kết quả được trình bày ở bảng 3.

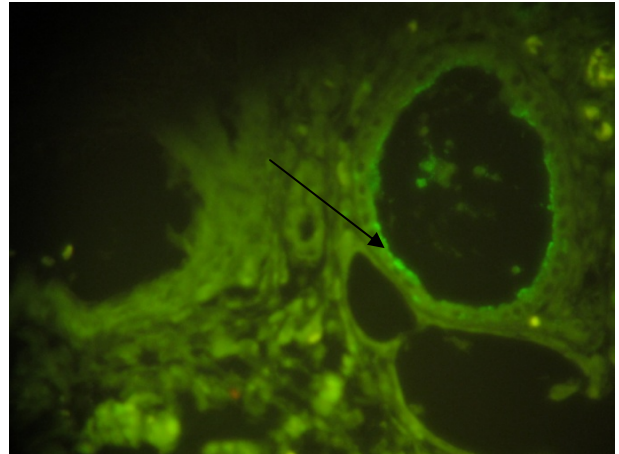
Bệnh tích vi thể của chó Phú Quốc nghi mắc bệnh Care chủ yếu xuất hiện ở phổi và ruột non. Phổi xuất huyết lan tràn ở chó C1 và C2, xuất huyết phế quản ở chó C3 và C4. Nhiều hồng cầu trong vách phế nang, vách phế nang đứt nát quan sát thấy ở chó C2. Ngoài ra còn thấy hiện tượng phế quản phế viêm ở phổi chó C1 (Hình 3). Ở ruột, quan sát

thấy lông nhung ruột đứt, nát (Hình 4) và xẹp lộn xộn, tế bào nhu mô ruột bị thoái hóa ở chó C1, C3 và C4. Ngoài ra, còn thấy ruột xuất huyết nhẹ, có sự thâm nhiễm của tế bào viêm ở chó C2. Hạch lympho xuất huyết, không phân biệt được các vùng của hạch ở chó C1, nang lympho bị thoái hóa và biến dạng ở chó C2. Tế bào não bị thoái hóa, não xung huyết và có sự thâm nhiễm tế bào viêm. Tiểu thùy gan bị phá vỡ, xuất huyết cầu thận quan sát được ở chó C4. Biến đổi bệnh vi thể nghiên cứu trong này giống như kết quả của tác giả Nguyễn Hữu Nam (2010).

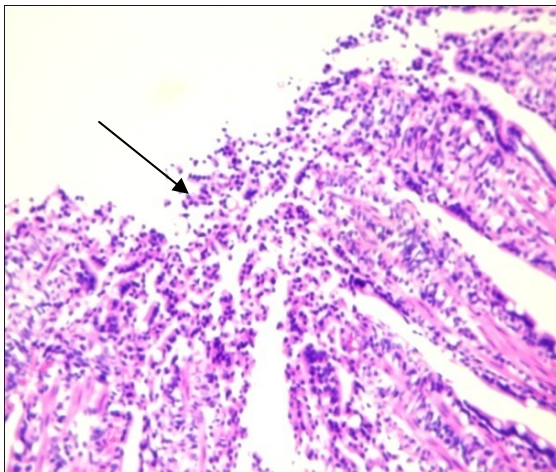
Phương pháp miễn dịch huỳnh quang (IF) được thực hiện để xác định sự có mặt của virus tại các cơ quan của chó Phú Quốc.



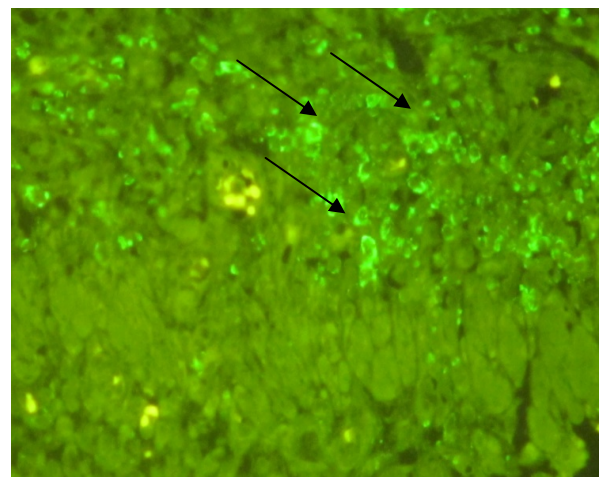
Hình 3. Chó mắc bệnh Care bị viêm phế quản phổi (HE x 10)



Hình 5. Virus tập trung nhiều ở vách phế quản (IF x 10)



Hình 4. Chó mắc bệnh Care có loét nhưng ruột đứt nát (HE x 10)



Hình 6. Virus phân bố nhiều trên phế nang (IF x 40)

3.4. Kết quả sử dụng phương pháp miễn dịch huỳnh quang để chẩn đoán bệnh Care

Bảng 4. Kết quả phản ứng miễn dịch huỳnh quang

STT	Chó	Cơ quan							
		Phổi	Ruột	Hạch lympho	Não	Gan	Lách	Thận	Cơ tim
1	C1	++	++	-	+	-	+	-	-
2	C2	+++	-	-	+	-	-	+	-
3	C3	++	++	+	-	-	-	-	-
4	C4	++	+	+	-	-	-	-	-

Chú thích: + Đám, hạt sáng ít; +++ Đám, hạt bắt màu sáng nhiều; ++ Đám, hạt sáng trung bình; - Không có đám, hạt bắt màu

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, 4 chó Phú Quốc nghiên cứu được khẳng định là dương tính với bệnh Care. Các virus tập trung chủ yếu ở thành phế quản và phế nang. Ở ruột, virus tập trung chủ yếu tại lông nhung ruột non nhưng so với phổi thì ít hơn; hạch lympho, não, lách, thận quan sát thấy rất ít; gan, cơ tim thì không thấy màu xanh lá mạ nào xuất hiện. Các cơ quan khác như hạch lympho, não, gan, lách, thận, cơ tim điểm màu xanh lá mạ không nhiều. Như vậy, qua phương pháp miễn dịch huỳnh quang đã cho biết được sự phân bố của virus Care, có thể dựa vào đây để chọn các cơ quan phân lập virus hoặc RT-PCR để hướng tới giải trình tự gen từ đó xác định được nguồn gốc phát sinh.

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu này cho thấy các đặc điểm biến đổi bệnh lý của chó Phú Quốc khi mắc bệnh Care. Các dấu hiệu triệu chứng lâm sàng đầu tiên của chó nghi mắc Care là: sốt cao, biếng ăn, mệt mỏi, ho, có nhiều rỉ mắt, chảy nước mũi ở chó trưởng thành, nôn mửa, ỉa chảy nặng, phân có mùi đặc trưng ở chó non. Xuất hiện các triệu chứng thần kinh trong thời kỳ cuối của chó bị bệnh. Biến đổi bệnh tích đại thể tập trung chủ yếu ở phổi như: viêm và xuất huyết phổi, mặt cắt phổi lõi có dịch chảy ra. Biến đổi đại thể ở các cơ quan khác như: xuất huyết ruột, sung huyết ruột, não sung huyết, lách sưng, mặt cắt lõi, hạch lympho sưng. Các biến đổi bệnh tích vi thể như: xuất huyết ở vùng phế nang, khí quản tụ huyết, lông nhung ruột bị đứt nát, thâm nhiễm tế bào viêm ở não, ruột. Phương pháp miễn dịch huỳnh quang cho phép xác định chính xác sự có mặt và phân bố của

virus Care ở các cơ quan của chó mắc bệnh làm cơ sở cho việc lựa chọn mẫu bệnh phẩm dùng cho phân lập virus Care.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Appel M.J, B.A Summer (1995). Pathogenicity of morbillivirus from terrestrial carnivores, *Vet. Microbiol.* 44: 187-191.
- David T. Smith, S. Martin Donald (1979). *Zinser's Text book of Bacteriology*, pp.808-810.
- Kai C, Ochikubo F, Okita M, Iinuma T, Mikami T, Kobune F, Yamanouchi K (1993). Use of B95a cells for isolation of canine distemper virus from clinical cases. *J Vet Med Sci.*, 55(6): 1067-1070.
- Lan NT, 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 *Vet Microbiol.*, tr:32-42. Epub 2006 Feb. 28.
- Nguyễn Hữu Nam (2010). Nghiên cứu sự lưu hành của virus Care gây bệnh trên chó ở vùng phụ cận Hà Nội bằng phương pháp miễn dịch và chọn chủng để chế vaccine phòng bệnh. Báo cáo tóm tắt tổng kết đề tài, tr 6-7.
- Nguyễn Vĩnh Phước (1978). *Giáo trình bệnh truyền nhiễm gia súc*, NXB Nông nghiệp.
- Simpson K.W., I.E.Maskell, P.J. Markwell (1994). Use of a restricted antigen diet in the management of idiopathic canine Colitis, *Journal of small Animal practice* 35, pp.233-238.
- Timothy Y. Woma, Moritz van Vuuren (2009). Isolation of canine distemper viruses from domestic dogs in South Africa using Vero.DogSLAM cells and its application to diagnosis, *African Journal of Microbiology Research* Vol. 3.
- Trần Thanh Phong (1996). Một số bệnh truyền nhiễm chính trên chó. *Tủ sách trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh*, tr. 54-68.