

ĐẶC ĐIỂM VÀ PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN BỆNH DO *Ehrlichia canis* GÂY RA TRÊN CHÓ TẠI THÀNH PHỐ RẠCH GIÁ, TỈNH KIÊN GIANG

Lê Tuyết Đang¹, Nguyễn Đình Chuẩn¹, Dương Anh Thư², Nguyễn Khánh Thuận^{3*} và Lý Thị Liên Khai³

¹Cao học Thú y K26, Trường Đại học Cần Thơ

²Thú y K42, Trường Đại học Cần Thơ

³Bộ môn Thú y, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Khánh Thuận (email: nkthuan@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 21/04/2021

Ngày nhận bài sửa: 29/05/2021

Ngày duyệt đăng: 29/10/2021

Title:

Characteristics and diagnostic method of the disease caused by *Ehrlichia canis* on dogs in Rach Gia city, Kien Giang province

Từ khóa:

Chó, *E. canis*, giảm tiểu cầu, kit *E. canis*-Ab, Rạch Giá, tiêu bản máu

Keywords:

Blood smear, dog, *E. canis*, *E. canis*-Ab kit, Rach Gia, thrombocytopenia

ABSTRACT

The research was carried out to clarify the characteristics and effective diagnostic method of Ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis* (*E. canis*) in dogs. A total of 151 blood samples was collected from dogs suspected *E. canis* infection. Blood samples from suspected dogs were diagnosed by using *E. canis*-Ab kit, and checked for the presence of *E. canis* mulberry embryos on leucocytes by blood smear staining and counted the platelets. The test results showed that 103/151 of the samples (68.21%) were positive for *E. canis* using the *E. canis*-Ab kit. By the blood smear assay, mulberry embryos were found on 80/151 samples, accounting for 52.98%. Thrombocytopenia was reported in 69/80 (86.25%) of *E. canis*-positive dogs. The prevalence of dogs infected with *E. canis* was not dependent on genders, breeds, ages, raising methods, and types of dog hair; however, it was dependent on the status of *Rhipicephalus sanguineus* infection. Diagnosis of Ehrlichiosis should be combined of *E. canis*-Ab kit testing and blood smear staining in suspected dogs with typical clinical signs. Thrombocytopenia is the most typical symptom for diagnosing dogs infected with *E. canis*.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định những đặc điểm và phương pháp chẩn đoán hiệu quả bệnh Ehrlichiosis do *Ehrlichia canis* (*E. canis*) gây ra trên chó. Tổng số 151 mẫu máu được thu thập từ những con chó nghi nhiễm *E. canis*. Mẫu máu từ chó nghi bệnh được chẩn đoán bằng kit *E. canis*-Ab, đồng thời được kiểm tra sự hiện diện của phôi dâu *E. canis* trên tế bào bạch cầu bằng phương pháp nhuộm tiêu bản máu và đếm số lượng tiểu cầu. Kết quả kiểm tra cho thấy có 103/151 (68,21%) mẫu dương tính với *E. canis* bằng kit *E. canis*-Ab. Tình trạng giảm tiểu cầu được ghi nhận ở 69/80 (86,25%) con chó dương tính với *E. canis*. Tỷ lệ chó nhiễm *E. canis* tại thành phố Rạch Giá không phụ thuộc vào giới tính, giống, tuổi, hình thức nuôi, và tình trạng lông; nhưng phụ thuộc vào tình trạng nhiễm ve. Chẩn đoán bệnh do *E. canis* cần phải kết hợp cả hai phương pháp kiểm tra nhanh bằng kit *E. canis*-Ab và nhuộm tiêu bản máu đối với tất cả những con chó có biểu hiện lâm sàng. Giảm tiểu cầu là dấu hiệu đặc trưng nhất giúp chẩn đoán xác định chó nhiễm *E. canis*.

1. GIỚI THIỆU

Ehrlichia canis (*E. canis*) là một vi khuẩn Gram âm, ký sinh nội bào bắt buộc thuộc họ Rickettsiaceae và sống ở dạng phôi dậu trong các tế bào bạch cầu đơn nhân và đại thực bào của vật chủ (Dumler et al., 2001). *E. canis* được xem là tác nhân chính gây ra bệnh Ehrlichiosis hướng bạch cầu đơn nhân trên chó (canine monocytic ehrlichiosis-CME). CME là một bệnh rất nguy hiểm có thể xảy ra trên chó ở mọi lứa tuổi, hiện nay vẫn chưa có vaccine đặc hiệu. Chó bệnh biểu hiện các triệu chứng được báo cáo thường xuyên là sốt cao, gây yếu, mệt mỏi và xuất huyết (Harrus et al., 2012). *E. canis* phát triển ở tế bào nội mạch, ở đó chúng nhân lên và bài tiết ra yếu tố tiền đông máu, qua trung gian của độc tố làm P cho những tế bào đó phồng lên rồi hoại tử, làm cho mạch máu bị nghẽn rồi bị vỡ nên những tổn thương ở mạch máu thấy rõ ở da. Các quốc gia có khí hậu nhiệt đới với sự phổ biến của ve nâu (*Rhipicephalus sanguineus*) có tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó là rất cao như Mexico 74,3% (Sosa-Gutierrez et al., 2013), Ấn Độ 57,5% - 86,9% (Kottadamane et al., 2017; Kukreti et al., 2018), Hy Lạp 65,7% (Chochlios et al., 2019). Ve nâu (*Rhipicephalus sanguineus*) đã được xác định là vector nguy hiểm hàng đầu truyền các bệnh như Ehrlichiosis, Babesiosis và Hepatozoonosis trên chó tại khu vực Đông Nam Á (Irwin & Jefferies, 2014). Hiện nay, việc chẩn đoán bệnh do *E. canis* gây ra trên chó còn nhiều hạn chế, và có thể nhầm lẫn với các bệnh đường máu khác.

Thành phố Rạch Giá, tỉnh Kiên Giang có khí hậu nhiệt đới gió mùa, nóng ẩm quanh năm là điều kiện thuận lợi cho hoạt động của ve nâu. Theo báo cáo gần đây về tình trạng nhiễm ngoại ký sinh trên chó tỉnh Kiên Giang lên đến 49,69% (323/650), trong tổng số các loài ve được tìm thấy *Rhipicephalus sanguineus* là phổ biến nhất lên đến 57,89% (Trần Thị Hữu Hạnh, 2015). Do đó, đàn chó tại thành phố Rạch Giá, tỉnh Kiên Giang có khả năng mắc bệnh do *E. canis* cao; tuy nhiên, công tác chẩn đoán và điều trị bệnh gặp nhiều khó khăn do chưa có nhiều nghiên cứu về tình hình bệnh trong nước nói chung và tỉnh Kiên Giang nói riêng. Vì vậy, nghiên cứu này là rất cần thiết nhằm cung cấp những thông tin hữu ích về sự lưu hành và phương pháp chẩn đoán chính xác giúp cho công tác điều trị đạt hiệu quả cao đối với bệnh do *E. canis* gây ra trên chó.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Từ tháng 6/2020 đến tháng 12/2020, mẫu máu được thu thập từ 151 con chó có biểu hiện lâm sàng

ngghi nhiễm bệnh do *E. canis* tại Phòng khám thú y (87 mẫu), trạm cứu hộ động vật (33 mẫu) và hộ dân (31 mẫu) thuộc thành phố Rạch Giá, tỉnh Kiên Giang. Chó được lấy mẫu có các biểu hiện như ủ rũ, có ve nâu, sốt, xuất huyết dưới da, chảy máu mũi hoặc xuất huyết giác mạc. Mẫu máu được phân tích tại Phòng thí nghiệm Thú y chuyên ngành 2, Bộ môn Thú y, Khoa Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ và Phòng khám thú y thuộc thành phố Rạch Giá, tỉnh Kiên Giang.

Nghiên cứu sử dụng dung dịch thuốc nhuộm Giemsa (Merk, Đức), bộ kit *E. canis*-Ab Test của công ty Caraside (Hàn Quốc) và máy xét nghiệm huyết học Mindray BC2800Vet (Trung Quốc).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp chẩn đoán lâm sàng

Chủ vật nuôi được hỏi trực tiếp các thông tin cá nhân và thông tin về số lượng chó đang nuôi, hình thức nuôi, tình trạng tẩy ve của vật nuôi. Những con chó có những biểu hiện nhiễm ve, thể trạng ốm, ủ rũ, bỏ ăn, chảy máu mũi, xuất huyết da vùng bụng, xuất huyết giác mạc, xuất huyết võng mạc mắt, niêm mạc miệng trắng nhợt hoặc xuất huyết, hạch sưng được quan sát (Harrus & Waner, 2011).

2.2.2. Phương pháp thu mẫu máu

Mẫu máu được thu thập từ những con chó được chẩn đoán lâm sàng nghi nhiễm *E. canis*. Máu được lấy trực tiếp từ tĩnh mạch chân trước hoặc chân sau; lấy 3 mL máu cho vào ống nghiệm vô trùng có chứa chất chống đông EDTA, đảo nhẹ và ghi nhãn. Mẫu được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 – 8°C và được kiểm tra các chỉ tiêu trong 24 giờ.

2.2.3. Phương pháp đếm số lượng tiểu cầu bằng máy xét nghiệm huyết học tự động

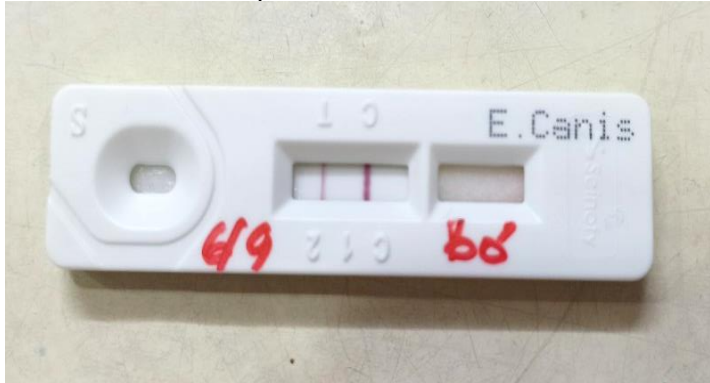
Các chỉ tiêu xét nghiệm sinh lý máu của bệnh do *E. canis* bao gồm giảm tiểu cầu máu (thrombocytopenia), thiếu máu, giảm bạch cầu máu (leukopenia), giảm tế bào máu (pancytopenia) (Harrus & Waner, 2011). Số lượng tiểu cầu của mẫu máu được đánh giá bằng máy xét nghiệm huyết học Mindray BC2800Vet (Mindray, Trung Quốc). Nguyên lý hoạt động dựa trên phương pháp trở kháng và phương pháp không cyanide cho hemoglobin.

Bulla et al. (2004) đã chứng minh rằng số lượng tiểu cầu là một xét nghiệm sàng lọc quan trọng đối với bệnh do *E. canis* trên chó, theo đó tình trạng giảm tiểu cầu khi số lượng tiểu cầu (PLT) nhỏ hơn 200.000 / μ L được sử dụng để chẩn đoán xác định chó nhiễm *E. canis*.

2.2.4. Phương pháp chẩn đoán nhanh bằng bộ kit *E. canis*-Ab

Bộ thiết bị KIT *E. canis*-Ab Test (Hình 1) của công ty Caraside (Hàn Quốc) giúp kiểm tra nhanh kháng thể kháng *E. canis* trong mẫu huyết thanh hoặc máu toàn phần của chó nghi bệnh. Bộ thiết bị sử dụng 2 protein đặc hiệu của *E. canis* là p30 và

p30-1 làm kháng nguyên và hoạt động dựa trên nguyên lý sắc ký miễn dịch Sandwich ELISA trực tiếp. Cách đọc kết quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất: dương tính khi xuất hiện cả 2 vạch T (test) và C (control); âm tính khi xuất hiện 1 vạch ở C (control); và kết quả không hợp lệ khi không hiện vạch C trên kit thử.



Hình 1. Kết quả dương tính với *E. canis* bằng KIT *E. canis*-Ab Test (Caraside, Hàn Quốc)

2.2.5. Phương pháp tìm phôi dâu trên tiêu bản máu

Tiêu bản máu được nhuộm với methanol và dung dịch Giemsa theo phương pháp thường qui và hướng dẫn của nhà sản xuất (Merck, Đức). Tiêu bản sau khi nhuộm để khô và soi dưới kính hiển vi quang học với độ phóng đại 1.000 lần để tìm phôi dâu của *E. canis* với tế bào đích là bạch cầu đơn nhân.

Thể vùi nội bào trong tế bào đơn nhân (tế bào lympho, bạch cầu đơn nhân và đại thực bào) (Hình 2) được coi là tương thích với nhiễm trùng *E. canis*: bạch cầu đơn nhân có tế bào chất màu hồng nhạt với nhân màu tím đến xanh tím, vi khuẩn bắt màu xanh nhạt đến xanh đậm (Vargas-Hernández et al., 2012).



Hình 2. Phôi dâu của *E. canis* trong bạch cầu đơn nhân (mũi tên đỏ) dưới kính hiển vi 100X

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được phân tích bằng phép thử Chi-square trên phần mềm Minitab 16.0 với độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát tỷ lệ nghi nhiễm *E. canis* trên chó ở thành phố Rạch Giá, tỉnh Kiên Giang bằng chẩn đoán lâm sàng

Khảo sát những con chó được nuôi tại các trạm cứu hộ, hộ dân và những con chó lần đầu đến khám

tại phòng khám thú y đã tìm thấy những con chó có biểu hiện lâm sàng của bệnh do *E. canis*. Kết quả

khảo sát tỷ lệ chó có biểu hiện lâm sàng của bệnh được thể hiện qua Bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ chó nghi nhiễm *E. canis* bằng chẩn đoán lâm sàng

Địa điểm khảo sát	Số mẫu khảo sát	Số mẫu nghi nhiễm	Tỷ lệ (%)
Hộ dân	85	31	36,47 ^a
Phòng khám thú y	1.453	87	5,99 ^b
Trạm cứu hộ	116	33	28,45 ^a
Tổng	1.654	151	9,13

Các giá trị của các chữ mũ khác nhau trong cùng một cột là khác nhau rất có ý nghĩa thống kê ($P < 0,01$), giống nhau là khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$)

Kết quả khảo sát 1.654 con chó có 151 con chó nghi nhiễm *E. canis*, chiếm tỷ lệ 9,13%. Tỷ lệ nghi nhiễm này cao hơn báo cáo trước đó tại Cần Thơ (4,23%) (Trần Ngọc Bích và ctv., 2020), sự khác biệt này có thể do thời gian và địa điểm khảo sát khác nhau. Bên cạnh đó, những con chó nhiễm *E. canis* có thể trải qua giai đoạn nhiễm trùng cấp tính hoặc chuyển sang giai đoạn tiền lâm sàng kéo dài mà không biểu hiện triệu chứng. Chó có thể tự khỏi bệnh nhờ hệ thống miễn dịch hoặc phát triển bệnh đến giai đoạn mãn tính với các triệu chứng điển hình do tủy xương bị tổn thương (Quinn et al., 2002). Tỷ lệ chó nghi nhiễm *E. canis* qua kiểm tra lâm sàng tại hộ dân (36,47%) và trạm cứu hộ (28,45%) cao hơn

phòng khám thú y (5,99%) có thể do ảnh hưởng bởi số lượng mẫu được khảo sát tại các địa điểm này. Tại phòng khám thú y, khảo sát được thực hiện trên tất cả những con chó đến khám với nhiều loại bệnh khác nhau.

3.2. Kết quả khảo sát tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó bằng bộ kit *E. canis*-Ab

Nghiên cứu này sử dụng bộ kit *E. canis*-Ab Test phát hiện kháng thể kháng *E. canis* trong huyết thanh của 151 con chó nghi nhiễm qua chẩn đoán lâm sàng, kết quả kiểm tra dương tính với *E. canis* được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó sau khi kiểm tra nhanh bằng kit *E. canis*-Ab

Địa điểm khảo sát	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Hộ dân	31	23	74,19 ^a
Phòng khám thú y	87	64	73,56 ^a
Trạm cứu hộ	33	16	48,48 ^b
Tổng	151	103	68,21

Các giá trị của các chữ mũ khác nhau trong cùng một cột là khác nhau rất có ý nghĩa thống kê ($P < 0,01$), giống nhau là khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$)

Trong tổng số 151 chó nghi nhiễm, tỷ lệ chó nhiễm *E. canis* thông qua kiểm tra kháng thể bằng kit *E. canis*-Ab chiếm tỷ lệ cao (68,21%). Các khu vực có khí hậu nhiệt đới với sự phổ biến của ve nâu cũng cho thấy tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó rất cao như Brazil 86,67% (Faria et al., 2010), Mexico 74,3% (Sosa-Gutierrez et al., 2013), Ấn Độ 57,5% - 86,9% (Kottadamane et al., 2017; Kukreti et al., 2018), Hy Lạp 65,7% (Chochlios et al., 2019). Trong nghiên cứu này, tỷ lệ chó nhiễm *E. canis* tại trạm cứu hộ (48,48%) thấp hơn rất nhiều so với tỷ lệ nhiễm tại hộ dân (74,19%) và phòng khám thú y (73,56%) ($P=0,02$). Tỷ lệ chó nhiễm *E. canis* tại trạm cứu hộ (48,48%) thấp có thể do công tác chăm sóc sức khỏe nhất là kiểm soát ve tại các trạm cứu hộ được quan tâm và thực hiện tốt. Harrus et al. (2012) cho biết phương pháp phòng chống bệnh do

E. canis hiệu quả nhất chính là kiểm soát và ngăn chặn sự ký sinh của ve. Hầu hết những con chó tại các trạm cứu hộ ở thành phố Rạch Giá, tỉnh Kiên Giang được nuôi nhốt trong khu vực nhất định và ít tiếp xúc với môi trường xung quanh, được tiêm ngừa và tẩy ký sinh trùng định kỳ, môi trường sống thường xuyên được vệ sinh khử trùng. Trong khi đó, chó nhiễm bệnh tại hộ dân (74,19%) và phòng khám thú y (73,56%) đều cao và tương đương nhau ($P=0,95$). Điều này có thể do những con chó tại hộ dân và phòng khám hầu hết được nuôi với mục đích giữ nhà và thả tự do nên khả năng tiếp xúc với mầm bệnh rất cao. Theo báo cáo khảo sát tình hình nuôi chó tại Kiên Giang của Chi cục Thú y tỉnh Kiên Giang năm 2013, số chó thả rông trên địa bàn tỉnh lên đến 77%.

3.3. Kết quả khảo sát tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó bằng phương pháp nhuộm tiêu bản máu

Dựa trên tế bào đích, thể vùi trong tế bào chất của bạch cầu đơn nhân (Hình 2) được kiểm tra xác

định nhiễm *E. canis*. Kết quả chó nhiễm *E. canis* bằng phương pháp nhuộm tiêu bản máu được thể hiện qua Bảng 3.

Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó sau khi kiểm tra bằng phương pháp nhuộm tiêu bản máu

Địa điểm khảo sát	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu dương tính	Tỷ lệ (%)
Hộ dân	31	21	67,74 ^a
Phòng khám thú y	87	45	51,72 ^a
Trạm cứu hộ	33	14	42,42 ^a
Tổng	151	80	52,98

Các giá trị của các chữ mũ giống nhau là khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$)

Tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó tại thành phố Rạch Giá là cao (52,98%). Điều này cho thấy việc tìm kiếm phôi dậu trong máu ngoại vi có thể được thực hiện trong giai đoạn cấp tính (Bockino et al., 2003). Ngoài ra, tiêu bản máu được thực hiện từ buffy coat sau khi ly tâm máu ngoại vi cho khả năng tìm thấy phôi dậu cao hơn (Mylonakis et al., 2003). Tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó tại Kiên Giang (52,98%) bằng phương pháp nhuộm tiêu bản máu cao hơn các kết quả đã được báo cáo trước đó ở Brazil (3,3%) (Nakaghi et al., 2008), Ấn Độ (14,28%) (Kottadamane et al., 2017) khi sử dụng cùng phương pháp chẩn đoán. Trong khi tại các vùng đặc hữu của bệnh như Brazil, Mexico, Columbia, Costa Rica nơi mà hoạt động của các vector truyền bệnh rất phổ biến, phương pháp nhuộm tiêu bản máu có độ nhạy cao. Phôi dậu của *E. canis* dễ dàng được tìm thấy ở 17/35 (48,6%) mẫu dịch hút từ lách của những con

chó có dấu hiệu lâm sàng và giảm tiểu cầu (Faria et al., 2010). Tiêu bản được thực hiện từ mẫu máu của 152 con chó ở Sinaloa, Mexico (Sosa-Gutierrez et al., 2013) sau khi kiểm tra dưới kính hiển vi đã ghi nhận 61 mẫu có sự hiện diện của phôi dậu, chiếm tỷ lệ 40,1% tương đồng với kết quả ghi nhận được tại Kiên Giang.

3.4. Kết quả khảo sát tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó bằng các xét nghiệm cận lâm sàng tại thành phố Rạch Giá, tỉnh Kiên Giang

Kết quả chẩn đoán bệnh do *E. canis* bằng phương pháp nhuộm tiêu bản máu (Smear) và kiểm tra nhanh bằng kit *E. canis*-Ab (KIT) đối với 151 con chó có biểu hiện lâm sàng của bệnh được thể hiện qua Bảng 4.

Bảng 4. Tỷ lệ chó dương tính với *E. canis* qua các phương pháp chẩn đoán (n=151)

Kết quả	KIT (P)	KIT (N)	KIT (P)	Smear (P)	KIT (P)
	và Smear (P)	và Smear (P)	và Smear (N)		
Số lượng (con)	67	13	36	80	103
Tỷ lệ (%)	44,57	8,61	23,84	52,98	68,21

P: dương tính; N: âm tính

Kết quả dương tính với *E. canis* bằng kit *E. canis*-Ab cho thấy chó đã hoặc đang tiếp xúc với mầm bệnh. Tuy nhiên, mầm bệnh có thể không phải là *E. canis* do phản ứng chéo giữa các vi khuẩn trong họ *Anaplasmataceae* (Waner et al., 2001). Do đó, trong số 103 mẫu dương tính (68,21%) bằng kit *E. canis*-Ab có 36 mẫu âm tính (23,84%) khi kiểm tra bằng phương pháp nhuộm tiêu bản máu. Những con chó này có thể nhiễm các mầm bệnh khác như *E. ewingii*, *E. chaffeensis*, *E. ruminantium* (Cardenas et al., 2007) hoặc chúng đã nhiễm *E. canis* và khỏi bệnh (Quinn et al., 2002). Sự hiện diện của phôi dậu trong tiêu bản máu là bằng chứng trực tiếp chỉ ra sự nhiễm trùng của *E. canis*. Mặc dù việc phát hiện

phôi dậu trên tiêu bản máu là rất khó ngoại trừ trong giai đoạn cấp tính của sự nhiễm trùng, nhưng phương pháp nhuộm tiêu bản máu vẫn là phương pháp chẩn đoán thường quy đối với bệnh do *E. canis* trên chó (Harrus & Waner, 2011). Mặt khác, trong 80 con chó (52,98%) được chẩn đoán dương tính với *E. canis* bằng phương pháp nhuộm tiêu bản máu chỉ có 67 con chó (44,57%) dương tính bằng kit *E. canis*-Ab; 13 con chó (8,61%) có kết quả âm tính với *E. canis* khi kiểm tra bằng kit *E. canis*-Ab Test nhưng dương tính bằng phương pháp nhuộm tiêu bản máu. Sự khác biệt này có thể do 13 con chó này đang ở giai đoạn cấp tính chưa hình thành miễn dịch. Trong máu của những con chó nhiễm *E. canis*, phôi

dấu dễ dàng được tìm thấy sau 4-5 ngày nhiễm trùng, kháng thể thường xuất hiện muộn hơn khoảng 15 ngày sau khi nhiễm trùng (Harrus et al., 2002). Tìm kiếm phôi dấu trên tiêu bản máu có thể được thực hiện dễ dàng trong giai đoạn nhiễm trùng cấp tính nhưng rất khó phát hiện ở các giai đoạn sau. Trong khi đó, phát hiện kháng thể là xét nghiệm thích hợp để chẩn đoán nhiễm *E. canis* ở giai đoạn mãn tính khi phôi dấu rất hiếm gặp trong máu tuần hoàn. Vì vậy, chẩn đoán bệnh do *E. canis* cần thực

hiện đồng thời giữa xét nghiệm bằng kit *E. canis*-Ab Test và phương pháp nhuộm tiêu bản máu.

3.5. Mối quan hệ giữa tỷ lệ nhiễm *E. canis* và tình trạng giảm tiểu cầu

Xét nghiệm công thức máu hoàn chỉnh (CBC) được thực hiện bằng máy xét nghiệm huyết học tự động Mindray BC2800Vet đã cho thấy mối quan hệ giữa tỷ lệ chó nhiễm *E. canis* các chỉ tiêu sinh lý máu (Bảng 5).

Bảng 5. Tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó giảm tiểu cầu (n=80)

Tình trạng giảm tiểu cầu	Số mẫu dương tính (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)
Giảm tiểu cầu	69	86,25
Không giảm tiểu cầu	11	13,75
		(P=0,00)

Kết quả kiểm tra sinh lý máu những con chó nhiễm *E. canis* thông qua phương pháp nhuộm tiêu bản máu đã cho thấy tỷ lệ những con chó giảm tiểu cầu (86,25%) chiếm tỷ lệ cao hơn những con chó không giảm tiểu cầu (13,75%) (P=0,00). Nguyên nhân có thể do giảm tiểu cầu máu (thrombocytopenia) là bất thường phổ biến nhất về huyết học ở chó bị nhiễm *E. canis* mức độ nghiêm trọng của tình trạng giảm tiểu cầu thay đổi theo các giai đoạn của bệnh (Harrus et al., 1999). Giai đoạn tiền lâm sàng quan sát thấy giảm tiểu cầu vừa phải, trong khi giai đoạn mãn tính được đặc trưng bởi giảm bạch cầu nghiêm trọng và thiếu máu. Các kháng thể kháng tiểu cầu trong tuần hoàn máu kết nối đến tiểu cầu đã được phát hiện trong máu và huyết thanh của chó trong giai đoạn cấp tính ở bệnh nhiễm tự nhiên và thực nghiệm (Waner et al., 2000). Trong giai đoạn mãn tính, chó có các biến chứng khác như thiếu năng tủy, ức chế cô lập lách, giảm tuổi thọ của tiểu cầu và sự gia tăng của chất ức chế tiểu cầu yếu tố di chuyển tuần hoàn. Giảm sản sinh tiểu cầu là hậu quả của thoái triển tủy xương, tình trạng được cho là cơ chế chịu trách nhiệm gây giảm tiểu cầu máu trong giai đoạn mãn tính (Harrus et al., 1999). Bulla et al. (2004) cho biết tỷ lệ chó nhiễm *E. canis* có biểu hiện giảm tiểu cầu tại Brazil lên đến 79,10% và tình trạng giảm tiểu cầu máu càng nặng nề thì khả năng phát hiện 16S rRNA của *E. canis* trong máu càng cao. Nakaghi et al. (2008) đã báo cáo tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó giảm tiểu cầu là 76,9% sau khi thực hiện nghiên cứu trên 30 con chó tại Brazil. Sosa-Gutierrez et al. (2013) cũng cho biết tỷ

lệ chó có biểu hiện giảm tiểu cầu trên chó nhiễm *E. canis* ở Mexico là 87,6%.

3.6. Mối quan hệ giữa tỷ lệ nhiễm *E. canis* và các yếu tố liên quan

Dựa trên kết quả kiểm tra tiêu bản máu của những con chó nghi nhiễm *E. canis* và thông tin thu thập được, sự ảnh hưởng của các yếu tố liên quan đến tỷ lệ nhiễm bệnh trong nghiên cứu này đã được làm rõ ở Bảng 6.

Tám mươi con chó được xác định nhiễm bệnh do *E. canis* bằng phương pháp nhuộm tiêu bản máu cho thấy giới tính, giống, lứa tuổi, hình thức nuôi, tình trạng lông không ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó khi chúng cùng sống trong một khu vực địa lý và có cơ hội tiếp xúc với vector truyền bệnh như nhau. Tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó không phụ thuộc vào giới tính đã được Sosa-Gutierrez et al. (2013) báo cáo sau khi nghiên cứu trên những con chó ở Mexico. Trong báo cáo của Malik et al. (2018), các tác giả đã cho thấy không có sự khác biệt về mức độ nhiễm *E. canis* trên các giống chó khác nhau ở Pakistan. Tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó theo nghiên cứu của Malik et al. (2018) ở Punjab (Pakistan) và Rodriguez-Vivas et al. (2005) ở Yucatan (Mexico) đều cho thấy rằng không có sự phụ thuộc vào lứa tuổi của chúng. Kottadmane et al. (2017) cũng cho biết không có mối quan hệ tương quan nào giữa tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên các giống chó có tình trạng lông khác nhau.

Bảng 6. Tỷ lệ nhiễm *E. canis* trên chó và các yếu tố liên quan (n=80)

Yếu tố	Số mẫu dương tính (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)
Giới tính		
Chó đực	35	43,75
Chó cái	45	56,25
		(P=0,85)
Giống		
Chó giống nội	47	58,75
Chó giống ngoại	33	41,25
		(P=0,35)
Lứa tuổi		
Dưới 1 năm tuổi	23	28,75
Từ 1 đến 3 năm tuổi	32	40,00
Từ 3 đến 5 năm tuổi	16	20,00
Trên 5 năm tuổi	9	11,25
		(P=0,69)
Tình trạng nhiễm ve		
Đang nhiễm ve	52	65,00
Nhiễm trước đó	28	35,00
		(P=0,00)
Hình thức nuôi		
Nuôi nhốt	52	65,00
Nuôi thả	28	35,00
		(P=0,11)
Tính trạng lông		
Lông ngắn	43	53,75
Lông dài	37	46,25
		(P=0,31)

Tuy nhiên, tỷ lệ những con chó đang nhiễm ve (65,00%) dương tính với *E. canis* cao hơn những con chó nhiễm trước đó (35,00%) (P=0,00). Kết quả này phù hợp với các báo cáo trước đây đều cho thấy tỷ lệ chó đang nhiễm ve có nguy cơ nhiễm *E. canis* cao hơn nhưng con chó không nhiễm ve. Mousam and Sabyasachi (2013) đã khảo sát trên 47 trường hợp nhiễm *E. canis* ở Ấn Độ với kết quả 100% chó nhiễm bệnh đều nhiễm ve. Nghiên cứu của Rani et al. (2011) tại Ấn Độ cũng đã chỉ ra rằng chó nhiễm ve cho kết quả dương tính với ít nhất một trong những căn bệnh do ve truyền cao gấp 3,3 lần so với chó không nhiễm ve. Có thể thấy rằng ve là yếu tố truyền lây *E. canis* quan trọng trên chó nhưng thời gian cần thiết để ve truyền lây mầm bệnh là chưa được làm rõ (Kidd & Breitschwerdt, 2003). Mầm bệnh cần có thời gian phát triển trong tuyến nước bọt của ve trước khi có khả năng truyền bệnh cho những con chó thông qua các vết đốt (Groves et al., 1975).

4. KẾT LUẬN

Tỷ lệ chó bị nhiễm *E. canis* tại thành phố Rạch Giá, tỉnh Kiên Giang chiếm tỷ lệ cao (52,98%).

Chẩn đoán lâm sàng là cơ sở để phát hiện những con chó nghi nhiễm *E. canis*; chẩn đoán chính xác cần phải kết hợp cả hai phương pháp kiểm tra nhanh bằng kit *E.canis*-Ab Test và nhuộm tiêu bản máu đối với tất cả những con chó có biểu hiện lâm sàng đặc trưng của bệnh. Giảm tiêu cầu là tiêu chí đặc trưng nhất giúp chẩn đoán xác định chó nhiễm *E. canis*. Khả năng nhiễm *E. canis* trên chó bị ảnh hưởng bởi tình trạng nhiễm ve nâu nhưng không phụ thuộc bởi giống, giới tính, tuổi, hình thức nuôi, tính trạng lông. Do đó, các biện pháp tẩy trừ ngoại ký sinh trùng là cần thiết trong việc khống chế, phòng ngừa bệnh do *E. canis* gây ra trên chó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Bockino, L., Krimer, P.M., Kenneth, S.L. & Perry, J.B. (2003). *An overview of canine ehrlichiosis* (Veterinary Clinical Pathology Clerkship Program). University of Georgia, USA. <http://www.vet.uga.edu/VPP/clerk/Bockino/>

Bulla, C., Kiomi, R., Takahira, Pessoa, J., Araujo, Jr., Trinca, L.A., Souza-Lopes, & Wiedmeyer, C.E. (2004). The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. *Veterinary Research*, 35(1), 141–146.

- Cardenas, A.M., Doyle, C.K., Zhang, X., Nethery, K., Corstvet, R.E., Walker, D.H., & McBride, J.W. (2007). Enzyme-linked immunosorbent assay with conserved immunoreactive glycoproteins gp36 and gp19 has enhanced sensitivity and provides species-specific immunodiagnosis of *Ehrlichia canis* infection. *Clinical and Vaccine Immunology*, 14, 123–128.
- Chochlios, T.A., Angelidou, E., Kritsepi-Konstantinou, M., Koutinas, C.K., & Mylonakis, M.E. (2019). Seroprevalence and risk factors associated with *Ehrlichia canis* in a hospital canine population. *Veterinary Clinical Pathology*, 48(2), 305–309.
- Dumler, J.S., Barbet, A.F., Bekker, C., Dasch, G.A., Palmer, G.H., Ray, S.C., Rikihisa, Y., & Rurangirwa, F.R. (2001). Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combi. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(6), 2145–2165.
- Faria, J.L.M., Ana, S.D., Thiago, D.M., Carolina, F.J., Wanderson, A.B.P., Rosângela, Z.M., & Tinucci-Costa, M. (2010). *Ehrlichia canis* morulae and DNA detection in whole blood and spleen aspiration samples. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 19(2), 98-102.
- Groves, M.G., Dennis, G.L., Amyx, H.L., & Huxsoll D.L. (1975). Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). *American Journal of Veterinary Research*, 36(7), 937–940.
- Harrus, S., Waner, T., Bark, H., Jongejan, F., & Cornelissen, A.W.C.A. (1999). Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(9), 2745-2749.
- Harrus, S., & Waner, T. (2011). Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. *The Veterinary Journal*, 187(3), 292-296.
- Harrus, S., Alleman, A.R., Bark, H., Mahan, S.M., & Waner, T. (2002). Comparison of three enzyme-linked immunosorbent assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. *Veterinary Microbiology*, 86(4), 361-368.
- Harrus, S., Waner, T., & Neer, M. (2012). *Ehrlichia canis* infection. In J. Sykes & C. Greene (Eds.), *Infectious diseases of the dog and cat* (4th edn) (pp. 227-238). Elsevier Saunders.
- Irwin, P.J., & Jefferies, R. (2014). Arthropod-transmitted diseases of companion animals in Southeast Asia. *Trends in Parasitology*, 20(1), 27-34.
- Kidd, L., & Breitschwerdt, E.B. (2003). Transmission times and prevention of tick-borne diseases in dogs. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian-North American Edition*, 25(10), 742-750.
- Kottadamane, M.R., Dhaliwal, P.S., Singla, L.D., Bansal, B.K., & Uppal, S.K. (2017). Clinical and hematobiochemical response in canine monocytic ehrlichiosis seropositive dogs of Punjab. *Veterinary World*, 10(2), 255-261.
- Kukreti, K., Das, M.K., Rastogi, A.K., Dubey, R., Pandey, L.K., & Sharma, P. (2018). Prevalence of canine monocytic ehrlichiosis in canine population across India. *Archives of Razi Institute*, 73(2), 87-93.
- Malik, M.I, Qamar, M., Ain, Q., Hussain, M.F., Dahmani, M., Ayaz, M., Mahmood, A.K., Davoust, B., Shaikh, R.S., & Iqbal, F. (2018). Molecular detection of *Ehrlichia canis* in dogs from three districts in Punjab (Pakistan). *Veterinary Medicine and Science*, 4(2), 126–132.
- Mousam, D., & Sabyasachi, K. (2013). Clinical and hematological study of canine Ehrlichiosis with other hemoprotozoan parasites in Kolkata, West Bengal, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(11), 913-915.
- Mylonakis, M.E., Koutinas, A.F., Billinis, C., Leontides, L.S., Kontos, V., Papadopoulos, O., Rallis, T., & Fytianou, A. (2003). Evaluation of cytology in the diagnosis of acute canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a comparison between five methods. *Veterinary Microbiology*, 91(2-3), 197–204.
- Nakaghi, A.C.H., Machado, R.Z., Tinucci-Costa, M., André, M.R., & Baldani, C.D. (2008). Canine ehrlichiosis: clinical, hematological, serological and molecular aspects. *Ciencia Rural*, 38(3), 766-770.
- Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, Leonard, F.C., FitzPatrick, E.S., Fanning, S., & Hartigan, P.J. (2002). *Veterinary microbiology and microbial disease* (2nd ed.). Blacwell Science-Oxford.
- Rani, P.A.M.A., Irwin, P.J., Coleman, G.T., Gatne, M., & Traub, R.J. (2011). A survey of canine tick-borne diseases in India. *Parasit Vectors*, 4, 141.
- Rodriguez-Vivas, R., Albornoz, R., & Bolio, G. (2005). *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Veterinary Parasitology*, 127(1), 75– 79.
- Sosa-Gutierrez, C.G., Quintero, M.T., Gaxiola, C.S., Cota, G.S., Esteve-Gassent, M.D., & Gordillo-Perez, M.G. (2013). Frequency and clinical epidemiology of canine monocytic ehrlichiosis in

- dogs infested with ticks from Sinaloa, Mexico. *Journal of Veterinary Medicine*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/797019>.
- Trần Ngọc Bích, Trần Thị Thảo, Lê Quang Trung, Nguyễn Thị Minh Anh, & Ngô Phú Cường. (2020). Nghiên cứu bệnh do *Ehrlichia canis* trên chó và đánh giá hiệu quả điều trị tại bệnh xá thú y, Đại học Cần Thơ. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú Y*, XXVII, 4, 37-43.
- Trần Thị Hữu Hạnh. (2015). Tình hình nhiễm ngoại ký sinh trên chó tại tỉnh Kiên Giang và thử nghiệm hiệu quả điều trị (Luận văn thạc sĩ khoa học nông nghiệp, ngành Thú y). Trường Đại học Cần Thơ.
- Vargas-Hernández, G., André, M.R., Faria, J.L.M., Munhoz, T.D., Hernander-Rodriguez, M., Machado, R.Z., & Tinucci-Costa, M. (2012). Molecular and serological detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia vogeli* in dogs in Colombia. *Veterinary Parasitology*, 186(3-4), 254-260.
- Waner, T., Harrus, S., Jongejan, F., Bark, H., Keysary, A., & Cornelissen, A.W. (2001). Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. *Veterinary Parasitology*, 95(1), 1–15.
- Waner, T., Leykin, I., Shinitsky, M., Sharabani, E., Buch, H., Keysary, A., Bark, H., & Harrus, S. (2000). Detection of platelet-bound antibodies in beagle dogs after artificial infection with *Ehrlichia canis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 77(1-2), 145–150.