

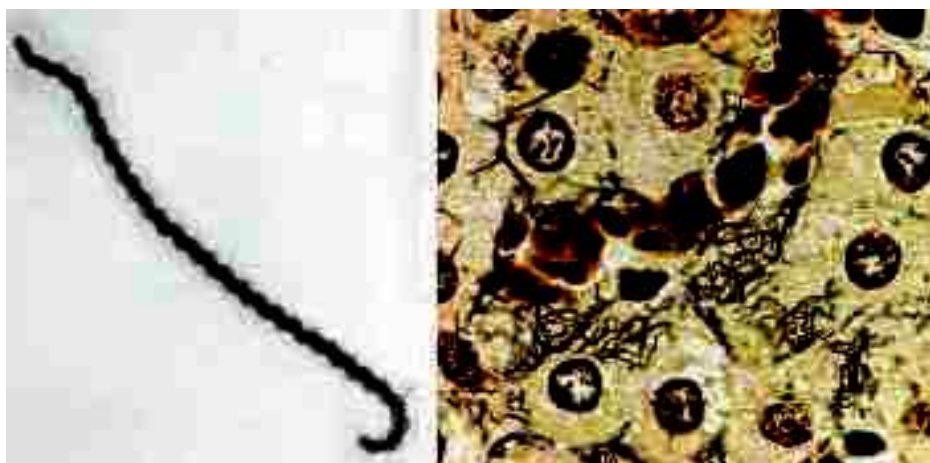
BỆNH DO LEPTOSPIRA: NHỮNG THÁCH THỨC HIỆN TẠI CỦA MỘT BỆNH CŨ

Paula RISTOW
Viện Pasteur - Pháp

Tóm tắt:

Bệnh do *Leptospira* (bệnh leptô), một bệnh của ng-ời và động vật, đ-ợc coi là bệnh chung trải rộng nhất trên thế giới; hàng năm, nó gây dịch nặng ở những n-ớc nhiệt đới và đang phát triển. Nguyên nhân gây bệnh, *Leptospira interrogans*, là một trùng xoắn dạng xoắn ốc, rất di động. Bảng lâm sàng biến đổi theo sự khác nhau của chi *Leptospira* và dịch tễ học phức tạp. Các bệnh leptô động vật gây cho nhiều loài có vú, phần lớn ở thể mạn tính và trở thành động vật mang mầm bệnh. Dạng bệnh ở ng-ời hoặc bệnh Weil có tỷ lệ chết cao do leptospira thuộc nhóm huyết thanh *Icterohaemorrhagiae*. Tiêm vaccin cho ng-ời và động vật có hiệu quả hạn chế bởi vì các vaccin mang dùng là đặc hiệu theo chủng huyết thanh và chỉ bảo vệ đ-ợc trong thời hạn ngắn. Test vi ng-ng kết (MAT) có những bất tiện nh- không có khả năng xác định bệnh ở những pha sớm tuy nhiên những tiến bộ trong chẩn đoán đang còn dự định. Trên thực tế, phân đoạn gen đơn bội của leptospira và sự phát triển của những dụng cụ di truyền đặc hiệu đánh dấu khởi đầu của kỷ nguyên tiên-gen trong nghiên cứu xoắn khuẩn. Những cố gắng hiện nay của chúng ta để hiểu những cơ chế độc lực của leptospira, cũng nh- là nhằm vào các test chẩn đoán và các vaccin hiệu quả hơn. Đơn vị inh học xoắn khuẩn của viện Pasteur Paris, vừa mới xác định đ-ợc một nhân tố độc lực của leptospira, một protein của họ OmpA, Loa22 trên bề mặt của vi khuẩn. Protein Loa22 là 1 ứng viên để phát triển 1 vaccin.

Các *Leptospira* (Tiếng Hy Lạp: *leptós* = mịn, nhỏ, mảnh dẻ; và *speira* = tóc xoắn, vòng xoắn) là những vi khuẩn hình xoắn, đo đ-ợc khoảng giữa 5-10 micromet chiều dài và 0,1 micromet đường kính, với những đầu hình xoắn hoặc móc (**hình 1**). Chúng đặc biệt di động, bởi vì chúng đ-ợc trang bị ở mỗi đầu một nội roi (endoflagelle) nó đ-ợc đính vào giữa màng ngoài và màng trong của vi khuẩn. Tuy theo từng chủng, thời gian của thế hệ có thể thay đổi từ 3 đến 15 giờ, làm cho thời gian nuôi cấy và phân lập đôi khi rất lâu, từ 2 đến 30 ngày. Độ pH tối -u cho sinh tr-ởng là từ 7,2 đến 7,6 và nhiệt độ tối -u là 30°C. Chúng nhạy cảm với sấy khô và với phần lớn các kháng sinh. Ng-ợc lại, chúng có thể sống trong n-ớc, sông suối, những vùng đất kiềm (Faine và cs, 1999), trong hồ ao, trong các sông ngòi và các đầm lầy (Henry & Johnson, 1978), điều này làm chúng sống đ-ợc trong tự nhiên.



Hình 1: Bên trái, hình thái nhỏ và xoắn của *Leptospira* trong kính hiển vi điện tử (nhuộm âm bản bằng uranyl acetate, phóng đại x 12500; kỹ thuật đã-ợc thực hiện do Evelyne Couture-Tosi ở viện Pasteur).

Bên phải, tiêu bản tổ chức học gan chuột lang nhiễm *Leptospira interrogans* chủng huyết thanh Lai cho thấy có nhiều leptospira màu đen sậm ở giữa các tế bào gan và đôi khi hình thành các đám ng-ng kết (nhuộm bạc của Warthin-Starry, phóng đại x 1000)

Về dinh d-ỡng, các leptospira rất khó tính; các acid béo mạch dài, các vitamin B1 và B12 (WHO 2003), một số kim loại nh- Sắt (Louvel và cs, 2006) là các chất chủ yếu trong chuyển hóa của chúng. Các môi tr-ờng nuôi cấy chủ yếu là Ellinghausen, McCullough, Johnson & Harris (EMJH), trong thành phần của nó có Tween 80 nh- là nguồn acid béo và có albumin huyết thanh bò nh- một chất giải độc (Ellinghausen & McCullough, 1965; Johnson & Harris, 1967). Các leptospira có thể đã-ợc nuôi cấy trong môi tr-ờng lỏng MEJH (có hoặc không khuấy), trong môi tr-ờng nửa đặc (0,3 % thạch agar tinh) đã-ợc dùng để giữ giống gốc thời gian trung bình, và trong môi tr-ờng đặc (1 % agar tinh) ở đó các leptospira hình thành các khuẩn lạc riêng rẽ ở mặt d-ới bề mặt.

Các ph-ơng pháp nhuộm cổ điển nh- ph-ơng pháp Gram không dùng đã-ợc cho leptospira. Ngay cả khi chúng có cấu trúc rất gần với vi khuẩn Gram âm, các leptospira có những đặc tính đặc biệt ở thành tế bào, chẳng hạn nh- một peptidoglycane gắn với màng trong (Haake 2000). Quan sát cổ điển các leptospira d-ới kính hiển vi quang học nền đen. Cũng có thể quan sát chúng trên kính hiển vi quang học phản pha hoặc cẩn thận hơn nhuộm bạc cổ điển nh- ph-ơng pháp Warthin-Starry (**hình 1**).

Các leptospira thuộc Bộ Spirochaetales, nó hình thành một dòng vi khuẩn hoàn toàn tách riêng hợp thành những nhân tố gây bệnh khác nh- là nhân tố gây bệnh giang mai (*Treponema pallidum*) và nhân tố gây bệnh borreliose de Lyme. Chúng có một siêu cấu trúc tế bào duy nhất và những nghiên cứu về phân đoạn của ARN 16S cho thấy chúng thuộc về một dòng rất cổ (Paster và cs, 1991). Với sự khác nhau rất lớn về gen nó chia ra thành 17 loài gen, trong đó 7 loài gây bệnh cho ng-ời và động vật, chúng hình thành phức hợp *L. interrogans sensu lato* (Morey và cs, 2006). Phân loại các leptospira càng phức tạp hơn, phần vì sự khác nhau rất lớn về thành phần liposaccharide của màng tế bào. Tuy nhiên ng-ời ta có thể xếp thành hai nhóm lớn: *Leptospira interrogans sensu lato*, nó gồm nhóm gây bệnh và *Leptospira biflexa sensu lato*, chúng bao gồm các sinh vật hoại sinh (Bharti và cs 2003). Phân loại huyết thanh học của chi đã cho phép xác định các sous-loài và các chủng huyết thanh (sérovars) (Faine và cs. 1999). Các chủng huyết thanh t-ơng tự về gen cũng đã đã-ợc tập hợp lại thành nhóm huyết thanh, các nhóm đó không có giá trị phân loại, nh-ng cũng dùng để đơn giản hóa trong nghiên cứu lâm sàng và dịch tế học của bệnh léptô. Cho đến ngày nay hơn 250 chủng huyết thanh đã-ợc tập hợp lại thành 24 nhóm huyết thanh . Những nghiên cứu lai ADN-ADN đã cho phép tập hợp các leptospira thành các loài cùng gen đơn bội, nh-ng sự thiếu mối t-ơng quan hệ thống giữa các loài cùng gen đơn bội với những chủng huyết thanh là cho sự phân loại huyết thanh học còn đang đã-ợc sử dụng nhiều trong những nghiên cứu lâm sàng và dịch tế học (Bharti và cs, 2003). Trung tâm quốc gia về bệnh léptô (CNR) trong viện Pasteur Paris đang thực hiện, ngoài việc phân loại huyết thanh học thành nhóm huyết thanh và chủng huyết thanh ra, điện di trong tr-ờng sung (PFGE), phân đoạn của ARN 16S và nghiên cứu những tiểu vệ tinh hoặc VNTR (Variable Number of Tandem Repeats) (Salaun và cs, 2006) để phân loại về gen của các leptospira.

Bệnh Léptô, một bệnh dịch phức tạp

Bệnh Léptô là một bệnh chung cho động vật và ng-ời, có trên khắp thế giới, ở thành thị cũng nh- ở nông thôn. Những tr-ờng hợp bệnh léptô nặng ở ng-ời, hàng năm trên thế giới - ợc có chừng 500 000 ca một năm (WHO, 1999). Các vật mang trùng gây bệnh chính đứng đầu là loài gặm nhấm trong đó có chuột mà thận bị nhiễm trùng mạn tính và chuột thải mầm bệnh ra môi

tr- ờng qua n- ớc tiểu. Tất cả các loài có vú khác, hoang dã cũng nh- nuôi nhà, cũng có thể là vật mang trùng leptospira, đó là những vật mang trùng rất khác nhau. Các động vật này cho c- trú và dự trữ ở trong thận các chủng huyết thanh đặc biệt đáp ứng gây bệnh (**bảng 1**). Chúng ít nhạy cảm với leptospira và có su h- ớng không gây nên bệnh hoặc chỉ làm phát triển một thể mạn tính. Trong chu kỳ của bệnh léptô, sự bài tiết ra leptospira từ thận cũng là một yếu tố chủ chốt làm chúng tồn tại trong môi tr- ờng và làm ô nhiễm đất và n- ớc. N- ớc nhiễm trùng là một nguồn truyền bệnh gián tiếp rất quan trọng cho ng- ời và các động vật, nhất là trong tr- ờng hợp tiếp súc lâu dài. Truyền bệnh trực tiếp là do tiếp súc với n- ớc tiểu và các chất tiết của động vật bị bệnh. Những đ- ờng lây nhiễm cổ điển là da và các niêm mạc. Ng- ời chỉ là vật chủ ngẫu nhiên trong chu kỳ của bệnh léptô mà ng- ời đó đặc biệt nhạy cảm với leptospira và có thiên h- ớng phát triển thành các thể nặng của bệnh (Faine và cs, 1999).

Vật mang trùng		Nhóm huyết thanh	Chủng huyết thanh đáp ứng
Chuột	<i>Rattus norvegicus</i> , <i>Rattus rattus</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i> , <i>Copenhageni</i>
Chuột nhắt rừng	<i>Apodemus agrarius</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Lai</i>
Chó*		<i>Canicola</i>	<i>Canicola</i>
Lợn		<i>Pomona, Tarassovi</i>	<i>Pomona, Tarassovi</i>
Bò		<i>Sejroe</i>	<i>Hardjo</i>
Hải ly đầm lầy		<i>Icterohaemorrhagiae</i> , <i>Australis, Sejroe</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i> , <i>Copenhageni, Australis</i> , <i>Sejroe, Bratislava, Munchen</i>

Bảng 1: Bệnh léptô ở động vật: vật mang trùng, nhóm huyết thanh và chủng huyết thanh

- Chó là vật mang trùng *Canicola* khi bị nhiễm trùng thận mạn tính

Tỷ lệ nhiễm leptospira ở chuột thay đổi tùy theo tác giả, từ 10 % (Johnson và cs 2004) đến 36 % (Lilenbaum và cs, 1993). □ Pháp, tỷ lệ huyết thanh là 33 % ở hải ly đầm lầy, và chủ yếu là nhóm huyết thanh *Icterohaemorrhagiae* và *Australis* (Michel và cs 2001). Về vật mang trùng có thể là các gia súc, một nghiên cứu nêu ra tầm quan trọng của bò sự tồn l- u của chủng *Hardjo*, chủng này đã đ- ọc phân lập từ 57 bệnh phẩm thận trên 200 con đ- ọc khám (Ellis và cs, 1981).

Bệnh léptô ở gia súc

□ vật nuôi (bò, lợn, dê, cừu), bệnh léptô thể hiện các triệu chứng sinh sản: sảy thai, chết lúc sơ sinh, bất dục và tăng khoảng cách giữa các lần đẻ (Lilenbaum & Souza, 2003; Ramos và cs, 2006). Ng- ời ta ghi nhận một tổn thất lớn về sản xuất sữa trong chăn nuôi bò sữa, đ- ọc biết nh- *milk drop syndrome* (hội chứng giảm sữa) (Pearson và cs, 1980). Ngay cả khi các triệu chứng bất dục đạt đến đỉnh và mạn tính trong chăn nuôi, những triệu chứng đó gây tổn thất lớn về kinh tế. Sự trầm trọng của bệnh hình nh- gắn với tuổi của gia súc và với trạng thái miễn dịch. Rất hiếm các tr- ờng hợp cấp tính ở bò và lợn, mà tác động nhiều đến gia súc non và đặc tr- ng của bệnh là mệt lả, sốt, thiếu máu, hoàng đả và nôn mửa (Faine và cs 1999).

Ngựa mắc bệnh có những triệu chứng mạn tính trong sinh sản (Léon và cs, 2006) và/hoặc viêm màng mạch nhỏ do sự có mặt của leptospira và các kháng thể đặc hiệu trong các buồng mắt; chứng viêm màng mạch nhỏ này làm con vật rất nhạy cảm với ánh sáng và có thể dẫn đến chứng mù lòa.

□ Chó, bệnh léptô thể hiện ở nhiều thể. Nếu bị bệnh do nhóm huyết thanh *Icterohaemorrhagiae*, sẽ phát triển chứng viêm gan thận thứ cấp hoặc cấp tính, giống nh- bệnh ở ng- ời. Khi bị nhiễm chủng *Canicola*, chó có thể chết vì viêm thận cấp đ- ọc gọi là bệnh Stuttgart, hoặc bị viêm thận mạn tính và trở thành vật mang trùng dự trữ *Canicola*. Các triệu chứng lâm sàng

chung nhất ở chó là sốt, nôn mửa, mệt mỏi, đỏ mắt, mắt n-óc và ỉa phân có máu đen, có hoặc không kèm theo hoàng đ-ảm. Chẩn đoán luôn d-ặt, thậm chí cả khi nặng, bệnh có thể tiến triển nhanh đến cái chết nếu không đ-ợc điều trị (Faine và cs, 1999). Tiêm vaccin chỉ tránh đ-ợc cho có không phát triển các triệu chứng nặng hơn nh-ng không ngăn cản đ-ợc bệnh (André-Fontaine 2006).

□ Pháp, đa số các chẩn đoán bệnh leptô là do Tr-ờng thú y Nantes đảm nhiệm. Các chẩn đoán, gián tiếp qua huyết thanh của gia súc (chẩn đoán huyết thanh học), đ-ợc nhận đ-ể khẳng định bệnh (**bảng 2**).

Số đầu gia súc	% gia súc d-ợng tính	Chủng huyết thanh phổ biến nhất
Bò 1842	13,1	Icterohaemorrhagiae, Australis, Sejroë
Lợn 2632	19,9	Icterohaemorrhagiae, Australis, Ballum
Ngựa 1883	35,6	Australis, Icterohaemorrhagiae, Canicola
Chó* 707	66,3	Icterohaemorrhagiae, Canicola, Australis,

Bảng 2: Tần số huyết thanh d-ợng tính (Vi ng-ng kết/MAT) theo loài gia súc năm 2006 (báo cáo hoạt động ENV Nantes). *Bao gồm cả những chó đã tiêm vaccin chống các chủng Icterohaemorrhagiae và Canicola.

□ Brazil, cũng giống nh- ở Pháp, ch- a có tỷ lệ huyết thanh của toàn quốc. Tuy nhiên, những cuộc điều tra huyết thanh-dịch tế học của các vùng cho thấy tỷ lệ phần trăm gia súc d-ợng tính từ 13 % đến 81 % ở Bò (Rodrigues và cs, 1999; Juliano và cs, 2000), 66 % ở chó và ở Lợn (Lilenbaum và cs, 2002; Ramos và cs, 2006) và 11 % ở dê (Lilenbaum và cs, 2007).

□ mèo và thú họ mèo nói chung không có báo cáo điều tra huyết thanh-dịch tế học của bệnh leptô và chỉ có ít dữ liệu đ-ợc ghi trong y văn về vấn đề này (Luciani 2004; Lilenbaum và cs, 2004). Điều cho rằng họ mèo đề kháng hơn với bệnh leptô thì còn ch- a rõ: việc sống chung giữa mèo nhà với chó và ng-ời, vai trò của họ mèo có thể là vật mang trùng còn cần đ-ợc làm rõ. Tuy nhiên chúng ta cần chỉ ra rằng trong một nghiên cứu mới đây trên 98 con mèo, 48 % trong số chúng có huyết thanh d-ợng tính với phản ứng vi ng-ng kết (MAT) với *Leptospira* spp., cho thấy rằng bệnh cũng th-ờng có ở loài này (Luciani 2004; André-Fontaine 2006).

Sinh bệnh học của bệnh Leptô

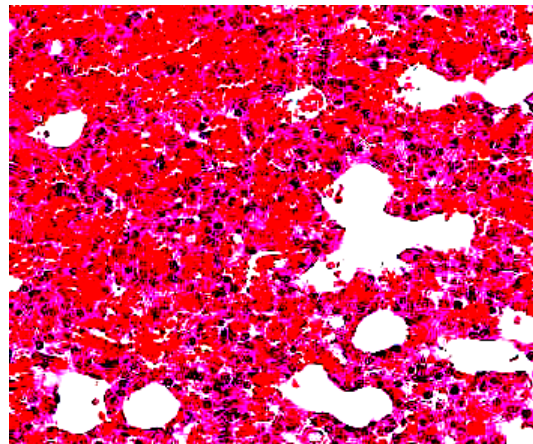
Động lực học của sinh bệnh học bệnh leptô rất phức tạp và đa nhân tố. Tính hay thay đổi và hình thái của các leptospira giúp chúng xuyên qua da bị th-ơng và các niêm mạc, cũng nh- sự phát tán nhanh trong máu và các tổ chức của vật chủ. Sau khi nhiễm trùng, giai đoạn huyết nhiễm trùng thay đổi và có thể kéo dài trung bình 3 đến 10 ngày. Tiếp đến chúng tới các tổ chức mục tiêu: thận, gan, và phổi gây nên các triệu chứng cổ điển. Khi định c- ở gan, nó có thể gây chết hoặc gây ra một tính miễn dịch bảo vệ khiến cho vi khuẩn bị loại thải hoặc phát triển tình trạng mang trùng (Faine và cs 1999).

Đặc biệt là sự hiểu biết về sinh bệnh học bệnh leptô dựa trên cơ sở những nghiên cứu trên mô hình những động vật thí nghiệm. Việc sử dụng chuột lang làm mô hình thí nghiệm không phải là mới (Noguchi 1920). Những chuột lang non đ-ợc tiêm truyền leptospira chủng Icterohaemorrhagiae, phát thành một bệnh gây chết thành bệnh leptô nặng cho ng-ời và chó với sự thể hiện hoàng đ-ảm và xuất huyết d-ới da, phổi và bụng (**hình 3 và 4**). Chuột hang (hamster) và chuột sa mạc (gerbille) cũng nhạy cảm với các leptospira. Súc đề kháng của chuột ngăn không cho dùng làm thí nghiệm. Hiện nay, đã cho thấy rằng chuột biến đổi gen thành TLR-4 (Toll-like receptor 4), thụ cảm với đáp ứng miễn dịch, cũng nhạy cảm với bệnh (Nally và cs, 2005).

Bệnh tích chủ yếu của bệnh là xuất huyết và tụ tập các tế bào viêm. Các leptospira không gây ra mụn và gây nên viêm lâm ba có ít lâm ba cầu trung tính (**hình 4, hình 5 A-B**). Tác dụng trực tiếp của chúng trong tổ chức gắn với sự hiện diện của lipopolysaccharide (LPS) và những độc tố khác nh- một chất dung huyết (Lee và cs 2000) và các men lipases (Palaniappan và cs, 2007). Việc chúng gắn dính vào những tế bào là hàng đầu đ-ể nhuộm các tế bào vật chủ.



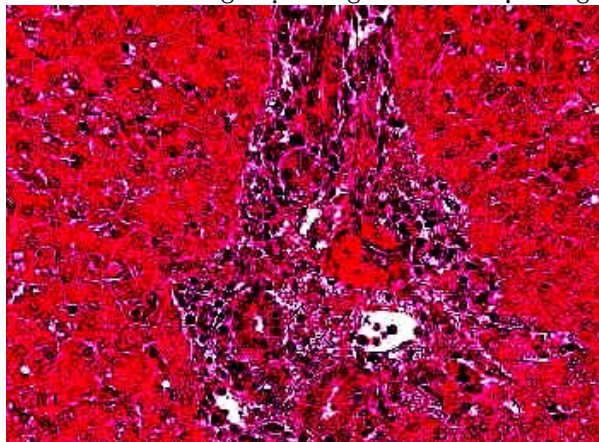
Hình 3: Dấu hiệu lâm sàng cổ điển của bệnh leptô cấp tính ở chuột lang gây nhiễm bằng *Leptospira interrogans* chủng Lai. Con vật bị hoàng đản ở mắt, da và các tổ chức d-ới da, xuất huyết bụng và các thanh mạc.



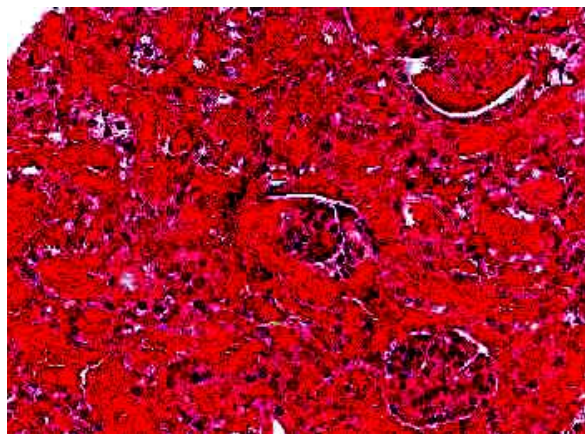
Hình 4: Trái: Phổi của chuột lang gây nhiễm bằng *Leptospira interrogans* chủng Lai biểu hiện những mảng xuất huyết lớn. Bên phải: Bệnh tích vi thể phổi đặc tr- ng bởi xuất huyết nội-phế nang và các đám viêm thâm nhiễm tế bào lâm ba (hématoxyline éosine, X 200).

Th- òng thấy các leptospira gắn chặt vào màng tế bào (**hình 1**) và ở giai đoạn này chúng cần có những nhân tố độc lực lớn. Có khả năng chuyển chỗ nhanh trong tế bào (Barocchi và cs, 2001), chúng xâm nhập vào trong tế bào thực bào và các tế bào không thực bào (Palaniappan và cs, 2007), nh- ng không phải là nội bào (Faine và cs, 1999). Ngay cả khi các cơ chế độc lực đặc hiệu của các leptospira còn ch- a rõ ràng, một vài protéine đã đ- ọc xác định nh- là những yếu tố độc lực chính thức, nh- một protéine có tạo xơ (? : qui a pour ligand la fibronectin) (Merien và cs, 2000) và những protéine Lig (Matsunaga và cs, 2003). Những tiến bộ mới đây trong nghiên cứu về gen sẽ cho phép, tạo thuận lợi cho định đề phân tử của Koch (Falkow 1988), làm rõ vai trò của các nhân tố độc lực. Đáp ứng miễn dịch với leptospira, còn ít biết, đ- ọc thực hiện qua trung gian của các quá trình miễn dịch bẩm sinh và thu đ- ọc. LPS phụ trách kích thích miễn dịch bẩm sinh bằng các TLR2 (Werrits và cs, 2001). Đáp ứng thể dịch là đặc hiệu của chủng nhiễm trùng và LPS hình nh- là một kháng nguyên chủ yếu, cũng nh- là các protéin của màng ngoài. Các globulin miễn dịch thực hiện việc opsonin hóa và cho phép thực bào tiếp theo các leptospira (Faine và cs, 1999). Đáp ứng miễn dịch tế bào hình nh- cũng tham gia vào việc bảo vệ chống các leptospira bằng việc sản sinh ra interféron gamma (Bartti và cs, 2003).

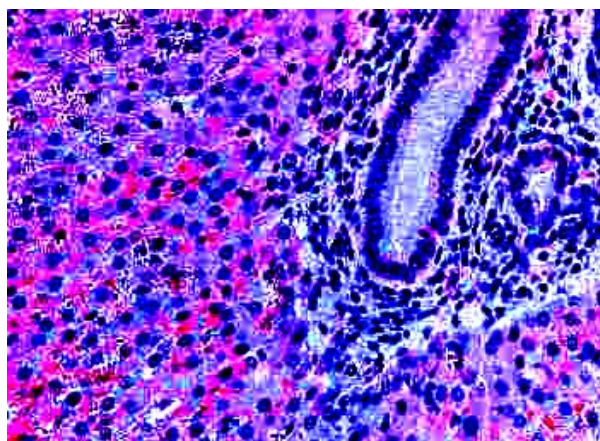
Hình 5: tiêu bản tổ chức phủ tạng chuột lang đ-ợc gây nhiễm bằng *Leptospira interrogans* chủng Lai. **A**, gan bị viêm lymphô nặng quanh tĩnh mạch cửa, các tế bào gan bị hoại tử và những tế bào Kupffer bị giãn ra. Việc mất cấu trúc tuyến tính của các tế bào gan cũng đáng chú ý (hématexyline éosine). **B**, thận có những bệnh tích điển hình của bệnh leptô đặc tr-ng bằng xuất huyết lan tỏa ở vùng vỏ, hoại tử hình ống và thâm nhiễm t-ơng bào (hématexyline éosine). **C**, miễn dịch mô bào với các kháng thể đặc hiệu chống protéine Loa22 làm lộ rõ nhiều leptospira (nhuộm màu đỏ) trong những ống mật. **D**, nó cũng làm lộ ra sự phân chia lan tỏa các vi khuẩn (nhuộm màu đỏ) trong các tiểu cầu thận và thêm nữa một số l-ợng lớn ở trong các thân ống thận. Sự biểu hiện in vivo của protéine Loa22, chủ yếu cho độc lực của các leptospira, cũng biểu lộ bằng hóa tổ chức ở trong thận và gan của chuột lang (phóng đại X200).



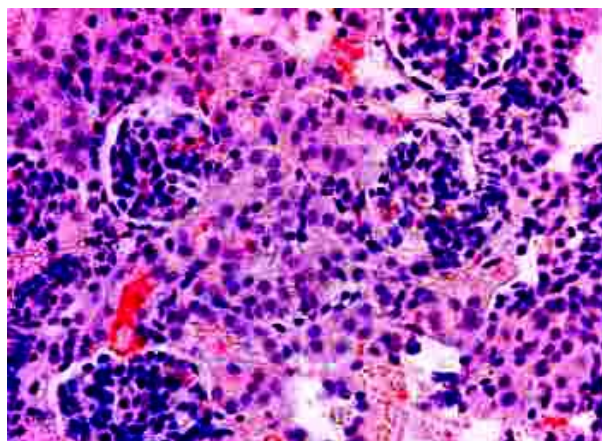
A



B



C



D

Nhu cầu về các biện pháp kiểm soát hữu hiệu

Bệnh leptô về cơ bản gắn với những điều kiện của sự nghèo nàn và với các hành động giáo dục vệ sinh, với việc đô thị hóa và với sự hòa nhập xã hội là trên cơ sở của sự kiểm tra kiểm soát. Việc bảo vệ cá nhân (mang ủng) khi bị ngập lụt và tiêu diệt các loài gặm nhấm là rất quan trọng để kiểm soát bệnh. Sử lý bệnh leptô có thể là điều trị hoặc phòng và các leptospira đều nhạy cảm với kháng sinh nh- pécicilline G và doxycyline.

Phản ứng để chẩn đoán là phản ứng vi ng- ng kết hoặc MAT, đ- ợc dành cho một số phòng thí nghiệm đặc biệt. Phản ứng này dựa trên cơ sở sự ng- ng kết của các chủng vi khuẩn sống khác nhau với huyết thanh, cho phép định l- ợng các kháng thể ng- ng kết tổng số. Nó cho phép không chỉ nhạy cho chẩn đoán và đặc hiệu, mà cũng còn có thể xác định các chủng huyết thanh. Vì vậy nó có ích cả trong chẩn đoán và với dịch tễ học. Ng- ợc lại, nó có giá trị hạn chế trong chẩn đoán thể cấp tính của các dạng bệnh leptô nặng, cũng nh- là các dạng kém nặng hơn. Một bất tiện khác là nó cần một l- ợng lớn các chủng sống phù hợp với các chủng huyết thanh gây bệnh. Bộ dùng chẩn đoán bệnh leptô của CNR ở viện Pasteur gồm 16 chủng và có thể mở rộng ra tới 23 nếu ng- ời ta nghi ngờ một chủng hoặc nhóm chủng hiếm hơn.

Trên thực tế ở ng- ời, ng- ời ta ghi nhận tr- ớc tiên là phải chẩn đoán huyết thanh học và, theo yêu cầu của các nhà sinh vật học, một môi tr- ờng và/hoặc khuếch đại gen (PCR) khi nhận một bệnh nhân. Ba cái đó bổ sung cho nhau để chẩn đoán sinh vật học bệnh leptô. Kiểm tra trực tiếp d- ới kính hiển vi nền đen là không nên vì lý do các d- ợng tính giả.

Có thể dùng môi tr- ờng máu trong 10 ngày đầu sau khi xuất hiện sốt, còn với Lcr sẽ trong tuần lễ thứ hai của bệnh, và cuối cùng, môi tr- ờng uro (uroculture) bắt đầu từ tuần lễ thứ ba. Khuếch đại bằng phản ứng polymérisation theo dây chuyên (PCR) của gen đặc hiệu nh- *hap1* (Brangé và cs, 2005) ngày càng đ- ợc sử dụng, cũng nh- là PCR hiện nay (Merien và cs,

2005).Cuối cùng chẩn đoán huyết thanh học đ-ợc dành cho một vài phòng thí nghiệm cùng với việc thực hiện hoặc MAT hoặc một test định h-ớng bởi các kỹ thuật khác nhau trong đó có ELISA (IgM) với chủng hoại sinh Patoc. Phản ứng này cho d-ợng tính vào khoảng ngày thứ 8 đến 10 sau khi bệnh bắt đầu. Các kháng thể giảm dần vào 3 đến 6 tháng và có thể tồn l-u với tỷ lệ sót lại trong nhiều năm. Động học của các kháng thể là cần thiết (2 test cách nhau 2 tuần) và ghi chép tổng hợp các dữ liệu theo thứ tự thời gian và lâm sàng.

Chúng ta cần một test chẩn đoán hiệu quả, đơn giản, kinh tế và chắc chắn để các nhân viên phòng thí nghiệm có thể xác định đ-ợc các pha sớm và muộn của bệnh. Sẽ là rất hay nếu phân biệt đ-ợc kháng thể của vaccin với kháng thể do nhiễm trùng sản sinh ra. Một test chẩn đoán tổng hợp các d-ới-đơn vị vi khuẩn đ-ợc bảo quản tron các chủng huyết thanh khác nhau của leptospira thì sẽ thỏa mãn đ-ợc các đòi hỏi này.

Cũng cần phải chẩn đoán phân biệt bệnh leptô với sốt xuất huyết của ng-ời. Trên thực tế bệnh sốt xuất huyết (bệnh Dengue) gây những sai lầm lớn trong chẩn đoán ở ng-ời (Ko và cs, 1999), bệnh này chỉ hoành hành trong một vài n-ớc sứ nóng. Với động vật nhai lại, lợn và ngựa ng-ời ta cần phân biệt bệnh leptô với những bệnh nhiễm ký sinh trùng và những triệu chứng về sản xuất do các nguyên nhân khác.

Biện pháp kiểm soát đặc biệt bệnh leptô là tiêm vaccin. Biện pháp kiểm soát các nhóm nghề nghiệp có nguy cơ mắc bệnh đ-ợc tiến hành ở Pháp và các n-ớc khác nh- Trung quốc, Nhật, Nga và Cuba. Thú y tiêm phòng vaccin bệnh này th-ờng xuyên cho chó, vì ở chó bệnh phát thành thể nặng. Tại một số n-ớc nh- Brazil là n-ớc bệnh gây thành dịch cho các vật nuôi, bò và lợn cũng có thể đ-ợc tiêm.

Các vaccin hiện đang dùng là vaccin vi trùng hoàn toàn chết bằng nhiệt hoặc formol và có một số bất tiện: đáp ứng miễn dịch ngắn nên không phải luôn luôn bảo vệ đ-ợc và là đặc hiệu cho chủng vi khuẩn đ-ợc dùng trong thành phần. Đáp ứng miễn dịch thời hạn ngắn đòi hỏi phải định kỳ tiêm nhắc lại. Hiệu quả của các vaccin này hoàn toàn bị hạn chế. Trên thực tế , có một số l-ợng lớn trong chi Leptospira (hơn 250 chủng), chủ yếu là do các biến đổi về cấu trúc của polysaccharide (LPS). Đặc điểm này là một hạn chế cho sự phát triển một vaccin đa giá, nh-ng cũng cho chẩn đoán huyết thanh học. Một số n-ớc, nh- Cuba, dùng những vaccin đa giá tổng hợp của nhiều chủng (Martinez và csss, 2004), nh-ng những vaccin đó vẫn không có khả năng bảo vệ chống toàn thể các chủng đã biết.

Vì thế cần tìm ra các kháng nguyên ở trong leptospira và ng-ời bảo hộ để phát triển một vaccin đa giá tổng hợp của một hoặc nhiều d-ới-đơn vị vi khuẩn. Ngày nay, các nhà nghiên cứu đã có khả năng, bằng cách dùng một chiến l-ợc vaccin học nghịch đảo (reverse vaccinologie), để thực hiện phân tích tin học toàn bộ gen đơn bội để nghiên cứu những vaccin mới (Koizumi & Watanabe, 2005). Chiến l-ợc này cho phép chúng ta tìm ra một vaccin phân tử có thể bảo vệ chống một phổ leptospira rộng – một thách thức th-ờng xuyên cho các nhà nghiên cứu. Điều này cũng phải cho phép ứng dụng một vaccin duy nhất chung cho nhiều loài động vật và ng-ời. Các vaccin tổng hợp các d-ới-đơn vị protéine đã tỏ ra sức bảo vệ một phần các mô hình động vật (Haake và cs, 1999; Branger và cs, 2001). Việc thiếu công cụ gen đã kìm hãm nhiều việc nghiên cứu về leptospira.

Lê Quang Toàn sưu tầm và dịch

*(LA LEPTOSPIROSE: LES DÉFIS ACTUELS D'UNE ANCIENNE MALADIE
Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France. 2007.
Tome 160. Numéro 4 . Page 257 – 278)*