

HIỆU QUẢ CỦA MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM PHÂN TÌM TRỨNG GIUN SÁN VÀ NOÃN NANG CẦU TRÙNG Ở CHÓ

Nguyễn Thị Hoàng Yên^{1*}, Nguyễn Thân Thiện², Đặng Thị Phương Thảo¹,
Nguyễn Duyên Tùng¹, Hà Quốc Việt¹

¹Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
²Khoa Chăn nuôi, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: nthyen@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 18.04.2019

Ngày chấp nhận đăng: 28.08.2019

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu là đánh giá hiệu quả của ba phương pháp xét nghiệm phân: phương pháp phủ nổi dùng nước muối NaCl bão hòa (SG 1,18), phủ nổi dùng đường (SG 1,27) và tập trung trứng Formol-Ether trong việc xác định trứng của giun sán và noãn nang đơn bào trên chó. 270 mẫu phân chó được thu thập ở một số địa điểm thuộc tỉnh Vĩnh Phúc, Thái Bình, Phú Thọ, Thái Nguyên, sau đó được xét nghiệm bằng các phương pháp trên. Kết quả xét nghiệm cho thấy tỷ lệ nhiễm chung ký sinh trùng trên chó là 75,18%, gồm 12 loại mầm bệnh: sán lá (Heterophyids), giun tròn (*Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Trichuris vulpis*, *Capillaria* sp., *Strongyloides canis* và giun móc), sán dây (*Dipylidium caninum*, *Diphyllobothrium latum*, *Spirometra* sp. và *Taenia* sp.) và cầu trùng *Cystoisospora* spp. Giun móc (58,81%) và giun đũa *T. canis* (31,11%) là các mầm bệnh ký sinh chủ yếu. Phủ nổi dùng đường cho hiệu quả cao nhất trong việc xác định trứng giun tròn và cầu trùng. Phủ nổi dùng muối có hiệu quả xác định trứng giun tròn và cầu trùng thấp hơn sử dụng đường, nhưng cao hơn dùng Formaline-Ether. Phương pháp Formol-Ether có hiệu quả xác định trứng sán dây và trứng giun tròn chứa ấu trùng cao hơn các phương pháp còn lại, nhưng không xác định được cầu trùng.

Từ khóa: Phương pháp phủ nổi, phương pháp Formol-Ether, chó, giun tròn, sán dây, cầu trùng.

Evaluation of Effectiveness of Fecal Examination Techniques for Parasite Eggs and Oocysts in Dogs

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effectiveness of three fecal examination techniques: sugar floatation (SG: 1.27), saturated salt floatation (SG: 1.18) and formol-ether concentration, to determine the parasite eggs and oocysts in dogs. Examination of 270 dog fecal samples in some areas of Vinh Phuc, Thai Binh, Phu Tho and Thai Nguyen provinces, the result showed that the overall prevalence of gastrointestinal parasites in dogs is 75.18%. Twelve kinds of parasites were detected, consisting of one intestinal fluke (Heterophyids), six roundworms (*Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Trichuris vulpis*, *Capillaria* sp., *Strongyloides canis* and hookworm), four tapeworms (*Dipylidium caninum*, *Diphyllobothrium latum*, *Spirometra* sp., and *Taenia* sp.) and one coccidia (*Cystoisospora* sp.). Hookworm (58.81%) is the most prevalent in dogs, following by and *Toxocara canis* (31.11%). Sugar floatation technique showed the most effective for detection of roundworm eggs and coccidia oocysts, following by saturated salt floatation technique. Formol-Ether concentration one has more effective for detection of tapeworm eggs and larva-containing roundworm eggs compared to the other techniques, but it cannot detect coccidia oocysts. In conclusions, the result of study showed that the choice of which fecal examination technique depending on the purpose of each study.

Keywords: Floatation technique, Formol-Ether concentration technique, dogs, roundworm, tapeworm, coccidia.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chó là loài động vật có mặt phổ biến trong mỗi gia đình, đặc biệt là vùng nông thôn Việt

Nam. Hiện nay, tổng đàn chó của cả nước lên tới khoảng 5,4 triệu con ở 3,5 triệu hộ nuôi. Bên cạnh những mặt tích cực mà việc nuôi chó mang lại như giữ nhà, làm bạn... thì nuôi chó cũng

tiềm ẩn nhiều nguy cơ có hại cho sức khỏe cộng đồng. Chó là nguồn tàng trữ rất nhiều loại mầm bệnh, trong đó phải kể đến ký sinh trùng. Chúng là vật chủ chính cho rất nhiều loại mầm bệnh là giun sán và đơn bào. Đặc biệt nhiều trong số chúng là bệnh truyền lây chung giữa người và chó như sán lá gan nhỏ (*Clonorchis sinensis*), sán lá phổi (*Paragonimus* spp.), sán dây (*Dipylidium* spp., *Taenia* spp., *Echinococcus* spp., *Spirometra* spp., *Dipyllobothrium* spp...), giun tròn (*Ancylostoma* spp., *Strongyloides stercoralis*, *Toxocara canis*, *Gnathosoma spiniferum*...), đơn bào ký sinh đường tiêu hóa (*Cystoisospora* spp., *Sarcocystis* spp., *Giardia* spp...).

Việc xác định các loại mầm bệnh ký sinh trên chó rất quan trọng trong việc phòng ngừa sự lây truyền của chúng sang người. Có rất nhiều phương pháp được sử dụng để xác định các loại mầm bệnh ký sinh trùng kể trên. Mỗi một phương pháp đều có những ưu, nhược điểm và phạm vi ứng dụng riêng. Phương pháp gạn rửa sa lắng thường được ứng dụng để tìm trứng sán lá, phương pháp phù nổi tìm trứng của giun tròn, trứng sán dây và noãn nang đơn bào. Tuy nhiên, phương pháp tập trung trứng sử dụng Formol-Ether có thể xác định được trứng của cả sán lá, sán dây và giun tròn. Như đã đề cập ở trên, chó có thể nhiễm rất nhiều loại mầm bệnh ký sinh trùng khác nhau. Tuy nhiên, tỷ trọng của trứng của các mầm bệnh ký sinh trùng nói chung và tỷ trọng của trứng giun sán nói riêng rất đa dạng tùy thuộc vào từng loài (Bảng 1). Do đó, việc lựa chọn dung dịch làm nổi rất quan trọng trong việc xác định trứng của các loài giun sán.

Việc lựa chọn các phương pháp xét nghiệm để xác định mầm bệnh ký sinh trùng trong phân dựa vào nguyên lý chung là sự chênh lệch về tỷ trọng giữa trứng giun sán (hoặc noãn nang đơn bào) với các dung dịch sử dụng. Riêng phương pháp phù nổi, có rất nhiều dung dịch có thể dùng để làm nổi trứng giun sán như Magnesium sulfate ($MgSO_4$, SG 1,2), Zinc sulfate ($ZnSO_4$, SG 1,18-1,2), Sodium nitrate solution ($NaNO_3$, SG 1,18-1,2), muối bão hòa (NaCl, SG 1,18-1,2), dung dịch đường (SG 1,27-1,3) (Dryden & cs., 2005; Foreyt & cs., 2013). Ngoài ra có thể kết hợp các thành phần khác nhau để có được dung

dịch có tỷ trọng lớn hơn như Potassium Iodomercurate (SG 1,44), Zinc sulfate và Potassium Iodomercurate (SG 1,45). Tuy nhiên, không nên sử dụng các dung dịch có tỷ trọng quá lớn vì các dung dịch này có thể làm biến đổi hình thái của trứng giun sán hoặc noãn nang đơn bào và có thể làm nổi những mảnh rác trong phân gây khó khăn cho việc xác định trứng giun sán. Dung dịch thường được ứng dụng trong xét nghiệm phân tìm trứng giun tròn và sán dây nói chung và trứng giun tròn, sán dây ký sinh trên chó nói riêng thường được lựa chọn là dung dịch nước muối bão hòa (NaCl, SG 1,18-1,2). Như vậy, có thể một số mầm bệnh ký sinh trùng ký sinh trên chó sẽ không được tìm thấy.

Xuất phát từ thực tế trên, đề tài này được tiến hành để đánh giá cụ thể hiệu quả cũng như phạm vi ứng dụng của các phương pháp xét nghiệm phân tìm trứng giun sán, nhằm khuyến cáo cho các nhà nghiên cứu ký sinh trùng. Mục tiêu cụ thể là xác định sự lưu hành của giun sán và đơn bào ký sinh trên chó tại địa điểm nghiên cứu. Đồng thời đánh giá hiệu quả của ba phương pháp: phù nổi sử dụng dung dịch muối bão hòa (NaCl, SG: 1,18), đường (SG: 1,27) và phương pháp tập trung trứng Formol-Ether trong việc xác định trứng giun sán và noãn nang cầu trùng trên chó.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

270 mẫu phân thu từ chó nuôi tại các hộ gia đình ở một số địa điểm thuộc tỉnh Vĩnh Phúc, Thái Bình, Phú Thọ, Thái Nguyên được thu theo phương pháp chọn mẫu ngẫu nhiên đơn giản, trong khoảng thời gian từ tháng 8/2017 đến tháng 8/2018. Phân được lấy trong trực tràng, bảo quản ở 4°C và chuyển về phòng thí nghiệm. Phân được trộn đều trước khi xét nghiệm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Dung dịch sử dụng cho thí nghiệm

Muối natrichlorua bão hòa (tỷ trọng (specific gravity - SG): 1,18): 350 gam natrichlorua (NaCl) hòa tan trong 1.000 mL nước.

Bảng 1. Tỷ trọng của một số loại trứng giun sán ký sinh trên chó

Loài ký sinh trùng	Tỷ trọng (specific gravity)
<i>Toxascaris leonina</i> (giun đũa)	1,0559
<i>Toxocara canis</i> (giun đũa)	1,0900
<i>Ancylostoma caninum</i> (giun móc)	1,0559
<i>Trichuris vulpis</i> (giun tóc)	1,1453
<i>Taenia</i> spp. (sán dây)	1,2251
<i>Physaloptera</i> (giun dạ dày)	1,2376

Nguồn: David & cs., 1982

Dung dịch đường (SG: 1,27): 454 gam đường hòa tan trong 355 mL nước.

Tỷ trọng của các dung dịch được xác định lại bằng tỷ trọng kế 1,2-1,4.

2.2.2. Phương pháp phù nổi sử dụng nước muối natrichlorua bão hòa (Phương pháp Fülleborn)

Lấy 2 g phân từ mỗi mẫu hòa tan trong 30 mL nước muối bão hòa. Dung dịch phân được rửa nhẹ nhàng và lọc qua lưới lọc. Trộn đều dung dịch lọc, dùng pipette hút lấy toàn bộ dung dịch chia đều vào 2 ống nghiệm dung tích 15 mL (mỗi ống chứa 15 mL dung dịch phân, tương đương với 1 g phân). Bổ sung thêm dung dịch nước muối bão hòa đến miệng ống nghiệm sao cho khi đặt lamén (18×18 mm) lên miệng ống nghiệm, lamén vừa chạm vào dung dịch phân (dung dịch phân không bị trào ra ngoài). Để yên tĩnh ống nghiệm trong vòng 15 phút, lấy lamén ra đặt lên một phiến kính sạch. Đặt phiến kính lên kính hiển vi, tìm, đếm và phân loại tất cả trứng giun sán và noãn nang đơn bào có trên lamén. Số liệu thu được được tính toán và xác định số lượng trứng và noãn nang có trong 1 g phân (OPG - oocyst per gram và EPG-egg per gram).

2.2.3. Phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường

Lấy 5 g phân từ mỗi mẫu, hòa tan trong 50 mL nước. Dung dịch phân được rửa nhẹ nhàng và lọc bằng lưới lọc trong cối chày sứ (mắt lưới lọc có đường kính 100 µm). Lấy 20 mL dung dịch phân sẽ được chia đều vào 2 ống

nh nghiệm 15 mL (mỗi ống chứa 10 mL dung dịch phân, tương đương với 1 g phân). Ly tâm mẫu phân trong ống nghiệm với tốc độ 3.000 vòng/phút/10 phút. Sau khi ly tâm, loại bỏ dung dịch trong phía bên trên, giữ lại cặn. Thêm vào ống nghiệm 7 mL dung dịch đường, hòa tan cặn trong ống nghiệm. Bổ sung thêm dung dịch đường đến vạch 15 mL. Ly tâm với tốc độ 5.000 vòng/phút/10 phút. Thêm tiếp dung dịch đường đến miệng ống nghiệm, đặt lamén (18×18 mm) lên miệng ống nghiệm. Sau 15 phút, lấy lamén đặt lên trên một phiến kính sạch, làm tương tự như phương pháp trên (Dryden & cs., 2005).

2.2.4. Phương pháp tập trung trứng formol-ether

Cân 1 g phân cho vào một ống nghiệm sạch (dung tích 15 mL), bổ sung thêm 7 mL dung dịch formaline 10%, giữ yên tĩnh trong vòng 10 phút để cố định mầm bệnh ký sinh trùng. Hòa tan phân trong dung dịch, lọc dung dịch phân qua một tấm gauze sang một ống nghiệm khác. Nhỏ vào ống dung dịch 2 giọt dung dịch tween 20 (hoặc tween 80) và bổ sung thêm 3 mL dung dịch ether. Ly tâm dung dịch trong ống nghiệm với tốc độ 2.000 vòng/phút trong vòng 5 phút. Sau khi ly tâm, dung dịch chia thành 4 lớp: lớp trên cùng là ether, tiếp đến là các cặn lớn còn lại sau khi lọc, lớp thứ ba là formaline, cuối cùng là phần cặn có chứa mầm bệnh ký sinh trùng. Loại bỏ 3 lớp phía trên, giữ lại cặn. Chuyển cặn sang ống nghiệm 2 mL, thêm formaline 10% đến vạch 1 mL. Kiểm tra 100 µL dung dịch, chia thành 4 lần, mỗi lần 25 µL. Xác định, phân loại và tính toán số lượng ký sinh trùng có trong 1 g phân (Suzuki & cs., 1981).

2.2.5. Đánh giá hiệu quả

Mỗi một mẫu phân được xét nghiệm bằng hai phương pháp: phương pháp sa lắng bằng Formol-Ether và phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường như đã mô tả ở trên. Các mẫu dương tính với ít nhất một loại mầm bệnh bằng phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường được xét nghiệm tiến hành thêm bằng phương pháp phù nổi sử dụng nước muối NaCl bão hòa. So sánh hiệu quả của các phương pháp được đánh giá bằng số mẫu dương tính với từng mầm bệnh ký sinh trùng trên tổng số mẫu xét nghiệm.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel 2016. So sánh hai giá trị sai khác sử dụng khi bình phương (χ^2)

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường tiêu hóa trên chó

Xét nghiệm 270 mẫu phân chó, chúng tôi đã xác định được 203 mẫu dương tính với ít nhất một loại mầm bệnh ký sinh trùng. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng, chó nhiễm ký sinh trùng với tỷ lệ chung là 75,18%, trong đó tỷ lệ nhiễm đơn tương đương với nhiễm ghép ($P > 0,05$) (Bảng 2). Một số tác giả khác khi nghiên cứu lĩnh vực này cho biết tỷ lệ nhiễm giun tròn trên chó nuôi tại Thanh Hóa là 62,14% (Võ Thị Hải Lê & cs., 2011) và 64,53% chó nuôi tại một số tỉnh phía Bắc như Hà Nội, Bắc Ninh, Phú Thọ (Bùi Khánh Linh & cs., 2018) bị nhiễm giun tròn. Nguyễn Phi Bằng & cs. (2016) cũng công bố về tỷ lệ nhiễm giun sán đường tiêu hóa trên chó ở An Giang là 73,67%.

Tuy nhiên, một số nghiên cứu ở ngoài nước cho thấy tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường tiêu

hóa trên chó rất thấp: dao động khoảng 10,7-14,9% ở Hoa Kỳ (Little & cs., 2009); 28,04% ở Palampur, Himachal Pradesh, Ấn Độ (Moudgil & cs., 2016). Thái Lan là trong các một quốc gia thuộc khu vực Đông Nam Á, có điều kiện tự nhiên và khí hậu tương đối giống Việt Nam, nhưng tỷ lệ lưu hành của ký sinh trùng ở trên chó tại Nakhon Nayok chỉ 36,2% (Rojekittikhun & cs., 2014). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng chó Việt Nam nhiễm ký sinh trùng với tỷ lệ tương đối cao. Nguyên nhân chính có thể do người nuôi chó ở Việt Nam không để ý đến việc phòng bệnh cho chó, đặc biệt là phòng bệnh bằng thuốc, đồng thời chó được nuôi chủ yếu bằng hình thức bán thả rông nên nguy cơ bị nhiễm ký sinh trùng cao (số liệu không chỉ ra).

3.2. Thành phần ký sinh trùng ký sinh trên đường tiêu hóa của chó

Kết quả xét nghiệm phân bằng ba phương pháp: phù nổi sử dụng dung dịch đường, phù nổi sử dụng dung dịch NaCl bão hòa và phương pháp tập trung trứng Formol-Ether cho thấy: có 12 loại mầm bệnh ký sinh trùng được xác định, trong đó có một loại sán lá ruột, bốn loại sán dây, sáu loại giun tròn và cầu trùng (Bảng 3). Trong số các loại mầm bệnh ký sinh trùng xác định được thì chó nhiễm giun móc với tỷ lệ cao nhất (54,81%), tiếp đến là giun đũa *T. canis* (31,11%), các loại mầm bệnh còn lại nhiễm với tỷ lệ thấp hơn (dưới 10%). Một số tác giả cũng công bố tỷ lệ nhiễm giun móc trên chó từ 43,85-62,62%; tỷ lệ nhiễm giun đũa thấp hơn, dao động từ 10 - 38,03% (Võ Thị Hải Lê & cs., 2011; Nguyễn Phi Bằng & cs., 2016; Nguyễn Thị Lan Anh & cs., 2016; Bùi Khánh Linh & cs., 2018). Các tác giả này đều dùng phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch nước muối NaCl bão hòa để xác định trứng của các loại giun tròn này.

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng đường tiêu hóa trên chó (n = 270)

	Số mẫu nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)
Tổng	203	75,18
Nhiễm đơn	101	37,40 ^a
Nhiễm ghép	102	37,78 ^a

Bảng 3. Thành phần ký sinh trùng ký sinh trên đường tiêu hóa của chó (n = 270)

Lớp ký sinh trùng	Thành phần ký sinh trùng ký sinh	Số mẫu nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)
Sán lá (Trematode)	Sán lá ruột (<i>Heterophyids</i>)	3	1,11
Sán dây (Cestode)	Sán hạt dưa (<i>Dipylidium caninum</i>)	5	1,85
	Sán dây hai rãnh (<i>Dipyllobothrium latum</i>)	17	6,30
	Sán dây hai rãnh (<i>Spirometra</i> sp.)	1	0,37
	Sán dây họ <i>Taenia</i> sp.	1	0,37
Giun tròn (Nematode)	Giun đũa (<i>Toxocara canis</i>)	84	31,11
	Giun đũa (<i>Toxascaris leonina</i>)	3	1,11
	Giun móc (Hookworm)	148	54,81
	Giun tóc (<i>Capillaria</i> sp.)	22	8,15
	Giun tóc (<i>Trichuris vulpis</i>)	18	6,67
	Giun lươn (<i>Strongyloides</i> sp.)	10	3,70
Đơn bào (Protozoa)	Cầu trùng (<i>Cystoisospora</i> sp.)	18	6,67

Giun móc và giun đũa *Toxocara canis* không chỉ lưu hành phổ biến trên chó ở nước ta, mà đây được xem là hai loại mầm bệnh chủ yếu trên chó. Tuy nhiên, tỷ lệ nhiễm giun móc và giun đũa trên chó ở một số các quốc gia khác thì thấp hơn rất nhiều so với chó ở Việt Nam (Moudgil & cs., 2016; Little & cs., 2009; Rojekkittikhun & cs., 2014). Trong số các loài giun móc được xác định ở Việt Nam có *Ancylostoma ceylanicum* và *A. canicum* (Bùi Khánh Linh & cs., 2018), cùng với giun đũa *T. canis* là các loài giun tròn truyền lây sang người. Vì vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng là một cảnh báo đối với người nuôi chó trong việc phòng bệnh cho vật nuôi, tránh nguy cơ truyền lây sang người.

3.3. Đánh giá hiệu quả của các phương pháp xét nghiệm phân

Xét nghiệm phân là phương pháp hiệu quả trong chẩn đoán ký sinh trùng bởi vì đây là phương pháp đơn giản, dễ thực hiện, chi phí thấp. Có rất nhiều phương pháp xét nghiệm phân để tìm mầm bệnh ký sinh trùng trong phân, đặc biệt là mầm bệnh do giun sán. Tuy nhiên, vấn đề quan trọng là lựa chọn phương pháp nào để đáp ứng được mục đích nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã lựa chọn ba phương pháp để xác định sự có mặt của trứng

giun sán (hoặc noãn nang đơn bào), đây là các phương pháp được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu về ký sinh trùng thú y. Kết quả được trình bày ở bảng 4, 5 và 6.

3.3.1. Kết quả phát hiện trứng giun tròn bằng các phương pháp xét nghiệm

Đối với phần lớn giun tròn, phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường cho kết quả xác định cao hơn so với phương pháp tập trung trứng Formol-Ether, đặc biệt trong việc xác định trứng của giun móc, tiếp đến là trứng giun tóc và trứng giun đũa (Bảng 4). Các mẫu dương tính với trứng các loại giun tròn này bằng phương pháp sa lắng Formol-Ether đều được xác định bằng phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường. Tỷ trọng của trứng giun móc, giun đũa và giun tóc (*T. vulpis*) tương ứng là 1,0559, 1,0900 và 1,1453 (David & cs., 1982), trong khi tỷ trọng của dung dịch đường sử dụng trong nghiên cứu này là 1,27. Vì vậy, trứng của các loại giun tròn này dễ nổi lên trên bề mặt dung dịch sử dụng. Đối với phương pháp Formol-Ether, dung dịch thu được sau khi xét nghiệm là 1 mL và trứng chỉ được xác định trong lượng dung dịch là 100 μ L. Ngoài ra sản phẩm thu được của phương pháp sa lắng Formol-Ether vẫn còn chứa nhiều mảnh rác nên khó phát hiện. Điều này cho thấy, trong trường hợp nhiễm ít thì xác suất gặp được trứng là thấp hơn.

Phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch nước muối NaCl bão hòa (SG: 1,18) không ứng dụng để xét nghiệm đối với toàn bộ số lượng mẫu kiểm tra, mà chỉ lựa chọn các mẫu đã dương tính với các phương pháp trên để thực hiện (số liệu không đưa ra). Tuy nhiên, kết quả cũng cho thấy tần số phát hiện các mẫu dương tính với trứng giun đũa (*Toxocara canis* và *Toxascaris leonina*), trứng giun móc là tương đương với phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường và cao hơn phương pháp Formol-Ether. Tần số phát hiện trứng giun tóc (*Capillaria* sp. và *Trichuris vulpis*) thấp hơn không đáng kể so với phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường và vẫn cao hơn phương pháp Formol-Ether. Điều này được lý giải là khi so sánh tỷ trọng của trứng các loại giun tròn này với tỷ trọng của nước muối NaCl bão hòa. Tỷ trọng của nước muối NaCl bão hòa không cao hơn nhiều so với tỷ trọng của *T. vulpis* (1,18 so với 1,1453). Sở dĩ phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường cho hiệu quả cao hơn khi sử dụng dung dịch nước muối NaCl bão hòa là vì: tỷ trọng của dung dịch đường cao hơn (1,27 so với 1,18) và vì trong nghiên cứu này có kết hợp với thao tác ly tâm. Ly tâm chính là yếu tố quan trọng làm tăng hiệu quả của phương pháp (Dryden & cs., 2005; Zajac & cs., 2002).

Riêng trứng giun lươn thì thấy phương pháp Formol-Ether cho hiệu quả cao hơn. Giun lươn ký sinh ở chó bao gồm *Strongyloides stercoralis* và *S. canis*, trong đó *S. stercoralis* thải ấu trùng ra phân, *S. canis* thải trứng, nhưng trong trứng đã hình thành ấu trùng. Vì vậy, tỷ trọng của trứng thường lớn, khó nổi lên trong các dung dịch đường hoặc muối.

Từ kết quả nghiên cứu ở trên có thể thấy phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường cho hiệu quả cao nhất trong việc xác định trứng giun tròn, đặc biệt với trứng của giun tóc (*Capillaria* spp.); đối với trứng giun đũa (*T. canis*, *T. leonina*), giun móc có thể dùng phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch NaCl bão hòa, tùy thuộc vào điều kiện nghiên cứu.

3.3.2. Kết quả phát hiện trứng sán dây bằng các phương pháp xét nghiệm

Kết quả xét nghiệm xác định trứng sán dây cho kết quả ngược lại, phương pháp Formol-Ether cho hiệu quả cao hơn phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường và phù nổi sử dụng nước muối NaCl bão hòa (Bảng 5). Kết quả này rất rõ khi xác định trứng sán hạt dưa *Dipylidium caninum* và trứng sán dây hai rãnh *Diphyllobothrium latum*. Trứng sán dây có đặc điểm là nhanh hình thành ấu trùng oncosphere trong trứng nên mặc dù kích nhỏ nhưng tỷ trọng thường cao hơn so với trứng giun tròn (trứng *Taenia* có tỷ trọng 1,2251) (David & cs., 2005).

Đối với các phương pháp phù nổi thì yếu tố thời gian chờ để trứng nổi rất quan trọng. Riêng các phương pháp có kết hợp với thao tác ly tâm thì thời gian ly tâm cũng là yếu tố ảnh hưởng đến kết quả của thí nghiệm. Trong nghiên cứu này, dung dịch mẫu được ly tâm trong 10 phút và đợi trứng nổi trong 15 phút, đây là khoảng thời gian đủ để đánh giá kết quả các xét nghiệm (Dryden & cs., 2005).

Bảng 4. Tần số phát hiện trứng giun tròn bằng các phương pháp xét nghiệm (n = 270)

Thành phần ký sinh trùng ký sinh	Phương pháp tập trung trứng Formol-Ether		Phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường (SG: 1,27)	
	Tần số phát hiện	Tỷ lệ (%)	Tần số phát hiện	Tỷ lệ (%)
Giun đũa (<i>Toxocara canis</i>)	79 ^a	29,26	84 ^a	31,11
Giun đũa (<i>Toxascaris leonina</i>)	0 ^a	0,00	3 ^a	1,11
Giun móc (Hookworm)	106 ^a	39,26	148 ^b	54,81
Giun tóc (<i>Capillaria</i> sp.)	8 ^a	2,96	22 ^b	8,14
Giun tóc (<i>Trichuris vulpis</i>)	10 ^a	3,70	18 ^a	6,67
Giun lươn (<i>Strongyloides canis</i>)	10 ^a	3,70	6 ^a	2,22

Ghi chú: Trong cùng một hàng, các giá trị trung bình mang các chữ khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Bảng 5. Tần số phát hiện trứng sán dây bằng các phương pháp xét nghiệm (n = 270)

Thành phần ký sinh trùng ký sinh	Phương pháp Formol-Ether		Phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường (SG: 1.27)	
	Tần số phát hiện	Tỷ lệ (%)	Tần số phát hiện	Tỷ lệ (%)
Sán hạt dưa (<i>Dipylidium</i> sp.)	5 ^a	1,85	2 ^a	0,74
Sán dây hai rãnh (<i>Dipyllobothrium</i> sp.)	17 ^a	6,30	4 ^b	1,48
Sán dây hai rãnh (<i>Spirometra</i> sp.)	1 ^a	0,37	0 ^a	0,00
Sán dây họ Taeniid	1 ^a	0,37	0 ^a	0,00

Ghi chú: Trong cùng một hàng, các giá trị trung bình mang các chữ khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Bảng 6. Tần số phát hiện noãn nang cầu trùng bằng các phương pháp xét nghiệm

Thành phần ký sinh trùng	Phương pháp tập trung trứng Formol-Ether		Phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường (SG: 1,27)	
	Tần số phát hiện	Tỷ lệ (%)	Tần số phát hiện	Tỷ lệ (%)
<i>Cystoisospora</i> spp.	0 ^a	0,00	18 ^b	6,67

Ghi chú: Trong cùng một hàng, các giá trị trung bình mang các chữ khác nhau thì sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Mặc dù phương pháp sa lắng sử dụng Formol-Ether cho hiệu quả cao hơn các phương pháp phù nổi, nhưng nhược điểm của phương pháp này là có sử dụng formaline 10% để cố định mầm bệnh. Vì vậy, đối với các trường hợp không định được loài giun sán dựa vào hình thái của trứng, mà phải sử dụng các kỹ thuật phân tử để xác định như phân tích ADN từ trứng thì không nên ứng dụng được phương pháp này.

3.3.3. Kết quả phát hiện noãn nang cầu trùng bằng các phương pháp xét nghiệm

Cuối cùng, kết quả so sánh tần số xác định noãn nang cầu trùng bằng ba kỹ thuật này. Kết quả chỉ ra rằng, phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường cho hiệu quả cao hơn hẳn, tiếp đến là phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch muối NaCl bão hòa. Chúng tôi không phát hiện được noãn nang của cầu trùng bằng phương pháp sa lắng sử dụng Formol-Ether. Như đã đề cập ở trên, sản phẩm thu được sau khi xét nghiệm mẫu bằng phương pháp Formol-Ether là phần cặn đã qua lọc. Tuy nhiên, so với các phương pháp phù nổi thì vẫn còn rất nhiều các cặn, mảnh rác lẫn vào mẫu. Kích thước của noãn nang cầu trùng lại rất nhỏ so với trứng giun sán. Vì vậy, việc xác định noãn nang cầu trùng nói riêng và noãn

nang đơn bào nói chung không nên thực hiện bằng phương pháp Formol-Ether.

Kết quả đánh giá cường độ nhiễm cho thấy: phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường có thể xác định được cường độ nhiễm cao hơn phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch nước muối NaCl bão hòa, đặc biệt là với mẫu có cường độ nhiễm thấp. Kết quả này tương tự khi xét nghiệm trứng của giun tròn và noãn nang cầu trùng (số liệu chưa công bố).

4. KẾT LUẬN

Phương pháp xét nghiệm sử dụng dung dịch đường có tỷ trọng 1,27 cho hiệu quả cao nhất trong việc xác định trứng của giun tròn và noãn nang cầu trùng. Phương pháp tập trung trứng Formol-Ether cho hiệu quả cao hơn hai phương pháp còn lại trong việc xác định trứng của các loại sán dây, đặc biệt có thể xác định được trứng của sán lá và trứng giun tròn có chứa ấu trùng. Tuy nhiên, không thể ứng dụng phương pháp này trong trường hợp xác định sự có mặt của noãn nang đơn bào. Phương pháp phù nổi sử dụng nước muối bão hòa NaCl (SG: 1,18) tuy có hiệu quả không cao bằng phương pháp phù nổi sử dụng dung dịch đường (SG: 1,27) trong việc

xác định trứng của giun tròn và noãn nang đơn bào, nhưng lại đơn giản và ít chi phí hơn. Vì vậy, tùy thuộc vào các mục tiêu nghiên cứu cụ thể mà các nhà nghiên cứu có thể lựa chọn các phương pháp thích hợp nhằm mang lại kết quả cao nhất.

Ứng dụng các kỹ thuật xét nghiệm trên mẫu phân chó cho thấy: chó nhiễm ký sinh trùng với tỷ lệ cao (75,18%) và đa dạng về thành phần giống loài ký sinh. Nghiên cứu đã xác định được 12 loại mầm bệnh ký sinh trùng, trong đó có một loại sán lá ruột (Heterophyids), 6 loại giun tròn (*Toxocara canis*, *Toxascaris leonina*, *Capillaria* sp., *Trichuris vulpis*, giun móc, *Strongyloides canis*), 4 loại sán dây (*Dipylidium caninum*, *Dipyllobothrium latum*, *Spirometra* sp., *Taenia* sp.) và cầu trùng (*Cystoisospora* spp.). Trong số các loại giun tròn ký sinh thì giun móc chiếm tỷ lệ cao nhất (54,81%), tiếp đến là giun đũa *Toxocara canis* (31,11%). Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin hữu ích cho công tác nghiên cứu, phòng và chống các bệnh do ký sinh trùng trên chó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bùi Khánh Linh, Nguyễn Văn Thọ, Nguyễn Thị Hoàng Yên, Dương Đức Hiếu, Lê Thị Lan Anh, Nguyễn Văn Tú, Công Hà My & Nariaki Nonaka (2018). Đánh giá thực trạng nhiễm một số loại giun tròn truyền lây từ chó sang người. Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng. 2(104): 34-39.
- Bùi Khánh Linh, Dương Đức Hiếu, Nguyễn Thị Hoàng Yên, Bùi Trần Anh Đào, Nguyễn Việt Linh & Lê Thị Lan Anh (2018). Khảo sát sự lưu hành giun móc (*Ancylostoma* spp.) truyền lây sang người trên chó nuôi ở Hà Nội và Phú Thọ, và một số đặc điểm bệnh lý của chó mắc bệnh. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y. 25(8).
- David E.D. & Lindquist W.D. (1982). Determination of the specific gravity of certain helminth eggs using sucrose density gradient centrifugation. Journal of Parasitology. 68(5): 916-919.
- Dryden M.W., Payne P.A., Ridley R. & Smith V. (2005). Comparison of common fecal floatation techniques for the recovery of parasite eggs and oocysts. Veterinary Therapeutics. 6(1): 15-28.
- Foreyt W.J. (2013). Veterinary Parasitology Reference Manual. New York, Wiley & Sons.
- Little S.E., Johnson E.M., Lewis D., Jaklitsch R.P., Payton M.E., Blagburn B.L., Bowman D.D., Moroff S., Tăm T., Rich L. & Aucoin D. (2009). Prevalence of intestinal parasites in pet dogs in the United States. Veterinary Parasitology. 166: 144-152.
- Moudgil A.D., Mitra S., Agnihotri R.K., Sharma D. & Sen D. (2016). Prevalence of gastrointestinal parasites in dogs of Palampur, Himachal Pradesh. Journal of Parasitic Diseases. 40(2): 227-229.
- Nguyễn Phi Bằng, Nguyễn Hữu Hưng, Nguyễn Thị Bảo Trân và Nguyễn Thị Chúc (2016). Tình hình nhiễm giun sán đường tiêu hóa ở chó và mối tương quan giữa yếu tố nguy cơ lây nhiễm sang người tại TP. Long Xuyên, tỉnh An Giang. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật thú y. 23(4): 44-52.
- N. Thi Lan Anh, D. Thi Thu Thuy, D. Huu Hoan, N. Thi Hop & D. Trung Dung (2016). Levels of *Toxocara* infections in dogs and cats urban Vietnam together with associated risk for transmission. J Helminthology. 90: 508-510.
- Rojekittikhun W., Chaisiri K., Mahittikorn A., Pubampen S., Sa-nguankiat A., Kusolsuk T., Maipanich W., Udonsom R. & Mori H. (2014). Gastrointestinal parasites of dogs and cats in a refuge in Nakhon Nayok, Thailand. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health. 45(1): 31-39.
- Suzuki N. (1981). Examination technics for helminth eggs. In: Color atlas of human helminth eggs. 3rd ed. Tokyo: JAPC & JOICEP.
- Võ Thị Hải Lê & Nguyễn Văn Thọ (2011). Tình hình nhiễm giun tròn đường tiêu hóa của chó tại một số địa phương tỉnh Thanh Hóa. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật thú y. 28 (6): 66-71.
- Zajac A. (2002). Evaluation of the Importance of Centrifugation as a Component of Zinc Sulfate Fecal Flotation Examinations. Journal of The American Animal Hospital Association. 38: 221-224.