

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI HỌC PHÂN BIỆT LOÀI GIUN MỐC *ANCYLOSTOMA CEYLANICUM* LƯU HÀNH TRÊN CHÓ TẠI HÀ NỘI QUAN SÁT DƯỚI KÍNH HIỂN VI ĐIỆN TỬ QUÉT

Dương Đức Hiếu¹, Bùi Khánh Linh¹, Nguyễn Việt Linh¹,
Vương Tuấn Phong¹, Lê Thị Lan Anh¹, Võ Văn Hải³, Sử Thanh Long¹

TÓM TẮT

Sự lưu hành loài giun móc chó *Ancylostoma ceylanicum* truyền lây nguy hiểm tại miền Bắc Việt Nam đã được khẳng định dựa trên kết quả phân tích đặc điểm phân tử phân đoạn gen ty thể CO1 (Dương Đức Hiếu và cs, 2016). Trong nghiên cứu này, một số đặc điểm hình thái phân biệt loài giun móc *A. ceylanicum* ký sinh ở chó tại Hà Nội, quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét cũng đã được mô tả. Cụ thể là loài *A. ceylanicum* có kích thước nhỏ hơn so với loài *A. caninum*, dao động $7,38 \pm 1,44 \times 0,35 \pm 0,03$ mm. Đặc biệt, khoang miệng của loài *A. ceylanicum* có 2 đôi răng sắc nhọn. Phần đuôi của con đực có tia bên trước phát sinh cùng một gốc với tia bên giữa và tia bên sau, tia bên giữa và tia bên sau gần như song song với nhau mà không xòe rộng. Đây chính là những đặc điểm hình thái nổi bật giúp phân biệt loài *A. ceylanicum* và *A. caninum*, 2 loài giun móc chó truyền lây phổ biến tại khu vực Hà Nội. Bên cạnh đó, đánh giá tình hình nhiễm giun móc ở chó nuôi trên địa bàn Hà Nội qua xét nghiệm mẫu phân cho thấy tỷ lệ nhiễm cao chiếm 41,67%, cảnh báo nguy cơ lây nhiễm loài giun này trong cộng đồng tại địa bàn Hà Nội.

Từ khóa: Chó, *Ancylostoma ceylanicum*, Đặc điểm hình thái, Kính hiển vi điện tử quét

Distinct morphological characteristics of zoonotic canine hookworm *Ancylostoma ceylanicum* circulating in dog in Ha Noi city area observed under scanning electron microscope

Duong Duc Hieu, Bui Khanh Linh, Nguyen Viet Linh,
Vuong Tuan Phong, Le Thi Lan Anh, Vo Van Hai, Su Thanh Long

SUMMARY

The prevalence of zoonotic canine hookworm (*Ancylostoma ceylanicum*) in the Northern provinces, Viet Nam was confirmed basing on the result of CO1 mitochondrial gene segment sequence analysis (Duong Duc Hieu et al, 2016). In this study, some distinct morphological characteristics for *A. ceylanicum* parasiting in dog in Ha Noi city were also described by using SEM (scanning electron microscope). In detail, the size of *A. ceylanicum* species was generally smaller than that of *A. caninum* species and ranging $7.38 \pm 1.44 \times 0.35 \pm 0.03$ mm. Especially, the buccal cavity of *A. ceylanicum* species had two sharp pairs of teeth. In the male tail of *A. ceylanicum* species having the externolateral ray incurved at the same base of the mediolateral and posteriolateral rays which were nearly paralleled with each other. That was the distinct morphological characteristics for identifying the *A. ceylanicum* and *A. caninum* species - the 2 common hookworm species were normally transmitted in dog in Ha Noi city. Besides, result of testing the dog feces indicated that the prevalence of canine hookworm infection in raising dog in Ha Noi city was very high, with 41.67% warning that the high risk of canine hookworm transmission to human in this area.

Keywords: Dog, *Ancylostoma ceylanicum*, Morphological characteristics, SEM

¹ Khoa Thú y - Học viện Nông Nghiệp Việt Nam

² Viện nghiên cứu Bảo tồn Đa dạng sinh học và Bệnh nhiệt đới

³ Phòng khám Thú y Hà Nội

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo đánh giá của Traub RJ (2008), giun móc chó đang được coi là một vấn đề nóng tại các quốc gia Đông Nam Á khi mà tỷ lệ nhiễm bệnh dao động từ 70% đến 100% và được đánh giá là mối nguy hại cho sức khỏe vật nuôi và con người. Đặc biệt, *Ancylostoma ceylanicum* là loài giun móc ký sinh trong đường tiêu hóa của chó có khả năng truyền lây và phát triển thành dạng trưởng thành trong cơ thể người (Anten và Zuidema, 1964). Các nghiên cứu của Nguyễn Hồ Bảo Trân (2015), Dinh-Ng Nguyen (2015), Dương Đức Hiếu (2016) đã khẳng định sự lưu hành của loài giun móc chó *Ancylostoma ceylanicum* tại miền Nam, miền Trung và miền Bắc Việt Nam dưới cấp độ sinh học phân tử. Về đặc điểm hình thái học, do có nhiều sự tương đồng giữa loài giun móc *A. ceylanicum* với các loài giun móc chó khác nên dễ gây nhầm lẫn trong việc định loại. Trong nghiên cứu này, ngoài cập nhật một số thông tin dịch tễ đánh giá tình hình căn bệnh truyền lây tại khu vực Hà Nội, chúng tôi tập trung mô tả một số đặc điểm hình thái học nổi bật của loài *A. ceylanicum* quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét giúp cho việc chẩn đoán phân biệt.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

- 384 mẫu phân chó được thu thập từ các hộ gia đình trên địa bàn 4 quận/huyện thuộc Hà Nội, bao gồm: Tây Hồ, Gia Lâm, Đông Anh, Thanh Trì từ tháng 2/2015 đến tháng 9/2015. Mẫu ruột chó thu được tại khu vực Hà Nội được tiến hành

mổ khám thu thập mẫu giun móc trưởng thành.

- Kính hiển vi điện tử quét S-4800 (Hitachi).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Mẫu phân chó được thu thập theo phương pháp lấy mẫu ngẫu nhiên đơn giản, chuyển về phòng thí nghiệm Ký sinh trùng - Bộ môn Ký sinh trùng, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và tiến hành xét nghiệm mẫu ngay trong ngày lấy mẫu.

Xét nghiệm phân tìm trứng giun bằng phương pháp Fülleborn, định loại trứng giun tròn theo khóa định loại của Mönning (Trịnh Văn Thịnh, 1963).

Xác định cường độ nhiễm trùng các loài giun tròn ở chó qua số lượng trứng/g phân chó theo phương pháp Mc.Master (Zajac và cs, 2012).

Phương pháp mổ khám toàn diện cơ quan tiêu hóa theo Skrjabin (1963).

Phương pháp định loại hình thái theo mô tả của Yoshida Y và Arizono N (2006).

Phương pháp nghiên cứu hình thái học sử dụng kính hiển vi điện tử quét S-4800 (Hitachi) tại Phòng chụp hình điện tử & Siêu cấu trúc - Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình nhiễm giun tròn đường tiêu hóa ở chó nuôi tại Hà Nội

Qua xét nghiệm 384 mẫu phân chó thu tại các huyện Đông Anh, Thanh Trì, Gia Lâm và quận Tây Hồ, kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm các loài giun tròn đường tiêu hóa phát hiện qua xét nghiệm phân

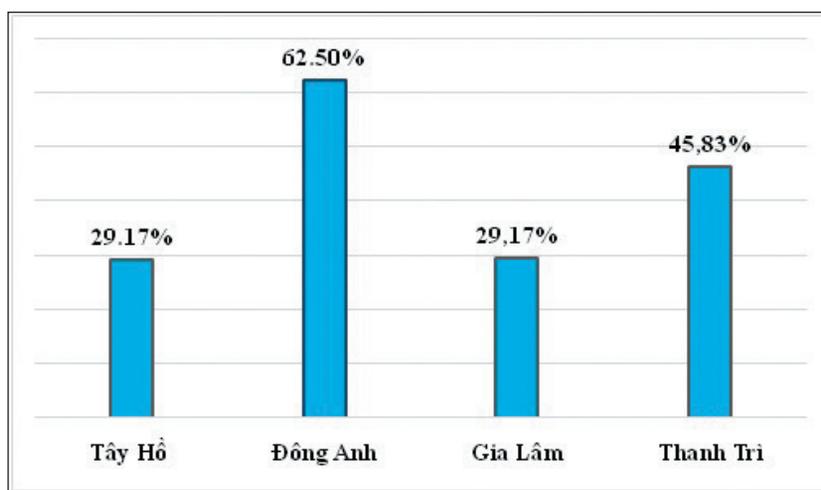
Loài giun tròn	Số mẫu kiểm tra	Số mẫu nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm (trứng/g phân)
<i>Ancylostoma</i> sp.	384	160	41,67	50 – 46400
<i>Toxocara</i> sp.		66	17,19	50 – 22950
<i>Trichuris</i> sp.		6	1,56	50 – 1300

Qua kết quả bảng 1 đã xác định chó nuôi tại các khu vực này nhiễm chủ yếu 3 loài giun tròn đường tiêu hóa, bao gồm giun móc *Ancylostoma* sp., giun đũa *Toxocara* sp. và giun tóc *Trichuris* sp. Tỷ lệ nhiễm giun móc *Ancylostoma* sp. là 41,67%; giun đũa *Toxocara* sp. là 17,19%; và giun tóc *Trichuris* sp. là 1,56%. Đặc biệt, cường độ nhiễm trứng giun móc rất cao, dao động từ 50 đến 46400 trứng/gram phân. Tương tự như những nghiên cứu trước đây về tỷ lệ nhiễm giun tròn đường tiêu hóa ở chó tại Hà Nội của Hoàng Minh Đức (2008) và Nguyễn Quốc Doanh (2011), kết quả xét nghiệm của chúng tôi cho thấy tỷ lệ nhiễm giun tròn đường tiêu hóa ở chó, đặc biệt là giun móc chó tại Hà Nội là rất cao. Do khu vực nghiên cứu nằm trong miền khí hậu nhiệt đới nóng ẩm thuận lợi

cho sự phát triển của trứng và ấu trùng giun móc chó và phương thức chăn nuôi bán chăn thả đối với các loài chó nội là nguyên nhân làm cho mầm bệnh phát tán rộng rãi ra môi trường ngoại cảnh. Mặt khác, các loài giun tròn ký sinh ở đường tiêu hoá chó đều có vòng đời trực tiếp không thông qua vật chủ trung gian, con đường lây nhiễm đa dạng theo nhiều cách (qua đường tiêu hoá, qua da và qua ký chủ dự trữ), làm cho khả năng mầm bệnh xâm nhập vào cơ thể vật nuôi tăng cao.

3.2. Tình hình nhiễm giun móc *Ancylostoma* ở chó tại một số khu vực thuộc Hà Nội

Tỷ lệ nhiễm giun móc ở chó nuôi tại 4 địa điểm nghiên cứu thuộc Hà Nội được thể hiện cụ thể ở biểu đồ 1.



Biểu đồ 1. Tỷ lệ nhiễm giun móc chó *Ancylostoma* sp. tại một số địa điểm thuộc Hà Nội

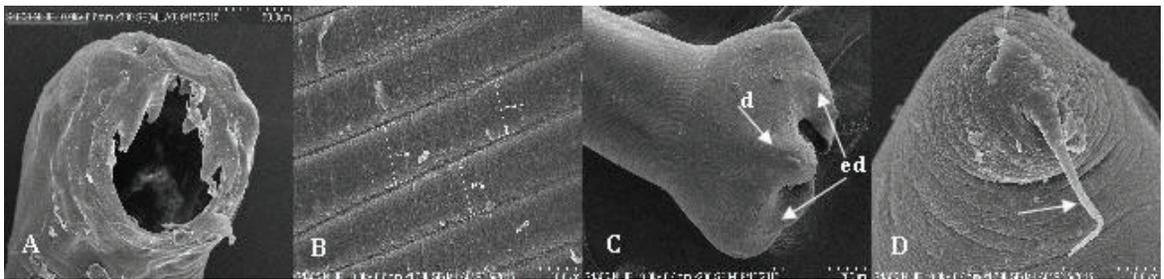
Qua biểu đồ trên, nhận thấy tỷ lệ nhiễm giun móc *Ancylostoma* sp. tại huyện Đông Anh cao nhất, lên tới hơn 62%, tiếp theo là huyện Thanh Trì 45,83%, thấp nhất ở quận Tây Hồ và Gia Lâm với 29,17%. Tỷ lệ nhiễm giun móc tại huyện Đông Anh và Thanh Trì cao, do đây là khu vực ngoại thành, người dân nuôi chó theo phương thức bán thả rông nên chó có khả năng tiếp xúc cao với mầm bệnh ngoài môi trường,; thêm vào

đó nhận thức của người dân về các bệnh giun sán ở chó còn thấp nên không quan tâm đến việc tẩy giun định kỳ cho chó nuôi. Tại Tây Hồ, tỷ lệ nhiễm thấp nhất do chó ở đây chủ yếu được người dân nuôi nhốt trong nhà nên khả năng tiếp xúc với mầm bệnh ngoài môi trường là thấp hơn. Hơn nữa, chó nuôi tại khu vực này chủ yếu với mục đích làm cảnh, do vậy được quan tâm chăm sóc tốt về mặt thú y.

3.3. Một số đặc điểm hình thái của loài giun móc chó *Ancylostoma ceylanicum* thu tại Hà Nội quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét

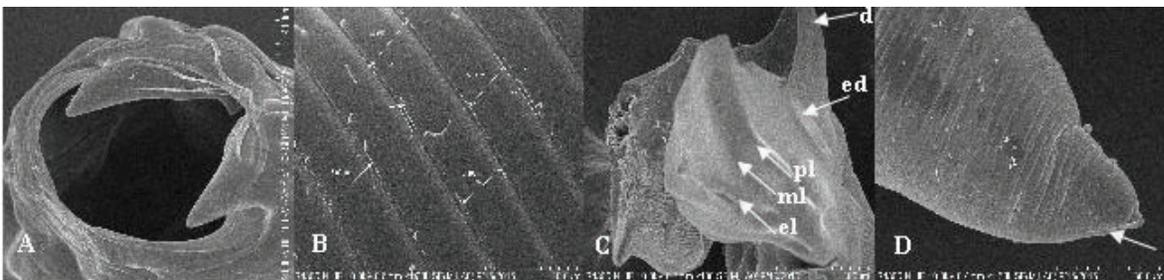
Sau khi mổ khám mẫu ruột chó thu được tại khu vực Hà Nội, 2646 giun móc chó trưởng thành được thu thập và bảo quản. Sau khi định loại toàn bộ mẫu giun trưởng thành dựa trên đặc điểm hình thái học, 2 loài giun móc lưu hành tại khu vực Hà Nội được xác định là *Ancylostoma caninum* và *Ancylostoma ceylanicum*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chủ yếu tập trung mô tả các đặc điểm hình thái nổi bật dưới kính hiển vi điện tử quét của loài *A. ceylanicum* được thu thập tại khu vực này nhằm mục đích phân biệt với loài giun móc phổ biến khác ký sinh ở chó - *A. caninum*.

Loài *A. ceylanicum* trưởng thành có màu trắng ngà, phần đầu hơi cong về phía mặt bụng. Hoàn toàn khác biệt với các loài giun móc chó phổ biến khác lưu hành tại Việt Nam, khoang miệng của loài *A. ceylanicum* mở rộng và có 2 đôi răng nhọn, sắc (hình 2). Trong khi đó, khoang miệng của loài *A. caninum* gồm 3 đôi răng nhọn (hình 1A). Chiều rộng các đường vân trên cơ thể *A. ceylanicum* dao động từ 4,7 µm đến 5,1 µm (hình 2B). Cấu tạo túi đuôi của *A. ceylanicum* rất khác biệt khi tia bên trước phát sinh cùng một gốc với tia bên giữa và tia bên sau, tia bên giữa và tia bên sau gần như song song với nhau mà không xòe rộng (Hình 2C). Phần đuôi của con cái ở cả 2 loài đều có phân gai đuôi nhọn, dài (hình 1D và 2D).



Hình 1. Hình ảnh *A. caninum* dưới kính hiển vi điện tử quét

(A) Khoang miệng với 3 đôi răng sắc nhọn (600x); (B) Khoảng cách giữa các đường vân ngang bề mặt cơ thể (4000x); (C) Đuôi của con đực *A. caninum* với tia lưng giữa (d) và tia lưng bên (ed) (200x); (D) Hình ảnh đuôi của con cái *A. caninum* với phân gai đuôi dài (4000x)



Hình 2. Hình ảnh *A. ceylanicum* dưới kính hiển vi điện tử quét

(A) Khoang miệng của *A. caninum* có 2 đôi răng nhọn sắc (1300x); (B) Khoảng cách giữa các vân ngang bề mặt cơ thể (4000x); (C) Hình ảnh đuôi của con đực *A. ceylanicum* với tia lưng giữa (d), tia lưng bên (ed), tia bên trước (el), tia bên giữa (ml) và tia bên sau (pl) (400x); (D) Hình ảnh đuôi của con cái *A. ceylanicum*-like (giống *A. ceylanicum*) với gai đuôi dài (1500x)

Bên cạnh đó, trong nghiên cứu này, 9 chỉ tiêu hình thể được xác định và so sánh giữa 2 loài *A. caninum* và *A. ceylanicum*.

Kết quả phân tích kích thước các mẫu giun móc chó *Ancylostoma* spp. được thể hiện ở bảng 3.

Bảng 3. Kích thước một số chỉ tiêu hình thể của hai loài giun móc chó *A. caninum* và *A. ceylanicum* (đơn vị: mm)

Kích thước	<i>A. caninum</i> ♂ (n = 15)	<i>A. caninum</i> ♀ (n = 15)	<i>A. ceylanicum</i> ♂ (n = 15)
Chiều dài	9,59 ± 2,25	12,08 ± 2,85	7,38 ± 1,44
Chiều rộng	0,46 ± 0,04	0,63 ± 0,04	0,35 ± 0,03
Chiều dài thực quản	0,86 ± 0,07	1,02 ± 0,13	0,72 ± 0,09
Khoảng cách từ đỉnh đầu tới cuối thực quản	1,05 ± 0,08	1,24 ± 0,14	0,87 ± 0,09
Khoảng cách từ hậu môn đến cuối đuôi	0,41 ± 0,08	0,19 ± 0,05	0,33 ± 0,04
Chiều rộng thân đoạn qua hậu môn	0,46 ± 0,08	0,16 ± 0,02	0,29 ± 0,04
Khoảng cách từ lỗ sinh dục đến buồng trứng trước	-	5,33 ± 1,29	-
Khoảng cách từ lỗ sinh dục đến buồng trứng sau	-	4,03 ± 1,07	-
Chiều dài gai giao cấu	0,83 ± 0,09	-	0,85 ± 0,17

Chiều dài và chiều rộng giun móc chó loài *A. ceylanicum* nhỏ hơn so với loài *A. caninum* với kích thước dao động $7,38 \pm 1,44 \times 0,35 \pm 0,03$ mm. Chiều dài thực quản, khoảng cách từ đỉnh đầu đến điểm cuối thực quản và khoảng cách từ hậu môn đến cuối đuôi của *A. ceylanicum* lần lượt là $0,72 \pm 0,09$ mm; $0,87 \pm 0,09$ mm; $0,33 \pm 0,04$ mm. Trên bề mặt cơ thể *A. ceylanicum* có các vân ngang có kích thước dao động khoảng $5,03 - 6,09$ μ m, lớn hơn các vân ngang trên cơ thể của *A. caninum* (kích thước khoảng $4,74 - 5,09$ μ m). Trong tổng số 2646 mẫu giun móc trưởng thành được quan sát định loài, chúng tôi không ghi nhận sự có mặt của loài *A. braziliense* giống đực. Do sự giống nhau về đặc điểm hình thái so với loài *A. braziliense* giống cái nên việc xác định loài giun móc *A. ceylanicum* giống cái chưa được đề cập trong nghiên cứu này. Sự tồn tại và lưu hành của loài *A. braziliense* tại khu vực nghiên cứu cần được khẳng định dựa trên cơ sở nghiên cứu phân tích đặc điểm phân tử ADN.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả xét nghiệm 384 mẫu phân chó tại khu vực Hà Nội cho thấy chó nhiễm một số loại giun tròn như giun dũa, giun tóc và đặc biệt là giun móc, tỷ lệ nhiễm rất cao (41,67%). Trong số 4 địa điểm nghiên cứu, khu vực Đông Anh có tỷ lệ nhiễm giun móc ở chó là cao nhất, lên tới 62,5%.

Quan sát hình ảnh loài giun móc *Ancylostoma ceylanicum* ký sinh đường tiêu hóa ở chó tại Hà Nội cho thấy kích thước cơ thể giun móc chó loài *A. ceylanicum* nhỏ hơn so với loài *A. caninum*. *A. ceylanicum* có 2 đôi răng sắc nhọn trong xoang miệng. Cấu tạo túi đuôi của *A. ceylanicum* rất khác biệt khi tia bên trước phát sinh cùng một gốc với tia bên giữa và tia bên sau. Tia bên giữa và tia bên sau gần như song song với nhau mà không xòe rộng. Số lượng răng trong xoang miệng và hướng của các tia đuôi của con đực là những đặc điểm phân biệt loài giữa *A. ceylanicum* với *A. caninum*.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tiến hành từ sự hỗ trợ của Viện nghiên cứu Bảo tồn Đa dạng sinh học và Bệnh nhiệt đới (BioD).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anten JF, Zuidema PJ: Hookworm infection in Dutch servicemen returning from West New Guinea. *Trop Geogr Med* 1964, 64(756):216–224.
2. S.M. Carroll, T.A. Robertson, J.M. Papadimitriou, and D.I. Grove (1985) “Scanning electron microscopy of *Ancylostoma ceylanicum* and its site of attachment to the small intestinal mucosa of the dog”. *Zeitschrift fur Parasitenkd* 71:79-85.
3. Dinh Ng-Nguyen, Sze Fui Hii, Van-Anh T Nguyen, Trong Van Nguyen, Dien Van Nguyen and Rebecca J Traub. “Re-evaluation of the species of hookworms infecting dogs in Central Vietnam”. *Parasites & Vectors* 2015, 8:401 doi:10.1186/s13071-015-1015-y.
4. Nguyễn Quốc Doanh và cs. Tình hình nhiễm giun ở đàn chó nuôi tại Hà Nội (2012) *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y* 19(4):30-34.2011
5. Hoàng Minh Đức (2008). Nghiên cứu tình hình nhiễm giun tròn đường tiêu hóa của chó nuôi ở Hà Nội và biện pháp phòng trị. Luận văn Thạc sỹ Nông nghiệp, Đại học Thái Nguyên
6. Dương Đức Hiếu, Bùi Khánh Linh, Sử Thanh Long, 2014. Bước đầu nghiên cứu tình hình nhiễm giun tròn đường tiêu hóa của chó tại xã Sơn Nga, huyện Cẩm Khê, tỉnh Phú Thọ. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, 21(8): 31-36.
7. Dương Đức Hiếu, Nguyễn Văn Thọ, Đỗ Quang An, Bùi Khánh Linh, Nguyễn Việt Linh, Trần Lê Thu Hằng, Phạm Ngọc Doanh, 2016. Khảo định sự lưu hành của loài giun móc chó truyền lây *Ancylostoma ceylanicum* tại miền Bắc Việt Nam trên cơ sở đặc điểm hình thái học và phân tích phân tử đoạn gen ty thể (CO1). *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, tập XXIII, số 4/2016
8. Lê Hữu Khương, Lương Văn Huân (1998), “Giun móc ký sinh trên đàn chó ở thành phố Hồ Chí Minh”, *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, tập V, số 2, 69-74
9. Võ Thị Hải Lê, Nguyễn Văn Thọ. 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*, Tập XVIII, số 6, 2011.
10. Mohammed AK Mahdy, Yvonne AL Lim, -Romano Ngui, MR Siti Fatimah, Seow H Choy, Nan J Yap, Hesham M Al-Mekhlafi, Jamaiah Ibrahim and Johari Surin. Prevalence and zoonotic potential of canine hookworms in Malaysia. *Parasites & Vectors* 2012 5:88.
11. Nguyễn Hồ Bảo Trân, Lữ Ngọc Thảo, Nguyễn Hữu Hưng (2015). Bước đầu ứng dụng kỹ thuật PCR-RFPL trong định danh loài giun móc ký sinh trên chó. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, tập XXII, số 4.