

Nâng cao - tham khảo

CÁC PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN BỆNH SÁN DÂY CHÓ, MÈO

Nguyễn Phi Bằng^{1*}, Nguyễn Hữu Hưng², Nguyễn Hồ Bảo Trân²

*Tác giả liên hệ email: npbang@agu.edu.vn

TÓM TẮT

Bệnh sán dây trên thú cưng do sán dây gây ra được nhiều nghiên cứu cho thấy là căn bệnh phổ biến, có vai trò và tác hại nghiêm trọng đến sức khỏe thú cưng. Bệnh thường diễn tiến âm thầm, dai dẳng dễ dẫn đến lơ là mất cảnh giác hay chẩn đoán nhầm lẫn với các bệnh khác, bệnh còn là yếu tố mở đường cho những bệnh truyền nhiễm, nội khoa hay bệnh suy dinh dưỡng trên thú cưng. Trong đó, có nhiều loài sán dây có sự truyền lây bệnh sang cho con người. Ở nước ta, các loài sán dây ký sinh trên chó mèo thường gặp như *Dipylidium caninum*, *Spirometra masoni*, *Taenia hydatigena*, *Taenia pisiformis*, *Diphylllobothrium latum*, *Echinococcus granulosus*, *Multiceps multiceps*, *Mesocostoides lineatus* được tìm thấy trong hệ tiêu hóa chó, mèo [15, 17, 24]. Mỗi loài sán dây có vòng đời và phương thức lây truyền rất đặc trưng nên việc chẩn đoán chính xác không những mang lại lợi ích cho sức khỏe đàn thú cưng mà còn hạn chế lâu dài sự lưu hành bệnh sán dây trên chó, mèo và ngăn chặn sự truyền lây bệnh này sang người, góp phần bảo vệ sức khỏe cộng đồng [23, 13]. Đây là một bài viết tổng quan về các phương pháp để chẩn đoán bệnh sán dây trên thú cưng từ lý thuyết đến thực tiễn, bài viết bắt đầu từ việc phân tích các lợi thế và nhược điểm của từng phương pháp và các trường hợp cụ thể trong việc ứng dụng các phương pháp chẩn đoán bệnh sán dây, cũng như thảo luận thêm thông tin giúp người đọc lựa chọn và phân tích phương pháp phù hợp với nghiên cứu, ca bệnh. Từ đó, giúp cho việc chẩn đoán và điều trị bệnh này một cách hiệu quả, tiết kiệm và triệt để hơn.

Từ khóa: Sán dây, chó, mèo, phương pháp chẩn đoán, sức khỏe cộng đồng.

I. GIỚI THIỆU

Cùng với sự phát triển của đất nước ta, đời sống người dân ngày càng được nâng cao, nhu cầu nuôi chó ngày càng nhiều. Bên cạnh việc phát triển về số lượng chó nuôi thì bệnh tật ở chó cũng trở thành vấn đề không chỉ ảnh hưởng đến sức khỏe chó nuôi mà còn là mối đe dọa đến sức khỏe con người. Ngoài những bệnh truyền nhiễm gây thiệt hại nặng cho chó như bệnh dại, bệnh do *Leptospira*, bệnh Carré thì bệnh ký sinh trùng gây ra cũng không kém phần quan trọng. Những năm gần đây ở Việt Nam có nhiều báo cáo về bệnh trên người có nguồn gốc từ động vật

truyền sang chỉ riêng ở Bệnh viện 103 (Hà Nội) có đã phát hiện 344 ca nhiễm giun sán có nguồn gốc từ động vật; chiếm 14,45% số người nhiễm ký sinh trùng [11] và không ngoại trừ các bệnh từ chó truyền sang, trong đó trẻ em là đối tượng dễ nhiễm nhất do dễ phơi nhiễm và thói quen đưa tay vào miệng, trẻ nhiễm sán dây với biểu hiện biếng ăn, rối loạn tiêu hóa mạn tính, tiêu chảy và ngứa vùng hậu môn, những triệu chứng trên cũng rất dễ nhầm lẫn với các bệnh khác [1, 23]. Việc phòng ngừa hoặc tẩy trừ sán dây ở thú cưng bằng các loại thuốc, biệt được thực hiện sau khi vật nuôi được chẩn đoán là nhiễm bệnh. Nhiễm giun sán là một vấn đề hết sức phức tạp gồm nhiều

¹. Trường Đại học An Giang, Đại học Quốc gia TP. HCM

². Đại học Cần Thơ

yếu tố, vì thế những phương pháp kiểm tra chẩn đoán phải chính xác bao gồm dịch tễ học, sinh thái học của bệnh và kỳ vọng về hiệu quả kinh tế trong việc phòng trừ là rất cần thiết. Áp dụng hóa liệu pháp rất quan trọng và mục đích chính của biện pháp phòng ngừa và tẩy trừ là làm giảm hoặc loại bỏ giun sán một cách hoàn toàn trong cơ thể của vật chủ, đồng thời phải tiêu diệt mầm bệnh, ký chủ trung gian ở môi trường bên ngoài. Vì vậy, để thực hiện được những mục tiêu đó, yêu cầu người làm công tác thú y phải có một số kiến thức về các lĩnh vực có liên quan như dịch tễ học, bệnh học, sinh học, sinh thái môi trường, qui luật nhiễm ký sinh trùng cũng như tác hại của chúng gây ra cho cơ thể vật nuôi. Trước khi bắt đầu sử dụng thuốc tẩy trừ, người làm công tác thú y cần phải biết một số ưu và khuyết điểm của một số phương pháp chẩn đoán các loài giun sán trên ký chủ. Bên cạnh đó, các loại hóa dược được sử dụng trong phòng trị giun sán đang lưu hành trên thị trường, người sử dụng phải phân nhóm biệt dược, phổ hoạt lực, liều lượng, con đường cấp thuốc, kiểu tác động của thuốc đối với ký sinh trùng và biết các phản ứng phụ cho ký chủ nếu có. Bài viết nhằm tìm hiểu và bổ sung kiến thức về các phương pháp chẩn đoán để tìm ra sự hiện diện của các loài sán dây trên chó và các biện pháp kiểm soát bệnh sán dây ở trên chó, nhằm làm cơ sở cho việc xây dựng qui trình phòng trừ bệnh sán dây trên chó để giảm tỷ lệ bệnh cho loài thú cưng này và nguy cơ truyền lây sán dây sang người.

II. CÁC PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN SÁN DÂY TRÊN CHÓ VÀ CÁC ỨNG DỤNG

2.1. Phương pháp chẩn đoán sán dây trên chó, mèo

Sán dây ký sinh thuộc 5 bộ đó là *Pseudophyllidea*, *Cyclophyllidea*, *Monophyllidea*, *Dyphyllidea*, *Tetraphyllidea*. Trong đó, có 2 bộ có liên quan đến chẩn nuôi thú y là bộ *Pseudophyllidea*, *Cyclophyllidea* [8, 1].

2.1.1. Bộ *Pseudophyllidea*

Đốt đầu có 2 rãnh bám hoặc chỉ có một rãnh. Từ cung hình hoa chia nhiều nhánh, có lỗ từ cung cố định, lỗ này thông với ngoài trên mặt đốt sán.

Trứng có nắp đây, ký sinh ở người và gia súc. Sán đây *Diphyllbothrium latum*, *Diphyllbothrium mansonii* [8].

2.1.2. Bộ *Cyclophyllidea*

Đầu có 4 giác bám, không có lỗ từ cung, đốt sán chữa rụng theo phân ra ngoài. Trứng sán không có nắp. Trong bộ này có 5 họ liên quan đến vật nuôi: *Anoplocephalidae*, *Taeniidae*, *Davaineidae*, *Diepidilae*, *Hymenopodidae* [1, 8].

Chẩn đoán sán dây bao gồm nhiều phương pháp nhằm phát hiện các loài giun sán ký sinh ở vật nuôi. Chẩn đoán bệnh giun sán nói chung và sán dây nói riêng không chỉ dựa vào triệu chứng lâm sàng cũng như không chỉ dựa vào những dẫn liệu dịch tễ học mà còn phải tìm thấy căn bệnh của chúng như trứng, ấu trùng hoặc giun sán trưởng thành trên cơ thể sống cũng như ở súc vật chết hầu mang lại hiệu quả tốt trong chẩn đoán bệnh một cách chính xác giúp cho công tác phòng trừ có hiệu quả [7, 3].

2.2. Chẩn đoán giun sán khi con vật sống

2.2.1. Dựa vào dịch tễ học của bệnh sán dây

Mỗi loài sán dây ký sinh hay bệnh sán dây có những đặc điểm khác nhau như điều kiện tự nhiên (mùa vụ, thổ nhưỡng, độ cao, khu hệ thực vật, khu hệ động vật, nguồn dinh dưỡng), sự hoạt động của con người (tập quán chăn nuôi, sự di lại của con người và chuyên chở gia súc, hoạt động của con người), thức ăn, nước uống, những điều kiện cần thiết cho sự phát dục của giun sán (nhiệt độ, ẩm độ, kẻ thù thiên nhiên) và động thái của sán dây. Dựa vào các đặc điểm trên giúp ta có thể tiên lượng bệnh. Mặc dù chẩn đoán dịch tễ học không cho kết quả chính xác nhưng giúp bổ sung cho những phương pháp chẩn đoán sau này được chính xác hơn [3, 20].

Ưu và nhược của phương pháp

Chẩn đoán sán dây ký sinh ở chó, qua nghiên cứu về yếu tố dịch tễ học giúp người nghiên cứu thấy được những nguyên nhân phát sinh ra bệnh sán dây, con đường truyền lây, những quá trình phát triển của bệnh và dập tắt của bệnh.

Những điều kiện liên quan đến dịch tễ học của bệnh đã giúp cho người làm công tác nghiên cứu có thể nắm được:

Điều kiện tự nhiên trong vùng, yếu tố thổ nhưỡng, ảnh hưởng đến quá trình bệnh phát triển như độ cao, khu hệ thực vật, khu hệ động vật.

Sự hoạt động của con người như tập quán chăn nuôi, sự di lại của con người và súc vật có thể mang theo các loài sán.

Điều kiện dịch tễ học là yếu tố quan trọng giúp rất nhiều trong quá trình tìm ra các loài sán dây ký sinh trên chó, khu hệ sán dây ký sinh trong vùng, ký chủ trung gian, mùa vụ mắc bệnh... Do đó việc điều tra yếu tố dịch tễ học không thể thiếu được trong phương pháp chẩn đoán sán dây trên chó nuôi tại các tỉnh ĐBSCL.

2.2.2. Dựa vào vào triệu chứng lâm sàng của bệnh sán dây

Dựa vào mức độ biểu hiện triệu chứng lâm sàng để phân biệt rõ trường hợp bệnh sán dây và trường hợp không gọi là bệnh sán dây. Trong chẩn đoán thường gặp phải nhầm lẫn khi con vật nhiễm nhẹ các loài sán dây. Mỗi loài sán dây có thể gây bệnh khác nhau, gây bệnh trên những cơ quan khác nhau chúng có biểu hiện khác nhau. Do đó, triệu chứng lâm sàng do sán dây và bệnh sán dây không điển hình và không đặc thù Việc chẩn đoán dựa vào triệu chứng chỉ định hướng nghi bệnh mà không thể kết luận chính xác về bệnh [19, 20].

Ưu và nhược của phương pháp

Việc chẩn đoán bệnh sán dây không chỉ dựa vào triệu chứng lâm sàng của con vật như các bệnh truyền nhiễm khác (bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn hay do virus) vì những lý do sau:

Triệu chứng của bệnh sán dây không điển hình, nên thường gặp phải nhầm lẫn. Nếu chó nhiễm ít sán, chó sẽ không chết và không thể hiện triệu chứng lâm sàng.

Chỉ khi nào chó nhiễm nặng với nhiều sán thì mới có thể có biểu hiện triệu chứng lâm sàng.

Triệu chứng lâm sàng của bệnh sán dây biểu hiện nặng hay nhẹ còn tùy thuộc vào tình hình dinh dưỡng, sức đề kháng, mức độ cảm nhiễm. Nếu con vật có điều kiện dinh dưỡng tốt, sức đề kháng mạnh, triệu chứng lâm sàng sẽ biểu hiện không rõ hoặc không có. Ngược lại nếu điều kiện

chăm sóc nuôi dưỡng kém, sức đề kháng yếu, con vật dễ mắc bệnh, triệu chứng lâm sàng sẽ rất nặng. Chỉ dựa vào triệu chứng lâm sàng để chẩn đoán bệnh sán dây ở chó sẽ không chính xác nên việc chẩn đoán bệnh sán dây trên chưa là phải tìm thấy căn bệnh (trứng, ấu trùng hoặc sán trưởng thành ký sinh). Chẩn đoán này thường không đặc trưng cho nên phương pháp chẩn đoán dựa vào triệu chứng chỉ mang tính chất định hướng và bổ sung.

2.2.3. Dựa vào vào điều trị để chẩn đoán bệnh sán dây

Mỗi loài sán dây ký sinh thường mẫn cảm với một số loại thuốc tẩy trừ nhất định hoặc nhiều loài ký sinh trùng mẫn cảm với một loại thuốc. Dựa vào đặc điểm đó mà người làm công tác thú y dùng thuốc tẩy trừ để chẩn đoán [20, 3]. Việc sử dụng điều trị để chẩn đoán sán dây chỉ ứng dụng trong trường hợp đặc biệt và thật cần thiết.

2.2.4. Các phương pháp kiểm tra phân

Phương pháp này nhằm tìm các loài trứng sán dây hay đốt sán dây trong phân. Trong chẩn đoán kiểm tra phân tìm trứng sán dây ở vật nuôi gồm có nhiều phương pháp chẩn đoán chung và chẩn đoán chuyên biệt trên một loài trứng sán nào đó [10, 21, 22].

a. Phương pháp trực tiếp

Thường dùng trong kiểm tra chẩn đoán được các loại trứng hoặc đốt sán dây. Đây là phương pháp đơn giản, dễ thực hiện, nhưng độ chính xác không cao. Đối với sán dây thải đốt ta có thể dễ dàng quan sát được đốt sán dây bằng mắt thường hay kính lúp [29, 20]. Quan sát đại thể là bước rất cần thiết để nhận biết những con sán, đốt sán... được thải ra theo phân (lấy toàn bộ lượng phân thải mới để phát hiện được), phương pháp này còn giúp cho việc đánh giá tính chất của phân, định hướng cho xét nghiệm [10].

Có thể quan sát trực tiếp bằng mắt hay có thể dùng kính lúp để quan sát.

b. Phương pháp lắng cặn hay phương pháp gạn rửa sa lắng (Benedek, 1943)

Nguyên lý cơ bản là dùng nước lã hoặc dùng các dung dịch khác có tỷ trọng nhẹ hơn tỷ trọng trứng giun sán, sau khi xử lý, trứng nặng sẽ chìm

xuống dưới đáy của dung dịch đó. Phương pháp này nhằm đánh giá mức độ cảm nhiễm và đánh giá hiệu quả của một loại thuốc diệt giun sán; giúp đánh giá một cách khái quát mức độ cảm nhiễm, không thể chính xác tuyệt đối vì còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố: số lượng của sán dây cái, phân lỏng hay đặc, số lượng trứng còn phụ thuộc vào từng loại sán dây khác nhau mà có số trứng thải ra hằng ngày có khác nhau [29, 20, 21].

c. Phương pháp đếm trứng Mc Master

Phương pháp này dùng để xác định số lượng trứng sán dây trong một gram phân bằng buồng đếm Mc Master. Dùng 4 gram phân chó, mèo khuấy hoà tan trong dung dịch muối (NaCl) bão hoà cho với thể tích tổng 60ml (NaCl), lọc dung dịch mẫu qua lưới lọc, sau đó nhỏ đầy hai buồng đếm Mc Master. Đếm toàn bộ số lượng trứng sán trong những ô buồng đếm, sau đó định lượng trứng sán dây theo công thức tính: $\text{Số trứng/gram phân} = (\text{Tổng số trứng ở hai buồng đếm} \times 60)/4$ [20, 28, 29].

d. Phết dầy Kato-Katz

Là một kỹ thuật có tính chất định tính và định lượng do thể tích phân được xác định. Lượng phân dùng lớn nên dễ tìm trứng sán hơn xét nghiệm phân trực tiếp. Phân được định lượng bằng hồ đong có kích thước chuẩn, trải trên lam kính và được làm trong bởi lá kính bằng giấy thấm cellophane thấm glycerin. Kỹ thuật này đơn giản, nhanh, chính xác, có thể tiến hành hàng loạt trong điều tra và nghiên cứu. Tuy nhiên, việc ước lượng số sán dây ký sinh chỉ có một giá trị hết sức tương đối vì sán không đẻ theo nhịp độ đều đặn, trứng không được phân bố đều trong phân. Phân có thể đặc hay lỏng, lượng phân thải ra hằng ngày có thể nhiều hay ít [5].

e. Ưu và nhược của phương pháp kiểm tra phân tìm trứng sán dây

* Phương pháp trực tiếp:

Đây là phương pháp đơn giản dễ thực hiện và lại rẽ tiền cho kết quả nhanh chóng. Với phương pháp này có thể giúp ta có thể tìm thấy hầu hết các loại trứng sán dây thải ra trong mẫu kiểm tra trong trường hợp nhiễm sán nặng.

Tuy nhiên phương pháp này có những nhược điểm sau:

- Trứng trong mẫu phân có thể bị che khuất bởi các cặn bã trong mẫu phân.

- Không tìm thấy được trứng trong trường hợp sán ký sinh trong chó còn ở giai đoạn ấu trùng hoặc sán ở giai đoạn chưa trưởng thành và chưa đẻ trứng nên không tìm thấy trứng mặc dù chó bị nhiễm sán rất cao trong tổ chức ở gan hoặc mật.

- Số mẫu phân kiểm tra quá ít, do đó khó phát hiện trong trường hợp chó nhiễm nhẹ.

- Một số trứng sán dây có hình dạng tương tự như nhau, do đó khó xác định được trứng của loài nào.

* Phương pháp lắng cặn

Với phương pháp này có những ưu điểm sau:

- Là phương pháp chẩn đoán đơn giản, dễ thực hiện, rẽ tiền, cho kết quả nhanh chóng.

- Có thể tập trung trứng qua phương pháp gạn rửa sa lắng, chủ yếu dựa vào tỷ trọng của trứng nặng hơn tỷ trọng của nước lã, làm trứng chìm dưới đáy dung dịch đó.

- Có thể tìm hầu hết các loại trứng sán dây mà phương pháp phù nổi không tìm được.

Tuy nhiên phương pháp này có một số nhược điểm sau:

- Phương pháp này rất khó phân biệt được hình thái của trứng sán dây giữa các loài

- Không thể tìm thấy trứng trong một số trường hợp như sán dây chưa tới giai đoạn trưởng thành và đẻ trứng.

* Phương pháp đếm trứng:

Ở phương pháp này với mục đích là đánh giá mức độ cảm nhiễm và đánh giá hiệu quả một số loại thuốc tẩy trừ. Tuy nhiên phương pháp này chỉ giúp ta đánh giá khái quát mức độ cảm nhiễm một loài nào đó. Nó không cho kết quả chính xác vì nó còn nhiều yếu tố như số lượng sán ký sinh ở giai đoạn trưởng thành, tính chất phân (khô, nhão), số lượng trứng đẻ ra trên ngày cũng thay đổi theo mỗi loài riêng biệt.

2.2.5. Các phương pháp chẩn đoán miễn dịch

Cũng như miễn dịch chống virus, vi khuẩn, khả năng miễn dịch chống sán dây khác với miễn dịch chống virus, vi khuẩn. Miễn dịch của ký sinh trùng là miễn dịch đa bào, miễn dịch theo giai đoạn, miễn dịch mang trùng. Do đó miễn dịch sán dây là không chắc chắn, miễn dịch ngắn, không có ý nghĩa bảo hộ. Có nhiều loài sán dây khi vào cơ thể thì sinh kháng thể, loại kháng thể này cùng với kháng nguyên tương ứng sẽ sinh ra các phản ứng đặc hiệu. Căn cứ vào đặc tính này có thể dùng phương pháp miễn dịch để chẩn đoán bệnh sán dây. Thường chẩn đoán các bệnh ấu sán, bệnh sán dây, giun thận, bệnh giun đũa, gạo heo, gạo chó... Kháng nguyên chẩn đoán thường chế từ cơ thể sán dây trưởng thành, ấu trùng hoặc dịch thể ấu trùng, tùy theo từng loài sán dây có tính đặc hiệu riêng nhưng có hiện tượng phản ứng giả hoặc phản ứng chéo. Có thể dùng kháng nguyên tiêm trong da, làm phản ứng lắng cặn, phản ứng kết hợp bổ thể... hoặc biện pháp chẩn đoán huyết thanh học để xác định hàm lượng kháng thể hay kháng nguyên trong máu như ở một vài loài sán dây ký sinh trong các tổ chức kín khác hệ tuần hoàn của gia súc như bệnh sán dây do *Dipylidium caninum*, *Taniae hydatigena* ký sinh ở chó. Tuy nhiên, phương pháp này thường được sử dụng trong các bệnh do nguyên sinh động vật và các ký sinh trùng đường máu [23, 24]. Sán dây sau khi xâm nhập vào cơ thể gia súc có khả năng kích thích cơ thể sản xuất ra kháng thể đặc hiệu. Vì vậy, các nguyên lý chung về miễn dịch học đều có thể áp dụng được đối với các bệnh sán dây.

– Kỹ thuật miễn dịch được sử dụng trong các trường hợp mà phương pháp trực tiếp không thể làm được như:

- + Giai đoạn mới nhiễm: sán dây còn non, chưa đẻ trứng, chưa thải đốt
- + Trong giai đoạn mạn tính
- + Mật độ ký sinh thấp
- + Sán dây định vị trong nội tạng sâu như bệnh ấu trùng ở cơ, não, nội tạng.
- + Ngõ cụt ký sinh như hội chứng ấu trùng di chuyển, sán dây ở dạng ấu trùng, không bao giờ tiến đến giai đoạn trưởng thành và không bao giờ

hoàn tất chu trình phát triển. Trong nhiều trường hợp, huyết thanh miễn dịch học tỏ ra thực tế hơn, nhất là trong các trường hợp mà cần lấy bệnh phẩm bằng kỹ thuật xâm lấn.

Kỹ thuật miễn dịch học được áp dụng trong chẩn đoán bệnh sán dây bao gồm nhiều kỹ thuật như kết tủa, điện di, gắn bổ thể, ngưng kết, miễn dịch huỳnh quang, miễn dịch phóng xạ, miễn dịch men. Trước đây, kỹ thuật miễn dịch chỉ dựa vào kháng nguyên để phát hiện và đo lường kháng thể luân lưu trong máu và các dịch sinh học. Độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm này tùy thuộc chủ yếu vào chất lượng của kháng nguyên, nếu kháng nguyên thô thì cho nhiều phản ứng chéo, dương giả, kết quả dương tính không cho biết được bệnh đang mắc hay đã qua, vì kháng thể giảm rất chậm, từ vài tháng đến cả năm [10].

a. Kỹ thuật miễn dịch men ELISA (Enzyme – Linked – Immunosorbent Assay)

Kỹ thuật miễn dịch men có nhiều loại: trực tiếp, gián tiếp hay cạnh tranh. Hiện nay, trong chẩn đoán bệnh sán dây, kỹ thuật ELISA gián tiếp được ưa dùng vì nó có độ nhạy cao, thao tác đơn giản, ít tốn hóa chất, không đòi hỏi máy móc đắt tiền, có thể làm hàng loạt. Phần mô tả dưới đây là kỹ thuật miễn dịch men ELISA gián tiếp phát hiện kháng thể trong máu gia súc bệnh.

Kỹ thuật ELISA có rất nhiều dạng mà nguyên tắc chung là dựa trên sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể, trong đó kháng thể được gắn với 1 enzyme. Khi cho thêm cơ chất thích hợp vào phản ứng, enzyme sẽ thủy phân cơ chất thành một chất có màu. Sự xuất hiện màu chứng tỏ đã xảy ra phản ứng đặc hiệu giữa kháng thể với kháng nguyên và thông thường qua cường độ màu mà biết được nồng độ kháng nguyên hay kháng thể cần phát hiện [10]. Kỹ thuật này khá nhạy và đơn giản cho phép ta xác định được kháng nguyên và kháng thể ở một nồng độ rất thấp (khoảng 0,1 ng/ml). Kỹ thuật ELISA được dùng để xác định nhiều tác nhân gây bệnh như: virus, vi khuẩn, nấm, ký sinh trùng.

Kỹ thuật ELISA gồm 3 thành phần tham gia phản ứng: kháng nguyên, kháng thể và chất tạo màu, thực hiện qua 2 phản ứng:

- Phản ứng miễn dịch học: Là sự kết hợp giữa kháng nguyên và kháng thể.

- Phản ứng hóa học: Thông qua hoạt tính xúc tác của enzyme là giải phóng oxy nguyên tử từ H_2O_2 để oxy hóa chất chỉ thị màu, do đó làm thay đổi màu của hỗn hợp trong dung dịch thí nghiệm.

b. Kỹ thuật miễn dịch men ELISA gián tiếp phát hiện kháng thể

Kháng nguyên được gắn lên giếng nhựa, khi gặp kháng thể tương ứng sẽ kết hợp tạo thành phức hợp kháng nguyên-kháng thể. Phức hợp kháng nguyên-kháng thể được phát hiện nhờ men gắn vào kháng thể, men phản ứng với một cơ chất và làm đổi màu. Kết quả có thể được đọc bằng mắt hoặc máy đọc ELISA [4]. Biện luận kết quả:

- Ngưỡng dương tính có thể khác nhau đối với từng loại bệnh sán dây. Biện luận kết quả dựa trên ngưỡng dương tính do nhà sản xuất đưa ra.

- Các kỹ thuật miễn dịch phát hiện kháng thể cho kết quả gián tiếp, không có giá trị tuyệt đối.

- Kết quả âm tính cũng không loại trừ hoàn toàn nhiễm sán dây, có thể do mới bị nhiễm, hoặc bị nhiễm quá lâu, hoặc lượng sán dây quá ít để có thể kích thích được hệ miễn dịch. Trong trường hợp nghi ngờ trên lâm sàng nên làm lại thử nghiệm. Xét nghiệm vài lần để theo dõi biến động của kháng thể có giá trị hơn là xét nghiệm một lần. Nếu cần, phải kiểm tra lại bằng các kỹ thuật khác.

- Kết quả dương tính cũng không khẳng định hoàn toàn bị nhiễm sán dây vì có thể dương tính giả do phản ứng chéo giữa các loại sán dây. Vì vậy, các phản ứng miễn dịch tìm kháng thể không thể thay thế hoàn toàn xét nghiệm trực tiếp trong chẩn đoán nguyên nhân bệnh. Kết quả xét nghiệm, dù âm hay dương, cũng cần được xem xét một cách cẩn thận, kết hợp với các yếu tố dịch tễ và triệu chứng lâm sàng.

Ưu và nhược điểm của phương pháp chẩn đoán miễn dịch

Thường khi gia súc nhiễm sán thì trong máu sẽ xuất hiện kháng thể. Dựa vào đặc điểm này có thể dùng các biện pháp chẩn đoán huyết thanh học để xác định hàm lượng kháng thể hay kháng

nguyên trong máu (Xét nghiệm bằng ELISA).

Ưu điểm: Kháng thể gắn enzyme có thể sử dụng để đánh dấu cho nhiều loại kháng nguyên nên tiện lợi và kinh tế. Ưu điểm quan trọng nhất của kỹ thuật ELISA là độ nhạy cao, có thể phát hiện được phức hợp nhỏ kháng nguyên – kháng thể, cho phép phát hiện sớm tác nhân gây bệnh ở giai đoạn sớm khi mầm bệnh mới xâm nhiễm. Tuy nhiên, chúng ta cũng cần phải lưu ý một số yếu tố có thể gây ảnh hưởng đến kết quả ELISA như:

- Các đối chứng âm cho kết quả dương tính thì có thể do sự nhiễm từ chất tạo màu hoặc từ kháng thể được đánh dấu hoặc chính các đối chứng bị nhiễm.

- Màu không xuất hiện đối với các chứng dương hoặc mẫu thì phải kiểm tra lại các hóa chất như: hạn sử dụng, nồng độ, điều kiện bảo quản.

- Màu xuất hiện quá thấp đối với đối chứng dương và cả mẫu kiểm tra thì phải kiểm tra lại kháng thể được gắn enzyme và nồng độ của chất tạo màu.

- Nếu có tạo màu đối với mẫu nhưng không tạo màu với chứng dương thì phải kiểm tra lại nguồn gốc đối chứng, hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.

Nhược điểm: độ đặc hiệu của từng kháng huyết thanh là khác nhau nên phải thử nghiệm với nhiều loại kháng huyết thanh khác nhau để kết quả có thể tin tưởng được.

2.2.6. Polymerase chain reaction (PCR) và ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong chẩn đoán nhiễm sán dây trên chó

a. PCR

Về mặt nguyên tắc, một chu kỳ nhiệt độ sẽ bao gồm 3 giai đoạn nhiệt độ: (1) Đầu tiên nhiệt độ sẽ được đưa lên 94°C, ở nhiệt độ này các liên kết hydro của mạch đôi DNA sẽ bị mất đi, nhờ vậy DNA đích bị biến tính thành các mạch đơn; giai đoạn nhiệt độ này được gọi là giai đoạn biến tính. (2) Kế đó nhiệt độ sẽ được hạ đến 55°C – 65°C là nhiệt độ thích hợp để các đoạn mồi tìm đến bắt cặp bổ sung vào hai đầu của đoạn DNA đích, giai đoạn nhiệt độ này được gọi là giai đoạn

bắt. (3) Cuối cùng, nhiệt độ được đưa lên 72°C là nhiệt độ thích hợp cho hoạt tính của enzyme Taq polymerase để kéo các dNTP lại đầu 3' của đoạn mồi đang bắt cặp trên đầu 5' của sợi DNA đích để bắt nguồn cho sự tổng hợp nên mạch bổ sung. Như vậy, qua một chu kỳ nhiệt, một DNA đích đã được nhân bản thành hai bản sao; và nếu chu kỳ này được lặp đi lặp lại liên tục 30 đến 40 lần thì từ một DNA đích đã nhân bản được thành 230 đến 240 bản sao, tức là đến hàng tỷ bản sao [14].

Do kỹ thuật và phản ứng PCR rất nhạy, nên phải tránh ô nhiễm các DNA khác có trong phòng thí nghiệm và điều kiện làm việc thực hiện các phản ứng. Vì vậy, các mẫu DNA, hỗn hợp phản ứng và quy trình DNA, ngoài ra còn có phản ứng phân tích sản phẩm, nên được thực hiện trong một khu vực riêng biệt. Ở giai đoạn chuẩn bị hỗn hợp phản ứng, phải chuẩn bị phòng riêng biệt với đèn UV. Phải sử dụng găng tay sạch cho mỗi bước PCR cũng như thay thế các pipette tips. Thuốc thử dùng trong PCR phải được chuẩn bị riêng biệt và chỉ được dùng cho mục đích này. Các mẫu phải được giữ riêng biệt với các mẫu DNA khác. Phản ứng có kiểm soát (kiểm soát bên trong), ngoại trừ DNA khuôn mẫu, phải luôn được thực hiện để kiểm tra sự tạp nhiễm [25].

b. Ứng dụng sinh học phân tử trong các bệnh sản dâ

Trong lĩnh vực bệnh lý do ký sinh trùng, sinh học phân tử góp phần không nhỏ vào công tác phát hiện, chẩn đoán, giám định, phân loại nhiều loại ký sinh trùng, đặc biệt là sản dâ. Mặc dù kiểu hình trong phân loại là rất thông dụng và đã có những thành tựu hết sức quan trọng, nhưng đôi khi rất khó phân biệt loài và dưới loài một cách chính xác. Nên khi đó vai trò của sinh học phân tử hay nói đúng hơn là các công cụ phân tử rất hữu ích và xác định rạch ròi chính xác.

Các phương pháp chẩn đoán truyền thống áp dụng trong lâm sàng và dịch tễ học như xét nghiệm tìm trứng/ấu trùng hay các sản phẩm của ký sinh trùng hoặc các kỹ thuật miễn dịch học đều có những sai số nhất định, tùy từng loài ký sinh trùng, đặc biệt khi các dạng ký sinh trùng cùng tồn tại ở một nơi như ở hệ tiêu hóa, chất thải ở hệ hô hấp hay máu của hệ tuần hoàn. Phương pháp

sinh học phân tử nhân bản DNA và phân tích đặc tính sản phẩm thu được, đặc biệt là phân tích biến đổi gen/hệ gen được ứng dụng trong chẩn đoán phân loại và lập phá hệ sinh vật, đã bước đầu chứng minh cho kết quả chính xác hơn nhiều so với phương pháp truyền thống. Các số liệu chính xác của các phương pháp sinh học phân tử đã cho phép ứng dụng những hướng mới và rất có thể sẽ làm thay đổi một phần hệ thống phân loại và chẩn đoán phân biệt loài hiện có. Trong hai thập kỷ qua, công nghệ ứng dụng kỹ thuật mới đã có những định hướng phát triển vượt bậc. Một trong những thành tựu lớn của nhân loại là sự phát triển phương pháp nhân bản DNA bằng kỹ thuật đa mồi (multiplexing techniques), đặc biệt những phương pháp nhân bản DNA sử dụng nhiều mồi cùng một lúc phát hiện đa khuôn đó là kỹ thuật multiplex-PCR (Multiplex Polymerase Chain Reaction) tạo sản phẩm DNA mạch thẳng và kỹ thuật LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) đa mồi nhân bản DNA phát hiện đơn khuôn, tạo sản phẩm DNA cấu trúc vòm. Nếu sử dụng RNA làm khuôn, sau khi chuyển đổi sang DNA bằng phản ứng sao chép ngược (reverse transcription), cả PCR và LAMP cũng đều có thể thực hiện quá trình tổng hợp chuỗi nucleotide cho sản phẩm DNA. Do vậy, bên cạnh PCR sử dụng khuôn DNA, còn có RT-PCR sử dụng khuôn RNA; và bên cạnh LAMP sử dụng khuôn DNA, còn có RT-LAMP sử dụng khuôn RNA.

Cả hai phương pháp PCR/RT-PCR và LAMP/RT-LAMP đều sử dụng cùng lúc nhiều mồi (từ 2 mồi trở lên); sử dụng DNA hay RNA làm khuôn cung cấp vùng gen đích; sử dụng các dẫn chất deoxy-nucleotide triphosphate (dNTP) làm nguyên liệu kiến tạo; sử dụng một loại DNA polymerase làm enzyme để xúc tác tổng hợp chuỗi nucleotide; sử dụng các thành phần làm phụ trợ cho phản ứng hoạt động trong đó có ion Mg^{++} có vai trò quan trọng; và xác nhận kết quả bằng cách đánh giá sự hiển thị của sản phẩm DNA trong điều kiện thích hợp. PCR được ứng dụng cho giám định, chẩn đoán, phân loại, di truyền quần thể, phá hệ và tiến hoá sinh vật, trong đó có ký sinh trùng và trở thành một công cụ không thể thiếu được trong công tác giám định, phát hiện ký sinh trùng gây bệnh bằng kỹ thuật cao. Để làm, có tính nhạy và đặc hiệu rất cao, đồng thời chỉ

cần một lượng rất ít khuôn DNA của đối tượng sinh vật bất kể giai đoạn sinh trưởng nào, PCR đã có thể cho sản phẩm với độ chính xác cao về loại sinh vật cần nghiên cứu. Với lợi thế như vậy, PCR đã thực sự được ứng dụng rộng rãi trong mọi lĩnh vực, trước hết là chẩn đoán phân tử xác định và phân biệt các loài gây bệnh [15].

c. Nghiên cứu ứng dụng PCR đa môi xác định, phân biệt ký sinh trùng và sán dây tại Việt Nam

Nghiên cứu về sinh học phân tử giám định thành phần loài và chẩn đoán phân biệt các loài giun/sán ở Việt Nam bằng kỹ thuật PCR sử dụng chỉ thị di truyền hệ gen ty thể đã được một số tác giả thực hiện có hiệu quả, đặc biệt trong 10 năm gần đây. Có hàng trăm công trình sử dụng PCR đa môi trong chẩn đoán phân biệt ký sinh trùng được đăng tải phản ánh định hướng nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật cao đối với lĩnh vực ký sinh trùng, mà chúng tôi không có ý định nêu hết trong bài tổng quan này, chỉ điểm qua một số kết quả do các tác giả trong nước thực hiện được. Trước hết, đó là nghiên cứu xác định loài sán dây châu Á *Taenia asiatica* đầu tiên ở Việt Nam [9, 24]. Sau đó các loài sán lần lượt đã được thẩm định thành phần loài như: sán dây *T. saginata*, *T. solium* ký sinh trên người, ấu trùng sán dây heo trên heo và trên người cũng đã được thẩm định bằng sinh học phân tử hệ gen ty thể và lần lượt một số chuỗi gen đã đăng ký trên Ngân hàng Gen. Những kết quả bước đầu này đã góp phần giải quyết một số vấn đề trong xác định thành phần loài sán dây tại Việt Nam và đã làm cơ sở khoa học cho việc nghiên cứu kit multiplex PCR để chẩn đoán xác định bệnh giun sán. Đồng thời đó cũng là cơ sở dữ liệu quý báu cho khoa học trong nghiên cứu đa dạng sinh học và đóng góp vào hoạch định chiến lược phòng chống sán dây có hiệu quả ở Việt Nam. Cho đến nay, nghiên cứu sinh học phân tử trong chẩn đoán ký sinh trùng mới thực hiện ở góc độ đơn loài, kit PCR đơn gen, mà chưa có những định hướng tổng thể sàng lọc, xây dựng kit đa gen (multiplex-PCR) cho một nhóm cùng loài, hay cho một hỗn hợp các loài cùng tồn tại trên người ở những vị trí phân bố cần chẩn đoán. Do vậy, việc nghiên cứu chẩn đoán phân tử là hết sức bức thiết, đặc biệt là nghiên cứu kit PCR đa gen/đa môi (multiplex-

PCR) đối với ký sinh trùng mà chúng tôi đang xây dựng sẽ giúp cho việc chẩn đoán hoàn toàn chính xác và góp phần to lớn trong phòng chống bệnh có hiệu quả trong phạm vi cả nước [9].

Nếu như PCR/RT-PCR, bao gồm cả multiplex-PCR cho sản phẩm đặc hiệu là DNA mạch thẳng thuận lợi cho các phương pháp sinh học phân tử phân tích đặc tính của gen/hệ gen sau khi tách dòng và giải trình tự thì LAMP/RT-LAMP cho sản phẩm đặc hiệu là DNA bắt cặp các chuỗi lại với nhau tạo mạch vòm không thuận lợi cho tách dòng và xem xét thành phần gen/hệ gen, nhưng DNA-vòm có lợi thế cực kỳ to lớn là sản phẩm hiển thị ở dạng vẩn đục trắng do sản sinh muối pyrophosphate hoặc với chất phát quang nhìn thấy bằng mắt thường, phục vụ nhanh chóng cho chẩn đoán. Trong trường hợp LAMP sử dụng làm kit chẩn đoán, người ta thường thiết kế thêm một cặp môi đặc hiệu bám vào hai đầu biên của vùng gen đích để thực hiện phản ứng PCR/RT-PCR, thu sản phẩm DNA-thẳng, rồi tách dòng, giải trình tự để kiểm nghiệm tính đặc hiệu cho chắc chắn. Phương pháp kiểm tra giả nghiệm cũng được thực hiện với các nguồn khuôn khác nhau của (vi) sinh vật cùng giống (genus) để đảm bảo chắc chắn tính chính xác và đặc hiệu của kit chẩn đoán LAMP [30]. Kể từ khi được giới thiệu từ những năm 2000, càng ngày càng có nhiều nghiên cứu đưa LAMP vào ứng dụng chẩn đoán ở các lĩnh vực khác nhau, trong đó có sán dây. Đối với ký sinh trùng, nhiều khi chúng cùng tồn tại ở một vị trí nên rất dễ lấy bệnh phẩm, tuy nhiên việc phân biệt trong chẩn đoán và xác nhận sự có mặt của loài gây bệnh là không dễ dàng khi sử dụng phương pháp hình thái học. Việc phát hiện đặc hiệu loài gây bệnh để phân biệt được nhiều loài khác càng nhanh càng tốt có ý nghĩa rất lớn trong chẩn đoán, do vậy, LAMP trở nên một công cụ hữu hiệu xác định nhanh đối tượng trong số đông cùng tồn tại. Trong 10 năm qua, bên cạnh việc thăm dò phương pháp và xây dựng bộ kit với tiêu chuẩn chẩn đoán sau khi khảo nghiệm, LAMP đã được ứng dụng trong thực tế với nhiều loại ký sinh trùng khác nhau gây bệnh ở động vật và người. Đối với sán dây, chỉ mới có một công trình nghiên cứu xây dựng phương pháp LAMP chẩn đoán *Taenia* sp. và các loài sán dây *Taenia* sp. làm đối tượng của LAMP [30].

2.3. Chẩn đoán sán dây ở con vật sau khi chết

Phương pháp chẩn đoán sán dây khi con vật chết là chính xác nhất. Phương pháp này có thể phát hiện được tất cả các loài sán dây ở tất cả mọi cơ quan, tổ chức động vật, kể những loài sán dây nhỏ. Có thể tìm thấy những loài sán dây mà chẩn đoán khi gia súc còn sống không thể phát hiện như sán dây ở giai đoạn ấu trùng, sán dây còn non.

Phương pháp chẩn đoán này giúp ta có thể đánh giá được tỷ lệ, cường độ nhiễm giun sán, xác định được đến loài giun sán. Do đó giúp ích cho công tác nghiên cứu và đồng thời làm cơ sở khoa học cho các biện pháp phòng trừ thích hợp.

2.3.1. Phương pháp mổ khám toàn diện theo K.I.Skrjabin

Mục đích của phương pháp trên là tìm tất cả mọi loài sán dây ở tất cả mọi khí quan [28].

Thông thường áp dụng phương pháp này để điều tra khu hệ sán dây ký sinh trên vật nuôi ở một vùng hoặc ở một nước nào đó. Khi mổ khám, phải căn cứ vào từng loài động vật mà kỹ thuật mổ khám có khác nhau. Con vật sau khi được giết chết sẽ được mổ khám ở hệ tiêu hóa như sau:

- Tách riêng các bộ phận như: thực quản, dạ dày, ruột non, ruột già, gan, tụy, màng treo ruột.

- Thực quản và dạ dày: quan sát bên ngoài thực quản và dạ dày, nếu có các khối u sẽ mổ ra, thu nhặt sán cho vào lọ nước sạch để sán chết tự nhiên, sau đó mổ dọc thực quản và dạ dày, quan sát và gắp những sán còn bám vào niêm mạc.

- Ruột non: tiến hành kiểm tra ở ruột non bằng cách cho ruột vào xô, dùng vòi nước xả vào lòng ruột để dồn chất chứa vào xô, đồng thời dùng tay vuốt mạnh dọc theo chiều dọc của ruột để dồn các chất chứa vào trong xô. Sau đó lộn ngược ruột, quan sát niêm mạc ruột để thu nhặt sán dây. Gạn rửa, sa lắng chất chứa để tìm sán dây.

- Ruột già: mổ dọc manh tràng và trực tràng tìm sán trên niêm mạc ruột.

- Gan và mật: cắt dọc túi mật và ống dẫn mật, sau đó cho toàn bộ gan và mật vào chậu nước, dùng tay bóp nhẹ gan đẩy sán ra ngoài. Quan sát chất chứa trong chậu, tìm sán dây và thu nhặt.

Mỗi con vật mổ khám được lập phiếu điều tra bao gồm nội dung như sau: tuổi, giới tính, trọng lượng, ngày lấy mẫu, tình trạng sức khỏe, số lượng sán dây thu nhặt được.

2.3.2. Phương pháp mổ khám toàn diện ở một cơ quan

Phương pháp này có nhiều ý nghĩa thực tiễn. Thí dụ khi ta muốn biết tất cả các loại sán ký sinh ở đường tiêu hóa, ta chỉ cần tìm ở đường tiêu hóa, còn các cơ quan khác, tổ chức khác; ta không cần kiểm tra [23, 20].

2.3.3. Phương pháp mổ khám không toàn diện

Nhằm xác định tỷ lệ, cường độ nhiễm của một loài sán dây nào đó. Thí dụ để xác định tỷ lệ và cường độ cảm nhiễm sán dây ở chó, phương pháp mổ khám không toàn diện được áp dụng [20].

2.3.4. Ưu và nhược của phương pháp chẩn đoán sán dây bằng phương pháp mổ khám

Phương pháp mổ khám để chẩn đoán bệnh sán dây có những ưu, khuyết điểm sau:

Có thể tìm thấy những loài sán mà chẩn đoán khi gia súc còn sống với các phương pháp kiểm tra phân không thể phát hiện như sán ở giai đoạn ấu trùng di hành hoặc ở sán còn non chưa đẻ trứng.

Phương pháp này có thể phát hiện được tất cả các loài sán dây ở các giai đoạn và các tổ chức cơ quan.

Với phương pháp chẩn đoán này góp phần đánh giá được tỷ lệ, cường độ nhiễm sán, qua định danh phân loại hình thái học và sinh học phân tử ta có thể xác định được chính xác loài sán dây gây bệnh.

Cũng như có thể tìm thấy được những tổn thương ở gan, mật mà sán ký sinh.

Giúp xác định tình hình bệnh do sán gây nên và hiệu quả tẩy trừ sau thời gian điều trị bằng thuốc một cách chính xác nhất.

Do đó phương pháp chẩn đoán sán dây khi con vật chết là chính xác nhất giúp ích cho công tác nghiên cứu và đồng thời làm cơ sở khoa học cho các biện pháp phòng trừ thích hợp. Tuy nhiên phương pháp này khá tốn kém, do đó phương pháp này chỉ khảo sát ở lò giết mổ.

2.3.5. Phương pháp thu thập và bảo quản sán

Đối với sán dây ta để cho chúng chết tự nhiên trong nước lã, xong đem rửa sạch và ép mỏng giữa hai phiến kính, đặt trong bình thủy tinh có nút mài bên trong có chứa cồn 70°. Tùy theo loài sán to hay nhỏ, dày hay mỏng, mà phiến kính ép có độ dày mỏng khác nhau, trên phiến kính có thể để những vật nặng. Khi ép mỏng sán dây, chỉ cần ép mỏng các đốt thân, còn đốt đầu không ép. Với những sán dây có kích thước nhỏ và mỏng ta cũng không cần ép. Đối với sán dây hay mỏng ta có thể ép một vài ngày hay một vài giờ. Sau thời gian ép mẫu, ta chuyển sang các ống nghiệm có cồn 70° và ghi nhãn. Đem xong cho vào ống nghiệm có dung dịch ngâm giữ mẫu, bên trong gắn nhãn. Những mẫu được tìm thấy được ngâm bảo quản trong các dung dịch cồn 70° [26, 19].

2.3.6. Phương pháp viết nhãn

Viết nhãn là khâu quan trọng, cần cẩn thận, viết đầy đủ nội dung, rõ ràng bằng viết chì đen. Nội dung viết trên nhãn kèm theo sán dây chưa định danh gồm có tên động vật, đực cái, số mổ khám, vị trí ký sinh, sơ bộ định loại, số lượng giun sán. Mặt sau ghi địa điểm, ngày tháng, tên người mổ khám. Tất cả các nội dung ghi chép ở nhãn đều phải ghi đầy đủ vào sổ mổ khám lưu vào máy tính theo mẫu như số thứ tự, ngày, tháng, năm, tên loài động vật, địa điểm, đực cái, lứa tuổi và số lượng giun sán. Sau khi định danh, phân loại chính xác các mẫu giun sán, cần ghi nhãn bằng giấy bóng mờ gồm tên động vật, vị trí ký sinh, phân loại loài, số lượng loài giun sán, mặt sau ghi địa điểm, ngày, tháng, người định danh [21, 13].

2.3.7. Phương pháp xử lý sán dây để định danh

Trong quá trình mổ khám có một số loài sán dây có thể phân loại được bằng mắt thường. Nhưng phần nhiều các loài sán dây phải được nhuộm, làm trong suốt rồi xem qua kính lúp hoặc kính hiển vi để phân loại. Hiện nay để định danh chính xác thì sử dụng sinh học phân tử để định danh phân loại, tùy theo từng lớp sán dây mà ta có cách xử lý khác nhau. Đối với sán dây để làm rõ các bộ phận bên trong giúp công tác định danh được dễ dàng, mẫu sán dây được nhuộm trong thuốc nhuộm carmin [22, 28].

2.3.8. Phương pháp kiểm tra thịt và nội tạng để phát hiện ấu trùng sán dây

a. Kiểm tra tươi

Mục đích: tìm *Cysticercus* sp. trong tổ chức cơ.

Để tìm các dạng ký sinh trùng này, có thể dùng dao sắc cắt ngang các bắp thịt vai, mông, đùi, lưng, vừa cắt vừa quan sát bề mặt các nhát cắt. Ấu trùng *Cysticercus* sp. của sán dây *Taenia* sp. có dạng hạt gạo, dài khoảng 0,5 mm hoặc hơn, màu trắng đục. Các dạng ấu trùng nói trên đều phát hiện bằng mắt thường một cách dễ dàng khi xem tươi tổ chức cơ [19, 2].

b. Kiểm tra tổ chức cơ bằng phương pháp ép cơ, tiêu cơ

Thường lấy cơ chân hoành cách mô để làm 2 phương pháp: ép cơ và tiêu cơ. Thực hiện phương pháp ép cơ trên dụng cụ ép cơ chuyên dụng. Còn phương pháp tiêu cơ được thực hiện với dung dịch tiêu cơ. Kết quả là: trên tiêu bản ép cơ, nếu có thì thấy ấu trùng *Cysticercus* sp. Trong dung dịch tiêu cơ, khi cơ đã bị tiêu hết, sẽ chỉ còn các nang kén chứa ấu trùng giun bao [2, 27].

c. Kiểm tra nội tạng

Chủ yếu là kiểm tra tươi để phát hiện ấu trùng *Cysticercus* ký sinh trên bề mặt gan, lách, màng treo ruột, màng mỡ chài... của gia súc. Ấu trùng *Cysticercus* có dạng bọc to nhỏ không đều, trong bọc có nhiều nước và một đầu sán dây dính ở màng trong của bọc, phương pháp kiểm tra này có thể phát hiện *Cysticercus* dễ dàng khi xem tươi bằng mắt thường [20, 27].

IV. KẾT LUẬN

Chó ở nước ta thường nuôi với tập quán thả rông, vì thế chó bị nhiễm bệnh ký sinh trùng là điều khó tránh khỏi đặc biệt là bệnh sán dây, nên việc kiểm tra tìm sán dây ký sinh ở chó là việc làm hết sức cần thiết. Đồng thời, cần có một quy trình tẩy trừ để hạn chế các tác hại do sán gây ra, nhằm làm giảm được tỷ lệ nhiễm sán dây trên chó và hạn chế nguy cơ truyền lây sang người. Trước khi chọn lựa và bắt đầu xây dựng bất cứ một

chương trình kiểm soát nào, cần phải hiểu được khu hệ sán dây ký sinh ở chó trong vùng với các loài nhiễm, tỷ lệ nhiễm, cường độ nhiễm, mức độ nhiễm ghép trên cá thể, trên đàn, trên lứa tuổi là việc làm hết sức cần thiết để chọn ra một phương pháp phổ biến mà kết quả lại chính xác với các yêu cầu trên, dễ thực hiện với quy mô rộng. Do đó, với những ưu và nhược điểm của các phương pháp nêu trên rất bổ ích cho công tác xác định được thành phần loài hiện diện trên địa bàn. Bên cạnh đó, các yếu tố địa lý, thổ nhưỡng, điều kiện quản lý cũng đóng vai trò rất lớn đến quá trình phát sinh và phát triển của bệnh. Bài viết cung cấp tương đối đầy đủ các phương pháp để chẩn đoán ký sinh trùng thú y từ truyền thống đến hiện đại, phân tích và thảo luận đầy đủ các lợi thế, khiếm khuyết của từng phương pháp nhằm hỗ trợ các thú y viên, kỹ thuật viên thú y, bác sỹ thú y trong quá trình chẩn đoán cũng như là tiền đề để xuất các biện pháp chẩn đoán phù hợp với điều kiện thực tế và mục tiêu khác nhau trong nghiên cứu cũng như trong thực hành chẩn đoán sán dây trên thú cưng mà có sự lựa chọn phù hợp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Alan Gun and Sarah Pitt, 2012. *Parasitology. Liverpool: A John Wiley & Sons Publisher, New York, United States*, 456 pp.
2. Bộ Khoa học và công nghệ, 2008. Thịt và phương pháp phát hiện ký sinh trùng (Meat and detection of parasite). Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 5733 :1993.
3. Bowman, D.D., 2009. *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. 9th ed. Elsevier Saunders, Missouri. 496 pp.
4. Đỗ Thị Phương Linh, 2015. *Kỹ thuật elisa gián tiếp trong xét nghiệm ký sinh trùng đường ruột*. Viện sốt rét ký sinh trùng Quy Nhơn truy cập từ <http://www.impehcm.org.vn/noi-dung/kham-benh-giun-san/ky-thuat-elisa-gian-tiep-trong-xet-nghiem-ky-sinh-trung-duong-ruot.html> ngày 3/2/2022.
5. Dương Công Thịnh, 2015. *Kỹ thuật định lượng Kato-Katz*. Viện Sốt Rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Thành phố Hồ Chí Minh truy cập từ <https://www.impehcm.org.vn/noi-dung/ky-sinh-trung/ky-thuat-dinh-luong-kato-katz.html> ngày 11/03/2022
6. Dương Thị Hồng Duyên, Hoàng Trọng Phước, Vũ Thị Kim Dung, Trần Văn Quý, Đinh Thị Yên, Nguyễn Hữu Đình Quang, 2019. *Một số đặc điểm dịch tễ và triệu chứng lâm sàng của chó, mèo nhiễm sán lá dây tại thành phố Thái Nguyên - Tỉnh Thái Nguyên*. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên. Tr 21-26.
7. ESCCAP, 2018. *Control of Ectoparasites in Dogs and Cats. European Scientific Counsel Companion Animal Parasite. ESCCAP Guideline 01 Third Edition, British*, ISBN 978-1-907259-47-0. 37 pp.
8. Heinz Mehlhorn, 2016. *Animal Parasites Diagnosis, Treatment, Prevention*, 7th edition, Springer International Publishing Switzerland (ISBN 978-3-319-46403-9), 730 pp.
9. Lê Thanh Hòa, 2010. *Nghiên cứu ứng dụng phương pháp tổng hợp DNA sản phẩm đa môi trong chẩn đoán phân tử xác định và phân biệt ký sinh trùng*. Truy cập từ <http://www.impe-qn.org.vn>.
10. Lê Thị Xuân, Võ Thị Mỹ Dung, Nguyễn Thị Hiện và Nguyễn Hồ Phụng Liên, 2008. *Giáo trình ký sinh trùng thực hành*. Bộ Y Tế. NXB Giáo Dục. Hà Nội. 248 Tr.
11. Lê Trần Anh và Nguyễn Khắc Lực, 2013. *Nhiễm giun sán từ động vật sang người được chẩn đoán tại Bệnh viện 103 (2009-2012)*. Tạp chí y – dược quân sự. Số 4. Tr 40-44.
12. Ngô Thị Hồng Phương, 2015. *Chẩn đoán bệnh do ký sinh trùng: Phương pháp tiếp cận sinh học phân tử*. Viện sốt rét ký sinh trùng Tp Hồ Chí Minh, Bộ Y Tế truy cập từ <https://www.impehcm.org.vn/noi-dung/ky-sinh-trung/chan-doan-benh-do-ky-sinh-trung-phuong-phap-tiep-can-sinh-hoc-phan-tu.html> ngày 22/3/2022.
13. Nguyễn Hữu Hưng, 2010. *Giáo trình Bệnh ký sinh trùng gia súc gia cầm*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ.

14. Nguyễn Như Hiền, 2012. *Sinh học phân tử và tế bào. Công nghệ sinh học*. Tập một. Nhà xuất bản Giáo Dục. 259 Tr.
15. Nguyễn Phi Bằng, 2020. *Nghiên cứu đặc điểm dịch tễ học bệnh sán dây trên chó tại một số tỉnh ở ĐBSCL và biện pháp phòng trị*. Luận án tiến sỹ. Đại học Cần Thơ.
16. Nguyễn Phi Bằng, Nguyễn Hồ Bảo Trân, Nguyễn Hữu Hưng, Nguyễn Thị Chúc, 2020. *Nghiên cứu dịch tễ học bệnh sán dây phổ biến trên chó có khả năng lây truyền sang người tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long*. Tạp chí y học thực hành. Viện đào tạo y học dự phòng và y tế cộng đồng, Trường Đại học Y Hà Nội.
17. Nguyễn Phi Bằng, Nguyễn Hữu Hưng, Nguyễn Hồ Bảo Trân, 2019. *Nghiên cứu lâm sàng và bệnh tích trên chó nhiễm sán dây tại một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long*. Tạp chí Nông nghiệp & Phát triển nông thôn. tr 213-221.
18. Nguyễn Phi Bằng, Nguyễn Hữu Hưng, Nguyễn Hồ Bảo Trân, Nguyễn Thị Chúc, 2020. *Một số yếu tố nguy cơ liên quan đến tỷ lệ nhiễm sán dây trên chó tại các tỉnh Đồng bằng Sông Cửu Long*. Tạp chí phòng chống bệnh Sốt Rét và các bệnh Ký sinh trùng. Viện Sốt rét- Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương.
19. Nguyễn Thị Kim Lan, Nguyễn Thị Ngân, Phạm Diệu Thùy, Nguyễn Ngọc Biên, 2017. *Nghiên cứu nhiễm sán dây chó tại tỉnh Thanh Hóa*, Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y, tập XXIV, số 8, pp 52-57.
20. Nguyễn Thị Kim Lan, Nguyễn Thị Lê, Phạm Sỹ Lăng, Nguyễn Văn Quang, 2008. *Giáo trình ký sinh trùng học thú y*, Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Hà Nội.
21. Nguyễn Thị Ky, 1994. *Sán dây (Cestoda) ký sinh ở động vật nuôi Việt Nam*, Tập 1. NXB Khoa học và kỹ thuật Hà Nội, 320 Tr.
22. Nguyễn Thị Lê, Phạm Văn Lực, Hà Duy Ngọc, Nguyễn Văn Đức, Nguyễn Thị Minh, 1996. *Giun sán ký sinh ở gia súc Việt Nam*. NXB Khoa học kỹ thuật Hà Nội. 358 Tr.
23. Nguyễn Văn Đề và Phạm Văn Khuê, 2009. *Bệnh Ký sinh trùng truyền lây giữa người và động vật*. NXB Giáo dục Việt Nam, 191 Tr.
24. Nguyễn Văn Đề, 2007. *Bước đầu áp dụng Sinh học phân tử để xác định thành phần loài và sự phân bố sán lá, sán dây thường gặp ở Việt Nam*. Đề tài cấp Bộ. Bộ Y Tế.
25. Phạm Hùng Vân, 2009. *PCR và real-time PCR, Các vấn đề cơ bản và các áp dụng thường gặp*. NXB Y Học TPHCM. Thành phố Hồ Chí Minh, 197 Tr.
26. Phạm Sỹ Lăng, Nguyễn Hữu Hưng, Nguyễn Văn Diên, Nguyễn Bá Hiên, Bạch Quốc Thắng, Hạ Thúy Hạnh, 2015. *Bệnh Ký sinh trùng ở gia súc, gia cầm Việt Nam*, NXB Nông Nghiệp Hà Nội, Hà Nội.
27. Rahway N. U., 1986. *The meck veterinary manual*. USA: MECK & CO. pp 18-19.
28. Skrjabin K.I và Petrov A.M, 1963. *Nguyên lý môn giun tròn thú y*. Do Bùi Lập, Đoàn Thị Băng Tâm, Tạ Thị Vịnh dịch từ tiếng Nga, Nxb Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
29. Soulsby, E.J.L., 1982. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th edition, Bailliere Tindall, London, pp 809-820.
30. Triệu Nguyên Trung và Huỳnh Hồng Quang, 2010. *Một số ứng dụng kỹ thuật sinh học phân tử trong bệnh lý vi sinh học và ký sinh trùng học*. Viện Sốt rét ký sinh trùng côn trùng Quy Nhơn. Viện Sốt rét - Ký Sinh trùng - Côn trùng Quy Nhơn. Truy cập từ <http://www.impe-qn.org.vn/impe-qn/vn/portal/Info ./>.