

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 8400-3:2010

Xuất bản lần 1

**BỆNH ĐỘNG VẬT – QUY TRÌNH CHẨN ĐOÁN –
PHẦN 3: BỆNH GIUN XOẮN**

*Animal disease – Diagnostic procedure –
Part 3: Diagnostic procedure for trichinellosis disease*

HÀ NỘI – 2010

Lời nói đầu

TCVN 8400-3:2010 do Cục Thú y biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

TCVN 8400 *Bệnh động vật – Quy trình chẩn đoán* gồm có các phần sau:

- TCVN 8400-1:2010 *Bệnh động vật – Quy trình chẩn đoán – Phần 1: Bệnh lở mồm long móng;*
- TCVN 8400-2:2010 *Bệnh động vật – Quy trình chẩn đoán – Phần 2: Bệnh do vi khuẩn Streptococcus suis gây ra trên lợn;*
- TCVN 8400-3:2010 *Bệnh động vật – Quy trình chẩn đoán – Phần 3: Bệnh giun xoắn;*
- TCVN 8400-4:2010 *Bệnh động vật – Quy trình chẩn đoán – Phần 4: Bệnh Niu cát xon.*

Bệnh động vật – Quy trình chẩn đoán – Phần 3: Bệnh giun xoắn

Animal disease – Diagnostic procedure – Part 3: Trichinellosis disease

CẢNH BÁO – Việc áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không thể đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn sức khỏe thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn quy định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định quy trình chẩn đoán bệnh giun xoắn trên động vật.

2 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau:

Bệnh giun xoắn/bệnh giun bao (Trichinellosis)

Các loài giun xoắn thuộc giống *Trichinella*, ngành *Nemathelminthis*, lớp *Nematoda*, bộ *Trichocephalida*, họ *Trichinellidae*. Giun trưởng thành ký sinh ở ruột non còn ấu trùng sống ở cơ vân, cuộn tròn hình xoắn ốc, là bệnh truyền lây giữa người và động vật.

3 Thuốc thử và vật liệu thử

Chỉ sử dụng thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

3.1 Axit clohydric (HCl) 25 % hoặc 37 %.

3.2 Bột pepsin.

4 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

TCVN 8400-3:2010

- Bình lắng thủy tinh quả lê dung dịch 2 lít hoặc 3 lít
- Bình thủy tinh dung tích 2 lít hoặc 3 lít
- Bông cotton
- Cốc đong thủy tinh dài 50 ml
- Đĩa Petri
- Kéo
- Nhiệt kế
- Kính ép cơ chuyên dụng
- Kính hiển vi với các độ phóng đại 150 lần, 200 lần và 400 lần
- Lưỡi dao sử dụng một lần
- Màng lọc (cỡ lỗ 180 μm)
- Máy khuấy từ gia nhiệt
- Máy xay thịt
- Panh
- Phễu lọc thủy tinh
- Thanh khuấy từ.

5 Lấy mẫu

5.1 Mẫu huyết thanh

Sát trùng vị trí lấy mẫu máu bằng bông cotton. Dùng bơm kim tiêm vô trùng lấy từ 2 ml đến 3 ml, để đông chất lấy phần huyết thanh. Dùng bông khô tiệt trùng lau ở vị trí vừa lấy máu xong.

5.2 Mẫu cơ

Các vị trí thích hợp lần lượt là

- Lợn: Cơ hoành, cơ lưỡi, cơ vùng mặt, cơ bụng

- Ngựa: Cơ lưỡi, cơ mặt, cơ hoành, cơ cổ
- Gấu: Cơ hoành, cơ mặt, cơ lưỡi
- Chim: Cơ vùng đầu
- Cá sấu: Cơ mặt, cơ liên sườn.

Khối lượng mẫu cơ lấy tùy thuộc vào phương pháp xét nghiệm.

Các mẫu bệnh phẩm phải bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 4 °C, dán nhãn cùng với các thông tin về mẫu. Chuyển bệnh phẩm đến phòng thí nghiệm càng nhanh càng tốt trong điều kiện bảo quản lạnh khoảng 2 °C đến 8 °C.

CHÚ THÍCH: Khi tiến hành lấy mẫu bệnh phẩm phải được trang bị dụng cụ bảo hộ như găng tay cao su sử dụng một lần, lưỡi dao mổ sử dụng một lần. Lấy bệnh phẩm cẩn thận, tránh để mầm bệnh vương vãi ra ngoài môi trường.

6 Cách tiến hành

6.1 Chẩn đoán lâm sàng

6.1.1 Dịch tễ học

Bệnh thường xảy ra ở vùng nuôi (lợn) thả rông, có tập quán ăn thịt sống hoặc thịt chưa nấu chín như món gỏi, lạp, thịt chua...

Người, động vật có vú, lưỡng cư, chim ăn thịt đều có thể mắc bệnh.

Đường truyền lây: Sự lây truyền từ ký chủ này sang ký chủ khác là do ăn phải thịt chưa nấu hoặc nấu chưa chín có chứa ấu trùng giun xoắn.

6.1.2 Triệu chứng lâm sàng

Con vật bị sốt từ 39 °C đến 40 °C, bị tiêu chảy, có cảm giác ngứa, đi lại khó khăn, ăn uống không bình thường, khó nuốt, gầy yếu, hay nằm. Thủy thũng ở mắt.

6.1.3 Giải phẫu bệnh học

Thịt có màu trắng nhạt tới đỏ tím, thịt thường rắn hơn bình thường chỗ cơ viêm.

Phổi xuất huyết, tụ máu, thủy thũng, có khi nhồi huyết.

Não viêm, có khi xuất huyết.

TCVN 8400-3:2010

6.2 Chẩn đoán phòng thí nghiệm

6.2.1 Phát hiện ấu trùng giun xoắn

6.2.1.1 Phương pháp ép cơ

6.2.1.1.1 Nguyên tắc

Dưới tác dụng của lực cơ học, cơ được dàn mỏng bộc lộ ấu trùng giun xoắn.

6.2.1.1.2 Chuẩn bị mẫu

Lấy mẫu cơ khoảng 1 gam. Dùng dao, kéo cắt phần cơ thành những lát mỏng cỡ 3 mm x 10 mm

6.2.1.1.3 Cách tiến hành

Chia đều những lát cơ đã cắt vào hai bên của kính ép cơ.

Vặn chặt 2 đầu vít của kính ép cơ sao cho cơ được dàn mỏng tối đa.

Kiểm tra dưới kính hiển vi với độ phóng đại 150 lần hoặc 400 lần.

GHI CHÚ: Hiện nay, Tổ chức Thú y thế giới (OIE) không khuyến cáo kiểm tra thịt tại các cơ sở giết mổ bằng phương pháp này vì độ nhạy thấp và khó phát hiện giun xoắn không có kén như loài *T. pseudospiralis*, *T. papuae*, *T. zimbabwensis*. Tuy nhiên, phương pháp này dễ thực hiện và chi phí thấp và có thể áp dụng tại những nơi chưa có điều kiện thực hiện phương pháp tiêu cơ.

6.2.1.2 Phương pháp tiêu cơ với khuấy từ gia nhiệt

6.2.1.2.1 Nguyên tắc

Dưới tác dụng của pepsin và axit clohydric (HCL), cơ bị phân hủy, ấu trùng giun xoắn trong cơ sẽ được giải phóng.

6.2.1.2.2 Chuẩn bị mẫu

Dùng panh gấp mẫu cơ; dùng dao, kéo cắt 50 gam mẫu cơ thành những miếng nhỏ, dùng máy xay thịt nghiền nhỏ.

6.2.1.2.3 Cách tiến hành

Cho 1 lít nước ấm (từ 44 °C đến 46 °C) vào bình thủy tinh. Đặt lên máy khuấy từ gia nhiệt. Đặt máy khuấy từ ở nhiệt độ 45 °C. Cho thêm 8 ml dung dịch axit clohydric 25 %, 5 gam bột pepsin. Đảo đều dung dịch bằng thanh khuấy từ.

Bổ sung 50 gam mẫu cơ đã nghiền nhỏ.

Dùng nhiệt kế để kiểm tra nhiệt độ của dung dịch tiêu cơ, nhiệt độ của dung dịch tiêu cơ luôn phải được duy trì ở nhiệt độ trong khoảng từ 44 °C đến 46 °C.

Thời gian tiêu cơ: 30 min. Sau 30 min nếu quan sát phần đáy cốc vẫn còn thịt ở phía dưới có thể tiêu cơ thêm 10 min.

Đổ dung dịch tiêu cơ vào bình lắng cạn qua phễu lọc có màng lọc cỡ lỗ 180 µm. Để lắng 30 min.

Đổ dung dịch phía trên, thu lấy 40 ml phần cạn cho vào ống đong thủy tinh. Để lắng 10 min.

Đổ dung dịch phía trên, thu lấy 10 ml phần cạn đổ vào đĩa Petri.

Kiểm tra ấu trùng giun xoắn bằng kính hiển vi với độ phóng đại 150 lần hoặc 200 lần. Khi nghi ngờ bắt cứ ấu trùng nào cần kiểm tra lại hình thái ở độ phóng đại 400 lần.

CHÚ THÍCH: Đối với mẫu cơ có khối lượng trên 50 gam, các nguyên liệu cho tiêu cơ sẽ gấp đôi, thời gian tiêu cơ và các bước không thay đổi. Trong các cơ sờ giết mổ, có thể lấy mẫu gộp (lợn: 5 gam/con, ngựa: 10 gam/con)

Đối với tất cả nước rửa dụng cụ, dung dịch sau tiêu cơ đều phải được thu gom và đun ở 60 °C ít nhất 1 min để tiêu diệt ấu trùng có thể còn sót lại trước khi thải ra môi trường.

Đây là phương pháp được khuyến cáo áp dụng cho kiểm tra thịt tại các cơ sờ giết mổ. Phương pháp này có độ nhạy cao hơn phương pháp ép cơ. Độ nhạy của phương pháp tiêu cơ phụ thuộc vào khối lượng mẫu và vị trí của mẫu cơ lấy để kiểm tra.

6.2.2 Phát hiện kháng thể kháng ấu trùng giun xoắn

Phương pháp huyết thanh học bao gồm ELISA, Western blot, IFAT.... Trong đó, phương pháp ELISA được biết đến là phương pháp kinh tế, hiệu quả, đáp ứng an toàn chất lượng, có độ nhạy và độ đặc hiệu cao khi thực hiện trong các phòng thí nghiệm.

Hiện nay, bộ kit ELISA thương mại có trên thị trường và các quy trình xét nghiệm thực hiện tuân theo quy trình của nhà sản xuất bộ kit.

7 Kết luận

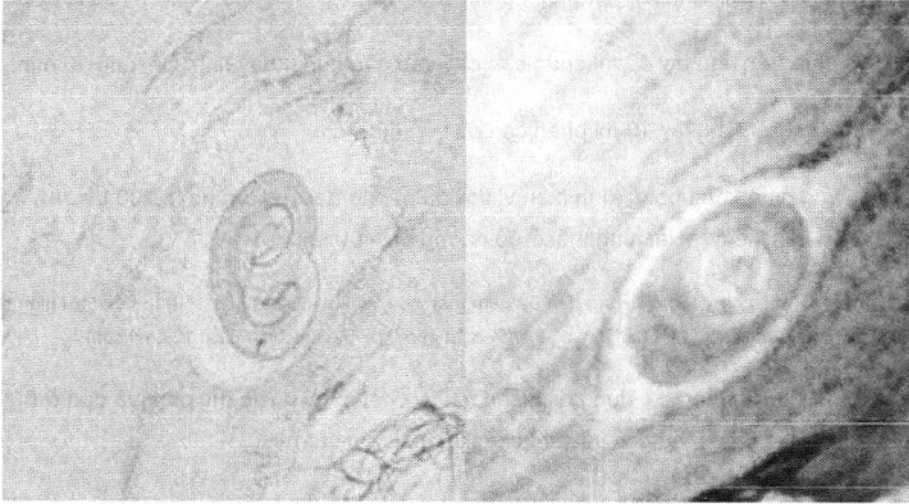
Động vật được xác định mắc bệnh giun xoắn khi có các đặc điểm dịch tễ học, triệu chứng lâm sàng của bệnh giun xoắn và kết quả dương tính với một trong những phương pháp xét nghiệm sau:

- Phương pháp ép cơ: Phát hiện ấu trùng xoắn trong cơ.
- Phương pháp tiêu cơ: Kết quả dương tính: Số ấu trùng thu hồi được (nếu có). Ấu trùng giun xoắn có dạng hình cuộn tròn (khi lạnh), chuyển động (khi ấm) hoặc hình chữ C (khi chết).

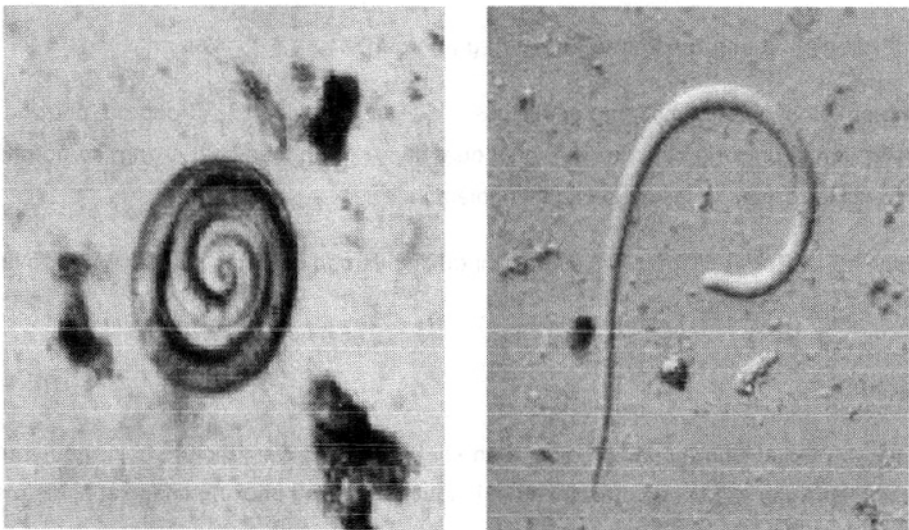
Phụ lục A

(Tham khảo)

Một số hình ảnh ấu trùng giun xoắn



A.1 – Hình ảnh ấu trùng giun xoắn trong cơ (phương pháp ép cơ)



A.1 – Hình ảnh ấu trùng giun xoắn sau khi tiêu cơ (Phương pháp tiêu cơ)

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Community Reference Laboratory for Parasite . Guideline for the detection of Trichinella larvae at the slaughterhouse or connected laboratory in a Quality Assurance System. 2006.
 - [2] Official Journal of the European Union . Commission Regulation No.2075/2005. Specific rules on official controls for Trichinella in meat. 338, 60-82. 2005.
 - [3] OIE . Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. 322-327. 2008.
 - [4] Pozio,E. 2001. Taxonomy of Trichinella and the epidemiology of infection in the Southeast Asia and Australian regions. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 32 Suppl 2: 129-132.
 - [5] Pozio,E. & Zarlenga,D.S. 2005. Recent advances on the taxonomy, systematics and epidemiology of Trichinella. Int. J. Parasitol. 35: 1191-1204.
 - [6] Soulsby E.J, 1982. Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals.
 - [7] Nguyễn Văn Đê, Phạm Văn Khuê. Bệnh ký sinh trùng truyền lây giữa người và động vật 2009,2:37-41.
 - [8] Phạm Sỹ Lăng. Ký sinh trùng và bệnh ký sinh trùng giữa người và động vật 2009,4:42-96
-