



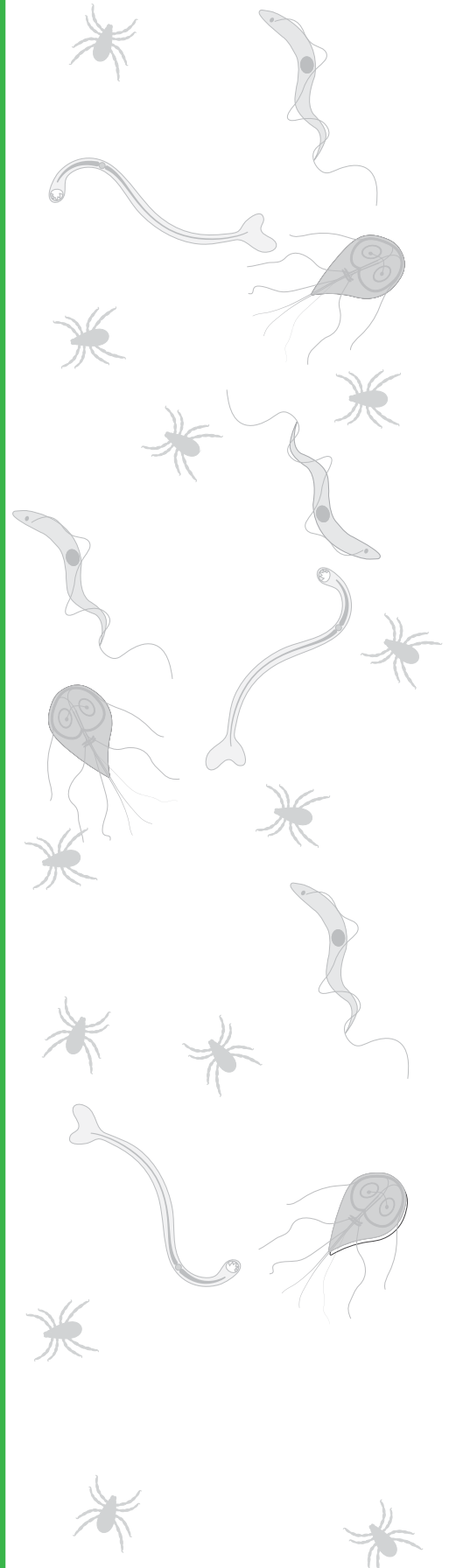
TroCCAP

Tropical Council for Companion Animal Parasites

Quy trình thao tác chuẩn (SOP) chẩn đoán nội và ngoại ký sinh trùng trên chó và mèo tại vùng nhiệt đới

Ấn bản đầu tiên, ngày 10 tháng 5 năm 2023

Xuất bản lần đầu bởi TroCCAP © 2023 bảo lưu mọi quyền. Ấn phẩm này được cung cấp với điều kiện là bất kỳ sự phân phối lại hoặc sao chép một phần hoặc toàn bộ nội dung dưới bất kỳ hình thức nào hoặc bằng bất kỳ phương tiện nào, bao gồm: điện tử, cơ học, sao chụp, ghi âm, hoặc các phương tiện khác được sự cho phép trước bằng văn bản của TroCCAP.



Tuyên bố miễn trừ trách nhiệm

Các hướng dẫn được trình bày trong tập sách này được viết bởi các thành viên của hiệp hội ký sinh trùng vùng nhiệt đới.

Những hướng dẫn thực hành này dựa trên tài liệu khoa học đã được xuất bản, được bình duyệt và dựa trên bằng chứng thực tế. Các tác giả của những hướng dẫn này đã có những nỗ lực đáng kể xác nhận thông tin làm cơ sở cho hướng dẫn được chính xác và cập nhật.

Hoàn cảnh cụ thể cần được cân nhắc phù hợp khi thực hiện theo các khuyến nghị trong hướng dẫn này.

Nhà tài trợ

Công ty trách nhiệm hữu hạn hội đồng ký sinh trùng vùng nhiệt đới ghi nhận sự đóng góp của các nhà tài trợ đã tạo điều kiện cho việc xuất bản các hướng dẫn này.



Mục lục

CÂN NHẮC VÀ KHUYẾN NGHỊ CHUNG	3
CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH PHÂN TIÊU CHUẨN.....	8
SOP 1: PHƯƠNG PHÁP PHÙ NỎI PHÂN ĐƠN GIẢN.....	9
SOP 2: PHƯƠNG PHÁP PHÙ NỎI KẾT HỢP LY TÂM	12
SOP 3: KỸ THUẬT BAERMANN	16
SOP 4: KỸ THUẬT SA LẮNG ĐƠN GIẢN	19
SOP 5: NHUỘM AXIT NHANH TÌM NOÃN NANG <i>CRYPTOSPORIDIUM</i>	22
CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH MÁU.....	24
SOP 6: PHƯƠNG PHÁP KNOTT'S TEST	24
SOP 7: PHƯƠNG PHÁP MICROHEMATOCRIT ĐỂ PHÁT HIỆN ẤU TRÙNG MICROFILARIA.....	27
SOP 8: PHẾT MÁU (GỒM PHẾT MÁU TỪ MAO MẠCH ĐẦU TAI)	28
SOP 9: PHẾT LỚP ĐỆM	31
CÁC PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH DA.....	33
SOP 10: PHƯƠNG PHÁP SỬ DỤNG BĂNG DÍNH	33
SOP 11: TRICHOGRAM/PHƯƠNG PHÁP NHỎ LONG	34
SOP 12: CẠO DA TÌM MÒ.....	35
SOP 13: SINH THIẾT DA	36
NHỮNG QUY TRÌNH KHÁC.....	37
SOP 14: KHÁM TÌM VE TAI	37
SOP 15: BỆNH DA DO <i>DEMODEX</i> THỂ MỤN MỦ (PUSTULAR DEMODICOSIS)	39
SOP 16: LẮNG CẶN NƯỚC TIỂU	40
TÀI LIỆU THAM KHẢO ĐỊNH LOẠI.....	41
TÀI LIỆU THAM KHẢO CÁC PHƯƠNG PHÁP VÀ VIDEO	44

Cân nhắc và khuyến nghị chung

Chẩn đoán

- Chó: chó sống ở vùng nhiệt đới nên được kiểm tra ký sinh trùng đường tiêu hóa ít nhất 3 tháng một lần để theo dõi hiệu quả của liệu trình kiểm soát ký sinh trùng và sự tuân thủ của chủ.
- Mèo: nên được xét nghiệm nội ký sinh thường xuyên (hai lần một năm) để theo dõi hiệu quả của liệu trình kiểm soát và sự tuân thủ của chủ.
- Các dấu hiệu lâm sàng có thể xảy ra trước khi ký sinh trùng đến giai đoạn được phát tán ra ngoài theo phân, trong trường hợp đó, sẽ dựa vào bệnh sử và các dấu hiệu lâm sàng để quyết định các hướng điều trị.
- Phương pháp phù nôi tiêu chuẩn hoặc đã sửa đổi được khuyến dùng để chẩn đoán phần lớn nhưng không phải tất cả các ký sinh trùng bên trong cơ thể chó và mèo. Trong một số trường hợp, các phương pháp khác như gạt rửa sa lắng hoặc các phương pháp chẩn đoán nhạy cảm hơn có thể sẽ phù hợp đối với các loại ký sinh trùng cụ thể và những phương pháp này được nhắc đến trong hướng dẫn các phương pháp xét nghiệm dành cho chó và mèo. (<https://www.troccap.com/canine-guidelines> và <https://www.troccap.com/feline-guidelines>).
- Nên thực hiện phết máu hoặc phết lớp đệm của máu đối với những động vật nghi nhiễm ký sinh trùng máu từ máu được lấy từ mao mạch tại đầu tai hoặc mép ngoài môi (xem video <https://www.youtube.com/shorts/8KCCQ1gqX9Hk>) hoặc máu tươi từ tĩnh mạch. Đối với phết lớp đệm, có thể sử dụng máu tươi từ tĩnh mạch hoặc máu đã được thu vào ống EDTA.
- Nên phết máu ngay sau khi lấy máu để giữ hình thái của ký sinh trùng ở tình trạng tốt nhất và cũng vì một số vi khuẩn trong máu có thể rời khỏi tế bào máu của vật chủ (ví dụ *Haemoplasma*).
- Các tác nhân gây bệnh do véc tơ truyền có thể được phát hiện bằng các xét nghiệm phòng thí nghiệm cụ thể khác nhau, một số có thể có sẵn dưới dạng xét nghiệm thương mại tại phòng khám.
- Trong một số trường hợp, nên tiến hành các phương pháp xét nghiệm phụ trợ bổ sung (ví dụ: công thức máu, phân tích nước tiểu, chụp X-quang và siêu âm tim) để có hướng điều trị và quản lý bệnh súc tốt hơn. Trong một số trường hợp, các công cụ chẩn đoán hình ảnh cũng có thể hữu ích để xác nhận chẩn đoán; ví dụ, siêu âm tim có thể cho thấy sự hiện diện của giun tim trong tim hoặc động mạch bên phải và chụp cắt lớp vi tính có thể cho thấy sự hiện diện của *Onchocerca lupi* trong khoang sau nhãn cầu.
- Sự phá hoại của các ngoại ký sinh trùng có kích thước tương đối lớn (ví dụ: ve, bọ chét và rận) thường có thể được nhìn thấy bằng mắt thường.
- Sự lây nhiễm mò nên được chẩn đoán bằng cách kiểm tra các mẫu cạo da (đối với *Demodex* spp., *Sarcoptes scabiei* và *Notoedres cati*), mẫu lông được nhổ hoặc mẫu băng dính (đối với *Lynxacarus radovskyi* và *Cheyletiella* spp.) bằng kính hiển vi hoặc khám tai bằng ống soi tai (đặc biệt đối với *Otodectes cynotis*).
- Không có kỹ thuật nào có độ nhạy 100% nên trong một số trường hợp, có thể không phát hiện được tình trạng nhiễm ký sinh trùng.

Kỹ thuật tối ưu khi sử dụng kính hiển vi để kiểm tra tiêu bản

- Khi bắt đầu soi, nâng giá đỡ mẫu lên gần với vật kính. Khi soi mẫu, có thể hạ giá đỡ mẫu xuống để tăng độ sắc nét
- Dưới vật kính 4X, sử dụng ốc to điều chỉnh tiêu cự để xem được rõ ràng.

- Kiểm tra dưới các vật kính 10X và 40X (20X hoặc 60X nếu sẵn có) phải đảm bảo quan sát toàn bộ lamén. Đảm bảo tiêu cự được điều chỉnh liên tục trong khi quan sát để xem được chính xác và rõ nét.
- Đảm bảo màng chắn được sử dụng để điều chỉnh cường độ chiếu sáng và độ tương phản khi chuyển đổi vật kính.
- Một số mẫu vật (ví dụ như vết máu) cần được kiểm tra trong điều kiện ngâm trong dầu để đánh giá đầy đủ (thấu kính vật kính 100X). Chỉ khi hoàn tất quá trình soi mẫu ở vật kính thấp hơn thì mới sử dụng vật kính 100X. Điều này đòi hỏi phải nhỏ một giọt dầu lên phiến kính/lamén rồi di chuyển vào vật kính 100X. Điều rất quan trọng là tránh làm nhiễm dầu vào các vật kính khô (40X, 60X) khác. Nếu điều này xảy ra, vật kính bị nhiễm bẩn phải được lau nhẹ bằng giấy lau kính chuyên dụng và trong một số trường hợp nên dùng một lượng nhỏ dung môi. Nên kiểm tra với nhà sản xuất kính hiển vi về công thức tốt nhất.

Những phương pháp xét nghiệm phân

- Các phương pháp xét nghiệm phân được coi là "ảnh chụp nhanh" (a snapshot in time). Nghĩa là các phương pháp phân tích phân chỉ đại diện cho một thời điểm nhất định là khi thu thập mẫu phân đó. Do đó, những mầm bệnh thải ra một cách không liên tục hoặc với số lượng ít có thể bị bỏ sót. Ngoài ra, chó và mèo có thể đang chứa các giai đoạn chưa trưởng thành tại thời điểm kiểm tra và chỉ bắt đầu thải trứng theo phân vài ngày sau khi có kết quả âm tính.
- Noãn/nang/trứng/ấu trùng thải ra gián đoạn hoặc không có trong phân, ngay cả trong các trường hợp đã có triệu chứng, sẽ làm phức tạp thêm chẩn đoán.
- Xét nghiệm từ 3 đến 5 mẫu trở lên, được thu thập vào các ngày luân phiên (ưu tiên) hoặc liên tiếp, có thể tăng khả năng tìm thấy các giai đoạn chẩn đoán trong phân.
- Mẫu phân còn mới sẽ mang lại kết quả tốt nhất. Nếu không thể kiểm tra phân tại thời điểm thu thập, có thể bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 3-5°C (không để đông lạnh!) trong vài ngày.
- Phân nên được kiểm tra đại thể để tìm máu, chất nhầy, đốt sán và giun tròn trước khi phân tích. Độ đặc và màu sắc (có thể là dấu hiệu của chảy máu đường tiêu hóa trên hoặc dưới) cũng nên được xem xét khi giải thích kết quả.

Phương pháp phù nổi

- Độ nhạy của các phương pháp phù nổi được xác định bởi tỷ trọng riêng của dung dịch phù nổi được sử dụng và noãn nang/nang/trứng được kiểm tra. Cần có sự chênh lệch đủ lớn giữa hai yếu tố này noãn nang/nang/trứng nổi lên. Xem ở bảng 1.
- Các dung dịch nổi có tỷ trọng riêng từ 1,18 đến 1,28 được khuyến dùng để chẩn đoán hầu hết các loại ký sinh trùng bên trong cơ thể chó và mèo.
- Một số dung dịch tuyền nổi có thể làm biến dạng noãn nang/nang/trứng/ấu trùng.
- Dung dịch nhớt hơn sẽ cần ly tâm.
- Việc lựa chọn dung dịch phù nổi thuộc vào phương pháp phù nổi được sử dụng và đối tượng ký sinh trùng.
- Sử dụng lượng phân đã cân và lượng dung dịch phù nổi đã đong trước có thể cho phép đánh giá định lượng.

- Khả năng phục hồi lại như ban đầu của các giai đoạn của ký sinh trùng có thể sẽ bị thay đổi nếu phân đã được đông lạnh trước khi xét nghiệm hoặc được bảo quản bằng formalin (2% formaldehyde).

Bảng 1. Khả năng nổi một số trứng ký sinh dựa trên tỷ trọng riêng trung bình

<p><u>Nổi một cách tương đối dễ dàng với tất cả các phương pháp phù nổi:</u></p> <p><i>Cystoisospora</i> spp. (cầu trùng)</p> <p><i>Ancylostoma</i> spp. và <i>Uncinaria</i> sp. (giun móc)</p> <p><i>Toxocara canis</i> (giun tròn-giun đũa)</p> <p><i>Toxocara cati</i> (giun tròn-giun đũa)</p> <p><i>Toxascaris leonina</i> (giun tròn-giun đũa)</p>
<p><u>Yêu cầu dung dịch có tỷ trọng cao hơn và ly tâm</u></p> <p><i>Trichuris vulpis</i> (giun tóc)</p> <p>Một số trứng sán lá, ví dụ: <i>Opisthorchis</i> spp., <i>Clonorchis</i> spp., <i>Haplorchis</i> spp., <i>Platynosomum</i> spp. (sán lá gan và sán lá ruột non mèo) N.B. Âm tính giả phổ biến; sử dụng sa lắng có thể nhạy cảm hơn.</p> <p><i>Taenia</i> spp., <i>Echinococcus</i> spp., N.B. Âm tính giả phổ biến</p> <p><i>Linguatula</i> spp. (giun lưỡi)</p>
<p><u>Khó nổi; có thể bị vỡ trong các dung dịch nổi hoặc quá nặng để nổi</u></p> <p><i>Physaloptera</i> spp. (giun dạ dày); vỡ</p> <p><i>Spirocerca lupi</i> (giun thực quản); vỡ</p> <p><i>Dipylidium caninum</i> (sán dải chó); nặng N.B. Âm tính giả phổ biến</p> <p><i>Diphylobothrium</i> spp. (sán dây); <i>Spirometra</i> spp. (sán dây); nặng</p> <p>Trứng sán lá ví dụ: <i>Paragonimus</i> spp., <i>Echinostoma</i> spp., <i>Alaria</i> spp.; nặng</p>

Bảng 2. Những dung dịch phổ biến được dùng trong phù nổi và tỷ trọng của chúng

Dung dịch	S.G.	Công thức
Đường Sheather	1.27-1.3	Hòa tan 454 g đường hạt trong 355 mL nước ấm và 6 mL formaldehyde (37-40% formaldehyde) Ghi chú: Có thể thay thế 30 mL 10% formalin; giảm 355 mL nước thành 325 mL
Muối bão hòa	≈ 1.2	350 to 400 g NaCl in 1 L of water
Sunphat magiê	≈ 1.2	Hòa tan 350 đến 400 g MgSO ₄ trong 1 L nước; 700 g MgSO ₄ nếu là dung dịch ngậm nước.
Sunphat đồng	≈ 1.18 – 1.2 (1.25)	Hòa tan 330 đến 390 g ZnSO ₄ trong 900 mL nước
Nitrat Natri	≈ 1.18 – 1.2	Hòa tan 315 đến 400 g trong 700 mL nước

Tất cả các công thức trên chỉ là ước lượng. Nên sử dụng tỷ trọng kế để xác định chính xác tỷ trọng của dung dịch. Dung dịch phải ở nhiệt độ phòng khi kiểm tra tỷ trọng.

Để biết ví dụ về cách chuẩn bị và đo tỷ trọng của dung dịch phù nổi, hãy tham khảo: <https://youtu.be/Skx7JDUL6IE>

Kỹ thuật Baermann

- Kỹ thuật này được dùng để thu thập và xác định ấu trùng giun tròn từ phân.
- Lượng phân được sử dụng ảnh hưởng đến độ nhạy của phương pháp này. Lượng phân ít hơn có thể làm độ nhạy bị thấp hơn khi có số lượng ấu trùng ít.
- Làm lạnh phân trước khi tiến hành làm Baermann có thể làm giảm sự di chuyển của ấu trùng và sau đó chúng sẽ dần hồi phục lại.
- Nhiệt độ của nước và phòng nơi tiến hành Baermann có thể ảnh hưởng đến sự phục hồi của ấu trùng. Nhiệt độ phải tương tự như nhiệt độ mà ấu trùng sẽ tiếp xúc trong môi trường tự nhiên của chúng.
- Nước được sử dụng trong hệ thống Baermann phải được làm ấm đến 42°C (hoặc đến khi vẫn có thể chạm tay vào được).
- Nên ưu tiên sử dụng vải mỏng hơn là gạc và nên sử dụng một cách tối thiểu số lớp để tránh ấu trùng bị mắc kẹt.

Kỹ thuật sa lắng

- Trong khi quá trình lắng cặn thường được sử dụng phổ biến nhất đối với các loại trứng có kích thước lớn và nặng, chẳng hạn như trứng của sán và bọc trứng của *Dipylidium*, tất cả các giai đoạn chẩn đoán sẽ chìm trong nước.
- Thách thức đối với quá trình lắng cặn là khả năng nhìn thấy các vật thể nhỏ hơn. Do đó, đây không phải là phương pháp được ưa chuộng đối với nhiều giai đoạn chẩn đoán trong phân. Cần nhắc sử dụng phương pháp phù nổi kèm với ly tâm với dung dịch có tỷ trọng >1,25 hoặc nên lọc mẫu phân đã đồng nhất qua rây lọc 0,1 mm trước khi lắng.
- Lượng phân được sử dụng và lượng chất lắng được kiểm tra sẽ ảnh hưởng đến độ nhạy của quá trình lắng cặn.
- Phương pháp này cũng được sử dụng để thu thập và xác định ấu trùng từ phân.

Kỹ thuật phát hiện ký sinh trùng đường máu

- Ký sinh trùng đường máu bao gồm ấu trùng giun tròn và các giai đoạn khác nhau của đơn bào, phần nhiều trong số đó là do vector lây truyền. Ngoài ra còn có một số vi khuẩn ký sinh trong máu quan trọng truyền qua vector như *Ehrlichia* và *Haemoplasmas*.
- Nhìn chung, các phương pháp sử dụng một số dạng máu đã được cô đặc (ví dụ: Modified Knott's test để tìm microfilaria, phết lớp màng đệm để tìm mầm bệnh trong bạch cầu) và nhuộm màu có độ nhạy cao hơn so với máu phết trực tiếp.
- Ngoài việc kiểm tra máu để tìm các sinh vật, những bộ kit thương mại và các phòng thí nghiệm tham chiếu có thể xác định sự hiện diện của kháng thể, kháng nguyên hoặc DNA của các loại ký sinh trùng khác nhau. Các kết quả về kháng thể phải được diễn giải dựa trên sự hiểu biết về vòng đời, vì những kết quả này chỉ có thể cho thấy rằng đã có sự tiếp xúc với ký sinh trùng mà không thể xác định được sự hiện diện của ký sinh trùng vào thời điểm hiện tại. Các kháng thể đối với mầm bệnh có thể tồn tại đến một năm sau khi khỏi bệnh. Xem hướng dẫn về chó/mèo để biết thông tin về cách sử dụng chúng để chẩn đoán.

Kỹ thuật chẩn đoán ngoại ký sinh trùng

- Khi xác định vị trí kiểm tra và thu thập mẫu (như nhỏ lông, băng dính), nên xem xét khả năng có thể quan sát được ký sinh trùng.
- Chó và mèo có lớp lông tơ hoặc lông dài, việc vạch lông ra là rất quan trọng để tìm ký sinh trùng ở vùng đầu tai và trên da.

Các phương pháp phân tích phân tiêu chuẩn

Thu thập và bảo quản phân

Muốn phân tích tốt một mẫu phân cần bắt đầu bằng phương pháp lấy phân. Phân nên được thu thập ngay sau khi thải ra (từ trên mặt đất hoặc khay vệ sinh), được bảo quản ở nhiệt độ từ 3 đến 5°C trước khi xét nghiệm (trừ khi thực hiện xét nghiệm Baermann) và cần phải xét nghiệm trong vòng 5 ngày kể từ ngày thu thập. Thu mẫu ngay sau khi được thải ra ngoài giúp đảm bảo không bị nhầm lẫn giữa những cá thể chó/mèo khác nhau và giảm nguy cơ tạp nhiễm với giun tròn có trong đất. Có thể thu thập trực tiếp từ trực tràng, nhưng lượng mẫu lớn hơn thường thu được từ phân bên ngoài môi trường, điều này có thể làm tăng số lượng xét nghiệm có thể được thực hiện và đảm bảo đủ lượng phân cho xét nghiệm phù nổi, sa lắng hay Baermann.

Mẫu phân phải được đặt trong lọ sạch, có dán nhãn nhận dạng động vật và ngày thu thập. Khách hàng nên được yêu cầu mang mẫu phân đã được thu đến phòng khám càng sớm càng tốt để phân tích. Phân sau khi thu và trong quá trình vận chuyển đến phòng khám cần được bảo quản mát. Khi đến phòng khám, giữ lạnh cho đến khi tiến hành phân tích sẽ giúp làm chậm quá trình phát triển của ký sinh trùng, giúp việc xác định dễ dàng hơn.

Mặc dù nhiều ký sinh trùng không lây nhiễm trong phân tươi, nhưng ở những khu vực có *Echinococcus* spp., nên thực hiện các biện pháp phòng ngừa bổ sung trong quá trình thu thập và phân tích mẫu.

Số vòng quay mỗi phút (RPM) so với lực g (g-force)

Đối với nhiều máy ly tâm, có sẵn một bảng để xác định lực g (hoặc lực ly tâm tương đối) đạt được dựa trên vòng/phút (số vòng quay trên phút). Tuy nhiên, trong trường hợp không có sẵn nó có thể được tính như sau:

$$\text{Lực g} = 1,12 \times \text{Bán kính rôto tính bằng mm} \times (\text{rpm}/1000)^2$$

Có thể sử dụng những công cụ tính toán online (ví dụ: http://insilico.ehu.es/mini_tools/rcf_rpm.php).

S.G. (tỷ trọng riêng)

S.G. là trọng lượng trên một đơn vị thể tích so với nước và có thể được xác định bằng trọng lượng của dung dịch hoặc thông qua tỷ trọng kế. Tỷ trọng kế nên được sử dụng ở nhiệt độ phòng.

Nếu sử dụng cân, dung dịch 1 L nặng 1,2 kg có S.G. là 1,2.

Nếu sử dụng tỷ trọng kế, hãy đảm bảo phạm vi phù hợp với dung dịch. Phạm vi tỷ trọng kế điển hình là từ >1,0 đến 1,22 và từ 1,2 đến 1,4.

Để biết ví dụ về cách chuẩn bị và đo S.G. của dung dịch phù nổi, hãy tham khảo: <https://youtu.be/Skx7JDUL6IE>

SOP 1: Phương pháp phù nổi phân đơn giản

Quy trình tuyển nổi phân đơn giản phù hợp để tìm và xác định phần lớn trứng giun tròn, một số trứng sán dây, giun lươi (*Linguatula serrata*), nang và hợp trứng đơn bào trong phân chó và mèo. Phương pháp này nhanh chóng, rẻ tiền và không cần sử dụng máy ly tâm. Tuy nhiên, nó không bao gồm bước cô đặc và không thể sử dụng các dung dịch tuyển nổi nhớt có S.G. cao, làm giảm độ nhạy khi có ít trứng/nang trong phân và đối với một số ký sinh trùng có S.G. trứng cao hơn một chút (ví dụ: *Trichuris*).

Hóa chất/dụng cụ

- Dung dịch phù nổi (ví dụ: nước muối bão hòa hoặc natri nitrat)
- Lam kính và lamén
- Cốc có miệng rộng (ví dụ: cốc đựng nước tiểu có thể tái sử dụng/rửa được hoặc cốc nhựa/giấy dùng một lần)
- Ống falcon 10-15 mL dùng một lần hoặc lọ thủy tinh có miệng hẹp 10-15 mL có thể tái sử dụng
- Rây lọc, gạc hoặc vải lọc
- Que khuấy (ví dụ: que đũa)

Chuẩn bị dung dịch phù nổi có tỷ trọng 1.20

- Natri nitrat
Hòa tan 315-400 g Natri nitrat trong khoảng 700 mL nước cất ấm (dH₂O). Thêm dH₂O cho đến khi toàn bộ dung dịch nặng 1200 g (tương đương với tỷ trọng là 1,20). Trộn đều dung dịch và sau đó kiểm tra tỷ trọng bằng tỷ trọng kế.
- Nước muối bão hòa
Hòa tan muối (NaCl, ~300-400 g) trong 1000 mL dH₂O ấm trong khi khuấy liên tục. Tiếp tục thêm nhiều muối hơn cho đến khi không còn tan được nữa (tức là vẫn thấy muối kết tủa trong dung dịch sau khi nguội). Kiểm tra tỷ trọng bằng tỷ trọng kế.

Tiến hành

1. Sử dụng que khuấy lấy ~2 g phân vào cốc có miệng rộng (cốc nhựa dùng 1 lần hoặc cốc có thể rửa đi và dùng lại)
2. Thêm ~4 mL dung dịch phù nổi vào cốc và trộn kỹ với phân bằng que khuấy
3. Thêm ~4 mL dung dịch phù nổi vào cốc và trộn thêm
4. Lọc hỗn dịch phân này qua rây lọc, gạc hoặc vải lọc vào cốc mới
5. Đổ hết lượng dung dịch chứa trong cốc vào ống falcon 10 đến 15 mL được đỡ trên giá hoặc giá đỡ
6. Tiếp tục thêm hỗn dịch đã lọc hoặc thêm dung dịch phù nổi cho đến khi hình thành bề mặt vồng lên trên miệng ống nghiệm. Nên sử dụng ống nhỏ giọt để thêm những ml cuối cùng của dung dịch phù nổi để đảm bảo mặt vồng lên được hình thành một cách cẩn thận
7. Cẩn thận đặt một miếng lamén (khoảng 22 x 22 mm) lên trên ống nghiệm
8. Để yên trong 10 đến 15 phút
9. Cẩn thận nhấc lamén ra khỏi ống cùng với giọt hỗn dịch ở mặt dưới, đặt lên lam kính

10. Kiểm tra dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại thấp (vật kính 10x; độ phóng đại 100 lần) đối với các giai đoạn khác nhau của giun sán và ở độ phóng đại lớn (vật kính 40x; độ phóng đại 400 lần) đối với các giai đoạn đơn bào

Để được hướng dẫn từng bước với những hình ảnh hữu ích về phương pháp này, hãy tham khảo: http://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/Flotation/Simple_flotation/Purpose.htm

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi sau khi hoàn thành thí nghiệm.

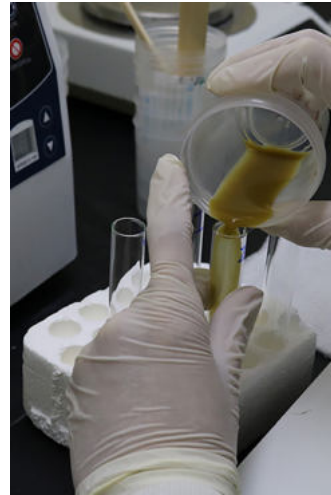
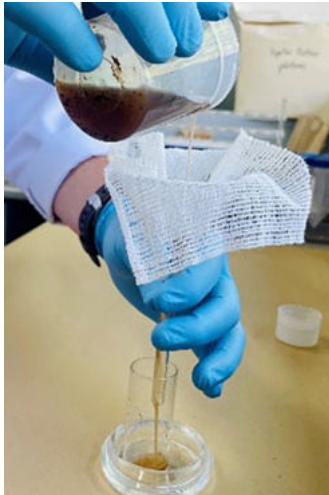
Quy trình dọn dẹp

Đổ natri nitrat vào thùng chứa chất thải hóa học thích hợp
Vứt bỏ tất cả các lam kính, nắp đậy và các ống nghiệm dùng một lần trong hộp đựng vật sắc nhọn
Làm sạch tất cả các thiết bị (bộ lọc trà, cốc tái sử dụng) bằng dung dịch thuốc tẩy 10%
Lau sạch khu vực làm việc bằng cồn 70%



Đổ khoảng 2 g phân vào cốc miệng rộng. Thêm khoảng 4 mL dung dịch tuyến nổi. Trộn kỹ. Thêm khoảng 4 mL dung dịch nổi nổi và trộn với nhau.

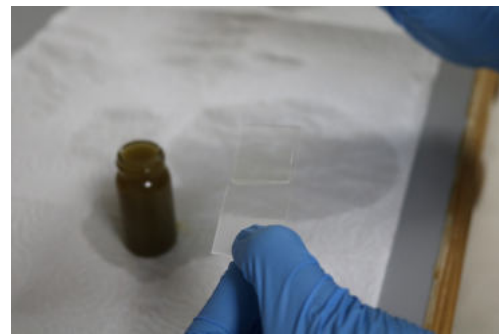




Lọc dung dịch qua gác, vải thưa hoặc lưới lọc trà vào cốc sạch.



Đổ dung dịch đã lọc vào ống nghiệm hoặc lọ thủy tinh miệng hẹp dung tích 10 đến 15 mL. Thêm dung dịch nổi bổ sung cho đến khi hình thành mặt vòng. Đậy lamen lên miệng lọ.



Sau 10 đến 15 phút, lấy lamen ra và đặt lên lam kính.

SOP 2: Phương pháp phù nổi kết hợp ly tâm

Phương pháp phù nổi kết hợp ly tâm sử dụng kẽm sunfat [tỷ trọng 1.18] phù hợp để phân lập và xác định các nang và noãn nang của đơn bào trong phân, đặc biệt là bào nang *Giardia duodenalis*. Phương pháp phù kết hợp ly tâm sử dụng đường Sheather [tỷ trọng 1.27] có độ nhạy cao hơn đối với việc phân lập những loại trứng giun tròn nặng hơn, như trứng của *Trichuris vulpis*, *Spirocerca lupi* và sán lá *Platynosomum*. Phù nổi ly tâm không phải là phương pháp đất liền tuy nhiên nó yêu cầu phải sử dụng máy ly tâm.

Hóa chất/dụng cụ

- Dung dịch phù nổi (ví dụ: dung dịch Kẽm sunfat hoặc dung dịch đường Sheather)
- Lugol's iodine
- Lam kính và lamén
- Cốc hoặc lọ có miệng rộng (ví dụ: cốc đựng nước tiểu có thể tái sử dụng/rửa được hoặc cốc nhựa/giấy dùng một lần)
- Ống falcon 10-15 mL dùng một lần hoặc tái sử dụng
- Rây lọc, gạc hoặc vải lọc
- Que khuấy (ví dụ: que đũa lười)
- Máy ly tâm dành cho ống 10 – 15 mL full swing

Chuẩn bị dung dịch phù nổi

- Dung dịch kẽm sunfat (tỷ trọng 1.18)
Hòa tan 331 g kẽm sunfat trong 900 mL nước cất ấm (dH₂O). Tiếp tục thêm dH₂O cho đến khi toàn bộ dung dịch nặng 1180 g (tương đương với tỷ trọng là 1,18). Trộn dung dịch và sau đó kiểm tra tỷ trọng bằng tỷ trọng kế. Lưu ý: nếu sử dụng kẽm sulphate heptahydrate thì sẽ cần nhiều hơn (ví dụ: khoảng 750 g)
- Đường Sheather (tỷ trọng 1.27)
Chuẩn bị 355 mL nước nóng, thêm (trong khi khuấy) 454 g đường. Thêm 6 mL 10 % formalin (10 mL 40% formaldehyde với 90 mL nước cất) cho mỗi 454 g đường để tránh bị tạp nhiễm nấm. Điều chỉnh bằng tỷ trọng kế để đảm bảo tỷ trọng là 1,27.

Tiến hành

1. Sử dụng que khuấy lấy ~2 g phân vào cốc
2. Thêm ~4 mL dung dịch phù nổi vào cốc và trộn kỹ với phân bằng que khuấy
3. Thêm ~4 mL dung dịch phù nổi vào cốc và trộn thêm
4. Lọc hỗn dịch phân này qua rây lọc, gạc hoặc vải lọc vào cốc mới
5. Đổ hết lượng dung dịch chứa trong cốc vào ống falcon 10 đến 15 mL được đỡ trên giá hoặc giá đỡ
6. Ly tâm ở 500 g trong 5 phút
7. Cẩn thận thêm nhiều dung dịch nổi hơn cho đến khi mặt vòng hình thành ở miệng ống nghiệm và đặt một tấm lamén (khoảng 22 x 22 mm) lên trên
8. Để yên 5 đến 10 phút

9. Cần thận nhắc lamên ra khỏi ống cùng với giọt hỗn dịch ở mặt dưới, đặt lên lam kính. Thêm một giọt Lugol's iodine vào lam kính trước khi đặt lamên lên có thể giúp dễ quan sát nang Giardia hơn.
10. Kiểm tra dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại nhỏ (vật kính 10x; độ phóng đại 100 lần) đối với các giai đoạn khác nhau của giun sán và ở độ phóng đại lớn (vật kính 40x; độ phóng đại 400 lần) đối với các giai đoạn đơn bào.

Phương pháp xét nghiệm với máy ly tâm

1. Làm theo các bước từ 1 đến 5 ở trên
2. Cần thận thêm dung dịch phù nổi cho đến khi hình thành mặt vòng ở miệng ống nghiệm và đặt một tấm lamên (khoảng 22 x 22 mm) lên trên
3. Ly tâm ở 500 g trong 10 phút
4. Làm theo bước 9 và 10 ở trên

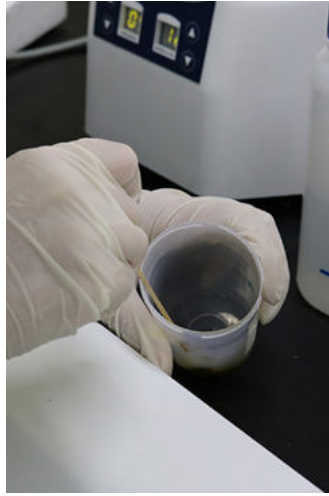
Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi sau khi hoàn thành thí nghiệm.

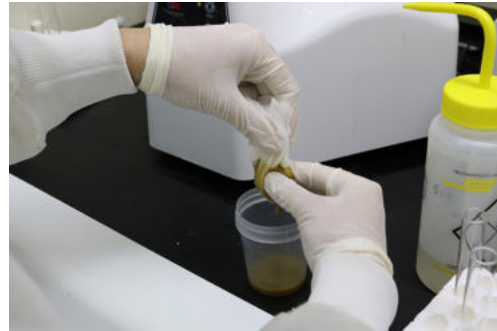
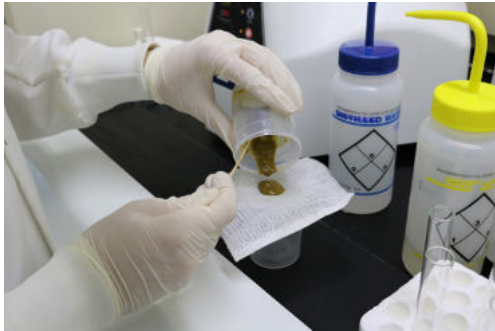
Quy trình dọn dẹp

Đổ bỏ kẽm sunfat vào thùng chứa chất thải hóa học thích hợp
Vứt bỏ tất cả các lam kính và lamên vào thùng đựng vật sắc nhọn
Vệ sinh tất cả các thiết bị (rây lọc, ống nghiệm thủy tinh) bằng dung dịch thuốc tẩy 10%
Lau sạch khu vực làm việc bằng cồn 70%





Cân khoảng 2 g phân cho vào một cốc sạch. Trộn đều phân với dung dịch phù nổi



Đổ dung dịch qua vải/gạc/rây lọc trà; bóp nhẹ thu thập dung dịch. Đổ dung dịch vào ống nghiệm.



Tiến hành ly tâm ống với tốc độ 500 g trong 5 phút

Đối với máy ly tâm có giá đặt ống, có thể ly tâm ống với lamên đặt ở trên. Đối với những loại máy ly tâm khác, sau khi ly tâm xong phải đổ đầy dung dịch phù nổi cho đến khi có mặt vòng lên rồi đặt bằng lamên; để yên trong 5-10 phút.

Nhấc lamên lên và đặt lên một lam kính. Kiểm tra với độ phóng đại 100 lần.

SOP 3: Kỹ thuật Baermann

Kỹ thuật Baermann phù hợp để phân lập và định danh ấu trùng giun tròn (ví dụ *Strongyloides stercoralis* và giun phổi) trong phân tươi.

Hóa chất/dụng cụ

- Nước cất (dH₂O)
- Phễu nhựa, ống cao su và kẹp hoặc ống ly tâm (ống falcon) 50 mL
- Lưới lọc, gạc hoặc vải lọc
- Tấm, dây cao su hoặc ray

Chuẩn bị thiết bị

Cố định phễu thủy tinh hoặc nhựa vào giá đỡ và nối ống cao su có kẹp với thân phễu.

Tiến hành

1. Đặt 3 đến 5 g phân vào giữa miếng vải/gạc hình vuông lớn và buộc bằng dây chun, dây hoặc tấm để tạo thành túi
2. Đặt vào trong bộ lọc trà và để trong phễu. Nếu sử dụng ống ly tâm 50 mL, để trực tiếp túi vào rây
3. Thêm nước cất ấm (dH₂O) vào phễu cho đến khi nước bao phủ phần trên của túi phân hoặc thêm nước vào ống 50 mL cho đến khi ngập phân.
4. Để yên trong 12 đến 24 tiếng hoặc để qua đêm (đối với ấu trùng giun phổi) hoặc 6 tiếng (đối với giun lợn *stercoralis*).
5. Nếu sử dụng phễu, hãy mở nút trên ống cao su và thu 2 mL cặn đã lọc vào ống nghiệm. Nếu sử dụng ống falcon 50 mL, chuyển sang bước 7.
6. Để yên ống nghiệm trong 30 phút hoặc ly tâm ở 500 đến 1000 g trong 2 phút.
7. Cẩn thận loại bỏ phần nổi phía trên bằng pipet, để lại ~ 0,5 mL cặn không bị xáo trộn.
8. Hút 1 đến 2 giọt cặn đã lắng đọng và cho trên lam kính, đậy lại bằng lamén. Lặp lại nếu cần thiết.
9. Kiểm tra dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại thấp (vật kính 10x; độ phóng đại 100 lần) để phát hiện ấu trùng và ở độ phóng đại lớn hơn (vật kính 40x; độ phóng đại 400 lần) để xác nhận sự hiện diện của gai sinh dục của giun đực, thực quản và hình dạng đuôi.

Để có hướng dẫn từng bước thay thế với các hình ảnh hữu ích về quy trình này, hãy tham khảo: <http://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/Baermann/Purpose.htm>

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi sau khi hoàn thành thí nghiệm.

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các lam kính và lamén vào thùng đựng vật sắc nhọn.

Vệ sinh tất cả các thiết bị (rây, phễu, ống nghiệm thủy tinh) bằng dung dịch thuốc tẩy 10%.

Lau sạch khu vực làm việc bằng cồn 70%

Baermann; sử dụng phễu có ống và kẹp.

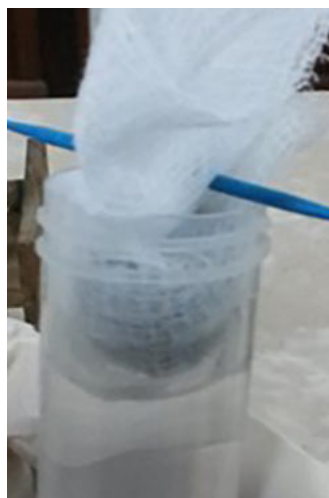


Cân 3 đến 5 g phân và đặt trên một tấm vải lọc/gạc. Đặt vào một rây lọc và sau đó để trong phễu. Đổ đầy nước. Sau khi để qua đêm, mở kẹp và thu 2mL cặn.

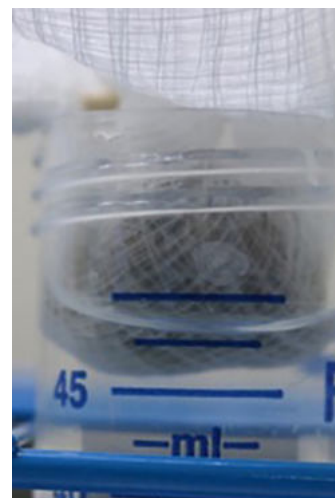
Phương pháp dùng ống ly tâm (50mL)



Step 1.



Step 2.



Step 3.

Bước 1: Đặt mẫu phân vào giữa tấm vải lọc/gạc

Bước 2: Treo vải có chứa phân trên miệng ống falcon 50. Thêm nước ấm cho đến khi ngập miếng vải

Bước 3: Sau khi để yên khoảng 6-24h (tùy thuộc vào từng loại KST), thu phần lắng để kiểm tra

SOP 4: Kỹ thuật sa lắng đơn giản

Kỹ thuật sa lắng phân phù hợp để phân lập và xác định trứng có tỷ trọng nặng hơn, đặc biệt là trứng của sán lá (ví dụ *Alaria* spp., *Paragonimus* spp., v.v.) và một số sán dây (ví dụ *Spirometra* spp., *Diphyllobothrium latum*). Phương pháp này nhanh, rẻ tiền và không cần sử dụng máy ly tâm.

Hóa chất/dụng cụ

- Nước cất (dH₂O)
- Dung dịch xanh metylen 5%
- Lưới lọc (kích thước lỗ xấp xỉ 0.1 mm)
- Cốc/hũ nhựa
- Ống hình nón 50 mL

Tiến hành

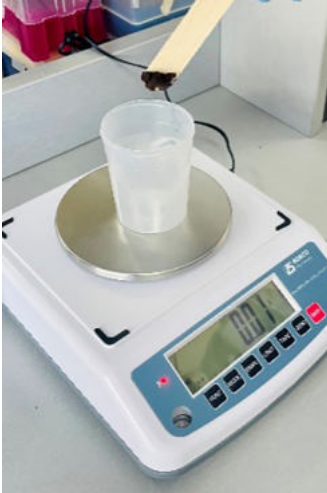
1. Ngâm và trộn kỹ 5 g phân trong 50 mL dH₂O
2. Lọc qua lưới lọc vào bình nhựa.
3. Đổ tất cả dung dịch vào ống falcon 50 mL. Kích thước lỗ tối thiểu là 150 µm.
4. Để lắng trong 5 phút hoặc có thể thay thế bằng ly tâm ở tốc độ 650 g/phút trong 10 phút
5. Loại bỏ phần nổi phía trên
6. Thêm nước, Để lắng 5 phút.
7. Đổ dịch nổi cẩn thận
8. Có thể nhỏ 1-2 giọt dung dịch xanh metylen 5% vào ống nghiệm để nhận biết (trứng sán lá màu vàng hoặc không màu trên nền xanh)
9. Hút 1-2 giọt chất lắng cho lên lam kính, đậy bằng lamén và kiểm tra bằng kính hiển vi quang học ở độ phóng đại thấp (vật kính 4X (độ phóng đại 40 lần) và vật kính 10X (độ phóng đại 100 lần))

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi hoàn thành thí nghiệm

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các lam kính và lamén vào thùng đựng vật sắc nhọn
Vệ sinh tất cả các dụng cụ (rây lọc, ống nghiệm thủy tinh) bằng dung dịch thuốc tẩy 10%
Lau sạch khu vực làm việc bằng cồn 70%

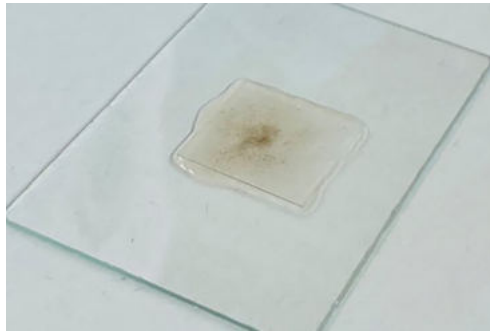


Ngâm 5 g phân trong 50 mL dH₂O rồi trộn đều.



Cho hỗn hợp phân/nước qua rây/gạc/sàng lọc trà vào lọ nhựa để lọc. Đổ tất cả lượng chứa vào ống nghiệm hình nón (50 mL). Để lắng trong 5 phút.

Không có trong hình: Thêm nước vào ống, trộn, để lắng trong 5 phút và cẩn thận đổ phần nổi phía trên.



Chuyển 1-2 giọt cặn vào lam kính hiển vi, đặt lam kính lên và kiểm tra bằng kính hiển vi quang học ở công suất thấp.

SOP 5: Nhuộm axit nhanh tìm noãn nang *Cryptosporidium*

Noãn nang của *Cryptosporidium* spp. rất nhỏ và khó phát hiện khi kiểm tra thiếu kinh nghiệm, phương pháp này cung cấp cách nhuộm cụ thể và cho phép phát hiện dễ dàng hơn.

Hóa chất

- Dung dịch Methanol tuyệt đối
- Dung dịch Kinyoun carbol fuchsine
- Axit sunfuric 10% (H_2SO_4)
- 3% Malachit xanh

Tiến hành

1. Phết một lớp phân mỏng lên lam kính và để khô tự nhiên
2. Cố định bằng dung dịch Methanol tuyệt đối trong 10 phút và để khô
3. Nhuộm với Kinyoun carbol fuchsine để lạnh (đã lọc) trong 5 phút
4. Rửa kỹ dưới vòi nước cho đến khi không còn thuốc nhuộm thừa nào nữa (bước rất quan trọng có thể mất từ 3 đến 5 phút)
5. Khử màu bằng dung dịch H_2SO_4 10% (đối với vết phết mỏng, nhúng nhanh vào lọ Coplin sau đó rửa ngay bằng nước máy là đủ)
6. Nhuộm thêm với 3% Malachite green trong 2-5 phút
7. Rửa lại với nước và thấm khô
8. Kiểm tra dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại lớn (vật kính 40x; độ phóng đại 400X) để tìm noãn nang

Kết quả

Oocyst được coi là có tính bền với axit (có màu hồng sáng), có hình dạng từ bầu dục đến tròn (đường kính 4-6 μm), xung quanh có một quầng sáng không màu. Vi khuẩn và nấm men sẽ có màu xanh lá cây khi nhuộm.

Biện pháp bảo hộ

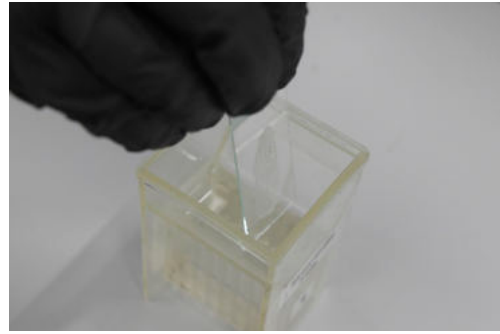
Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi hoàn thành thí nghiệm

Quy trình dọn dẹp

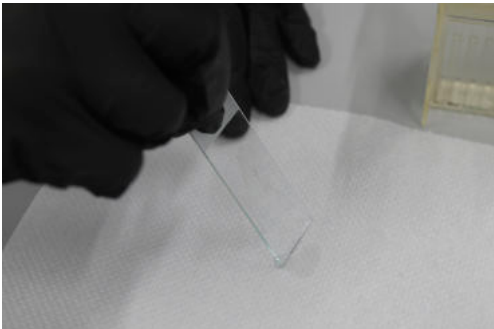
Vứt bỏ tất cả các lam kính và lam vào thùng đựng vật sắc nhọn.



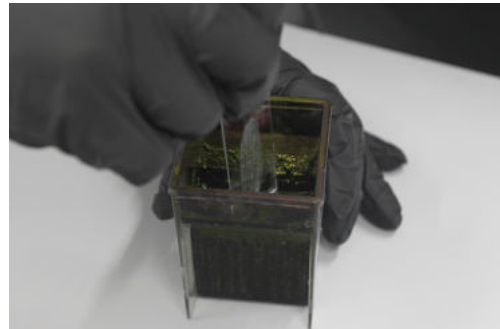
Step 1.



Step 2.



Step 2.



Step 3.



Step 4.



Step 5.



Step 6.



Step 7.

Các phương pháp phân tích máu

SOP 6: Phương pháp Knott's test

Đây là phương pháp được sử dụng để phát hiện ấu trùng (microfilariae) trong máu. Phương pháp này có độ nhạy cao hơn phương pháp phết trực tiếp máu tươi do nó tập trung được ấu trùng từ một lượng máu lớn. Cùng với các xét nghiệm huyết thanh học, phương pháp này cũng cho phép phát hiện và định loài các ấu trùng của loài khác ngoài *D. immitis* (ví dụ như *D. repens*, *Acanthocheilonema* spp., *Brugia* spp.). Những mẫu máu được sử dụng để xét nghiệm ấu trùng của *Dirofilaria* spp. Nên được thu vào buổi tối để có độ nhạy cao hơn.

Hóa chất/ Dụng cụ

- Dung dịch Formalin 2% (2 mL formaldehyde 40% pha với 98 mL nước cất)
- Dung dịch xanh methylene 1%
- Ống falcon
- Lam kính, lamén
- Pipet

Tiến hành

1. Cho vào ống falcon 1 mL máu đã chống đông (bằng heparin hoặc EDTA) và 9 mL formalin 2%
2. Lật ống khoảng 4 lần để dung dịch được trộn đều
3. Đem ly tâm ở 500 g trong vòng 5 phút
4. Loại bỏ phần dung dịch phía trên
5. Nhuộm phần cặn phía dưới bằng xanh methylene 1% trong 1-2 phút
6. Nhỏ 1 giọt mẫu lên lam kính và đặt lamén lên. Có thể chuẩn bị từ 2 tiêu bản trở lên để tăng độ nhạy.
7. Chú ý: Có thể lặp lại các bước từ 1-6 để tăng độ nhạy.
8. Soi tiêu bản dưới kính hiển vi với độ phóng đại thấp (vật kính 10x, độ phóng đại 100x) đối với ấu trùng. Trong trường hợp cần xác định hình thái cụ thể của ấu trùng thì có thể cần độ phóng đại lớn hơn.

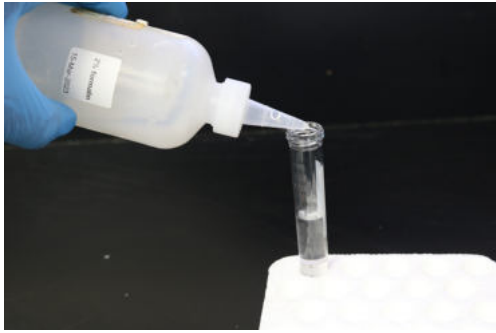
Chú ý: Có thể bổ sung 9 mL formalin 2% và lặp lại các bước từ 2-4 nếu muốn cặn lắng sạch hơn.

Biện pháp bảo hộ

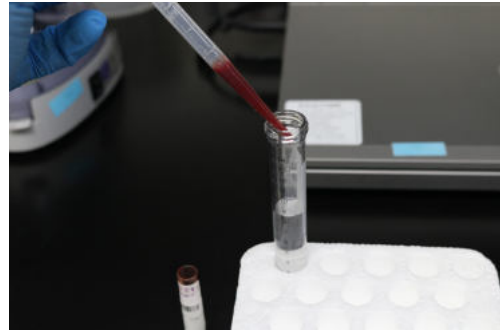
Mặc áo blouse và đeo găng tay dùng một lần

Quy trình dọn dẹp

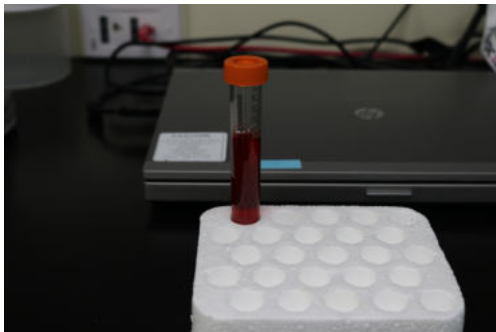
Vứt tất cả lam kính và lamén đã dùng vào thùng đựng rác sắc nhọn



Step 1.



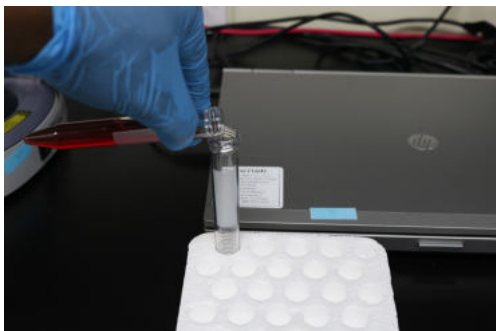
Step 1.



Step 2.



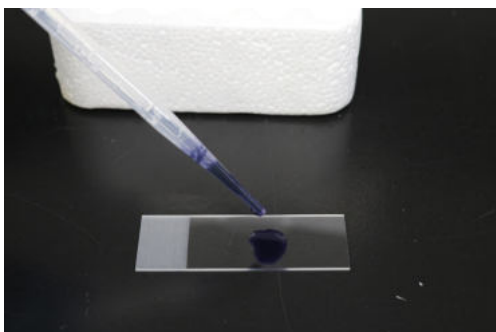
Step 3.



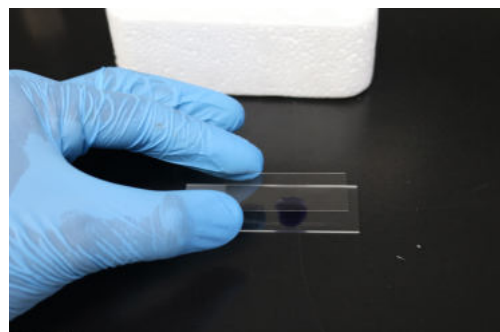
Step 4.



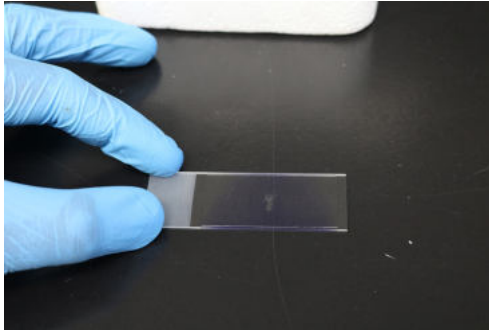
Step 5.



Step 6.



Step 6.



Bước 6.

Hình ảnh được cung cấp bởi Ian Branford và Shadrach Hobson-Tyson, Trường Thú y Đại học Ross

SOP 7: Phương pháp Microhematocrit để phát hiện ấu trùng microfilaria.

Microhematocrit là một phương pháp huyết học được sử dụng rộng rãi. Trong các mẫu máu dương tính với ấu trùng *Dirofilaria* spp. và *Acanthocheilonema* spp., ấu trùng có xu hướng tập trung ở lớp đệm của ống microhematocrit. Ta có thể quan sát được chúng khi vẫn còn sống và di động dưới kính hiển vi.

Dụng cụ

Ống microhematocrit

Tiến hành

1. Sử dụng máu toàn phần được thu vào các ống chống đông (EDTA, heparin, etc.) để đổ vào các ống microhematocrit (dài 75 mm, đường kính 1 mm)
2. Ly tâm trong máy ly tâm microhematocrit ở 15300 g trong 4-5 phút
3. Nhẹ nhàng lấy ống microhematocrit ra khỏi máy ly tâm và đặt nằm ngang dưới kính hiển vi, quan sát tập trung vào lớp đệm ở giữa lớp huyết tương và lớp hồng cầu
4. Trước tiên, kiểm tra dưới kính hiển vi quang học sử dụng vật kính 20x (độ phóng đại 200x) và quan sát các ấu trùng di động.

Kết quả

Không thể định loài của các ấu trùng do sự di chuyển và thiếu sự nhuộm màu để phân biệt các đặc điểm bằng mắt thường. Các ấu trùng có xu hướng di chuyển từ khu vực lớp đệm sang lớp huyết tương khi bị ánh sáng của kính hiển vi kích thích.

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và đeo găng tay dùng một lần

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các lam kính và lamén vào thùng đựng rác sắc nhọn

SOP 8: Phết máu (gồm phết máu từ mao mạch đầu tai)

Những phết máu mỏng được sử dụng để tìm kí sinh trùng nội và ngoại bào trong máu ngoại vi như những đơn bào kí sinh trong máu (*Babesia*, *Theileria*, *Rangelia*, *Cytauxzoon*, *Hepatozoon*, *Trypanosoma*). Phết máu dày có độ tập trung và độ nhạy cao nhưng để xác định hình thái của kí sinh trùng thì nên sử dụng phết máu mỏng. Phết mỏng và dày cũng có thể được sử dụng để xác định microfilaria nhưng độ nhạy thấp hơn so với kĩ thuật Knott's test.

Trong hầu hết các trường hợp, cần phết hai hoặc nhiều hơn hai tiêu bản để tăng độ nhạy của phương pháp. Ngoài quy trình chuẩn này, có thể tham khảo:

Phết máu tươi ở mao mạch. <https://youtu.be/EkYXXHSILYk>

Phết máu từ ống EDTA. <https://youtube.com/shorts/j-KNiVnIAi0?feature=share>

Dụng cụ/hóa chất

- Thuốc nhuộm Giemsa: dung dịch tỉ lệ 1:20 (ví dụ: pha 2 mL Giemsa gốc và 40 mL nước cất hoặc dung dịch đệm). Dung dịch này không nên để quá 2 ngày
- Lọ nhuộm màu
- Đảm bảo các lam kính sạch sẽ; lau bằng cồn trước khi sử dụng, khi cầm phải cầm vào cạnh của lam kính.

Tiến hành phết máu mỏng

1. Nhỏ một giọt máu tươi (trước khi bị đông) hoặc máu chống đông bằng EDTA vào gần một đầu của lam kính
2. Sử dụng một lam kính thứ hai (mục đích phết) để phết máu
3. Đặt lam kính thứ hai ở một góc khoảng 45 độ
4. Chạm lam kính thứ hai vào đầu xa nhất của giọt máu so với cạnh của lam kính thứ nhất
5. Khi đó máu sẽ dàn đều dọc theo cạnh nơi tiếp xúc với lam kính thứ hai
6. Đẩy nhẹ lam kính thứ hai dọc theo chiều dài của lam kính thứ nhất
7. Chú ý: Đây là kéo máu về phía sau của lam kính thứ hai, không phải đẩy về phía trước
8. Đẩy dụng cụ phết máu sát đến cuối lam kính có thể giúp tạo thành hình "hình lông vũ" (hình lưới mèo), có rìa mỏng nơi các tế bào máu được tách ra
 - a. Nếu không có đủ máu, chiều dài vết phết sẽ ngắn
 - b. Nếu quá nhiều máu thì không tạo được hình lông vũ (lưới mèo)
9. Để khô tự nhiên
10. Sau khi tiêu bản khô, cố định bằng cồn tuyệt đối trong 5 phút và tiếp tục để khô tự nhiên

Tiến hành phết máu dày

1. Nhỏ một giọt máu nhỏ vào giữa lam kính
2. Dùng que hoặc góc của một lam kính khác và phết dàn giọt máu theo hình tròn
3. Vết phết máu thu được cần có đường kính khoảng 1.5 cm.
4. Độ dày phù hợp của vết phết là phải che lấp được hầu hết chữ khi đặt trên giấy báo

5. Để vết phết khô ở vị trí nằm ngang ít nhất 30 phút. Vết phết có thể khô trong vài giờ
6. Không cố định vết phết bằng methanol hoặc nhiệt
7. Nhuộm bằng thuốc nhuộm Giemsa
8. Nếu phải hoãn việc nhuộm, nhúng nhanh vết máu vào nước để làm tan hồng cầu

Thủ tục phết máu mao mạch từ tai

1. Giữ tai và kẹp lông ở một vùng nhỏ ở một mép của vành tai
2. Lau bằng gạc khô để loại bỏ vụn lông, bụi và vảy. KHÔNG sử dụng bất kỳ chất lỏng nào (ví dụ: chất khử trùng) vì điều này sẽ ngăn chặn dòng máu.
3. Nhẹ nhàng dùng kim nhỏ chích vào tai (ví dụ: 25G hoặc 26G). (Việc này phải được thực hiện nhẹ nhàng để không chảy máu).
4. Bóp tai xung quanh vị trí kim đâm để đẩy máu mao mạch lên bề mặt da. Sẽ có một ít máu rỉ ra.
5. Đặt một phiến kính lên vết máu và sau đó phết máu như mô tả trước đây đối với một vết máu mỏng

Nhuộm và quan sát

1. Nhúng tiêu bản vào dung dịch Giemsa 1:20 trong 20 đến 30 phút.
2. Rửa nhẹ nhàng tiêu bản bằng cách nhúng vào nước. Tránh rửa quá kỹ làm mất màu nhuộm.
3. Đặt thẳng đứng tiêu bản, để khô tự nhiên
4. Kiểm tra bằng kính hiển vi quang học, đầu tiên sử dụng ở vật kính 10x (độ phóng đại 100x). Có thể tăng độ phóng đại để tìm kiếm đơn bào kí sinh nội bào và để xác định các loại microfilaria.

Kết quả

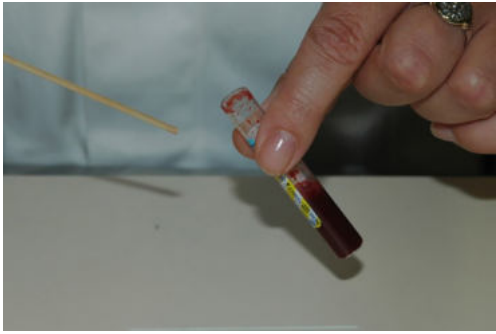
Tế bào chất của kí sinh trùng sẽ bắt màu xanh lam và nhân sẽ bắt màu đỏ hồng. Xem hướng dẫn về nội kí sinh trùng ở chó và mèo để nhận biết hình thái của các loại đơn bào kí sinh trong máu khác nhau. Nếu thấy microfilaria trong tiêu bản máu, nên thực hiện kĩ thuật Knott's test để hỗ trợ trong việc định loài. Cảnh giác với các yếu tố gây nhiễu khi để khô hoặc nhuộm màu.

Biện pháp bảo hộ

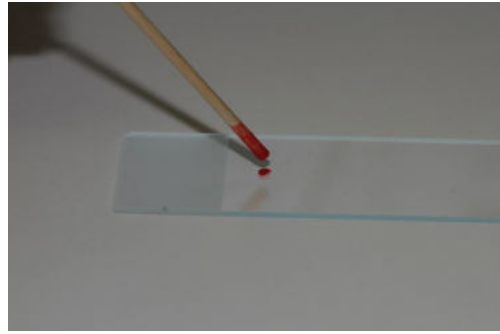
Mặc áo blouse và đeo găng tay dùng một lần

Quy trình dọn dẹp

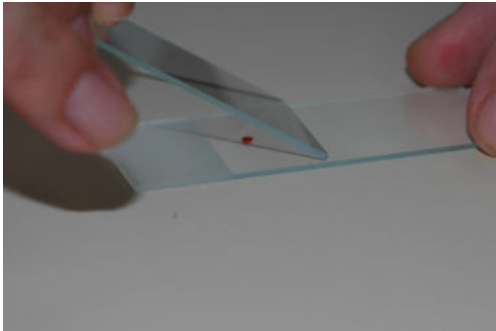
Vứt bỏ tất cả các lam kính và lamén vào thùng đựng rác sắc nhọn.



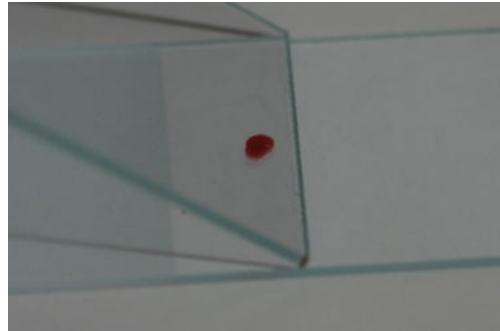
Step 1.



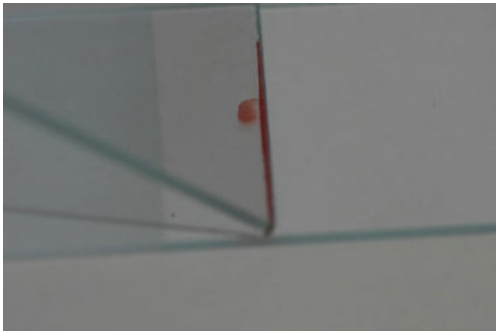
Step 1.



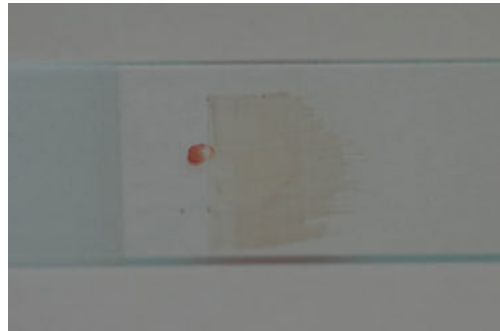
Step 2.



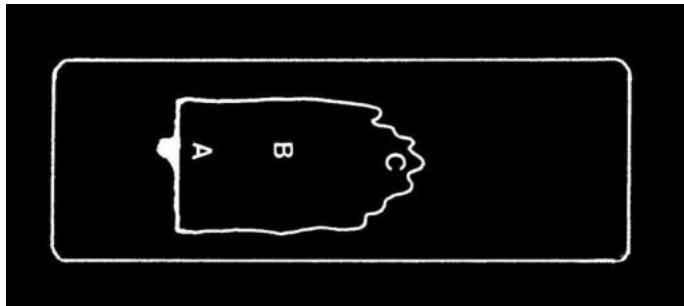
Step 3.



Steps 4-7.



Step 8.



Bước 8. Đầu mỏng ở khu vực C.

SOP 9: Phết lớp đệm

Lớp đệm là một lớp của máu khi phân tách, chứa chủ yếu là các tế bào bạch cầu và tiểu cầu. Bạch cầu ở đây tập trung nhiều gấp 10 đến 20 lần các lớp khác. Sau khi ly tâm máu chống đông, ta có thể thấy được lớp này. Lớp đệm quan sát thấy là một lớp mỏng, có màu đục chiếm khoảng 1% tổng lượng máu, nằm ở giữa lớp huyết tương (phía trên) và lớp hồng cầu (phía dưới) trong ống ly tâm. Trong kĩ sinh trùng học, phết nhuộm lớp đệm đã cho thấy một phương pháp nhạy hơn so với phết máu để phát hiện kí sinh trùng và các mầm bệnh khác nằm trong tế bào bạch cầu bằng kính hiển vi, chẳng hạn như *Leishmania*, *Hepatozoon*, *Anaplasma* hoặc *Ehrlichia*. Lớp đệm cũng có thể có sự tập trung của các ấu trùng microfilaria và/hoặc ấu trùng trypanomastigotes của *Trypanosoma* spp cao hơn các lớp máu khác. Lớp đệm được phân tách cũng có thể được sử dụng để tách chiết DNA, sau đó là PCR để xét nghiệm phân tử của cùng các loại kí sinh trùng.

Hóa chất/dụng cụ

- Ống EDTA
- Pipet
- Ống hematocrit
- Thuốc nhuộm Giemsa
- Lam kính

Tiến hành

1. Máu toàn phần được thu vào các ống chống đông (EDTA, heparin,...) đem ly tâm 200 g trong 10 phút ở nhiệt độ phòng
2. Nhẹ nhàng lấy ống ra khỏi máy ly tâm và đặt vào giá đỡ
3. Dùng pipet hút lấy vài giọt từ lớp đệm, nhỏ lên lam kính.
4. Dùng một lam kính thứ hai (mục đích phết) để phết máu
5. Giữ lam kính thứ hai ở một góc khoảng 45 độ
6. Chạm lam kính thứ hai vào đầu xa nhất của giọt máu so với cạnh của lam kính thứ nhất
7. Khi đó máu sẽ dàn đều dọc theo cạnh nơi tiếp xúc với lam kính thứ hai
8. Đẩy nhẹ lam kính thứ hai dọc theo chiều dài của lam kính thứ nhất
9. Chú ý: Đây là kéo máu về phía sau của lam kính thứ hai, không phải đẩy về phía trước
10. Đẩy dụng cụ phết máu sát đến cuối lam kính có thể giúp tạo thành hình “hình lông vũ” (hình lưới mèo), có rìa mỏng nơi các tế bào máu được tách ra
 - a. Nếu không có đủ máu, chiều dài vết phết sẽ ngắn
 - b. Nếu quá nhiều máu thì không tạo được hình lông vũ (lưới mèo)
11. Để khô tự nhiên
12. Sau khi tiêu bản khô, cố định bằng cồn tuyệt đối trong 5 phút và tiếp tục để khô tự nhiên
13. Nhúng tiêu bản vào dung dịch Giemsa 1:20 từ 20 đến 30 phút.
14. Rửa nhẹ nhàng tiêu bản bằng cách nhúng vào nước. Tránh rửa quá kĩ làm mất màu nhuộm
15. Đặt thẳng đứng tiêu bản, để khô tự nhiên

16. Kiểm tra bằng kính hiển vi quang học, đầu tiên sử dụng ở vật kính 10x (độ phóng đại 100x). Có thể tăng độ phóng đại để tìm đơn bào kí sinh nội bào và để xác định các loại microfilaria

Kết quả

Xem hướng dẫn về các kí sinh trùng trên chó và mèo để thấy được sự khác nhau giữa các kí sinh trùng.

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và đeo găng tay dùng một lần

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các lam kính và lamén vào thùng đựng rác sắc nhọn

Các phương pháp xét nghiệm da

SOP 10: Phương pháp sử dụng băng dính

Phương pháp sử dụng băng dính có thể được dùng xung quanh khu vực quanh hậu môn để thu trứng sán dây và tại các vị trí thích hợp khác nhau để thu mò.

Hóa chất/dụng cụ

- Lam kính và lamén
- Kẹp
- Băng dính trong suốt

Tiến hành

1. Sử dụng băng dính trong suốt
2. Băng dính phải dài khoảng 2,5 cm
3. Đặt trên lông hoặc bề mặt da
4. Kéo theo chiều của lông
5. Đặt miếng băng dính (mặt dính úp xuống) trên lam kính
6. Kiểm tra bằng vật kính 4x hoặc 10x (độ phóng đại 40 hoặc 100 lần) đối với ve và rận và vật kính 10x hoặc 40x (độ phóng đại 100 hoặc 400 lần) đối với trứng sán dây.

Kết quả

Trứng rận và mò có thể được quan sát thấy cùng với nhiều loại mò và rận.

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi sau khi hoàn thành thí nghiệm.

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các dụng cụ dùng một lần vào thùng đựng rác y tế hoặc vật sắc nhọn thích hợp.

SOP 11: Trichogram/phương pháp nhổ lông

Trichogram là phương pháp kiểm tra lông đã được nhổ. Nó được sử dụng chủ yếu để kiểm tra mò ở lông nhưng cũng có thể được sử dụng kiểm tra rận. Trong những trường hợp khó cạo da (vùng nhạy cảm), có thể tiến hành nhổ lông để thu mò trên da, mặc dù có độ nhạy thấp hơn so với cạo da. Lông khi được nhổ có thể được đặt trên một lam kính và được kiểm tra bằng kính hiển vi quang học hoặc đặt trong đĩa petri và được kiểm tra dưới kính hiển vi soi nổi (hình ảnh nổi). Lông thu được khi cạo các vùng da bị trầy xước cũng có thể được quan sát tương tự như khi sử dụng phương pháp nhổ lông.

Hóa chất/dụng cụ

- Lam kính và lamén
- Kẹp
- Dầu khoáng/glycerine/dầu paraffin

Tiến hành

1. Dùng kẹp để nhổ lông theo chiều lông mọc
2. Nếu có thể, beo da trước và trong khi nhổ lông
3. Nên nhổ tối thiểu 20 sợi lông, nhổ 40 sợi lông trở lên sẽ cho độ nhạy cao hơn
4. Khi quan sát bằng kính hiển vi quang học, đặt lông lên một lam kính, thêm một giọt dầu khoáng/glycerine/dầu parafin và đậy bằng lamén
5. Khi quan sát bằng kính hiển vi soi nổi, đặt lông lên đĩa petri, thêm một giọt dầu khoáng/glycerine/dầu parafin
6. Kiểm tra ở độ phóng đại 4x đến 100x công suất thấp

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi sau khi hoàn thành thí nghiệm.

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các dụng cụ dùng một lần vào thùng rác y tế hoặc vật sắc nhọn thích hợp

SOP 12: Cạo da tìm mò

Demodex spp. có thể được thu tại các vết xước sâu trên da bằng cách cạo da ở vùng bị rụng lông hoặc có thể thu *Sarcoptes* và *Notoedres* bằng cách cạo khoảng 1-2 cm từ các nốt sần nghi ngờ. Những vết cạo bề mặt da có thể được sử dụng để kiểm tra mò ký sinh ở lông.

Cạo da nên được thực hiện ở các khu vực thích hợp và/hoặc tại các vùng lân cận của các tổn thương. Thông thường sẽ thu thập vài mẫu cạo da để kiểm tra.

Hóa chất/dụng cụ

- Lam kính và lamén
- Lưỡi dao
- Dầu khoáng/glycerine/dầu paraffin
- Băng dính trong

Tiến hành

1. Nếu cần thiết, nhẹ nhàng cạo lông vùng cần kiểm tra
2. Thu thập các sợi lông để kiểm tra (Xem SOP 12: Trichogram)
3. Nhỏ một giọt dầu khoáng/glycerine/dầu paraffin lên một lưỡi dao cùn
4. Nếu muốn kiểm tra *Demodex*, hãy véo nhẹ da lên rồi cạo
5. Nhẹ nhàng cạo da theo chiều dọc và chiều ngang bằng lưỡi dao cùn cho đến khi rướm máu
6. Đặt mẫu đã cạo được trên một lam kính để quan sát ngay
7. Nếu không thể kiểm tra được mẫu luôn, dùng một miếng băng dính để dính những phần vụn vừa cạo vào, rồi dính úp vào một phiến kính
8. Tùy chọn: dán một mẫu băng dính (dài khoảng 2,5 cm) vào vết thương vừa cạo và nhanh chóng xé ra, dính vào một phiến kính
9. Kiểm tra ở độ phóng đại thấp (vật kính 4x (độ phóng đại 40 lần) và vật kính 10x (độ phóng đại 100 lần))

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi sau khi hoàn thành thí nghiệm.

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các dụng cụ dùng một lần vào thùng đựng rác y tế hoặc vật sắc nhọn nếu thích hợp.

SOP 13: Sinh thiết da

Phương pháp này được sử dụng để phát hiện và định danh các microfilariae của giun chỉ (onchocercid) thuộc chi *Onchocerca* (tức là *Onchocerca lupi*) và *Cercopithifilaria* (tức là *Cercopithifilaria bainaе*, *Cercopithifilaria* sp. II và *Cercopithifilaria grassi*) trong da thông qua việc quan sát cặn lắng.

Hóa chất/dụng cụ

- Kim sinh thiết (đường kính 4 mm) hoặc dao mổ dùng một lần
- Dung dịch nước muối sinh lý (NaCl 0,9%)
- Gioăng cao su để cố định màng
- Lam kính
- Lamén (10x10 mm)
- Kính hiển vi quang học
- Xanh metylen (1%)

Tiến hành

1. Thu thập các mẫu da bằng dao mổ dùng một lần (khoảng 0,5 × 0,5 × 0,6 cm) hoặc kim sinh thiết (mẫu có đường kính 4 mm)
2. Ngâm mẫu trong nước muối sinh lý trong 10 phút ở 37°C hoặc trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng (khoảng 20°C)
3. Loại bỏ mẫu da
4. Ly tâm mẫu với tốc độ 2000 vòng/phút trong 10 phút
5. Nhỏ hai giọt cặn lên lam kính
6. Thêm một giọt xanh metylen (1%)
7. Quan sát dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại thấp (vật kính 10x; độ phóng đại 100 lần) và độ phóng đại cao (vật kính 40x; độ phóng đại 400 lần) để xác định loài
8. Xác định microfilariae theo hình thái của chúng

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các lam kính và lamén trong hộp đựng vật sắc nhọn

Những quy trình khác

SOP 14: Khám tìm ve tai

Ghê tai (*Otodectes*) có thể được nhìn thấy bằng mắt thường và bằng kính hiển vi. Thông thường có thể nhìn thấy ve tai khi kiểm tra bằng đèn soi tai, mặc dù phương pháp này không nhạy bằng kiểm tra các mảnh vụn được thu thập bằng tăm bông. Lưu ý rằng chó và mèo bị nhiễm ve tai có thể bị nhiễm trùng thứ phát do vi khuẩn. Việc này có thể gây đau. Có thể cần phải rọ mõm cho chó trước khi kiểm tra.

Hóa chất/dụng cụ

- Đèn soi tai
- Tăm bông (swab)
- Dầu khoáng/dầu paraffin
- Lam kính và lamén

Tiến hành (soi tai)

1. Nhấc vành tai lên.
2. Nhẹ nhàng đặt mỏ vịt vào ống tai
3. Trong khi nhìn qua đèn soi tai, từ từ di chuyển mỏ vịt xuống phần thẳng đứng của ống tai
4. Quan sát ráy tai và mảnh vụn để tìm động tĩnh hoặc ghê tai
5. Nếu tai đặc biệt có nhiều mảnh vụn, sử dụng mỏ vịt rộng hơn sẽ tốt hơn
6. Nếu các mảnh vụn và ráy tai có thể lấp đầy đầu mỏ vịt thì những mảnh vụn và mảnh ráy tai này có thể được kiểm tra như các bước dưới đây tương tự như một mẫu swab

Tiến hành (Swab)

1. Sử dụng tăm bông có tăm một ít dầu khoáng/dầu parafin để loại bỏ các mảnh vụn ráy tai sẫm màu từ cả hai tai
2. Quan sát tăm bông để xem có động tĩnh không, những động tĩnh có khả năng là ve tai.
3. Nhỏ 2 đến 3 giọt dầu khoáng/dầu paraffin lên lam kính
4. Trộn các mảnh vụn thu được từ trong tai ở trên tăm bông với dầu
5. Loại bỏ các mảnh vụn lớn
6. Đậy bằng lamén
7. Kiểm tra ở độ phóng đại thấp thấp (vật kính 4x (độ phóng đại 40 lần) và vật kính 10x (độ phóng đại 100 lần))

Kết quả

Có thể nhìn thấy bọ ve qua chuyển động của chúng, Kiểm tra bằng kính hiển vi xác nhận việc nhận dạng và tăng độ nhạy của phương pháp.

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi sau khi hoàn thành thí nghiệm

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các dụng cụ dùng một lần vào thùng đựng rác thải y tế

SOP 15: Bệnh da do *Demodex* thể mụn mủ (Pustular Demodicosis)

Việc cạo da thường không tốt khi chó mắc bệnh demodicosis mụn mủ. Phương pháp này có thể tăng khả năng phục hồi và xác nhận việc bị nhiễm mầm bệnh trong những trường hợp này.

Hóa chất/dụng cụ

- Phiến kính và lamên

Tiến hành

1. Nặn một hoặc hai nốt mụn mủ
2. Thu mẫu bằng cách ấn mạnh một phiến kính vào da
3. Đậy lamên lên phiến kính
4. Kiểm tra mẫu bệnh phẩm ở độ phóng đại thấp (vật kính 10X, độ phóng đại 100) và ở độ phóng đại cao hơn (vật kính 40X, độ phóng đại 400)

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi sau khi hoàn thành thí nghiệm

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các dụng cụ dùng một lần vào thùng đựng rác thải y tế

SOP 16: Lắng cặn nước tiểu

Cặn nước tiểu có thể được sử dụng để xác định trứng của *Dioctophyme renale* và *Pearsonema plica* (tương ứng với *Capillaria plica*).

Hóa chất/dụng cụ

- Lam kính và lamén
- Cốc nhựa dùng một lần
- Ống falcon 10-15ml
- Lugol's iodine

Tiến hành

1. Lấy mẫu nước tiểu trong cốc nhựa dùng một lần
2. Đổ đầy mẫu vào ống 10 hoặc 15 ml và ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút
3. Loại bỏ phần nổi phía trên
4. Nhỏ 1-2 giọt cặn lên một lam kính và đậy bằng lamén. Mẫu có thể được trộn với một giọt lugol's iodine để thêm độ tương phản
5. Kiểm tra dưới kính hiển vi quang học ở độ phóng đại nhỏ (vật kính 10x, độ phóng đại 100 lần) và ở độ phóng đại lớn hơn (vật kính 40x, độ phóng đại 400 lần)

Biện pháp bảo hộ

Mặc áo blouse và sử dụng găng tay dùng một lần
Rửa tay kỹ khi sau khi hoàn thành thí nghiệm.

Quy trình dọn dẹp

Vứt bỏ tất cả các thiết bị dùng một lần vào thùng đựng rác thải y tế hoặc thùng đựng vật sắc nhọn thích hợp.

Tài liệu tham khảo định loài

Trứng và nở nang trong phân

- [1] Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. 2021. Veterinary Clinical Parasitology 9th edition. Wiley-Blackwell. Available electronically.
- [2] Eggs found in Faecal Floats
<https://shire.science.uq.edu.au/parasites/helminths/nematodes/faecal-floats.php>
- [3] www.parasite.org.au/para-site/contents/toc.html

Ấu trùng trong phân

- [1] Di Cesare A, Traversa D. 2014. Canine angiostrongylosis: recent advances in diagnosis, prevention, and treatment. Vet Med (Auckl). 5:181-192. doi:10.2147/VMRR.S53641
- [2] Greve JH. 1985. Identifying nematode larvae in feces of dogs and cats. Iowa State University Veterinarian. 47(2): 98-101.
http://lib.dr.iastate.edu/iowastate_veterinarian/vol47/iss2/4
- [3] McGarry JW, Morgan ER. 2009. Identification of first-stage larvae of metastrongyles from dogs. Vet Rec 165(9):258-261.
- [4] Traversa D, Di Cesare A, Conboy G. 2010. Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. Parasit Vectors. 3:62. doi:10.1186/1756-3305-3-62

Microfilaria trong máu

- [1] Companion Animal Parasite Council Guidelines.
<https://capcvet.org/guidelines/heartworm/>
- [2] Magnis J, Lorentz S, Guardone L, et al. 2013. Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis. Parasit Vectors. 6:48. doi:10.1186/1756-3305-6-48
- [3] Parasitological Diagnosis in Cats, Dogs and Equines. ESCCAP Guideline 04 First Edition – November 2022.
www.esccap.org/uploads/docs/hgqo8xak_1335_ESCCAP_GL4_v2_1p.pdf page 35.

Microfilaria dưới da

- [1] Mutafchiev Y, Dantas-Torres F, Giannelli A, Abramo., Papadopoulos E, Cardoso L, Cortes H, Otranto D. 2013. Redescription of *Onchocerca lupi* (Spirurida: Onchocercidae) with histopathological observations. Parasit Vectors 6:309.

- [2] Otranto D, Varcasia A, Solinas C, Scala A, Brianti E, Dantas-Torres F, Annoscia G, Martin C, Mutafchiev Y, Bain O. 2013. Redescription of *Cercopithifilaria baina* Almeida & Vicente, 1984 (Spirurida, Onchocercidae) from a dog in Sardinia, Italy. *Parasit Vectors*. 6:132. doi:10.1186/1756-3305-6-132. PMID: 23642161; PMCID: PMC3655055.
- [3] Otranto D, Brianti E, Dantas-Torres F, Miró G, Latrofa MS, Mutafchiev Y, Bain O. 2013. Species diversity of dermal microfilariae of the genus *Cercopithifilaria* infesting dogs in the Mediterranean region. *Parasitology* 140(1):99-108. doi:10.1017/S0031182012001357.

Định loài ve

- [1] Barker SC, Walker AR. 2014. *Ticks of Australia: The Species That Infest Domestic Animals and Humans*. Magnolia Press, Auckland. <http://www.alanwalker.com/guidebooks/ticks/>
- [2] Bristol University Tick ID. Key to Genera. <http://www.bristoluniversitytickid.uk/page/Key+to+Genera/6/#.Y7NaNHbMI2w>
- [3] Madder M, Horak I, Stoltz H. Ticks of veterinary importance and Tick Identification. https://www.afrivip.org/sites/default/files/Ticks_identification/ticks_importance/ and https://www.afrivip.org/sites/default/files/Ticks_identification/index/ (Africa). See also www.afrivip.org/sites/default/files/07_identification_vetimportance.pdf
- [4] Szabó MP, Pinter A, Labruna MB. 2013. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front Cell Infect Microbiol*. 3:27. doi:10.3389/fcimb.2013.00027
- [5] TickEncounter Identification Guide. <https://web.uri.edu/tickencounter/fieldguide/id-guide/>
- [6] Walker AR, Bouattour A, Camicas J-L, et al. 2003. *Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species*. University of Edinburgh. <http://www.alanwalker.com/guidebooks/ticks/>
- [7] Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. 2021. *Veterinary Clinical Parasitology* 9th edition. Wiley-Blackwell. Available electronically.

Định loài mò, rận và bo chét Mites, Lice and Fleas

- [1] Common parasites of veterinary importance, Mite identification key. <https://shire.science.uq.edu.au/parasites/arachnids/mites/mites-identification.php>
- [2] Dantas-Torres F, Otranto D. 2014. Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box [published correction appears in *Parasit Vectors*. 2016;9(1):298]. *Parasit Vectors*. 7:22. doi:10.1186/1756-3305-7-22
- [3] Flea Identification. www.cdc.gov/nceh/ehs/docs/pictorial_keys/fleas.pdf

- [4] Common parasites of veterinary importance. Key to Flea Species of Veterinary Importance in Australia.
<https://shire.science.uq.edu.au/parasites/insects/fleas/fleas-key.php>

Tài liệu tham khảo các phương pháp và video

- [1] Parasitological Diagnosis in Cats, Dogs and Equines. ESCCAP Guideline 04 First Edition – November 2022.
www.esccap.org/uploads/docs/hgqo8xak_1335_ESCCAP_GL4_v2_1p.pdf Free and available electronically.
- [2] The RVC/FAO Guide to Veterinary Diagnostic Parasitology.
<https://www.rvc.ac.uk/review/parasitology/Faeces/Purpose.htm>
- [3] Zajac AM, Conboy GA, Little SE, Reichard MV. 2021. Veterinary Clinical Parasitology 9th edition. Wiley-Blackwell. Available electronically.
- [4] Preparing and measuring the S.G. of a flotation solution.
<https://youtu.be/Skx7JDUL6IE>
- [5] Fresh capillary blood smear. <https://youtu.be/EkYXXHSILYk> và <https://www.youtube.com/shorts/yfUN89hsZqs>
- [6] EDTA blood smear. <https://youtube.com/shorts/j-KNiVnIAi0?feature=share>
- [7] Collecting blood from the ear tip.
<https://www.youtube.com/shorts/8KCQ1gqX9Hk>