

**CẢI TIẾN QUY TRÌNH THU ẤU TRÙNG GIUN ĐŨA CHÓ *Toxocara canis*
TRONG NUÔI CẤY IN VITRO ĐỂ SẢN XUẤT KHÁNG NGUYÊN CHẤT TIẾT**

Nguyễn Thị Hợp¹, Đỗ Trung Dũng¹, Nguyễn Quang Thiều¹, Đỗ Trung Hà¹, Nguyễn Lương Tình¹, Đỗ Thị Lan Phương², Nguyễn Thị Hoàng Yến³.

¹ Viện Sốt rét – Ký sinh trùng – Côn trùng Trung ương

² Trường đại học Nông lâm Thái Nguyên, ³ Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Tóm tắt

Toxocara canis (*T. canis*) là một loại giun ký sinh ở chó, ấu trùng lây nhiễm cho người gây ra sự di cư của ấu trùng nội tạng. Sự lây nhiễm được xét nghiệm bằng cách phát hiện các kháng thể IgG chống lại các kháng nguyên ấu trùng bài tiết trong huyết thanh bằng kỹ thuật ELISA, Western blot. Bước đầu tiên trong chế tạo các bộ kit ELISA, Western blot là tách chiết kháng nguyên chất tiết ấu trùng giun đũa chó *T. canis* (TcES) nên cần nuôi số lượng lớn ấu trùng. Nghiên cứu này mô tả một quy trình cải tiến để thu trứng giun đũa chó (GĐC) nhanh và sạch, sau quá trình kích trứng nở thu được nhiều ấu trùng sống hơn.

Từ khóa: ấu trùng giun đũa chó, *Toxocara canis*, TcES

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh ấu trùng giun đũa chó/mèo (ATGĐCM) là bệnh lây truyền từ động vật sang người, do hai loài thuộc ngành giun tròn là giun đũa *Toxocara canis* (*T. canis*) ký sinh ở chó và giun đũa *Toxocara cati* (*T. cati*) ký sinh ở mèo gây nên, được gọi chung là giun đũa chó/mèo (*Toxocara* spp.). Người bị nhiễm bệnh do nuốt phải trứng giun đũa chó mèo có trong đất, nước, hoặc thức ăn. Các ấu trùng vào ruột, di chuyển đến nội tạng và các tổ chức trong cơ thể, tại đây chúng có thể sống nhiều năm ở dạng tự do hay hóa kén nhưng không phát triển thành giun trưởng thành. Khi ấu trùng di hành đến các cơ quan như: gan, phổi, não, mắt, ... gây ra một số triệu chứng nguy hiểm như động kinh (ký sinh ở não), giảm thị lực hoặc mù (ký sinh ở mắt). Các triệu chứng khác gồm có sốt, ho, khô khè, mày đay, ngứa, chán ăn, gan to và tăng bạch cầu ái toan nhất là trên các thể thông thường. [1] [2]

Việc chẩn đoán ca bệnh ở người dựa vào phát hiện ấu trùng trong mô bệnh phẩm sinh thiết là phương pháp xâm lấn, nên không khả thi áp dụng trong thực hành lâm sàng. Thay vào đó, kỹ thuật miễn dịch học đã góp phần tích cực trong chẩn đoán các bệnh nhiễm ký sinh trùng thể nội tạng, trong đó có bệnh ATGĐCM. Hiện nay, kỹ thuật ELISA phát hiện kháng thể IgG kháng kháng nguyên tiết từ ấu trùng giai đoạn 2 được sử dụng để chẩn đoán nhiễm ATGĐCM. Để khẳng định chẩn đoán trước hết là sử dụng TcES-ELISA để phát hiện kháng thể trong huyết thanh, sau đó những mẫu dương tính hoặc nghi ngờ sẽ được kiểm định lại bằng kỹ thuật Western blot [1].

Nghiên cứu này mô tả quy trình thu ấu trùng GĐC *T. canis* cải tiến để sử dụng trong nuôi cấy in vitro thu kháng nguyên chất tiết.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian, địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: năm 2019 - 2021

- Địa điểm: Khoa Ký sinh trùng, Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng trung ương

2.2. Đối tượng nghiên cứu

- Trứng GĐC được thu từ giun đũa cái trưởng thành loài *T. canis*.
- Ấu trùng GĐC.

2.3. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thử nghiệm tại labo

2.4. Kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

2.4.1. Thu giun đũa cái *T. canis*, ấp trứng giun phát triển đến giai đoạn nhiễm theo tác giả de Savigny.,1975; Smith., 1989; Rubinsky-Elefant và cs., 2006 có một số sửa đổi.

- Thu GĐC trưởng thành bằng cách tẩy giun cho chó con.
- Rửa sạch GĐC nhiều lần bằng nước máy đến khi thân giun sạch và nước trong hoàn toàn.
- Định loại giun đũa loài *T. canis* theo tài liệu mô tả của Myiazaki., 1991; Anderson., 2009, giữ lại các cá thể giun đũa cái, loại bỏ giun đũa đực.
- Ngâm giun cái *T. canis* vào dung dịch Formalin 2% trong nước muối sinh lý ít nhất 1 tháng.

2.4.2. Thu trứng GĐC giai đoạn nhiễm

Quy trình trước cải tiến theo de Savigny.,1975; Yoshida.,2016,Rubinsky-Elefant và cs., 2006	Quy trình cải tiến
<p><i>* Giải phẫu giun cái tách lấy tử cung</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Chuyển 1 giun vào đĩa petri sạch chứa 50 mL nước muối sinh lý dưới kính hiển vi soi nổi. - Dùng dao mổ hoặc dao lam cắt vào phần thân gần đầu của giun; - Phối hợp dùng kim nhọn đầu và nhíp mở rộng vết cắt, phẫu tích GĐC và tách lấy tử cung giun chuyển vào đĩa petri chứa 50 mL nước muối sinh lý khác; - Lặp lại quá trình trên đến khi tách lấy tử cung xong khoảng 25 GĐC; <p><i>* Làm tan mô tử cung giun để giải phóng trứng</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Gạn bỏ nước muối sinh lý; <ul style="list-style-type: none"> - Chuyển tất cả tử cung giun vào cốc thủy tinh chứa 150 mL NaOH 1N; - Đặt cốc thủy tinh lên máy khuấy từ. Sau mỗi 15 phút kiểm tra cho đến khi tử cung đã tan khoảng > 90 % thì ngừng khuấy (thời gian khuấy khoảng 60 phút). <p><i>* Rửa sạch trứng giun</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Chia hỗn dịch chứa trứng giun vào 04 ống 	<p><i>* Làm tan mô giun để giải phóng trứng</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Gạn bỏ dung dịch Formalin 2%; - Rửa sạch giun 3 lần mỗi lần 200 mL nước cất - Dùng kéo cắt nhỏ khoảng 25 giun; - Chuyển tất cả giun đã cắt nhỏ vào cốc thủy tinh chứa 150 mL NaClO 6%; - Đặt cốc thủy tinh lên máy khuấy từ theo dõi đến khi mô giun vừa tan hết thì ngừng khuấy (thời gian khuấy khoảng 10 đến 20 phút). <p><i>* Rửa sạch trứng giun</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Đổ toàn bộ hỗn dịch lên trên rây lọc

<p>Falcon;</p> <ul style="list-style-type: none"> - Thêm nước muối sinh lý đến vạch 50 mL; - Ly tâm 1.500 vòng / phút x 5 phút; - Loại bỏ phần nước phía trên giữ lại trứng giun ở đáy tube; - Lặp lại bước rửa ly tâm 2 lần nữa; - Dùng pipet nhựa hút toàn bộ trứng giun lắng cặn từ 4 tube thu vào 1 tube 50 mL mới. - Ly tâm 1.500 vòng / phút x 5 phút; - Gạn bỏ phần nước phía trên, giữ lại trứng giun ở đáy ống. - Thêm formalin 2% trong nước muối sinh lý vào ống đến vạch 50 mL để bảo quản trứng giun đến khi làm bước tiếp theo. <p><i>* Rửa sạch trứng giun loại bỏ dung dịch formalin 2%</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Gạn bỏ phần nước phía trên giữ lại trứng giun ở đáy ống; - Thêm nước muối sinh lý đến vạch 50 mL; - Ly tâm 1.500 vòng / phút trong 5 phút; - Gạn bỏ phần nước phía trên; - Lặp lại quá trình trên thêm 2 lần nữa. <p><i>* Xử lý trứng giun bằng dung dịch Alkali - Bleach</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Dùng pipet nhựa hút 2 ml dung dịch Alkali - Bleach cho vào ống Falcon chứa trứng giun ở bước trên sau đó hút toàn bộ trứng giun chuyển sang ống Falcon 50 mL chứa 21 mL dung dịch Alkali - Bleach; - Dùng tay lắc tròn 1 chiều ống Falcon trong 3 phút. <p><i>* Rửa sạch trứng giun loại bỏ dung dịch Alkali - Bleach</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Thêm nước nước muối sinh lý đến vạch 50 mL; - Ly tâm 1.500 vòng / phút x 5 phút; - Gạn bỏ phần dịch phía trên; - Lặp lại quá trình trên thêm 4 lần; - Gạn bỏ hết phần nước phía trên, giữ lại trứng giun ở đáy ống; 	<p>mắt lưới 125 µm phía dưới là rây lọc có mắt lưới 38 µm;</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dùng tia nước cất rửa lên trên rây 125 µm để nước chảy xuống rây 38 µm và chảy đi mang theo mô giun đã được làm tan, trứng giun sạch được giữ lại trên rây 38 µm; - Dùng tia nước cất rửa và dồn trứng giun vào 1 điểm trên rây 38 µm; - Úp nghiêng rây mắt lưới 38 µm vào cốc thủy tinh 1000 mL có mỏ; - Dùng tia nước cất chảy vào phía sau của lưới để rửa trứng giun vào trong cốc; - Chuyển nước cất chứa trứng giun vào ống Falcon 50 mL; - Ly tâm 1.500 vòng / phút trong 5 phút; - Gạn bỏ phần nước phía trên, giữ lại trứng giun ở đáy ống. <p><i>* Xử lý lại trứng giun bằng dung dịch NaClO 6%</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Thêm 15 mL dung dịch NaClO 6% vào trong ống chứa trứng giun; - Dùng tay lắc tròn 1 chiều ống Falcon trong 3 phút. <p><i>* Rửa sạch trứng giun loại bỏ dung dịch NaClO 6%</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Thêm nước nước muối sinh lý đến vạch 50 mL; - Ly tâm 1.500 vòng / phút x 5 phút; - Gạn bỏ phần dịch phía trên; - Lặp lại quá trình trên thêm 4 lần; - Gạn bỏ hết phần nước phía trên, giữ lại
--	--

	<p>trứng giun ở đáy ống;</p> <ul style="list-style-type: none"> - Chuẩn bị 200 mL dung dịch DMEM: 198 mL dung dịch Dulbecco's Modified Eagle Medium 1x bổ sung 2 mL dung dịch antibiotic-antimycotic (Life Technologies, Inc): tỷ lệ 1% (v/v). - Thêm 10 mL dung dịch DMEM vào ống, lắc đều để trứng giun trộn trong dung dịch; - Ly tâm 1.500 vòng / phút x 5 phút; - Dùng pipet nhựa hút để loại bỏ tối đa phần dịch phía trên; chỉ còn lại trứng giun ở đáy ống;
--	---

2.4.3. Kích trứng nở theo de Savigny.,1975; Yoshida.,2016; Nguyễn Hữu Hùng.,2016

- Cho các bi thủy tinh đường kính 2,5 mm vào cốc thủy tinh dung tích 100mL đến khi bi tạo thành 2 lớp phủ kín đáy cốc;

- Cho thanh khuấy từ vào trong cốc;

- Cho trứng giun giai đoạn nhiễm sạch vừa thu ở trên vào trong cốc;

- Thêm dung dịch DMEM vào cốc đến vạch 50 mL;

- Đặt cốc thủy tinh lên máy khuấy từ trong tủ ấm 37°C, chọn tốc độ ở nấc 1,5, khuấy 15 phút;

- Kiểm tra dưới kính hiển vi soi nổi: nếu chưa đạt 50% ấu trùng thoát vỏ thì tiếp tục khuấy 15 phút nữa rồi lại kiểm tra;

- Lặp lại đến khi đạt $\geq 50\%$ ấu trùng thoát ra thì dừng lại;

- Đặt rây lọc tế bào đường kính lỗ lọc 40 μ m vào một miệng ống Falcon 50 mL khác;

- Dùng pipet hút hỗn dịch chứa ấu trùng và trứng nhỏ lên rây lọc tế bào;

- Tráng rửa cốc bằng dung dịch DMEM rồi chuyển vào rây lọc tế bào (để lại bi thủy tinh ở đáy cốc) đến khi dung dịch gần đến miệng rây lọc và ống Falcon (hỗ hợp ấu trùng và trứng giun vừa ngập trong dung dịch);

- Chuyển ống Falcon đựng rây lọc tế bào vào trong tủ ấm 10% CO₂ 37°C qua đêm.

2.4.4. Thu và làm sạch ấu trùng theo Yoshida.,2016; Nguyễn Hữu Hùng.,2016

- Đặt rây lọc lên đĩa petri;

- Kiểm tra rây lọc dưới kính hiển vi soi nổi để đảm bảo không còn nhiều ấu trùng tiếp tục thoát khỏi rây;

- Loại bỏ rây lọc chứa các mảnh vụn, ấu trùng yếu / chết và trứng không phát triển;

- Kiểm tra và loại bỏ phần nước phía trên của ống 50 mL, phần cặn chứa ấu trùng được chuyển sang ống 15 mL.

- Rửa ấu trùng:

+ Thêm dung dịch DMEM 1x vào ống chứa ấu trùng đến vạch 5 mL;

- + Ly tâm 1.500 vòng / phút x 5 phút;
- + Gạn bỏ phần dịch phía trên, giữ lại ấu trùng ở đáy ống;
- + Lặp lại 4 lần.

- Dùng pipet nhựa hút 2mL dung dịch DMEM nhỏ vào ống, hút thả dung dịch vài lần để trộn đều.

- Hút hết dịch chứa ấu trùng chuyển vào ống 50 mL chứa sẵn 30 mL dung dịch DMEM;
- Dùng pipet hút thả để ấu trùng trộn đều trong dịch;
- Dùng pipet man 10 μ L hút hỗn dịch chuyển lên đĩa petri;
- Đếm số lượng ấu trùng trên đĩa dưới kính hiển vi soi nổi, quan sát để đảm bảo gần 100% ấu trùng đang cử động tích cực;
- Ước lượng tổng số ấu trùng trong ống.

3. KẾT QUẢ

3.1. Đánh giá hiệu quả về mặt thời gian xét nghiệm

Bảng 1. Thời gian thực hiện bước thu trứng GĐC giai đoạn nhiễm của quy trình trước cải tiến và quy trình cải tiến tiến hành trên 25 giun đũa cái.

TT	Nội dung	Thời gian làm thực tế	Tổng thời gian
1	Quy trình trước cải tiến		
	Giải phẫu giun cái tách lấy tử cung	12,5 giờ	Khoảng 15,5 giờ
	Làm tan mô tử cung giun để giải phóng trứng	60 phút	
	Rửa sạch trứng giun loại bỏ dung dịch NaOH 1N	30 phút	
	Rửa sạch trứng giun loại bỏ dung dịch formalin 2%	30 phút	
	Xử lý trứng giun bằng dung dịch Alkali - Bleach	5 phút	
	Rửa sạch trứng giun loại bỏ dung dịch Alkali - Bleach	50 phút	
2	Quy trình cải tiến		
	Làm tan mô giun cái để giải phóng trứng (thời gian GĐC cắt nhỏ tiếp xúc với NaClO 6% trên máy khuấy từ là 17 phút)	47 phút	Khoảng 2,5 giờ
	Rửa sạch trứng giun	40 phút	
	Xử lý lại trứng giun bằng dung dịch NaClO 6% (3 phút tiếp xúc)	5 phút	
	Rửa sạch trứng giun loại bỏ dung dịch NaClO 6%	50 phút	

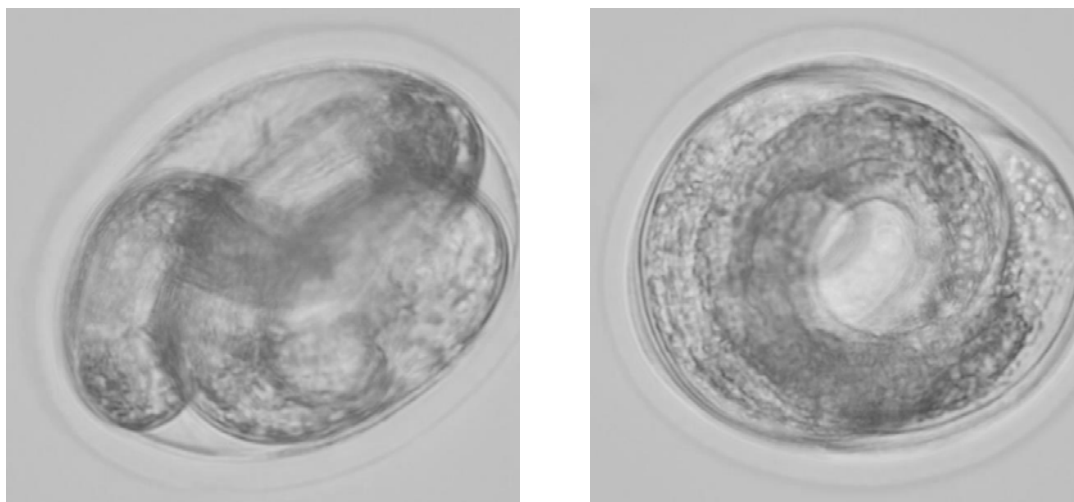
Nhận xét: - Quy trình cải tiến đã rút ngắn thời gian tiến hành xét nghiệm khi thực hiện đồng thời trên 25 giun cái là 2,5 giờ so với quy trình trước cải tiến hết 15,5 giờ: nhanh hơn 6,2 lần.

3.2. Kết quả thu ấu trùng về số lượng, chất lượng của quy trình cải tiến

Bảng 2. Số lượng giun cái và ấu trùng thu được bằng quy trình trước cải tiến và quy trình cải tiến

TT	Tổng số giun cái / Quy trình	Tổng số ấu trùng thu được	Số ấu trùng trung bình thu được từ mỗi giun cái
1	25 Giun cái/ Quy trình trước cải tiến	70.000	2.800
2	25 Giun cái / Quy trình cải tiến	115.000	4.600

Nhận xét: Quy trình cải tiến thu được số lượng ấu trùng nhiều hơn quy trình trước cải tiến 1,6 lần (trung bình 4.600 ấu trùng / giun so với trung bình 2.800 ấu trùng / giun).



Hình 1. Ảnh trứng GĐC chứa ấu trùng sau khi xử lý bằng NaClO 6% - 20 phút (quy trình cải tiến).

4. BÀN LUẬN

Trước khi sử dụng TcES, hầu hết các nghiên cứu xét nghiệm *Toxocara* spp. ở người đều sử dụng kháng nguyên có nguồn gốc từ trứng của *T. canis*, ấu trùng hoặc giun trưởng thành, các kháng nguyên thân này có độ nhạy thấp và có mức độ phản ứng chéo cao với các kháng thể của ascarid khác. [3] [4]

Vào giữa những năm 1970, việc thực hiện kỹ thuật nuôi cấy in vitro của ấu trùng giai đoạn hai của *T. canis* trong thời gian dài và thu thập TcES (de Savigny 1975) đã tạo ra một bước đột phá trong chẩn đoán *Toxocara* spp., giúp cải thiện đáng kể tính đặc hiệu, độ nhạy và khả năng thực hiện của các phương pháp chẩn đoán huyết thanh khác nhau. Hiện nay, các phòng xét nghiệm tách chiết TcES đều ứng dụng quy trình của de Savigny 1975 nhưng có những thay đổi để thực hiện được trong điều kiện phòng xét nghiệm của mình. [1]

Nghiên cứu này đã thực hiện thu thập ấu trùng GĐC áp dụng quy trình của de Savigny 1975, chọn lọc những điểm cải tiến của các tác giả Smith.,1989; Rubinsky-Elefant và cs.,

2006; Yoshida.,2016; Nguyễn Hữu Hùng.,2016. Kỹ thuật đã được thực hiện tại Khoa Ký sinh trùng năm 2019 - 2020. Sau đó, chúng tôi cải tiến ở bước thu trứng GĐC giai đoạn nhiễm đã mô tả ở phần phương pháp. [5] [6] [7] [8] [9]

Quy trình cải tiến thay đổi ở bước thu trứng GĐC giai đoạn nhiễm. Trong đó, thay việc giải phẫu giun cái tách lấy tử cung từ 25 GĐC hết 12,5 giờ bằng cắt nhỏ tất cả giun cùng lúc, điều này chỉ hết khoảng 15 phút; thay việc tiếp xúc với NaOH 1N trên máy khuấy từ khoảng 60 phút bằng tiếp xúc với NaClO 6% trên máy khuấy từ đến khi mô giun tan hoàn toàn là 17 phút. Sau bước này do nhiều thân giun bị tan ra nên nước rất đục. Tiếp theo, sử dụng rây inox mắt lưới 125 μm và 38 μm để rửa trôi các phần mô giun bị tiêu và các mảnh vụn nhỏ hơn 38 μm , loại bỏ các mảnh vụn lớn hơn 125 μm , thu lại trứng GĐC sạch trên rây 38 μm . So sánh thời gian hoàn thành thu trứng GĐC từ 25 giun cái bằng bước cải tiến nhanh hơn bước trước cải tiến 6,2 lần (2,5 giờ so với 15,5 giờ). Ngoài ra, rút ngắn thời gian làm xét nghiệm còn giúp giảm thiểu tiếp xúc với trứng giai đoạn nhiễm.

Kết quả quy trình thu ấu trùng GĐC cải tiến thực hiện trên 25 giun cái thu được số lượng ấu trùng sống nhiều hơn 1,6 lần so với trước cải tiến.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã tiến hành cải tiến quy trình thu ấu trùng GĐC *T. canis* giúp giảm thời gian tiến hành thí nghiệm 6,2 lần, tăng số lượng ấu trùng 1,6 lần so với quy trình trước cải tiến đã được tiến hành tại phòng xét nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1.J. Fillaux, J.-F. Magnaval, "Laboratory diagnosis of human toxocariasis", *Veterinary Parasitology*. Volume 193, Issue 4, 2013, Pages 327-336. ISSN 0304-4017. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.028>.

2.Huỳnh Hồng Quang (2018). Cập nhật về triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng, chẩn đoán và quản lý ca bệnh nhiễm giun đũa chó/ mèo do *Toxocara* spp. 2017. <http://www.impeqn.org.vn/impeqn/vn/portal/InfoDetail.jsp?area=58&cat=1068&ID=11229>

3.Girdwood RWA, Smith HV, Bruce RG, Quinn R. Human *Toxocara* infection in the West of Scotland. *Lancet*. 1978;1:1318. doi: 10.1016/S0140-6736(78)91310-7

4.Smith HV, Girdwood RWA, Quinn R, Bruce RG. The development of early serological responses in rabbits infected with *Toxocara canis* and *Toxascaris leonina*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1982;76:89–94. doi: 10.1016/0035-9203(82)90028-1.

5.De Savigny D. H (1975), In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *J Parasitol* 61(4):781–782.

6.SMITH, H. V. (1989) A rapid method for hatching infective eggs of *Toxocara canis*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 83, 215.

7.Rubinsky-Elefant G, Shimizu SH, Sanchez MCA, Jacob CMA, Ferreira AW. A serological follow-up of toxocariasis patients after chemotherapy based on the detection of IgG, IgA, and IgE antibodies by enzyme-linked immunosorbent assay. *J Clin Lab Anal* 2006; 20(4): 164-172. [http:// dx.doi.org/10.1002/jcla.20126](http://dx.doi.org/10.1002/jcla.20126). PMID:16874812.

8. Yoshida, A., Hombu, A., Wang, Z., & Maruyama, H. (2016). Larva migrans syndrome caused by *Toxocara* and *Ascaris* roundworm infections in Japanese patients. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology, 35(9), 1521–1529. doi:10.1007/s10096-016-2693-x

9. Nguyễn Hữu Hùng (2016), "Tình chế và thử nghiệm ứng dụng kháng nguyên tiết/bài xuất của giun đũa *Toxocara canis* trên chó vào chẩn đoán huyết thanh nhiễm *Toxocara canis* trên chó và người", Viện Sinh học nhiệt đới.

Abstract

IMPROVEMENT ON THE PROCEDURE OF *Toxocara canis* LARVA COLLECTION IN VITRO CULTURE TO MAKE EXCRETORY/SECRETORY ANTIGEN

**Nguyen Thi Hop¹, Do Trung Dung¹, Nguyen Quang Thieu¹,
Do Trung Ha¹, Nguyen Lương Tinh¹, Do Thi Lan Phuong², Nguyen Thi Hoang Yen³.**

¹ National Institute of Malariaology, Parasitology and Entomology

² Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry

³ Vietnam National University of Agriculture

Toxocara canis is a dog roundworm, its infective larva stage transmits to humans causing the visceral larva migrans. The diagnosis in humans is conducted to determine IgG antibodies against excretory/secretory antigen from larvae in the patient serum by ELISA and Western Blot techniques. The first step for making ELISA or Western Blot Kit is the extraction of the excretory/secretory antigen from *T. canis* infective larvae (TcES). To solve this issue, it is necessary to get a large number of *T. canis* larvae. This study is aimed to describe an improvement of method which is used to collect *T. canis* infective eggs rapidly and freshly, resulting in a larger number of infective larvae are collected after hatching eggs.

Cán bộ phản biện

TS. Trương Văn Hạnh

Ngày nhận bài: 18/04/2022

Ngày gửi phản biện: 21/04/2022

Ngày đăng bài: 05/05/2022