

DỊCH TỄ PHỨC TẠP CỦA BỆNH SÁN LÁ GAN NHỎ GÂY BỞI LOÀI *OPISTHORCHIS VIVERRINI* TẠI MIỀN TRUNG VIỆT NAM DO XUẤT HIỆN THÊM CẬN LOÀI *OPISTHORCHIS* SP BD2013 GÂY BỆNH TRÊN VỊT

Đào Thị Hà Thanh¹, Nguyễn Thị Giang Thanh², Lê Thanh Hoà³,
Nguyễn Thị Bích Thủy¹, Sarah Gabriel⁴, Pierre Dorny^{4,5}

TÓM TẮT

Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu điều tra cắt ngang tại vùng dịch tễ tỉnh Bình Định để xác định tỷ lệ nhiễm và các yếu tố nguy cơ của bệnh sán lá gan nhỏ trên cả vật chủ cuối cùng là người và vịt, và vật chủ trung gian là ốc và cá nước ngọt, đồng thời chúng tôi tiến hành giải trình tự gen ty thể của loài sán lá gan được tìm thấy trên vịt để xác định vị trí di truyền học của loài sán này trên cây phả hệ của họ Opisthorchiidae trong mối quan hệ với các loài *Opisthorchis* trong họ đã được tìm thấy trước đó. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ nhiễm bệnh sán lá gan nhỏ (*O. viverrini*) trong cộng đồng dân cư được điều tra tại tỉnh Bình Định là 11,4 % và tỷ lệ nhiễm bệnh sán lá gan nhỏ (*Opisthorchis* sp BD 2013) trên vịt là 34,3 %. Hai loài ốc nước ngọt *Bithynia siamensis goniomphalos* và *B. funiculata* (Bithyniidae) được xác định là vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá gan nhỏ *O. viverrini* tại Việt Nam và 10 loài cá nước ngọt, chủ yếu thuộc họ Cyprinidae được xác định là vật chủ trung gian thứ 2, trong đó cá diếc *Carassius auratus* được dùng để làm gỏi cá có tỷ lệ nhiễm ấu trùng sán lá gan nhỏ *O. viverrini* cao nhất. Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, ấu trùng của cả hai loài sán lá gan nhỏ *O. viverrini* và *Opisthorchis* sp BD2013 được tìm thấy trên cùng một vật chủ trung gian thứ nhất là ốc *Bithynia funiculata* và trên cùng vật chủ trung gian thứ 2 là 3 loài cá nước ngọt có tên *Esomus metallicus*, *Puntius brevis* và *Rasbora aurotaenia*. Kết quả phân tích hệ gen cho thấy, trên cây phả hệ của hệ gen ty thể (*nad1*, *cob* và *cox1*) *Opisthorchis* sp BD2013 thể hiện là một loài độc lập và có quan hệ cận loài với *O. viverrini*. Mặc dù kết quả nghiên cứu hiện tại chưa tìm thấy *Opisthorchis* sp BD2013 trên người, song việc đồng thời lưu hành hai loài sán lá gan có quan hệ cận loài và chia sẻ cùng vật chủ trung gian ở giai đoạn ấu trùng gây bệnh trong cùng vùng dịch tễ, có nguy cơ làm phức tạp dịch tễ học của bệnh bởi việc giao phối chéo hay chuyển gen có thể xảy ra khi vật chủ cuối cùng nhiễm cùng lúc cả 2 loài sán lá gan có quan hệ cận loài này.

Từ khóa: dịch tễ học, sán lá gan nhỏ (*Opisthorchis viverrini*, *Opisthorchis* sp BD2013), vật chủ cuối cùng và vật chủ trung gian.

Complicated epidemiology of small liver tape-worm disease caused by *Opisthorchis viverrini* species in central area, Viet Nam due to occurrence of *Opisthorchis* sp. BD2013 species caused disease in duck

Dao Thi Ha Thanh, Nguyen Thi Giang Thanh, Le Thanh Hoa,
Nguyen Thi Bích Thủy, Sarah Gabriel, Pierre Dorny

SUMMARY

The cross sectional studies at the epidemiological area in Binh Dinh province was conducted to define the prevalence and risk factors of the small liver tape-worm disease caused by *O. viverrini* species in both last hosts, such as: human and duck, and the intermediate hosts, such as: snail and fish. In addition, the gene sequence in mitochondrial of the identified small liver tape-worms was decoded in order to define the genetic position of this small liver tape-worm species in the phylogenetic tree of the Opisthorchiidae family in relationship with the *Opisthorchis* species in this family that was identified prior. The studied result showed that the infection rate of human with *O. viverrini* in the surveyed communities in Binh Dinh province was 11.4% and the infection rate of duck with *Opisthorchis* sp BD 2013 was 34.3%. The two snail species, such as: *Bithynia siamensis*

¹. Viện Thú y

². Tổ chức Hợp tác Nghiên cứu giữa các Trường Đại học, Hoa Kỳ

³. Viện Công Nghệ Sinh Học

⁴. Đại học Ghent, Bỉ

⁵. Viện Y học nhiệt đới Antwerp, Bỉ

goniomphalos and *B. funiculata* were determined to be the first intermediate hosts and 10 fresh water fish species, belonging to Cyprinidae family were determined to be the second intermediate hosts of the small liver tape-worm (*O. viverrini*) in Viet Nam. Of which, the infection rate of *Carassius auratus* species with (the raw meat of this fish species was often eaten by the communities in the surveyed region) *O. viverrini* was highest. Also, the studied result indicated that *O. viverrini* and *Opisthorchis* sp BD2013 were identified in the same 1st intermediate host (snail species: *Bithynia funiculata*) and 2nd and 3rd intermediate hosts (fish species: *Esomus metallicus*, *Puntius brevis* and *Rasbora aurotaenia*). The result of analysing genes (*nad1*, *cob* and *cox1*) in mitochondrial and phylogenetic tree indicated that *Opisthorchis* sp BD2013 was an independent small tape-worm species, it related closely to *O. viverrini*. Although, the *Opisthorchis* sp BD2013 species was not found in human, but the sympatric distribution and sharing the same intermediate hosts in the same epidemiological area of these small liver tape-worm species indicated that the risk of creating a complicated epidemiology of the small liver tape-worm infection due to crossing and gene transfer between two closely relation small liver tape-worm species may occur in the same last host.

Keywords: epidemiology, small tape-worm (*Opisthorchis. viverrini*, *Opisthorchis* sp BD2013), last host and intermediate host.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Opisthorchis viverrini, loài sán lá gan nhỏ truyền lây từ động vật sang người có nguồn gốc từ cá, lưu hành tại vùng Đông Nam Á, trong đó có miền Trung và miền Nam Việt Nam, gây ung thư gan-mật nguyên phát với tỷ lệ tử vong cao trên người bị nhiễm bệnh. Ước tính có khoảng 8 triệu người mắc bệnh sán lá gan nhỏ gây ra bởi loài *O. viverrini* tại các nước Thái Lan, Lào, Campuchia và Việt Nam [1, 2]. Ở Việt Nam, loài *O. viverrini* được ghi nhận lưu hành tại miền Trung và Nam, không lưu hành ở miền Bắc [3]. Tại tỉnh Bình Định, vùng dịch tễ của sán lá gan nhỏ *O. viverrini*, thêm một loài sán lá gan với nhiều đặc điểm hình thái giống với *O. viverrini*, *Opisthorchis* sp BD 2013 gần đây được tìm thấy trong gan vịt nuôi [4, 5] có thể làm tình hình dịch tễ học của bệnh sán lá gan nhỏ thêm phức tạp. Chúng tôi tiến hành điều tra cắt ngang xác định tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ trong cộng đồng cư dân tại vùng dịch tễ bệnh thuộc tỉnh Bình Định, xác định tỷ lệ nhiễm bệnh sán lá gan nhỏ trên vịt, đồng thời tiến hành kiểm tra xác định các loài vật chủ trung gian (cá và ốc), cũng như tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ trên các loài vật chủ trung gian này. Sau đó, các giai đoạn phát triển của cả hai loài sán lá gan nhỏ được giải trình tự gen ty thể (*cob*, *nad1* và *cox1*) để xác định quan hệ loài trong họ Opisthorchiidae.

II. NỘI DUNG, NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

- Tình hình nhiễm sán lá gan nhỏ *O. viverrini* trên người và vật chủ trung gian (cá và ốc nước ngọt) tại tỉnh Bình Định.

- Tình hình nhiễm sán lá gan nhỏ *Opisthorchis* sp BD2013 trên vịt nuôi tại tỉnh Bình Định.

- Quan hệ loài giữa *O. viverrini* và *Opisthorchis* sp. BD2013 trong họ *Opisthorchiidae*.

2.2. Nguyên liệu nghiên cứu

- Mẫu phân người, mẫu ốc và cá nước ngọt tự nhiên, mẫu gan từ vịt nuôi tại các nông hộ, mẫu sán trưởng thành và các giai đoạn phát triển (ấu trùng sán trong vật chủ trung gian ốc và cá).

- Kit Kato-kart dùng cho kiểm tra trứng sán lá gan nhỏ trong phân, pepsinogen tiêu cơ cá, kit chiết tách DNA (Qiagen, Đức), và các nguyên liệu dùng cho phản ứng PCR (Mastermix, Primers...).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp điều tra cắt ngang: mẫu phân người, gan vịt, cá và ốc nước ngọt tự nhiên trên địa bàn nghiên cứu được thu thập tại thời điểm nghiên cứu, đồng thời mẫu phiếu điều tra được kết hợp để thu thập thông tin liên quan đến bệnh sán lá gan nhỏ trên địa bàn nghiên cứu.

- Phương pháp kiểm tra trứng trong phân (sử dụng kit Kato-kart): lượng phân kiểm tra được lấy lên phiến kính sử dụng bàn nhựa đục lỗ tròn có sẵn trong kit. Sau đó lượng phân vừa được lấy được phủ màng cellophan ngâm trong dung dịch xanh methylene, dàn mỏng và kiểm tra dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 100 lần để tìm trứng sán.

- Phương pháp shedding để ốc thải cercaria tự nhiên: ốc nước ngọt sau khi định loại được cho vào cốc nhựa trong cùng với nước sạch và để yên trong 24 giờ để ốc thải cercaria tự nhiên.

- Phương pháp tiêu cơ cá: cá nước ngọt sau khi định loại được băm nhỏ từng con riêng, tiêu cơ với dung dịch pepsinogen 0,1 % để tách metacercaria ra khỏi cơ cá.

- Phương pháp chiết tách DNA, làm PCR và giải trình tự chuỗi gen: sản trường thành và ấu trùng sản được chiết tách DNA riêng biệt, sau đó

tiến hành phản ứng PCR thông thường dùng chỉ thị gen đặc hiệu (primers) để thu được sản phẩm PCR theo yêu cầu. Sản phẩm PCR thu được được làm sạch và giải trình tự phục vụ cho việc xây dựng cây phả hệ xác định quan hệ về loài trong họ *Opisthorchiidae*.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình nhiễm sán lá gan nhỏ *O. viverrini* trên người

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ *O. viverrini* trên người tại tỉnh Bình Định

Nhân tố	Số kiểm tra	Số nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)	P
Tỷ lệ nhiễm chung	254	29	11,4	
Giới tính				
Nữ	118	3	2,5	
Nam	136	26	19,1	0,009
Ăn gỏi cá				
Không ăn	139	0	0	
Cá biển	24	2	8,3	0,058
Cá tự nhiên	71	25	35,2	0,001
Cả 2 loại	20	2	10,0	0,051
Tuổi (năm)				
< 18	43	2	4,7	
18 – 60	178	22	12,4	0,940
> 60	33	5	15,2	0,930

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ trong cộng đồng điều tra tại tỉnh Bình Định là 11,4 %. Tỷ lệ nhiễm này được xem là trung bình [6] và thấp hơn nhiều so với tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ trong cộng đồng dân cư tại các vùng dịch tễ khác: 21,6 % ở các vùng nông thôn của Thái Lan, và trên 50 % ở Lào và Campuchia [7-9]. Cũng từ kết quả bảng 1 cho thấy, những người mắc bệnh chủ yếu là nam giới, tuổi càng cao tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ càng cao và chỉ những người ăn gỏi cá mới nhiễm bệnh. Ăn cá sống (cá nước ngọt tự nhiên - cá diếc) được xác định là yếu tố nguy cơ có tính chất quyết định đến tình trạng nhiễm bệnh

sán lá gan nhỏ tại tỉnh Bình Định ($P=0,001$).

3.2. Tình hình nhiễm sán lá gan nhỏ *Opisthorchis* sp BD2013 trên vịt

Kết quả nghiên cứu điều tra tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ trên vịt nuôi gây ra bởi loài *Opisthorchis* sp BD2013 tại tỉnh Bình Định được thể hiện ở bảng 2 cho thấy, tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ *Opisthorchis* sp BD2013 ở vịt nuôi tại tỉnh Bình Định là 34,3 %, cao hơn rất nhiều so với tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ *O. viverrini* trên người [5]. Trong 4 huyện được điều tra thuộc vùng thấp của tỉnh Bình Định thì An Nhơn là huyện có tỷ lệ vịt nuôi nhiễm *Opisthorchis* sp BD2013 cao nhất.

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ *Opisthorchis* sp BD2013 trên vịt tại tỉnh Bình Định

	Nhân tố	Số vịt kiểm tra	Số vịt nhiễm sán	Tỷ lệ nhiễm (%)
Huyện	Tổng	178	61	34,3
	Phù Mỹ	69	26	37,7
	Phù Cát	33	10	30,3
	An Nhơn	47	19	40,4
	Tuy Phước	29	6	20,7
Tuổi (tháng)	< 3	76	11	14,5
	3 - 12	47	20	42,6
	> 12	55	30	54,5
Vịt	Thịt	72	12	16,7
	Đẻ trứng	106	49	46,2
Địa điểm chăn thả	Cánh đồng	166	57	34,3
	Sông	73	25	34,2
	Suối	75	33	44,0
	Mương máng	159	6	37,7

3.3. Tình hình nhiễm sán lá gan nhỏ trên ốc nước ngọt (vật chủ trung gian thứ nhất)

Từ bảng 3, kết quả thu được cho thấy hai loài ốc *Bithynia funiculata* và *B. siamensis goniomphalos* được xác định là vật chủ trung gian thứ nhất của *O. viverrini* tại miền Trung Việt Nam, với tỷ lệ nhiễm rất thấp 0,55 %. Ba loài ốc *Bithynia* bao gồm *Bithynia funiculata*, *B. s. goniomphalos* và *B. s. siamensis* được xác định là vật chủ trung gian thứ nhất của *O. viverrini* [10]. Tỷ lệ nhiễm *O. viverrini* ở ốc

Bithynia là rất thấp, thông thường giao động từ 0,03 – 1,3 % ở Thái Lan và tỷ lệ nhiễm cao nhất được ghi nhận tại các vùng dịch tễ (hyper-endemic) nằm tại vùng biên giới giữa Lào và Thái Lan là 2,01 – 3,04 % [11]. Và trong nghiên cứu này của chúng tôi, cercariae *Opisthorchis* sp BD 2013 đồng thời được tìm thấy trong ốc *B. funiculata*. Đây là lần đầu tiên ốc nước ngọt *Bithynia* được xác định và xác nhận là vật chủ trung gian thứ nhất của *O. viverrini* và *Opisthorchis* sp BD2013 tại Việt Nam.

Bảng 3. Tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ *O. viverrini* trên ốc tại tỉnh Bình Định

	Nhân tố	Số kiểm tra	Số nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)	P
Tỷ lệ nhiễm chung				0,55	
Loài	<i>B. funiculata</i>	693	1	0,14	0,449
	<i>B. s. goniomphalos</i>	923	8	0,87	
Kích thước vỏ	< 8 mm	308	2	0,65	0,212
	8 -< 10 mm	553	5	0,90	
	≥ 10 mm	746	2	0,27	
Địa điểm thu mẫu	Ruộng lúa	934	1	0,11	0,029
	Mương máng	673	8	0,17	

3.4. Tình hình nhiễm sán lá gan nhỏ trên cá nước ngọt (vật chủ trung gian thứ 2)

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, 10 trong tổng số 12 loài cá nước ngọt tự nhiên được kiểm tra tại tỉnh Bình Định nhiễm metacercaria *O. viverrini*. Tỷ lệ nhiễm trung bình là 44,96%, trong đó cá diếc (*Carassius auratus*) là loài cá thường được dùng để ăn gỏi cá sống tại địa bàn điều tra, nhiễm cao nhất với *O. viverrini* (74,01%). Ba loài cá *Esomus*

metallicus (cá lòng tong), *Rasbora aurotaenia* (cá lòng tong lưng thấp) và *Puntius brevis* (cá trắng) đồng thời kiểm tra thấy metacercariae của cả *O. viverrini* và *Opisthorchis* sp BD2013. Việc cùng nhiễm metacercariae của cả hai loại sán lá gan nhỏ trên một cá thể vật chủ trung gian là nguy cơ cho việc cùng nhiễm hai loại sán này trên cùng một vật chủ cuối cùng, làm phức tạp hoá dịch tễ học của bệnh trong vùng dịch tễ (co-endemic area) [12].

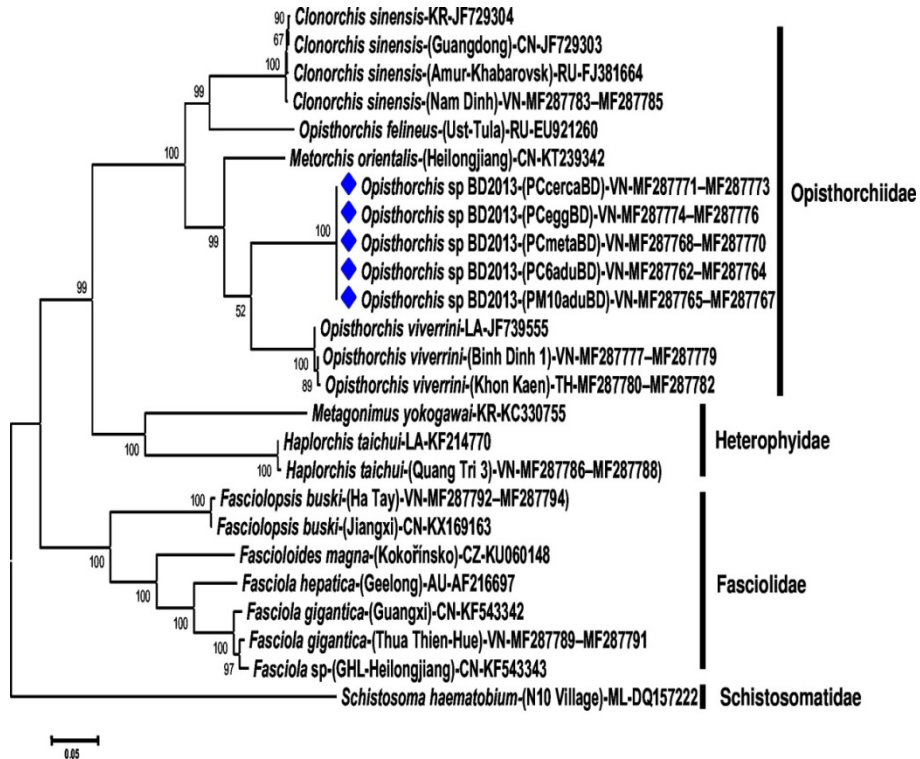
Bảng 4. Tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ *O. viverrini* trên cá tự nhiên tại tỉnh Bình Định

Loài cá	Số kiểm tra	Số nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)
I. Họ Cyprinidae			
1. <i>Carassius auratus</i>	254	188	74,01
2. <i>Rasbora aurotaenia</i>	104	58	55,77
3. <i>Puntius brevis</i>	158	50	31,65
4. <i>Esomus metallicus</i>	81	11	13,58
5. <i>Hampala dispar</i>	14	4	28,57
6. <i>Cyprinus carpio</i>	15	0	0
II. Họ Cichlidae			
7. <i>Oreochromis niloticus</i>	48	9	25,00
III. Họ Anabantidae			
8. <i>Anabas testudineus</i>	22	7	31,82
IV. Họ Bagridae			
9. <i>Mystus carasius</i>	30	8	26,67
V. Họ Osphronemidae			
10. <i>Trichopsis vittatus</i>	9	2	22,22
11. <i>Trichogaster trichopterus</i>	7	2	28,57
VI. Họ Channidae			
12. <i>Channa orientalis</i>	12	0	0
Tổng	754	339	44,96

3.5. Kết quả giám định mối quan hệ loài giữa *Opisthorchis* sp BD2013 và *O. viverrini* sử dụng gen ty lạp thể (nad1, cox1 và cob)

Kết quả từ hình 1 cho thấy, sán lá gan nhỏ *O. viverrini* và *Opisthorchis* sp BD2013 đứng riêng rẽ theo loài, thành hai nhóm riêng biệt và ở vị trí gần nhau trên cây phả hệ gen ty thể, thể hiện hai loài sán này có quan hệ cận loài (sister species) với nhau. Sự chuyển gen/ giao gen giữa

hai loài sán có quan hệ cận loài trong cùng chi (genus) đã được tìm thấy trên sán lá gan lớn *Fasciola* spp. tại Việt Nam [13]. Mặc dù kết quả nghiên cứu hiện tại chưa tìm thấy sán lá gan nhỏ *Opisthorchis* sp BD2013 trên người thì việc đồng thời lưu hành hai loài sán lá gan có quan hệ cận loài và chia sẻ cùng vật chủ trung gian ở giai đoạn ấu trùng gây bệnh trong cùng vùng dịch tễ, có nguy cơ làm phức tạp dịch tễ học của bệnh bởi việc giao phối chéo hay chuyển gen có



Hình 1. Cây phả hệ thể hiện mối quan hệ loài của *Opisthorchis* sp BD2013 và *O. viverrini* trong họ Opisthorchiidae (sử dụng gen *cob*, *nad1* và *cox1* thuộc hệ gen ty thể mtDNA)

thể xảy ra khi vật chủ cuối cùng nhiễm cùng lúc cả hai loài sán lá gan có quan hệ cận loài này.

IV. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

- Sán lá gan nhỏ *O. viverrini* lưu hành tại tỉnh Bình Định, tỷ lệ nhiễm 11,4 %. Tập quán ăn gỏi cá và giới tính nam được xác định là yếu tố nguy cơ cao liên quan đến việc nhiễm sán.

- *Opisthorchis* sp BD2013 cùng lưu hành trong vùng dịch tễ *O. viverrini*, tỷ lệ nhiễm trên vịt là 34,3 %.

- Ốc nước ngọt *Bythinia* (*Bythinia funiculata* và *B. siamensis goniomphalos*) được xác định là vật chủ trung gian thứ nhất của *O. viverrini*, tỷ lệ nhiễm *O. viverrini* ở ốc nước ngọt là cực thấp (0,55 %). *B. funiculata* kiểm tra thấy cercariae của cả *O. viverrini* và *Opisthorchis* sp BD2013.

- Cá nước ngọt, chủ yếu thuộc họ *Cyprinidae* (6/10 loài nhiễm) được xác định là vật chủ trung gian thứ hai của *O. viverrini* với tỷ lệ nhiễm metacercariae ở cá trung bình 44,96 %. Trong đó

3 loài cá nước ngọt kiểm tra thấy metacercariae của cả *O. viverrini* và *Opisthorchis* sp BD2013.

- *Opisthorchis* sp BD2013 được xác định có quan hệ cận loài với *O. viverrini* trên cây phả hệ xây dựng từ chuỗi gen hệ ty thể mtDNA.

Kiến nghị: Sự cùng lưu hành (co-existence) của hai loài sán lá gan nhỏ *O. viverrini* và *Opisthorchis* sp BD2013 có quan hệ cận loài (sister species) và cùng nhiễm trên một loài vật chủ trung gian thứ nhất (ốc nước ngọt *B. funiculata*) và thứ hai (ba loài cá nước ngọt tự nhiên *Esomus metallicus* - cá lòng tong, *Rasbora aurotaenia* - cá lòng tong lưng thấp và *Puntius brevis* - cá trắng) có thể dẫn đến sự cùng nhiễm trên vật chủ cuối cùng. Nghiên cứu điều tra về sự cùng nhiễm hai loài sán lá gan nhỏ này trên các loài vật có ăn cá sống (fish-eating hosts) như chó, mèo và các loài chim ăn cá hoang dã khác (cò, diệc, bồ nông...) là cần thiết để hiểu rõ hơn về dịch tễ học, góp phần vào việc khống chế bệnh sán lá gan nhỏ tại Việt Nam cũng như khu vực tiểu vùng sông Mê Kông.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sripa, B., et al., The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini*—multiple pathways to cancer. *Trends in Parasitology*, 2012. 28(10): p. 395-407.
2. WHO, Review on the epidemiological profile of helminthiasis and their control in the Western Pacific region, 1997-2008. 2008, Manila: WHO Regional Office for the Western Pacific.
3. Nguyen, V.D. and T.H. Le. Human infections of fish-borne trematodes in Vietnam: prevalence and molecular specific identification at an endemic commune in Nam Dinh province. *Experimental Parasitology*, 2011. 129(4): p. 355-361.
4. Dao, T., et al., *Opisthorchis viverrini*-like liver fluke in birds from Vietnam: morphological variability and rDNA/mtDNA sequence confirmation. *Journal of Helminthology*, 2014. 88(4): p. 441-446.
5. Dao, T.T.H., et al., *Opisthorchis viverrini* infections and associated risk factors in a lowland area of Binh Dinh Province, Central Vietnam. *Acta Tropica*, 2016. 157: p. 151-157.
6. Sithithaworn, P., et al., The current status of opisthorchiasis and clonorchiasis in the Mekong Basin. *Parasitology International*, 2012. 61(1): p. 10-16.
7. Forrer, A., et al., Spatial distribution of, and risk factors for, *Opisthorchis viverrini* infection in southern Lao PDR. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2012. 6(2): p. e1481.
8. Rangsinsin, R., et al., Incidence and risk factors of *Opisthorchis viverrini* infections in a rural community in Thailand. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2009. 81(1): p. 152-155.
9. Yong, T.-S., et al., High prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in a riparian population in Takeo Province, Cambodia. *The Korean Journal of Parasitology*, 2012. 50(2): p. 173.
10. Andrews, R.H., P. Sithithaworn, and T.N. Petney, *Opisthorchis viverrini*: an underestimated parasite in world health. *Trends Parasitol*, 2008. 24(11): p. 497-501.
11. Kiatsopit, N., et al., Exceptionally high prevalence of infection of *Bithynia siamensis goniomphalos* with *Opisthorchis viverrini* cercariae in different wetlands in Thailand and Lao PDR. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2012. 86(3): p. 464-469.
12. Dao, H.T.T., et al., *Opisthorchis viverrini* infection in the snail and fish intermediate hosts in Central Vietnam. *Acta Tropica*, 2017. 170: p. 120-125.
13. Le, T.H., et al., Human fascioliasis and the presence of hybrid/introgressed forms of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* in Vietnam. *International Journal for Parasitology*, 2008. 38(6): p. 725-730.

Ngày nhận 15-3-2018

Ngày phản biện 14-6-2018

Ngày đăng 1-9-2018