

# NGHIÊN CỨU VÒNG ĐỜI SÁN LÁ GAN NHỎ (*OPISTHORCHIIDAE*) Ở CHÓ, MÈO TẠI VIỆT NAM

Nguyễn Văn Thoai<sup>1\*</sup>, Nguyễn Đức Tân<sup>1</sup>, Huỳnh Vũ Vy,<sup>1</sup>  
Lê Hứa Ngọc Lực<sup>1</sup>, Lê Đức Quyết<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Thái<sup>2</sup>  
Tác giả liên hệ email: nvthoaipvt@gmail.com

## TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, vòng đời sán lá gan nhỏ (*O. viverrini*, *C. sinensis*) đã được xác định với 2 vật chủ trung gian: Vật chủ trung gian thứ nhất là ốc nước ngọt (*Bithynia siamensis*, *B. fuchsiana*), vật chủ trung gian thứ 2 là cá nước ngọt (cá trắm cỏ, cá chép, cá diếc, cá mè vinh, cá mè trắng). Sán trưởng thành ký sinh trong gan của chó, mèo; sán thải trứng theo phân ra ngoài môi trường (ao hồ, sông, suối,...). Ở môi trường nước ngọt tự nhiên, trong trứng hình thành ấu trùng miracidium sau 9-15 ngày, trứng không nở ra miracidium. Khi ốc *B. siamensis*, *B. fuchsiana* ăn phải trứng, ấu trùng miracidium thoát ra khỏi vỏ trứng, phát triển qua các giai đoạn sporocyst, redia và cercaria. Sau 55-62 ngày, cercaria thoát ra khỏi ốc, bơi tự do trong nước, xâm nhập vào cá nước ngọt. Ấu trùng sán tiếp tục phát triển trong cá nước ngọt và tạo thành dạng nang kén metacercaria sau 25-40 ngày. Khi chó, mèo ăn phải cá nước ngọt chứa ấu trùng ở dạng kén, ấu trùng sán tiếp tục phát triển đến giai đoạn sán trưởng thành, thải trứng theo phân ra ngoài môi trường từ 26-32 ngày (*O. viverrini*) và 28-34 ngày (*C. sinensis*).

*Từ khóa:* Vòng đời, sán lá gan nhỏ, vật chủ trung gian, ốc nước ngọt, cá nước ngọt.

## Research on the life cycle of the small liver fluke (*Opisthorchiidae*) in dog, cat in Viet Nam

Nguyen Van Thoai, Nguyen Duc Tan,  
Huynh Vu Vy, Le Hua Ngoc Luc, Le Duc Quyet, Nguyen Van Thai

## SUMMARY

In this study, the life cycle of the small liver fluke (*O. viverrini*, *C. sinensis*) was determined with two intermediate hosts: The first intermediate host was freshwater snail (*Bithynia siamensis*, *B. fuchsiana*), the second intermediate host was freshwater fish (silver carp - *Hypophthalmichthys molitrix*, java barb - *Barbonymus gonionotus*, crusian carp - *Carassius auratus*, common carp - *Cyprinus carpio*, grass carp - *Ctenopharyngodon idellus*). The adult flukes parasitized in liver of dog and cat, layed eggs then eggs were released into the natural water environment (ponds, rivers, streams, ...). In freshwater, the fluke eggs developed into miracidium larvae after 9-15 days, these larvae always exist inside the eggs. When snails (*B. siamensis*, *B. fuchsiana*) swallowed the eggs, inside the snail, miracidium was released and developed through the stages of sporocyst, redia and cercaria. After 55-62 days cercariae were released from the snail, swimming freely in water and penetrating in freshwater fish. Inside freshwater fish, fluke larvae developed into metacercaria after 25-40 days. When dog, cat-definitive host consumed freshwater fish containing metacercaria, fluke larvae developed to mature fluke after 26-32 days (*O. viverrini*) and 28-34 days (*C. sinensis*).

*Keywords:* Life cycle, small liver fluke, intermediate host, freshwater snail, freshwater fish.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sán lá gan nhỏ thuộc họ *Opisthorchiidae*,

giống *Clonorchis* chỉ có một loài là *C. sinensis*, trong khi đó giống *Opisthorchis* có trên 50 loài. Những loài quan trọng đối với ngành thú y và y tế là *C. sinensis*, *O. viverrini*. Vòng đời phát triển

<sup>1</sup> Phân viện Thú y miền Trung

<sup>2</sup> Đại học Tây Nguyên

cần hai vật chủ trung gian, ốc nước ngọt là vật chủ trung gian thứ nhất và cá nước ngọt là vật chủ trung gian thứ hai. Vật chủ cuối cùng (người và chó, mèo, ...) bị bệnh do ăn phải cá nước ngọt chứa ấu trùng ở dạng nang kén (Kaewkes, 2003). Theo Tổ chức Y tế thế giới, có khoảng 45 triệu người mắc bệnh và 600 triệu người có nguy cơ mắc bệnh. Các nước như Trung Quốc, Đài Loan, Hàn Quốc và các nước Đông Nam Á (Lào, Thái Lan, Campuchia và Việt Nam) là những vùng có sự lưu hành của sán lá gan nhỏ *O. viverrini* và *C. sinensis* (Keiser và Utzinger, 2009). Tại Hàn Quốc, tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ ước tính khoảng 1,86% trên tổng dân số của nước này (Kim *et al.*, 2016). Tại khu vực châu Á, Thái Lan có nguy cơ nhiễm sán lá gan nhỏ cao nhất, ước tính tỷ lệ người nhiễm khoảng 15% (Prakobwong *et al.*, 2017), thiệt hại kinh tế do bệnh này gây ra khoảng 120 triệu USD (Sithithaworn *et al.*, 2012).

Tại Việt Nam theo Bộ Y tế (2016), có ít nhất 32 tỉnh có bệnh sán lá gan nhỏ *C. sinensis* và *O. viverrini* trong đó các tỉnh lưu hành nặng nhất là Nam Định, Ninh Bình, Hòa Bình, Hà Nội, Thanh Hóa, Phú Yên, Bình Định. Theo Tổ chức Y tế thế giới, nguy cơ người Việt Nam tại vùng dịch tễ bị nhiễm sán lá gan nhỏ là 19% (WHO, 2014), một số trường hợp có thể lên đến 26% (Dang *et al.*, 2008). Cho đến nay, vẫn chưa có công trình nào nghiên cứu về vòng đời của sán lá gan nhỏ trên chó, mèo. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu vấn đề này nhằm làm rõ hơn mối quan hệ sinh thái giữa ký sinh trùng và vật chủ trong điều kiện sinh thái ở Việt Nam.

## II. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Địa điểm bố trí thí nghiệm: Phân viện Thú y miền Trung

Thời gian nghiên cứu: 2019-2021.

### 2.2. Đối tượng nghiên cứu

Sán lá gan nhỏ (*C. sinensis* và *O. viverrini*) trên chó, mèo và vật chủ trung gian là ốc nước ngọt, cá nước ngọt.

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

**Chuẩn bị mầm bệnh (nuôi trứng):** Thu thập sán từ động vật nhiễm bệnh trong tự nhiên, đưa sán trong nước sinh lý (sán thường sống được khoảng 3-4 giờ sau khi tách khỏi cơ thể vật chủ và không ngừng thải trứng). Sau đó ly tâm, thu trứng cho vào môi trường nước ngọt tự nhiên, để ở nhiệt độ phòng thí nghiệm (22-23°C) và theo dõi quá trình phát triển của trứng dưới kính hiển vi (độ phóng đại 100 hoặc 400 lần). Đếm toàn bộ số trứng có ấu trùng và trứng không có ấu trùng ở trong đĩa petri.

**Gây nhiễm ốc:** Các loại ốc nước ngọt được thu thập trong môi trường tự nhiên, được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm, để chúng đẻ ra thế hệ sau dùng gây nhiễm (Đối với một số ốc khó đẻ, nuôi 20-30 ngày để chúng thải hết mầm bệnh nếu nhiễm ngoài tự nhiên). Trước khi gây nhiễm, chúng được xét nghiệm ngẫu nhiên để đảm bảo không nhiễm mầm bệnh sán lá gan nhỏ.

Cho ốc vào cốc thủy tinh có chứa 250-300 ml nước muối sinh lý, sau đó cho trứng sán đã hình thành ấu trùng lông vào cốc thủy tinh (mỗi cốc có 10 ốc, gây nhiễm khoảng 100-120 trứng sán). Sau gây nhiễm, để cốc thủy tinh vào chỗ bóng tối (khoảng 8-12 giờ), để ốc ăn hết trứng. Sau đó thả ốc xuống bể thí nghiệm, định kỳ 3 ngày/lần xét nghiệm ốc, theo dõi quá trình phát triển của mầm bệnh. Xét nghiệm được tiến hành từng cá thể ốc, ép giữa 2 tấm kính và kiểm tra dưới kính hiển vi để tìm ấu trùng sán lá gan nhỏ. Xác định thành phần loài ốc nhiễm (Vật chủ trung gian thứ nhất).

**Gây nhiễm cá:** Cá nước ngọt (cá mè trắng, cá chép, cá diếc, cá trắm cỏ, cá rô phi) được nuôi trong phòng thí nghiệm để gây nhiễm. Trước khi gây nhiễm, chúng được xét nghiệm ngẫu nhiên để đảm bảo không nhiễm ấu trùng sán lá gan nhỏ. Mầm bệnh gây nhiễm cho cá là ấu trùng dạng cercaria từ ốc. Thu thập ấu trùng bằng cách cho ốc lên đĩa petri và để qua đêm. Ấu trùng sẽ thoát ra khỏi ốc, bơi lội tự do trong nước hoặc mô ốc thu ấu trùng dưới kính hiển vi soi nổi.

Cho cá vào xô có chứa khoảng 10 lít nước, gây nhiễm khoảng 50-60 ấu trùng/cá. Sau 6 giờ gây nhiễm, thả cá xuống bể thí nghiệm. Định kỳ

1 ngày/lần, mổ khám xét nghiệm xác định các giai đoạn phát triển của mầm bệnh. Xét nghiệm phát hiện nang kén trên cá bằng phương pháp xem tươi và phương pháp tiêu cơ (Murrell *et al.*, 2007), xác định thành phần loài cá nhiễm bệnh (vật chủ trung gian thứ hai).

**Gây nhiễm động vật (chó, mèo):** Động vật được nuôi trong phòng thí nghiệm để gây nhiễm. Trước khi gây nhiễm, chúng được xét nghiệm phân để đảm bảo không nhiễm sán lá gan nhỏ.

Cho chó, mèo ăn nang kén sán từ cá nước ngọt, mỗi con nuốt 40-45 nang kén. Sau khi gây nhiễm, định kỳ 3 ngày/lần xét nghiệm phân xác định thời gian sán thải trứng trong phân, cường độ sán thải trứng trong phân theo thời gian. Xét nghiệm trứng sán lá gan nhỏ trong phân bằng

phương pháp phù nổi lắng cạn cải tiến, đếm cường độ trứng bằng buồng đếm Mac Master.

Mổ khám động vật thu sán bằng phương pháp mổ khám không toàn diện (Skrjabin, 1963).

Xử lý các kết quả nghiên cứu bằng phần mềm Excel 2010.

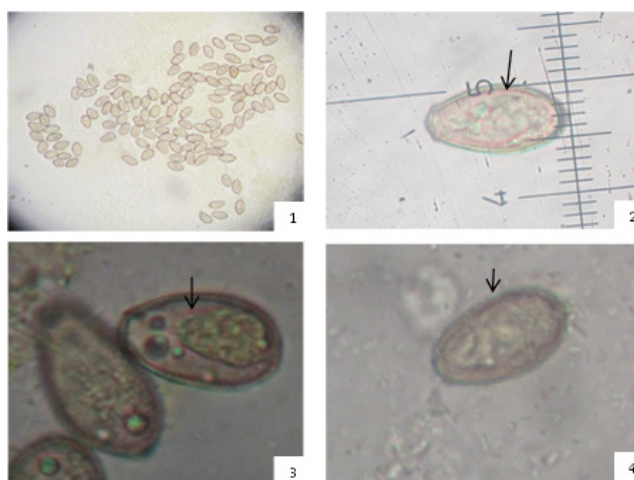
### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Quá trình phát triển của trứng sán lá gan nhỏ ở ngoài môi trường

Trứng sán lá gan nhỏ thu thập từ chó, mèo bị bệnh, cho vào môi trường nước ngọt tự nhiên, theo dõi quá trình phát triển của trứng ở nhiệt độ phòng thí nghiệm (22 - 28°C).

**Bảng 1. Quá trình phát triển của trứng ở môi trường nước ngọt tự nhiên**

| Thời gian (ngày) | Những thay đổi của trứng                                                            | Tỷ lệ trứng thay đổi (%; n=1.349 trứng) |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1-3              | Tế bào phôi phủ kín trứng                                                           | 100,0                                   |
| 4-8              | Tế bào phôi phân chia thành nhiều tế bào, sau đó tạo thành 1 khối thống nhất        | 85,2                                    |
| 9-15             | Các tế bào phôi thành một khối thống nhất<br>Ấu trùng hình thành nằm trong vỏ trứng | 77,8                                    |
| 27-35            | Ấu trùng chết, tế bào co cụm hoặc bị phân hủy                                       | 41,5                                    |



**Hình 1. Một số hình ảnh trứng sán lá gan nhỏ ở ngoài môi trường**

1: Trứng sán 1-3 ngày (tế bào phôi phủ đầy trứng); 2: Trứng sau 4-8 ngày (tế bào phôi phân chia); 3: Trứng sau 9-15 ngày (chứa ấu trùng miracidium); 4: Trứng 27-35 ngày, ấu trùng bị phân hủy

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, trứng sán mới đẻ có hình bầu dục, 2 lớp vỏ, đầu nhỏ có nắp, tế bào phôi phủ kín trứng. Đến ngày thứ 4, tế bào phôi phân chia thành nhiều tế bào, sau đó xuất hiện dạng tế bào đặc. Từ ngày thứ 9 đến ngày 15, trong trứng đã hình thành ấu trùng (miracidium), với tỷ lệ 77,8%. Theo dõi các lô thí nghiệm cho thấy, ấu trùng miracidium hình thành và nằm trong vỏ trứng, không thoát ra ngoài môi trường. Ấu trùng sống trong trứng một thời gian và bị chết, các tế bào co cụm từng đám hoặc bị phân hủy.

### 3.2. Thành phần vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá gan nhỏ

Tổng số 14 loài ốc nước ngọt nuôi trong điều kiện thí nghiệm, gồm ốc *Bithynia siamensis*, *B. fuchsiana*, *Melanoides tuberculata*, *Sermyla tornatella*, *Tarebia granifera*, *Polypylis*

*hemisphaerula*, *Lymnaea swinhoei*, *Lymnaea viridis*, *Pachydrobia* spp., *Indoplanorbis exustus*, *Pomacea canaliculata*, *Mekongia* spp., *Eyriesia* spp., *Sinotaia* spp. Các loài ốc đều được gây nhiễm với trứng sán lá gan nhỏ chứa miracidium (mỗi loài ốc gây nhiễm từ 950-1.200 con). Kết quả chỉ phát hiện ốc *B. siamensis* và *B. fuchsiana* là vật chủ thích hợp để mầm bệnh sán lá gan nhỏ ký sinh. Tỷ lệ nhiễm ấu trùng ở ốc *B. siamensis* là 70,91 % (795/1.121) và *B. fuchsiana* là 68,84% (654/950). Trong khi đó, chưa tìm thấy ấu trùng sán lá gan nhỏ ký sinh ở các loài ốc khác.

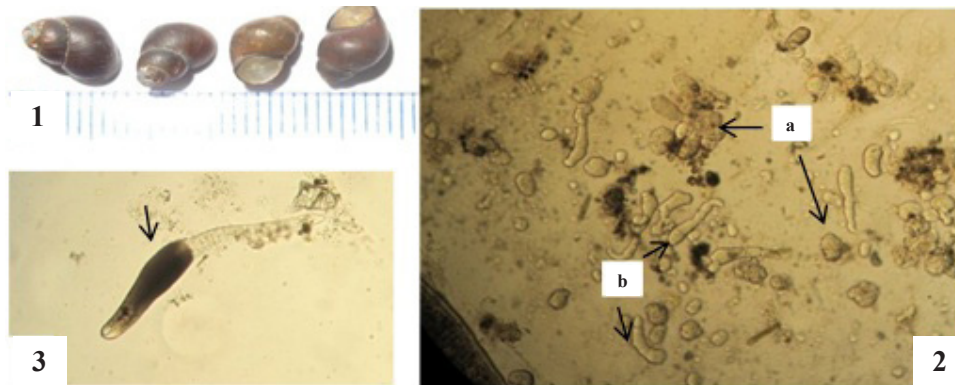
Sau khi ốc ăn phải trứng sán, ấu trùng miracidium thoát ra và phát triển qua các giai đoạn sporocyst, redia và cercaria. Các giai đoạn phát triển của ấu trùng trên ốc được thể hiện ở bảng 2 và hình 2.

**Bảng 2. Các giai đoạn ấu trùng phát triển ở ốc *B. siamensis* và *B. fuchsiana***

| Thời gian sau gây nhiễm | Lô TN    | Dạng ấu trùng             | Hình dạng ấu trùng                                                                    | Kích thước ấu trùng (µm) (n=100) |                         |
|-------------------------|----------|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|-------------------------|
|                         |          |                           |                                                                                       | Chiều dài (trung bình)           | Chiều rộng (trung bình) |
| Đến 24 giờ              | L1<br>L2 | Miracidium                | Hình bầu dục, lông bao phủ cơ thể, có 1 điểm mắt, các cơ quan bên trong không nhìn rõ | 30-34<br>(31,8)                  | 15-17<br>(16,4)         |
| 2-4 ngày                | L1<br>L2 | Sporocyst non             | Hình bầu dục hoặc hình trứng, có các tế bào mầm                                       | 35-60<br>(48,0)                  | 20-40<br>(30,0)         |
| 5-10 ngày               | L1<br>L2 | Sporocyst non             | Hình thái như trên                                                                    | 350-550<br>(450,0)               | 180-270<br>(228,0)      |
| 11-15 ngày              | L1<br>L2 | Sporocyst già             | Hình bầu dục, bên trong là các redia I                                                | 650-950<br>(800,0)               | 310-430<br>(362,0)      |
| 16-21 ngày              | L1<br>L2 | Redia I                   | Dạng hình cành cây, bên trong có các tế bào hình tròn                                 | 210-360<br>(268,0)               | 90-120<br>(104)         |
| 22-29 ngày              | L1<br>L2 | Redia II                  | Hình bầu dục, bên trong có cercaria                                                   | 450 - 600<br>(510,0)             | 100 - 160<br>(132,0)    |
| 30-44 ngày              | L1<br>L2 | Sporocyst Redia I, II     | Hình thái, kích thước ấu trùng tương tự với mỗi dạng như trên                         |                                  |                         |
| 45-54 ngày              | L1<br>L2 | Cercaria trong cơ thể ốc  | Cơ thể có sắc tố màu nâu, có giác miệng, giác bụng, 1 đôi mắt và có đuôi              | 540-555<br>(547,0)               | 70-80<br>(75,6)         |
| 55-62 ngày              | L1<br>L2 | Cercaria thoát ra khỏi ốc |                                                                                       |                                  |                         |

Ghi chú: TN: thí nghiệm, L1: Lô TN với *O. viverrini*, L2: Lô TN với *C. sinensis*





**Hình 2. Ấu trùng trong ốc *B. siamensis* và *B. fuchsiana***  
1: Ốc; 2: a-Sporocyst, b-Redia; 3: Cercaria

Bảng 2 và hình 2 cho thấy sau gây nhiễm cho đến 24 giờ, miracidium (ấu trùng lông) đã thoát khỏi vỏ trứng, khu trú ở ruột; ấu trùng có hình bầu dục, bên ngoài có lông bao phủ.

Sau 2 đến 10 ngày, miracidium hình thành sporocyst non, có dạng hình oval hoặc hình trứng, bên trong có nhiều tế bào mầm và có điểm mắt. Các tế bào này tiếp tục phân chia, phát triển và dần dần hình thành nên các vách ngăn, tạo nên những hình túi độc lập.

Từ 11 đến 15 ngày, sporocyst già có hình bầu dục, bên trong có các redia I.

Từ 15 đến 21 ngày, redia I sinh ra từ sporocyst già, có dạng hình cành cây, bên trong có các tế bào hình tròn.

Từ 22 đến 29 ngày, redia II sinh ra từ redia I, có dạng hình bầu dục, có miệng, hầu, ruột, bên trong chứa nhiều cercaria.

Từ 30 đến 44 ngày, các sporocyst, redia tiếp tục sinh sản vô tính cho ra nhiều thế hệ con.

Sau 45 đến 54 ngày, một số cercaria thoát ra khỏi redia II, vẫn tiếp tục sống bên trong ốc.

Từ 55 đến 62 ngày, cercaria thoát ra khỏi cơ thể ốc và bơi tự do trong nước. Cấu tạo cơ thể của cercaria được chia thành 2 phần, phần thân và phần đuôi. Phần thân có hình bầu dục, có giác miệng, giác bụng, ruột, có 2 điểm mắt, cơ thể có nhiều sắc tố màu nâu bao phủ; phần

đuôi mảnh; dài gấp 2-2,5 lần phần thân, đuôi là cơ quan giúp cho ấu trùng bơi tự do trong nước.

Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, ốc *B. siamensis* và *B. fuchsiana* là động vật cảm nhiễm thứ nhất với mầm bệnh sán lá gan nhỏ. Trong cơ thể ốc, ấu trùng sán từ dạng miracidium phát triển thành các giai đoạn sporocyst, redia và cuối cùng là cercaria chui ra khỏi ốc sau 55 - 62 ngày gây nhiễm.

### 3.3. Thành phần vật chủ trung gian thứ hai của sán lá gan nhỏ

Các loài cá nước ngọt (cá mè trắng, cá mè vinh, cá chép, cá trắm cỏ, cá diếc, cá rô phi) được gây nhiễm ấu trùng (cercaria) từ ốc *B. siamensis* và *B. fuchsiana*. Kết quả cho thấy, cá mè trắng, cá mè vinh, cá chép, cá trắm cỏ, cá diếc nhiễm ấu trùng sán lá gan nhỏ với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 72,42% (302/417); 56,56% (125/221); 64,49% (327/507); 62,93% (146/232) và 70,76% (351/496); cá rô phi không nhiễm (0/245). Kết quả ở bảng 3 cho thấy sau khi cercaria xâm nhập vào cá nước ngọt, ấu trùng phát triển qua các giai đoạn sau:

Sau 5 đến 24 giờ, cercaria rụng đuôi, ít hoạt động.

Từ 2 đến 12 ngày, ấu trùng có hình bầu dục hoặc hình trứng, bên ngoài có một lớp vỏ mỏng trong suốt bao bọc ấu trùng, màu trắng sữa.

Từ 13 đến 24 ngày, lớp vỏ thứ 2 được hình

thành, ấu trùng có hình trứng hoặc hình bầu dục, ấu trùng biến đổi màu sắc, từ màu trắng sữa sang màu nâu nhạt.

Từ 25 đến 28 ngày, một số ấu trùng tạo thành dạng nang kén với 2 lớp vỏ, có dạng hình cầu hoặc hình tròn.

Từ 29 đến 40 ngày, toàn bộ ấu trùng đã phát triển thành dạng nang, ấu trùng hoạt động mạnh bên

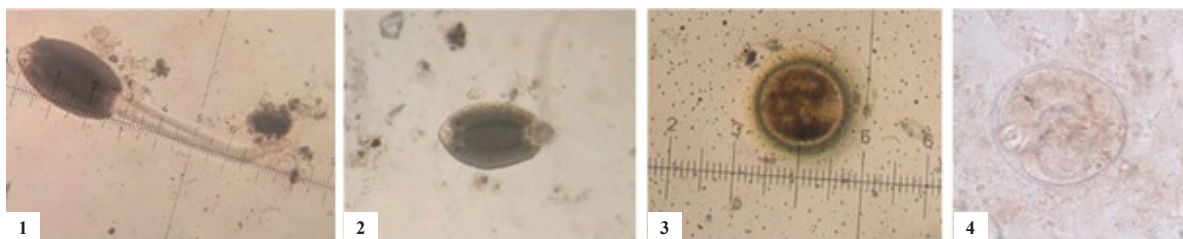
trong nang kén, có thể nhìn rõ một số bộ phận bên trong như: giác miệng, giác bụng và manh tràng.

Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy cá mè trắng, cá mè vinh, cá chép, cá trắm cỏ, cá diếc là vật chủ trung gian thứ 2 của bệnh sán lá gan nhỏ. Vì ấu trùng (cercaria) khi ra khỏi ốc, xâm nhập vào vật chủ, tiếp tục phát triển để tạo thành dạng nang kén, ký sinh trong cơ của cá.

**Bảng 3. Các giai đoạn ấu trùng phát triển ở cá nước ngọt**

| Thời gian sau gây nhiễm | Lô TN | Dạng ấu trùng                                                                                                                                                                    | Kích thước ấu trùng ( $\mu\text{m}$ ); (n=150) |                         |
|-------------------------|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------|
|                         |       |                                                                                                                                                                                  | Chiều dài (trung bình)                         | Chiều rộng (trung bình) |
| 5-24 giờ                | L1    | Cercaria rụng đuôi, hình bầu dục, ít hoạt động                                                                                                                                   | 80 - 90                                        | 65-75                   |
|                         | L2    |                                                                                                                                                                                  | (85,2)                                         | (69,5)                  |
| 2-12 ngày               | L1    | Bên ngoài ấu trùng có 1 lớp vỏ, ấu trùng có màu trắng sữa, hình bầu dục hoặc hình trứng                                                                                          | 95 - 110                                       | 70 - 81                 |
|                         | L2    |                                                                                                                                                                                  | (100,9)                                        | (78,2)                  |
| 13-24 ngày              | L1    | Bên ngoài ấu trùng có 2 lớp vỏ, ấu trùng có màu nâu, hình bầu dục hoặc hình trứng                                                                                                | 130-145                                        | 80 - 90                 |
|                         | L2    |                                                                                                                                                                                  | (138,2)                                        | (85,2)                  |
| 25-28 ngày              | L1    | - Hình thái ấu trùng tương tự như trên<br>- Một số ấu trùng đã cuộn thành nang kén hình oval                                                                                     | 260-290                                        | 110-150                 |
|                         | L2    |                                                                                                                                                                                  | (275,9)                                        | (130,8)                 |
| 29-40 ngày              | L1    | Nang kén hình oval (một số ít hình tròn), 2 lớp vỏ dày trong suốt. Giác miệng bằng giác bụng, chất nền màu nâu rải đều cơ thể. Tuyến bài tiết hình chữ O và chiếm hầu hết cơ thể | 230-260                                        | 100-130                 |
|                         |       |                                                                                                                                                                                  | (245,7)                                        | (121,6)                 |
|                         | L2    | Cấu tạo nang kén giống như trên chỉ khác chất nền màu xám rải đều cơ thể                                                                                                         | 200-225                                        | 160-220                 |
|                         |       |                                                                                                                                                                                  | (212,0)                                        | (182,7)                 |
|                         | L1    |                                                                                                                                                                                  | 150-170                                        | 130-155                 |
|                         | L2    |                                                                                                                                                                                  | (160,8)                                        | (143,3)                 |

Ghi chú: TN: thí nghiệm, L1: Lô TN với *O. viverrini*, L2: Lô TN với *C. sinensis*



**Hình 3. Ấu trùng sán lá gan nhỏ ở cá nước ngọt**

1: Cercaria, 2: Cercaria rụng đuôi, 3: Nang kén sán 25-28 ngày, 4: Nang kén sán 29-40 ngày

### 3.4. Quá trình phát triển của sán lá gan nhỏ ở chó, mèo

Chó, mèo được gây nhiễm với ấu trùng sán lá gan nhỏ thu thập từ cá nước ngọt. Kết quả kiểm tra

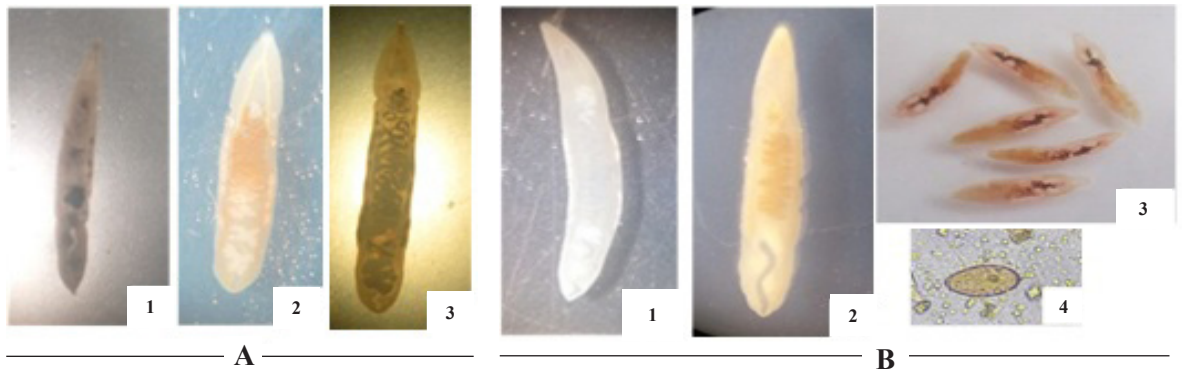
phát hiện tỷ lệ nhiễm ở chó là 83,3% (26/30) và ở mèo là 76,6% (23/30). Các giai đoạn phát triển của mầm bệnh ở bảng 4 cho thấy sau khi chó, mèo

nuốt phải ấu trùng sán lá gan nhỏ từ cá nước ngọt, ấu trùng sán tiếp tục phát triển và trải qua các giai đoạn sau:

**Bảng 4. Các giai đoạn ấu trùng phát triển ở chó, mèo**

| Thời gian sau nhiễm (ngày) | Lô TN | Số con nhiễm và mổ khám | Vị trí sán ký sinh                   | Đặc điểm sán                                                                                                                                  |
|----------------------------|-------|-------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1-5                        | L1    | 6                       | Không tìm thấy                       | -                                                                                                                                             |
|                            | L2    | 6                       |                                      |                                                                                                                                               |
| 6- 16                      | L1    | 10                      | Nhu mô gan, ống mật trong nhu mô gan | Sán non, có giác bụng, giác miệng, các quan của sán chưa phát triển hoặc nhìn không rõ                                                        |
|                            | L2    | 10                      |                                      |                                                                                                                                               |
| 17-25                      | L1    | 20                      | Ống mật chủ                          | Sán non, các cơ quan của sán phát triển hơn, buồng trứng chứa nhiều trứng (sán chưa đẻ trứng)                                                 |
| 17-27                      | L2    | 20                      |                                      |                                                                                                                                               |
| 26-32                      | L1    | 20                      | Ống mật chủ                          | Sán trưởng thành, các cơ quan của sán phát triển hoàn thiện, buồng trứng chứa nhiều trứng, sán đẻ trứng (có trứng sán trong dịch mật và phân) |
| 28-34                      | L2    | 20                      |                                      |                                                                                                                                               |

Ghi chú: TN: thí nghiệm, L1: Lô TN với *O. viverrini*, L2: Lô TN với *C. sinensis*



**Hình 4. Sán lá gan nhỏ ở chó, mèo**

A: *O. viverrini*; B: *C. sinensis*; 1: 6-16 ngày, sán non, các cơ quan nhìn không rõ; 2: 17-25 ngày, sán non, các cơ quan phát triển hơn, buồng trứng chứa nhiều trứng; 3: 26-34 ngày, sán trưởng thành, các cơ quan phát triển hoàn thiện, sán đẻ trứng; 4: trứng sán

Từ 1 - 5 ngày: Không tìm thấy ấu trùng

Từ 6 - 16 ngày: Sán non ở nhu mô gan, ống mật trong nhu mô gan. Sán có giác bụng, giác miệng, các quan của sán (tinh hoàn, buồng trứng, tuyến noãn hoàn) và các cơ quan khác chưa phát triển, nhìn chưa rõ.

Từ 17 - 25 ngày (*O. viverrini*) và 17-27 ngày (*C. sinensis*): Sán ở mật chủ, các cơ quan của sán phát triển hơn, buồng trứng chứa nhiều

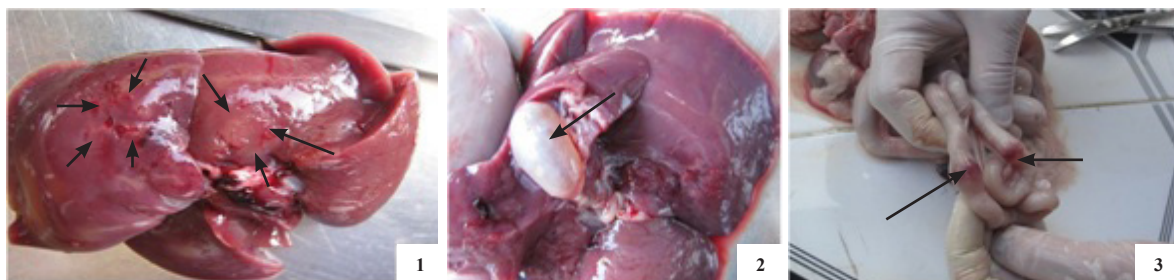
trứng (sán chưa đẻ trứng).

Từ 26 - 32 ngày (*O. viverrini*) và 28-34 ngày (*C. sinensis*): Sán trưởng thành ở ống mật chủ, các cơ quan của sán phát triển hoàn thiện, buồng trứng chứa nhiều trứng, sán đẻ trứng (có trứng sán trong dịch mật và phân).

Như vậy, chó, mèo là vật chủ cuối cùng của sán lá gan nhỏ (*O.viverrini*, *C.sinensis*). Vì ấu trùng sán xâm nhập vào chó, mèo; chúng tiếp

tục phát triển thành sán trưởng thành, đẻ trứng và hoàn thành vòng đời. Từ khi ấu trùng xâm nhập vào chó, mèo đến giai đoạn sán trưởng

thành, đẻ trứng theo phân ra ngoài môi trường là 26 - 32 ngày đối với loài *O. viverrini* và 28-34 ngày đối với loài *C. sinensis*.

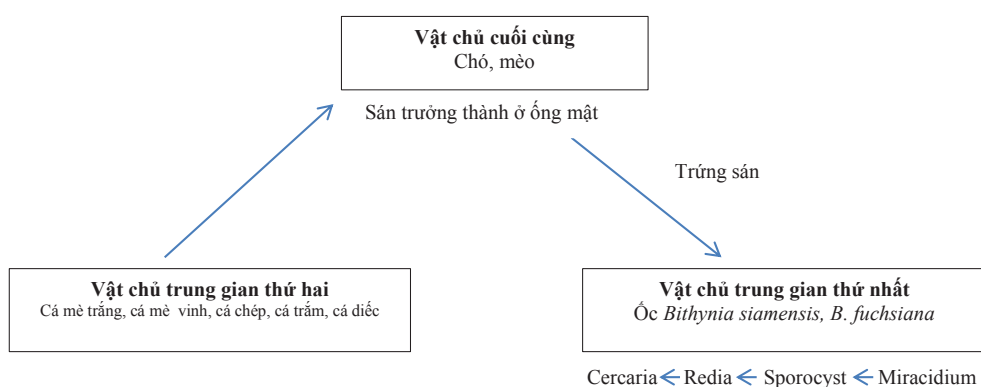


**Hình 5. Bệnh tích đại thể bệnh sán lá gan nhỏ ở chó, mèo**  
1, 2: Gan chó viêm, xuất huyết, có nhiều điểm màu trắng xám; 3: Ruột kết viêm

### 3.5. Tóm tắt vòng đời sán lá gan nhỏ (*O. viverrini*, *C. sinensis*)

Kết quả nghiên cứu vòng đời sán lá gan nhỏ (*O. viverrini*, *C. sinensis*) được tóm tắt như sau: Vòng đời cần 2 vật chủ trung gian, sán trưởng thành ký sinh trong ống mật của chó, mèo; thải trứng theo phân ra ngoài môi trường (ao hồ, đầm, lầy, sông, suối,...). Sau 9-15 ngày, trứng phát triển thành ấu trùng lông (miracidium). Trứng sán không nở ra miracidium trong môi trường nước, khi ốc nước ngọt ăn phải (ốc *Bithynia siamensis*, *B. fuchsiana* - vật chủ trung

gian thứ nhất), ấu trùng miracidium thoát ra khỏi trứng sán, phát triển qua các giai đoạn sporocyst, redia và cercaria. Sau 55-62 ngày, cercaria thoát ra khỏi ốc, bơi tự do trong nước, xâm nhập vào cá nước ngọt (cá trắm, cá mè vinh, cá mè trắng, cá chép, cá diếc - vật chủ trung gian thứ 2). Ấu trùng tiếp tục phát triển trên cá nước ngọt và tạo thành dạng nang kén (metacercaria) sau 25-40 ngày. Chó, mèo ăn phải cá nước ngọt chứa nang kén, ấu trùng tiếp tục phát triển đến giai đoạn sán trưởng thành, thải trứng theo phân ra ngoài môi trường sau 26-32 ngày với loài *O. viverrini* và 28-34 ngày với loài *C. sinensis* (hình 6).



**Hình 6. Sơ đồ vòng đời sán lá gan nhỏ ở chó, mèo**

Sán lá gan nhỏ thuộc họ *Opisthorchiidae* có nhiều giống, loài khác nhau, một số loài

thường gây bệnh như: *Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis*, *O. felinus*, *O. lobatus*,



*O. cheelis*, *O. longissimus*, *O. parageminus*, *Metorchis orientalis*. Vòng đời của loài *O. viverrini*, *O. felinus* và *C. sinensis* đã được nghiên cứu và cơ bản là giống nhau: Vật chủ cuối cùng là người và chó, mèo, những động vật ăn thịt khác; vật chủ trung gian thứ nhất là ốc *Bithynia tentaculata* *roscheli*, vật chủ trung gian thứ 2 là các loài cá nước ngọt thuộc họ *Cyprinidae* (Kaewkes, 2003). Tuy nhiên cũng có báo cáo các loài cá thuộc họ khác (WHO, 1995). Các loài cá nhiễm ấu trùng *C. sinensis* gồm: *Acanthogobius*, *Abbottina*, *Carassius*, *Cirrhinus*, *Crassiodon*, *Cultrichthys*, *Cyprinus*, *Ctenopharyngodon*, *Erythroculter*, *Gnathopogon*, *Hemibarbus*, *Hemiculter*, *Hypomesus*, *Hypophthalmichthys*, *Ischikauia*, *Opsariichthys*, *Oreochromis*, *Parabramis*, *Pseudogobio*, *Pseudorasbora*, *Pungtungia*, *Rhodeus*, *Sarcocheilichthys*, *Toxobramus*, *Xenocypris* và *Zacco* (WHO, 1995; Hung *et al.*, 2013). Các loài cá nhiễm ấu trùng *O. viverrini* gồm: *Carassius*, *Channa*, *Cyclocheilichthys*, *Hampala*, *Esomus*, *Osteochilus*, *Puntioplites* và *Puntius* (WHO, 1995).

Mặc dù vòng đời sán lá gan nhỏ là cơ bản giống nhau, nhưng cũng tùy thuộc nhiều vào các yếu tố ngoại cảnh. Thời gian phát triển ở ốc 14-17 ngày, ở cá nước ngọt 38-48 ngày, ở vật chủ cuối 30-38 ngày (Pustovalova *et al.*, 1999). Chúng tôi nghiên cứu có ngắn hơn đôi chút trong giai đoạn ở cá nước ngọt (25-40 ngày), ở vật chủ cuối cùng (26-34 ngày), nhưng khá dài trên ốc nước ngọt (55-62 ngày). Thời gian ấu trùng trên ốc của chúng tôi cũng tương đương với nghiên cứu của Beer (2005).

Các nghiên cứu cho thấy mỗi con ốc nhiễm, mỗi ngày thải ra khoảng 500-5.000 ấu trùng cercaria, phụ thuộc vào mức độ nhiễm. Cercaria ra khỏi ốc, bơi lội tự do trong nước, có thể sống được 12 giờ ở nhiệt độ 12-27°C. Ở cá nước ngọt, ấu trùng (metacercaria) tập trung ở cơ, mật độ thấp ở mang và vây (Rim, 1982). Khi metacercaria bị ăn bởi vật chủ cuối cùng là động vật có vú hoặc người, chúng phát triển thành sán trưởng thành, sống ký sinh ở

gan, tiếp tục thải trứng theo phân ra ngoài môi trường. Tuổi thọ của sán khá dài, chúng có thể sống từ 12-26 năm (Lai *et al.*, 2016). Ở người, mỗi ngày sán trưởng thành có thể thải khoảng 1.000-4.000 trứng, tùy thuộc vào số lượng sán (Mas-Coma và Bargues, 1997). Người nhiễm sán do thói quen ăn sống cá nước ngọt, một số nước có tỷ lệ nhiễm cao như Thái Lan, Trung Quốc, Hàn Quốc, Lào, Campuchia, Belarus, Nga, Italia (Lai *et al.*, 2016).

Ở Việt Nam, sán lá gan nhỏ gây bệnh trên người và động vật (chó, mèo) do loài *O. viverrini* và *C. sinensis* gây ra. Đến nay, tỷ lệ nhiễm trên động vật ít được đề cập đến, nhưng tỷ lệ nhiễm trên người đã có nhiều báo cáo. Các nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ nhiễm trứng sán trên người ở các tỉnh đồng bằng Bắc Bộ là 17,23%; Bình Định từ 4,8-8,8%, Quảng Trị 8,3-9,5%, Đắk Lắk từ 4,0-5,6% (Bùi Văn Tuấn và cs., 2017). Nghiên cứu này đã xác định được vật chủ trung gian thứ nhất là ốc nước ngọt họ *Bithyniidae* (*Bithynia siamensis*, *B. fuchsiana*), vật chủ trung gian thứ 2 là nước ngọt họ *Cyprinidae* (cá mè trắng, cá mè vinh, cá diếc, cá trắm cỏ, cá chép). Đây là những loài cá có tỷ lệ nhiễm ấu trùng sán lá gan nhỏ rất cao, vì vậy nếu người dân thường có thói quen ăn sống, ăn tái thì nguy cơ nhiễm sán không thể tránh khỏi. Mặt khác, khi làm cá nước ngọt, chúng ta cũng không nên cho chó, mèo ăn các sản phẩm từ cá (vây, mang,...), điều đó sẽ tạo điều kiện khép kín chu kỳ sinh học của sán.

Từ kết quả ở trên có thể nhận thấy rằng vòng đời sán lá gan nhỏ thuộc họ *Opisthorchiidae* là cơ bản giống nhau về thành phần vật chủ trung gian: Vật chủ trung gian thứ nhất là ốc nước ngọt họ *Bithyniidae*; vật chủ trung gian thứ 2 là cá nước ngọt họ *Cyprinidae*, nhưng về loài ốc, loài cá nhiễm có sự khác nhau. Điều này có thể do tính đặc trưng vùng, sự phù hợp với chuỗi thức ăn của vật chủ cuối cùng, có sự xuất hiện của mầm bệnh, có vật chủ trung gian và có vật chủ cuối cùng.

## IV. KẾT LUẬN

Vòng đời *O. viverrini* và *C. sinensis* là cơ bản giống nhau, trứng hình thành miracidium ở ngoài môi trường từ 9-15 ngày; cercaria hình thành và thoát ra khỏi ốc từ 55-62 ngày. Ấu trùng tạo thành dạng nang kén trong cá nước ngọt từ 25-40 ngày. Ấu trùng phát triển đến sán trưởng thành ở chó, mèo từ 26-32 ngày (*O. viverrini*), 28-34 ngày (*C. sinensis*). Ốc *Bithynia siamensis*, *B. fuchsiana* là vật chủ trung gian thứ nhất; cá trắm cỏ, cá mè trắng, cá mè vinh, cá diếc, cá chép là vật chủ trung gian thứ hai.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Văn Tuấn, Lý Chanh Ty, Huỳnh Thị Thanh Xuân, Trần Ngọc Thảo, Nguyễn Hải Khánh, 2017. Nghiên cứu thành phần loài sán lá gan nhỏ truyền qua cá nước ngọt ký sinh trên người tại một số tỉnh miền Trung-Tây Nguyên. *Tạp chí phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng*, Số đặc biệt (96): 181 – 187.
2. Beer S A., 2005. *Biology of opisthorchiasis causative agent* (Moscow, Russia: KMK Fellowship Association).
3. Dang TC, Yajima A, Nguyen VK, Montresor A., 2008. Prevalence, intensity and risk factors for clonorchiasis and possible use of questionnaires to detect individuals at risk in northern Vietnam. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 102: 1263–1268.
4. Hung, NM, Madsen, H and Fried, B., 2013. Global status of fish-borne zoonotic trematodiasis in humans. *Acta Parasitol.* 58, pp. 231–258.
5. Kaewkes, S., 2003. Taxonomy and biology of liver flukes. *Acta Tropica* 88: 3, 177-186.
6. Keiser J, Utzinger J, 2009. Food-borne trematodiasis. *Clin Microbiol Rev.* 22:466–83
7. Kim, C. S., Echaubard, P., Suwannatrai, A., Kaewkes, S., Wilcox, B. A., & Sripa, B., 2016. Seasonal and Spatial Environmental Influence on *Opisthorchis viverrini* Intermediate Hosts, Abundance, and Distribution: Insights on Transmission Dynamics and Sustainable Control. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 10(11): e0005121.
8. Lai, DH, Hong, XK, Su, BX, Liang, C, Hide, G, Zhang, X et al., 2016. Current status of Clonorchis sinensis and clonorchiasis in China. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 110, pp. 21–27
9. Mas-Coma, S and Bargues, MD., 1997. Human liver flukes: A review. *Res Rev Parasitol.* 57, pp. 145–218.
10. Murrell, K. D., Chai, J. Y., & Sohn, W. M., 2007. Laboratory Manual RIA-1, Vietnam. FIBOZOPA, Project
11. Prakobwong, S., Suwannatrai, A., Sancomerang, A., Chaipibool, S., & Siriwechtumrong, N., 2017. A Large Scale Study of the epidemiology and risk factors for the carcinogenic liver fluke opisthorchis viverrini in Udon Thani province, Thailand. *Asian Pac. J Cancer Prev*, 18(10): 2853-2860.
12. Pustovalova V Ya, Stepanova T F, and Shonin A L., 1999. *Opisthorchiasis* (Tyumen: Publishing House of TSMA).
13. Rim, HJ, Lee, YM, Lee, JS and Joo, KH., 1982. Therapeutic field trial with praziquantel (Biltricide(R)) in a rural population infected with Clonorchis sinensis. *Kisaengchunghak Chapchi.* 20, pp. 1–8.
14. Sithithaworn, P, Andrews, RH, Nguyen, VD, Wongsaroj, T, Sinuon, M, Odermatt, P et al., 2012. The current status of opisthorchiasis and clonorchiasis in the Mekong Basin. *Parasitol Int.* 61, pp. 10–16.
15. WHO, 1995. Control of Foodborne Trematode Infections. World Health Organ Tech Rep Ser 849. Geneva: World Health Organization; 1995. 40.
16. WHO-FAO, 2014. Multicriteria-based ranking for risk management of food-borne parasites. Report of a Joint FAO/WHO Expert Meeting, 3-7 September 2012, FAO Headquarters, Rome, Italy, 1-302.

Ngày nhận 25-4-2022

Ngày phản biện 24-6-2022

Ngày đăng 1-12-2022