

NGHIÊN CỨU CÁC GIAI ĐOẠN PHÁT TRIỂN CỦA SÁN LÁ SINH SẢN Ở VỊT

Huỳnh Vũ Vy¹, Nguyễn Đức Tân¹, Nguyễn Văn Thoại¹,

Lê Hứa Ngọc Lực¹, Nguyễn Thị Lan Anh²

TÓM TẮT

Để xác định các giai đoạn phát triển của sán lá sinh sản ký sinh ở vịt, đã tiến hành gây nhiễm cho 180 vịt lứa 12 tuần tuổi bằng cách cho vịt nuốt nang kén sán lá sinh sản từ ấu trùng chuồn chuồn hoặc chuồn chuồn. Kết quả cho thấy, sau 15 ngày gây nhiễm, tỷ lệ nhiễm sán lá sinh sản là 100%, cường độ nhiễm 10-45 sán/vịt (trung bình $18,63 \pm 8,03$). Trong đó, cường độ nhiễm sán ở ống dẫn trứng 11-37 sán/vịt (trung bình $19,52 \pm 7,91$) và cường độ nhiễm sán ở túi Fabricius 10-45 sán/vịt (trung bình $17,74 \pm 8,16$). Từ kết quả đó cho thấy, các vịt gây nhiễm rất mẫn cảm với nấm bệnh sán lá sinh sản. Sau 4 giờ gây nhiễm nang kén, đã tìm thấy ấu trùng sán ở túi Fabricius và ống dẫn trứng. Ấu trùng phát triển thành sán trưởng thành và thái trứng theo phản ứng ngoại môi trường sau 19 ngày. Sự phát triển của sán lá sinh sản trên vịt gồm 3 giai đoạn: giai đoạn ấu trùng, giai đoạn sán non và giai đoạn sán trưởng thành. Ấu trùng sán lá sinh sản di hành theo đường tiêu hóa, đến ổ nhọp, ấu trùng di chuyển đến túi Fabricius và ống dẫn trứng.

Từ khóa: *Sán lá sinh sản, chuồn chuồn, vịt, túi Fabricius, ống dẫn trứng.*

1. ĐẦU VĂN ĐỀ

Sán lá sinh sản ký sinh ở vịt do loài *Prosthogonimus* sp. gây ra. Bệnh xuất hiện khắp nơi trên thế giới (Macy, 1965; Naem và Golpayegani, 2003; Taylor và cs, 2007). Ở Việt Nam, những nghiên cứu về sán lá sinh sản ký sinh trên vịt còn rất hạn chế, chưa có nghiên cứu chuyên sâu về đặc điểm sinh học, đặc điểm dịch tễ học, bệnh học... Định danh loài theo hình thái học cho thấy, sán lá sinh sản trên vịt có 3 loài: *P. cuneatus*, *P. sinensis* và *P. ventroporus* (Nguyễn Hữu Hưng, 2007; Nguyễn Xuân Dương, 2008). Gần đây, theo báo cáo của một số chi cục chăn nuôi - thú y, tại khu vực duyên hải Nam Trung bộ nhiều đầm vịt để đã nhiễm sán lá sinh sản, gây thiệt hại lớn cho những nông hộ chăn nuôi. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào đề cập đến sán lá sinh sản trên vịt.

Một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy, sán lá sinh sản thường ký sinh trong túi Fabricius và ống dẫn trứng, gây ảnh hưởng đến khả năng sinh sản và phát triển của vịt. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào mang tính hệ thống về thời gian phát triển của sán lá sinh sản. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện

nhằm bổ sung thêm cho những nghiên cứu trước đây.

2. VẬT LIỆU, NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên, vật liệu và động vật thí nghiệm

180 vịt bị bệnh sán lá sinh sản và 60 không bị bệnh làm đối chứng; metacercaria sán lá sinh sản; chuồn chuồn, ấu trùng chuồn chuồn *Orthetrum sabina*; chuồng nuôi động vật thí nghiệm; kính hiển vi; micropipette, đĩa petri, cốc thủy tinh, nước cất và các dụng cụ thí nghiệm cần thiết khác.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu

Các thí nghiệm được tiến hành tại Bộ môn Nghiên cứu ký sinh trùng, Phòng viên Thủ y miền Trung, từ năm 2017-2018.

2.3. Nội dung nghiên cứu

Xác định sự mẫn cảm của vịt đối với mầm bệnh sán lá sinh sản.

Xác định các giai đoạn phát triển của sán lá sinh sản ký sinh ở vịt.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Chẩn bị nang kén sán (metacercaria): Sau khi gây nhiễm ấu trùng chuồn chuồn bằng cercaria của sán lá sinh sản, theo thời gian một số ấu trùng chuồn chuồn phát triển thành chuồn chuồn trưởng thành nhưng vẫn mang mầm bệnh sán lá sinh sản. Sau 8 ngày gây nhiễm, tiến hành thu thập metacercaria, bằng cách: Ép ấu trùng chuồn chuồn giữa hai tấm

¹Bộ môn Nghiên cứu ký sinh trùng, Phòng viên Thủ y miền Trung

²Bộ môn Nghiên cứu ký sinh trùng, Viện Thủ y Quốc gia
Email: huynhvuy@gmail.com

kinh, cho mẫu vào đĩa petri hoặc bấm nhuyễn chuồn chuồn, lọc, lảng cặn, thu tháp và đếm toàn bộ số lượng nang kén sán vừa thu thập.

Nuôi vịt để gây nhiễm: Vịt được nuôi từ 1 ngày tuổi, trong hệ thống chuồng nuôi khép kín và không tiếp xúc với bất kỳ mầm bệnh nào của sán lá. Thực ăn hàng ngày của vịt là lúa khô và cám tổng hợp.

Gây nhiễm cho vịt: Vịt được nuôi trong chuồng nuôi để gây nhiễm, vịt gây nhiễm ở 12 tuần tuổi. Trước khi gây nhiễm, chúng được xét nghiệm phân để đảm bảo không nhiễm sán lá sinh sản. Cho vịt ăn nang kén sán lá sinh sản từ chuồn chuồn hoặc áu trùng chuồn chuồn, mỗi con nuốt 37-65 nang kén sán. Thí nghiệm được bố trí 3 lô, lặp lại 3 lần, mỗi lô 20 vịt và 1 lô đối chứng. Định kỳ mỗi giờ (ngày đầu tiên) và 24 giờ (các ngày tiếp theo) mổ khám vịt xác định các giai đoạn phát triển của sán lá sinh sản. Xác định sự mẫn cảm của vịt đối với mầm bệnh sán lá sinh sản sau 15-19 ngày gây nhiễm.

Bảng 1. Kết quả xác định sự mẫn cảm của vịt đối với mầm bệnh sán lá sinh sản

Mầm bệnh gây nhiễm	Số vịt nhiễm/số vịt mổ khám	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm sán (trung bình)	Vị trí ký sinh
Nang kén sán từ áu trùng chuồn chuồn	30/30	100	11-37 ($17,95 \pm 7,86$)	Óng dẫn trùng
			10-45 ($18,77 \pm 9,47$)	Túi Fabricius
Nang kén sán từ chuồn chuồn	30/30	100	12-35 ($21,09 \pm 7,97$)	Óng dẫn trùng
			10-32 ($16,72 \pm 6,86$)	Túi Fabricius
Trung bình	30/30	100	11-37 ($19,52 \pm 7,91$)	Óng dẫn trùng
			10-45 ($17,74 \pm 8,16$)	Túi Fabricius
Lô đối chứng (20 vịt không gây nhiễm)	0	-	-	-

Kết quả ở bảng 1 cho thấy, tất cả 60 vịt đều nhiễm sán lá sinh sản sau khi gây nhiễm bằng nang kén sán từ chuồn chuồn hoặc áu trùng chuồn chuồn. Tỷ lệ nhiễm sán lá sinh sản là 100%. Cường độ nhiễm chung sán lá sinh sản 10-45 sán/vịt (trung bình 18,63 ± 8,03). Trong đó, cường độ nhiễm sán ở óng dẫn trùng 11-37 sán/vịt (trung bình 19,52 ± 7,91) và cường độ nhiễm sán ở túi Fabricius 10-45 sán/vịt (trung bình 17,74 ± 8,16). Trong khi đó, mổ khám ở

Mổ khám vịt, tìm sán lá sinh sản theo phương pháp mổ khám phi toàn diện của Skarpe (1928).

Xét nghiệm phân, tìm trứng sán theo phương pháp lảng cặn của Benedek (1943).

Phương pháp xử lý số liệu: Phần mềm Ms. Excel 2010. So sánh sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm sán bằng phần mềm Epicalc 2000 (tỷ lệ và khoảng tin cậy 95%, sự khác biệt được xem là có ý nghĩa thống kê, khi $P < 0,05$).

3. KẾT QUẢ NGHIÊM CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định sự mẫn cảm của vịt đối với mầm bệnh sán lá sinh sản

Tổng số 180 vịt lúc 12 tuần tuổi được gây nhiễm bằng kén sán để nghiên cứu sự mẫn cảm của vịt đối với mầm bệnh sán lá sinh sản và sự phát triển của sán lá sinh sản ở vịt. Kết quả xác định sự mẫn cảm của vịt đối với mầm bệnh sán lá sinh sản sau 15-19 ngày gây nhiễm được thể hiện ở bảng 1.



Hình 1. Chuồn chuồn ngô *O. sabina* và mầm bệnh sán lá sinh sản

a: Chuồn chuồn ngô; b: Áu trùng chuồn chuồn; c: Nang kén sán lá sinh sản (100x)

lô đối chứng, đã không tìm thấy sán lá sinh sản ở túi Fabricius hay óng dẫn trùng.

Như vậy, kết quả gây nhiễm thực nghiệm cho thấy, các vịt gây nhiễm đều rất mẫn cảm với mầm bệnh sán lá sinh sản. Khi so sánh tỷ lệ nhiễm, cường độ nhiễm sán lá sinh sản giữa túi Fabricius và óng dẫn trùng, không thấy sự khác biệt về mặt thống kê ($P > 0,05$).

3.2. Kết quả nghiên cứu sự phát triển của sán lá sinh sản ở vịt

Sau khi gây nhiễm cho vịt bằng nang kén sán lá sinh sản từ áu trùng chuồn chuồn hoặc chuồn chuồn, trong ống tiêu hóa, dưới tác động hóa học và tác động cơ học, lớp vỏ metacercaria bị phá vỡ. Áu trùng

sán được giải phóng, di chuyển về túi Fabricius và ống dẫn trứng, áu trùng phát triển đến giai đoạn sán trưởng thành (Boddeke, 1960). Kết quả nghiên cứu sự phát triển của sán lá sinh sản trên vịt được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2. Thời gian phát triển của sán lá sinh sản ký sinh ở vịt

Thời gian sau gây nhiễm	Số lượng sán/vịt (n)	Kích thước sán (mm)		Đặc điểm	Các giai đoạn
		Dài (trung bình)	Rộng (trung bình)		
4-6 giờ	2-7 (15)	0,65-0,7 (0,67 ± 0,02)	0,35-0,38 (0,36 ± 0,01)	Đã tìm thấy áu trùng ở túi Fabricius và ống dẫn trứng. Dưới kính hiển vi, có thể quan sát rõ giác miệng, giác bung và hai manh tràng đối xứng hai bên thân	Giai đoạn áu trùng
24-48 giờ	7-15 (15)	0,7-0,8 (0,74 ± 0,04)	0,35-0,4 (0,37 ± 0,02)		
3 ngày	9-13 (15)	0,8-0,85 (0,82 ± 0,02)	0,35-0,4 (0,38 ± 0,02)		
4-5 ngày	10-21 (15)	1,0-1,2 (1,1 ± 0,1)	0,4-0,5 (0,45 ± 0,04)	Hai tinh hoàn mờ, có màu xám nhạt, nằm dưới giác bụng	Giai đoạn sán non
6-7 ngày	15-28 (15)	1,3-1,4 (1,35 ± 0,05)	0,4-0,5 (0,46 ± 0,03)		
8-9 ngày	20-33 (15)	2,0-2,2 (2,12 ± 0,09)	1-1,2 (1,07 ± 0,08)	Tinh hoàn và buồng trứng rất rõ, có màu vàng nhạt	
10-11 ngày	18-53 (15)	2,4-2,6 (2,49 ± 0,08)	1,2-1,4 (1,29 ± 0,07)		
12-13 ngày	12-35 (15)	3,2-3,4 (3,30 ± 0,08)	1,4-1,6 (1,49 ± 0,08)	Nhìn thấy một phần noãn hoàng, phân bố đối xứng hai bên thân sán, dọc theo manh tràng	
15-16 ngày	10-45 (20)	3,5-4,5 (3,98 ± 0,36)	1,4-1,6 (1,50 ± 0,07)	Noãn hoàng đã phát triển hoàn thiện, phân thùy, hình chùm. Tử cung chưa phát triển hoàn thiện, chỉ là một doan ngắn nối từ buồng trứng đến gần cuối manh tràng	
17-18 ngày	19-37 (20)	4,8-5,2 (4,98 ± 0,08)	1,8-2,2 (2,01 ± 0,14)	Tử cung đã xếp kín toàn bộ phần sau thân sán, tử cung chứa nhiều trứng. Chưa tìm thấy trứng sán trong dịch nhầy túi Fabricius và ống dẫn trứng.	
≥ 19 ngày	12-39 (20)	5,2-5,5 (5,38 ± 0,08)	1,8-2,2 (2,00 ± 0,14)	Sán đã trưởng thành và đẻ trứng. Phết kính, tìm thấy trứng trong dịch nhầy của túi Fabricius hoặc ống dẫn trứng. Xét nghiệm, phát hiện trứng sán trong phân	Giai đoạn sán trưởng thành

Trong đó: n là số vịt mổ khám

Hiện tượng di hành của ký sinh trùng trong cơ thể vật chủ bao gồm nhiều con đường khác nhau. Đối với áu trùng sán lá sinh sán, sau khi được giải phóng từ nang kén, áu trùng di chuyển theo đường tiêu hóa, đến ổ nhöp. Ổ nhöp là hòc chung, thông với túi Fabricius, ống dẫn trùng và lô huyết. Từ ổ nhöp, áu trùng di chuyển đến túi Fabricius và ống dẫn trùng. Tại đây, áu trùng ký sinh, phát triển thành sán non và sán trưởng thành.

Có thể nói, thời gian và con đường di hành của áu trùng sán lá sinh sán rất khác biệt so với những áu trùng giun tròn hoặc sán lá khác. Trước khi áu trùng giun tròn hoặc sán lá tìm về nơi ký sinh, thông thường chúng phải di hành qua một số cơ quan, bộ phận của cơ thể. Ví dụ, đối với áu trùng giun dúa (*Toxocara canis*). Theo Sprent (1958), sau khi vật chủ nuốt phải trùng có chứa áu trùng gây nhiễm, trùng chuyển xuống dạ dày, đến ruột non, áu trùng thoát khỏi vỏ trùng. Áu trùng xuyên qua thành ruột và di hành đến một số cơ quan: gan, phổi, tim.. sau đó, áu trùng di hành về dạ dày, xuống ruột non. Lúc này, áu trùng mới ký sinh và phát triển thành giun trưởng thành. Thời gian từ khi vật chủ nuốt phải trùng có chứa áu trùng gây nhiễm (L2), đến khi tìm thấy áu trùng ở ruột non (L3) là 3 ngày.

Đối với áu trùng sán lá gan lớn (*Fasciola spp.*), theo Dietrich và cs (2015), khi vật chủ nuốt phải nang kén sán (metacercaria), nang kén vào dạ dày, xuống ruột non. Tại đây, áu trùng sán được giải phóng khỏi nang kén. Sau 2-4 giờ, áu trùng chui qua thành ruột, xuyên vào phúc mạc, tiếp tục di hành về gan, phá vỡ lớp màng ngoài và xâm nhập vào nhu mô gan sau 48 giờ gây nhiễm.

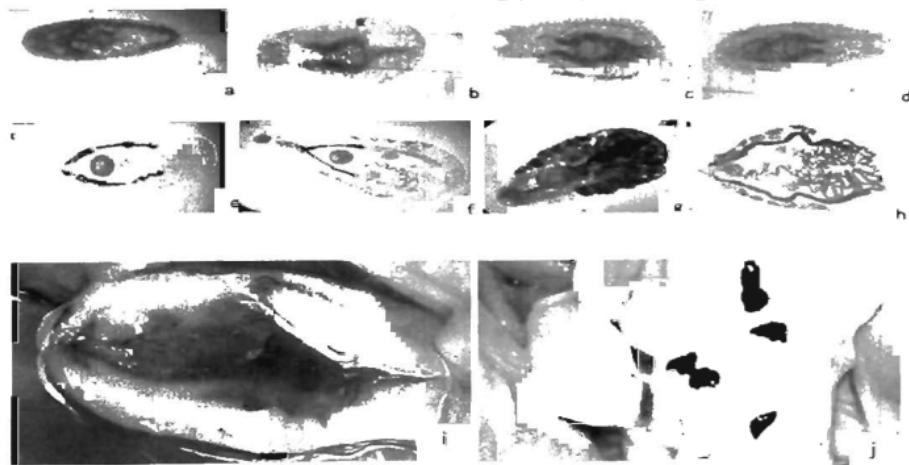
Kết quả nghiên cứu sự phát triển của sán lá sinh sán ở vịt cho thấy, sau 4 giờ vịt nuốt phải nang kén sán, áu trùng sán di hành đến túi Fabricius và ống dẫn trùng. Áu trùng ký sinh và phát triển đến giai đoạn sán non và sán trưởng thành. Kích thước sán, chiều dài 0,65-5,5 mm; chiều rộng 0,35-2,2 mm.

Thời gian để quan sát mỗi số cơ quan của áu trùng hoặc sán được chia làm 3 giai đoạn:

- Giai đoạn áu trùng, từ 4 giờ đến ngày thứ 3: Giác miệng, giác bụng và manh tràng.

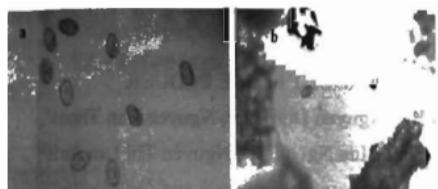
- Giai đoạn sán non, từ ngày thứ 4 đến ngày 18: Tinh hoàn và buồng trứng, ngày thứ 10-11; tuyến noãn hoàng, ngày thứ 15-16; tử cung và trứng, ngày thứ 17-18.

- Giai đoạn sán trưởng thành, ngày thứ 19: Xét nghiệm phân, chát nháy ở túi Fabricius và ống dẫn trùng, phát hiện nhiều trùng sán lá sinh sán.



Hình 2. Các giai đoạn phát triển của sán lá sinh sán trong cơ thể vịt (100x)

a: Áu trùng sán lá sinh sán sau 4 giờ gây nhiễm; b: 1 ngày; c: 2 ngày; d: Sán non sau 5 ngày; e: 7 ngày; f: 9 ngày; g: 15 ngày (40x); h: Sán trưởng thành sau 19 ngày (40x); i: Hình ảnh sán ký sinh trong túi Fabricius (15 ngày); j: Hình ảnh sán ký sinh trong ống dẫn trùng (19 ngày)



Hình 3. Sán lá sinh sản trưởng thành đẻ trứng (100x)

a: Trứng sán lá sinh sản trong chất nhầy túi Fabricius; b: Trứng sán lá sinh sản trong phân

Như vậy, từ khi gây nhiễm mầm bệnh sán lá sinh sản cho vịt đến khi tìm thấy ấu trùng ở túi Fabricius và ống dẫn trứng sớm nhất là 4 giờ. Ấu trùng ký sinh và phát triển thành sán trưởng thành sau 19 ngày.

Nghiên cứu về vấn đề này, Lakela (1932) đã gây nhiễm nang kén sán lá sinh sản cho vịt tại Chicago, Mỹ, tác giả cho biết thời gian đẻ ấu trùng phát triển thành sán trưởng thành là 35 ngày, ở Nga là 42 ngày (Krasnolobova, 1958). Đặc biệt là nghiên cứu của Crompton và Joyner (1980) ở New York, Mỹ thời gian này rất dài, 80-90 ngày. Theo chúng tôi, sự sai khác này có thể do khác biệt về loài ký sinh hoặc do sự khác biệt về điều kiện thời tiết, khí hậu của từng vùng, từng châu lục.

4. KẾT LUẬN

Sau 15 ngày gây nhiễm bằng nang kén sán, tỷ lệ nhiễm sán lá sinh sản là 100%, cường độ nhiễm sán 10-45 sán/vịt (trung bình $18,63 \pm 8,03$).

Các vịt gây nhiễm rất mẫn cảm với mầm bệnh sán lá sinh sản.

Thời gian tìm thấy ấu trùng sán lá sinh sản ở túi Fabricius và ống dẫn trứng sớm nhất là 4 giờ sau khi gây nhiễm.

Thời gian từ giai đoạn ấu trùng phát triển đến giai đoạn sán trưởng thành sau 19 ngày.

Sự phát triển của sán lá sinh sản trên vịt gồm 3 giai đoạn: giai đoạn ấu trùng, giai đoạn sán non và sán trưởng thành. Mỗi giai đoạn đều có những đặc điểm riêng để phân biệt.

Ấu trùng sán lá sinh sản di hành theo đường tiêu hóa, đến ổ nhộng. Từ ổ nhộng, ấu trùng di hành về túi Fabricius và ống dẫn trứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Benedek, L., 1943. Untersuchungen auf Leberegeleier durch Sedimentation. *Magyar Allatorv. Lap*, 66, 139-141.

2. Boddeke, R., 1960. The life history of *Prosthogonimus ovatus*. III. Taxonomy and economical aspects. *Trop. Geogr. Med.* 12, 378-387.

3. Crompton, D. and Joyner, S., 1980. Parasitic worms. Wykeham Publications (London) Ltd, 118-121.

4. Dietrich, C., Kabaalioglu, A., Brunetti, E. and Richter, J., 2015. Fasciolosis. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 53, 285-290.

5. Krasnolobova, T., 1958. The biology of *Prosthogonimus pellucidus* (Linstow, 1873) causing prosthogonimiasis in domestic birds. Papers on Helminthology presented to Academician Kl Skryabin on his 80th Birthday. Moscow: Izdatelstvo Akademii Nauk SSSR, 173-175.

6. Lakela, O., 1932. Chickens definitive hosts to species of *Prosthogonimus*. *Poult Sci*, 11, 181-184.

7. Macy, R. W., 1965. On the life cycle of the trematode *Prosthogonimus cuneatus* (Rudolphi, 1809) (Plagiorchidae) in Egypt. *Trans Am Microsc Soc*, 84:577-80.

8. Naem, S. and Golpayegani, M. H., 2003. *Prosthogonimus macrorchis* in the albumin of the egg from Sari Iran. *Iran J of Vet Res. Uni of Shiraz*, 4, 160-2.

9. Nguyễn Hữu Hưng, 2007. Giun sán ký sinh trên vịt tại đồng bằng sông Cửu Long và thí nghiệm thuốc phòng trị một số loài giun sán chủ yếu. Luận án tiến sĩ Nông nghiệp, Đại học Nông Lâm TP. HCM, 174 trang.

10. Nguyễn Xuân Dương, 2008. Nghiên cứu tình trạng nhiễm giun sán của vịt ở Thái Bình, Nam Định, Hải Dương và đề xuất biện pháp phòng trị. Luận án tiến sĩ Nông nghiệp – Viên Thủ y, 154 trang.

11. Skrjabin, K., 1928. Methods of Complete Helminthological Dissections of Vertebrate Animals Including Humans. Moscow State University, Moscow. Publishing House of 1st Moscow State University, Moscow, 45 pp.

12. Sprentj, F. A., 1958. Observations of the development of *Toxocara canis* (Werner 1792) in the dog. *Parasitol*, 48, 184-209.

13. Taylor, M., Coop, R. and Wall, R., 2007. Parasites of poultry and gamebirds. *Veterinary*

Parasitology, Third ed. Blackwell Publishing, 459- 534.

RESEARCH ON DEVELOPMENT STAGES OF OVIDUCT FLUKE IN DUCK

Huynh Vu Vy¹, Nguyen Duc Tan¹, Nguyen Van Thoai¹.

Le Hua Ngoc Luc¹, Nguyễn Thị Lan Anh²

¹Institute of Veterinary Research and Development

²National Institute of Veterinary Research

Summary

The purpose of this study was to determine development stages of Oviduct fluke in duck. A total of 180 ducks at 12 weeks of age were infected by feeding metacercaria from dragonfly larvae or dragonfly. Result showed, the infection rate of Oviduct fluke was 100%. The infection intensity of Oviduct fluke was 10-45 worms/duck (average 18.63 ± 8.03), in particular, the Oviduct was 11-37 worms/duck (average 19.52 ± 7.91) and the Fabricius was 10-45 worms/duck (average 17.74 ± 8.16). The above result also showed, ducks were very susceptible with metacercariae of Oviduct fluke. Larvae of Oviduct fluke were found the soonest at period of 4 hours after infection. Larvae developed into adult fluke and produced eggs. Eggs were passed out in environmental together with dropping after 19 days. Oviduct fluke parasited in duck including three stages: larval, immature and adult stage. Larva migrated the Cloaca by moving along digestive tract, and then, larvae moved the Fabricius and Oviduct.

Keywords: Oviduct fluke, dragonfly, duck, Fabricius, Oviduct.

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Thị Kim Lan

Ngày nhận bài: 3/12/2018

Ngày thông qua phản biện: 4/01/2019

Ngày duyệt đăng: 11/01/2019