

HÌNH THÁI HỌC VÀ TÌNH HÌNH NHIỄM CỦA ẤU TRÙNG SÁN LÁ (METACERCARIA) THU ĐƯỢC TRÊN MỘT SỐ LOẠI CÁ NƯỚC NGỌT Ở NAM ĐỊNH VÀ HÀ NỘI

NGUYỄN MẠNH HÙNG, NGUYỄN VĂN ĐỨC, TRẦN THỊ BÌNH

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Trong chu trình phát triển của nhiều loài sán lá có nguồn gốc thủy sản (Fishborne zoonotic trematodes) ký sinh trên người và vật nuôi ở Việt Nam, các loài cá nước ngọt thường đóng vai trò là vật chủ trung gian thứ hai, đôi khi là vật chủ chứa. Mặt khác, cá lại là nguồn thực phẩm chính cung cấp đạm cho con người và cũng nằm trong chuỗi thức ăn của vật nuôi. Chính vì vậy, nghiên cứu hình thái học và tình hình nhiễm ấu trùng sán lá của cá nước ngọt đóng vai trò rất quan trọng cho việc ngăn ngừa, phòng chống sự lây lan của các loài sán lá ký sinh nguy hiểm đối với người và vật nuôi. Các nghiên cứu về vấn đề này ở nước ta cho đến nay còn rất ít. Trong hai năm 2007-2008, chúng tôi đã thực hiện các nội dung nghiên cứu này tại Nam Định, Hà Nội.

I. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

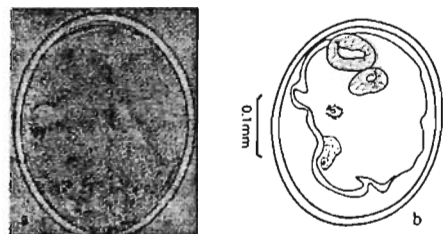
Một số loài cá thương phẩm như Cá chép (*Cyprinus carpio*), cá Trắm cỏ (*Ctenopharyngodon idellus*), cá Mè trắng (*Hypophthalmichthys harmandi*), cá Mè hoa (*Aristichthys nobilis*) được thu ở các ao nuôi tại hai xã Nghĩa Lạc-Nghĩa Phú, huyện Nghĩa Hưng, tỉnh Nam Định và một số ao ở ngoại thành Hà Nội (Thanh Trì, Đông Anh). Các loài cá tự nhiên như cá Đuôi cờ (*Macropodus opercularis*), cá Đòng đòng (*Puntius semifasciolatus*) được bắt ở kênh mương tại một số địa điểm thuộc Hà Nội (Gia Lâm, Sóc Sơn, Từ Liêm, Thanh Trì) trong khoảng thời gian từ tháng 4/2007 đến tháng 11/2008. Các loài cá này được định loại dựa theo tài liệu của Mai Đình Yên, 1978 và trang web www.fishbase.org. Metacercaria được tách theo phương pháp ép mô, làm sạch và cố định bằng cồn 70⁰ trong 3 ngày. Lên tiêu bản tạm thời (trong bằng dung dịch glycerine, acid lactic, H₂O theo tỉ lệ 1:1:1); quan sát metacercaria và đo, vẽ, chụp ảnh dưới kính hiển vi. Các dạng metacercaria được định loại theo phương pháp so sánh hình thái, dựa vào khóa định loại của Nguyễn Thị Lê, Đỗ Đức Ngái (1992); Darwin Murrell K., Jong-Yil Chai, Woon-Mok Sohn (2002); Đỗ Đức Ngái và Hà Duy Ngộ (2005).

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

1. Hình thái các dạng Metacercaria

Phân tích kết quả mổ khám ấu trùng sán lá ở 147 cá thể vật chủ trung gian thứ hai, thuộc 6 loài cá nước ngọt ở Nam Định và Hà Nội cho thấy:

Các dạng nang sán lá thu thập thường nằm dưới da hoặc len lỏi trong các bó cơ của cá, đôi khi nằm ở gốc xương. Nang sán lá thu từ các bó cơ có vỏ bao dày chắc chắn, hình dạng và kích thước không khác nhau nhiều, khó quan sát trực tiếp cấu trúc bên trong. Các nang sán lá nằm ở mô sát da thường có vỏ mỏng, dễ quan sát các chi tiết cấu tạo nang. Xác định được 8 dạng metacercaria (kí hiệu từ K_I đến K_{VIII}), trong đó có 7 dạng đã được đề cập và mô tả, 1 dạng mới chưa thấy trong các tài liệu khảo cứu.



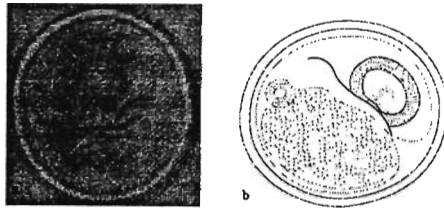
Hình 1: Nang loài *H. pumilio*

(a) ảnh chụp, (b) hình vẽ

Dạng K_I: Metacercaria của loài *Haplorchis pumilio* (họ Galactosomidae). Vật chủ trung gian thứ hai: cá Chép, cá Trắm cỏ, cá Mè hoa, cá Mè trắng. Vị trí ký sinh: rải rác trong các bó cơ. Đặc điểm hình thái (n=200): Nang hình oval, màu nâu nhạt, trong mờ, vỏ dày, kích thước nang 154-241 x 130-215 μ m. Ấu trùng bên trong không có gai ở giác miệng, gần giác bụng có 36-42 móc, xếp thành 1-2 hàng xung quanh giác bụng. Tinh hoàn đơn, hình oval, túi bài tiết hình cầu, chiếm phần lớn phía sau cơ thể, rất dễ quan sát.

Dạng K_{II}: Metacercaria của loài *H. taichui* (họ Galactosomidae). Vật chủ trung gian thứ hai: cá Chép, cá Trắm cỏ, cá Mè hoa, cá Mè trắng. Vị trí ký sinh: rải rác trong các bó cơ. Đặc điểm hình thái (n=200): Nang hình cầu, vỏ dày, trong mờ, màu nâu vàng, kích thước 174-232 x 151-215 μ m (to hơn nang của *H. pumilio* một chút).

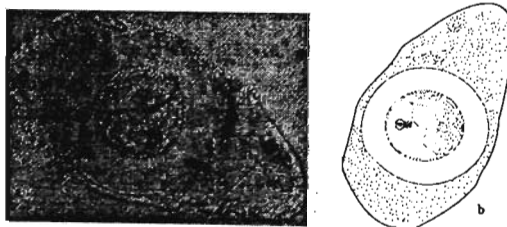
Ấu trùng bên trong không có gai ở giác miệng, tuy nhiên do ấu trùng bị cuộn xoắn lại, nên các gai nằm gần giác bụng tịnh tiến lại gần giác miệng hơn. Có 12-16 gai, kích thước không đều nhau, có gai kích thước lớn hơn hẳn những gai còn lại (lớn hơn rất nhiều so với gai gần giác bụng của loài *H. pumilio*). Không quan sát rõ tinh hoàn, túi bài tiết hình cầu chiếm phần lớn phía sau cơ thể.



Hình 2: Nang loài *H. taichui*

(a) ảnh chụp, (b) hình vẽ

Dạng K_{III}: Metacercaria của loài *Procerovum cheni* (họ Galactosomidae). Vật chủ trung gian thứ II: cá Đuôi cò. Vị trí ký sinh: rải rác trong các bó cơ. Đặc điểm hình thái (n = 100): Nang chủ yếu nằm trong mô cơ, hình quả trám, một đầu hơi nhọn, kích thước 460-580 x 360-430 μ m. Lớp vỏ ngoài dày, màu sẫm, bao sát mép lớp vỏ phía trong. Phá bỏ lớp ngoài, nang có dạng hình cầu, đường kính 290-350 μ m, nằm ở trung tâm của nang sán. Vỏ trong dày 45-80 μ m, trong suốt. Đường kính nang bên trong là 190-200 μ m. Ấu trùng bên trong chỉ quan sát thấy giác miệng và hầu, rất khó thấy giác bụng. Khi phá nang, metacercaria thu được có kích thước 960-980 x 190-210 μ m, giác bụng bé hơn nhiều so với giác miệng, nhánh ruột chẻ đôi phía trên giác bụng, chưa quan sát được mầm sinh dục. Túi bài tiết nằm ở phía sau cơ thể.

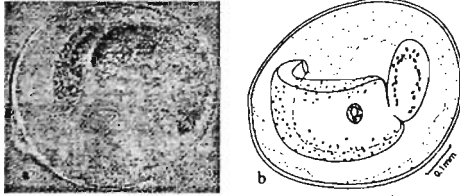


Hình 3: Nang loài *Procerovum cheni*

(a) ảnh chụp, (b) hình vẽ

Dạng K_{IV}: Metacercaria của loài *Posthodiplostomum* sp. (họ Diplostomatidae). Vật chủ trung gian thứ hai: cá Đòng đong, cá Đuôi cò. Vị trí ký sinh: các bó cơ nằm sát da cơ thể cá. Nang dễ

vỡ khi có ngoại lực tác động. Mô tả (n=120): Nang hình cầu, vỏ mỏng, trong suốt, kích thước 580-1000 x 350-660 μ m. Ấu trùng bên trong hình lá cây, cơ thể gồm hai đốt, đốt trước hình bầu dục có kích thước 420-480 x 305-340 μ m, đốt sau thuôn dài, kích thước 285-310x125-140 μ m. Giác miệng tròn, đường kính 42-45 μ m, hầu nằm ngay dưới và bé hơn giác miệng (28-32x24-28 μ m), giác bụng nằm gần đốt thứ hai, có đường kính 56-64 μ m. Không quan sát được mầm sinh dục và các nội quan.

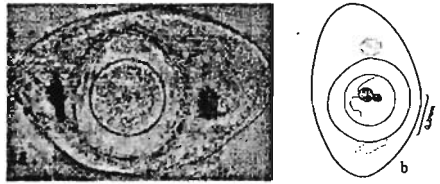


Hình 4: Nang loài *Posthodiplostomum* sp.

(a) ảnh chụp, (b) hình vẽ

Dạng K_V: Metacercaria của loài *Maritrema subdolum* (họ Microphallidae). Vật chủ trung gian thứ II: cá Đòng đòng, cá Đuôi cờ. Vị trí ký sinh: rải rác trong các bó cơ. Mô tả (n=100):

Nang hình trứng, hai đầu hơi mắt đối xứng, kích thước 420-452 x 320-340 μ m. Vỏ ngoài màu sẫm, dày, bao toàn bộ nang phía trong. Phá bỏ vỏ ngoài, nang hình cầu, đường kính 300-320 μ m. Vỏ trong dày 86-98 μ m, kích thước nang trong 160-180 μ m. Nang rất khó bị phá. Ấu trùng bên trong nằm bên trong, khó quan sát giác bụng. Giác miệng và giác bụng có kích thước gần bằng nhau.

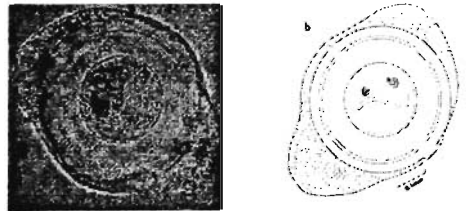


Hình 5: Nang loài *Maritrema subdolum*

(a) ảnh chụp, (b) hình vẽ

Dạng K_{VI}: Metacercaria của loài *Echinochasmus japonicus* (họ Echinochasmidae). Vật chủ trung gian thứ II: cá Đòng đòng, cá Đuôi cờ. Vị trí ký sinh: rải rác trong các bó cơ. Mô tả (n=100):

Nang hình ôvan, lớp vỏ ở hai đầu dày hơn. Tách lớp vỏ ngoài, nang phía trong hình cầu, đường kính 160-170 μ m, ấu trùng sán nằm trong hai lớp vỏ dày, trong suốt. Vỏ ngoài dày 60-70 μ m, vỏ trong dày 130-150 μ m. Ấu trùng bên trong có giác bụng nằm ở 1/3 phía trước cơ thể, kích thước tương đương với giác miệng. Có thể quan sát thấy 24 gai ở cổ, phân bố gián đoạn, đây là đặc điểm đặc trưng dùng trong phân loại.

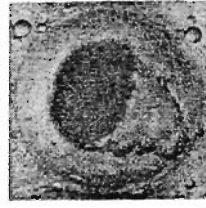


Hình 6: Nang loài *Echinochasmus japonicus*

(a) ảnh chụp, (b) hình vẽ

Dạng K_{VII}: Metacercaria của loài sán lá thuộc họ Opisthorchidae (chưa xác định chính xác

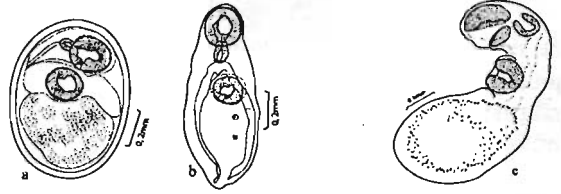
được tên khoa học của loài). Vật chủ trung gian thứ II: cá Đòng đòng, cá Đuôi cờ. Vị trí ký sinh: trong bó cơ, một số ít nằm ở các mô sát phần dưới da cơ thể cá. Mô tả (n=100): Nang hình cầu, đường kính 640-1160 μ m, vỏ mỏng (nhưng dày hơn so với metacercaria của dạng K_{IV}), trong suốt, có thể nhìn rõ được cấu trúc bên trong. Nang rất dễ vỡ. Ấu trùng bên trong nằm cuộn tròn, nhìn rõ hầu, giác miệng, giác bụng, ruột, mầm sinh dục và khối chất bài tiết màu đen ở cuối cơ thể (khi cho nang sán vào dung dịch làm trong thì khối chất bài tiết trở nên trong suốt). Ruột chẻ đôi thành 2 nhánh ở phía trên giác bụng. Giác bụng có kích thước bé hơn so với giác miệng.



Hình 7: Metacercaria vừa tách khỏi mô cơ của vật chủ



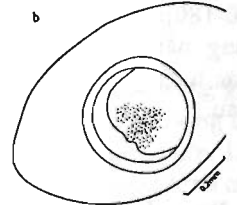
Hình 8: Metacercaria sau khi định hình và làm trong



Hình 9: (a) nang, (b) sán non mặt bụng, (c) sán non mặt bụng

Dạng K_{VIII}: chưa xác định thuộc nhóm sán lá nào. Vật chủ trung gian thứ II: cá Đuôi cờ. Vị trí ký sinh: rải rác trong các bó cơ. Mô tả (n=100): Nang hình trứng, hai đầu đối xứng, kích thước

520-580 x 420-480 μ m. Lớp vỏ ngoài dày, sẫm màu, khi tách lớp vỏ ngoài, nang bên trong hình cầu, đường kính 220-230 μ m. Lớp vỏ nang mỏng trong suốt, rất khó quan sát các đặc điểm bên trong. Phá nang để thu ấu trùng bên trong rất khó vì thường bị vỡ. Chưa xác định được đây là metacercaria của nhóm sán lá nào.



Hình 10: (a) ảnh chụp, (b) hình vẽ nang sán lá (chưa xác định được)

Theo công bố của Đỗ Đức Ngái và Hà Duy Ngọ (2005) khi nghiên cứu về ấu trùng sán lá ở Nam Định thì riêng với 3 loài: cá Chép, cá Mè trắng và cá Đuôi cờ phát hiện được 6 dạng nang, trong đó 3 dạng nang chưa xác định được tên và 3 dạng nang không tìm thấy trong đợt nghiên cứu này là *Clonorchis sinensis*, *Heterophyes* sp., *Centrocestus* sp. Điều này minh chứng cho sự đa dạng về mầm bệnh ký sinh trùng nói chung và ấu trùng sán lá nói riêng. Trong 6 loài cá mổ khám, nhận thấy rằng loài cá Đuôi cờ có số dạng nang phong phú nhất. So sánh với kết quả nghiên cứu về ấu trùng sán lá ở cá Đuôi cờ tại vùng trũng tỉnh Hà Tây (cũ) của Nguyễn Thị Lê và Đỗ Đức Ngái (1992) thấy rằng 2 tác giả đã phân lập được 7 dạng nang, nhiều hơn 1 dạng so với đợt nghiên cứu này, trong đó có tới 5 dạng nang trùng nhau là Metacercaria của sán lá thuộc các họ Opisthorchidae, Diplostomatidae, Galactosomidae, Microphallidae, Acanthocolpidae, Echinochasmidae, 1 dạng nang không tìm thấy trong đợt khảo cứu thuộc họ Cyathocotylidae. Phát hiện thêm một dạng nang mới chưa xác định được tên.

2. Tỷ lệ và cường độ nhiễm nang sán lá

Kết quả nghiên cứu về cường độ và tỉ lệ nhiễm ấu trùng sán lá được thể hiện qua bảng sau.

Bảng 1

Tỉ lệ và cường độ nhiễm metacercaria của một số loài cá nước ngọt ở Nam Định và Hà Nội

TT	Tên vật chủ	Địa điểm thu mẫu	Số lượng mổ (cá thể)	Số bị nhiễm (cá thể)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm	Dạng nang sán
1	Cá Chép	Nam Định	9	7	77,78	30-120	K _I
		Hà Nội	5	0	-	0	
2	Cá Trắm cỏ	Nam Định	17	14	82,35	500-4000	K _I , K _{II}
		Hà Nội	6	2	33,33	200-600	K _I , K _{II}
3	Cá Mè hoa	Nam Định	13	11	84,62	400-1000	K _I
		Hà Nội	7	0	-	0	
4	Cá Mè trắng	Nam Định	12	9	75	500-1000	K _I , K _{II}
		Hà Nội	9	0	-	0	
5	Cá Đuôi cờ	Hà Nội	54	54	100	300-500	K _{III} , K _{IV} , K _V , K _{VI} , K _{VII} , K _{VIII}
6	Cá Đòng đong	Hà Nội	15	15	100	100-450	K _{III} , K _{IV} , K _V , K _{VI}
Tổng cộng			147	112	76,19		

Tỉ lệ nhiễm nang sán lá ở cá tự nhiên (100%) cao hơn hẳn so với cá thương phẩm (55,13%). Nguyên nhân có thể do hai loài cá Đuôi cờ, cá Đòng đong thường sống ở vùng nước nông và gần bờ, ít di chuyển chỗ ở hoặc chỉ di chuyển trong một phạm vi rất nhỏ. Tại những thùy vực này, Ốc bị nhiễm ấu trùng sán lá có tỉ lệ rất cao, do vậy 100% cá mổ khám đều phát hiện nhiễm metacercaria. Ở cá thương phẩm tại Nam Định, tỉ lệ nhiễm chung là 80,39% cao hơn so với ở Hà Nội (7,41%), do người dân ở đây tồn tại một số vấn đề về vệ sinh nhân y, vệ sinh chăn nuôi, vệ sinh môi trường. Hầu hết phân động vật nuôi, phân người thường không được xử lý mà xả thẳng xuống ao. Từ đó, xác suất ốc ăn phải trứng giun sán ký sinh là rất cao, nên vòng đời sán lá sẽ được khép kín. Ngoài ra, hầu hết số dân ở đây vẫn thường xuyên ăn gỏi cá sống, đây cũng là một trong những nguyên nhân tạo ra ổ dịch tự nhiên của một số loài sán có nguồn gốc thủy sản.

Số lượng cá thương phẩm tại địa bàn Hà Nội được nghiên cứu còn quá ít, do vậy chưa phân ảnh đầy đủ thực trạng của nó. Tuy vậy, có thể khẳng định tỉ lệ nhiễm nang sán lá ở cá thương phẩm vùng này thấp hơn, nguyên nhân do vấn đề vệ sinh môi trường đảm bảo hơn. Nhà vệ sinh thường làm 2 ngăn (hố xí tự hoại) hoặc phân người-phân động vật được ủ để làm phân bón, không thải trực tiếp vào ao; người dân không có tập quán ăn gỏi cá. Mặt khác, cá thương phẩm vùng này hầu hết được nuôi theo hướng sản xuất hàng hóa nên có sự đầu tư vệ sinh, xử lý ao-hồ trước khi thả thả và sử dụng nguồn thức ăn chăn nuôi công nghiệp là chính. Điều này làm hạn

chế rất nhiều khả năng nhiễm ấu trùng sán lá cho ốc-vật chủ trung gian thứ nhất, do vậy tỉ lệ nhiễm ấu trùng sán lá ở cá rất thấp.

Khi nghiên cứu cường độ nhiễm metacercaria, tùy thuộc vào kích thước và trọng lượng của các loài cá mà tiến hành theo cách riêng. Đối với 4 loài cá thương phẩm, do có kích thước lớn nên lấy 50g mô cơ ở các phần đầu, giữa thân và gốc đuôi để nghiên cứu. Trong khi đó, 2 loài tự nhiên vì kích thước nhỏ nên phân tích toàn bộ cơ thể. Kết quả mổ khám cho thấy: Cường độ nhiễm metacercaria của 2 loài cá tự nhiên dao động từ 100-500 nang/cá thể. Trong khi đó, 4 loài cá thương phẩm thì biên độ dao động này rất lớn từ 30-4000 nang/50g mô cơ. Trong 4 loài cá thương phẩm nghiên cứu, cá Trắm cỏ có cường độ nhiễm cao nhất (200-4000 nang/50g mô cơ), tiếp đến là cá Mè trắng (500-1000 nang/50g mô cơ) và cá Mè hoa (400-1000 nang/50g mô cơ), thấp nhất là cá Chép (30-120 nang/50 g mô cơ). Có sự khác nhau về cường độ nhiễm nang sán lá ở cá thương phẩm thuộc hai địa bàn Nam Định và Hà Nội. Trong 4 loài cá thương phẩm mổ khám, ở Hà Nội chỉ duy nhất loài cá Trắm cỏ phát hiện thấy metacercaria với cường độ nhiễm là 200-600 nang/50g mô cơ. Trong khi đó, ở Nam Định, cả 4 loài cá đều phát hiện nhiễm nang sán lá, cao nhất là cá Trắm cỏ với cường độ nhiễm tương ứng là 500-4000 nang/50g mô cơ. Cường độ nhiễm metacercaria ở cá Đuôi cờ rất cao, phân bố trong khoảng từ 100-500 nang/cá thể, hẹp hơn với phổ phân bố của Nguyễn Thị Lê và Đỗ Đức Ngái (1992) đưa ra là 5-500 nang/cá thể, nhưng mức độ tập trung cao hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Darwin Murrell K., Jong-Yil Chai, Woon-Mok Sohn, 2002: Fibozopa Laboratory Manual. Fibozopa project. Published online www.fibozopa.rial.org
2. Nguyễn Thị Lê, Đỗ Đức Ngái, 1992: Dẫn liệu về ấu trùng sán lá ở cá Đuôi cờ (*Macropodus opercularis*) vùng trũng tỉnh Hà Tây (cũ). Tuyển tập các công trình nghiên cứu Sinh thái và Tài nguyên Sinh vật. NXB. Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội. 311-317.
3. Đỗ Đức Ngái, Hà Duy Ngô, 2005: Tạp chí Sinh học, 27(3A): 25-30.
4. Mai Đình Yên, 1978: Định loại cá nước ngọt ở các tỉnh phía Bắc Việt Nam. NXB. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
5. www.fishbase.org

STATUS OF INFECTION AND MORPHOLOGY OF TREMATODE LARVALS (METACERCARIA) OBTAINED ON SOME FRESHWATER FISH SPECIES

IN NAM DINH AND HANOI

NGUYEN MANH HUNG, NGUYEN VAN DUC, TRAN THI BINH

SUMMARY

The compression method was used to study 147 individuals of the second intermediate hosts of six freshwater fish species, including four commercial fish species such as common carp (*Cyprinus carpio*), grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*), Vietnam silver carp (*Hypophthalmichthys harmandi*), big-head carp (*Aristichthys nobilis*) and two natural fish species such as paradise fish (*Macropodus opercularis*) and *Pantius semifasciolatus* in Nam Dinh and Hanoi. Eight kinds of metacercaria have been obtained and described, seven of which are identified under scientific name which is larval form of the species *Haplorchis pumilio*,

H. taichui, *Procerovum cheni* (Galactosomidae family); *Posthodiplostomum* sp. (Diplostomatidae family); *Maritrema subdolum* (Microphallidae family); *Echinochasmus japonicus* (Echinochasmidae family); one species belong to Opisthorchidae family; the last kind remaining was unidentified.

The intensity and rate of infection by metacercaria are different in natural and commercial fish species. The infection rate in two natural fish species are 100% with intensity of 100-500 metacercaria/individual, identifying the 6 types of metacercaria. About four species of commercial fish, the infection rate varies from non-infection to 84.62%, corresponding to the infection intensity of 30-4000 metacercaria/50g tissue if any. The difference is shown in two sample locations which are Nam Dinh and Hanoi. Among four typical commercial fish species in Hanoi only grass carp is infected by metacercaria with infection rate of 33.33% and intensity of 200-600 metacercaria/50g tissue, whereas in Nam Dinh province, all 4 commercial fish species are infected with rate of 75-84,62%, intensity of 30-4000 metacercaria/50g tissue.