

ĐỊNH LOẠI VÀ PHÂN BIỆT HAI DẠNG METACERCARIA CỦA SÁN LÁ PHỔI THU TỪ CUA SUỐI *POTAMISCUS TANNANTI* RATHBUN, 1904 TẠI TỈNH YÊN BÁI

NGUYỄN THỊ LÊ, PHẠM NGỌC DOANH
NGUYỄN THỊ MINH, NGUYỄN VĂN HÀ

Viện Sinh thái và tài nguyên sinh vật

Bệnh sán lá phổi Paragonimiasis là bệnh lây truyền giữa người và động vật; bệnh lưu hành ở nhiều nước trên thế giới, đặc biệt là các nước thuộc châu Á, châu Phi [1, 6, 16]. Ở Việt Nam, bệnh sán lá phổi mới được quan tâm nghiên cứu khoảng hơn 10 năm trở lại đây. Các kết quả nghiên cứu cho thấy bệnh phân bố ở nhiều vùng thuộc các tỉnh miền núi phía Bắc, nơi người dân có tập quán ăn cua sống hay nướng [3, 4, 5, 10, 15]. Cho đến nay, có 3 loài sán lá phổi được phát hiện ở Việt Nam, đó là *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) [8]; *P. heterotremus* Chen et Hsia, 1964 [7, 9] và *P. ohirai* Miyazaki, 1939 [9]. Tuy nhiên, các nghiên cứu mới chỉ phát hiện metacercaria của loài *P. heterotremus*, đồng thời khẳng định đây là loài phổ biến nhất ở Việt Nam và là tác nhân gây bệnh cho người [3, 5, 14]. Bằng kỹ thuật sinh học phân tử, kết quả nghiên cứu của Lê Thanh Hòa và cs. (2006) cũng khẳng định chỉ thu được loài *P. heterotremus* [11].

Với mục đích điều tra xác định sự tồn tại của metacercaria của các loài sán lá phổi, chúng tôi thu thập và xét nghiệm cua suối tại tỉnh Yên Bái. Kết quả đã phát hiện hai dạng metacercaria của sán lá phổi trong cùng một loài cua suối *Potamiscus tannanti* Rathbun, 1904 khác hẳn nhau về cấu trúc và kích thước. Hai dạng metacercaria này được gây nhiễm riêng cho động vật thí nghiệm và đã thu được sán trưởng thành. Dạng metacercaria nhỏ và sán trưởng thành phát triển từ chúng có đặc điểm đặc trưng, dễ dàng định loại là loài *P. heterotremus*. Trái lại, dạng metacercaria có kích thước lớn hơn

mới được phát hiện và sán trưởng thành phát triển từ chúng hoàn toàn khác hẳn với 3 loài sán lá phổi đã được phát hiện ở Việt Nam, cũng như các loài khác trong giống *Paragonimus*; có thể đây là loài mới cho khoa học.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Cua suối *P. tannanti* được thu thập tại các huyện của tỉnh Yên Bái và được định loại theo Đặng Ngọc Thanh và Hồ Thanh Hải (2006) [13].

- Từng bộ phận của cua được tách riêng và ép dưới hai tấm kính, sau đó kiểm tra dưới kính lúp để thu metacercaria của sán lá phổi.

- Dựa vào hình thái và kích thước, các dạng metacercaria khác nhau được tách riêng và gây nhiễm cho động vật thí nghiệm (chó, mèo).

- Định kỳ xét nghiệm phân của động vật thí nghiệm để tìm trứng của sán lá phổi. Khi phát hiện trứng của sán thì mổ động vật thí nghiệm để thu sán trưởng thành, bảo quản trong cồn 70° và làm tiêu bản cố định bằng cách nhuộm các-min.

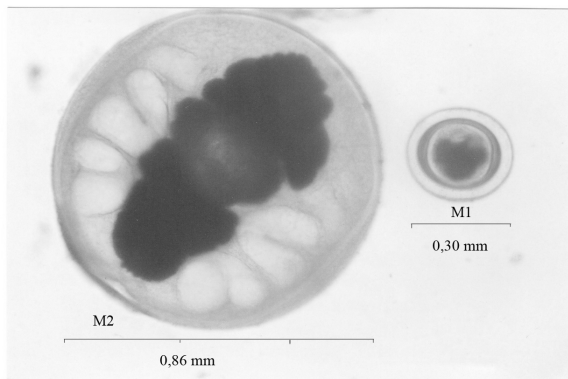
- Phân loại sán lá phổi trưởng thành dựa trên đặc điểm hình thái. Các đặc điểm hình thái chủ yếu là sự sắp xếp của gai cuticun trên bề mặt cơ thể, kích thước của giác miệng và giác bụng, cũng như của cơ quan sinh dục.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Kết quả xét nghiệm cua suối *P. tannanti* tại tỉnh Yên Bái đã thu được hai dạng metacercaria

Công trình được hoàn thành với sự tài trợ của Trung tâm hỗ trợ nghiên cứu châu Á.

của sán lá phổi. Hai dạng metacercaria này khác hẳn nhau về cấu trúc và kích thước (hình 1). Dạng metacercaria thứ nhất (M1) có kích thước nhỏ, $0,176-0,250 \times 0,168-0,230$ mm (trung bình $0,212 \pm 0,018 \times 0,187 \pm 0,016$), có lớp vỏ trong dày. Dạng thứ hai (M2) có kích thước lớn hơn, $0,738-0,943 \times 0,648-0,931$ mm (trung bình $0,811 \pm 0,079 \times 0,775 \pm 0,100$), có lớp vỏ trong mỏng. Đây là dạng metacercaria của sán lá phổi mới được phát hiện ở Việt Nam.



Hình 1. Hai dạng metacercaria của sán lá phổi thu được từ cua suối *P. tannanti* Rathbun, 1904 tại tỉnh Yên Bái

a. M1. metacercaria của loài *P. heterotremus*; b. M2. metacercaria của *Paragonimus* sp.

Dạng metacercaria M1 có kích thước nhỏ với những đặc điểm đặc trưng, dễ dàng định loại là metacercaria của loài *P. heterotremus*. Trái lại, dạng M2 có cấu trúc giống với metacercaria của một số loài sán lá phổi (*P. skrjabini*), nhưng hoàn toàn khác với tất cả các loài sán lá phổi khác về kích thước, gồm cả những loài đã được phát hiện ở Việt Nam: *P. ohirai* (0,4-0,5 mm), *P. westermanni* (0,3-0,4 mm), *P. skrjabini* Chen, 1959 (0,42-0,55 mm), *P. harinasutai* Miyazaki and Vajrasthira, 1967 (0,5-0,6 mm), còn dạng metacercaria mới thu được có kích thước tới $0,811 \times 0,775$ mm.

Hai dạng metacercaria này được tách riêng và gây nhiễm cho động vật thí nghiệm (chó, mèo); chúng tôi đều đã thu được sán trưởng thành.

Từ dạng metacercaria nhỏ M1, sau 45-60 ngày gây nhiễm, đã phát hiện trứng trong phân của động vật thí nghiệm. Sán trưởng thành từ dạng metacercaria này mang đặc điểm đặc trưng của loài *P. heterotremus* [2]: gai cuticun trên bề mặt cơ thể xếp đơn và giác miệng ($0,84 \times 0,98$

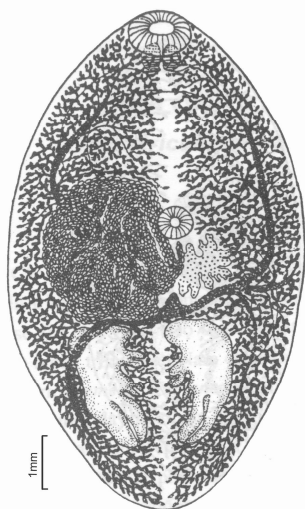
mm) lớn gần gấp đôi giác bụng (đường kính 0,48 mm) (hình 2).

Từ dạng metacercaria mới (M2), cũng đã thu được sán trưởng thành. Trứng sán được phát hiện trong phân của động vật thí nghiệm sau 90 ngày gây nhiễm. Thời gian này dài hơn rất nhiều so với loài *P. heterotremus* (45-60 ngày). Những cá thể sán thu được từ dạng metacercaria này dễ dàng phân biệt với loài *P. heterotremus* ở tỷ lệ kích thước của các giác bám. Loài *P. heterotremus* có giác miệng lớn gấp đôi giác bụng, trong khi những mẫu vật mới có giác miệng nhỏ hơn giác bụng, với những đặc điểm mô tả như sau (dựa trên 4 cá thể): kích thước của cơ thể $9,40-10,0 \times 5,12-5,84$ mm; bề mặt phủ gai đơn; kích thước của giác miệng $0,754-0,760 \times 0,738-0,740$ mm; giác bụng lớn hơn giác miệng, có kích thước $0,836-0,840 \times 0,902-0,908$ mm và tỷ lệ giác bụng/giác miệng là 1,2; giác bụng nằm ở khoảng giữa, hơi dịch về nửa trước cơ thể, khoảng cách từ tâm giác bụng đến nút trước cơ thể là 4,2mm, đến nút sau cơ thể là 5,2 mm; buồng trứng phân thùy, kích thước $0,820-0,840 \times 1,230-1,246$ mm, tinh hoàn phân thùy, có kích thước $0,984-0,890 \times 1,312-1,314$ mm. Trứng có kích thước $0,080-0,103 \times 0,045-0,057$ mm (trung bình $0,093 \pm 0,005 \times 0,054 \pm 0,003$) (hình 3).

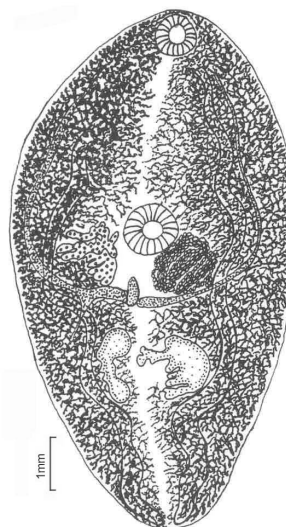
Với những đặc điểm trên, chúng tôi thấy rằng những mẫu vật này khác với loài *P. ohirai* (có gai cuticun xếp thành nhóm) và loài *P. westermanni* (giác miệng hơi lớn hơn giác bụng). So với những loài khác trong giống *Paragonimus*, những mẫu vật này gần giống nhất với loài *P. skrjabini* và loài *P. harinasutai* ở hai đặc điểm nổi bật là gai cuticun xếp đơn và giác bụng hơi lớn hơn giác miệng [12]. Tuy nhiên, những mẫu vật này lại có những đặc điểm khác so với hai loài trên hoặc ở giai đoạn metacercaria hoặc ở sán trưởng thành. Chúng gần giống nhất với loài *P. harinasutai* ở giai đoạn trưởng thành, nhưng lại khác biệt ở giai đoạn metacercaria: metacercaria của loài *P. harinasutai* có kích thước nhỏ, có khoảng trống và những hạt globule màu hồng ở bên trong metacercaria, trong khi metacercaria của những mẫu sán mới có kích thước lớn hơn, không có khoảng trống và những hạt globule màu hồng. Ngược lại, những mẫu vật mới này có cấu trúc metacercaria gần giống với loài *P. skrjabini*,

nhưng ở giai đoạn trưởng thành thì có cơ thể hình ovan và tinh hoàn nhỏ hơn, trong khi loài

P. skrjabini có cơ thể dài hơn và tinh hoàn lớn hơn (bảng 1).



Hình 2. *Paragonimus heterotremus*



Hình 3. *Paragonimus* sp.

Bảng 1

So sánh một số đặc điểm của loài *Paragonimus* sp. với một số loài sán lá phổi khác

Đặc điểm	<i>P. heterotremus</i>	<i>P. westermanni</i>	<i>P. ohirai</i>	<i>Paragonimus</i> sp.	<i>P. skrjabini</i>	<i>P. harinasutai</i>
Kích thước meta (mm)	0,21 × 0,18	0,3-0,4	0,4-0,5	0,81 × 0,77	0,42-0,55	0,5-0,6
Vỏ trong	dây	dây	dây	mỏng	dây	mỏng
Khoảng trống	không	không	không	không	không	có
Hạt globule	không	không	có	không	không	có
Gai cuticun	đơn	đơn	nhóm	đơn	đơn	đơn
Giác miệng/ giác bụng	giác miệng lớn gấp đôi giác bụng	giác miệng hơi lớn hơn giác bụng	giác bụng > giác miệng	giác bụng > giác miệng	giác bụng > giác miệng	giác bụng > giác miệng
Tinh hoàn	to	to	to	nhỏ	to	nhỏ

Những so sánh trên cho thấy dạng metacercaria mới thu được và sán lá trưởng thành phát triển từ chúng khác với các loài trong giống *Paragonimus* đã được công bố; có thể đây là một loài sán lá phổi mới cho khoa học. Tuy nhiên, do số lượng mẫu nghiên cứu còn ít, nên để khẳng định là một loài mới, cần phải nghiên cứu thêm về hình thái và phân tử với số lượng mẫu vật nhiều hơn ở những giai đoạn phát triển khác nhau.

III. KẾT LUẬN

1. Phát hiện hai dạng metacercaria của sán lá phổi cùng tồn tại trong loài cua suối *P.*

tannanti tại tỉnh Yên Bái. Dạng thứ nhất (M1) có kích thước nhỏ với lớp vỏ trong dày. Dạng thứ hai (M2) có kích thước lớn hơn và chỉ có một lớp vỏ mỏng.

2. Dạng metacercaria có kích thước nhỏ và sán trưởng thành phát triển từ chúng dễ dàng định loại là loài *P. heterotremus*.

3. Dạng metacercaria lớn và sán trưởng thành của chúng khác hẳn với loài *P. heterotremus* và các loài khác trong giống *Paragonimus*. Những mẫu vật này gần giống nhất với hai loài *P. skrjabini* và *P. harinasutai* ở sự sắp xếp của gai cuticun và giác bụng hơi lớn

hơn giác miệng; tuy nhiên khác với loài *P. skrjabini* về kích thước của tinh hoàn, khác với loài *P. harinasutai* ở cấu trúc và kích thước của metacercaria. Có thể đây là một loài mới cho khoa học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Blair D., Xu Z. B., Agatsuma T., 1999: Adv Parasitol, 42: 113-222.
2. Chen H. T. and Hsia T. K., 1964: Acta Zhongshan University, 2: 236-238.
3. Phạm Ngọc Doanh, Đặng Tất Thế, Nguyễn Thị Lê, 2002: Tạp chí Sinh học, 24(1): 14-22.
4. Doanh P. N., Le N. T., The D. T., 2005: Asian Parasitology, 1: 149-153.
5. Nguyễn Văn Đê và cs., 1998: Thông tin phòng chống sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, 2: 35.
6. Keiser J. and Uttinger J., 2005: Emerg Infect Dis, 10: 1507-1514.
7. Kino H. et al., 1995: Japan J. Parasitol., 44: 470-472.
8. Landmann H., Ngu D. V. and Thai D. D., 1961: Wochenschrift fur die Gesamte Medizin, 16: 1355-1364.
9. Nguyễn Thị Lê, Lê Đăng Hà, Cao Văn Viên, 1997: Tạp chí Sinh học, 19(1): 5-7.
10. Nguyễn Thị Lê, Đặng Tất Thế, Phạm Ngọc Doanh, 1997: Y học Việt Nam, 2: 35-40.
11. Le T. H. et al., 2006: Acta Trop., 98: 25-33.
12. Miyazaki I. and Vajrasthira S., 1967: Ann. Trop. Med. Parasitol., 62: 81-87.
13. Đặng Ngọc Thanh, Hồ Thanh Hải, 2006: Động vật chí Việt Nam, tập 5. Giáp xác nước ngọt. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
14. Cao Văn Viên, 1997: Kỷ yếu Hội nghị khoa học - Công nghệ - Môi trường lần thứ V các tỉnh miền núi phía Bắc, 81-84.
15. Cao Văn Viên và cs., 1994: Tạp chí Y học thực hành, 2: 4-6.
16. WHO/FAO, 2004: Report of World Health Organization, Regional office for the Western Pacific, Manila, Philippines.

IDENTIFICATION AND DISTINCTION OF TWO *PARAGONIMUS* METACERCARIA TYPES FOUND IN THE SAME CRAB SPECIES *POTAMISCUS TANNANTI* RATHBUN, 1904 COLLECTED IN YENBAI PROVINCE

NGUYEN THI LE, PHAM NGOC DOANH
NGUYEN THI MINH, NGUYEN VAN HA

SUMMARY

Although three species of the genus *Paragonimus* Braun, 1899, including *P. westermani* (Kerbert, 1878), *P. heterotremus* Chen et Hsia, 1964 and *P. ohirai* Miyazaki, 1939, have been recorded in Vietnam, only the metacercaria of *P. heterotremus* has been collected by previous authors. During investigations in the Yenbai province, we have collected two types of *Paragonimus* metacercariae in the same freshwater crab, *Potamiscus tannanti* (Rathbun, 1904). They remarkably differed from each other in morphology and size. The small metacercariae which were $0.212 \pm 0.018 \times 0.187 \pm 0.016$ mm in size, had thick inner cyst wall. In contrast, the bigger metacercariae, which were found for the first time in Vietnam, were $0.811 \pm 0.079 \times 0.775 \pm 0.100$ mm in size and provided with thin inner cyst wall, occupying the entire space of the cyst. The small metacercariae types and its adult worms were completely identical to *P. heterotremus*. In contrast, the big metacercaria types and its adult worms recovered from experimental dogs and cats differed from other known *Paragonimus* species. Morphologically, they were somewhat similar to *P. skrjabini* Chen, 1959 and *P. harinasutai* Miyazaki and Vajrasthira, 1967, but different from them either in metacercaria stage or adult worm. These *Paragonimus* sp. samples collected from the Yenbai province of Vietnam, might be of a new species to science.

Ngày nhận bài: 8-9-2006