

SỰ PHÁT TRIỂN CỦA TRỨNG SÁN LÁ PHỔI - *PARAGONIMUS HETEROTREMUS* VÀ CÁC GIAI ĐOẠN ẤU TRÙNG TRONG CƠ THỂ VẬT CHỦ TRUNG GIAN THỨ NHẤT

PHẠM NGỌC DOANH

Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật

Những công trình nghiên cứu điều tra về sán lá phổi ở nước ta trong những năm gần đây đã xác định bệnh sán lá phổi là bệnh nguy hiểm cho cả người và động vật; đặc biệt ở một số tỉnh miền núi phía Bắc, số lượng người nhiễm sán lá phổi tương đối cao [1, 3-7]. Đây là một trong những bệnh ký sinh trùng lây nhiễm qua thực phẩm được Tổ chức Y tế thế giới quan tâm. Để góp phần vào công tác phòng trị bệnh sán lá phổi thì việc nghiên cứu đặc điểm sinh học và vòng đời phát triển của chúng là rất cần thiết. Bài này công bố sự phát triển của trứng sán lá phổi *Paragonimus heterotremus* và các giai đoạn ấu trùng của sán trong cơ thể vật chủ trung gian thứ nhất. Đây là giai đoạn đầu trong vòng đời phát triển của sán lá phổi lần đầu tiên được nghiên cứu ở Việt Nam.

I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

- Trứng sán lá phổi thu từ sán trưởng thành cho đẻ trong nước muối sinh lý, sau đó rửa sạch trứng và nuôi trong các điều kiện nhiệt độ khác nhau. Hàng ngày theo dõi sự phát triển của trứng dưới kính hiển vi.

- Khi trứng nở thành miracidium thì gây nhiễm cho ốc bằng cách đếm số lượng miracidium cho tiếp xúc với ốc sạch, sau đó tiếp tục nuôi ốc, định kỳ mổ ốc để theo dõi sự phát triển của ấu trùng sán lá phổi trong cơ thể ốc.

II. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Sự phát triển của trứng sán lá phổi - *P. heterotremus*

Trứng sán được nuôi trong các điều kiện nhiệt độ khác nhau, hàng ngày rửa và thay nước. Kết quả cho thấy sự phát triển của trứng phụ

thuộc rất nhiều vào nhiệt độ. Ở nhiệt độ mùa đông (12-25°C), thời gian trứng phát triển đến khi nở là 24-30 ngày. Trứng giữ trong điều kiện 12°C ở tủ lạnh vẫn phát triển, tuy nhiên thời gian kéo dài tới 90-120 ngày. Trong khi, ở điều kiện ổn định 30°C trong tủ ấm hoặc nhiệt độ phòng thí nghiệm mùa hè (25-35°C), trứng phát triển nhanh hơn, chỉ mất 13-17 ngày (bảng 1).

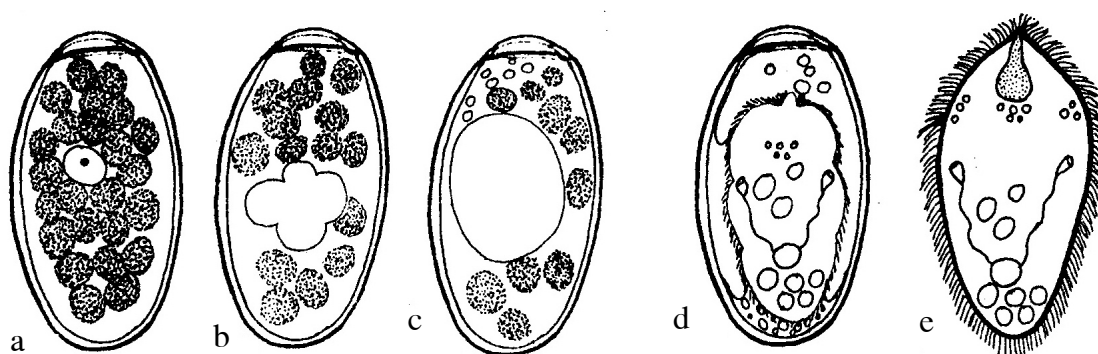
Tỷ lệ nở của trứng trong các điều kiện nhiệt độ khác nhau có khác nhau, nhưng không đáng kể: trong mùa hè 25-35°C, hoặc ở nhiệt độ ổn định 30°C thì tỷ lệ trứng nở cao hơn so với ở điều kiện nhiệt độ mùa đông 12-25°C (95,6-96,3% so với 75,0-81,0%).

Sự phát triển của trứng có thể quan sát dưới kính hiển vi. Khi mới đẻ, tế bào phôi rất nhỏ, xung quanh là các tế bào noãn hoàng. Gặp điều kiện thuận lợi, tế bào phôi phát triển và phân chia, tăng số lượng tế bào và cuối cùng là hình thành miracidium có lông - giai đoạn ấu trùng đầu tiên. Đến khi thành thực, miracidium thường bật nắp vỏ trứng và thoát ra vào buổi sáng, đặc biệt khi có ánh sáng kích thích. Miracidium rất nhỏ, với kích thước 0,112 × 0,07 mm, có 4 hàng tế bào; trong cơ thể nhìn rõ 2 tế bào ngọn lửa và các tế bào mầm, phần đầu có tuyến xâm nhập; xung quanh cơ thể phủ đầy tiêm mao, chính nhờ các tiêm mao này mà chúng hoạt động rất nhanh để tìm vật chủ (hình 1).

Sức sống của miracidium dựa vào năng lượng dự trữ, mà không dinh dưỡng ở môi trường ngoài, nên khả năng sống của chúng giảm dần theo thời gian. Sau khi nở, ấu trùng hoạt động rất mạnh để tìm và xâm nhập vào vật chủ trung gian thứ nhất là ốc nước ngọt; nếu không xâm nhập vào được loài ốc thích hợp thì

Sự phát triển của trứng sán lá phổi ở điều kiện nhiệt độ khác nhau

Điều kiện t ⁰	Lần thí nghiệm	Số trứng theo dõi	Số trứng nở	Tỷ lệ nở (%)	Trung bình (%)	Thời gian (ngày)
Mùa hè (25-35°C)	lần 1	100	95	95,0	95,6	13-17
	lần 2	100	95	95,0		
	lần 3	100	97	97,0		
Tủ ấm (30°C)	lần 1	100	95	95,0	96,3	13-17
	lần 2	100	96	96,0		
	lần 3	100	98	98,0		
Mùa đông (12-25°C)	lần 1	100	80	80,0	78,6	24-30
	lần 2	100	81	81,0		
	lần 3	100	75	75,0		
Tủ lạnh (12°C)	lần 1	100	73	73,0	77,6	90-120
	lần 2	100	79	79,0		
	lần 3	100	81	81,0		



Hình 1. Sự phát triển của trứng sán lá phổi trong điều kiện mùa hè

a. trứng mới đẻ; b. trứng phát triển sau 5 ngày; c. trứng phát triển sau 7 ngày; d. trứng phát triển sau 10 ngày; e. miracidium

chúng sẽ chết trong vòng 6-24 giờ. Tuy miracidium có thể sống được tới 24 giờ, nhưng sức sống đã giảm; chúng có khả năng xâm nhập vào ốc trong thời gian bao lâu, cần nghiên cứu thêm.

2. Sự phát triển của ấu trùng sán lá phổi trong cơ thể vật chủ trung gian thứ nhất

Gây nhiễm miracidium của sán lá phổi cho 5 loài ốc: *Menaloides tuberculatus*, *Katayama*

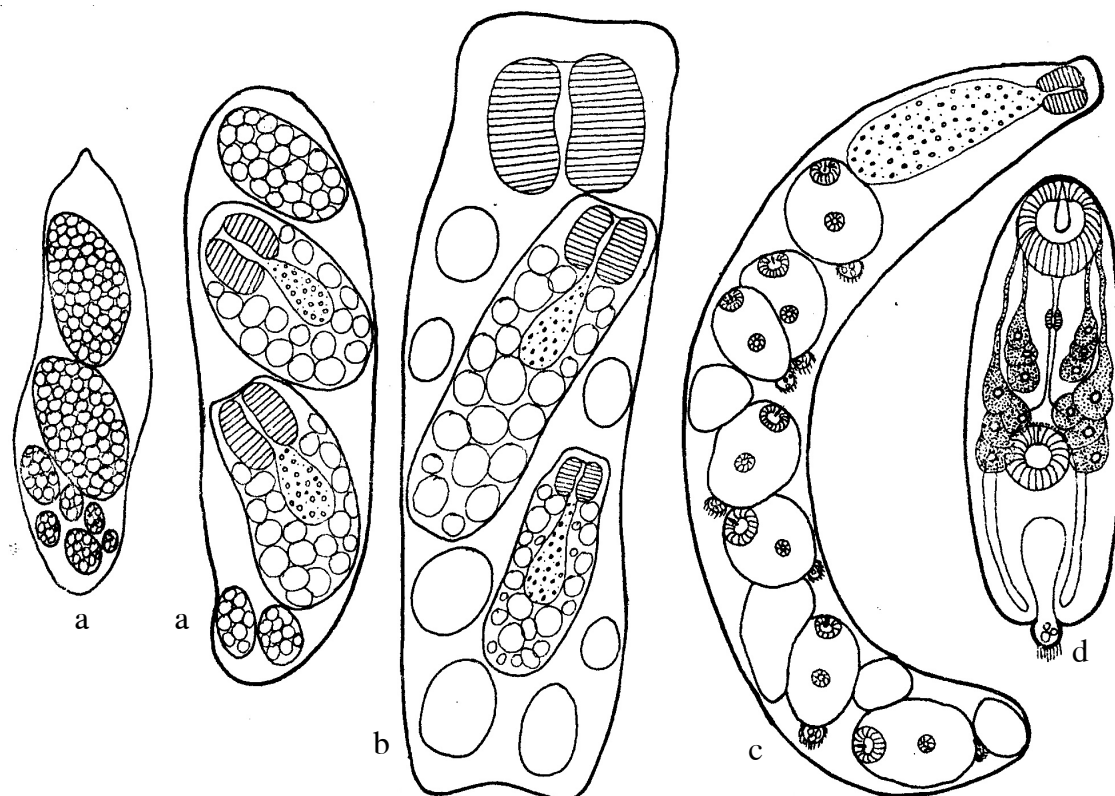
nosophora, *Katayama* sp., *Oncomelania* sp.1 và *Oncomelania* sp.2 (ảnh của 2 loài ốc sau đăng trong tạp chí Sinh học [5]) với mật độ 20 miracidium/ốc, thấy rằng chỉ có 2 loài ốc *Oncomelania* sp.1 và *Oncomelania* sp.2 bị nhiễm với tỷ lệ rất cao 100% và 80,0% tương ứng; các loài ốc còn lại *Menaloides tuberculatus*, *Katayama nosophora*, *Katayama* sp. không bị nhiễm (bảng 2).

Kết quả gây nhiễm miracidium sán lá phổi cho ốc

Loài ốc	Số ốc gây nhiễm	Số miracidium/ốc	Số ốc nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)
<i>Oncomelania</i> sp.1	40	20	40	100,0
<i>Oncomelania</i> sp.2	200	20	160	80,0
<i>Menaloides tuberculatus</i>	200	20	0	0
<i>Katayama nosophora</i>	100	20	0	0
<i>Katayama</i> sp.	100	20	0	0

Kết quả gây nhiễm này cũng phù hợp với kết quả xác định vật chủ trung gian 1 của sán lá phổi ngoài tự nhiên: xét nghiệm 13 loài ốc ở các vùng phát hiện có sán lá phổi ở các tỉnh Tây Bắc thì chỉ có 2 loài ốc *Oncomelania* sp.1 và *Oncomelania* sp.2 bị nhiễm ấu trùng

sán lá phổi [5]. Kết quả nghiên cứu này cũng khẳng định rằng loài ốc *Menaloides tuberculatus* không phải là vật chủ trung gian 1 của sán lá phổi *P. heterotremus* [6], hay *Katayama nosophora* (*Pachydrobia duporti* [8]).



Hình 2. Các giai đoạn ấu trùng sán lá phổi trong cơ thể ốc

a. Sporocyst; b. Redia mẹ; c. Redia con; d. Cercaria

Thời gian phát triển của sán lá phổi qua các giai đoạn ấu trùng trong cơ thể ốc

Thời gian	Thời gian phát triển của các giai đoạn ấu trùng (ngày)			
	Sporocyt	Redia mẹ	Redia con	Cercaria
Mùa đông	15-20	25-30	65-70	80-120
Mùa hè	10-15	20-28	55-65	75-100

Trong cơ thể ốc, ấu trùng phát triển qua các giai đoạn sporocyt, redia mẹ, redia con và cercaria. Sau khi xâm nhập vào ốc, miracidium phát triển thành sporocyt, vào mùa đông đến ngày thứ 15-20 thì sporocyt thành thực có dạng hình túi, kích thước 0,41-0,50 × 0,16-0,20 mm, có chứa 2-3 redia mẹ (hình 2a). Từ ngày thứ 25-30 thì redia mẹ thoát khỏi sporocyt và có thời gian nghỉ, rồi tiếp tục phát triển đến thành thực mất khoảng 30-34 ngày (tức là sau gây nhiễm 65-70 ngày); mỗi redia mẹ (hình 2b) thường chứa 1-2 redia con, redia con (hình 2c) thoát khỏi redia mẹ và phát triển đến thành thực có chứa cercaria, đến ngày thứ 80-120 thì cercaria chui khỏi ốc. Như vậy, thời gian phát triển trong cơ thể ốc ở nhiệt độ mùa đông mất khoảng 80-120 ngày; ở điều kiện mùa hè, thời gian phát triển ngắn hơn (bảng 3).

Cercaria gồm 2 phần: thân có kích thước 0,24-0,30 × 0,08-0,11 mm và đuôi hình nấm dấm có 1 chùm lông, kích thước 0,05 × 0,02 mm. Thân có 2 giác bám: giác miệng 0,05-0,07 × 0,05-0,06 mm và giác bụng nhỏ hơn giác miệng, đường kính 0,028-0,030 mm, phần đầu có mang stylet 0,02 × 0,004 mm, mỗi bên cơ thể có 7 tế bào xâm nhập xếp thành 2 chùm xung quanh giác bụng (hình 2d).

Một điều rất lý thú khi quan sát cercaria thoát ra khỏi cơ thể ốc là chúng thường chui ra vào buổi chiều tối từ 17-19 h, tập trung nhất vào lúc 18 h. Điều này được giải thích bằng sự thích nghi của ấu trùng sán lá phổi. Ấu trùng chui ra vào buổi chiều tối, tương ứng với thời gian hoạt động kiếm mồi của cua suối - vật chủ trung gian 2. Khi đó, cercaria dễ có cơ hội tiếp xúc hơn để xâm nhập vào vật chủ trung gian 2. Còn ban ngày, cua suối thường ẩn nấp trong hang, nếu cercaria chui ra vào thời gian này thì ít có cơ hội xâm nhập vào vật chủ trung gian 2. Sau khi

thoát khỏi cơ thể ốc, nếu cercaria không tìm và xâm nhập vào vật chủ trung gian 2 thích hợp thì chúng bị chết trong vòng 24-48 giờ.

Như vậy, kết quả nghiên cứu này chỉ ra rằng, trong gây nhiễm thực nghiệm sán lá phổi, cần phải chú ý theo dõi thường xuyên. Sau khi nuôi trứng sán lá phổi 13 ngày (mùa hè) hoặc sau 23 ngày (mùa đông), phải thu miracidium vào buổi sáng để gây nhiễm ngay cho ốc - vật chủ trung gian 1. Sau khi gây nhiễm miracidium cho ốc đến ngày thứ 70 (mùa hè) hoặc ngày thứ 80 (mùa đông) trở đi, phải theo dõi ốc thường xuyên dưới kính lúp vào lúc chiều tối (17-19 h) để thu cercaria gây nhiễm cho vật chủ trung gian 2.

III. KẾT LUẬN

1. Thời gian phát triển của trứng sán lá phổi ở nhiệt độ mùa hè 25-35°C hay tủ ấm 30°C mất 13-17 ngày, mùa đông 12-25°C mất 24-30 ngày, trong tủ lạnh 12°C kéo dài tới 90-120 ngày. Trứng sán thường nở vào buổi sáng, miracidium sống được tối đa ngoài môi trường là 24 h.

2. Hai loài ốc *Oncomelania* sp.1 và *Oncomelania* sp.2 là vật chủ trung gian 1 thích hợp của sán lá phổi *P. heterotremus*. Với mật độ gây nhiễm 20 miracidium/ốc, tỷ lệ nhiễm là 100% và 80,0% tương ứng. Còn 3 loài ốc *Melanooides tuberculatus*, *Katayama nosophora* và *Katayama* sp. không phải là vật chủ trung gian 1 của sán lá phổi.

3. Thời gian phát triển của ấu trùng sán lá phổi trong cơ thể ốc vào mùa đông mất 80-120 ngày qua 4 giai đoạn sporocyt, redia mẹ, redia con và cercaria. Mỗi sporocyt chứa 2-3 redia mẹ, mỗi redia mẹ chứa 1-2 redia con, mỗi redia con chứa 6-12 cercaria. Cercaria thường thoát khỏi ốc vào lúc chiều tối từ 17-19 h, tương ứng với thời gian của suối hoạt động để kiếm ăn. Súc

sống của cercaria giảm dần và chết sau 24-48 giờ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **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.
2. **Đặng Ngọc Thanh, Thái Trần Bái, Phạm Văn Miên**, 1980: Định loại động vật không xương sống nước ngọt Bắc Việt Nam: 380-439. Nxb KH&KT, Hà Nội.
3. **Kino H. et al.**, 1995: Japanese Journal of Parasitology, 44: 470-472.
4. **Phạm Ngọc Doanh, Đặng Tất Thế, Nguyễn Thị Lê**, 1998: Tạp chí Thú y, 5(4): 65-69.
5. **Phạm Ngọc Doanh, Nguyễn Thị Lê, Đặng Tất Thế**, 2002: Tạp chí Sinh học, 24(1): 14-22.
6. **Nguyễn Văn Đề và cs.**, 1998: Nghiên cứu các bệnh sán lá và sán dây. Hội thảo quốc gia phòng chống các bệnh giun sán: 41-45.
7. **Nguyễn Thị Lê, Đặng Tất Thế, Phạm Ngọc Doanh**, 1997: Tạp chí Y dược, 213(2): 35-39.
8. **Nguyễn Thị Lê, Đặng Tất Thế, Phạm Ngọc Doanh**, 1999: Tạp chí Sinh học, 21(2B): 179-180.

DEVELOPMENT OF THE *PARAGONIMUS HETEROTREMUS* EGGS AND IT'S LARVAE STAGES IN THE FIRST INTERMEDIATE HOST

PHAM NGOC DOANH

SUMMARY

The eggs of the lung fluke *Paragonimus heterotremus* were cultured in laboratory and experimentally infected to the first intermediate hosts. The eggs require 13-17 days in summer or 24-30 days in winter for completing the embryonation to hatch into miracidium. The miracidia are collected to expose to 5 snail species (*Oncomelania* sp.1; *Oncomelania* sp.2; *Melanoides tuberculatus*; *Katayama nosophora* and *Katayama* sp.). As results, only 2 species *Oncomelania* sp.1 and *Oncomelania* sp.2 are susceptible to be infected at very high rate 100% and 80.0%, respectively. Within the snail body, the larvae develop through 4 stages: sporocyt, mother redia, daughter redia and cercaria. The development time of all stages require 80-120 days. The living ability of miracidia and cercaria as well as the time at which cercaria escape from snails are also discussed.

Ngày nhận bài: 28-2-2003