

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

NCS. TRẦN NHẬT THẮNG

**TÌNH HÌNH NHIỄM SÁN LÁ ĐƯỜNG TIÊU HÓA VÀ BỆNH DO
SÁN LÁ TUYẾN TỤY *Eurytrema* spp. GÂY RA Ở TRÂU, BÒ
TẠI TỈNH TUYÊN QUANG**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ KỸ SINH TRÙNG
VÀ VI SINH VẬT HỌC THÚ Y**

THÁI NGUYÊN – NĂM 2023

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM**

NCS. TRẦN NHẬT THẮNG

**TÌNH HÌNH NHIỄM SÁN LÁ ĐƯỜNG TIÊU HÓA VÀ BỆNH DO
SÁN LÁ TUYẾN TUY *Eurytrema* spp. GÂY RA Ở TRÂU, BÒ
TẠI TỈNH TUYÊN QUANG**

Ngành: Kỹ sinh trùng và Vi sinh vật học Thú y

Mã số: 9.64.01.04

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ KỸ SINH TRÙNG
VÀ VI SINH VẬT HỌC THÚ Y**

**Người hướng dẫn khoa học: 1. GS. TS. Nguyễn Thị Kim Lan
2. TS. Phạm Diệu Thùy**

THÁI NGUYÊN – NĂM 2023

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi. Các số liệu và kết quả nghiên cứu trong luận án này là hoàn toàn trung thực và chưa được công bố trong bất kỳ công trình nào khác. Mọi thông tin trích dẫn trong luận án đều được chỉ rõ nguồn gốc.

Tôi xin cam đoan mọi sự giúp đỡ cho việc thực hiện đề tài nghiên cứu và hoàn thành Luận án đều đã được cảm ơn.

Tác giả

Trần Nhật Thăng

LỜI CẢM ƠN

Để hoàn thành luận án này, cho phép tôi bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc nhất tới **GS. TS. Nguyễn Thị Kim Lan và TS. Phạm Diệu Thùy** - những nhà khoa học đã hướng dẫn, chỉ bảo tôi hết sức tận tình trong suốt quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn các Thầy, Cô giáo Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên đã giảng dạy, hướng dẫn tôi hoàn thành các học phần và các chuyên đề trong chương trình đào tạo.

Nhân dịp này, tôi xin bày tỏ lòng cảm ơn sâu sắc đến Ban Giám Đốc, Ban Đào tạo sau đại học - Đại học Thái Nguyên; Ban Giám hiệu, phòng Đào tạo - trường Đại học Nông Lâm đã tạo mọi điều kiện thuận lợi để tôi học tập và nghiên cứu.

Tôi xin bày tỏ lòng cảm ơn sâu sắc đến Ban Chủ nhiệm khoa Chăn nuôi Thú y, các Thầy Cô giáo trong khoa, bộ môn Thú y đã tạo điều kiện về thời gian, hỗ trợ giảng dạy cho tôi trong quá trình học tập.

Tôi xin trân trọng cảm ơn: các kỹ thuật viên phòng thí nghiệm Thú y, khoa Chăn nuôi thú y - trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, TS. Madoka Ichikawa – Seki, khoa Nông nghiệp, Đại học Iwate, Nhật Bản; PGS.TS. Phạm Ngọc Doanh - Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật Việt Nam; các kỹ thuật viên phòng Siêu cấu trúc - Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương, kỹ thuật viên phòng xét nghiệm bệnh viện Trung ương Thái Nguyên, các kỹ thuật viên của Trung tâm nghiên cứu Khoa học sự sống, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, Chi cục Chăn nuôi thú y và thủy sản tỉnh Tuyên Quang đã giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện đề tài.

Tôi xin chân thành cảm ơn ThS. Nguyễn Thị Kim Oanh - học viên cao học khóa K28TY trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên, các sinh viên Thú y khóa 48, 49, trường đại học Nông Lâm Thái Nguyên đã tham gia và hỗ trợ tôi trong quá trình thực hiện đề tài.

Tôi vô cùng biết ơn các thành viên trong gia đình đã luôn ở bên tôi, giúp đỡ, động viên, tạo mọi điều kiện tốt nhất để tôi hoàn thành công việc học tập, nghiên cứu và hoàn thành Luận án.

Thái Nguyên, ngày tháng năm 2023

Trần Nhật Thắng

MỤC LỤC

BÌA PHỤ	i
LỜI CAM ĐOAN	ii
LỜI CẢM ƠN	iii
MỤC LỤC	iv
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT	vii
DANH MỤC CÁC BẢNG	ix
DANH MỤC CÁC HÌNH	xi
MỞ ĐẦU	1
1. Tính cấp thiết của đề tài	1
2. Mục tiêu của đề tài	3
3. Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của đề tài	3
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	4
1.1. Cơ sở khoa học của đề tài	4
1.1.1. Sán lá ký sinh ở đường tiêu hóa trâu, bò	4
1.1.2. Bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò	12
1.1.3. Điều kiện tự nhiên, điều kiện kinh tế - xã hội và tình hình chăn nuôi trâu, bò của tỉnh Tuyên Quang	20
1.2. Tổng quan các nghiên cứu trên thế giới và trong nước về sán lá đường tiêu hóa và bệnh sán lá tuyến tụy do <i>Eurytrema</i> spp. gây ra ở trâu, bò	21
1.2.1. Nghiên cứu trên thế giới	21
1.2.2. Nghiên cứu ở Việt Nam	30
Chương 2: NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	34
2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu	34
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	34
2.1.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu	34
2.2. Vật liệu nghiên cứu	34
2.3. Nội dung nghiên cứu	36
2.3.1. Đặc điểm nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang qua xét nghiệm phân	36

2.3.2. Nghiên cứu bệnh do sán lá tuyến tụy <i>Eurytrema</i> spp. gây ra ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	36
2.3.3. Nghiên cứu và đề xuất biện pháp phòng trị bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	37
2.4. Phương pháp nghiên cứu	38
2.4.1. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm nhiễm sán lá đường tiêu hóa trên trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	38
2.4.2. Phương pháp nghiên cứu bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò	40
2.4.3. Phương pháp nghiên cứu và đề xuất biện pháp phòng trị bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò	47
2.4.4. Phương pháp xử lý số liệu	51
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	52
3.1. Đặc điểm nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò qua xét nghiệm phân	52
3.1.1. Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò tại các địa phương	52
3.1.2. Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo tuổi	54
3.1.3. Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo mùa vụ	56
3.1.4. Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo phương thức chăn nuôi	58
3.1.5. Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo vùng địa hình	60
3.2. Nghiên cứu bệnh do sán lá tuyến tụy <i>Eurytrema</i> spp. gây ra ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	62
3.2.1. Định danh loài sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	62
3.2.2. Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	72
3.2.3. Nghiên cứu đặc điểm bệnh lý và lâm sàng của bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	93
3.2.4. Nghiên cứu và đề xuất biện pháp phòng trị bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò	104
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	117
1. Kết luận	117
2. Đề nghị	118

TÀI LIỆU THAM KHẢO

120

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

18S rRNA:	18 subunit ribosomal RNA
bp:	base pair
CDC:	Centers for Disease Control and Prevention
cs.:	Cộng sự
ĐC:	Đối chứng
ITS2:	The second internal transcribed spacer
Nxb:	Nhà xuất bản
P:	Độ tin cậy
PCR:	Polymerase Chain Reaction
spp.:	Species pluralis
STT:	Số thứ tự
TN:	Thí nghiệm
Tr:	Trang
TT:	Thể trọng

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Một số loài ốc cạn - vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy	14
Bảng 1.2. Một số loài châu chấu - vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy	15
Bảng 1.3. Số lượng trâu, bò của các huyện, thành phố thuộc tỉnh Tuyên Quang năm 2021	21
Bảng 1.4. Các loài thuộc giống <i>Eurytrema</i> đã được phát hiện trên thế giới	25
Bảng 1.5. Tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở một số quốc gia trên thế giới	26
Bảng 1.6. Các loài sán lá tuyến tụy và tỷ lệ nhiễm ở gia súc nhai lại tại Việt Nam	31
Bảng 2.1. Số mẫu phân và số trâu, bò mổ khám ở các địa phương	38
Bảng 2.2. Trình tự môi tương ứng với đoạn gen tương ứng	42
Bảng 2.3. Thành phần hỗn hợp phản ứng PCR	42
Bảng 2.4. Một số chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa máu của trâu, bò cần xác định	46
Bảng 2.5. Sơ đồ bố trí thử nghiệm 3 loại thuốc tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò	47
Bảng 2.6. Bố trí tẩy sán lá tuyến tụy bằng 3 mức liều praziquantel	48
Bảng 3.1. Tỷ lệ nhiễm sán lá ở trâu, bò tại 5 huyện, thành phố của tỉnh Tuyên Quang	52
Bảng 3.2. Tỷ lệ nhiễm các loài sán lá ở trâu, bò theo tuổi	55
Bảng 3.3. Tỷ lệ nhiễm sán lá ở trâu, bò theo mùa vụ	57
Bảng 3.4. Tỷ lệ nhiễm sán lá ở trâu, bò theo phương thức chăn nuôi	58
Bảng 3.5. Tỷ lệ nhiễm sán lá ở trâu, bò theo vùng địa hình	60
Bảng 3.6. Kết quả mổ khám thu thập sán lá tuyến tụy ở trâu, bò	62
Bảng 3.7. Kích thước hai loài sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	65

Bảng 3.8. Định danh sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	
67	
Bảng 3.9. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại các huyện, thành phố (qua xét nghiệm phân)	72
Bảng 3.10. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy theo tuổi trâu, bò	76
Bảng 3.11. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo mùa vụ	78
Bảng 3.12. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy theo phương thức nuôi	81
Bảng 3.13. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo vùng địa hình	83
Bảng 3.14. Kết quả định danh ốc cạn thu thập ở các địa phương	85
Bảng 3.15. Tần suất xuất hiện ốc cạn tại các địa phương	86
Bảng 3.16. Loài ốc cạn - vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá <i>Eurytrema</i> spp. tại Tuyên Quang qua tham chiếu	87
Bảng 3.17. Kết quả định danh châu chấu thu thập tại các địa phương	89
Bảng 3.18. Tần suất xuất hiện châu chấu tại các địa phương	91
Bảng 3.19. Các loài châu chấu - vật chủ trung gian thứ hai của sán lá <i>Eurytrema</i> spp. tại Tuyên Quang qua tham chiếu	92
Bảng 3.20. Triệu chứng chủ yếu của trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy	93
Bảng 3.21. Tổn thương đại thể ở trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy	94
Bảng 3.22. Sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh lý máu và công thức bạch cầu của trâu mắc bệnh sán lá tuyến tụy	98
Bảng 3.23. Sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh lý máu và công thức bạch cầu của bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy	100
Bảng 3.24. Sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh hóa máu của trâu mắc bệnh sán lá tuyến tụy	102
Bảng 3.25. Sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh hóa máu của bò mắc bệnh	103
Bảng 3.26. Hiệu lực của 3 loại thuốc tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò	105

Bảng 3.27. Hiệu lực của các liều praziquantel tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò	107
Bảng 3.28. Hiệu lực của 2 mức liều praziquantel tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò	109
Bảng 3.29. Sử dụng thuốc tẩy praziquantel (liều 18 mg/kg TT) để tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò ở các địa phương	109
Bảng 3.30. Số trứng sán lá tuyến tụy/gam phân trước và sau ủ phân	110
Bảng 3.31. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy trước thí nghiệm	111
Bảng 3.32. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy sau 1 tháng thí nghiệm	112
Bảng 3.33. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy sau 4 tháng thí nghiệm	113

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1. Sán lá gan và trứng sán lá gan <i>Fasciola</i> spp.	5
Hình 1.2. Vòng đời của sán lá gan <i>Fasciola</i> spp.	6
Hình 1.3. Sán lá gan <i>Dicrocoelium dendriticum</i> và trứng sán	7
Hình 1.4. Vòng đời của sán lá gan <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	8
Hình 1.5. Sán lá dạ cỏ và trứng sán lá dạ cỏ <i>Paramphistomum</i> spp.	8
Hình 1.6. Vòng đời của sán lá dạ cỏ <i>Paramphistomum</i> spp. ở trâu, bò.	9
Hình 1.7. Sán lá tuyến tụy và trứng sán lá tuyến tụy <i>Eurytrema</i> spp.	10
Hình 1.8. Vòng đời sán lá tuyến tụy <i>Eurytrema</i> spp.	11
Hình 1.9. Cấu trúc hóa học của thuốc praziquantel và hoạt chất 4'hydroxy-praziquantel	18
Hình 3.1. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa trâu, bò ở các địa phương	53
Hình 3.2. Đồ thị tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa của trâu, bò theo lứa tuổi	56
Hình 3.3. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa của trâu, bò theo mùa vụ	57
Hình 3.4. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa theo phương thức nuôi	59
Hình 3.5. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa theo vùng địa hình	61
Hình 3.6. Loài <i>Eurytrema cladorchis</i> ký sinh ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	67
Hình 3.7. Loài <i>Eurytrema coelomaticum</i> ký sinh ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang	67
Hình 3.8. Ảnh điện di sản phẩm PCR phát hiện đoạn gen 18S rRNA của 6 mẫu sán lá tuyến tụy	68
Hình 3.9. Cây phả hệ phát sinh loài được xây dựng từ trình tự gen 18S rRNA bằng phương pháp Maximum Likelihood	69

Hình 3.10. Ảnh điện di sản phẩm PCR phát hiện đoạn gen ITS 2 của 6 mẫu sán lá tuyến tụy	70
Hình 3.11. Cây phả hệ phát sinh loài được xây dựng từ trình tự gen ITS2 bằng phương pháp Maximum Likelihood	71
Hình 3.12. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại các huyện, thành phố	73
Hình 3.13. Biểu đồ cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò	75
Hình 3.14. Đồ thị tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy <i>Eurytrema</i> spp. theo tuổi trâu, bò	76
Hình 3.15. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy <i>Eurytrema</i> spp. theo mùa vụ	79
Hình 3.16. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy theo phương thức nuôi	81
Hình 3.17. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy theo vùng địa hình	83
Hình 3.18. Biểu đồ tỷ lệ loài ốc cạn thu thập ở các địa phương	85
Hình 3.19. Biểu đồ tỷ lệ loài châu chấu thu thập ở các địa phương	90
Hình 3.20. Tổng thương vi thể ở tuyến tụy trâu, bò nhiễm sán lá <i>Eurytrema</i> spp.	97

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của đề tài

Trâu, bò là một trong những động vật được thuần hóa sớm nhất ở nước ta và hiện nay đang được chăn nuôi phổ biến ở khắp các tỉnh, thành trong cả nước. Chăn nuôi trâu, bò ở nước ta đã và đang ngày càng phát triển, mang lại nguồn thu đáng kể cho người nông dân. Trâu, bò cung cấp cho con người hai loại thực phẩm có giá trị cao là thịt và sữa. Ngoài ra, chúng còn cung cấp sức kéo, phân bón, nguyên liệu cho công nghiệp chế biến và thủ công mỹ nghệ.

Hiện nay, chăn nuôi trâu, bò ở nước ta chủ yếu vẫn theo phương thức truyền thống (quảng canh và tận dụng). Vì vậy, dịch bệnh vẫn thường xuyên xảy ra trên đàn trâu, bò. Ngoài các bệnh truyền nhiễm phổ biến như bệnh lở mồm long móng, bệnh tụ huyết trùng, bệnh viêm da nổi cục..., trâu, bò còn nhiễm các loại ký sinh trùng, làm giảm năng suất chăn nuôi, gây thiệt hại đáng kể về kinh tế. Các bệnh sán lá đường tiêu hóa của trâu, bò như bệnh sán lá gan lớn, bệnh sán lá gan nhỏ, bệnh sán lá dạ cỏ và bệnh sán lá tuyến tụy đã và đang gây tác hại đáng kể, làm trâu, bò giảm khả năng sinh trưởng và sinh sản, giảm sức đề kháng, từ đó dễ mắc các bệnh khác phát khác, hoặc làm cho các bệnh đang có trong cơ thể trâu, bò nặng thêm lên.

Theo Sothoeun (2007), Mas - Coma và cs. (2014), Takeuchi - Storm và cs. (2018), ngoài tác động gây bệnh trên trâu, bò, sán lá gan còn truyền lây và gây bệnh trên người. Sán lá gan làm giảm khả năng tiêu hóa thức ăn, làm trâu, bò giảm cân, gầy yếu, giảm số lượng và chất lượng sữa, ức chế động dục và giảm khả năng sinh sản. Trong quá trình ký sinh, sán lá gan còn hút máu trâu, bò và gây tổn thương gan, kéo theo rối loạn chức năng của gan, gan bị viêm hoặc xơ, gây nhiều thiệt hại về kinh tế (Mochankana và Robertson, 2018; Zewde và cs., 2019; Arias - Pacheco và cs., 2020).

Manga - González và Ferreras (2019) cho biết, bệnh sán lá gan nhỏ do giống *Dicrocoelium* gây ra ở nhiều loài gia súc nhai lại. Sán lá gan nhỏ ký sinh ở túi mật

và ống dẫn mật của gia súc nhai lại. Để hoàn thành vòng đời, sán lá gan nhỏ cần hai vật chủ trung gian là ốc cạn và kiến. Bệnh sán lá gan nhỏ thường gây ra các triệu chứng ở vật nuôi như giảm sinh trưởng, giảm sản lượng sữa, thiếu máu và hoàng đản, gây thiệt hại về kinh tế cho người chăn nuôi.

Đề cập tới bệnh sán lá dạ cỏ, Phiri và cs. (2007), Singh và cs. (2017) cho biết, bệnh phân bố rộng khắp trên toàn thế giới, bao gồm cả ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, làm chết trâu, bò và giảm năng suất chăn nuôi. Nhiều nơi trên thế giới đã ghi nhận tỷ lệ nhiễm sán lá dạ cỏ cao ở trâu, bò tại châu Á (Thanasuwan và cs., 2021), tại châu Phi (Meguini và cs., 2021), tại châu Âu (Forstmaier và cs., 2021; Delafosse, 2022) và tại một số bang của Ấn Độ (Malathi và cs., 2021).

Sakamoto và Oikawa (2007) và De Sousa và cs. (2021) cho biết, bệnh sán lá tuyến tụy do *Eurytrema* spp. gây ra chủ yếu thấy ở các loài gia súc nhai lại như trâu, bò, dê, cừu ở châu Mỹ, châu Á. Bệnh sán lá tuyến tụy làm trâu, bò gầy sút, thủy thũng, giảm lao tác và chết nếu nhiễm ở cường độ nặng (Graydon và cs., 1992). Nguy hiểm hơn, tại một số tỉnh của Nhật Bản và Trung Quốc đã ghi nhận những ca bệnh trên người do sán lá tuyến tụy gây ra (Sakamoto và Oikawa, 2007; Ogawa và cs., 2019).

Tuyên Quang là một tỉnh miền núi phía Bắc có điều kiện tự nhiên thuận lợi để phát triển chăn nuôi trâu, bò. Tuy nhiên, chăn nuôi trâu, bò ở nhiều địa phương trong tỉnh chủ yếu vẫn theo phương thức thả tự nhiên nên dễ nhiễm và mắc các bệnh giun, sán nói chung và bệnh sán lá tuyến tụy nói riêng. Ngoài ra, trong quá trình chăn nuôi, trâu, bò thải ra môi trường lượng phân rất lớn, trong khi việc quản lý và sử dụng phân trâu, bò ở các địa phương trong tỉnh còn nhiều bất cập. Tình trạng phân trâu, bò không được xử lý mang nhiều loại trứng giun, sán, gây ô nhiễm môi trường sống của người và vật nuôi.

Từ yêu cầu cấp thiết của thực tiễn chăn nuôi trâu, bò ở tỉnh Tuyên Quang, chúng tôi thực hiện đề tài: **"Tình hình nhiễm sán lá đường tiêu hóa và bệnh do sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. gây ra ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang"**.

2. Mục tiêu của đề tài

- Xác định được tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang.
- Xác định được một số đặc điểm dịch tễ, bệnh lý, lâm sàng bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò.
- Nghiên cứu và đề xuất được biện pháp phòng trị bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang.

3. Ý nghĩa khoa học và ý nghĩa thực tiễn của đề tài

3.1. Ý nghĩa khoa học

Kết quả của đề tài là những dẫn liệu khoa học về thực trạng nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò; loài sán lá tuyến tụy và những đặc điểm dịch tễ, bệnh lý, lâm sàng bệnh do sán lá tuyến tụy gây ra trên đàn trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang, từ đó có cơ sở khoa học để xây dựng biện pháp phòng trị tổng hợp bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò có hiệu quả cao.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

Kết quả của đề tài là cơ sở khuyến cáo người chăn nuôi trâu, bò áp dụng biện pháp phòng trị bệnh sán lá nói chung và bệnh sán lá tuyến tụy nói riêng, ứng dụng chế phẩm sinh học xử lý phân trâu, bò; từ đó giảm tỷ lệ nhiễm sán lá, góp phần nâng cao năng suất chăn nuôi trâu, bò trên địa bàn tỉnh Tuyên Quang.

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Cơ sở khoa học của đề tài

1.1.1. Sán lá ký sinh ở đường tiêu hóa trâu, bò

Các loài sán lá đường tiêu hóa không chỉ gây bệnh cho vật nuôi mà một số loài sán lá còn gây bệnh cho con người. Sán lá gây bệnh thuộc lớp Trematoda, ngành Plathelminthes.

Hiện nay, trong lớp Trematoda, các loài sán lá chính có tầm quan trọng về y tế và thú y chủ yếu là: *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907), *Clonorchis sinensis* (Looss, 1907), *Opisthorchis viverrini* (Poirier, 1886), *Paragonimus mexicanus* (Miyazaki và Ishii, 1968), *P. caliensis* (Little, 1968), *P. westermani* (Kerbert, 1878), *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758), *F. gigantica* (Cobbold, 1855), *Eurytrema coelomaticum* (Giard và Billet, 1892), *E. cladorchis* (Chin, Li và Wei, 1965) và *E. pancreaticum* (Janson, 1889). Các loài ký sinh trùng này gây tác hại đối với hàng triệu người và vật nuôi trên toàn thế giới (Bassani và cs., 2007; Hotez và cs., 2008; Marcos và cs., 2008; Mas - Coma và cs., 2009; Schwertz và cs., 2016).

Theo Nguyễn Thị Lê và cs. (1996): ở Việt Nam có 11 loài sán lá ký sinh ở gia súc nhai lại là: *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, *Eurytrema pancreaticum*, *Paramphistomum cervi*, *Calicophoron cauliorchis*, *Calicophoron calicophorum*, *Ceylonocotyle scoliocoelium*, *Homalogaster paloniae*, *Gatrothylax crumenifer*, *Carmyerus crumennifer* và *Fischoederius cobboldi*.

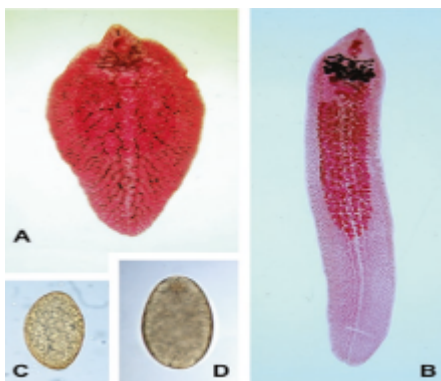
Nhiều tác giả đã nghiên cứu và cho biết: các loài sán lá ký sinh ở đường tiêu hóa gia súc nhai lại đều mang các đặc điểm của lớp sán lá Trematoda. Sán trưởng thành thường có thân dẹt, phẳng giống như chiếc lá, có hai giác bám: giác miệng nằm ở phần trước của cơ thể, bao xung quanh lỗ miệng; giác bụng (acetabulum) nằm trên bề mặt phần thân trước của sán lá. Tuy nhiên, mỗi loài sán lá đều có những đặc điểm hình thái đặc trưng riêng cho từng loài. Căn cứ vào những đặc điểm hình thái và vị trí ký sinh của chúng có thể phân biệt sơ bộ các loài với nhau. Sau đây là

một số loài sán lá ký sinh phổ biến ở đường tiêu hóa trâu, bò.

1.1.1.1. Sán lá gan *Fasciola* spp.

Có hai loài sán lá gan gây bệnh cho gia súc nhai lại là *Fasciola gigantica* và *F. hepatica*. Sán trưởng thành ký sinh ở gan và ống dẫn mật của vật chủ. Trong đó, *Fasciola gigantica* là loài sán lá gan phổ biến ở châu Phi và châu Á. Loài *F. gigantica* dài hơn loài *F. hepatica* (chiều dài 25 - 75 mm, rộng 5 - 12 mm), không có “vai”. Có hai giác bám: giác miệng và giác bụng. Giác miệng ở đầu sán thông với hầu, thực quản, ruột gồm hai manh tràng phân thành nhiều nhánh nhỏ. Giác bụng tròn, lớn hơn giác miệng và ở gần giác miệng. Trứng của loài *F. gigantica* dài hơn một chút so với trứng của loài *F. hepatica* (dài 0,156 - 0,197 mm, rộng 0,090 - 0,104 mm) (Kumar, 1999).

Loài *F. hepatica* phân bố chủ yếu ở châu Âu và châu Mỹ. Đầu sán lồi và nhô ra phía trước làm cho sán có “vai”. Sán dài 20 - 30 mm, rộng 8 - 13 mm, phần đầu hình nón dài 3 - 4 mm, chứa cả hai giác bám, giác bụng lớn hơn giác miệng. Cấu tạo cơ thể loài *F. hepatica* và trứng của nó có hình dạng, màu sắc tương tự như loài *F. gigantica* (dài 0,13 - 0,15 mm, rộng 0,063 - 0,090 mm).



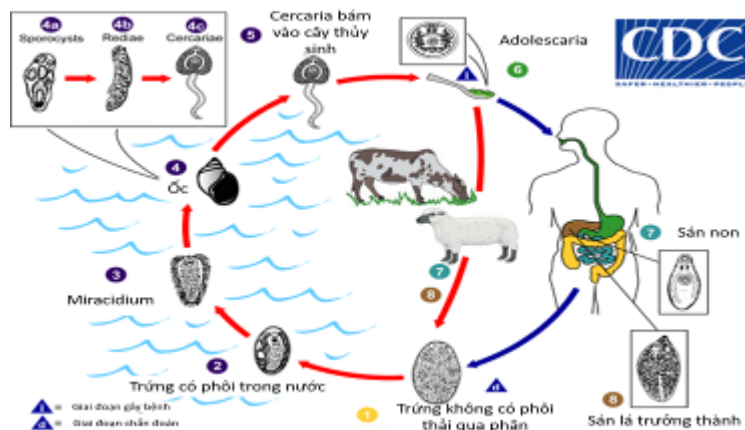
Hình 1.1. Sán lá gan và trứng sán lá gan *Fasciola* spp.

Ghi chú: A - sán lá gan *Fasciola hepatica*; B - sán lá gan *Fasciola gigantica*;
C - trứng của sán lá gan *F. hepatica*; D - trứng của sán lá gan *F. gigantica*.

(Nguồn: Mas - Coma và cs., 2014).

Nguyễn Thị Kim Lan (2012), Mas - Coma và cs. (2014) cho biết: sán lá *Fasciola* trưởng thành ký sinh trong ống dẫn mật của gia súc nhai lại. Sau khi thụ

ting, mỗi sản đẻ hàng chục vạn trứng. Những trứng này theo dịch mật vào ruột và theo phân ra ngoài. Nếu gặp điều kiện thích hợp thì sau 10 - 25 ngày trứng nở thành Miracidium bơi tự do trong nước. Khi gặp vật chủ trung gian thích hợp - ốc nước ngọt, Miracidium xâm nhập cơ thể ốc và qua các giai đoạn: Sporocyst, Redia, Cercaria. Từ khi Miracidium xâm nhập vào ốc đến khi phát triển thành Cercaria cần khoảng 50 - 80 ngày. Sau khi thành thục, Cercaria thoát khỏi ốc, ra môi trường ngoài, bơi tự do trong nước. Sau vài giờ bơi trong nước, Cercaria rụng đuôi, tiết chất nhầy xung quanh thân, chất nhầy gặp không khí khô rất nhanh. Lúc này Cercaria đã biến thành Adolescaria (ấu trùng sản lá *Fasciola* có sức gây bệnh). Adolescaria lơ lửng trong nước hoặc bám vào cây cỏ thủy sinh.



Hình 1.2. Vòng đời của sản lá *Fasciola* spp.

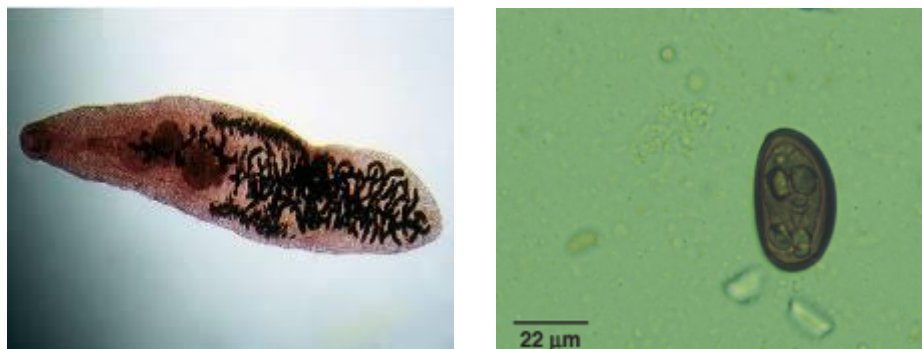
(Nguồn: CDC, 2019).

Trâu, bò, các loài nhai lại khác và người nuốt phải Adolescaria, vào đến dạ dày và ruột, lớp vỏ ngoài bị phân huỷ, ấu trùng được giải phóng, di chuyển đến ống dẫn mật, ký sinh ở đó, hút máu vật chủ và phát triển thành sản lá trưởng thành. Sản lá gan cần từ 3 đến 4 tháng để hoàn thành vòng đời trong cơ thể vật chủ cuối cùng.

1.1.1.2. Sản lá gan nhỏ *Dicrocoelium* spp.

Sản lá gan nhỏ *Dicrocoelium* spp. gây bệnh cho các loài động vật có vú, trong đó có trâu, bò, dê, cừu, lạc đà... Bệnh thấy ở hầu hết các khu vực trên thế giới như châu Âu, châu Á, Bắc Phi và Bắc Mỹ (Mitchell và cs., 2017; Khan và cs., 2023; Rehbein và cs., 2023). Trong giống *Dicrocoelium*, loài *Dicrocoelium dendriticum* là loài phổ biến. Sản lá trưởng thành dài 5 - 12 mm, rộng 1,5 - 2,5 mm, cơ thể màu nâu

đỏ, hình dẹt, thon dài, có hình mũi mác, phình to ở giữa và thu hẹp ở hai đầu. Cơ thể mỏng, có màu đục, có thể nhìn thấy các bào quan bên trong cơ thể sán lá. Giác bụng có đường kính 0,5 - 0,6 mm, lớn hơn một chút so với giác miệng. Sán lá gan nhỏ ký sinh trong ống dẫn mật và túi mật, sau khi thụ tinh chúng đẻ trứng. Trứng dài 0,036 - 0,045 mm, rộng 0,022 - 0,030 mm, có nắp, vỏ dày, màu nâu tối và chứa phôi bên trong (Kumar, 1999).

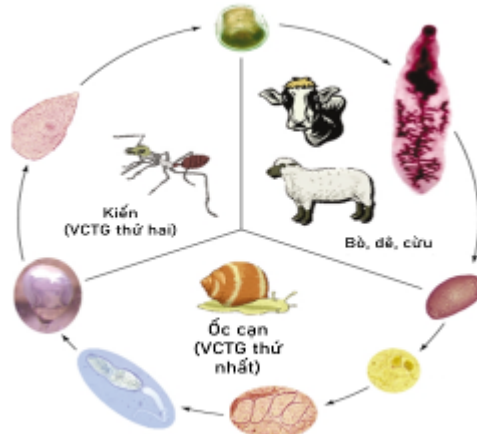


Hình 1.3. Sán lá gan *Dicrocoelium dendriticum* và trứng sán

(Nguồn: Anne và cs., 2021).

Theo Kumar (1999), Otranto và Traversa (2002), Manga - González và Ferreras (2019): Trứng sán lá gan nhỏ được thải ra ngoài qua phân của gia súc. Trứng có khả năng tồn tại dưới các điều kiện thời tiết khác nhau, đặc biệt trứng có thể sống khi thời tiết lạnh giá trong thời gian dài. Trứng sán lá gan nhỏ chỉ nở khi đã được ốc cạn nuốt vào. Trứng nở trong ruột ốc và Miracidium tự do sẽ di chuyển đến khoảng không gian giữa gan và tụy của ốc, trong thời kỳ tiếp theo, chúng phát triển thành Sporocyst mẹ trong vòng 2 tháng. Sau đó, Sporocyst mẹ sinh ra 25 đến 100 Sporocyst con. Trong cơ thể của Sporocyst hình thành 10 - 40 Cercaria. Thời gian Cercaria hình thành và phát triển trong cơ thể ốc có thể lên tới 5 tháng. Cercaria được thải ra khỏi ốc thành từng đám phủ chất nhầy, sau đó Cercaria được các loài kiến *Formica fusca*, *F. pratensis*, *F. rufibarbis* nuốt vào và phát triển thành Metacercaria trong vòng 1 - 2 tháng. Một hoặc hai Cercaria có thể khu trú ở hạch dưới thực quản của kiến và gây nên hiện tượng tê liệt thần kinh khi nhiệt độ dưới 15°C, vì thế mà làm cho kiến nằm ở trạng thái bất động trên cỏ, gia súc nhai lại ăn phải kiến khi chăn thả. Trong cơ thể gia súc, Metacercaria thoát kén từ kiến nhờ hoạt động của enzyme tá tràng của gia súc, sau đó di hành đến ống dẫn mật và túi

mật, phát triển thành sán trưởng thành sau 45 - 56 ngày.



Hình 1.4. Vòng đời của sán lá gan *Dicrocoelium dendriticum*

(Nguồn: Otranto và Traversa, 2003).

1.1.1.3. Sán lá dạ cỏ *Paramphistomum* spp.

Sán lá dạ cỏ *Paramphistomum* spp. gây bệnh cho các loài gia súc nhai lại trên toàn thế giới nhưng chủ yếu gây bệnh nặng ở các vùng nhiệt và cận nhiệt đới như châu Đại Dương, châu Á, châu Phi và Đông Âu. Sán lá ký sinh ở dạ cỏ và dạ tổ ong của gia súc nhai lại, có kích thước nhỏ, hình khối chóp, dài 3 - 20 mm, rộng 1,5 - 7 mm. Thân sán hình nón, rất dày, thóp phía trước, mở rộng và tù phía sau. Sán có màu hồng nhạt hoặc đỏ, phần sau đậm màu hơn. Trên thân có hai giác bám. Giác miệng nằm ở phần đầu, giác bụng lớn hơn giác miệng và nằm ở phần cuối cơ thể. Hệ tiêu hóa của sán lá gồm miệng, hầu, thực quản và hai manh tràng.

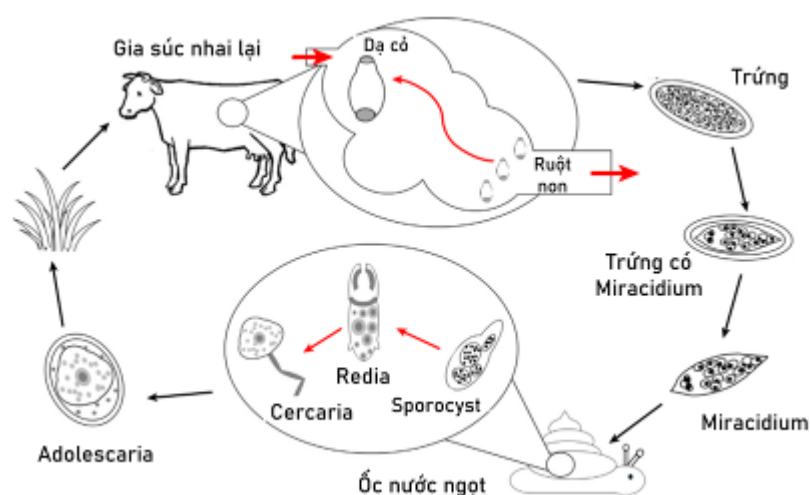
Trứng sán *Paramphistomum* spp. màu tro nhạt, hình trứng, đầu nhỏ có nắp, chiều dài 0,116 - 0,189 mm, rộng 0,052 - 0,065 mm (Kumar, 1999; Kathryn và cs., 2017).



Hình 1.5. Sán lá dạ cỏ và trứng sán lá dạ cỏ *Paramphistomum* spp.

(Nguồn: Tookhy và cs., 2020).

Theo Nguyễn Thị Kim Lan (2012), Kathryn và cs. (2017): sán lá dạ cỏ cần hai vật chủ là ốc nước ngọt và gia súc nhai lại để hoàn thành vòng đời. Sán trưởng thành đẻ trứng, trứng theo phân ra ngoài, rơi vào môi trường nước. Ấu trùng Miracidium nở ra từ trứng và xâm nhập ốc nước ngọt - vật chủ trung gian, phát triển thành Sporocyst, Redia và Cercaria trong cơ thể ốc. Cercaria thoát khỏi ốc, bám vào cây cỏ thủy sinh, rụng đuôi và thành nang ấu (Adolescaria). Nang ấu có thể sống ở ngoài môi trường trong 6 tháng. Khi động vật nhai lại ăn phải cây cỏ có nang ấu, ấu trùng thoát khỏi nang ở ruột non, di chuyển đến dạ cỏ phát triển thành sán trưởng thành. Sán lá dạ cỏ cần từ 4 đến 7 tháng để hoàn thành vòng đời trong cơ thể vật chủ cuối cùng (Tandon và cs., 2014).



Hình 1.6. Vòng đời của sán lá dạ cỏ *Paramphistomum* spp. ở trâu, bò.

(Nguồn: Kathryn và cs., 2017).

1.1.1.4. Sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp.

Sán lá tuyến tụy *Eurytrema* phân bố rộng rãi trên toàn thế giới. Sán ký sinh ở tuyến tụy, ống dẫn tụy và đôi khi thấy chúng trong ống dẫn mật của gia súc nhai lại (Mattos Junior và Vianna, 1987). Nhiều tác giả cho biết, sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò, dê tại Nhật Bản, Đài Loan, Đông Nam Á, Ấn Độ và Nam Mỹ (Nieberle và Cohrs, 1970; Yeh và cs., 2019; De Sousa và cs., 2021). Các loài sán lá tuyến tụy thuộc giống *Eurytrema* có cơ thể hình lá, lưng bụng phẳng và dẹt. Sán dài 3 - 13

mm, rộng 2 - 7 mm, có giác miệng và giác bụng. Cuối thân của sán lá tuyến tụy hình chóp nón và không có phần phụ (Wiroreno và cs., 1987; Yamamura và cs., 1995; Mohanta và cs., 2015; Leite và cs., 2020). Giác miệng nằm ở phần đầu của sán, giác bụng nằm ở khoảng giữa thân, ở vị trí một nửa đến một phần ba phần trước của cơ thể sán. Hầu nhỏ, thực quản ngắn. Buồng trứng tròn hoặc chia thùy (3 - 10 thùy), nằm ở giữa bên trái hoặc bên phải của đường giữa và sau tinh hoàn. Tuyến noãn hoàng dài, sắp xếp như chùm nho và nằm ở hai bên rìa của sán lá, kéo dài ra phía sau tinh hoàn, kết thúc ở phần cuối của manh tràng. Trứng sán lá *Eurytrema* spp. màu nâu sẫm, vỏ dày, có nắp, bên trong có ấu trùng, dài 0,041 - 0,053 mm, rộng 0,023 - 0,034 mm (Ilha và cs., 2005; Bassani và cs., 2006; Mohanta và cs., 2015).



Hình 1.7. Sán lá tuyến tụy và trứng sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp.

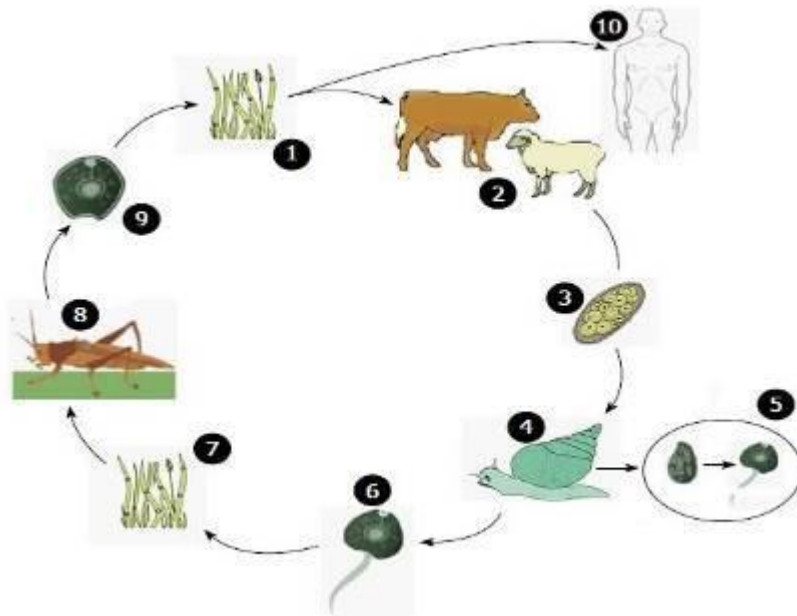
(Nguồn: Poovorawan và Wattanagoon, 2020).

Headley (2000), Quevedo và cs. (2013) cho biết, sán lá *Eurytrema* spp. hoàn thành vòng đời qua ba nhóm vật chủ: nhóm động vật thân mềm (ốc cạn), nhóm động vật thuộc bộ cánh thẳng (châu chấu) và nhóm động vật máu nóng (trâu, bò, dê, cừu,...).

Trứng chứa ấu trùng của sán lá tuyến tụy theo phân vật chủ ra ngoài, được ốc cạn thuộc họ Bradybaenidae nuốt vào. Miracidium nở ra, di chuyển tích cực, xâm nhập vào ruột của ốc cạn. Trong khoảng thời gian 4 tuần, chúng biến đổi thành bào ấu (Sporocyst) mẹ. Các bào ấu con phát triển trong bào ấu mẹ, được bao bọc bởi lớp màng mỏng. Mỗi bào ấu chứa khoảng 114 - 218 vĩ ấu (Cercaria). Vĩ ấu di hành đến buồng phổi của ốc cạn và tụm thành đám. Do ốc cạn luôn di chuyển hướng về phía

trước nên các đám bào ấu con có chứa Cercaria được thải ra qua đường hô hấp của ốc khi ốc di chuyển (Tang, 1950; Jang, 1969; Mattos Junior và Vianna, 1987).

Các bào ấu có chứa Cercaria do ốc cạn thải ra được các loài châu chấu thuộc giống *Conocephalus* nuốt vào đường tiêu hóa. Màng của bào ấu bị phân hủy, Cercaria được giải phóng xâm nhập vào thành ruột và chui vào khoang cơ thể châu chấu trong vòng 1 giờ. Sự phát triển của Cercaria thành Metacercaria xảy ra trong khoảng ba tuần. Metacercaria có khả năng gây nhiễm sau khi phát triển trong cơ thể châu chấu khoảng 23 ngày. Vật chủ cuối cùng chủ yếu là các loài gia súc nhai lại ăn cỏ cây có lẫn châu chấu hoặc có Metacercaria sẽ nhiễm bệnh. Sau khi vào cơ thể gia súc, châu chấu được tiêu hóa, vỏ ngoài của Metacercaria bị phân hủy, giải phóng ấu trùng tại ruột non (tá tràng). Ấu trùng di hành đến ống tụy, phát triển thành sán lá trưởng thành.



Hình 1.8. Vòng đời sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp.

Ghi chú: 1 - Cây cỏ có châu chấu mang ấu trùng Metacercaria; 2 - Vật chủ (trâu, bò, dê, cừu); 3 - Trứng sán lá tuyến tụy; 4 - Ốc cạn; 5 - Sporocyst và Cercaria; 6 - Cercaria được thải ra từ ốc cạn; 7 - Cercaria bám vào cây cỏ; 8 - Châu chấu nuốt; 9 - Metacercaria trong cơ thể châu chấu; 10 - Người nhiễm bệnh sán lá tuyến tụy.

(Nguồn: Schwertz và cs., 2015).

Sán lá tuyến tụy đẻ trứng sau 7 tuần, thời kỳ ủ bệnh khoảng 90 - 100 ngày, trong khi thời kỳ phát bệnh có thể kéo dài từ 1 đến 2 năm (Mattos Junior và Vianna, 1987).

1.1.2. Bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò

Bệnh sán lá tuyến tụy do các loài sán lá thuộc giống *Eurytrema* gây ra ở gia súc nhai lại, gồm ba loài chủ yếu là: *Eurytrema coelomaticum*, *Eurytrema pancreaticum* và *Eurytrema cladorchis* thuộc họ Dicrocoeliidae. Trong đó, loài *Eurytrema coelomaticum* xuất hiện nhiều ở Brasil và Trung Quốc (Ilha và cs., 2005; Jubb và Stent, 2016). Loài *E. cladorchis* được phát hiện lần đầu tiên tại tỉnh Quý Châu, Trung Quốc (Jin và cs., 1965), sau đó cũng được phát hiện tại Bangladesh và Nepal (Jones, 1985; Mohanta và cs., 2015).

1.1.2.1. Đặc điểm dịch tễ học bệnh sán lá tuyến tụy *Eurytrema* ở trâu, bò

Dịch tễ học bệnh sán lá tuyến tụy có liên quan mật thiết với các yếu tố như: loài vật mắc bệnh, môi trường ngoại cảnh, vật chủ trung gian...

❖ Loài vật mắc bệnh

Các tác giả trong và ngoài nước đã báo cáo bệnh sán lá tuyến tụy ở vật nuôi phổ biến trên toàn thế giới, đặc biệt ở các loài gia súc nhai lại như trâu, bò, dê và cừu tại Hàn Quốc (Jang, 1969), bán đảo Đông Dương và Nam Mỹ (Nieberle và Cohrs, 1970), Nhật Bản (Ishii và cs., 1983), Indonesia (Dorny và cs., 1996), Thái Lan (Sangvaranond và cs., 2010), Trung Quốc (Xu và cs., 2013), Brazil (Schwartz và cs., 2015) và Ấn Độ (Lalrinkima và cs., 2016). Các loài gia súc nhai lại được xác định là vật chủ cuối cùng của sán lá tuyến tụy.

❖ Yếu tố môi trường ảnh hưởng đến bệnh sán lá tuyến tụy

Yếu tố môi trường, đặc biệt là yếu tố thời tiết khí hậu trong các mùa ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò. Một số tác giả cho biết: gia súc nhiễm sán lá tuyến tụy chủ yếu vào tháng 3, sau đó giảm dần đến tháng 5, rất ít trường hợp nhiễm bệnh từ tháng 5 đến tháng 8, trong khi bệnh phát ra nhiều từ tháng 12 đến tháng 3 năm sau. Đặc biệt là những nơi có thời tiết ẩm ướt và mưa nhiều, tạo điều kiện thích hợp cho sự phát triển của các loài ốc cạn và châu chấu (vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy), làm cho tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở vật nuôi, ốc cạn và châu chấu cao hơn trong mùa mưa và cao hơn ở những vùng mưa

hiều. Tỷ lệ nhiễm giảm trong mùa lạnh, khô, ở cả vật chủ cuối cùng và các loài vật chủ trung gian (Ilha và cs., 2005; Bassani và cs., 2006; Rachid và cs., 2011; Ma và cs., 2014).

Sự phát triển của trứng và ấu trùng sán lá phụ thuộc vào điều kiện môi trường và sự tồn tại của vật chủ trung gian. Trứng sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. chịu được nhiệt độ từ (-20°C) đến (+50°C) trong vài giờ. Trong điều kiện khô hạn, sau 5 ngày trứng bị chết và không thể tồn tại được trong mùa Đông lạnh giá (Rachid và cs., 2011).

❖ Vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy *Eurytrema*

Ở nhiều nơi trên thế giới, trong đó có khu vực Đông Nam Á, loài ốc cạn *Bradybaena similaris* thuộc họ Bradybaenidae, lớp chân bụng Gastropoda, được coi là vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. Ngoài ra, các loài khác như *Cathaica ravidia sieboldiana* (họ Helicidae), *Ganesella stearnsii*, *G. japonica*, *G. myomphala*, *Fruticicola sieboldiana* và *B. similaris stimpsoni* (họ Camaenidae) cũng nhiễm ấu trùng sán lá tuyến tụy tại nhiều nơi trên thế giới (Tang và Tang, 1975; Chinone và cs., 1984; Kozutsumi và Itagaki, 1989; Brandolini và Amato, 2001).

Để tồn tại và phát triển, ốc cạn cần nhiệt độ, ánh sáng, độ ẩm và lượng mưa thích hợp. Vì vậy, ở các vùng nhiệt đới như Indonesia, Thái Lan hay Việt Nam đều có điều kiện môi trường thuận lợi cho sự tồn tại và phát triển của quần thể vật chủ trung gian này. Mùa mưa tạo ra môi trường sống lý tưởng cho ốc cạn sinh sản và phát triển thuận lợi. Lượng mưa là yếu tố khí hậu quan trọng ảnh hưởng đến sự sống của ốc cạn, yếu tố này góp phần làm cho quần thể ốc cạn tăng lên đáng kể (Kaewnoui và cs., 2020).

Nhiệt độ môi trường cũng có ảnh hưởng rõ rệt đến sự phát triển của ấu trùng sán lá tuyến tụy ở ốc cạn. Trong ốc cạn, sự phát triển của vĩ ấu *Cercaria* cần 12 đến 13 tháng khi nhiệt độ môi trường dao động từ 8°C đến 25°C. Sự phát triển của ấu trùng dừng lại khi nhiệt độ môi trường giảm dưới 10°C (Tang và cs., 1979). Khi nhiệt độ môi trường là 26°C, sự phát triển của ấu trùng thuận lợi hơn, ở nhiệt độ này

Cercaria phát triển chỉ trong 81 ngày.

Những nghiên cứu về các loài ốc cạn là vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy được tổng hợp ở bảng 1.1.

Bảng 1.1. Một số loài ốc cạn - vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy

Số T T	Loài ốc cạn - vật chủ trung gian	Tác giả nghiên cứu	Nơi phát hiện	Loài sán lá tuyến tụy
1	<i>Bradybaena lantzi</i>	Ksembaeva (1967)	Kazakhstan	<i>Eurytrema pancreaticum</i>
2	<i>Cathaica plectotropis</i>			
3	<i>Bradybaena arcasiana</i>	Dvoryadki (1969)	Liên bang Nga	
4	<i>Bradybaena dieckmanni</i>			
5	<i>Bradybaena fragilis</i>	Nadykto (1973)	Liên bang Nga	
6	<i>Bradybaena selskii</i>			
7	<i>Bradybaena middendorffi</i>			
8	<i>Bradybaena maacki</i>			
9	<i>Jaminia albiplicata</i>	Logacheva (1974)	Kirgizia	
10	<i>Bradybaena plectotropis</i>			
11	<i>Bradybaena phaeozona</i>			
12	<i>Acusta despecta</i>	Jang (1969)	Hàn Quốc	
13	<i>Ganesella virgo</i>	Gu và cs (1990)	Mông Cổ	
14	<i>Cathaica ravida sieboldtiana</i>	Tang và cs. (1979)	Trung Quốc	
15	<i>Ganesella virgo</i>			
16	<i>Ganesella stearnsii</i>	Tang và Tang (1975)		
17	<i>Ganesella japonica</i>			
18	<i>Ganesella myomphala</i>			

19	<i>Fruticicola sieboldiana</i>	Miyata (1965)		<i>Eurytrema</i>
20	<i>Bradybaena similaris</i>	Kozutsumi và Itagaki (1989)	Nhật Bản	<i>pancreaticum</i>
		Basch (1965)	Malaysia	,
		Ragusa và Campos (1976)	Brasil	<i>Eurytrema</i>
		Tang và cs. (1979)	Trung Quốc	<i>coelomaticum</i>
		Sakamoto và cs. (1980)	Nhật Bản	,
21	<i>Acusta despecta sieboldiana</i>	Sakamoto và cs. (1980)	Nhật Bản	<i>Eurytrema</i> <i>coelomaticum</i>
22	<i>Fruticicola ravida sieboldiana</i>	Tang và Tang (1975)	Trung Quốc	<i>Eurytrema</i> <i>cladorchis</i>

Khác với nhiều loài sán lá, ấu trùng sán lá tuyến tụy cần thêm một vật chủ trung gian nữa để hoàn thành giai đoạn phát triển của ấu trùng. Theo nhiều tác giả thì vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy là châu chấu. Các công trình nghiên cứu trên thế giới cho biết: ấu trùng *Metacercaria* của sán lá tuyến tụy phát triển trong xoang bụng của các loài châu chấu như *Conocephalus maculatus*, *C. chinensis*, *C. gladius*, *C. dorsalis*, *C. discolor*, *C. percaudatus*, *Oecanthus longicaudus* và *Epocromia* spp. tại Nhật Bản, Trung Quốc, Hàn Quốc, Liên bang Nga và Brasil (Basch, 1965; Jang, 1969; Dvoryadki, 1969; Nadykto, 1973).

Tại Nhật Bản, Sakamoto và cs. (1980) cho biết, tỷ lệ nhiễm *Metacercaria* ở châu chấu *Conocephalus maculatus* tăng dần từ đầu tháng 7 (18,3%) đến tháng 12 (42%). Số lượng *Metacercaria* trung bình thu được ở châu chấu trong tự nhiên là 200 khi tác giả thu thập loài châu chấu này trên hai bãi cỏ ở quận Hokusatsu, tỉnh Kagoshima (Nhật Bản).

Các loài châu chấu đã được nhiều tác giả phát hiện là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy được tổng hợp ở bảng 1.2.

Bảng 1.2. Một số loài châu chấu - vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy

Số T T	Loài châu chấu - vật chủ trung gian	Tác giả nghiên cứu	Nơi phát hiện	Loài sán lá tuyến tụy
1	<i>Conocephalus maculatus</i>	Jang (1969)	Hàn Quốc	<i>Eurytrema pancreaticum</i>
		Basch (1965)	Malaysia	
		Chinone và cs. (1984)	Nhật Bản	
2	<i>Conocephalus chinensis</i>	Tang và cs. (1979)	Trung Quốc	
		Dvoryadki (1969)	Liên bang Nga	
		Nadykto (1973)		
		Gu và cs. (1990)	Mông Cổ	
3	<i>Conocephalus gladiatus</i>	Jang (1969)	Hàn Quốc	
4	<i>Conocephalus dorsalis</i>	Logacheva (1974)	Kirgizia	
5	<i>Conocephalus discolor</i>			
6	<i>Conocephalus percaudatus</i>	Dvoryadki (1969)	Liên bang Nga	
7	<i>Conocephalus fuscus</i>	Ksembaeva (1967)	Kazakhstan	
8	<i>Platyceles intermedia</i>			
9	<i>Oecanthus longicaudus</i>	Nadykto (1973)	Liên bang Nga	
10	<i>Epocromia</i> spp.			
11	<i>Conocephalus maculatus</i>	Yamaguti (1975)	Brasil	
		Sakamoto và cs. (1980)	Nhật Bản	
12	<i>Conocephalus chinensis</i>	Yamaguti (1975)	Brasil	<i>Eurytrema coelomaticum</i>
13	<i>Conocephalus melas</i>			
14	<i>Conocephalus gladiatus</i>			
15	<i>Phaneroptera falcata</i>	Sakamoto và cs. (1980)	Nhật Bản	<i>Eurytrema cladorchis</i>
16	<i>Nemobius caibae</i>	Tang và Lin (1980)	Trung Quốc	

❖ Yếu tố tuổi của gia súc cũng liên quan đến khả năng nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp.

Tuổi của gia súc nhai lại có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy, tỷ lệ nhiễm tăng dần theo lứa tuổi, tỷ lệ nhiễm cao ở những gia súc già do chúng có thời gian phơi nhiễm với bệnh dài và sự tích trữ sán lá lâu ngày trong tuyến tụy so với gia súc còn non (Al - Khalidi và Al - Bayati, 1989; Manga - González và cs., 2007).

Bassani và cs. (2006) đã nghiên cứu đặc điểm dịch tễ của bệnh sán lá tuyến tụy ở 1.828 bò tại bang Parana, Brazil. Tác giả cho biết, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy tăng dần theo tuổi bò, bò trên 6 năm tuổi tỷ lệ nhiễm cao nhất (62,4%).

1.1.2.2. Triệu chứng lâm sàng và bệnh tích của bệnh sán lá tuyến tụy

Triệu chứng lâm sàng của bệnh sán lá tuyến tụy ở gia súc nhai lại thường biểu hiện chủ yếu ở thể mạn tính, sán lá tuyến tụy trưởng thành thường được phát hiện trong lò mổ hoặc qua quá trình mổ khám gia súc. Đối với gia súc béo khỏe, các triệu chứng lâm sàng thường không rõ rệt hoặc ít nghiêm trọng, biểu hiện lâm sàng của gia súc nặng hay nhẹ phụ thuộc vào cường độ nhiễm sán, tình trạng sức khỏe, tuổi gia súc, tình trạng nuôi dưỡng và quản lý. Gia súc bị bệnh thường gầy yếu, khát nước, thủy thũng ở cổ và ngực, ỉa chảy, phân có nhiều chất nhầy, nhiệt độ cơ thể hạ thấp, mạch yếu, con vật có thể chết do suy nhược. Ngoài ra, con vật nhiễm bệnh thường có dấu hiệu buồn ngủ, mệt mỏi, hay nằm và gầy sút (Ilha và cs., 2005; Bassani và cs., 2007).

Theo Ilha và cs. (2005), giảm cân là dấu hiệu lâm sàng phổ biến ở gia súc bị bệnh sán lá tuyến tụy. Diễn biến lâm sàng ở gia súc mắc bệnh có thể thay đổi trong vòng 2 đến 10 tháng sau khi xuất hiện các triệu chứng lâm sàng đầu tiên. Ngoài ra, tác giả còn cho biết, gia súc non từ 2 đến 3 năm tuổi cũng dễ nhiễm bệnh.

Sán lá *Eurytrema* spp. ký sinh ở tuyến tụy và ống dẫn tụy nên bệnh tích của gia súc mắc bệnh chủ yếu tập trung ở tuyến tụy: tuyến tụy cứng, nhạt màu, giảm kích thước và bị xơ hóa, ống dẫn tụy giãn. Ngoài ra, ống dẫn tụy bị viêm, các cơ quan khác như gan, mật và ruột gần tuyến tụy có thể bị giãn. Khi gia súc có sán lá tuyến tụy ký sinh với số lượng lớn, ống tụy thường bị tắc, các mô tụy bị tổn thương. Ở gia súc có sán lá tuyến tụy ký sinh, tất cả các mô bào của ống dẫn tụy, bị thay thế

bởi các mô xơ hóa, dần dần ống dẫn tụy có thể bị phá hủy do sự tăng sinh các mô liên kết, đảo Langerhan bị ảnh hưởng (Quevedo và cs., 2013; Schwertz và cs., 2015; Grosskopf và cs., 2016).

Ngoài bệnh tích ở tuyến tụy, còn thấy hạch màng treo ruột sung, gan sung, chuyển từ màu nhạt sang vàng, rìa gan tù. Thận viêm nhẹ với sự xuất hiện các trụ niệu và protein bên trong phần vỏ và tủy thận (Rachid và cs., 2011).

1.1.2.3. Chẩn đoán bệnh sán lá tuyến tụy

Xét nghiệm phân là phương pháp quan trọng và phổ biến để chẩn đoán bệnh sán lá tuyến tụy ở gia súc nhai lại (De Lima và cs., 2013). Tuy nhiên, cũng cần nghiên cứu cải thiện phương pháp này để có hiệu quả cao hơn. Ngoài ra, có thể mổ khám, kiểm tra tuyến tụy của gia súc sau khi giết mổ, thu thập sán để chẩn đoán bệnh qua hình thái và cấu tạo của sán. Bên cạnh đó, có thể dựa vào đặc điểm dịch tễ của bệnh (Azevedo và cs., 2004; Bassani và cs., 2006), đồng thời căn cứ vào triệu chứng lâm sàng và bệnh tích (Yamamura và cs., 1995; Headley và cs., 2009) để chẩn đoán bệnh sán lá tuyến tụy. Phương pháp chẩn đoán lâm sàng cũng có những hạn chế nhất định, vì có những bệnh có triệu chứng lâm sàng giống bệnh sán lá tuyến tụy (Rachid và cs., 2011).

Ngoài những phương pháp trên, phương pháp biến thái nội bì ứng dụng trong chẩn đoán bệnh sán lá tuyến tụy cũng thu được kết quả nhất định, song có thể cho kết quả dương tính giả (Correa và cs., 1984).

Trong những năm gần đây, để xác định chính xác loài sán lá tuyến tụy ký sinh và gây bệnh ở vật nuôi, phương pháp sinh học phân tử đã được áp dụng trong các phòng thí nghiệm hiện đại. Trong đó, đoạn gen 18S rRNA được sử dụng thành công để thiết kế cây phả hệ phát sinh chủng loại và nghiên cứu các loài sán lá tuyến tụy khác nhau (Zheng và cs., 2007; Chang và cs., 2016; Hou và cs., 2020).

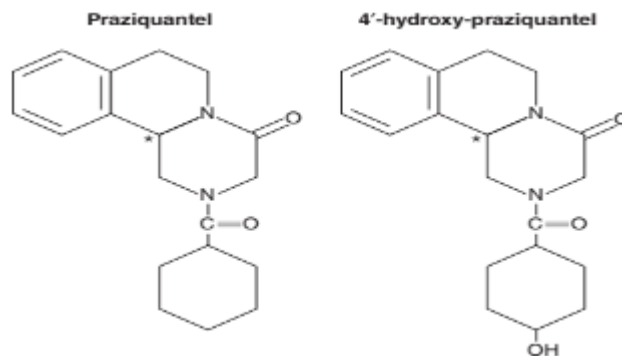
1.1.2.4. Điều trị bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

Sử dụng thuốc tẩy sán lá tuyến tụy cho gia súc mắc bệnh là việc làm cần thiết.

Các tác giả ở Nhật Bản (Sakamoto và cs., 1980), ở Trung Quốc (Li và cs., 1983) cho biết, thuốc praziquantel có hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy *E. pancreaticum* trên gia súc nhai lại, làm số lượng trứng sán lá thải qua phân giảm đáng kể. Ngoài

ra, thuốc có tác dụng làm cho các tế bào tuyến tụy tái sinh mạnh, kiểm tra mô tuyến tụy của gia súc được điều trị thấy rõ hơn hoạt tính của các loại thuốc này. Tuy nhiên, các tác giả trên chưa thống nhất liều lượng thuốc praziquantel tốt nhất để tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò.

Thuốc praziquantel (tên khác: droncit) thường ở dạng tinh thể màu trắng, vị đắng, ít độc, ít tan trong nước và cồn. Thuốc hấp thụ nhanh ở đường ruột của gia súc nhai lại, nhiều nhất ở tá tràng. Thuốc được chuyển hóa ở gan, thải trừ qua phân và nước tiểu. Thuốc có tác dụng ngăn cản hệ enzyme tham gia vào quá trình tổng hợp carbohydrat của ký sinh trùng, kích thích sự co rút của giun, sán, từ đó làm các giác bám tê liệt và sán bị đào thải ra ngoài (Riviere và Papich, 2018).



Hình 1.9. Cấu trúc hóa học của thuốc praziquantel và hoạt chất 4'-hydroxy-praziquantel

(Nguồn: Riviere và Papich, 2018)

Theo Võ Thị Trà An (2010): thuốc albendazole thuộc nhóm benzimidazole, có dạng bột trắng, không tan trong nước. Thuốc có tác dụng tẩy giun tròn ký sinh ở đường tiêu hóa và hô hấp, tẩy sán dây và sán lá gan lớn. Thuốc ức chế phản ứng trùng hợp tubulin, ức chế sự hấp thu glucose của giun, sán. Tác động này phá vỡ sự chuyển hóa của giun, sán làm suy kiệt năng lượng của chúng, từ đó có tác dụng tiêu diệt giun, sán. Khoảng 51% thuốc thải qua nước tiểu trong 48 giờ đầu ở dạng không biến đổi. Thuốc tồn dư trong cơ thể khoảng 10 ngày.

Thuốc nitroxylin (tên khác: dovenix) thường ở dạng tinh thể màu đỏ hoặc vàng, ít độc, ít tan trong nước và tan trong các chất hữu cơ. Đường sử dụng là đường uống hoặc tiêm. Thuốc hấp thụ và phân bố tốt ở các mô bào, được thải trừ rất chậm qua phân và nước tiểu. Sử dụng cho gia súc thì duy trì trong cơ thể từ 30 - 57

ngày. Thuốc ngăn cản quá trình phosphoryl hóa oxy hóa và làm tê liệt sản lá (Riviere và Papich, 2018).

Một số tác giả nước ngoài đã thử nghiệm các loại thuốc khác để tẩy sản lá tuyến tụy trong điều kiện phòng thí nghiệm như thuốc albendazole, nitroxynil, triclabendazole, rafoxanide và closantel. Tuy nhiên, kết quả cho thấy các loại thuốc này đều không có hoặc có hiệu lực rất kém với sản lá tuyến tụy (Araújo và Belém, 1993; Yamamura và cs., 1995).

1.1.2.5. Phòng bệnh sản lá tuyến tụy

Cho đến nay chưa có loại vắc xin nào phòng bệnh sản lá tuyến tụy cho gia súc. Việc phòng bệnh vẫn tập trung chủ yếu vào việc sử dụng các thuốc tẩy dự phòng sản lá tuyến tụy (Jiraungkoorskul và cs., 2005).

Để phòng bệnh sản lá tuyến tụy cho gia súc nhai lại, theo nhiều tác giả có thể áp dụng biện pháp phòng trừ tổng hợp, bao gồm:

Kiểm soát các lò giết mổ gia súc để xử lý cơ quan có sản lá ký sinh, xử lý chất thải ở lò mổ; tiêu diệt vật chủ trung gian của sản lá tuyến tụy là ốc cạn và châu chấu. Có thể tiêu diệt ốc cạn bằng các phương pháp sinh học, cơ giới và hóa học. Phương pháp hóa học như sử dụng chất xua đuôi, chất dẫn dụ, hoặc chất độc cũng đã được áp dụng ở một số nước (Petrochenko và Tverdokhlebov, 1971); vệ sinh môi trường, vệ sinh chuồng trại, xử lý chất thải của trâu, bò để diệt trứng sản lá tuyến tụy; định kỳ dùng thuốc tẩy sản lá tuyến tụy cho trâu, bò 2 lần/năm ở những vùng có bệnh lưu hành.

1.1.3. Điều kiện tự nhiên, điều kiện kinh tế - xã hội và tình hình chăn nuôi trâu, bò của tỉnh Tuyên Quang

1.1.3.1. Điều kiện tự nhiên và điều kiện kinh tế - xã hội của tỉnh Tuyên Quang

Điều kiện tự nhiên và điều kiện kinh tế - xã hội không chỉ quyết định sự hiện diện của một loại ký sinh trùng nào đó mà còn ảnh hưởng đến khả năng hoạt động, mức độ và sự lây lan của ký sinh trùng đó (Nguyễn Thị Kim Lan, 2012). Vì vậy, việc tìm hiểu về điều kiện tự nhiên, điều kiện kinh tế - xã hội và tình hình chăn nuôi trâu, bò của tỉnh Tuyên Quang là một trong những cơ sở khoa học để triển khai đề tài luận án.

Tuyên Quang là một tỉnh miền núi phía Đông Bắc, cách thủ đô Hà Nội khoảng 165 km, có tọa độ địa lý 21°30' - 22°40' vĩ độ Bắc và 103°50' - 105°40' kinh độ

Đông, phía Bắc giáp tỉnh Hà Giang, phía Đông giáp tỉnh Bắc Kạn và Thái Nguyên, phía Tây giáp tỉnh Yên Bái, phía Nam giáp tỉnh Vĩnh Phúc và Phú Thọ.

Khí hậu của Tuyên Quang mang đặc điểm khí hậu nhiệt đới gió mùa, có 2 mùa rõ rệt: mùa Đông lạnh, khô hạn và mùa Hè nóng ẩm, mưa nhiều; mưa bão tập trung từ tháng 6 đến tháng 8; tháng lạnh nhất là tháng 11 và 12 (âm lịch). Lượng mưa trung bình năm là 1.500 mm - 1.800 mm, nhiệt độ trung bình 22°C - 24°C, độ ẩm bình quân trong năm là 85%.

Dân số của tỉnh Tuyên Quang năm 2020 là 784.811 người, mật độ 134 người/km². Trong đó 18,1% dân số sống ở thành thị và 81,9% dân số sống ở khu vực nông thôn, là nơi cư trú của rất nhiều thành phần dân tộc như Kinh, Tày, Dao, H'Mông, Sán Chay... Mỗi dân tộc đều có tập quán riêng về sinh hoạt, sản xuất, trình độ canh tác và tập quán chăn nuôi cũng có đặc điểm riêng (Cổng thông tin điện tử tỉnh Tuyên Quang, 2021).

Ngoài ra, do Tuyên Quang là tỉnh miền núi, nền kinh tế nông - lâm nghiệp chiếm ưu thế, với các mô hình kinh tế trang trại kết hợp nông - lâm. Trong bảng xếp hạng về Chỉ số năng lực cạnh tranh cấp tỉnh của Việt Nam năm 2021, tỉnh Tuyên Quang xếp ở vị trí thứ 31/63 tỉnh, thành. Trong những năm gần đây, sản xuất nông nghiệp chủ yếu là sản xuất lúa, ngô, khoai, sắn. Cây công nghiệp gồm có: chè, cây sả làm tinh dầu sả, lạc, đậu tương. Cây ăn quả có: cam, quýt, nhãn, vải, chanh. Chăn nuôi có trâu, bò, lợn, gia cầm...

Với điều kiện tự nhiên như trên, tỉnh Tuyên Quang có điều kiện tự nhiên thuận lợi để phát triển chăn nuôi trâu, bò: diện tích đất tự nhiên rộng, địa hình đồi núi với thảm thực vật phong phú, là nguồn thức ăn dồi dào cho gia súc nhai lại. Bên cạnh đó, điều kiện kinh tế - xã hội của tỉnh Tuyên Quang cũng ảnh hưởng sâu sắc tới chăn nuôi gia súc nhai lại trên địa bàn tỉnh.

1.1.3.2. Tình hình chăn nuôi trâu, bò ở tỉnh Tuyên Quang

Tổng cục thống kê năm 2021 cho biết, tính đến tháng 1/2021, tỉnh Tuyên Quang có 129.440 trâu, bò (trong đó có 92.909 con trâu và 36.531 con bò). Theo báo cáo của Chi cục Chăn nuôi, thú y và thủy sản tỉnh Tuyên Quang, số trâu, bò ở các huyện, thành phố như sau:

Bảng 1.3. Số lượng trâu, bò của các huyện, thành phố thuộc tỉnh Tuyên Quang

năm 2021

Gia súc	Tổng	Thành phố TQ	Lâm Bình	Na Hang	Chiêm Hóa	Hàm Yên	Yên Sơn	Sơn Dương
Trâu	92.909	3.156	6.857	11.403	25.427	13.563	13.358	19.145
Bò	36.531	4.040	2.369	3.405	2.692	4.076	7.494	12.455
Tổng số	129.440	7.196	9.226	14.808	28.119	17.639	20.852	31.600

Trâu, bò ở các địa phương phần lớn được nuôi bán chăn thả, chủ yếu tận dụng điều kiện tự nhiên, quy mô nhỏ, phân tán. Các hộ chăn nuôi trâu, bò phần lớn là các hộ nghèo ở miền núi nên chưa có điều kiện đầu tư cho chăn nuôi, hiểu biết về kỹ thuật chăn nuôi, thú y còn hạn chế. Ngoài ra, thị trường mua bán trâu, bò còn hạn hẹp, dịch bệnh trên đàn trâu, bò chưa được khống chế... Đó là những khó khăn mà nghề chăn nuôi trâu, bò của tỉnh Tuyên Quang đang phải đối mặt và cần khắc phục. Ngoài ra, do trâu, bò được nuôi bán chăn thả, việc thu gom và xử lý phân trâu, bò chưa được thực hiện, gây ô nhiễm môi trường sống của người và vật nuôi.

1.2. Tổng quan các nghiên cứu trên thế giới và trong nước về sán lá đường tiêu hóa và bệnh sán lá tuyến tụy do *Eurytrema* spp. gây ra ở trâu, bò

1.2.1. Nghiên cứu trên thế giới

1.2.1.1. Các nghiên cứu về nhiễm sán lá đường tiêu hóa trâu, bò

Theo nhiều tác giả, trâu, bò là vật nuôi có khả năng nhiễm nhiều loài sán lá, từ đó gây thiệt hại đáng kể về kinh tế cho người chăn nuôi.

* Nghiên cứu về tình trạng nhiễm sán lá ở trâu, bò

Có nhiều công trình nghiên cứu trên thế giới về các loài sán lá ký sinh ở đường tiêu hóa trâu, bò, tập trung vào những loài sán lá phổ biến ở hầu hết các quốc gia như sán lá gan, sán lá dạ cỏ và sán lá tuyến tụy. Tại mỗi khu vực đều có vị trí địa lý, điều kiện khí hậu, phong tục tập quán, phương thức chăn nuôi và nhận thức của người dân về phòng chống bệnh ký sinh trùng cho trâu, bò khác nhau, từ đó ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm và thành phần các loài sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò.

Maqbool và cs. (2002) cho biết, khi nghiên cứu các lò mổ, trang trại, bệnh viện thú y, hộ chăn nuôi trâu tại tỉnh Punjab, Ấn Độ, tỷ lệ nhiễm sán lá gan trung

bình cao nhất là 24,0% vào mùa Thu, tiếp đến là mùa Xuân (20%), mùa Đông (13%) và thấp nhất vào mùa Hè (9%). Trâu già nhiễm nhiều hơn so với trâu non, tính biệt không ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm ở trâu.

Pfukenyi và cs. (2005) cho biết, tại Nigeria, tùy theo từng vùng, tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa qua xét nghiệm phân dao động từ 11% đến 100% đối với sán lá dạ cỏ, từ 0% đến 90% đối với sán lá gan *Fasciola gigantica*. Tỷ lệ nhiễm sán lá gan ở bò trong lò mổ biến thiên từ 12% đến 46,3%; tỷ lệ nhiễm sán lá dạ cỏ dao động 35% đến 92%.

Kaewthamasorn và Wongsamee (2006) đã phân tích 207 mẫu phân bò thịt tại tỉnh Nan, Thái Lan. Tác giả cho biết: tỷ lệ nhiễm giun, sán đường tiêu hóa ở bò là 61% (126/207), trong đó sán lá dạ cỏ chiếm tỷ lệ cao nhất (28%).

Huang và cs. (2012) đã thu thập và phân tích 1.259 mẫu phân bò Holstein tại 94 trang trại ở Đài Loan, tác giả cho biết tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa khá thấp khi chỉ phát hiện thấy 8 bò nhiễm bệnh (chiếm 0,6%), trứng sán lá được phát hiện trong phân thuộc loài *Eurytrema pancreaticum*, *Fasciola* spp., và *Paramphistomum* spp.

Nzalawahe và cs. (2014) đã thu thập 241 mẫu phân bò tại quận Arumeru, miền Bắc Tanzania. Tác giả cho biết, bò nhiễm chủ yếu sán lá gan *Fasciola gigantica* và sán lá dạ cỏ *Paramphistomum* spp. với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 33% và 37%.

Rinca và cs. (2019) đã thu thập và phân tích 100 mẫu phân bò tại Yogyakarta, Indonesia. Tác giả cho biết: tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa nói chung là gần 50%, trong đó tỷ lệ nhiễm sán lá dạ cỏ *Paramphistomum* spp. là 47% và tỷ lệ nhiễm sán lá gan *Fasciola* spp. là 48%.

Nurhidayah và cs. (2020) đã phân tích 580 mẫu phân trâu tại 5 vùng khí hậu khác nhau tại tỉnh Banten và Central Java, Indonesia. Kết quả cho thấy: tỷ lệ nhiễm sán lá trung bình là 64,83%; trong đó tỷ lệ nhiễm sán lá gan *Fasciola* spp. là 16,03% và sán lá dạ cỏ *Paramphistomum* spp. là 62,93%.

Brahmbhatt và cs. (2021) đã thu thập 438 mẫu phân bò Gir và trâu Jaffrabadi tại quận Junagadh, bang Gujarat (Ấn Độ) và xét nghiệm bằng phương pháp lắng cặn. Kết quả: có 10 mẫu (chiếm 2,28%) dương tính với sán lá gan *Fasciola*. Tỷ lệ nhiễm sán lá gan ở trâu Jaffrabadi (2,65%) cao hơn so với bò Gir (1,72%).

** Nghiên cứu ảnh hưởng của tuổi, tính biệt, phương thức chăn nuôi và mùa trong năm đến tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò*

Tuổi trâu, bò là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến tình trạng nhiễm sán lá đường tiêu hóa. Khi trâu, bò còn non thì thức ăn là sữa mẹ nên chúng được tiếp nhận kháng thể từ sữa đầu, đồng thời ít tiếp xúc với mầm bệnh ở ngoài tự nhiên. Trâu, bò trưởng thành sử dụng thức ăn và nước uống từ môi trường tự nhiên nên nguy cơ tiếp xúc với mầm bệnh sán lá nhiều, dẫn đến dễ cảm nhiễm sán lá, từ đó tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò tăng lên theo tuổi. Theo Azevedo và cs. (2004), tỷ lệ nhiễm sán lá ở trâu, bò giai đoạn từ 2 đến trên 8 năm tuổi tăng dần từ 19,31% đến 84,66%.

Các vùng địa lý khác nhau thì tỷ lệ nhiễm sán lá theo mùa khác nhau. Mohanta và cs., (2015) đã nghiên cứu và công bố: tỷ lệ nhiễm sán lá cao trong mùa Đông (50%) và thấp hơn vào mùa Hè (40%). Một số tác giả (Jas và cs., 2017; Sivajothi và Reddy, 2018) cho biết: tỷ lệ nhiễm sán lá cao nhất vào mùa Xuân, thấp nhất vào mùa Hè. Có ý kiến khác lại cho rằng: tỷ lệ nhiễm sán lá cao nhất vào mùa Hè, thấp nhất vào mùa Đông (Pal và cs., 2017).

Phương thức chăn nuôi cũng ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở gia súc nhai lại. Theo Pfukenyi và cs. (2005), trâu, bò chăn nuôi theo phương thức chăn thả tự do bị nhiễm sán lá nhiều hơn so với nuôi theo phương thức bán chăn thả.

1.2.1.2. Các nghiên cứu về bệnh sán lá tuyến tụy Eurytrema ở trâu, bò

** Nghiên cứu loài sán lá tuyến tụy ở trâu, bò*

Xác định loài sán lá tuyến tụy để có biện pháp phòng và trị bệnh hiệu quả trên đàn trâu, bò là vấn đề cần thiết. Trước kia, việc định danh loài sán lá tuyến tụy chủ

yếu dựa vào đặc điểm hình thái, cấu tạo và vị trí ký sinh. Hiện nay, cùng với sự phát triển của công nghệ sinh học phân tử thì việc sử dụng kỹ thuật PCR và giải trình tự gen trong định danh các loài sán lá tuyến tụy đã cho kết quả chính xác (Zheng và cs., 2007; Xu và cs., 2013; Su và cs., 2018).

Zheng và cs. (2007) đã phân tích và giải trình tự gen 18S rRNA của sán lá tuyến tụy thu thập ở Phúc Kiến, Trung Quốc và xác định được loài sán lá gây bệnh là *Eurytrema coelomaticum* và *E. pancreaticum*.

Mohanta và cs. (2015) đã phát hiện được loài sán lá tuyến tụy *Eurytrema cladorchis* gây bệnh ở trâu, bò tại quận Bandarban, Nam Bangladesh, dựa trên hình thái, cấu tạo, phân tích gen 18S rRNA (1784 bp) và giải trình tự gen ITS2 (có độ dài là 229 bp).

** Nghiên cứu tình trạng nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò*

Sán lá tuyến tụy giống *Eurytrema* phân bố rộng rãi trên toàn thế giới. Sán ký sinh ở các động vật nhai lại như trâu, bò, dê, cừu tại Nhật Bản, Đông Nam Á, Ấn Độ và Nam Mỹ (Nieberle và Cohrs, 1970). Đã có nhiều công trình nghiên cứu về các loài sán lá tuyến tụy ký sinh ở đường tiêu hóa trâu, bò và tình trạng nhiễm sán lá tuyến tụy trên các loài vật nuôi này. Các kết quả nghiên cứu xác định loài sán lá tuyến tụy được tổng hợp ở bảng 1.4.

Bảng 1.4. Các loài thuộc giống *Eurytrema* đã được phát hiện trên thế giới

Loài sán lá	Vật chủ cuối cùng	Đặc điểm nhiễm	Tác giả nghiên cứu	Nơi phát hiện
<i>1. Eurytrema coelomaticum</i>	Bò	Nhiễm tự nhiên	Giard và Billet (1892)	Tonkin (Đông Dương)
		Nhiễm tự nhiên	Travassos (1944)	Brasil
		Nhiễm tự nhiên	Watanabe (1960)	Nhật Bản
		Nhiễm tự nhiên	Eduardo và cs. (1976)	Philippines
		Nhiễm tự nhiên	Tang và Tang (1975)	Trung Quốc
		Nhiễm tự nhiên	Travassos (1944)	Brasil
	Cừu	Nhiễm thực nghiệm	Tang và Tang. (1975)	Trung Quốc
		Nhiễm thực nghiệm	Sakamoto và cs (1980)	Nhật Bản
		Nhiễm tự nhiên	Travassos (1944)	Brasil
	Dê	Nhiễm tự nhiên	Tang và Tang (1975)	Trung Quốc
	Trâu	Nhiễm tự nhiên	Yamamura và cs. (1982)	Brasil
		Nhiễm tự nhiên	Janson (1889)	Nhật Bản
		Nhiễm tự nhiên	Purvis (1931)	Malaysia
<i>2. Eurytrema pancreaticum</i>	Bò	Nhiễm tự nhiên	Travassos (1944)	Brasil
		Nhiễm tự nhiên	Florence (1939)	Madagascar
		Nhiễm tự nhiên	Tang (1950)	Trung Quốc
		Nhiễm tự nhiên	Eduardo và cs (1976)	Philippines
		Nhiễm tự nhiên	Mayaudon (1954)	Venezuela
		Nhiễm tự nhiên	Santos (1986)	Brasil
		Nhiễm tự nhiên	Travassos (1944)	Brasil
	Trâu	Nhiễm tự nhiên	Tang (1950)	Trung Quốc
		Nhiễm tự nhiên	Busetti và cs. (1983)	Brasil
	Dê	Nhiễm tự nhiên	Travassos (1944)	Brasil
		Nhiễm tự nhiên	Tang (1950)	Trung Quốc
		Nhiễm thực nghiệm	Basch (1966)	Malaysia
		Nhiễm thực nghiệm	Chinone và Itagaki (1976)	Nhật Bản
		Nhiễm tự nhiên	Janson (1889)	Nhật Bản
	Cừu	Nhiễm tự nhiên	Travassos (1944)	Brasil
		Nhiễm tự nhiên	Tang (1950)	Trung Quốc
		Nhiễm tự nhiên	Freire (1967)	Brasil
		Nhiễm tự nhiên	Tang (1950)	Trung Quốc
	Người	Nhiễm tự nhiên	Chang và Li (1964)	Trung Quốc
		Nhiễm tự nhiên	Asada và cs. (1966)	Nhật Bản
Nhiễm tự nhiên		Ishii (1983)	Nhật Bản	
<i>3. Eurytrema dajii</i>	Bò	Nhiễm tự nhiên	Bhalerao (1924)	Indonesia
		Nhiễm tự nhiên	Handoko (1981)	Indonesia

4. <i>Eurytrem a tonkinense</i>	Bò	Nhiễm tự nhiên	Galliard và Ngu (1941)	Việt Nam
5. <i>Eurytrem a cladorchis</i>	Bò	Nhiễm tự nhiên	Tang và Tang (1977)	Trung Quốc

(Nguồn: dẫn theo Bassani và cs., 2007)

Qua bảng 1.3. cho thấy, có nhiều loài sán lá tuyến tụy thuộc giống *Eurytrema* gây bệnh cho các loài gia súc nhai lại, phổ biến nhất là 3 loài: *Eurytrema coelomaticum*, *Eurytrema pancreaticum* và *Eurytrema cladorchis* thuộc họ Dicrocoeliidae (Mohanta và cs., 2015).

Một số tác giả đã xét nghiệm phân để xác định tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. trên các loài gia súc nhai lại ở Nam Mỹ, Trung Quốc và Nhật Bản. Tuy nhiên, các dữ liệu đã được công bố khác nhau theo các loài vật chủ, theo vùng địa lý và vùng sinh thái, theo thời gian thu thập mẫu trong năm và phương pháp sử dụng. Các kết quả nghiên cứu xác định tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở một số nơi trên thế giới (biến động từ 0,31% đến 80%) được tổng hợp ở bảng 1.5.

Bảng 1.5. Tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở một số quốc gia trên thế giới

Nước	Vùng/ tỉnh	Loài sán lá tuyến tụy	Tỷ lệ nhiễm (%)	Tác giả nghiên cứu
Brasil	Itabira Bom Jesus do Amparo Ferros	<i>Eurytrema coelomaticum</i>	33,80	Brant (1962)
	Pindamonhangaba		49,10	
	bang São Paulo, Minas Gerais, Goiás và Mato Grosso		67,50	
	São João do Caiuá	<i>Eurytrema</i> spp.	80	Mattos Junior và Vianna (1987)
	Ponta Grossa		22,90	
Trung Quốc	Chiết Giang, Giang Tây	<i>Eurytrema coelomaticum</i>	8,30	Azevedo và cs. (2004)
	Phúc Kiến		40,50	
	Hồ Nam	<i>Eurytrema</i> spp.	45 - 72	Tang và Tang (1975)
Nhật Bản	Okinawa Fukuoka Shimane	<i>Eurytrema</i> spp.	62,20 - 72,22	Zhongzhang và Chongti (1977)
			32,80	Ma và cs. (2014)
			5,08 1,14 0,31	Okajima và cs. (2016)
Ấn Độ	bang Assam	<i>Eurytrema pancreaticum</i>	66,60	Kumar (1999)
	Wardha và Nagpur		21,42	

	Meghalaya Tripura Mizoram	<i>Eurytrema</i> spp.	27 8,60 25	Lalrinkima và cs. (2016)
Indonesia	Sumatra	<i>Eurytrema</i> <i>pancreaticum</i>	23,30	Dorny và cs. (1996)
	Banda Aceh		0,40	Hanafiah và cs. (2019)
Thái Lan	Miền Nam	<i>Eurytrema</i> spp.	2,83	Kaewnoi và cs. (2020)
Đài Loan	Đài Bắc, Cao Hùng, Đài Trung, Bình Đông, Gia Nghĩa	<i>Eurytrema</i> spp.	15,90 - 43,30	Shien và cs. (1979)

* *Nghiên cứu ảnh hưởng của tuổi, mùa trong năm và phương thức chăn nuôi đến tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò*

Theo một số tác giả, tuổi trâu, bò có ảnh hưởng đến tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy, tỷ lệ nhiễm thường cao ở trâu, bò già (Manga - González và cs., 2007).

Sán lá ở trong tuyến tụy, có khi thấy ở gan, dạ múi khế của trâu, bò, dê, cừu và cả ở người. Tỷ lệ nhiễm ở bò là 50%, ở cừu là 75%, trâu bị nhiễm với tỷ lệ cao hơn (Manga - González và Ferreras, 2019).

Roy và Tandon (1992) cho biết: tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở bò trong mùa Đông cao hơn so với các mùa khác trong năm, do sự xuất hiện nhiều của vật chủ trung gian thứ hai (châu chấu) trong các tháng mùa Hè và mùa Thu nên bò nhiễm vào mùa Hè và Thu, đến mùa Đông bệnh phát ra.

Pfukenyi và cs. (2005) đã nghiên cứu và cho biết, bò trưởng thành nhiễm sán lá tuyến tụy và một số loài sán lá khác nhiều hơn so với bê. Theo tác giả, tỷ lệ nhiễm cao ở bò trưởng thành là do chúng có thời gian phơi nhiễm với mầm bệnh dài và có sự tích lũy sán lá lâu ngày trong tuyến tụy.

* *Những nghiên cứu về đặc điểm bệnh lý, lâm sàng bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò*

Thông thường, một loại ký sinh trùng là tác nhân chính gây ra bệnh ký sinh trùng đó. Tuy nhiên, mức độ nghiêm trọng của bệnh có thể do các tác nhân thứ cấp khác, đặc biệt là khi ký sinh trùng tạo ra trạng thái ức chế miễn dịch của cơ thể vật chủ (Nguyễn Thị Kim Lan, 2012).

Những tổn thương đại thể chính của tuyến tụy đã được phát hiện ở gia súc mắc

bệnh sán lá tuyến tụy như: chiều dài của tuyến tụy ngắn lại, tuyến tụy có màu nhạt và cứng, tuyến tụy phình to hơn nhiều so với bình thường (Graydon và cs., 1992).

Ngoài ra, nhiều tác giả còn cho biết: có mối tương quan thuận giữa số lượng sán lá tuyến tụy ký sinh và khối lượng tuyến tụy bị nhiễm sán *E. pancreaticum*, khi số lượng sán lá tăng lên thì khối lượng tuyến tụy cũng tăng lên ở vật nuôi (Kumar, 1999).

Mặt khác, Rachid và cs. (2011) còn thấy hạch màng treo ruột sung, gan sung và chuyển từ màu nhạt sang vàng, rìa tù. Thận viêm nhẹ với sự xuất hiện các trụ niệu và protein bên trong phần vỏ và tủy thận.

Khi gia súc mắc bệnh thì ống dẫn tụy viêm, xơ hóa. Nếu gia súc có sán lá tuyến tụy ký sinh với số lượng lớn, ống tụy bị tắc, các mô tụy có thể bị tổn thương (Schwartz và cs., 2015; Grosskopf và cs., 2016).

Ba hình thái bệnh tích cũng được quan sát thấy: hình thái thứ nhất mang tính xâm nhiễm do hiện tượng viêm, với sự xuất hiện của nhiều tế bào đại thực bào (macrophage), tế bào lympho (lymphocyte) và bạch cầu ái toan (eosinophils); hình thái thứ hai xuất hiện với ổ viêm xung quanh; hình thái thứ ba là kết quả của các tổn thương quan sát thấy ở hình thái thứ hai, với sự thoái hóa mô tụy và thay thế bằng các mô liên kết xơ hóa (Quevedo và cs., 2013).

Ở gia súc mắc bệnh sán lá tuyến tụy do *E. coelomaticum* gây ra có hiện tượng “oxidative stress”, là hiện tượng mất cân bằng giữa sự hình thành các gốc tự do có oxy và cơ chế chống lại các gốc tự do của cơ thể. Sự rối loạn, mất cân bằng của trạng thái oxy hóa khử có thể gây ra các ảnh hưởng nghiêm trọng tới sự sản sinh các peroxide và các gốc tự do, làm tổn thương các thành phần của tế bào, trong đó bao gồm protein, chất béo và kích hoạt hệ thống chống oxy hóa (Schwartz và cs., 2016).

Triệu chứng của gia súc mắc bệnh sán lá tuyến tụy được thông báo lần đầu tiên trên cừu trưởng thành ở Indonesia: con vật giảm cân nhanh chóng, phù thũng và thậm chí có thể chết nếu nhiễm sán lá nặng (Graydon và cs., 1992).

Biểu hiện lâm sàng của gia súc nặng hay nhẹ phụ thuộc vào cường độ nhiễm, tình trạng sức khỏe, tuổi, tình trạng nuôi dưỡng và quản lý. Gia súc bị bệnh thường gầy yếu, khát nước, thủy thũng ở cổ và ngực, ỉa chảy, phân có nhiều chất nhầy, nhiệt

độ cơ thể hạ thấp, mạch yếu, con vật có thể chết do suy nhược. Con vật nhiễm bệnh thường có dấu hiệu buồn ngủ, mệt mỏi, hay nằm (Ilha và cs., 2005).

Theo Pierzynowski và Zabielski (1999), gia súc giảm cân do sán lá *Eurytrema* làm tổn thương nghiêm trọng phần ngoại tiết của tuyến tụy (nơi có nhiệm vụ bài tiết enzyme tham gia vào quá trình tiêu hóa), đồng thời tổn thương phần nội tiết (nơi bài tiết các hormone insulin và glucagon). Gia súc mắc bệnh sán lá tuyến tụy *Eurytrema pancreaticum* bài tiết nước tiểu có glucose và mắc bệnh viêm thận (Graydon và cs., 1992).

Tại châu Á, dê nhiễm bệnh do gây nhiễm với châu chấu có chứa *Metacercaria* của loài sán lá *Eurytrema cladorchis*, con vật có biểu hiện giảm ăn, tiêu chảy trong vòng 12 ngày, sau đó tử vong (Tang và Lin, 1980). Một nghiên cứu thực nghiệm cho thấy, trong 6 con dê gây nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema coelomaticum*, chỉ có một con (chiếm tỷ lệ 16,6%) có biểu hiện giảm cân tiến triển, 5 con còn lại giảm cân rất ít so với đối chứng (Mattos Junior và Vianna, 1987).

Ngoài giảm cân, gia súc mắc bệnh bị viêm tụy nặng với các tổn thương ở tuyến tụy, tổn thương ở tuyến tụy làm rối loạn quá trình sản xuất insuline và glucagon, giảm tiết enzyme, làm rối loạn tiêu hóa (Hambal và cs., 2020).

** Những nghiên cứu về biện pháp phòng trị bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò*

Một số tác giả đã nghiên cứu sử dụng thuốc tẩy sán lá tuyến tụy *Eurytrema* cho gia súc, đặc biệt là cho bò nhiễm bệnh tự nhiên. Nhiều thuốc tẩy đã được thử nghiệm để tẩy sán lá tuyến tụy.

Sakamoto và cs. (1980), Kono và cs. (1980) đã thử nghiệm thuốc nitroxinil và praziquantel tẩy sán lá tuyến tụy. Tác giả cho biết: thuốc có tác dụng tẩy hiệu quả đối với sán lá tuyến tụy *E. coelomaticum*, làm giảm rõ rệt số lượng trứng sán thải qua phân. Theo đó, các tác giả cho biết, thuốc praziquantel là loại thuốc tẩy sán lá *Eurytrema* spp. tương đối tốt.

Araújo và Belém (1993), Yamamura và cs. (1995) đã sử dụng một số loại thuốc khác để tẩy sán lá tuyến tụy như: albendazole liều cao, nitroxynil, triclabendazole, rafoxanide và closantel. Kết quả cho thấy: các loại thuốc trên không làm thay đổi số lượng trứng sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. trong 1 gam phân trâu, bò.

Biện pháp phòng bệnh cơ bản là duy trì quần thể ốc cạn ít nhất có thể. Các loài ốc cạn cần nơi có độ ẩm cao để phát triển, vì vậy làm đồng cỏ khô ráo bằng việc khơi thông nước đọng là biện pháp quan trọng và hiệu quả. Ngoài ra, chặn thả luân phiên đồng cỏ, bãi chăn cũng khá hiệu quả trong việc phòng bệnh sán lá tuyến tụy (Otranto và cs., 2007).

** Nghiên cứu về ứng dụng chế phẩm sinh học trong ủ phân vật nuôi*

Chế phẩm sinh học đã được sử dụng trong chăn nuôi ở nhiều quốc gia. Tại Trung Quốc, người ta đã dùng chế phẩm sinh học EM (Effective Microorganisms) trộn vào thức ăn, nước uống cho vật nuôi cũng cho hiệu quả rõ rệt. Dung dịch EM phun vào chuồng trại, rác thải, nước thải làm mất mùi hôi thối và thúc đẩy quá trình phân giải chất hữu cơ (Uemura và Adachi, 1996).

Konoplya và Higa (2000) đã báo cáo việc sử dụng thành công chế phẩm sinh học trong chăn nuôi gia cầm và lợn với hình thức trộn vào thức ăn và phun vào chất thải trong các trại chăn nuôi. Tác dụng của chế phẩm sinh học là làm hiệu quả chuyển hóa thức ăn của vật nuôi tốt hơn, đồng thời có khả năng phân giải chất hữu cơ trong chất thải, ức chế các vi sinh vật có hại, gây mùi (Konoplya và Higa, 2000; Safalaoh và Smith, 2001).

1.2.2. Nghiên cứu ở Việt Nam

1.2.2.1. Các nghiên cứu về tình hình nhiễm sán lá ký sinh ở đường tiêu hóa trâu, bò

Trong những năm gần đây đã có nhiều công trình nghiên cứu về tình hình nhiễm sán lá đường tiêu hóa của trâu, bò. Tuy nhiên, các tác giả chỉ tập trung vào các loài sán lá phổ biến như sán lá gan và sán lá dạ cỏ.

Các công trình nghiên cứu của Nguyễn Hữu Hưng (2011), Nguyễn Thị Kim Lan và cs. (2018), Phan Thị Hồng Phúc và cs. (2019) đã công bố về loài sán lá gan gây bệnh trên trâu, bò và tỷ lệ nhiễm sán lá gan ở một số địa phương. Tại vùng đồng bằng sông Cửu Long, tỷ lệ nhiễm sán lá gan trên bò là 51,91%. Tại một số huyện của tỉnh Sơn La, tỷ lệ nhiễm sán lá gan lớn ở trâu, bò là 45,33%, trong đó trâu nhiễm 53,35%, bò nhiễm 36,84%; cường độ nhiễm sán lá gan ở trâu nặng hơn ở bò. Tại tỉnh Hà Giang, tỷ lệ nhiễm sán lá gan ở trâu qua mổ khám là 55,33%, qua xét nghiệm phân là 52,73%.

Một số công trình nghiên cứu về bệnh sán lá dạ cỏ của Trần Ngọc Thắng (2004) và Cao Văn Hồng (2010) cho thấy: tỷ lệ nhiễm sán lá dạ cỏ ở trâu là 100%, ở bò là 84,62%; cường độ nhiễm sán lá dạ cỏ ở trâu, bò tăng dần theo lứa tuổi. Các loài sán lá dạ cỏ ký sinh chủ yếu là: *Calicophoron calicophorum*, *Ceylonocotyle scoliocoelium*, *Ceylonocotyle streptocoelium*, *Explanatum explanatum*, *Paramphistomum cervi*, *P. gotoi*, *P. ichikawai*, *Fischoederius cobboldi*, *F. elonggatus*, *F. japonicus*, *Gastrothylax compressus*, *G. crumenife*. Riêng loài *Ceylonocotyle streptocoelium* chỉ thấy xuất hiện trên trâu và không thấy xuất hiện trên bò.

Cho đến nay, các nghiên cứu về sán lá tuyến tụy và tình hình nhiễm sán lá tuyến tụy trên trâu, bò vẫn còn rất ít.

Sán lá tuyến tụy được phát hiện ở Việt Nam từ rất sớm và đã được công bố bởi Galliard và Ngu (1941). Tuy nhiên, các nghiên cứu về sán lá tuyến tụy vẫn còn rất ít và khá tản mạn, chưa có tính hệ thống. Các công trình nghiên cứu về sán lá tuyến tụy và tỷ lệ nhiễm ở gia súc nhai lại Việt Nam (biến động từ 0,55% đến 75%) được tổng hợp ở bảng 1.6.

Bảng 1.6. Các loài sán lá tuyến tụy và tỷ lệ nhiễm ở gia súc nhai lại tại Việt Nam

Loài sán lá tuyến tụy	Tỷ lệ nhiễm	Vùng/ tỉnh	Nguồn tài liệu
<i>Eurytrema pancreaticum</i>	50% ở bò	Bắc bộ và khu 4 cũ	Drozd và Malczewski (1967)
	0,55 - 25% ở bò	Nam Trung bộ	Trịnh Văn Thịnh và Đỗ Dương Thái (1978)
	32% ở bò	Ninh Bình	Vũ Thị Hẹn (2014)
<i>Eurytrema spp.</i>	24,82% ở bò	Hà Nam	Nguyễn Thị Hồng Chiên và cs. (2011)
	20% ở trâu	Hà Nội	
	3,33% ở dê	Vĩnh Phúc	

1.2.2.2. Nghiên cứu về đặc điểm bệnh lý và lâm sàng bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò

Một số tác giả đã nghiên cứu về bệnh lý và lâm sàng của trâu, bò mắc bệnh

sán lá tuyến tụy. Sán lá *Eurytrema* gây ra những biến đổi về cấu trúc và chức năng của tuyến tụy, tổ chức tụy và các đảo Langerhan biến đổi. Khi ống dẫn bị tắc, dịch tụy không xuống ruột, thường rỉ qua thành ống làm vỡ ống tuyến. Tuyến tụy có những biến đổi hoại tử do quá trình thoái hóa, do ống tụy viêm làm tổ chức bên cạnh bị teo. Những biến đổi bệnh lý ở tất cả các bộ phận của tuyến tụy gây rối loạn quá trình đồng hóa chất đạm, đường và mỡ. Công năng tuyến tụy bị rối loạn làm con vật rối loạn tiêu hóa, thiếu máu và gây yếu (Nguyễn Thị Kim Lan, 2012).

** Những nghiên cứu về biện pháp phòng, trị bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò*

Phạm Văn Khuê và Phan Lục (1996) cho biết: nhóm thuốc benzimidazole có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy. Tuy vậy, ở nước ta cho đến nay chưa có tác giả nào thử nghiệm nhóm thuốc này tẩy sán lá tuyến tụy cho gia súc nhai lại.

Biện pháp phòng bệnh do sán lá *Eurytrema* spp. gây ra hiện nay còn chưa được nghiên cứu. Theo Nguyễn Thị Kim Lan (2012), một trong các biện pháp phòng bệnh có hiệu quả là diệt vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy là những loài ốc cạn và châu chấu.

** Nghiên cứu về ứng dụng chế phẩm sinh học trong ủ phân vật nuôi*

Chế phẩm EM (Effective Microorganisms) là một hỗn hợp các vi sinh vật có ích được nghiên cứu và đưa vào ứng dụng ở Nhật Bản từ năm 1980. Sau khi đã ứng dụng có kết quả ở Nhật Bản, công nghệ EM đã mau chóng được nhiều nước trên thế giới (khoảng 80 nước) tiếp thu và ứng dụng trong các lĩnh vực trồng trọt, chăn nuôi và vệ sinh môi trường bởi các ưu điểm chủ yếu: rẻ tiền, dễ ứng dụng và rất hiệu quả. Thành phần chính bao gồm: vi khuẩn *Streptomyces*: 10^9 CFU, *Rhizobium*: 10^9 CFU, *Lactic*: 10^9 CFU, *Bacillus*: 10^9 CFU, vi khuẩn quang hợp: 10^9 CFU, nấm men và xạ khuẩn: 10^9 CFU, pH = 3,5 - 4,0 (Nguyễn Quang Thạch, 2001).

Chế phẩm EM rất an toàn, cải thiện tốt môi trường. Các vi sinh vật tạo ra một môi trường sinh thái đồng nhất, thuận lợi cho chúng sinh trưởng và phát triển. Mỗi loại vi sinh vật trong chế phẩm EM có chức năng hoạt động riêng của chúng. Các vi sinh vật này đều là những vi sinh vật có lợi chung sống trong cùng một môi trường, sống cộng sinh, cùng hỗ trợ nhau do vậy hiệu quả của hoạt động tổng hợp của chế phẩm tăng lên rất nhiều. Trong đó, loài vi khuẩn quang hợp đóng vai trò chủ chốt,

sản phẩm của quá trình quang hợp là nguồn dinh dưỡng quan trọng cho các loài khác trong chế phẩm EM. Việc sản xuất vi sinh vật từ phế phụ phẩm khá đơn giản và dễ thực hiện: xử lý thô nguồn nguyên liệu phế phụ phẩm từ sản xuất nông nghiệp và các nhà máy chế biến, phối trộn với chế phẩm EM gốc và một vài phụ liệu khác như đạm, kali, ri mật. Độ ẩm cuối cùng của hỗn hợp cần đạt là 45 - 50%. Các loại phế phẩm nông nghiệp dùng sản xuất chế phẩm như: bột ngô, bột cám, vỏ trấu, lõi ngô, vỏ điều, mùn cưa... với giá thành thấp, nhưng hiệu quả của sản phẩm mang lại giải quyết được nhiều vấn đề về ô nhiễm môi trường trong chăn nuôi hiện nay (Nguyễn Quang Thạch, 2001).

Theo Phùng Đức Tiến và cs. (2008), tỷ lệ hộ chăn nuôi xử lý chất thải của vật nuôi ở Việt Nam còn rất hạn chế, trong chăn nuôi nông hộ chỉ đạt 15%, gia trại 37,5% và chăn nuôi trang trại cũng chỉ đạt 35,71%. Kết quả phân tích cho thấy, các chỉ tiêu do ô nhiễm Coliform đều vượt ngưỡng cho phép, mức độ ô nhiễm vi khuẩn trong chất thải cao hơn mức cho phép nhiều lần: ở nông hộ cao hơn 114,24 lần, ở gia trại cao hơn mức cho phép 108,5 lần; ở trang trại cao hơn mức cho phép 187,5 lần. Vi khuẩn *E. coli* cũng cao hơn nhiều lần mức cho phép: ở nông hộ cao hơn mức cho phép 7 lần; gia trại cao hơn mức cho phép 2,17 lần, trang trại cao hơn mức cho phép 35,65 lần.

Nguyễn Quang Tuyên và cs. (2011) cho biết, sử dụng chế phẩm EM bổ sung vào thức ăn cho lợn đã có tác dụng làm tăng hấp thu thức ăn và sinh trưởng của lợn, khối lượng lợn con ở 50 ngày tuổi tăng 14,12% và lợn thịt ở 90 ngày tăng 10,4%. Giảm số lượng vi khuẩn *Salmonella* và *E.coli*, tương ứng là 20,11 và 28,88 triệu/g phân; làm tăng sức đề kháng, giảm tỷ lệ mắc bệnh tiêu chảy 44,0% và nâng tỷ lệ nuôi sống lợn con lên 12,0% so với đối chứng. Hàm lượng khí thải NH₃ và H₂S trong chuồng nuôi giảm thấp hơn từ 2,41 đến 2,45 lần so với đối chứng.

*

* *

* **Nhận xét:** các loài sán lá ở trâu, bò rất đa dạng, ký sinh ở nhiều cơ quan, đặc biệt là ở đường tiêu hóa. Ở Việt Nam, nhiều công trình nghiên cứu cho thấy tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá trên trâu, bò cao. Mặc dù tỉnh Tuyên Quang có điều kiện tự

nhiên thuận lợi cho sự phát triển chăn nuôi trâu, bò nhưng trâu, bò vẫn được nuôi theo phương thức chăn thả là chủ yếu, nguy cơ nhiễm sán lá rất cao. Cho đến nay chưa có công trình nào nghiên cứu về bệnh sán lá tuyến tụy tại tỉnh Tuyên Quang và biện pháp phòng trị hiệu quả.

Chương 2

NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, thời gian và địa điểm nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

- Trâu, bò nuôi tại tỉnh Tuyên Quang.
- Sán lá ký sinh ở đường tiêu hóa trâu, bò.
- Bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò.

2.1.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

* *Thời gian nghiên cứu:* từ 2020 đến năm 2023.

* *Địa phương nghiên cứu*

Đề tài được triển khai tại các nông hộ chăn nuôi và một số cơ sở giết mổ trâu, bò ở 5 huyện, thành phố của tỉnh Tuyên Quang (huyện Chiêm Hóa, Hàm Yên, Yên Sơn, Sơn Dương và thành phố Tuyên Quang).

* *Địa điểm xét nghiệm mẫu*

- Phòng thí nghiệm khoa Chăn nuôi Thú y, trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên.
- Phòng ký sinh trùng, Viện sinh thái và Tài nguyên sinh vật.
- Phòng siêu cấu trúc, Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương.
- Trung tâm nghiên cứu Khoa học sự sống, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam.
- Bệnh viện Đa khoa Trung ương Thái Nguyên.

2.2. Vật liệu nghiên cứu

* *Động vật sử dụng trong nghiên cứu:*

- Trâu, bò các lứa tuổi tại 5 huyện, thành phố của tỉnh Tuyên Quang (thu thập và xét nghiệm mẫu phân để xác định tình hình nhiễm sán lá đường tiêu hóa).
- Trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy (mổ khám, thu thập sán lá tuyến tụy và kiểm tra các tổn thương do sán lá tuyến tụy gây ra).

* *Các loại mẫu:*

- Mẫu phân tươi của trâu, bò ở các lứa tuổi.
- Mẫu sán lá tuyến tụy thu thập từ trâu, bò mổ khám.

- Mẫu bệnh phẩm là tuyến tụy thu thập từ 3 trâu, 3 bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy.

- Mẫu máu của trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy và trâu, bò khỏe.

- Mẫu ốc cạn và châu chấu thu thập trên các bãi chăn thả và xung quanh khu vực chuồng nuôi trâu, bò.

- Mẫu phân trâu, bò trước và sau khi thử nghiệm thuốc tẩy; trước và sau khi ủ với chế phẩm sinh học.

* *Thiết bị, dụng cụ và hóa chất sử dụng*

- Thiết bị:

+ Kính hiển vi quang học, kính hiển vi Nikon Eclipse Ni-U (Tokyo, Nhật Bản), kính hiển vi điện tử quét S - 4800 (FE - SEM, Hitachi, Nhật Bản).

+ Máy phân tích máu ABX Micros 60 (Horiba Medical, Pháp), máy Chemray 240 (hãng Rayto, Trung Quốc).

+ Máy cắt tế bào Microtom.

+ Máy giải trình tự gen tự động Ab 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystem).

+ Tủ lạnh âm, máy ly tâm, máy điện di, pipette, máy soi gel tia UV, máy ủ, máy PCR system 9700, bình bảo quản mẫu tế bào động vật.

+ Bộ dụng cụ xét nghiệm phân gồm: lưới lọc, đĩa thủy tinh, cốc thủy tinh, lọ thủy tinh nhỏ, lam kính, lamén, buồng đếm Mc.Master.

+ Bộ đồ mổ gia súc: dao mổ bisturi, pank, kéo.

+ Dụng cụ lấy máu gồm: kim lấy máu, xi lanh 10cc, kim tiêm, pank, tube tráng chất chống đông máu (EDTA).

- Bộ dụng cụ và hóa chất nhuộm tiêu bản tổ chức gồm: hệ thống tẩm đúc, các giéng nhuộm tiêu bản. Bộ hóa chất làm tiêu bản bệnh phẩm vi thể và hệ thống nhuộm tiêu bản gồm: formol 10%, parafin I, parafin II, cồn 60°, cồn 70°, cồn 80°, cồn 90°, cồn 100°, xylen I, xylen II, xylen III, thuốc nhuộm haematoxylin, thuốc nhuộm eosin, baume canada.

- Thuốc thử, kit các loại và thuốc thú y:

+ Các loại thuốc thử, các cặp môi dùng trong định danh sán lá *Eurytrema* spp. bằng kỹ thuật phân tử: nước khử ion, dung dịch đệm PCR buffer, dNTPs, cặp môi xuôi, cặp môi ngược, thuốc thử GoTaq DNA - polymerase, thang chỉ thị phân tử

ADN marker 3000 bp.

+ Các loại kit tách chiết: DNeasy Tissue Kit (Qiagen, Đức), QIAquick PCR purification Kit (Qiagen, Hilden, Đức), BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem, Mỹ).

+ Thuốc tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò gồm: thuốc albendazole, praziquantel và nitroxynil:

Thuốc albendazole, lọ 100 ml (thành phần: trong 1 ml có 10 mg albendazole); thuốc praziquantel, lọ 30ml (thành phần: 1 ml có praziquantel 56,8 mg, benzyl alcohol 75 mg, chlorobutanol 5 mg); thuốc nitroxynil, lọ 50ml (thành phần: trong 1 ml có nitroxynil 0,25 g).

+ Ba loại chế phẩm sinh học dùng để xử lý phân: EMUNIV (Công ty CP Vi sinh ứng dụng, Hà Nội), EMIC (Công ty CP công nghệ Vi sinh và Môi trường, Hà Nội) và EMZEO (Công ty TNHH công nghệ sinh học Đức Bình, Hà Nội).

** Các hóa chất và dụng cụ thí nghiệm khác.*

2.3. Nội dung nghiên cứu

2.3.1. Đặc điểm nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang qua xét nghiệm phân

- Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa trâu, bò tại các địa phương.
- Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo tuổi.
- Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo mùa vụ.
- Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo phương thức chăn nuôi.
- Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo vùng địa hình.

2.3.2. Nghiên cứu bệnh do sán lá tuyến tụy *Eurytrema spp.* gây ra ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

2.3.2.1. Định danh loài sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

- Mổ khám và thu thập sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang.
- Định danh loài sán lá tuyến tụy ở trâu, bò qua đặc điểm hình thái, cấu tạo.
- Thẩm định loài sán lá tuyến tụy ở trâu, bò bằng kỹ thuật phân tử.

2.3.2.2. Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ bệnh sán lá tuyến tụy ở đàn trâu, bò của tỉnh Tuyên Quang qua xét nghiệm phân

- Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại một số địa phương.
- Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy theo tuổi trâu, bò.
- Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo mùa vụ.
- Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo phương thức chăn nuôi.
- Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo vùng địa hình.

2.3.2.3. Nghiên cứu loài vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang

- Xác định loài ốc cạn - vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang.
- Xác định các loài châu chấu - vật chủ trung gian thứ hai của sán lá *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang.

2.3.2.4. Nghiên cứu đặc điểm bệnh lý và lâm sàng của bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

- Triệu chứng lâm sàng của trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy.
- Tổn thương đại thể của trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy.
- Tổn thương vi thể ở trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy
- Nghiên cứu sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa máu của trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy.

2.3.3. Nghiên cứu và đề xuất biện pháp phòng trị bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

2.3.3.1. Thử nghiệm thuốc tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

- Lựa chọn thuốc có hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò
- Xác định liều thuốc có hiệu lực cao tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò
- Ứng dụng thuốc có hiệu lực với liều thích hợp tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò tại các địa phương.

2.3.3.2. Nghiên cứu biện pháp phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

- Xác định tác dụng của biện pháp ủ phân trâu, bò với chế phẩm sinh học để diệt trứng sán lá tuyến tụy.

- Thử nghiệm thuốc tẩy dự phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang.

- Đề xuất biện pháp phòng chống tổng hợp bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp nghiên cứu đặc điểm nhiễm sán lá đường tiêu hóa trên trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

2.4.1.1. Phương pháp tính cỡ mẫu và một số quy định theo nội dung nghiên cứu

* Phương pháp điều tra dịch tễ: sử dụng phương pháp dịch tễ học mô tả cắt ngang, nghiên cứu can thiệp và các nghiên cứu thực nghiệm (Nguyễn Như Thanh và cs., 2001).

a. Dung lượng mẫu

* Mẫu phân

- Mẫu được thu thập ở các hộ chăn nuôi trâu, bò theo phương pháp lấy mẫu chùm nhiều bậc: lấy mẫu ở 5 huyện, thành phố của tỉnh Tuyên Quang (huyện Chiêm Hóa, Hàm Yên, Yên Sơn, Sơn Dương và thành phố Tuyên Quang), mỗi huyện lấy ở 5 xã, mỗi xã lấy ở 4 thôn, tại mỗi thôn lấy mẫu ngẫu nhiên tại các hộ chăn nuôi trâu, bò.

- Dung lượng mẫu của mỗi huyện, thành phố được tính toán trên phần mềm dịch tễ học OpenEpi version 3.01, 2013 (Dean và cs., 2013). Với tỷ lệ nhiễm sán lá dự đoán là 30%, độ tin cậy 95%, tổng số trâu, bò cần lấy mẫu phân tại 5 huyện và thành phố của tỉnh Tuyên Quang theo tính toán là 1.600 con trâu, bò (320 trâu, bò/huyện, thành phố). Tuy nhiên, trong thực tế triển khai đề tài, chúng tôi đã thu thập mẫu phân của 1.750 con trâu, bò (350 con/huyện, thành phố).

* *Số lượng trâu, bò mổ khám*: Mổ khám 30 trâu và 30 bò/ huyện, thành phố tại một số cơ sở giết mổ; tổng số trâu, bò mổ khám ở 5 huyện, thành phố là 150 trâu và 150 bò.

Số mẫu phân đã thu thập và số trâu, bò mổ khám ở các huyện, thành phố được trình bày ở bảng 2.1.

Bảng 2.1. Số mẫu phân và số trâu, bò mổ khám ở các địa phương

TT	Địa phương (huyện, thành phố)	Số lượng trâu, bò thu thập mẫu phân (con)			Số lượng trâu, bò mổ khám (con)		
		Trâu	Bò	Tổng	Trâu	Bò	Tổng

1	Chiêm Hóa	280	70	350	30	30	60
2	Hàm Yên	260	90	350	30	30	60
3	Yên Sơn	240	110	350	30	30	60
4	Sơn Dương	225	125	350	30	30	60
5	TP. Tuyên Quang	255	95	350	30	30	60
Tổng số		1.260	490	1.750	150	150	300

b. Một số quy định theo nội dung nghiên cứu

- Tuổi trâu, bò:

Tuổi của trâu, bò được chia thành 4 nhóm: ≤ 2 năm tuổi, $> 2 - 5$ năm tuổi, $> 5 - 8$ năm tuổi và > 8 năm tuổi.

- Phương thức chăn nuôi:

Theo dõi trâu, bò chăn nuôi theo hai phương thức:

+ Nuôi chăn thả hoàn toàn: mỗi nông hộ nuôi dưới 10 con trâu, bò, hoàn toàn tận dụng nguồn thức ăn sẵn có trong tự nhiên, chuồng trại rất đơn sơ, sáng chăn thả, cuối buổi chiều cho về chuồng (thời gian chăn thả khoảng 8 - 9 giờ/ngày).

+ Nuôi bán chăn thả: mỗi nông hộ chăn nuôi từ 10 - 30 con; thức ăn nuôi trâu, bò gồm các loại cỏ trồng, cỏ tự nhiên, các phế phụ phẩm của ngành trồng trọt và bổ sung một phần thức ăn tinh; chuồng trại xây dựng tương đối chắc chắn, cao ráo sạch sẽ, có rãnh thoát nước. Thời gian chăn thả trong ngày ngắn (khoảng 3 - 4 giờ/ngày).

- Mùa vụ trong năm:

Theo dõi trâu, bò ở hai mùa vụ:

+ Vụ Đông - Xuân: từ tháng 11 đến tháng 4 năm sau.

+ Vụ Hè - Thu: từ tháng 5 đến tháng 10.

- Vùng địa hình:

Dựa vào bản đồ địa lý của tỉnh Tuyên Quang; căn cứ vào địa hình của các huyện, thành phố nghiên cứu; theo Nguyen và cs. (2017), phân thành 3 vùng:

+ Vùng núi cao: có độ cao trung bình 250 - 1.774 m so với mực nước biển.

+ Vùng đồi núi thấp: có độ cao trung bình 30 - 250 m so với mực nước biển.

+ Vùng bằng phẳng: có độ cao trung bình 0 - 30 m so với mực nước biển.

2.4.1.2. Phương pháp thu thập và xét nghiệm mẫu phân

* Phương pháp lấy mẫu phân

Mẫu phân được lấy trực tiếp từ trực tràng trâu, bò hoặc lấy mẫu phân trâu, bò mới thải, mỗi mẫu khoảng 10 - 20 gam. Đựng mẫu trong lọ nhựa có nắp hoặc túi nylon có khóa miệng, có nhãn ghi các thông tin: số thứ tự trâu, bò; tên chủ hộ; tuổi trâu, bò; khối lượng trâu, bò; phương thức chăn nuôi và các biểu hiện lâm sàng của trâu, bò (nếu có), thời gian và địa điểm thu thập mẫu.

Các mẫu lấy xong được xét nghiệm ngay trong ngày. Nếu chưa xét nghiệm ngay thì bảo quản mẫu bằng cách nhỏ vào mẫu phân 1 giọt formol 10% (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2011) và bảo quản ở nhiệt độ 4 - 8°C, thời gian không quá 3 ngày.

* *Phương pháp xét nghiệm mẫu phân tìm trứng các loài sán lá đường tiêu hóa*

- Xét nghiệm phân trâu, bò bằng phương pháp lắng cặn (Benedek, 1943) để phát hiện trứng sán lá trong mỗi mẫu phân.

- Phân biệt hình thái trứng các loài sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò:

+ Trứng sán lá gan lớn: Trứng của loài *Fasciola gigantica* dài 0,156 - 0,197 mm, rộng 0,090 - 0,104 mm. Trứng sán hình bầu dục, phình rộng ở giữa, thon dần về phía hai đầu, đầu hơi nhỏ hơn có nắp trứng. Trứng màu vàng nâu, phôi bào phân bố đều và xếp kín vỏ. Trứng của loài *Fasciola hepatica* có hình dạng, màu sắc tương tự như loài *F. gigantica*, dài 0,13 - 0,15 mm, rộng 0,063 - 0,090 mm.

+ Trứng sán lá dạ cỏ (*Paramphistomum* spp.): Trứng màu tro nhạt, hình trứng, đầu nhỏ có nắp, dài 0,116 - 0,189 mm, rộng 0,052 - 0,065 mm.

+ Trứng sán lá tuyến tụy và trứng sán lá gan nhỏ có hình thái, cấu tạo gần giống nhau. Các đặc điểm của trứng cụ thể như sau:

Đặc điểm	Trứng <i>Dicrocoelium</i> spp.	Trứng <i>Eurytrema</i> spp.
Kích thước	40 - 60 μ m	25 - 30 μ m
Hình thái	Thon dài	Hình bầu dục
Màu sắc	Nâu	Nâu vàng
Vỏ	Mỏng, gồ gề	Dày, trơn nhẵn
Nắp	Có	Có
Ấu trùng trong trứng	Có	Có

2.4.2. Phương pháp nghiên cứu bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò

2.4.2.1. Phương pháp mổ khám trâu, bò, thu thập và định danh loài sán lá tuyến tụy

* Mổ khám trâu, bò:

- Mổ khám 300 trâu, bò ở 5 huyện, thành phố theo phương pháp mổ khám không toàn diện của Skrjabin (1928), thu thập sán lá trưởng thành ký sinh tuyến tụy trâu, bò.

* Định danh loài sán lá tuyến tụy bằng kỹ thuật hình thái học

Định danh loài sán lá tuyến tụy theo khóa định loại của Nguyễn Thị Lê và cs. (1996), Mohanta và cs. (2015), Leite và cs. (2020).

- Quan sát hình thái thấy: các cá thể sán lá tuyến tụy đã thu được đều có hình thái thuộc 2 loài khác nhau.

- Nhuộm carmin một số cá thể sán thuộc mỗi loài để quan sát cấu tạo của chúng.

- Đo kích thước một số chiều đo của 15 cá thể thuộc mỗi loài.

Từ kết quả quan sát hình thái, đo kích thước và quan sát cấu tạo của sán, kết luận về loài sán định danh.

* Thẩm định loài sán lá tuyến tụy bằng kỹ thuật sinh học phân tử

Để có kết luận chính xác về loài sán lá tuyến tụy ký sinh, chúng tôi đã áp dụng kỹ thuật sinh học phân tử để thẩm định 6 mẫu sán lá tuyến tụy (mỗi loài thẩm định 3 mẫu). Sau khi thực hiện phản ứng PCR, lựa chọn 1 mẫu đại diện cho mỗi loài để giải trình tự gen.

Các bước thực hiện phương pháp PCR, giải trình tự gen sán lá tuyến tụy như sau:

- Chọn gen đích: đoạn gen 18S rRNA (18 subunit ribosomal RNA) và ITS2 (the second internal transcribed spacer) của hệ gen nhân được chọn để phân tích.

- Tách chiết ADN tổng số:

Mẫu sán lá bảo quản trong cồn ethanol 96° được rửa sạch bằng nước cất, sau đó được tách chiết ADN tổng số bằng DNeasy Tissue Kit (Qiagen, Đức) theo quy trình của nhà sản xuất:

+ Cho mẫu cần tách chiết vào ống eppendorf 1,5 ml.

- + Bổ sung 180 μ l dung dịch đệm ATL và 20 μ l Proteinase K.
- + Ủ hỗn dịch ở 55°C/1h cho đến khi mẫu tan hoàn toàn.
- + Bổ sung thêm 200 μ l đệm AL rồi trộn đều.
- + Ủ hỗn dịch ở 70°C trong 10 phút rồi trộn đều.
- + Thêm 200 μ l cồn ethanol 96° và chuyển toàn bộ hỗn dịch vào cột spin.
- + Ly tâm tốc độ 8000 vòng/phút trong 1 phút, chuyển cột spin sang ống eppendoff mới.
- + Thêm 500 μ l đệm AW1, ly tâm 8000 vòng/phút trong 1 phút, bỏ dịch qua cột.
- + Tiếp tục thêm 500 μ l đệm AW2 rồi ly tâm 13000 vòng/phút trong 3 phút.
- + Đặt cột spin vào ống eppendorf 1,5 ml rồi bổ sung thêm 200 μ l dung dịch đệm AE, để yên tại nhiệt độ phòng trong 1 phút, sau đó ly tâm 8000 vòng/phút trong 1 phút.
- Nhân bản trình tự gen đích bằng kỹ thuật PCR tiêu chuẩn, sử dụng cặp mồi SSU18A và SSU26R cho đoạn gen 18S rRNA (Jaleta và cs., 2017); cặp mồi 3S và A28 cho đoạn gen ITS2 (Bowles và cs., 1995).

Bảng 2.2. Trình tự mồi tương ứng với đoạn gen tương ứng

Đoạn gen	Tên cặp mồi	Trình tự mồi (5' - 3')
18S rRNA	SSU18A	5'-AAAGATTAAGCCATGCATG-3'
	SSU26R	5'-CATTCTTGGCAAATGCTTTCG-3'
ITS2	3S	5'-AGC GGT GGA TCA CTC GGC TCG TG-3'
	A28	5'-GGG ATC CTG GTT AGT TTC TTT TCC GC-3'

Thành phần phản ứng PCR với các thể tích tương ứng như sau:

Bảng 2.3. Thành phần hỗn hợp phản ứng PCR

TT	Thành phần	Thể tích (μ l)
1	PCR Master Mix 2X Promega	12,5

2	Mồi xuôi (10 pmol)	1,0
3	Mồi ngược (10 pmol)	1,0
4	ADN tổng số 50 ng/ml	2,0
5	Nước cất khử ion	8,5
Tổng thể tích		25,0

- Chu trình nhiệt của phản ứng PCR như sau: biến tính ở 95°C/3 phút, tiếp theo là 30 chu kỳ: 95°C/30 giây, 54°C/1 phút, 72°C/1 phút và kết thúc 72°C/10 phút, giữ mẫu ở 4°C. Phản ứng PCR được thực hiện trên máy PCR system 9700 (Mỹ).

- Điện di kiểm tra kết quả PCR trên gel agarose 1%, nhuộm ethidium bromide trong 30 phút và soi dưới đèn tia UV. Cách tiến hành như sau:

+ Chuẩn bị gel agarose 1%: cân 0,5 gam agarose vào cốc đong chịu nhiệt rồi cho 50 ml dung dịch đệm TBE 1X vào cốc. Cho vào lò vi sóng đun đến khi agarose tan chảy hết. Sau đó, đổ thạch đã tan chảy vào hệ thống điện di đã gài lược có răng tạo giếng đến ngập răng lược khoảng 0,5 cm, để nguội ở nhiệt độ phòng. Khi thạch nguội chuyển miếng thạch vào hộp điện di chứa đệm TAE 1X, bổ sung đệm sao cho dung dịch đệm ngập bản gel.

+ Tra mẫu: lấy 5 µl sản phẩm trộn với 2 µl loading buffer tra vào từng giếng trên gel.

+ Tra chỉ thị phân tử (ADN marker): tra 5 µl chỉ thị phân tử vào giếng chứa thang chuẩn.

+ Chạy điện di ở 100 - 120V trong 20 - 30 phút.

+ Rửa sạch bằng nước cất, soi qua tia cực tím.

- Tinh khiết sản phẩm PCR bằng bộ hóa chất QIAquick PCR purification kit (Qiagen Inc., Đức) theo quy trình như sau:

+ Thêm 200 µl PB vào 40 µl sản phẩm rồi trộn đều.

+ Chuyển cột, ly tâm 13000 vòng/phút trong 1 phút, bỏ dịch qua cột.

+ Thêm 750 µl PE, ly tâm 13000 vòng/phút trong 1 phút, bỏ dịch qua cột.

+ Ly tâm tiếp 13000 vòng/1 phút trong 1 phút, bỏ dịch qua cột.

+ Chuyển cột sang ống eppendorf mới, thêm 30 μ l dung dịch EB, ly tâm 13000 vòng/phút trong 1 phút. Sản phẩm PCR tinh sạch thu nhận và giữ ở -20°C cho đến khi sử dụng.

- Sản phẩm PCR được giải trình tự bằng máy tự động ABI Prism 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystem, Mỹ), sử dụng BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit. Mỗi mẫu được giải trình tự 2 sợi xuôi và ngược.

- Xây dựng cây phả hệ phát sinh chủng loại bằng phương pháp Maximum Likelihood (ML) trên phần mềm MEGA X (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) (Kumar và cs., 2018) với mô hình thích hợp. Độ tin cậy của các nhóm được đánh giá bằng giá trị bootstrap với 1000 mẫu lặp.

2.4.2.2. Phương pháp xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò

- Xét nghiệm mẫu phân trâu, bò để tìm trứng sán lá tuyến tụy theo phương pháp lắng cặn Benedek (1943). Quan sát tiêu bản cặn lắng của từng mẫu phân dưới kính hiển vi quang học, độ phóng đại 100 lần để tìm trứng sán lá tuyến tụy.

Đánh giá kết quả: những mẫu phân tìm thấy trứng sán lá tuyến tụy được xác định là có nhiễm, ngược lại là không nhiễm. Cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy được xác định bằng phương pháp đếm trứng Mc. Master (đếm số trứng sán lá tuyến tụy có trong 1 gam phân trên buồng đếm Mc. Master theo tài liệu của Hansen và Perry, 1994).

Chúng tôi đã căn cứ vào số trứng sán lá tuyến tụy/g phân và biểu hiện lâm sàng của trâu, bò nhiễm sán để quy định 3 mức cường độ nhiễm:

Mức (+): Trâu, bò có < 300 trứng/g phân, không có triệu chứng lâm sàng.

Mức (++) : Trâu, bò có 300 - 600 trứng/g phân, có triệu chứng lâm sàng nhưng không rõ rệt.

Mức (+++) : Trâu, bò có > 600 trứng/g phân, có triệu chứng lâm sàng rõ rệt.

2.4.2.3. Phương pháp xác định loài ốc cạn và châu chấu - vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang

** Phương pháp thu thập và định danh các loài ốc cạn*

- Thu thập ốc cạn ở các bãi cỏ trong khu vực chăn nuôi trâu, bò và ở gần chuồng trâu, bò. Các mẫu thu được ở mỗi xã được để riêng trong các hộp, có nhãn ghi những thông tin cần thiết (số lượng cá thể, thời gian và địa điểm thu mẫu).

- Mẫu ốc cạn sau khi thu thập được bảo quản trong cồn 70° và định danh loài dựa trên đặc điểm hình thái của vỏ cá thể trưởng thành (chiều cao vỏ, chiều rộng vỏ). Chiều cao vỏ (H) được tính từ đỉnh vỏ đến phần thấp nhất của đáy vỏ, chiều rộng vỏ (D) là phần rộng nhất của vòng xoắn cuối (bao gồm cả môi). Kích thước được tính bằng mm (milimét) trên thước kẹp Palme.

- Định danh loài ốc cạn ở Tuyên Quang tại Trung tâm khoa học sự sống - Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam, theo khóa định loại của Schileyko (2011), Đặng Ngọc Thanh và Hồ Thanh Hải (2019).

- Sau khi định danh loài, tiếp tục xác định các loài ốc cạn là vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang bằng cách tham chiếu với các loài ốc cạn đã được tác giả khác xác định là vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy.

** Phương pháp thu thập và định danh các loài châu chấu*

- Dùng vợt nylon để bắt châu chấu ở các bãi cỏ, ruộng lúa, khu vực chăn thả trâu, bò. Châu chấu thu ở mỗi xã được nuôi trong hộp nhựa có nắp đậy là lưới cước và chứa lá cỏ. Ngoài mỗi hộp có nhãn ghi những thông tin cần thiết (số lượng cá thể, thời gian và địa điểm thu mẫu).

- Định danh các loài châu chấu theo khóa định loại của Lưu Tham Mưu và Đặng Đức Khương (2000), Cigliano (2020).

- Sau khi định danh loài, tiếp tục xác định các loài châu chấu là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang bằng cách tham chiếu với các loài châu chấu đã được tác giả khác xác định là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy.

2.4.2.4. Phương pháp nghiên cứu một số đặc điểm bệnh lý và lâm sàng của bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò

** Phương pháp xác định triệu chứng lâm sàng của bệnh*

Triệu chứng lâm sàng được quan sát ở những trâu, bò chỉ nhiễm sán lá tuyến tụy và không nhiễm các loại giun, sán khác. Cách tiến hành như sau:

Sau khi có kết quả xét nghiệm phân của 1.750 trâu, bò bằng phương pháp lắng cặn, thấy có 371 trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy. Tiếp tục dùng phương pháp Fulleborn xét nghiệm mẫu phân của 371 trâu, bò này để loại ra những trâu, bò

nhiễm giun tròn. Từ đó, thấy có 136 trâu, bò chỉ nhiễm sán lá tuyến tụy.

Quan sát 136 trâu, bò này phát hiện những biểu hiện không bình thường về thể trạng, niêm mạc, trạng thái và màu sắc phân, tình trạng ăn uống, vận động...

** Phương pháp xác định tổn thương đại thể*

Trong quá trình mổ khám 300 con trâu, bò (mỗi huyện, thành phố mổ khám 60 trâu, bò) để thu thập sán lá tuyến tụy, đồng thời xác định các tổn thương đại thể của trâu, bò nhiễm sán. Quan sát bằng mắt thường và kính lúp tuyến tụy, ống dẫn tụy, chụp ảnh những vùng có tổn thương điển hình do sán lá tuyến tụy gây ra.

** Phương pháp xác định tổn thương vi thể*

Cố định bệnh phẩm: ngâm miếng tổ chức vào dung dịch formol 10% (đảm bảo bệnh phẩm ngập trong formol).

Phương pháp làm tiêu bản vi thể được thực hiện theo quy trình cắt cúp tổ chức, nhuộm haematoxylin - eosin (HE).

Đọc tiêu bản dưới kính hiển vi quang học, độ phóng đại 150 - 600 lần, chụp ảnh các biến đổi vi thể trên tiêu bản.

** Phương pháp xét nghiệm một số chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa máu trâu, bò*

- Phương pháp lấy mẫu máu:

Lấy mẫu máu ở tĩnh mạch cổ của 15 trâu và 15 bò nhiễm sán lá tuyến tụy với cường độ nhiễm > 600 trứng/g phân, đồng thời lấy mẫu máu của 15 trâu và 15 bò khỏe. Lấy máu trâu, bò vào buổi sáng, trước khi cho ăn. Mỗi trâu, bò lấy 10 ml máu vào tube vô trùng có tráng chất chống đông (EDTA). Bảo quản các mẫu máu trong bình bảo ôn, vận chuyển về phòng thí nghiệm để xét nghiệm ngay trong ngày.

- Phương pháp xét nghiệm:

Các chỉ tiêu sinh lý máu của trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy và trâu, bò khỏe được phân tích trên máy ABX Micros 60 (hãng Horiba Medical, Pháp). Các chỉ tiêu sinh hóa máu được phân tích trên máy Chemray 240 (hãng Rayto, Trung Quốc).

Các chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa máu trâu khỏe được tham chiếu với tài liệu của Abd Ellah và cs. (2014); Lư Tuấn Nghĩa và Nguyễn Bá Tiếp (2016).

Các chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa máu bò khỏe được tham chiếu với tài liệu của Hoàng Toàn Thắng và Cao Văn (2006); Kaneko và cs. (2008).

Các chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa máu của trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy ở Tuyên Quang được so sánh với các chỉ tiêu tương ứng của trâu, bò khỏe để xác định

có sự thay đổi hay không.

Bảng 2.4. Một số chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa máu của trâu, bò cần xác định

TT	Chỉ tiêu sinh lý máu và công thức bạch cầu (đơn vị UI)	Chỉ tiêu sinh hóa máu (đơn vị UI)
1	Số lượng hồng cầu ($10^6/\text{mm}^3$)	Protein (g/L)
2	Hemoglobin (g/dL)	Albumin (g/L)
3	Hematocrit (%)	Globulin (g/L)
4	Số lượng bạch cầu ($10^3/\text{mm}^3$)	Gamma glutamyl transferase (U/L)
5	Bạch cầu ái toan (%)	Aspartate aminotransferase (U/L)
6	Bạch cầu ái kiềm (%)	Amylase (U/L)
7	Bạch cầu trung tính (%)	Cholesterol (mg/dL)
8	Bạch cầu lympho (%)	Glucose (mg/dL)
9	Bạch cầu đơn nhân lớn (%)	

2.4.3. Phương pháp nghiên cứu và đề xuất biện pháp phòng trị bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

2.4.3.1. Phương pháp nghiên cứu thuốc tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

* Phương pháp xác định loại thuốc có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

Thử nghiệm ba loại thuốc có tác dụng tẩy sán lá (Võ Thị Trà An, 2010) trên trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy với cường độ nhiễm (++) và (+++) để lựa chọn loại thuốc có hiệu lực tẩy cao. Nội dung này được tiến hành trên trâu, bò tại huyện Sơn Dương và Yên Sơn.

Sơ đồ bố trí thử nghiệm 3 loại thuốc được trình bày ở bảng 2.5.

Bảng 2.5. Sơ đồ bố trí thử nghiệm 3 loại thuốc tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

STT	Thuốc và liều lượng	Đường đưa thuốc	Số trâu, bò dùng thuốc	Thời gian xét nghiệm phân sau tẩy (ngày)
1	Albendazole (12,5 mg/kg TT)	Cho uống	10	15
2	Praziquantel (15 mg/kg TT)	Tiêm dưới da	10	15
3	Nitroxynil (1ml/ 25 kg TT)	Tiêm dưới da	10	15

Sau khi xác định được trong 3 loại thuốc chỉ có praziquantel có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò, chúng tôi đã chọn thuốc praziquantel để xác định liều tẩy phù hợp.

** Phương pháp xác định liều thuốc praziquantel có hiệu lực cao tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò*

Bước 1: Bố trí tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò bằng thuốc praziquantel với 3 mức liều khác nhau.

Theo Sakamoto và cs. (1980), Võ Thị Trà An (2010), thuốc praziquantel có thể tẩy sán lá tuyến tụy với liều 10 - 15 mg/kg TT. Tuy nhiên, Sousa và Castro (2022) cho biết: thuốc praziquantel có thể tẩy sán lá tuyến tụy cho gia súc nhai lại với liều 20 - 25 mg/kg TT.

Như vậy, chưa có sự thống nhất giữa các tác giả về liều thuốc praziquantel có hiệu lực tẩy cao. Vì vậy, chúng tôi đã thử nghiệm thuốc trên trâu, bò với 3 mức liều: 15 mg/kg TT, 18 mg/kg TT và 20 mg/kg TT.

Sơ đồ bố trí tẩy sán lá tuyến tụy bằng 3 mức liều praziquantel được trình bày ở bảng 2.6.

Bảng 2.6. Bố trí tẩy sán lá tuyến tụy bằng 3 mức liều praziquantel

Lô	Số trâu, bò dùng thuốc	Liều thuốc praziquantel sử dụng	Đường cho thuốc	Xét nghiệm phân sau tẩy (ngày)
I	10	15 mg/kg TT	Tiêm dưới da	15
II	10	18 mg/kg TT	Tiêm dưới da	15
III	10	20 mg/kg TT	Tiêm dưới da	15
Đối chứng	10	Không sử dụng	-	15

Sau khi có kết quả, chọn 2 mức liều có hiệu lực cao hơn để thực hiện bước tiếp theo.

Bước 2: Bố trí tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò bằng 2 mức liều thuốc praziquantel đã lựa chọn.

Sử dụng 2 mức liều đã xác định có hiệu lực cao (từ kết quả của bước 1) để tiếp tục tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò. Mỗi liều thuốc sử dụng cho 30 con trâu, bò. Sau 15 ngày dùng thuốc, xét nghiệm lại phân trâu, bò để xác định hiệu lực của mỗi

liều thuốc đã sử dụng. Từ đó chọn được liều thuốc praziquantel có hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò cao nhất.

Bước 3: Sử dụng thuốc praziquantel liều có hiệu lực cao nhất tẩy sán lá tuyến tụy cho những trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy còn lại ở các địa phương.

** Cách xác định hiệu lực của thuốc/ liều thuốc*

Xác định cường độ nhiễm trước khi sử dụng thuốc bằng cách đếm số trứng sán/gam phân. Sau khi dùng thuốc 15 ngày, xét nghiệm lại phân trâu, bò, đếm số trứng/gam phân. Từ đó đánh giá được hiệu lực của thuốc/ liều thuốc đã sử dụng.

- Nếu thấy số lượng trứng sán/gam phân không giảm so với trước khi dùng thuốc thì đánh giá: loại thuốc/ liều thuốc đã dùng không có hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò.

- Nếu vẫn thấy còn trứng sán lá tuyến tụy nhưng số lượng trứng sán/gam phân đã giảm 50 - 70% so với trước khi dùng thuốc thì đánh giá: loại thuốc/ liều thuốc đã dùng có hiệu lực tẩy nhưng chưa triệt để.

- Nếu không thấy còn trứng sán lá tuyến tụy trong phân thì đánh giá: loại thuốc/ liều thuốc đã dùng có hiệu lực tẩy triệt để.

- Độ an toàn của các thuốc/ liều thuốc dùng được đánh giá bằng cách theo dõi trạng thái cơ thể, sự vận động, ăn uống và những biểu hiện khác của trâu, bò trước và sau khi dùng thuốc.

Để sử dụng đúng liều thuốc tẩy, xác định khối lượng trâu, bò bằng cách đo kích thước một số chiều đo và tính khối lượng trâu, bò theo tài liệu của Nguyễn Xuân Trạch và cs. (2021). Các công thức tính khối lượng trâu, bò như sau:

$$\text{Khối lượng trâu (kg)} = 90,0 \times (\text{VN})^2 \times \text{DTC} (\pm 5\%)$$

$$\text{Khối lượng bò (kg)} = 88,4 \times (\text{VN})^2 \times \text{DTC} (\pm 5\%)$$

Trong đó:

VN (vòng ngực): là chu vi mặt cắt ngang sau xương bả vai (tính bằng mét)

DTC (dài thân chéo): là chiều dài từ mỏm xương bả vai đến điểm tận cùng của xương ngò (tính bằng mét).

2.4.3.2. Phương pháp nghiên cứu và đề xuất biện pháp phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

a) Phương pháp xác định tác dụng của biện pháp ủ phân với chế phẩm sinh

học

Tác dụng của biện pháp ủ phân với chế phẩm sinh học được đánh giá qua: tác dụng diệt trứng sán lá tuyến tụy trong phân trước và sau ủ.

Các bước thực hiện như sau:

Bước 1: Chọn 20 hộ (là những hộ có trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy, có lượng phân tồn lưu nhiều) để ủ phân với chế phẩm sinh học.

Bước 2: Thu thập mẫu phân trước khi ủ ở 20 hộ để xét nghiệm trứng sán lá tuyến tụy trong phân.

Bước 3: Ủ phân trâu, bò với chế phẩm sinh học:

+ 7 hộ chăn nuôi trâu, bò được ủ phân với chế phẩm EMUNIV.

+ 6 hộ chăn nuôi trâu, bò được ủ phân với chế phẩm EMIC.

+ 7 hộ chăn nuôi trâu, bò được ủ phân với chế phẩm EMZEO.

Cách sử dụng chế phẩm sinh học để ủ phân trâu, bò:

- Đối với chế phẩm EMUNIV: 1 gói (200 g) hòa với nước sạch, tưới đều cho 1 tấn phân trâu bò, trộn đều, đánh đồng, che bạt, ủ trong 20 - 30 ngày.

- Đối với chế phẩm EMIC: 2 gói (400 g) hòa với nước sạch, tưới đều cho 1 tấn phân trâu bò, đánh đồng, che bạt, sau 7 - 10 ngày thì đảo trộn, ủ trong 20 - 25 ngày.

- Đối với chế phẩm EMZEO: 1 gói (200 g) hòa với nước sạch, tưới đều cho 1 tấn phân chuồng, đảo trộn, đánh đồng, che bạt, ủ trong 25 - 30 ngày.

Bước 4: Thu thập mẫu phân sau 20 - 25 ngày ủ để xét nghiệm trứng sán lá tuyến tụy trong phân.

** Phương pháp thu thập và xét nghiệm mẫu phân trước và sau khi ủ*

- Tại mỗi hộ, tiến hành lấy mẫu phân trước và sau khi ủ với chế phẩm sinh học, lấy ở 10 vị trí có độ sâu khác nhau, mỗi vị trí lấy khoảng 15 - 20 gam phân, trộn đều được 1 mẫu xét nghiệm. Xét nghiệm mẫu phân bằng phương pháp lắng cặn để phát hiện trứng sán lá tuyến tụy.

- Đánh giá tác dụng diệt trứng sán lá tuyến tụy của biện pháp ủ phân với chế phẩm sinh học như sau:

+ Nếu sau khi ủ, vẫn thấy trứng sán lá tuyến tụy không giảm so với trước khi ủ thì đánh giá: phương pháp ủ phân với chế phẩm sinh học không có tác dụng diệt trứng sán lá tuyến tụy.

+ Nếu sau khi ủ, vẫn thấy còn trứng sán lá tuyến tụy nhưng đã giảm 50 - 70% so với trước khi ủ thì đánh giá: phương pháp ủ phân với chế phẩm sinh học đã có tác dụng diệt trứng sán lá tuyến tụy nhưng chưa triệt để.

+ Nếu sau khi ủ, không thấy còn trứng sán lá tuyến tụy trong phân thì đánh giá: phương pháp ủ phân với chế phẩm sinh học có tác dụng diệt trứng sán lá tuyến tụy tốt.

b) Nghiên cứu dùng thuốc tẩy dự phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

Nội dung này được thực hiện tại xã Hùng Mỹ, huyện Chiêm Hoá.

- Bố trí trâu, bò để dùng thuốc phòng bệnh

Tổng số 150 con trâu, bò được phân thành 3 lô: lô thí nghiệm 1 (TN1), lô thí nghiệm 2 (TN2) và lô đối chứng (ĐC). Trâu, bò ở các lô tương đối đồng đều về số lượng trâu và số lượng bò, về lứa tuổi, tính biệt, tình trạng vệ sinh thú y, tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy trước thí nghiệm.

Lô TN1: gồm 50 con trâu, bò được tẩy dự phòng sán lá tuyến tụy bằng thuốc praziquantel với liều tẩy có hiệu lực cao (từ kết quả thử nghiệm hiệu lực của thuốc trên trâu, bò) ở thời điểm đầu thí nghiệm. Theo dõi thí nghiệm trong 4 tháng.

Lô TN2: gồm 50 con trâu, bò được tẩy sán lá tuyến tụy 2 lần (lần 1 vào thời điểm đầu thí nghiệm và lần 2 vào thời điểm sau 2 tháng thí nghiệm). Theo dõi thí nghiệm trong 4 tháng.

Lô ĐC: gồm 50 con trâu, bò, không dùng thuốc tẩy. Theo dõi thí nghiệm trong 4 tháng.

- Các lần xét nghiệm mẫu phân trâu, bò thí nghiệm:

+ **Lần 1:** Xét nghiệm mẫu phân trước khi bố trí thí nghiệm để xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy bằng phương pháp lắng cặn, đếm số trứng trong 1 g phân. Từ đó bố trí 3 lô thí nghiệm đảm bảo tương đối đồng đều về tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy.

+ **Lần 2:** Xét nghiệm mẫu phân sau 1 tháng thí nghiệm.

Sau khi dùng thuốc phòng bệnh 1 tháng, xét nghiệm lại phân trâu, bò ở cả 3 lô để xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy. So sánh tỷ lệ nhiễm của 3 lô, từ đó đánh giá sơ bộ hiệu quả phòng bệnh của thuốc.

+ **Lần 3:** Xét nghiệm mẫu phân sau 4 tháng thí nghiệm

Sau 4 tháng thí nghiệm, xét nghiệm lại phân trâu, bò ở cả 3 lô, xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy. So sánh giữa 3 lô để đánh giá về: i) tác dụng phòng bệnh của thuốc, và ii) tác dụng phòng bệnh của số lần dùng thuốc.

c) Đề xuất biện pháp phòng trị tổng hợp bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

Biện pháp phòng trị tổng hợp bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò được đề xuất dựa trên những cơ sở khoa học sau:

- Kết quả nghiên cứu về sự lưu hành bệnh sán lá tuyến tụy trên trâu, bò.
- Kết quả thử nghiệm thuốc điều trị bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò.
- Kết quả nghiên cứu về biện pháp xử lý phân và sử dụng thuốc tẩy dụn phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò.

2.4.4. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý bằng phương pháp thống kê sinh học (theo tài liệu của Đỗ Đức Lực và cs., 2017), trên phần mềm Microsoft Excel 2010 và Minitab 16.0. Sử dụng hàm phân tích phương sai Anova với mô hình tuyến tính tổng quát General Linear Model, trên phần mềm Minitab 16.0 để xử lý thống kê số liệu của các tỷ lệ nhiễm.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò qua xét nghiệm phân

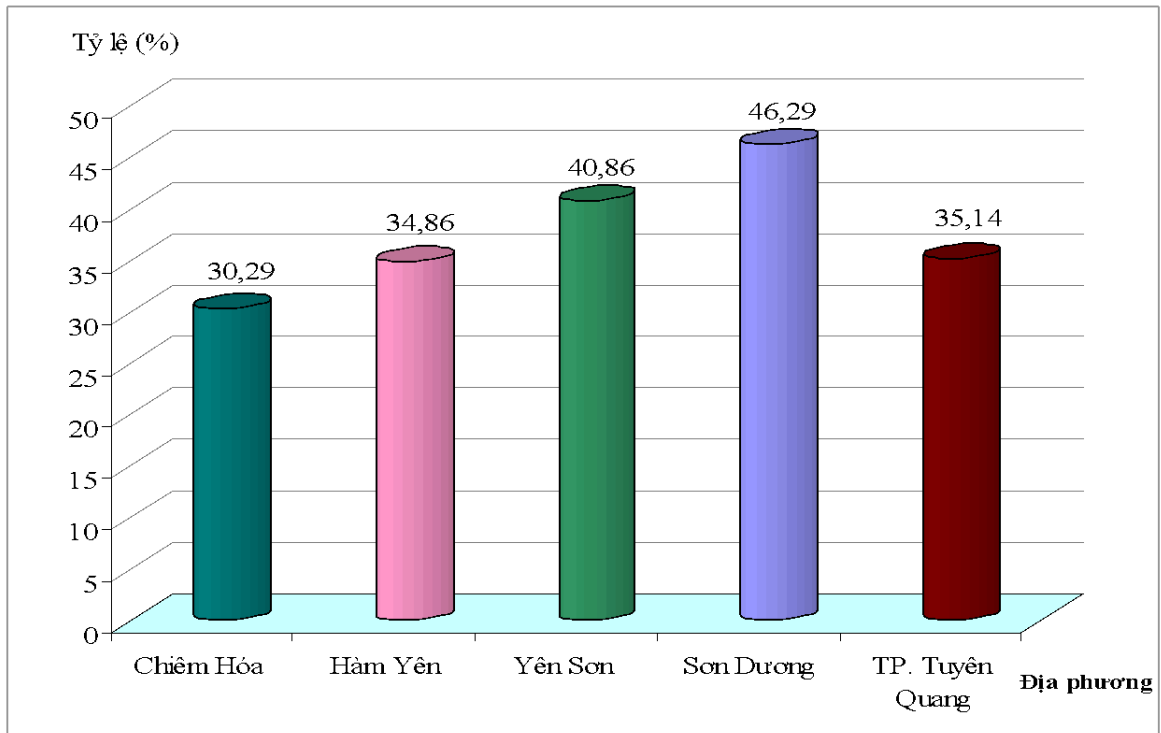
3.1.1. Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò tại các địa phương

Xét nghiệm mẫu phân của 1.750 con trâu, bò nuôi ở tỉnh Tuyên Quang để đánh giá tình hình nhiễm sán lá đường tiêu hóa. Kết quả về tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò tại 5 huyện, thành phố của tỉnh Tuyên Quang được trình bày ở bảng 3.1 và biểu đồ hình 3.1.

Bảng 3.1. Tỷ lệ nhiễm sán lá ở trâu, bò tại 5 huyện, thành phố của tỉnh Tuyên Quang

Loài gia súc	Địa phương (huyện, thành phố)	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)
Trâu	Chiêm Hóa	280	87	31,07
	Hàm Yên	260	92	35,38
	Yên Sơn	240	104	43,33
	Sơn Dương	225	105	46,67
	TP. Tuyên Quang	255	95	37,25
	Tính chung trâu		1.260	483
Bò	Chiêm Hóa	70	19	27,14
	Hàm Yên	90	30	33,33
	Yên Sơn	110	39	35,45
	Sơn Dương	125	57	45,60
	TP. Tuyên Quang	95	28	29,47
	Tính chung bò		490	173
Trâu + Bò	Chiêm Hóa	350	106	30,29 ^c
	Hàm Yên	350	122	34,86 ^{bc}
	Yên Sơn	350	143	40,86 ^{ab}
	Sơn Dương	350	162	46,29 ^a
	TP. Tuyên Quang	350	123	35,14 ^{bc}
	Tính chung trâu + bò		1.750	656

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 3.1. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa trâu, bò ở các địa phương

Bảng 3.1 và biểu đồ hình 3.1 cho thấy: tính chung tại 5 huyện, thành phố nghiên cứu đều có trâu, bò nhiễm sán lá đường tiêu hóa, trong đó có 656 trâu, bò nhiễm sán lá, chiếm 37,49%; biến động 30,29% - 46,29%.

Đối với trâu, tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa cao nhất tại huyện Sơn Dương (46,67%); tiếp đến là huyện Yên Sơn, thành phố Tuyên Quang và huyện Hàm Yên với tỷ lệ nhiễm lần lượt là 43,33%, 37,25% và 35,38%; thấp nhất là huyện Chiêm Hóa (31,07%).

Đối với bò, tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa cao nhất tại huyện Sơn Dương (45,60%); huyện Yên Sơn, huyện Hàm Yên và thành phố Tuyên Quang tỷ lệ nhiễm sán lá lần lượt là 35,45%, 33,33% và 29,47%; bò ở huyện Chiêm Hóa có tỷ lệ nhiễm thấp nhất (27,14%).

Quan sát hình thái trứng các loài sán lá dưới kính hiển vi cho thấy, chúng là trứng sán lá gan, trứng sán lá dạ cỏ và trứng sán lá tuyến tụy.

Tung và cs. (2012) cho biết: tại vùng Kim Môn của Đài Loan, tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa trung bình trên bò vàng là 31,2%.

Võ Thị Hải Lê và cs. (2017) đã xét nghiệm phân của 1.600 trâu, bò nuôi tại tỉnh Nghệ An. Tác giả cho biết: tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò là gần 30%.

Kaewnoi và cs. (2020) đã xét nghiệm phân trâu tại miền Nam Thái Lan, thấy tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa là 97,17%.

Theo Nguyễn Kiên Cường và Lê Xuân Hiền (2022), tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa trên bò ở các nông hộ của huyện Hóc Môn và huyện Củ Chi, thành phố Hồ Chí Minh là trên 31%.

Như vậy, tỷ lệ nhiễm sán lá trên trâu, bò ở Tuyên Quang thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Kaewnoi và cs. (2020); cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Võ Thị Hải Lê và cs. (2017), Tung và cs. (2012), Nguyễn Kiên Cường và Lê Xuân Hiền (2022).

Qua khảo sát thực tế chúng tôi thấy, ở Tuyên Quang, trâu, bò được nuôi chủ yếu theo phương thức chăn thả hoàn toàn và bán chăn thả, công tác vệ sinh thú y chưa tốt, việc xử lý phân để diệt trứng sán lá đường tiêu hóa ở nhiều nông hộ chưa được thực hiện, việc sử dụng thuốc tẩy sán lá định kỳ cho trâu, bò chưa được chú ý. Mặt khác, điều kiện khí hậu của tỉnh Tuyên Quang rất thuận lợi cho các loài vật chủ trung gian (ốc nước ngọt và ốc cạn) của sán lá đường tiêu hóa phát triển. Đó là những điều kiện thuận lợi để mầm bệnh xâm nhập và gây bệnh cho trâu, bò.

3.1.2. Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo tuổi

Lứa tuổi của trâu, bò là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến tính miễn cảm đối với bệnh sán lá đường tiêu hóa. Để có cơ sở khoa học xây dựng biện pháp phòng bệnh sán lá phù hợp với lứa tuổi trâu, bò, chúng tôi đã nghiên cứu biến động nhiễm sán lá đường tiêu hóa theo tuổi trâu, bò. Kết quả được trình bày ở bảng 3.2.

Kết quả ở bảng 3.2 cho thấy:

Tính riêng ở trâu và bò: trâu, bò ở tất cả các lứa tuổi đều nhiễm sán lá đường tiêu hóa với tỷ lệ nhiễm tăng dần theo tuổi. Trong đó, trâu, bò dưới 2 năm tuổi tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa là 25,73% và 21,57%; trâu, bò 2 - 5 năm tuổi tỷ lệ nhiễm là 35,76% và 32,14%; trâu, bò 5 - 8 năm tuổi tỷ lệ nhiễm là 40,36% và 36,84%; tỷ lệ này là 55,07% và 50,00% ở trâu, bò trên 8 năm tuổi.

Tính chung, tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò dưới 2 năm tuổi là 24,77% và cao nhất ở trâu, bò trên 8 năm tuổi (53,50%) ($P < 0,05$).

Võ Thị Hải Lê và cs. (2017) cho biết: trâu, bò tại tỉnh Nghệ An nhiễm sán lá gan tăng dần theo lứa tuổi, cao nhất là ở trâu, bò trên 5 năm tuổi (56,71% và 23,68%), thấp nhất ở trâu, bò dưới 3 năm tuổi (21,96% và 10,18%).

Bảng 3.2. Tỷ lệ nhiễm các loài sán lá ở trâu, bò theo tuổi

Loài gia súc	Tuổi trâu, bò (năm)	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)
Trâu	≤ 2	171	44	25,73
	$> 2 - 5$	453	162	35,76
	$> 5 - 8$	498	201	40,36
	> 8	138	76	55,07
	Tính chung trâu	1.260	483	38,33
Bò	≤ 2	51	11	21,57
	$> 2 - 5$	168	54	32,14
	$> 5 - 8$	209	77	36,84
	> 8	62	31	50,00
	Tính chung bò	490	173	35,31
Trâu + Bò	≤ 2	222	55	24,77 ^c
	$> 2 - 5$	621	216	34,78 ^{bc}
	$> 5 - 8$	707	278	39,32 ^b
	> 8	200	107	53,50 ^a
	Tính chung trâu + bò	1.750	656	37,49

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Đàm Văn Phải và cs. (2019) đã xét nghiệm phân của 130 trâu ở khu vực bãi bồi ven sông Hồng thuộc địa bàn quận Long Biên, Hà Nội. Tác giả cho biết: tỷ lệ

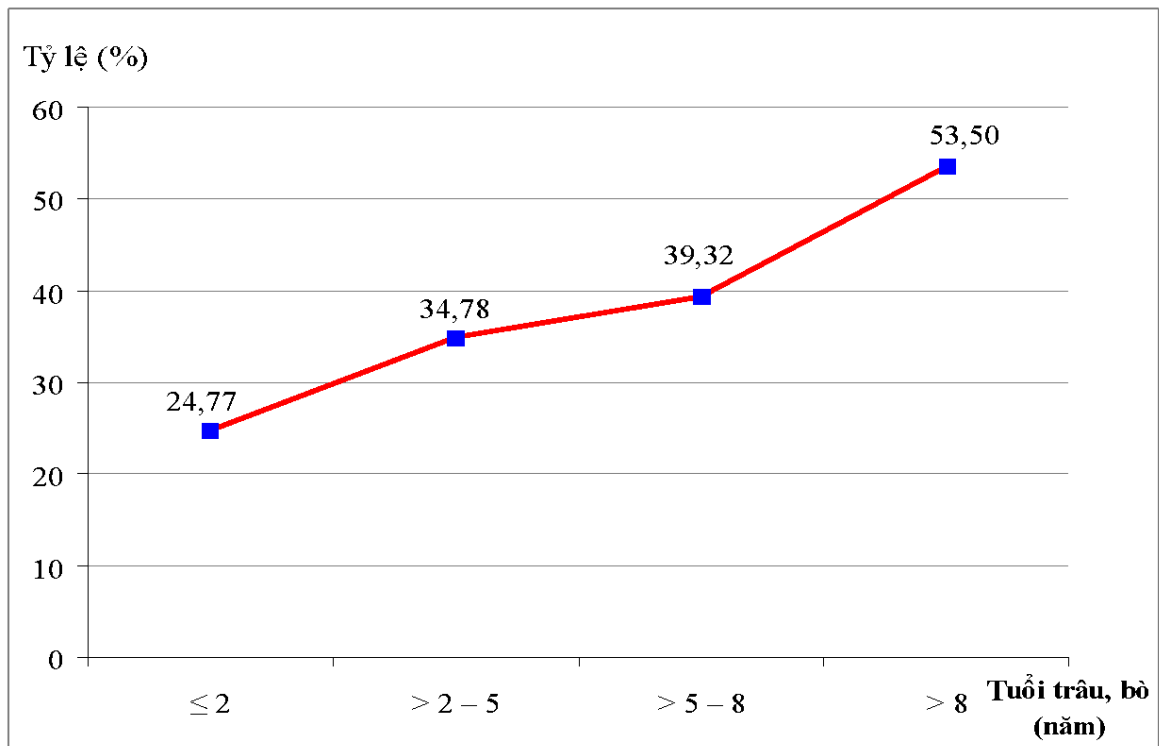
nhiễm sán lá gan tăng dần theo tuổi, trâu 37 - 120 tháng tuổi có tỷ lệ nhiễm sán lá gan cao nhất (83,3%), trâu dưới 6 tháng tuổi nhiễm thấp nhất (40%).

Nurhidayah và cs. (2020) cho biết: tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa tăng theo tuổi ở trâu nuôi tại đảo Java, Indonesia. Trong đó, trâu trưởng thành (hơn 3 năm tuổi) nhiễm sán lá nhiều nhất (66,72%) và thấp nhất ở trâu dưới 1 năm tuổi (9,66%).

Như vậy, biến động nhiễm sán lá đường tiêu hóa theo tuổi trâu, bò trong nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của Võ Thị Hải Lê và cs. (2017), Đàm Văn Phải và cs. (2019), Nurhidayah và cs. (2020).

Theo chúng tôi, trâu, bò tuổi càng cao thì thời gian tiếp xúc với môi trường sống có mầm bệnh càng nhiều, do đó trâu, bò bị nhiễm sán lá dần dần dẫn đến bội nhiễm. Ngoài ra, do thời gian sống của sán lá đường tiêu hóa trong cơ thể trâu, bò khá dài. Đó là những lý do giải thích tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa tăng lên theo tuổi trâu, bò ở các địa phương nghiên cứu.

Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo lứa tuổi được trình bày rõ hơn qua đồ thị ở hình 3.2.



Hình 3.2. Đồ thị tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa của trâu, bò theo lứa tuổi

Đồ thị ở hình 3.2 cho thấy rõ hơn quy luật nhiễm sán lá đường tiêu hóa theo tuổi của trâu, bò: đường biểu diễn tỷ lệ nhiễm sán lá ở trâu, bò đi lên theo hướng từ phía dưới bên trái tới phía trên bên phải, chứng tỏ tỷ lệ nhiễm sán lá tăng lên theo tuổi của trâu, bò.

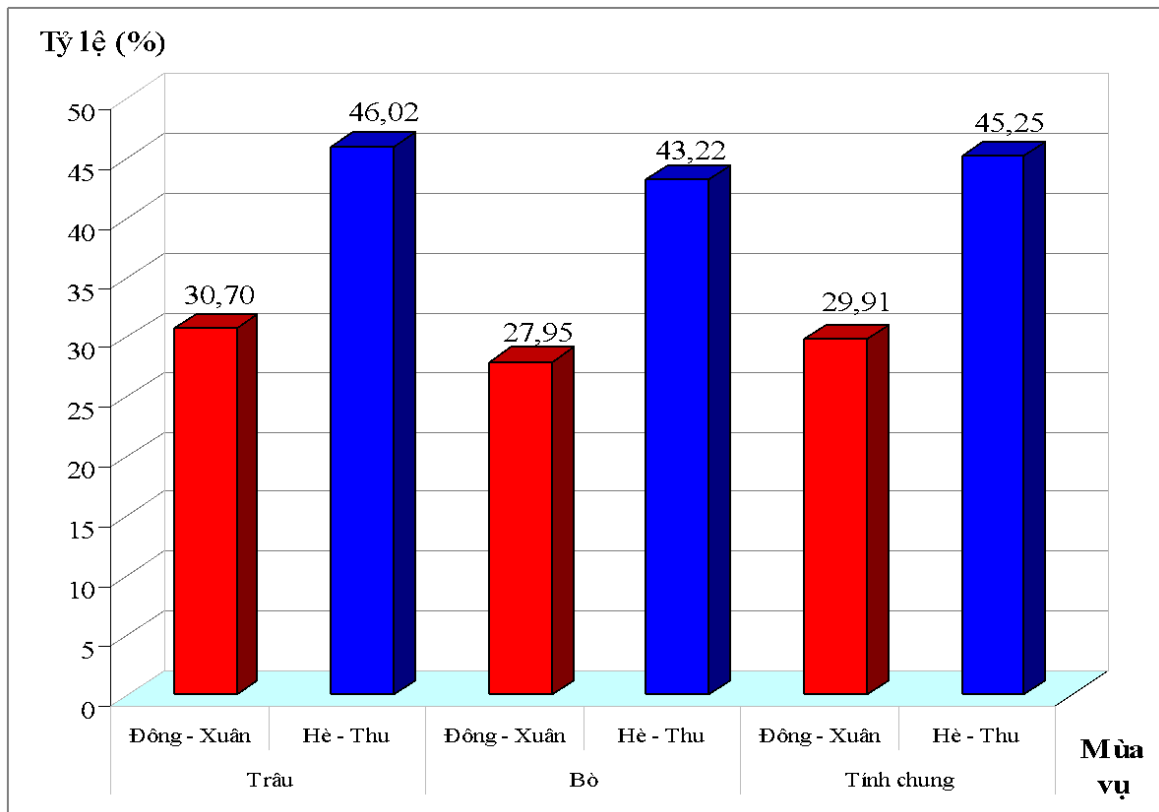
3.1.3. Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo mùa vụ

Nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo mùa vụ có ý nghĩa trong công tác phòng bệnh. Kết quả được trình bày ở bảng 3.3 và biểu đồ hình 3.3.

Bảng 3.3. Tỷ lệ nhiễm sán lá ở trâu, bò theo mùa vụ

Loài gia súc	Mùa vụ	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)
Trâu	Đông - Xuân	632	194	30,70
	Hè - Thu	628	289	46,02
	Tính chung trâu	1.260	483	38,33
Bò	Đông - Xuân	254	71	27,95
	Hè - Thu	236	102	43,22
	Tính chung bò	490	173	35,31
Trâu + Bò	Đông - Xuân	886	265	29,91 ^b
	Hè - Thu	864	391	45,25 ^a
	Tính chung trâu + bò	1.750	656	37,49

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 3.3. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sản lá đường tiêu hóa của trâu, bò theo mùa vụ

Kết quả bảng 3.3 và biểu đồ hình 3.3 cho thấy: trâu, bò nuôi ở 2 mùa vụ trong năm tại tỉnh Tuyên Quang đều nhiễm sản lá đường tiêu hóa. Cụ thể: trâu nuôi ở vụ Hè - Thu có tỷ lệ nhiễm sản lá cao hơn (46,02%), so với vụ Đông - Xuân (30,70%). Tương tự, tỷ lệ nhiễm sản lá trên bò ở vụ Hè - Thu cũng cao hơn so với vụ Đông - Xuân (43,22% so với 27,95%). Tính chung, tỷ lệ trâu, bò nhiễm sản lá đường tiêu hóa nhiều hơn vào vụ Hè - Thu (45,25%), nhiễm ít hơn vào vụ Đông - Xuân (29,91%). Sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm sản lá giữa hai mùa vụ là rõ rệt ($P < 0,05$).

Maqbool và cs. (2002) cho biết: tại tỉnh Punjab, Pakistan, tỷ lệ nhiễm sản lá đường tiêu hóa ở trâu có liên quan mật thiết đến mùa trong năm, tỷ lệ nhiễm cao nhất vào mùa Thu (24,24%), thấp nhất vào mùa Đông (12,7%).

Singh và cs. (2016) đã nghiên cứu tỷ lệ nhiễm sản lá đường tiêu hóa trâu, bò tại Madhya Pradesh, Ấn Độ. Tác giả cho biết: tỷ lệ nhiễm sản lá cao hơn vào tháng 6 - 9 (98,06%), thấp hơn vào các tháng 12, 1, 2 hằng năm (91,67%).

Theo Ola - Fadunsin và cs. (2020), tỷ lệ nhiễm sản lá đường tiêu hóa trên bò tại Nigeria xảy ra chủ yếu vào mùa mưa, tỷ lệ nhiễm cao vào các tháng 4, 5, 6 (83,33% - 85,71%), cao gấp 2 lần so với mùa khô.

Như vậy, biến động nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò nuôi tại tỉnh Tuyên Quang theo mùa vụ trong năm phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả trên.

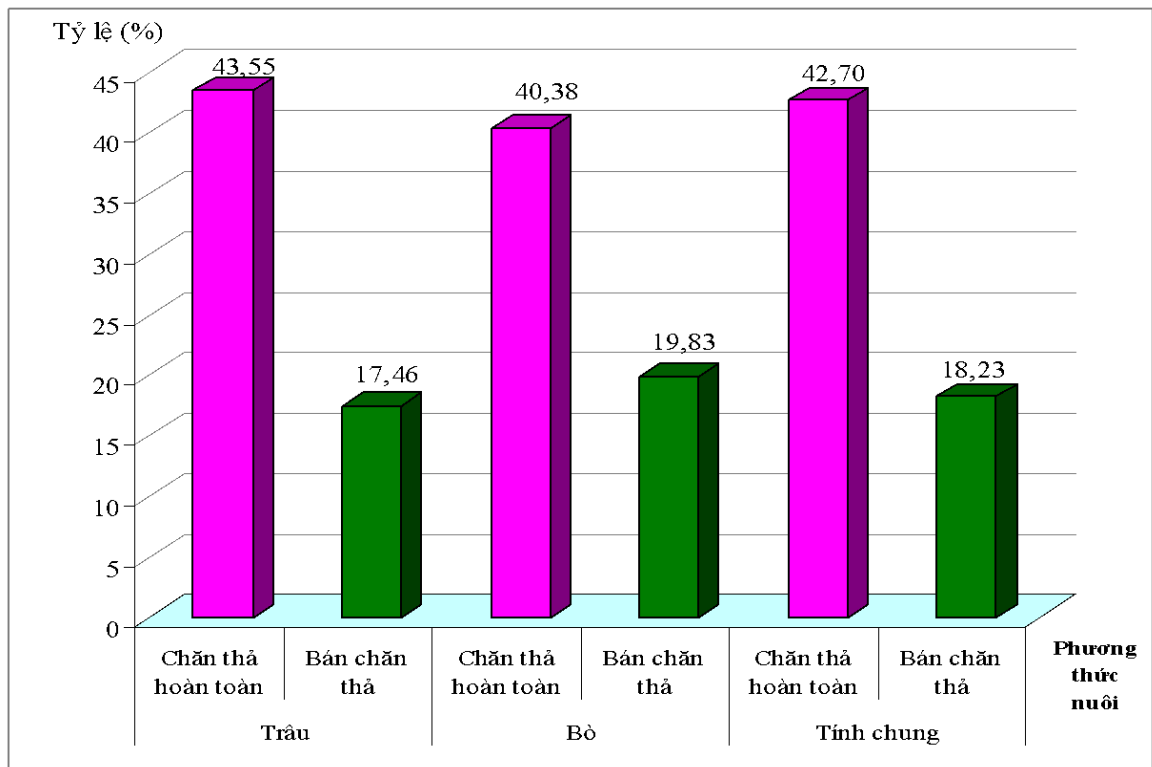
3.1.4. Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo phương thức chăn nuôi

Để đánh giá ảnh hưởng của phương thức chăn nuôi đến tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò, từ đó có những khuyến cáo trong công tác phòng bệnh, chúng tôi đã xét nghiệm phân của 1.750 trâu, bò nuôi theo hai phương thức: chăn thả hoàn toàn và bán chăn thả. Kết quả được trình bày ở bảng 3.4 và biểu đồ hình 3.4.

Bảng 3.4. Tỷ lệ nhiễm sán lá ở trâu, bò theo phương thức chăn nuôi

Loài gia súc	Phương thức chăn nuôi	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)
Trâu	Chăn thả hoàn toàn	1.008	439	43,55
	Bán chăn thả	252	44	17,46
	Tính chung trâu	1.260	483	38,33
Bò	Chăn thả hoàn toàn	369	149	40,38
	Bán chăn thả	121	24	19,83
	Tính chung bò	490	173	35,31
Trâu + Bò	Chăn thả hoàn toàn	1.377	588	42,70 ^a
	Bán chăn thả	373	68	18,23 ^b
	Tính chung trâu + bò	1.750	656	37,49

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 3.4. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa theo phương thức nuôi

Kết quả bảng 3.4 và biểu đồ ở hình 3.4 cho thấy: trâu, bò nuôi ở hai phương thức chăn nuôi đều nhiễm sán lá đường tiêu hóa. Trong đó, trâu nuôi ở phương thức chăn thả hoàn toàn có tỷ lệ nhiễm cao hơn so với phương thức nuôi bán chăn thả (43,55% so với 17,46%). Tương tự, tỷ lệ nhiễm ở bò nuôi theo phương thức chăn thả hoàn toàn cao hơn so với phương thức bán chăn thả (40,38% so với 19,83%). Tính chung, trâu, bò nuôi ở phương thức chăn thả hoàn toàn có tỷ lệ nhiễm sán lá là 42,70%, cao hơn rõ rệt so với trâu, bò ở phương thức bán chăn thả (18,23%). Sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo phương thức nuôi có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Theo chúng tôi, khi nuôi theo phương thức chăn thả hoàn toàn, thời gian chăn thả trâu, bò kéo dài từ sáng sớm tới chiều muộn nên thức ăn hoàn toàn là cỏ ngoài tự nhiên, nguy cơ tiếp xúc nhiều hơn với vật chủ trung gian truyền bệnh nên dễ nhiễm sán lá. Với trâu, bò nuôi theo phương thức bán chăn thả, thời gian chăn thả tự nhiên ít hơn, được cho ăn thêm tại chuồng nên tỷ lệ nhiễm sán lá thấp hơn so với trâu, bò nuôi chăn thả hoàn toàn.

Harizt và cs. (2021) đã nghiên cứu tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa trên trâu (*Bubalus bubalis*) tại Sarawak, Malaysia. Tác giả cho biết: trâu nuôi theo phương thức thả rông nhiễm sán lá nhiều hơn so với trâu được cắt cỏ cho ăn tại chuồng.

Purwaningsih và cs. (2022) đã nghiên cứu và cho biết: bò thịt nuôi theo phương thức thả rông có tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa là 67,5%, cao hơn rõ rệt so với phương thức nuôi nhốt (37,5%).

Theo Frias và cs. (2023), bò ở Peru nuôi theo phương thức chăn thả có tỷ lệ nhiễm sán lá là 45,90%, cao hơn so với bò nuôi theo phương thức nuôi nhốt (38,80%).

Như vậy, biến động nhiễm sán lá theo phương thức chăn nuôi trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả trên.

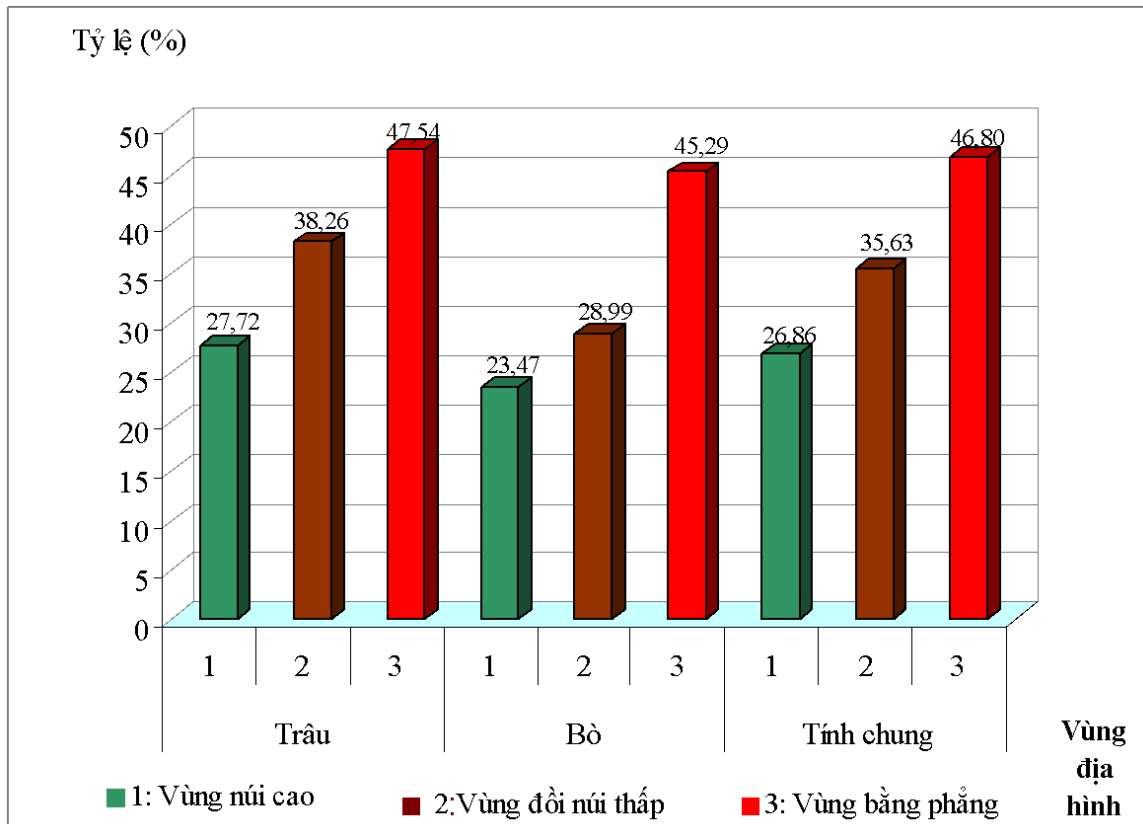
3.1.5. Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò theo vùng địa hình

Để xác định tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa theo vùng địa hình, chúng tôi đã thu thập và xét nghiệm mẫu phân của trâu, bò nuôi ở các nông hộ tại các huyện, thành phố đại diện cho 3 vùng địa hình của tỉnh Tuyên Quang, bao gồm: vùng núi cao, vùng đồi núi thấp và vùng bằng phẳng. Kết quả được trình bày ở bảng 3.5 và biểu đồ hình 3.5.

Bảng 3.5. Tỷ lệ nhiễm sán lá ở trâu, bò theo vùng địa hình

Loài gia súc	Vùng địa hình	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)
Trâu	Vùng núi cao	386	107	27,72
	Vùng đồi núi thấp	426	163	38,26
	Vùng bằng phẳng	448	213	47,54
	Tính chung trâu	1.260	483	38,33
Bò	Vùng núi cao	98	23	23,47
	Vùng đồi núi thấp	169	49	28,99
	Vùng bằng phẳng	223	101	45,29
	Tính chung bò	490	173	35,31
Trâu + Bò	Vùng núi cao	484	130	26,86 ^b
	Vùng đồi núi thấp	595	212	35,63 ^b
	Vùng bằng phẳng	671	314	46,80 ^a
	Tính chung trâu + bò	1.750	656	37,49

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 3.5. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa theo vùng địa hình

Bảng 3.5 và biểu đồ hình 3.5 cho thấy: trâu, bò nuôi tại các vùng địa hình có tỷ lệ nhiễm sán lá khác nhau. Cụ thể: trâu nuôi ở vùng bằng phẳng có tỷ lệ nhiễm cao nhất (47,54%), tiếp đến là vùng đồi núi thấp (38,26%), cuối cùng là vùng núi cao (27,72%). Tương tự, tỷ lệ nhiễm sán lá ở bò nuôi tại vùng địa hình bằng phẳng là cao nhất (45,29%), tiếp đến là vùng đồi núi thấp (28,99%), và cuối cùng là vùng núi cao (23,47%). Tính chung, trâu, bò nuôi ở vùng bằng phẳng nhiễm sán lá cao nhất (46,80%), tỷ lệ nhiễm giảm ở trâu, bò nuôi tại vùng đồi núi thấp (35,63%), tỷ lệ nhiễm thấp nhất ở trâu, bò nuôi tại vùng núi cao (26,86%). Sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm sán lá giữa khu vực núi cao và đồi núi thấp không rõ rệt ($P > 0,05$), song tỷ lệ nhiễm ở 2 khu vực trên so với vùng địa hình bằng phẳng là rõ rệt ($P < 0,05$).

Pfukenyi và cs. (2005) đã thu thập và xét nghiệm 16.264 mẫu phân bò tại hai vùng địa hình là vùng cao nguyên và vùng đồi núi thấp của Zimbabwe. Tác giả cho

biết: tỷ lệ nhiễm sán lá tại vùng cao nguyên cao hơn vùng đồi núi thấp (22% so với 13,9%).

Lalrinkima và cs. (2016) đã xét nghiệm phân của 220 bò ở một số vùng khác nhau tại Ấn Độ. Tác giả cho biết: bò nuôi ở bang Tripura nhiễm sán lá 17% và bò ở bang Meghalaya nhiễm sán lá 45,4%, hai bang này có điều kiện sinh thái thuận lợi cho sự phát triển của ốc nước ngọt - vật chủ trung gian của sán lá. Trong khi đó, tác giả không phát hiện thấy sự lưu hành của sán lá tại quận Champhai thuộc bang Mizoram, nơi có địa hình cao hơn so với bang Tripura và Meghalaya.

Theo Nguyen và cs. (2017), tại tỉnh Thừa Thiên Huế, Việt Nam, tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở bò khác nhau theo vùng địa hình, tỷ lệ nhiễm sán lá ở vùng đồng bằng ven biển là 31,0%, ở vùng đồi núi thấp là 16,2%.

Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Lalrinkima và cs. (2016), Nguyen và cs. (2017), nhưng khác với kết quả của Pfukenyi và cs. (2005).

Theo chúng tôi, sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò nuôi tại các vùng địa hình khác nhau của tỉnh Tuyên Quang là do các vùng địa hình có sự khác nhau về diện tích mặt nước - điều kiện thuận lợi cho sự phát triển vật chủ trung gian của một số loài sán lá. Vùng bằng phẳng có nhiều ao, hồ, kênh, rạch nên tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò cao hơn ở các vùng địa hình khác.

3.2. Nghiên cứu bệnh do sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. gây ra ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

3.2.1. Định danh loài sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

3.2.1.1. Kết quả mổ khám và thu thập sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

Kết quả mổ khám, thu thập mẫu sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang được trình bày ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Kết quả mổ khám thu thập sán lá tuyến tụy ở trâu, bò

Địa phương (huyện, thành phố)	Số trâu, bò mổ khám (con)	Số trâu, bò nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Số sán lá tuyến tụy thu thập (con)	Vị trí ký sinh
---	-------------------------------------	-----------------------------------	---------------------------	--	-----------------------

Chiêm Hóa	60	17	28,33	430	Tuyển tụy
Hàm Yên	60	16	26,67	319	Tuyển tụy
Yên Sơn	60	15	25,00	259	Tuyển tụy
Sơn Dương	60	12	20,00	205	Tuyển tụy
TP. Tuyên Quang	60	11	18,33	102	Tuyển tụy
Tính chung	300	71	23,67	1.315	Tuyển tụy

Kết quả bảng 3.6 cho thấy, mổ khám 300 trâu, bò ở 5 huyện, thành phố của tỉnh, thấy tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy là 23,67%; tổng số sán lá thu được là 1.315 cá thể. Tất cả 1.315 cá thể sán lá tuyến tụy đều ký sinh ở tuyến tụy của trâu, bò mổ khám, không thấy ở các cơ quan tiêu hóa khác.

Bassani và cs. (2006) đã kiểm tra 1.828 tuyến tụy bò tại một lò mổ thuộc thị trấn Campo Mourao, bang Parana, Brasil. Tác giả cho biết: tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema coelomaticum* ở bò trung bình là 47,8%.

Theo nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Chiên và cs. (2011), tại các tỉnh Hà Nội, Hà Nam, Hải Dương và Vĩnh Phúc, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy trung bình qua mổ khám trâu là 8,54% và bò là 17%.

Vũ Thị Hẹn (2014) đã xác định được: tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy qua mổ khám bò ở huyện Nho Quan, tỉnh Ninh Bình là 38,57%.

Okajima và cs. (2016) đã nghiên cứu sự lưu hành của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. trên bò thịt ở một số tỉnh của Nhật Bản. Tác giả cho biết: sán lá tuyến tụy lưu hành ở 9 tỉnh của Nhật Bản, trong đó, tỷ lệ nhiễm cao nhất ở tỉnh Okinawa (5,08%).

Hambal và cs. (2020) đã kiểm tra 153 tuyến tụy của bò Aceh tại Sumatra, Indonesia. Kết quả là có 64 tuyến tụy nhiễm sán lá *Eurytrema pancreaticum*, chiếm 41,8%.

Surian và cs. (2022) đã mổ khám 119 bò trong một lò mổ tại thành phố

Concórdia, bang Santa Catarina, Brasil. Tác giả cho biết: có 71 bò có sán lá tuyến tụy ký sinh, chiếm 59,66%.

Như vậy, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy qua mổ khám trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Chiên và cs. (2011), Okajima và cs. (2016), song thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Bassani và cs. (2006); Vũ Thị Hẹn (2014); Surian và cs. (2022).

Theo chúng tôi, điều kiện tự nhiên và vị trí địa lý ảnh hưởng đến sự tồn tại vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy, từ đó tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò khác nhau giữa các nước, giữa các địa phương.

3.2.1.2. Định danh loài sán lá tuyến tụy qua đặc điểm hình thái, cấu tạo

* Đặc điểm hình thái của sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò tại Tuyên Quang

Quan sát đặc điểm hình thái, cấu tạo của 1.315 cá thể sán lá đã thu được trên tiêu bản sán tươi và tiêu bản nhuộm carmin, chúng tôi nhận thấy các cá thể sán lá thuộc hai loài khác nhau.

Loài sán lá thứ nhất: **cơ thể mỏng, hình bầu dục, thon gọn ở phía hai đầu sán và không có phần phụ đuôi. Sán dài 5,5 - 8,5 mm, rộng 2,9 - 3,6 mm, có màu đỏ nâu. Giác miệng nhỏ hơn giác bụng. Hầu nhỏ. Tinh hoàn của loài sán này khá lớn, phân thùy và đối xứng hai bên, nằm ở phía sau giác bụng. Túi Cirrus rộng, bên trong chứa túi tinh, nằm ở đoạn phân nhánh của manh tràng và giác bụng. Buồng trứng phân thùy (5 - 10 thùy), nằm phía sau tinh hoàn. Tuyến vitelline có hình chùm, dài, nằm ở hai bên cơ thể, kéo dài từ phía ngoài cùng của manh tràng cho đến một phần ba phía sau thân. Tử cung cuộn khúc và chiếm phần lớn thân sau của sán. Tử cung chứa nhiều trứng sán.**

Loài sán lá thứ hai: cơ thể có hình lá, màu đỏ sáng. Phần cuối thân nhô ra giống hình cái lưỡi. Sán dài 5,2 - 7,1 mm, rộng 3,2 - 4,9 mm. Thực quản ngắn. Hai manh tràng hình ống xếp dọc hai bên thân. Hai tinh hoàn của loài sán này khá nhỏ, nằm giữa đoạn phân nhánh của manh tràng và giác bụng. Tuyến vitelline ngắn và nằm ở hai bên của cơ thể sán và xếp sau hai tinh hoàn. Hầu hết phần sau của cơ thể sán là tử cung chứa đầy trứng, kéo dài từ giác bụng cho tới lỗ bài tiết.

* Kích thước một số chiều đo của hai loài sán lá

Kết quả đo kích thước hai loài sán lá được trình bày ở bảng 3.7.

So sánh kết quả ở bảng 3.7 với một số tác giả trong và ngoài nước cho thấy:

Nguyễn Thị Lê và cs. (1996), Mohanta và cs. (2015) đã mô tả: loài *Eurytrema cladorchis* có cơ thể mỏng, dài, kích thước khá lớn (dài 5,95 - 9,52 mm; rộng 2,86 - 3,52 mm). Cơ thể có hình bầu dục với các viền tron nhẵn, thon gọn ở phía hai đầu sán lá, không có phần phụ đuôi. Chiều rộng tối đa của sán lá nằm ở phía nửa trước của cơ thể sán (1,9 - 4,2 mm từ phần ngoài cùng phía trước). Giác miệng nằm ở phía trước và nhỏ hơn giác bụng. Giác bụng nằm ở giữa cơ thể tới một phần ba phía trước của cơ thể, tỷ lệ kích thước giữa giác miệng và giác bụng dao động từ 1:1,11 tới 1:1,44. Hầu nhỏ, thực quản ngắn, manh tràng hẹp và phân nhánh tại vị trí lỗ sinh dục, chạy dọc ra phía sau của tuyến noãn hoàng, cách một khoảng ngắn ở phần kết thúc phía sau.

Bảng 3.7. Kích thước hai loài sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

Kích thước một số chiều đo của sán và trứng sán	Loài sán thứ nhất (min - max)		Loài sán thứ hai (min - max)	
	ở Tuyên Quang (n = 15)	ở Bangladesh (Mohanta và cs., 2015)	ở Tuyên Quang (n = 15)	ở Brasil (Leite và cs., 2020)
Cơ thể (mm)				
Chiều dài (D) (mm)	5,5 - 8,5	3,96 - 7,91	5,2 - 7,1	4,43 - 8,95
Chiều rộng (R) (mm)	2,9 - 3,6	2,20 - 4,50	3,2 - 4,9	2,20 - 4,91
Tỷ lệ D/R	1,78 - 2,74:1	1,15 - 2,84:1	1,25 - 1,91	-
Giác bám				
Giác miệng (GM) (mm)	0,40 - 0,63	0,35 - 0,65	0,55 - 0,72	0,45-0,96
Giác bụng (GB) (mm)	0,63 - 0,87	0,47 - 0,90	0,55 - 0,84	0,46-0,88
Tỷ lệ GM/GB	0,59 - 0,88:1	0,5 - 0,98:1	0,84 - 1,06:1	-
Hầu				
Chiều dài (mm)	0,17 - 0,26	-	0,13 - 0,26	0,17 - 0,29
Chiều rộng (mm)	0,17 - 0,23	-	0,13 - 0,20	-
Tinh hoàn				
Chiều dài (mm)	1,27 - 1,86	0,81 - 1,79	0,31 - 0,41	0,95 - 1,66
Chiều rộng (mm)	0,92 - 1,29	0,65 - 1,96	0,33 - 0,50	-
Buồng trứng				
Chiều dài (mm)	0,31 - 0,54	0,28 - 0,77	0,11 - 0,22	0,16 - 0,48

Chiều rộng (mm)	0,39 - 0,76	0,17 - 0,61	0,16 - 0,27	-
Trứng				
Chiều dài (µm)	35,2 - 47,0	41 - 52	44,0 - 52,4	-
Chiều rộng (µm)	26,6 - 31,2	30 - 33	24,6 - 29,0	-
Túi Cirrus				
Chiều dài (mm)	0,74 - 0,92	0,34 - 1,0	0,81 - 0,99	-
Chiều rộng (mm)	0,24 - 0,28	0,18 - 0,42	0,15 - 0,19	-

Loài *E. cladorchis* có hai tinh hoàn lớn, dài 0,81 - 1,79 mm, rộng 0,65 - 1,96 mm, chia thành nhiều nhánh, đối xứng nhau, nằm ở phần cạnh sau giác bụng. Túi Cirrus dài 0,34 - 1,0 mm, rộng 0,18 - 0,42 mm, bên trong chứa túi tinh, nằm giữa vị trí phân nhánh của manh tràng và giác bụng. Lỗ sinh dục có kích thước vừa phải. Buồng trứng phân thành nhiều thùy, nằm lệch phía sau tinh hoàn trái. Tuyến noãn hoàng dài, hình chùy, tiếp giáp với manh tràng, kéo dài từ phía sau tinh hoàn tới phần kết thúc của manh tràng. Từ cung cuộn khúc xếp kín phần thân sau của sán, được giới hạn bởi hai manh tràng. Các nhánh tử cung kéo dài ra phía trước giữa hai tinh hoàn, qua giác bụng, cuộn lại và vươn ra phía trước giác bụng trước khi đổ vào lỗ sinh dục. Tử cung chứa nhiều trứng màu nâu sẫm, có nắp trứng. Trứng sán lá tuyến tụy dài 0,04 - 0,05 mm, rộng 0,030 - 0,033 mm (Mohanta và cs., 2015).

Theo Nguyễn Thị Lê và cs. (1996), Leite và cs. (2020): loài *Eurytrema coelomaticum* có cơ thể phẳng, dài 10 - 13 mm, rộng 6 - 7 mm, lớp biểu bì nhẵn, mịn. Giác miệng dài 0,74 - 1,23 mm, rộng 0,60 - 1,153 mm chiều rộng. Giác bụng dài 0,71 - 1,30 mm, rộng 0,71 - 1,90 mm. Giác bám của sán có đặc điểm đặc trưng (giác miệng gần bằng giác bụng), đặc điểm này giúp phân biệt loài *Eurytrema coelomaticum* với loài *E. pancreaticum*. Hầu và thực quản hẹp, manh tràng nhỏ và quanh co uốn lượn, lỗ sinh dục phân nhánh nhẹ ra nửa sau của cơ thể, túi Cirrus rất lớn, có hình chùy, tinh hoàn nằm sau giác bụng, buồng trứng nằm sau tinh hoàn. Trứng sán lá tuyến tụy dài 0,042 - 0,50 mm, rộng 0,023 - 0,330 mm.

Từ kết quả quan sát hình thái cấu tạo và đo kích thước của hai loài sán, chúng tôi nhận thấy:

- Loài sán thứ nhất có hình thái cấu tạo và kích thước phù hợp với khóa định loại của Nguyễn Thị Lê và cs. (1996), Mohanta và cs. (2015), đó là loài *Eurytrema cladorchis*.

- Loài sán lá thứ hai có hình thái cấu tạo và kích thước phù hợp với khóa định loại của Nguyễn Thị Lê và cs. (1996), Leite và cs. (2020), đó là loài *Eurytrema coelomaticum*.

* Kết quả định danh sán lá tuyến tụy thu thập ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

Bảng kỹ thuật hình thái học như đã trình bày ở trên, kết quả định danh 1.315 cá thể sán lá thu thập từ tuyến tụy của trâu, bò được trình bày ở bảng 3.8.

Bảng 3.8. Định danh sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

Địa phương (huyện, thành phố)	Số sán định loại (con)	Kết quả định danh					
		<i>Eurytrema cladorchis</i>		<i>Eurytrema coelomaticum</i>		Loài khác	
		n	%	n	%	n	%
Chiêm Hóa	430	224	52,09	206	47,91	0	0
Hàm Yên	319	191	59,87	128	40,13	0	0
Yên Sơn	259	157	60,62	102	39,38	0	0
Sơn Dương	205	119	58,05	86	41,95	0	0
TP.Tuyên Quang	102	44	43,14	58	56,86	0	0
Tính chung	1.315	735	55,89	580	44,11	0	0



Hình 3.6. Loài *Eurytrema*

***cladorchis* ký sinh ở trâu, bò
tại tỉnh Tuyên Quang**



**Hình 3.7. Loài *Eurytrema*
coelomaticum ký sinh ở trâu,
bò tại tỉnh Tuyên Quang**

Ghi chú: 1: giác miệng; 2: hậu; 3: túi Cirrus, 4: giác bụng, 5: manh tràng, 6: tinh hoàn, 7: buồng trứng, 8: tuyến vitelline, 9: tử cung.

Kết quả ở bảng 3.8 cho thấy: trong tổng số 1.315 cá thể sán lá tuyến tụy định danh, có 735 cá thể sán thuộc loài *Eurytrema cladorchis* (chiếm 55,89%), 580 cá thể sán thuộc loài *Eurytrema coelomaticum* (chiếm 44,11%). Ngoài hai loài trên, không có cá thể sán thuộc loài nào khác.

Như vậy, sán lá thu được từ tuyến tụy của trâu, bò ở Tuyên Quang có đặc điểm hình thái, cấu tạo của loài *Eurytrema cladorchis* và *E. coelomaticum* tương tự như mô tả của các tác giả trên.

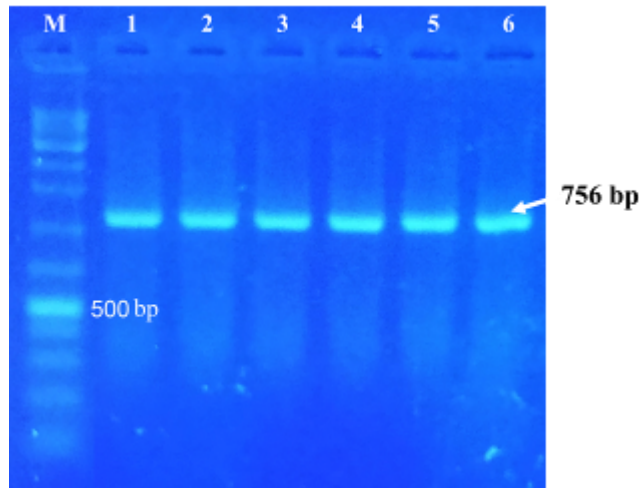
3.2.1.3. Thẩm định loài sán lá tuyến tụy bằng kỹ thuật phân tử

Sau khi đã định danh loài bằng kỹ thuật hình thái học, chúng tôi đã tiến hành phản ứng PCR với 3 mẫu sán lá tuyến tụy đại diện loài *E. cladorchis* và 3 mẫu đại diện loài *E. coelomaticum*. Sau đó, chọn 01 sản phẩm của phản ứng PCR đại diện cho mỗi loài để tinh sạch, giải trình tự gen 18S rRNA, gen ITS2 và so sánh với các trình tự của các loài sán lá họ Dicrocoeliidae trên ngân hàng gen thế giới

(Genbank), từ đó xây dựng cây phả hệ phát sinh loài. Kết quả thẩm định loài sán lá tuyến tụy bằng kỹ thuật phân tử được trình bày theo những nội dung sau:

❖ Phân tích trình tự đoạn gen 18S rRNA

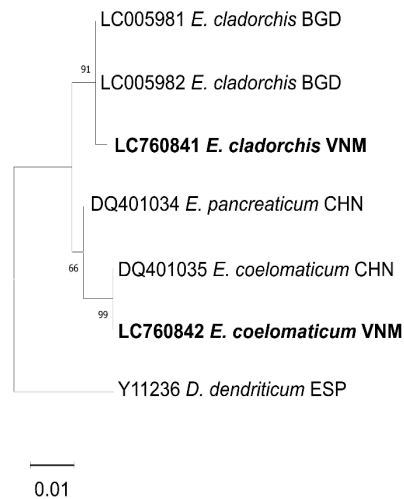
Kết quả điện di sản phẩm PCR nhân bản đoạn gen 18S rRNA của 3 mẫu/loài sán lá tuyến tụy (tổng 6 mẫu) thu thập từ trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang cho thấy, các băng điện di rất sáng, rõ nét, có độ dài 756 bp (hình 3.8), không băng nào bị mờ.



Hình 3.8. Ảnh điện di sản phẩm PCR phát hiện đoạn gen 18S rRNA của 6 mẫu sán lá tuyến tụy

(M: thang chỉ thị phân tử; 1- 3 mẫu sán lá *E. cladorchis*;
4 - 6: mẫu sán lá *E. coelomaticum*).

Trình tự đoạn gen 18S rRNA của hai loài sán lá tuyến tụy có độ dài 756 bp, chúng tôi đã đăng ký trên ngân hàng gen với mã số truy cập của loài *Eurytrema cladorchis* là LC760841 và loài *E. coelomaticum* là LC760842. Sau khi cắt bỏ đoạn mờ và căn chỉnh cho phù hợp với các đoạn gen tham chiếu khác, trình tự 18S rRNA của các mẫu đều có độ dài là 746 bp. Cây phả hệ phát sinh hai loài sán lá tuyến tụy từ trâu, bò ở tỉnh Tuyên Quang xây dựng từ trình tự gen 18S rRNA được trình bày ở hình 3.9.



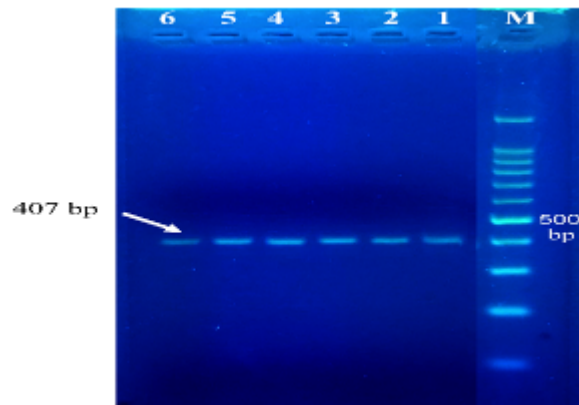
Hình 3.9. Cây phả hệ phát sinh loài được xây dựng từ trình tự gen 18S rRNA bằng phương pháp Maximum Likelihood

Ghi chú: Các trình tự từ ngân hàng gen gồm mã số truy cập, tên loài, tên nước viết tắt theo mã số 3 chữ cái (BGD: Bangladesh; CHN: Trung Quốc; ESP: Tây Ban Nha; VNM: Việt Nam). Các trình tự thu được trong nghiên cứu này được in đậm. Độ tin cậy được đặt ở gốc mỗi nhánh.

Hình 3.9 cho thấy, trình tự đoạn gen 18S rRNA của loài sán lá *Eurytrema cladorchis* ở Tuyên Quang, Việt Nam tương đồng 99,6% với loài sán lá *Eurytrema cladorchis* của Bangladesh (mã số truy cập lần lượt là LC005981 và LC005982), trong khi đó, loài sán lá *E. coelomaticum* của tỉnh Tuyên Quang tương đồng 100% với loài *E. coelomaticum* của Trung Quốc (mã số truy cập là DQ401035). Cây phả hệ (hình 3.9) được xây dựng từ bộ dữ liệu trình tự gen 18S rRNA cho thấy, mẫu sán lá loài *E. cladorchis* từ trâu, bò ở Tuyên Quang, Việt Nam cùng nhánh với các mẫu loài này của Bangladesh (mã số truy cập là LC005981 và LC005982). Bên cạnh đó, loài *E. coelomaticum* ở Tuyên Quang, Việt Nam và Trung Quốc nằm trên cùng một nhánh và khác nhánh với loài *E. pancreaticum* của Trung Quốc (mã số truy cập DQ401034).

❖ Phân tích trình tự đoạn gen ITS2

Kết quả điện di sản phẩm PCR nhân bản đoạn gen ITS2 của 3 mẫu/loài sán lá tuyến tụy (tổng 6 mẫu) thu thập từ trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang cho thấy, các băng điện di có độ dài 407 bp (hình 3.10), rõ nét, không băng nào bị mờ.



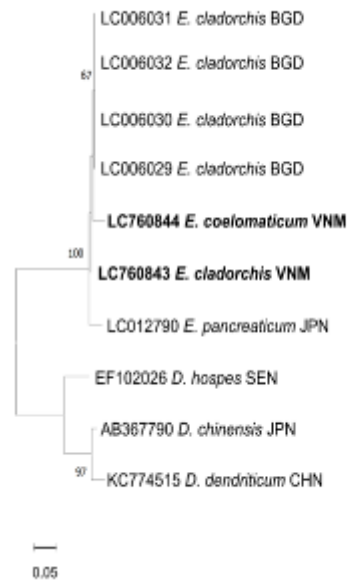
Hình 3.10. Ảnh điện di sản phẩm PCR phát hiện đoạn gen ITS 2 của 6 mẫu sán lá tuyến tụy

(M: thang chỉ thị phân tử; 1 - 3 mẫu sán lá *E. cladorchis*; 4 - 6: mẫu sán lá *E. coelomaticum*).

Kết quả giải trình tự cho thấy, sau khi cắt bỏ đoạn môi và căn chỉnh thì các trình tự ITS2 của loài *E. cladorchis* và *E. coelomaticum* có chiều dài 229 bp cho phù hợp với các trình tự tham khảo khác, sau đó được đăng ký trên ngân hàng gen quốc tế với mã số truy cập là LC760843 và LC760844.

Cây phả hệ phát sinh hai loài sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò tại Tuyên Quang, Việt Nam xây dựng từ trình tự ITS2 được trình bày ở hình 3.11.

Hình 3.11 cho thấy, loài *E. cladorchis* thu từ trâu, bò ở Tuyên Quang, Việt Nam tương đồng 99,10% với loài *E. cladorchis* của Bangladesh (mã số truy cập LC006029). Tuy nhiên, chúng tôi không thể so sánh trình tự của loài *E. coelomaticum* ở Tuyên Quang, Việt Nam với các trình tự khác do không có các trình tự ITS2 của sán lá tuyến tụy *E. coelomaticum* trên ngân hàng gen. Trong nghiên cứu của chúng tôi, trình tự nucleotide của loài *E. coelomaticum* ở Tuyên Quang, Việt Nam sai khác 3,9% với loài *E. cladorchis* của Bangladesh (mã số truy cập là LC006029) và sai khác 5,7% với loài *E. pancreaticum* của Nhật Bản (mã số truy cập là LC012790) ở vị trí thay thế nucleotide.



Hình 3.11. Cây phả hệ phát sinh loài được xây dựng từ trình tự gen ITS2 bằng phương pháp Maximum Likelihood

Ghi chú: Các trình tự từ ngân hàng gen gồm mã số truy cập, tên loài, tên nước viết tắt theo mã số 3 chữ cái (BGD: Bangladesh; CHN: Trung Quốc; JPN: Nhật Bản; SEN: Senegal; VNM: Việt Nam). Các trình tự thu được trong nghiên cứu này được in đậm. Độ tin cậy được đặt ở gốc mỗi nhánh.

Như vậy, kết quả phân tích phân tử giúp khẳng định kết quả định danh bằng kỹ thuật hình thái học, sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò tại Tuyên Quang thuộc hai loài: *E. cladorchis* và *E. coelomaticum*. Trình tự gen 18S rRNA của loài *E. cladorchis* và loài *E. coelomaticum* thu được trong nghiên cứu này hầu hết giống với các trình tự tham chiếu của cả hai loài trên Genbank. Ngoài ra, trình tự gen ITS2 của loài *E. cladorchis* ở Tuyên Quang, Việt Nam tương đồng 99,5% với các trình tự loài *E. cladorchis* của Bangladesh (mã số truy cập LC006029 - LC006031). Nghiên cứu của chúng tôi cũng lần đầu tiên công bố trình tự đoạn gen ITS2 của loài *E. coelomaticum*, do không tìm thấy bất kỳ trình tự tham khảo nào trên ngân hàng gen, mặc dù, cả hai loài sán lá tuyến tụy *E. cladorchis* và *E. coelomaticum* đều đã được phát hiện trên trâu, bò ở Trung Quốc (Cai và cs., 2012; Zheng và cs., 2007).

Tuyên Quang là tỉnh miền núi phía Bắc có vị trí địa lý khá gần với đường biên giới Trung Quốc. Vị trí địa lý này có khả năng liên quan đến sự giao thoa các loài sán lá tuyến tụy giữa hai nước Việt Nam và Trung Quốc thông qua hoạt động buôn

bán trâu, bò.

3.2.2. Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

3.2.2.1. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy tại một số địa phương

Chúng tôi đã xét nghiệm mẫu phân của 1.750 con trâu, bò nuôi ở tỉnh Tuyên Quang để đánh giá tình hình nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. Kết quả về tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại 5 huyện, thành phố của tỉnh Tuyên Quang được trình bày ở bảng 3.9 và biểu đồ hình 3.12.

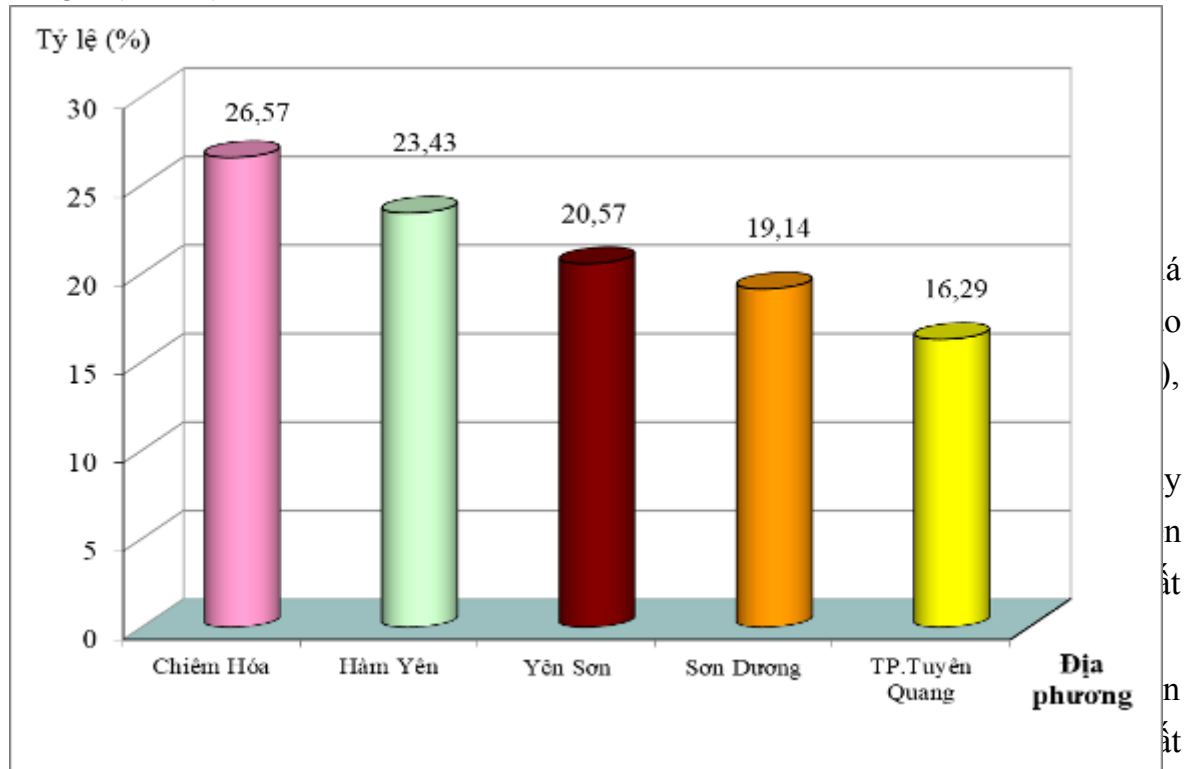
Bảng 3.9. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại các huyện, thành phố (qua xét nghiệm phân)

Loài gia súc	Địa phương (huyện, thành phố)	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm					
					+		++		+++	
					n	%	n	%	n	%
Trâu	Chiêm Hóa	280	75	26,79	37	49,33	26	34,67	12	16,00
	Hàm Yên	260	63	24,23	32	50,79	21	33,33	10	15,87
	Yên Sơn	240	53	22,08	31	58,49	16	30,19	6	11,32
	Sơn Dương	225	49	21,78	25	51,02	19	38,78	5	10,20
	TP.Tuyên Quang	255	46	18,04	26	56,52	16	34,78	4	8,70
	Tính chung trâu	1.260	286	22,70	151	52,80	98	34,27	37	12,94
Bò	Chiêm Hóa	70	18	25,71	10	55,56	5	27,78	3	16,67
	Hàm Yên	90	19	21,11	10	52,63	6	31,58	3	15,79
	Yên Sơn	110	19	17,27	12	63,16	5	26,32	2	10,53
	Sơn Dương	125	18	14,40	12	66,67	4	22,22	2	11,11
	TP.Tuyên Quang	95	11	11,58	7	63,64	4	36,36	0	0,00
	Tính chung bò	490	85	17,35	51	60,00	24	28,24	10	11,76
Trâu + Bò	Chiêm Hóa	350	93	26,57 ^a	47	50,54	31	33,33	15	16,13
	Hàm Yên	350	82	23,43 ^b	42	51,22	27	32,93	13	15,85
	Yên Sơn	350	72	20,57 ^c	43	59,72	21	29,17	8	11,11
	Sơn Dương	350	67	19,14 ^c	37	55,22	23	34,33	7	10,45
	TP.Tuyên Quang	350	57	16,29 ^d	33	57,89	20	35,09	4	7,02

**Tính chung trâu +
bò**

1.750 371 21,20 202 54,45 122 32,88 47 12,67

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



(26,57%), các huyện Hàm Yên, Yên Sơn và Sơn Dương có tỷ lệ nhiễm lần lượt là 23,43%; 20,57% và 19,14%; trâu, bò ở thành phố Tuyên Quang có tỷ lệ nhiễm thấp nhất (16,29%). Sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. giữa huyện Chiêm Hóa, huyện Hàm Yên và thành phố Tuyên Quang có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$), giữa các huyện, thành phố trên với hai huyện Yên Sơn và Sơn Dương cũng rõ rệt, trong khi tỷ lệ nhiễm sán lá giữa huyện Yên Sơn và Sơn Dương khác nhau không rõ rệt ($P > 0,05$).

Về cường độ nhiễm:

* Ở trâu: trâu nuôi ở các huyện, thành phố đều nhiễm ở tất cả các mức cường độ nhiễm, trong đó tỷ lệ nhiễm ở mức dưới 300 trứng/g phân nhiều nhất (52,80%). Số trâu nhiễm mức 300 - 600 trứng/g phân chiếm tỷ lệ thấp hơn (34,27%), cường độ nhiễm trên 600 trứng/g phân chiếm tỷ lệ thấp nhất (12,94%).

* Ở bò: bò nuôi ở các huyện đều nhiễm ở tất cả các mức cường độ nhiễm. Trong đó, tỷ lệ nhiễm ở mức dưới 300 trứng/g phân nhiều nhất (60,00%). Số bò nhiễm mức 300 - 600 trứng/g phân chiếm tỷ lệ thấp hơn (28,24%), cường độ nhiễm

trên 600 trứng/g phân chiếm tỷ lệ thấp nhất (11,76%), tại thành phố Tuyên Quang không có bò nhiễm ở mức trên 600 trứng/g phân.

* Tính chung, trâu, bò nuôi tại các huyện, thành phố của tỉnh Tuyên Quang nhiễm ở mức dưới 300 trứng/g phân nhiều nhất (54,45%). Số nhiễm mức 300 - 600 trứng/g phân chiếm tỷ lệ thấp hơn (32,88%). Cường độ nhiễm trên 600 trứng/g phân chiếm tỷ lệ thấp nhất (12,67%).

Từ kết quả trên, chúng tôi có nhận xét: trâu, bò ở huyện Chiêm Hóa, Hàm Yên nhiễm sán lá tuyến tụy nhiều hơn trâu, bò ở các huyện, thành phố khác. Huyện Chiêm Hóa và Hàm Yên cũng là hai huyện có số lượng trâu nuôi nhiều của tỉnh Tuyên Quang. Qua điều tra thực tế chúng tôi thấy, trên địa bàn hai huyện trên có nhiều hộ chăn nuôi trâu, bò không chú ý đến vệ sinh chuồng trại, thu gom phân ủ, không tẩy giun, sán cho trâu, bò; trâu, bò được chăn thả chủ yếu trên các đồi bãi lâu ngày không canh tác, chuồng nuôi quây tạm bợ bằng tre, nứa.

Trong khi đó, thành phố Tuyên Quang có tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. thấp nhất trong các địa phương nghiên cứu. Nguyên nhân là do ở thành phố Tuyên Quang trình độ dân trí khá cao, người chăn nuôi trâu, bò đã có ý thức trong vấn đề vệ sinh, phòng bệnh cho trâu, bò. Ngoài ra, trên địa bàn thành phố không có nhiều đồi bãi chăn thả nên nhiều hộ đã nuôi trâu, bò theo hình thức bán chăn thả, trồng cỏ và cho ăn tại chuồng. Vì vậy mà tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò nuôi tại thành phố Tuyên Quang thấp hơn các huyện khác.

Nguyễn Thị Hồng Chiên và cs. (2011) qua xét nghiệm phân đã phát hiện, tỷ lệ nhiễm sán lá *Eurytrema* spp. ở trâu, bò tại tỉnh Vĩnh Phúc, Hà Nam và Hà Nội là gần 18%.

Tung và cs. (2012) đã xét nghiệm phân của 70 bò vàng tại Đài Loan, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema pancreaticum* là 11,4%.

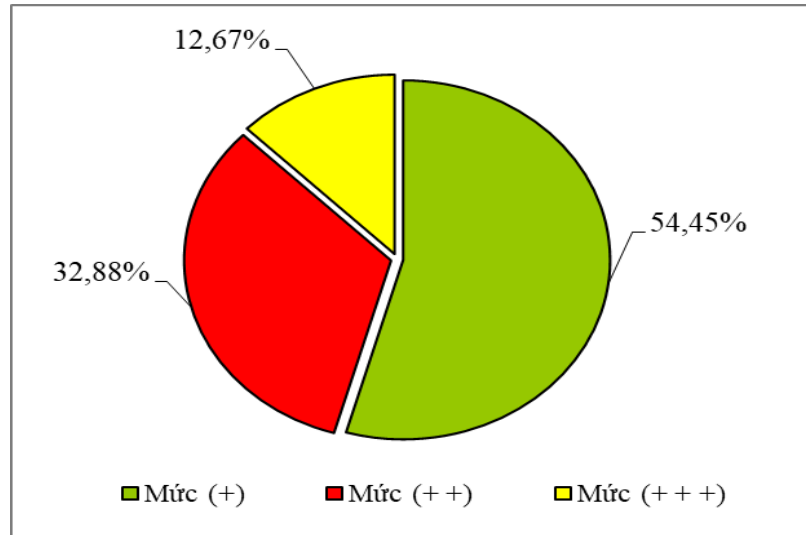
Vũ Thị Hẹn (2014) xét nghiệm phân của 300 bò tại huyện Nho Quan, tỉnh Ninh Bình, thấy có 96 bò nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema pancreaticum*, chiếm 32%.

Tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. ở trâu tại miền Nam của Thái Lan là 2,83% qua xét nghiệm phân (Kaewnoi và cs., 2020).

Như vậy, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò của tỉnh Tuyên Quang cao hơn so với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Hồng Chiên và cs. (2011), Tung và cs.

(2012), Kaewnoi và cs. (2020), song thấp hơn kết quả nghiên cứu của Vũ Thị Hẹn (2014).

Cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang được thể hiện rõ thêm ở biểu đồ hình 3.13.



Hình 3.13. Biểu đồ cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò

Biểu đồ hình 3.13 cho thấy: Múi màu xanh thể hiện cường độ nhiễm (+) lớn nhất, tiếp theo là múi màu đỏ thể hiện cường độ nhiễm (++) và múi màu vàng thể hiện cường độ nhiễm (+++) nhỏ nhất. Điều đó chứng tỏ: số trâu, bò nhiễm cường độ nặng ít hơn số trâu, bò nhiễm ở cường độ nhẹ và trung bình.

3.2.2.2. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy theo tuổi trâu, bò

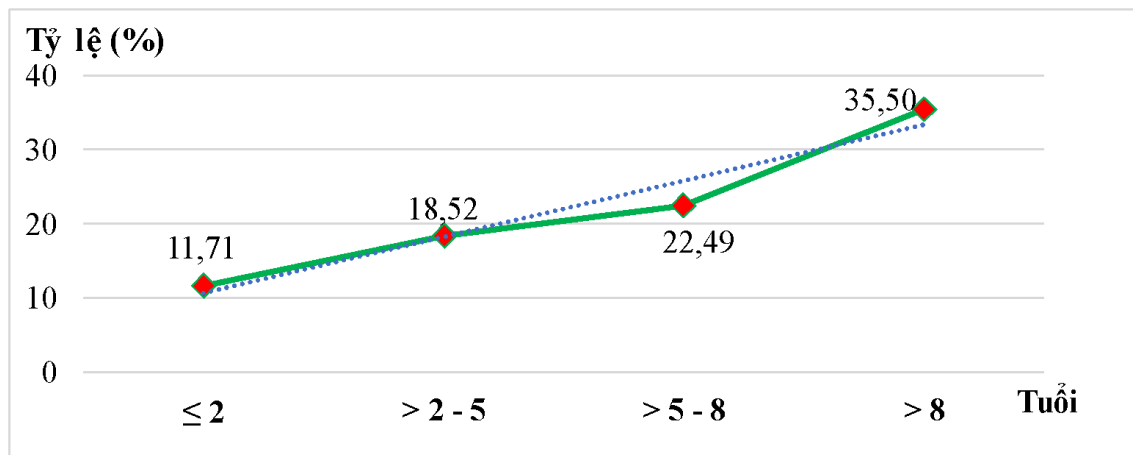
Chúng tôi đã nghiên cứu biến động nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. theo tuổi trâu, bò để xác định trâu, bò ở lứa tuổi nào mắc bệnh nhiều, từ đó đề ra biện pháp phòng bệnh hiệu quả. Kết quả về tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. theo tuổi trâu, bò được trình bày ở bảng 3.10 và đồ thị ở hình 3.14.

Bảng 3.10. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy theo tuổi trâu, bò

Loài gia súc	Tuổi trâu, bò (năm)	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm					
					+		++		+++	
n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Trâu	≤ 2	171	24	14,04	15	62,50	7	29,17	2	8,33
	> 2 - 5	453	91	20,09	51	56,04	31	34,07	9	9,89

	> 5 - 8	498	120	24,10	61	50,83	43	35,83	16	13,33
	> 8	138	51	36,96	24	47,06	17	33,33	10	19,61
	Tính chung trâu	1.260	286	22,70	151	52,80	98	34,27	37	12,94
	≤ 2	51	2	3,92	1	50,00	1	50,00	0	0,00
	> 2 - 5	168	24	14,29	15	62,50	7	29,17	2	8,33
Bò	> 5 - 8	209	39	18,66	25	64,10	9	23,08	5	12,82
	> 8	62	20	32,26	10	50,00	7	35,00	3	15,00
	Tính chung bò	490	85	17,35	51	60,00	24	28,24	10	11,76
	≤ 2	222	26	11,71 ^c	16	61,54	8	30,77	2	7,69
	> 2 - 5	621	115	18,52 ^{bc}	66	57,39	38	33,04	11	9,57
Trâu + Bò	> 5 - 8	707	159	22,49 ^b	86	54,09	52	32,70	21	13,21
	> 8	200	71	35,50 ^a	34	47,89	24	33,80	13	18,31
	Tính chung trâu + bò	1.750	371	21,20	202	54,45	122	32,88	47	12,67

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 3.14. Đồ thị tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. theo tuổi trâu, bò

Qua bảng 3.10 và đồ thị hình 3.14 cho thấy:

Theo sự tăng dần về tuổi, tỷ lệ nhiễm sán lá *Eurytrema* spp. ở trâu lần lượt là 14,04%; 20,09%; 24,10% và 36,96%. Tương tự, tỷ lệ nhiễm ở bò theo tuổi là 3,92%; 14,29%; 18,66% và 32,26%.

Tính chung, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại Tuyên Quang theo tuổi là 11,71%; 18,52%; 22,49% và 35,50%. Sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm chung ở các lứa tuổi trâu, bò có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Về cường độ nhiễm: ở các lứa tuổi khác nhau, trâu và bò nhiễm sán lá tuyến tụy như sau:

* Dưới 2 năm tuổi: có 62,50% số trâu và 50% số bò nhiễm sán lá *Eurytrema* spp. với cường độ nhiễm dưới 300 trứng/g phân; 29,17% số trâu và 50% số bò nhiễm ở cường độ 300 - 600 trứng/g phân; 8,33% số trâu và không có bò nào nhiễm trên 600 trứng/g phân.

* 2 - 5 năm tuổi: có 56,04% số trâu và 62,50% số bò nhiễm sán lá *Eurytrema* với cường độ nhiễm dưới 300 trứng/g phân; 34,07% số trâu và 29,17% số bò nhiễm ở cường độ 300 - 600 trứng/g phân; 9,89% số trâu và 8,33% số bò nhiễm cường độ trên 600 trứng/g phân.

* 5 - 8 năm tuổi: có 50,83% số trâu và 64,10% số bò nhiễm sán lá *Eurytrema* với cường độ nhiễm dưới 300 trứng/g phân; 35,83% số trâu và 23,08% số bò nhiễm ở cường độ 300 - 600 trứng/g phân; 13,33% số trâu và 12,82% số bò nhiễm cường độ trên 600 trứng/g phân.

* Trên 8 năm tuổi: có 47,06% số trâu và 50% số bò nhiễm sán lá *Eurytrema* với cường độ nhiễm dưới 300 trứng/g phân; 33,33% số trâu và 35% số bò nhiễm ở cường độ 300 - 600 trứng/g phân; 19,61% số trâu và 15% số bò nhiễm cường độ trên 600 trứng/g phân.

Như vậy tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tăng lên theo tuổi của trâu, bò. Trâu, bò tuổi càng cao tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy càng cao và cường độ nhiễm càng nặng.

Bassani và cs. (2006) đã nghiên cứu đặc điểm dịch tễ của bệnh sán lá tuyến tụy ở 1.828 bò tại bang Parana, Brazil. Tác giả cho biết, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy tăng dần theo tuổi bò, bò trên 6 năm tuổi tỷ lệ nhiễm cao nhất (62,4%).

Theo Al - Khalidi và Al - Bayati (1989), Manga - González và cs. (2007): tuổi của trâu, bò có ảnh hưởng rõ rệt đến tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy, tỷ lệ nhiễm ở trâu, bò tăng dần theo lứa tuổi, tỷ lệ nhiễm cao ở những trâu, bò già do chúng có thời gian phơi nhiễm với bệnh dài và sự tích trữ sán lâu ngày trong tuyến tụy so với trâu,

bò còn non.

Lalrinkima và cs. (2016) cho biết, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. ở bò trưởng thành tại bang Meghalaya, Đông Bắc Ấn Độ là 27%, ở bê là 0%.

Biến động nhiễm sán lá tuyến tụy theo tuổi trâu, bò trong nghiên cứu của chúng tôi tương đối phù hợp với nhận xét và kết quả nghiên cứu của các tác giả trên.

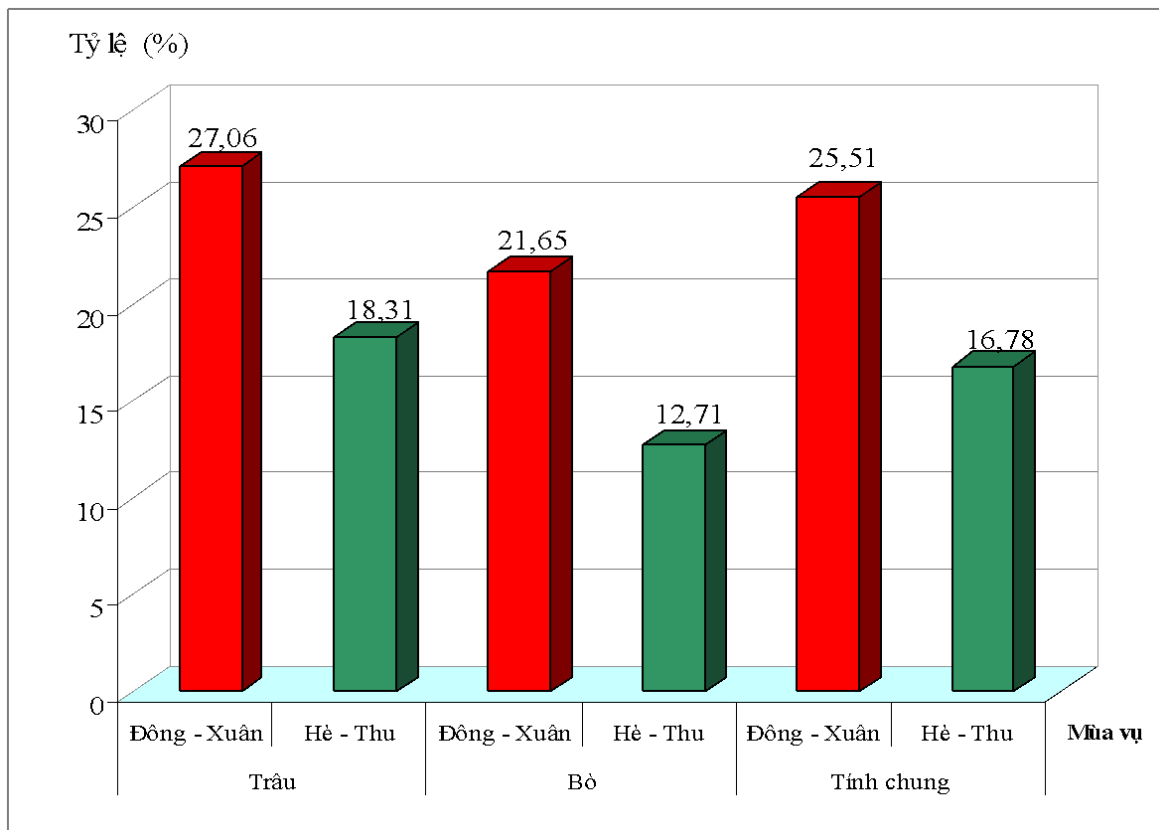
3.2.2.3. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo mùa vụ

Chúng tôi đã nghiên cứu ảnh hưởng của mùa vụ trong năm đến tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. ở trâu, bò tại 5 huyện, thành phố của tỉnh Tuyên Quang. Kết quả được trình bày ở bảng 3.11 và biểu đồ hình 3.15.

Bảng 3.11. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo mùa vụ

Loài gia súc	Mùa vụ	Số kiểm tra (con)	Số nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm					
					+		++		+++	
					n	%	n	%	n	%
Trâu	Đông - Xuân	632	171	27,06	86	50,29	61	35,67	24	14,04
	Hè - Thu	628	115	18,31	65	56,52	37	32,17	13	11,30
	Tính chung trâu	1.260	286	22,70	151	52,80	98	34,27	37	12,94
Bò	Đông - Xuân	254	55	21,65	32	58,18	16	29,09	7	12,73
	Hè - Thu	236	30	12,71	19	63,33	8	26,67	3	10,00
	Tính chung bò	490	85	17,35	51	60,00	24	28,24	10	11,76
Trâu + Bò	Đông - Xuân	886	226	25,51 ^a	118	52,21	77	34,07	31	13,72
	Hè - Thu	864	145	16,78 ^b	84	57,93	45	31,03	16	11,03
	Tính chung trâu + bò	1.750	371	21,20	202	54,45	122	32,88	47	12,67

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 3.15. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. theo mùa vụ

Kết quả bảng 3.11 và biểu đồ 3.15 cho thấy:

- Về tỷ lệ nhiễm: xét nghiệm phân trâu ở vụ Đông - Xuân thấy tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. cao hơn so với vụ Hè - Thu (27,06% so với 18,31%). Xét nghiệm phân bò ở vụ Đông - Xuân và Hè - Thu cho kết quả tương tự (21,65% so với 12,71%). Tính chung cả trâu và bò, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở vụ Đông - Xuân là 25,51% cao hơn rõ rệt so với vụ Hè - Thu (16,78%). Sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm giữa vụ Đông - Xuân và Hè - Thu là rõ rệt, với $P < 0,05$.

- Về cường độ nhiễm: trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. trong vụ Đông - Xuân nặng hơn so với vụ Hè - Thu (13,72% so với 11,03% số trâu, bò nhiễm với cường độ trên 600 trứng/g phân).

Theo Sponholz và Short (1976), Bundy và cs. (1983), Fagbemi (1984), tại vùng đồi núi Đông Bắc Ấn Độ, bò nhiễm sán lá tuyến tụy *E. pancreaticum* quanh

năm, bệnh phát ra nhiều vào các tháng mùa đông lạnh. Cường độ nhiễm sán lá này cũng cao trong mùa đông và thấp vào mùa Hè và Thu.

Azevedo và cs. (2004) cho biết: tại miền Bắc bang Parana, Brasil, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở bò chủ yếu từ tháng 1 đến tháng 3 là 13,5% - 14,8%, sau đó giảm dần; tỷ lệ nhiễm từ tháng 5 đến tháng 8 là 9,9% - 11,9%.

Những công trình nghiên cứu nhiễm sán lá tuyến tụy theo mùa vụ trên trâu, bò còn rất ít. Ngoài trâu, bò đã có một số tác giả nghiên cứu tình hình nhiễm sán lá tuyến tụy theo mùa trên dê.

Ma và cs. (2014) cho biết, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. trên dê tại tỉnh Hồ Nam, Trung Quốc cao vào mùa Đông (55,8%), thấp vào mùa Hè (8,39%).

Theo Tang và Lin (1980), Sousa và Castro (2022), bệnh sán lá tuyến tụy do *Eurytrema* spp. gây ra ở vật nuôi thấy nhiều hơn trong mùa mưa và cao hơn ở những vùng có lượng mưa nhiều. Tỷ lệ nhiễm giảm trong mùa lạnh, khô, ở cả vật chủ cuối cùng và các loài vật chủ trung gian.

Như vậy, trâu, bò nuôi tại Tuyên Quang nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. theo mùa vụ với tỷ lệ khác nhau phù hợp với kết quả nghiên cứu của hầu hết các tác giả trên, song khác với nhận xét của Tang và Lin (1980), Sousa và Castro (2022).

Theo chúng tôi, biến động nhiễm theo mùa vụ của các loài sán lá tuyến tụy trong một vùng cụ thể có liên quan mật thiết với sự tồn tại các loài vật chủ trung gian. Sự phát triển của vật chủ trung gian chịu ảnh hưởng rõ rệt của các yếu tố môi trường như ánh sáng, nhiệt độ và độ ẩm không khí. Vào vụ Hè - Thu, tại Tuyên Quang thường có nhiều mưa, độ ẩm và nhiệt độ môi trường tăng lên. Đó là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của ốc cạn và châu chấu. Khi trâu, bò ăn cỏ có lẫn châu chấu mang *Metacercaria*, trong đường tiêu hóa của trâu, bò ấu trùng di chuyển đến tuyến tụy phát triển thành sán trưởng thành, đẻ trứng. Thời gian hoàn thành vòng đời trong cơ thể trâu, bò là 3 - 4 tháng. Vì vậy, khi xét nghiệm phân trong vụ Đông - Xuân thấy tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy cao hơn vụ Hè - Thu.

3.2.2.4. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo phương thức chăn nuôi

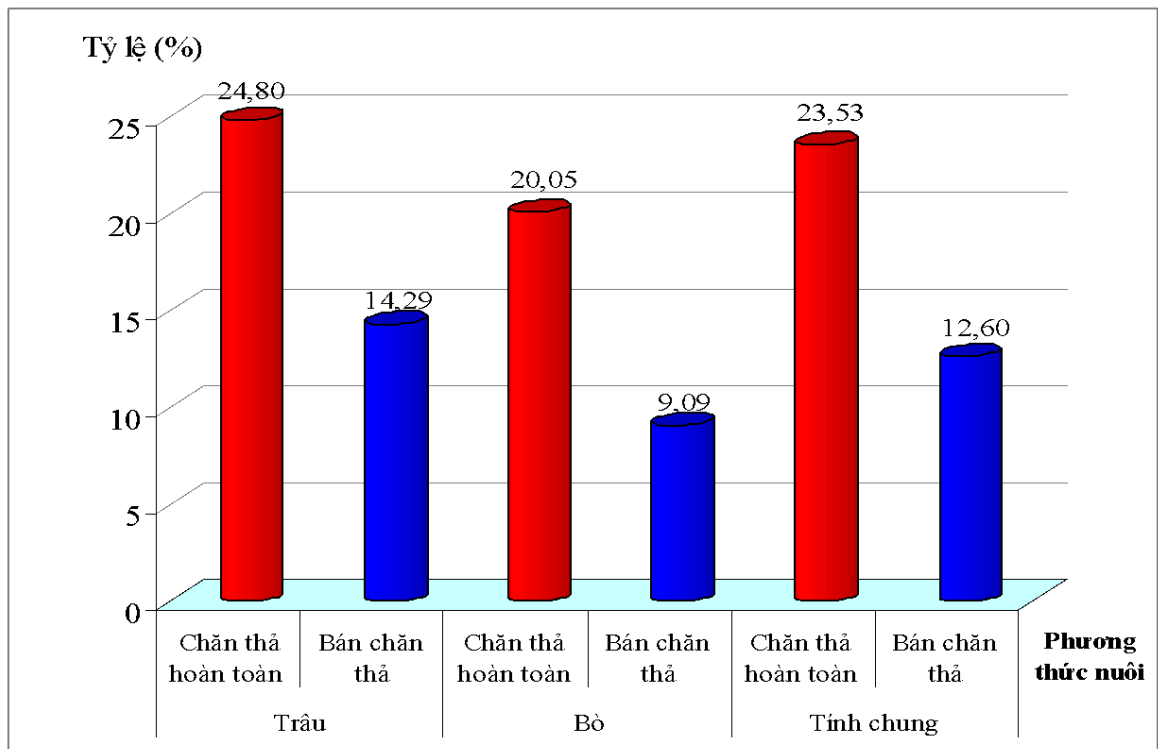
Khi trâu, bò được nuôi theo các phương thức khác nhau thì mức độ tiếp xúc với mầm bệnh khác nhau nên tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. có thể

khác nhau. Chúng tôi đã xét nghiệm mẫu phân của trâu, bò nuôi chẵn thả hoàn toàn và bán chẵn thả để xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy. Kết quả được trình bày ở bảng 3.12 và biểu đồ hình 3.16.

Bảng 3.12. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy theo phương thức nuôi

Loài gia súc	Phương thức chăn nuôi	Số kiểm tra (mẫu)	Số nhiễm (mẫu)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm (trứng/ g phân)					
					+		++		+++	
					n	%	n	%	n	%
Trâu	Chẵn thả hoàn toàn	1.008	250	24,80	127	50,80	89	35,60	34	13,60
	Bán chẵn thả	252	36	14,29	24	66,67	9	25,00	3	8,33
	Tính chung trâu	1.260	286	22,70	151	52,80	98	34,27	37	12,94
Bò	Chẵn thả hoàn toàn	369	74	20,05	42	56,76	22	29,73	10	13,51
	Bán chẵn thả	121	11	9,09	9	81,82	2	18,18	0	0,00
	Tính chung bò	490	85	17,35	51	60,00	24	28,24	10	11,76
Trâu + Bò	Chẵn thả hoàn toàn	1.377	324	23,53 ^a	169	52,16	111	34,26	44	13,58
	Bán chẵn thả	373	47	12,60 ^b	33	70,21	11	23,40	3	6,38
	Tính chung trâu + bò	1.750	371	21,20	202	54,45	122	32,88	47	12,67

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 3.16. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy theo phương thức nuôi

Kết quả ở bảng 3.12 và biểu đồ hình 3.16 cho thấy:

- Về tỷ lệ nhiễm:

Trâu, bò ở cả hai phương thức chăn nuôi đều nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. Trong đó, tỷ lệ nhiễm ở trâu nuôi theo phương thức chăn thả hoàn toàn là 24,80% cao hơn so với phương thức nuôi bán chăn thả (14,29%). Đối với bò, bò nuôi ở phương thức chăn thả hoàn toàn cũng nhiễm cao hơn so với bò nuôi ở phương thức bán chăn thả (20,05% so với 9,09%).

Tính chung cả trâu và bò, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở phương thức chăn thả hoàn toàn cao hơn rõ rệt so với phương thức nuôi bán chăn thả (23,53% so với 12,60%). Sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò giữa hai phương thức nuôi có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

- Về cường độ nhiễm:

Trâu được nuôi chăn thả hoàn toàn nhiễm trên 600 trứng/g phân khá cao (13,60%), trong khi chỉ có 8,33% số trâu nuôi bán chăn thả nhiễm ở cường độ này. Có 13,51% số bò nuôi chăn thả hoàn toàn nhiễm sán lá tuyến tụy ở cường độ nặng, trong khi bò nuôi bán chăn thả không có con nào nhiễm nặng.

Tính chung cả trâu và bò: có 13,58% số trâu, bò nuôi chăn thả hoàn toàn nhiễm ở mức trên 600 trứng/g phân, trong khi chỉ có 6,38% số trâu, bò nuôi bán chăn thả nhiễm sán lá tuyến tụy ở cường độ nặng.

Như vậy, trâu, bò ở Tuyên Quang được nuôi theo phương thức bán chăn thả có tỷ lệ nhiễm thấp hơn, cường độ nhiễm nhẹ hơn so với trâu, bò nuôi chăn thả hoàn toàn.

Theo Ma và cs. (2014), dê được chăn thả hoàn toàn ngoài tự nhiên có thời gian tiếp xúc với vật chủ trung gian mang ấu trùng sán lá tuyến tụy nhiều hơn, do đó tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy cao hơn và cường độ nhiễm nặng hơn so với dê nuôi bán chăn thả.

Kết quả của chúng tôi phù hợp với nhận xét của tác giả trên.

3.2.2.5. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo vùng địa hình

Chúng tôi đã thu thập và xét nghiệm phân trâu, bò nuôi tại 3 vùng địa hình của tỉnh Tuyên Quang, bao gồm: vùng bằng phẳng, vùng đồi núi thấp và vùng núi cao. Kết quả được trình bày ở bảng 3.13 và biểu đồ hình 3.17.

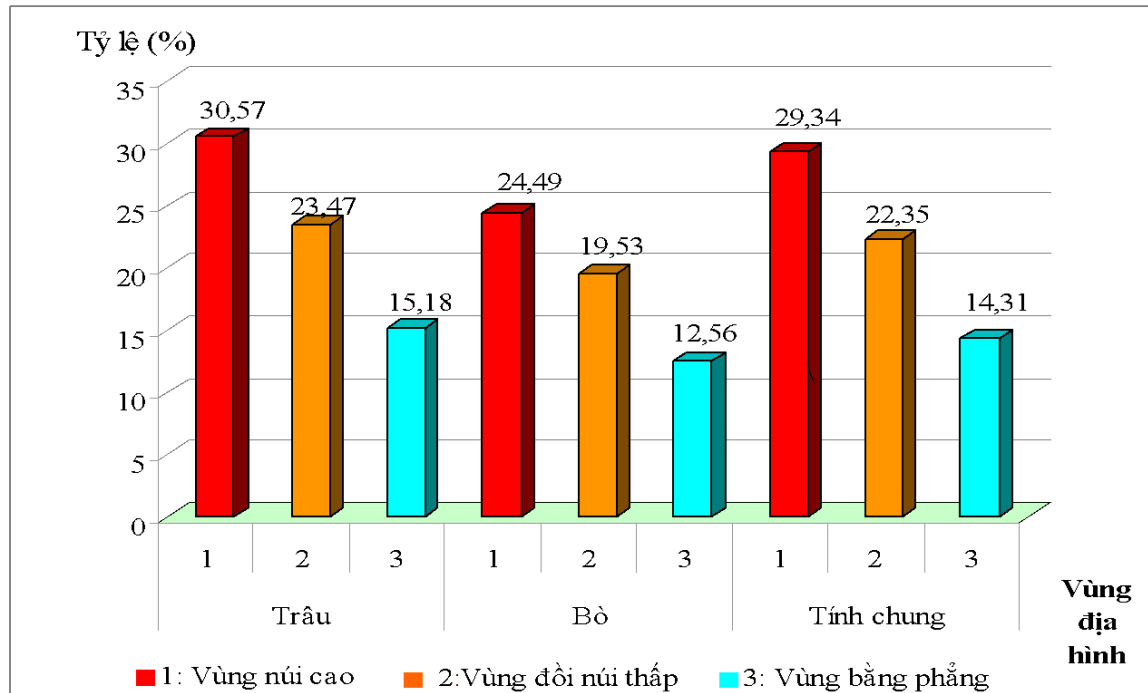
Bảng 3.13. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo vùng địa hình

Loài gia súc	Vùng địa hình	Số kiểm tra (mẫu)	Số nhiễm (mẫu)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm					
					+		++		+++	
					n	%	n	%	n	%
Trâu	Vùng núi cao	386	118	30,57	52	44,07	47	39,83	19	16,10
	Vùng đồi núi thấp	426	100	23,47	57	57,00	31	31,00	12	12,00
	Vùng bằng phẳng	448	68	15,18	42	61,76	20	29,41	6	8,82
	Tính chung trâu	1.260	286	22,70	151	52,80	98	34,27	37	12,94
Bò	Vùng núi cao	98	24	24,49	12	50,00	8	33,33	4	16,67
	Vùng đồi núi thấp	169	33	19,53	20	60,61	9	27,27	4	12,12
	Vùng bằng phẳng	223	28	12,56	19	67,86	7	25,00	2	7,14
	Tính chung bò	490	85	17,35	51	60,00	24	28,24	10	11,76
Trâu + Bò	Vùng núi cao	484	142	29,34 ^a	64	45,07	55	38,73	23	16,20
	Vùng đồi núi thấp	595	133	22,35 ^b	77	57,89	40	30,08	16	12,03
	Vùng bằng phẳng	671	96	14,31 ^c	61	63,54	27	28,13	8	8,33

Tính chung trâu +
bò

1.750 371 21,20 202 54,45 122 32,88 47 12,67

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Hình 3.17. Biểu đồ tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy theo vùng địa hình

Bảng 3.13 và biểu đồ hình 3.17 cho thấy: có sự khác nhau về tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. ở trâu, bò nuôi tại các vùng địa hình. Cụ thể như sau:

Tính chung về tỷ lệ nhiễm: trâu, bò nuôi tại các địa phương thuộc vùng núi cao nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. với tỷ lệ cao nhất (29,34%); trâu, bò ở vùng đồi núi thấp nhiễm ít hơn (22,35%); tỷ lệ nhiễm thấp nhất ở trâu, bò nuôi tại các địa phương có địa hình bằng phẳng (14,31%). Kết quả xử lý thống kê cho thấy, sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở các vùng địa hình là rõ rệt ($P < 0,05$).

Về cường độ nhiễm: ở vùng núi cao trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. với cường độ nhiễm trên 600 trứng/gam phân là nhiều nhất (16,20%). Trong khi trâu, bò ở vùng đồi núi thấp nhiễm sán lá tuyến tụy ở cường độ này là 12,03% và trâu, bò ở vùng bằng phẳng chỉ nhiễm 8,33% ở cường độ này.

Tỷ lệ nhiễm riêng ở trâu và ở bò cũng theo quy luật tương tự: trâu và bò ở khu vực núi cao nhiễm sán lá tuyến tụy nhiều hơn so với khu vực đồi núi thấp và bằng phẳng.

Ma và cs. (2014) cho biết: tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở dê cao nhất ở vùng núi (50,10%), rồi đến vùng đồi (9,81%) và thấp nhất ở vùng ao hồ (2,51%).

Biến động nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò theo địa hình tại tỉnh Tuyên Quang tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu của Ma và cs. (2014).

Khảo sát về điều kiện tự nhiên của tỉnh Tuyên Quang, chúng tôi nhận thấy: vùng núi cao có lượng mưa nhiều hơn so với các vùng địa hình khác, là điều kiện thuận lợi cho sự phát triển ốc cạn và châu chấu - vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy. Điều này phù hợp với nhận xét của Roy và Tandon (1992), Kaewnoi và cs. (2020). Từ đó, trâu, bò nuôi tại vùng núi cao nhiễm sán lá tuyến tụy với tỷ lệ cao và cường độ nhiễm nặng hơn so với các vùng địa hình khác.

3.2.2.6. Nghiên cứu loài vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang

a. Xác định loài ốc cạn - vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang

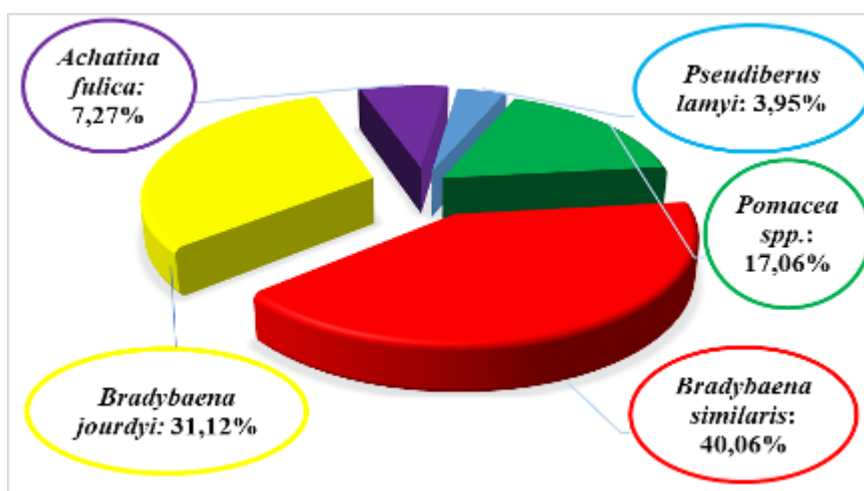
Các nghiên cứu của Dvoryadki (1969), Jang (1969), Nadykto (1973), Tang và cs. (1979), Sakamoto và cs. (1980), Chinone và cs. (1984), Paschoal và Amato (1993), Pinheiro và Amato (1995), Souza và cs. (2000), Lira và cs. (2000), Brandolini và Amato (2001) đều cho rằng: ốc cạn là vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa có công trình nghiên cứu nào về các loài ốc cạn là vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy ở Việt Nam nói chung và ở tỉnh Tuyên Quang nói riêng.

* Định danh loài ốc cạn thu thập tại các địa phương của tỉnh Tuyên Quang

Chúng tôi đã thu thập các mẫu ốc cạn ở xung quanh khu vực chuồng nuôi và các bãi chăn thả trâu, bò tại 5 huyện, thành phố nghiên cứu. Theo khóa định loại của Schileyko (2011), Đặng Ngọc Thanh và Hồ Thanh Hải (2019), kết quả định danh ốc cạn được trình bày ở bảng 3.14 và biểu đồ hình 3.18.

Bảng 3.14. Kết quả định danh ốc cạn thu thập ở các địa phương

Địa phương (huyện, thành phố)	Số ốc định loại	Loài ốc cạn									
		<i>Pomacea</i> spp.		<i>Bradybaena</i> <i>similaris</i>		<i>Bradybaena</i> <i>jourdyi</i>		<i>Achatina</i> <i>fulica</i>		<i>Pseudiberus</i> <i>lamyi</i>	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Chiêm Hóa	181	35	19,34	67	37,02	54	29,83	16	8,84	9	4,97
Hàm Yên	158	29	18,35	61	38,61	45	28,48	18	11,39	5	3,16
Yên Sơn	124	21	16,94	51	41,13	39	31,45	7	5,65	6	4,84
Sơn Dương	97	14	14,43	43	44,33	33	34,02	3	3,09	4	4,12
TP.Tuyên Quang	73	9	12,33	35	47,95	26	35,62	2	2,74	1	1,37
Tính chung	633	108	17,06	257	40,60	197	31,12	46	7,27	25	3,95



Hình 3.18. Biểu đồ tỷ lệ loài ốc cạn thu thập ở các địa phương

Bảng 3.14 và biểu đồ hình 3.18 cho thấy: tổng số mẫu ốc cạn thu thập và định danh là 633 cá thể. Trong đó, có 108 cá thể thuộc loài *Pomacea* spp., chiếm 17,06%; 257 cá thể thuộc loài *Bradybaena similaris*, chiếm 40,60%; 197 cá thể là loài *Bradybaena jourdyi*, chiếm 31,12%; 46 cá thể là loài *Achatina fulica*, chiếm 7,27%; 25 cá thể là loài *Pseudiberus lamyi*, chiếm 3,95%.

Các loài ốc cạn đã định danh có hình thái và kích thước như sau:

Loài *Pomacea* spp.: ốc có màu vàng nâu, mặt vỏ có các đường nâu sẫm chạy song song, có 3 vòng xoắn. Lỗ rốn hẹp, sâu. Có nắp miệng. Chiều cao 18,54 - 55,96 mm, chiều rộng 28,86 - 71,34 mm.

Loài *Bradybaena similaris*: vỏ ốc hình cầu, màu nâu, có 5 vòng xoắn. Mặt vỏ có các gờ nổi xếp sát nhau. Có dải nâu đậm chạy giữa vòng xoắn cuối. Không có nắp miệng. Chiều cao 12,00 mm, chiều rộng 16,10 mm.

Loài *Bradybaena jourdyi*: vỏ ốc hình cầu, màu nâu, có 5 vòng xoắn. Mặt vỏ có các gờ nổi xếp sát nhau. Miệng vỏ gần tròn. Không có nắp miệng. Chiều cao 12,10 - 13,70 mm, chiều rộng 17,10 - 18,40 mm.

Loài *Achatina fulica*: vỏ ốc nâu tròn, to, màu hơi vàng nâu, có 6 vòng xoắn. Có nắp miệng. Chiều cao 12,00 mm, chiều rộng 20,00 mm.

Loài *Pseudiberus lamyi*: vỏ nâu, sần sùi, màu nâu, có 3 vòng xoắn, vành miệng mở rộng. Không có nắp miệng. Chiều cao 3,10 - 3,30 mm, chiều rộng 8,10 - 9,10 mm.

Như vậy, số cá thể ốc cạn thuộc loài *Bradybaena similaris* chiếm tỷ lệ cao nhất (40,60%), ít nhất là loài *Pseudiberus lamyi* (3,95%).

* Tần suất xuất hiện ốc cạn ở các địa phương

Tần suất xuất hiện ốc cạn tại các địa phương được trình bày ở bảng 3.15.

Bảng 3.15. Tần suất xuất hiện ốc cạn tại các địa phương

TT	Các loài ốc cạn đã định danh	Phân bố ở các huyện, thành phố					Tần suất xuất hiện (%)
		Chiêm Hóa	Hàm Yên	Yên Sơn	Sơn Dương	TP. Tuyên Quang	
		(5 xã)	(5 xã)	(5 xã)	(5 xã)	(5 xã)	
1	<i>Pomacea</i> spp.	5/5	5/5	4/5	4/5	4/5	22/25 (88,00)
2	<i>Bradybaena similaris</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	25/25 (100)
3	<i>Bradybaena jourdyi</i>	5/5	5/5	5/5	4/5	4/5	23/25 (92,00)
4	<i>Achatina fulica</i>	5/5	5/5	2/5	1/5	1/5	14/25 (56,00)
5	<i>Pseudiberus lamyi</i>	3/5	2/5	2/5	1/5	1/5	9/25 (36,00)

Qua bảng 3.15 cho thấy: trong các loài ốc cạn chúng tôi đã định danh được tại tỉnh Tuyên Quang thì loài *Bradybaena similaris* là loài ốc cạn xuất hiện ở tất cả các xã nghiên cứu (tần suất xuất hiện là 100%), tiếp theo là các loài *Bradybaena jourdyi*, *Pomacea* spp., *Achatina fulica* với tần suất xuất hiện lần lượt là 92%; 88% và 56%, thấp nhất là loài *Pseudiberus lamyi* (36%).

* *Xác định loài ốc cạn đã định danh là vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy tại Tuyên Quang*

Sau khi xác định được thành phần loài ốc cạn tại 5 huyện, thành phố thuộc tỉnh Tuyên Quang, chúng tôi đã tham chiếu với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trên thế giới để xác định loài ốc cạn nào là vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang. Kết quả tham chiếu được trình bày ở bảng 3.16.

Bảng 3.16. Loài ốc cạn - vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang qua tham chiếu

TT	Loài ốc cạn đã định danh	Loài ốc cạn là VCTG thứ nhất của sán lá tuyến tụy tại Tuyên Quang (*)	Tác giả đã công bố (**)
1	<i>Pomacea</i> spp.	-	Chưa có
2	<i>Bradybaena similaris</i>	+	Tang (1950); Basch (1965); Ragusa và Campos (1976); Sakamoto và cs. (1980); Chinone và cs. (1984); Kozutsumi và Itagaki (1989)
3	<i>Bradybaena jourdyi</i>	-	Chưa có
4	<i>Achatina fulica</i>	-	Chưa có
5	<i>Pseudiberus lamyi</i>	-	Chưa có

Ghi chú: (*): loài ốc cạn chúng tôi đã định danh tại Tuyên Quang

(**): công trình công bố của các tác giả về loài ốc cạn - vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy.

Kết quả ở bảng 3.16 cho thấy: trong 5 loài ốc cạn đã định danh tại tỉnh Tuyên Quang, chỉ duy nhất có loài *Bradybaena similaris* đã được một số công trình nghiên cứu của các tác giả nước ngoài chứng minh là vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy.

Bằng các nghiên cứu ngoài tự nhiên và trong phòng thí nghiệm, Tang (1950), Basch (1965), Ragusa và Campos (1976), Sakamoto và cs. (1980), Chinone và cs.

(1984), Kozutsumi và Itagaki (1989) cho biết, loài ốc cạn *Bradybaena similaris* là vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp.

Zhongzhang và Chongti (1977) đã nghiên cứu tỷ lệ nhiễm ấu trùng trên vật chủ trung gian của loài sán lá tuyến tụy *Eurytrema coelomaticum* tại tỉnh Phúc Châu, Trung Quốc. Tác giả cho biết, tỷ lệ nhiễm ấu trùng sán lá tuyến tụy của loài ốc cạn *Bradybaena similaris* dao động từ 0,54% đến 7,96% (trung bình là 3,52%) và tỷ lệ nhiễm của ốc cạn *Cathaica ravidia sieboldiana* là 0,08 - 7,41% (trung bình là 0,23%).

Sakamoto và cs. (1980) đã thu thập và xác định tỷ lệ nhiễm ấu trùng sán lá tuyến tụy ở 279 cá thể ốc cạn loài *Bradybaena similaris*, 36 ốc cạn loài *Acusta despecta sieboldiana*, 8 ốc cạn thuộc loài *Satsuma japonica* và 24 ốc cạn loài *Euhadra herklotsi*. Các cá thể ốc cạn này được thu thập từ những bãi chăn thả bò tại quận Hokusatsu, tỉnh Kagoshima, Nhật Bản. Tác giả cho biết, ấu trùng Sporocyst của sán lá tuyến tụy được tìm thấy trong 24/279 cá thể ốc cạn thuộc loài *B. similaris* (8,6%) và 3/36 cá thể ốc cạn thuộc loài *Acusta despecta sieboldiana* (8,3%), không tìm thấy ấu trùng sán lá tuyến tụy trong hai loài ốc còn lại.

Brandolini và Amato (2001) đã gây nhiễm thực nghiệm trứng của sán lá tuyến tụy *Eurytrema coelomaticum* cho ốc cạn *Bradybaena similaris*. Tác giả theo dõi thấy, sự phát triển của ấu trùng sán lá tuyến tụy trong cơ thể ốc cạn cho đến khi thải trừ Sporocyst con là 107 ngày vào tháng 3 và 79 ngày vào tháng 11.

Các nghiên cứu trên cho thấy, loài ốc cạn *Bradybaena similaris* là vật chủ trung gian thứ nhất của sán lá tuyến tụy. Tại Tuyên Quang, loài ốc cạn này cũng phổ biến hơn so với các loài còn lại. Điều này chứng tỏ, gia súc nhai lại tại tỉnh Tuyên Quang, trong đó chủ yếu là trâu, bò có nguy cơ cao nhiễm sán lá tuyến tụy.

b. *Xác định các loài châu chấu - vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy Eurytrema spp. tại Tuyên Quang*

Các nghiên cứu của Basch (1965), Tang và Tang (1975), Zhongzhang và Chongti (1977), Sakamoto và cs. (1980), Mattos Junior và Vianna (1987) đều cho rằng: châu chấu là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa có công trình nghiên cứu nào về các loài châu

chấu là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy ở Việt Nam nói chung và ở tỉnh Tuyên Quang nói riêng.

* *Định danh các loài châu chấu thu thập ở các địa phương của tỉnh Tuyên Quang* Chúng tôi đã thu thập mẫu châu chấu ở các khu vực chăn thả trâu, bò tại 5 huyện, thành phố nghiên cứu. Định danh loài châu chấu tại Trung tâm nghiên cứu Khoa học sự sống, Bảo tàng Thiên nhiên Việt Nam dựa theo mô tả của Lưu Tham Mưu và Đặng Đức Khương (2000), Cigliano (2020).

Kết quả định danh loài châu chấu được trình bày ở bảng 3.17 và biểu đồ hình 3.19.

Bảng 3.17. Kết quả định danh châu chấu thu thập tại các địa phương

Loài châu chấu	Địa phương và số châu chấu định danh										Tính chung (525)	
	Chiêm Hóa (131)		Hàm Yên (119)		Yên Sơn (95)		Sơn Dương (107)		TP. Tuyên Quang (73)			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
1. <i>Conocephalus maculatus</i>	41	31,3 0	39	32,7 7	28	29,4 7	3	30,84 3	23	31,51	164	31,24
2. <i>Conocephalus chinensis</i>	29	22,1 4	31	26,0 5	21	22,1 1	2	24,30 6	19	26,03	126	24,00
3. <i>Conocephalus melaenus</i>	17	12,9 8	22	18,4 9	13	13,6 8	1	11,21 2	3	4,11	67	12,76
4. <i>Diaphanogryllacris annamita</i>	14	10,6 9	7	5,88	3	3,16	1	12,15 3	9	12,33	46	8,76
5. <i>Ceracris kiangsu</i>	9	6,87	6	5,04	11	11,5 8	6	5,61	7	9,59	39	7,43
6. <i>Spathosternum pygmaeum</i>	8	6,11	4	3,36	6	6,32	7	6,54	1	1,37	26	4,95
7. <i>Phlaeoba antennata</i>	6	4,58	5	4,20	8	8,42	4	3,74	2	2,74	25	4,76
8. <i>Hexacentrus stali</i>	4	3,05	3	2,52	3	3,16	5	4,67	6	8,22	21	4,00

1	<i>Conocephalus chinensis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	24/25 (96,00)
2	<i>Conocephalus maculatus</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	25/25 (100)
3	<i>Conocephalus melaenus</i>	3/5	4/5	3/5	3/5	1/5	14/25 (56,00)
4	<i>Diaphanogryllacris annamita</i>	3/5	2/5	3/5	3/5	2/5	13/25 (52,00)
5	<i>Ceracris kiangsu</i>	3/5	2/5	4/5	3/5	2/5	14/25 (56,00)
6	<i>Spathosternum pygmaeum</i>	3/5	2/5	3/5	2/5	1/5	11/25 (44,00)
7	<i>Phlaeoba antennata</i>	3/5	2/5	2/5	2/5	1/5	10/25 (40,00)
8	<i>Hexacentrus stali</i>	2/5	3/5	1/5	1/5	2/5	9/25 (36,00)
9	<i>Neoconocephalus robustus</i>	3/5	1/5	1/5	1/5	1/5	7/25 (28,00)

* *Xác định loài châu chấu đã định danh là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy tại Tuyên Quang*

Sau khi xác định được thành phần loài châu chấu thu thập tại 5 huyện, thành phố thuộc tỉnh Tuyên Quang, chúng tôi đã tham chiếu với kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trên thế giới để xác định loài châu chấu nào là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại tỉnh Tuyên Quang. Kết quả tham chiếu được trình bày ở bảng 3.19.

Bảng 3.19. Các loài châu chấu - vật chủ trung gian thứ hai của sán lá *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang qua tham chiếu

TT	Loài châu chấu đã định danh	Loài châu chấu là VCTG thứ hai của sán lá tuyến tụy tại Tuyên Quang (*)	Tác giả đã công bố (**)
1	<i>Conocephalus chinensis</i>	+	Dvoryadki (1969); Yamaguti (1975)
2	<i>Conocephalus maculatus</i>	+	Basch (1965); Jang (1969); Yamaguti (1975); Sakamoto và cs. (1980); Chinone và cs. (1984)
3	<i>Conocephalus melaenus</i>	-	Chưa có
4	<i>Diaphanogryllacris annamita</i>	-	Chưa có
5	<i>Ceracris kiangsu</i>	-	Chưa có
6	<i>Spathosternum pygmaeum</i>	-	Chưa có
7	<i>Phlaeoba antennata</i>	-	Chưa có
8	<i>Hexacentrus stali</i>	-	Chưa có
9	<i>Neoconocephalus robustus</i>	-	Chưa có

Ghi chú: (*): các loài châu chấu chúng tôi đã định danh tại Tuyên Quang

(**): công trình công bố của các tác giả về loài châu chấu - vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy

Kết quả ở bảng 3.19 cho thấy: trong 9 loài châu chấu đã định danh tại tỉnh Tuyên Quang chỉ có 2 loài là *Conocephalus maculatus* và *Conocephalus chinensis* đã được một số công trình nghiên cứu chứng minh là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. Ngoài 2 loài này, 7 loài còn lại chưa được tác giả nào chứng minh đóng vai trò là vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy.

Các tác giả Basch (1965), Jang (1969), Yamaguti (1975), Sakamoto và cs. (1980), Chinone và cs. (1984) đã nghiên cứu và cho biết, loài châu chấu *Conocephalus maculatus* và *Conocephalus chinensis* là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp.

Basch (1965) đã mổ khảo sát 1.036 cá thể châu chấu thuộc loài *Conocephalus maculatus* tại Kuala Lumpur, Malaysia, có 39 cá thể (chiếm 4%) chứa ấu trùng giai

đoạn Metacercaria của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp.

Theo Dvoryadki (1969), tại vùng Đông Nam của Liên bang Nga, tỷ lệ nhiễm ấu trùng Metacercaria của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. ngoài tự nhiên là 1,8% trên hai loài châu chấu *Conocephalus percaudatus* và *Conocephalus chinensis*.

Jang (1969) đã nghiên cứu và báo cáo: vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại đảo Jeju, Hàn Quốc, là 2 loài châu chấu *Conocephalus maculatus* và *Conocephalus gladiatus*.

Sakamoto và cs. (1980) đã tìm ấu trùng sán lá *Eurytrema* spp. trên 4 loài châu chấu: *Conocephalus maculatus*, *Phaneroptera falcata*, *Metrioptera hime* và *Homorocoryphus nitidulus* thu thập trên đồng cỏ tại Nhật Bản. Tác giả cho biết, ấu trùng Metacercaria của sán lá *Eurytrema* spp. được tìm thấy trong xoang cơ thể của loài châu chấu *Conocephalus maculatus* là 18,3% vào tháng 7 và 42% vào tháng 12.

Kết quả nghiên cứu của các tác giả trên chứng tỏ, loài châu chấu *Conocephalus maculatus* và *Conocephalus chinensis* là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá *Eurytrema* spp. tại nhiều quốc gia trên thế giới. Theo đó, hai loài châu chấu này được tìm thấy phổ biến ở các địa phương của tỉnh Tuyên Quang cũng là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá *Eurytrema* spp.

3.2.3. Nghiên cứu đặc điểm bệnh lý và lâm sàng của bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

3.2.3.1. Triệu chứng lâm sàng của trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy

Chúng tôi đã quan sát biểu hiện lâm sàng của 136 trâu, bò có kết quả xét nghiệm phân chỉ nhiễm sán lá tuyến tụy, không nhiễm thêm loại giun, sán nào khác. Kết quả được trình bày ở bảng 3.20.

Bảng 3.20. Triệu chứng chủ yếu của trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy

Số trâu, bò nhiễm (con)	Số trâu, bò có triệu chứng (con)	Tỷ lệ (%)	Triệu chứng chủ yếu	Số trâu, bò biểu hiện (con)	Tỷ lệ (%)
136	35	25,74	Gầy yếu, chậm chạp	15	42,86
			Tiêu chảy, phân có nhiều chất nhầy	9	25,71
			Thủy thũng ở cổ và ngực	5	14,29
			Mắt có dử trắng đục	8	22,86

Thiếu máu, niêm mạc nhợt nhạt	10	28,57
-------------------------------	----	-------

Kết quả bảng 3.20 cho thấy:

Trong 136 con trâu, bò chỉ nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. có 35 con biểu hiện triệu chứng lâm sàng, chiếm tỷ lệ 25,74%.

Các biểu hiện lâm sàng của trâu bò nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. chủ yếu là gầy yếu, chậm chạp; tiêu chảy, phân có nhiều chất nhầy; thủy thũng ở cổ và ngực; mắt có đờ trắng đục; thiếu máu, niêm mạc nhợt nhạt. Số trâu, bò có các biểu hiện này biến động từ 14,29 - 42,86% trong số trâu, bò có triệu chứng lâm sàng.

Sakamoto và cs. (1980) đã quan sát 8 bò nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema pancreaticum*, tác giả cho biết: triệu chứng lâm sàng của bò mắc bệnh là gầy, giảm cân và chảy nhiều nước bọt.

Theo Ilha và cs. (2005), biểu hiện lâm sàng của gia súc bị bệnh sán lá tuyến tụy nặng hay nhẹ phụ thuộc vào cường độ nhiễm, tình trạng sức khỏe, tuổi súc vật, tình trạng nuôi dưỡng và quản lý. Gia súc bị bệnh thường gầy yếu, khát nước, thủy thũng ở cổ và ngực, ỉa chảy, phân có nhiều chất nhầy, nhiệt độ cơ thể hạ thấp, mạch yếu, con vật có thể chết do suy nhược. Con vật nhiễm bệnh thường có dấu hiệu buồn ngủ, mệt mỏi, hay nằm và gầy sút.

Rachid và cs. (2011) đã quan sát triệu chứng lâm sàng của 3 bò Nelore mắc bệnh sán lá tuyến tụy tại bang Minas Gerais, Brasil. Tác giả cho biết: bò mắc bệnh có biểu hiện giảm cân, chán ăn, gầy và hay nằm.

Như vậy, trâu, bò nuôi ở các nông hộ của tỉnh Tuyên Quang bị bệnh sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. cũng có triệu chứng tương đối phù hợp với mô tả của các tác giả trên.

3.2.3.2. Tổn thương đại thể của trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy ở các địa phương

Quan sát tổn thương đại thể của 71 trâu, bò mổ khám có sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. ký sinh, kết quả được trình bày ở bảng 3.21.

Bảng 3.21. Tổn thương đại thể ở trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy

Số trâu, bò mổ khám nhiễm sán lá tuyến tụy (con)	Số trâu, bò có tổn thương (con)	Tỷ lệ (%)	Những tổn thương chủ yếu	Số trâu, bò biểu hiện (con)	Tỷ lệ (%)
71	23	32,39	Tuyến tụy cứng, nhạt màu, tăng kích thước và bị xơ hóa	11	47,83
			Hạch màng treo ruột sưng	5	21,74

Gan sung, màu vàng nhạt	4	17,39
Ruột viêm, xuất huyết	7	30,43

Qua bảng 3.21 cho thấy, mổ khám 71 trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy, thấy 23 trâu, bò có bệnh tích đại thể, chiếm tỷ lệ 32,39%. Các tổn thương đại thể tập trung chủ yếu ở tuyến tụy của trâu, bò, nơi sán lá ký sinh. Cụ thể như sau:

Các bệnh tích đại thể như tuyến tụy cứng, nhạt màu, tăng kích thước và bị xơ hóa (chiếm tỷ lệ 47,83%), ruột viêm và xuất huyết (chiếm tỷ lệ 30,43%). Những tổn thương khác như hạch màng treo ruột sung; gan sung, màu vàng nhạt chiếm tỷ lệ thấp hơn (21,74% và 17,39%).

Graydon và cs. (1992) đã nghiên cứu và cho biết: mổ khám tuyến tụy bò có sán lá *Eurytrema* spp. ký sinh, thấy tuyến tụy có màu nhạt, nhiều chất nhầy, tăng kích thước so với bình thường, có hiện tượng xơ hóa, ống dẫn tụy bị giãn, bên trong chứa nhiều sán lá *Eurytrema* spp.

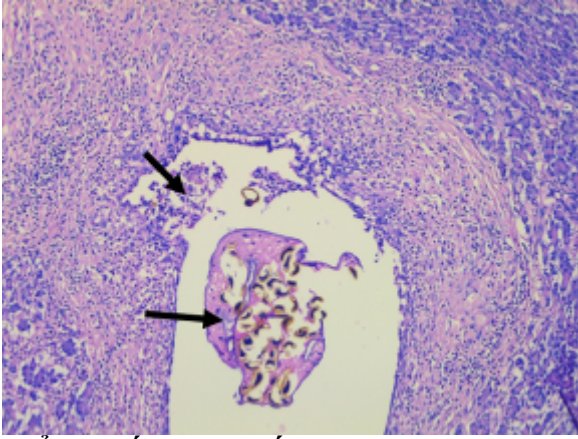
Rachid và cs. (2011) đã mô tả, ngoài các tổn thương ở tuyến tụy, sán lá *Eurytrema* spp. còn làm cho hạch màng treo ruột sung, gan sung và có màu vàng nhạt, thận viêm nhẹ với sự xuất hiện các trụ niệu và protein bên trong phần vỏ và tủy thận.

Theo Hambal và cs. (2020), Pantiu và cs. (2021): khi tuyến tụy có nhiều sán lá *Eurytrema* spp. ký sinh thì phình to, bề mặt tuyến tụy trắng nhạt, có chất nhầy và nhẵn nhéo; một phần ống tụy dày lên và có màu nhợt nhạt; một số thùy tụy bị tổn thương nghiêm trọng.

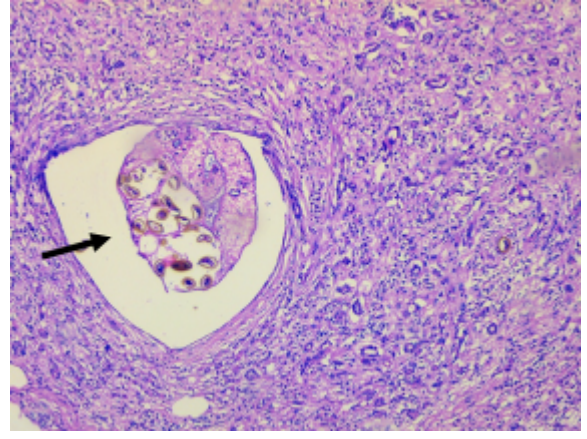
Kết quả nghiên cứu trên trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy ở tỉnh Tuyên Quang cho thấy, các tổn thương đại thể ở đường tiêu hóa của trâu, bò bị bệnh sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại tỉnh Tuyên Quang tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu và mô tả của các tác giả trên.

3.2.3.3. Tổn thương vi thể ở trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy

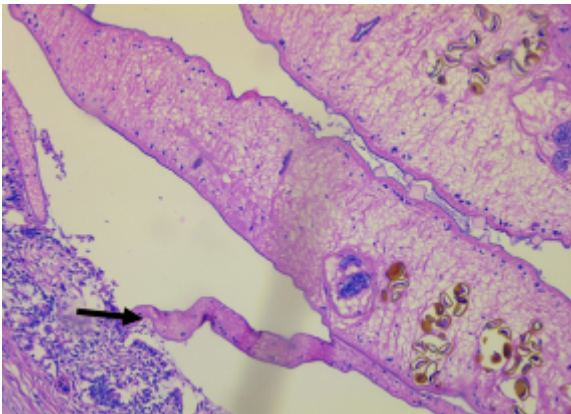
Chúng tôi đã xác định những tổn thương vi thể ở tuyến tụy của trâu, bò mắc bệnh, tiêu bản tổ chức được làm từ tuyến tụy của trâu, bò có tổn thương đại thể rõ rệt. Kết quả xác định tổn thương vi thể của trâu, bò được trình bày ở hình 3.20.



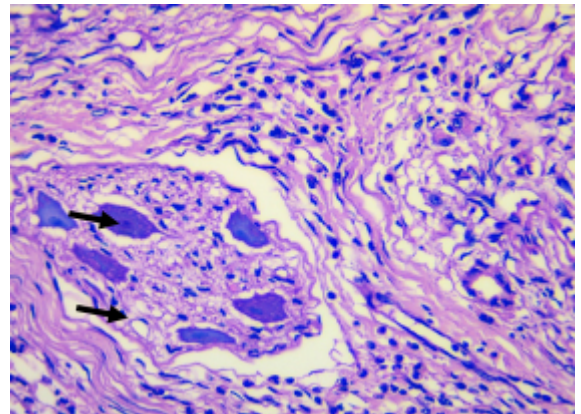
Biểu mô ống bài xuất lớn hoại tử, long tróc, trong lòng chứa sán trưởng thành và trứng sán (Tiêu bản nhuộm HE, x 200).



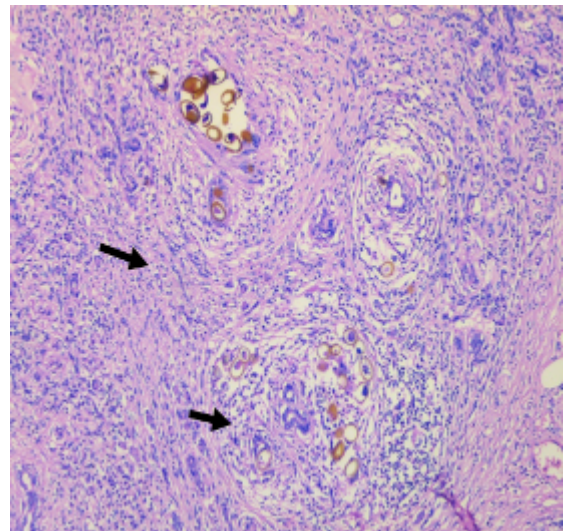
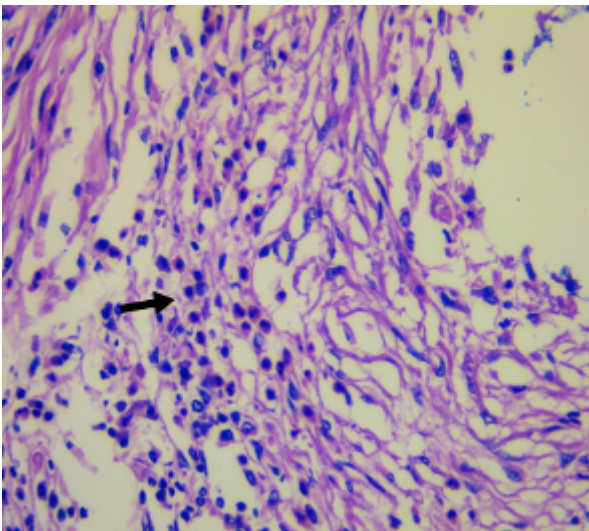
Hình ảnh sán trong mô tụy (Tiêu bản nhuộm HE, x 200)



Giác bám của sán bám vào lớp biểu mô lót ống bài xuất (Tiêu bản nhuộm HE, x 200)

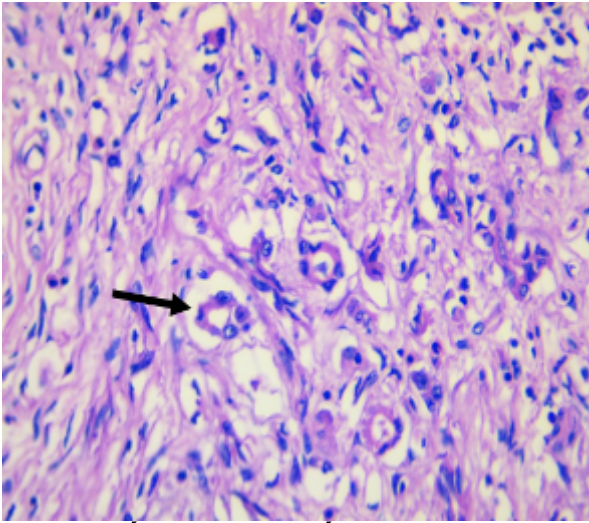


Phản ứng mô đệm quanh sán lá đã thoái hóa, can xi hóa (Tiêu bản nhuộm HE, x 100)

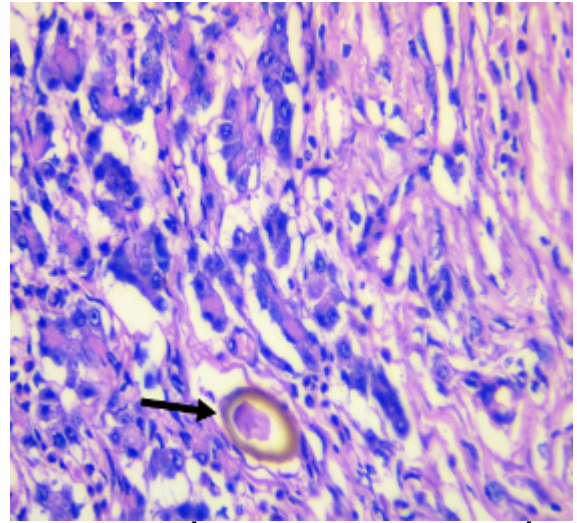


Tế bào viêm và xơ quanh sán lá thoái hóa
(Tiêu bản nhuộm HE, x 200)

Mô tụy xâm nhập tế bào viêm mạn
tính, xơ hóa (Tiêu bản nhuộm
HE, x 200)



Các tuyến tụy ngoại tiết teo đét, xơ hóa,
(Tiêu bản nhuộm HE, x 400)



Trứng sán nằm trong vùng tụy nội tiết
(Tiêu bản nhuộm HE, x 400)

Hình 3.20. Tổn thương vi thể ở tuyến tụy trâu, bò nhiễm sán lá *Eurytrema* spp.

Hình 3.20 cho thấy, các tổn thương do sán lá *Eurytrema* spp. gây ra chủ yếu tại tuyến tụy. Cụ thể: sán lá và trứng sán lá làm cho ống dẫn tụy giãn ra, các nang sán được hình thành trong mô tụy, khi giác bám của sán lá bám vào mô tụy gây ra phản ứng viêm. Quá trình viêm kéo dài lâu ngày, khi phản ứng viêm kết thúc thì các mô tụy bị teo đét, dẫn đến thoái hóa và xơ hóa các mô tụy. Những biến đổi vi thể này dẫn đến rối loạn chức năng của tuyến tụy.

Headley và cs. (2009) đã căn cứ vào biến đổi vi thể của tuyến tụy để phân loại tuyến tụy của gia súc mắc bệnh thành 5 nhóm:

Nhóm 1: tuyến tụy bình thường.

Nhóm 2: có sự tăng sinh các tế bào biểu mô ống dẫn tụy và viêm nhẹ, xơ hóa kẽ mô và quanh ống dẫn tụy.

Nhóm 3: có sự tăng sinh mạnh các tế bào biểu mô ống dẫn tụy, có sự tắc nghẽn nhẹ hoặc vỡ ống dẫn tụy; hiện tượng xơ hóa ống dẫn tụy và phản ứng viêm xảy ra rất mạnh; có sự vôi hóa nhẹ, viêm tụy kẽ mô và thâm nhiễm mỡ nhẹ.

Nhóm 5: viêm tụy kẽ mô lan tỏa mãn tính, đặc trưng bởi sự tắc nghẽn nghiêm trọng, ống dẫn tụy vỡ ra, vôi hóa và thâm nhiễm mỡ.

Quevedo và cs. (2013), Schwertz và cs. (2015), Grosskopf và cs. (2016) cho biết: sán lá *Eurytrema* spp. ký sinh ở tuyến tụy và ống dẫn tụy nên bệnh tích của gia súc mắc bệnh chủ yếu tập trung ở tuyến tụy: tuyến tụy bị xơ hóa, ống dẫn tụy giãn. Ngoài ra, ống dẫn tụy có thể bị viêm. Khi gia súc có sán lá tuyến tụy ký sinh với số lượng lớn, ống tụy bị tắc, các mô tụy bị tổn thương. Ở gia súc có sán lá tuyến tụy ký sinh, tất cả các mô bào của ống dẫn tụy được thay thế bởi các mô xơ hóa, dần dần ống dẫn tụy bị phá hủy do sự tăng sinh các mô liên kết.

Những biến đổi vi thể ở trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại Tuyên Quang mà chúng tôi quan sát được tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả trên.

3.2.3.4. Nghiên cứu sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa máu của trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy

* Sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh lý máu của trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy

Chúng tôi đã xác định một số chỉ tiêu sinh lý máu và công thức bạch cầu của 15 trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy và 15 trâu, bò khỏe. Kết quả được trình bày ở bảng 3.22 và 3.23.

Bảng 3.22. Sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh lý máu và công thức bạch cầu của trâu mắc bệnh sán lá tuyến tụy

Chỉ tiêu xét nghiệm	Trâu		Mức ý nghĩa (P)	Chỉ tiêu sinh lý (theo Abd Ellah và cs., 2014; Lưu Tuấn Nghĩa và Nguyễn Bá Tiếp, 2016)
	mắc bệnh	Trâu khỏe		
Số mẫu máu xét nghiệm	15	15		
Số lượng hồng cầu ($10^6/\text{mm}^3$)	$6,05 \pm 0,1$	$8,39 \pm 0,04$	< 0,01	6,41 - 10,64
Hemoglobin (g/dL)	$9,66 \pm 0,46$	$13,99 \pm 0,88$	< 0,01	9,57 - 17,05
Hematocrit (%)	$27,13 \pm 0,4$	$38,8 \pm 0,69$	< 0,01	30,25- 50,08
Số lượng bạch cầu ($10^3/\text{mm}^3$)	$17,98 \pm 0,19$	$11,31 \pm 0,11$	< 0,01	7,35 - 16,94
Bạch cầu ái kiềm (%)	$1,37 \pm 0,06$	$1,05 \pm 0,04$	< 0,01	0,00 - 2,00

Bạch cầu ái toan (%)	6,32 ± 0,06	2,14 ± 0,02	< 0,01	0,00 - 5,80
Bạch cầu trung tính (%)	51,25 ± 0,05	33,16 ± 0,64	< 0,05	15,2 - 48,0
Bạch cầu lympho (%)	35,42 ± 0,05	57,25 ± 0,41	< 0,05	48,2 - 75,80
Bạch cầu đơn nhân lớn (%)	5,64 ± 0,11	6,43 ± 0,13	< 0,05	0,00 - 8,00

Kết quả bảng 3.22 cho thấy:

Trâu khỏe có số lượng hồng cầu trung bình là 8,39 triệu/mm³ máu; hàm lượng hemoglobin (Hb) là 13,99 g/dL; tỷ lệ thể tích hồng cầu (Hct) là 38,8%; số lượng bạch cầu là 11,31 nghìn/mm³ máu; bạch cầu ái kiềm là 1,05%; bạch cầu ái toan (2,14%), bạch cầu trung tính (33,16%), bạch cầu lympho (57,25%) và bạch cầu đơn nhân lớn (6,43%).

So với các chỉ tiêu sinh lý máu trâu khỏe của Abd Ellah và cs. (2014), Lưu Tuấn Nghĩa và Nguyễn Bá Tiếp (2016) thì các chỉ tiêu sinh lý máu và công thức bạch cầu của trâu khỏe trong nghiên cứu này đều nằm trong giới hạn sinh lý bình thường.

Trâu mắc bệnh sán lá tuyến tụy có số lượng hồng cầu trung bình là 6,05 triệu/mm³ máu; hàm lượng hemoglobin là 9,66 g/dL; tỷ lệ thể tích hồng cầu là 27,13%; số lượng bạch cầu là 17,98 nghìn/mm³ máu; bạch cầu ái kiềm là 1,37%; bạch cầu ái toan (6,32%), bạch cầu trung tính (51,25%), bạch cầu lympho (35,42%) và bạch cầu đơn nhân lớn (5,64%).

So sánh các chỉ tiêu hồng cầu và bạch cầu của trâu mắc bệnh sán lá tuyến tụy và trâu khỏe, thấy: số lượng hồng cầu trung bình, hàm lượng hemoglobin và tỷ lệ thể tích hồng cầu ở trâu mắc bệnh giảm so với trâu khỏe. Sự khác nhau này có ý nghĩa thống kê (P<0,01). Trong khi đó, có sự thay đổi về tỷ lệ các loại bạch cầu: tỷ lệ bạch cầu trung tính của trâu mắc bệnh tăng lên rõ rệt so với trâu khỏe (51,25% so với 33,16%). Sự tăng lên này có ý nghĩa thống kê (P<0,05). Tỷ lệ bạch cầu ái kiềm và ái toan của trâu mắc bệnh tăng hơn so với trâu khỏe (lần lượt là 1,37% so với 1,05%; 6,32% so với 2,14%) và có ý nghĩa thống kê (P<0,01). Tỷ lệ bạch cầu

lympho và bạch cầu đơn nhân lớn của trâu mắc bệnh giảm so với trâu khỏe (lần lượt 35,42% so với 57,25%; 5,64% so với 6,43%), sự giảm xuống này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Kết quả về một số chỉ tiêu sinh lý máu và công thức bạch cầu của bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy và bò khỏe được trình bày ở bảng 3.23.

Bảng 3.23. Sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh lý máu và công thức bạch cầu của bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy

Chỉ tiêu xét nghiệm	Bò mắc bệnh	Bò khỏe	Mức ý nghĩa (P)	Chỉ tiêu sinh lý (theo Hoàng Toàn Thắng và Cao Văn, 2006; Kaneko và cs., 2008)
Số mẫu máu xét nghiệm	15	15		
Số lượng hồng cầu ($10^6/\text{mm}^3$)	$4,54 \pm 0,08$	$7,85 \pm 0,12$	$< 0,01$	5 - 10
Hemoglobin (g/dL)	$7,26 \pm 0,06$	$11,01 \pm 0,28$	$< 0,01$	8 - 15
Hematocrit (%)	$22,8 \pm 0,07$	$37,13 \pm 0,36$	$< 0,01$	24 - 46
Số lượng bạch cầu ($10^3/\text{mm}^3$)	$15,31 \pm 0,13$	$9,46 \pm 0,09$	$< 0,01$	4 - 12
Bạch cầu ái kiềm (%)	$1,58 \pm 0,05$	$1,02 \pm 0,02$	$< 0,01$	0 - 2
Bạch cầu ái toan (%)	$23,01 \pm 0,19$	$14,01 \pm 0,21$	$< 0,01$	0 - 20
Bạch cầu trung tính (%)	$37,18 \pm 0,21$	$24,31 \pm 0,27$	$< 0,05$	15 - 45
Bạch cầu lympho (%)	$34,11 \pm 0,19$	$55,13 \pm 0,25$	$< 0,05$	45 - 75
Bạch cầu đơn nhân lớn (%)	$4,12 \pm 0,16$	$5,53 \pm 0,11$	$< 0,05$	2 - 7

Kết quả bảng 3.23 cho thấy:

Bò khỏe có số lượng hồng cầu trung bình là 7,85 triệu/ mm^3 máu; hàm lượng hemoglobin (Hb) là 11,01 g/dL; tỷ lệ thể tích của hồng cầu (Hct) là 37,13%; số lượng bạch cầu là 9,46 nghìn/ mm^3 máu; bạch cầu ái kiềm là 1,02%; bạch cầu ái toan (14,01%), bạch cầu trung tính (24,31%), bạch cầu lympho (55,13%) và bạch cầu đơn nhân lớn (5,53%).

Như vậy, số lượng hồng cầu, hàm lượng hemoglobin, tỷ lệ thể tích hồng cầu và công thức bạch cầu của bò khỏe trong nghiên cứu của chúng tôi đều nằm trong giới hạn sinh lý bình thường (theo Hoàng Toàn Thắng và Cao Văn, 2006; Kaneko và cs., 2008).

Xét nghiệm máu của 15 bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy, số lượng hồng cầu trung bình là 4,54 triệu/ mm^3 máu; hàm lượng hemoglobin là 7,26 g/dL; tỷ lệ thể tích hồng cầu của hồng cầu là 22,8%; số lượng bạch cầu là 15,31 nghìn/ mm^3 máu; bạch

cầu ái kiềm là 1,58%; bạch cầu ái toan (23,01%), bạch cầu trung tính (37,18%), bạch cầu lympho (34,11%) và bạch cầu đơn nhân lớn (4,12%).

So sánh các chỉ tiêu về hồng cầu, bạch cầu của bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy và bò khỏe, thấy: số lượng hồng cầu trung bình, hàm lượng hemoglobin và tỷ lệ thể tích của hồng cầu của bò mắc bệnh thấp hơn so với bò khỏe. Sự khác nhau này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,01$). Trong khi đó, có sự thay đổi về tỷ lệ các loại bạch cầu: tỷ lệ bạch cầu trung tính của bò mắc bệnh tăng lên so với bò khỏe (37,18% so với 24,31%). Sự tăng lên này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Tỷ lệ bạch cầu ái kiềm và ái toan của bò mắc bệnh tăng hơn so với bò khỏe (lần lượt là 1,58% so với 1,02%; 23,01% so với 14,01%) và có ý nghĩa thống kê ($P < 0,01$). Tỷ lệ bạch cầu lympho và bạch cầu đơn nhân lớn của bò mắc bệnh giảm so với bò khỏe (lần lượt 34,11% so với 55,13%; 4,12% so với 5,53%), sự giảm xuống này có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Ilha và cs. (2005) cho biết: số lượng hồng cầu của bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy tại bang Parana, miền Nam Brasil là 3,6 - 4,8 triệu/mm³ máu, hàm lượng hemoglobin là 4,5 - 7,9 g/dL, tỷ lệ thể tích hồng cầu là 19 - 23%, có sự tăng lên của bạch cầu trung tính (4,4 - 7,0 triệu/mm³) so với giới hạn bình thường (0,6 - 4,0 triệu/mm³).

Cho đến nay, có rất ít công trình nghiên cứu về sự thay đổi chỉ tiêu hồng cầu, bạch cầu của trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy so với trâu, bò khỏe. Tuy nhiên, đã có nhiều tác giả công bố kết quả nghiên cứu về sự thay đổi chỉ tiêu huyết học của trâu, bò mắc bệnh sán lá khác.

Theo Brahmhatt và cs. (2021), sự thay đổi một số chỉ tiêu hồng cầu và bạch cầu của bò Gir và trâu Jaffrabadi mắc bệnh sán lá gan tại quận Junagadh, Ấn Độ: các chỉ số hồng cầu của trâu, bò nhiễm sán lá đều giảm, có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$). Hàm lượng hemoglobin, số lượng hồng cầu, phần trăm thể tích hồng cầu, lâm ba cầu và bạch cầu đơn nhân lớn đều giảm. Trong khi các chỉ tiêu khác như bạch cầu đa nhân trung tính và bạch cầu ái toan tăng lên đáng kể ($P < 0,05$).

Tham chiếu với các công bố trên cho thấy, sự thay đổi một số chỉ tiêu hồng cầu và bạch cầu của trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy so với trâu, bò khỏe ở Tuyên Quang tương đối phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả trên.

* Sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh hóa máu của trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy

Chúng tôi đã xét nghiệm máu của trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy và trâu, bò khỏe để xác định một số chỉ tiêu sinh hóa máu. Kết quả được trình bày ở bảng 3.24 (với trâu) và bảng 3.25 (với bò).

Bảng 3.24. Sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh hóa máu của trâu mắc bệnh sán lá tuyến tụy

Chỉ tiêu xét nghiệm	Trâu mắc bệnh	Trâu khỏe	Mức ý nghĩa (P)	Chỉ tiêu sinh lý (theo Abd Ellah và cs., 2014; Lưu Tuấn Nghĩa và Nguyễn Bá Tiếp, 2016)
Số mẫu máu xét nghiệm	15	15		
Protein (g/L)	53,16 ± 0,19	70,42 ± 0,13	> 0,05	56,30 - 81,00
Albumin (g/L)	31,87 ± 0,26	35,53 ± 0,42	> 0,05	24,90 - 40,70
Globulin (g/L)	22,78 ± 0,25	41,52 ± 0,67	> 0,05	23,4 - 50,00
Gamma glutamyl transferase (U/L)	20,39 ± 0,23	11,05 ± 0,18	> 0,05	3,91 - 18,78
Aspartate aminotransferase (U/L)	57,55 ± 0,16	43,22 ± 0,25	> 0,05	22,29 - 68,71
Amylase (U/L)	144,67 ± 1,57	79,14 ± 0,4	< 0,01	75,00 - 150,00
Cholesterol (mg/dL)	67,74 ± 0,13	58,27 ± 0,42	> 0,05	34,92 - 76,82
Glucose (mg/dL)	138,91 ± 2,23	72,24 ± 0,28	< 0,01	35,45 - 92,47

Kết quả bảng 3.24 cho thấy:

Xét nghiệm máu của trâu khỏe: hàm lượng protein là 70,42 g/L; hàm lượng albumin (35,53 g/L), globulin (41,52 g/L), gamma glutamyl transferase (11,05 U/L), aspartate aminotransferase (43,22 U/L), amylase (79,14 U/L), cholesterol (58,27 mg/dL) và glucose (72,24 mg/dL).

Như vậy, một số chỉ tiêu sinh hóa máu của trâu khỏe trong nghiên cứu của chúng tôi đều nằm trong giới hạn bình thường (theo Abd Ellah và cs., 2014; Lưu Tuấn Nghĩa và Nguyễn Bá Tiếp, 2016).

Xét nghiệm một số chỉ tiêu sinh hóa máu của trâu mắc bệnh sán lá tuyến tụy: hàm lượng protein là 53,16 g/L; hàm lượng albumin (31,87 g/L), globulin (22,78 g/L), gamma glutamyltransferase (20,39 U/L), aspartate aminotransferase (57,55 U/L), amylase (144,67 U/L), cholesterol (67,74 mg/dL) và glucose (138,91 mg/dL).

So sánh các chỉ tiêu sinh hóa máu của trâu mắc bệnh sán lá tuyến tụy và trâu khỏe: hàm lượng protein, albumin và globulin ở trâu mắc bệnh giảm nhẹ so với trâu khỏe. Tuy nhiên, sự khác nhau này không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Các chỉ số gamma glutamyl transferase, aspartate aminotransferase và cholesterol ở trâu mắc bệnh tăng nhẹ so với trâu khỏe, sự khác nhau này không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$). Trong khi, các chỉ số amylase và glucose của trâu mắc bệnh tăng lên rõ rệt so với trâu khỏe ($P < 0,01$).

Bảng 3.25. Sự thay đổi một số chỉ tiêu sinh hóa máu của bò mắc bệnh

Chỉ tiêu xét nghiệm	Bò mắc bệnh	Bò khỏe	Mức ý nghĩa (P)	Chỉ tiêu sinh lý (theo Hoàng Toàn Thắng và Cao Văn, 2006; Kaneko và cs., 2008)
Số mẫu máu xét nghiệm	15	15		
Protein (g/L)	51,13 ± 0,16	68,46 ± 0,11	> 0,05	67,4 - 74,6
Albumin (g/L)	31,20 ± 0,13	33,27 ± 0,35	> 0,05	30,3 - 35,5
Globulin (g/L)	23,64 ± 0,25	33,08 ± 0,22	> 0,05	30,0 - 34,0
Gamma glutamyl transferase (U/L)	28,39 ± 0,19	19,72 ± 0,11	> 0,05	4,90 - 25,70
Aspartate aminotransferase (U/L)	32,22 ± 0,18	21,55 ± 0,18	> 0,05	6,90 - 35,30
Amylase (U/L)	135,70 ± 0,17	75,67 ± 0,5	< 0,01	41,30 - 98,30
Cholesterol (mg/dL)	98,07 ± 0,18	91,74 ± 0,2	> 0,05	80,00 - 120,00
Glucose (mg/dL)	135,58 ± 1,3	68,98 ± 0,23	< 0,01	42,10 - 74,50

Bảng 3.25 cho thấy:

Xét nghiệm máu của bò khỏe: hàm lượng protein là 68,46 g/L; hàm lượng albumin (33,27 g/L), globulin (33,08 g/L), gamma glutamyl transferase (19,72 U/L), aspartate aminotransferase (21,55 U/L), amylase (75,67 U/L), cholesterol (91,74 mg/dL) và glucose (68,98 mg/dL).

Tham chiếu với tài liệu của Hoàng Toàn Thắng và Cao Văn (2006), Kaneko và cs. (2008) cho thấy: các chỉ số sinh hóa máu của bò khỏe mạnh trong nghiên cứu của chúng tôi đều nằm trong giới hạn bình thường.

Xét nghiệm các chỉ số sinh hóa máu của bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy, hàm lượng protein là 51,13 g/L; hàm lượng albumin (31,20 g/L), globulin (23,64 g/L), gamma glutamyl transferase (28,39 U/L), aspartate aminotransferase (32,22 U/L), amylase (135,70 U/L), cholesterol (98,07 mg/dL) và glucose (135,58 mg/dL).

So sánh các chỉ tiêu sinh hóa máu của bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy và bò khỏe: hàm lượng protein, albumin và globulin ở bò mắc bệnh giảm nhẹ so với bò khỏe. Tuy nhiên, sự khác nhau này không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$). Các chỉ số gamma glutamyl transferase, aspartate aminotransferase và cholesterol ở bò mắc bệnh tăng nhẹ so với bò khỏe nhưng vẫn nằm trong mức giới hạn, sự khác nhau này không có ý nghĩa thống kê ($P>0,05$). Trong khi, các chỉ số amylase và glucose của bò mắc bệnh tăng lên rõ rệt so với bò khỏe ($P<0,01$). Sự thay đổi các chỉ số sinh hóa của bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy tương tự như ở trâu mắc bệnh.

Sakamoto và cs. (1980) đã nghiên cứu các chỉ tiêu sinh hóa máu của 8 bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy tại tỉnh Kagoshima, Nhật Bản. Tác giả cho biết: các chỉ tiêu gamma glutamyl transferase, amylase và protein không có sự thay đổi đáng kể, song hàm lượng glucose tăng lên đáng kể so với bò khỏe.

Ilha và cs. (2005) đã phân tích các chỉ số sinh hóa máu bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy tại bang Parana, miền Nam của Brasil. Tác giả cho biết: các chỉ số sinh hóa bao gồm aspartate aminotransferase, gamma glutamyl transferase, albumin và protein đều nằm trong giới hạn sinh lý bình thường. Các chỉ số về hàm lượng amylase (1580 U/L) và glucose (83,2 - 154,6 mg/dL) tăng lên rõ rệt so với giới hạn bình thường.

Theo Surian và cs. (2022), chỉ số sinh hóa của enzyme amylase cao hơn rõ rệt ở bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy (trung bình 119,3 U/L) so với bò không mắc bệnh (56,0 U/L). Hàm lượng glucose tăng lên rõ rệt so với mức bình thường, chỉ số cholesterol thay đổi không đáng kể so với giới hạn bình thường.

So sánh với kết quả nghiên cứu của các tác giả trên, chúng tôi nhận thấy: các chỉ tiêu sinh hóa máu của trâu, bò mắc bệnh tại Tuyên Quang như hàm lượng

protein và albumin khác với nhận xét của Sakamoto và cs. (1980), Ilha và cs. (2005), song các chỉ tiêu về amylase, glucose, gamma glutamyl transferase, aspartate aminotransferase và cholesterol đều phù hợp.

3.2.4. Nghiên cứu và đề xuất biện pháp phòng trị bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

3.2.4.1. Nghiên cứu thuốc có hiệu lực cao tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

* Thử nghiệm để chọn loại thuốc có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

Chúng tôi đã sử dụng 3 loại thuốc: albendazole (liều 12,5 mg/kg TT), praziquantel (liều 15 mg/kg TT) và nitroxynil (liều 1ml/ 25 kg TT), mỗi loại thuốc sử dụng cho 5 trâu và 5 bò nhiễm sán lá tuyến tụy. Hiệu lực của thuốc được trình bày ở bảng 3.26.

Bảng 3.26. Hiệu lực của 3 loại thuốc tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

Thuốc tẩy sán lá tuyến tụy	Loài gia súc	Trước tẩy		Sau tẩy 15 ngày		Hiệu lực tẩy	
		Số nhiễm (con)	Cường độ ($\bar{X} \pm m_{\bar{x}}$) (Trứng/g phân)	Số nhiễm (con)	Cường độ ($\bar{X} \pm m_{\bar{x}}$) (Trứng/g phân)	Số sạch trứng (con)	Hiệu lực tẩy (%)
Albendazole (12,5 mg/kg TT)	Trâu	5	489,2 ± 59,2	4	471,2 ± 62,8	1	20
	Bò	5	440,2 ± 73,0	4	426,2 ± 74,2	1	20
Praziquantel (15 mg/kg TT)	Trâu	5	589,8 ± 16,1	1	52	4	80
	Bò	5	511,8 ± 17,9	1	36	4	80
Nitroxynil (1ml/ 25 kg TT)	Trâu	5	595,8 ± 15,6	2	209,2 ± 18,9	3	60
	Bò	5	486,2 ± 22,3	3	194,2 ± 22,0	2	40

Qua bảng 3.26 cho thấy:

Đối với thuốc albendazole: cường độ nhiễm trung bình của 5 trâu trước khi dùng thuốc tẩy là 489,2 ± 59,2 trứng/g phân; của 5 bò là 440,2 ± 73,0 trứng/g phân. Kiểm tra lại phân ở ngày thứ 15 sau tẩy, thấy có 4 trâu và 4 bò vẫn nhiễm sán lá

tuyến tụy với cường độ là $471,2 \pm 62,8$ trứng/g phân và $426,2 \pm 74,2$ trứng/g phân. Kết quả này cho thấy, thuốc albendazole có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy rất kém, hiệu lực tẩy chỉ đạt 20% đối với cả trâu và bò.

Đối với thuốc praziquantel: cường độ nhiễm trung bình của 5 trâu trước khi dùng thuốc tẩy là $589,8 \pm 16,1$ trứng/g phân; của 5 bò là $511,8 \pm 17,9$ trứng/g phân. Kiểm tra lại phân ở ngày thứ 15 sau tẩy, thấy còn 01 trâu nhiễm sán lá tuyến tụy với cường độ là 52 trứng/g phân. Có 4 bò xét nghiệm phân đều không còn trứng sán lá tuyến tụy. Như vậy, thuốc praziquantel có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy, hiệu lực của thuốc là 80% (với cả trâu và bò).

Đối với thuốc nitroxylin: trước khi tẩy, 5 trâu có cường độ nhiễm trung bình là $595,8 \pm 15,6$ trứng/g phân; 5 bò là $486,2 \pm 22,3$ trứng/g phân. Kiểm tra lại phân ở ngày thứ 15 sau tẩy, có 2 trâu và 3 bò nhiễm sán lá tuyến tụy với cường độ lần lượt là $209,2 \pm 18,9$ trứng/g phân và $194,2 \pm 22,0$ trứng/g phân. Như vậy, thuốc nitroxylin có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy kém (hiệu lực tẩy ở trâu là 60% và ở bò là 40%).

Theo dõi thể trạng của trâu, bò trước và sau khi dùng thuốc thấy không có trâu, bò nào có biểu hiện khác thường. Điều đó chứng tỏ cả 3 loại thuốc tẩy sán lá tuyến tụy đã sử dụng đều an toàn đối với trâu, bò.

Sakamoto và cs. (1980) đã thử nghiệm thuốc nitroxylin và praziquantel cho bò nhiễm sán lá tuyến tụy. Tác giả cho biết: thuốc praziquantel có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy *E. coelomaticum* tốt hơn so với thuốc nitroxylin. Đồng thời, khi kiểm tra mô tuyến tụy của gia súc được điều trị bằng praziquantel, tác giả thấy các tế bào mô tụy tái sinh mạnh. Đây là một tác dụng tốt của thuốc praziquantel trong điều trị bệnh sán lá tuyến tụy.

Kono và cs. (1980) đã thử nghiệm một số thuốc tẩy sán lá tuyến tụy trên vật nuôi nhiễm bệnh thực nghiệm. Tác giả cho biết: thuốc praziquantel có hiệu quả khá tốt khi tẩy sán lá tuyến tụy cho dê. Sau khi dùng thuốc, số lượng trứng và sán lá giảm đáng kể, có sự tăng sinh các tế bào biểu mô ống dẫn tụy. Tác giả cũng thử nghiệm thuốc triclabendazol, nhưng thuốc này không có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy.

Từ kết quả ở bảng 3.26, chúng tôi thấy, mặc dù cả 3 thuốc thử nghiệm tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò đều an toàn, song hiệu lực tẩy của các thuốc khác nhau. Thuốc praziquantel có hiệu lực cao nhất, thuốc albendazole hầu như không có hiệu lực, thuốc nitroxynil có hiệu lực rất thấp.

Như vậy, kết quả thử nghiệm thuốc tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò ở tỉnh Tuyên Quang phù hợp với kết quả nghiên cứu của các tác giả trên.

Cũng từ kết quả trên, chúng tôi đã lựa chọn thuốc praziquantel để tiếp tục thử nghiệm xác định liều tẩy an toàn và có hiệu lực cao với sán lá tuyến tụy.

** Xác định liều thuốc praziquantel có hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy cao cho trâu, bò*

Mặc dù đã có một số tác giả nghiên cứu và cho biết: thuốc praziquantel có hiệu quả tẩy sán lá tuyến tụy, tuy vậy vẫn chưa có sự thống nhất về liều lượng sử dụng thuốc. Bởi vậy, sau khi xác định được thuốc praziquantel liều 15 mg/kg TT có hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò ở Tuyên Quang đạt 80%, chúng tôi tiếp tục thử nghiệm thuốc praziquantel với 3 liều khác nhau nhằm xác định liều có hiệu lực tẩy cao. Kết quả thử nghiệm praziquantel ở 3 mức liều được trình bày ở bảng 3.27.

Bảng 3.27. Hiệu lực của các liều praziquantel tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

Lô	Số trâu, bò dùng thuốc	Số trứng sán/gam phân trước tẩy ($\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$)	Sau tẩy 15 ngày		Hiệu lực thuốc		Độ an toàn của thuốc (%)
			Số trâu, bò còn trứng	Số trứng/gam phân ($\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$)	Số trâu, bò sạch trứng	Tỷ lệ (%)	
*Trâu							
I	5	569,6 ± 28,0	1	56	4	80,00	100
II	5	504,2 ± 36,2	0	0	5	100	100
III	5	513,8 ± 35,0	0	0	5	100	100
Đối chứng	5	484,8 ± 30,6	5	479,6 ± 31,2	0	-	-
*Bò							
I	5	512,8 ± 21,7	1	75	4	80,00	100
II	5	509,4 ± 63,8	0	0	5	100	100

Lô	Số trâu, bò dùng thuốc	Số trứng sán/gam phân trước tẩy ($\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$)	Sau tẩy 15 ngày		Hiệu lực thuốc		Độ an toàn của thuốc (%)
			Số trâu, bò còn trứng	Số trứng/gam phân ($\bar{X} \pm m_{\bar{X}}$)	Số trâu, bò sạch trứng	Tỷ lệ (%)	
*Trâu							
III	5	501,2 ± 25,1	0	0	5	100	100
Đối chứng	5	481,4 ± 29,5	5	472,2 ± 24,5	0	-	-

Ghi chú: Lô I - sử dụng thuốc praziquantel, liều 15 mg/kg TT
 Lô II - sử dụng thuốc praziquantel, liều 18 mg/kg TT
 Lô III - sử dụng thuốc praziquantel, liều 20 mg/kg TT

Kết quả bảng 3.27 cho thấy:

Đối với trâu: ở lô I, thuốc praziquantel liều 15 mg/kg TT tẩy sán lá tuyến tụy cho 5 trâu nhiễm sán, cường độ nhiễm trước khi dùng thuốc tẩy bình quân là $569,6 \pm 28,0$ trứng/g phân. Sau khi dùng 15 ngày, xét nghiệm phân thấy có 1 trâu còn trứng (56 trứng/g phân), hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy đạt 80%. Ở lô II, sử dụng liều 18 mg/kg TT, cường độ nhiễm trước khi tẩy trung bình là $504,2 \pm 36,2$ trứng/g phân, xét nghiệm phân sau 15 ngày tẩy, có 5 trâu đều sạch trứng, hiệu lực tẩy đạt 100%. Ở lô III, sử dụng liều 20 mg/kg TT, cường độ nhiễm của 5 trâu trước tẩy là $513,8 \pm 35,0$ trứng/g phân, sau tẩy 15 ngày, thấy cả 5 trâu đều sạch trứng sán, hiệu lực tẩy đạt 100%. Theo dõi thấy, trâu ở tất cả các lô thí nghiệm đều không có phản ứng bất thường nào sau khi dùng thuốc. Điều đó chứng tỏ: cả 3 mức liều đã sử dụng đều an toàn đối với trâu.

Đối với bò: ở lô I, sử dụng thuốc praziquantel với liều 15 mg/kg TT tẩy cho 5 bò, cường độ nhiễm trước khi dùng thuốc bình quân là $512,8 \pm 21,7$ trứng/g phân. Sau khi tẩy 15 ngày, xét nghiệm phân có 1 bò còn trứng (75 trứng/gam phân). Hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy đạt 80%. Ở lô II, sử dụng liều 18 mg/kg TT, cường độ nhiễm trước khi tẩy trung bình là $509,4 \pm 63,8$ trứng/g phân, xét nghiệm phân sau 15 ngày, cả 5 bò đều sạch trứng, hiệu lực đạt 100%. Ở lô III, sử dụng liều 20 mg/kg TT, cường độ nhiễm trung bình của bò là $501,2 \pm 25,1$ trứng/g phân, sau tẩy 15

ngày, xét nghiệm phân thấy cả 5 bò đều sạch trứng, hiệu lực đạt 100%. Bò ở cả 3 lô thí nghiệm đều không có phản ứng bất thường nào sau khi dùng thuốc. Như vậy, 3 mức liều đã sử dụng đều an toàn với bò.

Từ kết quả ở bảng 3.27, chúng tôi nhận thấy: thuốc praziquantel liều 15 mg/kg TT có hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy không cao, liều 18 mg/kg TT và 20 mg/kg TT đều có hiệu lực tẩy rất cao (100%).

Sakamoto và cs. (1980), Kono và cs. (1980) đã sử dụng thuốc praziquantel liều 20 mg/kg TT trong 2 ngày cho dê gây nhiễm thực nghiệm sán lá tuyến tụy *E. coelomaticum*. Tác giả cho biết: thuốc có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy trưởng thành.

Joon - Hyoung và cs. (1983) đã sử dụng thuốc praziquantel với liều 25 mg/kg TT trong 3 ngày liên tục để tẩy sán lá tuyến tụy cho dê địa phương ở Hàn Quốc. Kết quả cho thấy, thuốc đã có tác dụng làm giảm đáng kể số lượng trứng sán lá *E. coelomaticum* trong phân.

Như vậy, kết quả nghiên cứu về liều thuốc praziquantel của chúng tôi phù hợp với kết quả nghiên cứu của Sakamoto và cs. (1980), Kono và cs. (1980), song thấp hơn liều lượng mà tác giả Joon - Hyoung và cs. (1983) đã sử dụng. Tuy nhiên, số lần dùng thuốc của chúng tôi là 1 lần, còn của các tác giả trên là 2 - 3 lần trong 2 - 3 ngày liên tục. Qua điều tra, chúng tôi thấy: trâu, bò ở Tuyên Quang chưa được dùng thuốc praziquantel tẩy giun, sán, nên chỉ cần sử dụng 1 lần là đã có tác dụng tẩy sán lá tuyến tụy tốt.

* *Xác định hiệu lực của thuốc praziquantel với 2 mức liều (18 mg/kg TT và 20 mg/kg TT)*

Chúng tôi đã sử dụng thuốc praziquantel ở 2 mức liều trên để tẩy cho 60 trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy. Kết quả được trình bày ở bảng 3.28.

Bảng 3.28. Hiệu lực của 2 mức liều praziquantel tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

Thuốc sử dụng	Số trâu, bò được tẩy (con)	Số trứng sán/gam phân ($\bar{X} \pm m_{\bar{x}}$)	Kết quả sau tẩy 15 ngày	
			Số sạch trứng sán (con)	Tỷ lệ (%)
Praziquantel	30	489,47 ± 12,1	30	100

(18 mg/kg TT)				
Praziquantel	30	475,17 ± 17,8	30	100
(20 mg/kg TT)				

Bảng 3.28 cho thấy, sử dụng thuốc praziquantel liều 18 mg/kg TT, cường độ nhiễm trước khi tẩy là $489,47 \pm 12,1$ trứng/g phân. Sau tẩy 15 ngày, xét nghiệm phân không thấy trâu, bò nào còn trứng, hiệu lực tẩy đạt 100%. Ở mức liều 20 mg/kg TT, cường độ nhiễm trước khi tẩy là $475,17 \pm 17,8$ trứng/g phân. Xét nghiệm phân sau tẩy 15 ngày, không có trâu, bò nào còn trứng sán lá tuyến tụy trong phân, hiệu lực tẩy đạt 100%.

Sau lần thử nghiệm này, chúng tôi chắc chắn là thuốc praziquantel ở mức liều 18 mg/kg TT và liều 20 mg/kg TT đều có hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy cao, đồng thời không gây phản ứng phụ cho trâu, bò.

** Sử dụng thuốc tẩy praziquantel (liều 18 mg/kg TT) để tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò ở các địa phương*

Từ kết quả trên, chúng tôi đã chọn thuốc praziquantel ở mức liều 18 mg/kg TT để tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy còn lại ở các địa phương bởi đó là mức liều vẫn có hiệu lực cao, đồng thời tiết kiệm được chi phí thuốc thú y.

Bảng 3.29. Sử dụng thuốc tẩy praziquantel (liều 18 mg/kg TT) để tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò ở các địa phương

Địa phương (huyện, thành phố)	Số trâu, bò được tẩy (con)	Kết quả sau tẩy 15 ngày	
		Số trâu bò sạch trứng sán (con)	Tỷ lệ (%)
Chiêm Hóa	82	81	98,78
Hàm Yên	60	59	98,33
Yên Sơn	53	51	96,23
Sơn Dương	11	11	100
TP. Tuyên Quang	5	5	100
Tổng trâu, bò điều trị	211	205	98,10

Bảng 3.29 cho thấy: thuốc praziquantel liều 18 mg/kg TT tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò ở các huyện Chiêm Hóa, Hàm Yên, Yên Sơn, Sơn Dương và thành phố Tuyên Quang hiệu lực đạt 98,10%.

Như vậy, thuốc praziquantel với liều 18 mg/kg TT sử dụng đại trà cho trâu, bò ở các địa phương có hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy cao và an toàn.

3.2.4.2. Nghiên cứu biện pháp phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

a. Tác dụng của biện pháp ủ phân trâu, bò bằng chế phẩm sinh học để diệt trứng sán lá tuyến tụy

Diệt trứng sán lá tuyến tụy trong phân là biện pháp đơn giản nhưng hiệu quả trong việc phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò. Để xác định việc ủ phân trâu, bò với chế phẩm sinh học có tác dụng diệt trứng sán lá tuyến tụy hay không, chúng tôi đã xét nghiệm phân trước khi ủ và sau khi ủ 25 - 30 ngày, đếm số trứng sán lá tuyến tụy trong 1 gam phân. Kết quả được trình bày ở bảng 3.30.

Bảng 3.30. Số trứng sán lá tuyến tụy/gam phân trước và sau ủ phân

Chế phẩm sinh học	Phân trước khi ủ		Phân sau khi ủ		
	Số mẫu có trứng	Số trứng bình quân/gam phân	Số mẫu không còn trứng	Số mẫu còn trứng	Số trứng bình quân/gam phân
EMIC	6	21,14 ± 9,35	5/6	1/6	3
EMUNIV	7	25,36 ± 7,04	7/7	0/7	0
EMZEO	7	28,17 ± 6,17	7/7	0/7	0

Kết quả bảng 3.30 cho thấy:

Trước khi xử lý, phân trâu, bò ở 20 hộ đều có trứng sán lá tuyến tụy (21,14 đến 28,17 trứng/g phân).

Sau khi ủ phân trâu, bò với chế phẩm sinh học 25 - 30 ngày, xét nghiệm lại phân thấy kết quả như sau:

- Ủ phân bằng chế phẩm EMUNIV: số mẫu phân không còn trứng sán là 7/7 mẫu (số lượng trứng sán lá tuyến tụy bị diệt là 100%).

- Ủ phân bằng chế phẩm EMIC: sau khi ủ có 1/6 mẫu còn trứng sán lá tuyến tụy. Tuy nhiên số trứng đã giảm xuống rất thấp (chỉ còn 3 trứng/g phân),

- Ủ phân bằng chế phẩm EMZEO: sau khi ủ 7/7 mẫu không còn mẫu nào có trứng sán lá tuyến tụy trong phân (số lượng trứng sán lá tuyến tụy bị diệt là 100%).

Như vậy, việc ủ phân trâu, bò với 3 loại chế phẩm sinh học đều có tác dụng làm giảm hoặc triệt tiêu hoàn toàn trứng sán lá tuyến tụy trong phân. Tuy nhiên, chế phẩm EMUNIV và EMZEO dùng ủ phân có tác dụng diệt trứng sán lá tuyến tụy tốt hơn so với chế phẩm EMIC.

Kết quả của chúng tôi phù hợp với nhận xét của Castillo - Castillo và cs. (2016). Tác giả cho biết, các vi sinh vật hữu ích trong chế phẩm đã lên men, phân hủy các chất hữu cơ trong phân, sinh nhiệt và nhiều axit hữu cơ như axit lactic và axit axetic. Nhiệt độ cao và các loại axit này đã làm chết các loại mầm bệnh trong phân.

b. Thử nghiệm thuốc tẩy dự phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò tại Tuyên Quang

Chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm thuốc praziquantel liều 18 mg/kg TT để phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò. Kết quả được trình bày qua các nội dung sau:

** Xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy của trâu, bò trước thí nghiệm*

Bảng 3.31. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy trước thí nghiệm

Lô thí nghiệm	Số trâu, bò thí nghiệm (con)	Số trâu, bò nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm (trứng/g phân)					
				+		++		+++	
				n	%	n	%	n	%
TN 1	50	11	22,00 ^a	6	54,55	4	36,36	1	9,09
TN 2	50	10	20,00 ^a	5	55,56	3	33,33	2	20,00
Đối chứng	50	10	20,00 ^a	5	50,00	4	40,00	1	10,00

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái giống nhau thì khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$).

Bảng 3.31 cho thấy, trước thí nghiệm, trâu, bò ở lô đối chứng có 20% nhiễm sán lá tuyến tụy; trâu, bò ở lô TN1 và TN2 nhiễm sán lá tuyến tụy với tỷ lệ lần lượt

là 22% và 20%. Cường độ nhiễm của trâu, bò ở 3 lô thí nghiệm chủ yếu ở mức (+). Như vậy, trước khi thí nghiệm, cả 3 lô thí nghiệm có tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy tương đương nhau.

Sau khi bố trí các lô thí nghiệm, chúng tôi đã dùng thuốc praziquantel với liều 18 mg/kg TT để phòng bệnh cho trâu, bò ở lô TN1 và TN2 (lô TN1 dùng thuốc 1 lần vào đầu thí nghiệm, lô TN2 dùng thuốc 2 lần: lần 1 vào đầu thí nghiệm, lần 2 sau 2 tháng thí nghiệm).

** Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò sau 1 tháng thí nghiệm*

Sau 1 tháng thí nghiệm, thu thập và xét nghiệm mẫu phân trâu, bò ở cả 3 lô thí nghiệm để xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy. Kết quả được trình bày ở bảng 3.32.

Kết quả ở bảng 3.32 cho thấy:

Tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở lô TN1 từ 22% ở thời điểm đầu thí nghiệm đã giảm xuống 0% (không còn con nào nhiễm) ở thời điểm sau 1 tháng thí nghiệm. Lô TN2 cũng không còn trâu, bò nào nhiễm ở thời điểm sau 1 tháng thí nghiệm. Riêng trâu, bò ở lô đối chứng, tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở thời điểm bắt đầu thí nghiệm là 20%, sau 1 tháng thí nghiệm tỷ lệ và cường độ nhiễm vẫn không thay đổi.

Bảng 3.32. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy sau 1 tháng thí nghiệm

Lô thí nghiệm	Số trâu, bò thí nghiệm (con)	Số trâu, bò nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm					
				+		++		+++	
				n	%	n	%	n	%
TN 1	50	0	0,00 ^a	0	0	0	0	0	0
TN 2	50	0	0,00 ^a	0	0	0	0	0	0
Đối chứng	50	10	20,00 ^b	5	50,00	4	40,00	1	10,00

Ghi chú: Theo cột dọc, các tỷ lệ nhiễm mang chữ cái khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Như vậy, sau 1 tháng thí nghiệm, trâu, bò ở lô TN1 và lô TN2 được dùng thuốc tẩy dự phòng bệnh sán lá tuyến tụy đã không còn nhiễm sán lá tuyến tụy. Sự khác nhau về tỷ lệ nhiễm giữa trâu, bò ở lô TN1, lô TN2 và lô đối chứng là rõ rệt ($P < 0,05$).

** Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò sau 4 tháng thí nghiệm*

Sau 2 tháng thí nghiệm, trâu bò ở lô TN2 được dùng thuốc tẩy phòng bệnh sán lá tuyến tụy lần 2 (thuốc praziquantel, liều 18 mg/kg TT). Sau 4 tháng kể từ thời điểm bắt đầu thí nghiệm, chúng tôi tiếp tục thu thập và xét nghiệm mẫu phân của trâu, bò ở cả 3 lô thí nghiệm để xác định tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy. Kết quả được trình bày ở bảng 3.33.

Bảng 3.33. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy sau 4 tháng thí nghiệm

Lô thí nghiệm	Số trâu, bò thí nghiệm (con)	Số trâu, bò nhiễm (con)	Tỷ lệ nhiễm (%)	Cường độ nhiễm					
				+		++		+++	
				n	%	n	%	n	%
TN 1	50	2	4,00	2	100	0	0,00	0	0,00
TN 2	50	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Đối chứng	50	12	24,00	6	50,00	3	33,33	2	16,67

Bảng 3.33 cho thấy:

Tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở lô TN1 từ 0% ở thời điểm sau 1 tháng thí nghiệm đã tăng lên tới 4% ở thời điểm sau 4 tháng thí nghiệm. Ngược lại, trâu, bò ở lô TN2 vẫn không nhiễm sán lá tuyến tụy ở thời điểm sau 4 tháng thí nghiệm. Trong khi, trâu, bò ở lô đối chứng, tỷ lệ nhiễm ở thời điểm sau 1 tháng thí nghiệm là 20%, sau 4 tháng thí nghiệm đã tăng lên 24%, cường độ nhiễm nặng từ 10% tăng lên 16,67%.

Như vậy, sau 4 tháng thí nghiệm, trâu, bò ở lô TN1 và lô TN2 được dùng thuốc tẩy đã có tác dụng phòng bệnh sán lá tuyến tụy rõ rệt so với trâu, bò không được dùng thuốc. Từ kết quả trên, chúng tôi có một số nhận xét như sau:

- Trâu, bò ở lô TN1 được sử dụng thuốc 1 lần duy nhất cũng có tác dụng phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò, song sau một khoảng thời gian khá dài (4 tháng) đã có 2 trâu, bò ở lô này nhiễm sán lá tuyến tụy.

- Trâu, bò ở lô TN2 được sử dụng thuốc 2 lần (lần 1 vào thời điểm đầu thí nghiệm, lần 2 vào thời điểm sau 2 tháng thí nghiệm) có tác dụng phòng bệnh tốt hơn rõ rệt, sau 4 tháng (thời điểm kết thúc thí nghiệm) không có con nào nhiễm sán lá tuyến tụy.

- Trâu, bò ở lô ĐC không được sử dụng thuốc tẩy dự phòng, vì vậy sau 4 tháng thí nghiệm từ 10 con nhiễm (20%) đã tăng lên 12 con nhiễm (24%), đồng thời cường độ nhiễm (+ + +) cũng tăng từ 10% lên 16,67%.

Khi trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy thường thải trứng sán lá theo phân ra ngoài, làm cho môi trường đất và nước bị ô nhiễm mầm bệnh, Vì vậy, sau khi tẩy sán lá tuyến tụy một thời gian trâu, bò dễ bị tái nhiễm trở lại. Việc tiêu diệt hoàn toàn mầm bệnh sán lá tuyến tụy ở ngoài ngoại cảnh rất khó khăn do môi trường chăn thả trâu, bò rất rộng, khi trứng sán đã phát tán ra ngoại cảnh thì khó có thể kiểm soát được.

Thực tế trên cho thấy, để phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò hiệu quả thì cần tập trung vào 2 vấn đề sau:

Một là, thu gom phân trâu, bò để xử lý bằng chế phẩm sinh học EMUNIV hoặc EMZEO, nhằm tiêu diệt trứng sán lá tuyến tụy trong phân, không để trứng sán lá tuyến tụy phát tán ra môi trường ngoại cảnh.

Hai là, dùng thuốc praziquantel liều 18 mg/kg TT tẩy dự phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò. Tuy nhiên, việc dùng thuốc phòng bệnh sán lá tuyến tụy sẽ có hiệu quả hơn khi dùng thuốc lặp lại 2 lần/đợt, đồng thời hàng năm phải định kỳ sử dụng thuốc phòng bệnh cho trâu, bò (2 đợt/năm).

c. Đề xuất biện pháp phòng chống tổng hợp bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

Biện pháp phòng chống tổng hợp bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò gồm:

Một là, tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò: khâu quan trọng trong biện pháp phòng chống tổng hợp là tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò ở các địa phương trên địa

bàn tỉnh Tuyên Quang. Điều kiện khí hậu nóng ẩm của tỉnh Tuyên Quang, với một mùa Xuân và mùa Hè kéo dài, một mùa Đông lạnh khô, điều kiện vệ sinh thú y trong chăn nuôi trâu, bò chưa tốt là những điều kiện thuận lợi để vật chủ trung gian tồn tại và phát triển, làm cho bệnh sán lá tuyến tụy tồn tại và phát triển quanh năm. Vì vậy, cần dùng thuốc praziquantel liều 18 mg/kg TT để tẩy cho trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy. Cần tập trung tẩy cho trâu bò trên 5 năm tuổi, trâu bò nuôi trong vụ Đông - Xuân, trâu bò nuôi chăn thả hoàn toàn và trâu bò nuôi ở vùng núi cao.

Định kỳ tẩy sán lá tuyến tụy 2 đợt/năm, đợt 1 vào tháng 3 - 4, đợt 2 vào tháng 9 - 10 cho trâu, bò. Khi tẩy, cần nhốt trâu, bò và cho ăn tại chuồng trong 6 - 7 ngày, hằng ngày dọn sạch phân ở chuồng, tập trung ủ kỹ để tránh mầm bệnh phát tán ra môi trường, bãi chăn thả.

Ở những địa phương có điều kiện, cần chẩn đoán bệnh chính xác trước khi sử dụng thuốc tẩy. Những địa phương không có điều kiện chẩn đoán thì căn cứ vào triệu chứng lâm sàng và những đặc điểm dịch tễ của bệnh sán lá tuyến tụy để xác định bệnh.

Nếu chưa có điều kiện tẩy cho toàn đàn thì trước hết phải ưu tiên tẩy cho những trâu, bò bị nhiễm nặng hoặc có biểu hiện lâm sàng của bệnh sán lá tuyến tụy. Chú ý tẩy cho những trâu, bò già trên 8 năm tuổi.

Hai là, ủ phân trâu, bò với chế phẩm sinh học: hằng ngày thu gom phân ở chuồng nuôi và khu vực chăn thả, tập trung vào hố ủ hoặc tập trung vào một nơi có mái che, sử dụng chế phẩm sinh học để xử lý phân. Trong 3 loại chế phẩm mà chúng tôi đã khảo nghiệm thì chế phẩm EMUNIV và EMZEO cho kết quả diệt trứng sán lá tuyến tụy trong phân tốt nhất. Vì vậy, các hộ chăn nuôi trâu, bò nên sử dụng hai loại chế phẩm này để ủ phân trâu, bò.

Ba là, đảm bảo vệ sinh thú y trong quá trình chăn nuôi trâu, bò: chuồng nuôi trâu, bò phải giữ luôn khô ráo, sạch sẽ. Không để phân trâu, bò tồn lưu trong chuồng. Mỗi hộ nên xây 1 ô/bể chứa phân ở cạnh hoặc ở sau chuồng trâu, bò (diện tích có thể tùy theo số lượng trâu, bò nuôi mà tính toán cho hợp lý). Hằng ngày thu dọn phân trong chuồng và xung quanh chuồng tập trung vào ô chứa, khi nhiều thì tiến hành ủ với chế phẩm sinh học. Thức ăn, nước uống cho trâu, bò đảm bảo vệ sinh. Không cho trâu, bò ăn cỏ có lẫn châu chấu.

Bốn là, diệt vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy: vật chủ trung gian là ốc cạn và châu chấu. Có thể tiêu diệt ốc cạn bằng các phương pháp sinh học, cơ giới và hóa học. Đối với phương pháp sinh học, nuôi gia cầm như là giải pháp hữu hiệu, gia cầm ăn ốc cạn, vì vậy có thể làm giảm quần thể ốc cạn trong thời gian ngắn. Các phương pháp cơ giới như bắt ốc cạn và nghiền nát chúng cũng có thể áp dụng nhưng tốn công sức và thời gian. Các phương pháp hóa học như sử dụng chất xua đuổi, chất dẫn dụ, hoặc chất độc, cũng đã được áp dụng. Tuy nhiên, cần phải thận trọng trong việc sử dụng và xử lý một số loại hóa chất vì chúng có thể gây độc cho người và động vật, đồng thời có thể gây hại cho một số loài thực vật trên đồng cỏ. Đối với châu chấu, rất khó để tiêu diệt hết châu chấu trên đồng cỏ. Việc sử dụng các loại thuốc diệt côn trùng thường không được khuyến cáo, vì châu chấu cũng có chức năng không thể thay thế trong hệ sinh thái, thuốc diệt côn trùng không chỉ tiêu diệt châu chấu mà còn tiêu diệt các loài côn trùng có lợi khác.

Biện pháp phòng bệnh cơ bản là duy trì quần thể ốc cạn ít nhất có thể. Các loài ốc cạn cũng cần nơi có độ ẩm cao để phát triển, vì vậy làm đồng cỏ khô ráo bằng việc khơi thông nước đọng là biện pháp quan trọng và hiệu quả. Tuy nhiên, tùy từng địa phương mà có thể vận dụng phương pháp diệt vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy một cách linh hoạt, phù hợp và hiệu quả.

Năm là, dùng thuốc tẩy dự phòng bệnh sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. cho trâu, bò: một trong các biện pháp phòng bệnh có tính chủ động là dùng thuốc tẩy dự phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò ở các địa phương. Thực tế cho thấy: trâu, bò được chăn thả trong phạm vi rộng, trong môi trường chăn thả có thể đã ô nhiễm trứng và có nhiều vật chủ trung gian mang ấu trùng sán lá tuyến tụy có sức gây bệnh. Vì vậy, nếu không dùng thuốc tẩy dự phòng thì trâu, bò rất dễ nhiễm sán lá tuyến tụy và mắc bệnh. Khi phòng bệnh bằng thuốc, nên chọn thuốc praziquantel, liều 18 mg/kg TT, đồng thời cho trâu, bò sử dụng thuốc lặp lại 2 lần, cách nhau 2 tháng để có tác dụng phòng bệnh hiệu quả.

Sáu là, tăng cường chăm sóc, nuôi dưỡng trâu, bò để nâng cao sức đề kháng của chúng với bệnh: Đối với trâu, bò các lứa tuổi, đặc biệt là trâu, bò trong thời gian mang thai và nuôi con cần chú ý cho ăn uống đầy đủ về số lượng và chất lượng. Ngoài chăn dắt để tận dụng nguồn thức ăn sẵn có trong tự nhiên thì cần bổ sung thêm thức ăn thô xanh và thức ăn tinh tại chuồng. Có kế hoạch dự trữ thức ăn

bằng cách ủ chua thức ăn thô xanh để cung cấp đủ thức ăn trong vụ Đông - Xuân. Dinh dưỡng đầy đủ sẽ giúp trâu, bò có sức đề kháng cao, từ đó hạn chế được sự cảm nhiễm các loại mầm bệnh, trong đó có bệnh sán lá tuyến tụy.

Về dịch tễ, trâu, bò già thường nhiễm sán lá tuyến tụy với tỷ lệ nhiễm cao và cường độ nhiễm nặng, chúng là nguồn bệnh quan trọng trong tự nhiên, Vì vậy, các hộ chăn nuôi trâu, bò nên loại thải những trâu, bò già trên 8 năm tuổi để loại bỏ bớt nguồn gieo rắc trứng sán lá tuyến tụy ra ngoài cảnh, từ đó góp phần phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

Từ kết quả nghiên cứu đề tài, chúng tôi có một số kết luận sau:

1.1. Về đặc điểm nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang qua xét nghiệm phân

Trâu, bò ở tỉnh Tuyên Quang nhiễm sán lá đường tiêu hóa với tỷ lệ là 37,49% (biến động từ 30,29% đến 46,29%).

Tỷ lệ nhiễm sán lá đường tiêu hóa tăng theo tuổi trâu, bò; vụ Hè - Thu trâu, bò nhiễm sán lá đường tiêu hóa cao hơn so với mùa vụ Đông - Xuân; trâu, bò nuôi theo phương thức chăn thả hoàn toàn tỷ lệ nhiễm sán lá cao hơn so với nuôi bán chăn thả; trâu, bò nuôi ở vùng bằng phẳng nhiễm sán lá cao hơn các vùng khác.

1.2. Về bệnh do sán lá tuyến tụy *Eurytrema spp.* gây ra ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

- Bằng kỹ thuật hình thái học và thẩm định lại bằng kỹ thuật phân tử đã xác định được sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang là 2 loài *Eurytrema cladorchis* và *Eurytrema coelomaticum*.

- Trâu, bò ở 5, huyện, thành phố thuộc tỉnh Tuyên Quang nhiễm sán lá tuyến tụy với tỷ lệ 22,70% ở trâu và 17,35% ở bò.

Tỷ lệ nhiễm tăng dần theo tuổi trâu, bò (14,04% - 36,96% ở trâu, 3,92% - 32,26% ở bò). Ở vụ Đông - Xuân trâu, bò nhiễm 25,51%, vụ Hè - Thu 16,78%; trâu,

bò nuôi chăn thả hoàn toàn nhiễm 25,53% và bán chăn thả nhiễm 12,60%. Ở vùng núi cao trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy 29,34%, vùng đồi núi thấp 22,35% và vùng bằng phẳng 14,31%. Trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy ở mức (+ + +) chiếm 12,67% trong số trâu, bò nhiễm sán.

- Loài ốc cạn *Bradybaena similaris* là vật chủ trung gian thứ nhất, 2 loài châu chấu *Conocephalus maculatus* và *Conocephalus chinensis* là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. tại tỉnh Tuyên Quang.

- Về đặc điểm bệnh lý và lâm sàng bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

+ Trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. gây yếu, chậm chạp; tiêu chảy, phân có nhiều chất nhầy; thủy thũng ở cổ và ngực; mắt có đờ trắng đục; thiếu máu, niêm mạc nhợt nhạt.

+ Tổn thương đại thể gồm: tuyến tụy cứng, nhạt màu, tăng kích thước và bị xơ hóa, hạch màng treo ruột sung, gan sung, màu vàng nhạt, ruột viêm, xuất huyết.

+ Tổn thương vi thể gồm: biểu mô ống bài xuất lớn hoại tử, long tróc, trong lòng chứa sán trưởng thành và trứng sán, phản ứng mô đệm quanh sán lá đã thoái hóa, can xi hóa; các tuyến tụy ngoại tiết teo đét, xơ hóa.

+ Trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy có số lượng hồng cầu, hàm lượng huyết sắc tố và tỷ khối hồng cầu giảm; số lượng bạch cầu, tỷ lệ bạch cầu trung tính, tỷ lệ bạch cầu ái kiềm và ái toan tăng, trong khi tỷ lệ bạch cầu lympho và bạch cầu đơn nhân lớn giảm rõ rệt so với trâu, bò khỏe.

+ Trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy có hàm lượng protein, albumin và globulin giảm, các chỉ số gamma glutamyl transferase, aspartate aminotransferase và cholesterol tăng nhẹ, chỉ số amylase và glucose tăng lên rõ rệt so với trâu, bò khỏe.

1.3. Về biện pháp phòng trị bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò

- Thuốc praziquantel liều 18 mg/kg TT an toàn và có hiệu lực tẩy sán lá tuyến tụy rất cao.

- Chế phẩm EMUNIV và EMZEO dùng ủ phân trâu, bò có tác dụng diệt trứng sán lá tuyến tụy trong môi trường chăn nuôi.

- Sử dụng thuốc tẩy dự phòng sán lá tuyến tụy cho trâu, bò 2 đợt/năm, mỗi đợt dùng lặp lại hai lần cách nhau 2 tháng.

- Đã đề xuất biện pháp phòng trị tổng hợp bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò ở tỉnh Tuyên Quang gồm 6 biện pháp chính.

2. Đề nghị

Áp dụng rộng rãi biện pháp phòng trị tổng hợp bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò ở tỉnh Tuyên Quang và các tỉnh lân cận, nhằm giảm thiệt hại do bệnh gây ra, góp phần nâng cao năng suất chăn nuôi, thúc đẩy chăn nuôi trâu, bò phát triển bền vững.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CÓ LIÊN QUAN
ĐẾN LUẬN ÁN**

- 1. Tran Nhat Thang,** Pham Dieu Thuy, Nguyen Thi Kim Lan, Pham Ngoc Doanh, Duong Thi Hong Duyen, Madoka Ichikawa Seki (2023). Morphological and molecular characterization of *Eurytrema* spp. Looss, 1907 detected in domestic water buffaloes and cattle in northern Vietnam. *Journal of Veterinary Medical Science*, 85(9), pp. 929 - 936.
- 2. Trần Nhật Thăng,** Nguyễn Thị Kim Lan, Phạm Diệu Thùy, Dương Thị Hồng Duyên (2023). Tình hình nhiễm sán lá tuyến tụy trên đàn trâu, bò của tỉnh Tuyên Quang và thử nghiệm thuốc tẩy. *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Đại học Thái Nguyên*, 228(13), tr. 125 - 131.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

I. Tài liệu tiếng Việt

1. Võ Thị Trà An (2010). Giáo trình Dược lý học Thú y. NXB Nông nghiệp, thành phố Hồ Chí Minh.
2. Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (2011). QCVN 01 - 83: 2011/BNNPTNT về quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về bệnh động vật – yêu cầu chung lấy mẫu bệnh phẩm, bảo quản và vận chuyển.
3. Nguyễn Thị Hồng Chiên, Nguyễn Văn Thọ và Nguyễn Thị Hoàng Yến (2011). Nghiên cứu một số đặc điểm sinh học, dịch tễ học của sán lá tuyến tụy *Eurytrema* spp. ký sinh ở trâu, bò, dê vùng đồng bằng sông Hồng và biện pháp phòng trừ. Tạp chí Khoa học và Phát triển, 9(5), tr. 759 - 765.
4. Cổng thông tin điện tử tỉnh Tuyên Quang (2021). Khái quát điều kiện tự nhiên tỉnh Tuyên Quang. Truy cập từ <https://tuyenquang.gov.vn/Pages/gioi-thieu.aspx?ItemID=55&l=Gioithieu> ngày 4/10/2021.
5. Nguyễn Kiên Cường và Lê Xuân Hiền (2022). Tình hình nhiễm giun sán trên bò sữa ở các nông hộ của huyện Hóc Môn và Củ Chi, thành phố Hồ Chí Minh. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y, 29(1), tr. 68.
6. Drozd J. và A. Malczewski (1967), Nội ký sinh vật và bệnh ký sinh vật ở gia súc Việt Nam. NXB Khoa học kỹ thuật, Hà Nội.
7. Vũ Thị Hẹn (2014). Nghiên cứu tình hình nhiễm sán lá gan nhỏ (*Dicrocoelium* spp.), sán lá tuyến tụy (*Eurytrema* spp.) trên đàn bò thịt nuôi tại huyện Nho Quan, tỉnh Ninh Bình và biện pháp phòng trị. Luận văn Thạc sĩ. Học viện Nông nghiệp Việt Nam, Hà Nội.
8. Cao Văn Hồng (2010). Kiểm tra tình hình nhiễm sán lá dạ cỏ ở trâu, bò nuôi tại TP. Buon Ma Thuật, tỉnh Đắk Lắk. Bảng thông tin KH & CN số 02/2010, Trường Đại học Tây Nguyên.
9. Nguyễn Hữu Hưng (2011). Tình hình nhiễm sán lá gan ở bò tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long và thử hiệu quả tẩy trừ. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y, 2, tr. 29 - 38.

10. Phạm Văn Khuê và Phan Lục (1996). Ký sinh trùng thú y. NXB Nông nghiệp, Hà Nội, tr. 140 - 144.
11. Nguyễn Thị Kim Lan (2012). Ký sinh trùng và bệnh ký sinh trùng thú y. NXB Nông nghiệp, Hà Nội.
12. Nguyễn Thị Kim Lan, Phạm Diệu Thùy, Nguyễn Văn Quang, Phan Thị Hồng Phúc và Dương Thị Hồng Duyên (2018). Xác định loài và thực trạng nhiễm sán lá gan lớn trên đàn trâu, bò của tỉnh Sơn La. Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên, 184(08), tr. 77 - 82.
13. Võ Thị Hải Lê, Nguyễn Thị Thu Hiền và Nguyễn Văn Thọ (2017). Tình hình nhiễm sán lá gan *Fasciola gigantica* của trâu, bò tại một số huyện thuộc tỉnh Nghệ An. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y, 24(2), tr. 49 - 55.
14. Nguyễn Thị Lê, Phạm Văn Lục, Hà Duy Ngo, Nguyễn Văn Đức và Nguyễn Thị Minh (1996). Giun sán ký sinh ở gia súc Việt Nam. NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, tr. 30 - 44.
15. Đỗ Đức Lực, Nguyễn Đình Hiền và Hà Xuân Bộ (2017). Thiết kế thí nghiệm. NXB Đại học Nông nghiệp, Hà Nội.
16. Lưu Tham Mưu và Đặng Đức Khương (2000). Động vật chí Việt Nam, tập 7. NXB Khoa học và kỹ thuật, Hà Nội.
17. Lưu Tuấn Nghĩa và Nguyễn Bá Tiếp (2016), Phân tích chỉ tiêu sinh lý và sinh hóa máu của trâu nuôi tại huyện Cẩm Thủy, tỉnh Thanh Hóa. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam, 14(11), tr. 1726 - 1733.
18. Đàm Văn Phái, Trần Văn Tuấn, Đào Thị Hà Thanh, Nguyễn Thị Phương, Nguyễn Thị Hằng, Phạm Thị Lan Hương, Desmecht Daniel và Bùi Trần Anh Đào (2019). Tình hình nhiễm sán lá gan lớn (*Fasciola* spp.) ở trâu chăn thả tự do ở khu vực bãi bồi ven sông Hồng và thuốc điều trị. Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y, 26(5), tr. 79 - 87.
19. Phan Thị Hồng Phúc, Phạm Thị Trang, Trần Đức Hạnh và Nguyễn Thị Vang (2019). Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ bệnh sán lá gan ở trâu nuôi tại tỉnh Hà Giang và dùng thuốc điều trị. Tạp chí Khoa học và Công nghệ - Đại học Thái Nguyên, 197(04), tr. 39 - 44.
20. Nguyễn Quang Thạch (2001). Báo cáo tổng kết nghiệm thu đề tài nghiên cứu độc lập cấp nhà nước năm 1998 - 2000, Hà Nội.
21. Nguyễn Như Thanh, Trương Quang và Bùi Quang Anh (2001). Dịch tễ học thú y. NXB Nông nghiệp, Hà Nội, tr. 70 - 150.

22. Đặng Ngọc Thanh và Hồ Thanh Hải (2019), Động vật chí Việt Nam. Trai, ốc nước ngọt nội địa Việt Nam, tập 29. Nxb Khoa học tự nhiên và Công nghệ, Hà Nội.
23. Trần Ngọc Thắng (2004). Đặc điểm dịch tễ học bệnh sán lá dạ cỏ ở trâu bò một số tỉnh phía Bắc và biện pháp phòng trị. Luận án Tiến sỹ nông nghiệp, Hà Nội.
24. Hoàng Toàn Thắng và Cao Văn (2006). Giáo trình sinh lý học vật nuôi. NXB Nông nghiệp, Hà Nội, tr. 86 - 88.
25. Trịnh Văn Thịnh và Đỗ Dương Thái (1978). Kỹ yếu công trình nghiên cứu Ký sinh trùng ở Việt Nam, tập 2. NXB Khoa học kỹ thuật, Hà Nội.
26. Phùng Đức Tiến, Nguyễn Duy Điều, Hoàng Văn Lộc và Bạch Thị Thanh Dân (2008). Đánh giá thực trạng ô nhiễm môi trường trong chăn nuôi, Viện chăn nuôi.
27. Tổng cục thống kê (2021), Thống kê chăn nuôi Việt Nam. Truy cập từ <https://channuoivietnam.com/thong-ke-chan-nuoi/tk-chan-nuoi/2021> ngày 25/6/2021.
28. Nguyễn Xuân Trạch, Nguyễn Hùng Sơn, Nguyễn Thị Dương Huyền và Nguyễn Ngọc Bằng (2021). Giáo trình chăn nuôi trâu bò. NXB Học viện Nông nghiệp, Hà Nội.
29. Nguyễn Quang Tuyên, Nguyễn Thị Liên và Nguyễn Mạnh Cường (2011). Nghiên cứu sử dụng chế phẩm EM (Effective microorganisms) chăn nuôi lợn và giảm thiểu ô nhiễm môi trường. Báo cáo đề tài NCKH, Trường Đại học Nông Lâm Thái Nguyên.

II. Tài liệu tiếng Anh

30. Abd Ellah M. R., M. I. Hamed, D. R. Ibrahim and H. Z. Rateb (2014). Serum biochemical and haematological reference intervals for water buffalo *Bubalus bubalis* heifers. Journal of the South African Veterinary Association, 85(1), pp. 1 - 7.
31. Al - Khalidi N. W. and M. M. A. Al - Bayati (1989). The epidemiology of dicrocoeliasis in sheep in Mosul (Iraq). Journal of Veterinary Parasitology, 3, pp. 21 - 23.
32. Anne M. Z., A. C. Gary, E. L. Susan and V. R. Mason (2021). Veterinary

- clinical parasitology, 9th edition, John Wiley & Sons, USA, pp. 122 - 123.
33. Arias - Pacheco C., J. R. Lucas, A. Rodríguez, D. Córdoba and E. G. Lux - Hoppe (2020). Economic impact of the liver condemnation of cattle infected with *Fasciola hepatica* in the Peruvian Andes. *Tropical Animal Health and Production*, 52, pp. 1927 - 1932.
 34. Azevedo J. R., R. C. Mannigel, A. Z. Agulhon, T. R. Borba, A. W. Barbiéri and D. C. L. Oliveira (2004). Prevalence and geographical distribution of bovine eurytrematosis in cattle slaughtered in northern Paraná, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 24, pp. 23 - 26.
 35. Basch P. F. (1965). Completion of the life cycle of *Eurytrema pancreaticum* (Trematoda: Dicrocoeliidae). *Journal of Parasitology*, 51, pp. 350 - 355.
 36. Bassani C. A., L. A. Sangioni, J. P. Saut, M. H. Yamamura and S. A. Headley (2006). Epidemiology of eurytrematosis (*Eurytrema* spp. Trematoda: Dicrocoeliidae) in slaughtered beef cattle from the central - west region of the State of Paraná, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 141, pp. 356 - 361.
 37. Bassani C. A., L. A. Sangioni, J. Paulo, E. Saut, S. A. Headley and M. H. Yamamura (2007). Bovine eurytrematosis. *Ciências Agrárias Londrina*, 28(2), pp. 299 - 316.
 38. Bowles J., D. Blair and D. P. McManus (1995). A molecular phylogeny of the human schistosomes. *Molecular phylogenetics and evolution*, 4(2), pp. 103 - 109.
 39. Brahmhatt N. N., B. Kumar, B. J. Thakre and A. K. Bilwal (2021). Haemato - biochemical characterization of fasciolosis in Gir cattle and Jaffrabadi buffaloes. *Journal of Parasitic Diseases*, 45(3), pp. 683 - 688.
 40. Bundy D. A. P., P. V. Arambulo and C. L. Grey (1983). Fascioliasis in Jamaica: Epidemiologic and economic aspects of a snail - borne parasitic zoonosis. *Bulletin of the Pan American Health Organization*, 17, pp. 243 - 258.
 41. Cai Z., Y. Zhang and X. Ye (2012). Phylogenetic relationships of the genus *Eurytrema* from domestic and wild animal based on 18S rRNA sequences. *Parasitology Research*, 111, pp. 1637 - 1644.
 42. Castillo - Castillo Y., O. Ruiz - Barrera, M. E. Burrola - Barraza, Y. Marrero

- Rodriguez, J. Salinas - Chavira, C. Angulo - Montoya, A. Corral - Luna, C. Arzola - Alvarez, M. Itza – Ortiz and J. Camarillo (2016). Isolation and characterization of yeasts from fermented apple bagasse as additives for ruminant feeding. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(4), pp. 889 - 895.
43. CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2019). Parasites - Fascioliasis (Fasciola Infection). Retrieved from: <http://www.cdc.gov/parasites/fasciola/treatment.html> on April 20, 2021.
44. Chang Q. C., G. H. Liu, J. F. Gao, X. Zheng, Y. Zhang, D. M. Duan Yue, X. Fu, X. Su, Y. Gao and C. R. Wang (2016). Sequencing and characterization of the complete mitochondrial genome from the pancreatic fluke *Eurytrema pancreaticum* (Trematoda: Dicrocoeliidae). *Gene*, 576, pp. 160 - 165.
45. Chinone S., T. Fukase and H. Itagaki (1984). Experimental infection of domestic cats with *Eurytrema pancreaticum* and *Eurytrema coelomaticum* (Trematoda; Dicrocoeliidae). *Japanese journal of parasitology*, 33(1), pp. 29 - 39.
46. Cigliano M. M., D. C. H. Braun and D. O. Eades (2020). Orthoptera Species File. Version 5.0/5.0. Retrieved from <http://Orthoptera.SpeciesFile.org> on May 19, 2021.
47. De Lima S. K., C. M. Ribeiro and D. Elenice (2013). Importance of coprology test in the diagnosis of bovine eurytrematosis. *Veterinária e Zootecnia*, 20(1), pp. 70 - 73.
48. De Sousa D. E. R., E. F. G. Barbosa, T. M. Wilson, M. Machado, W. J. Oliveira, M. A. Duarte, M. C. Scalon, A. C. L. Câmara, E. G. Lux Hoppe, G. R. Paludo et al. (2021). *Eurytrema coelomaticum* natural infection in small ruminants: a neglected condition. *Parasitology*, 148(5), pp. 576 - 583.
49. Dean A. G., K. M. Sullivan and M. M. Soe (2013). OpenEpi: Open Source Epidemiologic Statistics for Public Health. Retrieved from <https://www.openepi.com/SampleSize/SSPropor.htm> on September 20, 2020.
50. Delafosse A. (2022). Rumen fluke infections (Paramphistomidae) in diarrhoeal cattle in western France and association with production

- parameters. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 29, pp. 100694.
51. Dorny P., A. Batubara, M. Iskander and V. S. Pandey (1996). Helminth infections of sheep in North Sumatra, Indonesia. *Veterinary Parasitology*, 61(3 - 4), pp. 353 - 358.
 52. Dvoryadki V. A. (1969). Biology of *Eurytrema pancreaticum* in the Amur region. *Parazitologiya*, 3, pp. 431 - 435.
 53. Fagbemi B. O. (1984). The effect of environmental factors on the development, behaviour and survival of *Paramphistomum microbothrium* miracidia. *Veterinary Parasitology*, 16, pp. 71 - 81.
 54. Forstmaier T., G. Knubben - Schweizer, C. Strube, Y. Zablotski and C. Wenzel (2021). Rumen (*Calicophoron/Paramphistomum* spp.) and liver flukes (*Fasciola hepatica*) in cattle - prevalence, distribution, and impact of management factors in Germany. *Animals (Basel)*, 11(9), pp. 2727.
 55. Frias H., C. Maraví, M. A. Arista-Ruiz, D. I. Yari-Briones, J. R. Paredes - Valderrama, Y. R. Bravo, J. V. Cortez, G. T. Segura, R. E. Ruiz, R. M. L. Lapa and N. L. M. Valderrama (2023). Prevalence, coinfection, and risk factors associated with *Fasciola hepatica* and other gastrointestinal parasites in cattle from the Peruvian Amazon. *Veterinary World*, 16 (3), pp. 546 - 553.
 56. Graydon R. J., I. H. Carmichael, M. D. Sanchez, E. Weidosari and S. Widjayanti (1992). Mortalities and wasting in Indonesian sheep associated with the trematode *Eurytrema pancreaticum*. *Veterinary Record*, 131, pp. 443.
 57. Grosskopf H. M., C. I. Schwertz, G. Machado, N. B. Bottari, E. S. da Silva, M. E. Gabriel, N. J. Lucca, M. S. Alves, M. R. C. Schetinger, V. M. Morsch, R. E. Mendes, A. S. da Silva (2016). Cattle naturally infected by *Eurytrema coelomaticum*: Relation between adenosine deaminase activity and zinc levels. *Research in Veterinary Science*, 110, pp. 79 - 84.
 58. Gu J. T., R. K. Liu, Q. F. Li, X. M. Wang, L. T. Da, C. T. Tang and Z. Z. Tang (1990). Epidemiological survey on *Eurytrema pancreaticum* and

- Dicrocoelium chinensis* in sheep in the southern area of Daxinganling Mountain of Inner Mongolia. Chinese Journal of Veterinary Science and Technology, 3, pp. 15 - 16.
59. Hambal M., H. Marwadi, F. Farida, S. Sugito, A. Amiruddin and H. Vanda (2020). Pathological findings of bovine pancreatic lesions induced by *Eurytrema pancreaticum* in Aceh cattle, Sumatra. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 25(1), pp. 123 - 129.
 60. Hanafiah M., D. Aliza, M. Abrar, F. Karmil and D. Rachmady (2019). Detection of parasitic helminths in cattle from Banda Aceh, Indonesia. Veterinary World, 12(8), pp. 1175 - 1179.
 61. Hansen J. and B. Perry (1994). The Epidemiology, Diagnosis, and Control of Helminth Parasites of Ruminants. 4th Edition, International Laboratory for Research on Animal Diseases, Nairobi, Kenya, pp. 74.
 62. Harizt A. M., M. Malahubban, S. S. Syed-Hussain, S. Z. Ramanan, M. B. Sadiq, S. R. Sarbini, M. N. Hassan, S. Mustafa, N. A. A. Aziz, N. M. M. Isa et al. (2021). Gastrointestinal parasitic infections of buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Sarawak Borneo: Prevalence, risk factors, and farming practices. Tropical Biomedicine, 38(3), pp. 318 - 326.
 63. Headley S. A. (2000). Bovine eurytrematosis: life cycle, pathologic manifestations and public health considerations. Iniciação Científica CESUMAR, 2(2), pp. 59 - 62.
 64. Headley S. A., J. P. E. Saut, C. A. Bassani, L. A. Sangioni, E. H. B. Junior and M. H. Yamamura (2009). Histopathologic patterns of pancreatic lesions induced by *Eurytrema coelomaticum* in cattle from the central - west region of the state of Paraná, southern Brazil. Brazilian Journal of Veterinary Pathology, 2, pp. 3 - 7.
 65. Hotez P. J., P. J. Brindley, J. M. Bethony, C. H. King, E. J. Pearce and J. Jacobson (2008). Helminth infections: the great neglected tropical diseases. The Journal of clinical investigation, 118(4), pp. 1311 - 1321.
 66. Hou Q. H., X. H. Zhou, G. M. Yao, Z. B. Li, M. Shu, X. Wang and W. Luo (2020). Genetic analysis of mitochondrial *pcox1* and ribosomal 18S rRNA genes in *Eurytrema pancreaticum* isolates from goats in Huaihua city, Hunan Province. Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi, 32(4), pp. 380 -

- 383.
67. Huang C. C., L. C. Wang, C. H. Pan, C. H. Yang and C. H. Lai (2012). Investigation of gastrointestinal parasites of dairy cattle around Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 47(1), pp. 70 - 74.
 68. Ilha M. R. S., A. P. Loretti and A. C. F. Reis (2005). Wasting and mortality in beef cattle parasitized by *Eurytrema coelomaticum* in the state of Paraná, southern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 133(1), pp. 49 - 60.
 69. Ishii Y., M. Koga, T. Fujino, H. Higo, J. Ishibashi, K. Oka and S. Saito (1983). Human infection with the pancreas fluke, *Eurytrema pancreaticum*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 32, pp. 1019 - 1022.
 70. Jaleta T. G., S. Zhou, F. M. Bemm, F. Schär, V. Khieu, S. Muth, P. Odermatt, J. B. Lok and A. Streit (2017). Different but overlapping populations of *Strongyloides stercoralis* in dogs and humans - Dogs as a possible source for zoonotic strongyloidiasis. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11(8), pp. e0005752.
 71. Jang D. H. (1969). Study on the *Eurytrema pancreaticum*: II. Life cycle. *Kisaengchunghak Chapchi*, 7(3), pp. 178 - 200.
 72. Jas R., D. Kumar, A. Bhandari and S. Pandit (2017). Seasonal alteration in prevalence and intensity of naturally occurring gastrointestinal helminth infection in goats of New Alluvial zone of West Bengal, India. *Journal Biological Rhythm Research*, 48(6), pp. 867 - 876.
 73. Jin D. X., G. Z. Li and C. F. Wei (1965). A new species of *Eurytrema* in animal in Guizhou Province *Acta Parasitologica Sinica*, 2, pp. 28 - 35.
 74. Jiraungkoorskul W., S. Sahaphong, T. Tansatit, N. Kangwanrangsan and S. Pipatshukiat (2005). *Eurytrema pancreaticum*: the in vitro effect of praziquantel and triclabendazole on the adult fluke. *Experimental Parasitology*, 111(3), pp. 172 - 177.
 75. Jones A. (1985) *Eurytrema cladorchis* Chin, Li & Wei, 1965 (Trematoda: Dicrocoeliidae), a little known species from China and Nepal. *Systematic Parasitology*, 7, pp. 43 - 45.
 76. Joon - Hyoung P., L. Jae-Hyun and M. Moo - Hong (1983). Studies on the chemotherapeutic agents for eurytreemiasis in ruminants. *Journal of the Korean veterinary medical Association*, 19, pp. 19 - 26.

77. Jubb K. V. F. and A. W. Stent (2016). *Pancreas. Pathology of domestic animals*, 6th edition. Elsevier, St. Louis, Missouri, USA.
78. Kaewnoi D., R. Wiriyaprom, S. Indoung and R. Ngasaman (2020). Gastrointestinal parasite infections in fighting bulls in South Thailand. *Veterinary World*, 13(8), pp. 1544 - 1548.
79. Kaewthamasorn M. and S. Wongsamee (2006). A preliminary survey of gastrointestinal and haemoparasites of beef cattle in the tropical livestock farming system in Nan Province, northern Thailand. *Parasitology Research*, 99(3), pp. 306 - 308.
80. Kaneko J. J., J. W. Harvey and M. L. Bruss (2008), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 6th edition, Academic Press, UK, ISBN: 978-0-12-370491-7.
81. Kathryn M. H., A. M. O. Nicola and W. R. Mark (2017). Paramphistomosis of ruminants: An emerging parasitic disease in Europe. *Trends in Parasitology*, 33(11), pp. 836 - 844.
82. Khan M. A., K. Afshan, U. Chaudhry, S. Firasat and N. D. Sargison (2023). Histopathology and antibody responses describe the seasonal pattern of dicrocoeliosis in small ruminants in the Himalayan ranges of Pakistan. *Veterinary Parasitology*, 320, pp. 109975.
83. Kono I., T. Sakamoto, N. Yasuda, Y. Kitano, T. Togoe and Y. Yamamoto (1980). Pathological studies on cattle heavily infected with *Eurytrema coelomaticum*. *Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University*, (30), pp. 111 - 116.
84. Konoplya E. F. and T. Higa (2000). EM application in animal husbandry - Poultry farming and its action mechanisms. Paper presented at the International Conference on EM Technology and Nature Farming, October 2000, Pyongyang, DPR Korea.
85. Kozutsumi T. và H. Itagaki (1989). Migration and emergence of *Eurytrema pancreaticum* daughter sporocysts from host land snails (Trematoda, Dicrocoeliidae). *Japanese Journal of Parasitology*, 38, pp. 290 - 295.
86. Ksembaeva G. K. (1967). The first and second intermediate hosts of *Eurytrema pancreaticum* and *Dicrocoelium dendriticum* in south - eastern Kazakh SSR. *Izvestiya Akademii Nauk Kazakhskoi SSR, Seriya*

- Biologicheskikh Nauk, (5), pp. 51 - 56.
87. Kumar S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz and K. Tamura (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), pp. 1547 - 1549.
 88. Kumar V. (1999). *Trematode infections and diseases of man and animals*. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, pp. 230 - 233.
 89. Lalrinkima H., H. S. Freddy, S. K. Borthakur, R. Joseph, G. Patra, C. Lalawmpuia and K. Lalthansanga (2016). Prevalence of gastrointestinal parasite infections of cattle in Northeast India bordering to Myanmar and Bangladesh. *International Journal for Parasitology*, 8 (4), pp. 191 - 193.
 90. Leite K., E. Lopes - Torres, J. Souza, R. Neves, D. Gomes and J. Machado - Silva (2020). *Eurytrema coelomaticum*: Updated morphology of adult worms using advanced microscopy experiments. *Journal of Helminthology*, 94, pp. e122.
 91. Li J. Y., F. Y. Wang, X. C. Huo and Y. J. Chen (1983). Treatment of pancreatic flukes in sheep with praziquantel. *Chinese Journal of Veterinary Medicine (Zongguo Shouyi Zazhi)*, 9(1), pp. 15.
 92. Logacheva L. S. (1974). The biology of *Eurytrema pancreaticum* (Jansen. 1889) in Kirgizia, *Sbornik Nauchnykh Trudov Kirgizskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Instituta (Voprosy biologii iporatitologii v Kirgizii)*, 95, pp. 31 - 34.
 93. Ma J., S. W. He, H. Li, Q. C. Guo, W. W. Pan, X. J. Wang, J. Zhang, L. Z. Liu, W. Liu and Y. Liu (2014). First survey of helminths in adult goats in Hunan Province, China, *Tropical Biomedicine*, 31(2), pp. 261 - 269.
 94. Malathi S., U. Shameem and M. Komali (2021). Prevalence of gastrointestinal helminth parasites in domestic ruminants from Srikakulam district, Andhra Pradesh, India. *Journal of Parasitic Diseases*, 45(3), pp. 823 - 830.
 95. Manga - González M. Y., C. González – Lanza and E. Cabanas (2007). *Dicrocoelium dendriticum* primoinfection and kinetic egg elimination in marked lambs and ewes from León mountains (Spain). *Revista iberica de parasitología*, 67, pp. 15 - 25.
 96. Manga - González M. Y. and M. C. Ferreras (2019). Dicrocoeliidae family: Major species causing veterinary diseases. *Advances in Experimental*

- Medicine and Biology, 1154, pp. 279 - 319.
97. Maqbool A., C. S. Hayat, T. Akhtar and H. A. Hashmi (2002). Epidemiology of fasciolosis in buffaloes under different managemental conditions. *Veterinarski Arhiv*, 72, pp. 221 - 228.
 98. Marcos L. A., A. Terashima and E. Gotuzzo (2008). Update on hepatobiliary flukes: fascioliasis, opisthorchiasis and clonorchiasis. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 21(5), pp. 523 - 530.
 99. Mas - Coma S., M. A. Valero and M. D. Bargues (2009). Chapter 2. Fasciola, lymnaeids and human fascioliasis, with a global overview on disease transmission, epidemiology, evolutionary genetics, molecular epidemiology and control. *Advances in Parasitology*, 69, pp. 41 - 146.
 100. Mas - Coma S., M. A. Valero and M. D. Bargues (2014). Fascioliasis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 766, pp. 77 - 114.
 101. Meguini M. N., S. Righi, M. Bouchekhchoukh, S. Sedraoui and A. Benakhla (2021). Investigation of flukes (*Fasciola hepatica* and *Paramphistomum* spp.) parasites of cattle in north - eastern Algeria. *Annals of Parasitology*, 67(3), pp. 455 - 464.
 102. Mitchell G., G. Cuthill, A. Haine, R. Zadoks, U. Chaudhry, P. Skuce and N. Sargison (2017). Evaluation of molecular methods for the field study of the natural history of *Dicrocoelium dendriticum*. *Veterinary Parasitology*, 235, pp. 100 - 105.
 103. Miyata I. (1965), The development of *Eurytrema pancreaticum* and *Eurytrema coelomaticum* in the intermediate host snails. In: *Progress of Medical Parasitology in Japan, Volume 2* (K. Morishita, Y. Komiya & H. Matsubayashi edit.), Meguro Parasitological Museum, Tokyo, pp. 347 - 357.
 104. Mochankana M. E. and I. D. Robertson (2018). Cross - sectional prevalence of *Fasciola gigantica* infections in beef cattle in Botswana. *Tropical Animal Health and Production*, 50, pp. 1355 - 1363.
 105. Mohanta U. K., M. Ichikawa-Seki, K. Hayashi and T. Itagaki (2015). Morphological and molecular characterization of *Eurytrema cladorchis* parasitizing cattle (*Bos indicus*) in Bangladesh. *Parasitology Research*, 114, pp. 2099 - 2105.
 106. Nadykto M. V. (1973). Development of *Eurytrema pancreaticum* (Janson,

- 1889) (Trematoda: Dicrocoeliidae) in the Primorsk Territory. *Parazitologiya*, 7(5), pp. 408 - 417.
107. Nguyen N. T., T. C. Le, M. D. C. Vo, H. Van Cao, L. T. Nguyen, K. T. Ho, Q. N. Nguyen, V. Q. Tran and Y. Matsumoto (2017). High prevalence of cattle fascioliasis in coastal areas of Thua Thien Hue province, Vietnam. *Journal of Veterinary Medical Science*, 79(6), pp. 1035 - 1042.
108. Nurhidayah N., F. Satrija, E. B. Retnani, D. A. Astuti and S. Murtini (2020). Prevalence and risk factors of trematode infection in swamp buffaloes reared under different agroclimatic conditions in Java Island of Indonesia. *Veterinary World*, 13(4), pp. 687 - 694.
109. Nzalawahe J., A. A. Kassuku, J. R. Stothard, G. C. Coles and M. C. Eisler (2014). Trematode infections in cattle in Arumeru District, Tanzania are associated with irrigation. *Parasites & Vectors*, 7, pp. 107.
110. Ogawa H., Y. Takehara, S. Naganawa, J. Yamaguchi and M. Nakaguro (2019). A case of human pancreatic eurytremiasis. *Abdominal Radiology*, 44(4), pp. 1213 - 1216.
111. Okajima J., K. Shibata, E. Takahashi, T. Nagafuchi, K. Okajima and N. Nonaka (2016). Current status and its epidemiological consideration of *Fasciola* and *Eurytrema* infections in beef cattle of Japan. *The Journal of veterinary medical science*, 78(5), pp. 785 - 790.
112. Ola-Fadunsin S. D., I. A. Ganiyu, M. Rabi, K. Hussain, I. M. Sanda, A. Y. Baba, N. A. Furo and R. B. Balogun (2020). Helminth infections of great concern among cattle in Nigeria: Insight to its prevalence, species diversity, patterns of infections and risk factors. *Veterinary World*, 13(2), pp. 338 - 344.
113. Otranto D. and D. Traversa (2002). A review of dicrocoeliosis of ruminants including recent advances in the diagnosis and treatment. *Veterinary Parasitology*, 107(4), pp. 317 - 335.
114. Otranto D. and D. Traversa (2003). Dicrocoeliosis of ruminants: a little known fluke disease. *Trends in Parasitology*, 19(1), pp. 12 - 15.
115. Otranto D., S. Rehbein, S. Weigl, C. Castacessi, A. Parisi, R. P. Lia and P. D. Olson (2007). Morphological and molecular differentiation between

- Dicrocoelium dendriticum* (Rudolphi, 1819) and *Dicrocoelium chinensis* (Sudarikov and Ryjikov, 1951) Tang and Tang, 1978. (Platyhelminthes: Digenea). *Acta Tropica*, 104, pp. 91 - 98.
116. Pal P., L. R. Chatlod and R. K. Avasthe (2017). Prevalence gastrointestinal parasites goats North - East Himalayan Sikkim India. *Indian Journal of Animal Sciences*, 87(5), pp. 558 - 561.
 117. Petrochenko V. I. and P. T. Tverdokhlebov (1971). The prophylaxis of dicrocoeliasis on cattle pastures. *Bulletin of the All-Union Institute of Helminthology named after K.I. Skrjabina*, 5, pp. 71.
 118. Pfukenyi D. M., J. Monrad and S. Mukaratirwa (2005). Epidemiology and control of trematode infections in cattle in Zimbabwe: a review. *Journal of the South African Veterinary Association*, 76(1), pp. 9 - 17.
 119. Phiri A. M., A. Chota and I. K. Phiri (2007). Seasonal pattern of bovine amphistomosis in traditionally reared cattle in the Kafue and Zambezi catchment areas of Zambia. *Tropical Animal Health and Production*, 39, pp. 97 - 102.
 120. Pierzynowski S. G. and R. Zabielski (1999). Biology of the pancreas in growing animals. In: *Developments in animal and veterinary sciences*. Amsterdam: Elsevier Science, pp.16 - 43.
 121. Pinheiro J. and S. B. Amato (1995). *Eurytrema coelomaticum*: Influence of the infection on the reproduction and nucleic acids contents in the albumen gland and ovotestis of *Bradybaena similaris*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90(5), pp. 635 - 638.
 122. Poovorawan K. and Y. Wattanagoon (2020), *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*, 10th Edition, Elsevier, pp. 922 - 927.
 123. Purwaningsih P., J. A. Palulungan, A. N. Tethool, N. Noviyanti, F. Satrija and S. Murtini (2022). Seasonal dynamics of *Fasciola gigantica* transmission in Prafi district, Manokwari Regency, West Papua, Indonesia. *Veterinary World*, 15(11), pp. 2558 - 2564.
 124. Rachid M. A., H. M. Aquino Neto, E. J. Facury-Filho, A. U. Carvalho, G. R. Valle and A. C. Vasconcelos (2011). Chronic interstitial pancreatitis and chronic wasting disease caused by *Eurytrema coelomaticum* in Nelore cow. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 63, pp. 741 - 743.

125. Rehbein S., D. Hamel, J. Lackerschmid, S. Mayr and M. Visser (2023). Multispecies helminth parasitism of grazing dairy cows in Germany and Austria, examined in the housing period. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 40, pp. 100860.
126. Rinca K. F., J. Prastowo, D. P. Widodo and Y. R. Nugraheni (2019). Trematodiasis occurrence in cattle along the Progo River, Yogyakarta, Indonesia. *Veterinary World*, 12(4), pp. 593 - 597.
127. Riviere J. E. and M. G. Papich (2018). *Veterinary pharmacology and therapeutics*. 10th edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ 07030, USA.
128. Roy B. and V. Tandon (1992). Seasonal prevalence of some zoonotic trematode infections in cattle and pigs in the north - east montane zone in India. *Veterinary Parasitology*, 41(1-2), pp. 69 - 76.
129. Safalaoh A. C. L. and G. A. Smith (2001). Effective Microorganisms (EM) as an alternative to antibiotics in broiler diets: Effects on broiler performance, feed utilization and serum cholesterol. In *Proceedings of the 6th International Conference on Kyusei Nature Farming*, South Africa, 1999 Senanayake, YDA and Sangakkara U R (Ed) (In Press).
130. Sakamoto H., T. Tashiro, S. Watanabe, T. Sakamoto, I. Kono and N. Yasuda (1980). Clinicopathological findings in cattle infected with *Eurytrema coelomaticum*. *Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University*, (30), pp. 117 - 122.
131. Sakamoto T. and T. Oikawa (2007). Cubic crystal protein inclusions in the neodermis of the pancreatic fluke, *Eurytrema pancreaticum* and *Eurytrema coelomaticum*. *Parasitology Research*, 101(5), pp. 1393 - 1399.
132. Sangvaranond A., N. Lampa, D. Wongdachkajorn and D. Sritong (2010). Parasitic protozoa among meat goats raised in private farms in Saraburi province Thailand. *Journal Veterinary Medicine of Kasetsart University*, 20(2), pp. 85 - 95.
133. Schileyko A. A. (2011). Check - list of land pulmonate molluscs of Vietnam (Gastropoda: Stylommatophora). *Ruthenica*, 21(1), pp. 1 - 68.
134. Schwertz C. I., M. E. Gabriel, L. C. Henker, N. B. Bottari, G. D. Carmo, N.

- dos S. Guarda, R. N. Moresco, G. Machado, V. M. Morsch, M. R. Schetinger et al. (2016). Oxidative stress associated with pathological changes in the pancreas of cattle naturally infected by *Eurytrema coelomaticum*. *Veterinary Parasitology*, 223, pp. 102 - 110.
135. Schwertz C. I., N. J. Lucca, A. S. da Silva, P. Baska, G. Bonetto, M. E. Gabriel, F. Centofanti and R. E. Mendes (2015). Eurytrematosis: An emerging and neglected disease in South Brazil. *World Journal of Experimental Medicine*, 5(3), pp. 160 - 163.
136. Shien Y. S., J. J. Liu and S. W. Huang (1979). Studies on eurytremiasis. I. Investigation on the infection status of eurytremes in cattle and goats as well as the identification of flukes isolated in Taiwan. *Journal of the Chinese Society of Veterinary Science*, 4(1), pp. 35 - 39.
137. Singh A. K., G. Das, V. Agrawal, S. Nath, S. Kumar and R. N. Katuri (2016). Epizootiology of gastrointestinal parasites of sheep in un - organized farms of Mahakoushal region, Madhya Pradesh, Central India. *Journal of Veterinary Parasitology*, 30(1), pp. 6 - 11.
138. Singh E., P. Kaur, L. D. Singla and M. S. Bal (2017). Prevalence of gastrointestinal parasitism in small ruminants in western zone of Punjab, India. *Veterinary world*, 10(1), pp. 61 - 66.
139. Sivajothi S. and B. S. Reddy (2018). Seasonal prevalence of gastrointestinal parasites of small ruminants in YSR Kadapa district of Andhra Pradesh, India. *International Journal of Livestock Research*, 8(1), pp. 184 - 189.
140. Skrjabin K. I. (1928). The method of complete helminthological dissections of vertebrates, including humans. Moscow, Russia, pp. 45.
141. Sothoeun S. (2007). Fasciolosis of cattle and buffaloes and its control measures. Technical implementation procedure, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Kingdom of Cambodia.
142. Sousa D. E. R. and M. B. Castro (2022). Pancreatic eurytrematosis in small ruminants: A forgotten disease or an untold history?. *Veterinary Parasitology*, 311, pp. 109794.
143. Souza R. M., E. M. Gomes, G. M. Chagas and J. Pinheiro (2000). The influence of starvation and *Eurytrema coelomaticum* infection on the nitrogenous products of degradation in the hemolymph of *Bradybaena*

- similaris*. Brazilian Archives of Biology and Technology, 43, pp. 365 - 371.
144. Sponholz G. M. and R. B. Short (1976). *Schistosoma mansoni* miracidia: Stimulation by calcium and magnesium. Journal of Parasitology, 62, pp. 155 - 157.
 145. Su X., Y. Zhang, X. Zheng, X. X. Wang, Y. Li, Q. Li and C. R. Wang (2018). Characterization of the complete nuclear ribosomal DNA sequences of *Eurytrema pancreaticum*. Journal of Helminthology, 92(4), pp. 484 - 490.
 146. Surian C. R. D. S., S. R. Surian, C. Carneiro, F. F. Perosa, V. W. Horn, N. Fronza, D. E. Bonassi, V. Peripolli, B. P. Santarosa, T. M. Gomes and R. E. Mendes (2022). *Eurytrema coelomaticum* infection: correlation between parasite burden and impairment of pancreatic exocrine enzyme secretion. Ciencia Rural, 52, pp. e20210041.
 147. Takeuchi - Storm N., M. Denwood, H. H. Petersen, H. L. Enemark, A. S. Stensgaard, M. E. Sengupta, N. J. Beesley, J. Hodgkinson, D. Williams and S. M. Thamsborg (2018). Patterns of *Fasciola hepatica* infection in Danish dairy cattle: implications for on - farm control of the parasite based on different diagnostic methods. Parasites Vectors, 11, pp. 674.
 148. Tandon V., B. Roy, J. A. Shylla and S. Ghatani (2014). Amphistomes. Advances in Experimental Medicine and Biology, 766, pp. 365 - 392.
 149. Tang C., G. Cui, Y. Dong, Y. Wang, H. Nulimajabu Lu, C. Zhang, M. Chen, G. Sun and Y. Quian (1979). Studies on the biology and epidemiology of *Eurytrema pancreaticum* (Janson, 1889) in Heilungkiang Province. Acta Zoologica Sinica, 25, pp. 234 - 242.
 150. Tang C. C. (1950). Studies on the life history of *Eurytrema pancreaticum* Janson 1889. Journal of Parasitology, 36 (Sect. I), pp. 559 - 573.
 151. Tang C. C., C. T. Tang (1975). Biology and epidemiology of *Eurytrema pancreaticum* (Janson, 1889) and *Eurytrema coelomaticum* (Giard et Billet, 1892). Journal of Xiamen University, 2, pp. 53 - 90.
 152. Tang C. T. and T. M. Lin (1980). Investigations on eurytrematosis of cattle and goats in mountainous regions of north Fujian. Acta Zoologica Sinica, 26, pp. 42 - 51.
 153. Thanasuwan S., S. Piratae and A. Tankrathok (2021). Prevalence of

- gastrointestinal parasites in cattle in Kalasin Province, Thailand. *Veterinary World*, 14(8), pp. 2091 - 2096.
154. Tookhy N. A., M. I. N. Mahiza, R. Mansor, A. R. Yasmin, N. I. Ahmad, N. H. Hamzah and L. H. Idris (2022). Rumen Fluke in Cattle and Buffaloes in Asia: A Review. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 45(3), pp. 781 - 803.
 155. Tung K. C., C. Huang, C. Pan, C. Yang and C. Lai (2012). Prevalence of Gastrointestinal Parasites in Yellow Cattle between Taiwan and its Offshore Islands. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 42, pp. 219 - 224.
 156. Uemura H. and M. Adachi (1996). Some Aspects of Kyusei Nature Farming and EM Technology in China, EM Research Organization and INFRC, Nanjing, China.
 157. Wiroreno W., W. P. Carney and M. Ansori (1987). Description and growth pattern of *Eurytrema pancreaticum* from *Bos indicus* from East Java. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 54, pp. 73 - 77.
 158. Xu M. J., C. R. Wang, S. Y. Huang, J. H. Fu, D. H. Zhou, Q. C. Chang, X. Zheng and X. Q. Zhu (2013). Identification and characterization of microRNAs in the pancreatic fluke *Eurytrema pancreaticum*. *Parasites & Vectors*, 6, pp. 25.
 159. Yamaguti S. A. (1975), Synoptical review of life histories of degenetic of vertebrates. Keikan Publish Co Tokyo, Japan.
 160. Yeh H. Y., C. J. Cheng, C. Huang, X. Zhan, W. K. Wong and P. D. Mitchell (2019). Discovery of *Eurytrema* eggs in sediment from a colonial period latrine in Taiwan. *Korean Journal of Parasitology*, 57(6), pp. 595 - 599.
 161. Zewde A., Y. Bayu and A. Wondimu (2019). Prevalence of bovine fasciolosis and its economic loss due to liver condemnation at Wolaita Sodo Municipal Abattair, Ethiopia. *Veterinary Medicine International*, 9572373, pp. 1 - 7.
 162. Zheng Y., X. Luo, Z. Jing, Z. Hu and X. Cai (2007). Comparison of 18S ribosomal RNA gene sequences of *Eurytrema coelomaticum* and *Eurytrema pancreaticum*. *Parasitology Research*, 100, pp. 645 - 646.
 163. Zhongzhang T. and T. Chongti (1977). The biology and epidemiology of *Eurytrema coelomaticum* and *Eurytrema pancreaticum* in cattle and sheep in

China. *Acta Zoologica Sinica*, 23(3), pp. 267 - 282.

III. Tài liệu tiếng Bồ Đào Nha

164. Araújo J. V. and P. A. D. Belém (1993). Efeito anti-helmíntico do albendazole sobre a contagem de ovos de *Eurytrema* spp. (Trematoda) em fezes de bovinos. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia*, 45(1), pp. 111 - 114.
165. Benedek L. (1943), Untersuchungen auf Leberegeleier durch Sedimentation. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 66, pp. 139 - 141.
166. Brandolini S. V. P. B. and S. B. Amato (2001). Desenvolvimento de *Eurytrema coelomaticum* (Giard & Billet) (Digenea, Dicrocoeliidae) em *Bradybaena similaris* (Férussac) (Gastropoda, Xanthonychidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 18(2), pp. 499 - 510.
167. Brant P. C. (1962). Frequência de algumas parasitoses em carcaças e vísceras de bovinos abatidos em Belo Horizonte. *Arquivos da Escola de Veterinária de Minas Gerais, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte*, 14, pp. 127 - 132.
168. Correa W., C. Correa, A. Ferreira and A. Paes (1984). *Eurytrema pancreaticum*: clínica e diagnóstico em bovinos. *A Hora Veterinária*, 4(19), pp. 31 - 34.
169. Galliard H. and D. V. Ngu (1941). Une nouvelle espèce d'*Eurytrema*, *E. tonkinense* n. sp. parasite du pancréas des bovidés. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, 18, pp. 187 - 191.
170. Lira C. R. S., E. M. Gomes, G. M. Chagas and J. Pinheiro (2000). Influência do jejum sobre o conteúdo de proteínas totais e de amônio na hemolinfa de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Gastropoda, Xanthonychidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 17, pp. 907 - 913.
171. Mattos Junior D. G. and S. S. S. Vianna (1987). O *Eurytrema coelomaticum* (Trematoda: Dicrocoeliidae) no Brasil. *Arquivo Fluminense de Medicina Veterinária*, 2(1), pp. 3 - 7.
172. Nieberle K. and P. Cohrs (1970). *Anatomia patológica especial dos animais domésticos*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
173. Pantiu A. J., L. S. Aguirre - Castro, A. Avellaneda - Cáceres, L. H. Olmos, F.

- Ovelar, M. Waidelich and J. F. Micheloud (2021). Lesiones pancreáticas de bovinos infestados naturalmente por *Eurytrema coelomaticum*. XII Reunión Argentina de Patología Veterinaria.
174. Paschoal S. V. and S. B. Amato (1993). Consumo de oxigênio e reserva glicolítica da glândula digestiva de *Bradybaena similaris* (Fèrussac, 1821) (Gastropoda: Xanthonychidae) infectada com *Eurytrema coelomaticum* (Giard et Billet, 1892) (Digenea: Dicrocoeliidae). Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 2(2).
175. Quevedo P. de S., M. Mendes, G. P. Felipe, M. P. Soares, G. Muller and N. A. da R. F. Farias (2013). Pancreatite intersticial crônica em bovino causada por *Eurytrema coelomaticum*. Ciência Rural, 43, pp. 1449 - 1452.
176. Ragusa A. L. and M. S. Campos (1976). Identificação de hospedeiro intermediário de *Eurytrema coelomaticum* (Giard e Billet, 1882) Looss, 1907 (Trematoda - Dicrocoeliidae) em fazendas de criação de bovinos no estado de São Paulo – Brasil. Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 13(1), pp. 269 - 287.
177. Yamamura M. H., M. R. Horner and C. W. G. Lopes (1995). Avaliação patológica da euritrematose em bovinos naturalmente infectados na região de Londrina, Paraná. Semina: Ciências Agrárias, 16(1), pp. 89 - 99.

PHỤ LỤC 1
MỘT SỐ HÌNH ẢNH CỦA ĐỀ TÀI



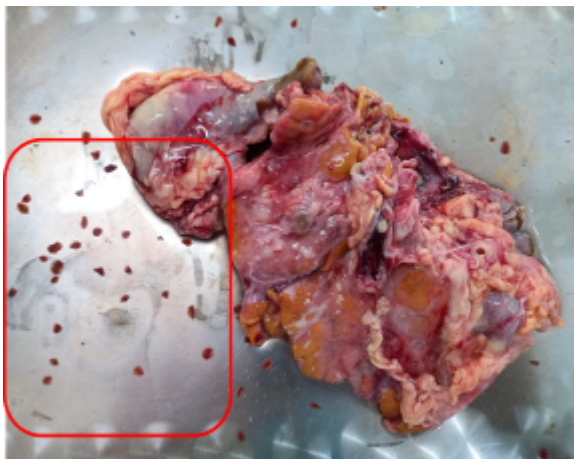
Ảnh 1, 2: Mổ khám tuyến tụy ở trâu, bò



Ảnh 3



Ảnh 4

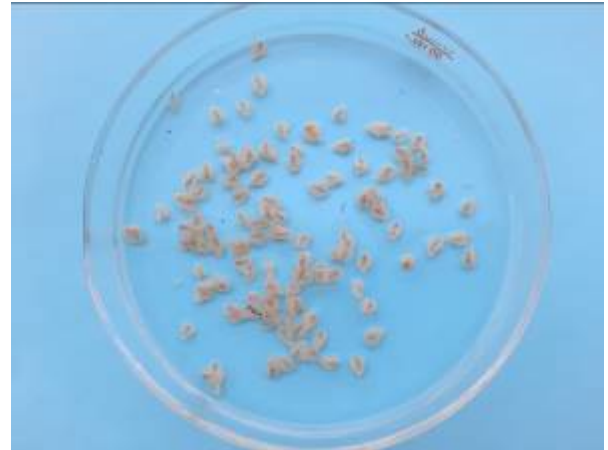


Ảnh 5

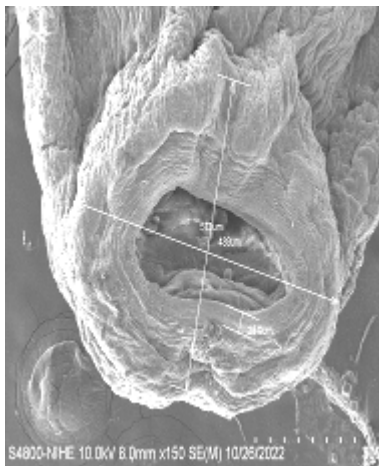


Ảnh 6

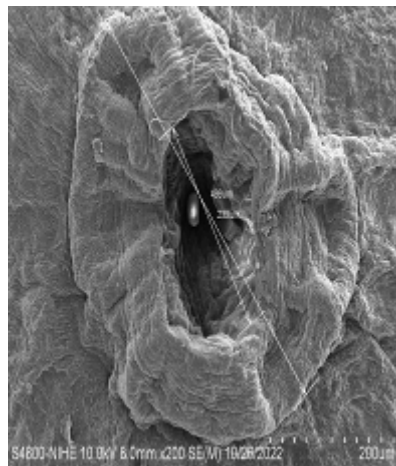
Ảnh 3 - 6: Sán lá ký sinh ở tuyến tụy của trâu, bò



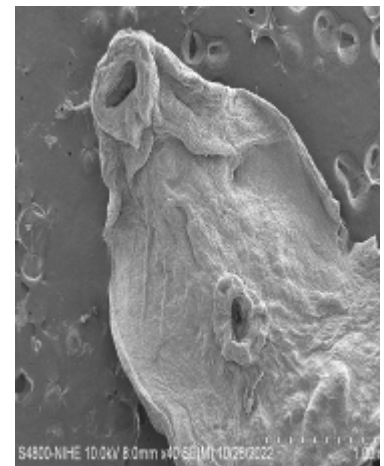
Ảnh 7, 8: Sán lá thu thập từ tuyến tụy của trâu, bò



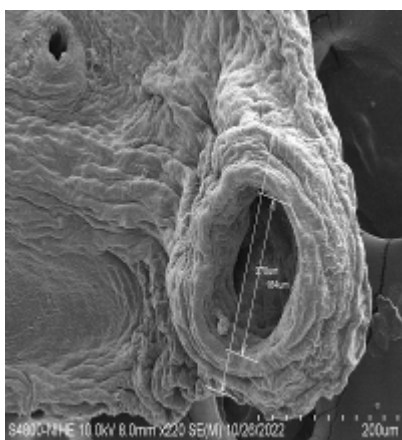
Ảnh 9: Giác miệng



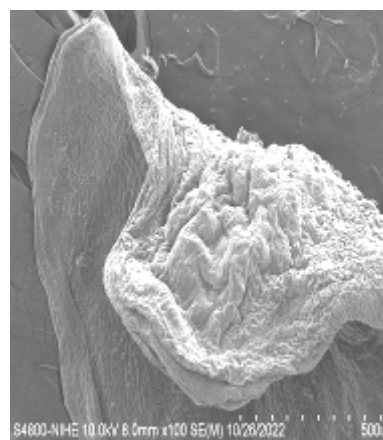
Ảnh 10: Giác bụng



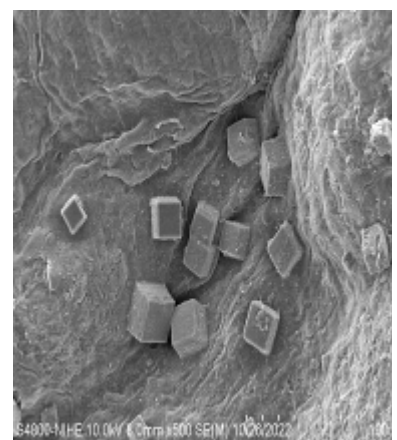
Ảnh 11: Giác miệng và giác bụng của sán



Ảnh 12: Phần đầu sán



Ảnh 13: Phần đuôi sán



Ảnh 14: Thể vùi

**protein tinh thể khối
trên bề mặt lớp biểu
bì**

<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005981)	1	ATCSTACATACTACATGGATAACTGTAGTAATTCCTAGAGCTAATACATGCCACATGCCCTGACCCGGGAACGGGACGGGTGGTTTATTAGACAGAA	100
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005982)	1	100
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	1	100
<i>Eurytrema coelomaticum</i> (DQ401035)	1C.....	100
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	1C.....	100
<i>Eurytrema pascuaticum</i> (DQ401034)	1	100
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005981)	101	CCACCCGGTGTGGTTCAGGCACATCCGTTGCACCTCTGGTATGACTCTGGATRACTTCACTGATCGCAGTGGCCITGGGTGGGAGAGGATCTTCAA	200
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005982)	101	200
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	101	200
<i>Eurytrema coelomaticum</i> (DQ401035)	101C.....G.....G.T.....T.....	200
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	101C.....G.....G.T.....T.....	200
<i>Eurytrema pascuaticum</i> (DQ401034)	101G.....	200
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005981)	201	ATGCTCGCCATCAATTTTGGATGGTAGGGACCTGGCTACCATGGTGATAAGGGTAACGGGAATCAGGTTCCGATTCGGAGAGGGAGCTGAGAA	300
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005982)	201	300
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	201	300
<i>Eurytrema coelomaticum</i> (DQ401035)	201	300
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	201	300
<i>Eurytrema pascuaticum</i> (DQ401034)	201	300
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005981)	301	AAGGCTACCACTTCCAGGGAGGCAGCAGGCGCAAAATACCCCAATCCCGGAACGGGAGGTGTGTGCGAAMAATACGATACGGGACTCATCAGAGGC	400
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005982)	301	400
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	301	400
<i>Eurytrema coelomaticum</i> (DQ401035)	301C.....	400
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	301C.....	400
<i>Eurytrema pascuaticum</i> (DQ401034)	301C.....	400
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005981)	401	TCCGTAATTCGATGAGTACACTTAAATCTTTAACCAGGATCAACTGGGGCCAAAGTCTGGTCCACGACCGCGGTAACCTCCAGCTCCAGAGGTA	500
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005982)	401	500
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	401	500
<i>Eurytrema coelomaticum</i> (DQ401035)	401	500
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	401	500
<i>Eurytrema pascuaticum</i> (DQ401034)	401	500
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005981)	501	TACTAAAGTTGTGCGATTAAAGCTCGTAGTTGGATCTGGGTGGCATGGCTACATGCTGGCTGGTGTCTTACTTACTGTTACGACCGGAGCGAGGT	600
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005982)	501	600
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	501T.....	600
<i>Eurytrema coelomaticum</i> (DQ401035)	501A.....T.....	600
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	501A.....T.....	600
<i>Eurytrema pascuaticum</i> (DQ401034)	501A.....T.....	600
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005981)	601	GTGAGTCAGTGTGGGTGTGGCAGCCCTTTGGCGGTGTGTGTTTACAGGTGCTGGCTATCGTGGGTCCCTCATCGTTAGTGGCAGTGCCTCTCG	700
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005982)	601	700
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	601AC.....	700
<i>Eurytrema coelomaticum</i> (DQ401035)	601C.....GT.....	700
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	601C.....GT.....	700
<i>Eurytrema pascuaticum</i> (DQ401034)	601C.....GT.....	700
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005981)	701	ATGCCCTTCAACGGGTGTGGGATGCGGACCGCACSTTACTTTGAA	746
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC005982)	701	746
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	701	746
<i>Eurytrema coelomaticum</i> (DQ401035)	701	746
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	701	746
<i>Eurytrema pascuaticum</i> (DQ401034)	701	746

Ảnh 15: Trình tự gen 18S rRNA của 2 loài *Eurytrema cladorchis* và *Eurytrema coelomaticum* ký sinh ở trâu, bò Tuyên Quang

<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006029)	1	TATGAAATATCCAGGAGCCCAATGATGGCTTGGGTTTGGCCAGCTGGCTATGATCCCCAGCTCCAGTTGGGGGTGCAGATCTATGGCGTTTCC	100
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006030)	1	100
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006031)	1	100
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006032)	1Y.....	100
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	1	100
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	1T.....	100
<i>Eurytrema panzerianum</i> (LC012790)	1	100

<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006029)	101	TAATGTAATCCGGAAACAGCACTGGTTGTAACAGAGGAGAGTGTGACAGGAGTGGTCCAGTACTGGATATGCCGCTCCGCTACCGTITTCGTG	200
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006030)	101Y.....	200
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006031)	101A.....	200
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006032)	101Y.....	200
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	101A.....	200
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	101G.....T.....T.....T.....T.....	200
<i>Eurytrema panzerianum</i> (LC012790)	101C.....E...G...G.....T...A...C.....	200

<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006029)	201	TGCCAATGTCCGATCAAAAACCCATCATA	229
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006030)	201	229
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006031)	201	229
<i>Eurytrema cladorchis</i> (LC006032)	201	229
<i>Eurytrema cladorchis</i> Viet Nam (this study)	201C.....	229
<i>Eurytrema coelomaticum</i> Viet Nam (this study)	201A.....T...A.....	229
<i>Eurytrema panzerianum</i> (LC012790)	201TC.....	229

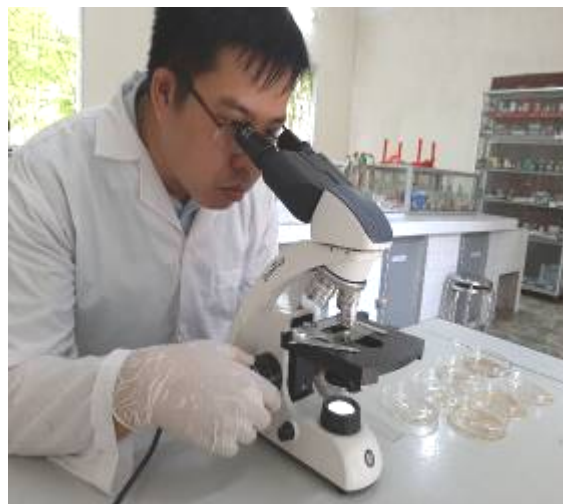
Ảnh 16: Trình tự gen ITS2 của 2 loài *Eurytrema cladorchis* và *Eurytrema coelomaticum* ký sinh ở trâu, bò Tuyên Quang



Ảnh 17, 18: Thu thập mẫu phân trâu, bò tại Tuyên Quang để xét nghiệm sản lá tuyến tụy



Ảnh 19, 20: Mẫu phân trâu, bò thu thập tại Tuyên Quang



Ảnh 21, 22: Xét nghiệm mẫu phân tìm trứng sán lá tuyến tụy



Ảnh 23, 24: Trứng sán lá tuyến tụy quan sát dưới kính hiển vi

(độ phóng đại 100 lần)



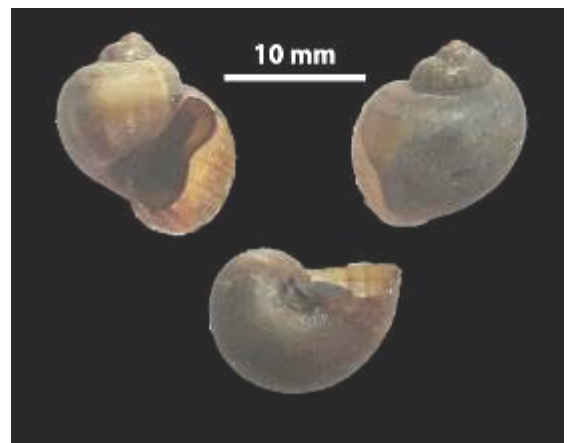
Ảnh 25. Thu thập ốc cạn



Ảnh 26. Loài *Bradybaena jourdyi*



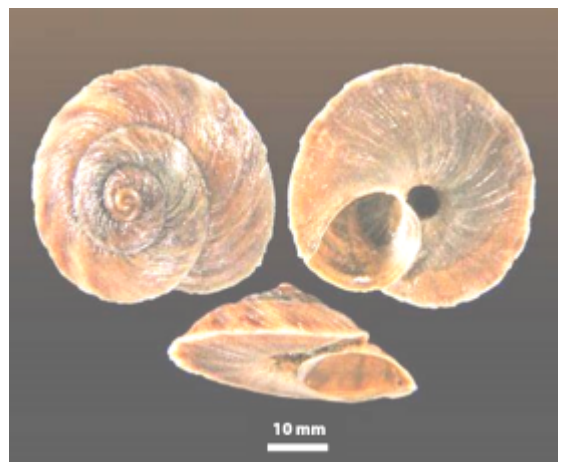
Ảnh 27. Loài *Bradybaena similaris*



Ảnh 28. Loài *Pomacea* spp.



Ảnh 29. Loài *Achatina fulica*



Ảnh 30. Loài *Pseudiberus lamyi*

Ảnh 25 - 30: Các loài ốc cạn đã định danh tại tỉnh Tuyên Quang



Ảnh 31. Thu thập châu chấu

Ảnh 32. Loài *Conocephalus maculatus*





Ảnh 33. Loài *Conocephalus chinensis*

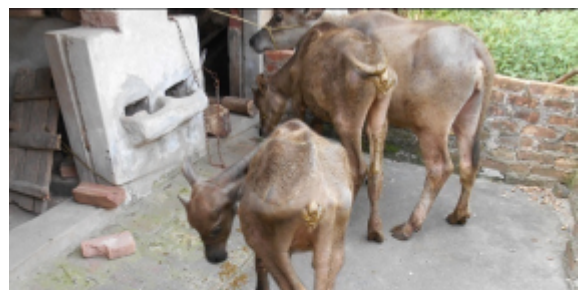
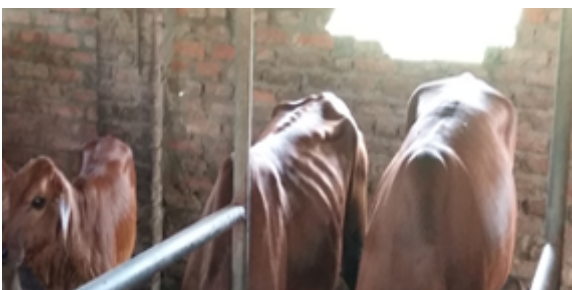
Ảnh 34. Loài *Conocephalus melaenus*



Ảnh 35. Loài *Hexacentrus stali*

Ảnh 36. Loài *Neoconocephalus robustus*

Ảnh 31 - 36: Một số loài châu chấu đã định danh tại tỉnh Tuyên Quang



\

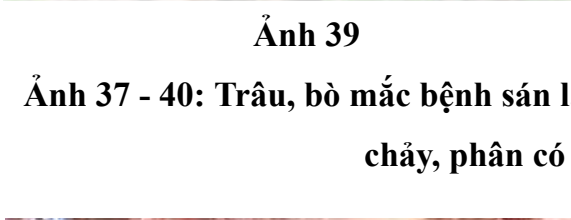
Ảnh 37



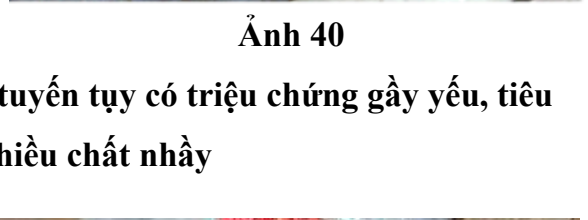
Ảnh 38



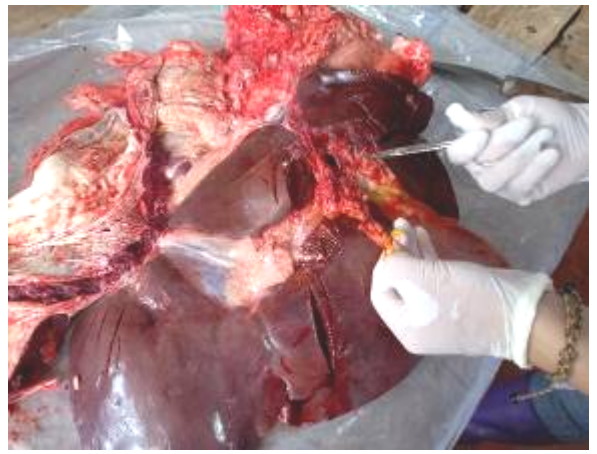
Ảnh 39



Ảnh 40



Ảnh 37 - 40: Trâu, bò mắc bệnh sán lá tuyến tụy có triệu chứng gầy yếu, tiêu chảy, phân có nhiều chất nhầy



Ảnh 41, 42: Tuyến tụy cứng, nhạt màu, tăng kích thước và bị xơ hóa, gan sưng, màu vàng nhạt



Ảnh 43, 44: Lấy máu trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy



Ảnh 45: Các loại thuốc đã thử nghiệm tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò



Ảnh 46, 47: Thử nghiệm thuốc tẩy sán lá tuyến tụy cho bò mắc bệnh



Ảnh 48: Chế phẩm EMIC trước khi ứng dụng xử lý phân

Ảnh 49: Chế phẩm EMUNIV trước khi ứng dụng xử lý phân





Ảnh 50: Chế phẩm EMZEO trước khi ứng dụng xử lý phân

Ảnh 51: Pha chế phẩm EMZEO



Ảnh 52

Ảnh 53



Ảnh 54



Ảnh 55

Ảnh 52 - 55: Ủ phân trâu, bò bằng chế phẩm sinh học tại Tuyên Quang

PHỤ LỤC 2

XỬ LÝ SỐ LIỆU CỦA ĐỀ TÀI

1. Tình hình nhiễm sán lá đường tiêu hóa ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

General Linear Model: Tỷ lệ (%) versus Địa phương

Factor	Type	Levels	Values
Địa phương	fixed	5	Chiêm Hóa, Hàm Yên, Sơn Dương, TP. Tuyên Quang, Yên Sơn

Analysis of Variance for Tỷ lệ (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Địa phương	4	760.90	760.90	190.23	12.78	0.000
Error	20	297.77	297.77	14.89		
Total	24	1058.67				

S = 3.85855 R-Sq = 71.87% R-Sq(adj) = 66.25%

Unusual Observations for Tỷ lệ (%)

Obs	Tỷ lệ (%)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
6	24.2857	34.9595	1.7256	-10.6738	-3.09 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Địa phương	N	Mean	Grouping
Sơn Dương	5	46.29	A
Yên Sơn	5	40.81	A B
TP. Tuyên Quang	5	35.14	B C
Hàm Yên	5	34.96	B C
Chiêm Hóa	5	30.29	C

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: Tỷ lệ (%) versus Tuổi trâu, bò (năm)

Factor	Type	Levels	Values
Tuổi trâu, bò (năm)	fixed	4	< 2, > 8, >2 - 5, >5 - 8

Analysis of Variance for Tỷ lệ (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Tuổi trâu, bò (năm)	3	2298.93	2298.93	766.31	14.60	0.000
Error	16	839.54	839.54	52.47		
Total	19	3138.47				

S = 7.24371 R-Sq = 73.25% R-Sq(adj) = 68.23%

Unusual Observations for Tỷ lệ (%)

Obs	Tỷ lệ (%)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
19	72.4138	54.6861	3.2395	17.7277	2.74 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Tuổi trâu,

bò (năm)	N	Mean	Grouping
> 8	5	54.69	A
>5 - 8	5	38.80	B
>2 - 5	5	34.70	B C
< 2	5	24.95	C

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: Tỷ lệ (%) versus Mùa vụ

Factor	Type	Levels	Values
--------	------	--------	--------

Mùa vụ fixed 2 Đông - Xuân, Hè- Thu
 Analysis of Variance for Tỷ lệ (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Mùa vụ	1	585.01	585.01	585.01	9.82	0.014
Error	8	476.41	476.41	59.55		
Total	9	1061.43				

S = 7.71695 R-Sq = 55.12% R-Sq(adj) = 49.51%
 Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Mùa vụ	N	Mean	Grouping
Hè- Thu	5	45.35	A
Đông - Xuân	5	30.05	B

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: Tỷ lệ (%) versus Phương thức chăn nuôi

Factor Type Levels Values
 Phương thức chăn nuôi fixed 2 Bán chăn thả, Chăn thả hoàn toàn
 Analysis of Variance for Tỷ lệ (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Phương thức chăn nuôi	1	1463.6	1463.6	1463.6	45.43	0.000
Error	8	257.7	257.7	32.2		
Total	9	1721.4				

S = 5.67603 R-Sq = 85.03% R-Sq(adj) = 83.16%
 Unusual Observations for Tỷ lệ (%)

Obs	Tỷ lệ (%)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
4	52.9825	42.7845	2.5384	10.1979	2.01 R

R denotes an observation with a large standardized residual.
 Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Phương thức chăn nuôi	N	Mean	Grouping
Chăn thả hoàn toàn	5	42.78	A
Bán chăn thả	5	18.59	B

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: Tỷ lệ (%) versus Vùng địa hình

Factor Type Levels Values
 Vùng địa hình fixed 3 Vùng bằng phẳng, Vùng đồi núi cao, Vùng đồi núi thấp
 Analysis of Variance for Tỷ lệ (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Vùng địa hình	2	980.50	980.50	490.25	10.76	0.002
Error	12	546.89	546.89	45.57		
Total	14	1527.39				

S = 6.75085 R-Sq = 64.19% R-Sq(adj) = 58.23%
 Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Vùng địa hình	N	Mean	Grouping
Vùng bằng phẳng	5	47.28	A
Vùng đồi núi thấp	5	35.64	B
Vùng đồi núi cao	5	27.58	B

Means that do not share a letter are significantly different.

2. Tình hình nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

General Linear Model: Tỷ lệ (%) versus Địa phương

Factor Type Levels Values
 Địa phương fixed 5 Chiêm Hóa, Hàm Yên, Sơn Dương, TP. Tuyên Quang, Yên Sơn
 Analysis of Variance for Tỷ lệ (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
--------	----	--------	--------	--------	---	---

Địa phương	4	314.504	314.504	78.626	36.62	0.000
Error	20	42.939	42.939	2.147		
Total	24	357.443				

S = 1.46525 R-Sq = 87.99% R-Sq(adj) = 85.58%

Unusual Observations for Tỷ lệ (%)

Obs	Tỷ lệ (%)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
5	29.8507	26.6119	0.6553	3.2389	2.47 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Địa phương	N	Mean	Grouping
Chiêm Hóa	5	26.61	A
Hàm Yên	5	23.39	B
Yên Sơn	5	20.59	C
Sơn Dương	5	19.14	C
TP. Tuyên Quang	5	16.28	D

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: Tỷ lệ nhiễm (%) versus Tuổi trâu, bò (năm)

Factor	Type	Levels	Values
--------	------	--------	--------

Tuổi trâu, bò (năm)	fixed	4	< 2, > 8, >2 - 5, >5 - 8
---------------------	-------	---	--------------------------

Analysis of Variance for Tỷ lệ nhiễm (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Tuổi trâu, bò (năm)	3	1457.65	1457.65	485.88	21.69	0.000
Error	16	358.45	358.45	22.40		
Total	19	1816.09				

S = 4.73316 R-Sq = 80.26% R-Sq(adj) = 76.56%

Unusual Observations for Tỷ lệ nhiễm (%)

Obs	Tỷ lệ nhiễm (%)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
20	25.7143	35.1810	2.1167	-9.4667	-2.24 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Tuổi trâu, bò (năm)	N	Mean	Grouping
> 8	5	35.18	A
>5 - 8	5	22.54	B
>2 - 5	5	18.83	B C
< 2	5	11.64	C

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: Tỷ lệ nhiễm (%) versus Mùa vụ (trâu, bò)

Factor	Type	Levels	Values
--------	------	--------	--------

Mùa vụ (trâu, bò)	fixed	2	Đông - Xuân, Hè- Thu
-------------------	-------	---	----------------------

Analysis of Variance for Tỷ lệ nhiễm (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Mùa vụ (trâu, bò)	1	91.46	91.46	91.46	5.51	0.047
Error	8	132.67	132.67	16.58		
Total	9	224.13				

S = 4.07234 R-Sq = 40.81% R-Sq(adj) = 33.41%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Mùa vụ (trâu, bò)	N	Mean	Grouping
Hè- Thu	5	24.20	A
Đông - Xuân	5	18.15	B

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: Tỷ lệ nhiễm (%) versus Phương thức chăn nuôi (trâu, bò)

Factor	Type	Levels	Values
--------	------	--------	--------

Phương thức chăn nuôi (trâu, bò)	fixed	2	Bán chăn thả, Chăn thả
----------------------------------	-------	---	------------------------

Analysis of Variance for Tỷ lệ nhiễm (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Phương thức chăn nuôi (trâu,bò)	1	237.65	237.65	237.65	14.36	0.005
Error	8	132.42	132.42	16.55		
Total	9	370.07				

S = 4.06854 R-Sq = 64.22% R-Sq(adj) = 59.74%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Phương thức chăn

nuôi (trâu,bò)	N	Mean	Grouping
Chăn thả	5	23.37	A
Bán chăn thả	5	13.62	B

Means that do not share a letter are significantly different.

General Linear Model: Tỷ lệ nhiễm (%) versus Vùng địa hình (trâu,bò)

Factor	Type	Levels	Values
Vùng địa hình	fixed	3	Vùng bằng phẳng, Vùng đồi núi cao, Vùng đồi núi thấp

Analysis of Variance for Tỷ lệ nhiễm (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Vùng địa hình	2	526.89	526.89	263.44	17.43	0.000
Error	12	181.40	181.40	15.12		
Total	14	708.29				

S = 3.88803 R-Sq = 74.39% R-Sq(adj) = 70.12%

Unusual Observations for Tỷ lệ nhiễm (%)

Obs	Tỷ lệ nhiễm (%)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
11	22.0339	14.7206	1.7388	7.3133	2.10 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Vùng địa hình	N	Mean	Grouping
Vùng đồi núi cao	5	29.24	A
Vùng đồi núi thấp	5	22.22	B
Vùng bằng phẳng	5	14.72	C

Means that do not share a letter are significantly different.

3. So sánh chỉ tiêu huyết học và sinh hóa máu

* Một số chỉ tiêu huyết học và bạch cầu

Two-Sample T-Test and CI: Số lượng hồng cầu, Loại trâu

Two-sample T for Số lượng hồng cầu

	N	Mean	StDev	SE Mean
Trâu mắc bệnh	15	6.053	0.397	0.10
Trâu khỏe	15	8.387	0.137	0.035

Difference = mu (Trâu mắc bệnh) - mu (Trâu khỏe)

Estimate for difference: -2.334

95% CI for difference: (-2.563, -2.105)

T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = -21.55 P-Value = 0.001 DF = 17

Two-Sample T-Test and CI: Số lượng bạch cầu, loại trâu

Two-sample T for Số lượng bạch cầu

	N	Mean	StDev	SE Mean
Trâu mắc bệnh	15	17.981	0.726	0.19
Trâu khỏe	15	11.313	0.409	0.11

Difference = mu (Trâu mắc bệnh) - mu (Trâu khỏe)

Estimate for difference: 6.668

95% CI for difference: (6.222, 7.114)

T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 30.98 P-Value = 0.001 DF = 22

Two-Sample T-Test and CI: Bạch cầu ái kiềm, loại trâu

Two-sample T for Bạch cầu ái kiềm

	N	Mean	StDev	SE Mean
Trâu mắc bệnh	15	1.367	0.221	0.057
Trâu khỏe	15	1.051	0.152	0.039

Difference = mu (Trâu mắc bệnh) - mu (Trâu khỏe)

Estimate for difference: 0.3153

95% CI for difference: (0.1725, 0.4581)

T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 4.56 P-Value = 0.000 DF = 24

Two-Sample T-Test and CI: Bạch cầu ái toan, loại trâu

Two-sample T for Bạch cầu ái toan

	N	Mean	StDev	SE Mean
Trâu mắc bệnh	15	6.323	0.242	0.062
Trâu khỏe	15	2.1427	0.0687	0.018

Difference = mu (Trâu mắc bệnh) - mu (Trâu khỏe)

Estimate for difference: 4.1807

95% CI for difference: (4.0432, 4.3181)

T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 64.46 P-Value = 0.001 DF = 16

Two-Sample T-Test and CI: Số lượng hồng cầu, Loại bò

Two-sample T for Số lượng hồng cầu

	N	Mean	StDev	SE Mean
Bò mắc bệnh	15	4.539	0.303	0.078
Bò khỏe	15	7.854	0.462	0.12

Difference = mu (Bò mắc bệnh) - mu (Bò khỏe)

Estimate for difference: -3.315

95% CI for difference: (-3.610, -3.021)

T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = -23.22 P-Value = 0.000 DF = 24

Two-Sample T-Test and CI: Số lượng bạch cầu, loại bò

Two-sample T for Số lượng bạch cầu

	N	Mean	StDev	SE Mean
Bò mắc bệnh	15	15.305	0.491	0.13
Bò khỏe	15	9.464	0.338	0.087

Difference = mu (Bò mắc bệnh) - mu (Bò khỏe)

Estimate for difference: 5.841

95% CI for difference: (5.523, 6.158)

T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 37.96 P-Value = 0.001 DF = 24

Two-Sample T-Test and CI: Bạch cầu ái kiềm, loại bò

Two-sample T for Bạch cầu ái kiềm

	N	Mean	StDev	SE Mean
Bò mắc bệnh	15	1.577	0.193	0.050
Bò khỏe	15	1.0213	0.0818	0.021

Difference = mu (Bò mắc bệnh) - mu (Bò khỏe)

Estimate for difference: 0.5560

95% CI for difference: (0.4422, 0.6698)

T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 10.26 P-Value = 0.001 DF = 18

Two-Sample T-Test and CI: Bạch cầu ái toan, loại bò

Two-sample T for Bạch cầu ái toan

	N	Mean	StDev	SE Mean
Bò mắc bệnh	15	23.007	0.758	0.20
Bò khỏe	15	14.010	0.827	0.21

Difference = mu (Bò mắc bệnh) - mu (Bò khỏe)

Estimate for difference: 8.997

95% CI for difference: (8.403, 9.592)

T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 31.05 P-Value = 0.001 DF = 27

*** Chỉ tiêu sinh hóa****Two-Sample T-Test and CI: Amylase, loại trâu**

Two-sample T for Amylase

	N	Mean	StDev	SE Mean
Trâu mắc bệnh	15	144.67	6.07	1.6
Trâu khỏe	15	79.14	1.56	0.40

Difference = mu (Trâu mắc bệnh) - mu (Trâu khỏe)
 Estimate for difference: 65.53
 95% CI for difference: (62.08, 68.99)
 T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 40.47 P-Value = 0.001 DF = 15

Two-Sample T-Test and CI: Glucose, loại trâu

Two-sample T for Glucose

	N	Mean	StDev	SE Mean
Trâu mắc bệnh	15	138.91	8.62	2.2
Trâu khỏe	15	72.24	1.09	0.28

Difference = mu (Trâu mắc bệnh) - mu (Trâu khỏe)
 Estimate for difference: 66.67
 95% CI for difference: (61.85, 71.48)
 T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 29.71 P-Value = 0.001 DF = 14

Two-Sample T-Test and CI: Amylase, loại bò

Two-sample T for Amylase

	N	Mean	StDev	SE Mean
Bò mắc bệnh	15	135.700	0.650	0.17
Bò khỏe	15	75.67	1.92	0.50

Difference = mu (Bò mắc bệnh) - mu (Bò khỏe)
 Estimate for difference: 60.027
 95% CI for difference: (58.922, 61.131)
 T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 114.64 P-Value = 0.001 DF = 17

Two-Sample T-Test and CI: Glucose, loại bò

Two-sample T for Glucose

	N	Mean	StDev	SE Mean
Bò mắc bệnh	15	135.58	5.02	1.3
Bò khỏe	15	68.977	0.885	0.23

Difference = mu (Bò mắc bệnh) - mu (Bò khỏe)
 Estimate for difference: 66.60
 95% CI for difference: (63.78, 69.42)
 T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 50.61 P-Value = 0.001 DF = 14