BẢN TRÍCH YẾU LUẬN ÁN TIẾN SĨ

Tên tác giả: Trần Nhật Thắng

Tên luận án: ***"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".***

Ngành: Ký sinh trùng & Vi sinh vật học thú y; **Mã số**: 9.64.01.04

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Nông Lâm - Đại học Thái Nguyên

Mục đích nghiên cứu:

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.

Phương pháp nghiên cứu:

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

Sử dụng phương pháp dịch tễ học mô tả cắt ngang (Nguyễn Như Thanh và cs., 2001). Lấy mẫu phân theo phương pháp lấy mẫu chùm nhiều bậc. Xét nghiệm phân trâu, bò bằng phương pháp lắng cặn (Benedek, 1943) để phát hiện trứng các loài sán lá trong mỗi mẫu phân.

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

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). Sử 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 (18S rRNA và ITS2).

Xác định tỷ lệ nhiễm sán lá tuyến tụy ở trâu, bò bằng phương pháp Benedek (1943). Cường độ nhiễm sán lá tuyến tụy được xác định bằng phương pháp đếm trứng Mc. Master.

Định danh loài ốc cạn ở Tuyên Quang theo khóa định loại của Schileyko (2011), Đặng Ngọc Thanh, Hồ Thanh Hải (2019) và 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. Định danh các loài châu chấu theo khóa định loại của Lưu Tham Mưu, Đặng Đức Khương (2000), Cigliano (2020) và tham chiếu với các loài chấu chấu đã được tác giả khác xác định là vật chủ trung gian thứ hai của sán lá tuyến tụy.

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. 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 làm tiêu bản vi thể được thực hiện theo quy trình cắt cúp tổ chức, nhuộm Haematoxylin - Eosin (HE). 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).

Thử nghiệm ba loại thuốc: albendazole, praziquantel và nitroxynil có tác dụng tẩy sán lá trên trâu, bò nhiễm sán lá tuyến tụy để lựa chọn loại thuốc có hiệu lực tẩy cao. Sau đó, xác định liều thuốc praziquantel có hiệu lực cao tẩy sán lá tuyến tụy cho trâu, bò. Tiến hành ủ phân tại 20 hộ chăn nuôi trâu, bò, 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. Thử nghiệm thuốc praziquantel liều 18 mg/kg TT tẩy dự phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò.

Biện pháp phòng trị tổng hợp bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò được đề xuất dựa trên: 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 dự phòng bệnh sán lá tuyến tụy cho trâu, bò.

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.

Kết quả chính và kết luận:

1. 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.

2. Bệnh do sán lá tuyến tụy Eurytrema* spp. *gây ra ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

2.1. Định danh loài sán lá tuyến tụy ký sinh ở trâu, bò tại 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.*

2.2. Một số đặc điểm dịch tễ bệnh sán lá tuyến tụy ở trâu, bò tại tỉnh Tuyên Quang

- 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.

2.3. Loài vật chủ trung gian của sán lá tuyến tụy Eurytrema spp. tại Tuyên Quang

- 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.

2.4. 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. gầy yếu, chậm chạp; tiêu chảy, phân có nhiều chất nhầy; thủy thũng ở cổ và ngực; mắt có dử 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 sưng, gan sưng, 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.

3. 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 praziquantel liều 18 mg/kg TT 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.

DISSERTATION ABSTRACT

Ph.D candidate: Tran Nhat Thang
Dissertation title: ***"Study on gastrointestinal trematode infection and the disease caused by Eurytrema* spp. *in buffalo and cattle herds in Tuyen Quang province".***
Speciality: Veterinary Parasitology & Microbiology; Code: 9.64.01.04
Training institution: University of Agriculture and Forestry - Thai Nguyen University
Purposes of study:

The study aimed to determine the prevalence of gastrointestinal trematode infection in buffaloes and cattle herds in Tuyen Quang province, to identify some epidemiological, pathological and clinical characteristics of the disease caused by pancreatic flukes *Eurytrema* spp. in buffaloes and cattle, to study and propose measures to prevent and treat Eurytrematosis in buffaloes and cattle in Tuyen Quang province.

Study methods:

Method to study the prevalence of gastrointestinal trematode infection in buffalo and cattle herds in Tuyen Quang province

Using cross-sectional descriptive epidemiological method (Nguyen Nhu Thanh et al., 2001). Animal fecal samples were collected by using the multi-step cluster sampling method. The samples were analyzed by using the sedimentation method (Benedek, 1943) to identify trematode eggs in each fecal sample.

Methods to study Eurytrematosis in buffaloes and cattle

Pancreatic fluke species were identified according to the identification key of Nguyen Thi Le et al. (1996), Mohanta et al. (2015), Leite et al. (2020). Furthermore, molecular technique was used to evaluate 6 pancreatic fluke samples (3 samples for each specie). After performing the PCR method, 01 representative sample will be selected for each specie to perform gene sequencing (18S rRNA and ITS2).

The prevalence and infection intensity of Eurytrematosis in buffaloes and cattle were determined using the Benedek method (1943) and the Mc.Master method, respectively.

Collected land snails in Tuyen Quang province were identified according to the identification key of Schileyko (2011), Dang Ngoc Thanh and Ho Thanh Hai (2019). Identified land snails were compared with other authors that announced the first intermediate host of Eurytrematosis. Collected grasshoppers were identified according to the identification key of Luu Tham Muu and Dang Duc Khuong (2000), Cigliano (2020). Identified grasshopper species were compared with other authors that announced as the second intermediate hosts of Eurytrematosis.

Clinical symptoms were observed in buffaloes and cattle infected only with Eurytrematosis and not infected with other types of worms. The macroscopic lesions in the digestive organs were observed by visual eyes and a magnifying glass and taken pictures of lesional areas caused by pancreatic flukes. The method of making microscopic specimens was performed by cutting the tissue and staining it with Haematoxylin - Eosin (HE). Blood physiological parameters of infected and healthy buffaloes and cattle were analyzed on an ABX Micros 60 machine (Horiba Medical,

France) and blood biochemical parameters of those were performed on a Chemray 240 machine (Rayto, China).

Three deworming medicines (albendazole, praziquantel and nitroxynil) have been tested and determined their effectiveness on buffaloes and cattle infected with Eurytrematosis, from those, chose a drug with high deworming effectiveness. Then, the highly effective dose of praziquantel to deworm pancreatic flukes in buffaloes and cattle was determined. Composting manure at 20 households raising buffaloes and cattle was conducted, taking samples of manure before and after composting with probiotics, taken at 10 different locations with varying depths, at each location took about 15 - 20 grams of manure, mixed them all to get one test sample. Test manure samples were analyzed by sedimentation method to detect *Eurytrema* eggs. Praziquantel medicine at a dose of 18 mg/kg B.W. was approved to prevent Eurytrematosis in buffaloes and cattle.

Integrated prevention and treatment measures for Eurytrematosis in buffaloes and cattle were proposed on the basis of results on the prevalence of Eurytrematosis; testing treatment medicine; on manure treatment and approving preventive praziquantel for Eurytrematosis in buffaloes and cattle.

Biostatistical methods were employed to process the collected data, according to Do Duc Luc et al. (2017), using Microsoft Excel 2010 and Minitab 16.0 software.

Main results and conclusion:

1. Characteristics of gastrointestinal trematode infection in buffaloes and cattle in Tuyen Quang province through fecal testing

The average prevalence of gastrointestinal trematode infection in buffaloes and cattle in Tuyen Quang province was 37,49%, with a range from 30,29% to 46,29%. The prevalence increased with the age of buffaloes and cattle. Additionally, the disease was more common in the Summer-Autumn season compared to the Winter-Spring season. Buffaloes and cattle raised in completely free-grazing method exhibited a higher prevalence of trematode infection than those in semi-grazing method, and those in flat areas were more susceptible to gastrointestinal trematode infection than those in other areas.

2. The disease caused by *Eurytrema* spp. in buffaloes and cattle in Tuyen Quang province

2.1. Identification of pancreatic fluke species parasitized in buffaloes and cattle in Tuyen Quang province

 Pancreatic flukes parasitizing buffaloes and cattle in Tuyen Quang province were identified as *Eurytrema cladorchis* and *Eurytrema coelomaticum* using morphological techniques, later re-evaluated using molecular techniques.

2.2. Epidemiological characteristics of eurytrematosis in buffaloes and cattle in Tuyen Quang province

 Buffaloes and cattle raised across five districts and cities in Tuyen Quang province were found to be infected with Eurytrematosis, with an average prevalence of 22,70% in buffaloes and 17,35% in cattle.

 The prevalence of Eurytrematosis increased with age, ranging from 14,04% to 36,96% in buffaloes and from 3,92% to 32,26% in cattle. The disease was more prevalent in the Winter-Spring season (25,51%) compared to the Summer-Autumn season (16,78%).

 Buffaloes and cattle raised in a free-grazing method had a higher infection rate (25.53%) compared to those raised in a semi-grazing method (12,60%).

 In high mountainous areas, 29,34% of buffaloes and cattle were infected, followed by low mountainous areas (22,35%) and flat areas (14,31%).

 The infection intensity at the level (+ + +) accounted for 12,67% of total buffaloes and cattle infected with *Eurytrema* spp.

2.3. Intermediate host species of pancreatic flukes Eurytrema spp. in Tuyen Quang province

 The land snail *Bradybaena similaris* is the first intermediate host, and two grasshopper species, *Conocephalus maculatus* and *Conocephalus chinensis*, were identified as the second intermediate hosts of *Eurytrem*a spp. pancreatic flukes in Tuyen Quang province.

2.4. Pathological and clinical characteristics of Eurytrematosis in buffaloes and cattle in Tuyen Quang province

 Main symptoms included weakness, diarrhea, feces with a lot of mucus, emphysema in the neck and chest, milky white cast in eyes, anemia, and pale mucous membranes.

 Gross lesions comprised a hard, pale, enlarged, and fibrotic pancreas, swollen mesenteric lymph nodes, a swollen liver with a pale yellow color, and inflamed and bleeding intestines.

 Microscopic lesions included large excretory duct epithelium necrosis, peeling, the lumen containing adult flukes and fluke eggs. The stromal reaction around flukes had degenerated and calcified. The exocrine pancreas was atrophied and fibrotic.

 Buffaloes and cattle infected with Eurytrematosis exhibited a reduced number of red blood cells, hemoglobin content, and hematocrits. The number of white blood cells, neutrophils, basophils, and eosinophils increased, while lymphocytes and monocytes decreased significantly compared to those in healthy buffaloes and cattle. Additionally, there was a decrease in protein, albumin, and globulin content, a slight increase in gamma-glutamyl transferase, aspartate aminotransferase, and cholesterol parameters, and a clear increase in amylase and glucose compared to healthy buffaloes and cattle.

3. Measures to prevent and treat Eurytrematosis in buffaloes and cattle

 Praziquantel medicine at a dose of 18 mg/kg B.W. was found to be safe and highly effective in deworming pancreatic flukes.

 The use of EMUNIV and EMZEO probiotics for composting buffalo and cattle manure effectively eliminated pancreatic fluke eggs in the husbandry environment.

 Praziquantel medicine at a dose of 18 mg/kg B.W. was used to prevent pancreatic flukes in buffaloes and cattle twice a year, with each treatment repeated two months apart.

 Six main comprehensive prevention and treatment measures for Eurytrematosis in buffaloes and cattle in Tuyen Quang province were proposed.