

Parasitology
PHẦN THỨ NHẤT
ĐẠI CƯƠNG VỀ KÝ SINH VÀ BỆNH KÝ SINH

CHƯƠNG I :
NHỮNG KHÁI QUÁT CƠ BẢN VỀ KÝ SINH VẬT

I. HIỆN TƯỢNG KÝ SINH VÀ CÁC DẠNG KÝ SINH

1. Cộng sinh (symbiosis):

Là hiện tượng mà hai sinh vật sống chung như một cá thể mà mỗi sinh vật sống phải dựa vào nhau. Ví dụ: loài địa y được tạo ra từ tảo và nấm

2. Hỗ sinh (Mutualism):

Là sự tương tác và có lợi giữa sinh vật này với sinh vật khác ví dụ :
của biển với bọt biển

3. Hội sinh (commensalism)

II. NHỮNG NGHIÊN CỨU VỀ KÝ SINH VÀ BỆNH KÝ SINH Ở GIA SÚC, GIA CẦM Ở VIỆT NAM

Từ những năm còn là thuộc địa của Pháp, một số nhà ký sinh người Pháp đã tiến hành nghiên cứu điều tra về ký sinh ở gia súc, gia cầm tại Việt Nam như Houdemer, Bauche, Ralliet, Henry, Bernard, Boudine, Jourxe, Bergeon V.V... Houdemer (1938) đã tổng hợp những kết quả nghiên cứu từ năm 1921 đến năm 1993 của nhiều tác giả, đã thống kê các loài giun sán đã phát hiện được ở người, khỉ, vượn, mèo, chó, heo, trâu bò, ngựa, la, dê, cừu, hươu, voi, chuột lang, thỏ, gà, vịt, ngỗng, bồ câu. Một số loài đã thú ăn thịt và cỏ, một số loài chim trời, một số loài bò sát, cá, lưỡng cư và động vật không có xương sống.

Sau 1954 công việc nghiên cứu đã được tiến hành một cách liên tục và có hệ thống hơn. Công trình tổng hợp của Trịnh Văn Thịnh và các tác giả (1978) đã cho biết các loài giun sán và bệnh giun sán ở gia súc, gia cầm Việt Nam. Bùi EELập (1965, 1979) đã cho biết tình hình nhiễm giun sán ở heo miền Bắc và vùng duyên hải miền Trung Việt Nam. Phạm văn Khuê (1982) cho biết tình hình nhiễm giun sán heo tại đồng bằng sông Cửu Long và sông Hồng, Châu Bá Lộc, Đỗ Trung Giã, Nguyễn Hữu Hưng (1991) cho biết tình hình nhiễm giun sán tại 4 tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. Lương Văn Huân và cộng sự (1994) cho biết tình hình nhiễm giun sán ở heo 12 tỉnh phía Nam.

Drozd (1967) cho biết tình hình nhiễm ký sinh trùng ở gia súc nhai lại, Phạm Sỹ Lăng (1979) cho biết tình hình nhiễm *Trypanosoma brucei evansi* tại đồng bằng Bắc bộ. Phan Địch Lân (1980) cho biết tình hình nhiễm sán lá gan ở

trâu bò ở miền Bắc Việt Nam. Dương Công Thuận (1963 - 1977) cho biết tình hình nhiễm cầu trùng gà tại miền Bắc và biện pháp phòng trừ.

Ngoài ra còn nhiều tác giả khác đã nghiên cứu về giun sán, côn trùng nguyên bào ký sinh ở gia súc, gia cầm Việt Nam như các tác giả Phan Thế Việt, Nguyễn Thị Kỳ, Nguyễn Thị Lê (1977), Phạm Chức (1986), Hồ Thị Thuận (1986), Phan Lục, Lương Tô Thu, Đoàn Văn Phúc, Lê Ngọc Mỹ, Đặng Ngọc Thanh, Đào Hữu Thanh, Đào Văn Tiến, Vũ Thị Phan, Phan Trọng Cung (1977) và nhiều tác giả khác như Lê Văn Hòa (1963), Lê Thị Mỹ San, Phạm Hùng, Vũ Đình Chính (1978). Công trình nghiên cứu ký sinh và bệnh ký sinh trùng ở gia súc, gia cầm của các tác giả Đỗ Dương Thái, Trịnh Văn Thịnh, Bùi Lập, Phạm Văn Khuê, Phan Địch Lân, Dương Công Thuận, Phạm Xuân Du, Phan Lục (1978) là công trình tổng hợp và đầy đủ nhất.

III. BIẾN THÁI, THẾ ĐỜI VÀ CÁC HÌNH THỨC CHU KỲ SỐNG CỦA KÝ SINH :

1. Biến thái, thế đời :

Hầu hết các ký sinh đều có quá trình phát triển, tiến hoá không tuần tự từ phôi thai thành trưởng thành mà có những biến đổi từng đợt, đợt ngột sinh ra các cá thể khác cá thể trước về hình thái, tập quán sinh sống, những biến đổi đó được gọi là biến thái hoặc thế đời.

a) Biến thái:

Là quá trình phát triển từ dạng này sang một dạng khác, có cấu tạo và đặc tính sinh sống khác với giai đoạn trước. Ví dụ: từ trứng thành *Miracidium* là một biến thái; từ *Cercaria* thành *Adolescaria* hay *Metacercaria* sau đó thành trưởng thành là một biến thái. Cần phân biệt sự biến thái khác với sự lột xác để trở thành ấu trùng gây nhiễm, sự lột xác chỉ thay đổi lớp vỏ để lớn lên mà ít có sự thay đổi về hình thái cấu tạo và phương thức sinh sống.

b) Thế đời:

Là một quá trình biến đổi từ một dạng này thành nhiều dạng khác có cấu tạo khác nhau. Ví dụ : giai đoạn từ *Sporocyst* thành *Rediae* là một giai đoạn thế đời, từ trưởng thành đẻ ra trứng là một giai đoạn thế đời.

c) Di chuyển :

Trong quá trình tiến hóa của quần thể ký sinh vật, để duy trì sự tồn tại, các sinh vật luôn biến đổi hoặc thích nghi với môi trường sống mới. Các sinh vật có thể thay đổi vị trí và phương thức sinh sống. Có những ký sinh vật chỉ ký sinh trên một vật chủ, nhưng những giai đoạn phát triển có thể thay đổi trên các địa điểm của một vật chủ hay từng vật chủ trong cùng một loài. Khi xâm nhập vào cơ thể, ký sinh vật không thể đến vị trí thích hợp để ký sinh bắt buộc chúng phải di chuyển hoặc do điều kiện bất lợi về dưỡng khí, dinh dưỡng v.v... mà ký sinh vật phải trải qua một quá trình di hành để trở lại vị trí định vị thích hợp. Tất cả các quá trình đó là sự di chuyển của ký sinh vật.

2. Các hình thức của chu kỳ sống :

a) Dạng 1 :

Trưởng thành đẻ trứng, sau đó trứng sẽ ra ngoài gặp điều kiện thuận lợi trở thành trứng gây nhiễm (trứng có chứa ấu trùng), khi gia súc ăn phải trứng gây nhiễm sẽ nhiễm ký sinh. Đại diện cho dạng này gồm *Ascaris suum*; *Toxocara vitulorum*; *Toxocara canis*; *Toxascaris leonina*; *Trichocephalus*; *Heterakis Ascaridia galli*; *Hymenolepsis nan* v.v...

b) Dạng 2 :

Trứng được thải ra ngoài, ấu trùng được hình thành và chui ra khỏi trứng sau đó lột xác để tạo thành ấu trùng gây nhiễm. Khi gia súc ăn phải ấu trùng này hoặc tiếp xúc với ấu trùng này sẽ bị nhiễm ký sinh. Đại diện cho dạng này là các loài thuộc giống: *Acvylostoma*; *Necator*; *Dictyocaulus*; *Bunostomum*; *Oesophagostomum*; *Globocephalus*; *Haemonchus*; *Mecistorcirrius* v.v...

c) Dạng 3 :

Trưởng thành đẻ con sau đó ấu trùng sẽ nhiễm trực tiếp cho gia súc hoặc ăn phải ấu trùng từ gia súc khác sẽ nhiễm ấu trùng trong cỏ. Đại diện cho dạng này là *Trichinella spiralis*. Giun có chu kỳ phát triển khá đặc biệt từ giai đoạn trưởng thành đẻ ra ấu trùng sau đó ấu trùng về cơ, để định vị chỉ xảy ra trong một cơ thể vật chủ.

d) Dạng 4 :

Trưởng thành sống tự do hay ký sinh, đẻ trứng, trứng nở ra ấu trùng ở môi trường ngoài và phát triển thành ấu trùng gây nhiễm. Khi gia súc ăn phải ấu trùng này hoặc tiếp xúc với ấu trùng này sẽ nhiễm ký sinh.

Ví dụ : *Strongyloides stercoralis* v.v...

e) Dạng 5 :

Trưởng thành đẻ trứng có chứa ấu trùng 6 móc (*Hexacanthor*), nếu vật chủ trung gian ăn phải sẽ sinh sản vô tính trong vật chủ trung gian, hoặc mọc chồi thành ấu trùng gây nhiễm. Khi vật chủ cuối cùng ăn phải ấu trùng gây nhiễm sẽ nhiễm ký sinh. Đại diện cho dạng này là sán dây *Echinococcus granulosus*; *Taenia multiceps*; *Alveococcus alveococcus*.

f) Dạng 6 :

Trưởng thành đẻ trứng có ấu trùng hoặc không sau đó trứng được phát triển thành ấu trùng phá vỡ nắp vỏ trứng. Khi vật chủ trung gian ăn phải ấu trùng hoặc trứng có chứa *Hexacanthor* sẽ trở thành ấu trùng gây nhiễm. Khi vật chủ cuối cùng ăn phải vật chủ trung gian hoặc ăn phải ấu trùng gây nhiễm sẽ nhiễm ký sinh. Đại diện cho dạng này là các giun : *Metastrongylus elongatus*; *Ascarops dentata*; *Ascarops strongylina*; *Physoccephalus sexalatus*; *Gnathostoma hispidum*; *Dipylidium caninum*; *Taenia hydatigena*; *Taenia solidum* v.v...

g) Dạng 7 :

Trứng có chứa tế bào phôi ra ngoài gặp điều kiện thuận lợi sẽ phát triển thành ấu trùng *Miracidium*. Ấu trùng này xâm nhập vào ốc sinh sản vô tính sau đó chui ra khỏi ốc tạo thành ấu trùng gây nhiễm. Khi gia súc ăn phải ấu trùng ở cỏ

cây sẽ nhiễm ký sinh. Đại diện cho dạng này là các loại : *Fasciola gigantica*; *Fasciolopsis buski*; *Paramphistomum cervi*; *Dicrocoelium dentriticum*; *Phylophthalamus gralli*, v.v...

h) Dạng 8 :

trứng ra ngoài phát triển thành *Miracidium* xâm nhập vào ốc thành *Cercariae*. Khi vật chủ trung gian thứ hai ăn phải tạo thành *Metacercariae*. Gia súc ăn phải vật chủ trung gian II sẽ nhiễm ký sinh. Đại diện cho dạng này là : *Clonorchis*; *Prosthogonimus* v.v...

i) Dạng 9 :

Trưởng thành đẻ trứng sau đó nở ra *Larvae* lột xác thành *Nymph*. Sau đó thành trưởng thành. Các giai đoạn *Larvae*; *Nymph*, trưởng thành tấn công gia súc và người. Đại diện cho dạng này là : ve họ *Ixodidae*; họ *Argasidae*, ghẻ *Sarcoptes*; *Chorioptes*; *Psoroptes*; *Notoedres*; *Otodectes*; *Knemidocoptes* v.v...

J) Dạng 10 :

Trưởng thành đẻ trứng, trứng nở thành *Larvae* và *Nymph*. *Larvae* và *Nymph* sống tự do. Trưởng thành tấn công gia súc và người. Đại diện cho dạng này là các loài : *Aedes aegypti*; *Culex pipens*; *Culex fatigans*; bọ chét *Ctenocephalides canis*; ruồi *Musca domestica*; *Stomoxys calcitrans*; *Tabanus rubidus* v.v...

k) Dạng 11 :

Trưởng thành đẻ trứng, trứng nở thành *Larvae*, *Larvae* ký sinh trong cơ thể gia súc. *Nymph* sống tự do. Trưởng thành tấn công gia súc. Đại diện cho dạng này là ruồi *Hypoderma bovis*; *Hypoderma lineatum*, *Rhinoestrus purpureus*; *Rhinoestrus latifrons*; *Oestrus ovis* v.v...

l) Dạng 12 :

Tiền giao tử đực và cái trong hồng cầu được vật chủ cuối cùng ăn phải, vào cơ thể tạo thành hợp tử sau đó sinh sản vô tính cho ra nhiều *Sporozoite*. Khi vật chủ trung gian bị vật chủ cuối cùng tấn công sẽ nhiễm. Đại diện cho dạng này là các giống : *Babesia*; *Anaplasma*; *Theileria*; một số loài *Leucocytozoon*; v.v...

m) Dạng 13 :

Mầm bệnh *Oocyst* ra ngoài có khả năng gây nhiễm ngay. Khi vật chủ trung gian ăn phải sẽ sinh sản vô tính, vật chủ cuối cùng ăn phải vật chủ trung gian sẽ nhiễm. Đại diện cho dạng này là *Sarcocystis*; một số loài thuộc giống *Isospora*.

n) Dạng 14 :

Oocyst ra ngoài sau một thời gian tạo thành *Oocyst* gây nhiễm. Vật chủ trung gian ăn phải sẽ nhiễm và sinh sản vô tính trong vật chủ trung gian. Khi vật chủ trung gian ăn phải vật chủ trung gian sẽ nhiễm ký sinh. Đại diện cho dạng này là các loài : *Toxoplasma gondii*; *Toxoplasma hammondi*; *Toxoplasma batiensis*.

o) Dạng 15 :

Tự nhiễm khi gia súc nhiễm ký sinh, gia súc đó sẽ tự nhiễm lại ký sinh đó hoặc là vật chủ trung gian củ ký sinh đó. Ví dụ như Strongyloides; Taenia solium; Cryptosporidium.

p) Dạng 16 :

Chu kỳ phát triển đơn giản từ dạng nguyên thủy khi vào cơ thể gia súc bị nhiễm. Ví dụ như Trypanosoma brucei evansi; Trypanosoma equiperdum; Trypanosoma foetus; các Merozoite của Babesi, Theileria.

IV. CÁCH TRUYỀN CỦA KÝ SINH VÀ BỆNH KÝ SINH :

1. Truyền trực tiếp (Direct transmission) :

Quá trình truyền bệnh không có sự tham gia của vật chủ trung gian.

a) Qua thức ăn, nước uống :

- Spora và Cyst gồm các loại Oocyst gây nhiễm của Eimeria, Oocyst và Sporocyst của Sarcocystis; Toxoplasma; Cryptosporidium; Isospora; Cyst của Giardia; Entamoeba.

- Qua trứng : Ví dụ như Ascaris suum; Ascaridia galli; Toxocara vitulorum; T.canis; Toxascaris leonina; Parascaris equorum; Trichocephalus; Oesophagostomum spp v.v...

- Qua Larvae : trichostrongylus; Trichinella spiralis; Strongyloides; Ancylostoma; Stephanurus dentatus; Dictyocaulus viviparus; D.filaria v.v...

b) Qua da :

Ấu trùng của một số loài giun tròn có thể xâm nhập qua da truyền cho gia súc khác. Ví dụ như Ancylostoma caninum; A.braziliense; Necator americanus; N.argentina; Strongyloides stercoralis; S. ransomi; Hypoderma ovis; H. lineatus ...

c) Qua sữa :

Khi gia súc mẹ mang thai bị nhiễm ấu trùng có thể qua sữa truyền cho con. Ví dụ như Ascaris suum; Toxocara vitulorum; Ancylostoma caninum; Strongyloides stercoralis v.v...

d) Qua tiếp xúc trực tiếp và qua giao cấu :

Ví dụ như Sarcopes; Chorioptes; Psoroptes; Knemidocoptes; Demodex; Otodectes; Ixodes; Insecta; Argasidae; Trichomonas; Trypanosoma equiperdum.

e) Qua vết thương hoặc qua môi giới truyền.

Ví dụ như Trypanosoma brucei evansi.

2. Truyền gián tiếp (Indirect transmission) :

Phải có sự tham gia của vật chủ trung gian hoặc phải trải qua chu kỳ sống tự do.

a) Qua nhiễm bẩn :

Môi trường bên ngoài bị nhiễm bẩn bởi ấu trùng gây nhiễm. Ấu trùng xâm nhập vào cơ thể qua thức ăn nước uống hoặc qua da. Ví dụ như *Strongyloides stercoralis*, *Sarcocystis cruzii*.

b) Qua thức ăn, nước uống :

- Ăn phải các dạng ấu trùng sẽ nhiễm ký sinh. Ví dụ như các dạng ấu trùng *Cysticercus cellulosae*; *Cysticercoid*; *Coenurus*; *Echinoccus*; *Adolescaria*; *Metacercaria*; *Plerocercoid*; *Dithyridum* các Larvae gây nhiễm của *Nematoda*.

- Ăn phải dạng Cyst. Ví dụ như dạng Cyst của *Toxoplasma*; *Sarcocystis*; *Balantidium* v.v...

- Ăn phải dạng Merozoite sẽ nhiễm. Ví dụ như *Toxoplasma*.

c) Qua đường chích đốt.

- Qua Spooite. Ví dụ như *Plasmodium falciparum*; *Babesia*; *Theileria*; *Leucocytozoon*; *Haemoproteus*; v.v...

- Qua Larvae như *Elaeophora poeli*; *Dirofilaria immitis*; *Spirocerca lupi*; *Filaria* v.v...

- Qua dạng trưởng thành. Ví dụ như *Trypanosoma evansi*.

V. SỰ THÍCH ỨNG VÀ TÁC HẠI CỦA KÝ SINH VẬT :

1. Sự di hành :

Khi xâm nhập vào cơ thể, ấu trùng muốn đến được vị trí thích hợp để ký sinh chúng buộc phải có quá trình di hành sau đó đến vị trí thích hợp để phát triển thành trưởng thành. Một số loài khi ấu trùng đã đến vị trí thích hợp nhưng do thiếu Oxygen và dưỡng chất chúng phải di hành sau đó quay lại vị trí thích hợp ban đầu để ký sinh (*Ascaris suum*; *Toxocara vitulorum* v.v...).

Trong quá trình di hành gây tổn thương, gây viêm, gây rách, hoại tử, teo, thoái hóa các cơ quan như gan, thận, phổi, mao mạch, thần kinh, cơ, gây mù mắt. Nếu nhiễm nặng cơ thể gây chết gia súc. Ví dụ như chuột lang khi ăn phải trứng gây nhiễm *Ascaris suum* sẽ viêm phổi nặng và có thể chết.

2. Dinh dưỡng :

Ký sinh sử dụng các tổ chức, tế bào, các dịch tiết, máu và bạch huyết làm thức ăn gây hư hại các cơ quan tổ chức và tế bào. Ký sinh sử dụng các protid, lipid, glucid, microelement, macroelement, vitamin v.v... của vật chủ làm chủ suy dinh dưỡng, còi cọc chậm lớn, thiếu máu, rối loạn toàn thân. Việc lấy chất dinh dưỡng qua vòi hút, qua giác bám, qua miệng, qua thẩm thấu, qua những cơ quan đặc biệt khác như ở *Cryptosporidium*. Heo nhiễm san lá ruột *Fasciolopsis buski* mỗi tháng giảm tăng trọng 5,7kg (Iacovlev, 1963). Heo nhiễm san lá ruột trung bình mỗi tháng giảm tăng trọng từ 1-3kg (Nguyễn Văn Quang, 1989). Khi gia súc nhiễm *Fasciola gigantica* sự tăng trọng giảm 20%- 30%. Gà mái nhiễm giun đũa *Ascaridia* sản lượng trứng giảm 15%-20%. Heo nhiễm *Echinococcus unilocularis* glucid giảm 4,48%, lipid giảm 1,11%, protid giảm 3,36%. Lượng calori trong 1 Kg thịt giảm 194,2 calori (Abulazde, 1982). Ngoài ra khi nhiễm *Ancylostoma* chó có thể mất 70 - 80 ml máu/ ngày do máu chảy ở trong ruột. Khi

nhễm giun đũa gia súc thiếu calcium do giun đũa sử dụng rất nhiều cation calcium, làm gia súc co giật.

3. Tác động cơ giới :

Ký sinh phải bám vào cơ thể vật chủ để lấy chất dinh dưỡng để tồn tại. Ký sinh vật dùng giác bám, móc, răng rãnh bám, tóc lông mao bám vào vật chủ gây tổn thương cơ học như teo, thoái hóa, hoại tử, viêm loét các nhu mô và cơ quan, gây viêm da làm da khô, cứng, ngứa ngáy khó chịu, mất ngủ và giảm trọng.

4. Bệnh truyền nhiễm :

Trứng, Larvae, Oocyst, Sporocyst, Cyst ở môi trường bên ngoài có sức đề kháng cao với điều kiện nhiệt độ, độ ẩm, ánh sáng mặt trời v.v..., các chất hóa học và thuốc sát trùng để tồn tại và phát triển. Các giai đoạn của Larvae gây nhiễm có sức đề kháng nhất định với môi trường bên ngoài.

5. Quá trình nhiễm :

Trong quá trình sống, ký sinh thích ứng với nhiều điều kiện, với cách xâm nhập để duy trì và tồn tại.

- Khi ăn phải trứng và ấu trùng một cách bị động sẽ bị nhiễm. Hầu hết các loài giun sán đều thích ứng với cách nhiễm này.

- Chủ động chui qua da như *Strongyloides*; *Stephanurus dentatus*; *Ancylostoma caninum*; *Necator americanus*, ấu trùng của *Hypoderma ovis*; *H. lineatus*. *Miracidium* và *Cercaria* của *Schistoma*.

Không gây hại cho vật truyền như *Malaria* ở muỗi.

6. Sự tồn tại trong cơ thể vật chủ :

- Ký sinh có sức đề kháng với sự tiêu hóa của enzyme. Ví dụ như các loài *Ascaris suum*; *Trichocephalus*; *Ascarops*; *Gnathostoma* khi sống trong đường tiêu hóa không bị men phân giải, khi chết cũng không bị phân giải.

- Tạo kén để chống đỡ với điều kiện bất lợi. Ví dụ như *Entamoeba histolytica* (*histolytica*); *Balantidium coli*; *Trichomonas*; *Cysticercus*; Cyst của *Sarcocystis* và *Toxoplasma*.

- Ký sinh luôn thay đổi kháng nguyên bằng cách hấp thụ protein của vật chủ lên bề mặt sau đó loại bỏ rồi lại hấp thụ lớp protein khác hoặc thích ứng về mặt chuyển hóa miễn dịch. Ký sinh có khả năng bắt chước kháng nguyên của vật chủ để né tránh hệ thống miễn dịch của vật chủ. Ví dụ như ở *Trypanosoma brucei* *evansi* và *Schistoma*.

- Ký sinh có thể sống trong tế bào bạch cầu và macrophage. Ví dụ như *Toxoplasma*.

7. Sự tồn tại bên ngoài vật chủ :

Ký sinh có sức đề kháng cao với các điều kiện bất lợi bên ngoài, luôn tạo thành lớp vỏ bọc, tạo Cyst, tạo Spora. Trứng *Ascaris suum*, *Trichocephalus suis*, có lớp vỏ bọc dày có thể tồn tại hàng năm ở môi trường bên ngoài. Ấu trùng *Metastrongylus* có thể tồn tại hàng năm trong giun đất (Hungerford, 1991).

Balantidium coli; *Trichomonas* ở môi trường bên ngoài tạo Cyst. Các loài *Eimeria*; *Toxoplasma*; *Sarcocystis*; *Cryptosporidium*; *Wenyonella* và *Isosporocyst* để chống đỡ với các điều kiện bất lợi bên ngoài.

Ký sinh tồn tại và phát triển rất nhanh ở môi trường bên ngoài, trong điều kiện bất lợi vẫn tồn tại trong vật chủ dự trữ hoặc vật chủ giả.

8. Khả năng sinh sản cao :

Số lượng trứng đẻ nhiều. Sán lá gan *Fasciola gigantica*; *F. hepatica* đẻ 20.000 - 50.000 trứng hàng ngày có khi tới 120.000 trứng. Khả năng sinh sản vô tính trong ốc mạnh, mỗi một *Miracidium* có thể cho ra nhiều *Cercaria*. Khả năng sinh sản bằng mọc chồi mạnh như ở *Echinococcus*. Những đốt già của sán dây tử cung chứa đầy trứng, các cơ quan sinh dục thoái hóa.

9. Độc tố :

Các sản phẩm trao đổi chất bài tiết và bản thân ký sinh hay từng bộ phận của ký sinh khi bị phân giải đều có tác động đầu độc vật chủ gây phản ứng quá mẫn hoặc tự miễn. Độc tố ve *Ixodini*, độc tố của giun móc *Ancylostoma*; *Trichocephalus suis*; *Sarcocystis*; *Toxoplasma* làm cho máu gia súc khó đông, viêm da, tiêu hủy tổ chức, dung giải tế bào.

10. Mang mầm bệnh kể phát :

khi bị ruồi *Simulium* tấn công gia súc bị nhiễm giun chỉ. Giun xoắn mắt *Thelazia*. Muỗi truyền *Dirofilaria*, *Plasmodium*. Ấu trùng giun lươn có mang vi khuẩn *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Giun phổi có mang vi rút cúm heo. Giun kim *Heterakis* có mang nguyên bào *Histomonas meleagridis* (bệnh black - head). Muỗi hút máu truyền virus Dengue (sốt xuất huyết). Khu ve hút máu truyền *Babesia bovis*; *B. divergens*; *B. bigemina*; *Nuttallia equi*; *Theileria annulata*; *T. parva*; *T. mutans*, ruồi mòng hút máu truyền *Trypanosoma brucei evansi*.

Ngoài ra khi ve hút máu truyền bệnh sốt do *Rickettsia* như sốt *Mediterraneennes* do *R. conori*, sốt *Queensland* do *R. australis*, sốt *Montagnes Rocheuses* do *R. richettsii*, sốt *Siberie* do *R. siberica*, sốt *Q* do *Coxiella burnetti*. Truyền các bệnh do virus như Tịch - borne Encephalitis (TBE), viêm não vùng *Taiga* (TBE - RSSE), viêm não Châu Âu (TBE - CEE), bệnh *Louping III* (LI), sốt *Colorado* (CTF), sốt *Kemerovo* (KEM), sốt bại huyết *Omsk* (OMSK), sốt *Kyasanur* (KEP). Ve còn truyền các loại vi khuẩn như *Corynebacterium pyogenes*; *C. preisznocardi*; *Dermatophilus congolensis*; *Bacillus anthracis*; *Brucella abortus*; *Pasteurella avicida*; *Spirochaeta* như *Borrellia dultoni*; *B. hispanica*; *B. sogdiana*; *B. caucasica*; *B. lactyschevi*; *B. nereensis*; *B. armenica*; *B. theileri*; *B. anserinum* v.v...

VI. SỰ ĐỀ KHÁNG CỦA KÝ SINH ĐỐI VỚI THUỐC :

Việc sử dụng thuốc để phòng trị ký sinh và bệnh ký sinh hiện nay là một biện pháp hữu hiệu. Trong quá trình dùng thuốc, giun sán, côn trùng, nguyên bào sẽ đề kháng với thuốc. Việc đề kháng do nhiều yếu tố chi phối :

a/ Mầm bệnh :

- Đặc điểm sinh học của từng loài ký sinh.
- Vị trí ký sinh.
- Số lần sinh sản của ký sinh trong năm.
- Chu kỳ phát triển của ký sinh.

b/ Thuốc sử dụng :

- Loại thuốc sử dụng cơ chế tác dụng.
- Liều sử dụng.
- Sự luân chuyển của thuốc dùng.
- Cường độ và thời gian điều trị.

c/ Vật chủ :

- Loài vật tuổi sức đề kháng của quần thể.
- Số lượng quần thể gia súc.
- Gen trội, gen lặn.
- Mối liên hệ của quần thể.
- Sự phù hợp của ký sinh với gen nhạy cảm của vật chủ
- Hình thức và hệ thống sinh sản.
- Chăm sóc quản lý và chăn thả.

d/ Yếu tố khác :

- Phụ thuộc vào tiểu khí hậu.
- Phụ thuộc vào mùa, khí hậu.
- Phụ thuộc vào cách lấy thức ăn trong thời kỳ sống tự do của ký sinh.
- Phụ thuộc vào thức ăn của gia súc.

1. Cách xác định sự đề kháng của giun sán :

- Nghi ngờ có giun sán —————> Nếu không tìm nguyên nhân khác
↓ Nếu có
- Đếm trứng trong phân —————> Nếu ít tìm nguyên nhân khác
↓ Nếu nhiều
- Cho uống thuốc giảm triệu chứng lâm sàng —————> Nếu có tìm chương trình phòng chống giun sán cho cơ sở
↓ Nếu không
- Nghi ngờ về sự đề kháng với thuốc —————> Nếu không đề kháng : Tìm lý do gây nên sự sai lệch
↓ Nếu có
- Kiểm tra sự biến đổi của trứng trong phân để xác định sự đề kháng
↓ Nếu có
- Chắc chắn có đề kháng —————> Thử nghiệm tại lò mổ và cho uống thuốc
—————> Kiểm tra sự nở của trứng

2. Các điều kiện để áp dụng :

- Trước khi cho uống thuốc kiểm tra phân bằng phương pháp M.C. Master. Nếu có 300 - 400 trứng/ga m phân cho phép kiểm tra sức đề kháng của giun sán đối với thuốc.
- Mỗi cơ sở nên chọn 10 gia súc nhiễm để kiểm tra.
- Lấy phân trực tiếp trước khi cho uống thuốc và ở ngày 10 hoặc 14 sau khi cho uống thuốc và nuôi cấy trứng.
- Số lượng trứng giảm trên 85% coi như không có sự đề kháng. Nếu dưới 85% có sự đề kháng.
- Thuốc chọn cho từng loại giun sán là thuốc quy định. Ví dụ đối với *Haemonchus contortus* ở cừu, thuốc sử dụng phải là Benzimidazole (BZ) và Thiabendazole (TBZ).
- Kết quả đếm trứng lần sau và nuôi ấu trùng so với kết quả đếm trứng lần trước sẽ khẳng định được kết quả.

a) Phương pháp M.c.Master:

- Cân 2 grams hoặc 3 grams phân cho vào bình.
- Cho thêm nước muối NaCl bão hòa, hoặc $MgSO_4$ cho đến vạch 25 ml hoặc 45 ml
- Trộn đều bằng thìa thủy tinh hay bi.
- Có thể lọc qua lưới lọc có kích cỡ 16 - 36 lỗ/cm²
- Dùng pipet hút dung dịch.
- Chuyển sang hai chamber của buồng đếm Master.
- Đếm 1 hoặc 2 buồng theo qui luật đếm 2 cạnh.
- Để 5 phút kiểm tra đếm trứng và tính kết quả.

Cách 1 : Dùng 2 grams phân.

- Số trứng đếm được là X (đã biết).
- Dung tích chamber là 0,5 cm³ (0,5 ml)
- Số trứng đếm được trong 1 grams phân là Y

$$Y = \frac{25 \times X}{0,5 \times 2} = 25X$$

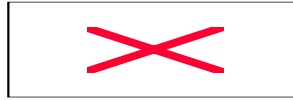
Cách 2 : Dùng 3 grams phân.

- Số trứng đếm được là X (đã biết).
- Dung tích chamber là 0,15 cm³
- Số trứng có trong 1 grams phân là Y.

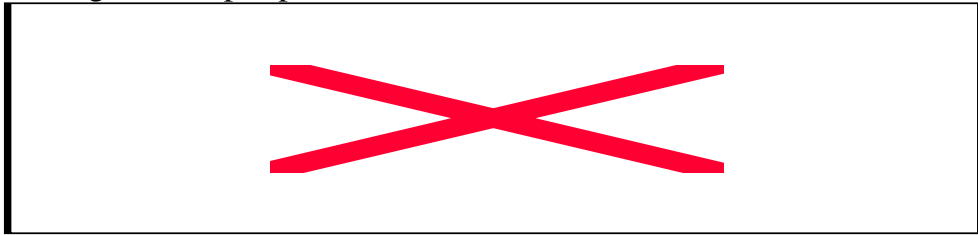
$$Y = \frac{45 \times X}{0,15 \times 3} = 100X$$

b) Cách tính kết quả:

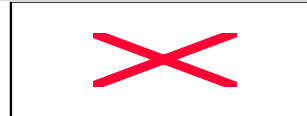
- Số lượng trứng trung bình.



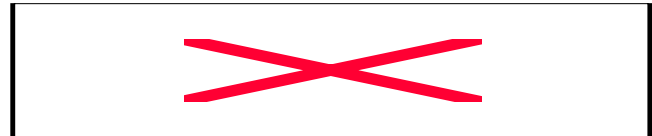
- Phương sai của phép đếm:



- Tỷ lệ % giảm :



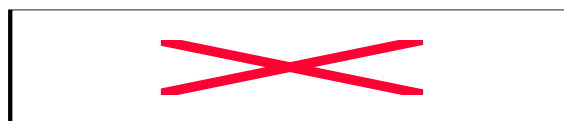
- Phương sai của sự giảm:



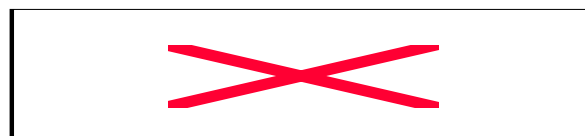
- Độ tin cậy 95%



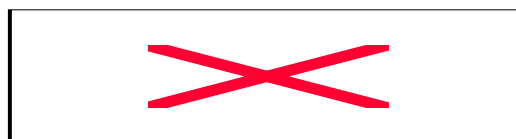
- Giới hạn độ tin cậy thấp nhất:



- Giới hạn độ tin cậy cao nhất:



hoặc :



c) Kiểm tra trên sự nở của trứng:

Benzimidazole là thuốc tẩy giun sán, chống lại sự phát triển của phôi bào và sự nở của trứng. Tính chất này được dùng để kiểm tra sự đề kháng (Le Jambre, 1976). Trứng được chọn trực tiếp từ phân tươi và để ủ ấm trong các nồng độ của Benzimidazole.

- Chuẩn bị thuốc:
 - Hòa tan 8mg thuốc Thiabendazole tinh chất trong 5 ml Dimethyl sulfoxide (DMSO) hòa tan trong 1 lít nước 0,1% sodium chloride (0,017 mol/l) dung dịch gốc.
 - Tạo dung dịch pha loãng (TBZ) nồng độ từ 3,0 tới 0.007 microgam/lít. Sử dụng độ pha loãng tiêu chuẩn 5 microlit/ml dung dịch gốc với 0,1% NaCl.
 - Dùng pipét hút 1 ml dung dịch (TBZ) đã pha loãng vào 25 ô của đĩa petri.
- Cách thu hồi trứng :
 - Lấy 50 gam phân từ trực tràng của gia súc thử nghiệm.
 - Tiến hành kiểm tra ngay không để lạnh.
 - Trộn phân với nước thành dạng sền sệt.
 - Lọc qua rây lọc hay lưới lọc.
 - Rửa nước sền sệt này bằng 1 lít nước muối bão hòa.
 - Vớt bỏ hoặc rửa rây lọc.
 - Để mẫu lên khay.
 - Giữ lạnh ở 4°C trong 15 -20 phút sau đó cho cặn trứng vào cylinder 250ml,
 - Cho nước lạnh vào cho tới vạch và để 4°C trong 90 phút,
 - Gạn lớp nước ở trên cho vào bình khối lượng 50ml cho vào ống ly tâm 200 ngàn vòng/phút trong 5 phút,
 - Tập trung độ 200 trứng/0,1ml cho 0,1ml này vào bình có chứa 1ml dung dịch (TBZ),
 - Để ở nồng độ 22°C trong 48 giờ, nhỏ vào một vài giọt dung dịch iodine đậm đặc.
 - Đếm trứng và giai đoạn đầu của ấu trùng dưới độ phóng đại 40 lần, đếm cả 2 đầu.
 - Tính tỷ lệ nở.

PHÂN TÍCH KẾT QUẢ VÀ TÍNH TOÁN

Phần trứng bị giết bởi (TBZ) được tính toán theo công thức của Abbott. Tổng số trứng bị giết (P') so với số trứng chết trong nhóm đối chứng (C) bởi công thức :

$$P = \frac{P - C}{1 - C} \quad (\text{Finney, 1971})$$

Sự gây chết 50% số trứng (LC_{50}).

Tỷ lệ đề kháng $RR = \exp (\log LC_{50} \text{ loài kiểm tra} - \log LC_{50} \text{ loài mẫn cảm})$.

Tỷ lệ đề kháng = $\text{Exp} [\log (RR) \pm 2(S_1^2 + S_2^2)]$

S_1^2 và S_2^2 là phương sai.

d) Thử nghiệm tại lò mổ và cho uống thuốc :

- Chọn cừu non có thể ít hơn 7 tháng tuổi
- Thuốc thử nên dùng 3 liều khác nhau trên một loại thuốc.
- Mổ gia súc ở ngày 7, 10 hoặc 14 sau khi uống thuốc.
- Theo dõi phân để tìm giun sán sau khi cho uống thuốc
- Chọn các cơ quan riêng biệt của đường tiêu hóa và đếm hết số giun.

TÍNH TOÁN KẾT QUẢ :

- Tính hiệu quả % cho mỗi loại thuốc, mỗi liều thuốc, so sánh số lượng giun sán ở liều sử dụng với nhóm đối chứng,
- Vẽ đường đề kháng của liều sử dụng,
- So sánh đường này với đường đề kháng cùng một loại thuốc và cùng liều sử dụng,
- Sự thay đổi góc giữa hai đường nếu có ý nghĩa là sự đề kháng.

3. Các biện pháp đề phòng sự kháng thuốc :

- Dùng thuốc phổ kháng hẹp,
- Kết hợp thuốc để làm giảm sự đề kháng,
- Luân phiên thuốc. Không luân phiên thuốc cùng cơ chế tác động,
- Dùng đúng liều và dùng thuốc có hiệu quả cao,
- Dùng nồng độ cao ngay từ đầu,
- Ngưng dùng những loại thuốc ký sinh đã đề kháng,
- Chọn giải pháp điều trị thích hợp,
- Tạo cho đàn không nhiễm ký sinh nhiều,
- Tạo sức đề kháng cho đàn
- Chăm sóc nuôi dưỡng tốt,
- Sử dụng các biện pháp sinh học diệt ký sinh.
- Luân phiên chăn thả, vệ sinh đồng cỏ v.v...
- Trong thực tế các loài giun sán đã đề kháng với Piperazine, Levamisole,

Benzimidazole, Dipterex, Mebendazole v.v... Sự tồn đọng lâu dài của các loại thuốc Pyrethroid, Bioresmethrin làm tăng sự đề kháng của công trùng. Ngoài ra côn trùng còn đề kháng với Diazinon, Pyrethroate, Trichlorfon, Malathion, Dieldrin, Permethrin, Dichlorvos v.v...

VII. CÁC DẠNG VẬT CHỦ VÀ TÁC ĐỘNG CỦA VẬT CHỦ TỚI KÝ SINH VẬT :

1. Các dạng vật chủ :

a) Vật chủ cuối cùng (Final (definitive) host) :

Là vật chủ mà giai đoạn trưởng thành của ký sinh xảy ra. Ký sinh tiến hành sinh sản và gây bệnh, ví dụ trâu bò là vật chủ cuối cùng của *Fasciola gigantica* và *F. hepatica*.

b) Vật chủ trung gian (Intermediate host) :

Là vật chủ mà rất nhiều các giai đoạn ấu trùng tồn tại và phát triển. Ví dụ như ốc là vật chủ trung gian của sán lá. Heo là vật chủ trung gian của *Taenia solium*, giun đất *Eisenia foetida* là vật chủ trung gian của *Metastrongylus*.

c) Vật chủ tạm thời (Paratenic (temporary) host):

Là vật chủ mà giai đoạn ấu trùng phát triển không phải là sự hiển nhiên trong quá trình sống. Ấu trùng không phát triển sinh trưởng và lột xác. Ví dụ như: cá, ếch, nhái, bò sát là vật chủ tạm thời của giun *Ascarops dentata*; *A. strongylina* và *Gnathostoma hispidium*.

d) Vật chủ ngẫu nhiên (Accidental host):

Là vật chủ mà sự di hành của ấu trùng trong cơ thể không phải là thường xuyên. Ngoài ra còn có nhiều vật chủ khác như vật chủ bảo tồn, vật chủ bổ xung, vật chủ chuyên tính, vật chủ kiêm tính.

2. Sự ảnh hưởng của vật chủ tới ký sinh:

- Ngăn ngừa sự xâm nhiễm lần sau.
- Ngăn cản sự sinh trưởng và phát dục của ký sinh.
- Ảnh hưởng đến hình thái và cấu tạo.
- Giảm khả năng đẻ trứng.
- Nhanh loại thải ký sinh.
- Hạn chế sự tấn công của côn trùng các lần sau.

VIII. MIỄN DỊCH :

Cũng như miễn dịch chống vi khuẩn và virus, miễn dịch trong ký sinh nhằm chống lại các dạng các giai đoạn sống tự do, sống trong tế bào, các giai đoạn ấu trùng hay trưởng thành. Khả năng miễn dịch của ký sinh khác với khả năng miễn dịch chống vi khuẩn và virus. Miễn dịch của ký sinh là miễn dịch đa tế bào, miễn dịch theo giai đoạn, miễn dịch mang trùng do vậy khả năng bảo hộ không chắc chắn, miễn dịch ngăn không có ý nghĩa bảo vệ. Miễn dịch gồm mấy dạng sau đây :

1. Miễn dịch thu được (Acquired immunity) :

Là trạng thái miễn dịch của cơ thể chống lại ký sinh hay vật lạ được hình thành trong quá trình sống.

2. Miễn dịch bị động (Passive immunity) :

Là trạng thái miễn dịch mà cơ thể vật chủ không sản sinh được, phải đưa kháng thể hoặc miễn dịch từ bên ngoài vào.

3. Miễn dịch mang trùng (Premunition immunity) :

Là trạng thái miễn dịch yêu cầu có sự hiện diện của ký sinh.

4. Miễn dịch không mang trùng (Sterile immunity) :

Là trạng thái miễn dịch của cơ thể khi ký sinh đã bị đẩy ra ngoài. Chỉ một số ít bệnh ký sinh có trạng thái miễn dịch này nhưng khả năng miễn dịch ngắn.

5. Miễn dịch đặc hiệu (Specificity immunity) :

Là trạng thái miễn dịch chống lại một loài hay một giai đoạn đặc biệt trong quá trình sống. Giai đoạn xâm nhiễm vào tổ chức kích thích cao hơn so với dạng trưởng thành cư trú ở vị trí thích hợp. Liều thấp ký sinh gây kích thích, liều cao gây chết gia súc.

A. MIỄN DỊCH ĐỐI VỚI PROTOZOA:

1. Cơ chế của sự đề kháng :

a) Cơ chế của sự bảo vệ không miễn dịch :

Cơ chế này được nghiên cứu chưa đầy đủ nhưng cũng giống với cơ chế đối với vi khuẩn, virus. Những loại *Trypanosoma lewisi* ở chuột cống, *T. musculi* ở chuột nhắt ký sinh nhưng không gây bệnh. Những loài như *T. brucei*; *T. congolense*; *T. vivax* không gây bệnh cho động vật hoang dại nhưng gây bệnh nặng cho trâu bò. Các loài *Eimeria* lại có tính đặc hiệu với vật chủ. dạng *Tachyzoite* lại có thể nhiễm ở bất cứ động vật nào. Sự khác nhau này là do tính di truyền của ký sinh, có thể do khả năng miễn dịch của vật chủ. Những người có HbS có khả năng phòng bệnh *Plasmodium falciparum* do HbS tiêu diệt được ký sinh.

b) Miễn dịch đặc hiệu với Protozoa :

Protozoa kích thích cơ thể có phản ứng thể dịch và phản ứng trung gian tế bào. Kháng thể không chế ký sinh trong máu và trong dịch tổ chức, miễn dịch trung gian tế bào sẽ tác động trực tiếp lên ký sinh ở trong tế bào.

Kháng thể trong huyết thanh trực tiếp chống lại kháng nguyên bề mặt của Protozoa, có thể Opsonin hóa, ngưng kết hoặc làm ngưng chuyển động của Protozoa. Kháng thể cùng với bổ thể tế bào độc có thể giết Protozoa. Một số kháng thể (gọi là Ablastin) tác động ngăn trở enzyme của *Protozoa* do vậy sự sinh sản bị ngăn chặn. Trong bệnh *Trichomonas foetus* và *T. vaginalis* đáp ứng kháng thể cục bộ kích thích sản sinh IgE làm tăng tính thấm của màng tế bào làm cho IgG di chuyển tới ký sinh làm ngưng chuyển động và loại bỏ ký sinh.

Khi gia súc nhiễm *Babesia*, giai đoạn gây nhiễm *Sporozoite* xâm nhập vào hồng cầu, hồng cầu bị nhiễm kết hợp với kháng nguyên của *Babesia* thành màng tế bào của hồng cầu, sẽ kích thích cơ thể tạo kháng thể chống lại hồng cầu làm cho nó mau bị loại thải, hoặc do một đáp ứng trung gian tế bào cũng loại thải hồng cầu. Phức hợp kháng nguyên kháng thể trên bề mặt của hồng cầu nhiễm được nhận biết bởi 2 tế bào cảm ứng Macrophage và tế bào Lymphocyte độc. Tế bào Lymphocyte quan trọng trong giai đoạn đầu khi số lượng hồng cầu nhiễm còn ít.

Toxoplasma gondii dạng *Tachyzoite* ký sinh trong tế bào khi số lượng mầm bệnh quá lớn, tế bào bị vỡ ra mầm bệnh được giải phóng và lại xâm nhập vào tế

bào khác khi *Tachyzoite* xâm nhập vào *Macrophage* nó không bị phá hủy. Quá trình bình thường của đại thực bào một vật được chuyển tới Phagosome được Lysosome chuyển tới Cytoplasm và enzyme thủy phân thành những chỗ trống xung quanh vật lạ. Điều này không xảy ra ở tế bào đại thực bào *Toxoplasma*. Lysosome chuyển tới Phagosome nhưng nó không gắn với Phagosome, như vậy nó có thể phát triển trong một tế bào trong một môi trường không có kháng thể hay Lysosome.

Bình thường cả hai đáp ứng miễn dịch dịch thể và trung gian tế bào xảy ra sau khi nhiễm. Kháng thể kết hợp với bề mặt loại bỏ ký sinh trong dịch tự do của cơ thể, do vậy làm giảm sự lây nhiễm qua các tế bào khác, nhưng nó có ảnh hưởng nhỏ hoặc không ảnh hưởng tới dạng ở trong tế bào. Những ký sinh ở trong tế bào bị phá hủy qua miễn dịch trung gian tế bào. Tế bào nhạy cảm Lympho T phóng thích γ -interferon trong đáp ứng tới Ribonucleo-protein của *Toxoplasma* γ -interferon tác động lên *Macrophage* trước tiên tạo cho *Macrophage* đề kháng với khả năng gây chết của *Toxoplasma* sau đó giúp đỡ *Macrophage* giết ký sinh trong tế bào bởi sự cho phép kết nối Lysosome và Phagosome. Một số Lympho T phóng thích các yếu tố can thiệp trực tiếp tới sự sao chép của *Toxoplasma*. Bên cạnh đó những tế bào độc T có thể phá hủy *Tachyzoite* của *Toxoplasma* và những tế bào nhiễm *Toxoplasma*. Đáp ứng miễn dịch trung gian tế bào loại bỏ giai đoạn *Tachyzoite*. Tuy nhiên *Toxoplasma gondii* có thể tồn tại trong tế bào độc tố. Sự tạo Cyst trong tế bào trong ruột, quá trình nhiễm không kích thích tạo miễn dịch và không kích thích đáp ứng viêm.

Trong bệnh do *Theileria parva* (East Coast Fever) của trâu bò có trạng thái miễn dịch chắc chắn. Sporozoite thích xâm nhập vào Lymphocyte mặc dù chúng có thể xâm nhập vào cả *Macrophage* và Monocyte. Giai đoạn Schizont phát triển trong Lymphocyte chuyển thành dạng tế bào Lymphoblast. Tế bào độc tố Lympho T có thể tiêu diệt Lymphoblast.

Cơ chế miễn dịch trung gian tế bào ở những Protozoa khác thì ít ỏi mặc dù *Histomonas* có sự đề kháng ngăn tới sự tái nhiễm. Sự miễn dịch này không truyền qua huyết thanh.

Trong bệnh Coccidiosis, cơ chế bảo không rõ nhưng gà có trạng thái miễn dịch với *Eimeria maxima* có thể ngăn ngừa sự tái nhiễm và bội nhiễm. Đáp ứng miễn dịch này ngăn trở sự sinh trưởng của Trophozoite, giai đoạn xâm nhiễm lớn nhất trong biểu mô ruột. Kháng thể chống *E. maxima* được giữ trong huyết thanh của gà miễn dịch, tế bào Phagocytic có thể tăng khả năng tấn công Sporocyst. Sự miễn dịch ở ruột non tới Coccidiosis ở gia cầm cũng được quan sát. *Toxoplasma* ở cừu và mèo đều kích thích khả năng sinh miễn dịch. Sự miễn dịch này sẽ hạn chế số lượng Oocyst và Sporocyst thải ra.

Nhiều loài Protozoa khác có khả năng tương đồng hoặc cộng hưởng miễn dịch. Miễn dịch này chỉ có hiệu quả khi ký sinh tồn tại trong cơ thể vật chủ.

2. Sự tránh né đáp ứng miễn dịch của Protozoa :

Những ký sinh quan trọng nhất có cơ chế tránh né đáp ứng miễn dịch của vật chủ là một số nguyên bào như *Toxoplasma gondii* tránh né một cách thành công sự tấn công của Neutrophil và Phagocytosis. Nhiều loài ký sinh hạn chế miễn dịch một cách hiệu quả nhưng kiểu tác động của nó chưa rõ. Có ý kiến cho rằng *Trypanosoma* kích thích sự phát triển của tế bào kìm hãm, ý kiến khác cho rằng chúng kích thích hệ thống tế bào Lympho B làm yếu tố của tế bào này, trong khi đó một vài người cho rằng chúng phóng thích các yếu tố kìm hãm miễn dịch.

Sự giảm miễn dịch do hai cách, trước tiên là trở nên giảm hay không có tính kháng nguyên, sau đó chúng có khả năng sửa đổi kháng nguyên bề mặt. Sự giảm tính chất kháng nguyên là khả năng tạo Cyst và phủ lên bề mặt cơ thể một lớp protein của gia súc. *Trypanosoma theileri* và *T. lewisi* ở chuột cả hai không gây bệnh, chúng có thể tồn tại trong máu của động vật vì chúng phủ lên mình một lớp protein huyết thanh của vật chủ do vậy chúng không phải là vật lạ. *T. brucei* là loài gây bệnh ở trâu bò có thể hấp thu protein huyết thanh của vật chủ hay kháng nguyên của hồng cầu do vậy chúng trở nên không có tính kháng nguyên. *Trypanosoma* đổi kháng nguyên rất mạnh, mỗi một đợt sốt là một đợt đổi kháng nguyên.

Sự biến đổi kháng nguyên tạo thành lớp vỏ dày phủ lên bề mặt của *Trypanosoma* khi quá trình đổi kháng nguyên xảy ra, protein trong lớp áo cũ bị thải trừ và thay thế bằng một lớp protein khác. *Trypanosoma* có một số lượng lớn gen cho sự hình thành lớp vỏ và sự thay đổi kháng nguyên xảy ra như là kết quả của sự hình thành và lựa chọn gen một cách tự phát.

Sự thay đổi kháng nguyên này cũng xảy ra ở *Babesia* và *Malaria*. Sự tạo Cyst ở *Toxoplasma* và *Cryptosporidium* tạo nên hiện tượng tránh né miễn dịch, chúng có khả năng đổi sang dạng hoạt động hơn và gây ra bệnh trầm trọng. Những bệnh này âm thầm và ít phổ biến do vậy dễ nhầm lẫn cho khối u hoặc bệnh AIDS.

3. Hậu quả trái ngược của đáp ứng miễn dịch chống Protozoa :

- Tăng sự miễn dịch cục bộ đã được đề cập ở *Trichomonas* gây kích thích và viêm cục bộ trong cơ quan sinh dục.
- Phản ứng tế bào độc cộng tác với sự thiếu máu thường có ở Babesiosis và Trypanosomiasis. Trong Babesiosis ký sinh mang theo kháng nguyên trong hồng cầu, do vậy hồng cầu như là một vật lạ kích thích hệ thống thực bào miễn dịch phân giải tế bào. Những mảnh vỡ của *Trypanosoma* tạo thành phức hợp miễn dịch gắn với hồng cầu, kích thích sự loại trừ miễn dịch và gây thiếu máu. Trong nhiều trường hợp sự tạo thành miễn dịch phức hợp có thể dẫn đến viêm mạch máu và viêm tiểu cầu thận. Phức hợp này sẽ tham gia vào quá trình gây chết động vật.

4. Vaccine chống Protozoa :

Vaccine chống Protozoa ở gia súc còn hạn chế. Các loài thuộc giống *Babesia* phụ thuộc vào di truyền và tuổi của gia súc. Những gia súc mắc *Babesia*

ở dạng cấp tính thì có sức đề kháng với sự nhiễm lần sau. Gia súc non bị nhiễm và trở nên có sức đề kháng và ít mắc cảm. Trạng thái miễn nhiễm được hình thành khi gây nhiễm cho gia súc sau đó điều trị ngay. Sự truyền máu từ gia súc này cho gia súc khác cũng tạo ra một sức đề kháng nhưng tạo ra kháng thể chống lại hồng cầu. Trâu bò có sức miễn dịch với *Theileria parva* khi tiêm Sporozoite cho trâu bò sau đó điều trị bằng Tetracycline. Ở gia cầm chỉ khi nào nhiễm *Eimeria* mới tạo thành trạng thái miễn dịch bảo vệ, do vậy cung cấp một lượng nhỏ liên tục Oocyst có thể tạo ra trạng thái bảo vệ. Oocyst có thể được chiếu phóng xạ. Khó có thể có vaccine chống lại Protozoa tuy nhiên có thể có vaccine cho mèo sẽ ngăn cản quá trình tạo Oocyst. Vaccine chống Protozoa hiện nay có xu hướng dùng vaccine chống vi khuẩn (ví dụ như ở *Eimeria* ở gà).

B. MIỄN DỊCH CHỐNG GIUN SÁN :

Không có trạng thái miễn dịch tuyệt đối với giun sán ở gia súc. Kháng thể IgE có ý nghĩa lớn trong việc kiểm soát khống chế giun sán.

1. Cơ chế của sự đề kháng với giun sán :

a) Cơ chế bảo vệ không miễn dịch :

Có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến sự miễn dịch hay đề kháng chống giun sán, những yếu tố này không chỉ phụ thuộc vào vật chủ mà còn phụ thuộc vào loài, số lượng và quần thể ký sinh. Trong cơ thể vật chủ sự cạnh tranh giữa các loài luôn luôn xảy ra. Trong các bệnh sán dây, sự hiện diện của sán dây trưởng thành trong ruột non trì hoãn sự phát triển các giai đoạn phát triển của ấu trùng trong tổ chức. Bê nghé nhiễm *Cysticercus bovis* sẽ đề kháng với sự tái nhiễm. Khi cừu con nhiễm *Echinococcus granulosus* sẽ hạn chế sự phát triển của trứng thành ấu trùng trong cơ thể. Sự cạnh tranh giữa các loài giun sán về cư trú và dinh dưỡng tạo ra sự kiểm soát quần thể giun sán.

Những yếu tố có nguồn gốc từ vật chủ là tuổi, dinh dưỡng, giới tính, loài vật chủ, trạng thái, sức khỏe có ảnh hưởng đến sự nhiễm giun sán. Sự ảnh hưởng về giới tính và một phần về tuổi tới sự nhiễm giun sán là do hormone. Những động vật có chu kỳ sinh dục theo mùa, ký sinh sẽ phát triển mạnh theo chu kỳ của vật chủ. Cừu có HbA có sức đề kháng tốt hơn với việc nhiễm *Haemonchus contortus* và *Ostertagia circumcincta* so với cừu có HbB. Cơ chế này chưa rõ. Những cừu có HbA có phản ứng tự đề kháng và đáp ứng miễn dịch tốt hơn.

b) Miễn dịch đặc hiệu với giun sán:

(1) Cơ chế dịch thể :

Trong cơ thể giun sán tồn tại ở dạng trưởng thành và ấu trùng, mỗi giai đoạn có khả năng miễn dịch khác nhau. Mặc dù các kháng thể IgM, IgG, IgA được hình thành chống lại kháng nguyên của giun sán nhưng IgE có ý nghĩa hơn cả. Các bệnh Oesophagostomiasis, Ancylostomiasis, Strongyloidiasis, Taeniasis và Fascioliasis thường gây hiện tượng quá mẫn với kháng nguyên của giun sán. Nhiều kháng nguyên của giun sán kích thích hình thành IgE do vậy những

người điều tra, những người cầm giun sán bằng tay thường xuyên có thể trở nên tăng nhạy cảm với kháng nguyên của giun sán.

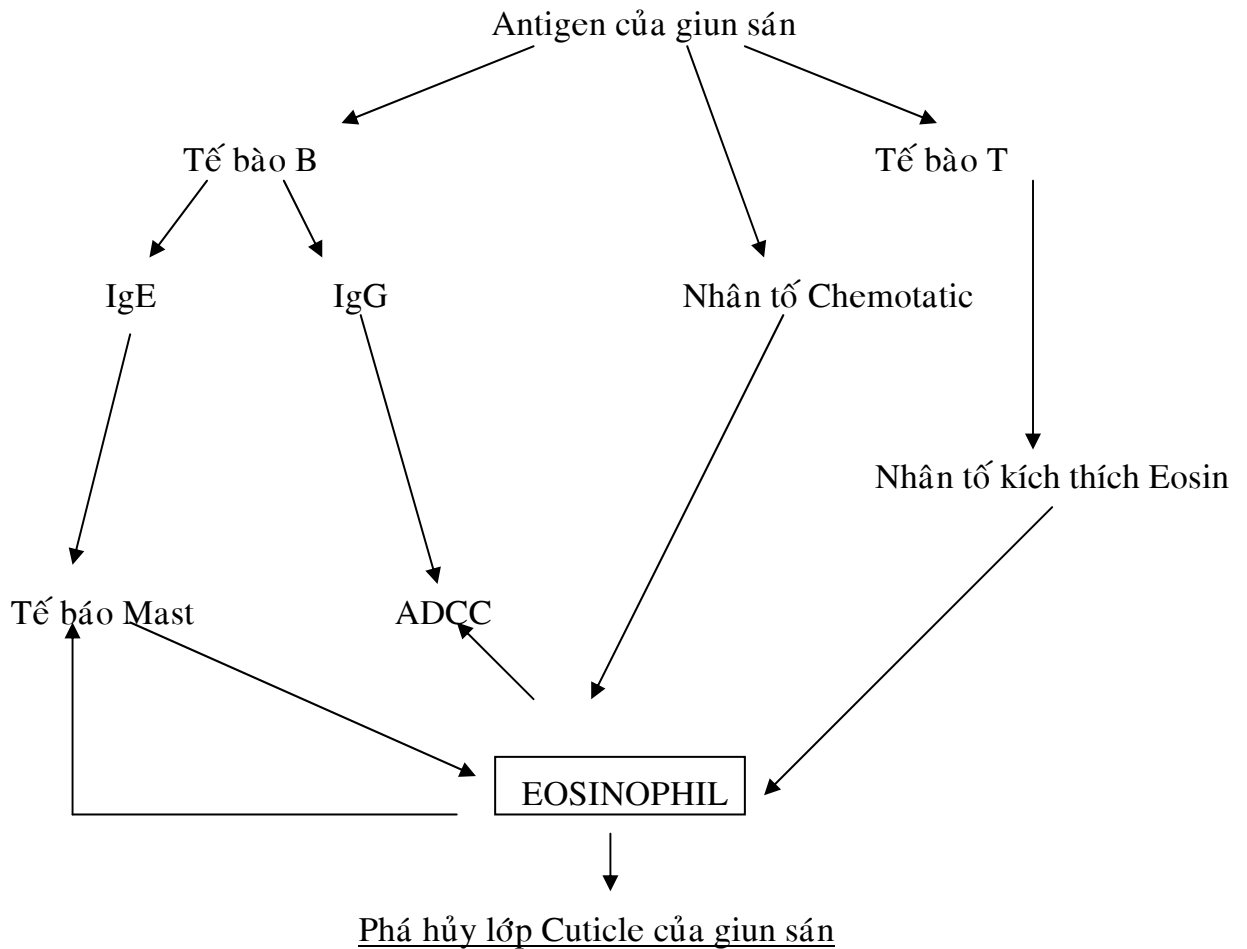
IgE và phản ứng dị ứng gây cho cơ thể một sự phiền toái nhưng rất có lợi cho việc khống chế giun sán. Sự kết hợp giữa kháng nguyên giun sán với IgE gắn chặt với tế bào.

Tế bào Mast phóng thích amine hoạt hóa thành mạch. Hợp chất này kích thích cơ trơn tăng cử động góp phần đẩy giun ra ngoài.

Macrophage, Platelet và Eosinophil cũng có cơ quan nhận cảm IgE. Những tế bào này có thể tăng tính mẫn cảm với IgE và sẽ gắn chặt với ký sinh. Macrophage gắn với ấu trùng giun sán thông qua IgE làm tăng men Lysosome, tăng phóng thích Oxygen hoạt tính và các nhân tố Interleukin I, Leukotrine, Prostaglandin và các nhân tố hoạt hóa Platelet do đó nâng cao hiệu quả diệt giun sán.

Eosinophil tấn công tới chỗ định vị của giun sán bởi E.E.F.A (Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis), giải phóng hạt tế bào Mast. Những nhân tố hoạt động này kích thích cơ thể phóng thích một số lượng lớn Eosinophil vào vòng tuần hoàn do vậy hiện tượng tăng Eosinophli thường thấy trong khi nhiễm ký sinh. Chúng tới chỗ định vị của ấu trùng giun sán tấn công ấu trùng bởi IgE và IgG phóng thích những thành phần trong hạt tới lớp Cuticle của giun sán.

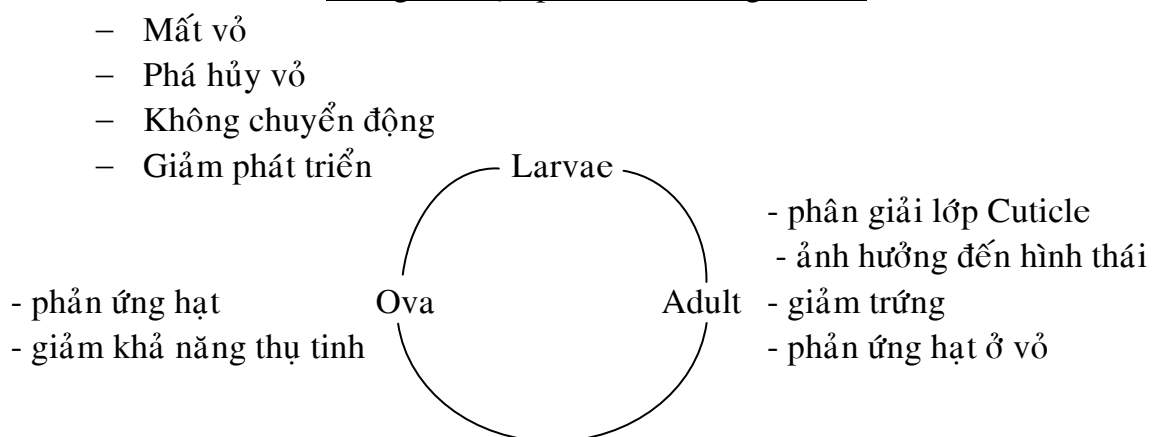
Sơ đồ tác động giữa Eosinophil và các bộ phận khác của hệ thống miễn dịch trong việc phá hủy lớp Cuticle của giun sán.



Thành phần của hạt Eosinophil

Prtein cơ bản	Lysophospholipase
Eosinophil cationic protein	Acid phosphatase
Eosinophil peroxydase	Collagenase
Aryl sulfatase B	Histaminase
Phospholipase D	Kinase

Một vài hiệu quả của đáp ứng miễn dịch tới các giai đoạn phát triển của giun sán



Protein cơ bản của hạt có thể gây hại trực tiếp đến lớp Cuticle và kích thích sự bám chặt của Eosinophil. Hiệu quả diệt giun sán của Eosinophil được nâng cao bởi các nhân tố của tế bào Mast nguồn, của histamine, của chất bổ trợ, của các nhân tố xuất phát từ tế bào T Lymphocyte và Macrophage. Phản ứng Eosinophil có ý nghĩa cao trong việc đề kháng với bệnh giun sán. Lỗ hậu môn và miệng của larvae bị vít bởi một chất tổng hợp miễn dịch như là kháng thể kết hợp với các chất tiêu hóa và bài tiết. Việc ngăn chặn sự phát triển của ấu trùng được thực hiện do một kháng thể trực tiếp chống lại Antigen của vỏ bọc bên ngoài. Một số enzyme khác có thể chặn hoặc chống giun sán trưởng thành gây ra giảm đẻ trứng hoặc chuyển hóa chậm trong quá trình phát triển. Con cái *Ostertagia ostertagi*, đuôi phát triển thành nắp âm hộ khi phát triển trong bê có miễn dịch. Spicule của *Cooperia* bị sửa đổi.

(1) Cơ chế trung gian tế bào:

Tế bào nhạy cảm Lymphocyte T có thể tấn công giun sán, nó gắn chặt trong cơ ruột hoặc di chuyển dọc theo các giai đoạn của ấu trùng trong tổ chức. Những vị trí giun sán ký sinh Lymphocyte thường tập trung nhiều hơn. Miễn dịch trung gian tế bào tham gia vào việc ngăn chặn giun sán. Khi cừu nhiễm *H. contortus*, Lymphocyte sẽ phóng thích nhân tố MIF và tạo thành Blastogenesis trong đáp ứng với kháng nguyên của giun sán. Tế bào nhạy cảm Lympho T làm giảm sự hoạt động của giun sán bằng 2 cơ chế.

- Trước tiên tăng cường sự phát triển của phản ứng viêm, làm giảm tính quá mẫn của tế bào đơn nhân tới chỗ ấu trùng xâm nhập đến môi trường cục bộ không thích hợp cho sự phát triển và di hành.

- Sau đó Lymphocyte có khả năng hủy hoại ấu trùng xung quanh ấu trùng hoặc Cyst chứa đầy những Lymphocyte lớn.

2. Sự tránh né đáp ứng miễn dịch của giun sán :

Những ấu trùng hoặc *Cysticerci* có khả năng tồn tại một cách lâu dài trong vật chủ, chúng có những cơ chế thích ứng. Những cơ chế này bao gồm:

- ❖ Sự bất chức kháng nguyên vật chủ
- ❖ Sự hấp thu kháng nguyên
- ❖ Sự biến đổi kháng nguyên
- ❖ Sự bài xuất Glycocalyx
- ❖ Ngăn chặn kháng thể của vật chủ
- ❖ Tăng sự chịu đựng

Thứ nhất : giun sán có thể tổng hợp những tế bào thích hợp hay kháng nguyên nhóm máu để thích ứng với cơ chế miễn dịch của vật chủ. Chúng không thể tổng hợp được hết loại kháng nguyên của vật chủ mà tổng hợp hay bất chức từng phần kháng nguyên của vật chủ. Cừu đáp ứng ít hơn với kháng nguyên của *Haemonchus contortus* hơn là thỏ điều đó cho thấy *H. contortus* duy trì kháng nguyên tương tự với cừu - vật chủ của nó tốt hơn so với thỏ. Nhiều Trematoda và

Cestoda có khả năng tổng hợp kháng nguyên nhóm máu do vậy sẽ làm giảm tính kháng nguyên của chúng.

Thứ hai: Những giun sán trong tổ chức có thể tự bảo vệ mình tránh khỏi đáp ứng miễn dịch của vật chủ do hấp thu lớn kháng nguyên của vật chủ lên bề mặt cơ thể. Sán dây *Taenia solium* phủ lên bề mặt một lớp IgG. Lớp kháng thể này không rõ là do giun sán tổng hợp hay do cơ quan nhận cảm với IgG gắn nối với IgG của vật chủ *Cysticerci* cũng hấp thu kháng nguyên của vật chủ tương tự như vậy.

Thứ ba: Là sự thay đổi kháng nguyên, mặc dù giun sán không có khả năng thay đổi kháng nguyên có hiệu quả như là *Trypanosoma* nhưng chúng có thể thay đổi từng phần. Ấu trùng *Trichinella spiralis* có thể thay đổi kháng nguyên khi mỗi lần lột xác, nếu không lột xác sự thay đổi kháng nguyên bề mặt cũng xảy ra. Sự thay đổi kháng nguyên bề mặt có thể đồng hành với việc thải glycocalyx.

Những phản ứng khác có thể giúp thêm sự chống đỡ của giun sán là sự triệt tiêu miễn dịch *Oesophagostomum radiatum* tiết ra nhân tố hòa tan, ngăn sự đáp ứng của Lymphocyte hoặc làm triệt tiêu các tế bào đặc hiệu.

3. Vaccine chống giun sán :

Vaccine chống giun sán được sử dụng rất hạn hẹp. Việc sử dụng vaccine chết và vaccine chiết xuất từ giun sán không thành công. Khuynh hướng hiện nay dùng phóng xạ để làm giảm sự gây bệnh của ấu trùng, cho gia súc ăn sẽ làm giảm tỷ lệ nhiễm giun sán.

Dùng *Adolescaria* hoặc *Metacercaria* của *Fasciola hepatica* chiếu phóng xạ cho bê ăn sẽ làm giảm tỷ lệ nhiễm *F.hepatica*, những loại vaccine của *Ascaridia galli* và *Ascaris suum* cũng được sử dụng theo phương pháp này. Vaccine chống *Dictyocaulus viviparus* và *D.filaria* dùng larvae II chiếu phóng xạ 40.000 R cho bê nghé ăn 2 liều. Larvae di hành trong ruột từ đó chúng không thể phát triển thành larvae III không đến được phổi và không gây bệnh. Trong quá trình đó lớp vỏ ngoài kích thích sự hình thành kháng thể ở vật chủ và có tác dụng ngăn chặn sự tái nhiễm lần sau. Hiệu quả của vaccine này phụ thuộc nhiều yếu tố và có những mặt hạn chế của nó.

Một loại vaccine khác cũng được sử dụng để bảo vệ chó con nhiễm giun móc *Ancylostoma caninum*. Ấu trùng được chiếu phóng xạ cho chó con 3 ngày tuổi ăn sẽ tạo được miễn dịch. Sự xuất hiện kháng thể thụ động ở chó mẹ không truyền cho chó con.

B. MIỄN DỊCH CHỐNG ARTHROPODA:

Khi côn trùng hút máu trong tuyến nước bọt có chứa antigen sẽ hình thành đáp ứng miễn dịch. Thành phần của tuyến nước bọt của một vài loài có trọng lượng phân tử thấp không giữ vai trò chức năng của một kháng nguyên tuy nhiên chúng có thể liên kết với protein của da tạo thành Collagen và khi đó chức năng của nó như một hapten sẽ kích thích hình thành đáp ứng miễn dịch. Những thành

phần khác của tuyến nước bọt sẽ kết nối với các tế bào Langerhans biểu bì tạo nên sự tăng nhạy cảm của Basophil ở da, một đáp ứng có liên quan đến kháng thể IgG và gây nên sự thoát mạch của Basophil. Nếu Basophil bị phá hủy bởi huyết thanh chống Basophil khi đó sức đề kháng với vết cắt côn trùng sẽ giảm.

Đáp ứng IgE sẽ tạo ra phản ứng viêm cấp ở da và gây ra những điều không thuận lợi tới sự cắn hút của côn trùng. Các đáp ứng này giúp cho gia súc ít mẫn cảm với sự tấn công của Arthropoda.

1. Mò Demodex :

D. folliculorum ký sinh trong nang lông và tuyến nhờn gây bệnh cho gia súc và người. Những phản ứng xung quanh mò bị vỡ sẽ rỉ ra cùng với một số tế bào đơn nhân và nguyên sinh chất tế bào, tạo ra những nốt viêm da gây ra phản ứng như là đối với vật lạ. Những nhân tố gây giảm miễn dịch như Antilymphocyte huyết thanh, Azathioprine và điều trị Steroid kéo dài dẫn đến gia súc dễ nhiễm và không khỏi bệnh, làm cho lượng Phytohemagglutinin và Concanavalin A giảm thấp.

2. Viêm da do bọt chết cắn :

Bọt chết cắn tiết nước bọt vào trong vết thương da. Nước bọt của bọt chết có trọng lượng phân tử thấp nhưng tác động như một haptens bởi sự liên kết với Collagens biểu bì và gây ra sự thoát mạch của Eosinophil.

3. Nhiễm ve :

Số lượng ve ký sinh ở gia súc không có sức đề kháng thường nhiều hơn ở gia súc có sức đề kháng. Sự tăng tính nhạy cảm - miễn dịch dịch thể và trung gian tế bào đã ảnh hưởng đến dinh dưỡng và chặn dòng máu tới ve do vậy giảm cung cấp thức ăn và ảnh hưởng đến sự phát triển của ve. Thí nghiệm ở heo guinea được miễn dịch cho thấy ve một vật chủ ký sinh trên heo sẽ giảm khả năng thụ tinh và giảm đẻ trứng.

C. MỘT SỐ YẾU TỐ THAM GIA VÀO QUÁ TRÌNH MIỄN DỊCH :

1. Neutrophil :

Có kích thước 12 micromet. Nhân có nhiều dạng. Trong Cytoplasma có hai loại khác nhau :

Hạt nguyên thủy gồm :

- * Myeloperoxidase
- * Lysozyme
- * Elastase
- * Cathepsin G
- * Acid hydrolase

Hạt thứ cấp gồm :

- * Lysozyme
- * Collagenase
- * Lactoferrin

Hạt nguyên thủy hay Azurophil có chứa men diệt khuẩn như Myeloperoxidase, Lysozyme, Protease trung tính, Elastase, acid hydrolase, β -glucuronidase và Cathepsin B.

Hạt thứ cấp hay hạt đặc biệt có chứa men như Lysozyme, Collagenase và Lactoferrin protein gắn chặt với sắt. Neutrophil có một cơ quan nhỏ Golgi và một số Mitochondria nhưng không có Ribosome và dạng lưới nội nguyên sinh chất thô

CHỨC NĂNG CỦA NEUTROPHIL

- Hiện tượng thực bào (Phagocytosis). Chức năng của Neutrophil là phá hủy các vật lạ thông qua quá trình thực bào. Quá trình thực bào xảy ra qua 4 giai đoạn.

- Hóa hướng động (Chemotaxis): Neutrophil di chuyển dưới ảnh hưởng trực tiếp của Gradient hóa ngoại. Sự chuyển động này được gọi là Chemotaxis. Khi nằm trong Gradient như vậy Neutrophil trở nên phân cực và di chuyển về phía chất hấp dẫn. Neutrophil gắn chặt với nhiều sản phẩm của vi khuẩn, với quá trình trao đổi acid arachidonic như là Leukotriene, với những peptid được sinh ra bởi sự hoạt hóa của hệ thống bổ thể như C5.a và với nhân tố tế bào Mast nguồn.

- Neutrophil thực bào vật lạ, nó phải gắn được với vật lạ một cách chắc chắn sau đó biến đổi để vật lạ lọt vào giữa bởi các phân tử kháng thể và chất bổ trợ C3. Neutrophil có cơ quan nhận cảm đặc biệt với kháng thể và C3 (Component) trên bề mặt của nó bởi vậy vật lạ gắn chặt vào Neutrophil.

- Cơ chế khác của Neutrophil là vật lạ bám chặt vào Neutrophil, kích thích vào màng tế bào như kết quả của sự tiếp nối giữa sợi actin và sợi myosin và được gắn vào những ống nguyên sinh chất nhỏ, sau đó vật lạ được rơi vào trong một không bào được gọi là Phagosome.

- vật lạ gắn với màng Neutrophil, hạt nguyên thủy hay Lysosome di chuyển nhỉnh qua Cytoplasma nối với Phagosome và phóng thích enzyme. Enzyme chứa trong 3 hạt có thể tiêu hóa màng vi khuẩn và giết toàn bộ vi khuẩn. Vi khuẩn Gram dương nhạy cảm và bị phá hủy nhanh hơn. E.coli tồn tại lâu hơn do lớp vỏ đề kháng với sự tác động của men. Một số khác như Brucella abortus và Listeria monocytogenes đề kháng với men Lysosome, do đó nó có thể nhân lên trong tế bào thực bào.

2. Eosophil :

Được hình thành trong tủy xương sau đó qua vòng tuần hoàn 30 phút và di chuyển vào các tổ chức và tồn tại được 12 ngày. Tỷ lệ Eosophil trong máu rất khác nhau khi gia súc bị nhiễm ký sinh thay đổi từ 2% ở chó đến 10% ở trâu bò. Eosophil ít hiệu quả so với sự thực bào. Những hạt của Eosophil có chứa Arginine giàu protein, peroxidase, lysopholipase và protein điện tích. Tất cả những chất này đều có thể diệt ấu trùng của một vài loài giun sán do làm phá vỡ lớp

Cuticle của giun sán. Eosophil bị hoạt hóa bởi những sản phẩm của T Lymphocyte.

3. Basophil :

Là những tế bào ít nhất trong máu vào khoảng 0,5% của bạch cầu. Những hạt trong nguyên sinh chất của nó bắt màu Base như Haematoxylin, Basophil có chức năng như tế bào mast làm tăng quá trình viêm tại chỗ ký sinh định vị và tăng cao khi côn trùng cắn hút máu.

a) Macrophage :

Thường có hình tròn kích thước 14 - 20 μ m . Macrophage có chứa :

- | | |
|--------------------------------|---|
| - Men : | * α - 2 macroglobulin |
| * Lysozyme | * α - 1 protease ngăn trở |
| * Protease trung tính | <u>Chức năng của Macrophage:</u> |
| * Acid hydrolase | - Trong viêm sốt : |
| - Các chất bổ trợ (Component) | * IL -1 |
| * C1, C2, C3, C4, C5, I, B, P | * Prostaglandin |
| - Transferrin | * Các yếu tố cấu thành bộ thể |
| - Fibronectin | |
| - Oxygen hoạt tính | * Oxygen trao đổi |
| - Prostanoid | - Hoạt hóa Lymphocyte |
| * Leukotriene | * IL 1 |
| * Prostaglandin | * Kháng nguyên hiện diện |
| * Platelet hoạt hóa | - Làm lành tổ chức |
| - Monokine | * Protease |
| * Interleukin 1 | * Kích thích biểu mô sợi |
| (Fibroblast) | |
| * Interferon α | |
| * Yếu tố kích thích Fibroblast | - Tiêu hủy khối u |
| - Yếu tố ngăn trở enzyme | * Protease |
| * Oxygen trao đổi | * Oxygen trao đổi |
| * T.N.F | * Protease |
| - Diệt khuẩn | |

I. PHÂN LOẠI VÀ DANH PHÁP :

1. Phân loại :

Các sinh vật cùng một loài là những sinh vật có cùng đặc tính và cùng có khả năng sinh con đẻ trứng với nhau, di truyền những đặc tính đó cho thế hệ sau. Loài là đơn vị cơ bản trong phân loại. Một số loài lại có một số đặc điểm khác nhau người ta có thể phân làm các phân loài.

Các sinh vật có mối quan hệ gần gũi và ảnh hưởng lẫn nhau. Việc nghiên cứu mối quan hệ này gọi là Systematic. Khi phân loại chúng tạo thành những nhóm tự nhiên với những đặc trưng khác nhau. Mỗi nhóm này được gọi là Taxon. Sự xếp nhóm, xếp loại và nghiên cứu những mặt sinh học được gọi là

Taxonomy. Một số cá thể có những đặc trưng của nhóm này nhưng lại thừa hoặc thiếu những đặc trưng đó một cách chung nhất do vậy được xếp vào trên dưới hệ thống phân loại có nghĩa là liên" hay "phân" đơn vị phân loại.

Việc phân loại dựa theo các khóa định loài của từng đơn vị phân loại và chủ yếu dựa vào hình dạng, kích thước, cấu tạo của các bộ phận v. v... đôi khi còn dựa vào vật chủ hoặc dựa vào sinh học. Hệ thống phân loại bao gồm :

Giới (Kingdom)

Ngành (Phylum)

Phân Ngành (Subphylum)

Liên Lớp (Superclass)

Lớp (Class)

Phân Lớp (Subclass)

Cohort

Liên Bộ (Superorder)

Bộ (Order)

Phân Bộ (Suborder)

Liên Họ (Superfamily)

Họ (Family)

Phân Họ (Subfamily)

Tộc (Trible)

Giống (Genus)

Phân Giống (Subgenus)

Liên Loài (Superspecie)

Loài (Specie)

Phân Loài (Subspecie)

2. Danh pháp :

a) Tên các lớp, bộ, họ, giống, loài phải viết đúng theo quy luật quốc tế hoặc có thể viết theo kiểu Anh hóa ở cuối từ. Ví dụ : Trichostrongyloidae đây là họ viết theo tiếng La tinh theo quy luật quốc tế. Khi viết theo kiểu Anh hóa viết Trichostrongyloid.

b) Tên của ký sinh gồm 2 chữ, hoặc 3 chữ. Tên thứ nhất là giống chữ thứ hai là loài, nếu có chữ thứ ba là phân loài. Giữa các chữ viết cách nhau một ký tự. Ký tự đầu tiên của giống phải viết hoa sau đó viết thường.

Ví dụ : Fasciola gigantica : Fasciola là giống

Gigantica là loài

Sarcoptes scabiei suis : Sarcoptes là giống

Scabiei là loài

Suis là phân loài

c) Giữa giống và loài nếu có chữ hay một ký tự in hoa được niên hiệu trong ngoặc đơn là giống phụ. Ví dụ :

Tetrameres (P) fisispina (Diesing, 1861)

(P) là giống phụ *Petrowimeres*
Tetrameres (T) *vietnamensis* Phan, 1968
(T) là giống phụ *Tetrameres*

d) Toàn bộ tên ký sinh phải viết nghiêng, nếu không viết nghiêng phải gạch chân.

e) Tên loài hay phân loài phải viết thường dù cho đó là tên của danh nhân hay tên riêng của quốc gia.

f) Khi trình bày một loài hay xếp loài đó trong bảng định loại phải viết tên ký sinh đầy đủ như trên kèm theo tên tác giả đã phát hiện và năm phát hiện. Có 2 trường hợp xảy ra :

- Nếu loài đó có tên tác giả và năm phát hiện không niên hiệu trong ngoặc đơn, thì tác giả đã phân loại đúng, cho đến nay không có sự thay đổi nào. Ký sinh vật đó có thể có nhiều tên nhưng theo quy ước, người ta chỉ lấy tên cũ nhất từ lần thứ 10 của sách đã xuất bản. Ví dụ : Muỗi *Culex pipens* đã có 50 tên khác nhau. Tên cũ nhất từ lần xuất bản thứ 10 của sách là *Culex pipens* Linnaeus, 1758.

- Trong loài nào đó mà tên tác giả và năm phát hiện được niên hiệu trong ngoặc đơn thì trước kia người ta đã xếp loài đó vào một giống khác hay loài khác, nay được xếp vào một giống hay loài khác trước có nghĩa là giống hoặc loài trước kia không phải là giống loài hiện nay.

Ví dụ : Trước kia gọi là *Taenia canina* Linnaeus, 1767

Nay gọi là *Dipylidium caninum* (Linnaeus, 1767)

g) Khi trình bày tên ký sinh vật, nếu ngay đó đã viết tên giống loài đầy đủ thì ngay sau đó tên giống (cùng giống) có thể được viết tắt :

Ví dụ : *Metastrongylus elongatus* (Dujardin, 1846)

M. salmi Geddoelst, 1923

Việc đặt tên cho ký sinh có thể dựa vào các đặc điểm phân loại, dựa vào vật chủ, địa danh, hình dạng, tác giả phát hiện, sự liên quan của động vật môi và ăn môi, tên Latinh của vật chủ v.v... Khi thông tin của chuyên môn trong quốc gia đó về loài này hoàn toàn không có trong khi các quốc gia khác đã đề cập và mô tả loài đó, thì được xếp là loài mới đối với quốc gia

+ Nếu là đối với khoa học có nghĩa là loài đó chưa được mô tả trên thế giới, phải có thông tin, phải biết toàn bộ thông tin trên thế giới về lãnh vực chuyên môn đó.

TÊN BỆNH

Có nhiều cách gọi tên bệnh khác nhau, thông thường dùng tên Latinh của giống, họ, bộ bỏ đuôi và cộng thêm "osis" hoặc "iasis". Không dùng tên địa phương hay tên thổ ngữ, dân gian để gọi tên bệnh, vì cách gọi này không được quốc tế và không được chấp nhận. Hơn nữa cách gọi tên như vậy không chính xác.

CHƯƠNG II

ĐẠI CƯƠNG VỀ BỆNH KÝ SINH

I, KHÁI NIỆM VỀ BỆNH :

Bệnh ký sinh là kết quả của một sinh vật gây kích thích có tính chất sinh học đến một sinh vật khác làm xuất hiện những dấu hiệu lâm sàng về bệnh thì được gọi là bệnh ký sinh. Khái niệm này tuy chưa thật đầy đủ nhưng phải dựa trên những nguyên tắc này để phân biệt vật chủ nhiễm ký sinh có tính chất sinh học đến một sinh vật khác làm xuất hiện những dấu hiệu lâm sàng về bệnh thì được gọi là bệnh ký sinh. Khái niệm này tuy chưa thật đầy đủ nhưng phải dựa trên những nguyên tắc này để phân biệt vật chủ nhiễm ký sinh, mang ký sinh và bệnh ký sinh. Muốn gây thành bệnh ký sinh phải có rất nhiều điều kiện, những điều kiện chính gồm có :

1. Ký sinh phải có độc lực nhất định mới có thể gây bệnh cho gia súc. Độc lực phụ thuộc vào các yếu tố sau :

- Khả năng gây bệnh của từng loài ký sinh
- Số lượng
- Vị trí xâm nhập hay đường xâm nhập
- Dạng xâm nhập

2. Ký sinh phải gặp được vật chủ cảm thụ tức là gặp được loài giống gia súc thích hợp. Khi đã gặp được vật chủ cảm thụ muốn gây thành bệnh cũng phải phụ thuộc nhiều yếu tố :

- Lứa tuổi gia súc
- Tính biệt gia súc
- Chế độ dinh dưỡng
- Trạng thái miễn nhiễm của động vật cảm thụ
- Sự nhiễm cùng loài ký sinh trước đó
- Sự sử dụng thuốc ở động vật cảm thụ

3. Có môi trường ngoại cảnh thích hợp. Trong quá trình phát triển của mầm bệnh, có những giai đoạn mầm bệnh tồn tại ở môi trường bên ngoài, do vậy cần phải có rất nhiều điều kiện để mầm bệnh tồn tại và phát triển. Các điều kiện đó là :

- Ẩm độ thích hợp
- Nhiệt độ thích hợp
- Môi trường như đất, nước thích hợp
- Vật chủ trung gian thích hợp
- Ánh sáng thích hợp
- Oxygen thích hợp
- Thời gian thích hợp

II. DỊCH TỄ CỦA BỆNH KÝ SINH :

Dịch tễ của bệnh ký sinh là một vấn đề rất rộng lớn và quan trọng. Dịch tễ có liên quan rất nhiều đến tính chất của mầm bệnh, tính chất của vật chủ, các điều kiện tự nhiên và xã hội, tập quán chăn nuôi, tập quán xã hội, trình độ tổ chức kinh tế, trình độ văn hóa xã hội v.v... Để nắm được các biện pháp phòng chống bệnh nhất thiết phải tiến hành nghiên cứu dịch tễ. Dịch tễ của ký sinh và bệnh ký sinh nghiên cứu các vấn đề sau đây :

1. Nguyên nhân phát sinh bệnh :

Nguyên nhân là dạng ấu trùng hay trưởng thành, do giun sán gây ra do nguyên bào, hay do côn trùng, khả năng gây bệnh của mầm bệnh từ đó mà tiến hành dùng thuốc và dùng các biện pháp cắt đứt chu kỳ phát triển của mầm bệnh.

2. Đường phát tán và xâm nhập :

Mỗi một nguyên nhân bệnh có đường phát tán và xâm nhập khác nhau. Do vậy phải biết đường phát tán và xâm nhập.

a) Phát tán :

- Phát tán do môi giới hay do vật chủ trung gian. Ví dụ : Trypanosoma phát tán qua ruồi Stomoxys calcitrans. Babesia phát tán qua ve Ixodidae.

- Phát tán qua phân và nước tiểu. Hầu hết các loài giun tròn đường tiêu hóa và giun thân Diocyophyma renale, Stephanurus dentatus.

- Phát tán qua tiếp xúc như ghẻ Sarcoptes.

- Phát tán qua giao cấu như (Trichomonas foetus và Trypanosoma equiperdum.

- Do quản lý giết mổ như Taenia hydatigena, T. multiceps v.v...

b) Xâm nhập :

- Qua da như Ancylostoma caninum, Strongyloides, Stephanurus dentatus, Hypoderma bovis v.v...

- Qua chích hút như : Trypanosoma, Babesia, Anaplasma, Theileria, Plasmodium, Dirofilaria immitis v.v...

- Qua thức ăn, nước uống hầu hết các loại giun sán.

- Qua thai như Fasciola gigantica, Neoascaris v.v...

- Qua niêm mạc như Trypanosoma equiperdum, Tritrichomonas.

- Qua tiết sữa như Ancylostoma, Ascaris, Strongyloides v.v...

3. Sự phân bố :

Ký sinh phân bố rộng ở môi trường bên ngoài và phân bố khắp cơ thể. Tùy theo từng lúc, từng nơi, từng loài ký sinh mà sự phân bố của nó nhiều hay ít. Sự phân bố này gồm :

a) Trong cơ thể gia súc :

- Loài vật chủ nhiễm, loài nào nhiễm nhiều, gia súc nào nhiễm ít,

- Tỷ lệ nhiễm của từng loại gia súc cao hay thấp,

- Tính biệt nhiễm,

- Sự phân bố tổng thể từng cơ quan của gia súc,

- Thời gian gây bệnh hay tồn tại trong vật chủ,
- Thời gian để đạt trạng thái gây bệnh,
- Sự di hành trong vật chủ.

b) Ở môi trường bên ngoài :

- Ảnh hưởng của nhiệt độ tới sự phát triển của ký sinh,
- Ảnh hưởng của ẩm độ,
- Ảnh hưởng của điều kiện lý hóa, ánh sáng,
- Thời gian tồn tại của mầm bệnh ở môi trường bên ngoài,
- Ảnh hưởng của các điều kiện sinh thái, vùng mùa, xã hội tới sự tồn tại

và phát triển của mầm bệnh.

4. Quy luật :

Mỗi một bệnh có quy luật khác nhau. Tùy từng nơi từng lúc mà quy luật bệnh thể hiện rõ hay không rõ. Quy luật bệnh gồm :

- Quy luật nhiễm theo mùa.
- Quy luật nhiễm theo tuổi.
- Quy luật nhiễm theo vùng sinh thái.
- Quy luật nhiễm theo giới tính.
- Quy luật nhiễm theo loài vật chủ.
- Quy luật nhiễm theo sự quản lý chăm sóc.
- Quy luật nhiễm theo trạng thái miễn nhiễm của gia súc.
- Quy luật nhiễm theo sự sử dụng thuốc.
- Quy luật di truyền.
- Quy luật theo tình hình vệ sinh thú y v.v...

Ngoài ra dịch tễ còn nghiên cứu các vấn đề khác như : tiềm năng sinh học của ký sinh liệu pháp điều trị và hiệu quả, tăng miễn nhiễm với IgE, khả năng miễn nhiễm của từng loài, thời gian tồn tại trong vật chủ trung gian v.v...

III. TRIỆU CHỨNG CỦA BỆNH KÝ SINH :

Triệu trứng của bệnh ký sinh vật thường ít điển hình, có những lúc dễ nhầm lẫn với nhau, thường thấy gia súc chậm lớn, lông xù da khô, tiêu chảy, thiếu máu, lượng sữa và lượng trứng giảm vật chủ có thể sản sinh các kháng thể IgA, IgM, IgG, IgE. Các kháng thể này cao hay thấp phụ thuộc vào từng loài gia súc và từng loài ký sinh, vị trí ký sinh. Những kháng thể này tồn tại khi ký sinh tồn tại trong cơ thể và tổ chức. Khi ký sinh bị đào thải khỏi cơ thể, sự duy trì những kháng thể này không được lâu dài và có vai trò mang dấu ấn của trạng thái miễn dịch nhiều hơn. Những kháng thể này có thể gây tác động miễn dịch bệnh học, ly giải hồng cầu, viêm tiểu cầu thận v.v... Phức hợp kháng nguyên kháng thể có thể gây hiện tượng tự miễn. Triệu chứng của bệnh ký sinh vật có 2 dạng sau đây :

1. Dạng cấp tính (Acuta) :

Do bị nhiễm ký sinh hoặc ấu trùng ký sinh với một số lượng lớn trong một thời gian ngắn do nhiều tế bào nơi ký sinh định vị bị phá hoại, do ký sinh vật lấy

chất dinh dưỡng như protid, glucid, lipid, vitamin, microelement, macroelement, do đầu độc cơ thể bằng những sản phẩm trao đổi chất, sản phẩm tiêu hóa và độc tố làm con vật xuất hiện triệu chứng thiếu máu, co giật, sốt cao, vỡ ruột, vỡ động mạch chủ và có thể chết. Khi thiếu máu số lượng hồng cầu giảm, các hằng số sinh lý sinh hóa của máu thay đổi. Thiếu máu thấy nhiều ở dạng mạn tính và do các nguyên nhân sau đây :

- Do tan huyết các hồng cầu bị ly giải do tác động của ký sinh hoặc do kháng thể tự miễn (trong trường hợp Babesia, Anaplasma, Theileria v.v...).

- Thiếu máu do tăng năng lách (Plasmodium).

- Thiếu máu do chảy máu Ancylostoma, Coccidiosis.

- Thiếu máu do hụt sinh tố B12 và acid amine.

- Thiếu máu do suy tủy xương (Trypanosoma evansi).

- Tăng bạch cầu của Eosinophil.

- Tăng Basophil.

- Phản ứng mô. Lách sưng to là biểu hiện của sự tăng thực bào nhằm thanh toán tiêu diệt các ký sinh, hồng cầu bị ký sinh và các sắc tố. Gan sưng to hạch sưng to để tăng cường vai trò phòng vệ và chuyển hóa. Phản ứng viêm tăng để tăng quá trình di chuyển của Neutrophil, Eosinophil, Basophil, Monocyte để tiêu diệt mầm bệnh. Khi ấu trùng Ascaris suum di hành nhiều cũng gây bệnh cấp tính. Triệu chứng thần kinh xảy ra ở các bệnh Trypanosoma, Babesia, Anaplasma v.v..

2. Mạn tính (Chronic) :

Triệu chứng của bệnh ký sinh vật phần lớn là mạn tính, và có những biến đổi khá giống nhau, không đặc hiệu và ít điển hình. Gia súc thường tiêu chảy, thiếu máu, da khô, lông xù, thể trạng gầy yếu, da không bóng, lông không mượt, ăn vẫn tốt nhưng chậm lớn.

IV. CHẨN ĐOÁN KÝ SINH VÀ BỆNH KÝ SINH :

A. KHI GIA SÚC CÒN SỐNG :

1. Dựa vào dịch tễ :

Mỗi một loài ký sinh và bệnh ký sinh có đặc điểm dịch tễ học khác nhau (xem lại phần dịch tễ). Dựa vào các đặc điểm đó giúp người làm công tác chăn nuôi thú y tiên lượng và có hướng nghi ngờ bệnh. Biện pháp chẩn đoán dịch tễ không cho kết quả chính xác nhưng giúp cho việc chẩn đoán sau này được chính xác hơn.

Ví dụ : Cầu trùng ở gia cầm thường xuất hiện từ một vài ngày sau khi nở. Bệnh xảy ra nặng ở gà 20 ngày tuổi cho đến 60 ngày tuổi, nặng nhất ở 30 ngày. Những gà trên 3 hoặc 4 tháng tuổi đã có sức miễn dịch với cầu trùng và thường ở trạng thái mang mầm bệnh. Những gà này nếu có triệu chứng tiêu chảy, xác gầy, phân có máu hoặc không, ủ rũ, cánh sã, khát nước v.v... thì khả năng đó không chắc do cầu trùng gây ra. Nên nghi theo hướng nguyên nhân do virus, vi khuẩn hay nấm v.v...

2. Dựa vào triệu chứng lâm sàng :

Mỗi một loài ký sinh có vai trò gây bệnh khác nhau và gây bệnh trên từng cơ quan khác nhau. Tuy nhiên có nhiều loài gây bệnh trên một cơ quan. Do triệu chứng lâm sàng của ký sinh và bệnh ký sinh không điển hình, không đặc hiệu (ngoại trừ các bệnh do Protozoa) khó phân biệt. Ngay trong các bệnh Protozoa gây ra triệu chứng lâm sàng cũng có thể bị nhầm lẫn. Việc chẩn đoán dựa vào triệu chứng chỉ có hướng nghi bệnh mà không thể kết luận chính xác về bệnh. Đôi khi dựa vào các chẩn đoán phi lâm sàng, nhưng biện pháp này không được sử dụng rộng rãi, có khi cho kết quả không chắc chắn.

3. Dựa vào điều trị để chẩn đoán :

Mỗi một loài ký sinh thường mẫn cảm với một vài loại thuốc nhất định, hoặc nhiều loài ký sinh mẫn cảm với một loại thuốc. Dựa vào đặc điểm này có thể dùng thuốc điều trị để chẩn đoán. Biện pháp này chỉ sử dụng trong những trường hợp đặc biệt và thật cần thiết, vì thuốc sử dụng mắc tiền và có nhiều loài ký sinh cùng mẫn cảm với một loại thuốc nên khi khỏi bệnh cũng không chắc chắn là bệnh nào.

4. Dựa vào tiêm truyền động vật thí nghiệm :

Dùng các loại động vật thí nghiệm như chuột nhắt, chuột lang, thỏ, chó, mèo, bê, nghé v.v... làm động vật thí nghiệm. Dùng huyền dịch tổ chức, máu, hạch hay chất tiết từ bệnh phẩm chích vào hệ thống tuần hoàn, xơng phúc mạc hay bìu dái của động vật thí nghiệm. Tùy theo bệnh mà động vật thí nghiệm được dùng cho phù hợp. Sau một thời gian sẽ quan sát triệu chứng bệnh tích của động vật thí nghiệm hoặc lấy máu, dịch tổ chức nhuộm tìm ký sinh. Biện pháp này đang được sử dụng hiện nay.

5. Dựa vào chẩn đoán huyết thanh :

Khi gia súc bị nhiễm bệnh hoặc nhiễm ký sinh, trong máu sẽ xuất hiện kháng thể. Dựa vào các đặc điểm này có thể dùng các biện pháp chẩn đoán huyết thanh học để xác định hàm lượng kháng thể hay kháng nguyên có trong máu. Những biện pháp chẩn đoán huyết thanh học được sử dụng nhiều trong các ký sinh đường máu và một số bệnh Coccidiosis có chu kỳ phát triển trong hệ tuần hoàn và một vài loài giun sán ký sinh trong các tổ chức kín khác hệ tuần hoàn của gia súc. Trong khuôn khổ của môn học chúng tôi không mô tả cụ thể các phương pháp mà chỉ nêu các phương pháp đã được ứng dụng để chẩn đoán.

(1) ngưng kết trực tiếp (D.A.T : Direct Agglutination Test)

(2) ngưng kết hồng cầu thụ động (P.H.A : Passive Haemagglutination)

(3) Kết hợp bổ thể (G.F. : Complement Fixation)

(4) Kháng thể huỳnh quang trực tiếp (D.F.A.T : Direct Fluorescent Antibody Test)

(5) Kháng thể huỳnh quang gián tiếp (I.F.A.T : Indirect Fluorescent Antibody Test)

(6) Ngưng kết trên giấy (C.A. : Card Agglutination)

- (7) Ngưng kết hồng cầu gián tiếp (I.H.A : Indirect Haemagglutination)
- (8) Ngưng kết hồng cầu (H.A : Haemagglutination Test)
- (9) Ngăn trở ngưng kết hồng cầu (H.I : Haemagglutination Inhibition Test)
- (10) Ngưng kết bổ trợ (M.A.T : Modified Agglutination Test)
- (11) Khuếch tán trên thạch (G.D.T :Gel Diffusion Test)
- (12) Phản ứng dị ứng (A.T : Allergic Test)
- (13) Kỹ thuật ELISA (Enzyme - Linked Immunosorbent Assay)
- (14) Kỹ thuật phóng xạ miễn dịch (R.I.A : Radioimmunoassay)
- (15) Kiểm tra dưới da (S.T : Skin Test)
- (16) Phản ứng với cồn tuyệt đối
- (17) Phản ứng với Mercuric Chloride $HgCl_2$
- (18) Phản ứng với Formalin
- (19) Phản ứng điện li

Các phản ứng này sẽ được trình bày trong từng bệnh cụ thể.

6. Chẩn đoán ký sinh :

Đây là biện pháp chẩn đoán quan trọng. Muốn kết luận được bệnh nhất thiết phải chẩn đoán ký sinh và xác định cường độ nhiễm của từng loài ký sinh hoặc thông qua trứng hay ấu trùng hay Oocyst, Sporocyst v.v...

Các chất chứa ở lỗ tự nhiên và da :

Gồm đờm, mủ, dịch mũi, vảy da, dịch tiết ở da v.v... có thể sử dụng các phương pháp sau :

(1) Phương pháp tập trung :

Phương pháp này dùng để chẩn đoán ghẻ *Sarcoptes*, *Chorioptes*, *Psoroptes*, *Knemidocoptes*, *Notoedres*, *Demodex* v.v...

Dùng dao cạo lớp vảy của gia súc nơi giữa chỗ da lành và da bệnh cho đến khi nào rướm máu (vì ghẻ ngấm ở dưới da). Dưới có hứng đĩa lồng Petri. Chất này được cho vào ống nghiệm sau đó cho thêm 10 - 20ml dung dịch NaOH 10%, để yên trong phòng 2 giờ hoặc hơi nhẹ trên ngọn lửa đèn cồn trong vòng 2-5 phút. NaOH sẽ làm trong và tan các nhu mô sừng ở da. Sau đó ly tâm hoặc gạn nhẹ lớp nước ở trên đi lấy cặn kiểm tra ở độ phóng đại 10 x 10.

(2) Phương pháp trực tiếp :

Lấy dịch dưới da, dịch mũi, mắt, đờm mủ phết kính, sau đó nhỏ dung dịch (acid lactique 1 phần và glycerin 1 phần). Dùng đũa dàn mỏng và đảo đều, đặt lamel (coverglass) lên và đem kiểm tra ở độ phóng đại 10 x 10. Muốn bắt màu rõ cho thêm vào lame một vài giọt dung dịch Lugol 1% - 3%.

(3) Phương pháp xem tươi :

Các dịch trên được đem kiểm tra. Muốn quan sát sự di động của ký sinh phải nhỏ thêm nước muối sinh lý 0,85% hoặc các dung dịch như Ringer, Locke, Tyrode.

Dung dịch Ringer gồm :

Sodium chloride NaCl	6,5 gam
----------------------	---------

Potassium chloride KCL	0,25 gam
Calcium chloride CaCl ₂	0,30 gam
Solidum bicarbonate	0,20 gam
Nước vừa đủ	1000 ml
Điều chỉnh pH = 7-7,4	

Dung dịch Locke gồm :

Sodium chloride Nacl	8,5 gam
Potassium chloride KCL	0,42 gam
Calcium chloride CaCl ₂	0,25 gam
Solidum bicarbonate	0,20 gam
Dextroza hoặc Glucoza	0,50 gam
Nước cất vừa đủ	1000 ml

Cần pha hết các chất trên cuối cùng mới cho Calcium chloride để tránh kết tủa với Sodium bicarbonate.

Dung dịch Tyrode gồm :

Sodium chloride Nacl	8,0 gam
Potassium chloride KCL	0,2 gam
Calcium chloride CaCl ₂	0,2 gam
Magnesium chloride	0,1 gam
Sodium bicarbonate	1,0 gam
Nước cất vừa đủ	1000 ml

Điều chỉnh pH = 7,5 - 7,8

Đối với máu và huyết thanh :

(1) Xem tươi :

Dùng kéo cắt lông ở tĩnh mạch tai của đại gia súc, dùng bông sát trùng. Nên bỏ giọt máu đầu tiên sau đó nhỏ giọt máu thứ hai, thứ ba lên lame. Cần cho thêm dung dịch kháng đông vào tiêu bản. Đặt lamel lên và quan sát dưới kính hiển vi với độ phóng đại 10x10 hoặc 10x40. Nếu cần thiết cho thêm một vài giọt dung dịch Locke, Ringer hoặc Tyrode. Phương pháp này thường dùng chẩn đoán Trypanosoma.

(2) Nhuộm Giemsa :

Cách pha dung dịch Giemsa gốc :

Giemsa bột	3,80 gam
Cồn Methyl tuyệt đối	250 ml
Glycerine nguyên chất	250 ml

Cho hỗn hợp 3 chất trên, lắc đều sau đó cho vào tủ ấm 37⁰C sau đó lại lắc lại nhiều lần, lọc qua giấy lọc hoặc bông, bảo quản trong lọ màu để nơi mát. Nếu bảo quản không tốt pH thay đổi. Nếu pha xong dùng ngay phải lắc rất kỹ cho Giemsa tan hết.

Khi dùng phải pha dung dịch gốc trên ra thành nồng độ 1-5% dung dịch gốc

Cách nhuộm :

- Phết tiêu bản để khô,
- Nhỏ lên lame vài giọt alcohol 90% hay 100%, cho bay hơi hết,
- Đặt tiêu bản lên giá thủy tinh hay bộ thủy tinh,
- Nhỏ dung dịch nhuộm lên tiêu bản để 20 phút đến 30 phút có khi 50 - 60 phút,
- Sau đó rửa bằng nước cất hay muối trung tính,
- Vẩy khô hoặc hong khô,
- Bảo quản hoặc đem kiểm tra.

(a) Nhuộm tiêu bản máu mỏng :

- Nhỏ một giọt máu về một đầu của lame,
- đặt một tiêu bản khác mà cạnh của nó nằm đè trên giọt máu. Góc cạnh giữa hai tiêu bản là góc 30^0 , sau đó kéo nhanh hoặc đẩy nhanh cho máu dàn đều hết phiến kính,
- hong khô hay vẩy khô,
- Nhúng vào cồn methyl sau đó nhuộm giemsa.

(b) tiêu bản máu dày :

- Nhỏ máu lên lame,
- Dùng đũa thủy tinh dàn mỏng đường kính 0,5 - 1,5 cm,
- Để khô hoặc cố định bằng Methyl alcohol để khô,
- Nhúng lame vào nước cho đến khi nhạt màu để rút Hb ra, khi nào nhạt màu là được,
- Để khô hoặc cố định lại bằng Methyl alcohol,
- Nhuộm Giemsa

Hoặc có thể làm cách thứ hai :

- Để tiêu bản cho khô,
- Nhúng lame vào dung dịch Methylene Bleu,
- Rửa nước ngay,
- Nhúng vào dung dịch Giemsa 30 phút,
- Dựng tiêu bản cho khô và kiểm tra.

(3) Phương pháp tập trung :

- Lấy một ống nghiệm sạch khô và cho vào đó 1-2 ml dung dịch kháng đông Sodium citrate 3,8%,
- lấy 1 - 5 ml máu gia súc nghi mắc bệnh cho vào ống nghiệm,
- Lắc nhẹ để yên trong phòng từ 30 phút đến 2 giờ hoặc đem ly tâm 3000 - 5000 vòng/ phút, trong một vài phút,
- Dùng pipet hút nhẹ lớp dịch giữa hồng bạch cầu và huyết thanh,
- Nhỏ lên lame, kiểm tra hoặc nhuộm Giemsa.

(4) Nhuộm máu để tìm Microfilaria : (cách làm giống tiêu bản máu mỏng)

Đối với phân và nước tiểu :

Kiểm tra noãn nang Oocyst, trứng và ấu trùng giun sán bằng các phương pháp sau :

(1) Phương pháp trực tiếp (direct smear) :

Phương pháp này chẩn đoán được các loại trứng của trematoda, Cestoda, Nematoda và Oocyst, Sporocyst của Protozoa. Phương pháp này đơn giản dễ làm nhưng độ chính xác không cao. Nếu nhiễm nhẹ mỗi mẫu xét nghiệm phải kiểm tra từ 3- 5 tiêu bản.

- Lấy mẫu phân tươi bằng hạt đậu cho lên lame,
- Nhỏ một vài giọt nước muối sinh lý hoặc acid lactique 50%, glycerine 50%
- Đậy lamel hoặc Coverglass và kiểm tra.

Mỗi mẫu phân phải có dụng cụ riêng. Trong cùng một mẫu có thể dùng chung dụng cụ kiểm tra như rây lọc, đĩa thủy tinh, cốc nhựa hay thủy tinh v.v...

(2) Phương pháp lắng gạn (Sedimentation method) :

Phương pháp này dùng để kiểm tra trứng của sán lá, đặc biệt là sán lá gian Fasciola, ngoài ra còn kiểm tra được đốt sán dây Cestoda, trứng giun phổi Metastrongylus và giun đầu gai Macracanthorhynchus ở heo, Eimeria leuakarti.

- Lấy 5 gam phân tươi cho vào cốc nhựa.
- Cho nước vào khuấy đều hoặc khuấy bằng dụng cụ tự trộn.
- Lọc qua lưới lọc có 81 lỗ / 1 cm² sang một cốc khác.
- Để yên 10 - 15 phút.
- Gạn nhẹ lớp nước ở trên đi và lại cho nước sạch vào để yên 10 -15 phút nữa.
- Nhắc lại như vậy đến khi lớp nước ở trên trong.
- Gạn nước trong ở trên đi và để lại 5 -10 ml.
- Nhỏ 2 giọt Methylene bleu.
- Dùng pipet 2 ml hút dung dịch cho lên chamber và kiểm tra dưới kính hiển vi.

Hiện nay đã có rất nhiều phương pháp lắng gạn, hai phương pháp sau đây có thể được dùng phổ biến cùng với phương pháp trên.

(3) Kỹ thuật lắng gạn với ether - formalin {(Formalin - Triton - Ether) Sedimentation Technique) (F.T.E) :

Kỹ thuật này được Richie đưa ra vào năm 1948 và được bổ sung bởi Maldonado, Acosta, Matienzo và Velez Herrera (1954). Không những chẩn đoán được trứng của Schistoma, Ancylostoma, Trichocephalus, Ascaris mà còn chẩn đoán được Cyst của Protozoa.

- Lấy một ống nghiệm có đánh dấu vạch 5 ml và 6 ml,
- Cho vào 5 ml dung dịch Formalin 10% có chứa một giọt Triton NE,
- Cho vào ống nghiệm 1 ml phân,
- Lắc đều cho tan hết,
- Lọc dung dịch qua một ống ly tâm khác 15 ml qua 4 lớp vải mỏng,

- Cho vào ống ly tâm 5 ml ether, đậy ống nghiệm lại và lắc đều.
- Ly tâm 2000 phút/phút.
- Đổ lớp nước ở trên đi.
- Nhỏ một giọt dung dịch NaCl sinh lý vào cặn.
- Dùng pipet hút lớp cặn cho lên lame và kiểm tra.

(4) Kỹ thuật tập trung Formaldehyde - Iodin (Merthionate (Thiomersal) - Iodine Formaldehyde - Concentration Techique) (M.I.F.C) :

Kỹ thuật này được Blagg et al (1955) giới thiệu. Dunn (1968) cho thấy nó có thể kiểm tra được các trứng giun sán.

- Dùng trong ống nghiệm lấy phân như trên. Dung dịch cho vào là dung dịch Merthionate - Iodine - Formaldehyde).

- Lắc trong 5 giây.
- Lọc qua hai lớp lưới lọc vào ống ly tâm 15 ml.
- Cho thêm 4 ml ểth lạnh vào ống ly tâm. Đậy nắp và lắc đều. Nếu ether vẫn còn ở trên sau khi lắc, cho vào 1 ml nước sạch và lắc trở lại.
- Lấy nắp ra và để yên 2 phút.
- Ly tâm 1 phút ở tốc độ 1600 vòng/phút. Có 4 lớp sẽ xuất hiện ở ống ly tâm. Lớp ether ở trên, lớp thứ hai là những cặn của phân, lớp thứ 3 là lớp M.I.F> và lớp cặn ở đáy ống nghiệm có chứa Protozoa và trứng của giun sán,

- Lấy lớp cặn phân ra bằng vòng vớt.
- Đổ lớp nước ở trên đi và giữ lại lớp cuối cùng.
- Lắc mạnh và nhỏ lên slide, phủ lamel kiểm tra.

(5) Phương pháp tập trung (flotation technique):

phương pháp này sử dụng nước muối có tỷ trọng cao hơn Cyst của protozoa và trứng giun sán nhưng có tỷ trọng thấp hơn cặn phân do đó trứng và Cyst sẽ nổi lên trên. Phương pháp này thuận tiện cho việc chẩn đoán Oocyst, một số Cyst của Protozoa, trứng giun tròn và một số trứng sán dây. Một số muối được sử dụng cho phương pháp này gồm:

(a) Phương pháp phù nổi với đường (Sugar Flotation):

- Lấy phân cho vào ống nghiệm 1-3 gam.
- Cho một ít nước muối sinh lý lắc đều, lọc qua lớp vải mỏng sang một ống ly tâm.

- Cho dung dịch Sheather Sugar Flotation nhưng không đổ đầy, phủ lên một phiến kính tròn lắc đều.

- Cho đầy lọ ly tâm với dung dịch đường Sheather.
- Đậy lên một phiến kính tròn.
- Ly tâm 5 phút, nếu không, để yên 45 phút tới 1 giờ.
- Lấy phiến kính tròn ở trên ra và đặt vào Slide và kiểm tra.

(b) Phương pháp phù nổi với Zine Sulfate ($ZnSO_4$):

Kỹ thuật này được Faust et al giới thiệu năm 1938.

- Lấy phân cho vào ống nghiệm 1-3 gam.

- Cho một ít nước muối sinh lý lắc đều, lọc qua 4 lớp vải lọc vào một ống ly tâm.

- Cho nước lã vào gần đầy ống.
- Lắc đều và ly tâm 5 phút.
- Đổ lớp dịch trên di.
- Cho Sunfate kẽm bão hòa vào lắc đều.
- Đậy lại bằng Coverslip và lắc đảo đều.
- Ly tâm 5 phút nữa.
- Lấy Coverslip ra và đặt lên lame kiểm tra.

(c) Phương pháp với NaCl (Willis):

- Cho 1-2 gam phân vào ống nghiệm, cho vào đó một ít nước muối NaCl bão hòa (450 gam/lít) lắc đều.

- Lọc qua lưới lọc có 81 lỗ/1 cm² vào một lọ miệng hẹp,
- Cho nước muối bão hòa cho đầy miệng lọ.
- Đậy lame lên miệng lọ để yên 30 phút đến 40 phút.
- Lấy nhanh lame ra, đảo ngược và phủ Coverslip kiểm tra.

(6) Phương pháp Fulleborn:

Phương pháp này được đưa ra bởi Fulleborn.

- Lấy 1 hộp nhựa hay thủy tinh cho vào đó 1-2 gam phân.
- Cho vào 19 ml NaCl bão hòa lắc đều.
- Phủ lên mặt dung dịch 3 phiến kính.
- Để yên từ 30 phút đến 1 giờ.
- Nhấc phiến kính lên cho giọt nước nhỏ xuống lame có diện tích đếm là 18mm².

- Đậy lamel và đếm số trứng trong 3 lame.

Phần đếm được trong lame bằng 1/7 diện tích bề mặt dung dịch. Số lượng trứng đếm được nhân với 7 sẽ là số lượng trứng có trong một gam phân.

Nếu số lượng trứng vượt quá 10.000, đếm 10 phần khác nhau của lame, mỗi một lame đếm 10mm². Số lượng trứng trung bình của 30mm² x 324 (diện tích của lame phủ) sẽ bằng số trứng có trong một gam phân. Phương pháp này hiện nay ít được dùng.

(7) Phương pháp Stoll :

- Cân 5 gam phân cho vào một ly nhựa hay bình tam giác.
- Cho nước vào cho đến vạch 75 ml.
- Lắc đều cho tan hết phân
- Lọc toàn bộ dung dịch trên qua lưới lọc có 81 lỗ/ cm².
- Cho nước vào đến vạch 75 ml.
- Lắc đều và hút 0,15 ml dung dịch cho lên lamel.
- Phủ lame và kiểm tra toàn bộ diện tích phủ lamel.

Tính toán :

0,15 ml trong dung dịch có 5 gam phân trong thể tích 75 ml. Gọi trứng đếm được là X.

$$\text{Số lượng trứng trong 75 ml} = \frac{X \cdot 75}{0,15}$$

$$\text{Số lượng trứng trong 1 gam} = \frac{X \cdot 75}{0,15 \cdot 5}$$

(8) Phương pháp Mc Master :

- Cân 3 gam phân cho vào 1 lọ nhựa hay thủy tinh.
- Cho nước muối tỷ lệ 1/15 vào cho tới vạch 45 ml.
- Lắc và trộn đều cho phân tan hết.
- Lọc qua lưới lọc 81 ô/cm², sau đó cho nước muối vào cho đến vạch 45 ml,
- Trộn đều và hút dung dịch cho lên 2 chamber của slide.
- Đếm số trứng trong 2 chamber theo nguyên tắc đếm hai cạnh.

Cách tính:

* Thể tích mỗi chamber là 0,15 ml.

* 0,15 ml của 3 gam phân trong dung dịch 45 ml.

* Gọi số trứng đếm được là X.

$$\text{❖ Số trứng trong tổng số 45 ml} = \frac{X \cdot 45}{0,15}$$

$$\text{❖ Số trứng có trong 1 gam phân} = \frac{X \cdot 45}{0,15 \cdot 3} = X \cdot 100$$

(9) Kỹ thuật Telemann :

- Lấy 5 mẫu phân bằng hạt đậu từ 5 chỗ khác nhau của phân.
- Cho vào lọ và cho thêm acid clohydric 50% trộn đều.
- Cho thêm 1-5 ml ether và lắc đều.
- Lọc qua lưới lọc xuống ống ly tâm.
- Ly tâm 1.500 – 2.000 vòng/phút trong 2-3 phút.
- Lớp trên là ether, lớp giữa là cặn lợn cợn, lớp dưới cùng là trứng và ấu trùng. Gạn nhẹ lớp trên cùng và lớp giữa giữ lại cặn.
- Dùng pipet hút lớp cặn cho lên slide quan sát.

Ngoài ra có thể dùng các kỹ thuật khác nhau như Barody, Faust, Mink and Ebeling, Boggs, Creosote, Ratcliffe, Demidov, Vysniascas, Stiardu, Chebotarev, v.v...

(10) Phương pháp kiểm tra ấu trùng:

Phương pháp này dùng để chẩn đoán những giun sán không đẻ trứng mà đẻ ấu trùng, hoặc một số ấu trùng sống bên ngoài.

Phương pháp Baermann:

- Dùng một phễu, đáy phễu gắn với ống cao su, dưới được gắn với ống ly tâm hay ống nghiệm. Tất cả đặt lên giá gỗ.
- Cho 5 gam phân hoặc tổ chức, hoặc hỗn dịch nuôi ấu trùng lên lưới lọc 81-100 ô/1 cm², hoặc dùng vải mỏng bọc phân.
- Đặt lưới lọc lên phễu và đổ nước ấm 45°C cho đầy mẫu phân kiểm tra.
- Để yên 30 phút đến một giờ.
- Lấy ống ly tâm ra đem ly tâm lấy cặn kiểm tra ấu trùng và phân loại ấu trùng theo các khoá định loại.

d) Nuôi cấy ấu trùng (Feacal Culture Method):

- Phân 50 gam được làm nhuyễn cho vào đĩa lồng petri, hay cốc nhựa.
- Giữ cho phân có độ nhúng không làm ướt. Nếu phân quá ướt do lấy phải phân gia súc tiêu chảy phải hong khô để ở dạng sền sệt.
- Đậy nắp miệng lại cho vào tủ ấm hay để ở nhiệt độ trong phòng 7 -10 ngày. Chú ý phải để cho mẫu luôn luôn ẩm bằng cách nhỏ nước thường xuyên,
- Lật ngược đĩa, hơi nước bốc lên xung quanh phân. Ấu trùng được hình thành và di chuyển ra các giọt nước bên cạnh,
- Thu thập các giọt nước này cho vào ống ly tâm,
- Ly tâm lấy cặn kiểm tra. Nếu cần cho một vài giọt dung dịch Lugol Iodine. Phương pháp này dùng để chẩn đoán một số trứng của một số loài giun tròn ở đại gia súc rất giống nhau do vậy phải nuôi cấy để chuẩn đoán.

e) Tạo bào tử của Oocyst cầu trùng:

Trong phân loại Oocyst người ta dựa vào hình thái của Oocyst gây nhiễm để phân loại bày gặp nhiều khó khăn, do vậy phải tạo ra Oocyst gây nhiễm để phân loại.

- Lấy 5 gam phân trộn với dung dịch Potassium bichromate 2,5% sau đó dàn mỏng lên đĩa petri. Potassium sẽ ngăn chặn Bacteria làm hỏng Oocyst.
- Để ở nhiệt độ trong phòng một vài ngày vì Oocyst sẽ tạo Sporocyst hay Sporozoite trong vòng một vài ngày. Nếu chưa quan sát ngay cần giữ lạnh 0 - 4°C,
- Cứ 24 giờ kiểm tra mẫu một lần để xác định Oocyst có Sporocyst.

f) Một số phương pháp nhuộm ký sinh :

(1) Nhuộm Eosin:

- Pha dung dịch Eosin thành 2%,
- Lấy chất chưa cô định lên lame.
- Nhỏ dung dịch Eosin 10 phút - 2 giờ tùy theo nguyên bào mà nhuộm lâu hay mau.
- Rửa nước và quan sát. Nguyên bào còn sống không bắt màu, nguyên bào chết bắt màu rõ.

(2) Nhuộm Lugol - Iodine:

Iodine tinh thể 1-3,7 gam.

Iodua potassium	1 - 2 gam
Nước cất	100 ml.

Pha thật kỹ cho tan. Khi trộn cần trộn kỹ hay nhỏ kỹ dung dịch với chất cần nhuộm vì Iodine có tác dụng gây đông, dễ gây kết tủa thành phần các chất trong mẫu nhuộm.

(3) Nhuộm Haematoxylin:

Phương pháp này dùng để nhuộm bệnh phẩm lỏng như dung dịch nhày các lỗ tự nhiên, đờm mủ, dịch nuôi cấy. Haematoxylin bị oxy hoá mạnh sẽ tạo thành Hemantein. Thực chất các phương pháp nhuộm này là nhuộm Hemantein. Cố định tiêu bản bằng dung dịch Duboseq Brasil hoặc dung dịch Bouin hay Goodrich (là dung dịch Bouin có thêm 10% dung dịch Lugol). Sau đó cố định xong nhuộm bằng hai cách.

(a) Phương pháp Heidenhain :

- Cố định tiêu bản, nhúng qua dung dịch Lugol Iodine và cồn 70%,
- Cho vào cồn 50%, 5 phút.
- Cho vào cồn 30%, 5 phút.
- Rửa nước cất hay nhúng 5 phút.
- Cho vào dung dịch tím violet, 1 giờ.
- Ngâm nước 1 phút.
- Cho vào dung dịch Hematoxylin, 2 Giờ.
- Rửa nước cất.
- Nhúng vào dung dịch acid picric 10 phút cho đậm màu.
- Rửa nước cất hai lần.
- Rửa nước cất cho hết acid picric.
- Cho vào cồn 30%, 5 phút.
- Cho vào cồn 50%, 5 phút.
- Cho vào cồn 70°C, 5 phút.

(b) Phương pháp Dobeli:

Dobeli cải tiến phương pháp nhuộm Heidenhain bằng cách sau khi nhuộm Haematoxylin, rửa bằng cồn 70% mà không rửa nước sau đó cho vào dung dịch Amonium sulfate 1% hòa tan trong cồn 70%.

Tiếp tục cho vào dung dịch Haematoxylin trong 10 phút rồi rửa bằng cồn 70%. Phân màu bằng dung dịch Amonium sulfate pha với cồn 70% có thêm 0,6% HCl, sau đó rửa cồn 70% và đem kiểm tra.

(4) Nhuộm Methylen Bleu:

dùng để nhuộm đơn bào sống. Dung dịch pha nồng độ 1/10.000. nhỏ dung dịch này vào tiêu bản quan sát thành phần của nguyên bào. Nên coi ở giai đoạn 2. Giai đoạn tích lũy hóa chất. Nếu coi quá sớm việc bắt màu không rõ, nếu coi quá muộn sẽ biến đổi hình thái cấu tạo của nguyên bào. Cũng có thể dùng phương pháp nhuộm Ziehl - Neelsen để nhuộm nguyên bào.

Ngoài ra còn dùng các phương pháp nhuộm khác:

- Feulgen stain.
- Bodian Silver Impregnation chuẩn đoán Flagella.
- Giemsa stain for tissue sections nhuộm Giemsa tiêu bản tổ chức tế bào.

g) Môi trường nuôi cấy Protozoa:

- NNN (Novy, McNeal and Nicole) Medium để nuôi cấy Leishmania gồm

:

Sodium chloride	6 gam
Agar	14 gam
Nước cất	900ml

- Weinman's Trypanosome Medium để nuôi cấy Trypanosome gồm :

Nước thịt bò	3 gam
Bacto peptone	5 gam
Sodium chloride	8 gam
Agar	15 gam
Nước	1 lít

- RES (Ringer's Egg - Serum) Medium dùng cho Protozoa đường ruột gồm

:

Dung dịch Ringer vô trùng	500 ml
Dung dịch glucose 10% vô trùng	10 ml
Serum vô trùng	10 ml

- Balamuth's Ameba Medium dùng cho ký sinh đường ruột.

- CPLM (Cystein - Peptone - Liver Infusion Maltose) Medium dùng cho Trichomonas và các loài nguyên bào đường ruột :

Bacto liver bột	20 gam
Nước cất	330 ml
Cysteine monohydrochloride	2,4 gam
Peptone	32 gam
Maltone	1,6 gam
Agar	1,6 gam
Ringer's dung dịch	960 ml

- BGPS (Beef Extract - Glucose -Peptone - Serum) Medium dùng để nuôi cấy Tritrichomonas foetus và các loại Trichomonas khác :

- Diamond's Trichomonas Medium dùng cho Trichomonas :

Trypticase (BBL)	2 gam
Men chiết xuất	1 gam
Maltose	0,5 gam
L - cysteine hydrochloride	0,1 gam
Ascorbic acid	0,02 gam
K ₂ HPO ₄	0,08 gam
KH ₂ PO ₄	0,08 gam
Nước cất	90 ml

Điều chỉnh pH bằng NaOH 1N để cho pH = 6,8 - 7,0. Đối với *Trichomonas vaginalis* phải điều chỉnh pH = 6,0 dùng HCl 1N cho thêm 1,05 gam agar hấp trong autoclave trong 10 phút, để nguội 48°C và cho thêm các chất sau :

- * Huyết thanh cừu (hấp ở 56°C trong 30 phút)
- * Potassium penicillin G 100.000 unit
- * Streptomycin sulfate 0,1 gam
- RSS (Ringer's Serum - Starch) Medium dùng cho *Balantidium coli*

CÔNG THỨC CỦA CÁC MÔI TRƯỜNG

- D'Antoni's Iodine Solution :

Bột iodine	1,5 gam
Dung dịch KI 1%	100 ml

- Lugol's Iodine Solution :

Potassium iodine	10 gam
Bột iodine	0,5 gam
Nước cất	100 ml

Hòa tan Potassium Iodine trong nước trước khi cho Iodine vào.

- Carnoy's Fixative :

Ethyl alcohol 100%	60 ml
Chloroform	30 ml
Acid acetic	10 ml

- Hollande's Fixative :

Picric acid	4 gam
Copper acetate	2,5 gam
Formalin (38%)	10 ml
Acid acetic	1,5 ml
Nước cất	100 ml

- Schaudinn's Fixative :

Dung dịch HgCl ₂ bão hòa	66 ml
Methyl alcohol 95%	33 ml
Acid acetic 5%	1 ml

- Iron Alum Solution :

Ferric ammonium sulfate	2 gam
Nước cất	100 ml
Lọc trước khi dùng.	

- Heidenhain's Hematoxylin :

Hematoxylin	10 gam
Methyl Alcohol 100%	100 ml

- Feulgen Stain

- Balamuth's Buffer Solution :

1,0 M K_2HPO_2 (174,18 g/1 lít nước)	4,3 phần
1,0 M KH_2PO_2 (136,092 g/1 lít nước)	0,7 phần

Khi dùng một phần dung dịch trên pha với 14 phần nước.

- Ringer's solution :

NaCl	6,5 gam
NaHCO ₃	0,2 gam
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,16 gam
KCl	0,14 gam
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	0,011 gam
Nước cất	1000 ml

- Sheather's Sugar Solution :

Fructose	500 gam
Nước cất	320 ml
Phenol	6,5 gam

- Zinc Sulfate bão hòa :

ZnSO ₄ .7H ₂ O	331 gam
Nước cất	1000 ml

- Dung dịch giun sán :

Alcohol 95%	70 phần
Glycerine	5 phần
Formaldehyde	3 phần
Nước cất	2,2 phần

- Dung dịch bảo quản sán lá dây :

Formalin	6 phần
Acid acetic	1 phần
Alcohol 95%	20 phần
Nước cất	40 phần

- Dung dịch May Grunwald :

Bột May Grunwald	3,8 gam (0,25%)
Methyl alcohol	1500 ml

Ngoài ra còn dùng một số môi trường để nuôi cấy Protozoa như môi trường trứng đông, Boeck và Debohlaw, Locke, môi trường có thạch, thạch máu, môi trường có Asparagin, môi trường huyết thanh đông. Dobell và Laidlaw, huyết thanh ngựa làm đông, Simitch, Sadum, Dodin, Lamy, Palova, Dolkart, Shaffer, Snyder, Kesel, Zuckerman, Hogue, môi trường thạch tế bào côn trùng v.v...

B. KHI GIA SÚC CHẾT :

Khi gia súc chết mổ khám tìm ấu trùng, tìm giun sán trưởng thành ở bên trong các cơ quan của gia súc. Thường áp dụng các phương pháp mổ khám toàn diện hay mổ khám từng phần của Viện Stry Skryabin.

1. Phương pháp mổ khám toàn diện :

Quan sát dưới da, kiểm tra mắt, niêm mạc mắt, lưỡi v.v...

a) Cơ quan tiêu hóa :

Tách riêng từng bộ phận của cơ quan tiêu hóa cho vào xô hoặc chậu, quan sát mặt ngoài để tìm ấu trùng, giun trưởng thành và Cyst. Toàn bộ chất chứa được thu giữ để làm phương pháp lắng gạn. Các cơ quan sau khi đã thu chất cần vuốt niêm mạc và kiểm tra toàn bộ các cơ quan này. Thu lượm giun. Gan cần cắt dọc theo các ống dẫn mật và túi mật để tìm sán hoặc giun, quan sát mặt gan, sau đó cắt nhỏ hoặc bóp nát ngâm trong nước muối sinh lý 10 -20 phút. Lắng gạn tìm ký dinh. Tuyến tụy làm giống gan. Các chất chứa được kiểm tra bằng từng đĩa petri cho đến khi xong hết toàn bộ chất chứa để thu lượm giun.

b) Cơ quan hô hấp :

Quan sát mặt phổi, phế nang, kiểm tra khí quản, phế quản thu lượm giun sán. Sau khi kiểm tra xong cũng bóp nát phổi làm phương pháp lắng gạn.

c) Cơ quan sinh dục tiết niệu :

Kiểm tra lớp mỡ xung quanh thận, ống dẫn niệu để tìm giun thận. Kiểm tra bàng quang niệu đạo. Chất chứa trong bàng quang làm phương pháp lắng gạn, nạo niêm mạc tử cung nuôi cấy tìm Protozoa. Đối với gia súc kiểm tra ống dẫn trứng, ổ nhớt, túi Fabricicus tìm sán lá.

d) Hệ thần kinh tủy sống :

Kiểm tra các dịch khớp xương, tủy xương, để tìm các ấu trùng của côn trùng. Kiểm tra não bộ tìm ấu trùng sán dây.

e) Hệ tuần hoàn :

Quan sát mặt tim để quan sát gạo. Bỏ đôi tim quan sát nội tâm mạc để tìm giun chỉ. Quan sát kỹ các động mạch nếu có nốt kết hạt hay khối u kiểm tra tìm giun chỉ và sán máng hoặc lấy máu làm phương pháp lắng gạn tìm Schistoma và các Microfilaria. Cần kiểm tra thêm các xoang bụng, xoang phế mạc và các nốt hay tổ chức xơ xung quanh động mạch, phổi và ruột để tìm giun chỉ ký sinh trong các xoang và các tổ chức.

f) Hệ cơ và da :

Quan sát tổ chức dưới da, nếu có những hạt hay khối u cần cắt ra để kiểm tra ấu trùng và một số giun chỉ ở bên trong. Quan sát các cơ vân, cơ trơn bằng mắt thường để tìm Cysticercus và Sarcocyst hay các dạng Cyst của nguyên bào. Đối với những Microcyst hoặc ấu trùng Trichinella spiralis phải kiểm tra bằng 2 phương pháp sau.

(1) Phương pháp ép cơ :

Cắt cơ hoành hoặc cơ nào có nhiều ký sinh (tùy theo từng loại bệnh) khoảng 40-50 gam. Dùng kéo cắt 24 miếng nhỏ cho lên 24 ô của phiến kính thủy tinh dày, ép mạnh hai đầu phiến kính cho miếng cơ bị ép mỏng ra. Kiểm tra dưới kính hiển vi độ phóng đại 10x10 hoặc 10x40. Do số lượng cơ ít do vậy độ chính xác không cao.

(2) Phương pháp tiêu cơ :

Phương pháp này cho độ chính xác cao hơn vì số lượng cơ lấy được nhiều hơn. Lấy 10-50 gam cơ hoành, cơ vân, cơ thực quản hay cơ lưỡi cho vào lọ thủy tinh. Cho vào lọ 10-20 ml dung dịch tiêu cơ gồm :

Men pepsin	1%
HCl	1%
NaCl	0,2%
Nước	97,8%

Để ủ ấm 37°C - 38°C trong 6-12 giờ. Cơ thịt bị tiêu hóa và cắt nhỏ ra để lộ ấu trùng. Lấy cặn kiểm tra độ phóng đại 10x10 hoặc 10x40 để tìm ấu trùng và các dạng Cyst. Nếu không có men pepsin lấy chất chứa và cạo niêm mạc bao tử heo cho vào dung dịch. Nếu không có tủ ấm vùi lọ xuống tro bếp ấm.

V. MỘT SỐ XÉT NGHIỆM CẦN THIẾT KHÁC :

1. Xét nghiệm đất :

Phương pháp này dùng để xét nghiệm đất bề mặt, đất ở sâu, hoặc phân ủ nhằm xác định sự cảm nhiễm của ấu trùng.

a) Kỹ thuật Đặng Văn Ngữ ;

Dùng chổi quét nhẹ trên mặt của đất cần xét nghiệm. Đất thu hồi được trộn đều và bỏ bớt các cục đá, sỏi, hoặc que cây trong mẫu. Sau đó cân 5-10 gam đất. Cứ 5 gam đất cho thêm 3 gam NaCl nhỏ và mịn trộn đều, đặt lên phễu thủy tinh và đặt lên giá. Dưới đất phễu có hứng bằng lọ thủy tinh hay ống nghiệm. Dùng hệ thống nhỏ giọt từ từ vào phễu sao cho 1-2 giờ lượng NaNO_3 trong hệ thống nhỏ giọt sẽ làm đầy ống nghiệm ở dưới. Dùng vòng vớt lớp váng hay lớp màng của ống nghiệm hay lọ cho lên lame kính và đem kiểm tra.

b) Kỹ thuật Spindler :

Dùng Antiformin 30% để tách trứng. Sau đó làm nổi trứng bằng Natribicarbonate (tỷ trọng 1,35). Cuối cùng ly tâm và thu hồi trứng trên mặt dung dịch.

c) Kỹ thuật Gefter :

Dùng NaOH 5% để tách trứng (dùng máy lắc). Làm nổi trứng bằng dung dịch NaNO_3 (tỷ trọng $D= 1,39$). Ly tâm và thu hồi trứng bằng cách ép lame kính lên miệng ống ly tâm.

2. Xét nghiệm nước :

Phương pháp này dùng để xét nghiệm nước sông, nước hồ, nước ao, nước giếng, nước thải. Mỗi nguồn nước nên lấy ở nhiều địa điểm. Mỗi mẫu lấy từ 10-15 lít, để dụng cụ lấy nước ở độ sâu 20-30 cm cách mặt nước.

- Đánh phèn để lắng 1 giờ

- Gạn nước ở trên đi,

- Lấy cặn cho vào ly nhỏ để lắng 2-4 giờ,

- Dùng pipet hút cặn cho lên đĩa lồng hoặc lame kính để xét nghiệm. Phải xét nghiệm hết cặn.

3. Xét nghiệm rau :

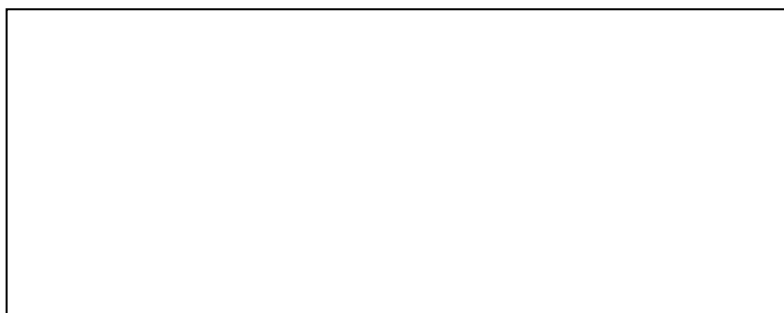
Kỹ thuật xét nghiệm trứng giun sán ở trong rau có thể dùng kỹ thuật của Stivel. Thái nhỏ rau để xét nghiệm hoặc rửa rau để xét nghiệm.

Lấy 500 gam rau rửa trong một chậu nước chứa 2 lít nước. Rửa từng lá hoặc từng cọng không bỏ sót rau. Mỗi rau rửa từ 2-4 lần. Nước rửa để lắng 6-10 giờ. Sau đó gạn lớp nước ở trên đi, lấy phần cặn ở dưới cho vào ống nghiệm đem ly tâm cặn để xét nghiệm. Khi xét nghiệm nên trộn với vài giọt Lugol trong 50% glycerin để phát hiện bào nang.

4. Xét nghiệm ấu trùng trên đồng cỏ :

Phương pháp này dùng để xác định larvae III ở trên đồng cỏ hoặc những nơi chăn thả, những vị trí xung quanh chuồng nuôi. Tuy nhiên số lượng ấu trùng này phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố. Ngay tại một thời điểm, ngay tại một vị trí, số lần lấy mẫu khác nhau sẽ cho kết quả khác nhau. Do vậy nên lấy nhiều thời điểm và trên nhiều vị trí khác nhau.

- Chọn mẫu cỏ thấp ở những vị trí khác nhau một cách ngẫu nhiên. Những vị trí này nên chọn cắt theo hình chữ W hoặc N. việc thu thập thực hiện bằng tay hay bằng kéo.



- Mỗi lần lấy 300 gam - 600 gam cỏ tươi cho vào túi nylon,
- Về phòng đặt cỏ này vào lưới cho vào xô nước. Nên để túi lưới cách đáy xô một đoạn chừng 5 cm. Trong 3-4 giờ đầu tiên nên nhấc lên nhúng xuống vài lần sau đó nhúng để qua đêm,
- Sáng hôm sau cho vùi nước chảy rửa lại cỏ. Nước rửa được hứng dưới xô,
- Túi cỏ được để khô bằng cách phơi hay sấy,
- Để xô 15-20 phút sau đó gạn hết nước ở trên để lại 1 lít trong xô. Cho lên phễu để lắng một vài giờ,
- Lấy 15 ml dung dịch trên cho vào ống nghiệm và để yên 1 giờ (chất lắng cặn của phễu thủy tinh ở trên),
- Cho vài giọt dung dịch Iodine vào ít nhất 1 giờ,
- Đếm và xác định ấu trùng qua kính hiển vi,
- Số lượng ấu trùng được tính trên 1 kg cỏ khô.

VI. BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA:

Do sự phân bố rộng khắp, do tính chất đa dạng và phức tạp trong quá trình phát triển của ký sinh, việc phòng ngừa là rất cần thiết.

A. PHÒNG CHỐNG BẰNG THUỐC:

Thuốc diệt ký sinh và thuốc tẩy ký sinh hiện nay được sử dụng khá rộng rãi và phổ biến. Biện pháp dùng thuốc thường có hiệu quả và được ứng dụng trong thực tế nhiều lần. Điểm bất lợi của việc dùng thuốc là ký sinh có hiện tượng kháng thuốc và quen thuốc. Thuốc dùng vừa có tác dụng trị bệnh vừa có tác dụng phòng, thuốc có thể diệt dạng trưởng thành, dạng chưa trưởng thành, dạng còn non hay ấu trùng. Thuốc có thể dùng cho ăn, cho uống, chích, phun xịt, tắm, xông, xoa, đeo tai, đeo cổ v.v... Một số thuốc dùng như sau :

THUỐC CHỐNG GIUN SÁN

1. Nhóm Piperazin:

tác dụng làm tê liệt giun sán bởi tác động Anticholinergic ở đầu mút thần kinh cơ. Muối Piperazin được sử dụng rộng rãi chống giun đũa trong khi đó Diethylcarbamazine được sử dụng rộng rãi chống giun phổi và giun chỉ.

2. Nhóm Imidazothiazol hoặc Tetrahydropirimidine:

Thuốc tổng hợp phong bế nơron thần kinh cơ của ký sinh và vật chủ. Độ an toàn có khuynh hướng hẹp hơn các nhóm khác. Thuốc dùng để trị các loại giun tròn đường tiêu hoá. Các thuốc trong nhóm này gồm:

- | | |
|---------------|---------------|
| - Tetramisole | - Thelmisole |
| - Levamisole | - Nemisole |
| - Levomisole | - Tetravermex |
| - Levaject | - Morantel |
| - Nilverm | - Pyrantel |

3. Nhóm Benzimidazole hoặc Probenzimidazole:

nhóm này tác động tổng hợp lên tế bào giun sán ngăn chặn sự hấp thu glucose do vậy làm chết đói ký sinh. Thuốc ít động khi tăng liều gấp 10 lần cũng không gây ảnh hưởng. Sự đề kháng với thuốc xuất hiện khi dùng lặp lại ở các lần sau. Một số thuốc tác dụng chống lại sán dây và sán lá gan. Các thuốc nhóm này gồm:

- | | |
|-------------------|----------------|
| - Thiabendazole | - Albendazole |
| - Mebendazole | - Oxibendazole |
| - Parbendazole | - Cambendazole |
| - Fenbendazole | - Glubendazole |
| - Oxfendazole | - Febantel |
| - Thiophanate | - Netobimi |
| - Triclabendazole | |

4. Nhóm Avermectin:

Nhóm này bắt nguồn từ sản phẩm của nấm *Streptomyces avermitilis* được chiết xuất ở Nhật vào năm 1975. Chỉ có một thuốc trong nhóm này là Ivermectin có tác động ở liều rất thấp. Không những chỉ đối với Nematoda có tác động với

Arthropoda. Thuốc tồn tại trong mỡ và có tác động ít nhất 2 tuần sau đó cho uống. Thuốc tác động bởi sự gắn chặt với GABA (Gamma Amino Butyric Acid) trong Synapse thần kinh. GABA giữ vai trò chuyển vận trung gian. Khi tín hiệu bị phá vỡ giun sán sẽ tê liệt.

5. Nhóm Organophosphate:

Thuốc tổng hợp từ phosphate hữu cơ chống lại Nematoda. Thuốc tác động ngăn trở sự hoạt động của men Cholinesterase làm men này không phân giải được Acetylcholine, làm tăng co bóp, tê liệt và đẩy giun sán ra ngoài. Nhóm này có độc tố, diệt được cả Insecta, Arthropoda và Larvae của côn trùng.

- Dichlovos
- Haloxon
- Trichlorphon
- Metriphonate
- Dipterex

6. Nhóm Salicylanilide:

sự tác động của nhóm này chưa rõ. Thuốc ngăn trở sản phẩm ATP trong ký sinh không ghép nối được với quá trình phosphoryl hoá. Thuốc được sử dụng rộng rãi chống Fasciola. Mặc dù Nitroscanate được ghi chú để điều trị giun tròn và sán dây ở chó và Niclosamide được dùng rộng rãi chống sán dây ở gia súc, gia cầm. Các thuốc trong nhóm này gồm:

- Nitroscanate
- Closantel
- Nitroxynil
- Rafoxanide
- Oxyclozanide
- Brotianide
- Diamphenethide
- Niclofolan
- Niclozamide

7. Các nhóm khác:

- Clorsulon
- Praziquantel
- Bunamudine
- Arecoline

Tác động của các nhóm này chưa rõ, thuốc dùng để trị sán dây. Praziquantel gây tê liệt co cứng tế bào của ký sinh.

THUỐC TRỊ ARTHROPODA

Việc khống chế Ectoparasite chủ yếu dựa vào việc dùng thuốc. Có khoảng 150 triệu tấn được bán hàng năm. Một số nhóm thuốc được dùng là:

- Organochlorine
- Organophosphate
- Pyrethoid
- Carbamate
- Formamidine
- Triazine
- Benzyl Benzoate
- Closantel
- Pyrethoid Tổng Hợp
- Rotenone
- Ivermectin

việc dùng thuốc diệt côn trùng được áp dụng khá rộng rãi. Việc sử dụng đa dạng bằng cách buộc bằng, buộc vào tai, buộc vào đuôi, vòng đeo cổ, phun, quét sơn, bã bẫy cho ăn, tắm, nhúng, bôi, phun xịt, phun sương, đổ v.v...

a) Organoclorine bao gồm: O.C.s

- DDT (Dichlor Diphenyl Trichlorethane)
- B.H.C (H.C.H) (Hexachlorocyclohexane)
- Dieldrin
- Aldrin
- Bromocyclen
- Toxaphene

những loại thuốc này có lợi điểm là hiệu quả của thuốc kéo dài do sự tồn tại của thuốc. Điều bất lợi có thể lẫn vào thức ăn và lưu giữ trong tế bào tổ chức, gia súc dễ bị trúng độc.

b) Organophosphate (O.P.s)

- | | | |
|---------------------------------|---------------|--------------------|
| - Dichlofos | - Coumaphos | - Ronnel |
| - Fenthion | - Crotoxyphos | - Tetrchlorvinphos |
| - Iodofenphos | - Cruformate | - Trichlorfon |
| - Malathion | - Cythioate | |
| - Phosmet | - Diazinon | |
| - Propetamphos - Dichlofenthion | | |
| - Chlorfenvinphos | - Amitraze | |

thuốc nhóm này tồn tại ở ngoài da, lông của gia súc một thời gian nhưng chỉ tồn tại trong tế bào tổ chức của gia trong một thời gian ngắn. Hiệu quả của thuốc chỉ đạt được trong 24 giờ. Thuốc nhóm này ngăn cản men Cholinesterase. Nếu trúng độc gây co giật và tiêu chảy.

c) Pyrethroid tổng hợp:

- | | |
|----------------|---------------|
| - Deltamethrin | - Fenvalerate |
| - Permethrin | - Cyhalothrin |
| - Cypermethrin | |

hiệu quả của nhóm thuốc này là xua đuổi do vậy nó tồn tại lâu ở lớp da và lông nhưng không tồn tại trong tổ chức. Thuốc đặc trị các loài hút máu như chấy, ghẻ, ve, ruồi v.v... Pyrethroid tác động như là độc tố của Neuron lên cơ quan cảm giác và vận động của thần kinh nội tiết và hệ thống thần kinh trung ương của côn trùng ... Tất cả các Pyrethroid đều hướng mỡ. Một số loài khác có khả năng xua và hạ gục nhanh. Thuốc an toàn thường được treo ở tai hay buộc ở đuôi.

d) Nhóm Carbamate:

- | | |
|------------|---------------|
| - Butocard | - Carbanolate |
| - Carbaril | |

nhóm này rất quan trọng trong việc phòng chống Ectoparasite ở gia cầm. Cách tác động như là Organophosphate và độc tố cũng tương tự.

e) Avermectin:

thuốc có hiệu quả ở liều rất thấp chống lại Ectoparasite khi cho uống hoặc bôi ở ngoài. Gần đây không được sử dụng một cách rộng rãi. Thuốc chống lại các giai đoạn nằm ở tổ chức. Thuốc an toàn và có tác dụng sau khi cho uống hoặc tiêm từ 3-4 tuần. Ngoài ra thuốc còn khống chế cả sự nở của trứng.

B. PHÒNG CHỐNG BẰNG VACCINE:

Vaccine chống ký sinh không có hiệu quả bằng vaccine chống vi khuẩn virus. Do tính chất của ký sinh rất đa dạng, do trong quá trình phát triển phải trải qua nhiều giai đoạn, luôn luôn lột xác, sự định vị của ký sinh cũng đa dạng hơn, do tính chất miễn dịch của ký sinh là miễn dịch mang trùng, miễn dịch phần lớn là ở giai đoạn ấu trùng nên hiệu quả của vaccine kém. Việc sử dụng chưa được rộng rãi, việc sản xuất vaccine gặp khá nhiều phức tạp. Ngay cả những nguyên bào cũng có khả năng thay đổi kháng nguyên, hấp thụ kháng nguyên của cơ thể gia súc lên bề mặt và khả năng bắt chước kháng của cơ thể vật chủ. Việc sử dụng vaccine là xu hướng tiến bộ hiện nay nhằm ngăn chặn bệnh ký sinh. Kỹ thuật sản xuất vaccine theo các hướng sau:

1. Dùng tia gamma làm yếu ấu trùng:

phương pháp nhằm làm cho ký sinh không đủ khả năng gây bệnh cho vật chủ đồng thời kích thích khả năng gây miễn dịch. Vaccine dạng này được sử dụng trên thị trường và gồm các dạng sau:

Vaccine chống *Dictyocaulus viviparus*

D.filaria

Ansylostoma caninum

Ngoài ra còn có một số loại vaccine phòng chống các loại bệnh như *Syngamus trachea*, *Ascaridia galli*, *Ascaris suum*, *Schistoma matheei* ở cừu, *Dirofilaria immitis*, *Brugia malayi*, *Eimeria tenella*, *E.mieschulzi* ở chuột, *Plasmodium faliiparum* ở người. *P.berghei* ở chuột, *Trypanosoma brucei evanisi*, *Babesia bovis*, *B.divergens*, v.v...

2. Nuôi cấy liên tục qua môi trường tổ chức tế bào:

Dùng các môi trường tổ chức nuôi cấy nhiều đời sẽ làm giảm độc lực của mầm bệnh, sau đó chích hoặc cho gia súc ăn. Vaccine dạng này đã làm cho tình trạng bệnh lý giảm nhưng vaccine không có hiệu quả. Vaccine dạng này gồm có: *Theileria parva*.

3. Dùng độ nóng sản xuất vaccine:

sử dụng độ nóng 40°C - 45°C sẽ làm giảm khả năng gây bệnh của *Oocyst*. Khi cho gia cầm ăn sẽ tạo được trạng thái miễn dịch. Vaccine dạng này gồm *Eimeria* ở gia cầm, *E.mieschulzi* ở chuột.

4. Vaccine độc lực cao:

Dùng các loại mầm bệnh có độc lực gây bệnh cho gia súc, hoặc lấy máu từ vật mắc bệnh gây nhiễm cho động vật cảm thụ khác. Sau 3-5 ngày sau khi gây nhiễm dùng thuốc đặc hiệu trị bệnh sẽ gây được đáp ứng miễn dịch tốt. Một

số loại ký sinh đường máu dùng loại vaccine này như Trypanosoma, Babesia và Theileria.

5. Vaccine chết :

Vaccine dạng này ít được sử dụng, có đáp ứng miễn dịch với Protozoa và Metazoa ở dạng đáp ứng miễn dịch trung gian tế bào. Việc sử dụng dung dịch chất của Onchosphere có tác dụng chống lại sự xâm nhiễm của Onchosphere lần sau. Vaccine dạng này được dùng trong các bệnh do Taenia ovis và Leishmania donovani.

6. Vaccine vi khuẩn :

Do phải sử dụng một số lượng lớn ấu trùng hay mầm bệnh để sản xuất kháng nguyên, người ta có thể tổng hợp những kháng nguyên có cấu trúc tương tự như kháng nguyên của ký sinh nhờ đó gây được đáp ứng miễn dịch cho vật chủ. Một hướng khác dùng gen mã protein của Eimeria ở gia cầm đưa vào tế bào vi khuẩn. Tiến hành nuôi cấy vi khuẩn tạo vaccine chống bệnh cầu trùng ở gà.

7 . Vaccine qua kỹ thuật di truyền :

Dùng kỹ thuật di truyền để tổng hợp kháng nguyên.

Để tạo cá thể mới có sức đề kháng với bệnh như ở Plasmodium.

C. PHÒNG CHỐNG BẰNG VỆ SINH MÔI TRƯỜNG :

Biện pháp vệ sinh môi trường là biện pháp được thực hiện liên tục và thường xuyên, phạm vi ứng dụng rộng, có thể cắt đứt nhiều khâu trong quá trình phát triển của mầm bệnh. Nếu chỉ áp dụng biện pháp này trong phạm vi vĩ mô sẽ gặp nhiều khó khăn vì chi phí cao, công lao động nhiều do vậy phải thực hiện kết hợp với các biện pháp khác. Tùy điều kiện cụ thể mà áp dụng cho chuồng nuôi, thức ăn nước uống và môi trường bên ngoài. Các biện pháp cần thực hiện sau đây

1. Giảm độ ẩm để diệt mầm bệnh. Chuồng trại luôn khô ráo.

2. Tăng nhiệt độ để diệt mầm bệnh. Biện pháp này sử dụng phương pháp ủ phân nhiệt sinh học. Nhiệt độ trong đống phân có thể lên đến 65⁰C do vậy diệt được trứng và ấu trùng giun sán.

3. Dùng tia tử ngoại để diệt. Chuồng nuôi nên có ánh sáng chiếu trực tiếp vừa diệt được mầm bệnh vừa tạo cho gia súc tổng hợp được Vitamin D chống còi xương và mềm xương.

4. Dùng hóa chất diệt mầm bệnh ở môi trường bên ngoài và chuồng nuôi. Các hóa chất, thuốc sát trùng, các hóa chất acid, bazơ được sử dụng để diệt Larve và trứng.

5. Diệt vật chủ trung gian và môi giới. Sử dụng các biện pháp vệ sinh, thủy lợi, sinh học, hóa chất để diệt vật chủ trung gian.

6. Vệ sinh thức ăn, nước uống và chất độn chuồng. Thức ăn nước uống phải sạch, máng ăn, máng uống phải thường xuyên được dọn rửa. Phân rác, chất độn chuồng định kỳ thay thế.

7. Vệ sinh chăn thả, không nên chăn thả gia súc nơi đồng cỏ lây lợi. Nếu cần thiết phải luân phiên bãi chăn thả.

8. Nuôi dưỡng chăm sóc tốt để nâng cao sức đề kháng.

9. Có biện pháp quản lý đàn tốt.

10. Cải tạo sinh thái.

11. Có kế hoạch dùng thuốc chặt chẽ.

12. Tăng cường kiểm soát sát sinh, xử lý chặt chẽ các cơ quan có mầm bệnh và các gia súc bệnh.

D. MỘT SỐ BIỆN PHÁP KHÁC :

Những biện pháp phòng chống sinh học là những biện pháp mà các nhà kỹ sinh mong đợi trong tương lai. Trong thực tế các biện pháp này sử dụng chưa được nhiều. Các biện pháp này bao gồm :

1. Phòng chống bằng thiên địch ;

Sử dụng các loại côn trùng, động vật có xương sống ăn thịt hoặc tấn công mầm bệnh như ve, ruồi, mòng v.v... Ví dụ như dùng chim sáo ăn ve, nuôi dơi ăn muỗi, cá ăn larve của muỗi, côn trùng ăn Larve của ruồi, vịt ăn ốc v.v...

2. Gây bệnh cho vật chủ trung gian :

Bằng các loại nấm, nguyên bào, vi khuẩn, virus v.v... nhờ đó mà diệt được mầm bệnh ký sinh.

3. Kỹ thuật di truyền và phóng xạ :

Dùng đột biến phóng xạ để tạo ra loài côn trùng có sức ái cảm với các loài côn trùng gây bệnh và truyền bệnh trong thiên nhiên. Từ đó sinh ra các thế hệ sau toàn đực hoặc toàn cái, hoặc không có khả năng sinh sản.

Chuyển ghép gen để tạo ra loài côn trùng không có khả năng sinh sản và gây bệnh, tạo ra loài gia súc có khả năng đề kháng cao với mầm bệnh ký sinh.

Ngoài các kỹ thuật trên, các kỹ thuật khác cũng được sử dụng như cải tạo điều kiện tiểu khí hậu, cải tạo sinh thái, lai tạo giống, chọn giống, sử dụng trồng các loại thảo mộc có tác dụng xua và diệt mầm bệnh. Các biện pháp khác về quản lý đàn gia súc cũng được áp dụng có hiệu quả.

VII. THU LƯỢM BẢO QUẢN VÀ XỬ LÝ MẪU VẬT :

1 Thu lượm và bảo quản :

Tất cả giun sán trong mỗi một cơ quan của gia súc được thu lượm để riêng biệt. Trong mỗi cơ quan các lớp Trematoda, Cestoda, Nematoda, Acanthocephala cũng phải để riêng nhau. Các cơ quan của gia súc mổ khám khác ỹng phải để riêng biệt, không để chung nhiều con cùng cơ quan với nhau.

Giun sán để chết tự nhiên trong nước thường sau đó bảo quản trong các dung dịch sau :

Barbagallo gồm :

NaCl	8,5 gam
Nước cất	970 ml
Formol	30 ml

Dung dịch này bảo quản giun tròn :

- Đối với giun đầu gai bảo quản trong cồn 70⁰
- Đối với sán lá, sán dây bảo quản trong cồn 70⁰
- Đối với côn trùng :

* Ruồi mòng dùng kim gút ghim xuyên qua phần ngực của côn trùng sau đó ghim xuống miếng xốp ở đáy ống nghiệm. Đậy nắp và cho thêm một vài giọt Formol.

* Acaria giữ trong cồn 70⁰, việc giữ trong cồn sẽ làm mất màu tiết túc, cần cho vào dung dịch 0,1% Eosine được tạo màu hoặc thay cồn bằng dung dịch glucose 10%.

+ Bảo quản theo kỹ thuật Maltais :

Phương pháp này giữ cho tiết túc mềm. Dung dịch Maltais gồm :

Đường	10 gam
Formol	5 ml
Acid acetic	2 ml
Chất ngấm Vatsol O.T	5 giọt

+ Bảo quản theo kỹ thuật Imms :

Tiết túc được mổ heo phía bờ thân và ngâm vào dung dịch có 5% chloral hydrate + nước cất. Đun nhẹ trong 1 phút. Sau đó để khô 5 phút trên giấy thấm. Tiếp tục ngâm vào dung dịch chloral hydrate 5% trong một tuần lễ. Lấy tiết túc ra để khô rồi ngâm lần thứ 3 lâu dài trong dung dịch chloral hydrate 5%.

+ Bảo quản theo kỹ thuật Sikova :

Phương pháp này giữ cho tiết túc nguyên hình, không biến dạng, không đổi màu. Trước khi bảo quản ngâm tiết túc vào trong dung dịch Leeuwen :

Alcohol 100%	6 phần
Cloroform	1 phần
Formol	1 phần
Nước	100 phần

Sau đó ngâm vào dung dịch acid acetic và acid picric. Nếu tiết túc đã cắm kim thì không ngâm vào dung dịch này. Làm kiệt nước bằng cách ngâm qua alcohol 95%. Sau đó ngâm qua alcohol 100%.

Sau khi khử nước dần dần cho vào Terpeneol có những đậm độ khác nhau từ loãng đến nguyên chất. Khi chuyển cần chuyển chậm để cho Terpeneol ngấm vào thân tiết túc.

2. Xử lý mẫu vật :

a) Đối với bệnh phẩm ;

Những mẫu bệnh phẩm làm bệnh tích vi thể hoặc mẫu vật lưu giữ phải ngâm trong dung dịch formol 10%.

Formol 38%	1 phần
Nước	9 phần

Sau 12-24 giờ phải thay dung dịch bảo quản. Nếu mẫu vật quá lớn sau 12-24 giờ thay lần nữa. Chú ý nắp lọ phải kín. Nếu không kín nên quét parafin.

b) Đối với giun tròn :

Nếu giữ lâu nên bảo quản trong dung dịch Barbagallo.

Nếu muốn phân loại giun tròn phải được đặt lên lame kính. Mỗi lame nên đặt từ 2 đến 3 giun và phải đánh dấu. Sau đó làm trong suốt bằng các dung dịch sau :

- Dung dịch lactophenol

Glycerine	2 phần
Acid lactique	1 phần
Phenol	1 phần
Nước	1 phần

- Hoặc làm trong bằng dung dịch acid lactique và glycerin :

Acid lactique	1 phần
Glycerin	1 phần

Nhỏ mộ trong hai dung dịch trên lên giun tròn sau đó đập lamel, để yên từ 1-6 giờ tùy theo giun lớn hay nhỏ. Việc định loại được thực hiện thông qua các đặc điểm hình thái cấu tạo của giun. Việc định loại này phải theo khóa định loại để xếp vào họ, giống, loài v.v... Định loại xong các loài cùng loài được lưu giữ chung một lọ và có nhãn ghi bằng bút chì đặt ở trong.

c) Đối với sán lá và sán dây :

Sán dây có thể được làm trong bằng các dung dịch trên để quan sát đầu và định loại. Đối với đốt sán dây và sán lá phải ép mỏng sau đó nhuộm Carmine để phân loại.

Cách pha thuốc nhuộm Carmine :

Cách 1 ;

Potassium sulfate K_2SO_4	5 gam
Nước	92 ml
Carmine	2-3 gam

Cho 5 gam K_2SO_4 , đổ số nước trên vào. Lắc đều cho tan. Dùng giấy quỳ để kiểm tra độ pH của dung dịch. Nếu quá kiềm hay quá toan điều chỉnh pH cho trở về trung tính.

- Cho 2-3 gam thuốc Carmine vào lắc thật kỹ,

- Đun sôi cách thủy từ 1-3 giờ, lọc qua giấy lọc vào lọ màu,

- Cho vào lọ 1 hoặc 2 giọt Formol hoặc Thymol để chống nấm mốc và chống thối rửa.

Cách 2 :

Carmine	5 gam
Acid HCl	2 ml
Cồn 90 ⁰ vừa đủ	100 ml

- Nghiền 5 gam carmine với 2 ml HCl,

- Để yên 1 giờ sau đó cho Alcohol vào lắc đều,
- Đun cách thủy chậm cho đến khi thuốc nhuộm tan hết,
- Sau khi đun xong bổ sung Alcohol cho đủ 100 ml.

Cách pha này có Acid nên Carmine dễ tan, nên khi rửa nước dễ bị mất màu. Do vậy khi pha xong cần điều chỉnh lại pH.

d) Cách nhuộm :

Tất cả sán lá dây sau khi thu lượm trước khi nhuộm đều phải ép mỏng. Nếu khi thu lượm ở cơ sở chưa ép về phòng phải ép lại trong cồn 70⁰. Sau đó rửa trong vôi nước chảy chậm trong vòng 6-12 giờ cho sạch nhớt và chất bẩn.

- Vớt sán ra và thấm khô, cho vào thuốc nhuộm từ 10 phút đến 12 giờ tùy theo độ dày của sán và sự bắt màu của thuốc nhuộm. Thường xuyên vớt sán ra kiểm tra xem sự bắt màu đã rõ hay chưa. Nếu rõ vớt sán ra rửa bằng nước cất cho sạch thuốc nhuộm sau đó thấm khô.

- Rút nước:

* Cho sán vào Alcohol ở các nồng độ khác nhau để rút nước. Nếu không có Alcohol ở các nồng độ khác nhau thì phải thực hiện pha cồn trước. Sau đây là cách pha cồn theo bảng pha Alcohol.

Thí dụ : Muốn pha cồn 80% thành cồn 50% ta phải thêm vào 1000 ml cồn 80% một khối lượng nước là 630ml.

Các bước rút nước như sau:

- Cho sán vào Alcohol 50% trong 5 phút sau đó vớt sán ra và thấm cho khô nước.

- Chuyển sán sang lọ Alcohol 60% để yên khoảng 10 phút sau đó vớt ra và thấm khô.

- Chuyển sán sang lọ Alcohol 70% để yên trong 15 phút sau đó vớt ra và thấm khô.

- Chuyển sang Alcohol 85% trong 20-25 phút sau đó vớt ra và thấm khô.

- Chuyển sán sang Alcohol 99% hay 100%, để yên từ 1-10 giờ.

- Vớt sán ra để ngay ngắn trên Lame kính, để cho khô và nhỏ Baume Canada sau đó gắn Lamel.

_ để bằng phẳng trong 4-6 ngày.

Chú ý :

- ❖ Các bước rút nước đều phải thấm khô để alcohol không bị pha loãng ở nồng độ sau,
- ❖ Sau đó rút nước một thời gian phải thay lại toàn bộ Alcohol,
- ❖ Nút đậy lọ phải kín,
- ❖ Thao tác gắn phải cẩn thận và nhanh. Nếu không nhanh mếp mẫu vật dễ bị quần.

Nếu gắn keo baume Canada quá sớm sẽ gây ra hiện tượng bọt khí, bọt nước trong mẫu vật.

Sau khi nhuộm, nếu sán còn đậm màu cần nhúng nhanh vào dung dịch sau (dung dịch Alcohol - acid) :

Alcohol 99%	99 ml
HCl	1 ml

Nếu quá nhạt màu phải nhuộm lại.

BẢNG PHA CỒN THEO THỂ TÍCH Ở 20° C

Độ cồn muốn có Độ cồn đem pha (1000ml)	30°	35°	40°	45	50°	55°	60°	65°	70°	75°	80°	85°	90°
35°	167	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40°	335	144	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50°	505	290	127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
55°	674	436	255	114	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60°	845	583	384	229	103	-	-	-	-	-	-	-	-
65°	1017	730	514	344	207	95	-	-	-	-	-	-	-
70°	1189	878	644	460	311	190	88	-	-	-	-	-	-
75°	1360	1027	774	477	417	285	175	81	-	-	-	-	-
80°	1535	1177	906	694	523	382	264	163	76	-	-	-	-
85°	1709	1327	1039	812	630	480	353	246	153	72	-	-	-
90°	1884	1473	1172	932	738	578	443	329	231	144	68	-	-
95°	2061	1630	1306	1052	847	677	535	414	310	218	138	65	-
	2239	1785	1443	1174	957	779	629	501	391	295	209	133	64

Ghi chú : Hàng ngang thứ nhất là độ cồn muốn có. Hàng dọc thứ nhất là độ cồn đem pha. Giữa hàng ngang và hàng dọc có các số thể tích nước ở 20°C cần thêm vào 1000 thể tích cồn đem pha để thu được những độ cồn muốn có ở 20°

ĐỐI VỚI IXODIAE VÀ ARGASIAE

Những tiết túc thuộc học ve cứng Ixodidae và họ mềm Argasidae ngoài cách phân loại tươi có thể ép nhuộm và gắn tiêu bản để quan sát. Phương pháp nhuộm tiết túc như sau :

Phương pháp nhuộm Galigher :

- Tiết túc được ngâm trong Alcohol 90% có thêm 5 ml HNO₃ trong 95 ml Alcohol 90% trong 3-5 ngày,
- Rửa 3 lần với Alcohol 50%,
- Ngâm trong Anilin 10% trong 3 phút (10 ml Anilin clohydrate 10% thêm một giọt acid clohydric),
- Rửa nước và ngâm trong dung dịch Potassium bicarbonate 10% cho đến khi tiết túc có màu xanh đậm,
- Rửa nước và ngâm trong nước có Amoniac (1 giọt cho 10 ml nước),
- Rửa nước,
- Rút nước ở alcohol 60%, 70%, 86%, 99%,
- Gắn tiêu bản và gắn Baume Canada.

Việc định loại tiết túc và côn trùng phải dựa vào các khóa định loại. Cần phải quan sát các đặc điểm, rãnh hậu môn, mắt, Capitulum, Palpe, công thức răng, cửa gai của Coxa, mắt, giác bàn chân, ống cán v.v...

ĐỐI VỚI NGUYÊN BÀO

Sau khi nhuộm xong để khô và gắn Baume Canada và phân loại. Khi phân loại cần dựa vào hình thái, các đặc điểm trong tế bào và cần kết hợp với các đặc điểm sinh học và dịch tể.

Mỗi một loài ký sinh, có cách làm tiêu bản khác nhau. Đối với giun tròn, giun đầu gai không cần nhuộm tiêu bản. Khi muốn quan sát lấy giun đặt lên lame, sau đó nhỏ dung dịch lactophenol hoặc acid lactique 50%, glycerin 50% và quan sát. Việc xem tươi này rõ hơn so với phương pháp nhuộm tiêu bản. Tuy nhiên cũng có thể nhuộm tiêu bản. Khi nhuộm giun tròn lớp Cuticle dễ bị biến đổi và màu bắt đậm khó coi. Nếu cần thiết thì có thể gắn tiêu bản. Cách gắn như sau :

- Lấy giun trong ngâm vào dung dịch Glycerin - Acid lactique 1-6 giờ tùy theo lớn hay nhỏ. Sau đó thấm nước khô,
- Rút nước,
- Chuyển sang dung dịch xylene hoặc phenol ngâm trong 1-10 giờ,
- Đặt lên tiêu bản và gắn Baume Canada. Xylene hoặc phenol là dung môi của Baume Canada do vậy sẽ tránh được bọt nước và giun không bị biến dạng.

*Đối với trứng : có hai cách gắn

(1) Cách thứ nhất :

- Ly tâm làm trứng cho lên lame,
- Thấm nhẹ nước cho lượng nước trong lame vừa phải,
- Gắn Baume Canada lên góc cạnh lamel,
- Để khô 5-7 ngày.

Cách làm này sẽ bị nấm và lâu ngày nước bốc hơi rất khó coi.

(2) Cách thứ hai :

- Ly tâm trứng cho lên lame,
- hong khô hoặc phơi khô,
- Cố định và rút nước trong Alcohol 99%,
- Gắn nhựa Baume Canada,
- Gắn lamel,
- Để khô.

(3) Gởi mẫu vật :

Trong quá trình định loại, không chỉ dựa vào hình thái và kích thước đơn thuần mà phải dựa vào nhiều đặc điểm như vật chủ, sinh học, dịch tễ v.v... Trong trường hợp không định loại được phải gởi mẫu vật đi phân loại. Khi gởi đi phải đựng trong dung dịch bảo quản. Nút lọ phải gắn chặt sau đó đựng trong hộp có bông hoặc giấy. Nếu tiêu bản đã gắn lên lame phải để trong hộp. Tất cả mẫu vật phải có nhãn.

- Loài vật chủ,
- Vị trí ký sinh,
- Địa điểm thu thập
- Thời gian thu thập,

VIII. MỘT SỐ KÝ SINH CÓ THỂ TRUYỀN CHO NGƯỜI :

Các loại ký sinh ở gia súc có thể truyền lây cho người và từ người cho gia súc. Một số ký sinh ở gia súc đã gây bệnh và gây tử vong cho người. Ngoài ra các bệnh ký sinh còn truyền lây cho các động vật hoang dại và ngược lại.

Các loại có thể truyền lây cho người như sau :

1. Về nguyên bào Protozoa :

Trypanosoma brucei rhodesiense, *T. brucei brucei*, *T. brucei gambiense*, *Entamoeba histolytica*, *E. polecki*, *T. cruzi*, *Babesia microti*, *B. bovis* (Syn. *B. Argentina*), *B. divergens*, *Cryptosporidium muris*, *C. parvaum*, *C. agni*, *C. bovis*, *C. felis*, *C. wairi*, *C. cuniculus*, *C. meleagridis*, *C. anserium*, *C. crotali* và *C. narorum*, *Leishmania donovani*, *L. mexicana*, *L. braziliensis*, *L. major*, *L. tropica*, *L. aethiopica*, *Giardia canis*, *G. bovis*, *G. intestinalis*, *Pneurocystis carinii*, *Sarcocystis hominis*, *S. bovis hominis*, *S. suis hominis*, *Toxoplasma gondii*, *T. hammondi*, *T. batiensis*, *Balantidium coli*.

2. Về Giun sán :

Clonorchis sinensis, *Dicrocoelium dendriticum* (*D. lanceolatum*), *D. hepatis*, *Echinostoma malayanum*, *E. revolutum*, *Hypoderma*, *Fasciola hepatica*,

F.gigantica, *Fasciolopsis buski*, *Gastrodiscoides hominis*, *Hêtrophyes heterophyes*, *H. nocens*, *Stellantchasmus falcatus*, *Haplorchis taichui*, *H. yokogawai*, *H. calderoni*, *H. vanissima*, *Stamnosoma armatum*, *Cryptocotyle lingua*, *nanophyetus salmincola salmicola*, *N. schikhobalowi*, *Opisthorchis felinueus*, *O. vicerrini*, *Amphimerus pseudofelineus*, *Paragonimus westermani*, *P. pulmonalis*, *P. miyazakii*, *P. skrijabini*, *P. heterotrema*, *P.africanus*, *P. uterobilateralis*, *P. mexicanus*, *Schistoma bovis*, *S. spindalr*, *S. douthitti*, *Heterobillazia americana*, *Orientobilazia turkestanicum*, *S. mansonii*, *S. japonicum*, *S. haematobium*, *S. rodhaini*, *S. margrebovviei*, *S. mekongi*, *S. leiperi*, *S. intercalatum*.

Cestoda : *Bertiella studeri*, *B. mucronata*, *Coenurus cerebralis*, *C. serialis*, *C. brawni*, *Diphyllobothrium latum*, *D. parificum*, *D. dendriticum*, *Dipylidium canium*, *Echinococcus granulosus*, *E. multilocularis madagascariensis* (*I. Cubensis*), *Mesocestoides linetus*, *M. variabilis*, *Raillietina demeraiensis*, *R.celebensis*, *Spirometra mansonii*, *S. nansonides*, *S. erinacei-europaei*, *S. theileri*, *S. proliferum*, *Cysticercus tenuicollis*, *C. cellulosa*, *C. bovis*.

Acathocephala : *Macracanthorhynchus hirudinaceus*, *Moniliformis moniliformis*, *Acanthocephalus rauschi*, *A. bufonis* (*A. sinensis*), *Corynosoma strumorum*.

Nematoda : *Angiostrongylus costaricensis*, *A. cantonensis*, *Anisakis simplex*, *Ascaris lumbricoides*, *A. suum*, *Capillaria philippinesis*, *C. hepatica*, *C. aerophila*, *Ancylostoma braziliense*, *A. canium*, *Uncinaria stenocephala*, *Necator americanus*, *Bunostomum phlebotomum*, *Ancylostoma duodenale*, *Diotophyma renale*, *Dracunculus medinensis*, *Oesophagostomum stephanostomum*, *O. bifurcum*, *O. acubatum*, *Teridens diminutus*, *Gnathostoma spinigerum*, *G. hispidum*, *Gongylonema pulchrum* (*G. ransonii*, *O. scutatum*), *Lagochilascaris minor*, *Mammomonogamus nasicola*, *M. laryngeus*, *Syngamus trachea*, *Micronema deletrix*, *Strongyloides coralis*, *S. fülleborni*, *S. stercoralis*, *S.procyonis*, *S. myopotami*, *Thelazia callipaeda*, *T. californiensis*, *T. rhodessi*, *Trichinella spiralis spiralis*, *T.s. pseudospiralis*, *T.s. domestica*, *T. s. nelsoni*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *T. orientalis*, *T.skyjabini*, *T. vitrinus*, *T. probolurus*, *T. capricola*, *T. brevis*, *T. affinis*, *T. calcaratus*, *Trichuris trichura*, *T. suis*, *T. vulpis*, *Toxocara canis*, *Toxoascaris leonina*, *T. oxocara cati*, *ancylostoma canium*, *A. ceylanicum*, *Dirofilaria immitis*, *D. tenuis*, *D. repens*, *Onchocerca volvulus*, *Onchocerca armilata*, *Spirocerca lupi*.

Arthropoda : *Cheyletiella purasitovorax*, *C. yasguri*, *C. blakei*, *Dermanyssus gallinae*, *Ornithonyssus bacoti*, *O. bursa*, *O. sylvarum*, *Cochliomya hominivorax* (*Callitroga americana*), *Chrysomya bezziana*, *Cordylobia anthropophaga*, *Dermatobia hominis*, *Cuterebra spp*, *Hypoderma spp*, *H. lineatum*, *H. bovis*, *H. diana*, *Rhinoestrus purpurensis*, *Oestrus ovis*, *Gasterophilus intestinalis*, *G. nasalis*, *G. haemorrhoidalis*, *G. pecorum*, *G. nigricornis*, *Wohlfahrtia vigil*, *W. magnifica*, *Lucilia cuprina*, *Sarcophaga haemorrhoidalis*,

Fannia spp, Linguatula serrata, Armillifer armillatus, A. molniliiformis, A. grandis, Tunga penetrans, Sarcoptes scabiei, Haematopinus suis, ve họ Ixodidae, họ Argasidae, Tabanidae, ruồi Stomoxys, Chrysozona v.v...

PHẦN THỨ HAI KÝ SINH VẬT CHUYÊN BIỆT

CHƯƠNG III SÁN LÁ KÝ SINH VÀ NHỮNG BỆNH DO SÁN LÁ GÂY RA

I. ĐẠI CƯƠNG VỀ SÁN LÁ KÝ SINH :

Sán lá ký sinh thuộc liên ngành Scolecida Huxley, 1856) Beklemíchev, 1944, thuộc ngành Platyhelminthes Schneider, 1833. Trong ngành Platyhelminthes gồm có 8 lớp. Những sán lá ký sinh ở chim và thú, ở gia súc gia cầm đều thuộc lớp Trematoda Rudolphi, 1808. Chữ Trematoda bắt nguồn từ chữ Greece (Trema = giác bám), thuộc phân lớp Prosostomidae Skjabin et Guschanskaja 1962. Sán lá có thể ký sinh trong mắt như *Philophthalmus granlii*, trong hệ tuần hoàn như *Schistoma japonica*, trong hệ hô hấp như *Paragonimus westermani*, *Typhlocoelum cymbium*. Trong hệ sinh dục tiết niệu như *Prosthogimus ovatus* v.v... hầu hết sán lá đều ký sinh trong hệ tiêu hóa của gia súc, gia cầm, người và gây bệnh cho động vật mà chúng ký sinh.

Bề mặt cơ thể được bao bọc bởi lớp cuticle, sau đó là lớp cơ gồm những bó cơ vòng cơ dọc, trong cùng là lớp tế bào màng đáy với những nguyên sinh chất, chất gian bào và nhân tế bào. Sán lá thường có hai giác bám (suckers), giác miệng thường nhỏ nằm ở phía đầu dùng để bám và hút chất dinh dưỡng nuôi cơ thể. Trên giác có thể có những gai hoặc móc (hooks). Kế đến là giác bám bụng thường dùng để bám thường ở ngay sát giác miệng hoặc ở cuối thân (như bộ Paramphistomata). Giác bám bụng thường lớn hơn giác bám miệng. Một số loài thuộc họ Monostomatidae không có giác bám. Một số loài thuộc họ Strigiidae có giác bám thứ ba công cộng là giác bám sinh dục. Sán lá không có hệ tuần hoàn và hệ hô hấp.

1) Hệ tiêu hóa :

Bắt đầu là giác miệng, sau đến lỗ miệng thông với hầu hình bầu dục, sau hầu là thực quản, thông với một hoặc hai nhánh ruột gọi là cecum có hình túi hạc tạo thành một vòng khép kín hoặc phân nhánh phức tạp. Cuối hệ tiêu hóa không có lỗ thông ra ngoài. Sản phẩm của quá trình tiêu hóa thải qua lỗ miệng ra ngoài.

2) Hệ bài tiết :

Gồm những tế bào bài tiết hình sao nằm rải rác khắp cơ thể, mỗi tế bào có ống thông riêng sau đó hợp lại đổ ra phần cuối thân sán qua túi bài tiết và lỗ bài tiết ở mặt bụng của sán.

3) Hệ thần kinh và cơ quan cảm giác :

Hệ thần kinh của sán lá kém phát triển, gồm có hai hạch trung tâm nằm ở hai bên hầu (larynx) nối với nhau bằng vòng dây thần kinh. Từ hạch thần kinh

có ba đôi dây thần kinh, đôi bụng đôi lưng và đôi bên phân đi khắp cơ thể, do vậy sán lá vẫn có thể cử động khi chúng ra ngoài.

- Cơ quan cảm giác ở sán lá trưởng thành tiêu giảm, chỉ có ở dạng ấu trùng *Miracidium* và *Cercariae* nhưng chỉ có ở dạng vết.

4) Hệ sinh dục :

Hệ sinh dục có cấu tạo phức tạp, thường là lưỡng tính trừ trường hợp họ *Schistomatidae* là đơn tính (con đực con cái riêng).

Cơ quan sinh dục đực gồm có hai tinh hoàn hoặc nhiều tinh hoàn, ít khi có một. Tinh hoàn có hình tròn, có hình bầu dục, phân thùy phân nhánh hình khối v.v... nằm trên dưới nhau hoặc đối xứng nhau. Hình dạng và vị trí tinh hoàn có ý nghĩa lớn trong phân loại. Mỗi tinh hoàn có ống dẫn tinh riêng, sau đó đổ vào ống dẫn tinh chung thông với túi sinh dục đực. Phần ống dẫn tinh nằm trong túi sinh dục gọi là *cirrus*, thông ra ngoài qua lỗ sinh dục đực ở mặt bụng của sán và dùng để giao phối. Trong túi sinh dục đực có hệ thống tuyến tiết chất nhờn làm trơn *cirrus*.

Cơ quan sinh dục cái bao gồm ngã tư sinh sản hay còn gọi là *Ootype* vì thông với 4 cơ quan sau đây:

- Thông với tử cung và buồng trứng, buồng trứng có nhiệm vụ tạo tế bào trứng. Khi được thụ tinh ở *Ootype* trứng được đưa lên tử cung và phát triển thành dạng trứng thành thực. Buồng trứng thường có dạng hình khối tròn, hình bầu dục, phân thùy, phân nhánh hoặc hình hạt đậu. Tử cung (*uterus*) là một ống ngoằn ngoèo chứa trứng.

- Thông với tuyến *Mehlis*, tuyến này làm nhiệm vụ tiết ra chất nhờn làm trơn *Ootype* và làm trơn tử cung tạo điều kiện cho tế bào trứng di chuyển, tạo điều kiện cho tinh trùng hoạt động dễ dàng. Ngoài ra tuyến này còn tiết ra chất bao vỏ trứng làm dính dịch noãn hoàng trong khi hình thành vỏ trứng.

- Thông với túi chứa tinh, chứa tinh dịch dự trữ để thụ tinh cho các trứng sau.

- Thông với tuyến noãn hoàng, tuyến noãn hoàng nằm dọc hai bên thân sán, sau đó có ống dẫn riêng đổ vào *Ootype*. Tuyến này có tác dụng cung cấp dinh dưỡng cho buồng trứng tạo trứng, cho trứng phát triển thành thực trong tử cung. Ngoài ra *Ootype* còn thông với cơ quan thứ năm là ống *Laurer*, ống này thông ra mặt lưng của sán giữ vai trò như âm đạo khi giao phối và thải noãn hoàng thừa hay chưa thụ tinh ra ngoài. Tử cung có lỗ thông ra ngoài gọi là lỗ sinh dục cái, thường nằm ở gần lỗ sinh dục đực đổ ra mặt bụng và thường nằm trước giác bụng. Sán lá tự thụ tinh hay thụ tinh chéo. Trong trường hợp tự thụ tinh, *cirrus* sẽ phóng tinh trùng qua lỗ sinh dục cái, tinh trùng sẽ di chuyển theo tử cung xuống *Ootype* để kết hợp với tế bào trứng.

Trứng sán lá thường có hình bầu dục, gồm 4 lớp vỏ mỏng, một đầu nhỏ có nắp trứng (*operculum*), bên trong có chứa tế bào phôi màu vàng sẫm, vàng nhạt

hay xám nhạt hoặc chứa ấu trùng *Miracidium*. Ba lớp vỏ ngoài có tác dụng bảo vệ trứng về mặt cơ học, lớp trong cùng bảo vệ trứng về mặt hóa học.

II. CHU KỲ PHÁT TRIỂN VÀ ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC

Sán lá ký sinh dinh dưỡng bằng các dịch tế bào của cơ thể vật chủ, bằng máu, dịch tiết của các tuyến, bằng những thảo trùng hay chất thừa thực vật. Sán lá hầu hết phát triển gián tiếp (*Biohelminth*) trừ họ *Aspidogastriidae*. Chu kỳ phát triển có sự xen kẽ thế hệ và thay đổi vật chủ. Giai đoạn trưởng thành sống trong cơ thể động vật có xương sống và sinh sản hữu tính. Giai đoạn ấu trùng sống trong vật chủ trung gian và vật chủ bổ sung là những động vật không xương sống, ở đây có sự sinh sản vô tính và biến thái. Thời kỳ phát triển của phôi thường xảy ra ở môi trường bên ngoài nhờ những điều kiện ngoại cảnh thích hợp như ánh sáng, nhiệt độ, oxygen và ẩm độ. Trứng sẽ phát triển và hình thành ấu trùng ở bên trong (*Miracidium*). Ấu trùng sẽ phá vỡ vỏ trứng chui ra ngoài, nó có dạng hình thoi hay hình tam giác, bên ngoài cơ thể có nhiều lông, có nhiều vết mắt. Ấu trùng di chuyển dễ dàng trong nước nhờ lông mao. *Miracidium* chỉ sống được một vài ngày. Nếu vật chủ trung gian ăn phải hay ấu trùng xâm nhập vào vật chủ trung gian sẽ phát triển thành dạng *Sporocysts* giống như những cái bọc, bị, bên trong có chứa nhiều tế bào. *Sporocysts* sinh sản vô tính cho ra nhiều *Rediae*, có lỗ miệng, hầu, tế bào mầm của ruột, và tế bào phôi. *Rediae* tiếp tục sinh sản vô tính tạo ra nhiều *cercariae* có giác miệng, giác bụng, hầu, thực quản, mang trằng và đuôi. *Cercariae* chui ra khỏi vật chủ trung gian sống được ở môi trường bên ngoài một vài ngày hoặc một vài tháng sau đó phát triển bằng ba cách.

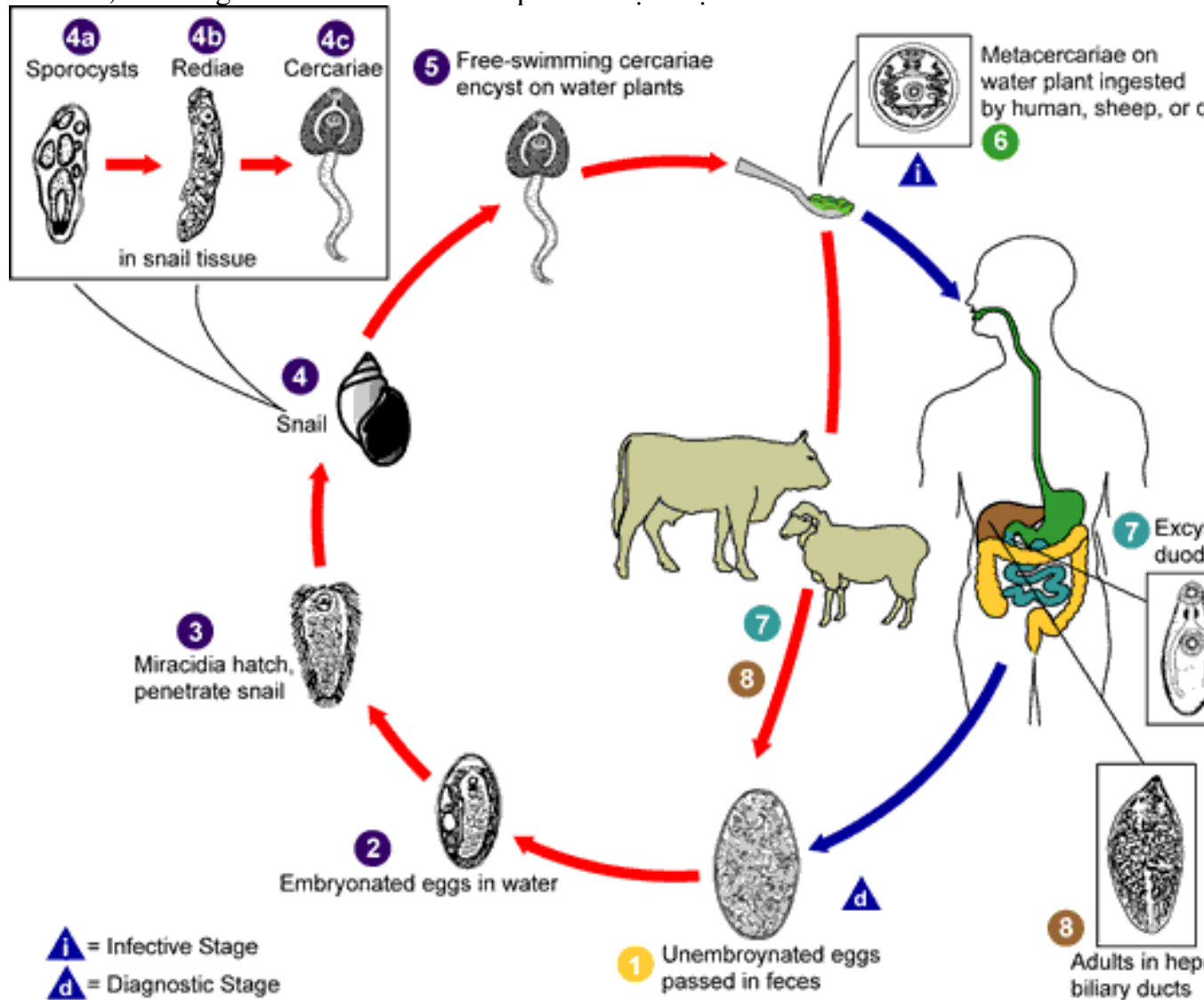
1. Đối với những sán lá cần một vật chủ trung gian, *cercariae* sau khi ra khỏi vật chủ trung gian sẽ rụng đuôi tiết nhớt nhờn tạo bọc xung quanh cơ thể và chuyển thành dạng *Adolescaria*, vật chủ cuối cùng ăn phải *Adolescaria* sẽ nhiễm sán trưởng thành.

2. Đối với những sán lá cần hai vật chủ trung gian, sau khi qua vật chủ thứ nhất, *cercariae* xâm nhập tiến vào vật chủ trung gian thứ hai tạo thành dạng *Metacercaria*. Gia súc ăn phải vật chủ trung gian thứ hai có *Metacercaria* sẽ nhiễm sán trưởng thành.

3. Đối với những sán lá cần ba vật chủ trung gian, *cercariae* được hình thành từ vật chủ trung gian thứ nhất, xâm nhập vào vật chủ trung gian thứ hai tạo thành *Mesocercaria*. Vật chủ trung gian ăn phải vật chủ trung gian thứ hai, *Mesocercaria* sẽ biến thành *Metacercaria*. Gia súc ăn phải vật chủ trung gian thứ ba sẽ nhiễm sán.

Có những loài thuộc bộ phụ *Aspidogastriata* không cần có sự tham gia của vật chủ trung gian. Vật chủ trung gian của sán lá phần lớn là ốc nước ngọt, lớp *Cyclops*, cua đồng, côn trùng. Vật chủ trung gian thứ hai có thể là ốc nước ngọt lớp lưỡng thê, lớp bò sát, lớp cá và côn trùng v.v... Tùy theo từng loài sán mà

thời gian phát triển của nó có khác nhau. Khi gia súc ăn phải ấu trùng gây nhiễm, ấu trùng sẽ di hành về các cơ quan để định vị.



III. PHÂN LOẠI:

Nghành Platyhelminthes Schneider 1873 thuộc liên ngành Scolesida (Huxley, 1856) Beklemischev 1944. Trong ngành này có 8 lớp trong đó có ba lớp liên quan đến chăn nuôi thú y, thủy sản là:

1) Lớp Monogeneae:

Sán lá một vật chủ gồm những sán lá có hai lỗ bài tiết ở mặt lưng, tử cung ngắn thường chứa một trứng, phát triển trực tiếp ngoại ký sinh của lớp cá, nhuyễn thể, bò sát, và động vật có xương sống ở dưới nước.

2) Lớp Cestoda Rudolphi, 1808 trong lớp này có ba lớp phụ Bucephalidae, Aspidogastriidae, Prosostomidae. Ở nước ta sán lá ký sinh ở chim và thú chỉ gặp các loài thuộc phân lớp Prosostomidae. Phân lớp này có hai bộ, 9 phân bộ và nhiều họ.

Trong phần giới thiệu này chúng tôi chỉ giới thiệu hệ thống phân loại của những sán lá đã gặp ở động vật Việt Nam.

PHÂN LỚP PROSOTOMIDAE

Bảng xác định các bộ thuộc phân lớp Prosostomidae:

(Theo Phan Thế Việt, Nguyễn Thị Kỳ, Nguyễn Thị Lê 1977)

1 (2) Cơ thể sán lá gồm hai phần, phần trước mang cơ bám phần sau mang hệ sinh dục. Sau giác bụng có cơ bám Brandesa. Hai bên giác miệng thường có giác bám giả. Lỗ sinh dục thường mở ra ở nút sau cơ thể. Ký sinh ở ruột bò sát, chim thú.

Strigeidia (La Rue, 1926)

2 (1) Cơ thể sán có hình dạng và kích thước rất khác nhau nhưng cơ thể không chia làm hai phần rõ rệt. Lưỡng tính hoặc đơn tính. Có giác miệng hoặc giác bụng, hoặc thiếu một trong hai giác. Lỗ sinh dục nằm ở chính giữa hoặc ở bên, hoặc ở đuôi của sán. Ký sinh ở tất cả các lớp động vật có xương sống.

Fasciolida Skrjabin et Guschanskaja, 1962.

Bảng xác định các phân bộ của bộ FASCIOLIDA (Skrjabin et Guschanskaja, 1962)

1(2) Sán lá phân tính cá thể cái dài và lớn hơn cá thể đực, ký sinh ở mạch máu của chim và thú.

Schistomata Szidat, 1936

2(1) Sán lá lưỡng tính ký sinh ở các cơ quan của chim và thú.

Pronocephalata Skrjabin, 1955

3(4) Thiếu giác bụng, ký sinh ở ruột chim bơi, gậm nhấm ở nước và thú.

Pronocephalata Skrjabin, 1955

4(3) Có giác bụng, thiếu giác miệng. Ký sinh ở cơ quan hô hấp và xoang cơ thể chi,.

Cyclocoeliata La Rue, 1957

5(6) Đầu có đĩa bám và các gai chitine ký sinh ở ruột chim và thú.

Echinostomatata Szidat, 1936

6(5) đầu không có đĩa bám.

7(10) Các giác bám gần nhau nằm ở phần trước cơ thể.

8(9) Ký sinh vật có kích thước bé, ngoài hai giác ba,s còn có thêm giác sinh dục.

Heterophyata Szidat, 1957

9(8) Ký sinh vật có kích thước lớn, không có giác sinh dục. Giác miệng thường gần giác bụng. Ký sinh ở cá, bò sát, lưỡng cư, chim và thú.

Fasciolata Skrjabin et Schulz, 1935

10(7) Giác bụng nằm ở phần sau cơ thể, thiếu hầu, ký sinh ở cơ quan tiêu hoá

Paramphystomata Szidat, 1936

Bảng xác định phân bộ của bộ STRIGEIDA (La Rue, 1926)

1(2) Cơ thể chia làm hai phần, phần trước hình cốc, hình thìa hay hình cái xẻng. Hai bên giác miệng thường có giác ba,s giả. Không có túi giao phối và gai giao phối.

Strigeata La Rue, 1926

2(1) Cơ thể tròn hay quả lê, có máu lồi hoặc gồm phần trước rộng và sau hẹp. Không có giác giả ở hai bên giác miệng. Có túi giao phối và cơ quan giao phối.

Cyathocotylata Sudaricov, 1959.

I. PHÂN BỘ FASCIOLATA (SKRJABIN ET SCHULZ 1935) :

1) Họ Fasciolidae Raliit, 1875 gồm các giống Fasiola, Fasciolopsis.

2) Họ Paragonimidae dollfus, 1939 Paragonimus.

3) Họ Parorchidae Skrjabin, 1965, Parirchis.

4) Họ Philophthalmidae Travasos, 1918. Philophthalmus, Cloacitrema.

5) Họ psilostomatidae Odhner, 1913. Psilostomum, Psiloschasmus.

6) Họ Brachylarmidae Stiles et Hassal, 1888. Bracylaemus, Ectosiphonus, Postharmostomum.

7) Họ Leucochloridiidae Dollfus, 1934. Leucochloridium.

8) Họ Clinostomatidae, Luhe, 1901. Clinostomum, Euclinostomum.

9) Họ Eumegacetidae Travassos, 1913. Giống Eumegacetes, Papillatrema.

10) Họ Eucotylidae Skrjabin, 1924. Giống Tamerlania, Tanaisia.

11) Họ Renicolidae Dollfus, 1904. Giống Renicola, Neorenicola.

12) Họ Lecithodendridiae Odhner, 1911. Giống Lecithodendrium, Acanthatrium, Mosesia, Paralecithodendrium, Prosthodendrium, Pycnopus, Postrochigones, Phaneroprolus, Lateortrema.

13) Họ Prosthogomidae Nicoll, 1924. Giống Prosthogonimus, Pracuterogonimus.

14) Họ Plagiorchidae, Liihe, 1901. Giống Plagioschis.

15) Họ Anchitrematidae Caballero, 1961. Giống Anchitrema.

6) Họ Dicrocoeliidae Odhner, 1911. Giống Dicrocoelium, Brachylecithum, Brachdistomum, Lyperosomum, Megacetabulum, Dictyonograptus, Eurytrema, Platynosomum, Skrjabinus, Zonorchis, Globostomum, Proacetabulorchis, Proacetabulorchoides, Platynotrema.

17) Họ cortrematidae Yamaguti, 1958. Giống Cortrema.

II. PHÂN BỘ ECHINOSTOMATATA SZIDAT, 1939 :

1) Họ Echinostomatidae Dietz, 1909. Giống Echinostoma, Echinoparyphium, Euparyphium, Hypoderaeum, Himasthla, Acanthoparyphium, Soladis.

2) Họ Saakotrematidae Odening, 1962. Giống Saakotrema.

III. PHÂN BỘ DETEROPHYMATA MOROSOV, 1955:

1) Họ Heterophyidae Odhner, 1941. Giống Heterophyes, Heterophyopsis, Diorchitrema, Pygidiopsis.

2) Họ Galactosomatidae Morosov, 1950. Giống Galactosomum, Cerrarioides, stictoda.

3) Họ Microphallidae Travassos, 1920. Giống Microphallus, Levinseniella, Belopolskiella, maritrema.

4) Họ Opisthorchidae Braun, 1901. Giống Opisthorchis, Clonorchis, Amphimerus, Euamphimerus, Metorchis.

IV. PHÂN BỘ CYCLOCOELIATA LA RUE, 1957 :

1) Họ Cyclocoelium Kossack, 1911. Giống Cyclocoelium, Haemalotrephus, Hyptiasmus, Tracheophilus, Cyclocoeliidae.

V. PHÂN BỘ PRONOCEPHALATA SKRJABIN, 1955 :

1) Họ Notocotylidae Liihe, 1909. Giống Nocototylus, Catatropis, Ogmocotyle

VI. PHÂN BỘ SCHISTOMATATA SKRJABIN ET SCHULZ, 1937 :

1) Họ Paramphystomatidae Fischöder, 1901. Giống Paramphystomum, Calicophoron, Ceylonocotyle, Cotilophron, Gigantocotyle.

- 2) Họ Cladorchidae Souhwele et Rirsher, 1937. Giống Hawkesius.
- 3) Họ Gastrodiscidae Stiles et Goldberger, 1920. Giống Homalogaster, Gastrodiscoides.
- 4) Họ Gastrothylacidae Stiles et Goldberger, 1910. Giống Gastrothylas, Carmierius, Fiscoederius.

BỘ STRIGEIDA

I. PHÂN BỘ STRIGEATA LA RUE, 1926:

- 1) Họ Stingeidae Railliet, 1919. Giống Strigea, Apharyngostrirea.
- 2) Họ Alaiidae Tubngui, 1922. Giống pharhyngostomum.
- 3) Họ Diplosmidae Doirier, 1886. Giống Diplostomum, Neodiphostomum, Posthodiplostomum, Allodiplostomum, Subuvulifer, Uvulifer.

II. PHÂN BỘ CYATHOCOTYLATA SUDARIKOV, 1959:

- 1) Họ Prohemistomatidae Sudarikov, 1961. Giống Mesostephanus.

Tất cả sán lá ký sinh ở gia súc, gia cầm đều có chu kỳ phát triển gián tiếp (Biohelminth). Quá trình phát triển phải có sự tham gia của vật chủ trung gian. Những sán lá thuộc họ Aspidogastridae phát triển trực tiếp không cần có sự tham gia của vật chủ trung gian (Gêohlmith).

1. FASCIOLA VÀ FASCIOLIASIS Ở GIA SÚC NHAI LẠI

Sán lá gan lớn và bệnh sán lá gan lớn thường do một số loài thuộc giống Fasciola, phân họ Fasciolinae họ Fasciolidae, Phân bộ Fasciolata, bộ Fasciolida gây ra, chúng thường ký sinh ở ống dẫn mật, gan túi mật của trâu bò, dê, cừu, thỏ, chó ngựa, động vật hoang dại và cả ở người, gây viêm gan hoại tử. Thời kỳ di hành còn thấy ở phổi, tim hạch lâm ba, tuyến tụy thường do hau loài sau :

Fasciola gigantica Cobbold, 1885.

F. hepatica Linnaeus, 1785.

Ngoài ra còn một số loài khác ký sinh ở uuyến tụy, ống dẫn tụy, túi mật, ống dẫn mật của gia súc nhai ại như :

Paramaphystomum explanatum (Creplin, 1847).

Fascioloides magna (Bassi, 1875) Ward, 1981 thường thấy ở vùng Bắc mỹ và Âu châu.

Dicrocoelium hopes Looss, 1907 ký sinh ở ống dẫn mật gan của bò.

D. dendriticum (Rudolphi, 1818) Looss, 1899 ký sinh ở gan trâu bò, cừu, dê, người, heo, chó, nai.

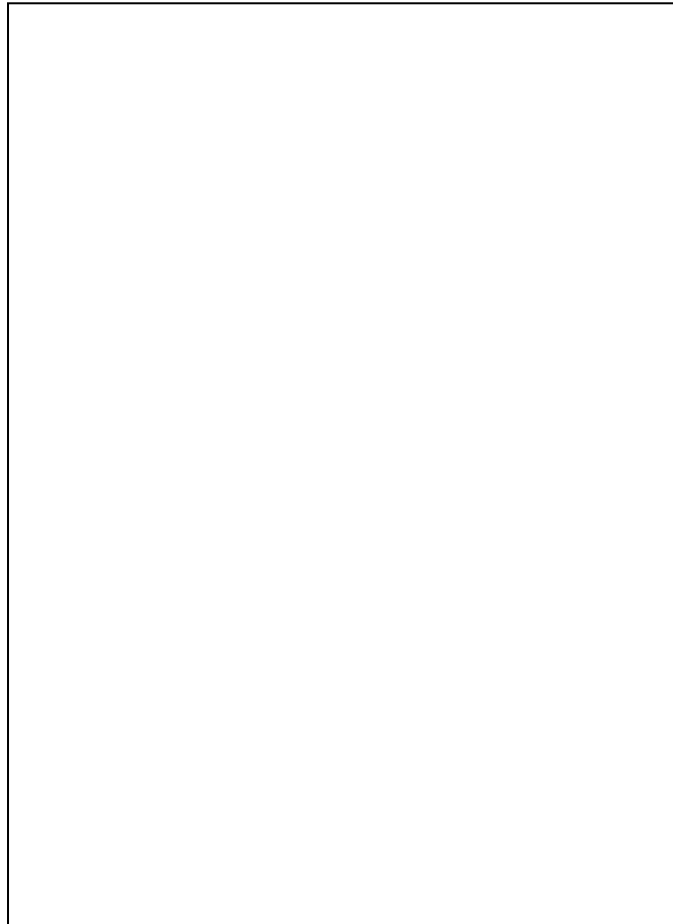
- 1) Hình thái *Fasciola gigantica* Cobbold, 1885 :

Fasciola gigantica dài 25 -75 mm, rộng 5-12mm có hình lá liễu, màu đỏ gạch, hai rìa mép cơ thể gần như song song với nhau, phía trước không tạo thành vai, đuôi tù, giác bụng tròn lớn lồi ra, giác miệng nhỏ ngay ở đỉnh đầu, túi sinh dục lớn nằm gần giác bụng. Hầu dài hơn thực quản. Ruột phân nhiều nhánh nhỏ. Buồng trứng phân thành nhiều nhánh nằm ở nửa trước thân. Hai tinh hoàn phân nhánh mạnh nằm trên dưới nhau. Túi noãn hoàng xếp dọc hai bên thân sán.

Trứng sán hình bầu dục, hai đầu thon đều, đầu hơi nhỏ hơn có nắp trứng, màu vàng nhạt, bên trong chứa tế bào phôi xếp kín vỏ trứng, kích thước 0,25-0,177mm x 0,060-0,104mm.

Fasciola hepatica Linnaeus, 1785 : Sán dài 20-30mm, rộng 4-13mm, phần đầu nhô ra tạo thành vai, hai rìa mép cơ thể không song song, đuôi nhọn, ngoài ra những nhánh ngang bên trong của ruột ít hơn và chia nhánh không rõ bằng *Fasciola gigantica*.

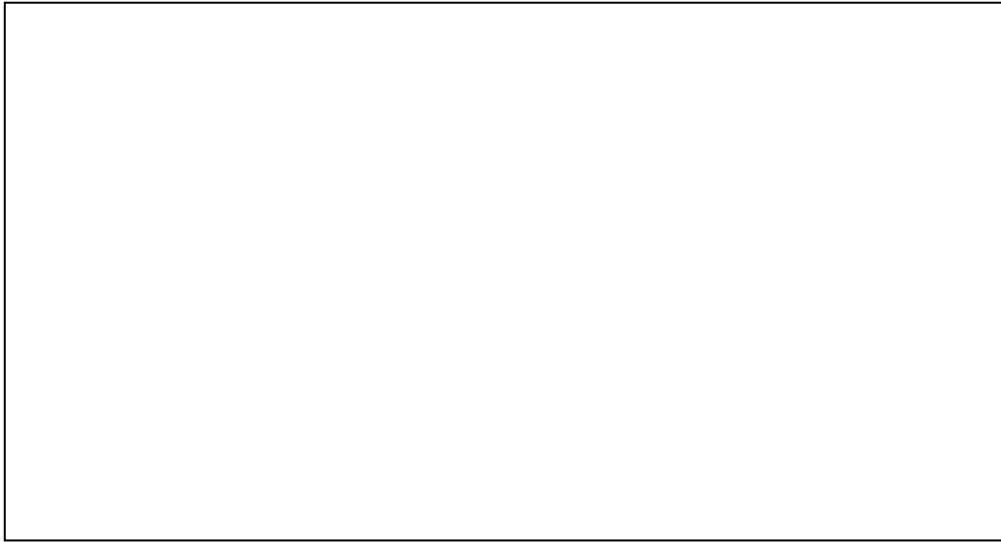
2) Chu kỳ phát triển :



Phát triển gián tiếp cần sự tham gia của vật chủ trung gian là những ốc nước ngọt : *Lymnaea viridis*, *L. swinhoei*, *L. truncatula*, *L. cubensis*, *L. modicella*, *L. viatrix*, *L. auricularia* và 29 loài ốc khác. Loài *L. truncatula* là loài quan trọng nhất trong việc lan truyền *F. hepatica*.

Sán có thể đẻ 120.000 trứng/ngày. Trứng theo ống dẫn mật theo phân ra ngoài gặp các điều kiện thuận lợi, ẩm độ, ánh sáng, nhiệt độ thích hợp, trong trứng sẽ hình thành Miracidium. Nếu nhiệt độ 10-19°C cần 56 ngày, nếu nhiệt độ 22-26°C cần 21-22 ngày. Nhiệt độ 28-30°C cần 14-16 ngày. Miracidium phá vỡ vỏ trứng bơi lội trong nước nhờ những lông ở xung quanh và không thể sống

quá 40 giờ ở môi trường bên ngoài, nó rất mẫn cảm với các chất hoá học. Sau đó Miracidium chui vào vật chủ trung gian vào gan tụy của ốc biến thành Sporocysts (bào ấu) sau 3-7 ngày cứ một Miracidium biến thành một Sporocysts. Sau đó Sporocysts sinh sản vô tính để tạo ra 5-10 Rediae. Thời gian này cần 8-11 ngày. Rediae sinh sản vô tính cho ra 3-6 Cercariae trong 13-14 ngày. Cercariae chui ra khỏi ốc bơi lội trong nước và sống được từ 10-24 giờ sau đó rụng đuôi, thuận thu tròn lại và tạo kén Adolescaria sau 2-24 giờ bám vào cây cỏ dưới nước hay gần nước. Trâu bò ăn phải kén ấu trùng di hành về gan theo hai cách:



- Ấu trùng chui qua màng ruột đi vào xoang bụng về mặt gan sau đó chui qua tế bào gan vào ống dẫn mật.

- Ấu trùng đi theo mạch máu về tĩnh mạch cửa ở gan, chui qua tĩnh mạch về ống dẫn mật và túi mật. Thời gian từ khi ăn phải Adolescaria cho đến khi trưởng thành Fasciola trưởng thành là 3-4 tháng (Phạm Văn Khuê, Trịnh Văn Thịnh, 1982), mất 3 tháng (Gadwohl, Pedro, Kouri 1963), mất 77-84 ngày (E.Brumpt), mất 137-146 ngày (Teylor), mất 79-88 ngày (Phan Đình Lân, Trịnh Văn Thịnh, 1978). Ấu trùng có thể chui qua nhau thai truyền cho gia súc con.

3. Dịch tễ:

sán lá gan được phát hiện lần đầu vào năm 1370 Jean De Brie. Sán phân bố rộng ở các nước thuộc châu Âu, châu Mỹ, châu Phi và châu Á. Ở các nước thuộc châu Âu chủ yếu là loài *F.hepatica*, ở các nước châu Á chủ yếu là loài *F.gigantica*. Ở châu Á đã thấy sán này ở China,, Turkestan, Syria, Turkey, Thailand, Vietnam, India, Philippine, Indonesia v.v... Ở Vietnam, Drozd và

Malczevsky (1967) cho biết tỷ lệ nhiễm sán lá gan ở trâu là 76,9%, bò 36%, dê 30%.

Houdemer 1938 cho biết tỷ lệ trâu nhiễm ở Vietnam là 64,7%, bò 23,5%, cừu 52,9%, dê 35%, thỏ 14,28%. Phan Đình Lân, Nguyễn Công Phúc, Trần Tuấn Sa (1963)) qua kiểm tra 1043 trâu bò giết mổ tại Thái Nguyên cho biết 57% trâu bò bị nhiễm sán lá gan. Theo Phan Huy Giáp cho biết trâu bò Hà Giang nhiễm sán lá gan 79-96%. Phan Đình Lân, Phạm Sĩ Lăng (1974) cho biết trâu bò Nam Hà nhiễm sán lá gan 51-57%. Hồ Thị Thuận, Nguyễn Ngọc Phương (1986) cho biết qua kiểm tra phân tỷ lệ trâu bò tại Lâm Đồng nhiễm sán lá gan là 34,55%, ở khu vực Cần Thơ, Sài Gòn nhiễm 33,66%, Minh Hải nhiễm 2,42-3,7%. Khi mổ khám tỷ lệ bò nhiễm 21,93%, trâu nhiễm 91,66%.

Tuổi gia súc càng lớn thì tỷ lệ nhiễm càng tăng. Theo Trịnh Văn Thịnh, Phạm Văn Khuê (1978) cho biết trâu bò từ 13-24 tháng tuổi nhiễm 30%, trên 24 tháng tuổi nhiễm 47%. Sán có thể sống trong cơ thể giá súc từ 3-11 năm. Mỗi sán hàng năm đẻ 6000 trứng. Trong quá trình sinh sản vô tính mỗi Miracidium có thể cho ra 150-200 Cercariae.

Trứng sán có sức đề kháng khá tốt với môi trường bên ngoài. Nếu bị khô hạn trứng bị chết sau vài ngày. Nhiệt độ trên 40°C trứng bị chết sau vài phút. Trong điều kiện ẩm độ thích hợp, trứng tồn tại đến 8 tháng. Trong môi trường bên ngoài Adolescaria có thể sống 5 tháng.

Các loài ốc nước ngọt là vật chủ trung gian của Fasciola phân bố rất rộng. Ở những nơi đất cao 900-1.000m so với mặt nước biển vẫn có sự hiện diện của ốc. Ốc thích sống ở môi trường có pH kiềm, ở những nơi xấp nước có dòng chảy nhẹ để ốc hô hấp. Thức ăn của ốc là những động vật và chất hữu cơ. Khả năng phân bố của ốc dày đặc từ 135-814 ốc/1m², mỗi năm ốc đẻ từ 7-18 ổ, mỗi ổ đẻ từ 8-136 trứng, tỷ lệ nở của ốc cao từ 90-100% trong vòng từ 5-12 ngày. Loài *Limnaea viridis* phân bố nhiều ở vùng cao, loài *L. swinhoi* phân bố nhiều ở vùng trũng. Ở nước ta đã gặp hai trường hợp người nhiễm sán lá gan, một trường hợp tử vong với 700 sán trong gan.



4) Triệu chứng và bệnh tích:

Khi ấu trùng di hành gây tổn thương các cơ quan gan, ruột, mạch máu phổi và các cơ quan khác. Khi trưởng thành sán hút 0,2ml máu/sán trong một ngày đêm làm vật thiếu máu. Sán làm viêm loét ống dẫn mật, có khi có mủ, độc tố của loài sán làm hoại tử thoái hoá thành ống dẫn mật, làm tăng tính thấm thành mạch, tăng bạch cầu, rối loạn quá trình trao đổi chất, rối loạn chức năng hoạt động của gan gây teo và xơ gan. Con vật có thể sốt.

Thể cấp tính ít xảy ra. Khi nhiễm nặng có thể xuất hiện thể cấp tính, vật thường chết đột ngột thiếu máu, niêm mạc nhợt nhạt, tiêu chảy vàng da, đôi khi có triệu chứng thần kinh, vật uể oải, kiệt sức và thường chết sau vài ngày kể từ khi xuất hiện triệu chứng trên.

Thể mãn tính thường xảy ra, vật gầy yếu, da khô, lông xù, phù thũng ở cổ và dưới ngực, phân lúc lỏng lúc đặc.. lượng Canxi trong máu giảm, con vật dễ bị co giật gan sưng to, lượng sữa giảm 50%. Vào mùa khô hay mùa đông con vật phải làm việc nhiều, thiếu thức ăn khi nhiễm sán lá gan con vật có thể chết.

Bệnh tích: Gan bị viêm, sưng to màu nâu sẫm sau đó viêm xơ và có nhiều sợi Fibrin và những điểm thoái hóa hoại tử trắng do tổ chức liên kết giữa thùy tăng sinh lan vào các thùy gan gây tiêu biến tổ chức. Ống dẫn mật viêm tăng sinh dày, lòng ống dẫn mật giãn rộng có lẫn máu và mủ. Niêm mạc tăng sinh thành những u trong đó có nhiều bạch cầu hạt, nguyên bào sợi, lâm ba cầu, bạch cầu ái toan và các hồng cầu.

5) Chẩn đoán:

Cần dựa vào triệu chứng bệnh tích, dịch tễ để chẩn đoán, các biện pháp trên kém hiệu quả do vậy phải xét nghiệm phân tìm trứng theo phương pháp lắng gạn, Benedek, Demidov v.v... khi chẩn đoán cần phân biệt với trứng sán lá dạ cỏ thuộc họ Paramphistomatidae. Phần lớn trâu bò đều nhiễm sán lá dạ cỏ, từ vài trăm cho tới một ngàn sán/gia súc cũng ít ảnh hưởng cho gia súc. Việc phân biệt hai loại trứng cần dựa vào 5 đặc điểm cơ bản sau đây :

Đặc điểm	Fasciola	Paramphistomum
Màu sắc	Vàng nhạt	Xám nhạt
Hình dạng	Hai đầu thon đều	Đầu to đầu nhỏ
Tế bào phôi	Kín trong trứng	Không kín, rải rác
Kích thước	Nhỏ hơn 0,063-0,078x0,011- 0,151mm	Lớn hơn 0,090-0,060x0,120- 0,190mm

Vỏ trứng	Mỏng hơn	Dày hơn
-------------	----------	---------

Hoặc có thể dùng phản ứng dị ứng để chẩn đoán. Dùng sán trưởng thành chế kháng nguyên, lấy 0,3ml kháng nguyên thân sán, chích nội bì khấu đuôi. Sau 5 phút đọc kết quả. Phương pháp này kém chính xác, trong thực tế rất ít dùng.

Dùng kỹ thuật ELISA để chuẩn đoán (Enzym Linked Immuno Assay). Theo Jeannick, V.Dast J.J.Blian (1988) dùng kỹ thuật ELISA để phát hiện kháng thể trong khi bò nhiễm sán lá gan. Kháng nguyên được chuẩn bị theo kỹ thuật F.F.A của Farrell. Kháng thể là những Lactoserum có gắn bổ xung Globulin có gắn men Peroxidase. Đọc kết quả dựa vào quang phổ kế Densite optique (D.O) và so sánh với Lactoserum dương tính chuẩn. Nhưng kỹ thuật chưa được áp dụng rộng rãi.

Ngoài ra trên bò nhiễm Fasciola có thể chuẩn đoán dựa vào nồng độ của 2 enzym được phóng thích ra trong huyết tương do những tế bào gan bị hư hại. Enzyme Glutamate dehydrogenase (GLDH) được phóng thích khi nhu mô gan bị hư hại, nồng độ tăng cao trong suốt vài tuần lễ đầu khi bị nhiễm. Enzyme gamma glutamyl transpeptidase (GGT) tăng cao cho thấy sự tổn hại của tế bào biểu mô của ống dẫn mật, xảy ra sau khi sán lá ký sinh ở ống dẫn mật, nồng độ của enzyme này tăng cao trong một thời gian dài .

6) Điều trị:

Hiện nay có rất nhiều thuốc có hiệu quả trong điều trị bệnh sán lá gan lớn. Trước đây thuốc được sử dụng có hiệu quả nhất là Tetrachlorocarbon nhưng ngày nay ít sử dụng vì thuốc có độc tính cao.

- Dertyl: dạng viên có hai loại viên 100mg (Dertyl O) thường dùng cho dê cừu. Viên 300mg (Dertyl B) thường dùng cho trâu bò.

Liều lượng: ở trâu dùng liều 9mg/kg P

Bò dùng liều 6mg/kg P

Dê, cừu 8mg/kg P

- Oxymisole là hỗn hợp của hai loại thuốc Tetramisole và Oxyclonazide. Dùng liều 1 gam thuốc/30kgP trộn thức ăn cho ăn hoặc hoà nước cho uống.

- Rafoxanide dùng liều 7,5-10mg/kgP hoà thành dung dịch 2,5% cho uống. Muốn xổ sán còn non phải tăng liều gấp đôi 15-20mg/kgP.

- Bitin hay Sulphen liều 30mg/kgP cho uống đạt hiệu quả tốt.

- Oxyclonazide (Zanil) liều 10-30mg/kgP hoà nước cho uống hay trộn thức ăn.

-Hexachloethane (C₂Cl₆) hay còn gọi là Fasciolin liều dùng 0,2-0,4gam/1kg P cho uống.

- Hexachlorophene (Anticepton) dùng liều 15-20mg/kgP cho uống có hiệu quả tốt.

- Bromsalans 3,4,5 Tribromcasililaninide, 4-5 Dibromcalisilaninide liều dùng 20-25mg/kgP cho uống.

- Hexxykhol liều dùng 0,3g/kgP đối với trâu bò, liều 0,2g/kgP đối với cừu cho uống.

- Closantel liều 10mg/kgP cho uống.

- Triclabendazole liều 10mg/kgP cho uống hoặc cho ăn.

- Closulon liều 7mg/kgP cho uống hoặc ăn.

- Albendazole liều 7,5mg/kgP cho ăn hoặc uống.

- Diamphenethide (Coriban) liều 100mg/kgP cho ăn hoặc cho uống.

- Hetol liều 150 mg/kgP cho uống.

- Hetolin liều 19-22mg/kgP cho ăn hoặc cho uống.

- Carbon tetrachloride dùng cho trâu bò với liều 0,03-0,04ml/kgP.

Môn bệnh ký sinh trùng thú y

Đáp án câu 1: Dịch tễ học bệnh ký sinh trùng, ý nghĩa của việc nghiên cứu dịch tễ học.

DỊCH TỄ CỦA BỆNH KÝ SINH

Dịch tễ của bệnh ký sinh là một vấn đề rất rộng lớn và quan trọng. Dịch tễ có liên quan rất nhiều đến tính chất của mầm bệnh, tính chất của vật chủ, các điều kiện tự nhiên và xã hội, tập quán chăn nuôi, tập quán xã hội, trình độ tổ chức kinh tế, trình độ văn hóa xã hội v.v... Để nắm được các biện pháp phòng chống bệnh nhất thiết phải tiến hành nghiên cứu dịch tễ. Dịch tễ của ký sinh và bệnh ký sinh nghiên cứu các vấn đề sau đây :

1. Nguyên nhân phát sinh bệnh :

Nguyên nhân là dạng ấu trùng hay trưởng thành, do giun sán gây ra do nguyên bào, hay do côn trùng, khả năng gây bệnh của mầm bệnh từ đó mà tiến hành dùng thuốc và dùng các biện pháp cắt đứt chu kỳ phát triển của mầm bệnh.

2. Đường phát tán và xâm nhập :

Mỗi một nguyên nhân bệnh có đường phát tán và xâm nhập khác nhau. Do vậy phải biết đường phát tán và xâm nhập.

a) Phát tán :

- Phát tán do môi giới hay do vật chủ trung gian. Ví dụ : Trypanosoma phát tán qua ruồi Stomoxys calcitrans. Babesia phát tán qua ve Ixodidae.

- Phát tán qua phân và nước tiểu. Hầu hết các loài giun tròn đường tiêu hóa và giun thân Diocyophyma renale, Stephanurus dentatus.

- Phát tán qua tiếp xúc như ghẻ Sarcoptes.

- Phát tán qua giao cấu như (Trichomonas foetus và Trypanosoma equiperdum.

- Do quản lý giết mổ như Taenia hydatigena, T. multiceps v.v...

b) Xâm nhập :

- Qua da như Ancylostoma caninum, Strongyloides, Stephanurus dentatus, Hypoderma bovis v.v...

- Qua chích hút như : Trypanosoma, Babesia, Anaplasma, Theileria, Plasmodium, Dirofilaria immitis v.v...

- Qua thức ăn, nước uống hầu hết các loại giun sán.

- Qua thai như Fasciola gigantica, Neoascaris v.v...

- Qua niêm mạc như Trypanosoma equiperdum, Tritrichomonas.

- Qua tiết sữa như Ancylostoma, Ascaris, Strongyloides v.v...

3. Sự phân bố :

Ký sinh phân bố rộng ở môi trường bên ngoài và phân bố khắp cơ thể. Tùy theo từng lúc, từng nơi, từng loài ký sinh mà sự phân bố của nó nhiều hay ít. Sự phân bố này gồm :

a) Trong cơ thể gia súc :

- Loài vật chủ nhiễm, loài nào nhiễm nhiều, gia súc nào nhiễm ít,

- Tỷ lệ nhiễm của từng loại gia súc cao hay thấp,
- Tính biệt nhiễm,
- Sự phân bố tổng từng cơ quan của gia súc,
- Thời gian gây bệnh hay tồn tại trong vật chủ,
- Thời gian để đạt trạng thái gây bệnh,
- Sự di hành trong vật chủ.

b) Ở môi trường bên ngoài :

- Ảnh hưởng của nhiệt độ tới sự phát triển của ký sinh,
- Ảnh hưởng của ẩm độ,
- Ảnh hưởng của điều kiện lý hóa, ánh sáng,
- Thời gian tồn tại của mầm bệnh ở môi trường bên ngoài,
- Ảnh hưởng của các điều kiện sinh thái, vùng mùa, xã hội tới sự tồn tại và phát triển của mầm bệnh.

4. Quy luật :

Mỗi một bệnh có quy luật khác nhau. Tùy từng nơi từng lúc mà quy luật bệnh thể hiện rõ hay không rõ. Quy luật bệnh gồm :

- Quy luật nhiễm theo mùa.
- Quy luật nhiễm theo tuổi.
- Quy luật nhiễm theo vùng sinh thái.
- Quy luật nhiễm theo giới tính.
- Quy luật nhiễm theo loài vật chủ.
- Quy luật nhiễm theo sự quản lý chăm sóc.
- Quy luật nhiễm theo trạng thái miễn nhiễm của gia súc.
- Quy luật nhiễm theo sự sử dụng thuốc.
- Quy luật di truyền.
- Quy luật theo tình hình vệ sinh thú y v.v...

Ngoài ra dịch tễ còn nghiên cứu các vấn đề khác như : tiềm năng sinh học của ký sinh liệu pháp điều trị và hiệu quả, tăng miễn nhiễm với IgE, khả năng miễn nhiễm của từng loài, thời gian tồn tại trong vật chủ trung gian v.v...

ĐỀ THI TỐT NGHIỆP MÔN BỆNH KÝ SINH TRÙNG THÚ Y
(Dành cho lớp thú y 2002)

Câu 1: Dịch tể học bệnh ký sinh trùng, ý nghĩa của việc nghiên cứu dịch tể học ?

Câu 2: Tên sán? Tên bệnh, triệu chứng và biện pháp phòng trị sán lá gan ở gia súc?

Buôn Ma Thuột, ngày 6 tháng 1 năm 2007

Trưởng bộ môn Thú y chuyên ngành Người ra đề

Nguyễn Văn Diên

Nguyễn Văn Diên

ĐỀ THI TỐT NGHIỆP MÔN BỆNH KÝ SINH TRÙNG THÚ Y
(Dành cho lớp thú y 2002)

Câu 1: Tác hại do bệnh ký sinh trùng gây ra? Biện pháp phòng trị tổng hợp?

Câu 2: Tên sản? Tên bệnh gạo lợn, biện pháp xử lý trong kiểm soát sát sinh, khi phát hiện lợn bị nhiễm gạo. Biện pháp phòng trừ tổng hợp?

Buôn Ma Thuột, ngày 6 tháng 1 năm 2007

Trưởng bộ môn Thú y chuyên ngành Người ra đề

Nguyễn Văn Diên

Nguyễn Văn Diên

ĐỀ THI TỐT NGHIỆP MÔN BỆNH KÝ SINH TRÙNG THÚ Y
(Dành cho lớp thú y 2002)

Câu 1: Anh (chị) hãy phân biệt ký sinh trùng và bệnh ký sinh trùng và cách gọi tên ký sinh trùng và bệnh ký sinh trùng?

Câu 2: Tên sản? Tên bệnh, triệu chứng và biện pháp phòng trị bệnh giun đũa lợn?

Buôn Ma Thuột, ngày 6 tháng 1 năm 2007

Trưởng bộ môn Thú y chuyên ngành Người ra đề

Nguyễn Văn Diên

Nguyễn Văn Diên