

CÁC GIAI ĐOẠN PHÁT TRIỂN CỦA TRÚNG VÀ ẤU TRÙNG SÁN LÁ GAN NHỎ (OPISTHORCHIIDAE) Ở NGOÀI MÔI TRƯỜNG VÀ TRONG VẬT CHỦ TRUNG GIAN

Nguyễn Văn Thoại^{1*}, Nguyễn Đức Tân¹,
Huỳnh Vũ Vỹ¹, Vũ Khắc Hùng¹, Vũ Hữu Trường¹

TÓM TẮT

Nghiên cứu thực nghiệm cho thấy trong môi trường nước tự nhiên, trứng sán lá gan nhỏ (*O. viverrini*, *C. sinensis*) phát triển thành ấu trùng (miracidium), nhưng trứng không nở ra ấu trùng. Vật chủ trung gian thứ nhất (ốc *Bithynia siamensis*) ăn phải trứng, miracidium phát triển qua các giai đoạn sporocyst, redia và cuối cùng là cercaria. Sporocyst non chứa nhiều tế bào mầm, có điểm mắt. Sporocyst thành thục có lớp vỏ mỏng, bên trong chứa nhiều redia. Redia thành thục có miệng, hầu, ruột. Cercaria thoát ra từ redia, sống trong gan của ốc, sau đó di chuyển ra môi trường, bơi lội tự do trong nước. Cercaria chứa nhiều sắc tố màu nâu, có giác miệng, giác bụng, 2 điểm mắt, một cái đuôi. Thời gian mầm bệnh sán lá gan nhỏ phát triển trên ốc mất khoảng 55-62 ngày. Cercaria xâm nhập vào vật chủ trung gian thứ 2 (cá trắm, cá mè, cá diếc), phát triển đến giai đoạn gây nhiễm, sau đó rụng đuôi, tạo thành dạng nang kén nằm ở trong cơ vật chủ. Thời gian cercaria từ khi xâm nhiễm vào cá đến khi hình thành metacercaria từ 25-40 ngày.

Từ khóa: Ấu trùng, cá, ốc *Bithynia*, sán lá gan nhỏ (*O. viverrini*, *C. sinensis*), trứng.

1. BẬT VẤN ĐỀ

Sán lá gan nhỏ thuộc họ Opisthorchiidae có nhiều giống, loài khác nhau, một số loài thường gây bệnh như: *Opisthorchis viverrini*, *Clonorchis sinensis*, *O. felinus*, *O. lobatus*, *O. cheelis*, *O. longissimus*. Vòng đời của *O. viverrini* và *C. sinensis* đã được nghiên cứu (Arunsan và cs, 2014): Sán trưởng thành ký sinh trong gan của chó, mèo hoặc người, thải trứng theo phân ra ngoài môi trường (ao, hồ, đầm lầy, sông, suối...). Trứng sán bị ốc nước ngọt ăn phải (vật chủ trung gian thứ nhất), ấu trùng (miracidium) thoát ra khỏi trứng, phát triển qua các giai đoạn sporocyst, redia và cercaria và ra ngoài bơi lội tự do trong nước, xâm nhập vào cá nước ngọt (họ cá chép Cyprinidae - vật chủ trung gian thứ 2). Ấu trùng tiếp tục phát triển trên cá nước ngọt và tạo thành dạng nang kén (metacercaria) nằm trong cơ của vật chủ. Nếu người hoặc động vật ăn thịt (chó, mèo...) ăn phải cá chứa nang kén này sẽ bị bệnh (Kaewkes, S., 2003; Upatham, E. và Viyanant, V., 2003; Rim, H. J., 2005).

Mặc dù bệnh sán lá gan nhỏ là bệnh lây truyền giữa người và động vật đã phát hiện, nghiên cứu từ lâu nhưng cho đến nay những nghiên cứu về thời gian

các giai đoạn phát triển của ấu trùng sán lá gan nhỏ vẫn còn hạn chế, đặc biệt là ở nước ta chưa có công trình nào nghiên cứu chuyên sâu về thời gian của từng giai đoạn phát triển của ấu trùng sán lá gan nhỏ ở ngoài môi trường và trong vật chủ trung gian. Vì vậy, nghiên cứu này là cần thiết, nhằm xác định được mối quan hệ giữa ký sinh trùng và vật chủ trong điều kiện sinh thái ở nước ta.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

Mẫu bệnh phẩm là gan và túi mật của chó mèo nhiễm sán lá gan nhỏ (loài *Opisthorchis viverrini* thu thập tại tỉnh Bình Định, Phú Yên và loài *Clonorchis sinensis* thu thập tại tỉnh Hà Nam, Nam Định và Ninh Bình).

Ốc *Bithynia siamensis* được thu thập trong tự nhiên, nuôi ốc trong điều kiện phòng thí nghiệm để chúng đẻ ra ốc con dùng để gây nhiễm (ốc gây nhiễm kích thước từ 1-3 mm). Số lượng ốc gây nhiễm là 1200 con.

Cá mè (250 con), cá diếc (250 con), cá trắm (250 con) được nuôi trong điều kiện thí nghiệm để gây nhiễm.

Bể nuôi ốc và cá có kích thước dài 1,5 m, rộng 70 cm, sâu 60 cm. Đáy bể có phủ lớp bùn dày khoảng 5-10 cm, mực nước trong bể duy trì từ 35 - 40 cm.

¹ Phân viện Thú y miền Trung

*Email: nvthoaiptv@gmail.com

Trong bể có bèo, rong rêu, cây cỏ thủy sinh đảm bảo các điều kiện giống như trong tự nhiên.

Một số dụng cụ, hóa chất, trang thiết bị cần thiết để nghiên cứu ký sinh trùng học.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị trứng sán: Thu trứng sán lá gan nhỏ trong túi mật chó hoặc thu thập sán trưởng thành từ chó bị bệnh trong tự nhiên (thu ở các điểm giết mổ). Đưa sán vào đĩa petri chứa nước cất, sán thường sống được khoảng 6 - 10 giờ sau khi tách khỏi cơ thể chó và tiếp tục thải trứng. Sau đó ly tâm (1000 vòng/phút trong 5 phút), thu trứng, cho trứng vào môi trường nước tự nhiên, để ở nhiệt độ phòng thí nghiệm (22 - 28°C) và theo dõi quá trình phát triển của trứng dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 100 đến 400 lần. Đếm toàn bộ số trứng hình thành ấu trùng và trứng không hình thành ấu trùng.

Gây nhiễm ốc: Trước khi gây nhiễm, ốc phải được xét nghiệm ngẫu nhiên để đảm bảo không nhiễm mầm bệnh sán lá gan nhỏ. Sau đó, cho ốc vào cốc thủy tinh (hoặc chậu thủy tinh) chứa nước cất. Cho trứng sán đã hình thành miracidium vào cốc (gây nhiễm khoảng 1000 - 1200 trứng sán/100 ốc; lượng nước phải ngập các cá thể ốc). Trong thời gian gây nhiễm, chuyển ốc vào chỗ bóng tối, mỗi 15 - 20 phút lắc cốc 1 lần để ốc có thể ăn được nhiều trứng sán. Sau 8 - 12 giờ, thả ốc xuống bể thí nghiệm. Thí nghiệm bố trí 3 lô gây nhiễm và 1 lô không gây nhiễm làm đối chứng, mỗi lô 100 ốc, lặp lại 3 lần.

Phương pháp xét nghiệm ốc: Xét nghiệm được tiến hành theo từng cá thể ốc, ép ốc giữa hai tấm kính, dùng kim vi phẫu để loại bỏ phần vỏ giữ lại phần cơ và kiểm tra dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 100 - 400 lần để tìm sporocyst, redia và cercaria.

Gây nhiễm cá: Sau khi gây nhiễm cho ốc *B. siamensis*, khi ấu trùng phát triển đến giai đoạn cercaria và thoát ra khỏi ốc, bơi tự do trong nước thì gây nhiễm cá. Cho cá vào chậu thủy tinh có chứa 500-1000 ml nước cất, gây nhiễm khoảng 40-50 ấu trùng/cá. Sau khi gây nhiễm, thả cá xuống bể thí nghiệm, định kỳ mổ khám để xác định các giai đoạn phát triển của mầm bệnh. Mỗi thí nghiệm được bố trí 3 lô, mỗi lô 200 con và một lô đối chứng 50 con (không gây nhiễm). Định kỳ khoảng 2 giờ, 4 giờ, 6 giờ và 12 giờ xét nghiệm cá để theo dõi quá trình phát triển của mầm bệnh sán lá gan nhỏ.

Phương pháp xét nghiệm cá: Được tiến hành

theo từng cá thể cá bằng xem tươi (ép từng mảnh cơ dưới dưới 2 tấm kính) và phương pháp tiêu cơ tiêu. Quan sát ấu trùng dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 100 - 400 lần.

Xử lý số liệu kết quả nghiên cứu bằng phần mềm Excel 2010.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Quá trình phát triển của trứng sán lá gan nhỏ ở ngoài môi trường

Bảng 1. Quá trình phát triển của trứng ở môi trường nước ngọt tự nhiên

Thời gian (ngày)	Những thay đổi của trứng	Tỷ lệ trứng thay đổi (% n=1349 trứng)
1-3	Tế bào phôi phủ kín trứng	100,0
4-8	Tế bào phôi phân chia thành nhiều tế bào, sau đó tạo thành 1 khối thống nhất.	85,2
9-15	Các tế bào phôi thành một khối thống nhất. Ấu trùng hình thành nằm trong vỏ trứng.	77,8

Nghiên cứu sự phát triển của trứng ở môi trường nước ngọt tự nhiên được thể hiện ở bảng 1. Kết quả ở bảng 1 cho thấy, trứng sán mới đẻ có hình bầu dục, 2 lớp vỏ, đầu nhỏ có nắp, tế bào phôi phủ kín trứng. Đến ngày thứ 4, tế bào phôi phân chia thành nhiều tế bào, sau đó xuất hiện dạng tế bào đặc. Từ ngày thứ 9 đến ngày 15, trong trứng đã hình thành ấu trùng (miracidium), với tỷ lệ 77,8%.

Theo dõi các lô thí nghiệm cho thấy, các giai đoạn phát triển của trứng sán lá gan nhỏ (*O. viverrini* và *C. sinensis*) là giống nhau (khoảng 9-15 ngày). Ấu trùng miracidium hình thành và nằm trong vỏ trứng, không thoát ra ngoài môi trường. Ấu trùng sống trong trứng khoảng 12-15 ngày, sau đó bị chết, các tế bào cơ cụm từng đám hoặc bị phân hủy.

3.2. Quá trình phát triển của trứng sán lá gan nhỏ ở ốc *Bithynia siamensis*

Để xác định các giai đoạn phát triển của ấu trùng sán lá gan nhỏ trên ốc *B. siamensis*, đã cho trứng chứa miracidium vào môi trường nuôi ốc *Bithynia siamensis*. Trong ốc, ấu trùng sán phát triển qua các giai đoạn miracidium, sporocyst, redia và

cercaria. Các giai đoạn phát triển của ấu trùng trên ốc được thể hiện ở bảng 2.

Bảng 2. Các giai đoạn ấu trùng sán lá gan nhỏ ở ốc *B. siamensis*

Thời gian sau gây nhiễm	Dạng ấu trùng	Hình dạng ấu trùng
Đến 24 giờ	Miracidium	Hình bầu dục, lông bao phủ cơ thể
2 – 5 ngày	Sporocyst non	Hình bầu dục hoặc hình trứng, bên trong có các tế bào mầm
6 - 15 ngày	Sporocyst già	Hình bầu dục, bên trong là các redia I
16 - 21 ngày	Redia I	Dạng hình cành cây, bên trong có các tế bào hình tròn
22 - 29 ngày	Redia II	Hình bầu dục, bên trong có cercaria
30-44 ngày	Sporocyst Redia I, II	Hình thái ấu trùng tương tự như trên
45-54 ngày	Cercaria trong cơ thể ốc	Cơ thể có sắc tố màu nâu, giác miệng, giác bụng, 1 đôi mắt, đuôi, giai đoạn này ấu trùng sống trong cơ thể ốc
55 – 62 ngày	Cercaria thoát ra khỏi ốc	Hình thái tương tự như trên

Ghi chú: Lô đối chứng không tìm thấy mầm bệnh

Qua bảng 2 cho thấy, ốc *Bithynia siamensis* ăn phải trứng sán chứa miracidium, trong cơ thể ốc, ấu trùng sán lá gan nhỏ phát triển từ giai đoạn này đến

giai đoạn khác: Miracidium, sporocyst, redia và cercaria

Sau gây nhiễm cho đến 24 giờ, miracidium (ấu trùng lông) đã thoát khỏi vỏ trứng, khu trú ở ruột; ấu trùng có hình bầu dục, bên ngoài có lông bao phủ.

Sau ngày 2 đến ngày 5, miracidium hình thành sporocyst non, có dạng hình oval hoặc hình trứng, bên trong có nhiều tế bào mầm và có điểm mắt. Các tế bào này tiếp tục phân chia, phát triển và dần dần hình thành nên các vách ngăn, tạo nên những hình túi độc lập.

Từ ngày 6 đến ngày 15, sporocyst già có hình bầu dục, bên trong có các redia I. Redia I sinh ra từ sporocyst già, có dạng hình cành cây, bên trong có các tế bào hình tròn.

Từ ngày thứ 22 đến 29, redia II sinh ra từ redia I, có dạng hình bầu dục, có miệng, hầu, ruột, bên trong chứa nhiều cercaria.

Từ ngày 30 đến ngày 44, các sporocyst, redia tiếp tục sinh sản vô tính cho ra nhiều thế hệ con.

Sau ngày 45 đến ngày 54, một số cercaria thoát ra khỏi redia II và vẫn tiếp tục sống bên trong cơ thể ốc.

Từ ngày 55 đến ngày 62, cercaria thoát ra khỏi cơ thể ốc và bơi tự do trong nước. Cấu tạo cơ thể của cercaria được chia thành 2 phần, phần thân và phần đuôi. Phần thân có hình bầu dục, có giác miệng, giác bụng, ruột, có 2 điểm mắt, cơ thể có nhiều sắc tố màu nâu bao phủ; phần đuôi mảnh, dài gấp 2-2,5 lần phần thân, đuôi là cơ quan giúp cho ấu trùng bơi tự do trong nước.

3.3. Quá trình phát triển của ấu trùng sán lá gan nhỏ trên cá

Bảng 3. Kết quả gây nhiễm ấu trùng sán lá gan nhỏ cho cá nước ngọt

Giai đoạn sau gây nhiễm (ngày)	Số con nhiễm/số con mổ khám (%)				Dạng ấu trùng
	Cá mè	Cá diếc	Cá trắm	Tổng cộng	
1-24	46/60 (76,6)	43/60 (71,6)	41/60 (68,3)	130/180 (72,2)	Cercaria
25-28	39/60 (65,0)	41/60 (68,3)	37/60 (61,6)	117/180 (65,0)	Cercaria
					Nang kén metacercaria
29-40	55/80 (68,75)	52/80 (65,0)	57/80 (71,2)	164/240 (68,3)	Nang kén metacercaria

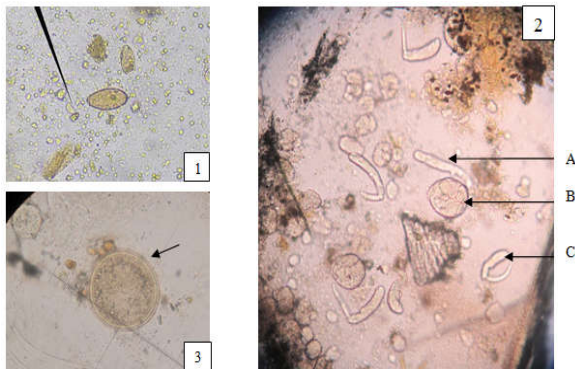
Ghi chú: Lô đối chứng không tìm thấy mầm bệnh

Qua bảng 3 cho thấy, ấu trùng xâm nhập vào cá nước ngọt (cá trắm, cá mè, cá diếc), theo thời gian cấu tạo các cơ quan trở nên rõ ràng và hoàn thiện hơn. Kết quả mổ khám 180 cá sau gây nhiễm từ ngày thứ nhất đến ngày thứ 24, phát hiện 130 con có cercaria, với tỷ lệ nhiễm 72,2%.

Từ ngày thứ 25 đến ngày thứ 28, một số ấu trùng phát triển đến giai đoạn gây nhiễm, chúng cuộn lại và tạo thành dạng nang kén nằm trong cơ của vật chủ. Mổ khám 180 cá, phát hiện 117 con có cercaria và nang kén metacercaria, với tỷ lệ nhiễm 65,0%.

Từ ngày thứ 29 đến ngày thứ 40, toàn bộ ấu trùng cercaria đã tạo thành dạng nang kén nằm trong cơ của vật chủ. Mổ khám 240 cá phát hiện 164 con có nang kén, với tỷ lệ nhiễm 68,3%.

Về hình thái ấu trùng dạng nang kén, tùy thuộc sự vận động của ấu trùng bên trong mà nang kén có hình tròn hoặc hình elíp, chiều dài từ 205-233 μm , chiều rộng từ 163-220 μm . Nang kén có 2 lớp vỏ mỏng bao bọc ấu trùng, giác bụng bằng giác miệng, chất nền màu nâu rải đều cơ thể, tuyến bài tiết hình chữ O và chiếm hầu hết phần sau cơ thể.



Hình 1. Các giai đoạn ấu trùng sán lá gan nhỏ

1: Trứng chứa ấu trùng miracidium;

2: Ấu trùng trong ốc (A: Redia; B: sporocyst; C: Cercaria)

3: Nang kén metacercaria ở cá

Nghiên cứu trước đây cho thấy, chu kỳ sinh học của sán lá gan nhỏ loài *O. viverrini*, *O. felinus* và *C. sinensis* là giống nhau (Kaewkes, 2003). Vật chủ trung gian thứ nhất là ốc *Bithynia* spp. Trong ốc ấu trùng phát triển qua các giai đoạn miracidium, sporocyst, redia và cercaria. Ấu trùng cercaria xâm nhập vào vật chủ trung gian thứ 2 (cá nước ngọt họ Cyprinidae), tạo thành dạng nang kén metacercaria

nằm trong cơ của vật chủ. Người và động vật có vú ăn phải cá chứa nang kén sẽ bị bệnh (Young *et al.*, 2010; Rim, 2005; Kaewkes, 2003).

Trong nghiên cứu này, các giai đoạn phát triển của ấu trùng trên ốc và trên cá là giống với những nghiên cứu trước đây. Tuy nhiên, thời gian phát triển trên vật chủ tùy thuộc vào yếu tố ngoại cảnh mà có sự khác nhau giữa các nghiên cứu. Nghiên cứu này ấu trùng tạo thành dạng nang kén nằm trong cơ cá là sau 25 ngày, nhưng nghiên cứu của Kaewkes (2003), Sripa và cs (2007) là ngắn hơn (21 ngày) và nghiên cứu của Pustovalova và cs (1999) là dài hơn (48 ngày).

Ở nước ta, các nghiên cứu cho thấy bệnh sán lá gan nhỏ khá phổ biến trên người và động vật (chó, mèo). Đặc biệt một số vùng có sự lưu hành của mầm bệnh rất cao như Đắk Lắk, Bình Định, Phú Yên, Hà Nam, Nam Định, Ninh Bình,... (Bùi Văn Tuấn và cs, 2017; Nguyễn Văn Chương và cs, 2009; Nguyễn Văn Đề và cs, 2007). Mặt khác, ốc *Bithynia siamensis* tồn tại quanh năm, thường sống trên hoặc trong bùn, trên đá cũng như trên thảm thực vật trong môi trường nước ngọt: sông suối, đồng ruộng, ao hồ và đầm lầy. Chúng là mắt xích quan trọng trong chu kỳ sinh học, là bộ máy khuếch đại mầm bệnh sán lá gan nhỏ ở người và động vật. Trong thực nghiệm cho thấy mầm bệnh sán lá gan nhỏ có tính miễn cảm rất cao đối với vật chủ trung gian là ốc *Bithynia siamensis* và cá trắm, cá mè, cá diếc. Vì vậy, để phòng chống bệnh hiệu quả phải có các biện pháp để giảm thiểu sự tiếp xúc của mầm bệnh với vật chủ trung gian.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu các giai đoạn phát triển của mầm bệnh sán lá gan nhỏ (*O. viverrini*, *C. sinensis*) ở ngoài môi trường và trong vật chủ trung gian cho thấy, trong môi trường nước tự nhiên trứng phát triển thành ấu trùng (miracidium) sau 9 đến 15 ngày. Vật chủ trung gian thứ nhất (ốc *Bithynia siamensis*) ăn trứng sán, miracidium tiếp tục phát triển qua các giai đoạn: sporocyst, redia và cuối cùng là cercaria. Thời gian mầm bệnh phát triển trên ốc mất khoảng 55-62 ngày. Ấu trùng cercaria thoát khỏi ốc, xâm nhập vào vật chủ trung gian thứ 2 (cá diếc, cá mè, cá trắm) và tạo thành dạng nang kén nằm ở trong cơ vật chủ. Thời gian ấu trùng phát triển ở cá mất khoảng 25-40 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Chương, Bùi Văn Tuấn, Triệu Nguyên Trung, Nguyễn Văn Khả (2009). Tình hình nhiễm sán lá gan nhỏ *Opisthorchis viverrini* sau thời gian can thiệp tại 2 tỉnh Phú Yên, Bình Định. *Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng*. Số 1/2009. Hà Nội: Tr 78-833.
2. Nguyễn Văn Đễ, Lê Thanh Hòa (2007). Tình hình nhiễm sán lá gan ở người và thành phần loài sán lá gan ở Việt Nam. *Kỷ yếu công trình nghiên cứu khoa học 2001-2006*. Viện Sốt rét, Ký sinh trùng, Côn trùng Quy Nhơn. NXB Y học Hà Nội. 474-482.
3. Bùi Văn Tuấn, Lý Chanh Ty, Huỳnh Thị Thanh Xuân, Trần Ngọc Thảo, Nguyễn Hải Khánh (2017). Nghiên cứu thành phần loài sán lá gan nhỏ truyền qua cá nước ngọt ký sinh trên người tại một số tỉnh miền Trung-Tây Nguyên. *Tạp chí Phòng chống bệnh sốt rét và các bệnh ký sinh trùng*. Số đặc biệt (96): 181 – 187.
4. Arunsan, P., Donthaisong, C., Suwannatrat, K., Prasopdee, S., Kulsantiwong, J., Suwannatrat, A., Boonmars, T., Welbat, J. U., Oopachitakul, S. and Tesana, S. (2014). Localization of the cystogenous glands of *Opisthorchis viverrini* cercariae. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 45(2), p.276.
5. Bürli, C., Harbrecht, H., Odermatt, P., Sayasone, S., Chitnis, N. (2018). Mathematical analysis of the transmission dynamics of the liver fluke, *Opisthorchis viverrini*. *Journal of theoretical biology*, 439, pp.181-194.
6. Kaewkes, S. (2003). *Taxonomy and biology of liver flukes*. *Acta Tropica* 88: 3, 177-186.
7. Pustovalova V Ya, Stepanova T F, and Shonin A L (1999). *Opisthorchiasis* (Tyumen: Publishing House of TSMA).
8. Rim, H. J. (2005). Clonorchiasis: an update. *Journal Helminthology* 79: 3, 269-281.
9. Sripan, B., Kaewkes, S., Sithithaworn, P., Mairiang, E., Laha, T., Smout, M., Pairojkul, C., Bhudhisawasdi, V., Tesana, S., Thinkamrop, B. and Bethony, J. M. (2007). Liver fluke induces cholangiocarcinoma. *PLoS Med*, 4(7), 1148-1155, p.e201.
10. Upatham, E. , Viyanant, V. (2003). *Opisthorchis viverrini* and opisthorchiasis: a historical review and future perspective". *Acta Trop.* 88 (3), 171–176.
11. Young, N. D., Campbell B. E., Hall R. S., Jex A. R., Cantacessi C., Laha T., Sohn W. M., Sripan B., Loukas A., Brindley P. J., Gasser R. B. (2010). Unlocking the transcriptomes of two carcinogenic parasites, *Clonorchis sinensis* and *Opisthorchis viverrini*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 4: 6, e719.

DEVELOPMENT OF EGGS AND LARVAE OF OPISTHORCHIIDAE IN ENVIRONMENT AND IN INTERMEDIATE HOST

**Nguyen Van Thoai, Nguyen Duc Tan,
Huynh Vu Vy, Vu Khac Hung, Vu Huu Truong**

Summary

Experimental studies have demonstrated that the eggs of *O. viverrini*, *C. sinensis* develop into miracidia which are ingested by the first intermediate host (*Bithynia siamensis* snail). In the snail the miracidia hatch and develop further through the stages of sporocysts, rediae and finally cercariae. The young sporocyst had packed germinal cells and eyespots. The mature sporocyst is thin walled. The redia possesses a pharynx, gut. At maturity, cercariae break out of the redia and escape into the water. The cercariae were morphologically identified, they had scattered brownish pigment, prominent oral sucker, ventral sucker, a pair of eye spots, a tail and It takes about 55-62 days for the parasite to develop in the snail. Cercaria penetrated under the scales of fishes, then lose its tail and becomes an oval cyst called metacercaria. It takes about 25-40 days for the parasite to develop in the fish.

Keywords: Larval, fish, bithynia snail, small liver fluke (*O. viverrini*, *C. sinensis*), egg.

Người phản biện: GS.TS. Nguyễn Thị Kim Lan

Ngày nhận bài: 02/3/2021

Ngày thông qua phản biện: 02/4/2021

Ngày duyệt đăng: 9/4/2021