

## GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

### 1. Đặt vấn đề

Các bệnh sán lá truyền qua cá bao gồm sán lá gan nhỏ (SLGN) và sán lá ruột nhỏ (SLRN) là những bệnh có tỷ lệ mắc tương đối cao ở một số Quốc gia trên Thế giới, đặc biệt là khu vực Châu Á, trong đó có Việt Nam. Theo thống kê của WHO, hiện nay có khoảng 45 triệu người trên Thế giới nhiễm sán lá gan nhỏ. Tại Việt Nam, cho đến nay đã xác định có ít nhất 32 tỉnh mắc bệnh sán lá truyền qua cá, trong đó có 24 tỉnh mắc bệnh sán lá gan nhỏ và 18 tỉnh có bệnh sán lá ruột nhỏ lưu hành. Nếu nhiễm sán lá kéo dài sẽ ảnh hưởng đến chức năng gan, nhiễm độc, rối loạn tiêu hóa kéo dài và dẫn đến xơ gan, ung thư đường mật...

Huyện Nga Sơn tỉnh Thanh Hoá là một trong những khu vực trọng điểm, tại đây tập quán ăn gỏi cá nước ngọt còn rất phổ biến, người dân vẫn sử dụng phân người tươi để nuôi cá ở hộ gia đình và trang trại. Nhưng cho đến nay chưa có đủ tài liệu nghiên cứu về tình hình nhiễm bệnh này, ấu trùng trên cá, thành phần loài sán lá tại Nga Sơn như thế nào. Kiến thức và thực hành của người dân về phòng chống bệnh ra sao. Những yếu tố nào có liên quan đến tình hình mắc bệnh, giải pháp can thiệp nào tại cộng đồng có hiệu quả để làm giảm tình hình mắc bệnh...

Xuất phát từ những yêu cầu khoa học và thực tiễn trên đây, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “*Thực trạng nhiễm sán lá truyền qua cá trên người, yếu tố liên quan và hiệu quả một số giải pháp can thiệp tại huyện Nga Sơn, Thanh Hóa, năm 2013-2014*”. Với các mục tiêu sau:

- *Xác định tỷ lệ, cường độ nhiễm sán lá truyền qua cá trên người, nhiễm ấu trùng trên cá và loài sán lá tại 4 xã ven biển huyện Nga Sơn, tỉnh Thanh Hoá.*
- *Xác định một số yếu tố liên quan đến nhiễm sán lá ở người dân tại điểm nghiên cứu.*
- *Đánh giá hiệu quả giải pháp can thiệp bằng điều trị và truyền thông giáo dục sức khỏe phòng chống bệnh sán lá tại điểm nghiên cứu.*

## **2. Tính cấp thiết của đề tài**

Các bệnh sán lá truyền qua cá có tỷ lệ mắc tương đối cao ở một số Quốc gia trên Thế giới, trong đó có Việt Nam. Nguyên nhân là tập quán, thói quen ẩm thực ăn gỏi cá có xu hướng lan rộng ra nhiều vùng, miền trong các Quốc gia. Huyện Nga Sơn, Thanh Hóa là một khu vực nhiễm nặng, tại đây tập quán ăn gỏi cá nước ngọt còn rất phổ biến, người dân vẫn sử dụng phân người tươi để nuôi cá ở hộ gia đình và trang trại. Tác hại của bệnh rất lớn, nhưng cho đến nay chưa có đủ tài liệu nghiên cứu về tình hình nhiễm bệnh này, ấu trùng trên cá, thành phần loài sán lá tại đây như thế nào. Những yếu tố nào có liên quan đến tình hình mắc bệnh, chưa có giải pháp can thiệp nào tại cộng đồng có hiệu quả để làm giảm tình hình mắc bệnh. Đề tài này đã phân nào đáp ứng được những vấn đề nêu trên.

## **3. Đóng góp mới của đề tài**

Đánh giá được thực trạng nhiễm sán lá truyền qua cá (sán lá gan nhỏ, sán lá ruột nhỏ) trong cộng đồng dân cư tại các xã ven biển huyện Nga Sơn, tỉnh Thanh hóa để góp phần xây dựng chiến lược phòng chống sán lá truyền qua cá tại các khu vực có thói quen ăn gỏi cá của tỉnh Thanh Hóa có hiệu quả.

Đánh giá được thực trạng nhiễm ấu trùng sán lá trên cá nước ngọt nhằm khuyên cáo người dân trong việc sử dụng thực phẩm sạch, môi trường nuôi cá sạch, làm giảm nguy cơ mắc bệnh trong vùng dịch tễ nhiễm bệnh.

Đồng thời đánh giá được thực trạng kiến thức của người dân về hiểu biết, thái độ, hành vi phòng chống bệnh sán lá trên người và các yếu tố liên quan nhiễm bệnh. Trên cơ sở đó có chương trình truyền thông nâng cao hiểu biết, ý thức tự phòng chống bệnh cho người dân, gia đình và xã hội một cách hiệu quả.

Qua việc thử nghiệm hiệu quả giải pháp can thiệp tại 2 xã đã đưa ra được các giải pháp can thiệp có hiệu quả. Trên cơ sở đó làm mô hình phòng chống cho các khu vực khác của tỉnh có tính chất dịch tễ tương tự của Thanh Hóa.

L luận án cũng đã xác định được thành phần loài sán lá truyền qua cá tại vùng ven biển Huyện Nga Sơn bằng hình thái học và sinh học phân tử, cung cấp dữ liệu bản đồ gene cho ngành Ký sinh trùng.

#### 4. Bố cục luận án

Luận án gồm 142 trang, đặt vấn đề (2 trang), phần kết luận (2 trang) và phần kiến nghị (1 trang). Có 4 chương bao gồm: chương 1: Tổng quan 35 trang; Chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu 25 trang; Chương 3: Kết quả nghiên cứu 42 trang; chương 4: Bàn luận: 33 trang. Luận án gồm 38 bảng, 16 hình, 5 biểu đồ, 152 tài liệu tham khảo (Tiếng Việt: 62, Tiếng Anh: 90).

### Chương 1

#### TỔNG QUAN TÀI LIỆU

##### 1.1. Thông tin chung về bệnh sán lá truyền qua cá

Các bệnh sán lá truyền qua cá bao gồm sán lá gan nhỏ và sán lá ruột nhỏ. Trên thế giới có khoảng 76 loài sán lá truyền qua cá, trong đó có 7 loài sán lá gan nhỏ thuộc họ Opisthorchiidae và 69 loài sán lá ruột nhỏ .

##### - Loài sán lá gan nhỏ chủ yếu trên Thế giới

- + Thuộc ngành (Phylum) sán dẹt (*Platyhelminthes*)
- + Lớp (Class) sán lá (*Trematoda*)
- + Bộ (Order): *Prosostomata*
- + Họ (Family): *Opisthorchiidae*
- + Giống (Genus): *Clonorchis* có loài (*Species*) *Clonorchis sinensis*
- + Giống (Genus): *Opisthorchis* có loài (*Species*) *Opisthorchis viverrini* và loài *Opisthorchis felinus*.

Sán lá gan nhỏ truyền qua cá chủ yếu thuộc họ Opisthorchiidae gồm 7 loài: *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis viverrini*, *O. felinus*, *Amphimerus norverca*, *Amphimerus pseudofelineus*, *Metorchis conjunctus* và *Pseudamphistomum truncatum*.

Ở Việt Nam cho đến nay đã xác định sự có mặt của 2 loài sán lá gan nhỏ truyền qua cá, đó là: *Clonorchis sinensis* có ở miền Bắc, *Opisthorchis viverrini* ở miền Nam và miền Trung thuộc họ Opisthorchiidae.

##### - Loài sán lá ruột nhỏ

Trên Thế giới có khoảng hơn 69 loài sán lá ruột nhỏ được biết đến là ký sinh ở người.

Tại Việt Nam, từ năm 2004 đến năm 2006, với phương pháp xét nghiệm Kato-Katz và lắng cặn trong cộng đồng đã xác định bệnh sán lá ruột nhỏ lưu hành ít nhất 18 tỉnh trong cả nước.

## **1.2. Tình hình nghiên cứu ngoài nước, trong nước bệnh sán lá truyền qua cá**

### **1.2.1. Tình hình nghiên cứu ngoài nước**

#### **1.2.1.1. Loài sán lá gan nhỏ *Clonorchis sinensis* (*C. sinensis*)**

##### **- Nghiên cứu đặc điểm sinh học**

Khi nghiên cứu về đặc điểm hình thái loài *Clonorchis sinensis*, tác giả Chenghua Shen và cộng sự (2007) đã thu thập loài sán *Clonorchis sinensis* trưởng thành ở người. Kích thước sán đo được là: 15-20 mm x 2-3 mm, thân sán có màu đỏ nâu hoặc màu trắng.

Năm 2004, Byung Ihn Choi và cộng sự nghiên cứu về vòng đời và vật chủ trung gian của loài *C. sinensis*, tiếp tục chứng minh rằng: Vật chủ chính của loài sán này là người, chó, mèo, lợn, chuột cống. Vật chủ trung gian thứ nhất là ốc *Bithynia*, vật chủ trung gian thứ 2 là cá nước ngọt thích hợp.

Thời gian từ khi ăn phải ấu trùng nang trong cá đến khi thành sán trưởng thành mất khoảng 26 ngày.

##### **- Các nghiên cứu về bệnh học**

Khi nghiên cứu về những bệnh nhân nhiễm sán lá gan nhỏ, tác giả Sung-Tae Hong và cộng sự (1993-1994) thấy có sự tăng sinh của tế bào biểu mô ống mật, đường mật có sán ký sinh bị giãn theo thời gian.

Rất nhiều nghiên cứu đã khẳng định rằng: Khi bị nhiễm sán ở đường mật kéo dài sẽ là nguy cơ gây ung thư đường mật.

##### **- Nghiên cứu về chẩn đoán *Clonorchis sinensis***

Chẩn đoán lâm sàng không có triệu chứng đặc hiệu, dễ nhầm với 1 số bệnh khác. Chẩn đoán quyết định chủ yếu dựa vào các phương pháp xét nghiệm, trong đó phương pháp xét nghiệm phân Kato – Katz được coi là tiêu chuẩn vàng.

Còn phương pháp chẩn đoán các loài sán bằng sinh học phân tử có độ chính xác cao, đặc biệt là các vùng dịch tễ có nhiễm nhiều loại sán có hình thể trứng giống nhau. Nhưng phương pháp này tốn kém, đòi hỏi phải trang bị 1 phòng xét nghiệm đắt tiền, không phù hợp khi điều tra tại thực địa và khó triển khai diện rộng.

##### **- Nghiên cứu về điều trị *Clonorchis sinensis***

Đến thời điểm này các nghiên cứu cho thấy rằng thuốc praziquantel đã và đang được sử dụng để điều trị có hiệu quả cho người nhiễm *Clonorchis sinensis* và 1 số loài sán đẹt khác (Jing-ying Xiao và cộng sự, 2013).

### - Nghiên cứu dịch tễ sán lá gan nhỏ *Clonorchis sinensis*

Bệnh sán lá gan nhỏ đã phát hiện cách đây đã từ hàng thế kỷ. Chủ yếu là các Quốc gia vùng Châu Á, như: Trung Quốc, Hàn Quốc, Đài Loan, Nhật Bản, Thái Lan, Lào, Campuchia và Việt Nam...

Bệnh sán lá truyền qua cá chủ yếu mắc ở các khu vực dọc các con sông, các hồ và khu vực ven biển, nơi người dân có thói quen ăn gỏi cá, các hình thức chế biến cá chưa chín có chứa ấu trùng sán lá.

Cá nước ngọt là vật chủ trung gian thứ 2 của sán lá truyền qua cá. Tại Hàn Quốc (năm 2004), nhóm tác giả Park J H. và cộng sự đã điều tra tình hình nhiễm ấu trùng *C. sinensis* trên cá ở hồ Soyang Hàn Quốc, cho kết quả: trung bình nhiễm ấu trùng *Clonorchis sinensis* là 0,35 ấu trùng trên mỗi cá xét nghiệm.

#### 1.2.1.2. Loài *Opisthorchis viverrini* (*O. viverrini*)

##### - Nghiên cứu về bệnh học loài *O. viverrini*

Đã có nhiều công trình nghiên cứu về hậu quả nhiễm sán *Opisthorchis viverrini* kéo dài tại đường gan mật của người. Các kết quả nghiên cứu đều đi đến kết luận: Khi nhiễm sán *O. viverrini* kéo dài, rất dễ gây ung thư đường gan mật.

##### - Nghiên cứu dịch tễ loài *O. viverrini*

Nhiễm sán lá gan nhỏ *Opisthorchis viverrini* là 1 loài ký sinh trùng có tỷ lệ nhiễm trầm trọng ở khu vực Đông Nam Á. Có khoảng 8 triệu người ở Thái Lan, 2 triệu người ở Lào đã nhiễm *Opisthorchis viverrini* và có nhiễm cả ở miền Nam Việt Nam. Người dân nhiễm loài này cũng thường sống ở những vùng có nhiều ao, hồ và dọc những con sông. Tỷ lệ nhiễm chung *O. viverrini* ở 16 tỉnh phía Bắc Thái Lan là 11,6% (Radomyos B và cộng, 1998).

##### - Nghiên cứu chẩn đoán loài *O. viverrini*

Để chẩn đoán bệnh sán lá gan nhỏ nói chung và nhiễm loài *Opisthorchis viverrini* nói riêng, chủ yếu là dùng phương pháp xét nghiệm tìm trứng ở dịch tá tràng hoặc phân của người bệnh. Phương pháp này dễ thực hiện ở thực địa, rẻ tiền, khả năng phát hiện cũng cao. Cho đến nay đã có nhiều nghiên cứu về lĩnh vực sinh học phân tử để xác định các loài sán trên Thế giới và ở Việt Nam.

#### 1.2.1.3. Loài sán lá ruột nhỏ

##### - Các nghiên cứu đặc điểm dịch tễ loài sán lá ruột nhỏ:

Hàn Quốc và Trung Quốc là những Quốc gia có tỷ lệ nhiễm sán lá ruột nhỏ cao, nhiễm tương đương như loài sán lá gan nhỏ *Clonorchis sinensis*.

Loài sán lá truyền qua cá nước ngọt, trong đó có loài sán lá ruột nhỏ *H. pumilio* có tỷ lệ nhiễm cao ở khu vực Đông Nam Á. Tuy nhiên

cộng đồng cũng ít hiểu biết về nguyên nhân lây truyền, các triệu chứng lâm sàng ở vật chủ cuối cùng, bao gồm 1 số lớn các loài động vật và cả con người (Sofie Nissen và cộng sự, 2013).

Những loài sán lá truyền qua thức ăn đã và đang là vấn đề sức khỏe trên toàn Thế giới. Mặc dù nhiều địa phương đã có những thay đổi hành vi, thói quen, tập quán. Mặc dù đã có những chương trình phòng chống tích cực bệnh này, nhưng vẫn không thành công. Bởi vì ẩm thực ăn gỏi cá vẫn còn khá phổ biến, lan rộng ở nhiều địa phương trong toàn Quốc và trên Thế giới (Fried B, 2004).

## **1.2.2. Tình hình nghiên cứu trong nước**

### **1.2.2.1. Loài *Clonorchis sinensis***

#### **- Nghiên cứu về dịch tễ**

Tại Việt Nam, những nghiên cứu chủ yếu vào những năm đầu của thập kỷ 70 và 80 thế kỷ XX, có tỷ lệ nhiễm Clonorchiasis trung bình ở các điểm điều tra từ 20% đến 37%.

Đã có nhiều công trình nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm bệnh trên người, trên động vật nuôi gia đình, trên cả vật chủ trung gian và chủ yếu là loài *Clonorchis sinensis* ở miền Bắc. Các vùng dịch tễ nhiễm nặng chủ yếu là vùng mà cộng đồng có thói quen ăn gỏi cá nước ngọt. Đó là vùng Đồng Bằng Châu Thổ sông Hồng, đặc biệt là vùng ven biển miền Bắc. Ở miền Trung, miền Nam là nhiễm loài *Opisthorchis viverrini*.

Bệnh đã được phát hiện ở 24 tỉnh trong cả nước, chủ yếu vùng có tập quán ăn gỏi cá, như tỷ lệ dân ăn gỏi cá ở Nam Định đến 80,4%, Ninh Bình 70%, Thanh Hoá 67,9%. Một số gia súc nhiễm sán lá gan nhỏ là nguồn bệnh lưu trữ trong thiên nhiên và có thể truyền sang người, như chó, mèo, lợn... (Đặng Thị Cẩm Thạch và cộng sự, 2005).

Các nghiên cứu trong 20 năm gần đây đã đi sâu về xác định loài bằng hình thái và sinh học phân tử đã cho thấy rõ thành phần loài ở các khu vực nhiễm bệnh. Nhóm nghiên cứu Đặng Thị Cẩm Thạch và cộng sự (2005), bằng 2 phương pháp phân loại là dựa vào dấu hiệu hình thái và phân tích sinh học phân tử (PCR) cho phép phân biệt chính xác 2 loài *Clonorchis sinensis* và *Opisthorchis viverrini* tại Kim Sơn, Ninh Bình.

Nhiễm sán lá truyền qua cá không chỉ có ở các vùng đồng bằng ven biển, mà còn có cả các vùng đồng bằng khác, như ngoại thành Hà Nội, Hà Tây (cũ). Xa hơn ở vùng Trung du, như điều tra của Nguyễn Mạnh Hùng và Cao Bá Lợi vào tháng 9/2007 đã được tiến hành ở 3 Công ty chè tỉnh Phú Thọ, có tỷ lệ nhiễm chung sán lá gan nhỏ là 22,25%.

Qua kết quả điều tra nhiễm ấu trùng trên cá nước ngọt ở 1 số vùng miền Bắc Việt Nam cho thấy mức độ nhiễm bệnh là tương đối trầm trọng, chủ yếu là các loài cá: mè, trắm, chép, trôi, diếc, rôphi.

Huyện Nga Sơn, tỉnh Thanh Hóa là 1 huyện ven biển nằm giáp ranh với huyện Kim Sơn, tỉnh Ninh Bình. Năm 2011, Đinh Thị Thanh Mai và cộng sự đã tiến hành nghiên cứu 720 người dân bằng xét nghiệm phân Kato, tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ chung là 16,8%.

#### **- Nghiên cứu phòng chống bệnh sán lá gan nhỏ *Clonorchis sinensis***

Đã có nhiều công trình nghiên cứu về công tác phòng chống bệnh sán lá gan nhỏ ở ngoài nước và trong nước, bao gồm công tác truyền thông phòng bệnh và điều trị bằng thuốc đặc hiệu. Năm 2009, nhóm tác giả Lê Thị Tuyết và cộng sự đã tiến hành can thiệp bằng truyền thông giáo dục sức khỏe về bệnh sán lá gan nhỏ cho tất cả người dân xã Xuân Tiến, huyện Xuân Trường, Nam Định, có so sánh trước, sau can thiệp và so với xã chứng. Nhóm nghiên cứu đã chọn mẫu ngẫu nhiên, cỡ mẫu điều tra là 576 người trưởng thành. Biện pháp can thiệp đã làm thay đổi rõ rệt nhận thức, thực hành của họ về bệnh so với trước can thiệp và so với xã chứng.

#### **1.2.2.2. Nghiên cứu loài *Opisthorchis viverrini***

##### **- Đặc điểm sinh học di truyền**

Cuối thế kỷ thứ XX, đặc biệt là đầu thế kỷ thứ XXI, đã có nhiều công trình nghiên cứu sinh học phân tử về bệnh sán lá. Nhờ sự nghiên cứu sâu này mà người ta đã xác định chính xác hơn về các loài sán lá ở các khu vực khác nhau. Qua kết quả phân tích của tác giả Lê Thanh Hòa và cộng sự (2004), cho thấy: Các loài *Opisthorchis* sp của Việt Nam có tỷ lệ tương đồng tuyệt đối về thành phần nucleotide với chủng Khon Kaen, Thái Lan.

##### **- Nghiên cứu về dịch tễ loài *Opisthorchis viverrini***

Năm 2000, Nguyễn Văn Chương và cộng sự đã phát hiện loài sán lá gan nhỏ *Opisthorchis viverrini* ở xã An Mỹ, huyện Tuy An, tỉnh Phú Yên ký sinh ở người và động vật. Vật chủ trung gian của loài sán này là ốc mút *Melania tuberculata* và cá diếc *Carasius carasius*.

Tiếp tục nghiên cứu rộng hơn ở các tỉnh miền Trung Việt Nam, năm 2000, Lê Khánh Thuận và cộng sự đã điều tra xét nghiệm phân cho 27.245

người dân của 10 tỉnh ven biển miền Trung. Kết quả có tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ *Opisthorchis viverrini* trung bình là 2,83%.

#### **- Nghiên cứu phòng chống *Opisthorchis viverrini***

Năm 2005, nhóm nghiên cứu Nguyễn Văn Chương và cộng sự đã tiến hành can thiệp phòng chống bệnh sán lá gan nhỏ ở xã Mỹ Chánh, huyện Phù Mỹ, tỉnh Bình Định. Sau 1 năm can thiệp thì tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ giảm 74,10%, cường độ nhiễm giảm 76,75% so với trước can thiệp.

#### **1.2.2.3. Các nghiên cứu loài sán lá ruột nhỏ**

Bệnh sán lá ruột nhỏ đang có tỷ lệ mắc cao ở các khu vực có lưu hành bệnh sán lá gan nhỏ, do tính chất lây truyền hoàn toàn giống bệnh sán lá gan nhỏ. Trong hơn 2 thập kỷ trở lại đây người ta bắt đầu nghiên cứu nhiều hơn, sâu hơn về bệnh sán lá ruột nhỏ.

Năm 2013, nhóm nghiên cứu Đỗ Trung Dũng đã điều tra phát hiện nhiễm phối hợp sán lá gan nhỏ và sán lá ruột nhỏ ở người tại 9 tỉnh của Việt Nam. Kết quả cho thấy tỷ lệ nhiễm sán chung là 24,6%. Trong đó 42 người nhiễm sán được điều trị, tẩy lấy sán để định loại, thu được 6850 con sán từ 40 bệnh nhân. Trong đó có: 638 con *C. sinensis*, 1 con *O. viverrini*, 3960 con *H. taichui*, 1670 con *H. pumilio*, 56 con *S. falcatius*, 54 con *C. formosanus*, 74 con *E. japonicus*, 2 con *Taenia* và 388 con *Haplorchis spp.*

Tại Thanh Hóa cũng đã có một số nghiên cứu về tỷ lệ nhiễm các loài sán lá trên người, tỷ lệ nhiễm ấu trùng trên vật chủ trung gian. Nhưng chủ yếu các nghiên cứu về sán lá gan nhỏ, còn về các loài sán lá ruột nhỏ chưa được biết đến về dịch tễ cũng như xác định loài bằng hình thái và sinh học phân tử.

#### **1.2.3. Một số nghiên cứu nhiễm sán lá gan nhỏ ở huyện Nga Sơn, Thanh Hóa**

Năm 2002, Nguyễn Văn Đề và cộng sự đã điều tra tại xã Nga Tân, huyện Nga Sơn có tỷ lệ nhiễm sán lá gan nhỏ là 11,0 %.

Năm 2005 điều tra của Đỗ Thái Hòa tại xã Nga An có tỷ lệ nhiễm SLGN là 25,3%.



## Chương 2

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Điều tra trên người: Mọi người dân từ 6 tuổi trở lên, không phân giới tính, nghề nghiệp. Đối tượng từ 6 đến dưới 15 tuổi có hỗ trợ của chủ hộ

- Điều tra ấu trùng trên 5 loài cá nước ngọt (cá mè, cá chép, cá trắm, cá rôphi, cá trôi).

- Định loại sán trưởng thành: Sán lá gan nhỏ và sán lá ruột nhỏ.

#### 2.2. Địa điểm nghiên cứu

- Điều tra tại thực địa: Điều tra tại 4 xã của huyện Nga Sơn, Thanh Hoá. Mỗi xã điều tra 3 thôn: Nga Điền (thôn 2, thôn 3 và thôn 5); Nga Phú (thôn 2, thôn 3 và thôn 5); Nga Thái (thôn 3, thôn 6 và thôn 7); Nga An (thôn 1, thôn 4 và thôn 6).

#### 2.3. Thời gian nghiên cứu

- Thời gian tiến hành điều tra tại 4 xã: Từ tháng 5 năm 2013 đến tháng 12 năm 2014.

- Thời gian tiến hành can thiệp tại 2 xã: Nga Thái và Nga Điền từ tháng 6/2013 đến tháng 12 năm 2014.

#### 2.4. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu dịch tễ học mô tả cắt ngang có phân tích và nghiên cứu can thiệp cộng đồng có đối chứng.

- Cỡ mẫu

+ Cỡ mẫu cho đánh giá hiệu quả can thiệp bằng điều trị và truyền thông về nhiễm SLGN, SLRN và điều tra KAP ở người:

$$n_1 = n_2 = \frac{[Z_{(1-\alpha/2)}\sqrt{2PQ} + Z_{(1-\beta)}\sqrt{p_1q_1 + p_2q_2}]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Trong đó:

+  $n_1$ : Cỡ mẫu của nhóm nghiên cứu can thiệp (can thiệp bằng truyền thông giáo dục sức khỏe và điều trị đặc hiệu) là xã Nga Thái và Nga Điền.

+  $n_2$ : Cỡ mẫu nghiên cứu của nhóm chứng (không can thiệp bằng truyền thông, chỉ điều trị) là xã Nga An và Nga Phú.

$p_1$ : là tỷ lệ nhiễm SLGN lấy ở xã Nga An (Đỗ Thái Hòa, 2005) trước khi can thiệp là 25,3% ( $p_1=0,25$ ) cho cả 2 nhóm chứng và can thiệp.

$p_2$ : là tỷ lệ nhiễm SLGN ước tính sau khi can thiệp khoảng 10% ( $p_2=0,10$ )

$Z_{1-\alpha/2}$  là hệ số tin cậy 95%, có giá trị 1,96

$Z_{(1-\beta)}$  là lực mẫu, với  $\beta=80\%$  thì  $Z_{(1-\beta)}=0,84$

$q_1=1-p_1$ ;  $q_2=1-p_2$ ;  $P=(p_1+p_2)/2$ ,  $Q=1-P$

Từ công thức trên, ta thay các chỉ số vào tính được cỡ mẫu cần điều tra là: 99,4 người, làm tròn 100 người.

+ Để tăng độ tin cậy, tăng cỡ mẫu lên gấp 2 lần, như vậy mỗi xã chứng cần điều tra là:  $100 \times 2 = 200$  người, 02 xã chứng = 400 người. Tương tự như vậy 02 xã can thiệp có số người cần điều tra là 400 người. Tổng số người cần điều tra trong nghiên cứu là 800 người.

#### + Cỡ mẫu điều tra ấu trùng trên cá (số cá điều tra):

Cỡ mẫu số lượng cá thể cá điều tra ấu trùng được tính theo công thức:

$$n = Z^2_{1-\alpha/2} \frac{P(1-p)}{(p \cdot \varepsilon)^2}$$

Trong đó:

+  $n$ : cỡ mẫu tối thiểu cần đạt được,

+  $Z_{1-\alpha/2}$ =Hệ số tin cậy 95%, có giá trị 1,96

+  $p$ : là tỉ lệ nhiễm ấu trùng sán lá trên cá khoảng 30% (Nguyễn Văn Đề đã điều tra trung bình tại 15 tỉnh năm 2003).

+  $\varepsilon$ : là giá trị tương đối (từ 0,1 - 0,4), ta lấy bằng 0,28.

Ta có  $n = 1,96^2 \times 0,3 \times 0,7 / (0,3 \times 0,28)^2 = 114$  cá thể cá. Để tăng độ tin cậy, ta nâng cỡ mẫu lên 2 lần (làm tròn 250 mẫu cho 5 loài, mỗi loài 50 cá thể).

## 2.5. Kỹ thuật tiến hành thu thập số liệu trong nghiên cứu

- Xét nghiệm phân bằng phương pháp Kato - Katz xác định tỷ lệ, cường độ nhiễm sán lá truyền qua cá.

- Kỹ thuật điều tra và định loại ấu trùng trên cá: Bằng kỹ thuật xét nghiệm tiêu cơ pepsin acid và thu thập ấu trùng trên 5 loại cá mà người dân thường ăn gỏi.

- Kỹ thuật định loại hình thái học sán lá gan nhỏ và sán lá ruột nhỏ trưởng thành: Bằng soi tươi và nhuộm carmine theo khóa định loại của Nguyễn Thị Lê.

- Kỹ thuật định loại sán trưởng thành bằng PCR: Phân tích mẫu sán bằng phương pháp sinh học phân tử tại Khoa Sinh học Phân tử Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương và Viện Công nghệ Sinh học Việt Nam.

- Phương pháp điều tra KAP, đánh giá nhà vệ sinh: Bằng câu hỏi đóng và mở đơn giản, dễ hiểu, kết hợp với quan sát thực tế tại gia đình của đối tượng điều tra.

- Phương pháp can thiệp truyền thông giáo dục sức khỏe phòng chống bệnh sán lá: Tiến hành truyền thông cho 2 xã can thiệp (Nga Thái và Nga Điền). Hình thức phát thanh 1 lần/1 tuần/18 tháng, bằng họp dân, bằng nói chuyện tại trường học, bằng phát tranh, tờ rơi.

**2.6. Các biến số cần thu thập trong nghiên cứu:** Theo mục tiêu nghiên cứu.

## 2.7. Xác định một số yếu tố liên quan đến nhiễm sán lá

Tỷ lệ nhiễm sán lá theo: Trình độ học vấn, kinh tế hộ gia đình, hiểu đúng về đường lây nhiễm, tác hại bệnh sán lá, phòng chống bệnh sán lá, tiền sử ăn gỏi cá nước ngọt.

**2.8. Đánh giá kết quả sau can thiệp phòng chống về:** Tỷ lệ sạch trứng, giảm trứng, tái nhiễm, nhiễm mới, tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá chung sau can thiệp. Đánh giá hiệu quả can thiệp qua thay đổi kiến thức, hành vi/thực hành của cộng đồng nghiên cứu với yếu tố liên quan đến nhiễm sán lá:

## 2.9. Phương pháp xử lý số liệu

- Sử dụng chương trình phần mềm SPSS để phân tích, xử lý số liệu.

- Tính tỷ lệ%, Test  $\chi^2$ , T test, Tỷ suất chênh OR.

### Chương 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Tỷ lệ, cường độ nhiễm sán lá trên người, ấu trùng trên cá và loài sán lá truyền qua cá tại 4 xã nghiên cứu

##### 3.1.1. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá truyền qua cá trên người trước can thiệp

###### 3.1.1.1. Tỷ lệ nhiễm sán lá của người dân tại 4 xã nghiên cứu

*Bảng 3.1. Tỷ lệ nhiễm sán lá của 4 xã nghiên cứu*

Xã nghiên cứu (Xã NC)	Tỷ lệ nhiễm sán		SLRN (+)		SLGN (+)		Tỷ lệ đơn nhiễm (+)		Tỷ lệ đa nhiễm (+)		Số nhiễm chung	
	SL	%	SL	%	SL	%	SL	%	SL	%	SL	%
Nga An (n=200)	18	9,0	24	12,0	12	6,0	15	7,5	27	13,5		
Nga Phú (n=200)	19	9,5	16	8,0	11	5,5	12	6,0	23	11,5		
<i>Tổng số 2 xã chứng = 400 (a)</i>	<i>37</i>	<i>9,3</i>	<i>40</i>	<i>10,0</i>	<i>23</i>	<i>5,8</i>	<i>27</i>	<i>6,8</i>	<i>50</i>	<i>12,5</i>		
Nga Điền (n=200)	5	2,5	11	5,5	14	7,0	1	0,5	15	7,5		
Nga Thái (n=200)	45	22,5	23	11,5	34	17,0	17	8,5	51	25,5		
<i>Tổng số 2 xã can thiệp = 400 (b)</i>	<i>50</i>	<i>12,5</i>	<i>34</i>	<i>8,5</i>	<i>48</i>	<i>12,0</i>	<i>18</i>	<i>4,5</i>	<i>66</i>	<i>16,5</i>		
Tổng số SL chung (N=800)	87	10,9	74	9,3	71	8,9	45	5,6	116	14,5		
p (a-b)	p>0,05				p<0,05		p>0,05		p>0,05			

**Nhận xét:** Qua kết quả trình bày ở bảng 3.1 cho ta thấy: Cả 4 xã điều tra đều nhiễm cả 2 loại sán lá truyền qua cá, với tỷ lệ nhiễm chung là 14,5%. Trong đó xã Nga Thái có tỷ lệ nhiễm SLRN (22,5%) và nhiễm chung (25,5%) là cao nhất, sự khác biệt so với các xã khác có ý nghĩa thống kê, ( $p < 0,05$ ). Tỷ lệ đơn nhiễm và đa nhiễm của 4 xã ở mức không cao (8,9% và 5,6%).

### 3.1.1.2. Tỷ lệ nhiễm sán lá theo giới của 4 xã nghiên cứu

Bảng 3.2. Tỷ lệ nhiễm sán lá theo giới

Giới	SLRN(+)		SLGN(+)		Đơn nhiễm (+)		Đa nhiễm (+)		Số nhiễm chung	
	SL	%	SL	%	SL	%	SL	%	SL	%
Nam (n = 423) (a)	62	14,7	52	12,3	46	10,9	34	8,0	80	18,9
Nữ (n=377) (b)	25	6,6	22	5,8	25	6,6	11	2,9	36	9,5
Tổng số SL (N=800)	87	10,9	74	9,3	71	8,9	45	5,6	116	14,5
p (a-b)	<0,05		<0,05		<0,05		<0,05		<0,05	

**Nhận xét:** Qua bảng 3.2 ta cũng thấy:

Giữa nam và nữ có sự khác nhau có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ nhiễm 2 loại sán lá, tỷ lệ nhiễm chung và đa nhiễm. Ở nam (SLRN: 14,7%, SLGN: 12,3%, nhiễm chung: 18,9% và đa nhiễm 8,0%), so với ở nữ (SLRN: 6,6%, SLGN: 5,8%, nhiễm chung: 9,5% và đa nhiễm chỉ 2,9%), với  $p < 0,05$ .

### 3.1.1.3. Cường độ nhiễm sán lá của 4 xã nghiên cứu

Bảng 3.3. Cường độ nhiễm sán lá của 4 xã nghiên cứu

Xã nghiên cứu	SLRN	SLGN	Cường độ nhiễm chung
	EPG/ 1g phân ( $\bar{X} \pm SD$ )	EPG/ 1g phân ( $\bar{X} \pm SD$ )	EPG/ 1g phân ( $\bar{X} \pm SD$ )
Nga An (n=200)	320,7±79,9	336,4±117,8	329,7±101,6
Nga Phú (n=200)	348,6 ±183,4	329,2± 83,4	339,7±137,7
TB 2 xã chứng (a)	335,1 ±141,5	333,5±104,3	334,2±122,2
Nga Điền (n=200)	303,6±49,9	292,7±75,6	296,1±67,6
Nga Thái (n=200)	478,5±222,2	525,7±225,2	494,5±223,2
TB 2 xã can thiệp (b)	461,0±217,6	450,4±218,6	456,7±218,0
Trung bình	407,4±198,2	387,2±175,6	398,1±187,8
Tính p(a-b)	p(a-b) <0,05	p(a-b) <0,05	p(a-b) <0,05

**Nhận xét:** Qua kết quả bảng 3.3 cho ta thấy: Cường độ nhiễm sán lá chung của 4 xã trung bình: 398,1±187,8 trứng/1 gam phân) và ở mức nhiễm nhẹ.

### 3.1.2. Kết quả điều tra Ấu trùng (AT) SLGN và SLRN trên cá

Bảng 3.4. Tỷ lệ và cường độ *metacercariae* trên cá được xét nghiệm

Loại cá	Số lượng (con)	Số mẫu cá có <i>metacercariae</i>	Ti lệ %	Cường độ nhiễm <i>metacercariae</i> (số AT/ số cá (+))	p
Chép (a)	50	8	16,0	3	p(a-b,d,e) <0,05
Trắm (b)	50	5	10,0	2	
Mè (c)	50	9	18,0	5	p(c-b,d,e) <0,05
Trôi (d)	50	3	6,0	4	
Rô phi (e)	50	4	8,0	4	
Tổng số	250	29	11,6	Trung bình (TB): 3,6 AT/1 mẫu cá	

**Nhận xét:** Qua bảng 3.4 cho ta thấy:

Tất cả 5 loài cá được xét nghiệm đều tìm thấy ấu trùng sán lá gây bệnh cho người, với tỷ lệ nhiễm chung là 11,6%, trong đó cá mè nhiễm cao nhất (18,0%). Cường độ nhiễm trung bình 3,6 AT /1 cá và cá mè cũng có số ấu trùng cao nhất (5 AT/1 mẫu);  $p < 0,05$ .

### 3.1.3. Kết quả định loại đặc điểm hình thái, cấu tạo loài SLGN

Qua quan sát 30 con sán trưởng thành thu được sau khi tẩy sán, tiến hành soi tươi và nhuộm carmine, đo kích thước, mô tả hình thể, nội quan: Loài sán này có hình lá, thân dẹt, màu đỏ nhạt. Kích thước sán dài từ 9,6 – 18,8 mm, chiều ngang từ: 2,1 – 3,9 mm, có hai hấp khẩu (miệng và bụng). Ống tiêu hóa chạy dọc hai bên thân của sán và là ống tắc. Quan sát sán lá gan nhỏ không có hậu môn, trên thân sán có nhiều tuyến dinh dưỡng.

Tinh hoàn *Clonochis sinensis* chia nhánh, buồng trứng ở khoảng giữa thân và 1/3 trước thân, tử cung là một ống ngoằn ngoèo, gấp khúc. Lỗ sinh dục ở gần hấp khẩu bụng.

### **3.1.4. Kết quả định loại đặc điểm hình thái, cấu tạo loài sán lá ruột nhỏ *H. taichui***

Mô tả đặc điểm hình thể, nội quan, đo kích thước 30 con sán lá ruột nhỏ *H. taichui* qua soi tươi và nhuộm carmine: Cơ thể dẹt, phần trước hẹp, phần sau rộng hơn, kích thước cơ thể có chiều dài từ: 384  $\mu\text{m}$  - 1070  $\mu\text{m}$ , chiều rộng từ: 232 $\mu\text{m}$  - 628 $\mu\text{m}$ . Giác miệng ở phía trước cơ thể, có đường kính 62,5 $\mu\text{m}$  - 70 $\mu\text{m}$ , thực quản ngắn. Giác bụng nằm lệch về phía bên phải dọc cơ thể nối với giác sinh dục tạo thành cơ quan giác bụng - sinh dục. Phía trước giác bụng có 10-21 móc kitin. Tinh hoàn lớn, kích thước: chiều dài 90 - 140  $\mu\text{m}$ , túi chứa tinh gồm 2 phần.

### **3.1.5. Kết quả định loại đặc điểm hình thái, cấu tạo loài sán lá ruột nhỏ *H. pumilio***

Mô tả đặc điểm hình thể, nội quan, đo kích thước 30 con sán lá ruột nhỏ *H. pumilio* qua soi tươi và nhuộm carmine:

Sán trưởng thành hình quả lê, chiều dài từ: 488 – 860  $\mu\text{m}$ , chiều rộng từ: 182 – 514  $\mu\text{m}$ , phía đầu trên cơ thể hẹp và rộng dần về phía dưới. Giác miệng đường kính: 44 – 76  $\mu\text{m}$ . Giác bụng sinh dục có kích thước thay đổi bao gồm giác bụng và mầm sinh dục. Buồng trứng có hình bán nguyệt. Tử cung gồm 3 cuộn, có nhiều trứng bên trong. Có một tinh hoàn to nằm ở phía bên trái gần mặt lưng. Túi chứa tinh thành mỏng, phần trước nhỏ, phần sau lớn hơn, nằm phía bên trái giác bụng.

### **3.1.6. Xác định loài SLGN và SLRN bằng phương pháp sinh học phân tử**

Kết quả phân tích mỗi loài 3 mẫu bằng phương pháp giải trình tự Nucleotide, kết quả cụ thể như sau:

- Loài sán lá gan nhỏ ký sinh trên người tại 3 xã ven biển huyện Nga Sơn: Nga An, Nga Phú, Nga Thái được xác định là *Clonorchis sinensis*. Trình tự nucleotide tương đồng 100% với các mẫu *C. sinensis* thu thập tại Nam Định được lưu giữ trên genbank.

- Loài sán lá ruột nhỏ ký sinh trên người tại 3 xã ven biển: Nga An, Nga Phú, Nga Thái được xác định là *Haplorchis taichui* và *Haplorchis pumilio*. Trình tự nucleotide tương đồng 99,8% - 100% với các mẫu sán lá ruột nhỏ thu thập tại Nam Định

### 3.2. Xác định mối liên quan về tiền sử ăn gỏi cá nước ngọt và tỷ lệ nhiễm sán lá của người dân

Bảng 3.5. Tỷ lệ nhiễm sán lá của nhóm đối tượng có tiền sử ăn gỏi cá nước ngọt

Tiền sử ăn gỏi cá của đối tượng nghiên cứu	Tổng số điều tra	Số nhiễm sán chung	
		Số lượng	Tỷ lệ%
Đã từng ăn gỏi cá ( $\geq 1$ lần) (a)	409	106	25,9
Chưa từng ăn gỏi cá (b)	334	5	1,5
Tổng số lượng (SL)	743	111	14,9
P, OR 95%CI	p(a-b) < 0,05, OR = <b>23,019</b> CI (9,262-57,212)		

**Nhận xét:** Theo kết quả ở bảng 3.5 ta thấy: Tỷ lệ nhiễm sán lá của nhóm người đã từng ăn gỏi cá nước ngọt là 25,9%, cao hơn rất nhiều nhóm người chưa từng ăn gỏi cá (chỉ nhiễm 1,5%). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê,  $p < 0,05$ ; OR = **23,019**.

### 3.3. Đánh giá hiệu quả sau can thiệp điều trị và truyền thông

#### 3.3.1. Đánh giá hiệu quả can thiệp (HQCT) sau 18 tháng theo tỷ lệ nhiễm sán lá

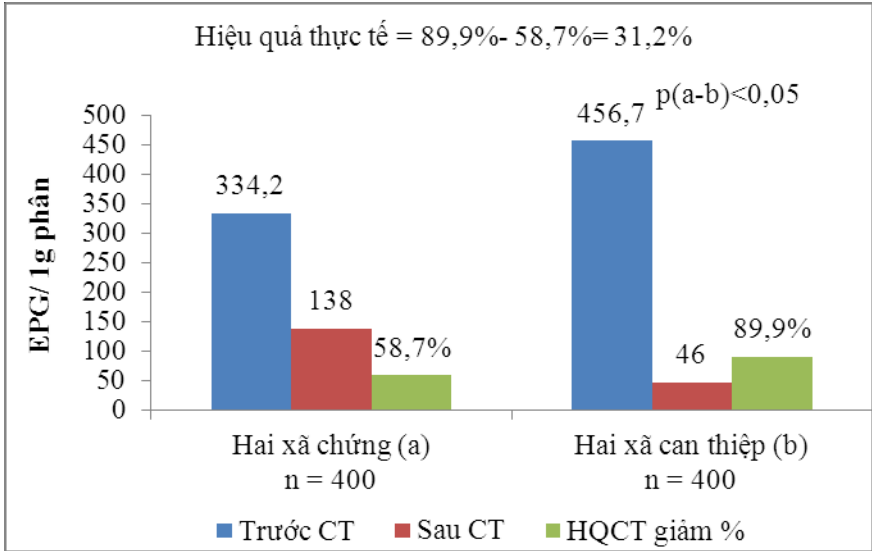
Bảng 3.6. Hiệu quả theo tỉ lệ nhiễm sán lá chung sau can thiệp 18 tháng

Xã Nghiên cứu (NC)	Mẫu NC	Trước can thiệp (c)		Sau can thiệp (d)		HQCT Giảm% nhiễm	Tính p hiệu quả CT giữa 2 nhóm
		số (+)	%	số (+)	%		
Hai xã chứng (a)	400	50	12,5	25	6,3	50%	p(a-b) < 0,001
Hai xã can thiệp (CT) (b)	400	66	16,5	8	2,0	87,9%	
Tổng số	800	116	14,5	33	4,1	71,7	

**Nhận xét:** Ở bảng 3.6 ta thấy: Hiệu quả giảm tỷ lệ nhiễm sán chung của nhóm chứng sau điều trị mà không truyền thông là 50%. Trong khi tỷ lệ này của nhóm can thiệp bằng truyền thông lại khá cao, giảm tỷ lệ nhiễm tới 87,9%. **Hiệu quả can thiệp thực tế là: 37,9%**. Có sự khác biệt giảm tỷ lệ nhiễm giữa 2 nhóm sau can thiệp có ý nghĩa thống kê,  $p < 0,001$ .



### 3.3.2. Đánh giá hiệu quả can thiệp sau 18 tháng theo cường độ nhiễm sán lá



Biểu đồ 3.1. Hiệu quả cường độ nhiễm sán lá sau can thiệp 18 tháng

**Nhận xét:** Qua kết quả của biểu đồ 3.1. ta cũng thấy: Hiệu quả giảm cường độ nhiễm sán chung của nhóm chứng là 58,7%, thấp hơn nhiều so với nhóm can thiệp giảm cường độ nhiễm sán chung tới 89,9%. **Hiệu quả can thiệp thực tế là: 31,2%**. Có sự khác biệt về giảm cường độ nhiễm giữa 2 nhóm sau can thiệp có ý nghĩa thống kê,  $p < 0,05$ .

### 3.3.3. Kết quả thay đổi hành vi/thực hành của cộng đồng nghiên cứu về tỷ lệ ăn gỏi cá nước ngọt sau can thiệp

Bảng 3.7. Tỷ lệ người dân ăn gỏi cá nước ngọt của 2 nhóm trước và sau CT

Xã nghiên cứu	Mẫu nghiên cứu	Trước can thiệp (c)		Sau can thiệp (d)		HQCT % giảm	P (Trước, sau can thiệp và 2 nhóm)
		Ăn gỏi cá	%	Ăn gỏi cá	%		
Hai xã chứng (a)	400	198	49,5	191	47,8	3,4	p(c-d)>0,05
Hai xã can thiệp (b)	400	211	52,8	51	12,8	75,8	p(c-d)<0,05
Tổng SL	800	409	51,1	242	30,3	40,7	p(a-b)<0,001

**Nhận xét:** Qua kết quả thu được ở bảng 3.7 ta thấy: Tỷ lệ người dân ăn gỏi cá ở nhóm chứng trước và sau can thiệp 18 tháng không làm công tác truyền thông chỉ giảm 3,4%, p(c-d)>0,05. Trong khi ở nhóm can thiệp bằng truyền thông thì tỷ lệ ăn gỏi cá giảm đến 75,8%, p (c-d)<0,05. **Hiệu quả can thiệp thực tế là: 72,4%**. Đặc biệt có sự khác biệt lớn về giảm tỷ lệ ăn gỏi cá giữa 2 nhóm có ý nghĩa thống kê, với p (a-b)< 0,001.

## Chương 4 BÀN LUẬN

### 4.1. Tỷ lệ, cường độ nhiễm sán lá trên người, ấu trùng trên cá và loài sán lá truyền qua cá tại 4 xã nghiên cứu

#### 4.1.1. Tỷ lệ và cường độ nhiễm sán lá truyền qua cá trên người trước can thiệp

##### 4.1.1.1. Tỷ lệ nhiễm sán lá của người dân tại 4 xã nghiên cứu

Cả 4 xã điều tra đều nhiễm cả 2 loại sán lá có tỷ lệ còn cao (14,5%). Trong đó xã Nga Thái có tỷ lệ nhiễm các loại sán lá và nhiễm chung (25,5%) là cao nhất. Điều này là hoàn toàn phù hợp, bởi xã Nga Thái có tỷ lệ người ăn gỏi cá khá cao (60,5%). Kết quả của chúng tôi điều tra nhiễm SLGN thấp hơn kết quả của Đinh Thị Thanh Mai điều tra tại 3 xã huyện Nga Sơn năm 2011 là 16,8%. Do tỷ lệ nhà tiêu tự hoại ở các vùng nông thôn hiện nay cũng đã tăng lên đáng kể, sự ô nhiễm mầm bệnh ra ngoài môi trường cũng giảm nhiều, nên khả năng nhiễm bệnh cũng giảm đi. Mặt khác ý thức phòng bệnh của người dân cũng ngày càng tốt hơn.

#### **4.1.1.2. Tỷ lệ nhiễm sán lá theo giới của 4 xã nghiên cứu**

Giữa nam và nữ có sự chênh lệch đáng kể về tỷ lệ nhiễm 2 loại sán lá và tỷ lệ nhiễm chung, ở nam (SLRN: 14,7 %, SLGN: 12,3 %, nhiễm chung: 18,9 %), so với ở nữ (SLRN: 6,6%, SLGN: 5,8%, nhiễm chung: 9,5 %), với  $p < 0,05$ .

Kết quả này cũng như nhiều tác giả đã điều tra, kết quả của Nguyễn Mạnh Hùng và Cao Bá Lợi, điều tra tại Công ty chè Phú Thọ năm 2008, ở nam có tỷ lệ nhiễm SLGN là 27,4%, so với nữ 16,7%.

Cũng tương tự như vậy tác giả Chong - Yoon Joo và cộng sự (2008) điều tra tại tỉnh Kyongbuk, Hàn Quốc, tỷ lệ nhiễm ở nam giới (11,3%) cao hơn ở nữ giới (4,1%).

Kết quả này theo chúng tôi là phù hợp, do ở nam giới thường hay uống rượu và ăn gỏi cá. Đây là điều kiện lây truyền bệnh SLGN và SLRN chủ yếu, còn phụ nữ thì rất ít có thói quen này.

#### **4.1.1.3. Cường độ nhiễm sán lá của 4 xã nghiên cứu**

Xã Nga Thái có cường độ nhiễm sán chung cao nhất: 494,5 trứng/1 gam phân. Còn lại 3 xã (Nga An, Nga Phú, Nga Điền) có cường độ nhiễm chênh nhau không nhiều. Kết quả này là hoàn toàn phù hợp, bởi xã Nga Thái có tỷ lệ người ăn gỏi cá khá cao (60,5%) và tỷ lệ nhà tiêu hợp vệ sinh (71,0%) cũng thấp nhất so với 3 xã còn lại. Đây là điều kiện rất thuận lợi cho sự lây truyền bệnh sán lá truyền qua cá đang khá phổ biến ở địa phương chúng tôi đang nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả điều tra của Nguyễn Văn Đề và cộng sự năm 2002 tại xã Nga Tân, huyện Nga Sơn, tỉnh Thanh Hóa có cường độ nhiễm trung bình 330 trứng/ gam phân.

#### **4.1.2. Kết quả điều tra Ấu trùng (AT) SLGN và SLRN trên cá**

Nghiên cứu đã xét nghiệm 5 loài cá nuôi ở ao mà người dân thường hay làm gỏi để ăn của 4 xã điều tra. Kết quả có tỷ lệ nhiễm metacercariae chung là 11,6%, trong đó cá mè nhiễm cao nhất (18,0%), thứ đến là cá chép nhiễm 16,0%; Cường độ nhiễm trung bình chung là 3,6 metacercariae /1 cá, cá mè cũng có số ấu trùng cao nhất (5 metacercariae/1 cá). Kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp, bởi ở đây người dân vẫn đang bị nhiễm sán lá còn cao và tỷ lệ sử dụng phân người tươi trong canh tác, nuôi cá vẫn cao đến 54,8%. Đây là điều kiện gây ô nhiễm mầm bệnh ra môi trường nước và cá bị nhiễm ấu trùng là điều khó tránh khỏi.

Tương tự kết quả điều tra của Nguyễn Văn Đề và cộng sự (2002), khi xét nghiệm cá tại xã Nga Tân, huyện Nga Sơn tỉnh Thanh Hóa. Cá mè *H. molitrix* nhiễm ấu trùng sán lá gan nhỏ 88,9%, cá trôi *Cirrhina molitorella* nhiễm ấu trùng sán lá gan 58,3%.

#### **4.1.3. Kết quả định loại đặc điểm hình thái, cấu tạo loài SLGN**

Loài sán trưởng thành mà chúng tôi thu được sau khi tẩy từ bệnh nhân tại điểm nghiên cứu, sán có hình lá, thân dẹt, màu đỏ nhạt. Sán có kích thước dài từ 9,6 – 18,8 mm, chiều ngang từ: 2,1 – 3,9 mm, có hai hấp khẩu (miệng và bụng). Bộ phận sinh dục của sán lá gan nhỏ *Clonochis sinensis* có tinh hoàn, buồng trứng, tử cung. Tinh hoàn *Clonochis sinensis* chia nhánh, chiếm gần hết phía sau thân. Như vậy là qua nhận dạng về đặc điểm hình thái loài sán thu được tại điểm nghiên cứu là loài *Clonochis sinensis*.

Kết quả này cũng trùng với loài sán lá *Clonorchis sinensis* được xác minh tại Kim Sơn, Ninh Bình năm 2005 của tác giả Đặng Thị Cẩm Thạch. Hay cũng tương tự như kết quả của tác giả Trương Tiến Lập điều tra tại 3 huyện ven biển tỉnh Nam Định năm 2009, loài sán lá gan nhỏ ký sinh ở đây là *Clonorchis sinensis*.

#### **4.1.4. Kết quả định loại đặc điểm hình thái, cấu tạo loài sán lá ruột nhỏ *H. taichui***

Loài sán lá ruột nhỏ trưởng thành mà chúng tôi thu được sau khi tẩy từ bệnh nhân tại điểm nghiên cứu, qua soi tươi và nhuộm carmine: Sán có hình lá, cơ thể dẹt, phần trước hẹp, phần sau rộng hơn, kích thước cơ thể có chiều dài từ: 384  $\mu\text{m}$  - 1070  $\mu\text{m}$ , chiều rộng từ: 232  $\mu\text{m}$  - 628  $\mu\text{m}$ . Giác miệng ở phía trước cơ thể, có đường kính 62,5  $\mu\text{m}$  - 70  $\mu\text{m}$ , thực quản ngắn. Tinh hoàn lớn, ống phóng tinh mở ra xoang sinh dục, buồng trứng nằm phía sau tinh hoàn. Qua đặc điểm nhận dạng hình thái loài sán này là loài sán lá ruột nhỏ *Haplorchis taichui*.

Kết quả này cũng trùng hợp với loài sán lá ruột nhỏ *Haplorchis taichui* mà tác giả Đỗ Trung Dũng đã xác minh bằng phương pháp hình thái học ở 1 số tỉnh miền Bắc Việt Nam, năm 2014.

#### **4.1.5. Kết quả định loại đặc điểm hình thái, cấu tạo loài sán lá ruột nhỏ *H. pumilio***

Sán trưởng thành hình quả lê, chiều dài từ: 488 – 860  $\mu\text{m}$ , phía đầu trên cơ thể hẹp và rộng dần về phía dưới, phía dưới cơ thể phình rộng hơn, có kích thước: 182 – 514  $\mu\text{m}$ . Giác miệng đường kính: 44 - 76  $\mu\text{m}$ . Giác bụng sinh dục có kích thước thay đổi bao gồm giác bụng và mầm sinh

dục. Buồng trứng có hình bán nguyệt. Tử cung gồm 3 cuộn, có nhiều trứng bên trong. Qua đặc điểm hình thái trên, đây là loài sán lá ruột nhỏ *Haplorchis pumilio*. Kết quả này cũng trùng với kết quả của tác giả Đỗ Trung Dũng đã xác minh bằng phương pháp hình thái học ở 1 số tỉnh miền Bắc Việt Nam, năm 2014 có loài *Haplorchis pumilio*.

#### **4.1.6. Xác định loài SLGN và SLRN bằng phương pháp sinh học phân tử**

Mẫu SLGN và SLRN trưởng thành thu thập được từ 9 bệnh nhân tại 3 xã nghiên cứu đã gửi đến Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gene, thuộc Viện Công nghệ Sinh học Việt Nam để giám định gene.

Khi phân tích trình tự nucleotide của hai gen COI và ITS<sub>2</sub>, kết quả cho thấy: Giữa các cá thể trong cùng loài ở các địa điểm nghiên cứu khác nhau có sự tương đồng cao về trình tự nucleotide.

Loài sán lá gan nhỏ ký sinh trên người tại 3 xã ven biển: Nga An, Nga Phú, Nga Thái được xác định là *Clonorchis sinensis*. Trình tự nucleotide tương đồng 100% với các mẫu *C. sinensis* thu thập tại Nam Định được lưu giữ trên genbank.

Còn loài sán lá ruột nhỏ ký sinh trên người tại 3 xã ven biển: Nga An, Nga Phú, Nga Thái được xác định là *Haplorchis taichui* và *Haplorchis pumilio*. Trình tự nucleotide tương đồng 99,8% - 100% với các mẫu sán lá ruột nhỏ thu thập tại Nam Định và Thái Nguyên được lưu giữ trên genbank.

Kết quả này cũng trùng hợp với giám định bằng sinh học phân tử hệ gen ty thể của tác giả Lê Thanh Hòa và cộng sự (2002), đã xác định chủ yếu ở Việt Nam có mặt của 2 loài sán lá gan nhỏ thuộc họ *Opisthorchiidae*, đó là: *Clonorchis sinensis* (miền Bắc), *Opisthorchis viverrini* (miền Nam, miền Trung).

Hay theo báo cáo của nhóm nghiên cứu Đỗ Trung Dũng và cộng sự (2014), bằng giám định sinh học phân tử khẳng định các loài sán lá ruột nhỏ thuộc họ Heterophyidae như *Haplorchis taichui*, *Haplorchis pumilio* đã xác định là ký sinh trên người tại 9 tỉnh của Việt Nam đã được ghi nhận.

## 4.2. Xác định mối liên quan về tiền sử ăn gỏi cá nước ngọt và tỷ lệ nhiễm sán lá của người dân

Tỷ lệ nhiễm sán lá của nhóm người đã từng ăn gỏi cá nước ngọt là 25,9%, cao hơn rất nhiều nhóm người chưa từng ăn gỏi cá chỉ nhiễm 1,5%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê,  $p < 0,05$ , %. Nhóm đã từng ăn gỏi cá có nguy cơ nhiễm sán cao gấp 23,019 lần so với nhóm chưa từng ăn.  $OR = 23,019$ . Kết quả này hoàn toàn phù hợp, bởi vì sự lây truyền sán lá gan nhỏ và sán lá ruột nhỏ là qua ấu trùng có trong thịt cá nước ngọt (ăn gỏi cá, lẩu cá...) chưa nấu chín.

Cũng tương tự kết quả nghiên cứu của Vũ Văn Thái và cộng sự tại xã Hữu Bằng, huyện Kiến Thụy, thành phố Hải Phòng năm 2012, tỷ lệ nhiễm sán lá của người có tiền sử ăn gỏi cá là 19,37%, cao hơn hẳn người không có tiền sử ăn gỏi cá chỉ nhiễm 2,68%.

## 4.3. Đánh giá hiệu quả sau can thiệp điều trị và truyền thông

### 4.3.1. Đánh giá hiệu quả can thiệp sau 18 tháng theo tỷ lệ nhiễm sán lá chung

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấy tỷ lệ nhiễm sán lá chung ở nhóm chứng sau 18 tháng giảm 50%. Trong khi tỷ lệ này của nhóm can thiệp bằng truyền thông giảm tỷ lệ nhiễm tới 87,9%. **Hiệu quả can thiệp thực tế là 37,9%**. Theo chúng tôi điều này là hoàn toàn phù hợp, bởi vì ở nhóm chứng người dân không có sự tác động, hướng dẫn của truyền thông về tác hại, hậu quả, cách phòng chống nhiễm bệnh. Nên họ vẫn tiếp tục ăn gỏi và tiếp tục nhiễm bệnh. Còn ở nhóm can thiệp bằng truyền thông đã có sự tác động này liên tục trong 18 tháng, nên đã hạn chế rất nhiều bệnh nhân tái nhiễm và nhiễm mới.

Như vậy là vai trò của truyền thông giáo dục sức khỏe có tác động rất lớn đến việc thay đổi thói quen, ý thức và hành vi liên quan đến nhiễm bệnh sán lá truyền qua cá trong nghiên cứu của chúng tôi.

Cũng tương tự nghiên cứu của tác giả Nguyễn Văn Đề và cộng sự ( năm 2002), tại 1 xã trong vùng lưu hành bệnh sán lá gan nhỏ (xã Hải Hòa, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định). Kết quả sau 1 năm thực hiện công tác phòng chống bệnh sán lá, tỷ lệ nhiễm giảm 64,9% (từ 37,5% xuống 13,1%).

### **4.3.2. Đánh giá hiệu quả can thiệp sau 18 tháng theo cường độ nhiễm sán lá**

Sau can thiệp 18 tháng thì cường độ nhiễm sán lá chung của nhóm chứng giảm 58,7%, thấp hơn nhiều so với nhóm can thiệp giảm cường độ nhiễm sán chung tới 89,9%. **Hiệu quả can thiệp thực tế là 31,2%**. Vấn đề này cũng giải thích tương tự như mục 4.8.1. đã bàn luận

Kết quả này cũng trùng hợp với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Văn Đề và cộng sự tại xã Hải Hòa, huyện Hải Hậu, tỉnh Nam Định (năm 2002), sau 1 năm thực hiện công tác phòng chống bệnh sán lá thì cường độ nhiễm giảm 94,7%.

### **4.3.3. Đánh giá hiệu quả can thiệp qua thay đổi hành vi với yếu tố liên quan đến nhiễm sán lá**

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ người dân ăn gỏi cá nước ngọt trước và sau can thiệp ở nhóm chứng chỉ giảm 3,4%. Nhưng ở nhóm can thiệp thì hiệu quả giảm đến 75,8%. **Hiệu quả can thiệp thực tế là 72,4 %**. Qua đây cho ta thấy công tác truyền thông giáo dục về phòng chống bệnh sán lá có tác động rất lớn đến hành vi đã có từ lâu đời trong cộng đồng dân cư có thói quen ăn gỏi cá.

Tương tự như kết quả của tác giả Lê Thị Tuyết và cộng sự (2009), đã tiến hành can thiệp bằng truyền thông giáo dục sức khỏe về bệnh sán lá gan nhỏ tại xã Xuân Tiến, huyện Xuân Trường, Nam Định. Sau 1 năm can thiệp, thói quen ăn gỏi cá có chỉ số hiệu quả giảm được 74,6%. Tại xã chúng (Xuân Châu), sau 1 năm không can thiệp, các chỉ số về nhận thức và thực hành đối với bệnh sán lá gan nhỏ không có sự khác biệt so với trước nghiên cứu.

## **KẾT LUẬN**

### **1. Tỷ lệ, cường độ nhiễm sán lá ở người, ấu trùng ở cá và loài sán lá tại 4 xã nghiên cứu**

- Tỷ lệ nhiễm sán chung của 4 xã là 14,5%. Trong đó xã Nga Thái có tỷ lệ nhiễm SLRN (22,5%) và nhiễm chung (25,5%) là cao nhất.

- Nam giới có tỷ lệ nhiễm sán chung, nhiễm SLGN, SLRN và nhiễm phối hợp đều cao hơn nữ giới.

- Độ tuổi từ 30 - 59 có tỷ lệ, cường độ nhiễm sán cao hơn nhóm tuổi dưới 30 và trên 60.

- Người làm ruộng, người làm các nghề khác có tỷ lệ, cường độ nhiễm sán lá cao hơn Cán bộ viên chức - Học sinh.
- Cường độ nhiễm sán lá của cả 4 xã điều tra đều ở mức nhiễm nhẹ.
- Tỷ lệ nhiễm ấu trùng sán lá trên cá là: 11,6%, cá mè nhiễm cao nhất (18,0%), cường độ nhiễm 3,6 ấu trùng/1 cá xét nghiệm.
- Loài sán lá được xác định tại các điểm nghiên cứu là: *Clonorchis sinensis*, *Haplorchis taichui* và *Haplorchis pumilio*.

## **2. Yếu tố liên quan đến tỷ lệ, cường độ nhiễm sán lá**

Nhóm người đã từng ăn gỏi cá nước ngọt có nguy cơ nhiễm sán lá cao gấp 23,019 lần nhóm người chưa từng ăn gỏi cá.

## **3. Hiệu quả điều trị bằng praziquantel và can thiệp truyền thông giáo dục sức khỏe cộng đồng phòng chống bệnh sán lá tại điểm nghiên cứu**

### **3.1. Hiệu quả điều trị:**

- Tỷ lệ sạch trứng sau điều trị từ 96,0% đến 96,9%, tỷ lệ giảm trứng là 100%.

### **3.2. Hiệu quả can thiệp bằng giáo dục truyền thông:**

- Tỷ lệ tái nhiễm ở nhóm không can thiệp (14,58% ), cao hơn nhóm can thiệp (3,13 % ); Còn tỷ lệ nhiễm mới cũng tương tự (1,14 % so với 0,3%).
- Tỷ lệ, cường độ nhiễm sán của nhóm can thiệp giảm hơn nhóm không can thiệp (tỷ lệ 87,9% so với 50%), cường độ giảm 89,9% so với 58,7%.
- Tỷ lệ người dân ăn gỏi cá ở nhóm can thiệp giảm 75,8%, so với nhóm chứng chỉ giảm 3,4%.
- Kiến thức, hiểu biết và các hành vi liên quan đến phòng chống bệnh sán lá ở nhóm can thiệp truyền thông đều được cải thiện đáng kể.

## **KIẾN NGHỊ**

1. Cần có điều tra số điểm rộng hơn về tình hình nhiễm sán lá, ấu trùng trên cá, loài sán lá ở các vùng có tập quán, điều kiện dịch tễ tương tự của Thanh Hóa, để có bản đồ phân bố các loài sán lá này một cách tin cậy, chính xác. Trên cơ sở đó đề xuất các cơ quan chuyên môn hoạch định công tác phòng chống các bệnh này ở các địa phương trong tỉnh một cách hiệu quả.
2. Trên cơ sở xác định các yếu tố nguy cơ nhiễm bệnh, các cơ sở Y tế cần tiến hành truyền thông giáo dục sức khỏe về cách phòng chống bệnh sán lá và điều trị ca bệnh để giảm sự lây lan trong cộng đồng.



## INTRODUCTION ABOUT THESIS

### 1. Introduction

Fish-borne trematode infections consisting of small liver fluke and small intestinal fluke have a high infection rate in some countries, especially Asia, including Vietnam. According to WHO's statistics, there are about 45 million cases with small liver fluke and at least 35 million infected people are in Asia. Small intestinal fluke's infection is on a similar scale.

In Vietnam until now at least 32 provinces have been found to be endemic areas of fish-borne trematodes, in which 24 have small liver flukes and 18 have small intestinal flukes. Prolonged trematode infection may affect liver, cause poisoning, extended digestive disorder and eventually lead to Cirrhosis, cholangiocarcinoma...

Nga Son district of Thanh Hoa province is an endemic area, raw freshwater fish eating is common, residents still use human waste to feed fish and farm. However there have not been any documents on trematode infection status, metacercariae in fish and trematode species in Nga Son, residents' knowledge and preventive behaviour against the infection, involved factors, effective solutions to minimize the infection's spreading.

In order to solve these scientific and realistic needs, we carry out the research with the title "***The current state of fish-borne trematodes, involved factors and effectiveness of intervention in Nga Son district, Thanh Hoa province 2013-2014***", with the following objectives:

1. *To determine prevalence and intensity of fish-borne trematode in humans, metacercariae in fish and trematode species in 4 seaside commune of Nga Son district of Thanh Hoa province.*
2. *To evaluate factors involving of trematode infection in residents at research areas*
3. *To evaluate the effectiveness of interventions in the treatment and health education communication to prevent trematode infection at research areas.*

### 2. The urgency of the subject

Diseases transmitted by fish fluke incidence is relatively high in some States in the world, including Vietnam.

In Nga Son district, Thanh Hoa is a heavily contaminated areas, where the habit of eating raw freshwater fish is very popular, people still use fresh human excrement to feed fish and farm. Enormous harm of disease, but so far not enough literature on the disease situation, larval fish, fluke components here like. What factors related to morbidity, no

interventions at the community effectively to reduce morbidity. This topic has partially met the above problems.

### **3. New contributions of topic**

- Assessment is carried fluke infection transmitted by the fish (liver fluke, small intestinal fluke) in communities in the coastal communes Nga Son district, Thanh Hoa province.

- Assessment is carried fluke larvae infections in freshwater fish, to recommend people in the use of clean food, clean fish rearing environment, reduce the risk of infection in endemic areas of infection.

- At the same time assess the real situation of the people of knowledge about knowledge, attitudes, behaviors fluke disease prevention in humans and disease related factors.

- By testing the effectiveness of interventions in 2 communes gave the intervention to be effective.

- The thesis also identified species of fish borne trematoda in coastal areas Nga Son District, Thanh Hoa province.

### **4. Thesis layout**

The thesis consists of 142 pages, to introduction (2 pages), the conclusion (2 pages) and the recommendations (1 page). There are 4 chapters include: Chapter 1: Overview 35 pages; Chapter 2: Objects and methods of research 25 pages, Chapter 3: Results of the study 42 pages; Chapter 4: Discussion: 33 pages. The thesis consists of 38 table, 16 picture, chart 5, 152 references (Vietnamese: 62, English: 90).

## **Chapter 1 OVERVIEW**

### **1.1. General information about fish-borne trematode infections**

Fish-borne trematode infections consist of small liver fluke and small intestinal fluke. Worldwide, there are 76 species of fish-borne trematode, including 7 species small liver fluke and 69 species of small intestinal fluke.

#### **- Some species of small liver fluke in the world**

- + Phylum: *Platyhelminthes*

- + Class: *Trematoda*

- + Order: *Prosostomata*

- + Family: *Opisthorchiidae*

- + Genus: *Clonorchis sinensis*

- + Genus: *Opisthorchis viverrini* and *Opisthorchis felineus*

- The Opisthorchiidae including 7 species: *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis viverrini*, *O. felineus*, *Amphimerus norverca*, *Amphimerus pseudofelineus*, *Metorchis conjunctus* and *Pseudamphistomum truncatum*.

In Vietnam has identified the presence of two species of fish-borne liver fluke: *Clonorchis sinensis* in the North, *Opisthorchis viverrini* in the South and centre of Opisthorchiidae family was detected.

#### **- Species of small intestinal fluke**

In the world there are over 69 species of small intestinal fluke which are known to parasite in humans.

In Vietnam, from 2004 to 2006, with methods of Kato-Katz and sedimentation in the community we have identified that small intestinal fluke disease circulates in at least 18 provinces in the country.

### **1.2. The previous studies in Vietnam and other countries on the fishborne trematode**

#### **1.2.1. The previous studies in other countries**

##### **1.2.1.1. *Clonorchis sinensis*(*C. sinensis*)**

#### **- Research on biological characteristics**

When studying on morphological characteristics of *Clonorchis sinensis*, author Chenghua Shen et al (2007) collected mature fluke - *Clonorchis sinensis* in humans. The measured size is: 15-20 mm x 2-3 mm, the fluke body is white or brown red.

In 2004, Byung Ihn Choi et al studied on the life cycle and the intermediate hosts of *C. sinensis*, continued to prove that the main hosts of the fluke are people, dogs and cats, pigs, rats, the first intermediate host is the snail *Bithynia*, the 2nd intermediate host is the suitable freshwater fish.

The time from ingestion of larvae in fish cysts until the adult takes about 26 days.

#### **- The study of pathology**

When studying on patients with liver fluke infection, the authors Sung-Tae Hong et al (1993-1994) saw the proliferation of epithelial cells of the bile duct, and the bile has stretched due to parasite over time.

Many studies have confirmed that prolonged tapeworm infection in the bile ducts will be the risk of biliary cancer.

#### **- Research on the diagnosis of *Clonorchis sinensis***

Clinical diagnosis without specific symptoms can be easily confused with other diseases. Diagnostic decision based primarily on test

methods, including Kato - Katz method of stool tests which is considered to be the "Gold standard".

Also the diagnostic methods of molecular biology are considered highly accurate, especially the endemic areas are infected with tapeworm with the body egg of the same type (Leonore Lovis, 2009). But this method is expensive, requires a laboratory equipped with the expensive ones, is not suited for investigations in the field and is difficult to implement in a large scale.

#### **- Research on the treatment of *Clonorchis sinensis***

To this point of time the studies showed that praziquantel has been used effectively to treat infected people with *Clonorchis sinensis* (Jing-ying Xiao et al, 2013).

#### **- Epidemiological studies of small liver fluke - *Clonorchis sinensis***

Small liver fluke disease was detected centuries ago, mostly in Asian countries such as China, Korea, Taiwan, Japan, Thailand, Laos, Cambodia and Vietnam ...

Fluke disease is mainly transmitted through infected fish in the areas along the rivers, lakes and coastal areas, where people have the habit of eating raw fish, forms of processing fish containing larval flukes.

Freshwater fish is the second intermediate host of fish-borne fluke. In Korea (2004), the authors Park J H. et al investigated the situation of infected larvae *C. sinensis* on fish in Lake Soyang, Korea, showed results: the average larvae with *Clonorchis sinensis* infection was 0.35 larvae per fish.

#### **1.2.1.2. *Opistorchis viverrini* (*O. viverrini*)**

##### **- The study of pathology of *O. viverrini***

There have been many studies about the consequences of prolonged infection with *Opistorchis viverrini* fluke in human's liver and bile tract. The research results have come to the conclusion: When fluke infection with *Opistorchis viverrini* lasts long, it is very easy to cause hepatobiliary tract cancer.

##### **- Epidemiological studies of small liver fluke *O. viverrini***

*Opistorchis viverrini* is a parasite with severe prevalence in East Asia, there are about 8 million infected people in Thailand, 2 million infected Laos people and also in Southern Vietnam. People infected with the species tend to live in areas with many ponds, lakes and along the rivers. The overall prevalence of *O. viverrini* in 16 provinces in the North of Thailand is 11.6% ( Radomyos B. et al, 1998).

### **- Research on the diagnosis of *O. viverrini*:**

To diagnose infection with small liver fluke in general and in particular *Opisthorchis viverrini* species, they mainly used methods of testing for eggs in duodenal or feces of an infected person. This method is easy to implement in the field, less expensive with higher detection capabilities. So far there have been many studies in the field of molecular biology to identify the fluke species in the world and in Vietnam.

#### ***1.2.1.3. Small intestinal fluke***

##### **- The study on the epidemiological characteristics of small intestinal fluke**

South Korea and China are the countries with the high prevalence of small intestinal flukes, similar to infected with small liver fluke - *Clonorchis sinensis*.

Freshwater fish - borne trematodes, including small intestinal fluke *H. pumilio* with high prevalence in Southeast Asia. However communities also have little understanding of the causes of transmission and clinical symptoms in the last host, including a large number of animals and humans (Sofie Nissen et al, 2013).

The fluke transmitted through food has been a health problem worldwide. Although in many places they have changed behaviors, habits and practices and there have been positive prevention programs against this disease, there has been failure because eating raw fish cuisine is still fairly common, widespread in many localities across China and around the world (Fried B, 2004).

### **1.2.2. The previous studies in Vietnam**

#### ***1.2.2.1. Clonorchis sinensis***

##### **- Research on the Epidemiology**

In Vietnam, the research was primarily implemented in the early '70s, in the twentieth century, with the average infection rate of *Clonorchiasis* in the survey points from 20% to 37%.

There have been many studies on the prevalence of the disease in humans, domestic animals, on both intermediate hosts and mainly *Clonorchis sinensis* species in the North. The severe infected endemic areas are mainly areas where communities have the habit of eating raw freshwater fish, such as Red River Delta, especially the coastal areas in the North. In the central and southern region, there has been *Opisthorchis viverrini* species infection.

The disease was detected in 24 provinces in the country, mainly in the area with the habit of eating raw fish, as the proportion of people eating raw fish to 80.4% in Nam Dinh, in Ninh Binh 70%, 67.9% in Thanh Hoa. Some cattle infected with liver fluke disease is the perennial source in nature and can be transmitted to humans, such as dogs, cats, pigs, ... (Dang Thi Cam Thach and her colleagues, 2005).

The studies in the last 20 years carried out in order to identify species using morphological and molecular biology clearly shows the species composition in the affected areas. Researchers Dang Thi Cam Thach et al (2005), used 2 methods based on the classification of morphological signs and PCR analysis which allow to distinguish exactly 2 species *Clonorchis sinensis* and *Opisthorchis viverrini* in Kim Son, Ninh Binh.

Fish-borne trematode infection is not only in the coastal plains, but also in other suburban plains such as Ha Tay (old). Farther in Midlands, as an investigation by Nguyen Manh Hung and Cao Ba Loi in September 2007 conducted in three Tea Company in the province of Phu Tho, the general prevalence of small liver fluke is 22.25%.

The investigation results on the infected larvae of freshwater fish in some areas of northern Vietnam showed that the level of infection is relatively severe, mainly fish: sesame, carp, carp, floating, crucian, tilapia .

Nga Son district, Thanh Hoa province is one coastal district located adjacent to Kim Son district, Ninh Binh province. In 2011, Dinh Thi Thanh Mai, and colleagues studied 720 people with Kato stool examination, the overall small liver fluke infection rate was 16.8%.

**- The study on the prevention of small liver fluke *Clonorchis sinensis* infection**

There have been many studies on the prevention of small liver fluke disease in Vietnam and foreign countries, including public communication on disease prevention and treatment with special drugs. In 2009, Le Thi Tuyet author and colleagues conducted intervention by health communication and education about liver fluke disease for all people in Xuan Tien commune, Xuan Truong district, Nam Dinh, with comparison before, after intervention. The team chose a random sample, the sample size was 576 adults. Interventions have changed markedly their awareness, practice compared to pre-intervention.

#### **1.2.2.2. Study on *Opisthorchis viverrini***

**- Bio-genetic characteristics**

In late twentieth century, especially in the early twenty-first century, there have been many molecular biology studies on the fluke disease.

Thanks to this research it was determined more accurately on the fluke in different areas. The analytical results of author Le Thanh Hoa et al (2004) showed that the *Opisthorchis* species of Vietnam have the absolutely similar rate of nucleotide composition to Khon Kaen, Thailand.

**- Research on the Epidemiology of *Opisthorchis viverrini***

In 2000, Nguyen Van Chuong and his colleagues discovered a small liver fluke *Opisthorchis viverrini* in An My commune, Tuy An district, Phu Yen province which parasites in humans and animals. The intermediate hosts of the fluke are sucking snail *Melania tuberculata* and the fish *Carasius carasius*.

Continuing wider research in the central provinces of Vietnam, in 2000, Le Khanh Thuan and his colleagues investigated stool examination for 27,245 people in 10 provinces of Central Coast. The results showed the average prevalence of *Opisthorchis viverrini* was 2.83%.

**- Prevention Research of *Opisthorchis viverrini***

In 2005, Nguyen Van Chuong team and colleagues conducted interventions to control liver fluke disease in My Chanh Commune, Phu My, Binh Dinh Province. After 1 year the prevalence of small liver fluke infection fell 74,10%, the intensity of infection decreased 76.75% than before the intervention.

**1.2.2.3. The studies of small intestinal fluke**

The small intestinal fluke disease incidence is high in endemic areas infected with liver fluke disease, because the nature of transmission is identical with the small liver fluke disease. During more than the last 2 decades people began to study more, deeper into the small intestinal fluke disease.

In 2013, the team Do Trung Dung and his colleagues investigated and detected mixed infections with small liver fluke and small intestinal fluke in humans in 9 provinces of Vietnam. The results showed that the overall prevalence is 24.6%. In which 42 people infected with fluke were treated, and bleached for identification of fluke, obtained 6850 flukes from 40 patients. Among them: the 638 *C. sinensis*, 1 *O. viverrini*, 3960 *H. taichui*, 1670 *H. pumilio*, 56 *S. falcatus*, 54 *C. formosanus*, 74 *E. japonicus*, 2 *Taenia* and 388 *Haplorchis spp.*

In Thanh Hoa there also been a number of studies on the prevalence of fluke in humans, the larvae infection rates on intermediate hosts, but mainly the studies on small liver fluke. In terms of small

intestinal fluke species it have not been known about the epidemiology and identification of species by morphological and molecular biology.

### **1.2.3. Some studies on small liver fluke infection in Nga Son district, Thanh Hoa province**

In 2002, Nguyen Van De, and colleagues investigated in Nga Tan commune, Nga Son district the small liver fluke infection rate was 11%. In 2005, investigation by Do Thai Hoa in Nga An commune the small liver fluke prevalence is 25.3%.

## **Chapter 2**

### **SUBJECTS AND METHODS**

#### **2.1. Research subjects**

- Investigation on people: All people from 6 years and older, regardless of sex, occupation. Subjects from 6 to under 15 years with the support of the head of household.

- Investigate the larvae of 5 freshwater fish species (*H. molitrix*, *C. carpio*, *M. piceus*, *tilapia*, *C. molitorella* ).

- Adult worms: Identify the type by morphological and molecular biology.

#### **2.2. Research location**

- Investigation in the field: Investigated in 4 communes of Nga Son district, Thanh Hoa. Investigated 3 villages in each commune: Nga Dien (Village 2, Villages 3 and 5); Nga Phu (Village 2, Villages 3 and 5); Nga Thai ( village 3, villages 6 and 7); Nga An (Villages 1, 4, and village 6).

#### **2.3. Research time**

- Time to investigate in four communes: From May 2013 to December 2014.

- Duration of the intervention in two communes of Nga Thai and Nga Dien from June, 2013 to december, 2014.

#### **2.4. Methodology**

- Study design

Research methodology of descriptive epidemiological cross-sectional study with analysis and community intervention study, compare.

- The sample size

Sample size to evaluate the effectiveness of interventions by the media in the rate of small liver fluke infection, small intestinal fluke infection and KAP survey in humans:



$$n_1 = n_2 = \frac{[Z_{(1-\alpha/2)}\sqrt{2pq} + Z_{(1-\beta)}\sqrt{p_1q_1 + p_2q_2}]^2}{(p_1 - p_2)^2}$$

Among them:

$n_1$ : The sample size of the study intervention group (intervention by health education and communication) is Nga Thai and Nga Dien commune.

$n_2$ : research sample size of the control group (no intervention by the media) is Nga An and Nga Phu commune.

$p_1$ : the prevalence rate of small fluke infection taken in Nga An commune (Thai Hoa Do, 2005) before intervention was 25.3% ( $p_1 = 0.25$ ) for both the control and intervention group.

$p_2$  is the estimated prevalence rate of small fluke infection after intervention by 10% ( $p_2 = 0.10$ )

$Z_{1-\alpha/2}$  is the reliability coefficient of 95%, worth 1.96

$Z_{(1-\beta)}$  is the sample capacity, with  $\beta = 80\%$ ,  $Z_{(1-\beta)} = 0.84$

$q_1 = 1-p_1$ ;  $q_2 = 1-p_2$ ;  $P = (p_1 + p_2) / 2$ ,  $Q = 1-P$

From this formula, we change the index to calculate the required sample sizes were: 99.4 people, rounded to 100 people.

To improve reliability, increase the sample size up to 2 times, so that each control commune must be investigate are:  $100 \times 2 = 200$ , 02 communes = 400 people. Similarly 2 intervention communes = 400 people under investigation. Total number of persons under investigation in the study was 800 people.

#### - Sample size of larval fish (the number of survey fish):

The sample size of number of individual survey larval fish was calculated using the formula:

$$n = Z^2_{1-\alpha/2} \frac{P(1-p)}{(p.\varepsilon)^2}$$

Among them:

+  $Z_{1-\alpha/2} = 95\%$  Coefficient of reliability, worth 1.96

+  $p$ : the prevalence of fishborne trematodes of about 30% (Nguyen Van De investigated in average 15 provinces in 2003)

+  $\varepsilon$ : relative value (from 0.1 to 0.4), we obtain by 0.28.

$n = 1.96^2 \times 0.3 \times 0.7 / (0.3 \times 0.28)^2 = 114$  individual fish. To improve reliability, we lift up to 2 times the sample size (rounded up 250 samples for 5 species, each species of 50 individuals).

## **2.5. Techniques to conduct data collection in research**

- Stool examination by Kato Katz method to determine the rate and intensity of fishborne trematode.

- Techniques of survey and identification of larval fish : pepsin acid testing techniques and collect larvae on 5 raw fish that people often eat.

- Identification Technique of Morphology of mature small liver fluke and small intestinal flukes: By fresh candling and dyeing Carmine according to the type keys of Nguyen Thi Le.

- Identification Technique of adult worms by PCR : Analyze fluke sample by means of molecular biology in the Department of Molecular Biology, Central Institute of Malaria - Parasitology - Entomology and Vietnam Institute of Biotechnology.

- KAP method, reviews toilets: By opening and closing questions which are simple, easy to understand, combined with actual observations in families of investigation.

- The intervention method of health education communication on fluke disease prevention: Carry out communication for 2 intervention communes (Nga Thai and Nga Dien) in forms of radio once a week /18 months meeting people, speaking at schools, patent controversy, leaflets.

## **2.6. The variables to be collected in the study**

Based on the study objectives.

## **2.7. Identify a number of factors related to fluke infection**

Fluke infection rates depending on: Education, household economics, understanding correctly the route of infection, fluke disease harms, fluke disease prevention, history of eating raw freshwater fish.

## **2.8. Evaluation results after prevention interventions**

Percentage of clean eggs, egg reduction, re-infection, new infections, the prevalence and intensity of common fluke infection after intervention.. Evaluate the effectiveness of interventions through changes in knowledge, behavior / practices of the research community with related factors to fluke infection.

## **2.9. Data processing methods**

- Using the SPSS software program for analysis, data processing.
- Calculate the ratio% , Test  $\chi^2$ , T test, OR difference rate.

### Chapter 3 RESEARCH RESULTS

#### 3.1. The rate and intensity of infection in humans fluke, fish larvae and fish fluke transmitted in four communes studied

##### 3.1.1. The rate and magnitude of fish fluke infection transmitted in humans before intervention

##### 3.1.1.1. The rate of people infected with trematode in 4 survey communes

*Table 3.1. Trematode infection rate of 4 survey communes*

Communes	Prevalence		Small intestinal fluke (SIF) (+)		Small liver fluke (SLF) (+)		Proportion of single infections (+)		Proportion of multiple infections (+)		General infections	
	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%
Nga An (n=200)	18	9.0	24	12.0	12	6.0	15	7.5	27	13.5		
Nga Phu (n=200)	19	9.5	16	8.0	11	5.5	12	6.0	23	11.5		
Total 2 communes = 400 (a)	37	9.3	40	10.0	23	5.8	27	6.8	50	12.5		
Nga Dien (n=200)	5	2.5	11	5.5	14	7.0	1	0.5	15	7.5		
Nga Thai (n=200)	45	22.5	23	11.5	34	17.0	17	8.5	51	25.5		
Total 2 communes = 400 (b)	50	12.5	34	8.5	48	12.0	18	4.5	66	16.5		
Total (N=800)	87	10.9	74	9.3	71	8.9	45	5.6	116	14.5		
p (a-b)	p>0,05				p<0,05		p>0,05		p>0,05			

**Comment:** The results presented in Table 3.1 shows: The 4 communes surveyed were infected with the two types of fishborne trematode infection, the overall infection rate was 14.5%. In which Nga Thai commune with small intestinal prevalence (22.5%) and general infection (25.5%) is the highest, the difference compared to other communes was statistically significant, ( $p < 0.05$ ). Single and multi-infection ratio of 4 communes was low (8.9% and 5.6%).

### 3.1.1.2. Trematode infection rate based on gender of 4 communes surveyed

Table 3.2. Fluke infection rates based on gender

Gender	SIF(+)		SLF(+)		single infections (+)		multiple infections (+)		General infections	
	No	%	No	%	No	%	No	%	No	%
Male (n = 423) (a)	62	14.7	52	12.3	46	10.9	34	8.0	80	18.9
Female (n =377)(b)	25	6.6	22	5.8	25	6.6	11	2.9	36	9.5
Total number (N=800)	87	10.9	74	9.3	71	8.9	45	5.6	116	14.5
p (a-b)	<0.05		<0.05		<0.05		<0.05		<0.05	

**Comment:** Table 3.2 shows:

Male and female difference is statistically significant in the prevalence of two types of trematode infection, overall infection and multiple infections rates. In male (SIF: 14.7%, SLF: 12.3%, general infection: 18.9% and 8.0% multi-infection) compared to female (SIF: 6.6%, SLF: 5.8 %, general infection: 9.5% and 2.9% multi infected only), with  $p < 0.05$ .

### 3.1.1.3. The intensity of 4 communes infected with fluke infection in the research

Table 3.3. The intensity of 4 communes infected with fluke

Communes	SIF	SLF	General infection intensity
	EPG/ 1g feces ( $\bar{X} \pm SD$ )	EPG/ 1g feces ( $\bar{X} \pm SD$ )	EPG/ 1g feces ( $\bar{X} \pm SD$ )
Nga An (n=200)	320.7±79.9	336.4±117.8	329.7±101.6
Nga Phu (n=200)	348.6 ±183.4	329.2± 83.4	339.7±137.7
Average 2 control communes (a)	335.1 ±141.5	333.5±104.3	334.2±122.2
Nga Dien (n=200)	303.6±49.9	292.7±75.6	296.1±67.6
Nga Thai (n=200)	478.5±222.2	525.7±225.2	494.5±223.2
Average 2 intervention communes (b)	461.0±217.6	450.4±218.6	456.7±218.0
Average	407.4±198.2	387.2±175.6	398.1±187.8
Calculate p(a-b)	p(a-b) <0.05	p(a-b) <0.05	p(a-b) <0.05

**Comment:** The results in Table 3.3 show: The average intensity of 4 fluke infected communes:  $398.1 \pm 187.8$  eggs/1 gram of stool) and at a slight infection.

### 3.1.2. Survey results metacercariae of small liver fluke and small intestinal fluke in fish

Table 3. 4. The rate and magnitude of metacercariae tested in fish

Fish	Number (fish)	Fish sample infected with metacercariae ( <i>Metacer</i> )	Ratio %	Infection intensity of metacercariae (number of <i>Metacer</i> / number of fish (+))	p
<i>C. carpio</i> (a)	50	8	16.0	3	p(a-b.d.e) <0.05
<i>M. piceus</i> (b)	50	5	10.0	2	
<i>Hypthalmicthich molitrix</i> (c)	50	9	18.0	5	p(c-b.d.e) <0.05
<i>C. molitorella</i> (d)	50	3	6.0	4	
<i>Tilapia</i> (e)	50	4	8.0	4	
Total	250	29	11.6	Average 3.6 <i>Metacer</i> /1 fish sample	

**Comment:** Table 3.4 shows:

Found trematode larvae in all five species tested, with the overall prevalence was 11.6%, in which infected *Hypthalmicthich molitrix* was the highest (18.0%). The average infection intensity of 3.6 *Metacer* / 1 fish and *Hypthalmicthich molitrix* also has the highest number of larvae (5 *Metacer*/1form); p <0.05.

### 3.1.3. The results of morphological types and structure of *Clonochis sinensis*

By observing 30 adult worms obtained after bleaching fluke, conducting pap tests and Carmine dye, measuring the size, physical description, introspection: These species have leaved flat shape, reddish color. Dimensions 9.6 to 18.8 mm long, width from: 2.1 to 3.9 mm, with two steaming gate (mouth and stomach). Gastrointestinal tract runs along both sides of the tube worms and switches. Observing shows small liver fluke has no anus, many nutrition tract on the fluke body.

*Clonochis sinensis* testical has branches, the ovary is at mid-body and 1/3 the anterior body, the uterus is a zigzag and folded tube. Genital hole is near the opening gate of the abdomen.

### **3.1.4. The results of morphological types and structure of small intestinal fluke *H. taichui***

Describing physical characterization, introspection, measuring 30 small intestinal fluke *H. taichui* by Pap tests and dyeing Carmine: flat body, narrow front, wider back sections, body size in length from 384  $\mu\text{m}$  - 1070  $\mu\text{m}$ , width: 232 $\mu\text{m}$  - 628 $\mu\text{m}$ . Mouthfeel is in the front body, with a diameter of 62.5 $\mu\text{m}$  - 70 $\mu\text{m}$ , short esophagus. Abdominal sense is skewed to the right side along the body connected with the genital sensory forming belly - sex sensory organs. 10-21 chitin hooks in the front belly sensory. Large testicles, dimensions: length 90-140  $\mu\text{m}$ , seminal vesicles composed of 2 parts.

### **3.1.5. The results of morphological types and structure of small intestinal fluke *H. pumilio***

Describing physical characterization, introspection, measuring 30 small intestinal fluke *H. pumilio* by Pap tests and dyeing Carmine:

Adult worms with pear-shape, length: 488-860  $\mu\text{m}$ , width: 182 – 514  $\mu\text{m}$ , the top of the body is narrow and wider towards the bottom. Mouthfeel diameter: 44-76  $\mu\text{m}$ . Genital sensory belly size changes including abdominal and sexual sensation. Semicircle ovary. 3 roll uterus, there are eggs inside. There is a large testicle on the left side near the back. Thin-walled seminal vesicles, small front, larger back section, located on the left side of the abdominal sense.

### **3.1.6. Identify small liver fluke and small intestinal fluke species by molecular biology methods**

Results of analysing each species 3 samples in humans by nucleotide sequencing method, the results are as follows:

- Small liver flukes parasited in humans in three coastal communes in Nga Son district: Nga An, Nga Phu, Nga Thai was identified as *Clonorchis sinensis*. 100% homologous nucleotide sequence with *C. Sinensis* samples collected in Nam Dinh stored in GenBank.

- Small intestinal fluke species parasite on people in 3 coastal communes: Nga An, Nga Phu, Russia Thai was identified as *H.taichui* and *Haplorchis pumilio*. Homologous nucleotide sequences 99.8% - 100% with small intestinal fluke samples collected in Nam Dinh.

### 3.2. Determined related to prehistoric eating raw freshwater fish and fluke infection rate of people

Table 3.5. Trematode infection rate of target groups with a history of eating raw freshwater fish

A history of eating raw fish of research subjects	Total survey	General fluke infections	
		Number	Ratio %
Have eaten raw fish ( $\geq$ once) (a)	409	106	25.9
Never eaten raw fish (b)	334	5	1.5
Total number	743	111	14.9
P, OR 95%CI	p(a-b) < 00.5, OR = 23.019 CI (9.262-57.212)		

**Comment:** According to the results seen in Table 3.5:

Prevalence of trematode of the group who ate raw freshwater fish is 25.9%, much higher than the group of people who have never eaten raw fish infected only 1.5%. The difference is statistically significant,  $p < 0.05$ ; OR = 23.019.

### 3.3. To evaluate the effectiveness of interventions in the treatment and health education

#### 3.3.1. Assessment of intervention effectiveness after 18 months based on the rate of trematode infections

Table 3.6. Effectiveness based on general fluke infection rates 18 months after intervention

Commune	Sample	Before intervention (c)		After intervention (d)		Infection reduction %	Calculate p effectiveness of intervention between 2 groups
		só (+)	%	só (+)	%		
2 control communes (a)	400	50	12.5	25	6.3	50%	p(a-b) < 0.001
2 intervention communes (b)	400	66	16.5	8	2.0	87.9%	
Total	800	116	14.5	33	4.1	71.7	

**Comment:** The results in Table 3.6 shows: Efficiency of reducing overall parasitic infection rate of the control group after treatment without communication is 50%. While this rate of intervention by communication is rather high, down to 87.9%. **Effective interventions fact that: 37.9%**. The differences between the infection rate between 2 groups after intervention are statistically significant,  $p(a-b) < 0.001$ .

### 3.3.2. An efficiency assessment after 18 months of intervention based on fluke infection intensity

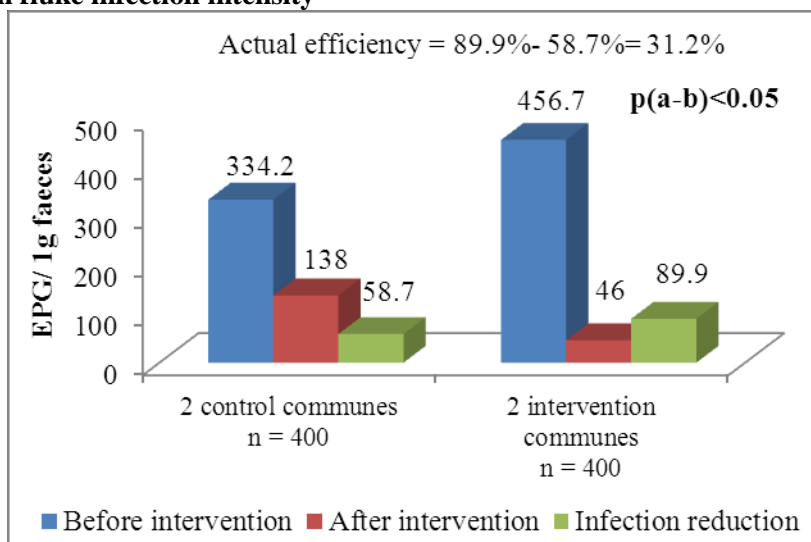


Chart 3.1. Effectiveness of fluke infection intensity 18 months after intervention

**Comment:** The results in chart 3.1 show: Efficiency of reducing general fluke infection intensity of the control group was 58.7%, much lower than the intervention group which reduced general parasitic infection intensity to 89.9%. **Effective interventions fact that: 31.2%.** There are differences in reducing intensity of infection between two groups after intervention with statistical significance,  $p(a-b) < 0.05$ .

### 3.3.3. Results of changing behavior/practices of the research community in the rate of eating raw freshwater fish after intervention

Table 3.7. The percentage of people eating raw freshwater fish of the two groups before and after intervention

Communes	Sample	Before intervention (c)		After intervention (d)		Reduct-ion %	P (Before and after intervention and 2 groups)
		eating raw fish	%	eating raw fish	%		
2 control communes (a)	400	198	49.5	191	47.8	3.4	$p(c-d) > 0.05$
intervention communes (b)	400	211	52.8	51	12.8	75.8	$p(c-d) < 0.05$
	800	409	51.1	242	30.3	40.7	$p(a-b) < 0.001$



**Comment:** The results in Table 3.7 show: Proportion of people eating raw fish in the control group 18 months before and after intervention not engaged in communications declined only 3.4%,  $p(c-d) > 0.05$ . While in the communication intervention group, the rate of eating raw fish reduced to 75.8%,  $p(c-d) < 0.05$ . **Effective interventions fact that: 72.4%**. especially the big differences in the reduction of eating raw fish rate between the 2 groups are statistically significant, with  $p < 0.001$ .

## **Chapter 4**

### **DISCUSSION**

#### **4.1. The rate and intensity of infection in humans fluke, fish larvae and fish fluke transmitted in four communes studied**

##### **4.1.1. The rate and magnitude of fish fluke infection transmitted in humans before intervention**

###### ***4.1.1.1. The rate of people infected with trematode in 4 survey communes***

All of 4 surveyed communes infected with both types of trematode infection remains high rate (14.5%). In which Nga Thai commune's prevalence of trematode infection and general infection (25.5%) is the highest. This is entirely appropriate, because Nga Thai commune has high ratio of eating raw fish (60.5%). The result of our investigation on small liver fluke infection is lower than the result of Dinh Thi Thanh Mai survey in 3 communes, Nga Son district is 16.8% in 2011. Due to septic latrines in rural areas now have increased significantly, pathogen pollution to the environment also greatly reduced, so the possibility of infection reduced. On the other hand people's awareness of disease prevention is increasingly better.

###### ***4.1.1.2. Trematode infection rate based on gender of 4 communes surveyed***

Between men and women there is a significant difference in the prevalence of 2 types of fluke infection and general infection, male (small intestinal fluke: 14.7 %, small liver fluke: 12.3 %, general infections: 18.9 %), women (small intestinal fluke: 6.6%, small liver fluke: 5.8%, general infections: 9.5 %), with  $p < 0.05$ .

These results, as well as many authors have investigated, the results of Nguyen Manh Hung and Cao Ba Loi, investigators at Phu Tho tea company in 2008, small liver fluke prevalence in men was 27.4% vs. 16.7% female.

This result is appropriate in our opinion, because men drink alcohol and eat raw mainly, but there are very few women having this habit.

#### ***4.1.1.3. The intensity of 4 communes infected with fluke infection in the research***

The commune Nga Thai have general magnitude highest fluke infection: 494.5 eggs / 1 gram of feces. The remaining 3 communes (Nga An, Nga Phu and Nga Dien) infection intensity difference of not more. This result is entirely appropriate, by the commune Nga Thai people eat raw fish is high (60.5%), the rate of sanitary latrines (71.0%) and the lowest in comparison with 3 other communes again.

This is very favorable conditions for the spread of diseases transmitted fluke fishing is quite popular locally we are studying. The research results are also consistent with the findings of Nguyen Van De (2002) in Nga Tan commune, Nga Son district, Thanh Hoa province has average strength of 330 infected eggs / gram of feces.

#### **4.1.2. Survey results metacercariae of small liver fluke and small intestinal fluke in fish**

Researchers have tested fish species in the pond 5 that people often do to eat salad of 4 communes investigation. Results overall prevalence was 11.6% metacercaria, including the *H. molitrix* was highest infection (18.0%), the second is the *C. carpio* (16.0%). Overall average intensity of infection was 3.6 metacercariae /1 fish, the *H. molitrix* also have the highest number of larvae (5 metacercariae / 1 fish). This result is a perfect fit, because here people are still fluke infection rate remains high and using fresh human feces in farming, fish culture is still as high (54.8%). This condition is polluting the environment pathogens contaminated water and fish larvae are unavoidable. Similar findings Nguyen Van De and et al (2002), while testing fish in Nga Tan commune, Nga Son district, Thanh Hoa province. The *H. molitrix* was

larvae infected with liver fluke 88.9%, fish *Cirrhina molitorella* infected with 58.3% of liver fluke.

#### **4.1.3. The results of morphological types and structure of *Clonochis sinensis***

Adult fluke that we obtained after bleaching from patients in the study had shaped leaves, stems, flat, reddish color. Shantou has long size from 9.6 to 18.8 mm, width from: 2.1 to 3.9 mm, with two steaming gate (mouth and stomach). Genitals of liver fluke *Clonorchis sinensis* have testicles, ovaries, uterus. The testicles of *Clonorchis sinensis* branched testes, accounted for most of the rear body. Such as through identification of fluke morphological characteristics obtained in the study are *Clonochis sinensis* species. This result also coincides with *Clonorchis sinensis* fluke in Kim Son district, Ninh Binh province, 2005, author Dang Thi Cam Thach. Or similar results Truong Tien Lap authors investigated in three coastal districts in Nam Dinh province in 2009, a small species of parasitic liver flukes here is *Clonorchis sinensis*.

#### **4.1.4. The results of morphological types and structure of small intestinal fluke *H. taichui***

The small intestinal fluke that our maturity obtained after bleaching from patients in the study, through Pap tests and dyeing Carmine. Leaf-shaped flukes, body flat, the front is narrow, wider following sections, body size in length from 384 - 1070  $\mu\text{m}$ , width: 232-628 $\mu\text{m}$ . Mouthfeel in front body, with a diameter: 62.5-70  $\mu\text{m}$ , short esophagus. Large testicles, ejaculation opens Gas Pipe genitals, ovaries behind the testicles. Through identifying characteristic morphology fluke is small intestinal fluke *Haplorchis taichui*. This result also coincides with small intestinal fluke *Haplorchis taichui* of Do Trung Dung author verified by morphological methods in one of the provinces of North Viet Nam, 2014.

#### **4.1.5. The results of morphological types and structure of small intestinal fluke *H. pumilio***

Adult worms pear-shaped, length: 488-860  $\mu\text{m}$ , the first on a narrow body and wide toward the bottom, the bottom body size larger bulge: 182-514  $\mu\text{m}$ . Mouthfeel diameter: 44-76 $\mu\text{m}$ . Genital sensory belly size changes include abdominal and childhood sexual. Semicircle ovary. Uterus include 3 rolls , there are eggs inside. Through morphological characteristics above, this is a small intestinal fluke *Haplorchis pumilio*. This finding coincides with the results of Do Trung Dung authors verified using morphological methods in one of the provinces of North Vietnam, 2014 is *Haplorchis pumilio* species.

#### **4.1.6. Identify small liver fluke and small intestinal fluke species by molecular biology methods**

Samples of small liver fluke and small intestinal fluke collected from 9 patients in 3 commune studies were sent to Laboratory Technology key gene, the Institute of Biotechnology Vietnam for identification of genes. When analyzing the nucleotide sequences of two genes COI and ITS2, results show: Between individuals of the same species at different study with high similarity of nucleotide sequences. Small liver fluke in humans in three commune coastal areas: Nga An, Nga Phu, Nga Thai was identified as *Clonorchis sinensis*. Nucleotide sequence similarity 100% with *C. sinensis* samples collected in Nam Dinh stored in GenBank.

And small intestinal fluke in humans in three commune coastal areas: Nga An, Nga Phu, Nga Thai was identified as *Haplorchis taichui* and *Haplorchis pumilio*. Nucleotide sequence similarity: 99.8% - 100% with small intestinal fluke samples collected in Nam Dinh and Thai Nguyen stored in GenBank. This result also coincides with in molecular biology of mitochondrial genome author Le Thanh Hoa and et al (2002), has identified Vietnam mainly the presence of two species of their liver

fluke Opisthorchiidae, namely: *Clonorchis sinensis* (North), *Opisthorchis viverrini* (South, Central).

Or as reported by the team Do Trung Dung and et al (2014), with expertise in molecular biology confirms the small intestinal fluke of family Heterophyidae as *Haplorchis taichui*, *Haplorchis pumilio* were identified as parasites in humans in 9 provinces of Vietnam have been recorded.

#### **4.2. Determined related to prehistoric eating raw freshwater fish and fluke infection rate of people**

Trematode infection rate of the group who had been eating raw fish was 25.9%, significantly higher group never eat raw fish infected with 1.5%; Group had been eating raw fish tapeworm infection risk 23.019 times higher than the group had never eaten. OR= 23.019. This result is a perfect fit, because the transmission of liver fluke and small intestinal fluke larvae in meat through freshwater fish (eating raw fish, fish soup ...) uncooked. Also similar results of Vu Van Thai in Huu Bang commune, Kien Thuy District, Hai Phong City in 2012, the percentage of people infected with fluke with a history of eating raw fish is 19.37%, higher than people with no history of eating raw fish infected with only 2.68%.

#### **4.3. To evaluate the effectiveness of interventions in the treatment and health education**

##### **4.3.1. Assessment of intervention effectiveness after 18 months based on the rate of trematode infections**

Research results show our common fluke infection rate in the control group decreased by 50% after 18 months. While this percentage of media intervention group decreased to 87.9% prevalence rate. **Effective interventions actual is 37.9%**. In our opinion this is a perfect fit, because the people in the control group did not have the impact, the media guides of the

harm, the consequences and how to prevent infection. Should they continue to eating and continue infected.

Longer in the intervention group by the media has been a continuous impact in 18 months, which limits many patients re-infection and new infections.

Such is the role of health communication and education have a huge impact in changing habits, awareness and behaviors related fluke infection transmitted by the fish in our study. Similar research is also of Nguyen Van De, et al (2002), in one commune in endemic areas liver fluke (Hai Hoa, Hai Hau district, Nam Dinh province). The results after one year of implementation prevention fluke disease, decreased 64.9% prevalence rate (from 37.5% to 13.1%).

#### **4.3.2. An efficiency assessment after 18 months of intervention based on fluke infection intensity**

After 18 months the intervention, the overall intensity of fluke infection control group decreased 58.7%, much lower than the intensity intervention group decreased to 89.9% overall fluke infection. **Effective interventions actual is 31.2%**. This issue also explains the similar item 4.8.1. discussed. This result also coincides with the findings of Nguyen Van De and et al at Hai Hoa commune, Hai Hau district, Nam Dinh province (2002), after 1 year of implementation of the fluke prevention 94.7% decrease intensity of infection.

#### **4.3.3. Results of changing behavior/practices of the research community in the rate of eating raw freshwater fish after intervention**

The results of our research with the proportion of people eating raw freshwater fish before and after the intervention in the control group decreased by 3.4% only. But in the intervention group reduced to 75.8% efficiency. **Effective interventions actual is 72.4%**. Through this communication we see education on disease prevention fluke have a

huge impact on the behavior has a long life in the communities have the habit of eating raw fish. Similar to the results of the author Le Thi Tuyet and et al (2009), conducted a media intervention and education about liver fluke disease in Xuan Tien, Xuan Truong district, Nam Dinh. After 1 year the intervention, the habit of eating raw fish effective reduction is 74.6%. At control communes (Xuan Chau), after 1 year does not intervene, the perception and practice of liver fluke disease is no difference compared to before the study.

## CONCLUSION

### **1. The rate and intensity of infection fluke in humans , in fish and flukes in 4 commune studies**

- General fluke infection rate was 14.5% of the 4 communes. In which the Nga Thai commune's small intestinal flukes prevalence (22.5%) and general infection (25.5%) is the highest.

- Men have general fluke infection rate, infection small liver fluke, small intestinal fluke and mixed infections were higher than women.

- By ages 30-59 ratio, the higher the intensity of parasitic infections age groups under 30 and over 60.

- The farmer, who do other jobs ratio, intensity higher fluke infection Personnel officer - Retirement and students.

- Trematode infection intensity of the 4 communes surveyed at a slight infection.

- Prevalence of larval trematodes in fish are: 11.6%, the highest infected *H. molitrix* (18.0%), infection intensity of 3.6 *metacercariae* / 1 fish muscle.

- Fluke is determined at the point of the study is: *Clonorchis sinensis*, *Haplorchis taichui* and *Haplorchis pumilio*

### **2. Factors relating to the rate and intensity of fluke infection**

Groups who have eating raw freshwater fish have higher risk than 23.019 times fluke groups never eat raw fish.

### **3. Effective treatment with praziquantel and media intervention community health education fluke disease prevention at the study site**

#### **3.1. Effective treatment:**

Clean egg ratio after treatment from 96.0% to 96.9%, the ratio is 100% egg reduction.

#### **3.2. Effective intervention by media education**

- Reinfection rate in the intervention group (14.58%), higher than the intervention group (3.13%); While new infection rates were similar (1.14% versus 0.3%).

- The rate and intensity of tapeworm infection reduction intervention group than non-intervention group (87.9% and 50%), intensity (89.9% and 58.7%).

- The proportion of people eating raw fish in the intervention group decreased 75.8%, compared with the control group decreased by 3.4% only.

- Knowledge, understanding and behaviors related fluke disease prevention in the intervention group communications are improved significantly.

## **RECOMMENDATIONS**

1. There should be a broader investigation of the situation points fluke infection, larval fish, fluke in areas with conditions similar epidemiology of Thanh Hoa province.
2. Based on the identification of risk factors for disease, Health facilities need to conduct health education and communication about how to prevent and treat fluke disease cases to reduce the spread in the community.