

ĐẶC ĐIỂM HÌNH THÁI HỌC VÀ ĐỊNH DANH PHÂN TỬ LOÀI SÁN DÂY GÂY TÁC HẠI CHỦ YẾU TRÊN CHÓ TẠI MỘT SỐ TỈNH ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Nguyễn Phi Bằng¹, Nguyễn Hồ Bảo Trân², Nguyễn Hữu Hưng²

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định loài sán dây gây tác hại chủ yếu trên chó nuôi tại một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Có 882 cá thể chó đã được mổ khám toàn diện để xác định tỷ lệ, cường độ và loài sán ký sinh ở chó.

Kết quả nghiên cứu cho thấy tại địa bàn khảo sát, chó nuôi bị nhiễm sán dây với tỷ lệ là 26,30% và đã tìm thấy ít nhất 5 loài sán dây ký sinh trên chó nuôi là *Dipylidium caninum*, *Spirometra mansoni*, *Taenia pisiformis*, *Taenia hydatigena*, *Diphylobothrium latum*. Trong đó, *Dipylidium caninum* là loài sán dây thuộc bộ Cyclophyllidae có tỷ lệ nhiễm và cường độ nhiễm cao nhất. Đề tài đã mô tả các đặc điểm hình thái chi tiết để nhận dạng loài sán dây qua các bộ phận cấu tạo khác nhau như: đốt đầu, đốt cổ, đốt trưởng thành, đốt chứa trứng. Gen 28S rDNA của loài sán dây *D. caninum* đã được giải trình tự và so sánh với chuỗi DNA của sán dây *D. caninum* khác đã đăng ký trên Ngân hàng gen thế giới NCBI (National Center for Biotechnology Information/USA). Kết quả so sánh cho thấy chuỗi DNA của sán dây trong nghiên cứu có mức tương đồng cao (96%) so với loài sán dây *D. caninum* của Mỹ trên Ngân hàng gen thế giới với mã đăng ký là AF023120.1.

Từ khoá: chó, sán dây, tỷ lệ nhiễm, *Dipylidium caninum*, đặc điểm hình thái, định danh phân tử, ĐBSCL

Morphological characterization and molecular identification of a main cestode species in dogs in several provinces of Mekong Delta

Nguyen Phi Bang, Nguyen Ho Bao Tran, Nguyen Huu Hung

SUMMARY

The study was conducted to identify the major cestode species infecting in the investigated dogs in some provinces of the Mekong Delta, Viet Nam. There were 882 dogs examined for tapeworm infection rate, intensity and tapeworm species by a comprehensive method. The morphological features of tapeworm were identified for their properties, such as: colex, neck, mature proglottid, gravid proglottid and egg. The studied results showed that the infection rate of parasitic tapeworms in the examined dogs was 26.3%. Five infected cestode species were identified, such as *Dipylidium caninum*, *Spirometra mansoni*, *Taenia pisiformis*, *Taenia hydatigena* and *Diphylobothrium latum*. Among them, *Dipylidium caninum* was the most common tapeworm species infecting with the highest infection rate and intensity in the examined dogs. The similarity level of the 28S rDNA gene sequence of the identified tapeworm species (*D. caninum*) was 96% in comparison with those of the American tapeworm (*D. caninum*) on the World Genealogical Bank with the registration code AF023120.1.

Keywords: dogs, cestodes, prevalence, *Dipylidium caninum*, morphological feature, molecular identification, Mekong delta.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Loài chó được con người thuần hóa từ rất sớm và được nuôi rộng rãi ở khắp các quốc gia trên thế giới, ít nhất cũng 10.000 năm. Chó nhà là họ hàng của chó sói, đã từng sống hoang dã ở khắp châu Âu, châu Á và Bắc Mỹ (Phạm Ngọc Thạch, 2010). Cho đến nay trên thế giới có khoảng 400-450 giống chó (Lê Văn Thọ, 2010). Nhiều nghiên cứu cho thấy

chó có mối gắn kết rất thân thiết với trẻ em trong gia đình, mang lại nhiều niềm vui cho các thành viên trong gia đình (Paul *et al.*, 1996). Hiện nay số lượng chó nuôi ở nước ta tại các hộ gia đình rất lớn, có đến hơn 9 triệu con, trong đó đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) có khoảng 1,1 triệu con, chiếm hơn 12% tổng đàn của cả nước (Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn, 2016). Chó là người bạn thân thiết và gần gũi nhất của con người nên chó cũng là một trong những nguồn truyền lây bệnh từ động vật sang người, trong đó, bệnh do sán dây trên chó

¹ Khoa Nông Nghiệp và TNTN, Đại học An Giang

² Khoa Nông Nghiệp và SHƯĐ, Đại học Cần Thơ

là những bệnh tiềm tàng gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe của chó và cả con người. Thói quen nuôi chó thả tự do là một trong những yếu tố nguy cơ quan trọng làm cho mầm bệnh lây lan và phát tán rất khó kiểm soát (Agnieszka Tylkowska et al., 2010; Jahangir Abdi et al., 2013). Xác định loài sán dây chủ yếu gây tác hại trên chó có khả năng lây truyền sang người và mô tả đặc điểm hình thái học và định danh phân tử của loài sán dây này là công tác hết sức quan trọng trong chẩn đoán cũng như thực hành phòng chống bệnh sán dây trên chó và bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

II. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung

- Xác định tỷ lệ và thành phần loài sán dây phổ biến chủ yếu gây tác hại trên chó nuôi tại một số tỉnh ĐBSCL có khả năng lây truyền sang người.

- Xác định đặc điểm hình thái học và định danh phân tử của loài sán dây gây nhiễm chủ yếu.

2.2. Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại các tỉnh vùng ĐBSCL như An Giang, Đồng Tháp, Sóc Trăng, Kiên Giang.

Chó lấy mẫu được chọn ngẫu nhiên từ các cơ sở giết mổ chó tư nhân tại địa bàn khảo sát.

Nghiên cứu được thực hiện tại Phòng thí nghiệm Ký sinh trùng – Đại học Cần Thơ.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu điều tra dịch tễ học được tiến hành theo phương pháp nghiên cứu cắt ngang và dung lượng mẫu được lấy dựa trên công thức xác định tỷ lệ nhiễm đối với quần thể (Michael Thrusfield, 2007).

Xác định tình hình nhiễm bằng phương pháp mổ

khám toàn diện của Skrjabin (1963).

Việc định danh phân loại dựa vào một số đặc điểm về hình thái, cấu tạo của sán dây và xác định loài dựa theo mô tả của các tác giả Bowman et al., (2003) và Soulsby (1982).

Định danh phân tử sán dây nhiễm phổ biến nhất: Mẫu sán dây được rửa sạch bằng nước muối sinh lý, sau đó cố định trong cồn 70% và bảo quản lạnh ở -20°C cho đến khi sử dụng. Nghiên cứu đã khuếch đại DNA của 10 mẫu sán dây được xác định là *Dipylidium caninum* bằng phương pháp mô tả hình thái học.

Quy trình ly trích DNA và khuếch đại gen đích 28S rDNA của sán dây bằng phương pháp PCR dựa vào quy trình của Beugnet et al. (2014). Khuếch đại vùng gen 28S rDNA bằng cặp mồi DC28S. Giải trình tự và kiểm tra định danh vùng 28S rDNA của sán dây với chiều dài sản phẩm khuếch đại 653 bp. Giám định chuỗi DNA (gen chẩn đoán) bằng truy cập Ngân hàng Gen (GenBank) bằng chương trình BLAST. Tra cứu so sánh sử dụng các phần mềm có trong các Trung tâm Sinh-Tin học Quốc gia NCBI (National Center for Biotechnology Information/USA). Sự sai khác về nucleotid dưới hoặc bằng 5% là biến đổi nội loài (Interspecific differences) và trên 5% là biến đổi ngoại loài (Intraspecific differences) (Blair D và Agatsuma, 1997; Nguyễn Văn Đề, 2006).

Đoạn mồi sử dụng trong nghiên cứu

DC28S-IF: GCATGCAAGTCAAAGGGTCCTACG

DC28S-IR: CACATTCAACGCCCGACTCCTGTAG

Số liệu thu thập được từ phòng thí nghiệm và phiếu điều tra được phân tích bằng phần mềm thống kê Minitab ver. 15.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả tình hình nhiễm sán dây trên chó tại các tỉnh ĐBSCL

Bảng 1. Tỷ lệ nhiễm sán dây trên chó ở một số tỉnh ĐBSCL

Địa điểm	Tình hình nhiễm chung		
	Số chó khảo sát	Số chó nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)
Kiên Giang	216	65	30,09
An Giang	255	64	25,10
Đồng Tháp	260	70	26,92
Sóc Trăng	151	33	21,85
Tổng	882	232	26,30

Bảng 1 cho thấy tỷ lệ nhiễm sán dây trên chó là khá cao, chiếm 26,30%, trong đó, chó khảo sát tại tỉnh Đồng Tháp có tỷ lệ nhiễm sán dây là 26,92%, cao hơn chó ở tỉnh An Giang có tỷ lệ nhiễm là 25,10%. Điều này cho thấy nhiễm sán dây trên chó tại địa bàn khảo sát là bệnh rất phổ biến với tỷ lệ nhiễm cao nhất

là ở tỉnh Kiên Giang chiếm 30,09% và thấp nhất là tỉnh Sóc Trăng (21,85%). Qua phân tích thống kê cho thấy có sự sai khác không có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ nhiễm sán dây giữa các tỉnh khảo sát.

3.2. Kết quả về thành phần loài sán dây ký sinh theo lứa tuổi

Bảng 2. Tỷ lệ nhiễm các loài sán dây ký sinh ở chó theo lứa tuổi

Loài sán dây	Vị trí ký sinh	Tỷ lệ nhiễm theo số chó khảo sát		Nhiễm theo lứa tuổi (tháng)			
		n=882		13 - 24 (n=398)		> 24 (n=484)	
		SCN	TLN (%)	SCN	TLN (%)	SCN	TLN (%)
Bộ Cyclophylidea							
(1) <i>Dipylidium caninum</i>	Ruột	227	25,74 ^a	79	19,85	148	30,58
(2) <i>Taenia pisiformis</i>	Ruột	52	5,90 ^b	18	4,52	34	7,02
(3) <i>Taenia hydatigena</i>	Ruột	44	4,99 ^b	20	5,03	24	4,96
Bộ Pseudophyllidea							
(4) <i>Spirometra mansoni</i>	Ruột	137	15,53 ^c	55	13,82	82	16,94
(5) <i>Diphylobothrium latum</i>	Ruột	8	0,91 ^b	2	0,50	6	1,24

($P < 0,01$)

Ghi chú: những ký tự chữ cái (a,b,c) trong cùng một cột khác nhau thì khác nhau có ý nghĩa thống kê (với $P < 0,01$)
SCN : Số chó nhiễm TLN : Tỷ lệ nhiễm

Có 5 loài sán dây được tìm thấy trên chó tại các tỉnh khảo sát ở ĐBSCL. Trong tổng số 5 loài, có 3 loài thuộc bộ Cyclophylidae và 2 loài thuộc bộ Pseudophyllidae. Loài *D. caninum* chiếm tỷ lệ cao nhất (25,74%), kế đến là loài *Spirometra mansoni* (15,53%), sau đó lần lượt là *T. pisiformis*, *T. hydatigena*, thấp nhất là *D. latum* (0,91%). Mỗi loài sán dây có vòng đời và quá trình phát triển khác nhau, tỷ lệ nhiễm từng loài sán dây trên chó phụ thuộc rất lớn vào tập quán chăn nuôi, ký chủ trung gian, thức ăn và độ tuổi gia súc (Nguyễn Hữu Hưng, 2010; Nguyễn Phi Bằng và Trần Phú Cường, 2015). *D. caninum* là loài sán thuộc bộ Cyclophylidae (bộ Viên diệp) có tỷ lệ nhiễm cao là do chúng chỉ qua một ký chủ trung gian là *Ctenocephala* sp., đây là loài ngoại ký sinh rất phổ biến trên chó ở nước ta. Kết quả nghiên cứu tại các tỉnh khảo sát chỉ ra rằng *D. caninum* là loài sán dây có tỷ lệ nhiễm cao nhất, phổ biến nhất, điều này cho thấy rằng *D. caninum* là loài sán dây chủ yếu gây tác hại trên chó tại các địa bàn khảo sát. *Spirometra mansoni* là loài sán phổ biến thứ hai trên chó nuôi tại địa bàn khảo sát, ký chủ trung gian của loài sán này là giáp xác và ếch nhái,

ngoài ra còn có chuột và một số động vật khác (Huỳnh Hồng Quang, 2008; Nguyễn Phước Tương, 2002), đây cũng là những ký chủ trung gian khá phổ biến ở các tỉnh khu vực ĐBSCL. Riêng *Diphylobothrium latum*, trong quá trình phát triển đòi hỏi phải qua hai ký chủ trung gian sống dưới nước. Do có vòng đời phức tạp hơn các loài sán dây khác nên điều này có thể giải thích vì sao *Diphylobothrium latum* có tỷ lệ nhiễm thấp hơn các loài khác (Nguyễn Phi Bằng và Trần Phú Cường, 2015). Ấu trùng của loài *Taenia* spp. thường ký sinh ở cơ hay nội tạng của các loài chuột, cừu, thỏ, bò, heo... Loài sán này chỉ hoàn thành vòng đời trên chó khi ăn phải thịt/nội tạng sống chứa ấu trùng *Cysticercus tenuicollis* (Nguyễn Hữu Hưng, 2010).

3.3. Đặc điểm hình thái của loài sán dây gây nhiễm phổ biến nhất trên chó có khả năng lây sang người - *Dipylidium caninum*

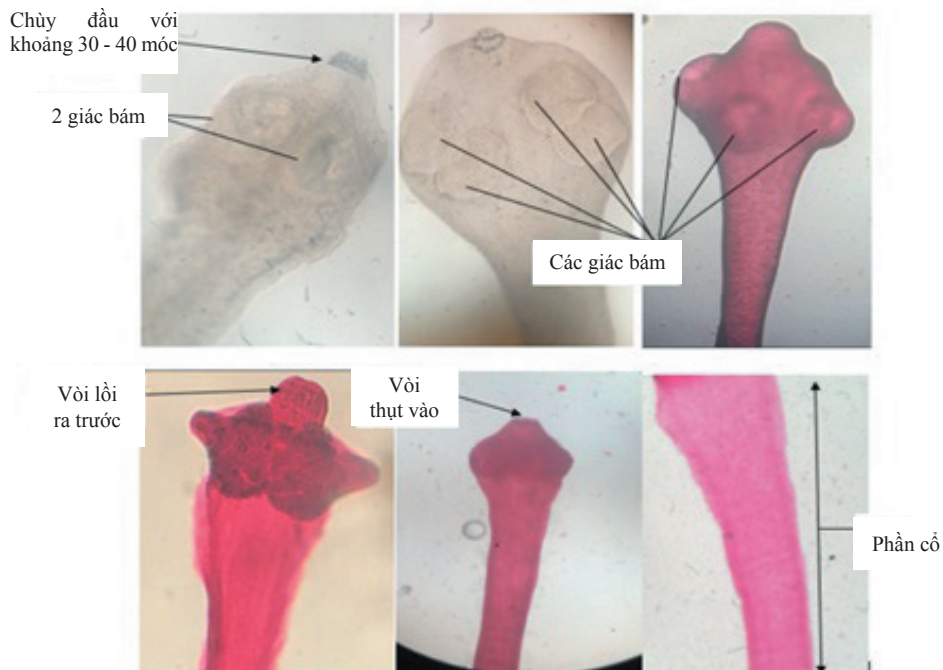
Sán có chiều dài trung bình là $61,53 \pm 8,98$ cm, chiều rộng của các đốt trưởng thành khoảng 2-3mm, kết quả phù hợp với Raúl Romero Cabello et al., (2014). Đầu sán có chiều dài 0,36 mm, rộng 0,09 mm với cổ sán dài 0,40

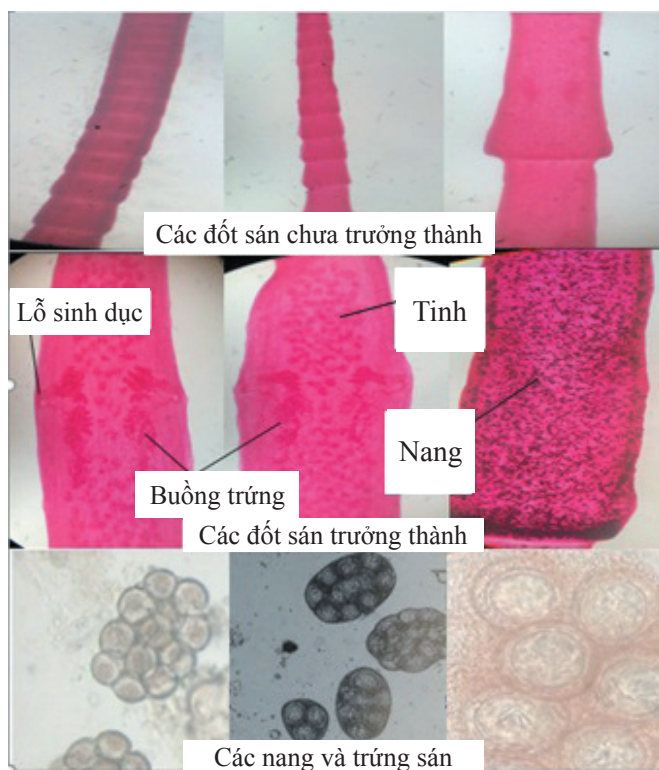
Bảng 3. Một số đặc điểm hình thái *Dipylidium caninum*

Bộ phận sán	Kích thước $\bar{X} \pm SD$	Đặc điểm nhận dạng
Chiều dài sán (cm)	61,53±8,98	Sán trưởng thành có màu trắng sữa hoặc hồng nhạt, có đốt hình elíp hoặc đốt dài.
Đầu sán (mm)	0,36±0,09	Đầu hình thoi, có chùy đầu với 3 hàng móc, có khả năng thụt vào hay thò ra, có bốn giác bám bên hình elíp, khoảng 30 - 40 móc.
Cổ sán (mm)	0,40±0,08	Phần cổ nổi giữa đầu và các đốt chưa trưởng thành, vừa ngắn vừa thanh mảnh.
Đốt trưởng thành (mm)	14,02±3,02	Chứa 2 cơ quan sinh dục đực và sinh dục cái, hai lỗ sinh dục định vị bờ bên của đốt sán 2-3mm.
Đốt có chứa (mm)	11,54±0,79	Đốt có chứa chứa đầy túi trứng sán dây, có hình hạt dưa, chiều ngang 1,5-2 mm.
Đường kính trứng (μm)	31,86±2,40	Trứng có hình cầu, thường chụm lại thành từng đám và chứa 3 đôi móc rất sắc trong bọc.
Số lượng trứng trong túi	27,99±3,53	Được chứa trong nang trứng của đốt chứa, trứng được dính với nhau như chùm nho trong nang trứng.

mm. Về hình thái, đốt trưởng thành có chứa cả cơ quan sinh dục đực và cơ quan sinh dục cái với kích thước của đốt 14,02±3,02 mm. Đốt có chứa có chiều dài trung bình 11,54±0,79 mm và đường kính trung bình của trứng là 31,86±2,40μm, trứng hình cầu chứa 3 đôi móc trong bọc. Số lượng trứng trong nang trứng trung bình là 27,99±3,53. Trứng sán *D. caninum* thường dính theo từng chùm và nằm trong đốt sán, đốt sán được phóng thích theo phân khi gia súc thải phân. Thường ấu trùng của bộ chết ăn phải

trứng sán dây có lẫn trong đất, trong phân hoặc dính ở lông chó... , trứng sán sẽ phát triển thành ấu trùng, thời gian phát triển trong cơ thể vật chủ trung gian khoảng 2 tuần. Ở người, khi nuốt phải kén sán sẽ bị nhiễm và chúng phát triển thành sán trưởng thành. Thời gian từ khi nhiễm đến khi sán trưởng thành khoảng 20 ngày. Kết quả nghiên cứu này phù hợp với mô tả của Bowmann (2003), Nguyễn Hữu Hưng (2010).

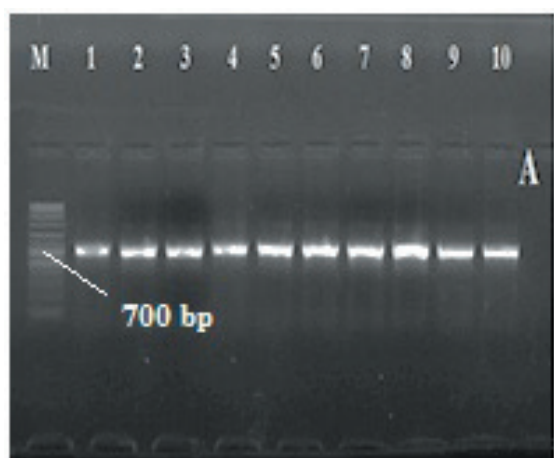
**Hình 1. Đặc điểm hình thái phần đầu của loài sán dây *D. caninum***



Hình 2. Đặc điểm hình thái các đốt sán (proglottids) và trứng sán dây *D. caninum*

3.4. Kết quả định danh sán dây trên chó bằng phương pháp sinh học phân tử

3.4.1. Kết quả phân tích PCR để định danh loài sán dây ký sinh trên chó



Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm PCR

M: thang chuẩn 100bp. Giếng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 chứa sản phẩm PCR

Qua ly trích DNA của các mẫu sán dây, chúng tôi thực hiện khuếch đại đoạn gen 28S rDNA bằng cặp mồi đặc hiệu được thiết kế chuyên biệt cho loài sán dây *D. caninum*. Một đoạn nucleotide gồm 5 bp được gắn vào đoạn mồi ngược DC28S-1R: 5'-CACATTCAACGCCCGACTCCTGTAG-3' ; (đoạn nucleotide gắn thêm vào được gạch dưới) càng tăng tính chuyên biệt cho loài này, giúp phát hiện chỉ duy nhất loài *D. caninum* (Beugnet, 2014). Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% và soi dưới ánh sáng tử ngoại. Kết quả thu được cho thấy 10/10 mẫu đều cho duy nhất 1 sản phẩm PCR với kích thước băng đặc hiệu khoảng 700bp và không có sản phẩm phụ. Điều này cho thấy phản ứng đã nhận được đoạn gen đặc hiệu của loài *D. caninum*.

3.4.2. Kết quả nghiên cứu về trình tự nucleotide đoạn gen 28S rDNA của *D. caninum*

Các mẫu sán dây được thu thập trên chó và cho kết quả dương tính bằng phản ứng PCR được tinh sạch và gửi giải trình tự. Kết quả cho thấy chuỗi nucleotide có độ dài 621 bp và BLAST trình tự nucleotide trong thí nghiệm thu được so sánh với các chuỗi nucleotide đã được công bố trên Genbank.

Kết quả thu được đoạn nucleotide trong nghiên cứu có mức độ tương đồng 95% so với các trình tự DNA của loài *D. caninum* chủng phân lập ở Pháp (MG575742.1) và ở Mỹ (MG575740.1). Kết quả trên một lần nữa khẳng định loài sán dây trong nghiên cứu này là loài *D. caninum* - loài sán dây phổ biến gây bệnh trên chó. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu của Lê Hữu Khương (2004) và Nguyễn Quốc Vinh (2010).

IV. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm các loài sán dây trên chó tại các tỉnh ĐBSCL khá cao, tới 26,30%.

Có 5 loài sán dây được tìm thấy thuộc hai bộ *Pseudophyllidea* và *Cyclophyllidea*, trong đó *Dipylidium caninum* là loài chủ yếu gây tác hại trên chó, có tỷ lệ nhiễm cao nhất trong các loài sán dây nhiễm trên chó tại các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long.

Loài sán dây *D. caninum* đã được định danh chính xác bằng phương pháp sinh học phân tử.

D. caninum đã được nghiên cứu, mô tả chi tiết hình thái, cấu tạo đốt đầu, cổ, đốt trưởng thành, đốt có chứa và trứng để có thể nhận diện một cách chính xác loài sán dây này bằng phương pháp hình thái học.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Agnieszka Tylkowska, Bogumila Pilarczyk, Aneta Gregorczyk, Ewelina Templin, 2010. Gastrointestinal helminths of dogs in Western Pomerania, Poland. *Wiadomoœci Parazytologiczne* 2010, 56(3), 269–276.
2. Beugnet, F., et al., 2014. Occurrence of *Dipylidium caninum* in fleas from client-owned cats and dogs in Europe using a new PCR detection assay. *Veterinary Parasitology*, Science Direct journal, VETPAR-7286, No. of Page 7, Germany.
3. Bowman D. D., Lynn R. C., Eberhard M. L., 2003. *Georgis' Parasitology for Veterinarians*, Elsevier Science, USA.
4. Blair, Agatsuma, 1997. Geographical genetic structure within the human lung fluke, *Paragonimus westermani*, detected from DNA sequences. *Parasitology journal*. Cambridge University Press publishing. No. 04. Page 411-417.
5. Huỳnh Hồng Quang, 2008. Bệnh ký sinh trùng gây nên do sán nhái ở người có liên quan đến thói quen ăn uống. Viện sốt rét – Ký sinh trùng – Côn trùng Quy Nhơn. Truy cập từ <http://www.impe-qn.org.vn/impe-n/vn/portal/InfoDetail.jsp?area=58&cat=1068&ID=2253>.
6. Jahangir Abdi, Khairolah Asadolahi, Mohammad Hosein Maleki, Asghar Ashrafi Hafez, 2013. Prevalence of Helminthes Infection of Stray Dogs in Ilam Province. *Journal of Paramedical Sciences (JPS)*. Spring 2013 Vol.4, No.2, ISSN 2008-4978.
7. Lê Văn Thọ, 2010. *Cách chăm sóc chó cưng*. Tp Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Nông Nghiệp.
8. Lê Hữu Khương, 2005. Giun sán ký sinh trên chó ở một số tỉnh miền nam Việt Nam. Luận án tiến sĩ thú y. Đại học Nông Lâm TPHCM. Việt Nam.
9. Michael Thrusfield, 2007. *Veterinary epidemiology*. (3rd ed.). Veterinary Clinical Studies, University of Edinburgh. Third Edition by Blackwell Science Ltd, Oxford OX4 2DQ, UK.
10. Nguyễn Hữu Hưng, 2010. Giáo trình Bệnh ký sinh trùng gia súc gia cầm. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ. Thành phố Cần Thơ.
11. Nguyen Phi Bang and Tran Phu Cuong, 2015. A potential risk from dog helminths for human health and some update information. *Journal of science, An Giang University. Journal of Science – 2015*, ISSN: 0866-8086. Vol. 3 (3), 76 – 90.
12. Nguyễn Quốc Vinh, 2010. Tình hình nhiễm sán dây ký sinh ở chó và hiệu quả tẩy trừ của một số chế phẩm thuốc tại Thành phố Cần Thơ. Luận văn thạc sĩ. Trường Đại học Cần Thơ.
13. Nguyễn Văn Đề, 2006. Bước đầu áp dụng Sinh học phân tử để xác định thành phần loài và sự phân bố sán lá, sán dây thường gặp ở Việt Nam. Đề tài cấp Bộ. Bộ Y Tế.
14. Paul, E. and Serpell, J., 1996. Obtaining a new pet dog: Effects on middle childhood children and their families. *Applied Animal Behaviour Science*, 47: 17-29.
15. Phạm Ngọc Thạch, 2010. Cẩm nang nuôi chó. NXB Nông Nghiệp. Hà Nội. trang 1-3.
16. Soulsby, E.J.L., 1982. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th edition, Bailliere Tindall, London.
17. [Http://www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)

Ngày nhận 5-1-2018

Ngày phản biện 30-1-2018

Ngày đăng 1-6-2018