

ĐA DẠNG GEN 18S rRNA CỦA TRÙNG LÔNG *BALANTIDIUM COLI* GÂY TIÊU CHẢY TRÊN HEO SAU CAI SỮA Ở MỘT SỐ TỈNH PHÍA NAM

Đỗ Tiến Duy¹, Nguyễn Lê Đình Phương^{1,2}, Lê Võ Trường Duy^{1,2},
Nguyễn Phạm Huỳnh, Nguyễn Tất Toàn

TÓM TẮT

Mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định sự đa dạng kiểu gen 18S rRNA của trùng lông *Balantidium coli* gây tiêu chảy trên heo sau cai sữa ở các trại heo của một số tỉnh phía Nam. Hai mươi chủng *B. coli* được phân lập từ 20 con heo sau cai sữa từ 30 đến 45 ngày tuổi có triệu chứng tiêu chảy đặc trưng. Giải trình tự gen của những chủng vi khuẩn này đã được phân tích và so sánh. Kết quả nghiên cứu cho thấy mức tương đồng chuỗi nucleotide của các chủng *B. coli* trong nghiên cứu này là từ 97,4% đến 99,6%. Sự đột biến trên đoạn gen gồm các kiểu thay thế, mất đi hay chèn thêm một hay nhiều nucleotide so với các chủng tham chiếu (SP08 - Tây Ban Nha). Trên cây phát sinh loài, các chủng *B. coli* trong nghiên cứu này được chia thành 2 nhóm (nhóm A gồm các chủng nằm cùng nhánh với các trình tự từ Nhật Bản, Trung Quốc và nhóm B gồm các chủng nằm cùng nhánh với các trình tự từ Tây Ban Nha và Philippines). Đặc biệt, chủng *B. coli* thu thập ở tỉnh Đồng Nai và Bến Tre gồm các trình tự nằm ở cả hai nhóm trên cây phát sinh loài.

Từ khóa: *Balantidium coli*, đa dạng gen 18S rRNA, heo cai sữa, tiêu chảy

Diversification of 18S rRNA gene of *Balatidium coli* caused diarrhea in post-weaning piglets in some Southern provinces

Do Tien Duy, Nguyen Le Dinh Phuong, Le Vo Truong Duy,
Nguyen Pham Huynh, Nguyen Tat Toan

SUMMARY

The objective of this study aimed at determining the diversification of 18S rRNA gene of *Balantidium coli* caused diarrhea in the post-weaning piglets in the pig breeding farms of some southern provinces. There were 20 *B.coli* strains isolated from 20 post-weaning piglets at 30-45 days old having typical diarrhea. Gene sequences of these bacteria strains were analysed and compared. The studied result showed that similarity level of nucleotide sequences of the *B.coli* strains in this study was 97.4 – 99.6%. The mutation in the gene segment included the replace types, loss and inserting one or more than one nucleotides in comparison with the referent bacteria strains (SP08-Spain). The result of analyzing phylogenetic tree indicated that the *B.coli* strains in this study were divided into 2 groups (group A including the strains located in the same branch with the Chinese, Japanese strains and group B consisting of the strains located in the same branch with the Philippines and Spain strains). Especially, the *B.coli* strains collecting from Dong Nai and Ben Tre province located in both group A and B.

Keywords: *Balantidium coli*, diversification of gen 18S rRNA, weaning piglets, diarrhea.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trùng lông *Balantidium coli* (*B. coli*) là ký sinh trùng đơn bào lớn nhất sống ký sinh trong niêm mạc ruột già của nhiều loài động vật, thuộc giống *Balantidium*, họ *Balantidiidae* (Schuster

và Ramirez, 2008). Trùng lông *B. coli* gây viêm ruột tiêu chảy cho vật chủ, trong đó có thể hiện diện và gây viêm loét chảy máu ở manh tràng, kết tràng và trực tràng của người và loài linh trưởng (Schuster và Ramirez, 2008; Roy và ctv, 2011). Ở người mắc tình trạng suy giảm miễn

¹ Khoa Chăn nuôi Thú y – Đại học Nông Lâm Tp. HCM

² Sinh viên chương trình thú y tiên tiến

dịch, mầm bệnh có thể xâm lấn sâu vào niêm mạc ruột, mạch bạch huyết hay di hành đến các cơ quan nội tạng khác (ruột non, âm đạo, tử cung, bàng quang, gan và phổi) gây ra các biến chứng nặng (Baskerville và ctv., 1970; Knight, 1978; Wegner, 1967; Dorfman và ctv., 1984; Ladas và ctv., 1989; Sharma và Harding, 2003; Cho và ctv., 2006).

Heo được xem như là nguồn chứa mầm bệnh quan trọng, phổ biến trong vòng truyền lây sang người ở những vùng khí hậu nhiệt đới và cận nhiệt đới (Schuster và Ramirez, 2008), tuy nhiên khả năng gây bệnh trên heo của *B. coli* có rất ít tài liệu mô tả, thậm chí chúng được xem như không phải là mầm bệnh trên heo hay gây bệnh khá nhẹ và không gây thành ổ dịch lớn, thường ở thể cận lâm sàng hay có thể gây tiêu chảy kéo dài làm giảm tăng trọng và năng suất chăn nuôi heo (Hoshinon và ctv., 1999; Schuster và Ramirez, 2008; Thomson và Friendship, 2012). Sự trầm trọng của bệnh có thể do cường độ gây nhiễm và chủng mầm bệnh gây ra (Schuster và Ramirez, 2008). Tỷ lệ nhiễm *B. coli* trên heo khá biến động, được ghi nhận qua nhiều khảo sát thực địa khác nhau ở các quốc gia như Hàn Quốc (Ismail và ctv., 2010), Đan Mạch (Hindsbo và ctv., 2000), Trung Quốc (Weng và ctv., 2005; Lai et al., 2011), Ấn Độ (Bauri và ctv., 2012) và Ghana. Khả năng gây bệnh thực sự của *B. coli* ít được các tác giả nhắc đến, mà kết quả chỉ mô tả ở dạng tỷ lệ lưu hành trên các đàn heo; riêng Bauri và ctv (2012) có đề cập đến triệu chứng lâm sàng và sự giảm tăng trọng nghiêm trọng trên heo thí nghiệm gây nhiễm *B. coli* không có điều trị. Ở Việt Nam, các nghiên cứu về dịch tễ, bệnh lý và xác định khả năng gây bệnh đã được thực hiện (Dương Tiểu Mai và ctv., 2015; Đỗ Tiến Duy và ctv., 2017), kết quả từ các nghiên cứu này cho thấy *B. coli* thực sự là một mầm bệnh đã và đang gây tiêu chảy trên heo sau cai sữa ở các mức độ khác nhau, từ nhẹ, trung bình đến nặng và rất nặng.

Tuy nhiên, nguyên nhân vì sao *B. coli* lại trở thành một mầm bệnh thực sự đang được các nhà chăn nuôi heo rất quan tâm hiện nay qua triệu chứng lâm sàng như tiêu chảy hàng loạt ở lứa tuổi sau cai sữa với phân màu xám đen (“phân xi măng”) theo mô tả ở các ổ dịch đã được chẩn đoán có sự hiện diện của mầm bệnh này (quan sát của tác giả và chia sẻ thông tin của kỹ thuật thú y ở nhiều trang trại) thì chưa được nghiên cứu xác minh. Sự đồng nhiễm với các mầm bệnh do virus gây suy giảm miễn dịch làm gia tăng sự thiệt hại do mầm bệnh là một vấn đề đáng quan tâm hiện nay (Schuster và Ramirez, 2008; Dương Tiểu Mai và ctv., 2015; Đỗ Tiến Duy và ctv., 2017). Ngoài ra, một trong những nguyên nhân có thể giải thích cho câu hỏi trên là đặc trưng và sự đa dạng gen của chủng mầm bệnh nhiễm trên đàn heo. Do đó, mục tiêu thực hiện nghiên cứu này là nhằm xác định đặc trưng kiểu gen và sự đa dạng kiểu gen của chủng *Balantidium coli* gây tiêu chảy trên heo sau cai sữa được thu thập từ các trại heo ở một số tỉnh phía Nam.

II. PHƯƠNG PHÁP VÀ VẬT LIỆU

2.1. Thu thập mẫu

Hai mươi chủng *B. coli* được phân lập từ 20 heo sau cai sữa từ 30 đến 45 ngày tuổi có triệu chứng tiêu chảy đặc trưng, heo bệnh được xác định nhiễm *B. coli* qua xét nghiệm soi tươi theo phương pháp thường quy. Heo bệnh từ các ổ dịch được thu thập trực tiếp ở trại hay từ các ca bệnh được gửi đến xét nghiệm tại Bệnh viện thú y - Trường Đại học Nông Lâm Tp. HCM. Nguồn gốc heo được thu thập đa dạng về địa lý, ở mỗi tỉnh thu thập ít nhất ở 2 trại và ở mỗi trại thu thập từ 1 đến 2 mẫu (bảng 1). Mẫu phân dương tính được phân lập *B. coli* theo phương pháp nuôi trong môi trường nhân tạo Pavlova “xenic medium” (Barbosa và ctv., 2015) để tăng số lượng. Sau đó, dịch nuôi cấy được thu thập để tách chiết DNA sử dụng để khuếch đại trình tự đích và giải trình tự gen.

Bảng 1. Nguồn gốc các chủng *B. coli* thu thập từ các trại heo trong nghiên cứu

TT	Nguồn gốc	Tên gốc <i>B. coli</i> thực địa	Mô tả lâm sàng
1	Tp. Hồ Chí Minh	HCM17-11_Trại A	Tiêu chảy phân xanh, còi cọc
		HCM17-29_Trại B	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		HCM17-31_Trại B	Tiêu chảy phân lỏng, xám
2	Đồng Nai	DN17-1_Trại C	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		DN17-2_Trại C	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		DN17-3_Trại D	Tiêu chảy phân vàng
		DN17-4_Trại D	Tiêu chảy phân lỏng, vàng
		DN17-21_Trại E	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		DN17-33_Trại F	Tiêu chảy phân lỏng, xám
3	Tiền Giang	DN17-34_Trại F	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		TG17-24_Trại G	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		TG17-32_Trại H	Tiêu chảy phân lỏng, xám
4	Bình Phước	TG17-38_Trại I	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		BP17-6_Trại K	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		BP17-8_Trại L	Tiêu chảy phân lỏng, xám
5	Bến Tre	BP17-9_Trại L	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		BT17-13_Trại M	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		BT17-15_Trại M	Tiêu chảy phân lỏng, xám
		BT17-41_Trại N	Tiêu chảy phân vàng
		BT17-51_Trại N	Tiêu chảy phân vàng

2.2. Xử lý/xét nghiệm mẫu và đánh giá kết quả

Phân lập

Mẫu phân tươi có hiện diện *B. coli* được phân lập trong môi trường lỏng Ringer's solution (chứa Na_2HPO_4 , KH_2PO_4 , NaCl và chiết xuất nấm) được bổ sung thêm 10% huyết thanh bê xử lý nhiệt (56°C , 30 phút) và 10% tinh bột tiết trùng (Barbosa và ctv., 2015). Phân tươi được pha loãng trong nước cất vô trùng và được lọc qua lưới lọc, sau đó dịch lọc được cấy vào môi trường lỏng nêu trên (đã chuẩn bị từ trước), ủ ở 37°C và cấy chuyển sau mỗi 24 giờ. Kiểm tra sự nhân lên của *B. coli* mỗi 24 giờ và thu hoạch khi *B. coli* đạt nồng độ cao nhất ở 24, 48 và 72 giờ.

Tách chiết DNA

DNA tổng số từ mẫu dịch nuôi cấy được tách chiết bằng Chelex (Walsh và ctv., 1991) và DNA chiết tách này được sử dụng cho phản ứng PCR thường quy (Nilles-Bijie và ctv., 2010). 150 μl dịch nuôi cấy được trộn với 300 μl 10% Chelex. Sau đó quy trình tách chiết được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Anh và ctv., 2017).

Khuếch đại sản phẩm PCR

Trình tự đoạn gen 18S rRNA được khuếch đại bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu (Nilles-Bijie và Rivera, 2010; trích dẫn bởi Liu và ctv., 2012) với trình tự mồi như sau: Euk A: 5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3' và Euk B: 5'-TGATCCTTCTGCAGGTTCTAC-CTAC-3', được thiết kế đặc hiệu cho đoạn gen 18S rRNA của *B. coli*, kích thước sản phẩm 1543bp.

Thành phần và quy trình nhiệt của phản ứng PCR tham khảo từ nghiên cứu trước (Nilles-Bijie và ctv., 2010; Anh và ctv., 2017). Sử dụng bộ kit thương mại Go Taq[®] Hot Star Polymera kit (Promega, Mỹ), thành phần phản ứng gồm: 3 μl sản phẩm DNA đã tách chiết, 12 μl mastemix Go Taq[®] Hot Star Polymera kit (Promega, Mỹ), 8,5 μl nước khử ion, 0,5 μl MgCl_2 với 0,5 μl mồi xuôi và 0,5 μl mồi ngược.

Quy trình nhiệt khuếch đại sản phẩm PCR bao gồm 3 giai đoạn, gồm giai đoạn 1: 94°C trong 130 giây; giai đoạn 2: 94°C trong 30 giây, 50°C trong 45 giây, 72°C trong 130 giây (lặp lại

35 chu kỳ) và giai đoạn 3: 72°C trong 7 phút; sau đó sản phẩm được giữ ở 4°C. Tiếp theo, sản phẩm PCR được điện di trên agarose gel 1,5% ở 70V trong 45 phút cùng với thang chuẩn (ladder 100bp) để xác định sản phẩm đặc trưng, sau đó thu sản phẩm bằng cách cắt chính xác vị trí sản phẩm chuẩn bị cho giải trình tự.

Giải trình tự và phân tích

Sản phẩm PCR đặc trưng của các chủng *B. coli* được làm tinh sạch (DNA Purify Kit,

Quiagen, USA) và được gửi đến phòng thí nghiệm giải trình tự có uy tín (Macrogen, Hàn Quốc) theo hướng dẫn kit thương mại BigDye® Terminator v3.1 cycle sequencing; cả hai chuỗi xuôi và ngược đều được giải trình tự để so sánh và phân tích. Phân tích và so sánh trình tự thu được với các trình tự từ các nước khác trên thế giới sẵn có trên GenBank, vẽ cây phát sinh loài bằng phần mềm MEGA 6; với giá trị bootstrap 1000 theo phương pháp NJ.

Bảng 2. Các chủng *B. coli* tham khảo từ GenBank (NCBI)

Stt	Tên chủng* Mã số truy cập	Nguồn gốc/ Loài	Quốc gia	Năm phân lập	Nguồn
1	C1/KJ713382	Heo nhà	Trung Quốc	2011	NCBI, Liu và ctv, 2014
2	C2/KJ713383	Heo nhà	Trung Quốc	2011	NCBI, Liu và ctv, 2014
3	PHIL10/GQ903678	Heo nhà	Philippines	2011	NCBI, Nilles-Bije và Rivera, 2010
4	SP08/AM982722	Lợn rừng	Tây Ban Nha	2008	NCBI, Ponce Gordo và ctv, 2008
5	BC09/JQ073304	Heo nhà	Cộng hòa Czech	2011	NCBI, Pomajbikova và ctv, 2013
6	BC75/JQ073319	Heo nhà	Cộng hòa Czech	2011	NCBI, Pomajbikova và ctv, 2013
7	BC85/JQ073357	Heo nhà	Cộng hòa Czech	2011	NCBI, Pomajbikova và ctv, 2013
8	BC88/JQ073360	Heo nhà	Cộng hòa Czech	2011	NCBI, Pomajbikova và ctv, 2013
9	BC91/JQ073324	Heo nhà	Cộng hòa Czech	2011	NCBI, Pomajbikova và ctv, 2013
10	BC139/JQ073333	Heo nhà	Cộng hòa Czech	2011	NCBI, Pomajbikova và ctv, 2013
11	BC145/JQ073334	Heo nhà	Cộng hòa Czech	2011	NCBI, Pomajbikova và ctv, 2013
12	BC147/JQ073335	Heo nhà	Cộng hòa Czech	2011	NCBI, Pomajbikova và ctv, 2013
13	JAP13/AB794980	Heo nhà	Nhật Bản	2011	NCBI
14	ITA08/EU581716	Không rõ	Italia	2008	NCBI
15	BC34706/EU680309	Khỉ	Úc	2008	NCBI

**Balantidium coli* được sử dụng tên gọi khác là *Neobalantidium coli* ở một số tác giả tham khảo

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Sự tương đồng gen 18S rRNA giữa các chủng *B. coli*

Qua phân tích 20 chủng *B. coli* được phân lập và giải trình tự, kết quả cho thấy sự tương đồng chuỗi nucleotide giữa các chủng *B. coli* trong nghiên cứu này từ 97,4% đến 99,6% (bảng 3). Sự tương đồng giữa chủng nghiên cứu với các chủng tham chiếu lần lượt là 98,3% - 99,5% (98,8%) so với chủng SP08 của Tây Ban Nha;

98,4% - 99,6% (98,9%) so với chủng PHIL10 của Philippines; 98,3% - 99,6% (98,8%) so với chủng C1 của Trung Quốc; 97,3% - 98,8% (97,9%) so với chủng C2 của Trung Quốc; 98,4% - 99,7% (99,1%) so với chủng JAP13 của Nhật Bản; 98,4% - 99,6% (98,9%) so với chủng BC34706 của Úc; 94,7% - 96,0% (95,5%) so với chủng ITA08 của Ý; 98,3% - 99,8% (98,9%) so với chủng BC9 của Czech; và 98,4% - 99,6% (98,9%) so với chủng BC75 của Czech (bảng 3 và 4).

Bảng 3. So sánh mức độ tương đồng (%) giữa chủng *B. coli* tham khảo và nghiên cứu

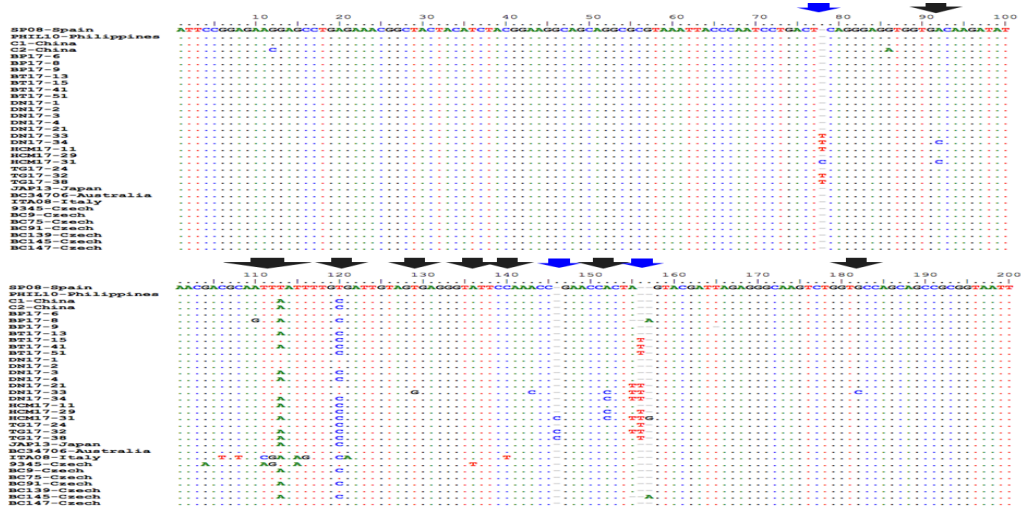
TT	Chủng <i>B. coli</i> tham khảo	Tỷ lệ tương đồng với chủng nghiên cứu (%)	
		Nucleic acid	Amino acid
1	SP08-Spain	98,3 - 99,5 (98,8)	96,4 - 99,2 (98,2)
2	PHIL10-Philippines	98,4 - 99,6 (98,9)	96,4 - 99,2 (98,2)
3	C1-China	98,3 - 99,6 (98,8)	96,4 - 99,2 (98,2)
4	C2-China	97,3 - 98,8 (97,9)	94,6 - 98,2 (96,4)
5	JAP13-Japan	98,4 - 99,7 (99,1)	96,4 - 99,2 (98,2)
6	BC34706-Australia	98,4 - 99,6 (98,9)	96,4 - 99,2 (98,2)
7	ITA08-Italy	94,7 - 96,0 (95,5)	90,0 - 92,8 (91,7)
8	BC9-Czech	98,3 - 99,8 (98,9)	96,0 - 99,6 (97,8)
9	BC75-Czech	98,4 - 99,6 (98,9)	96,0 - 99,6 (97,8)

Tương tự, sự tương đồng chuỗi amino acid giữa các chủng *B. coli* trong nghiên cứu này, từ 94,6% đến 99,6% (97,8%). Sự tương đồng so sánh giữa chủng nghiên cứu với các chủng tham chiếu lần lượt là 96,4% - 99,2% (98,2%) so với chủng SP08 của Tây Ban Nha ; 96,4% - 99,2% (98,2%) so với chủng PHIL10 của Philippines; 96,4% - 99,2% (98,2%) so với chủng C1 của Trung Quốc ; 94,6% - 98,2% (96,4%) so với chủng C2 của Trung Quốc; 96,4% - 99,2% (98,2%) so với chủng JAP13 của Nhật Bản; 96,4% - 99,2% (98,2%) so với chủng BC34706 của Úc ; 90,0% - 92,8% (91,7%) so với chủng ITA08 của Ý; 96,0% - 99,6% (97,8%) so với

chủng BC9 và BC75 của Czech.

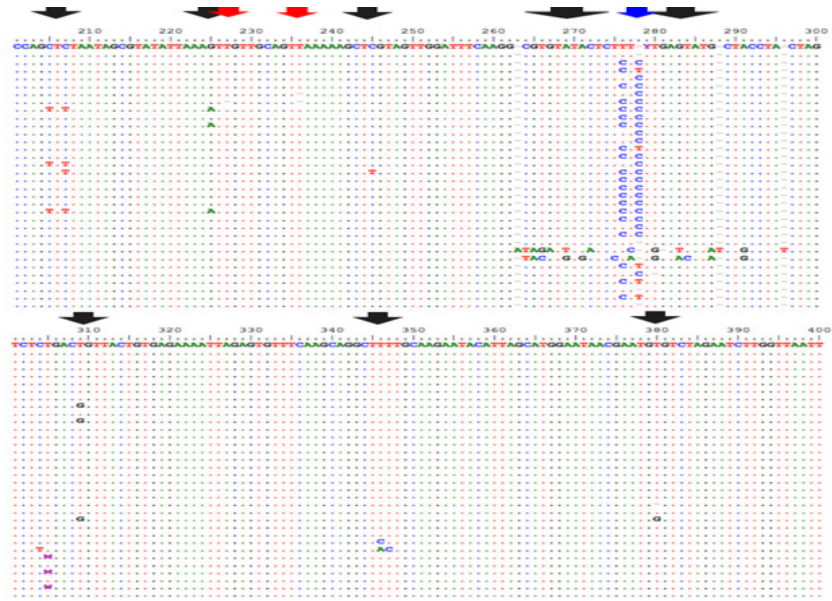
3.2. Đặc trưng đa dạng gen giữa các chủng *B. coli*

Kết quả sánh dòng cho thấy có sự khác biệt về kiểu gen giữa các chủng *B. coli* trong nghiên cứu và so với chủng tham khảo. Sự khác biệt (đột biến) trên đoạn gen nghiên cứu theo các kiểu thay thế (mũi tên đen), mất đi (mũi tên đỏ) hay chèn thêm (mũi tên xanh) một hoặc nhiều hơn một nucleotide (sơ đồ 1) so với các chủng tham chiếu (SP08-Spain) và các chủng tham khảo khác.



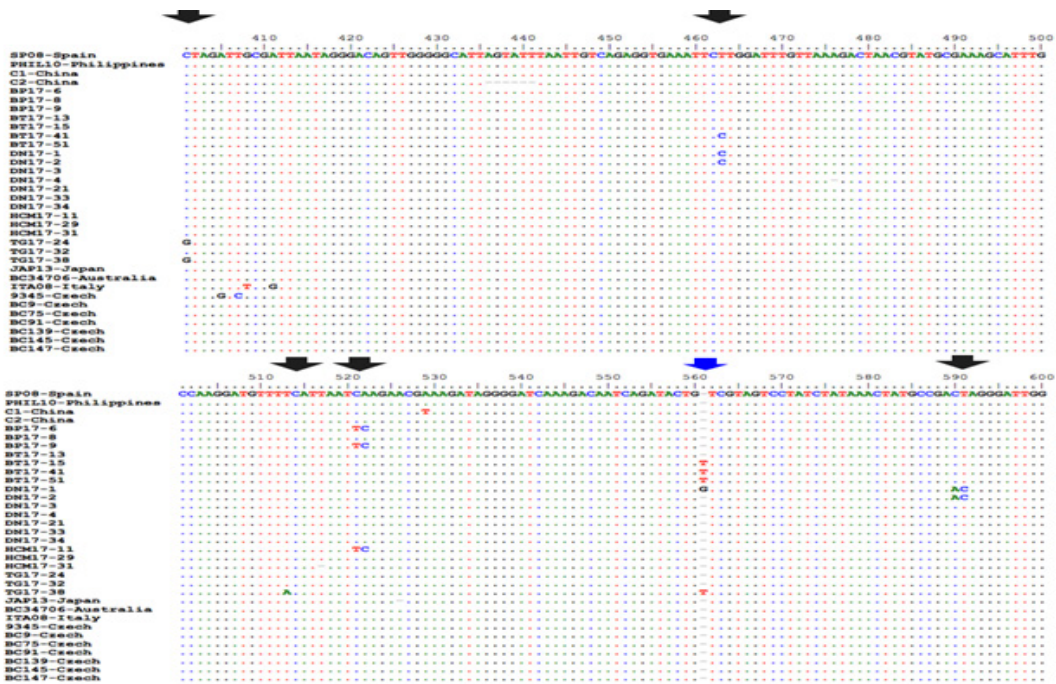
Sơ đồ 1. Sánh dòng giữa chủng *B. coli* tham khảo và chủng nghiên cứu (xây dựng bằng phần mềm Bioedit V7.2.5; với giá trị bootstrap 1000).

Mũi tên đen, thay thế một nucleotide; mũi tên đỏ, mất đi một nucleotide và mũi tên xanh, chèn thêm một nucleotide.



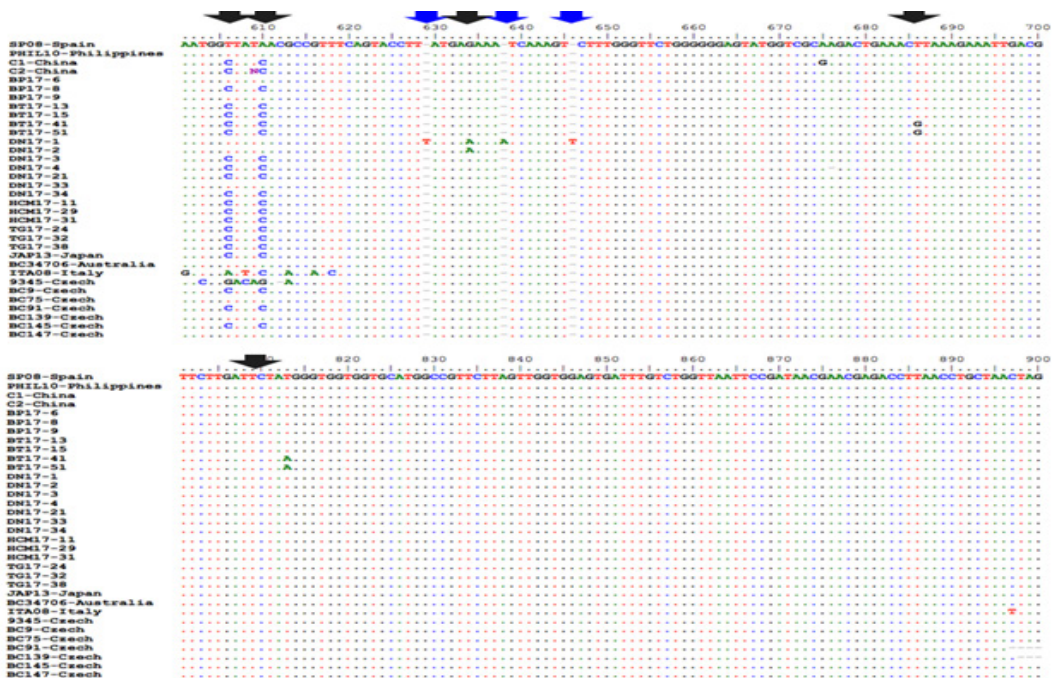
Sơ đồ 1 (tt). Sánh dòng giữa chủng *B. coli* tham khảo và chủng nghiên cứu (xây dựng bằng phần mềm Bioedit V7.2.5; với giá trị bootstrap 1000).

Mũi tên đen, thay thế một nucleotide; mũi tên đỏ, mất đi một nucleotide và mũi tên xanh, chèn thêm một nucleotide.



Sơ đồ 1 (tt). Sánh dòng giữa chủng *B. coli* tham khảo và chủng nghiên cứu (xây dựng bằng phần mềm Bioedit V7.2.5; với giá trị bootstrap 1000).

Mũi tên đen, thay thế một nucleotide; mũi tên đỏ, mất đi một nucleotide và mũi tên xanh, chèn thêm một nucleotide.



Sơ đồ 1 (tt). So sánh dòng giữa chủng *B. coli* tham khảo và chủng nghiên cứu (xây dựng bằng phần mềm Bioedit V7.2.5; với giá trị bootstrap 1000).

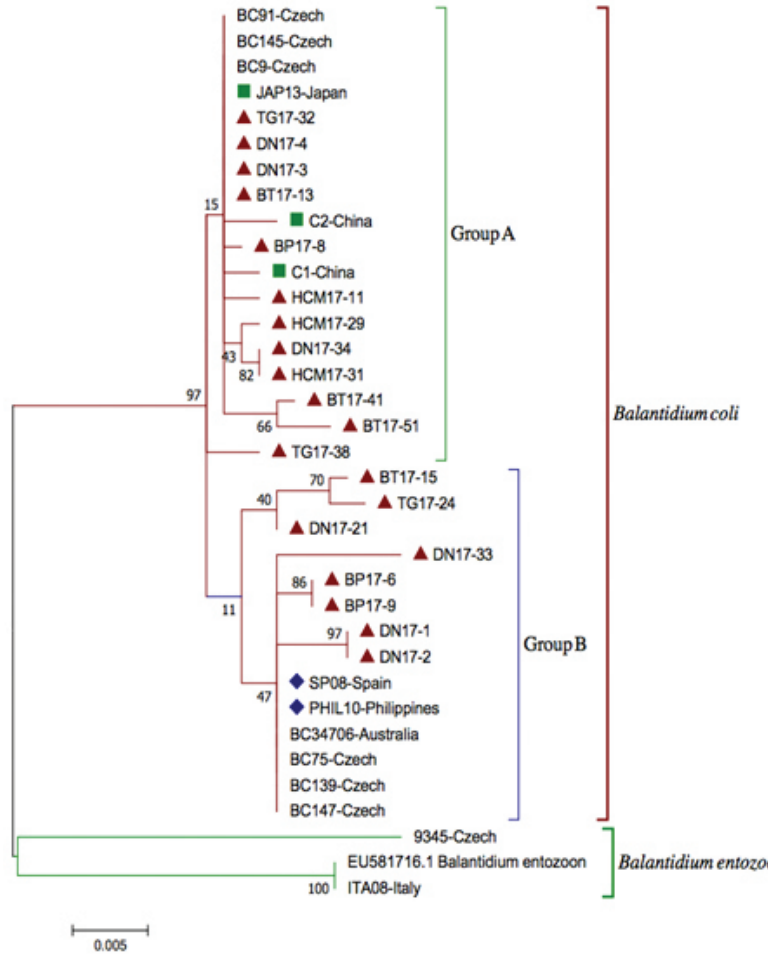
Mũi tên đen, thay thế một nucleotide; mũi tên đỏ, mất đi một nucleotide và mũi tên xanh, chèn thêm một nucleotide.

3.3. Mối quan hệ tiến hóa phân tử giữa các chủng *B. coli* trên cây phát sinh loài

Các chủng *B. coli* trong nghiên cứu này được chia thành 2 nhóm (nhóm A [groupA] nằm cùng chủng tham khảo JAP13 của Nhật Bản [Japan], C1, C2 của Trung Quốc [China] và nhóm B [group B] nằm cùng chủng tham khảo SP08 của Tây Ban Nha [Spain], PHIL10 của Philippines) (hình 1). Đặc biệt, chủng *B. coli* thu thập ở Đồng Nai và Bến Tre có sự đa dạng cao, gồm các trình tự thuộc cả hai nhóm (ở Đồng Nai, nhóm A: DN17-32, DN17-3, DN17-4, DN17-13 và DN17-34 và nhóm B: DN17-21, DN17-33, DN17-1 và DN17-2; và ở Bến Tre, nhóm A: BT17-13, BT17-41 và BT17-51 và nhóm B: BT17-15). Hơn thế nữa, 2 mẫu ở cùng một trại (trại M) thuộc tỉnh Bến Tre (BT17-13 và BT17-15) thuộc 2 nhánh khác nhau; tương tự 2 mẫu ở cùng trại F ở Đồng Nai (DN17-33 và DN17-34) cũng thuộc 2 nhánh khác nhau.

B. coli không được xem là mầm bệnh hay gây bệnh nhẹ trên heo mặc dù nhiều bằng chứng cho thấy chúng là mầm bệnh gây bệnh tiêu chảy nặng trên người (Schuster và Ramirez, 2008), và có thể xâm nhiễm đến các cơ quan khác (Nilles-Bije và Rivera, 2010). Chính vì vậy, không có nhiều nghiên cứu về đa dạng di truyền và khả năng, cơ chế gây bệnh của *B. coli* trên heo. Tuy nhiên, một số ít nghiên cứu phân đoạn gen 16S rRNA và 18S rRNA cho thấy *B. coli* trên heo có sự đa dạng gen giữa các quốc gia và các loài động vật (Schuster và Ramirez, 2008; Ponce-Gorbo và ctv., 2008).

Ở nước ta, một số nghiên cứu đã xác định *B. coli* thực sự là một mầm bệnh đã và đang gây tiêu chảy trên heo sau cai sữa ở các mức độ khác nhau, từ nhẹ, trung bình đến nặng và rất nặng (Dương Tiểu Mai và ctv., 2014; Đỗ Tiến Duy và ctv., 2017). Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào xác định kiểu gen của *B. coli*. Đây là nghiên cứu đầu tiên về đặc trưng kiểu gen và sự đa dạng gen



Hình 1. Mối quan hệ tiến hóa phân tử giữa các chủng *B. coli* (xây dựng bằng phương pháp NJ trên phần mềm Mega 6; với giá trị bootstrap 1000).

Các chủng tham chiếu từ các nước (■, ◆) và các chủng nghiên cứu (▲) được đánh dấu trên cây phát sinh loài.

18S rRNA của *B. coli* trên heo sau cai sữa mắc tiêu chảy được thu thập từ các trại heo ở nhiều tỉnh/thành phía Nam Việt Nam.

Kết quả nghiên cứu này cho thấy *B. coli* ở các trại heo chia thành 2 nhóm chính, nhóm A gần với các chủng tham khảo ở Trung Quốc, Nhật Bản và Cộng hòa Czech và nhóm B gần với các chủng tham khảo của Tây Ban Nha, Philippines, Úc và Cộng hòa Czech. Như vậy, có thể thấy các chủng *B. coli* ở nước ta có nguồn gốc phức tạp và đa dạng. Sự đa dạng gen này có thể liên quan đến việc nhập heo giống và mua bán giao thương heo với các quốc gia khác. Để

khẳng định điều này, cần có nghiên cứu sâu hơn và xác định nguồn gốc của heo.

IV. KẾT LUẬN

Kết quả xác định đặc trưng kiểu gen và sự đa dạng gen của các chủng *Balantidium coli* gây tiêu chảy trên heo sau cai sữa được thu thập từ các trại heo ở các tỉnh miền Nam cho thấy phân đoạn gen 18S rRNA có 3 kiểu đột biến và có sự đa dạng gen giữa các chủng từ các trại, thậm chí ngay trong cùng một trại và được chia thành 2 nhánh trên cây phát sinh loài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anh NHL., Huong, NND., Toan, NT., and Duy, DT., 2017. Optimizing the PCR protocol to detect *Balantidium coli* infected in pigs. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 3(2017): 20-28.
2. Barbosa, AS., Bastos, OMP., Uchoa, CMA., Pissinatti, A., Filho, PRF., Dib, LV., Azevedo, EP., Siqueira, MLC., Amendoeira, MRR., 2015. Isolation and maintenance of *Balantidium coli* cultured from fecal samples of pigs non-human primates. *Veterinary Parasitology*. 210: 240-245.
3. Baskerville, L., Y. Ahmed, and S. Ramchand. 1970. *Balantidium colitis*. Report of a case. *Am. J. Dig. Dis.* 15:727-731.
4. Bauri, RK., Ranjan, R., Deb, AR., Ranjan, R., 2012. Prevalence and sustainable control of *Balantidium coli* infection in pigs of Ranchi, Jharkhand, India. *Veterinary World*. 5(2): 94-99.
5. Cho, HS., Shin, SS., Park, NY., 2006. Balantidiasis in the gastric lymph nodes of Barbary sheep (*Ammotragus lervia*): an incidental finding. *Journal of Veterinary Science*. 2: 207-209.
6. Đỗ Tiến Duy, Nguyễn Phạm Huỳnh, Lương Thị Hoàng Anh, Nguyễn Thị Hồng Hạnh và Nguyễn Tất Toàn, 2017. Đánh giá khả năng gây bệnh của *Balantidium coli* trên heo sau cai sữa thu thập từ thực địa. *Tạp chí KHKT Thú y*, số 7, 2017. In press.
7. Dorfman, S., Rangel, O., Bravo, LG., 1984. Balantidiasis: report of a fatal case with appendicular and pulmonary involvement. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 78(6): 833-834.
8. Dương Tiểu Mai, Đỗ Tiến Duy và Nguyễn Tất Toàn, 2015. Khảo sát tỷ lệ, cường độ nhiễm và biến đổi mô học ruột do *Balantidium coli* trên heo cai sữa tại một số trại ở các tỉnh phía Nam. *Tạp chí KHKT Thú y*. 1(2015): 1-9.
9. Hindsbo, O., Nielsen, CV., Andreassen, J., Willingham, AL., Bendixen, M., Nielsen MA., Nielsen, O., 2000. Age - dependent occurrence of the intestinal ciliate *Balantidium coli* in pigs at a Danish research farm. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 41(1): 79-83.
10. Hoshinon, M., Gen, S., Yuichi, T., 1999. Influence of *Balantidium coli* infection on swine colitis. *Journal of Veterinary Medicine*. 933: 287-291.
11. Ismail, Haha., Hyung Kyu Jeon, Yong Man Yu, Changhee Do and Young Ha Lee, 2010. Intestinal parasite infections in pigs and beef cattle in rural areas of Chungcheongnam-do, Korea. *Korean J Parasitol*. 48(4): 347 – 349.
12. Knight R. Giardiasis, isosporiasis and balantidiasis. *Clin Gastroenterol*. 7(1978): 31-47.
13. Ladas, S.D. et al., 1989. Invasive balantidiasis presented as chronic colitis and lung involvement. *Digestive Diseases Science*. 34: 1621.
14. Lai, M., Zhou, RQ., Huang, HC., Hu, SJ., 2011. Prevalence and risk factors associated with intestinal parasites in pigs in Chongqing, China. *Research in Veterinary Science*. 91: e121-e124.
15. Nilles-Bije, Ma., Lourdes, and Windell, LR., 2010. Ultrastructural and Molecular Characterization of *Balantidium Coli* Isolated in the Philippines. *Parasitology Research*. 106 (2): 387-94.
16. Roy, BC., Mondal, MMH., Talukder, MH and Majumder, S., 2011. Prevalence of *Balantidium coli* in Buffaloes at different areas of Mymensingh. *J. Bangladesh Agril. Univ*. 9(1): 67 – 72.
17. Schuster, FL., Ramirez, AL., 2008. Current world status of *Balantidium coli*. *Clinical Microbiology Reviews*. 21(4): 626-638.
18. Sharma, S., Harding, G., 2003. Necrotizing lung infection caused by the protozoan *Balantidium coli*. *Canadian Journal of Infectious Diseases*. 14(3): 163-166.
19. Thomson, JR., and Friendship RM., 2012. Digestive System. Textbook of Disease of Swine. 10th edition. Blackwell Publishing.
20. Walsh, PS., Metzger, DA., Higuchi, R., 1991. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *BioTechniques*. (10): 506-513.
21. Wegner F., 1967. Abscesso hepatico producido por el *Balantidium coli*. *Casemera*. 2(1967): 433-441.
22. Weng, YB., Hu, YJ., Li, Yi., Li, BS., Lin, RQ., Xie, DH., Gasser, RB., Zhu, XQ., 2005. Survey of intestinal parasites in pigs from intensive farms in Guangdong province, People's Republic of China. *Veterinary Parasitology*. 127 (2005): 333-336.

Ngày nhận 7-2-2018

Ngày phản biện 23-5-2018

Ngày đăng 1-9-2018