

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ ĐẶC TÍNH SINH HỌC CỦA CHỦNG VI KHUẨN *STREPTOCOCCUS SUIIS* GÂY BỆNH Ở LỢN NUÔI TẠI TP. HÀ NỘI

Luu Thị Hải Yến^{1,2}, Nguyễn Thị Bích Thủy^{1,2}, Nguyễn Xuân Huyền²,
Van Thị Hương², Trần Việt Dũng Kiên², Lê Thị Minh Hằng²,
Tăng Thị Phương^{1,3}, Đào Thị Toàn², Đặng Phương Anh^{1,2}, Nguyễn Văn Cẩm¹

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, chủng vi khuẩn *Streptococcus suis* serotype 2 (chủng HD24) phân lập từ dịch hầu-họng của lợn ở Hà Nội năm 2018 đã được kiểm tra khả năng nhân lên, đặc tính sinh học, tính ổn định và đặc điểm di truyền. Kết quả nghiên cứu cho thấy chủng vi khuẩn này có khả năng phát triển tốt trên các loại môi trường BHI broth, todd hewitt broth, thạch máu cừ ở điều kiện 37°C, 5% CO₂. Kết quả kiểm tra các đặc tính sinh học của chủng *S. suis* phân lập được bằng bộ kit API20STREP cũng cho kết quả tương đồng với chủng *S. suis* ATCC 31533. Chủng *S. suis* HD24 thuộc serotype 2, mang 2 gen độc lực *arcA* và *sly*, có tính ổn định cao trong quá trình nuôi cấy, có cùng nhánh phát sinh với chủng *S. suis* phân lập ở Trung Quốc và mức tương đồng với các chủng tham chiếu trên GenBank là 99,41-99,71%.

Từ khóa: *Streptococcus suis*, vi khuẩn, lợn, cây phả hệ.

Study on biological characteristics of *Streptococcus suis* causing disease in pig in Ha Noi City

Luu Thi Hai Yen, Nguyen Thi Bích Thủy, Nguyen Xuan Huyền,
Van Thi Hương, Tran Viet Dung Kiên, Le Thi Minh Hằng,
Tang Thi Phương, Dao Thi Toan, Dang Phương Anh, Nguyen Van Cam

SUMMARY

In this study, the *Streptococcus suis* strain, serotype 2 (strain: HD24) isolated from oropharyngeal fluid of pigs in Ha Noi City in 2018 was tested for its ability in culture, biological properties, stability and genetic characteristics. The studied results showed that this strain had ability to grow well on BHI broth, todd hewitt broth, and sheep blood agar medium at 37°C, 5% CO₂. The results of testing biological characteristics of the isolated *S. suis* strain using the API20STREP kit also showed similar results to *S. suis* strain ATCC 31533. The HD24 strain belonged to serotype 2, carried 2 virulence genes: *arcA* and *sly* genes, and was highly stable during the cultured process, this isolated strain shared the same phylogenetic branch with the *S. suis* strain isolated in China and the similarity level with the reference strains on GenBank was 99.41-99.71%.

Keywords: *Streptococcus suis*, bacteria, pigs, phylogenetic tree.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Streptococcus suis (*S. suis*) là vi khuẩn gây bệnh truyền lây từ động vật sang người trên toàn thế giới, gây ra nguy cơ lớn đối với

sức khỏe cộng đồng (Yong Hu *et al.*, 2021).

Ở lợn, vi khuẩn *S. suis* là nguyên nhân gây ra bệnh ở các thể cấp tính như bại huyết, viêm não, viêm màng trong tim, viêm khớp, viêm phổi,

¹ Hội Thú y Việt Nam

² Viện Thú y

³ Trung tâm Nghiên cứu ong và chuyển giao công nghệ chăn nuôi, Viện Chăn nuôi

thường dẫn đến chết ở lợn, đặc biệt là giai đoạn lợn đã cai sữa và lợn trưởng thành (Cù Hữu Phú và cs., 2013). Trong tổng số 35 serotype của vi khuẩn này đã được phát hiện, đáng chú ý nhất là các chủng thuộc serotype 2 phân lập được thường xuyên nhất ở lợn và cũng là nguyên nhân gây ra các thể bệnh nguy hiểm khác nhau ở lợn và người (Higgins và cs., 2002). Bên cạnh đó, các chủng thuộc các serotype khác nhau có đặc tính gây bệnh khác nhau và gây ra các thể bệnh khác nhau; thậm chí các chủng vi khuẩn thuộc cùng 1 serotype cũng có thể gây ra các thể bệnh khác nhau do vùng địa lý mà chúng phân bố (Higgins *et al.*, 2002).

Vi khuẩn *S. suis* thường xuyên phân lập được từ vòm họng và đường hô hấp trên của lợn khoẻ. Chúng thường tồn tại và khu trú ở họng, hạch amidan, xoang mũi của lợn (Cù Hữu Phú và cs., 2013).

Từ khi được phát hiện lần đầu tiên ở người vào năm 1968, số lượng các trường hợp bệnh do *S. suis* ở người được báo cáo trên toàn thế giới tăng lên rất nhiều ở các nước như Hà Lan, Bỉ, Đan Mạch, Anh, Pháp, Đức, Thụy Điển, Croatia, Tây Ban Nha, Ý, Hy Lạp, Canada, New Zealand, Hồng Kông, Đài Loan, Trung Quốc (Allan R. Tunkel *et al.*, 2013; Diederik van de Beek *et al.*, 2008; Lun ZR *et al.*, 2007), Thái Lan, Singapore, Nhật Bản (Hsieh-Yeh Tsai *et al.*, 2012; Bin Chang *et al.*, 2007). Tính đến năm 2014, toàn thế giới có 1.642 trường hợp người mắc bệnh do liên cầu khuẩn gây ra, trong đó phần lớn là ở châu Á (90,2%) (Thân Mạnh Hùng, 2019). Mỗi liên quan giữa người bệnh và sự tiếp xúc với lợn hoặc các sản phẩm của lợn đã được ghi nhận ngay từ khi phát hiện ra bệnh này (J.J Staats *et al.*, 1997).

Tại Việt Nam, bệnh do *S. suis* đứng hàng thứ 6 trong 10 bệnh truyền nhiễm có tỷ lệ mắc và tử vong cao nhất (Cục Y tế dự phòng, 2017). Tính đến năm 2015, Việt Nam có trên 500 bệnh nhân được báo cáo (Huong, V.T.L.

et al., 2019). Bệnh nhân nhiễm *S. suis* sau khi ra viện có thể để lại các di chứng nặng nề như điếc từ 50% - 66,4% (Nguyen Thi Hoang Mai và cs., 2008), rối loạn tiền đình (22,7%) (Vu Thi Lan Huong, 2014), hoại tử chi ở bệnh nhân sốc nhiễm khuẩn (86,7%) (Thân Mạnh Hùng và cs., 2015). Những biến chứng này rất ít khả năng hồi phục, dẫn đến những gánh nặng lớn về sức khoẻ cũng như kinh tế cho bệnh nhân (Vu T.L. Huong *et al.*, 2018; Huong, V.T.L. *et al.*, 2019).

Do tính chất nguy hiểm của bệnh trên người, cùng với nguy cơ lây truyền vi khuẩn từ lợn sang người cao (do thói quen ăn uống đặc biệt ăn gói, ăn tiết canh của người dân), việc lựa chọn chủng vi khuẩn phù hợp làm vaccin phòng bệnh trên lợn là rất cần thiết. Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn 1 chủng vi khuẩn *S. suis* được phân lập từ mẫu swab hầu-họng của một lợn có triệu chứng nghi mắc bệnh ở đường hô hấp nuôi tại huyện Hoài Đức (Hà Nội) năm 2018 để nghiên cứu các đặc tính nuôi cấy, sinh học, tính ổn định kháng nguyên và phân tích di truyền.

II. NỘI DUNG, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nội dung nghiên cứu

Đánh giá đặc tính nuôi cấy, đặc tính sinh hóa, tính ổn định kháng nguyên và đặc tính di truyền của 1 chủng vi khuẩn *S. suis* phân lập được từ lợn nuôi tại Hà Nội.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

- Chủng vi khuẩn nghiên cứu: chủng *S. suis* có ký hiệu HĐ24 phân lập từ dịch hầu-họng lợn tại Hoài Đức (Hà Nội) năm 2018.

- Chủng vi khuẩn tham chiếu: *S. suis* ATCC 31533

- Trình tự nucleotide của 8 chủng *S. suis* lấy từ các công bố trên Ngân hàng Gen (GenBank) để so sánh đặc điểm di truyền (bảng 1).

Bảng 1. Danh sách các chủng *S. suis* tham chiếu

TT	Mã GenBank	Quốc gia	Năm phân lập
1	FJ572237.1	Trung Quốc	2008
2	FJ572235.1	Trung Quốc	2008
3	FJ572231.1	Trung Quốc	2008
4	EF073054.1	Trung Quốc	2006
5	AB246887.1	Trung Quốc	2006
6	EF198475.1	Mỹ	2008
7	MN334774.1	Indonesia	2019
8	MN993284.1	Ấn Độ	2020

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Nuôi cấy chủng vi khuẩn

- Các ống thạch lỏng của chủng vi khuẩn *S. suis* được lấy ra từ nơi bảo quản, để rã đông ở nhiệt độ phòng trong khoảng 30 phút-1 giờ.

- Sau đó, lấy 100µl nuôi cấy trong các ống chứa 10ml môi trường BHI broth (Merck), Todd hewitt broth (THB, Merck); nuôi cấy ở 37°C trong 24 giờ ở điều kiện có 5% CO₂.

- Sau khi kiểm tra tính chất mọc của các chủng *S. suis* trong các môi trường BHI broth, THB; các chủng đạt yêu cầu sẽ được ria cấy trên Blood agar base (Merck) bổ sung 5% máu cừu, nuôi cấy ở 37°C trong 24 giờ ở điều kiện có 5% CO₂; đồng thời được làm tiêu bản, nhuộm gram để kiểm tra hình thái, tính chất bắt màu gram, sự thuần khiết của các ống giống lưu giữ.

2.3.2. Xác định đặc tính sinh hóa

- Kiểm tra các đặc tính sinh hóa bằng bộ kit API20STREP, thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

- Giám định vi khuẩn bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu *gdh* tham khảo theo TCVN 8400-2:2010.

+ Tách chiết DNA bằng phương pháp sốc nhiệt. Lấy 1 vòng que cấy khuẩn lạc của chủng *S. suis* HĐ24 trên thạch máu, hòa vào 100µl nước free DNA-RNA; đặt trong heating block ở 100°C trong 10 phút. Sau đó,

đưa huyền dịch vào -20°C trong 5 phút. Cuối cùng, ly tâm huyền dịch ở 12.000rpm/4 phút, thu hoạch phần nước trong để thực hiện phản ứng PCR.

+ Trình tự mồi dùng trong phản ứng PCR giám định chủng *S. suis*: *gdh*-F: 5'-TGGCTCTGTAGATGATTCTGCT-3', *gdh*-R: 5'-TGA-TACGTCAAATCCTCACC A-3'.

+ Thành phần của phản ứng PCR dùng để xác định gen *gdh* của vi khuẩn *S. suis* được thực hiện với tổng thể tích là 25µl bao gồm: 13,0 µl Master mix; 2,0µl DNA mẫu; 1,0µl mỗi loại mồi; nước free DNA/RNA vừa đủ 25µl.

+ Chu trình nhiệt của phản ứng PCR: Giai đoạn tiền biến tính 94°C trong 5 phút; lặp lại 35 chu kỳ với giai đoạn biến tính 94°C/1 phút, bắt cặp 53°C/1 phút, tổng hợp 72°C/1 phút 30 giây; và kết thúc với giai đoạn kéo dài ở 72°C/7 phút.

+ Phân tích sản phẩm: Sản phẩm của phản ứng PCR (khoảng 688bp) được tiến hành chạy điện di với 1,5% (v/v) agarose gel trong dung dịch đệm 0,5x TBE; bổ sung Gel red (10µl/100ml), đọc dưới tia UV.

2.3.3. Xác định serotype

Xác định serotype của chủng *S. suis* HĐ24 bằng 2 phản ứng PCR đa mồi. Phản ứng PCR thứ 1 xác định nhóm serotype của chủng *S. suis* HĐ24, sau đó mới thực hiện phản ứng PCR thứ 2 xác định serotype cụ thể. Trình tự các cặp mồi được trình bày ở bảng 2.

Chu trình nhiệt của phản ứng: giai đoạn tiền biến tính 94°C/3 phút; 30 chu kỳ gồm: 94°C/30 giây, 60°C/90 giây cho PCR xác định nhóm và 58°C/90 giây cho PCR xác định serotype, 72°C/45 giây; cuối cùng là giai đoạn kéo dài 72°C/5 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra thông qua điện di với 1,5% (v/v) agarose gel trong dung dịch đệm 0,5x TBE; bổ sung Gel red (10µl/100ml), đọc dưới tia UV.

Bảng 2. Các cặp mồi xác định serotype của chủng *S. suis* HD24

Nhóm/ Serotype Nhóm	Ký hiệu mồi	Trình tự nucleotide (5'-3')	Kích thước sản phẩm (bp)
I	cpsI	TGGTTCAAATATCAATGCTC ATTGGTTGTGAGTGCATTG	933
II	cpsII	TCAAATACGCACCTAAGGC CACTCACCTGCCCAAGAC	823
III	cpsIII	TGATTTGGGTGAGACCATG CTCATGCTGGATAACACGT	583
IV	cpsIV	ACAGTCGGTCAAGATAATCG TCAGCTTGGGTAATATCTGG	455
VI	cpsVI	GATGCCCAAGCGATATGCC GGACCAACAATGGCCATCTC	146
Serotype			
1 hoặc 14	cpsII-1	TTAGACAGACACCTTATAGG CTAGCTTCGTTACTTGATTG	386
2 hoặc 1/2	cpsII-2	TTAGCAACGTTGCCATAAG AATCCTCCATTAACCCCTG	173
3	cpsI-3	GGTTTTGATTGGTCTAGTTG CTCTAAAGCTCGATATCTAC	214
4	cpsIV-4	GACTATCTGTATACCCAAAC TCCTTCCAAGTATTCTCTAG	903
5	cpsIV-5	ATCTTAGGAATGATTCGGAC ACCAGATATCTGAGCAAATG	720
6	cpsII-6	GCTCACTATTTTTACATTACAC TATTACTCCGCCAAATACAG	278
7	cpsIV-7	AACTACCTACCTGAACTTTG AGTCTAAAAGTGATCGAGTC	566
9	cpsVI-9	GAAAGTAGGTATATCTCAGC GGGCTATTAACCTCCTATC	368
16	cpsII-16	AAGGTTATCCACGAAAGATG TCCGGCAATATTCTTTCAAG	494
21	cpsIII-21	TATCATATTGAGAATCTTCCC TTGCGTAGCATACAAAGTTC	160
24	cpsVI-24	TACTGAGATTTATTGGGACG AAGCGATTGGATTACATTGC	224

2.3.4. Xác định độc lực và độ ổn định kháng nguyên**- Xác định gen độc lực**

Xác định một số gen độc lực điển hình của chủng *S. suis* HD24 bằng phản ứng PCR đa mồi. Chi tiết các cặp mồi được trình bày ở bảng 3.

Chu trình nhiệt của phản ứng: giai đoạn tiền biến tính 94°C/5 phút; 35 chu kỳ gồm: 94°C/1 phút, 53°C/1 phút, 72°C/90 giây; cuối cùng là

giai đoạn kéo dài 72°C/7 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra thông qua điện di với 1,5% (v/v) agarose gel trong dung dịch đệm 0,5x TBE; bổ sung Gel red (10µl/100ml), đọc dưới tia UV.

- Xác định khả năng ổn định kháng nguyên: Chủng vi khuẩn *S. suis* HD24 được nuôi cấy trong môi trường lỏng, cấy chuyển trong 5 lần liên tiếp. Mỗi ngày, ống canh trùng nuôi cấy được đếm số lượng vi khuẩn để xác định mức

độ ổn định trong nuôi cấy. Sau đó, các ống canh trùng được tách chiết DNA, kiểm tra các gen

độc lực bằng phản ứng PCR để xác định tính ổn định của các gen độc lực sau quá trình nuôi cấy.

Bảng 3. Trình tự nucleotide các cặp mồi xác định gen độc lực của *S. suis*

Gen đích	Trình tự nucleotide (5'-3')	Kích thước sản phẩm (bp)
<i>arcA</i>	TGATATGGTTGCTGCTGGTC GGACTGAGGATAGCATTGG	118
<i>mrp</i>	ATTGCTCCACAAGAGGATGG TGAGCTTTACCTGAAGCGGT	188
<i>epf</i>	CGCAGACAACGAAAGATTGA AAGAATGTCTTTGGCGATGG	744
<i>sly</i>	GCTTGACTTACGAGCCACAA CCGCGCAATACTGATAAGC	248

2.3.5. Giải trình tự gen và phân tích đặc điểm di truyền

Sản phẩm PCR sử dụng cặp mồi gdh được gửi giải trình tự bằng phương pháp Sanger tại Công ty Macrogen (Hàn Quốc) và blast trên Ngân hàng Gen (GenBank). Phân tích cây phả hệ chủng *S. suis* HD24 và các chủng tham chiếu trên GenBank (bảng 1) bằng phần mềm MegaX ver.10.1.8, sử dụng phương pháp Maximum likelihood, hệ số bootstrap 1.000 lần.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc tính nuôi cấy chủng *S. suis* HD24 trên các môi trường nhân tạo

Chủng vi khuẩn *S. suis* HD24 hiện đang được lưu giữ, bảo quản trong các ống thạch lỏng ở -80°C. Tiến hành nuôi cấy chủng vi khuẩn này 3 lần riêng

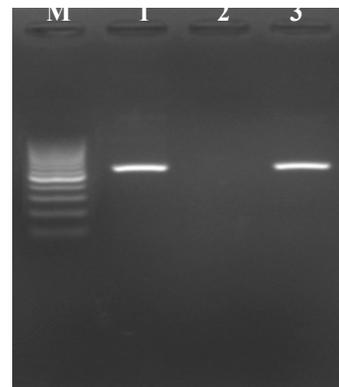
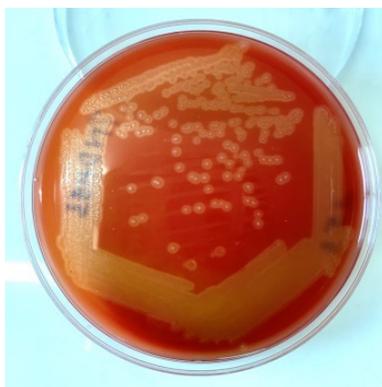
biệt, chúng tôi thu được kết quả chủng vi khuẩn phát triển tốt trên các môi trường nuôi cấy. Cụ thể:

Trong môi trường BHI broth, THB: các ống môi trường đục đều sau khi nuôi cấy 22-24 giờ trong điều kiện 37°C và 5% CO₂. Không làm đổi màu môi trường, không có màng trên bề mặt môi trường, khi lắc có vẩn nhẹ ở đáy ống môi trường nuôi cấy.

Trên môi trường thạch máu cừu: chủng vi khuẩn này đều phát triển thành các khuẩn lạc nhỏ, trong, gây dung huyết thạch máu sau 24 giờ nuôi cấy (hình 1A).

Kết quả nuôi cấy cho thấy chủng vi khuẩn *S. suis* HD24 kiểm tra đều đã được bảo quản thuần khiết trong các ống giống thạch lỏng; chủng này vẫn phát triển tốt sau thời gian lưu giữ.

3.2. Đặc tính sinh hóa của chủng *S. suis* HD24



Hình 1. Đặc tính sinh học của chủng vi khuẩn *S. suis* HD24

A: Khuẩn lạc trên thạch máu cừu sau 24 giờ nuôi cấy, B: Điện di sản phẩm PCR xác định gen gdh (M: marker 100bp, giếng 1: đối chứng dương chủng *S. suis* ATCC 31533, giếng 2: đối chứng âm, giếng 3: chủng HD24)

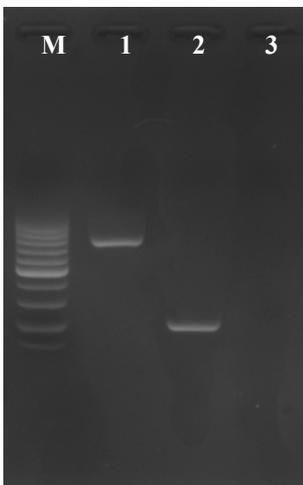
Kiểm tra các đặc tính sinh học bằng bộ kit API20STREP cho kết quả âm tính với phản ứng Voges Proskauer, Hippuric acid, Alkaline Phosphatase, Arabinose, Mannitol, Sorbitol, Ribose; trong khi đó dương tính với phản ứng Esculin, Trehalose, Lactose, Raffinose, Amidon, Arginine Dihydrolase, Glycogen, b-Galactosidase, b-Glucuronidase, a-Galactosidase.

Kết quả giám định bằng phương pháp PCR cho kết quả dương tính cặp môi gdh - phát hiện vi khuẩn *S. suis* (hình 1B).

Các kết quả giám định đặc tính sinh hóa và phản ứng PCR của chủng HD24 cho kết quả tương đương với kết quả giám định của vi khuẩn *S. suis* chủng ATCC 31533.

3.3. Kết quả xác định serotype chủng *S. suis* HD24

Kết quả xác định serotype của chủng *S. suis* HD24 bằng phương pháp multiplex-PCR được thể hiện qua hình 2.



Hình 2. Điện di sản phẩm PCR xác định serotype của chủng *S. suis* HD24

Giếng M: Marker 100bp, giếng 1: Sản phẩm PCR xác định nhóm serotype – nhóm II (823bp), giếng 2: Sản phẩm PCR xác định serotype – serotype 2 (173bp), giếng 3: Đối chứng âm.

Chúng tôi thực hiện hai phản ứng PCR để

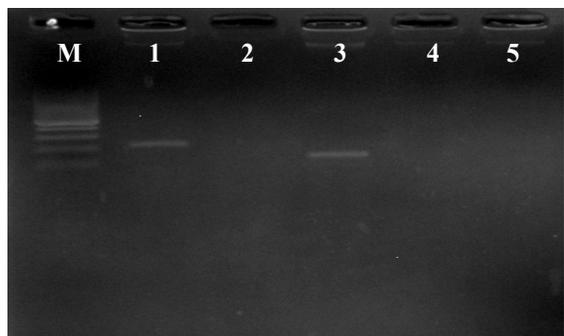
xác định serotype của các chủng vi khuẩn *S. suis*. Phản ứng thứ 1 để xác định nhóm serotype, sau đó chủng vi khuẩn kiểm tra dương tính với nhóm serotype nào mới tiếp tục thực hiện phản ứng PCR thứ 2 để xác định serotype cụ thể trong nhóm của chủng vi khuẩn cần kiểm tra.

Hình 2 cho thấy, chủng *S. suis* HD24 thuộc nhóm serotype II và serotype 2. Đây là serotype thường gặp nhất trong các serotype gây bệnh ở lợn và ở người. Theo Nguyễn Mạnh Cường và cs. (2019), tỷ lệ phân lập được *S. suis* serotype 2 trên lợn là cao nhất (58,16%) trong tổng số 168 chủng *S. suis* phân lập từ lợn bệnh tại tỉnh Thái Nguyên. Thân Mạnh Hùng (2019) cũng cho biết trong tổng số 80 bệnh nhân mắc bệnh liên cầu khuẩn ở Bệnh viện Bệnh nhiệt đới trung ương, có 74 bệnh nhân (92,50%) nhiễm *S. suis* serotype 2.

3.4. Kết quả xác định các gen độc lực của chủng *S. suis* HD24

Các gen *arcA*, *mrp*, *epf* và *sly* quy định các yếu tố độc lực là các chỉ điểm có ý nghĩa cho phép phân biệt giữa các chủng độc lực và các chủng ít độc lực hơn đối với *S. suis* tại châu Âu và châu Á (Schultsz C. *et al.*, 2012).

Chủng vi khuẩn HD24 được chúng tôi kiểm tra sự hiện diện của các gen độc lực này bằng phương pháp PCR đa môi (hình 3).



Hình 3. Điện di sản phẩm PCR xác định gen độc lực của chủng HD24

Giếng M: marker 100bp; giếng 1: gen *sly* (248bp); giếng 2, 4: âm tính với gen *mrp* và *epf*; giếng 3: gen *arcA* (118bp); giếng 5: đối chứng âm.

Kết quả tại hình 3 cho thấy, chủng *S. suis* HĐ24 có chứa hai gen độc lực là *arcA* (giống 3) và *sly* (giống 1). Đây cũng là các gen độc lực thường có tỷ lệ cao ở các chủng *S. suis* gây bệnh ở lợn và ở người. S. Rajkhowa và J.B. Rajesh (2021) cho biết có 91,93% chủng *S. suis* phân lập từ lợn ở Ấn Độ có mang gen *arcA*. Cũng trong nghiên cứu này, tỷ lệ phát hiện gen *sly* ở các chủng *S. suis* là 27,42%. Bên cạnh đó, nghiên cứu của Thân Mạnh Hùng (2019) trên các bệnh nhân mắc bệnh liên cầu khuẩn cho thấy có tới 96,25% các chủng *S. suis* phân lập được có mang gen *sly*, trong đó 100% các chủng phân lập từ các ca bệnh nhiễm khuẩn huyết đều mang gen này. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy chủng *S. suis* HĐ24 là chủng vi khuẩn có độc lực, do đó có tiềm năng trở thành ứng viên phát triển vaccin phòng bệnh liên cầu khuẩn ở lợn.

3.5. Kết quả xác định khả năng ổn định nuôi cấy của chủng *S. suis* HĐ24

Kết quả xác định khả năng ổn định nuôi cấy của chủng HĐ24 trong môi trường BHI broth được thể hiện ở bảng 4.

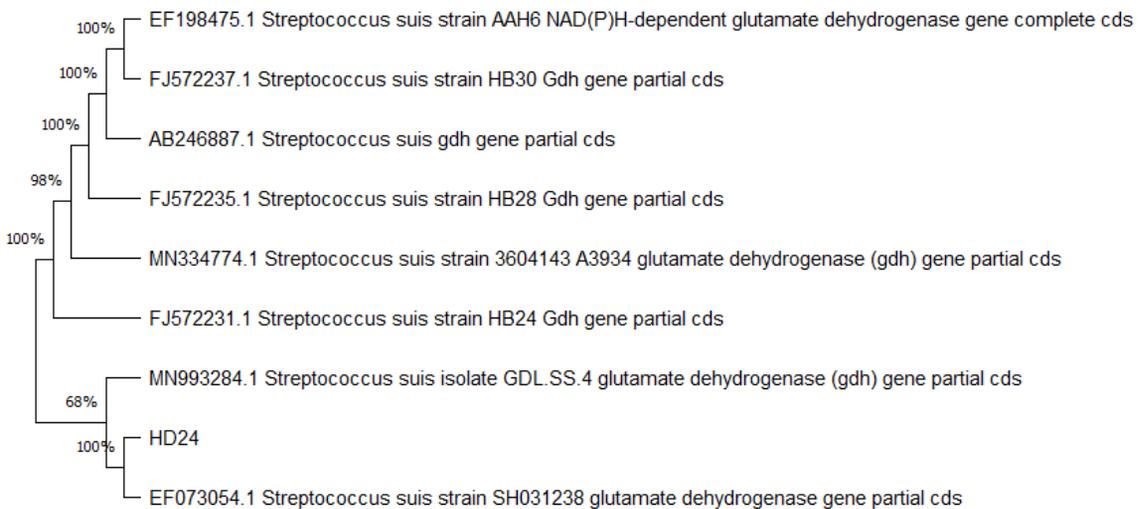
Bảng 4. Kết quả đếm số chủng vi khuẩn *S. suis* HĐ24 sau 5 lần cấy chuyển liên tiếp

TT	Lần cấy chuyển	Kết quả đếm số vi khuẩn (CFU/ml)
1	Lần 1	5,20 x10 ⁹
2	Lần 2	5,56 x10 ⁹
3	Lần 3	5,34 x10 ⁹
4	Lần 4	5,39 x10 ⁹
5	Lần 5	5,51 x10 ⁹
Trung bình ± SD		5,4 ± 0,14 x10⁹

Kết quả ở bảng 4 cho thấy, chủng *S. suis* HĐ24 phát triển tương đối ổn định sau quá trình cấy chuyển 5 lần liên tiếp. Số lượng vi khuẩn sau 24 giờ nuôi cấy đạt từ 5,20 – 5,56 x10⁹ CFU/ml; trung bình là 5,4 ± 0,14 x10⁹ CFU/ml.

Phản ứng PCR kiểm tra các gen độc lực (gồm *arcA* và *sly*) với các cặp môi tương ứng cũng cho thấy 2 gen độc lực này của chủng HĐ24 ổn định qua các lần nuôi cấy.

3.6. Kết quả giải trình tự gen và phân tích di truyền của chủng *S. suis* HĐ24



Hình 4 . Cây phả hệ của chủng *S. suis* nghiên cứu với các chủng tham chiếu trên GenBank

Kết quả phân tích cây phả hệ cho thấy, chủng *S. suis* HĐ24 trong nghiên cứu này có cùng một nhánh phát sinh với chủng *S. suis* phân lập tại

Bắc Kinh (Trung Quốc) năm 2006 (Số GenBank EF073054.1) và chủng phân lập tại Ấn Độ năm 2020 (Số GenBank MN993284.1).

select all 100 sequences selected

[GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain SH0104.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2243598	CP025419.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain HA0609.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2247350	CP024126.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain 90-1330.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2146151	CP012731.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain NSU1002_complete_genome	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2255345	CP011419.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis 05HAS68_complete_genome	Streptococcus suis 05HAS68	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2176073	CP002007.2
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain DNR49.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2225263	CP102143.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain DNC49.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2137486	CP102140.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain Ssuis_MA8.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2163068	CP085085.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain ISU2660.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2182487	CP031379.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain ISU2414.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2222543	CP030023.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain ISU2614.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	2163384	CP031377.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain HB30.Gdh_gene_partial_cds	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	689	EJ572237.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain AAH8.NAD(P)H-dependent glutamate dehydrogenase gene_complete_cds	Streptococcus suis	1243	1243	100%	0.0	99.71%	1347	EF198475.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain DNR48.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1238	1238	100%	0.0	99.56%	2306687	CP102141.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis 6407_complete_genome	Streptococcus suis 6407	1238	1238	100%	0.0	99.56%	2292360	CP008921.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis glutamate dehydrogenase gene_partial_cds	Streptococcus suis	1238	1238	100%	0.0	99.56%	1258	FJ517148.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain INT-01.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1232	1232	100%	0.0	99.41%	2092054	CP041994.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis strain PH2016-081.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis	1232	1232	100%	0.0	99.41%	2364405	CP134474.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis T15.chromosome_complete_genome	Streptococcus suis T15	1232	1232	100%	0.0	99.41%	2240209	CP100432.1
<input checked="" type="checkbox"/> Streptococcus suis T15_complete_genome	Streptococcus suis T15	1232	1232	100%	0.0	99.41%	2240234	CP006246.1

Hình 5. Kết quả blast trình tự chủng *S. suis* HĐ24 trên NCBI
(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

Kết quả blast trình tự gen *gdh* của chủng *S. suis* HĐ24 trên NCBI (hình 5) cho thấy chủng HĐ24 có sự tương đồng cao với các chủng *S. suis* tham chiếu trên GenBank (từ 99,41-99,71%).

IV. KẾT LUẬN

Chủng vi khuẩn *S. suis* HĐ24 phát triển tốt trong các môi trường nuôi cấy nhân tạo, bao gồm cả môi trường lỏng và thạch máu cừ. Chủng vi khuẩn mang đầy đủ các đặc tính sinh học đặc trưng của giống vi khuẩn *S. suis*, thuộc serotype 2, có chứa 2 gen độc lực là *arcA* và *sly*.

Chủng *S. suis* HĐ24 có tính kháng nguyên ổn định qua các lần nuôi cấy, có cùng nhánh phát sinh loài với chủng *S. suis* phân lập tại Trung Quốc, mức độ tương đồng cao với các chủng tham chiếu trên GenBank (từ 99,41-99,71%).

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được hoàn thành với kinh phí đề tài của Liên hiệp các Hội Khoa học và kỹ thuật Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Allan R. Tunkel, Diederik van de Beek, and W.Michael Scheld, 2013. *Acute Meningitis. Principles and Practice of Infectious Diseases*. Vol. Seventh Edition, Volume I| Part II| Chapter 84. 1189 – 1229.
- Nguyễn Mạnh Cường, Tô Long Thành, Nguyễn Văn Quang, Nguyễn Quang Tuyên, Đỗ Hồng Anh, 2019. Phân lập, xác định serotype và độc lực của các chủng *Streptococcus suis* gây bệnh ở lợn tại tỉnh Thái Nguyên. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, tập XXVI, số 2, 67-73.
- Cục Y tế dự phòng, 2017. Niêm giám thống kê Bệnh truyền nhiễm năm 2016. Trang 05.
- Higgins, R. and Gottschalk, M., 2002. Streptococcal diseases. *Diseases of swine*, pp. 563- 573.
- Hsieh-Yeh Tsai, Chun-Hsing Liao, Chia-Ying Liu, et al., 2012. Streptococcus suis infection in Taiwan, 2000 - 2011. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 74(75-77).

6. Thân Mạnh Hùng, Nguyễn Trung Cấp, N.V. Kinh, 2015. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và các biện pháp hồi sức bệnh nhân sốc nhiễm khuẩn do *Streptococcus suis* tại Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương 2009 – 2011. *Tạp chí Truyền nhiễm Việt Nam*, 1(9), 11 - 15.
 7. Thân Mạnh Hùng, 2019. *Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, các yếu tố tiên lượng và một số kiểu gen vi khuẩn ở bệnh nhân nhiễm Streptococcus suis điều trị tại Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương (2015 – 2018)*. Luận án tiến sĩ y học. Đại học Y Hà Nội.
 8. Vu Thi Lan Huong, Ngo Ha, Nguyen Tien Huy, *et al.*, 2014. Epidemiology, Clinical Manifestations, and Outcomes of *Streptococcus suis* Infection in Humans. *Emerging Infectious Diseases* Vol. 20, No. 7, 1105 - 1114.
 9. Vu T.L. Huong, Hoang B. Long, Nguyen V. Kinh, *et al.*, 2018. Long-term outcomes of patients with *Streptococcus suis* infection in Viet Nam: A case-control study. *Journal of Infection*, 76, 159–167.
 10. Huong, V.T.L., H.C. Turner, N.V. Kinh, *et al.*, 2019. Burden of disease and economic impact of human *Streptococcus suis* infection in Viet Nam. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 133(6), 341–350.
 11. Margaret Ipa, Kitty S.C. Fungh, Fang Chia, *et al.*, 2007. *Streptococcus suis* in Hong Kong. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 57, 15-20.
 12. Nguyen Thi Hoang Mai, Ngo Thi Hoa, Tran Vu Thieu Nga, *et al.*, 2008. *Streptococcus suis* Meningitis in Adults in Vietnam. *Clinical Infectious Diseases*, 46, 659–67.
 13. Cù Hữu Phú, Lê Thị Minh Hằng, Văn Thị Hương, Âu Xuân Tuấn, Lưu Thị Hải Yến, Nguyễn Xuân Huyền, Trần Việt Dũng Kiên, Tăng Thị Phương, Nguyễn Hồng Minh, Đỗ Văn Huỳnh, 2013. *Nghiên cứu mối liên quan giữa hội chứng rối loạn hô hấp, sinh sản ở lợn (PRRS) với vi khuẩn gây bệnh kế phát và xác định biện pháp phòng, trị bệnh*. Báo cáo dự án sản xuất thử nghiệm, Bộ Khoa học và công nghệ.
 14. Schultsz, C., E. Jansen, W. Keijzers, *et al.*, 2012. Differences in the population structure of invasive *Streptococcus suis* strains isolated from pigs and from humans in The Netherlands. *PLoS One*, 7(5), e33854.
 15. S. Rajkhowa¹, J.B. Rajesh, 2021. Virulence associated gene profiling and antimicrobial resistance pattern of *Streptococcus suis* isolated from clinically healthy pigs from North East India. *Letters in Applied Microbiology*, pg.1-6.
 16. Tiêu chuẩn quốc gia, 2010. TCVN 8400-2:2010. Bệnh động vật - quy trình chẩn đoán - Phần 2: Bệnh do vi khuẩn *Streptococcus suis* gây ra trên lợn.
 17. Yong Hu, Shiming Fu, Geng Zou, Anusak Kerdsin, Xiabing Chen, Xingxing Dong, Lin Teng, Jinqun Li, 2021. Genome analysis provides insight into hyper-virulence of *Streptococcus suis* LSM178, a human strain with a novel sequence type 1005. *Scientific Reports*, 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03370-0>.
- Ngày nhận: 8-12-2023
 Ngày phản biện: 11-12-2023
 Ngày đăng: 1-9-2024