

DOI:10.22144/ctu.jvn.2018.095

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

Nguyễn Phi Bằng^{1*}, Nguyễn Hồ Bảo Trân² và Nguyễn Hữu Hưng²

¹Khoa Nông Nghiệp và Tài nguyên Thiên nhiên, Trường Đại học An Giang

²Khoa Nông Nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Phi Bằng (email: npbang@agu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 14/12/2017

Ngày nhận bài sửa: 24/04/2018

Ngày duyệt đăng: 30/08/2018

Title:

Morphological and molecular characterization of tapeworms caused diseases in dogs in Mekong Delta provinces

Từ khóa:

Dipylidium caninum, đặc điểm hình thái, sán dây, sinh học phân tử, trình tự nucleotide

Keywords:

Cestodes, *Dipylidium caninum*, Deoxyribonucleic acid sequences, morphological feature, molecular features

ABSTRACT

The study was conducted to identify the most common cestodes species which mostly affect dogs in some provinces of the Mekong Delta (An Giang, Dong Thap, Soc Trang, Kien Giang). There were 882 dogs examined for tapeworm infection by Skrjabin comprehensive method. The tapeworm samples were described based on the morphological and molecular features. The morphological features of tapeworm were identified for their properties such as scolex, neck, mature proglottid, gravid proglottid and egg. The genome sequences of tapeworm strains were obtained from the database resources of the National Center for Biotechnology Information (USA). The results showed that the infection rate of parasitic tapeworms in dogs was at 26,3%. The five species were *Dipylidium caninum*, *Spirometra mansoni*, *Taenia pisiformis*, *Taenia hydatigena*, and *Diphylobothrium latum*. Amongst them, *Dipylidium caninum* was the most common tapeworm species determined in this study with highest infection rate. The DNA sequencing indicated 96% of homologous gene sets of the American tapeworm *Dipylidium caninum* on the National Center for Biotechnology Information with the registration code AF023120.1

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định loài sán dây phổ biến nhất gây tác hại chủ yếu trên chó nuôi tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long (An Giang, Đồng Tháp, Sóc Trăng, Kiên Giang). Đề tài đã xác định các đặc điểm hình thái và sinh học phân tử của loài sán dây này. Có 882 cá thể chó được mổ khám trong nghiên cứu bằng phương pháp mổ khám toàn diện Skrjabin, chó nhiễm sán dây với tỷ lệ chung là 26,30%. Kết quả cho thấy, 5 loài sán dây ký sinh trên chó nuôi là *Dipylidium caninum*, *Spirometra mansoni*, *Taenia pisiformis*, *Taenia hydatigena* và *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 chi các đặc điểm hình thái chi tiết để nhận dạng sán dây qua các bộ phận cấu tạo khác nhau như: đốt đầu, đốt cổ, đốt trưởng thành, đốt chứa và trứng của chúng. Các đoạn sán dây này được giải trình tự gen và so sánh với chuỗi DNA của sán dây *Dipylidium caninum* khác đã đăng ký trên Ngân hàng gen thế giới (National center for Biotechnology Information), Mỹ. Kết quả chỉ ra rằng chuỗi DNA của sán dây trong nghiên cứu có độ tương đồng cao (96%) so với loài sán dây *Dipylidium caninum* của Mỹ trên Ngân hàng gen thế giới với mã đăng ký là AF023120.1.

Trích dẫn: Nguyễn Phi Bằng, Nguyễn Hồ Bảo Trân và Nguyễn Hữu Hưng, 2018. Đặc điểm hình thái học và sinh học phân tử của loài sán dây chủ yếu gây tác hại trên chó tại một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(6B): 49-56.

1 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 hiện 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 and Serpell, 1996). Hiện nay, số lượng chó nuôi ở nước ta tại các hộ gia đình rất lớn, có đến hơn 9 triệu con, trong khi 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 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 (Tylkowska *et al.*, 2010; 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, sinh học phân tử của loài sán dây này là công tác hết sức quan trọng trong việc phòng chống bệnh sán dây trên chó và bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

2 NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Nội dung

– Nghiên cứu tiến hành xác định 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, đồng thời xác định đặc điểm hình thái học và sinh học phân tử của loài sán dây chủ yếu gây tác hại trên chó.

2.2 Địa điểm nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại các tỉnh thuộc ĐBSCL như An Giang, Đồng Tháp, Sóc Trăng và 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, Trường 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 (Thrusfield, 2007).

Xác định tình hình nhiễm bằng phương pháp mổ khám toàn diện (Skrjabin and Petrov, 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 mô tả của Soulsby (1982).

Xác định đặc điểm sinh học phân tử sán dây: 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 định danh hình thái học.

Quy trình ly trích DNA và khuếch đại gen môi bằng phương pháp PCR của sán dây dựa vào quy trình 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. Giải trình tự chuỗi DNA (gene chẩn đoán) dựa vào Ngân hàng gene (Gen bank) bằng chương trình BLAST. Tra cứu so sánh sử dụng các phần mềm có trong các Trung tâm thông tin công nghệ sinh học quốc gia NCBI, Hoa Kỳ. Sự sai khác về nucleotide dưới hoặc bằng 5% là biến đổi nội loài và trên 5% là biến đổi ngoại loài (Blair and Agatsuma, 1997; Nguyễn Văn Đê, 2006).

Đoạn mồi sử dụng trong nghiên cứu

DC28S-1F:
GCATGCAAGTCAAAGGGTCCTACG

DC28S-1R:
CACATTCAACGCCCGACTCCTGTAG

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

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

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

Bảng 1 cho thấy tỷ lệ nhiễm sán dây trên chó chiếm tỷ lệ 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 sán dây 25,10%, nhưng cao nhất là ở tỉnh Kiên Giang, chiếm 30,09% và thấp nhất là tỉnh Sóc Trăng, chiếm 21,28%. Điều này cho thấy sán dây trên chó tại địa bàn khảo sát là bệnh rất phổ biến. Tuy nhiên, 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.

Bảng 1: Tỷ lệ nhiễm sán dây trên chó tại các tỉnh khảo sát

Địa điểm	Tình hình nhiễm chung		
	SCKS	SCN	TLN%
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

SCKS: Số chó khảo sát SCN : Số mẫu nhiễm
TLN = Tỷ lệ nhiễm

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

Có 5 loài sán được tìm thấy tại các tỉnh khảo sát ở ĐBSCL. Trong tổng số 5 loài, có 3 loài thuộc bộ Cyclophyllidea và 2 loài thuộc bộ Pseudophyllidae, loài *Dipylidium caninum* chiếm tỷ lệ cao nhất, kế đến là loài *Spirometra mansoni*, sau đó lần lượt là *T. pisiformis*, *T. hydatigena*, thấp nhất là *D. latum*. 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; Bang and Cuong, 2015). *Dipylidium caninum* là loài sán thuộc bộ Cyclophyllidae (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 *Dipylidium caninum* là loài sán dây có tỷ lệ nhiễm cao nhất, phổ biến nhất, điều này cho thấy rằng *Dipylidium 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). Đây cũng là những ký chủ trung gian khá phổ biến ở tỉnh khu vực ĐBSCL. Riêng *Diphylobothrium latum*, trong quá trình phát triển, *D. latum* 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 *D. latum* có tỷ lệ nhiễm thấp hơn các loài khác (Bang and Cuong, 2015). Ấu trùng của loài *Taenia* sp thường ký sinh ở cơ hay nội tạng của các loài gia súc (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*. Nếu chủ nuôi không quản lý thức ăn cho chó, để cho chó ăn những động vật còn sống hoặc những thức ăn chưa được nấu chín, thì nguy cơ chó bị nhiễm loài *Taenia* spp. rất cao, vì ấu trùng của *Taenia* spp. thường ký sinh trong cơ hoặc nội tạng của các động vật khác. Một số chủ nuôi thường thích cho chó cưng của mình ăn thịt sống để tăng bản năng săn mồi và giữ nhà, thói quen này cũng là một trong những hành vi nguy cơ làm tăng tỷ lệ nhiễm sán dây trên chó (Nguyễn Hữu Hưng, 2010).

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

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

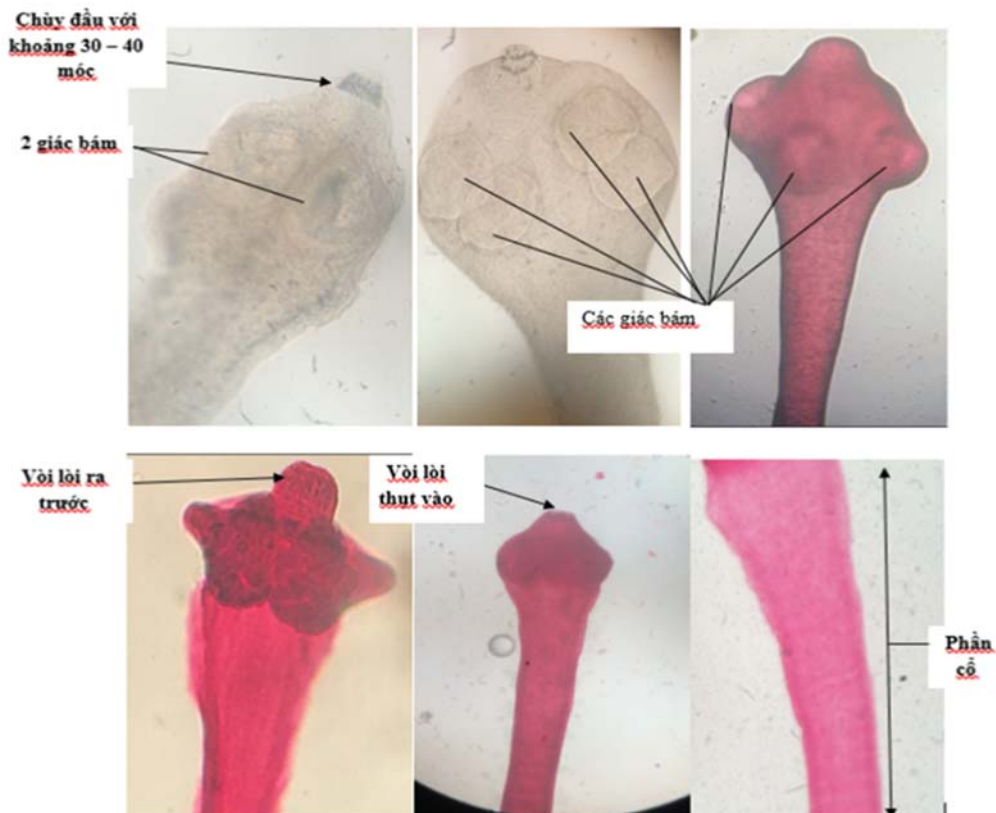
3.3 Đặc điểm hình thái của loài sán dây Dipylidium caninum

Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng *Dipylidium caninum* là loài sán gây bệnh phổ biến nhất và chủ yếu gây tác hại trên chó có, khả năng lây sang người. Bảng 3 chỉ ra rằng sán có chiều dài trung bình là 61,53 ± 8,98 cm, chiều rộng của các đốt trường thành khoảng 2-3 mm, kết quả phù hợp với Cabello et al., (2011). Đầu sán có chiều dài 0,36 mm ± 0,09

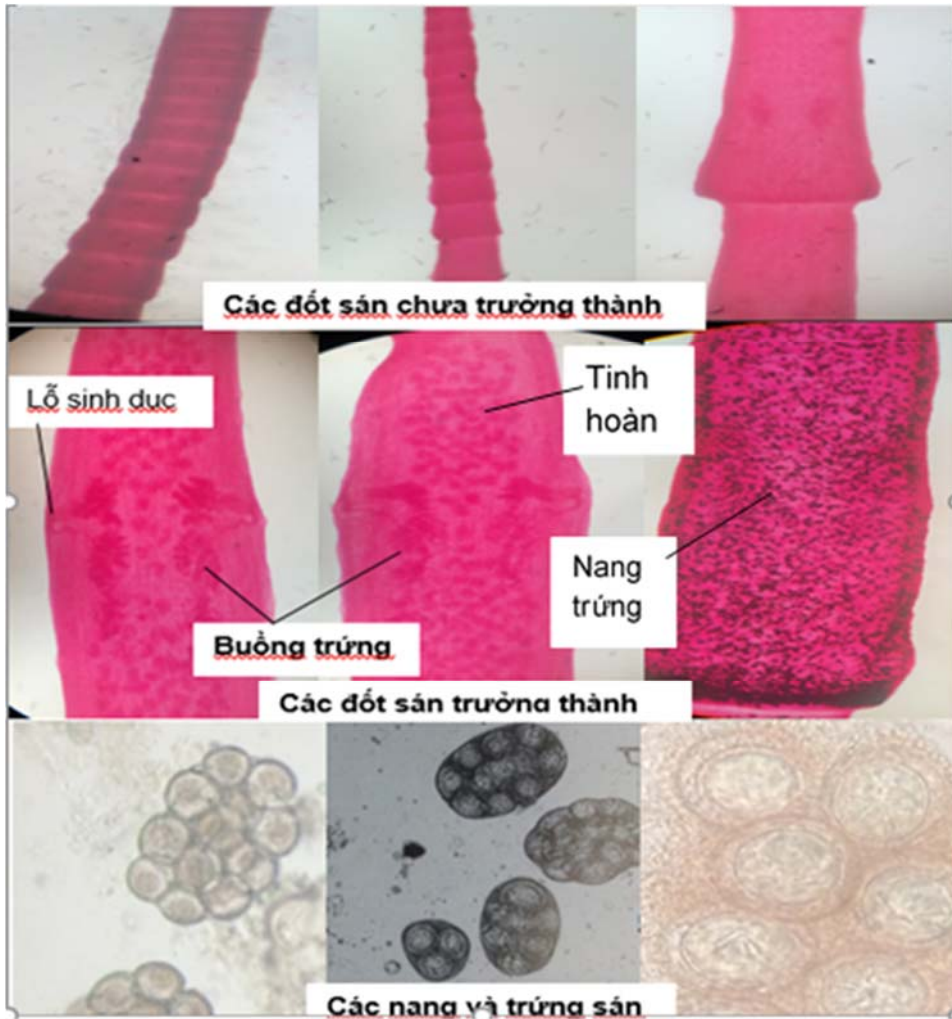
mm với cổ sán dài 0,40 ± 0,09 mm. Về hình thái, đốt trường thành có chứa cả cơ quan sinh dục đực và cơ quan sinh dục cái với kích thước của đốt 14,02 ± 3,02 mm. Đốt chứa có chiều dài trung bình 11,54 ± 0,79 mm, và đường kính trung bình của trứng là 31,86 ± 2,40 μm, trứng hình cầu chứa 3 đôi móc trong bọc. Số lượng trứng trong nang trứng trung bình là 27,99 ± 3,53.

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 nối 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 2-3 mm.
Đốt chưa (mm)	11,54 ± 0,79	- Đốt chưa 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 chưa, trứng được dính với nhau như chùm nho trong nang trứng.



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

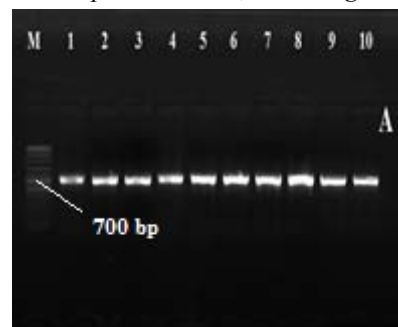


Hình 2: Đặc điểm hình thái các đốt sán (proglottids) và trứng sán dây *D. caninum*

Kết quả nghiên cứu trên phù hợp với mô tả hình thái học *Dipylidium caninum* của Alan and Sarah (2012) và Heinz (2016). Trứng sán *Dipylidium caninum* thường dính theo từng chùm và nằm trong đốt sán, đốt sán được phóng thích theo phân khi gia súc đi ngoài. Thường ấu trùng của bọ chét 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 *cysticercoid* sẽ bị nhiễm bệnh và ấu trùng sán dây phát triển thành sán trưởng thành. Thời gian từ khi nhiễm đến khi sán trưởng thành khoảng 20 ngày (Bowmann, 2003; Nguyễn Hữu Hưng, 2010).

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

3.4.1 Sản phẩm PCR điện di trên gel agarose



Hình 3: Kết quả điện di sản phẩm PCR

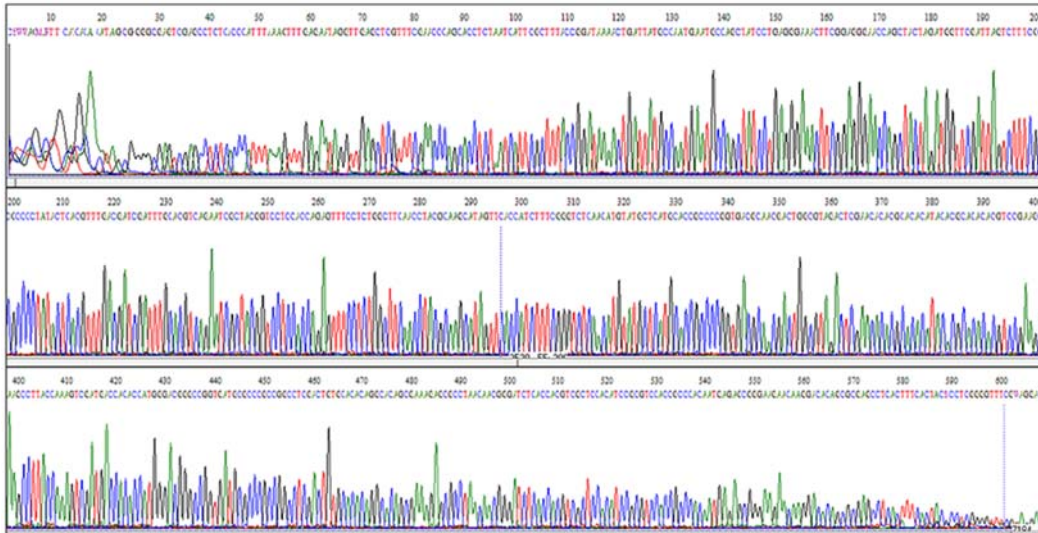
M: thang chuẩn 100 bp. Giếng 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 chứa sản phẩm PCR

Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1% và soi phát hiện dưới ánh sáng tử ngoại. Hình ảnh điện di được khuếch đại được đoạn gen mỗi. Hình 3 cho thấy hình ảnh điện di đã khuếch đại được các mẫu sản phẩm kiểm tra. Kết quả cũng thể hiện sản phẩm PCR cho cặp mỗi thu được là đặc hiệu, đều có dải băng sáng trên bản gel không có vạch phụ và độ dài khoảng 700 bp so với thang chuẩn. Như vậy, có 10/10 mẫu DNA đã được khuếch đại được đoạn mỗi

nờ phản ứng PCR, chiếm 100% tổng số mẫu được giám định.

3.4.2 Giải mã trình tự nucleotide của sản phẩm và kết quả Blast kiểm tra định danh trình tự nucleotide được giải mã trên ngân hàng gen

Nghiên cứu đã khuếch đại được đoạn gen 28S và giải trình tự sản phẩm đã thu được các chuỗi nucleotide có độ dài 621 nucleotide (Hình 4).



Hình 4: Kết quả điện di Bazonito của mẫu DNA giám định

Có hơn 111 kết quả DNA có trình tự nucleotide tương đồng với mẫu gen khảo sát, có hơn 100 loài có trình tự gene gần giống gen khảo sát ở độ tương

đồng đến hơn 270 nucleotide, nhưng có 2 kết quả ở Ngân hàng gen có hơn 360 nucleotide tương đồng, và chỉ có 1 kết quả có độ tương đồng rất cao trên 500 nucleotide so với mẫu khảo sát.



Hình 5: Kết quả Blast trình tự nucleotide trên NCBI

3.4.3 Kết quả so sánh độ tương đồng về trình tự nucleotide của các mẫu khảo sát và mẫu chuẩn đã đăng ký ở NCBI

Kết quả Hình 6 cho thấy rằng có rất nhiều loài ký sinh trùng có trình tự gen giống mẫu khảo sát như

loài *Dilepis undula*, *Mesocestodes sp.* AW-2007, *Mesocestodes corti*, *Hymenolepsis diminula*, đây là những loài có họ hàng rất gần với loài khảo sát. Kết quả nghiên cứu cũng khẳng định DNA của loài được giải trình tự là DNA của loài *Dipylidium caninum* với độ tương đồng 96% trình tự DNA.

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected: 0

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Dipylidium caninum 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	2004	2004	100%	0.0	96%	AF023120.1
Dilepis undula 28S ribosomal RNA gene, complete sequence	1079	1079	83%	0.0	88%	AF286915.2
Mesocestoides corti genome assembly M_corti_Specht_Voeg_scaffold MCOS_contig0002488	1050	1050	73%	0.0	90%	LMS34252.1
Hymenolepsis diminuta 28S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1044	1044	73%	0.0	90%	AY157181.1
Mesocestoides sp. AW-2007 28S large subunit ribosomal RNA gene, complete sequence	1031	1170	82%	0.0	89%	EF095263.1
Hymenolepsis diminuta 28S ribosomal RNA gene, partial sequence	1031	1031	73%	0.0	90%	AF023118.1

Hình 6: Danh sách các mã gen tương đồng với DNA mẫu phân tích đã đăng ký trên NCBI

Dipylidium caninum 28S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: [AF023120.1](#) Length: 1005 Number of Matches: 1

Range 1: 5 to 613 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
951 bits(1054)	0.0	580/611(95%)	5/611(0%)	Plus/Minus
Query 10	CATAGCGGGGCGAGTCGAGCCTCTCACCCATTTAAAGTTTGAGAATAGGTTGAGCTCGT	69		
Sbjet 613	CATAGCGGGGCGAGTCGAGCCTCTCACCCATTTAAAGTTTGAGAATAGGTTGAGCTCGT	554		
Query 70	TGGAACCCAGCACCTCTAATCAITTCGCTTTACCGGATAAAACTGATTATGCCAATGAATG	129		
Sbjet 553	TGGAACCCAGCACCTCTAATCAITTCGCTTTACCGGATAAAACTGATTATGCCAATGAATG	494		
Query 130	CCAGCTATCCTGAGGGAAACTTCGGAGGGAAACCGCTACTAGATGGTTCGATTAGTCTTT	189		
Sbjet 493	CCAGCTATCCTGAGGGAAACTTCGGAGGGAAACCGCTACTAGATGGTTCGATTAGTCTTT	434		
Query 190	CGCCCTATACTCACGTTTGACGATCGAATTCACGTCAGAACTCGCTACGGTCTCCACC	249		
Sbjet 433	CGCCCTATACTCACGTTTGACGATCGAATTCACGTCAGAACTCGCTACGGTCTCCACC	374		
Query 250	AGAGTTTCCTCTGGCTTCAACCTACGCAAGCATAGTTCACCATCTTTCGGGTCTCAAC	309		
Sbjet 373	AGAGTTTCCTCTGGCTTCAACCTACGCAAGCATAGTTCACCATCTTTCGGGTCTCAAC	314		
Query 310	GTATGCTCATGCACCCGCCGTTGACGATCGAATTCACGTCAGAACTCGCTACGGTCTCCACC	369		
Sbjet 313	GTATGCTCATGCACCCGCCGTTGACGATCGAATTCACGTCAGAACTCGCTACGGTCTCCACC	255		
Query 370	AGGACACGACGACGTCGGAAGCCTTACAAATGTCGATGACACACCATATGGGACGGGCGG	429		
Sbjet 254	AGGACACGACGACGTCGGAAGCCTTACAAATGTCGATGACACACCATATGGGACGGGCGG	195		
Query 430	GTGATGCGCCCGCGGCTTCGACTGTG--CACACAGGCACAGCGAAAGAGTGCCTAACAA	487		
Sbjet 194	GTGATGCGCCCGCGGCTTCGACTGTG--CACACAGGCACAGCGAAAGAGTGCCTAACAA	136		
Query 488	CGGGATCTCACATGTCGCTCCATACCGGCTCCACCGCTCCAAATGAGAGCGGTAAGA	546		
Sbjet 135	CGGGATCTCACATGTCGCTCCATACCGGCTCCAAATGAGAGCGGTAAGA	76		
Query 547	ATGAGGACACAGCGCGAGCCCTCAGTTTCACTACGCGCTCGGGGTTTCGTAGGACCCCTTGA	606		
Sbjet 75	ATGAGGACACAGCGCGAGCCCTCAGTTTCACTACGCGCTCGGGGTTTCGTAGGACCCCTTGA	16		
Query 607	CTTGATGTCAT 617			
Sbjet 15	CTTGATGTCAT 5			

Hình 7: So sánh sự sai khác trình tự nucleotide mẫu so với mã đã đăng ký của Mỹ

Hiện các loài ký sinh trùng đã lần lượt được giải mã gen và đăng ký vào NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) tạo cơ sở dữ liệu để có thể truy cập ứng dụng trong chẩn đoán, giám định và phân loại. Có

trên 140 gen ty thể đã được bổ sung và phân tích hoàn toàn, trên 100 hệ gen ty thể khác từng phần được giải mã gen, bao gồm các loài quan trọng từ bậc thấp đến bậc cao, từ đơn bào đến đa bào, cung

cấp một hệ thống quan trọng trong nghiên cứu gen và quan hệ giống loài (Nguyễn Văn Đê, 2006). Để làm sáng tỏ hơn về sự tương đồng của các trình tự, nghiên cứu tiến hành đối chiếu trình tự của nucleotide của đoạn gen 28S thu được từ mẫu cùng đoạn gen này trong NCBI do Litvaitis, M. K. and Rohde, K công bố năm 2000. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng có đến 96% sự tương đồng trong kiểu gen của mẫu sán trong nghiên cứu so với mẫu sán đã được đăng ký trong ngân hàng gen, kết quả cũng cho thấy có 31 vị trí sai khác về nucleotide của đoạn gen khảo sát và đoạn gen mẫu của NCBI. Như vậy, các mẫu sán khảo sát được giải trình tự để định danh là loài *D. caninum*, kết quả phù hợp với nhận định của Blair and Agatsuma (1997), sự sai khác nucleotide từ bằng đến dưới 5% là biến đổi nội loài và trên 5% là biến đổi ngoại loài.

4 KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm sán dây trên chó tại các tỉnh ĐBSCL chiếm tỷ lệ 26,30%.

Có 5 loài sán dây được tìm thấy thuộc hai bộ *Pseudophylidea* và *Cyclophilydea*, 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 ĐBSCL. Trình tự loài sán dây *Dipylidium caninum* tại thu được tại các tỉnh khảo sát được định danh bằng sinh học phân tử có độ tương đồng cao về trình tự nucleotide so với mã đăng ký là AF023120.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abdi, J., Asadolahi, K., Maleki, H.M., Hafez, A.A., 2013. Prevalence of Helminthes Infection of Stray Dogs in Ilam Province. *Journal of Paramedical Sciences (JPS)*. 58-61.

Beugnet, F., Labuschagne, M., Fourie, J. *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*, ScienceDirect journal, VETPAR-7286: 7.

Blair, D., Agatsuma, T., Watanobe, T., Okamoto, M., & Ito, A. (1997). Geographical genetic structure within the human lung fluke, *Paragonimus westermani*, detected from DNA sequences. *Parasitology*, 115(4), 411-417.

Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, 2016. Tăng cường công tác phòng, chống bệnh Đại trên động vật. Công văn 3596/BNN-TY.

Bowman, D. D., Lynn, R. C., Eberhard, M. L., 2003. *Georgis' Parasitology for Veterinarians*, 8th Edition. Elsevier Science. USA. St. Louis: Saunders. 83-115.

Cabello, R, Ruiz A. C., Feregrino R. R., Romero L. C., Feregrino R. R., Zavala J. T., 2011. *Dipylidium caninum* infection, *BMJ Case Reports*, Published XXX, (10): 1-4.

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 ngày 18/09/2017 từ <http://www.impe-qn.org.vn/impe-n/vn/portal/InfoDetail.jsp?area=58&cat=1068&ID=2253>.

Lê Văn Thọ, 2010. Cách chăm sóc chó cưng. Tp Hồ Chí Minh: Nhà xuất bản Nông Nghiệp. Tr. 56.

Litvaitis, M.K. and Rohde, K., 2000, A molecular test of platyhelminth phylogeny: inferences from partial 28S rDNA sequences, *Invertebr. Biol.* 118, 42-56.

Mehlhorn, H. 2016. *Animal Parasite (Diagnosis, Treatment, Prevention)*. Springer International Publishing, Switzerland, Switzerland. 312-315.

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. Tr. 112.

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*. 3(3): 76 – 90.

Nguyễn Văn Đê, 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.

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.

Phạm Ngọc Thạch, 2010. Cẩm nang nuôi chó. NXB Nông Nghiệp. Hà Nội. 1-3.

Skriabin, K.I and Petrov, A.M., 1963. Nguyên lý giun tròn tập I (do Bùi Lập, Đoàn Thị Băng Tâm, Tạ Thị Vinh dịch từ nguyên bản tiếng Nga), Nhà xuất bản Khoa học Kỹ thuật, Hà Nội 1977, Tr. 34-35.

Soulsby, E.J.L., 1982. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*, Seventh Edition, Bailliere Tindall, London, p. 319.

Thrusfield, M., 2007. *Veterinary epidemiology*, Third Edition. *Veterinary Clinical Studies*, University of Edinburgh. Blackwell Science Ltd, Oxford OX4 2DQ, UK. 434-440.

Tylkowska, A., Pilarczyk, B., Gregorczyk, A., Templin, E., 2010. Gastrointestinal helminths of dogs in Western Pomerania, Poland. *Wiadomości Parazytologiczne* 2010, 56(3): 269–276.