

## PHÁT HIỆN LOÀI SÁN DÂY *TAENIA ASIATICA* KÝ SINH TRÊN NGƯỜI Ở VIỆT NAM BẰNG PHƯƠNG PHÁP GIÁM ĐỊNH SINH HỌC PHÂN TỬ

LÊ THANH HOÀ, NGUYỄN BÍCH NGÀ

*Viện Công nghệ sinh học*

NGUYỄN VĂN ĐỀ, LÊ ĐÌNH CÔNG

*Viện Sốt rét, Ký sinh trùng và Côn trùng*

NGUYỄN QUỐC DOANH

*Viện Thú y*

Trong những thập kỷ qua, nhiều điều tra nghiên cứu cho thấy ở nước ta, sán dây ký sinh ở người là sán dây bò (*Taenia saginata*) và sán dây lợn (*Taenia solium*), trong đó sán dây bò chiếm 78-80%. Tỷ lệ nhiễm sán dây ở đồng bằng Việt Nam là 0,5-2%, ở miền núi là 2-6% [1]. Lớp sán dây (Cestoda Rudolphi, 1808) có rất nhiều loài ký sinh ở động vật có xương sống, trong đó ký sinh ở người chủ yếu là loài sán dây bò *Taenia saginata* (*Taeniarhynchus saginatus*), Goeze 1782 và loài sán dây lợn *Taenia solium*, Linnaeus 1758 [2, 3]. Gần đây, ở một số nước châu Á, có một loài mới gọi là loài sán dây châu Á (*Taenia asiatica*) đã được phát hiện và xác định [4, 5]. Tỷ lệ nhiễm loài này tại Đài Loan là 11,0%, tại Hàn Quốc là 6,0%, tại Indônêxia là 21% [5]. Năm 1905, tại Việt Nam, có loài sán dây *Taenia tonkinensis* Railliet et Hanry, 1905, được thông báo ký sinh trên người tại Bắc Bộ, nhưng không được nghiên cứu một cách đầy đủ [3].

Vấn đề xác định thành phần loài sán nhiễm trên người là hết sức quan trọng trong công tác phòng chống vì loài sán có liên quan chặt chẽ đến vật chủ trung gian truyền bệnh. Những kết quả định loại sán thu từ người dựa vào hình thái dễ có sai sót, nhất là việc phân biệt hình thái giữa *T. saginata* và *T. asiatica*. Một vấn đề cần được quan tâm nghiên cứu là liệu ở Việt Nam có tồn tại loài sán dây châu Á (*T. asiatica*) hay không? Các kết quả này sẽ tạo cơ sở khoa học cho những nghiên cứu tiếp theo để phòng chống bệnh sán dây cho cả người và gia súc.

Hơn một thập kỷ qua, phương pháp giám định loài sinh vật dựa trên đặc điểm phân tử ADN đã được phát triển và đang được sử dụng rộng rãi. Thực chất của phương pháp phân loại này là dựa vào các đặc điểm kiểu gen thay cho kiểu hình. Lợi thế của phương pháp sinh học phân tử là cho kết quả có độ tin cậy cao, cần ít mẫu vật và không phụ thuộc vào các giai đoạn phát triển cá thể của sinh vật, rất phù hợp cho việc định loại sán dây ký sinh ở người. Hiện nay, ADN của hệ gen ty thể đang được sử dụng phổ biến trong phương pháp phân loại nhiều loài ký sinh trùng. Ưu điểm của ADN ty thể là: ở thể đơn bội, không tái tổ hợp, di truyền theo dòng mẹ và có tỷ lệ biến đổi nucleotit cao. Những tính chất này làm cho việc phân tích quan hệ họ hàng và tiến hoá của sinh vật ở mức độ phân tử trở nên đơn giản nhưng chính xác và đang được ứng dụng để giám định loài trên thế giới, trong đó có định loại sán dây [6, 7]. Trong nghiên cứu này, sử dụng phương pháp định loại sinh học phân tử hệ gen ty thể, chúng tôi đã phát hiện lần đầu tiên loài sán dây *T. asiatica* có ở Việt Nam.

### I. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Mẫu sán dây nghiên cứu

Mẫu nghiên cứu là đốt sán dây trưởng thành thu hồi từ một bệnh nhân nam 14 tuổi tại Hà Nội, tháng 5 năm 2000. Bệnh nhân này có đốt sán ra theo phân hàng ngày trong 1 tháng trước khi nhập viện, đốt sán có khả năng cử động, có

giãn như sán dây bò. Đốt sán được cố định trong cồn 70% và bảo quản lạnh ở -20°C, cho đến khi sử dụng.

## 2. Chọn chuỗi so sánh

Chúng tôi dùng phương pháp truy cập Ngân hàng gen (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), để tìm kiếm tất cả các chuỗi nucleotit hiện có của hệ gen ty thể (mtDNA) của tất cả các loài thuộc giống *Taenia* đã được đăng ký cho đến hiện nay. Kết quả đã thu nhận được rất nhiều chuỗi nucleotit, trong đó chúng tôi chọn chuỗi *cytochrome oxidase 1 (cox1)* và chuỗi *cytochrome oxidase b (cob)*, là những gen có độ bảo tồn rất cao trong hệ gen ty thể [6, 7] để làm số liệu so sánh trong giám định loài sán dây của Việt Nam (ký hiệu là TspVN).

## 3. Thiết kế và tổng hợp môi PCR

Chúng tôi nhận định rất có thể loài sán dây TspVN là *Taenia asiatica* (Fan, 1988; Bowles và cs, 1994), vì hình thái của mẫu thu được có

khác với loài *T. saginata* (sán dây bò) và *T. solium* (sán dây lợn). Do vậy, cặp môi (primer) dùng trong nhân bản ADN đích bằng phản ứng PCR (polymerase chain reaction), được thiết kế trên cơ sở các trình tự bảo tồn của gen *cox1* (Ngân hàng gen, số đăng ký: AB066494) và gen *cob* (Ngân hàng gen, số đăng ký: AB066580) của *T. asiatica* (chùng Đài Loan). Cặp môi cho gen *cox1*: Tacox1F: 5'ATTGGGTTTGTGGTCAGG3' và Tacox1R: 5'CCAACCATAAACATATGATGAGCCCA3' nhân đoạn gen dài 652 nucleotit; cặp môi cho gen *cob*: TacytF: 5'ATGGGTGAGGCTTTTACTG3' và TacytR: 5'ATTCTGGATGGCAACCACCC3' nhân đoạn gen dài 800 nucleotit, dựa trên chuỗi gen tương ứng của *T. asiatica*, chùng Đài Loan. Các trình tự tương ứng với đoạn ADN nghiên cứu từ một số quần thể thuộc giống *Taenia* đã được đăng ký tại Ngân hàng gen và công bố trên các tạp chí quốc tế [7] được sử dụng để so sánh đối chiếu (bảng 1).

Bảng 1

Các chuỗi nucleotit dùng để so sánh trong giám định phân tử loài *Taenia* TspVN

Loài	Nguồn gốc	Ký hiệu	Số đăng ký (Ngân hàng Gen)	
			<i>cob</i>	<i>cox1</i>
<i>Taenia</i> TspVN	Việt Nam	VN	AF429313	AF429314
<i>T. asiatica</i>	Đài Loan	TW	AB066580	AB066494
<i>T. saginata</i>	Trung Quốc	CN	AB066581	AB066495
<i>T. solium</i>	Trung Quốc	CN	AB066570	AB066485
	Thái Lan	TL	AB066572	AB066487
	Indônêxia	IN	AB066573	AB066488
	Tanzania	TZ	AB066578	AB066493
	Mêhicô	MX	AB066575	AB066490
<i>T. crassiceps</i>	Mỹ	US	AF216699	

## 4. Tách chiết ADN tổng số

ADN tổng số được tách chiết bằng bộ hoá chất DNeasy Tissue Kit (QIAGEN Inc.) theo quy trình của nhà sản xuất. Mô tả rút gọn như sau: mẫu vật bảo quản trong cồn 70% được lấy ra và cho cồn bay hơi hết trong ly tâm chân không, sau đó rửa nhiều lần trong PBS. Mẫu vật được nghiền kỹ và xử lý với các dung môi của Kit, rồi hấp phụ lên màng và ly chiết ADN theo quy trình tách chiết. Hàm lượng ADN sử dụng cho mỗi phản ứng PCR (50 microlit) là khoảng 150 nanogram

## 5. PCR và giải trình tự

ADN đích đã được nhân bản bằng PCR tiêu chuẩn với bộ hoá chất PCR Master Mix Kit (Promega). Chu trình nhiệt của PCR trên máy Perkin-Elmer (Perkin-Elmer Inc., Mỹ) gồm các bước như sau: 1 94°C-5 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ: 94°C-1 phút, 50°C-1 phút và 72°C-1 phút, chu kỳ cuối kéo dài 10 phút ở 72°C. Sản phẩm PCR được tinh chế bằng bộ hoá chất QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN Inc.) và được đồng hoá vào vector pCR2.1 của bộ hoá chất TA-cloning Kit (Invitrogen Inc.). Vector pCR2.1 tiếp nhận sản phẩm PCR được chuyển nạp vào dòng tế bào IVN $\alpha$ F' và chọn lọc khuẩn lạc theo phương pháp kháng sinh và chỉ thị màu [8]. ADN của plasmid có chứa PCR được tách chiết với bộ hoá chất QIAprep Spin Plasmid Extraction Kit (QIAGEN Inc.). Chuỗi ADN được giải trình tự trên máy giải trình tự động ABI 377 PRISM (Perkin-Elmer) và thực hiện với số lượng nhiều plasmid tái tổ hợp nhằm thu được kết quả chính xác. Sắp xếp, đối chiếu trình tự tương ứng của từng đoạn gen bằng hệ chương trình máy tính AssemblyLIGN 1.9 và MacVector 6.5.3 (Oxford Molecular Inc.). Trình tự axit amin được dịch mã theo bảng mã di truyền mt-DNA số 21 của sán dẹt (platyhelminth mtDNA genetic code) giới thiệu trong Ngân hàng gen.

## 6. Địa điểm tiến hành

Công việc giám định phân tử và giải trình trình tự được tiến hành tại Phòng thí nghiệm Ký sinh trùng học phân tử thuộc Viện nghiên cứu Y học Queensland (Molecular Parasitology Laboratory, Queensland Institute of Medical Research (QIMR), Australia).

## II. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

### 1. Đối chiếu so sánh phân đoạn gen *cox1*

Hình 1 biểu thị so sánh đối chiếu trình tự của 800 nucleotit và 266 axit amin của đoạn gen *cox1* của *Taenia* TspVN với chuỗi chuẩn tương ứng của *Taenia asiatica* (chủng Đài Loan), *T. saginata* (Trung Quốc), *T. crassiceps* (Mỹ) và các chủng khác nhau trên thế giới của loài *T. solium*. Chỉ có 2 sai khác về nucleotit ở vị trí 115 (C) và vị trí 720 (C), và 1 sai khác tương ứng về axit amin (N $\rightarrow$ T) ở vị trí 39 do

bộ mã di truyền bị chuyển đổi (AAC $\rightarrow$ ACC) giữa *Taenia* TspVN với *T. asiatica* của Đài Loan (hình 1A và 1B). Mức độ tương ứng về hai thành phần là rất cao, 99,8% (nucleotit) và 99,6% (axit amin). *T. saginata* sai khác với *T. asiatica* ở mức độ 26/800 (nucleotit), chiếm tỷ lệ 96,7% và 2/266 (axit amin) chiếm tỷ lệ 99,3%, trong khi đó các chủng của *T. solium* và *T. crassiceps* có mức độ tương ứng thấp hơn, dưới 90%. Như vậy, với thành phần sai khác rất thấp trong gen *cox1* của TspVN với *T. asiatica* (Đài Loan), và rất cao với các loài khác, cho phép *Taenia* TspVN được xác định thuộc loài *T. asiatica*. Đoạn gen *cox1* của *T. asiatica* (Việt Nam) được đăng ký trong Ngân hàng gen với số hiệu: AF429314.

### 2. Đối chiếu so sánh phân đoạn gen *cob*

Trong hình 2, đối chiếu trình tự của 652 nucleotit và 217 axit amin của đoạn gen *cob* của mẫu sán dây nghiên cứu của Việt Nam với các trình tự tương ứng của *Taenia asiatica* ở Đài Loan, chỉ có sai khác 2 nucleotit, đó là ở các vị trí 102 (C) và 650 (T), tỷ lệ tương ứng đạt 99,7%, và 1 axit amin ở vị trí 217 (E $\rightarrow$ V) do thay đổi bộ mã di truyền GAA $\rightarrow$ GTA, tỷ lệ tương ứng đạt 99,5%. Sự sai khác T $\rightarrow$ C ở vị trí 102 không làm thay đổi axit amin. Trong lúc đó, *T. saginata* của Trung Quốc có sai khác với *T. asiatica* Đài Loan tới 24 nucleotit, tỷ lệ tương ứng là 96,3% và *T. solium* của Trung Quốc có sai khác với *T. asiatica* Đài Loan tới 105 nucleotit, tỷ lệ tương ứng là 83,9%. Mức sai khác về thành phần axit amin của các loài này cũng rất cao, đặc biệt với loài có họ hàng xa là *T. crassiceps*, tỷ lệ tương ứng chỉ đạt khoảng 85%. Rõ ràng, cũng như ở gen *cox1*, với hệ số tương ứng gần như là đồng nhất trong gen *cob*, *Taenia* TspVN là thuộc loài *T. asiatica* và có quan hệ họ hàng rất gần với *T. asiatica* của Đài Loan. Đoạn gen *cob* của *T. asiatica* (Việt Nam) được đăng ký trong Ngân hàng gen với số hiệu: AF429313.

Mức độ tương đồng cao về trình tự nucleotit và axit amin giữa các chuỗi gen *cox1* và *cob* của mẫu sán dây ở Việt Nam với chuỗi gen mẫu của *Taenia asiatica* ở Đài Loan và so sánh với các loài khác ở Trung Quốc, Indônêxia, Thái Lan, Tanzania, Mêhicô, Mỹ, cho phép chúng ta

1A. Nucleotit

Tasi (TW) : TTGGGTTTGGTCAGGTTTGTAGGTTAAGATTAGTTTATTAAATTCGTGTAATTTTATAGAGCCTTATTATAATGTTATTTCTGGATTGTTATAATTTTGAATTAAGCATGGAATA 1286  
Tsp (VN) : .....G.....T.....A.....G.....A.....T.....C..... 1286  
Tsaq (CN) : .....G.....T.....A.....G.....A.....T.....C..... 1286  
Tsol (CN) : .....T.....A.....T.....A.....C.....C.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1286  
Tsol (TL) : .....T.....A.....T.....A.....C.....C.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1286  
Tsol (IN) : .....G.....T.....A.....G.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1286  
Tsol (TS) : .....G.....T.....A.....G.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1286  
Tsol (MX) : .....G.....T.....A.....G.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1286  
Tera (US) : A.A.C.A.T.G.....G.....A.A.A.....T.....A.....A.T.....A.....A.....A.....T..... 1286

Tasi (TW) : ATAAATGATTTCTTTTTTATGATGCCCATTTTGTATAGGTGGTTTTGGTAAATATTAAATTCCTTTGGTGGTGGGTTATCTGATTAAACTGCGCTCGTTAAATGCGTTAAGTGCCTGGTTGTTG 1252  
Tsp (VN) : .....G.....T.....A.....C.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1252  
Tsaq (CN) : .....A.....T.....A.....T.....A.....C.....C.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1252  
Tsol (CN) : .....A.....T.....A.....T.....A.....C.....C.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1252  
Tsol (TL) : .....A.....T.....A.....T.....A.....C.....C.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1252  
Tsol (IN) : .....G.....T.....A.....T.....A.....T.....A.....C.....C.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1252  
Tsol (TS) : .....G.....T.....A.....T.....A.....T.....A.....C.....C.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1252  
Tsol (MX) : .....A.....T.....A.....T.....A.....T.....A.....C.....C.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T.....T..... 1252  
Tera (US) : T.....T.....C.....A.....A.....A.....A.....T.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....T.....A.....A.....G.....A.....A.....T..... 1252

Tasi (TW) : ATTCCTTCAATAGTTTTTCTTTAGTATAGTATGTTTGGGTGCTGGTATAGGGTGAACCTTTTATCCGCCCTTGTGCTGCTCATTATTTTCAAGTAGTAAGCGTGGGATTTTGTATGTTGCTG 1378  
Tsp (VN) : .....G.....G.....C.....G.....A.....C.....G.....C.....A.....A.....A.....T.....G.....G.....AG.A.GT.G.A.....A.....T.....T..... 1378  
Tsaq (CN) : .....G.....G.....C.....G.....A.....C.....G.....C.....A.....A.....A.....T.....G.....G.....AG.A.GT.G.A.....A.....T.....T..... 1378  
Tsol (CN) : .....G.....A.....T.....A.....G.....A.....C.....G.....C.....A.....A.....A.....T.....G.....G.....AG.A.GT.G.A.....A.....T.....T..... 1378  
Tsol (TL) : .....G.....A.....T.....A.....G.....A.....C.....G.....C.....A.....A.....A.....T.....G.....G.....AG.A.GT.G.A.....A.....T.....T..... 1378  
Tsol (IN) : .....G.....A.....T.....A.....G.....A.....C.....G.....C.....A.....A.....A.....T.....G.....G.....AG.A.GT.G.A.....A.....T.....T..... 1378  
Tsol (TS) : .....G.....A.....T.....A.....G.....A.....C.....G.....C.....A.....A.....A.....T.....G.....G.....AG.A.GT.G.A.....A.....T.....T..... 1378  
Tsol (MX) : .....G.....A.....T.....A.....G.....A.....C.....G.....C.....A.....A.....A.....T.....G.....G.....AG.A.GT.G.A.....A.....T.....T..... 1378  
Tera (US) : .....T.....T.....T.....A.....A.....A.....A.....T.....A.....G.....G.....T.....A.....T.....ATA.G.....A.....T.....A.....A.....T..... 1378

Tasi (TW) : TTGCATTAGCCGGTGGCTCAGAAATTTTATGTTCTAATTAATTTTATTTGATCTTATATAGAATATTATGACTAATATATTTTCTGCTACTTCTATAATATTATGGGCTTATTATTAGTCA 1504  
Tsp (VN) : .....G.....G.....G.....G.....A.....G.....T.....A.....G.....G.....AT.....A.....T..... 1504  
Tsaq (CN) : .....T.....TA.A.T.....A.....A.....G.....T.....A.....G.....G.....AT.....A.....T..... 1504  
Tsol (CN) : .....T.....TA.A.T.....A.....A.....G.....T.....A.....G.....G.....AT.....A.....T..... 1504  
Tsol (TL) : .....T.....TA.A.T.....A.....A.....G.....T.....A.....G.....G.....AT.....A.....T..... 1504  
Tsol (IN) : .....T.....TA.A.T.....A.....A.....G.....T.....A.....G.....G.....AT.....A.....T..... 1504  
Tsol (TS) : .....T.....TA.A.T.....A.....A.....G.....T.....A.....G.....G.....AT.....A.....T..... 1504  
Tsol (MX) : .....T.....TA.A.T.....A.....A.....G.....T.....A.....G.....G.....AT.....A.....T..... 1504  
Tera (US) : .....G.....T.....GTTA.....T.....C.....A.....A.....A.....A.....CTG.G.....A.....T.....TC.T.....AT.A.....C.T.....T..... 1504

Tasi (TW) : ATCTTATTGTTAGTACTCTCTGTTTACGACGCTGCTATTACTATGCTTTTATTTGATCGTAAATTTAGTTCGCGTTTTTGTATCCGTTAGGTTGGTGGTATCCTGTTTATTTCACATATG 1630  
Tsp (VN) : .....T.....A.....A.....A.....C.....C.....C.....C.....A.....G.....A.....G.....A.....G.....G.....A.....G.....A.....G.....A.....G.....A..... 1630  
Tsaq (CN) : .....T.....A.....A.....A.....C.....C.....C.....C.....A.....G.....A.....G.....A.....G.....G.....A.....G.....A.....G.....A.....G.....A..... 1630  
Tsol (CN) : .....G.....A.....G.....T.....A.....T.....G.....C.....G.....C.....G.....G.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....A.....G.....A.....G.....A..... 1630  
Tsol (TL) : .....G.....A.....G.....T.....A.....T.....G.....C.....G.....C.....G.....G.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....A.....G.....A.....G.....A..... 1630  
Tsol (IN) : .....G.....A.....G.....T.....A.....T.....G.....C.....G.....C.....G.....G.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....A.....G.....A.....G.....A..... 1630  
Tsol (TS) : .....G.....A.....G.....T.....A.....T.....G.....C.....G.....C.....G.....G.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....A.....G.....A.....G.....A..... 1630  
Tsol (MX) : .....G.....A.....G.....T.....A.....T.....G.....C.....G.....C.....G.....G.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....A.....G.....A.....G.....A..... 1630  
Tera (US) : .....A.....GC.AA.....AT.G.....T.....G.....G.....A.....A.....A.....A.....G.....G.....A.....A.....G.....G.....A.....A.....G.....A..... 1630

Tasi (TW) : TTTTGGATTTTTGGTCAATCCGGAGGTTATGTTTTAATTAATTCCTGGTTTTGGTATGATTAGTCAATATATGTTTAAAGAAATAGTATGTTCCGGATGCTTTTGGTTTTATGTTGTTATTTGCT 1756  
Tsp (VN) : .....A..... 1756  
Tsaq (CN) : .....A..... 1756  
Tsol (CN) : .....C.....G.....G.....G.....G.....A.....G.....T.....T.....C.....G.....G.....A.....G.....A.....G..... 1756  
Tsol (TL) : .....C.....G.....G.....G.....G.....A.....G.....T.....T.....C.....G.....G.....A.....G.....A.....G..... 1756  
Tsol (IN) : .....C.....G.....G.....G.....G.....A.....G.....T.....T.....C.....G.....G.....A.....G.....A.....G..... 1756  
Tsol (TS) : .....C.....G.....G.....G.....G.....A.....G.....T.....T.....C.....G.....G.....A.....G.....A.....G..... 1756  
Tsol (MX) : .....C.....G.....G.....G.....G.....A.....G.....T.....T.....C.....G.....G.....A.....G.....A.....G..... 1756  
Tera (US) : .....T.....A.....G.....AT.G.....G.....A.....T.....A.....T.....G.....A.....AA.TGT.....T.....A.....A..... 1756

Tasi (TW) : ATGTTTTCAATAGTATGTTGGGGAGAAGTGTGGGGTCAATCA 1800  
Tsp (VN) : .....G.....A..... 1800  
Tsaq (CN) : .....G.....A..... 1800  
Tsol (CN) : .....A..... 1800  
Tsol (TL) : .....A..... 1800  
Tsol (IN) : .....A..... 1800  
Tsol (TS) : .....A..... 1800  
Tsol (MX) : .....G.....A..... 1800  
Tera (US) : .....T.....A.....T.....G.....T.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A.....A..... 1800

1B. Axit amin

Tasi (TW) : LGLWSGFVGLSFLLRVNFLEPPYNNVLSDCYNFLITHNGIIMIFFFLMPLIGGFVGLVLIPLVGLSDDLNLPRLNALSANLLIPSIVFLLVSMC : 96  
Tsp (VN) : .....T..... 96  
Tsaq (CN) : .....MA..... 96  
Tsol (CN) : .....IS.....V.....I..... 96  
Tsol (TL) : .....IS.....V.....I..... 96  
Tsol (IN) : .....V.....I..... 96  
Tsol (TS) : .....V.....I..... 96  
Tsol (MX) : .....V.....I..... 96  
Tera (US) : I.....I.....F.....I.....L.....S.....LF.....I.....S : 96

Tasi (TW) : LGAGIGHTFYPPLSSSLFSSNGVDFLMFSLHLGASSIFSSINFICTLYSIFMTNIFRSTIILWAYLFTSILLVLPVLAATAITMLFDRNFS : 192  
Tsp (VN) : ..... 192  
Tsaq (CN) : ..... 192  
Tsol (CN) : .....GS.....V.....V.....V.....S.....V..... 192  
Tsol (TL) : .....GS.....V.....V.....V.....S.....V..... 192  
Tsol (IN) : .....GS.....V.....V.....V.....S.....V..... 192  
Tsol (TS) : .....GS.....V.....V.....V.....S.....V..... 192  
Tsol (MX) : .....GS.....V.....V.....V.....S.....V..... 192  
Tera (US) : .....YM.N.....Y.....L.....TV.....S.....I..... 192



580 600 620 640

Tasi (TW) : GTATATAATGTATGGCGTCAGGTTAAATTTTGATTGATTGTAAGTTATTTTTTCCTTAATTTATTTGGGTGGTCCCATCCAGAAT : 652  
Tsp (VN) : .....T. : 652  
Tsag (CN) : .....G.....A.....T..... : 652  
Tsol (CN) : ..G.....A.....AA.....G..T..A...A..G.....T.C.....A.....A.T.....T..G. : 652  
Tsol (TL) : ..G.....A.....A.....AA.....G..T..A...A..G.....T.C.....A.....A.T.....T..G. : 652  
Tsol (IN) : ..G.....A.....A.....AA.....G..T..A...A..G.....T.C.....A.....A.T.....T..G. : 652  
Tsol (TZ) : ..G.....A.....A.....AA.....G..T..A...A..G.....T.C.....A.....A.T.....T..G. : 652  
Tsol (MX) : ..G.....A.....A.....AA.....G..T..A...A..G.....T.C.....A.....A.T.....T..G. : 652  
Tera (US) : ..T.....GGT..GTA.....TT.....T..A.T..A..G...G...A..G.C.....A.....A.T.....T..G. : 652

## 2B. Axit amin

20 40 60 80 100

Tasi (TW) : HGEAFTGYILFMHQMSYNAATVLSIVDLSLPIFGHVVYKYVGGFSAVSGITLIRVLSVHICLGFVILGIMVIMHMYLHNBSNPLFSFNYSBVIYFHSYFTVKDFVLF : 110  
Tsp (VN) : .....K..... : 110  
Tsag (CN) : .....L.S.I.....V.....V.....I.V.....K..G..... : 110  
Tsol (CN) : .....L.S.I.....V.....V.....I.V.....K..G..... : 110  
Tsol (TL) : .....L.S.I.....V.....V.....I.V.....K..G..... : 110  
Tsol (IN) : .....L.S.I.....V.....V.....I.V.....K..G..... : 110  
Tsol (TZ) : .....L.S.I.....V.....V.....I.V.....K..G..... : 110  
Tsol (MX) : .....L.S.I.....V.....V.....I.V.....K..G..... : 110  
Tera (US) : .....IE...FV.FBL.S.....V.....M..I.....Y..KK.....Y..Y.SG...V.....I..F. : 110

120 140 160 180 200

Tasi (TW) : HNVVHFVYVILFVSPDALVDIEAYLEADSLNTPVSIKPEMYFLSFWAILRCIGSRIKGGVLLIVAFLLFMVFTNBSGSVYVWVWQVHFNVLVLFSLIYLGCHPE : 217  
Tsp (VN) : .....V : 217  
Tsag (CN) : .....S..... : 217  
Tsol (CN) : ..TS..I.....G.....S.....P.....MB.....D.....I..I..F.IN...F..... : 217  
Tsol (TL) : ..TS..I.....G.....S.....P.....MB.....D.....I..I..F.IN...F..... : 217  
Tsol (IN) : ..TS..I.....G.....S.....P.....MB.....D.....I..I..F.IN...F..... : 217  
Tsol (TZ) : ..TS..I.....G.....S.....P.....MB.....D.....I..I..F.IN...F..... : 217  
Tsol (MX) : ..TS..I.....G.....S.....P.....MB.....D.....I..I..F.IN...F..... : 217  
Tera (US) : .VFGS..IV...LM...L.L..S.....P.S.....A..T.....I..Ls.....G...SLV...I..F.I..V..T..... : 217

Hình 2. So sánh trình tự 652 nucleotit (A) và 217 axit amin (B) của đoạn gen *cob* của *Taenia* TspVN với *Taenia asiatica* (Đài Loan), *T. saginata* (Trung Quốc), *T. crassiceps* (Mỹ) và các chủng khác nhau trên thế giới của loài *T. solium*. Ghi chú: dấu (.) : biểu thị giống với trình tự *Taenia asiatica* (Đài Loan); sai khác về nucleotit hoặc axit amin được thể hiện bằng các chữ cái ký hiệu của chúng. Tasi = *T. asiatica*; Tsag = *T. saginata*; Tsol = *Taenia solium*; Tera = *Taenia crassisepe*; TW = Đài Loan, CN = Trung Quốc, TL = Thái Lan, IN = Indônêxia, TZ = Tanzania, MX = Mêhicô, US = Mỹ.

kết luận loài sán dây trên mẫu nghiên cứu thu hồi từ người Việt Nam (tại Hà Nội) là *Taenia asiatica*. Do quan hệ về lịch sử tiến hoá [4, 5], trước đây người ta vẫn coi *T. asiatica* là loài phụ (subspecies) của *T. saginata*, với tên gọi kép là *T. saginata asiatica*. Những bằng chứng sinh học phân tử gần đây đã chính thức phân biệt với loài sán dây bò *T. saginata* và tách biệt thành loài mới ký sinh trên người: *Taenia asiatica*, phân bố và gây bệnh ở các nước Đông và Đông-Nam châu Á.

Như vậy, loài sán dây *T. asiatica* ký sinh riêng cho người đã được phát hiện ở Việt Nam; nhất thiết cần có những biện pháp dịch tễ ngăn chặn loại bệnh ký sinh trùng nguy hiểm này.

### III. KẾT LUẬN

- Bằng kỹ thuật sinh học phân tử dựa trên phản ứng PCR, mẫu vật sán dây thu hồi ở người Việt Nam tại Hà Nội được xác định là loài *Taenia asiatica*.

- Loài sán dây *T. asiatica* ở Việt Nam và ở Đài Loan có mức độ tương ứng cao về cấu trúc

di truyền (99,7-99,8%) qua so sánh trật tự nucleotit và axit amin.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Đê và cs., 1998: Thông tin phòng chống sốt rét và các bệnh ký sinh trùng, 2: 29-32.
2. Nguyễn Thị Lê và cs., 2000: Lớp sán dây. *Giun sán học đại cương*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật: 21.
3. Phan Thế Việt và cs., 1997: *Giun sán ký sinh ở động vật Việt Nam*. Nxb Khoa học và Kỹ thuật Hà Nội: 218.
4. BOWLES J. and MCMANUS D.P., 1994: *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 50: 33-44.
5. FAN P. C., 1995: Annual economic loss caused by *Taenia saginata asiatica*, Taeniasis in three endemic areas of East Asia. *Abstract of second seminar on Food-borne Parasitic Zoonoses- Thailand*: 25.
6. LE T. H., BLAIR D. and MCMANUS D. P., 2000: *Acta Tropica*, 77: 243-256.

7. Lê Thanh Hoà và MCMANUS D. P., 2001: Tập san Sinh học - Hội nghị quốc tế về sinh học, 2-4/7/2001 Hà Nội: 101-108.
8. SAMBROOK J. and RUSSELL D., 2001: *Molecular Cloning: A Laboratory Manual. (3rd ed.)* Cold Springs Harbor Press, Cold Springs Harbor N. Y.

## MOLECULAR IDENTIFICATION OF *TAENIA ASIATICA* - A NEW HUMAN *TAENIID* SPECIES FOR VIETNAM

LE THANH HOA et al.

### SUMMARY

A portion of the mitochondrial-encoded *cob* and *cox1* gene of the proglottide collected from a Taeniasis patient in Hanoi, Vietnam, was amplified by polymerase chain reaction (PCR) and the nucleotide and amino acid sequences were comparatively aligned with the known corresponding sequences of *Taenia asiatica* (geographical origin: Taiwan) and other related *Taenia* species (GenBank and published data) using special programs. Molecular-based analysis revealed that the *Taenia* species from this patient in Hanoi is *Taenia asiatica*. There was high nucleotide and amino acid similarity (99.7-99.8%) between *T. asiatica* in Vietnam and *T. asiatica* in Taiwan. Now that the causative agent of human taeniasis has now been identified in Vietnam, all steps should dramatically be taken to instigate control programs against this important disease.

Ngày nhận bài: 28-11-2001