

QUAN HỆ TIẾN HÓA PHÂN TỬ CỦA GIUN ĐŨA CHÓ *Toxocara canis* THU TẠI TỈNH PHÚ THỌ

Nguyễn Thị Quyên^{1*}, Nguyễn Thị Kim Lan², Phạm Ngọc Doanh³

¹Trường Đại học Hùng Vương, Phú Thọ, *quyendhvh@gmail.com

²Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên

³Viện Sinh thái và Tài nguyên sinh vật, Viện Hàn lâm KH & CN Việt Nam

TÓM TẮT: Trong số các loài giun đũa thuộc giống *Toxocara* và *Toxascaris*, loài *Toxocara canis* phân bố rộng trên thế giới và ấu trùng có thể nhiễm cho người. Ở Việt Nam, trong những năm gần đây, tỷ lệ người nhiễm ấu trùng giun đũa chó tương đối cao, vì vậy, rất được quan tâm nghiên cứu. Tuy nhiên, các tác giả chủ yếu tập trung điều tra dịch tễ và định loại dựa vào hình thái, có rất ít nghiên cứu về phân tử của giun đũa chó. Trong nghiên cứu này chúng tôi phân tích mối quan hệ tiến hóa phân tử của giun đũa chó thu tại tỉnh Phú Thọ dựa trên trình tự ITS2 và CO1. Kết quả phân tích khẳng định giun đũa chó tại Phú Thọ thuộc loài *T. canis*, có độ tương đồng cao về di truyền và quan hệ gần với quần thể của loài này ở Quảng Đông, Trung Quốc. Trình tự ITS2 và CO1 của *T. canis* khác xa với các loài trong giống *Toxocara* và loài *Ta. leonina*, cho thấy đây là các chỉ thị phân tử có giá trị trong định loại các loài giun đũa chó.

Từ khóa: *Toxocara canis*, mối quan hệ tiến hóa phân tử, ITS2, CO1.

MỞ ĐẦU

Giun đũa chó bao gồm một số loài gây bệnh cho người và động vật như *Toxocara canis*, *T. cati*, *T. vitulorum*, *T. mystax* và *Toxocararis leonina* [5, 8]. Trong đó, *T. canis* là loài phổ biến nhất và phân bố rộng trên toàn thế giới [5]. Vật chủ chính (chó, mèo) bị nhiễm bệnh do nuốt phải trứng giun đã phát triển đến giai đoạn cảm nhiễm chứa ấu trùng L2. Người vô tình nuốt phải trứng giun thì ấu trùng giun đũa không phát triển đến trưởng thành mà di hành trong cơ thể gây ra nhiều thể bệnh ở người, như ấu trùng di hành ở dưới da, các nội quan, mắt hoặc não, gây ảnh hưởng lớn đến sức khỏe con người [11]. Cùng với *T. canis*, một loài khác, *Toxocararis leonina* (*Ta. leonina*) cũng phân bố rộng và ký sinh ở vật chủ chó, nhưng ấu trùng của chúng không nhiễm cho người. Mặc dù thuộc 2 giống khác nhau, nhưng chúng có đặc điểm hình thái rất giống nhau và cùng ký sinh trong ruột non của chó. Vì vậy, định loại những loài giun này bằng hình thái đôi khi gặp khó khăn, dễ gây nhầm lẫn [13]. Sử dụng các kỹ thuật phân tử trong định loại đã khắc phục được vấn đề này. Một số gen của hệ gen nhân và gen ty thể, như nuclear ribosomal second internal transcribed spacer region (ITS2), mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (CO1), NADH

dehydrogenase subunits 1 và 4 (pnad1 và pnad4), đã được sử dụng như những chỉ thị phân tử để định loại cũng như phân tích mối quan hệ tiến hóa của các loài giun đũa chó [3].

Ở Việt Nam, giun đũa chó phân bố rộng trong cả nước và có tỷ lệ nhiễm tương đối cao [10, 15]. Trong những năm gần đây, nhiễm ấu trùng giun đũa chó ở người có xu hướng gia tăng, đặc biệt là ở khu vực miền trung Tây Nguyên [16]. Vì vậy, giun đũa chó và bệnh giun đũa chó rất được quan tâm nghiên cứu. Tuy nhiên, các tác giả chủ yếu sử dụng phương pháp truyền thống, như xét nghiệm phân tìm trứng và mô tả hình thái, có rất ít nghiên cứu ở mức độ phân tử. Trong quá trình điều tra tình hình nhiễm giun tròn ở chó tại tỉnh Phú Thọ chúng tôi phát hiện 26,9% chó bị nhiễm giun đũa [12]. Trong nghiên cứu này chúng tôi phân tích gen ITS2 và CO1 để định loại giun đũa chó thu từ tỉnh Phú Thọ, đồng thời xác định mối quan hệ tiến hóa phân tử của chúng.

VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Giun đũa chó thu từ chó nhà tại 3 địa điểm: huyện Yên Lập, Thanh Thủy và thành phố Việt Trì, tỉnh Phú Thọ. Mỗi địa điểm dùng 1 mẫu để nghiên cứu phân tử. Mẫu giun tròn sau khi thu từ ruột chó được rửa sạch bằng dung dịch nước

muối 0,9%, bảo quản trong cồn ethanol 100%. Khi phân tích phân tử, mẫu bảo quản trong cồn được rửa sạch bằng nước cất, cắt một miếng nhỏ để tách chiết DNA tổng số bằng DNeasy Tissue Kit (QIAGEN). Nhân bản trình tự đích bằng kỹ thuật PCR tiêu chuẩn, sử dụng cặp mồi 3S (5'-AGCGGTGGATCACTCGGCTCGTG-3') và A28 (5'-GGGATCCTGGTTAGTTTC TTTTCCGC-3') cho đoạn ITS2 [1] và cặp mồi JB3 (5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3') và JB4.5 (5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3') cho gen CO1 [2]. Chu trình nhiệt bao gồm: biến tính ở 95°C trong 1 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ -95°C/30 giây, 50°C/1 phút, 72°C/1 phút, chu kỳ cuối ở 72°C trong 5

phút. Điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1%, nhuộm ethidium bromide và soi đèn UV để kiểm tra kết quả. Sản phẩm PCR của các mẫu dương tính được tinh khiết bằng QIAquick PCR Kit (QIAGEN Inc., Hoa Kỳ). Giải trình tự trực tiếp bằng máy tự động ABI Prism 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystem) sử dụng BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem).

So sánh các trình tự thu được với các trình tự trên Genbank bằng chương trình BLAST, MEGA 6 [14], phân tích và vẽ cây phát sinh chủng loại theo phương pháp Neighbor-Joining.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

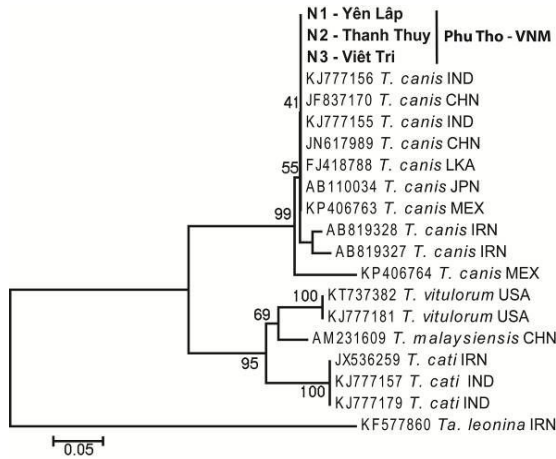
Bảng 1. Khoảng cách di truyền giữa các quần thể loài *Toxocara canis* và các loài khác dựa trên phân tích trình tự ITS2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1. N1-Yen Lap - Phu Tho																				
2. N2- Thanh Thuy - Phu Tho	0.000																			
3. N3- Viet Tri - Phu Tho	0.000	0.000																		
4. JN617989 <i>T. canis</i> CHN	0.000	0.000	0.000																	
5. JF837170 <i>T. canis</i> CHN	0.000	0.000	0.000	0.000																
6. AB110034 <i>T. canis</i> JPN	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000															
7. KJ777156 <i>T. canis</i> IND	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000														
8. KJ777155 <i>T. canis</i> IND	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000													
9. FJ418788 <i>T. canis</i> LKA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000												
10. KP406763 <i>T. canis</i> MEX	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000											
11. AB819328 <i>T. canis</i> IRN	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022										
12. AB819327 <i>T. canis</i> IRN	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031	0.031									
13. KP406764 <i>T. canis</i> MEX	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.068	0.082	0.092							
14. AM231609 <i>T. malaysiensis</i> CHI	0.231	0.231	0.231	0.231	0.231	0.231	0.231	0.231	0.231	0.231	0.231	0.255	0.281	0.300						
15. JX536259 <i>T. cati</i> IRN	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.274	0.280	0.321	0.112					
16. KJ777157 <i>T. cati</i> IND	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.274	0.280	0.321	0.112	0.000				
17. KJ777179 <i>T. cati</i> IND	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.250	0.274	0.280	0.321	0.112	0.000	0.000			
18. KT737382 <i>T. vitulorum</i> USA	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.281	0.274	0.321	0.068	0.118	0.118	0.118	0.118	
19. KJ777181 <i>T. vitulorum</i> USA	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.256	0.281	0.274	0.321	0.068	0.118	0.118	0.118	0.118	0.000
20. KF577860 <i>Ta. leonina</i> IRN	0.657	0.657	0.657	0.657	0.657	0.657	0.657	0.657	0.657	0.657	0.657	0.687	0.701	0.701	0.630	0.691	0.691	0.691	0.638	0.638

Kết quả giải trình tự gen ITS2 và CO1 của 3 mẫu giun đũa chó thu từ 3 địa điểm tại tỉnh Phú Thọ đã thu được 3 trình tự ITS2 và 3 trình tự CO1 (mã số truy cập trên Genbank là LC133352 và LC133353). Độ dài của các trình tự này là 451 bp (ITS2) và 396 bp (CO1). Kết quả so sánh (alignment) cho thấy các trình tự ITS2 hoàn toàn tương đồng với nhau. Đối chiếu với các trình tự trên Genbank bằng chương trình BLAST đã xác định các trình tự này có độ tương đồng cao (100%) với loài giun đũa chó *T. canis* (JN617989). Phân tích khoảng cách di truyền cho thấy các trình tự ITS2 của *T. canis* thu ở Việt Nam thể hiện sự tương đồng cao (100%) với các trình tự của loài này ở Trung Quốc, Nhật Bản, Ấn Độ, Sri Lanka và Mexico,

nhưng khác với các trình tự của Iran từ 2,2-3,1% và một trình tự của Mexico là 6,8%. So sánh với các loài khác, khoảng cách di truyền của *T. canis* với các loài khác trong giống *Toxocara* (*T. cati*, *T. vitulorum* và *T. malaysiensis*) từ 24,2-26,1% và rất xa (64,8%) so với loài *Ta. leonina* (bảng 1). Cây phát sinh chủng loại được xây dựng từ bộ số liệu trình tự gen ITS2 bằng phương pháp Neighbour Joining cho thấy tất cả các trình tự ITS2 của loài *T. canis* làm thành một nhánh chung với độ tin cậy (bootstrap value) là 99%. Các mẫu của Việt Nam được nhóm chung với các trình tự của Trung Quốc (JN617989, JF837170), Nhật Bản (AB110034), Ấn Độ (KJ777155, KJ777156), Sri Lanka (FJ418788) và Mexico (KP406763),

nhưng một trình tự của Mexico (KP406764) tách khỏi nhóm này và các trình tự của Iran (AB819328, AB819327) làm thành một nhóm riêng (hình 1).

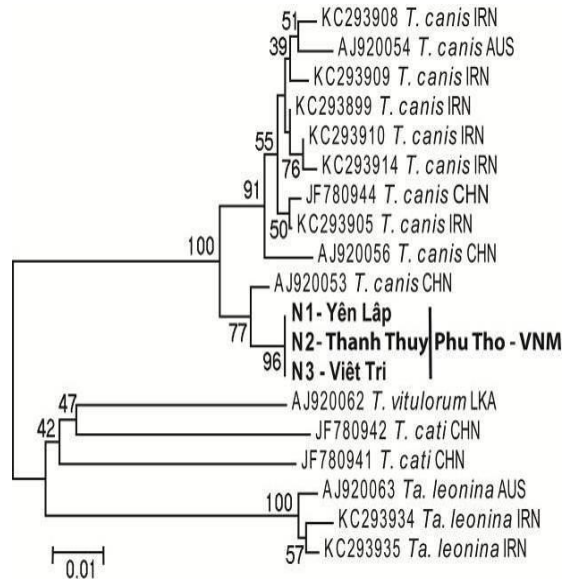


Hình 1. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng từ trình tự ITS2 bằng phương pháp Neighbor Joining

Các trình tự tải từ Genbank gồm mã số truy cập (accession number), tên loài, tên nước viết tắt theo mã số 3 chữ cái (Ấn Độ: IND; Iran: IRN; Mexico: MEX; Hoa Kỳ: USA; Nhật Bản: JPN; Trung Quốc: CHN; Sri Lanka: LKA; Việt Nam: VNM). Các trình tự thu được trong nghiên cứu này được đánh số N1-N3 cùng với địa điểm thu mẫu. Giá trị bootstrap được đặt ở gốc mỗi nhánh.

Đối với trình tự gen CO1, kết quả so sánh cũng cho thấy các mẫu thu tại Phú Thọ hoàn toàn tương đồng với nhau. Đối chiếu với các trình tự trên Genbank bằng chương trình BLAST cũng xác định các trình tự này 100% tương đồng với loài giun đũa chó *T. canis* (AJ920053). Các trình tự CO1 của *T. canis* thu ở Phú Thọ có sự tương đồng cao (99%) với trình tự của loài này ở tỉnh Quảng Đông-Trung Quốc (AJ920053), nhưng khác với các trình tự của tỉnh Tứ Xuyên-Trung Quốc (AJ920056), Iran và Úc từ 2,9-3,7%. Khoảng cách di truyền của *T. canis* với các loài khác trong giống *Toxocara* (*T. cati* và *T. vitulorum*) từ 11,0-11,3% và khác với loài *Ta. leonina* là 11,7% (bảng 2). Cây phát sinh chủng loại được xây dựng từ bộ số liệu trình tự gen CO1 bằng phương pháp Neighbour Joining cho thấy tất cả các trình tự của loài *T. canis* làm thành một

nhánh chung với độ tin cậy (bootstrap value) là 100%. Các mẫu của Việt Nam được nhóm chung với các trình tự của tỉnh Quảng Đông-Trung Quốc, các trình tự khác của Trung Quốc, Iran và Ôxtrâyliya làm thành một nhóm riêng (hình 2).



Hình 2. Cây phát sinh chủng loại được xây dựng từ trình tự gen CO1 bằng phương pháp Neighbor Joining.

Ghi chú: như hình 1.

Trong số các loài giun đũa chó, hai loài *T. canis* và *Ta. leonina* có phân bố rộng. Ấu trùng loài *T. canis* có thể xâm nhập vào cơ thể con người và gây nhiều thể bệnh khác nhau [5], trong khi hiếm khi có thông báo về người bị nhiễm ấu trùng *Ta. leonina* [6]. Vì vậy, phân biệt chính xác 2 loài giun đũa này rất quan trọng trong nghiên cứu dịch tễ và phòng chống bệnh. Mặc dù, hai loài *T. canis* và *Ta. leonina* thuộc hai giống khác nhau nhưng rất giống nhau về hình thái [13]. Sự khác biệt giữa chúng không rõ ràng. Vì vậy, định loại hình thái đôi khi gặp khó khăn, dễ bị nhầm lẫn. Hai loài có thể phân biệt với nhau bởi nhú đầu (cephalic alae), nhưng đòi hỏi người định loại phải có kinh nghiệm [13]. Trái lại, do thuộc các giống của các họ khác nhau, nên chúng khác xa về di truyền và có thể phân biệt chính xác bởi các chỉ thị gen nhân (ITS1 và ITS2) hoặc gen ty thể (CO1) [13].

Ở Việt Nam, các nghiên cứu đã xác nhận sự hiện diện của cả hai loài *T. canis* và *Ta. leonina* [9]. Tuy nhiên, chủ yếu là loài *T. canis* với tỷ lệ nhiễm ở chó tương đối cao từ 28,3-97,0% [10, 15]. Một vấn đề đáng quan tâm là tỷ lệ nhiễm ấu trùng giun đũa ở người trong những năm gần đây tương đối cao [16]. Vì vậy, giun đũa chó rất được quan tâm nghiên cứu. Tuy nhiên, các nghiên cứu vẫn chủ yếu sử dụng các phương pháp truyền thống dựa vào đặc điểm hình thái, ít

có nghiên cứu về phân tử. Gần đây, De et al. (2013) [4] phát hiện ấu trùng giun đũa chó ở người tại Sơn La bằng trình tự gen ITS2; Le et al. (2016) [7] sử dụng phương pháp phân tử dựa trên trình tự gen ty thể *atp6* và gen nhân ITS2 đã phát hiện loài giun đũa chó *T. malayensis* ở mèo, đồng thời phân tích mối quan hệ tiến hóa phân tử của loài *T. canis* thu ở chó tại Hà Nội và Nam Định.

Bảng 2. Khoảng cách di truyền giữa các quần thể loài *Toxocara canis* và các loài khác dựa trên phân tích trình tự gen CO1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1. N1-Yen Lap-Phu Tho																			
2. N2-Thanh Thuy-Phu Tho	0.000																		
3. N3-Viet Tri-Phu Tho	0.000	0.000																	
4. AJ920053 <i>T. canis</i> CHN	0.010	0.010	0.010																
5. F780944 <i>T. canis</i> CHN	0.026	0.026	0.026	0.026															
6. KC293909 <i>T. canis</i> IRN	0.029	0.029	0.029	0.024	0.013														
7. KC293899 <i>T. canis</i> IRN	0.029	0.029	0.029	0.024	0.008	0.005													
8. KC293905 <i>T. canis</i> IRN	0.029	0.029	0.029	0.024	0.003	0.010	0.005												
9. KC293910 <i>T. canis</i> IRN	0.032	0.032	0.032	0.026	0.010	0.008	0.003	0.008											
10. AJ920056 <i>T. canis</i> CHN	0.032	0.032	0.032	0.032	0.016	0.018	0.013	0.018	0.016										
11. KC293908 <i>T. canis</i> IRN	0.032	0.032	0.032	0.026	0.010	0.008	0.008	0.008	0.010	0.021									
12. KC293914 <i>T. canis</i> IRN	0.034	0.034	0.034	0.029	0.013	0.010	0.005	0.010	0.003	0.018	0.013								
13. AJ920054 <i>T. canis</i> AUS	0.037	0.037	0.037	0.031	0.013	0.013	0.010	0.010	0.013	0.023	0.010	0.015							
14. AJ920062 <i>T. vitulorum</i> LKA	0.104	0.104	0.104	0.110	0.104	0.110	0.107	0.107	0.110	0.107	0.117	0.113	0.119						
15. JF780941 <i>T. cati</i> CHN	0.107	0.107	0.107	0.113	0.107	0.113	0.110	0.110	0.113	0.110	0.119	0.116	0.122	0.096					
16. JF780942 <i>T. cati</i> CHN	0.110	0.110	0.110	0.116	0.110	0.119	0.113	0.113	0.110	0.116	0.122	0.113	0.125	0.087	0.091				
17. KC293935 <i>T. leonina</i> IRN	0.107	0.107	0.107	0.113	0.113	0.119	0.116	0.116	0.119	0.119	0.125	0.122	0.128	0.104	0.101	0.110			
18. AJ920063 <i>T. leonina</i> AUS	0.107	0.107	0.107	0.113	0.113	0.119	0.116	0.116	0.119	0.119	0.125	0.122	0.125	0.104	0.099	0.110	0.008		
19. KC293934 <i>T. leonina</i> IRN	0.110	0.110	0.110	0.116	0.116	0.122	0.119	0.119	0.122	0.122	0.122	0.125	0.131	0.110	0.099	0.116	0.008	0.010	

Kết quả phân tích phân tử các mẫu giun đũa chó thu tại Phú Thọ khẳng định loài *T. canis*. Các mẫu ở Phú Thọ, Việt Nam thể hiện tính tương đồng cao và có quan hệ di truyền gần với loài này từ tỉnh Quảng Đông, Trung Quốc cả về gen ITS2 và CO1. Điều đó phù hợp với khoảng cách địa lý gần của các quần thể này. Loài *T. canis* ở các nước khác thể hiện sự đa dạng di truyền cao, đặc biệt là ở Trung Quốc và Mexico. Mặc dù, đã có những nghiên cứu về phân tử của loài *T. canis* thu tại Sơn La, Hà Nội và Nam Định nhưng trình tự của các mẫu đó không được công bố trên Genbank [4, 7] nên chúng tôi không so sánh được với các quần thể đó trong nghiên cứu này. Cũng như các công bố trước đây [7, 13], nghiên cứu của chúng tôi cho thấy khoảng cách di truyền giữa *T. canis* với một số loài khác trong giống tương đối lớn và khác xa với loài *Ta. leonina* cả về trình tự ITS2

và CO1. Vì vậy, các trình tự này có ý nghĩa trong việc định loại các loài giun đũa chó. Kỹ thuật phân tử cần được sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo về dịch tễ học phân tử và xác định xem loài *Ta. leonina* có ký sinh ở chó tại Việt Nam như đã công bố trước đây hay không.

KẾT LUẬN

Phân tích trình tự gen ITS2 và CO1 khẳng định giun đũa chó thu từ Phú Thọ thuộc loài *T. canis*. Các mẫu giun đũa chó thu từ Phú Thọ có độ tương đồng cao về di truyền và có quan hệ tiến hóa phân tử gần với các quần thể ở tỉnh Quảng Đông, Trung Quốc.

Hai gen ITS2 và CO1 là những chỉ thị tốt để phân biệt các loài giun đũa chó thuộc giống *Toxocara* và *Toxascaris*.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bowles J., Blair D., McManus D. P., 1995. A molecular phylogeny of the human schistosomes. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 4(2): 103-109.
2. Bowles J., Hope M., Tiu W. U., Liu S. X., McManus D. P., 1993. Nuclear and mitochondrial genetic markers highly conserved between Chinese and Philippines *Schistosoma japonicum*. *Acta Trop.*, 55(4): 217-229.
3. Chen J., Zhou D. H., Nisbet A. J., Xu M. J., Huang S. Y., Li M. W., Wange C. R., Zhu X. Q., 2012. Advances in molecular identification, taxonomy, genetic variation and diagnosis of *Toxocara* spp. *Infect. Genet. Evol.*, 12(7): 1344-1348
4. De N. V., Trung N. V., Duyet L. V., Chai J. Y., 2013. Molecular diagnosis of an ocular toxocariasis patient in Vietnam. *Korean J. Parasitol.*, 51(5): 563-567.
5. Despommier D., 2003. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. *Clin. Microbiol. Rev.*, 16(2): 265-272.
6. Kim Y. H., Huh S., Chung Y. B., 2008. Seroprevalence of Toxocarasis among healthy people with eosinophilia. *Korean J. Parasitol.*, 46(1): 29-32.
7. Le T. H., Nguyen T. L. A., Nguyen T. K., Nguyen T. B. N., Do T. T. T., Gasser R. B., 2016. *Toxocara malaysiensis* infection in domestic cats in Vietnam-An emerging zoonotic issue?. *Infect. Genet. Evol.*, 37: 94-98.
8. Lee A. C., Schantz P. M., Kazacos K. R., Montgomery S. P., Bowman D. D., 2010. Epidemiologic and zoonotic aspects of ascarid infections in dogs and cats. *Trends Parasitol.*, 26(4): 155-161.
9. Nguyễn Thị Lê, Phạm Văn Lực, Hà Duy Ngô, Nguyễn Văn Đức, Nguyễn Thị Minh, 1996. Giun sán ký sinh ở gia súc Việt Nam. Nxb. Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 296 tr.
10. Võ Thị Hải Lê, Nguyễn Văn Thọ, 2009. Tình hình nhiễm giun tròn đường tiêu hóa của chó tại một số điểm thuộc tỉnh Nghệ An. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 7(5): 637-642.
11. Magnaval J. F., Glickman L. T., Dorchie P., Morassin B., 2001. Highlights of human toxocariasis. *Korean J. Parasitol.*, 39(1): 1-11.
12. Quyen N. T., Lan N. T. K., Van C., Nang N. T., 2015. A study on prevalence of intestinal nematodes in dogs in Phu Tho province. *Journal of Agricultural Technology*, 11(8): 2563-2576.
13. Sheng Z. H., Chang Q. C., Tian S. Q., Lou Y., Zheng X., Zhao Q., Wang C. R., 2012. Characterization of *Toxascaris leonina* and *Tococara canis* from cougar (*Panthera leo*) and common wolf (*Canis lupus*) by nuclear ribosomal DNA sequences of internal transcribed spacers. *African Journal of Microbiology Research*, 6(14): 3545-3549.
14. Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S., 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.*, 30(12): 2725-2729.
15. Bùi Văn Tuấn, Nguyễn Văn Hưng, 2012. Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ và yếu tố nguy cơ nhiễm ấu trùng giun *Toxocara* spp. ở một số điểm tại Bình Định và Gia Lai. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 16(3): 90-95.
16. Bùi Văn Tuấn, Nguyễn Văn Hưng, Nguyễn Hữu Giáo, Huỳnh Thị Thanh Xuân, 2013. Tình hình nhiễm trứng giun đũa *Toxocara* spp. ở đất tại một số điểm của Quảng Ngãi và Đăk Lăk. *Tạp chí Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, tập 17(1): 122-126.

**MOLECULAR PHYLOGENETIC RELATIONSHIP OF *Toxocara canis*
ISOLATED FROM DOGS IN PHU THO PROVINCE, VIETNAM**

Nguyen Thi Quyen¹, Nguyen Thi Kim Lan², Pham Ngoc Doanh³

¹Hung Vuong University

²University of Agriculture and Forestry, Thai Nguyen University

³Institute of Ecology and Biological Resources, VAST

SUMMARY

Dog roundworms include some species of the genera *Toxocara* and *Toxascaris*. Of these, *Toxocara canis* distributes globally and can infect humans to cause a number of clinical manifestations, such as visceral larva migrans, ocular larva migrans, eosinophilic meningoencephalitis, and neurotoxocariasis. In Vietnam, human cases infected with *Toxocaris* larvae have recently been reported at relatively high infection rates. It becomes interested by scientists to conduct epidemiological surveys. However, most studies focused on morphology and epidemiology, there has been very little research at molecular level. In this study we analyzed ITS2 and CO1 sequences, and evolutionary relationships of dog roundworms obtained from Phu Tho province. The results clearly confirmed that they are *T. canis*. The isolates from Phu Tho province showed high genetic identities and phylogenetically closely related to the isolates from Guangdong, China. The ITS2 and CO1 sequences of *T. canis* greatly differ from those of other *Toxocara* species and *Ta. leonina*, indicating these genes as good markers to distinguish dog roundworms at species level.

Keywords: *Toxocara canis*, phylogenetic relationship, Phu Tho, Vietnam.

Ngày nhận bài: 16-3-2016