

Phân tích đa hình gen ty thể *cox1* của sán lá gan nhỏ *Opisthorchis viverrini* thu thập từ bệnh nhân tại tỉnh Phú Yên

Genetic diversity of *cox1* mitochondrial gene among *Opisthorchis viverrini* isolated from patients in Phu Yen province

Khổng Minh Quang¹,
Nguyễn Quang Thiệu²,
Cao Việt Cường³,
Đỗ Thị Thùy Dung⁴,
Đỗ Thanh Hòa⁵
và Đỗ Ngọc Ánh⁶

¹Bệnh viện Nhiệt đới Trung ương

²Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng đới Trung ương

³Bệnh viện Đa khoa tỉnh Vĩnh Phúc

⁴Đại học Điều dưỡng Nam Định

⁵Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

⁶Học viện Quân y

Tóm tắt

Mục tiêu: Phân tích đặc điểm đa hình di truyền gen ty thể *cox1* của *Opisthorchis viverrini* thu thập tại Phú Yên, Việt Nam. **Đối tượng và phương pháp:** 20 cá thể sán *O. viverrini* trưởng thành thu thập từ những người khác nhau tại 2 xã An Mỹ và An Hòa Hải, huyện Tuy An, Phú Yên năm 2020. Trong số này, 11 cá thể đã được giải trình tự để thu nhận toàn bộ gen *cox1* dài 1551bp. Sau đó, các trình tự này được so sánh với trình tự tham chiếu JF739555.1 trên ngân hàng gen để phân tích đặc điểm đa hình di truyền. **Kết quả:** So với trình tự gen *cox1* của *O. viverrini* tại Trung Quốc (JF739555.1), trình tự gen *cox1* của *O. viverrini* tại Phú Yên có 15 điểm sai khác, xảy ra tại các vị trí 15, 150, 152, 236, 321, 324, 354, 384, 407, 585, 738, 1257, 1275, 1305, và 1428. Thay đổi nucleotide ở vị trí số 152 dẫn tới thay đổi axit amin từ Glycin sang Aspartic, ở vị trí 236 dẫn tới thay đổi từ Isoleucine sang Asparagine và ở vị trí 407 dẫn tới thay đổi từ Glycine sang Alanine. **Kết luận:** Gen *cox1* của *O. viverrini* có tính đa hình di truyền cao và rất có ý nghĩa trong phân tích cấu trúc di truyền quần thể của sán lá gan nhỏ.

Từ khóa: đa hình, gen *cox1*, *O. viverrini*, Phú Yên.

Summary

Objectives: This study was conducted to analyze the genetic diversity of the mitochondrial *cox1* gene of *O. viverrini* in Phu Yen province, Vietnam. **Subject and method:** Twenty adult *O. viverrini* individuals were collected from various patients in An My and An Hoa Hai communes, Tuy An district, Phu Yen Bai. Among them, eleven were sequenced to obtain the complete 1551 bp of *cox1* gene sequences. Subsequently, the complete *cox1* gene sequences were compared with reference sequences (JF739555.1, China) from GenBank to determine genetic diversity. **Results:** Fifteen polymorphic sites in the *cox1* gene sequences of *O. viverrini* were identified at positions 15, 150, 152, 236, 321, 324, 354, 384, 407, 585, 738, 1257, 1275, 1305, and 1428. Nucleotide substitution at position 152 resulted in a Threonine → Methionine amino acid substitution, at position 236 in an Isoleucine → Asparagine change, and at position 407 in a Glycine → Alanine change. **Conclusion:** The mitochondrial *cox1* gene

Ngày nhận bài: 24/03/2025, ngày chấp nhận đăng: 25/11/2025

* Tác giả liên hệ: dranhk61.vmmu@gmail.com - Học viện Quân y

sequences exhibit high genetic diversity and play an important role in analyzing the population genetic structure of the small liver fluke.

Keywords: Genetic diversity, *cox1* gene, *O. viverrini*, Phu Yên province.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Opisthorchis viverrini là một loài sán lá lây truyền qua cá, có khả năng gây tử vong cho người và động vật ăn thịt, lưu hành chủ yếu ở các nước lưu vực sông Mekong như Thái Lan, Lào, Campuchia và Việt Nam¹. Ở Thái Lan, ước tính có hơn 6 triệu người nhiễm loài sán này, tập trung chủ yếu ở vùng Đông Bắc². Trong khi đó, ở Lào 98% dân số có nguy cơ nhiễm loài sán này do thói quen ăn gỏi cá^{1, 2}. Các nghiên cứu trước đã chỉ ra rằng, nhiễm loài sán này có liên quan rất chặt chẽ với ung thư đường dẫn mật¹. Ví dụ, tại Thái Lan, số ca bị ung thư đường mật ở các khu vực lưu hành loài sán này cao gấp 20 lần những vùng không lưu hành³. Do vậy, vệ sinh ăn uống, giáo dục sức khỏe, sàng lọc và điều trị người nhiễm sán lá gan có thể giúp ngăn ngừa sự xuất hiện của ung thư đường mật⁴.

Hệ gen ty thể của sán lá có cấu trúc dạng vòng, gồm hai sợi DNA khép kín, kích thước từ 13.5 đến 21 kb, chứa 12 gen mã hóa protein, 2 gen rRNA (RNA ribosome), 22 gen RNA vận chuyển (tRNA hoặc trn) và một phần không chức năng (non-coding region, NR) [5]. Do có đặc điểm di truyền theo dòng mẹ và hệ số biến đổi cao nên các gen ty thể được ứng dụng rộng rãi trong xác định cấu trúc di truyền quần thể ở nhiều loài động vật trong đó có sán lá gan⁶. Trong số các gen ty thể, gen *cox1* là chỉ thị phân tử thường được sử dụng nhất trong giám định phân tử, phân tích đa hình di truyền các loài sán lá^{6, 7}.

Trình tự đầy đủ gen *cox1* của sán lá gan nhỏ *Clonorchis sinensis* đã được một số tác giả công bố và phân tích đặc điểm đa hình di truyền^{6, 8, 9}. Tuy nhiên, trình tự đầy đủ và đặc điểm đa hình gen *cox1* của *O. viverrini* lại rất ít nghiên cứu công bố. Cho tới thời điểm hiện tại, chưa ghi nhận nghiên cứu nào về đặc điểm đa hình di truyền toàn bộ gen *cox1* của *O. viverrini*. Nghiên cứu này thực hiện nhằm mục tiêu: Phân tích đặc điểm đa hình di truyền gen ty thể *cox1* của *O. viverrini* thu thập ở người tại Phú Yên, Việt Nam.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng

Sán lá gan nhỏ trưởng thành được thu thập từ những người nhiễm khác nhau tại 2 xã An Mỹ và An Hòa Hải, huyện Tuy An, Phú Yên năm 2020. Các thí nghiệm tách chiết DNA, thực hiện phản ứng PCR và giải trình tự gen được thực hiện từ 3/2024 đến 12/2024.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Cỡ mẫu nghiên cứu

20 cá thể sán lá gan nhỏ *O. viverrini* trưởng thành được thực hiện phản ứng PCR khuếch đại gen *cox1*. Trong số này, 11 cá thể được giải trình tự để phân tích đặc điểm đa hình gen ty thể *cox1*.

2.2.2. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

Thu thập các cá thể sán trưởng thành: Sán lá gan nhỏ trưởng thành được thu thập theo hướng dẫn ở một nghiên cứu trước của Đỗ Trung Dũng và CS (2007)¹⁰. Cụ thể: Những người nhiễm sán lá gan nhỏ (được xác định bằng kỹ thuật xét nghiệm phân Kato-katz) được cho uống thuốc praziquantel (Distocide 600mg) liều 25mg/kg cân nặng. Sau 1 giờ, tiếp tục cho những người này uống dung dịch MgSO₄ bão hòa. Tiếp theo, phân của bệnh nhân được lọc rửa để tìm sán trưởng thành. Con sán trưởng thành được cho vào ống chứa cồn ethylic 70 độ và bảo quản ở -20°C cho tới khi tách chiết DNA và chạy PCR.

Kỹ thuật xác định loài bằng hình thái

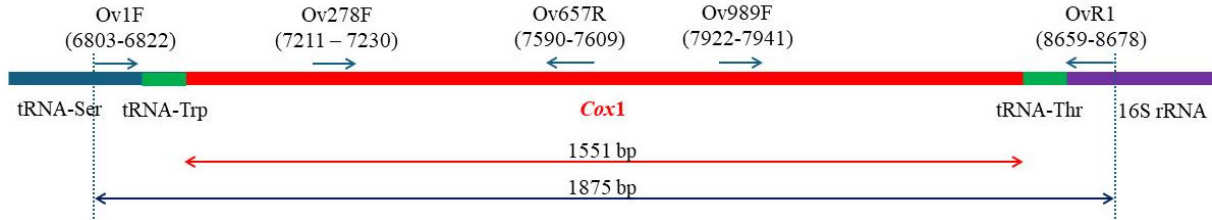
Mẫu sán trưởng thành được quan sát các đặc điểm hình thái bằng mắt thường và kính hiển vi. Sán được định hướng phân loại là *O. viverrini* dựa vào các đặc điểm: kích thước cơ thể 4-9 mm x 1,5-3 mm, tinh hoàn phân thùy nằm phía sau thân¹¹.

Khuếch đại gen ty thể *cox1* của *O. viverrini*

Các mẫu sán *O. viverrini* được tách chiết DNA tổng số bằng bộ sinh phẩm G-spin Total DNA Extraction Kit (Cat.no 17046, Intron, Hàn Quốc). DNA

thu được được sử dụng làm khuôn cho phản ứng PCR. Để khuếch đại đoạn DNA chứa gen *cox1* của *O. viverrini* (1551bp), cặp mồi Ov1F và OvR1 đã được thiết kế sử dụng công cụ Primer3 trên Thư viện Y khoa Quốc gia Hoa Kỳ dựa trên trình tự gen ty thể

tham chiếu JF739555.1 của *O. viverrini*. Cặp mồi này khuếch đại đoạn DNA ty thể có kích thước 1875 bp chứa 1 phần gen *tRNA-Ser*, toàn bộ đoạn *tRNA-Trp*, toàn bộ gen *cox1*, toàn bộ đoạn *tRNA-Thr* và 1 phần gen 16S rRNA (Hình 1).



Hình 1. Sơ đồ vị trí bám của các mồi trên ty thể sử dụng trong nghiên cứu

Thông tin chi tiết các mồi như trong Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1. Danh sách mồi khuếch đại và giải trình tự gen *cox1* của *O. viverrini*

Tên mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Vị trí bám mồi trên ty thể	Mục đích	Nguồn gốc
Ov1F	5'-GCTGTCGTGTTATCGCTGCT-3'	Gen <i>tRNA-Ser</i> (6803 - 6822)	PCR, giải trình tự	Nghiên cứu này
OvR1	5'-TCGCCACCCCTTCGAGAAATC-3'	Gen 16S rRNA (8659 - 8678)	PCR	Nghiên cứu này
Ov278F	5'-TGCCCCGTTTAAAAGCGTTG-3'	Gen <i>cox1</i> (7211 - 7230)	Giải trình tự	Nghiên cứu này
Ov657R	5'-ACAACAACGGATCACCACCC-3'	Gen <i>cox1</i> (7590 - 7609)	Giải trình tự	Nghiên cứu này
Ov989F	5'-GGGACCCGATTATGTGGTGG-3'	Gen <i>cox1</i> (7922 - 7941)	Giải trình tự	Nghiên cứu này

Phản ứng PCR với cặp mồi Ov1F và OvR1 gồm các thành phần: 25µl Mastermix 2X (Promega, USA), 1µl mồi mỗi loại (10µM), 4µl dung dịch DNA, nước cất vừa đủ 50µl. Chu trình nhiệt gồm các bước sau: 1 chu kỳ 95°C/5 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ, mỗi chu kỳ gồm 3 bước: 95°C/60 giây, 61°C/60 giây và 72°C/90 giây, cuối cùng 72°C trong 15 phút. Sau đó, lấy 5µl sản phẩm PCR điện di kiểm tra kết quả trên gel agarose 1,5%. Phần sản phẩm PCR còn lại được bảo quản ở -20°C cho tới khi gửi đi tinh sạch và giải trình tự.

Giải trình tự gen: Sản phẩm PCR được gửi tới hãng Apical Scientific (Malaysia) để tinh sạch và giải

trình tự bằng các mồi Ov1F, Ov278F, Ov657R và Ov989F. Các trình tự thu được được ghép nối, chỉnh sửa bằng các phần mềm Mega 7.07 và Bioedit 7.2.5. Các trình tự cuối cùng được so sánh với trình tự JF739555.1 của sán *O. viverrini* (Trung Quốc) sử dụng công cụ BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) để xác định tỷ lệ tương đồng.

Phân tích đa hình di truyền gen ty thể *cox1*

Các trình tự gen *cox1* của sán *O. viverrini* được đăng ký mã số sử dụng công cụ <https://submit.ncbi.nlm.nih.gov/subs/genbank/> của Thư viện Y khoa Quốc gia Hoa Kỳ. Đặc điểm đa hình gen *cox1* được xác định thông qua số

nucleotide sai khác, tỷ lệ phần trăm các nucleotide A, T, G, C và tỷ lệ AT/GC, vị trí thay đổi nucleotide dẫn tới thay đổi acid amin.

2.2.3. Xử lý số liệu nghiên cứu

Tỷ lệ tương đồng nucleotide, tỷ lệ các nucleotide A, T, G, C, tỷ lệ AT/GC và số lượng nucleotide sai khác ở mỗi trình tự được tính toán sử dụng các phần mềm Mega 7.07, Bioedit 7.2.5 và các công cụ <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

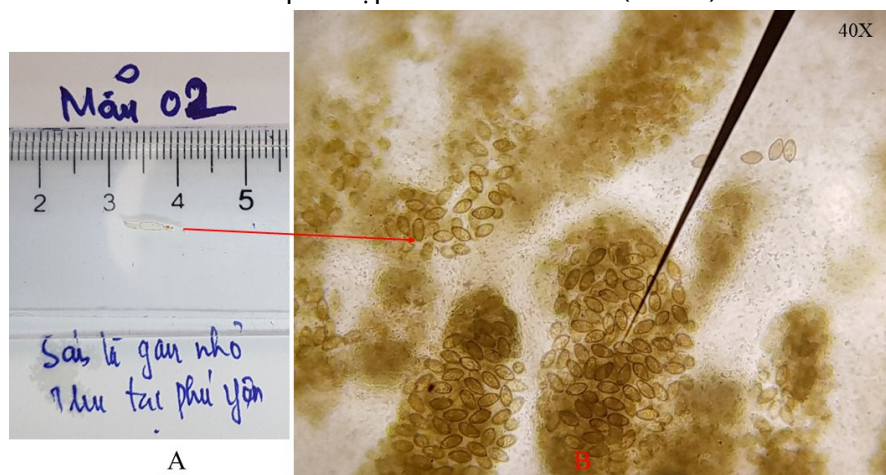
2.3. Đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu được chấp thuận của Hội đồng đạo đức theo Quyết định 706/QĐ-VSR ngày 6/6/2021 của Viện Sốt rét - Ký sinh trùng - Côn trùng Trung ương. Bài báo là 1 phần sản phẩm của đề tài “Nghiên cứu một số đặc điểm dịch tễ, thành phần loài sán lá gan nhỏ tại các tỉnh Phú Yên, Yên Bái và kết quả biện pháp can thiệp phòng chống (2020 - 2023)”. Các tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ

3.1. Kết quả khuếch đại gen *cox1* của sán lá gan nhỏ *O. viverrini*

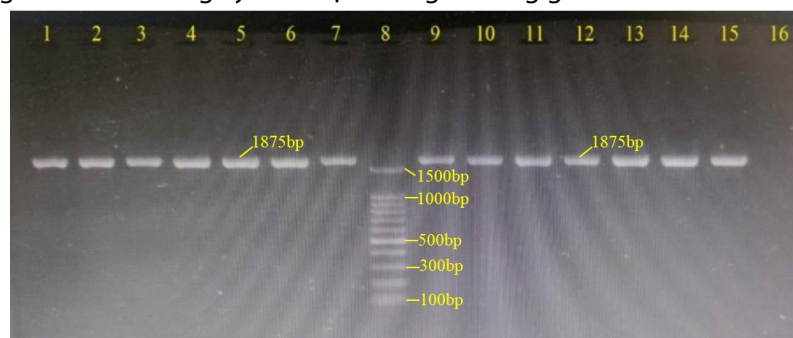
Kết quả phân loài hình thái sán lá gan nhỏ: Toàn bộ 20 mẫu sán lá gan nhỏ thu thập ở 2 xã An Mỹ và An Hòa Hải của tỉnh Phú Yên đều có hình thái phù hợp với loài *O. viverrini* (Hình 2).



Hình 2. Sán lá gan nhỏ *O. viverrini* trưởng thành

Hình 2A: sán lá gan nhỏ *O. viverrini* trưởng thành; Hình 2B: trứng sán *O. viverrini* nằm trong tử cung được soi ở vật kính 40X.

Kết quả khuếch đại gen *cox1* và đăng ký trình tự trên ngân hàng gen



Hình 3. Sản phẩm PCR khuếch đại gen *cox1* của 13 mẫu nghiên cứu.

Trong Hình 3, giếng 1-7 và 9-14: các mẫu sản có ký hiệu từ Q-Ov1 đến Q-Ov13; giếng 8: thang DNA chuẩn 100-1500bp; giếng 15: chứng dương (sản *O. viverrini* thu thập ở Bình Định có mã số PQ198389.1 trên Ngân hàng gen); giếng 16: chứng âm.

Kết quả khuếch đại gen *cox1* của *O. viverrini* với 2 mỗi Ov1F và OvR1 cho thấy, cả 20 mẫu sản đều cho sản phẩm PCR với 1 band duy nhất kích thước xấp xỉ 1900bp. Trong số này, 11 mẫu đã được lựa chọn để giải trình tự gen. Trình tự gen *cox1* của 11 mẫu này đã được đăng ký và được cấp mã số trên Ngân hàng gen từ PQ198393.1 đến PQ198403.1.

3.2. Xác định tỷ lệ tương đồng và phân tích đặc điểm đa hình di truyền gen ty thể *cox1* của *O. viverrini*

Kết quả so sánh tỷ lệ tương đồng nucleotide của gen *cox1* thu được với trình tự JF739555.1 tham chiếu trên ngân hàng gen

Kết quả so sánh cho thấy, tỷ lệ tương đồng nucleotide giữa trình tự gen *cox1* của sản lá gan nhỏ trong nghiên cứu này với sản *O. viverrini* ở Trung Quốc (JF739555.1) từ 99,2% đến 99,7% (Bảng 1). Trong khi đó, so với trình tự gen *cox1* của sản *O. felinus* ở Nga (mã số NC011127.2), tỷ lệ tương đồng chỉ từ 81,6% đến 81,7%.



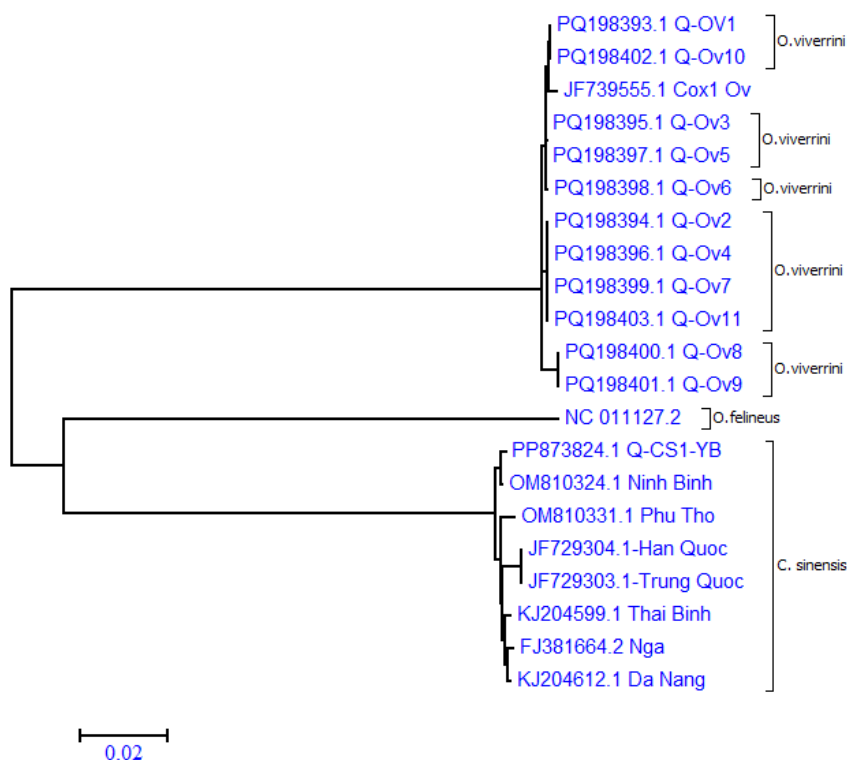
Hình 3. Minh họa các vị trí sai khác ở 400 nucleotide đầu tiên trên gen *cox1* của 11 mẫu sản *O. viverrini* ở nghiên cứu này với trình tự tham chiếu JF739555.1.

Kết quả phân tích cho thấy, trên trình tự gen *cox1* của 11 mẫu *O. viverrini* ở Phú Yên có 15 vị trí sai khác so với trình tự tham chiếu của *O. viverrini* ở Trung Quốc (JF739555.1). Mỗi trình tự có từ 4 đến 11 điểm sai khác, xảy ra ở các nucleotide số 15, 150, 152, 236, 321, 324, 354, 384, 407, 585, 738, 1257, 1275, 1305, và 1428 (Hình 3). Trong số này, có 12 vị trí sai khác kiểu đồng hoán, 3 vị trí sai khác kiểu dị hoán (vị trí 150, 236 và 407). Các vị trí 152, 236 và 354 của cả 11 mẫu đều có sự thay đổi so với trình tự tham chiếu. Thay đổi ở các vị trí 152 và 236 ở cả 11 mẫu dẫn tới thay đổi axit amin (từ Glycin sang Aspartic ở vị trí 152 và từ Isoleucine sang Asparagine ở vị trí 236). Thay đổi ở vị trí 407 gặp ở 2 mẫu Q-Ov8 và Q-Ov9 dẫn tới acid amin thay đổi từ Glycine sang Alanine (Bảng 2).

Bảng 2. Các vị trí có sai khác nucleotid giữa các trình tự trong nghiên cứu này với các trình tự JF739555.1 tham chiếu trên ngân hàng gen

Mẫu/Mã số	Số nu sai khác	% tương đồng	Vị trí, kiểu thay đổi nucleotide	Thay đổi axit amin
Q-Ov1/ PQ198393.1	4	99,7	150: G → C; 152: G → A; 236: T → A; 354: G → A	51: G → D; 79: I → N
Q-Ov2/ PQ198394.1	7	99,5	15: G → A; 152: G → A; 236: T → A; 321: C → T; 354: G → A; 585: C → T; 738: C → T	51: G → D; 79: I → N
Q-Ov3/ PQ198395.1	4	99,7	152: G → A; 236: T → A; 321: C → T; 354: G → A	51: G → D; 79: I → N
Q-Ov4/ PQ198396.1	7	99,5	15: G → A; 152: G → A; 236: T → A; 321: C → T; 354: G → A; 585: C → T; 738: C → T	51: G → D; 79: I → N
Q-Ov5/ PQ198397.1	4	99,7	152: G → A; 236: T → A; 321: C → T; 354: G → A	51: G → D; 79: I → N
Q-Ov6/ PQ198398.1	5	99,6	152: G → A; 236: T → A; 321: C → T; 354: G → A; 1275: C → T	51: G → D; 79: I → N
Q-Ov7/ PQ198399.1	7	99,5	15: G → A; 152: G → A; 236: T → A; 321: C → T; 354: G → A; 585: C → T; 738: C → T	51: G → D; 79: I → N
Q-Ov8/ PQ198400.1	11	99,2	15: G → A; 152: G → A; 236: T → A; 321: C → T; 324: C → T; 354: G → A; 384: T → C; 407: G → C; 1257: A → G; 1305: C → T; 1428: T → C	51: G → D; 79: I → N; 136: G → A
Q-Ov9/ PQ198401.1	11	99,2	15: G → A; 152: G → A; 236: T → A; 321: C → T; 324: C → T; 354: G → A; 384: T → C; 407: G → C; 1257: A → G; 1305: C → T; 1428: T → C	51: G → D; 79: I → N; 136: G → A
Q-Ov10/ PQ198402.1	4	99,7	150: G → C; 152: G → A; 236: T → A; 354: G → A	51: G → D; 79: I → N
Q-Ov11/ PQ198403.1	7	99,5	15: G → A; 152: G → A; 236: T → A; 321: C → T; 354: G → A; 585: C → T; 738: C → T	51: G → D; 79: I → N

Kết quả phân tích mối quan hệ phả hệ của sán *O. viverrini* ở nghiên cứu này so với sán lá gan nhỏ trên thế giới dựa vào trình tự gen *cox1*.



Hình 4. Cây phả hệ xác định mối quan hệ phát sinh loài giữa sán *O. viverrini* phân lập tại Phú Yên với sán *O. viverrini* phân lập trên thế giới dựa trên trình tự gen *cox1*.

Trong Hình 4, trình tự gen *cox1* ký hiệu Q-Ov1, đến Q-Ov11 là các trình tự của sán *O. viverrini* ở nghiên cứu này. Các trình tự còn lại là trình tự tham chiếu trên ngân hàng gen.

Hình 4 cho thấy, các cá thể sán từ Q-Ov1 đến Q-Ov11 có quan hệ họ hàng gần hơn với sán *O. viverrini* ở Trung Quốc nhưng quan hệ họ hàng xa với các loài *C. sinensis* ở Yên Bái, Ninh Bình, Phú Thọ, Thái Bình, Đà Nẵng, Hàn Quốc, Trung Quốc và Nga; quan hệ họ hàng xa với sán *O. felineus* (NC_011127.2) ở Nga.

IV. BÀN LUẬN

Tính đến hết tháng 1 năm 2024, trên Ngân hàng gen của Thư viện Y khoa Quốc gia Hoa Kỳ có gần 400 trình tự gen ty thể *cox1* được công bố, đa phần là một phần của gen *cox1*. Trong số này, chỉ có 16 trình tự gen ty thể *cox1* đầy đủ: 01 trình tự nằm trong trình tự JF739555.1 của *O. viverrini* phân lập tại Trung Quốc và 14 trình tự do nhóm tác giả đăng ký (11 trình tự gen ty thể *cox1* của *O. viverrini* tại Phú Yên và 4 trình tự của sán *O. viverrini* tại Bình Định).

Trong khi, trình tự gen ty thể đầy đủ của sán lá gan nhỏ *C. sinensis* được công bố và phân tích khá nhiều với ít nhất 140 trình tự khác nhau. *Cox1* là một trong những chỉ thị phân tử quan trọng rất có ý nghĩa trong giám định phân tử và phân tích cấu trúc di truyền quần thể⁷. Vì vậy, cập nhật dữ liệu của gen này là rất cần thiết để có căn cứ làm sáng tỏ các tác động qua lại giữa ký sinh trùng và vật chủ.

Kết quả phân tích 11 trình tự gen ty thể *cox1* đầy đủ của sán lá gan nhỏ *O. viverrini* thu được so với trình tự tham chiếu JF739555.1 cho thấy: gen *cox1* của *O. viverrini* có độ dài 1551 nucleotide, tỷ lệ tương đồng trên 99,2%; Mỗi trình tự có từ 4 đến 11 nucleotide sai khác tạo ra tổng số 15 vị trí sai khác nhau. Trong đó, thay đổi ở các nucleotide số 152, 236 và 407 dẫn tới thay đổi acid amin. Trước đây, một số công bố trước đã phân tích đặc điểm đa hình gen ty thể *cox1* của *O. viverrini*^{12, 13} nhưng chỉ thực hiện trên một phần của gen này. Chẳng hạn như trong nghiên cứu của Ando và CS (2001) trên 10 trình tự DNA dài 417bp của gen *cox1* tại vùng Đông Bắc, Thái Lan đã ghi nhận 4 vị trí đa hình¹². Trong khi

đó, nghiên cứu trên đoạn DNA dài 394bp của 14 trình tự gen *cox1* khác nhau của của *O. viverrini* tại Thái Lan và Lào, Saijuntha và CS (2008) chỉ ghi nhận 2 điểm đa hình¹³. Do không có các trình tự gen *cox1* đầy đủ của *O. viverrini* được công bố trước nên nghiên cứu này không thể đưa ra những đánh giá, phân tích một cách sâu sắc. Mặc dù vậy, qua những phân tích ban đầu này cũng như các nghiên cứu trước có thể thấy rằng sán *O. viverrini* có mức độ biến đổi di truyền cao trong cùng một quần thể cũng như giữa các quần thể khác nhau¹⁴.

Nghiên cứu này có một số hạn chế là: cỡ mẫu nghiên cứu chưa nhiều, mẫu sán thu thập ở 1 tỉnh nên có thể chưa phản ánh hết tính chất đa hình của gen *cox1*. Ngoài ra, việc thiếu dữ liệu trình tự đầy đủ gen *cox1* trên ngân hàng gen, nhất là trình tự ở các quốc gia lân cận, dẫn tới việc phân tích sự tiến hóa và tương đồng về mặt di truyền của các chủng *O. viverrini* có những hạn chế. Mặc dù vậy, nghiên cứu này đã bổ sung dữ liệu trình tự đầy đủ gen *cox1* làm tiền đề cho các nghiên cứu trong tương lai phân tích sâu hơn về đặc điểm đa hình của gen này trên các mẫu sán *O. viverrini* phân lập tại các quốc gia và vùng lãnh thổ khác nhau.

V. KẾT LUẬN

Phân tích 11 trình tự đầy đủ gen ty thể *cox1* kích thước 1.551bp của sán lá gan nhỏ *O. viverrini* cho thấy, tỷ lệ AT/GC ở gen này dao động từ 1,47 đến 1,49. Mỗi trình tự gen *cox1* có từ 4 đến 11 điểm sai khác tạo ra tổng số 15 vị trí sai khác, với 12 sai khác kiểu đồng hoán, 3 sai khác kiểu dị hoán (vị trí số 150, 236 và 407). Sai khác tại 3 vị trí số 152, 236 và 407 dẫn tới thay đổi acid amin, tương ứng từ Glycin sang Aspartic, Isoleucine sang Asparagine và Glycine sang Alanine.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dao TTH et al (2016) *Opisthorchis viverrini* infections and associated risk factors in a lowland area of Binh Dinh Province, Central Vietnam. *Acta Tropica* 157: 151-157.
2. Sripa B et al (2007) *Liver Fluke Induces Cholangiocarcinoma*. *PLOS Medicine* 4(7): e201.
3. Sripa B et al (2012) *The tumorigenic liver fluke Opisthorchis viverrini - multiple pathways to cancer*. *Trends in Parasitology* 28(10):395-407.
4. Sivanand A et al (2023) *Associations of Liver Fluke Infection and Cholangiocarcinoma: A Scoping Review*. *Cureus* 15(10): 46400.
5. Lê Thanh Hòa và cộng sự (2016) *Xác định cấu trúc và đặc điểm gen học hệ gen ty thể của sán lá ruột nhỏ Haplorchis taichui (Trematoda: Heterophyidae), mẫu Việt Nam*. *Tạp chí Công nghệ Sinh học* 14(2): 215-224.
6. Nguyễn Văn Tuấn và CS (2022) *Phân tích đa hình gen ty thể *cox1* của sán lá gan nhỏ Clonorchis sinensis thu thập tại 2 tỉnh Ninh Bình và Phú Thọ*. *Tạp chí Y Dược lâm sàng* 108 17(4): 120-127.
7. Suwannahitatorn P et al (2024) *Study of the population genetic structure of Opisthorchis-like eggs in northern Thailand using mitochondrial genes*. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 18(8): e0012445.
8. Khổng Minh Quang và cộng sự (2025) *Xác định loài và phân tích đa hình di truyền gen *cox1* của sán lá gan nhỏ thu thập từ người tại một xã thuộc tỉnh Yên Bái năm 2020*. *Tạp chí Y Dược học Quân sự* 50(1):26-36.
9. Chelomina GN et al (2014) *Genetic diversity of the Chinese liver fluke Clonorchis sinensis from Russia and Vietnam*. *International Journal for Parasitology* 44(11):795-810.
10. Dung DT et al (2007) *Fishborne Zoonotic Intestinal Trematodes, Vietnam*. *Emerg Infect Dis* 13(12):1828-1833.
11. Lê Bách Quang và cộng sự (2011) *Thực hành Ký sinh trùng và côn trùng Y học (giáo trình đại học)*. Nhà xuất bản Quân đội nhân dân; 2011.
12. Ando K et al (2001) *Nucleotide sequence of mitochondrial COI and ribosomal ITS2 genes of Opisthorchis viverrini in northeast Thailand*. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health* 32(Suppl 2):17-22.
13. Saijuntha W et al (2008) *Mitochondrial DNA sequence variation among geographical isolates of Opisthorchis viverrini in Thailand and Lao PDR, and phylogenetic relationships with other trematodes*. *Parasitology* 135(12):1479-1486.
14. Petney TN et al (2018) *Chapter One - Taxonomy, Ecology and Population Genetics of Opisthorchis viverrini and Its Intermediate Hosts*. *Advances in Parasitology*. Academic Press; Volume 101: 1-39.