

Presence and genetic diversity of *Mycoplasma suis* group related to reproductive disorders in breeding pigs

Phat T. Tran¹, Luan M. Nguyen¹, Ngoc T. H. Nguyen¹, Linh N. M. Tran¹,
Tram T. N. Ngo¹, Phu H. Doan^{1,2}, Nam M. Nguyen³, & Duy T. Do^{1*}

¹Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam University, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam University - Gia Lai Campus, Gia Lai, Vietnam

³Department of Biomedical Engineering, Faculty of Medicine, University of Health Sciences, Vietnam National University Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City, Vietnam

ARTICLE INFO

Research Paper

Received: January 02, 2025

Revised: February 06, 2025

Accepted: February 18, 2025

Keywords

16S rRNA

M. suis group

Porcine *Haemoplasma*

Reproductive disorders

Sows

*Corresponding author

Do Tien Duy

Email:

duy.dotien@hcmuaf.edu.vn

ABSTRACT

Porcine *Haemoplasma* (PH) is a group of bacteria that parasitize the surface of erythrocytes and cause infectious anemia in pigs of all ages and reproductive disorders in sows, in which *Mycoplasma suis* (*M. suis*) plays a major role. This study aimed to survey the presence and genetic diversity of *M. suis* group in farms with clinical reproductive disorders in sows. A total of 150 samples, including blood samples from sows with reproductive disorders and their fetuses/weak-born piglets were collected from 10 pig farms in 6 provinces in Vietnam. The presence of *M. suis* group was determined by PCR and the 16S rRNA gene was amplified and sequenced to analyze the genetic diversity of the pathogen. The DNA of *M. suis* group was identified in 137/150 (91.33%) of sow samples with reproductive disorders. Fourteen strains of *M. suis* group were successfully sequenced based on the 16S rRNA gene. The sequences showed a high percentage of genetic similarity, with 93.72% to 100% identity to *M. suis* and 97.1 to 100% to *M. parvum*. Through phylogenetic analysis, the sequences were identified as belonging to *M. suis* group that there were at least 4 nucleotide types. In conclusion, *M. suis* group is present at a high rate in pig breeding farms in Vietnam. This is the first report about the genetic diversity of the 16S rRNA gene of *M. suis* group in Vietnam.

Cited as: Tran, P. T., Nguyen, L. M., Nguyen, N. T. H., Tran, L. N. M., Ngo, T. T. N., Doan, P. H., Nguyen, N. M., & Do, D. T. (2025). Presence and genetic diversity of *Mycoplasma suis* group related to reproductive disorders in breeding pigs. *The Journal of Agriculture and Development* 24(4), 40-53.

Sự hiện diện và đa dạng di truyền của *Mycoplasma suis* group gây rối loạn sinh sản trên heo giống

Trần Tấn Phát¹, Nguyễn Minh Luân¹, Nguyễn Thị Hồng Ngọc¹, Trần Ngọc Mỹ Linh¹,
Ngô Thị Ngọc Trâm¹, Đoàn Hoàng Phú^{1,2}, Nguyễn Minh Nam³ & Đỗ Tiến Duy^{*}

¹Khoa Chăn Nuôi Thú Y, Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Chăn Nuôi Thú Y, Phân Hiệu Trường Đại học Nông Lâm TP.HCM tại Gia Lai, Gia Lai

³Bộ Môn Kỹ Thuật Y Sinh, Khoa Y, Trường Đại học Khoa Học Sức Khỏe, Đại học Quốc Gia, TP. Hồ Chí Minh

THÔNG TIN BÀI BÁO

Bài báo khoa học

Ngày nhận: 02/01/2025

Ngày chỉnh sửa: 06/02/2025

Ngày chấp nhận: 18/02/2025

Từ khóa

16S rRNA

Heo nái

M. suis group

Porcine *Haemoplasma*

Rối loạn sinh sản

*Tác giả liên hệ

Đỗ Tiến Duy

Email:

duy.dotien@hcmuaf.edu.vn

TÓM TẮT

Porcine *Haemoplasma* (PH) là nhóm vi khuẩn kí sinh trên tế bào hồng cầu gây tình trạng thiếu máu truyền nhiễm ở heo mọi lứa tuổi và rối loạn sinh sản trên heo nái, trong đó *Mycoplasma suis* (*M. suis*) là tác nhân chủ yếu. Nghiên cứu này nhằm mục đích khảo sát sự hiện diện và phân tích đa dạng di truyền của *M. suis* tại các trang trại xuất hiện lâm sàng rối loạn sinh sản trên heo nái. Tổng cộng 150 mẫu bao gồm máu heo nái rối loạn sinh sản và mô thai/ heo con yếu của chúng đã được thu thập từ 10 trại heo công nghiệp trên 6 tỉnh thành tại Việt Nam. Xác định sự hiện diện của *M. suis* group bằng phương pháp PCR và gen 16S rRNA được chọn để khuếch đại và giải trình tự nhằm đánh giá sự đa dạng di truyền của *M. suis*. *M. suis* group đã được phát hiện trong 137/150 (91,33%) mẫu heo nái rối loạn sinh sản. Giải trình tự thành công 14 chủng dựa vào đoạn gen 16S rRNA *M. suis* group, các trình tự có độ tương đồng cao (93,72% - 100%) với *M. suis* và (97,1 - 100%) với *M. parvum*. Qua phân tích phát sinh loài, các trình tự được xác định thuộc nhóm *M. suis* group. Phân tích đa dạng di truyền cho thấy có ít nhất 4 kiểu nucleotide (ntST) của *M. suis* group. *M. suis* group hiện diện với tỉ lệ cao tại các trại heo giống ở Việt Nam. Lần đầu tiên, đặc trưng gen 16S rRNA của *M. suis* group được báo cáo tại Việt Nam.

1. Đặt Vấn Đề

Haemoplasma thuộc họ *Mycoplasmataceae* (Neimark & ctv., 2001; 2002). Hiện nay có ba loài lưu hành trong quần thể heo được xác định gồm có *M. suis*, *M. parvum*, *Candidatus Mycoplasma heamosuis* (*Ca. M. heamosuis*) và một loài mới được phát hiện tại Thái Lan (Fu & ctv., 2017; Seo & ctv., 2019; Thongmeesee & ctv., 2022). Trong đó, *M. suis* là tác nhân gây bệnh thiếu máu truyền nhiễm ở heo (Infectious anemia in pig - IAP) với các biểu hiện lâm sàng đa dạng từ cấp tính như sốt cao, vàng da, da nhợt nhạt và có thể gây tử vong, đến dạng mãn tính gây suy dinh dưỡng, giảm khả năng sinh sản và rối loạn tiết sữa (Ade & ctv., 2024). *Ca. M. heamosuis* cũng được xác định là gây thiếu máu truyền nhiễm tương tự *M. suis*, nhưng tác động của chúng trên quần thể heo vẫn chưa rõ ràng (Fu & ctv., 2017; Stadler & ctv., 2019; Ade & ctv., 2022). Đối với *M. parvum*, các nghiên cứu trước đây xác định sự nhiễm trùng không gây thiếu máu nghiêm trọng và không gây hại đáng kể cho heo (Jansen, 1952; Do Nascimento & ctv., 2014; Ade & ctv., 2024).

Cho đến hiện tại đã có bộ gen hoàn chỉnh của *M. suis* chủng Illinois (Guimaraes & ctv., 2011) Bộ gen của cả hai loài chứa một lượng lớn các trình tự mã hóa chưa biết chức năng, khi so sánh chủng *M. suis* KI3806 và chủng *M. parvum* Indiana, cả hai đều có sự tương đồng tất cả các CDS với chức năng đã biết (Do Nascimento & ctv., 2014). Từ phân tích phát sinh loài dựa trên trình tự gen 16S rRNA cho thấy *M. suis*,

M. parvum và loài mới tại Thái Lan cùng nằm chung một nhóm, đó là *M. suis*/*Haemominutum*, trong khi *Ca. M. heamosuis* nằm ở một nhóm khác là *M. haemofelis/haemofelis* (Thongmeesee & ctv., 2022)

Tại Việt Nam, thông tin khoa học về *M. suis* còn rất hạn chế trong khi tỷ lệ hiện diện của vi khuẩn này trong các đàn heo công nghiệp rất cao, theo các dữ liệu xét nghiệm của các phòng xét nghiệm trong nước (dữ liệu không xuất bản). Chính vì thế, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định sự hiện diện và phân tích di truyền của *M. suis* tại các trang trại xuất hiện heo nái rối loạn sinh sản.

2. Vật Liệu và Phương Pháp

2.1. Thu thập và xử lý mẫu

Tổng cộng 150 mẫu bệnh phẩm được thu thập tại 10 trại heo giống có lâm sàng rối loạn sinh sản ở 6 tỉnh thành (Bình Thuận, Bình Phước, Bà Rịa - Vũng Tàu, Bình Dương, Đồng Nai và Thanh Hóa) (Bảng 1). Mẫu thu thập gồm 84 mẫu máu heo nái và mẫu mô cơ quan nội tạng (tim, gan, lách, phổi, thận, hạch) của 12 thai khô, 42 thai chết lưu, 12 heo con yếu. Mẫu máu được thu thập ở tĩnh mạch tai và kháng đông bằng EDTA; sau đó bảo quản ở -8°C cùng với mẫu mô cơ quan và tiến hành vận chuyển về phòng xét nghiệm trong 24 giờ. Mẫu mô tươi được xử lý với dung dịch PBS 1X tạo thành huyền dịch 10% và bảo quản ở nhiệt độ -20°C.

Bảng 1. Số lượng mẫu thu thập ở các trại khảo sát

STT	Trại	Máu nai	Thai khô	Thai lưu	Heo con yếu	Tổng mẫu
1	A	7	8	5	0	20
2	B	5	0	2	0	7
3	C	3	0	1	0	4
4	D	8	2	0	0	10
5	E	3	1	2	0	6
6	F	28	0	13	7	48
7	G	17	0	7	5	29
8	H	2	0	2	0	4
9	I	4	0	4	0	8
10	K	7	1	6	0	14

*Ca bệnh là trường hợp heo nai có biểu hiện lâm sàng và được thu mẫu máu và thai sảy hoặc heo con yếu của chúng.

2.2. PCR phát hiện sự hiện diện của *M. suis*

Các mẫu sau khi thu thập về sẽ được tách chiết DNA bằng bộ kit Thermo Scientific GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ), thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau đó tiến hành xác định sự hiện diện của *M. suis* bằng phương pháp PCR, sử dụng cặp mồi trong nghiên cứu trước đó (Hoelzle & ctv., 2003): 5' GCATTGCCCAGTCCCCAAGGA 3', mồi ngược: 5' TGC GGGGAGTACGTGGGAAGG 3'. Thành phần phản ứng bao gồm: 10 µL SensiFAST™ Probe No-ROX (Bioline, Anh); 0,8 µL/ mỗi mồi (nồng độ cuối là 10 µM); 2 µL DNA mẫu và thêm nước nuclease-free để được thể tích cuối cùng là 20 µL. Chu trình luân nhiệt: 1 chu kỳ 94°C, 2 phút; 35 chu kỳ 94°C, 40 giây; 61°C, 40 giây và 72°C, 40 giây; 1 chu kỳ 72°C, 7 phút. Sản phẩm sau khi PCR có kích thước 782 bp được điện di trên gel Agarose 1,5% và đọc kết quả dưới đèn UV.

2.3. PCR khuếch đại, giải trình tự và phân tích phát sinh loài

Các mẫu dương tính với *M. suis* khi kiểm tra bằng phương pháp PCR sẽ được sử dụng để khuếch

đại gen 16S rRNA bằng phương pháp PCR. Cặp mồi sử dụng được tham khảo từ nghiên cứu trước đây (Thongmeesee & ctv., 2022) gồm mồi xuôi HM_16SF1: 5' GAACAGCCGCAATGGGATTGAG 3' và mồi ngược HM_16SR1: 5' GACCTGGGAACGTATTCACCCTG 3'. Tổng thể tích phản ứng là 25µL, bao gồm: 12,5 µL SensiFAST™ Probe No-ROX (Bioline, Anh); 0,75 µL/mỗi mồi (nồng độ cuối là 10 µM); 2 µL DNA mẫu và thêm nước nuclease-free. Chu trình luân nhiệt: 1 chu kỳ 94°C, 2 phút; 40 chu kỳ 98°C, 10 giây; 60°C, 30 giây và 68°C, 45 giây; 1 chu kỳ 68°C, 10 phút. Sản phẩm khuếch đại có kích thước ~1000 bp được điện di trên gel Agarose 1,5% và đọc kết quả dưới đèn UV. Sản phẩm PCR, sau đó được tinh sạch bằng bộ kit ExoSAP-IT® Express (Applied Biosystems®, Foster City, CA, Hoa Kỳ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất và gửi đến công ty Macrogen để giải trình tự bằng phương pháp Sanger (Macrogen, Hàn Quốc).

Các trình tự gen được xử lý, căn chỉnh bằng phần mềm MEGA11 (<https://www.megasoftware.net/>) (Tamura & ctv., 2021). Tất cả các trình tự tham chiếu của *Haemoplasma* được

thu thập từ cơ sở dữ liệu NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Độ tương đồng giữa các trình tự trong nghiên cứu được thực hiện đánh giá bằng BLASTn (Nucleotide BLAST) có trong (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) và công cụ Pairwise distance trên phần mềm MEGA11. So sánh và xây dựng cây phát sinh loài sử dụng phương pháp Neighbor-Joining, mô hình Tamura 3-parameter, giá trị bootstrap lặp lại 1000 lần. Sự đa dạng của các kiểu trình tự nucleotide (ntST) được phân tích bằng phần mềm DnaSP6 (<http://www.ub.edu/dnasp/>) (Rozas & ctv., 2017). Mạng lưới ntST được xây dựng bằng phương pháp Median Joining Network trên phần mềm PopART 1.7 (<https://popart.maths.otago.ac.nz/>) (Leigh & Bryant, 2015).

2.4. Phân tích thống kê

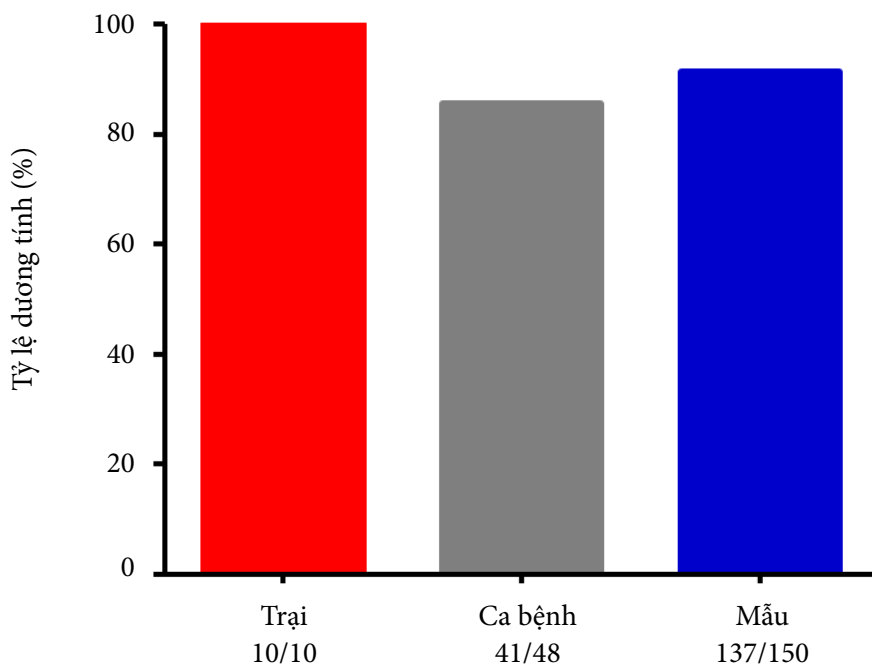
Dữ liệu của nghiên cứu này được lưu trữ và phân tích trên Excel 2021 (Microsoft Office, Washington, USA). Trại được xác định là dương

tính khi có ít nhất 1 ca bệnh dương tính được xác định khi có cả mẫu trên heo nái và mẫu mô thai hoặc heo con yếu của chúng dương tính. Tỷ lệ nhiễm theo mẫu, ca bệnh với khoảng tin cậy 95% (CI 95%) cùng kiểm định Fisher's exact test để kiểm chứng sự khác biệt của tỷ lệ nhiễm giữa các loại mẫu, với mức ý nghĩa thống kê được xác định là $P < 0,05$ được thực hiện bởi phần mềm Minitab 17.

3. Kết Quả

3.1. Sự hiện diện của *M. suis* group ở các trại heo giống

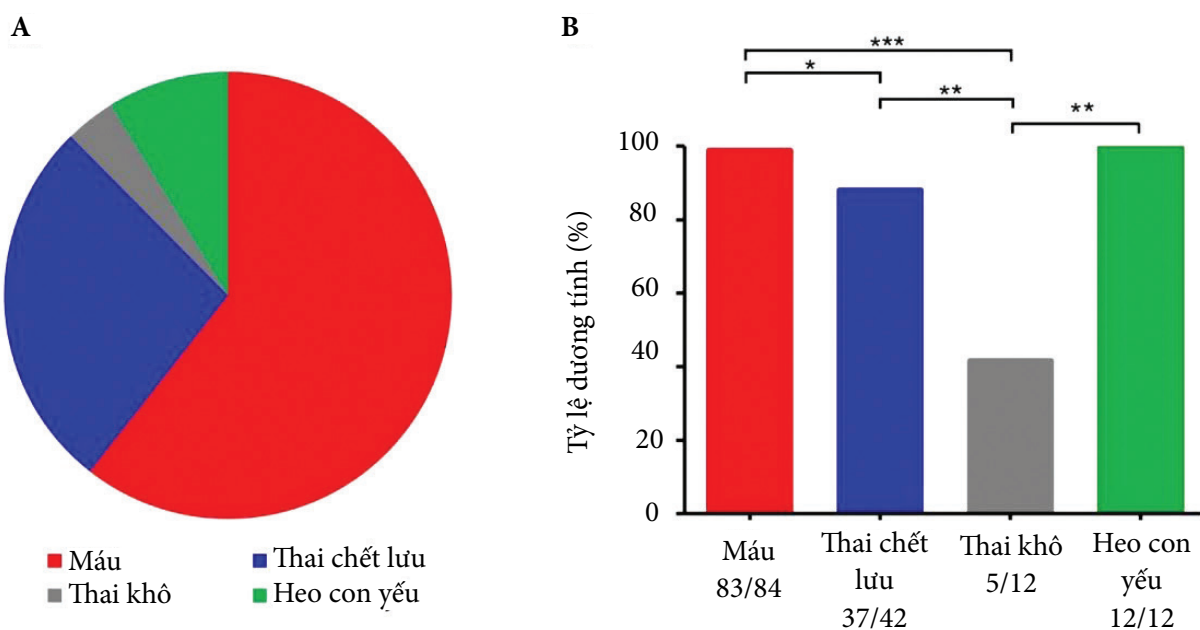
Tất cả 10/10 trại (100%) heo giống thu thập đều phát hiện mẫu dương tính với *M. suis* group. Theo ca bệnh, tỷ lệ dương tính *M. suis* group là 41/48 ca (85,42%, CI 72,24% - 93,93%) và 137/150 (91,33%, CI 85,64% - 95,30%) dương tính theo mẫu (Hình 1).



Hình 1. Tỷ lệ phát hiện mầm bệnh ở mức trại, ca bệnh và mẫu.

Trong tổng số 137 mẫu dương tính, mẫu máu chiếm 55,33% (83/150) và còn lại là các mẫu mô cơ quan thai và heo con yếu, trong đó thai chết lưu chiếm 24,66% (37/150) (Hình 2A). Tỷ lệ dương tính *M. suis* group trên các loại mẫu thu thập dao động từ 41,67 - 100%, bao gồm 98,81% (83/84) ở mẫu máu toàn phần heo nái, 88,7% (37/42) ở mẫu thai chết lưu, 41,67% (5/12) trên

mẫu thai khô và 100% (12/12) ở mẫu heo con yếu. Mẫu máu toàn phần có tỷ lệ phát hiện *M. suis* group cao hơn mẫu thai chết lưu và thai khô ($P < 0,05$) và tỷ lệ dương tính ở mẫu thai chết lưu cao hơn mẫu thai khô ($P < 0,05$). Mặc dù, tỷ lệ dương tính 100% nhưng không có sự khác biệt về mặt thống kê ($P > 0,05$) giữa mẫu mô heo con yếu, máu toàn phần và mẫu thai lưu (Hình 2B).



Hình 2. Sự phân bố của các loại mẫu thu thập. (A) Mẫu dương tính với *M. suis* group; (B) Tỷ lệ dương tính với *M. suis* group theo các loại mẫu được thu thập. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

3.2. Phân tích trình tự gen 16S rRNA của PH

Mười bốn chủng *M. suis* trong nghiên cứu được giải trình tự và phân tích đặc trưng cùng với ba bộ gen hoàn chỉnh của các chủng được thu thập từ GenBank gồm *Mycoplasma suis* Illinois (CP002525), *Mycoplasma suis* KI3806 (FQ790233) và *Mycoplasma parvum* Indiana

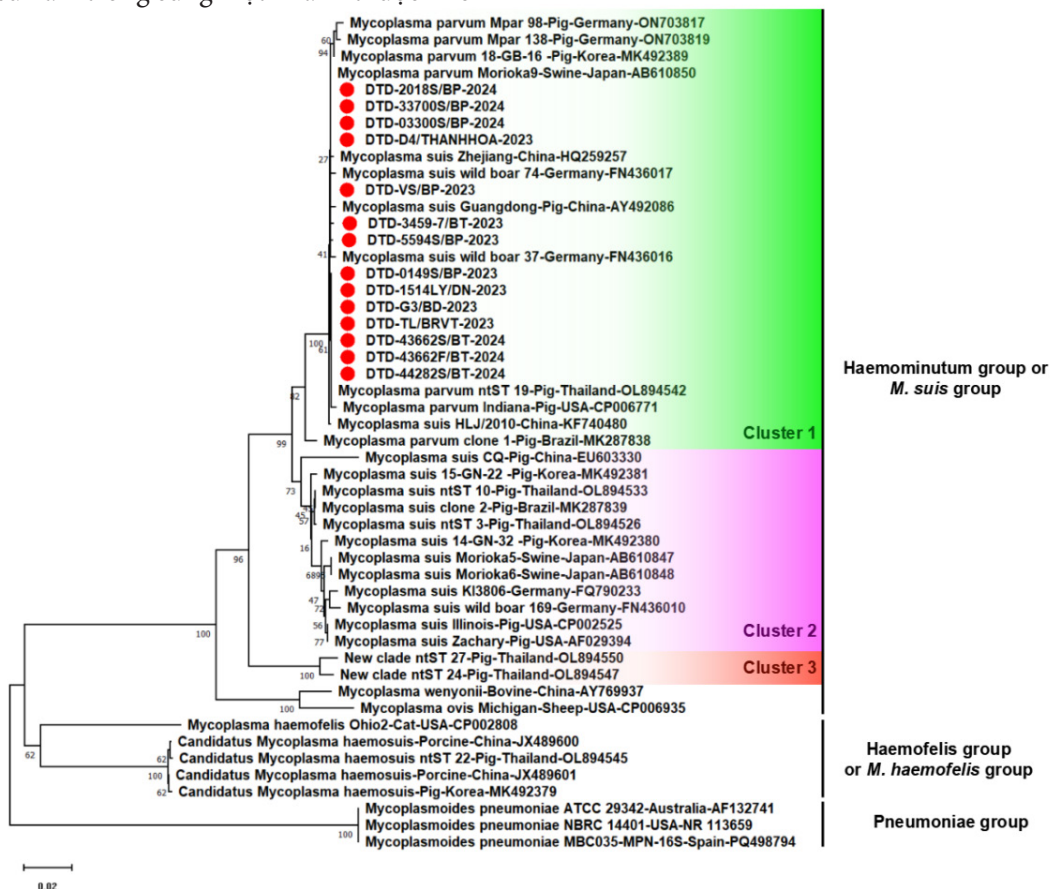
(CP006771). Sự tương đồng giữa chủng nghiên cứu với *Mycoplasma suis* Illinois từ 96,77% đến 96,88%, với *Mycoplasma suis* KI3806 từ 96,35% đến 96,56% và với *Mycoplasma parvum* Indiana từ 99,58% đến 99,79%. Ngoài ra, trình tự các mẫu trong nghiên cứu cũng được so sánh với trình tự tham chiếu của một số quốc gia trên toàn thế giới được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2. Sự tương đồng (%) so sánh giữa các chủng nghiên cứu với các chủng tham khảo

Nguồn gốc	<i>M. suis</i>	<i>M. parvum</i>	<i>Ca. M. haemosuis</i>
Thái Lan	96,57 - 97,45	97,88 - 100	81,03 - 81,44
Trung Quốc	95,04 - 99,90	99,90 - 100	81,30 - 81,57
Hàn Quốc	96,15 - 97,41	97,10 - 100	81,29 - 81,43
Đức	93,72 - 100	99,05 - 99,79	-
Mỹ	96,79 - 96,90	99,58 - 99,79	-
Nhật Bản	96,57 - 96,79%	99,90 - 100	-
Brazil	97,34 - 97,45	98,31 - 100	-

Cây phát sinh loài dựa vào trình tự một phần gen 16S rRNA của *Haemoplasma* được chia làm hai nhóm chính gồm *Haemominutum* hoặc *M. suis* group và *Haemofelis* hoặc *M. haemofelis*. Xác định mười bốn trình tự của chủng trong nghiên cứu đều nằm trong cùng một nhánh thuộc nhóm

Haemominutum (*M. suis* group), giống với các trình tự *Mycoplasma suis* được phân lập ở Đức, Trung Quốc và *Mycoplasma parvum* ở Đức, Hàn Quốc, Nhật Bản, Thái Lan, Mỹ và Brazil, được trình bày cụ thể ở Hình 3.



Hình 3. Cây phát sinh loài của *Haemoplasma* được xây dựng dựa trên trình tự nucleotide của đoạn gen 16S rRNA bằng phần mềm MEGA11, sử dụng phương pháp Neighbor-Joining, mô hình Tamura 3-parameter và giá trị bootstrap lặp lại 1000 lần.

Sau khi phân tích chúng tôi đã phát hiện ra 4 ntST khác nhau từ mười bốn chuỗi gen (chủng *M. suis* nghiên cứu; Bảng 2) với chỉ số khác biệt nucleotide (π) là $0,00086 \pm 0,00018$ và số lượng

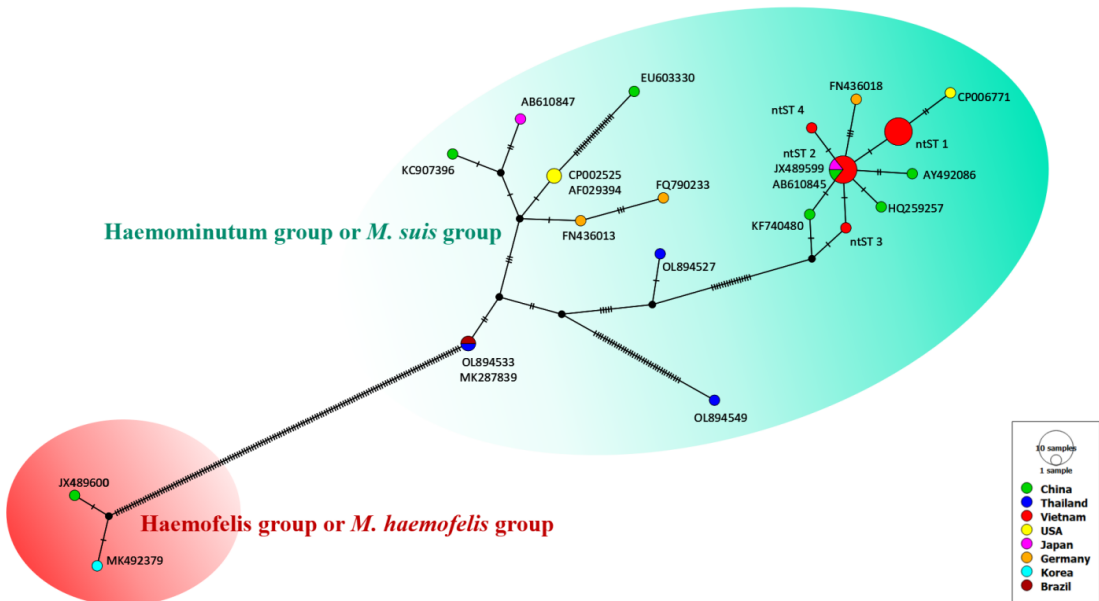
nucleotide khác biệt trung bình (k) là 0,824. Phổ biến nhất là ntST 1 với tỷ lệ là 50% tổng số lượng mẫu trong nghiên cứu này (Bảng 3).

Bảng 3. Các loại ntST của đoạn gen 16S rRNA trong nghiên cứu được phân tích bằng phần mềm DnaSP6

ntST	Mẫu	Đối tượng	Loại mẫu	Vùng (tỉnh)
1	DTD-0149S/BP-2023	Heo	Máu	Bình Phước
	DTD-1514LY/DN-2023	Heo	Máu	Đồng Nai
	DTD-43662S/BT-2024	Heo	Máu	Bình Thuận
	DTD-43662F/BT-2024	Heo	Thai	Bình Thuận
	DTD-G3/BD-2023	Heo	Máu	Bình Dương
	DTD-TL/BRVT-2023	Heo	Máu	Bà Rịa-Vũng Tàu
	DTD-44282S/BT-2024	Heo	Máu	Bình Thuận
2	DTD-VS/BP-2023	Heo	Máu	Bình Phước
	DTD-D4/Thanhhoa-2023	Heo	Máu	Thanh Hóa
	DTD-03300S/BP-2024	Heo	Máu	Bình Phước
	DTD-33700S/BP-2024	Heo	Máu	Bình Phước
	DTD-2018S/BP-2024	Heo	Máu	Bình Phước
3	DTD-3459-7/BT-2023	Heo	Máu	Bình Thuận
4	DTD-5594S/BP-2023	Heo	Máu	Bình Phước

Mạng lưới ntST của các trình tự gen 16S rRNA được thể hiện ở Hình 4, bao gồm ntST_1 đến ntST_4 là các ntST đại diện cho mười bốn chủng *M. suis* nghiên cứu này và mười một trình tự *Haemoplasma* thu thập từ GenBank. Kết quả cho thấy cả bốn ntST tập trung lại trong một nhóm nhỏ cùng với các trình tự được phân lập từ Mỹ (CP006771), Trung Quốc (JX489599, AY492086, HQ259257, KF740480), Đức (FN436018) và

Nhật Bản (AB610845). Bên cạnh đó, có thêm hai nhóm nhỏ khác, một nhóm gồm các trình tự phân lập tại Mỹ (CP002525, AF029394), Brazil (MK287839), Đức (FQ790233, FN436013), Nhật Bản (AB610847) Trung Quốc (EU603330, KC907396) và Thái Lan (OL894533), và nhóm còn lại là trình tự được phân lập tại Thái Lan (OL894549). Cả ba nhóm này đều thuộc nhóm lớn là *Haemominutum* hoặc *M. suis* group.



Hình 4. Mạng lưới ntST của các trình tự gen 16S rRNA bao gồm 14 chủng trong nghiên cứu này (ntST_1 đến ntST_4) và các trình tự PH thu thập từ GenBank, được xây dựng bằng phần mềm PopART 1.7. Mỗi hình tròn ứng với ntST, kích thước hình tròn biểu thị tần suất của ntST và màu sắc đại diện cho quốc gia, các trình tự trong nghiên cứu này được kí hiệu màu đỏ là những trình tự đầu tiên tại Việt Nam.

4. Thảo Luận

Nghiên cứu cho thấy *M. suis* được tìm thấy tại 100% trại mắc rối loạn sinh sản được khảo sát. Theo ca bệnh và mẫu lần lượt có tỷ lệ nhiễm *M. suis* group là 85,42% và 91,33%. Các nghiên cứu tại Hàn Quốc và Đức ghi nhận tỷ lệ lưu hành dao động trong khoảng 0,2% đến 31,25% (Seo & ctv., 2019; Stadler & ctv., 2019), trong khi một nghiên cứu tại Brazil báo cáo 80% heo nái dương tính với *M. suis* (Guimaraes & ctv., 2007) và tỷ lệ này ở mức 80,2% tại một tỉnh của Trung Quốc (Fu & ctv., 2017). Sự chênh lệch trên có thể giải thích bằng một số yếu tố được cho là ảnh hưởng đến tỷ lệ lưu hành *M. suis* ở trang trại như: phân bố địa lý, thời gian lấy mẫu và bố trí nghiên cứu như đối tượng heo nái có lâm sàng. *Haemoplasma* ký sinh trên hồng cầu vật chủ, vì thế vi khuẩn này dễ dàng truyền qua vết thương hở giữa các vật chủ với nhau hoặc tình trạng vấy nhiễm khi tái

sử dụng kim tiêm cùng các dụng cụ y tế khác cho nhiều cá thể trong đàn (Arendt & ctv., 2024), đây có thể là tình trạng dễ gặp phải tại các trại không đảm bảo cơ sở vật chất và không chuẩn hóa kỹ thuật quản lý dẫn đến tỷ lệ nhiễm *M. suis* trong đàn tăng cao (Hoelzle, 2008; Toledo & ctv., 2016). Tỷ lệ nhiễm *Porcine Haemoplasma* tăng theo độ tuổi, do thú lớn tuổi có thời gian phơi nhiễm dài hơn (Song & ctv., 2014). Cùng với đó, khả năng mang trùng mãn tính dù sau khi được điều trị kháng sinh và sự suy giảm miễn dịch trong giai đoạn mang thai (Elbers & ctv., 1994; Luppi, 2003; Ade & ctv., 2022) làm cho công tác phát hiện sự hiện diện của vi khuẩn này và điều trị gặp nhiều khó khăn (Messick, 2004; Gatto & ctv., 2019).

Trong nghiên cứu này, ngoài được phát hiện ở heo nái có biểu hiện rối loạn sinh sản, PH còn được tìm thấy trong một số mẫu heo con chết lưu, thai sảy và thai khô. Những nghiên cứu khác

trên thế giới cho biết: ở cấp độ trang trại chăn nuôi, trại xuất hiện ca nhiễm *M. suis* có nhiều heo con chết lưu hơn so với trại không nhiễm (Stadler & ctv., 2019); về cấp độ cá thể, tỷ lệ thai chết lưu được báo cáo tăng ở heo nái dương tính với *M. suis* (Brissonnier & ctv., 2020). Mặc dù biểu hiện lâm sàng của heo nái dương tính với *M. suis* có liên quan đến sự rối loạn sinh sản (Henderson & ctv., 1997; Brissonnier & ctv., 2020; Stadler & ctv., 2021) nhưng chưa có báo cáo cho thấy *M. suis* trực tiếp gây rối loạn sinh sản. Thai chết lưu còn có thể xảy ra do ảnh hưởng của các yếu tố khác vì chưa có kết luận nào được đưa ra chứng minh heo con chết lưu trong trường hợp này là do *M. suis* (Stadler & ctv., 2019). Hơn nữa, tình trạng đồng nhiễm cùng các mầm bệnh liên quan rối loạn sinh sản khác ngày càng gia tăng (Heinritzi, 2000; Messick, 2004; Wu & ctv., 2006) gây ra những khó khăn trong việc nghiên cứu khả năng gây bệnh của *M. suis* đến tình trạng rối loạn sinh sản trên heo nái.

Các trình tự gen 16S rRNA trong nghiên cứu với có độ tương đồng từ 93,72% đến 100% với trình tự *M. suis*, từ 97,10% đến 100% với trình tự *M. parvum* của các quốc gia như Trung Quốc, Đức, Thái Lan, Hàn Quốc, Nhật Bản và Brazil; từ 81,03% đến 81,57% với trình tự *Ca. M. haemosuis* của các quốc gia như Thái Lan, Trung Quốc, Hàn Quốc. Trong đó, các trình tự trong nghiên cứu thể hiện mức độ tương đồng cao nhất với *M. suis*, là trình tự có nguồn gốc từ Đức (FN391018) với độ tương đồng 100%. Tiếp theo, mức độ tương đồng rất cao với *M. parvum* (100%), được ghi nhận từ các quốc gia khác nhau gồm Trung Quốc (JX489599), Thái Lan (Thongmesee & ctv., 2022), Nhật Bản (Wantanabe & ctv., 2011), Hàn Quốc (Seo & ctv., 2019), Brazil (Sonaglio & ctv., 2021). Mức độ tương đồng cao nhất với *Ca. M. haemosuis* được ghi nhận tại Trung Quốc (JX489601) với độ tương đồng là 81,57%. Theo

Volokhov & ctv. (2012), nếu hai chủng trong cùng một nhóm có độ tương đồng của trình tự gen 16S rRNA trên 97% và ở cùng một nhánh thì chúng rất có thể là cùng một loài.

Về kết quả của cây phát sinh loài, cả 14 chủng nghiên cứu đều tập trung trên cùng một nhánh cùng với những trình tự *M. suis* của Trung Quốc, Đức và còn có sự xuất hiện của trình tự *M. parvum* của Mỹ, Thái Lan, Nhật Bản, Hàn Quốc và Brazil. Nhánh thứ hai tập trung nhiều trình tự *M. suis* của các quốc gia như Trung Quốc, Hàn Quốc, Thái Lan, Nhật Bản, Mỹ, Brazil và Đức. PH mới được ghi nhận tại Thái Lan nằm nhánh cụm thứ ba. Cả 3 nhánh này đều thuộc nhóm *Haemominutum* hoặc *M. suis* group. Đối với *Ca. M. haemosuis*, trình tự tập trung thành một nhánh gồm các trình tự của Thái Lan, Trung Quốc và Hàn Quốc thuộc nhóm *Haemofelis*. Phân tích mạng lưới ntST cũng cho kết quả tương tự khi 4 ntST được đại diện cho 14 trình tự trong nghiên cứu đều nằm chung một nhóm nhỏ cùng với trình tự tại Mỹ (CP006771), Trung Quốc (JX489599, KF740480, HQ259257, AY492086), Đức (FN436018) và Nhật Bản (AB610845) thuộc nhóm lớn *Haemominutum* hoặc *M. suis* group. Hoelzle & ctv. (2010) đã báo cáo rằng, các trình tự *M. suis* từ heo rừng có sự phân chia thành 2 nhánh, nhánh A gần với các trình tự ở Đức và Mỹ, nhánh B gần với các trình tự ở Trung Quốc với độ tương đồng so với nhánh A là 96,2%. Ngoài ra, các trình tự *M. suis* của Trung Quốc được chúng tôi sử dụng làm trình tự tham khảo gồm *M. suis* Zhejiang (HQ259257) được công bố năm 2010 và một trình tự khác được Hoelzle & ctv. (2003) sử dụng làm chủng tham khảo là *M. suis* GD (AY492086), trong khi các chủng *M. parvum* Indiana (CP006771), *M. suis* Illinois (CP002525) và *M. suis* KI3806 (FQ790233) được công bố lần lượt vào năm 2013, 2014 và 2015. Điều này cho thấy các trình tự *M. suis* của Trung Quốc được

sử dụng có thể đã cũ vì thời điểm chúng được công bố, chưa có nhiều dữ liệu hoặc nghiên cứu đầy đủ về những loài PH khác dẫn đến sự nhận diện chỉ tập trung vào *M. suis*. Do đó, các trình tự được công bố trước khi có dữ liệu về bộ gen hoàn chỉnh chưa đủ cơ sở để phân loại chính xác. Seo & ctv. (2019) cũng đã đề cập đến các chủng *M. suis* trước đây cần phải được đánh giá lại (Seo & ctv., 2019)

Hiện tại, *M. parvum* được cho là không gây bệnh vì không quan sát được biểu hiện lâm sàng rõ rệt nào trên heo bị nhiễm (Splitter, 1950; Do Nascimento & ctv., 2014). Tuy nhiên, một số nghiên cứu cho thấy mối liên hệ giữa sự hiện diện của *M. parvum* nói riêng và PH nói chung có liên quan đến việc gây ảnh hưởng đối với năng suất trong chăn nuôi heo (Petri & ctv., 2020; Sonalio & ctv., 2021) three porcine hemoplasmas (PH. Mối tương quan nghịch giữa tải lượng vi khuẩn (*M. suis* và *M. parvum*) với ADWG – trung bình tăng trọng ngày (Petri & ctv., 2020) three porcine hemoplasmas (PH, số lượng con đẻ/tuần, heo con cai sữa/tuần và trọng lượng giết mổ (Sonalio & ctv., 2021). Tuy nhiên, qua các nghiên cứu trên có thể nhận thấy, sự ảnh hưởng đến năng suất trong chăn nuôi heo được ghi nhận chung cho tác động của PH, chưa có báo cáo cụ thể là do hoạt động của riêng *M. parvum*.

Mức độ tương đồng cao giữa hai loài *M. suis* và *M. parvum* làm cho việc thiết kế các đoạn môi đặc hiệu cho từng loài rất khó khăn (Watanabe & ctv., 2011; Seo & ctv., 2019). Những nghiên cứu gần đây cũng đã áp dụng phân tích thêm các gen mục tiêu khác như 23S rRNA và rnpB (Petri & ctv., 2020; Sonalio & ctv., 2021; Thongmeesee & ctv., 2022) three porcine hemoplasmas (PH. Sử dụng thêm các gen mục tiêu trên để phân tích trong tương lai là cần thiết và giúp khắc phục được những hạn chế của gen 16S rRNA trong phân biệt *M. suis* và *M. parvum*.

5. Kết Luận

Nghiên cứu phát hiện sự hiện diện của *M. suis* group với tỷ lệ cao (91,33%) tại các trại heo giống mắc rối loạn sinh sản. Lần đầu tiên, các trình tự 16S rRNA của *M. suis* group được ghi nhận tại Việt Nam, đồng thời xác định có sự đa dạng di truyền của *M. suis* group trong các trang trại heo rối loạn sinh sản.

Lời Cam Đoan

Chúng tôi cam đoan bài báo do nhóm tác giả thực hiện và không có bất kỳ mâu thuẫn giữa các tác giả.

Lời Cảm Ơn

Nghiên cứu này là nội dung của đề tài khoa học và công nghệ cấp cơ sở mã số CS-SV24-CNTY-01, được cấp kinh phí bởi Trường Đại học Nông Lâm TP. Hồ Chí Minh.

Tài Liệu Tham Khảo (References)

- Ade, J., Eddicks, M., Ritzmann, M., Hoelzle, K., Hoelzle, L. E., & Stadler, J. (2024). Haemotrophic *Mycoplasma* infecting pigs: A review of the current knowledge. *Microorganisms* 12(7), 1267. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071267>.
- Ade, J., Hoelzle, K., Stadler, J., Ritzmann, M., & Hoelzle, L. (2022). Occurrence of *Mycoplasma parvum* in german pigs of different age groups using a novel quantitative real-time PCR assay. *Pathogens* 11, 1374. <https://doi.org/10.3390/pathogens11111374>.
- Arendt, M., Stadler, J., Ritzmann, M., Ade, J., Hoelzle, K., & Hoelzle, L. E. (2024). Hemotrophic *Mycoplasma* - Vector transmission in livestock. *Microorganisms* 12(7), 1278. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071278>.

- Brissonnier, M., Normand, V., Lebre, A., Moalic, P. Y., Guyomard, A. S., Bachy, V., Berton, P., Auvigne, V., Bouchet, F., & Boulbria, G. (2020). Frequency of infection with *Mycoplasma suis* in gestating sows using qPCR on ten commercial French herds, and impact of the infection on clinical, haematological and biochemical parameters. *Porcine Health Management* 6(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00152-4>.
- Do Nascimento, N. C., Dos Santos, A. P., Chu, Y., Guimaraes, A. M., Baird, A. N., Weil, A. B., & Messick, J. B. (2014). Microscopy and genomic analysis of *Mycoplasma parvum* strain Indiana. *Veterinary Research* 45(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13567-014-0086-7>.
- Elbers, A. R. W., Geudeke, M. J., van Rossem, H., Kroon, M. C., & Counotte, C. H. M. (1994). Haematology and biochemistry reference values for sows kept under modern management conditions. *Veterinary Quarterly* 16(2), 127-130. <https://doi.org/10.1080/01652176.1994.9694433>.
- Fu, Y., Shi, T., Xu, L., Wei, W., Lu, F., Zhang, X., Yuan, X., Li, J., Lv, J., & Fang, W. (2017). Identification of a novel *Hemoplasma* species from pigs in Zhejiang province, China. *The Journal of Veterinary Medical Science* 79(5), 864-870. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0545>.
- Gatto, I. R. H., Sonálio, K., do Amaral, R. B., Morés, N., Dalla Costa, O. A., André, M. R., & de Oliveira, L. G. (2019). High frequency and molecular characterization of porcine hemotropic mycoplasmas in Brazil. *Veterinary Microbiology* 231, 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.02.024>.
- Guimaraes, A. M. S., Biondo, A. W., Lara, A. C., & Messick, J. B. (2007). Exploratory study of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) on four commercial pig farms in southern Brazil. *Veterinary Record* 160(2), 50-53. <https://doi.org/10.1136/vr.160.2.50>.
- Guimaraes, A. M. S., Santos, A. P., SanMiguel, P., Walter, T., Timenetsky, J., & Messick, J. B. (2011). Complete genome sequence of *Mycoplasma suis* and insights into its biology and adaption to an erythrocyte niche. *Plos One* 6(5), e19574. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019574>.
- Heinritzi, K. E. (2000). Eperythrozoonosis. In Straw, B. E., D'Allaire, S., Mengeling, W. L., & Taylor D. J. (Eds.). *Enfermedades del cerdo* (8th ed., 363-367). Buenos Aires, Argentina: Editorial Intermedica.
- Henderson, J. P., O'Hagan, J., Hawe, S. M., & Pratt, M. C. H. (1997). Anaemia and low viability in piglets infected with *Eperythrozoon suis*. *Veterinary Record* 140(6), 144-146. <https://doi.org/10.1136/vr.140.6.144>.
- Hoelzle, K., Engels, M., Kramer, M. M., Wittenbrink, M. M., Dieckmann, S. M., & Hoelzle, L. E. (2010). Occurrence of *Mycoplasma suis* in wild boars (*Sus scrofa* L.). *Veterinary Microbiology* 143(2), 405-409. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.11.015>.
- Hoelzle, L. E. (2008). Haemotropic mycoplasmas: Recent advances in *Mycoplasma suis*. *Veterinary Microbiology* 130(3-4), 215-226. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.12.023>.
- Hoelzle, L. E., Adelt, D., Hoelzle, K., Heinritzi, K., & Wittenbrink, M. M. (2003). Development of a diagnostic PCR assay based on novel DNA sequences for the detection of *Mycoplasma suis* (*Eperythrozoon suis*) in porcine blood. *Veterinary Microbiology* 93(3), 185-196. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(03\)00040-3](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(03)00040-3).
- Jansen, B. C. (1952). The occurrence of *Eperythrozoon parvum* Splitter, 1950 in South African swine. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 25(4), 1952.
- Leigh, J. W., & Bryant, D. (2015). POPART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution* 6(9), 1110-1116. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>.

- Luppi, P. (2003). How immune mechanisms are affected by pregnancy. *Vaccine* 21(24), 3352-3357. [https://doi.org/10.1016/S0264-410X\(03\)00331-1](https://doi.org/10.1016/S0264-410X(03)00331-1).
- Messick, J. B. (2004). Hemotrophic mycoplasmas (hemoplasmas): A review and new insights into pathogenic potential. *Veterinary Clinical Pathology* 33(1), 2-13. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2004.tb00342.x>.
- Neimark, H., Johansson, K. E., Rikihisa, Y., & Tully, J. G. (2001). Proposal to transfer some members of the genera *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* to the genus *Mycoplasma* with descriptions of “*Candidatus Mycoplasma haemofelis*”, “*Candidatus Mycoplasma haemomuris*”, “*Candidatus Mycoplasma haemosuis*” and “*Candidatus Mycoplasma wenyonii*”. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51(3), 891-899. <https://doi.org/10.1099/00207713-51-3-891>.
- Neimark, H., Johansson, K. E., Rikihisa, Y., & Tully, J. G. (2002). Revision of haemotrophic *Mycoplasma* species names. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52(2), 683. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-2-683>.
- Oehlerking, J., Kube, M., Felder, K. M., Matter, D., Wittenbrink, M. M., Schwarzenbach, S., Kramer, M. M., Hoelzle, K., & Hoelzle, L. E. (2011). Complete genome sequence of the hemotrophic *Mycoplasma suis* strain KI3806. *Journal of Bacteriology* 193(9), 2369-2370. <https://doi.org/10.1128/JB.00187-11>.
- Petri, F. A. M., Sonalio, K., de Souza Almeida, H. M., Ferraz, M. E. S., Storino, G. Y., de Souza, M. R., André, M. R., & de Oliveira, L. G. (2020). Porcine hemotrophic mycoplasmas infection associated with productive impact in intensive pig production. *Porcine Health Management* 6(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00171-1>.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., & Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution* 34(12), 3299-3302. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>.
- Seo, M. G., Kwon, O. D., & Kwak, D. (2019). Prevalence and phylogenetic analysis of hemoplasma species in domestic pigs in Korea. *Parasites and Vectors* 12, 378. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3638-x>.
- Sonalio, K., Perles, L., Gatto, I. R. H., Amaral, R. B., Almeida, H. M. S., Galdeano, J. V. B., Vieira, R. F. C., André, M. R., & Oliveira, L. G. (2021). Genetic diversity of emerging hemotropic mycoplasmas in domestic pigs from Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases* 68(3), 1162-1174. <https://doi.org/10.1111/tbed.13767>.
- Song, Q., Zhang, W., Song, W., Liu, Z., Khan, M. K., He, L., Fang, R., Li, P., Zhou, Y., Hu, M., & Zhao, J. (2014). Seroprevalence and risk factors of *Mycoplasma suis* infection in pig farms in central China. *Preventive Veterinary Medicine* 117(1), 215-221. <https://doi.org/10.1016/j.pvetmed.2014.07.006>.
- Splitter, E. J. (1950). *Eperythrozoon suis* n. sp. and *Eperythrozoonparvum* n. sp., two new blood parasites of swine. *Science* 111(2889), 513-514. <https://doi.org/10.1126/science.111.2889.513>.
- Stadler, J., Ade, J., Hermanns, W., Ritzmann, M., Wentzel, S., Hoelzle, K., & Hoelzle, L. E. (2021). Clinical, haematological and pathomorphological findings in *Mycoplasma suis* infected pigs. *BMC Veterinary Research* 17(1), 214. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02919-5>.
- Stadler, J., Willi, S., Ritzmann, M., Eddicks, M., Ade, J., Hoelzle, K., & Hoelzle, L. E. (2019). Detection of *Mycoplasma suis* in pre-suckling piglets indicates a vertical transmission. *BMC Veterinary Research* 15(1), 252. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-2001-y>.

- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38(7), 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.
- Thongmeesee, K., Kamkong, P., Thanee, S., Wattanapansak, S., Kaewthamasorn, M., & Tiawsirisup, S. (2022). Molecular detection and genetic analysis of porcine hemoplasmas in commercial pig farms from Thailand reveal a putative novel species. *Transboundary and Emerging Diseases* 69, e2028-e2040. <https://doi.org/10.1111/tbed.14537>.
- Toledo, M. A., Leite, A. I., Gonçalves, L. R., Sousa, K. C. M. de, do Amaral, R. B., da Silva, G. C. P., Machado, R. Z., & André, M. R. (2016). High occurrence of *Mycoplasma suis* infection in swine herds from non-technified farms in Mossoró, state of Rio Grande do Norte, Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 25, 414-417. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016084>.
- Volokhov, D. V., Simonyan, V., Davidson, M. K., & Chizhikov, V. E. (2012). RNA polymerase beta subunit (rpoB) gene and the 16S-23S rRNA intergenic transcribed spacer region (ITS) as complementary molecular markers in addition to the 16S rRNA gene for phylogenetic analysis and identification of the species of the family Mycoplasmataceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62(1), 515-528. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.11.002>.
- Watanabe, Y., Fujihara, M., Obara, H., Nagai, K., & Harasawa, R. (2011). Two genetic clusters in swine hemoplasmas revealed by analyses of the 16S rRNA and RNase P RNA genes. *Journal of Veterinary Medical Science* 73(12), 1657-1661. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0293>.
- Wu, J., Yu, J., Song, C., Sun, S., & Wang, Z. (2006). Porcine eperythrozoonosis in China. *Annals of The New York Academy of Sciences* 1081(1), 280-285. <https://doi.org/10.1196/annals.1373.038>.