

**SỞ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ TP-HCM  
TRUNG TÂM THÔNG TIN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**BÁO CÁO PHÂN TÍCH XU HƯỚNG CÔNG NGHỆ**

**Chuyên đề:**

**CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN  
VACCINE CHO NUÔI TRỒNG THỦY SẢN**



***Biên soạn:*** Trung tâm Thông tin Khoa học và Công nghệ TP. HCM

***Với sự cộng tác của:*** TS. Nguyễn Quốc Bình

Phó Giám Đốc TT Công nghệ Sinh học TP.HCM

***TP. Hồ Chí Minh, 06/2012***

# MỤC LỤC

<b>I. TỔNG QUAN VỀ TÌNH HÌNH NUÔI TRỒNG THỦY SẢN TRÊN THẾ GIỚI VÀ VIỆT NAM</b>	4
1. Tình hình nuôi trồng thủy sản trên thế giới	4
2. Tình hình nuôi trồng thủy sản tại Việt Nam	5
<b>II. CÁC TÁC NHÂN GÂY BỆNH CHO NUÔI CÁ VÀ TÔM</b>	7
1. Các tác nhân gây bệnh trên cá nuôi	7
1.1. Tác nhân virus	7
1.2. Tác nhân vi khuẩn	8
1.3. Tác nhân ký sinh trùng	9
1.4. Tác nhân nấm bệnh	10
2. Các tác nhân gây bệnh trên tôm nuôi	11
<b>III. CÁC LOẠI VACCINE DÙNG CHO TÔM, CÁ</b>	12
1. Vaccine truyền thống	12
1.1. Vaccine bất hoạt (inactivated)	13
1.2. Vaccine hỗn hợp	13
1.3. Vaccine được sản xuất từ nội tạng	13
2. Công nghệ gen và Vaccine thế hệ mới	13
2.1. Vaccine ngừa bệnh và vaccine chữa bệnh	13
2.2. Làm thế nào để tạo được vaccine?	14
2.3. Virus tái tổ hợp và vaccine sống nhược độc	14
2.4. Knock-out gen tạo vi khuẩn nhược độc	15
3. DNA Vaccine và triển vọng ngừa bệnh cho tôm cá	16
3.1. DNA Vaccine	16
3.2. Triển vọng ngừa bệnh trên cá	18
3.3. Triển vọng ngừa bệnh trên tôm	21
4. Các phương pháp đưa vaccine vào tôm cá	21
4.1. Phương pháp tiêm	21
4.2. Phương pháp ngâm và cho ăn	22
<b>IV. XU HƯỚNG NGHIÊN CỨU VACCINE CHO NUÔI TRỒNG THỦY SẢN QUA CÁC SỐ LIỆU ĐĂNG KÝ SÁNG CHẾ</b>	23
1. Tình hình đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản từ 1977-2011	23

2. Các quốc gia đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản .....	25
3. Các hướng nghiên cứu (theo bảng phân loại IPC).....	27
4. Tỷ lệ phân bố các hướng nghiên cứu trong 5 quốc gia dẫn đầu .....	30
5. 10 tổ chức nộp đơn đăng ký sáng chế nhiều nhất về vaccine cho nuôi trồng thủy sản .....	30
<b>V. GIỚI THIỆU MỘT SỐ NGHIÊN CỨU VACCINE CHO NUÔI TRỒNG THỦY SẢN TRÊN THẾ GIỚI, TẠI VIỆT NAM VÀ TẠI TRUNG TÂM CÔNG NGHỆ SINH HỌC TP. HỒ CHÍ MINH.</b> .....	33
1. Các sáng chế thế giới liên quan đến vaccine cho thủy sản .....	33
2. Các loại vaccine cho nuôi trồng thủy sản đang được thương mại trên thế giới.....	36
3. Các nghiên cứu về vaccine cho thủy sản tại Việt Nam.....	39
4. Các nghiên cứu về vaccine cho tôm cá tại Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh.....	41
4.1. Vaccine tiểu phần .....	41
4.2. Vaccine sống nhược độc.....	42
4.3. DNA Vaccine .....	43
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b> .....	44

# CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG NGHIÊN CỨU PHÁT TRIỂN VACCINE CHO NUÔI TRỒNG THỦY SẢN

\*\*\*\*\*

## I. TỔNG QUAN VỀ TÌNH HÌNH NUÔI TRỒNG THỦY SẢN TRÊN THẾ GIỚI VÀ VIỆT NAM

### 1. Tình hình nuôi trồng thủy sản trên thế giới

Khai thác thủy sản và nuôi trồng thủy sản đã cung cấp cho thế giới khoảng 142 triệu tấn cá trong năm 2008. Trong số này, 115 triệu tấn được sử dụng làm thực phẩm, bình quân 17 kg cá theo đầu người (trọng lượng sống). Nuôi trồng thủy sản vẫn là một ngành sản xuất sôi động, phát triển, và quan trọng đối với thực giàu protein. Theo các báo cáo trên thế giới, sản xuất cá thực phẩm từ nuôi trồng thủy sản, bao gồm các loại cá, động vật giáp xác, động vật thân mềm và các loài động vật thủy sản khác cho tiêu dùng của con người, đạt 52,2 triệu tấn trong năm 2008. Sự đóng góp của nuôi trồng thủy sản với tổng sản lượng khai thác thủy sản và nuôi trồng thủy sản tiếp tục phát triển, tăng từ 34,5% năm 2006 lên 36,9% trong năm 2008. Trong giai đoạn 1970 – 2008, sản xuất cá thực phẩm từ nuôi trồng thủy sản tăng với tốc độ trung bình 1,6% mỗi năm. Các kết quả tổng hợp từ sự phát triển nuôi trồng thủy sản trên toàn thế giới và việc mở rộng dân số toàn cầu, trung bình hàng năm nguồn cá thực phẩm cung cấp cho người tiêu dùng tính theo bình quân đầu người đã tăng 10 lần, từ 0,7 kg năm 1970 đến 7,8 kg trong năm 2008, ở mức tỷ lệ trung bình 6,6% mỗi năm.

Sản xuất từ nuôi trồng thủy sản chủ yếu là dành cho sự tiêu thụ của con người. Trên toàn cầu, nuôi trồng thủy sản chiếm 45,7% sản xuất thực phẩm cá cho thế giới trong năm 2008, tăng so với 42,6% trong năm 2006. Tại Trung Quốc, là nhà sản xuất nuôi trồng thủy sản lớn nhất thế giới, 80,2% cá thực phẩm do nuôi trồng được tiêu thụ trong năm 2008, tăng so với 23,6% của năm 1970. Sản xuất nuôi trồng thủy sản cung cấp cho phần còn lại của thế giới chiếm 26,7% cá thực phẩm, tăng so với 4,8% của năm 1970.

Mặc dù có truyền thống lâu đời trong nuôi trồng thủy sản ở một số ít các quốc gia qua nhiều thế kỷ, nuôi trồng thủy sản trong bối cảnh toàn cầu hiện nay là một ngành sản xuất thực phẩm trẻ đã phát triển nhanh chóng trong 50 năm qua. Sản lượng nuôi trồng thủy sản thế giới tăng lên đáng kể, từ dưới 01 triệu tấn hàng năm trong năm 1950 lên 52,5 tấn vào năm 2008, tăng gấp 03 lần tỷ lệ sản xuất thịt thế giới (2,7% từ gia cầm và chăn nuôi) trong cùng thời kỳ. Ngược lại với sản xuất đánh bắt thủy sản thế giới đã gần như ngừng phát triển từ giữa thập kỷ 1980, ngành nuôi trồng thủy sản vẫn duy trì tốc độ tăng trưởng

trung bình hàng năm 8,3% trên toàn thế giới (6,5% không bao gồm Trung Quốc) giữa những năm 1970 và 2008.

Tốc độ tăng trưởng hàng năm trên thế giới của ngành sản xuất nuôi trồng thủy sản giữa các năm 2006 – 2008 là 5,3% về khối lượng. Tốc độ tăng trưởng ở phần còn lại của thế giới (6,4%) từ 2006 đến 2008 cao hơn so với Trung Quốc (4,7%). Giá trị của nuôi trồng thủy sản sau thu hoạch trên toàn thế giới, không bao gồm thực vật thủy sinh, được ước tính 98,4 tỷ USD trong năm 2008. Thực tế giá trị tổng sản lượng từ toàn bộ nuôi trồng thủy sản cao hơn mức này, vì giá trị của sản xuất giống và vườn ương và nuôi trồng sinh vật cảnh (cá cảnh) chưa được ước tính vào nuôi trồng thủy sản (FAO Fisheries and Aquaculture Department, 2010).

## 2. Tình hình nuôi trồng thủy sản tại Việt Nam



Thủy sản là một ngành có nhiều thế mạnh và đóng góp lớn trong kim ngạch xuất khẩu của Việt Nam. Với 762.000ha mặt nước nuôi thủy sản cùng giá trị xuất khẩu hàng tỉ USD mỗi năm, vùng Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) đóng góp đến 2/3 kim ngạch xuất khẩu thủy sản của cả nước. Với những lợi thế về diện tích, sản lượng khai thác, đánh bắt và cả kim ngạch xuất khẩu, nghề nuôi trồng thủy sản được các địa phương khuyến khích phát triển trên cơ sở khai thác những lợi thế do thiên nhiên mang lại gắn với nhu cầu thị trường để chọn đối tượng canh tác phù hợp. Nằm ở vị trí được bao bọc bởi sông Tiền và sông Hậu, với hệ thống sông ngòi chằng chịt, tỉnh Vĩnh Long đã khai thác tối đa lợi thế sẵn có để nuôi trồng và khai thác thủy sản. Toàn tỉnh có 3.091 ha mặt nước và 787 lồng bè nuôi thủy sản các loại.

Hiện nay, ngành nuôi trồng thủy sản của ĐBSCL đang gặp một số bất lợi do sản xuất đơn lẻ, người nuôi chỉ quan tâm đến lợi nhuận nhất thời nên có lúc, có nơi ngành phát triển quá nóng, thiếu quy hoạch dẫn đến mất cân đối cung cầu. Công tác quản lý các yếu tố đầu vào, khâu thu mua, chế biến và tiêu thụ sản phẩm còn nhiều bất cập. Việc đầu tư cho sản xuất của nông dân còn không ít khó khăn. Vì vậy, các địa phương trong vùng ĐBSCL đều chú trọng khai thác các điều kiện tự nhiên để phát triển nghề nuôi trồng thủy sản, định hướng liên kết các hộ nuôi trồng thủy sản lại với nhau hình thành mô hình HTX thủy sản. Song, trong thời gian qua, các HTX thủy sản ở ĐBSCL phát triển chưa tương xứng với tiềm năng, quy mô còn nhỏ, các tổ chức tín dụng chỉ cho nông dân vay vốn hỗ trợ sản xuất khi có tài sản thế chấp, việc tiêu thụ sản phẩm còn gặp nhiều khó khăn...



Nghề nuôi cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) thâm canh tại nước ta (chủ yếu tại các tỉnh An Giang, Cần Thơ, Hậu Giang, Đồng Tháp, Vĩnh Long) phát triển rất nhanh trong hơn 10 năm trở lại đây. Cá tra hiện là mặt hàng xuất khẩu chủ lực của ngành thủy sản Việt Nam với kim ngạch xuất khẩu giá trị hơn 1.48 tỷ USD trong năm

2008; đạt 1,34 tỷ USD trong năm 2009 và đạt 1.4 tỷ USD trong năm 2010. Việc thâm canh hóa trong nuôi cá tra, đặc biệt là nuôi với mật độ cao và chưa có những biện pháp quản lý dịch bệnh hợp lý đã làm cho dịch bệnh xảy ra thường xuyên hơn và gây thiệt hại nhiều hơn. Trong năm 2011, dù còn nhiều khó khăn song các DN trong ngành thủy sản, đặc biệt là cá tra vẫn góp phần không nhỏ vào kim ngạch xuất khẩu thủy sản của vùng đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Theo Hiệp hội Chế biến và xuất khẩu thủy sản Việt Nam (VASEP), tính đến cuối tháng 10, kim ngạch xuất khẩu cá tra đạt 1,48 tỷ USD, tăng 29,2% so cùng kỳ 2010, dự kiến cả năm sẽ đạt 1,6 tỷ USD.

Theo Vasep, năm 2011 xuất khẩu thủy sản của Việt Nam đạt 6,118 tỷ USD, tăng 21% so với năm 2010. Trong đó xuất khẩu tôm đã đóng góp một phần không nhỏ trong tổng kim ngạch xuất khẩu thủy sản. Cả năm 2010, cả nước đã xuất khẩu được 240.000 tấn tôm sang 92 thị trường đạt kim ngạch 2,08 tỉ đô la Mỹ. Trong năm 2011, 10 tháng đầu năm xuất khẩu tôm nước ta đã đạt được 262,5 triệu USD nâng tổng kim ngạch xuất khẩu tôm 10 tháng lên 1,95 tỷ USD tăng 16% so với cùng kỳ năm ngoái. Tuy nhiên, theo đánh giá của Tổng cục Thủy sản, vụ tôm năm 2011 diễn ra hết sức khó khăn ở nhiều địa phương, đặc biệt là thời tiết, môi trường diễn biến hết sức phức tạp, dịch bệnh xảy ra trên diện rộng, ảnh hưởng lớn đến hiệu quả sản xuất. Dịch bệnh trên tôm diễn biến càng lúc càng phức tạp. Có rất nhiều tác nhân có thể kí sinh gây bệnh trên tôm dẫn đến gây chết hàng loạt như vi rút, vi khuẩn, vi bào tử, nấm, nguyên sinh động vật... Trong đó, vi rút là tác nhân gây ra rất nhiều bệnh cho loài động vật thủy sản này.

Theo Vasep, năm tháng đầu năm 2012, xuất khẩu thủy sản đạt hơn 2,3 tỷ USD, tăng hơn 11% so cùng kỳ năm ngoái. Tuy nhiên, hiện ngành thủy sản gặp rất nhiều khó khăn về nguyên liệu, vốn, thị trường, tính cạnh tranh, lợi nhuận giảm. Trong quý I năm nay, số DN tham gia xuất khẩu thủy sản giảm 330, chỉ còn hơn 470 DN, giảm hơn 40% so cùng kỳ năm ngoái. Xuất khẩu sang EU, thị trường lớn nhất trong số 130 thị trường tiêu thụ thủy sản Việt Nam đã giảm 7,9 % so cùng kỳ năm ngoái. Tỷ trọng xuất khẩu thủy sản sang thị trường này cũng giảm gần 5% (còn 19,7%). Hai mặt hàng chủ lực là tôm và cá tra đều

giảm mạnh. Một số hải sản khác như cá ngừ, mực, bạch tuộc sang thị trường này vẫn khả quan.

## II. CÁC TÁC NHÂN GÂY BỆNH CHO NUÔI CÁ VÀ TÔM

### 1. Các tác nhân gây bệnh trên cá nuôi

#### 1.1. Tác nhân virus

Bệnh hoại tử thần kinh (Viral nervous necrosis) xuất hiện trên 22 loài cá: cá mú (*Epinephelus* sp.), cá chình (*Anguilla anguilla*), cá chẽm (*Lates calcarifer*), cá giò (*Racycentron canadum*). Tác nhân gây bệnh là virus VNN, thuộc Betanodavirus, có kích thước từ 25 – 30 nm, gây bệnh chủ yếu trên cá giống, tỷ lệ chết có thể lên đến 90 – 100%, tỷ lệ chết ít hơn nhiều ở cá lớn.

Bệnh ở tế bào lympho trên cá mú ở mọi giai đoạn do iridovirus, với biểu hiện có nốt sần màu trắng đục hay hồng nhạt trên thân. Tác nhân gây bệnh iridovirus có kích thước 130 – 330nm và hình khối cầu 20 mặt. Iridovirus với kích thước 140 – 160nm gây bệnh phỏng (Blister disease) ở cá từ 5 – 100g với biểu hiện phỏng rộp ở da và vây, tỷ lệ chết từ 30 – 80%.

IPNV gây bệnh hoại tử tuyến tụy (Infectious Pancreatic Necrosis - IPN) ở cá hồi Atlantic. Khi cá bị nhiễm bệnh có biểu hiện sạm màu, mắt hơi lồi, bụng chướng, hoại tử ở gan tụy và các vùng xung quanh. Tỷ lệ chết có thể lên đến 95% ở những loài mẫn cảm và độ tuổi mẫn cảm.

Bệnh nhiễm trùng máu xuất huyết (Viral haemorrhagic septicaemia) ở cá hồi do Rhabdovirus gây ra, dẫn đến xuất huyết ở ở hốc mắt và gốc vây. Bệnh lây lan theo đường truyền ngang, qua môi trường nước. Tỷ lệ chết có thể lên đến 80% và thường xảy ra ở cá nhỏ.

*Oncorhynchus masou* Virus thuộc nhóm Herpesvirus gây bệnh ung thư biểu mô vùng miệng và trên thân, có những điểm trắng trên gan, thận và não bị hoại tử, chủ yếu ở cá hồi Nhật Bản và khu vực Đông Á. Virus lây truyền qua môi trường nước hoặc vật mang.

IHNV, thuộc rhabdovirus gây bệnh hoại tử cơ quan tạo máu (Infectious hematopoietic necrosis) trên cá thuộc các vùng Bắc Mỹ, Nhật Bản và Châu Âu. Bệnh thường xảy ra ở cá con (dưới 100g) khi nhiệt độ lạnh dưới 10%, với các biểu hiện như xuất huyết vùng bụng và mắt, thân sạm màu, bụng chứa nhiều dịch. Tỷ lệ cá chết từ 80 – 100% trong vòng 1 – 2 tuần.

## 1.2. Tác nhân vi khuẩn

Ở khu vực Đông Nam Á, thường xuất hiện bệnh xuất huyết, đốm đỏ, lở loét, vây bị ăn mòn chủ yếu trên cá mú, cá chẽm do *Vibrio*. Các tác nhân gây bệnh chủ yếu là vi khuẩn *Vibrio anguillarum*, *Vibrio ordalii*, *Vibrio salmonicida*, *Vibrio vulnificus*. Ở khu vực Bắc Âu, vi khuẩn *Vibrio salmonicida* thường gây bệnh trên cá hồi Atlantic.



Bệnh nhiễm trùng máu xuất huyết do *Pseudomonas* sp. gây ra và tác động lên cá ở mọi giai đoạn. Bệnh xảy ra ở nhiệt độ thấp (dưới 16°C) vào những tháng mùa đông, biểu hiện bụng chướng, có những đốm xuất huyết ở da và nội quan. Ở cá mú, thân bị lở loét, xuất huyết da, vây và đuôi, mắt lồi và đục. Tỷ lệ cá chết từ 20 – 60%.

Ngoài ra, còn có một số các bệnh khác như: bệnh mòn đuôi do *Flexibacter maritimus* phát tán rộng ở Châu Âu, Nhật Bản, Bắc Mỹ và Úc; bệnh do *Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida* gây tổn thất kinh tế rất lớn cho nghề nuôi cá biển, cá trap, cá chẽm... ở các quốc gia thuộc vùng Địa Trung Hải (1990); bệnh vi khuẩn trên thận (Bacterial Kidney Disease – BKD) do *Renibacterium salmoninarum* xảy ra ở cá hồi trên một năm tuổi ở Bắc Mỹ, Nhật, Tây Âu và Chile; bệnh Mycobacteriosis do *Mycobacterium* xảy ra ở cá lóc, cá bơn và cá chẽm thuộc vùng Thái Bình Dương và Đại Tây Dương với những nốt màu trắng xám trên lách, thận và gan, cá bị mất thăng bằng, tổn thương và xuất huyết trong cơ; bệnh nhiễm trùng máu ở cá hồi Piscirickettsiosis do vi khuẩn *Piscirickettsia salmonis*. (Nguyễn Văn Hào và cộng sự, 2008).



Hằng năm, cá nuôi bị thiệt hại từ các bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn, ký sinh trùng và nấm gây nên không ngừng gia tăng. Trong đó, đối tượng gây bệnh hiện nay chủ yếu trên cá tra ở Việt Nam là *Edwardsiella ictaluri*. Bệnh gan thận mũ do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây thiệt hại lớn cho người

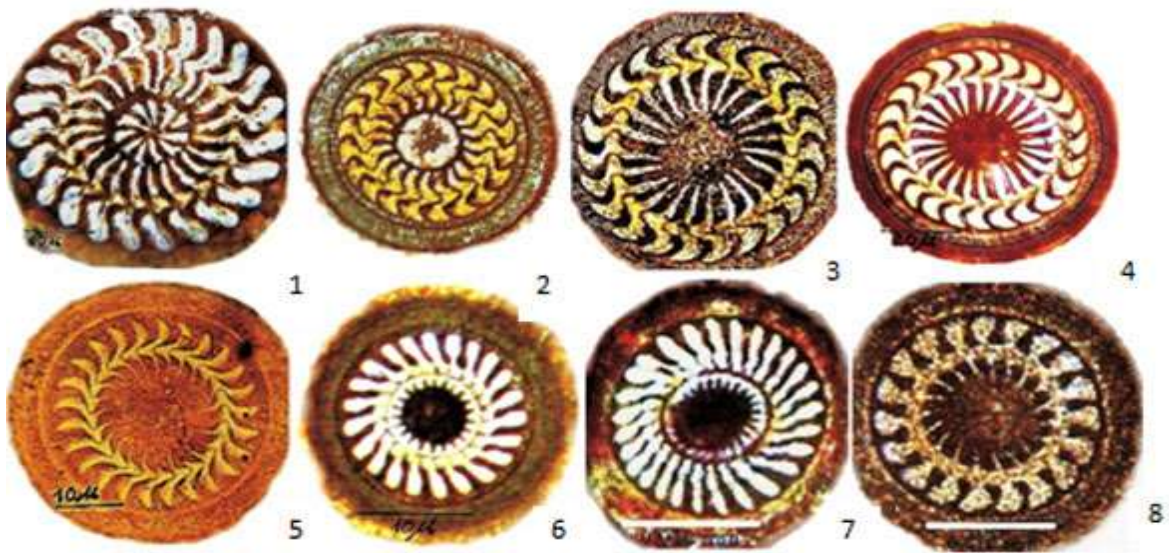


nuôi cá tra thâm canh ở các tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. Tỷ lệ cá chết khi bị nhiễm bệnh gan thận mủ có thể lên đến 90% trên cá tra giống và 50% trên cá tra thương phẩm.

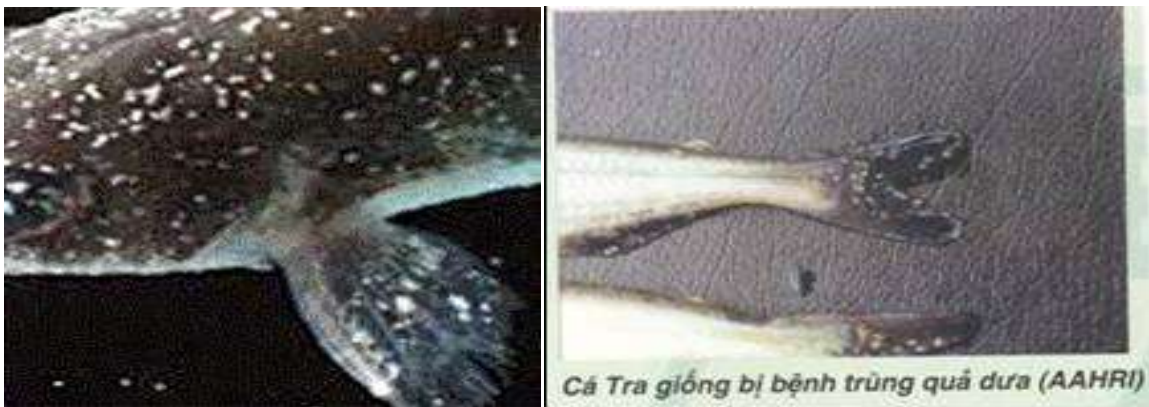
*Edwardsiella ictaluri* là tác nhân gây bệnh nhiễm trùng huyết đang phổ biến trên cá nheo ở Mỹ (Plumb J.A. và cộng sự, 1989) và bệnh gan thận mủ ở cá tra, cá basa ở Việt Nam (Phạm Đình Khôi, 2009). *Edwardsiella ictaluri* được định danh bởi Hawke và cộng sự năm 1981 và được phân biệt sinh hóa với các loài phổ biến hơn thuộc chi *Edwardsiella tarda*. Ferguson và cộng sự (2001) đã có công trình nghiên cứu đầu tiên mô tả về bệnh mủ gan trên cá tra nuôi tại Việt Nam. Tuy nhiên, nguyên nhân gây bệnh gan thận mủ chỉ được xác định sau đó một năm do vi khuẩn *E. ictaluri* bởi Crumlish và cộng sự (2002). Bệnh gan thận mủ tiến triển nhanh chóng ở cá da trơn khỏe mạnh, đang tăng trưởng và có thể dẫn đến tử vong cao. Tỷ lệ mắc bệnh xảy ra cao ở điều kiện nhiệt độ tăng trưởng tối ưu in vitro của vi khuẩn từ 22°C đến 28°C, tức vào thời điểm các tháng cuối năm khi nhiệt độ nước hạ thấp (tháng 9 đến tháng 1 năm sau) (Hawke J. P., 1979).

*Aeromonas hydrophila* là tác nhân chính gây bệnh xuất huyết MAS (motile aeromonad septicemia) và cũng là tác nhân thứ cấp trong hội chứng loét EUS (epizootic ulcerative syndrome) ở nhiều loài động vật dưới nước cũng như trên cạn trong đó có con người (Lio-Po G.D. và cộng sự, 1996; Robert R.J., 1993). Đây là loài vi khuẩn gram âm, hiện diện ở khắp nơi, đặc biệt trong môi trường nước và gây ra nhiều triệu chứng bệnh khác nhau. Bệnh gây ra bởi *A. hydrophila* ở các loài cá vùng nước ấm còn được gọi là bệnh đốm đỏ “Red-sore”, theo Huizinga (1979). Ở điều kiện bình thường, *A. hydrophila* ít gây bệnh cho cá, nhưng khi cá bị căng thẳng (stress) do môi trường hoặc do các tác nhân vật lý hoặc khi có sự xâm nhiễm của các tác nhân khác thì *A. hydrophila* là một tác nhân gây bệnh tiềm năng (Plumb và cộng sự, 1976; Fang H.M và cộng sự, 2000). *A. hydrophila* là tác nhân gây bệnh xuất huyết (bệnh đốm đỏ, bệnh đỏ mủ đỏ kỳ) trên cá tra (Việt Nam): Vùng đầu, mắt, các gốc vây và hậu môn xuất hiện nhiều điểm xung huyết. Là một trong những bệnh có tần số xuất hiện cao nhất trên cá tra nuôi. Đây là vi khuẩn gây bệnh cơ hội: giao mùa, cá bị sốc do đánh bắt, vận chuyển, ao nuôi có hàm lượng khí nitrite và ammonia cao, oxy hòa tan thấp, cá nhiễm ngoại ký sinh trùng, hay nhiễm vi khuẩn khác như *Edwardsiella ictaluri*.

### 1.3. Tác nhân ký sinh trùng



**Hình 1: Bệnh trùng bánh xe (Trichodinosis)**



**Hình 2: Bệnh trùng quả dưa (Ichthyophthiriosis)**

Bên cạnh các bệnh gây ra bởi virus và vi khuẩn, các bệnh trên cá nuôi còn do ký sinh trùng như monogenean (*Hexostoma thynni*), copepods (*Pseudocycnus appendiculatus*) (*Euryphorus brachypterus*) và đĩa (*Cardicola forsteri*). Bệnh rận biển Sea lice *Lepeophtheirus salmonis* do nhóm ngoại ký sinh thuộc nhóm copepod ở các trại nuôi cá hồi của Scotland. Một nhóm rận biển nữa là *Caligus elongates* gây ký sinh trên mắt và đầu của cá ngừ Southern Bluefin. Bệnh Amoebic Gill Disease – AGD có khả năng gây chết trên 50% cá nuôi vào những tháng mùa hè nước ấm, tác nhân gây bệnh là *Neoparamoeba* sp, một nhóm amoeba biển sống tự do rất phổ biến trong nước biển (Nguyễn Văn Hào, 2008).

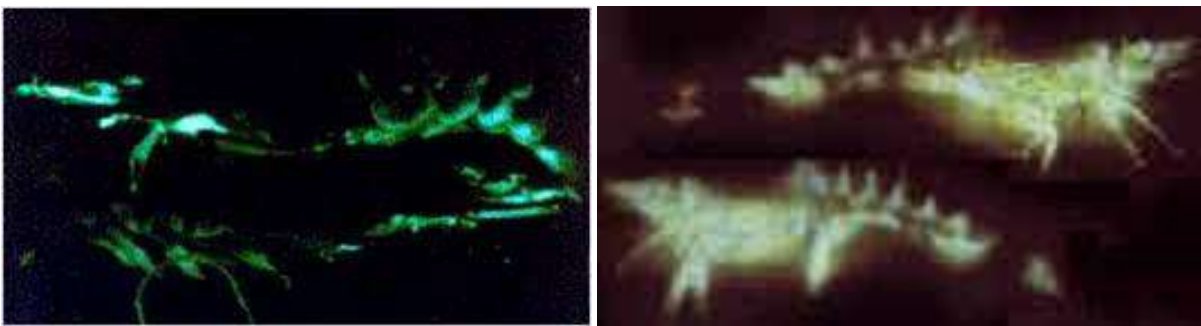
#### **1.4. Tác nhân nấm bệnh**



**Hình 3: Bệnh do flexibacter gây ra: Bệnh Nấm Nhớt, Bệnh Nấm Thủy Mi**

Ngoài các tác nhân gây bệnh trên, cá thường còn bị một số bệnh do nấm gây ra. Ví dụ điển hình là bệnh “nấm nhớt” trên cá rô đồng do nấm gây ra. Kết quả nghiên cứu trên nhiều mẫu bệnh phẩm đã phân biệt được 3 nhóm vi nấm ký sinh trên cá rô đồng bị "Nấm nhớt" nuôi thâm canh trên ao đất là *Fusarium*, *Acremonium* và *Geochitrum*. Ngoài bệnh "Nấm nhớt" cá ở Việt nam còn hay bị một số loài nấm sợi khác thuộc các giống *Leptolegnia*, *Saprolegnia* và *Achlya*; Họ *Saprolegniaceae*; Bộ *Saprolegniales* gây bệnh “thủy my”. Bệnh nấm thủy my xảy ra ở nhiều loài cá ngọt và trứng cá, bệnh có thể gặp ở khắp mọi nơi trên thế giới. Trong các loài cá nuôi phổ biến ở Việt Nam, như cá chép, cá mè, cá trắm cỏ, cá trê, cá trôi và một số đối tượng nuôi đặc sản khác như baba, ếch,... đều có thể bị nhiễm bệnh nấm thủy my.

## 2. Các tác nhân gây bệnh trên tôm nuôi



**Hình 4: Bệnh phát sáng do vi khuẩn *Vibrio harveyi***

Vi khuẩn là tác nhân thường xuyên có mặt trong ao nuôi, cũng có thể gây nhiều bệnh nguy hiểm khác nhau cho các giai đoạn phát triển của tôm. Một số bệnh do vi khuẩn gây ra ở tôm nuôi như bệnh đứt râu, bệnh cụt đuôi, hoại chi, bệnh đốm đen, đốm nâu, bệnh phát sáng, bệnh vi khuẩn dạng sợi,... Trong đó, bệnh phát sáng là bệnh hay thường gặp nhất do vi khuẩn *Vibrio* gây ra trên tôm ở tất cả các giai đoạn: trứng, ấu trùng, hậu ấu trùng và tôm trưởng thành. Đối với các bệnh do virus, bệnh đốm trắng do WSSV (White Spot Syndrome virus) gây ra đang là vấn đề đau đầu đối với bà con nông dân. Virus này gây ra cái chết hàng loạt trong các ao nuôi tôm làm ảnh hưởng nặng nề đến ngành công nghiệp

nuôi tôm thương phẩm. Bệnh đốm trắng do WSSV là một trong những bệnh nguy hiểm nhất đối với tôm nuôi hiện nay. Bệnh xảy ra ở tất cả các nước nuôi tôm và ảnh hưởng phần lớn đến nghề nuôi tôm công nghiệp trên thế giới. Trong thời gian qua, bệnh đốm trắng đã bùng phát ở nhiều khu vực nuôi tôm trên thế giới, đặc biệt là các nước Châu Á. Bệnh đốm trắng đã gây tỷ lệ chết cao và gây thiệt hại lớn cho nghề nuôi tôm công nghiệp ở Trung Quốc, Nhật Bản, Indonesia và Ấn Độ. Trong thời gian 1994 – 1995, virus gây bệnh đốm trắng đã gây chết hầu hết tôm nuôi (*P. monodon*; *P. indicus*) dọc theo bờ biển phía Đông Ấn Độ và phía Tây Ấn Độ (Tạp chí thông tin KH-CN và Kinh Tế Thủy Sản, số 4 – 2004). Thực tế hiện nay ở các nước trong khu vực Đông Nam Á, bệnh đốm trắng được xem là phổ biến và nguy hiểm nhất vì vậy hầu hết các nghiên cứu đều tập trung ngăn ngừa sự lan nhiễm và bùng nổ bệnh đốm trắng ở các ao nuôi (Nguyễn Văn Hảo, 2000). Theo Bùi Quang Tề (2003), ở Việt Nam, từ năm 1993 – 1994 đến nay bệnh đốm trắng trên tôm thường xuất hiện ở các vùng nuôi tôm ven biển từ nuôi quảng canh đến nuôi thâm canh, bệnh đã gây thiệt hại đáng kể cho nghề nuôi tôm. Ở các tỉnh ven biển phía Nam từ năm 1993 – 1994, hiện tượng tôm chết hàng loạt trên tôm sú nuôi được xác định do ba loại bệnh: bệnh MBV, bệnh đốm trắng và bệnh đầu vàng (Tạp chí thông tin KH-CN và Kinh Tế Thủy Sản, số 4 – 2004). Từ năm 1996 đến nay, tôm nuôi thương phẩm ở Khánh Hòa và các địa phương khác trong cả nước chịu tác hại rất lớn của bệnh đốm trắng. Bệnh này xảy ra hàng năm, trên diện rộng, có những vụ nuôi 80% diện tích nuôi tôm ở một địa phương bị thất thu hay thu hoạch sớm ngoài dự kiến (Bộ Thủy Sản, 2003). Một trong những virus gây bệnh trên tôm thể chân trắng là virus Taura còn gọi là bệnh đỏ đuôi. Virus này cũng gây chết tôm tỷ lệ cao (đến 100%) gây thiệt hại nghiêm trọng cho loài tôm này. Trên tôm người ta đã xác định có tới trên 13 loại virus gây bệnh khác nhau. Số lượng này đang còn chưa thực sự dừng lại. Nổi bật nhất là hiện tượng tôm chết hàng loạt ở nước ta cũng như một số nước châu Á khác từ năm 2009 tới nay với triệu chứng suy gan tụy. Nguyên nhân gây bệnh chưa được tìm ra một cách chắc chắn. Tuy nhiên với sự lây lan nhanh thì nguyên nhân là một thể virus nào đó cũng chưa được loại trừ.

Một trong những phương pháp ngừa bệnh hữu hiệu ít tốn kém nhất cho ngành nuôi trồng thủy sản là vaccine. Tuy nhiên, việc phát triển các loại vaccine cho cá và nhất là tôm đang gặp rất nhiều khó khăn. Bằng chứng là chỉ có một số ít vaccine được đưa ra thị trường. Sau đây sơ lược một số loại vaccine đang được ứng dụng.

### **III. CÁC LOẠI VACCINE DÙNG CHO TÔM, CÁ**

#### **1. Vaccine truyền thống**

### **1.1. Vaccine bất hoạt (inactivated)**

Tác nhân gây bệnh như vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường lỏng, khi đạt được mật độ cần thiết (10<sup>9</sup>-10<sup>11</sup> CFU/ml), người ta bất hoạt vi khuẩn hoặc giết vi khuẩn bằng nhiệt, áp suất hay hóa chất (formol, glutaraldehyde) hay bằng kháng sinh. Hầu hết các vaccine hiện nay đều dựa trên các tác nhân gây bệnh bị bất hoạt. Tuy nhiên, hiệu quả của vaccine bất hoạt khá thấp. Nhìn chung, vaccine bất hoạt 01 liều không đủ để gây đáp ứng miễn dịch, mà cần phải sử dụng hơn 01 liều vaccine bất hoạt thì mới xây dựng được hệ thống bảo vệ miễn dịch hoàn chỉnh.

### **1.2. Vaccine hỗn hợp**

Là vaccine có chứa nhiều chủng vi khuẩn gây bệnh đã được bất hoạt nhằm tăng khả năng phòng bệnh cho một hoặc nhiều bệnh khác nhau.

### **1.3. Vaccine được sản xuất từ nội tạng**

Loại vaccine này chỉ dùng với các bệnh nhiễm khuẩn. Dùng nội tạng của cá bị bệnh (gan, thận, tụy), nghiền nhỏ trong nước muối sinh lý, ly tâm và lọc bỏ chất bã. Kế tiếp theo là giết chết tác nhân gây bệnh có trong dịch lọc bằng phương pháp nhiệt (giữ ở nhiệt độ 60-65°C trong 2 giờ), bằng phương pháp formol 1%, hay bằng hỗn hợp formol 1% + kháng sinh tổng hợp. Sản phẩm này được bảo quản trong lọ, dán kín miệng bằng parafin, giữ ở nhiệt độ 4-5°C, dùng trong 2-3 tháng mùa bệnh. Loại vaccine này dùng phổ biến ở Trung Quốc.

## **2. Công nghệ gen và Vaccine thế hệ mới**

### **2.1. Vaccine ngừa bệnh và vaccine chữa bệnh**

Chiến lược chủng ngừa vaccine được sử dụng như biện pháp phòng ngừa chống lại bệnh (tiêm chủng dự phòng) ở cá không bị nhiễm bệnh. Mặt khác, các phương pháp điều trị hay khắc phục hậu quả, như kháng sinh, thường được sử dụng trong điều trị bệnh ở cá nhiễm bệnh. Trong khi đó, vaccine điều trị (vaccine chữa bệnh) chưa được nghiên cứu đầy đủ ở cá nhiễm bệnh cận lâm sàng. Việc sử dụng vaccine điều trị khắc phục hậu quả của cá bị bệnh không có triệu chứng có thể giữ vai trò quan trọng không kém vaccine phòng bệnh. Tuy nhiên, việc sử dụng vaccine điều trị cho cá là một khái niệm mới, do đó các tài liệu tham khảo về nó vẫn còn rất hạn chế. Gần đây, Rhodes, Rathbone, Corbett, Harrell và Strom (2004) đã báo cáo tác dụng điều trị sau khi tiêm một loại vaccine tế bào kết hợp gồm tế bào *Renibacterium salmoninarum* chết (MT239) và Renogen (*Arthrobacter* spp. bất hoạt đã được thương mại hóa) chống lại bệnh vi khuẩn trên thận (BKD) đã tồn tại trước đó ở cá hồi Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha* – Walbaum). Việc tiêm vaccine điều trị này làm tăng lên đáng kể tỷ lệ sống sót của cá nhiễm tự nhiên với *R. salmoninarum* so với trước khi

tiêm và làm giảm mức độ kháng nguyên vi khuẩn trong thận. Evans, Klesius, Shoemaker và Fitzpatrick (2004) nghiên cứu cho thấy tăng tỷ lệ sống và giảm đáng kể mức độ stress liên quan với bệnh nhiễm trùng ở cá rô phi sông Nile (*Oreochromis niloticus* L.) khi được tiêm với vaccine có chứa *Streptococcus agalactiae* chết (Evans J.C và cộng sự, 2006).

## **2.2. Làm thế nào để tạo được vaccine?**

Vaccine là một sản phẩm được tạo nên từ chính tác nhân gây bệnh (vi khuẩn, virus, ký sinh trùng) hay các độc tố do chính tác nhân gây bệnh tiết ra (độc tố vi khuẩn), nhằm tác động vào hệ thống miễn dịch đặc hiệu của động vật có xương sống, trong đó có cá để tạo ra các phản ứng miễn dịch. Kích thích miễn dịch đặc hiệu (vi khuẩn, virus hoặc ký sinh trùng, kiểu huyết thanh) bao gồm kháng nguyên, chất kháng nguyên, các chất bổ trợ.

Những gen mã hóa cho cấu trúc của kháng nguyên được tách ra và gắn với DNA của nấm men hay vi khuẩn. Các vi sinh vật này được nuôi cấy tham gia sinh sản trên môi trường tổng hợp canh thang, để đạt được một số lượng đáng kể. Người ta thu các sản phẩm này và dùng như một vaccine tái tổ hợp (recombinant vaccine).

DNA vaccine trong những năm gần đây là một loại vaccine mới, được tạo ra từ DNA của một tác nhân gây bệnh. DNA vaccine được tạo ra bằng cách chèn (và biểu hiện, kích hoạt ghi nhận hệ thống miễn dịch) của DNA của virus hoặc vi khuẩn vào tế bào người hay động vật. Một lợi thế của DNA vaccine là chúng rất dễ dàng thuận lợi trong sản xuất và lưu trữ.

## **2.3. Virus tái tổ hợp và vaccine sống nhược độc**

### **2.3.1. Vaccine virus tái tổ hợp**

Các phương pháp tiếp cận vaccine đối với các bệnh truyền nhiễm được áp dụng rộng rãi và đánh giá cao. Trong số đó, các vector dựa trên virus tái tổ hợp thể hiện triển vọng rất lớn và đóng một vai trò quan trọng trong sự phát triển của vaccine mới. Nhiều virus đã được nghiên cứu có khả năng biểu hiện protein của các tác nhân gây bệnh ngoại lai và thúc đẩy đáp ứng miễn dịch đặc hiệu chống lại các kháng nguyên này trong in vivo. Nhìn chung, các vaccine dựa trên gen có thể kích thích mạnh các phản ứng miễn dịch dịch thể và miễn dịch tế bào, và các vector virus có thể đem lại hiệu quả cao trong việc vận chuyển các gen mã hóa kháng nguyên cũng như tạo điều kiện thuận lợi và tăng cường khả năng trình diện kháng nguyên (Souza A.P.D. và cộng sự, 2005)

Trong tự nhiên, virus bám dính vào tế bào và tiêm vật liệu di truyền của chúng vào tế bào chủ. Do đó, các nhà khoa học đã tận dụng quá trình tự nhiên này trong việc tạo ra vaccine. Sau khi có được những bộ gen của các virus vô hại hoặc nhược độc nhất định, chúng sẽ được chèn vào với các phần vật liệu di truyền từ các vi sinh vật khác. Virus mang

sẽ đem DNA của vi sinh vật đến tế bào. Vaccine virus tái tổ hợp bắt chước cách gây nhiễm trong tự nhiên, từ đó kích thích hệ thống miễn dịch của vật chủ.

Hiện nay, hầu hết các vaccine virus sử dụng trong nuôi trồng thủy sản là virus bất hoạt hay protein tiểu phần tái tổ hợp. Vaccine virus bất hoạt/chết nhìn chung không hiệu quả trừ phi chúng được tiêm với liều lượng cao cần thiết để đạt mức độ bảo vệ, cũng như chi phí vaccine virus bất hoạt cao gây khó khăn cho việc phát triển loại vaccine này. Vaccine virus sống đã được thử nghiệm ở cá với kết quả tốt và cần được tối ưu hóa trong vấn đề hiệu quả bảo vệ, quản lý và giá cả. Tuy nhiên, khía cạnh an toàn sinh thái của vaccine virus sống được xem là hạn chế lớn và hiện đang cản trở việc sử dụng chúng như là vaccine thương mại.

### **2.3.2. Vaccine sống nhược độc**

Vaccine sống nhược độc dùng tác nhân gây bệnh còn sống nhưng mất hoạt lực như là một vaccine để kích thích miễn dịch của vật nuôi.

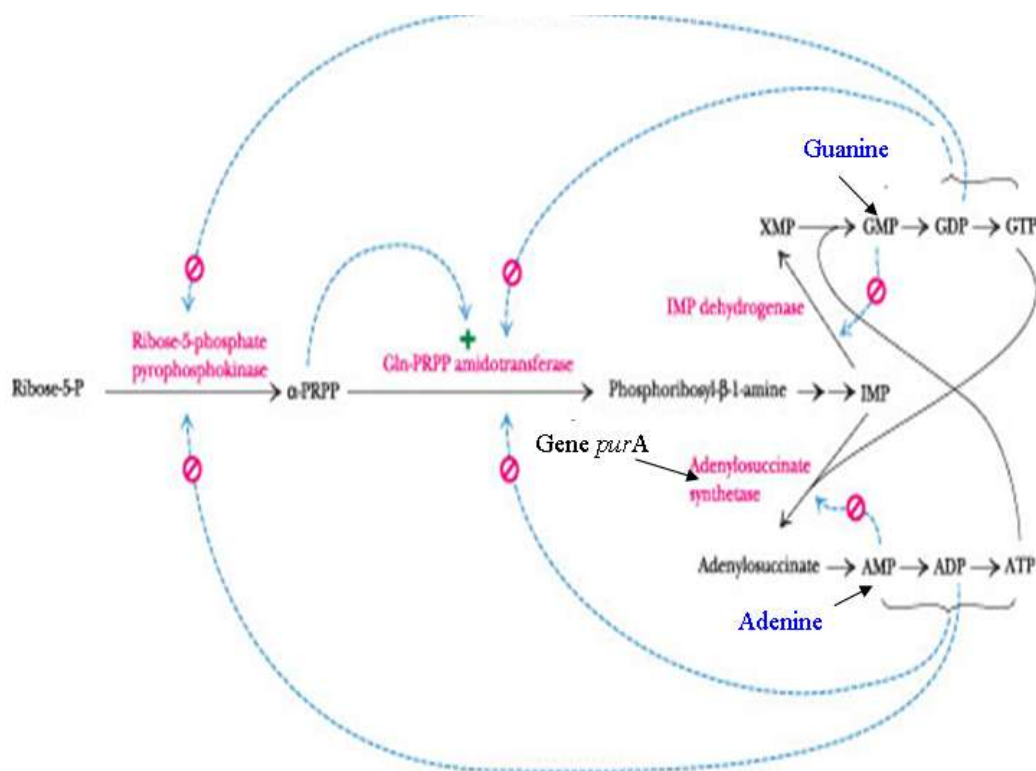
Vaccine bất hoạt có ưu điểm là dễ sản xuất và an toàn khi sử dụng. Tuy nhiên, loại vaccine này lại có hiệu quả không cao. Trong khi đó, vaccine sống nhược độc sử dụng vi khuẩn sống đã giảm hoặc không còn độc lực lại rất có hiệu quả cao trong việc kích thích đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào cũng như duy trì nhớ miễn dịch. Phương pháp tạo vi khuẩn nhược độc đơn giản nhất là phương pháp cấy chuyển nhiều lần trong phòng thí nghiệm để làm giảm độc lực, sau đó gây nhiễm cho vật chủ. Tuy nhiên, độc lực vi khuẩn có thể phục hồi khi chúng được tăng sinh trong cơ thể vật chủ. Vì vậy, phương pháp này không an toàn và không thích hợp để áp dụng trong sản xuất vaccine. Hiện nay, việc tạo chủng nhược độc thường được thực hiện theo hướng tạo ra các đột biến bằng tác nhân vật lý (nhiệt độ, tia UV), hóa học (hóa chất, kháng sinh), hoặc bằng phương pháp sinh học phân tử (knockout gen).

### **2.4. Knock-out gen tạo vi khuẩn nhược độc**

Phương pháp knock-out gen được sử dụng để bất hoạt các gen độc tính hoặc các gen cần thiết cho quá trình sinh dưỡng của vi khuẩn trong vật chủ. Các chủng này vẫn có thể kích thích hệ thống miễn dịch của vật chủ theo con đường gây bệnh của chủng hoang dại nhưng không đủ độc để làm chết vật chủ. Vì vậy, knock-out gen là một phương pháp rất hữu dụng trong việc tạo chủng vi khuẩn đột biến nhược độc.

Một tác nhân gây bệnh sẽ được tách bỏ đi, chẳng hạn như một số gen gây độc hay gen mã hóa cho một enzyme mà xúc tác cho quá trình chuyển hóa từ chất này sang chất khác. Nếu loại bỏ gen này thì enzyme sinh tổng hợp từ nó sẽ không được tạo thành, ví dụ khi gen *purA* đột biến thì enzyme adenylosuccinate synthetase không được tạo thành. Chính vì vậy, quá trình chuyển hóa inosine monophosphate (IMP) thành adenylosuccinate

sẽ không xảy ra, dẫn đến ATP không được hình thành để cung cấp năng lượng cho quá trình chuyển hóa từ XMP thành GMP, qua một vài phản ứng tạo ra GTP (hình 1) tham gia quá trình sinh tổng hợp DNA và RNA. Khi chúng bị đột biến gen khuyết dưỡng thì phải bổ sung chất dinh dưỡng phù hợp thì chúng này mới sống được. Vì vậy, các chủng này là không có độc lực, hay độc lực yếu. Theo William McFarland, khóa bất kì 3 điểm trước IMP thì tính độc không bị mất hoàn toàn, khóa giữa IMP và guanosine monophosphate đòi hỏi bổ sung purine guanine. Trái lại, sự khóa giữa IMP và adenosine monophosphate (AMP) đòi hỏi purine adenine, kết quả tính độc mất hoàn toàn (Bruce A.D. Stocker, 1988).



Hình 5: Con đường tổng hợp adenylosuccinate synthetase từ gen purA

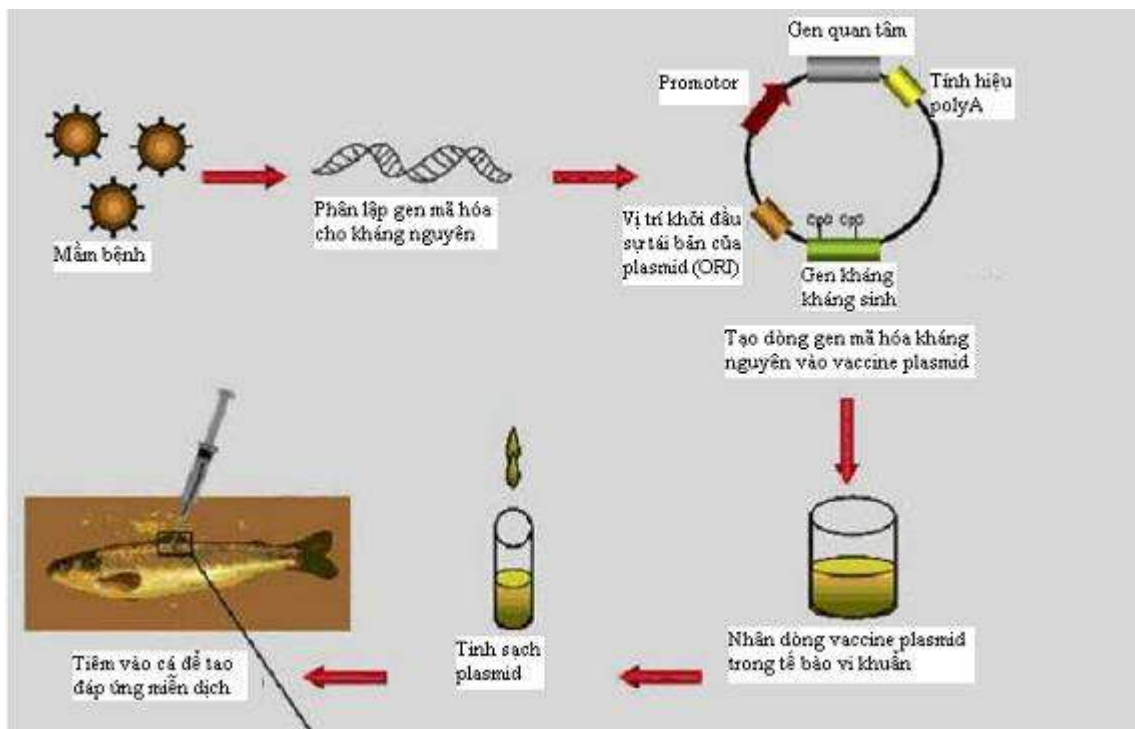
### 3. DNA Vaccine và triển vọng ngừa bệnh cho tôm cá

#### 3.1. DNA Vaccine

DNA vaccine là loại vaccine có thành phần chính là gen gây độc của chủng vi khuẩn gây bệnh được thu nhận, nhân lên và đưa trực tiếp vào cơ thể cá. DNA plasmid (pDNA) thường được dùng làm phương tiện chuyển gen đến động vật hữu nhũ và cá. pDNA là phân tử DNA dạng vòng (DNA này không khác gì DNA nhiễm sắc thể), có khả năng nhân lên độc lập với prokaryote. DNA plasmid dùng để chuyển gen nghiên cứu, thông thường pDNA bao gồm promoter, trình tự tăng cường (enhancer), gen mục tiêu, trình tự polyA, trình tự cuối của sự phiên mã, gen kháng kháng sinh và điểm khởi đầu của sự tái bản (ORF). Sự biểu hiện gen mục tiêu, pDNA được phiên mã ra mRNA và dịch mã thành



protein bên trong tế bào ký chủ. pDNA được ứng dụng vào trong hai lĩnh vực quan trọng: gen trị liệu và vaccine DNA (Tonheim T.C. và cộng sự, 2008).



Hình 7: Các bước cơ bản để tạo DNA vaccine cho cá

Bảng 1: Những thuận lợi và điểm không thuận lợi của DNA vaccine (Lorenzen N. và cộng sự, 2005)

Thuận lợi	Không thuận lợi/Vấn đề hiện tại
Di truyền và nguyên lý đơn giản	Khó khăn/chi phí trong phân phối, cần có các chiến lược mới cho tiêm phòng hàng loạt các cá nhỏ
Độ an toàn cao – không có rủi ro bệnh truyền nhiễm	Không hiệu quả đối với tất cả tác nhân gây bệnh
Kết hợp các ưu điểm của vaccine nhược độc và vaccine chết truyền thống	Khái niệm mới – vấn đề an toàn lâu dài vẫn còn phải được tiếp tục phân tích
Có thể thành công khi chiến lược vaccine truyền thống thất bại	Sự phân biệt chính thức giữa động vật được tiêm DNA vaccine và vi sinh vật đột biến gen (GMO) vẫn chưa rõ ràng
Có khả năng kết hợp tá dược phân tử như các motif CpG	Cộng đồng ác cảm với các thành phần biến đổi gen trong các sản phẩm lương thực thực phẩm, có thể làm ảnh hưởng đến sự chấp

	nhận của người tiêu dùng về DNA vaccine thú y
Hoạt hóa cả cơ chế dịch thể và tế bào *	Chưa có tiền lệ pháp lý về DNA vaccine cho động vật chăn nuôi
Có thể gây miễn dịch đa hóa trị bằng cách pha trộn đơn giản các DNA vaccine *	Sự phức tạp có thể của quyền sở hữu trí tuệ ảnh hưởng đến DNA vaccine thú y
Hiệu quả cao ở giai đoạn đầu *	
Khả năng bảo vệ có được ngay sau khi sử dụng vaccine và hiệu quả được kéo dài *	
Khả năng bảo vệ ở cả nhiệt độ cao hay thấp *	
Hiệu quả bảo vệ ở các serotype khác nhau *	
Có thể chuẩn bị vaccine cho các tác nhân gây bệnh mới nhanh chóng với chi phí thấp	
Tính ổn định cao của sản phẩm tinh sạch	
Chi phí tương đối thấp, sản xuất/đảm bảo chất lượng dễ dàng	

*\*Được chứng minh trong các trường hợp DNA vaccine cho cá*

### **3.2. Triển vọng ngừa bệnh trên cá**

Rhabdovirus, một loại virus gây hoại tử cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (IHNV), và virus gây bệnh nhiễm trùng xuất huyết (VHSV), gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến cá hồi nuôi ở các vùng Tây Bắc Mỹ (IHNV), Pháp (VHSV và IHNV) và Đan Mạch (VHSV). Qua hơn 30 năm, các nhà nghiên cứu đã có nhiều nỗ lực trong việc tạo ra các vaccine hiệu quả sử dụng phương pháp truyền thống như vaccine virus sống hay vaccine virus chết. Mặc dù, có hiệu quả bảo vệ tốt trong thử nghiệm phòng thí nghiệm nhưng vaccine sống được chứng

minh là không an toàn và vaccine bất hoạt cần thiết phải sử dụng liều cao. Các vaccine tiêu phân tái tổ hợp khác dựa trên glycoprotein màng IHNV và VHSV nhưng không thành công. Tuy nhiên, vaccine DNA mã hóa cho glycoprotein virus tương tự lại có hiệu quả đáng kể. Thật vậy, các DNA vaccine có hiệu quả bảo vệ khi được sử dụng ở liều thấp và ở giai đoạn sớm 4 – 8 ngày, và kéo dài đến 2 năm sau khi chủng ngừa. Trong ứng dụng nuôi trồng thủy sản, DNA vaccine an toàn hơn vaccine sống nhược độc (Ingunn Sommerset và cộng sự, 2005).

**Bảng 2: Tổng quan các nghiên cứu DNA vaccine gồm các kháng nguyên vi khuẩn hoặc virus ở cá (Tonheim T.C. và cộng sự, 2008)**

<b>Mầm bệnh</b>	<b>Gen của mầm bệnh làm vaccine</b>	<b>Ký chủ</b>	<b>Con đường cấp vaccine</b>	<b>Sự bảo vệ</b>	<b>Tham khảo</b>
AHNV	VHSV-G	Cá bơn	Tiêm cơ	Có	Sommerset I và ctv, 2003
	Protein vỏ (AHNV)	Cá bơn	Tiêm cơ	Không	Sommerset I và ctv, 2003
	Protein vỏ (AHNV)	Cá bơn	Tiêm cơ	Không	Sommerset I và ctv, 2005
CCV	7 gen (CCV)	Cá Nheo Mỹ	Tiêm cơ	Có	Nusbaum KE, 2002
HIRRV	HIRRV-G	Cá thồn bơn Nhật bản - Japanese flounder ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	Tiêm cơ	Có	Seo JY, 2006
IHNV	IHNV-G	Cá hồi vân ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Tiêm cơ	Có	Cooper CL, và ctv, 2004; Lapatra SE và ctv, 2000; Corbeil S và ctv, 2000; Lapatra SE và ctv, 2001; Lorenzen N và ctv, 2002; Kim CH và ctv,

					2000; Anderson ED và ctv, 1996; Corbeil S và ctv, 1999
IHNV-G	Cá hồi vân ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Súng bắn gen	Có		Corbeil S và ctv,2000
IHNV-G	Cá hồi vân ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Tiêm bụng	Không rõ ràng		Corbeil S và ctv,2000
IHNV-G	Cá hồi vân ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Ngâm	Không		Corbeil S và ctv,2000
IHNV-G	Cá hồi vân ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	scarification	Không		Corbeil S và ctv,2000
IHNV-G	Cá hồi vân ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Tiêm đường miệng	Không		Corbeil S và ctv,2000
IHNV-G	Cá hồi Atlantic ( <i>Salmo salar</i> )	Tiêm cơ	Có		Traxler GS và ctv, 1999
IHNV-G	Cá hồi Chinook ( <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> )	Tiêm cơ	Có		Garver KA và ctv, 2005
IHNV-G	Cá hồi Sockeye ( <i>Oncorhynchus nerka</i> )	Tiêm cơ	Có		Garver KA và ctv, 2005
IHNV-G2stop	Cá hồi vân ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Tiêm cơ	Không		Garver KB và ctv, 2006
IHNV-N, P, M hoặc NV	Cá hồi vân ( <i>Oncorhynchus</i> )	Tiêm cơ	Không		Corbeil S và ctv, 1999

		<i>mykiss</i> )			
	SVCV-G	Cá hồi vân ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Tiêm cơ	Có	Kim CH và ctv , 2000
	SHRV-G	Cá hồi vân ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Tiêm cơ	Có	Kim CH và ctv , 2000
IPNV	Khung đọc của đoạn A (IPNV)	Cá hồi Atlantic (Salmo salar)	Tiêm cơ	Có	MikalsenAB và ctv , 2004

### 3.3. Triển vọng ngừa bệnh trên tôm

Hiện nay trên thế giới có rất nhiều nhóm nghiên cứu về vaccine ngừa bệnh đốm trắng trên tôm. Một số nhóm nghiên cứu trên thế giới đã thử nghiệm một số loại vaccine tiêu phần là các protein vỏ tái tổ hợp, Trên thế giới nhóm nghiên cứu của Rajeev Kumar Jha và cộng sự đã biểu hiện protein tái tổ hợp VP28 trong nấm men *Pichia pastoris* và sử dụng protein này như là một loại vaccine cho ăn. Kết quả cho thấy rất khả quan, hiệu quả bảo vệ tôm đối với loại vaccine này trên 60% ở ngày thứ 21 sau khi xử lý với vaccine. Tuy nhiên, nhược điểm của loại vaccine này là protein VP28 dễ bị phân hủy và thất thoát trong môi trường. Trong khi đó nhóm khác lại tiếp cận theo cách DNA vaccine từ một số plasmid biểu hiện trên Eukaryote. Nhóm nghiên cứu của Namita Rout và cộng sự (2007) đã sử dụng vector pVAX1 để biểu hiện các protein vỏ VP15, VP28, VP35, và VP281. Các tác giả gây đáp ứng miễn dịch trên tôm bằng cách tiêm trực tiếp loại DNA vector có gắn chèn các gen mã hóa cho protein vỏ vào mô tôm. Kết quả là hiệu quả bảo vệ đạt được 43%. Tuy nhiên, tỉ lệ tôm chết sau khi tiêm rất cao 47% đối với vector có VP28 và 50% đối với vector có VP281. Mặc khác, liệu pháp tiêm rất khó ứng dụng trong thực tiễn đối với những trại tôm quy mô lớn. Do đó, việc ứng dụng các loại vaccine này vào trong thực tiễn không đem lại hiệu quả kinh tế.

## 4. Các phương pháp đưa vaccine vào tôm cá



Việc đưa vaccine vào tôm cá có thể thực hiện bằng các phương pháp tiêm và ngâm hoặc cho ăn.

### 4.1. Phương pháp tiêm

Gây nhiễm cho cá bằng cách tiêm dưới màng bụng hay

tiêm cơ. Khi tiêm, cá được gây mê bằng thuốc gây mê gây mê MS-222 (triacine methanesulfonate) nồng độ 0,17 ppm trong 2 – 3 phút. Dùng kim tiêm 1 ml tiêm trực tiếp vào xoang bụng cá hay vi cá sao cho kim tiêm và cá tạo thành một góc 30°. Vaccine tiêm có thể thực hiện bằng máy chuyên dụng hoặc dùng làm bằng tay, một người thí nghiệm có thể tiêm trên 1.500 con cá trên 1 giờ (hình 2).



**Hình 8: Tiêm chủng vaccine quy mô lớn ở cá hồi Atlantic giai đoạn juvenile.**

Cá được vận chuyển trong đường ống từ bể nuôi để ngấm thuốc gây mê và cá sau khi được gây mê sẽ được tiêm vaccine bởi nhóm tiêm vaccine (Nguồn: Ingunn Sommerset và cộng sự, 2005).

- **Chất bổ trợ dùng để tiêm**

- Chất bổ trợ được sử dụng rộng rãi nhất bởi các nhà miễn dịch học thực nghiệm là chất bổ trợ Freund hoàn chỉnh (Freund's Complete Adjuvant- FCA). FCA là hỗn hợp các tế bào vi khuẩn *Mycobacteria tuberculosis* chết và dầu khoáng, trong đó các tế bào vi khuẩn được nhũ tương hóa. Chất nhũ tương này chỉ có thể dùng với phương pháp tiêm. Đáng tiếc là FCA có thể gây tác dụng phụ (hình thành các nốt sần cục bộ, các bệnh tự miễn và nhạy cảm với tuberculin) và không thể dùng trong các sản phẩm vaccine dùng cho động vật có vú. Ở cá, FCA cũng gây tác dụng phụ là các vết lở loét khi tiêm cơ, các nốt sần trong xoang bụng khi tiêm xoang bụng (Horn và ctv, 1986) thông báo rằng việc sử dụng FCA nâng cao sức đề kháng cho cá thí nghiệm nhưng có thể ức chế sinh trưởng cho cá nuôi.

- Chất bổ trợ Freund không hoàn chỉnh ( Freund's incomplete Adjuvant- FIA) có bản chất là dầu khoáng thường được dùng trong các sản phẩm vaccine thương mại, tuy nhiên sản phẩm này thường tạo ra phản ứng phụ với việc hình thành nên các nốt sần ở mô bị tiêm vaccine.

#### **4.2. Phương pháp ngâm và cho ăn**

Phương pháp ngâm là phương pháp hiệu quả và thực tế khi tiến hành xác định đáp ứng miễn dịch cho cá với số lượng lớn. Tuy nhiên, có nhiều yếu tố như nồng độ kháng nguyên, thời gian ngâm. Nhiệt độ ngâm, cỡ cá, tình trạng cá, độ pH và nồng độ muối trong

dung dịch vaccine, nhiệt độ nước, trạng thái kháng nguyên (hạt hoặc dạng hòa tan) có ảnh hưởng đến khả năng đáp ứng miễn dịch của cá bằng phương pháp ngâm. Trong đó, nồng độ kháng nguyên và thời gian ngâm là những yếu tố quan trọng nhất. Theo Nakanishi và Ototake (1997) thời gian ngâm tỉ lệ nghịch với nồng độ kháng nguyên.



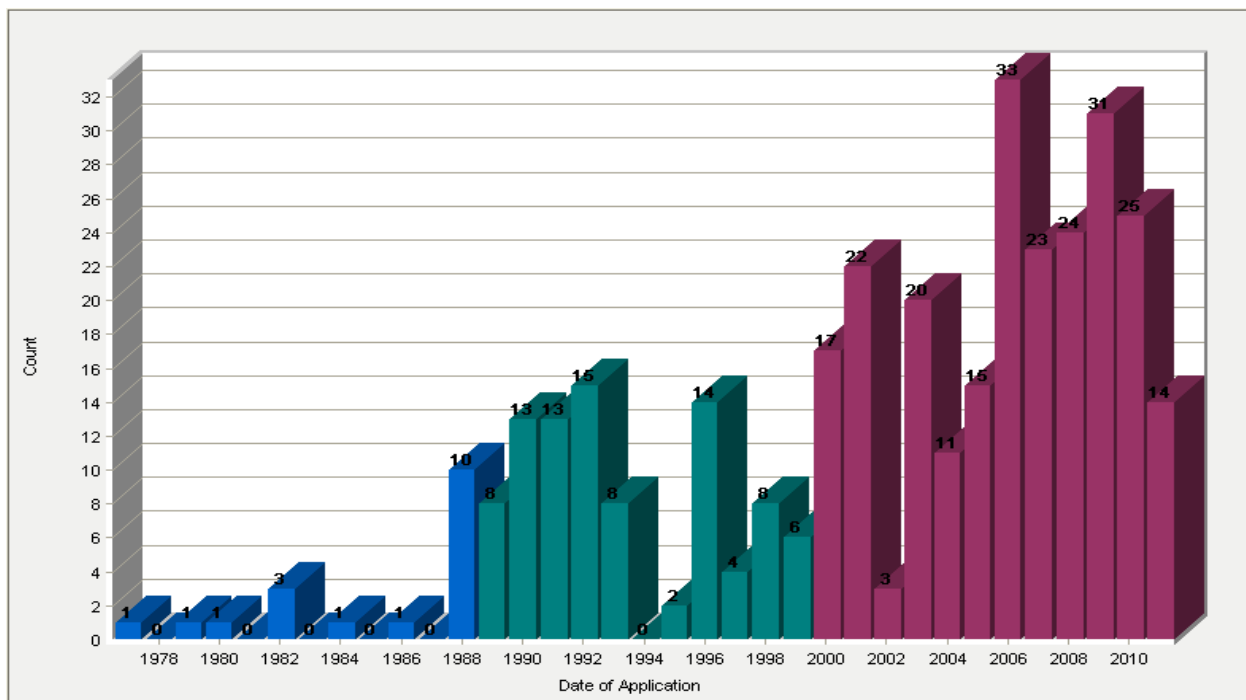
Về mặt thực tiễn, vaccine cho ăn dễ dàng sử dụng đối với bà con nông dân bởi họ chỉ cần trộn với một tỉ lệ nhất định vào thức ăn cho tôm.

- Các chất bổ trợ dùng cho ăn và ngâm

Một số chất bổ trợ khác, về nguyên lý có thể được dùng trong các loại vaccine sử dụng theo phương pháp ngâm hoặc cho ăn trong ngành nuôi trồng thủy sản bao gồm  $Al(OH)_3$ , các muối nhôm, các loại dầu thực vật và glucan (Midtlyng và ctv, 1996; Anderson và ctv, 1997). Tuy nhiên, nghiên cứu sâu về việc sử dụng các chất này vẫn còn khá hạn chế.

#### IV. XU HƯỚNG NGHIÊN CỨU VACCINE CHO NUÔI TRỒNG THỦY SẢN QUA CÁC SỐ LIỆU ĐĂNG KÝ SÁNG CHẾ

##### 1. Tình hình đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản từ 1977-2011



Hình 10: Tình hình đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản từ 1977-2011 (347 sáng chế, nguồn Wipsglobal)

Theo lượng thông tin tiếp cận được từ cơ sở dữ liệu Wipsglobal, từ 1977-2011 có 347 sáng chế đăng ký về vaccine cho nuôi trồng thủy sản.

Tình hình đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản có thể chia thành 3 giai đoạn theo đồ thị biểu diễn.

**Giai đoạn 1 (1977-1988):** đây là giai đoạn có **những nghiên cứu đầu tiên** về vaccine cho nuôi trồng thủy sản.

- Lượng đăng ký sáng chế trong giai đoạn này rất ít. Trong 12 năm có 18 sáng chế được đăng ký.
- Năm 1977: sáng chế đầu tiên được đăng ký tại Nhật. Đến năm 1979, 1980: Nhật có thêm 2 sáng chế được đăng ký.
- Năm 1988: có lượng đăng ký sáng chế nhiều nhất trong giai đoạn này, với 10 sáng chế, tập trung chủ yếu ở các quốc gia: Úc, Trung Quốc, Mỹ. Đây là năm bắt đầu có nhiều đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản.

❖ **Giai đoạn 2 (1989-1999):** đây là giai đoạn vaccine cho nuôi trồng thủy sản **bắt đầu được quan tâm**

- Trong giai đoạn này, có 91 sáng chế được đăng ký, tăng gấp 5 lần so với giai đoạn trước.
- Năm 1992: có lượng sáng chế đăng ký nhiều nhất với 15 sáng chế, tập trung chủ yếu ở Mỹ (5 sáng chế) và Anh (3 sáng chế).
- Từ 1993-1995: lượng đăng ký sáng chế giảm dần, đến năm 1996 lượng sáng chế tăng cao trở lại với 14 sáng chế.

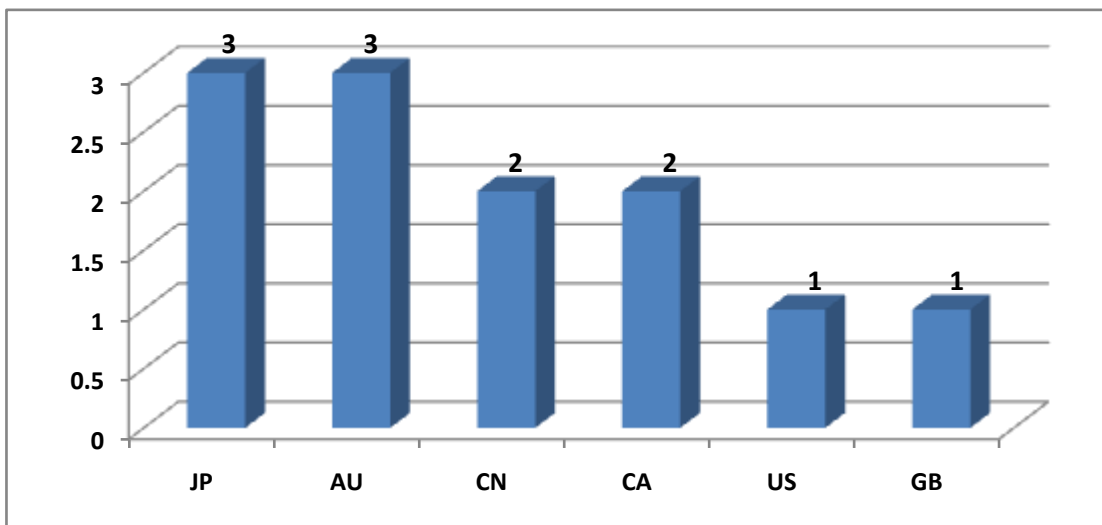
❖ **Giai đoạn 3 (2000-2011):** đây là giai đoạn có sự tập trung nghiên cứu về vaccine cho nuôi trồng thủy sản

- Trong giai đoạn này, có 238 sáng chế đăng ký nhiều hơn so với 2 giai đoạn đầu, trung bình mỗi năm có 20 sáng chế được đăng ký.
- Năm 2002: lượng sáng chế đăng ký ít nhất, có 3 sáng chế.
- Năm 2006: lượng sáng chế đăng ký nhiều nhất, có 33 sáng chế và 3 quốc gia có lượng sáng chế đăng ký nhiều nhất trong năm này là Nhật (7 sáng chế), Mỹ (6 sáng chế) và Trung Quốc (5 sáng chế).



## 2. Các quốc gia đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản

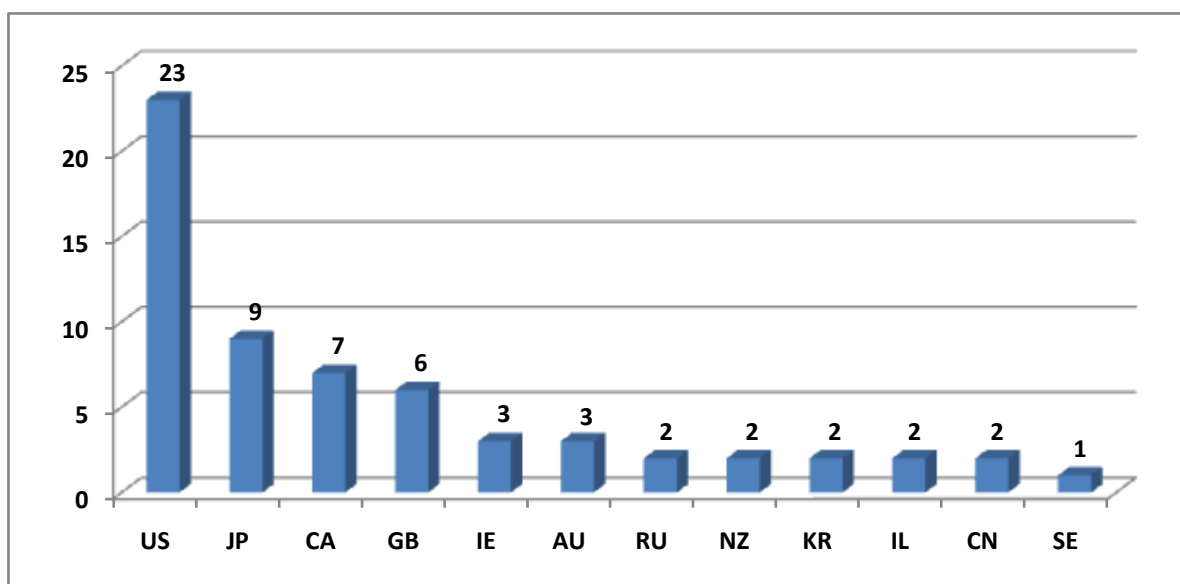
### ❖ Giai đoạn 1 (1977-1988)



*Hình 11: Các quốc gia đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản giai đoạn 1977-1988 (6 quốc gia, nguồn Wipsglobal)*

- Trong giai đoạn 1977-1988: có 6 quốc gia đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản và lượng sáng chế giữa các quốc gia không có sự cách biệt lớn.
- Trong giai đoạn đầu nghiên cứu về vaccine cho nuôi trồng thủy sản, đã xuất hiện 2 quốc gia ở khu vực châu Á là Nhật và Trung Quốc.

### ❖ Giai đoạn 2 (1989-1999)



*Hình 12: Các quốc gia đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản giai đoạn 1989-1999 (12 quốc gia, nguồn Wipsglobal)*

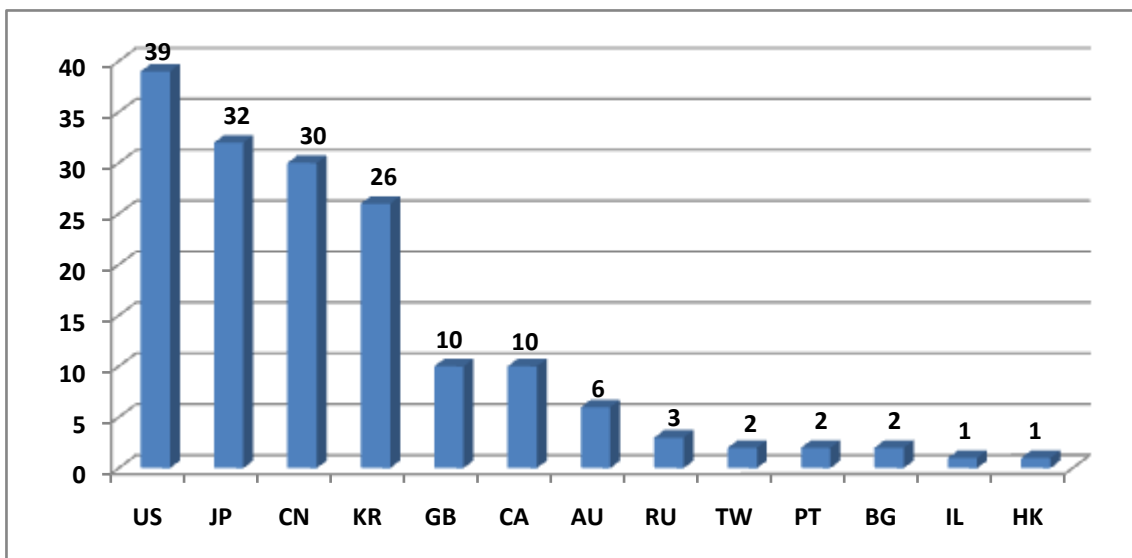
– Giai đoạn 1989-1999: có 12 quốc gia đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản, tăng thêm 6 quốc gia so với giai đoạn trước.

– 5 quốc gia có nhiều đăng ký sáng chế nhất trong giai đoạn này: Mỹ (US): 23 sáng chế, Nhật (JP): 9 sáng chế, Canada (CN): 7 sáng chế, Anh (GB): 6 sáng chế Ireland (IE) và Úc (AU): 3 sáng chế.

– So với giai đoạn trước:

- Lượng đăng ký sáng chế tại Mỹ tăng cao vượt trội:
  - Giai đoạn 1977-1988: Mỹ ở vị trí 5 với 1 sáng chế
  - Giai đoạn 1989-1999: Mỹ ở vị trí 1 với 23 sáng chế
- Trong giai đoạn này, có sự xuất hiện của 3 quốc gia châu Á: Nhật, Trung Quốc và Hàn Quốc

### ❖ Giai đoạn 3 (2000-2011)



*Hình 13: Các quốc gia đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản giai đoạn 2000-2011 (13 quốc gia, nguồn Wipsglobal)*

– Giai đoạn 2000-2011: có 13 quốc gia đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản.

– 5 quốc gia có lượng sáng chế đăng ký nhiều nhất: Mỹ (US): 39 sáng chế, Nhật (JP): 32 sáng chế, Trung Quốc (CN): 30 sáng chế, Hàn Quốc (KR): 26 sáng chế, Anh (GB) và Canada (CA): 10 sáng chế.

– So với giai đoạn trước:

- Mỹ vẫn là quốc gia có lượng đăng ký sáng chế nhiều nhất.
- Có 5 quốc gia châu Á đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản trong giai đoạn này: Nhật, Trung Quốc, Hàn Quốc, Đài Loan và Hồng Kông. Trong đó Nhật, Trung Quốc và Hàn Quốc là 3 trong 5 quốc gia có lượng sáng chế đăng ký nhiều nhất.

### 3. Các hướng nghiên cứu (theo bảng phân loại IPC)

Từ 347 sáng chế có liên quan đến vaccine cho nuôi trồng thủy sản thu thập được từ nguồn cơ sở dữ liệu Wipsglobal, theo **Bảng phân loại sáng chế quốc tế (International Patent Classification - IPC)**, có 7 hướng nghiên cứu như sau:

❖ Nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản, chiếm 65% (**chỉ số phân loại A61K theo IPC**). Có 16 quốc gia đăng ký sáng chế thuộc hướng nghiên cứu này, trong đó tập trung ở Mỹ, Nhật và Trung Quốc.

Vaccine giảm độc lực chống lại tác nhân gây bệnh cho cá là vi khuẩn Francisella S.p	Số patent: US20110064766 Ngày nộp đơn: 14/09/2010 Tác giả: Hawke John, Soto Esteban (Mỹ)
Vaccine phòng bệnh do vi khuẩn Edwardsiella và liên cầu khuẩn Streptococcal ở cá	Số patent: US20090324648 Ngày nộp đơn: 05/06/2007 Tác giả: Takahashi Yukinori, Abe Michinari (Nhật)

❖ Nghiên cứu vi sinh vật, enzyme trong thành phần sản xuất vaccine cho nuôi trồng thủy sản, chiếm 18% (**chỉ số phân loại C12N theo IPC**). Có 9 quốc gia đăng ký sáng chế

thuộc hướng nghiên cứu này, trong đó tập trung chủ yếu ở Mỹ, Nhật, Hàn Quốc và Canada.

Vaccine phòng bệnh vi khuẩn đường ruột cho cá	Số patent: JP 1999-332558 Ngày nộp đơn: 24/03/1999 Tác giả: Yoshida Terutoyo, Asaki Masayoshi, Nakamura Yasushi (Nhật)
Vaccine phòng bệnh do liên cầu khuẩn gây ra cho cá	Số patent: KR 2004-0110146 Ngày nộp đơn: 18/06/2003 Tác giả: Do Jeong Wan Lee, Ju Seok Park, Mi Seon (Hàn Quốc)

❖ Nghiên cứu peptides (chuỗi axit amin) trong ứng dụng sản xuất vaccine cho nuôi trồng thủy sản, chiếm 8% (**chỉ số phân loại C07K theo IPC**). Có 4 quốc gia đăng ký sáng chế thuộc hướng nghiên cứu này: Hàn Quốc, Canada, Úc và Trung Quốc.

Trình tự amino acid, nucleic acid và vaccine kiểm soát bệnh do ngoại ký sinh ở cá	Số patent: CA2688587 Ngày nộp đơn: 30/05/2008 Tác giả: Carpio Gonzalez Yamila, Estrada Garcia Mario Pablo (Cuba)
---	--

❖ Nghiên cứu sử dụng các chế phẩm vaccine trong nuôi trồng thủy sản, chiếm 7% (**chỉ số phân loại A01K theo IPC**). Có 6 quốc gia đăng ký sáng chế thuộc hướng nghiên cứu này: Trung Quốc, Nhật, Hàn Quốc, Mỹ, Úc và Nga.

Thành phần và phương pháp để tăng cường hiệu lực vaccine cho cá	Số patent: JP 256620 Ngày nộp đơn: 15/02/1990 Tác giả: Riboo Henrii Nikuru, Roorensu Jiyon Aruburaito (Nhật)
Phương pháp tiêm chủng vaccine cho cá	Số patent: CN 1568678 Ngày nộp đơn: 12/05/2004 Tác giả: Qi Liu, Jian Li, Qun Wang (Trung Quốc)

❖ Nghiên cứu bảo quản, sản xuất thức ăn chăn nuôi thủy sản có bổ sung vaccine, chiếm 1 % (**chỉ số phân loại A23K theo IPC**). Có 2 quốc gia đăng ký sáng chế thuộc hướng nghiên cứu này: Ireland và Anh.

Thành phần vaccine cho cá	Số patent: GB2255909 Ngày nộp đơn: 09/06/1992 Tác giả: Barratt Michael Edward John, Leadbeater Dennis (Anh)
---------------------------	---

❖ Nghiên cứu các thiết bị, dụng cụ hỗ trợ cho quy trình sản xuất vaccine cho nuôi trồng thủy sản, chiếm 1% (**chỉ số phân loại A61D theo IPC**). Có 3 quốc gia đăng ký sáng chế thuộc hướng nghiên cứu này: Úc, Canada và Hàn Quốc.

Phương pháp và thiết bị tiêm chủng cá	Số patent: AU2614388 Ngày nộp đơn: 04/11/1988 Tác giả: Helgesen Willy, Haugland Oddmund O (Úc)
Thiết bị băng tải tiêm chủng cá và các loài nhuyễn thể	Số patent: KR 2010-0121039 Ngày nộp đơn: 08/05/2009 Tác giả: Oh Ji Won (Hàn Quốc)

❖ Quy trình thử nghiệm thành phần enzyme, vi sinh vật trong việc sản xuất vaccine cho nuôi trồng thủy sản, có 2 sáng chế của Mỹ (**chỉ số phân loại C12Q theo IPC**).

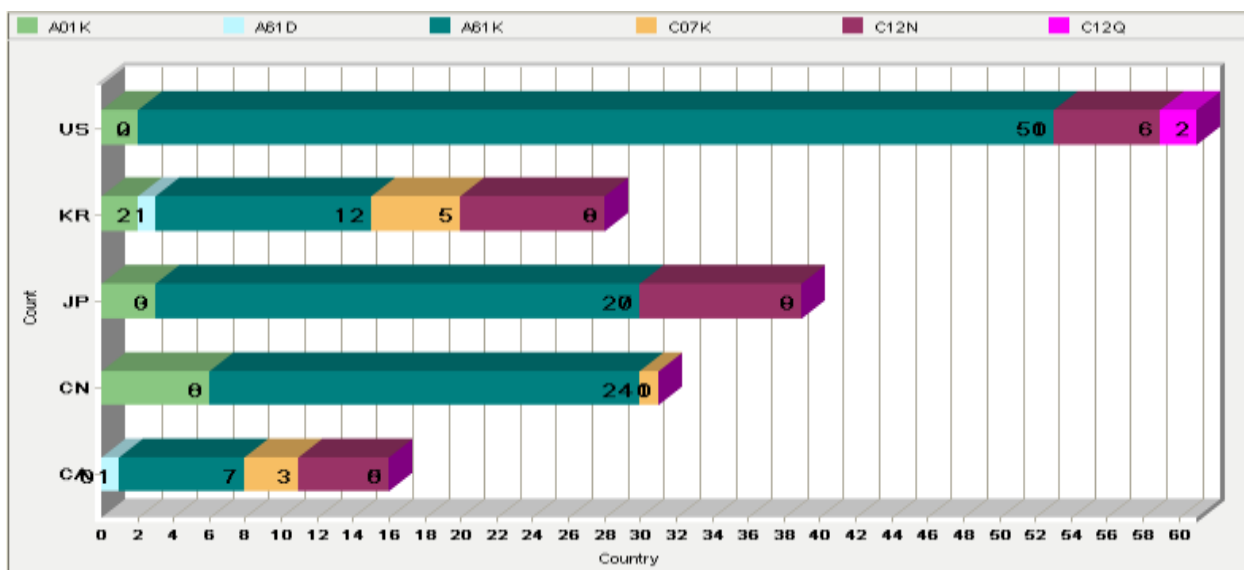
Vaccine phòng bệnh rận cá – liệu pháp phòng ngừa	Số patent: US20050002946 Ngày nộp đơn: 18/02/2004 Tác giả: Kuzyk Michael A, Burian Jan, Kay William W, Thornton Julian C (Canada)
--	---

Nhìn chung, các hướng nghiên cứu đều tập trung vào việc nghiên cứu thành phần sản xuất vaccine. Trong đó:

- Hướng nghiên cứu peptides và quy trình thử nghiệm thành phần enzyme, vi sinh vật trong việc sản xuất vaccine cho nuôi trồng thủy sản là hướng nghiên cứu mới xuất hiện trong 10 năm trở lại đây.

Hướng nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản là hướng được quan tâm và có nhiều sáng chế nhất.

#### 4. Tỷ lệ phân bố các hướng nghiên cứu trong 5 quốc gia dẫn đầu

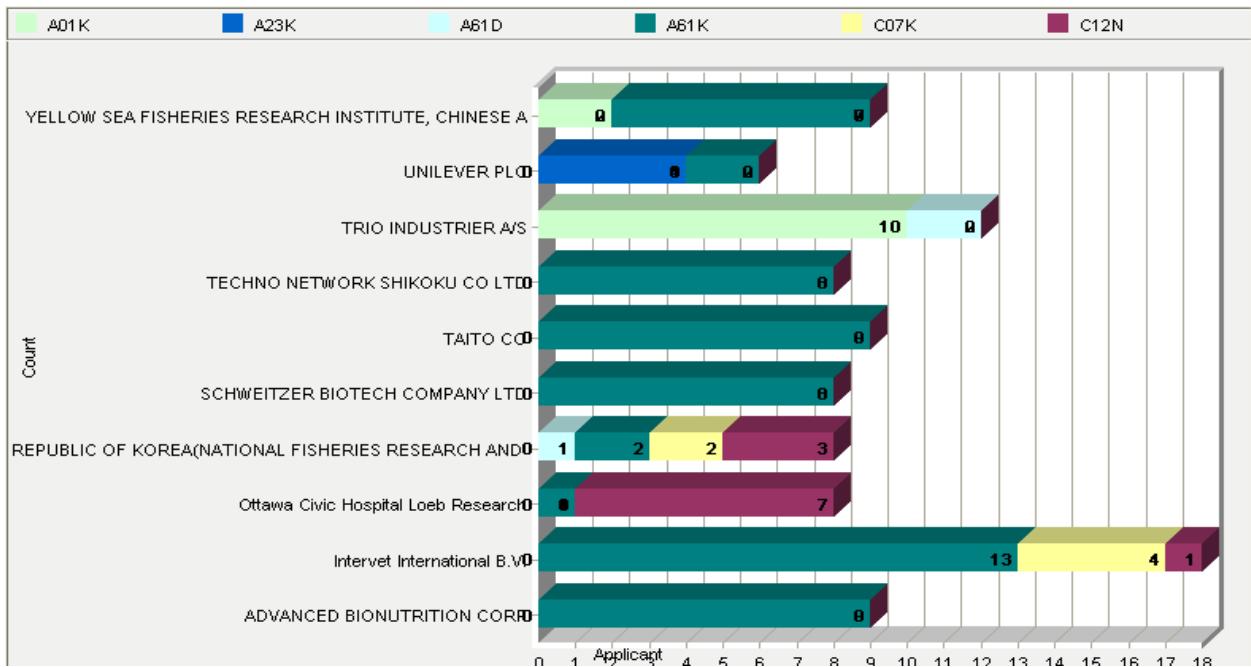


**Hình 14: Tỷ lệ phân bố các hướng nghiên cứu trong 5 quốc gia dẫn đầu lượng đăng ký sáng chế (nguồn Wipsglobal)**

5 quốc gia có lượng đăng ký sáng chế nhiều nhất về vaccine cho nuôi trồng thủy sản là : Mỹ, Hàn Quốc, Nhật Bản, Trung Quốc và Canada. Nhìn chung, 5 quốc gia này đều tập trung vào hướng nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản. Trong đó, Mỹ có lượng đăng ký sáng chế nhiều nhất trong hướng nghiên cứu này (51 sáng chế, chiếm 83 %/tổng số sáng chế đăng ký tại Mỹ). Hướng nghiên cứu được quan tâm tiếp theo là nghiên cứu vi sinh vật, enzyme trong thành phần sản xuất vaccine.

Bên cạnh các hướng nghiên cứu về thành phần sản xuất vaccine, hướng nghiên cứu các thiết bị hỗ trợ cho quy trình sản xuất vaccine cũng bắt đầu được quan tâm ở Hàn Quốc và Canada.

#### 5. 10 tổ chức nộp đơn đăng ký sáng chế nhiều nhất về vaccine cho nuôi trồng thủy sản



**Hình 15: 10 tổ chức nộp đơn đăng ký sáng chế nhiều nhất về vaccine cho nuôi trồng thủy sản**  
(Nguồn Wipsglobal)

– Intervet International B.V: công ty chuyên nghiên cứu, phát triển, sản xuất các sản phẩm chăm sóc sức khỏe động vật như: thuốc thú y, vaccine, các sản phẩm sinh sản nội tiết; trụ sở đặt tại Hà Lan (có 18 sáng chế, trong đó tập trung chủ yếu vào hướng nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản với 13 sáng chế).

– Trio Industrier A/s: công ty nhựa, có trụ sở đặt tại Đài Loan, được thành lập vào 1970 (có 12 sáng chế, trong đó tập trung chủ yếu vào hướng nghiên cứu sử dụng các sản phẩm vaccine trong nuôi trồng thủy sản với 10 sáng chế).

– Advanced Bionutrition Corp: công ty chuyên cung cấp các thiết bị công nghệ tiên tiến thuộc nhiều lĩnh vực, có liên quan đến sức khỏe con người, động vật và nông nghiệp; trụ sở đặt tại Columbia (có 9 sáng chế đều tập trung vào hướng nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản).

– Yellow Sea Fisheries Research Institute: viện nghiên cứu thủy sản của Trung Quốc (có 9 sáng chế, trong đó tập trung chủ yếu vào hướng nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản với 7 sáng chế).

– Taito CO: công ty chuyên bán hàng hóa nhập khẩu và sản xuất, cho thuê các thiết bị giải trí. Công ty được thành lập vào 1953 tại Nhật (có 9 sáng chế đều tập trung vào hướng

nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản)

– Schweitzer Biotech Company Ltd: công ty Công nghệ sinh học Schweitzer, trụ sở tại Đài Loan, chuyên nghiên cứu và phát triển vaccine virus và vi khuẩn cho lợn, loài thủy sản và gia cầm (có 8 sáng chế đều thuộc vào hướng nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản)

– Republic Of Korea (National Fisheries Research And Development Institute): viện nghiên cứu phát triển thủy sản quốc gia của Hàn Quốc (có 8 sáng chế, trong đó các sáng chế đều tập trung vào các hướng nghiên cứu thành phần sản xuất vaccine, có một sáng chế thuộc hướng nghiên cứu thiết bị hỗ trợ cho quy trình sản xuất vaccine)

– Ottawa Civic Hospital: bệnh viện thuộc thành phố Ottawa, Canada (có 8 sáng chế, trong đó tập trung chủ yếu vào hướng nghiên cứu vi sinh vật, enzyme trong thành phần sản xuất vaccine cho nuôi trồng thủy sản)

– Techno Network Shikoku Co Ltd: Shikoku là một tổ chức công nghệ của Nhật Bản, được thành lập giữa sự liên kết của một công ty tư nhân với các giáo sư đại học chuyên nghiên cứu trong các lĩnh vực kỹ thuật, y tế, dược phẩm và nông nghiệp (có 8 sáng chế, trong đó đều tập trung vào hướng nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản)

– Unilever PLC: nhà cung cấp hàng tiêu dùng lớn trên thế giới. Các sản phẩm của Công ty được chia thành bốn lĩnh vực chính: Chăm sóc cá nhân, Chăm sóc tại gia, Thực phẩm và giải khát (có 6 sáng chế, trong đó tập trung chủ yếu vào hướng nghiên cứu bảo quản, sản xuất thức ăn chăn nuôi thủy sản có bổ sung vaccine với 4 sáng chế)

**\* Nhận xét:**

- Trong 10 tổ chức nộp đơn đăng ký sáng chế nhiều nhất về vaccine cho nuôi trồng thủy sản: có 8 tổ chức thuộc các quốc gia châu Á.
- Đa số các sáng chế đăng ký của 10 tổ chức này đều thuộc hướng nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản. Bên cạnh đó, có 2 tổ chức tập trung vào hướng nghiên cứu khác:
  - Trio Industrier A/s: tập trung vào hướng nghiên cứu sử dụng các sản phẩm vaccine trong nuôi trồng thủy sản.



- Ottawa Civic Hospital: tập trung chủ yếu vào hướng nghiên cứu vi sinh vật, enzyme trong thành phần sản xuất vaccine cho nuôi trồng thủy sản.

## NHẬN XÉT CHUNG

– Các sáng chế đăng ký về vaccine cho nuôi trồng thủy sản đã bắt đầu xuất hiện cách đây hơn 30 năm. **Lượng đăng ký sáng chế tăng rõ rệt trong 10 năm gần đây**

- Giai đoạn 1977-1988: 18 sáng chế
- Giai đoạn 1989-1999: 91 sáng chế
- Giai đoạn 2000-2011: 238 sáng chế

– Các quốc gia có nhiều đăng ký sáng chế về vaccine cho nuôi trồng thủy sản đều tập trung ở các quốc gia phát triển như: Mỹ, Nhật, Trung Quốc, Hàn Quốc.

Từ năm 1977 đến nay, có 7 hướng nghiên cứu về vaccine cho nuôi trồng thủy sản, trong đó, lượng sáng chế tập trung chủ yếu vào hướng nghiên cứu các thành phần có chứa kháng nguyên hoặc kháng thể của vi sinh vật (như proto zoa, vi khuẩn, virus hoặc siêu virus) trong vaccine cho thủy sản; chiếm tỷ lệ 65%. Hướng nghiên cứu peptides và quy trình thử nghiệm thành phần enzyme, vi sinh vật trong sản xuất vaccine cho nuôi trồng thủy sản là 2 hướng nghiên cứu mới xuất hiện và đang được quan tâm.

## V. GIỚI THIỆU MỘT SỐ NGHIÊN CỨU VACCINE CHO NUÔI TRỒNG THỦY SẢN TRÊN THẾ GIỚI, TẠI VIỆT NAM VÀ TẠI TRUNG TÂM CÔNG NGHỆ SINH HỌC TP. HỒ CHÍ MINH

### 1. Các sáng chế thế giới liên quan đến vaccine cho thủy sản

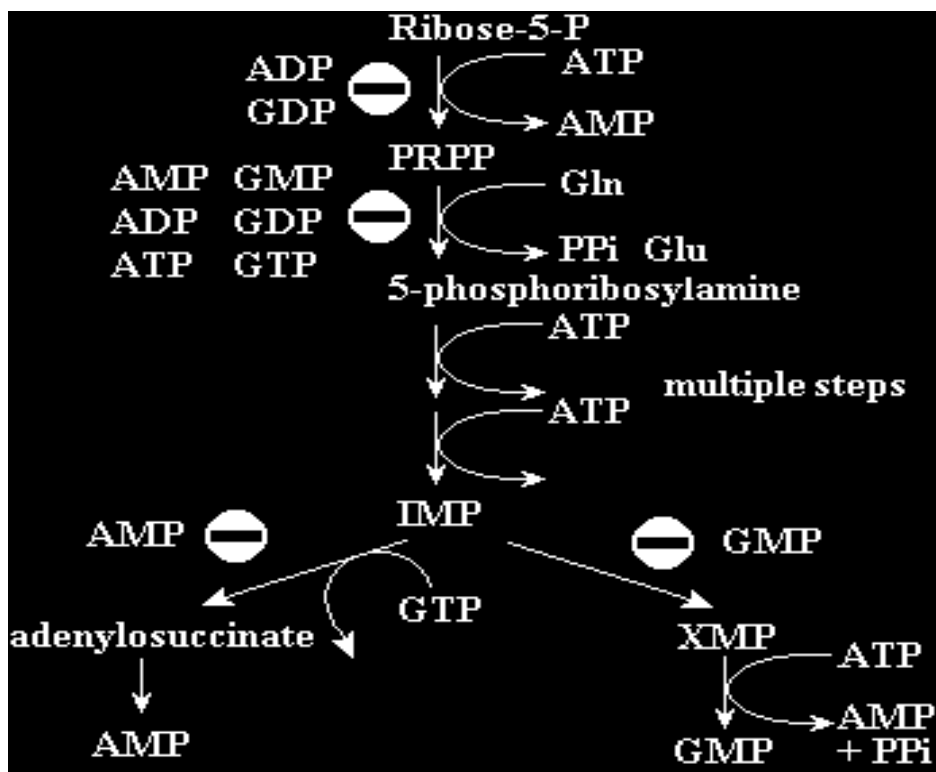
Rất nhiều loại tác nhân gây bệnh bao gồm vi khuẩn, virus, ký sinh trùng và nấm gây ra những bệnh chính cho động vật nuôi trồng thủy sản. Theo báo cáo “Vaccine sống nhược độc trong nuôi trồng thủy sản” của Phillip Klesius và Julia Pridgeon năm 2011, có hơn 20 họ vi khuẩn được xác định gây bệnh bao gồm các vi khuẩn Gram (-) như *Aeromonas*, *Edwardsiella*, *Flavobacterium*, *Francisella*, *Pasteurella*, *Piscirickettsia*, *Pseudomonas*, *Vibrio* và *Yersinia* hoặc Gram (+) như *Lactococcus*, *Reinbacterium*, *Streptococcus*.

Năm 1976, vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* được phát hiện là nguyên nhân bệnh gan thận mũ (hay bệnh nhiễm trùng máu - Enteric septicemia), nguyên nhân gây chết chính với tỉ lệ cao và gây nhiều tổn thất cho ngành nuôi cá da trơn trên thế giới. Nhiều nghiên cứu nhằm tìm giải pháp chữa trị và phòng ngừa bệnh trong đó các nghiên cứu về chủng vi

khuẩn *Edwardsiella ictaluri* nhược độc sử dụng làm vaccine đã đạt được nhiều thành công và thương mại hóa như sau:

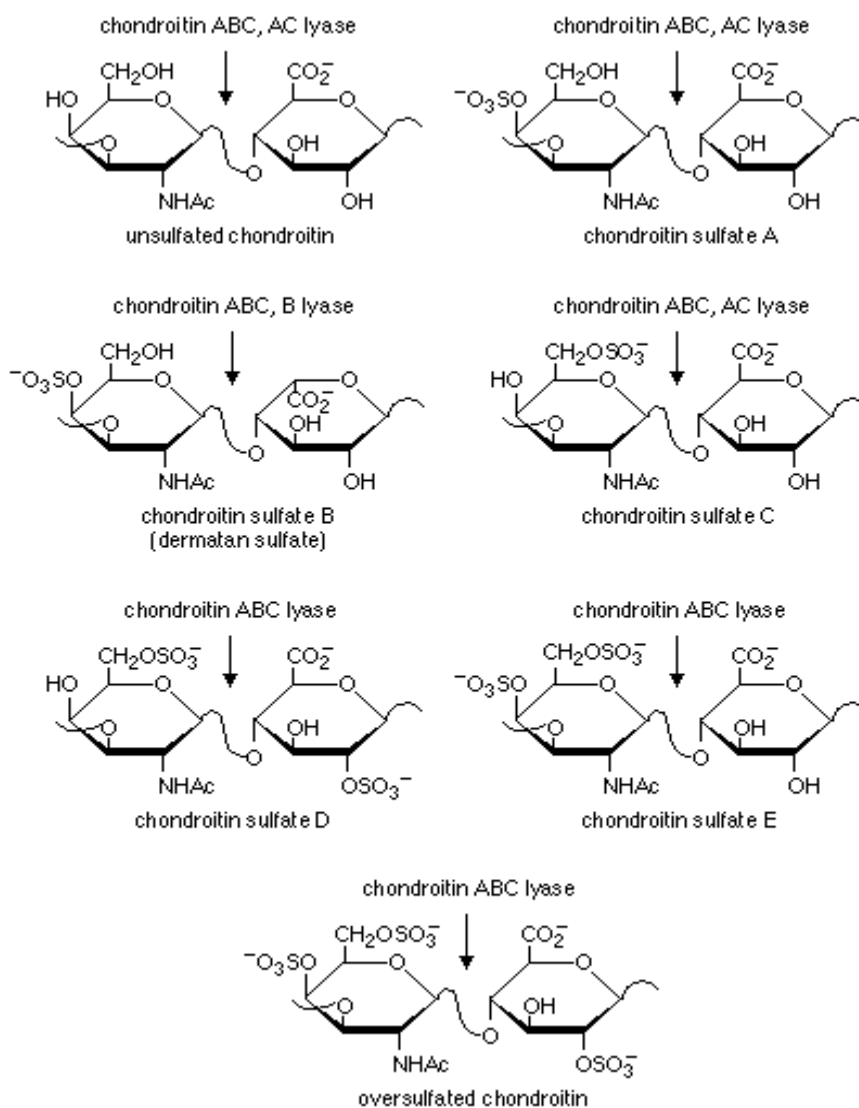
- Chủng *Edwardsiella ictaluri* nhược độc kháng Rifampicin (RE – 33) đã được đăng ký bản quyền (US patent No. 6019981) bởi nhóm tác giả Klesius. Phillip H. (Auburn, AL) Shoemaker. Craig A. (Notasulga, AL) và được sử dụng làm vaccine sống nhược độc ở dạng thương mại với tên gọi AQUAVAC – ESC™ cho cá hồi nước lạnh tại Mỹ với hiệu ứng bảo vệ 64,6%. Bên cạnh đó, nhóm tác giả này cũng sử dụng chủng *E. ictaluri* ATCC 202058 kháng rifampicin được phân lập từ một loại cá có tên gọi là “walking catfish” *Clarius batrachus*, vốn có nguồn gốc từ Thái Lan. Trứng cá được ngâm với chủng *E. ictaluri* nêu trên, sau 30 đến 36 ngày thì tiếp tục ngâm với chủng *E. ictaluri* độc và kết quả cho thấy tỉ lệ sống sót (RPS) của cá là 87,9%. Phương pháp này cũng đã được đăng ký bản quyền (US patent No. 6153202).

- Theo nghiên cứu của Plumb J. A. và các cộng sự năm 1995 sử dụng vaccine bất hoạt (*E. ictaluri* bị giết bằng formalin) cấp cho cá con theo con đường ngâm một lần, ngâm hai lần, ngâm và kết hợp cấp ba lần theo đường cho ăn lần lượt cho tỉ lệ sống lần lượt là 56,7%; 64,2% và 68,8% so với đối chứng là 43,6%. Hiện nay, sản phẩm vaccine *E. ictaluri* của công ty dược phẩm Biomed (Mỹ) đã được sản xuất và thương mại hóa sử dụng cho cá nheo Mỹ chống lại bệnh nhiễm trùng máu đường ruột.



- Năm 1997, Lawrence M. L. và các cộng sự đã nghiên cứu loại vaccine nhược độc từ chủng *E. ictaluri* bị làm đột biến gen *purA*, theo đó loại vaccine này cấp cho cá theo đường ngâm chỉ một lần ở cá nheo Mỹ nhỏ sạch bệnh cho kết quả tỉ lệ sống đạt 66,7% . Hơn thế sự ngâm vaccine sống giảm cường độ được tìm thấy kích thích đáp ứng miễn dịch, các kháng thể đặc hiệu, Klesius et al. [Báo sức khỏe động vật 7, 205-210 (1995)].

- Nhóm tác giả Richard K. Cooper II, Đại học bang Louisiana đã tạo thành công chủng *E. ictaluri* đột biến gen mã hóa enzyme chondroitinase và đăng **ký bản quyền (US patent No. 5536658)** vào năm 1996. Trong nghiên cứu, nhóm đã thử nghiệm tiêm cá với nồng độ  $10^8$  CFU/ cá. Sau khi tiếp tục tiêm chủng hoang dại, cá vẫn không có dấu hiệu nhiễm trùng máu đặc trưng trong khi cá đối chứng chưa được tiêm chủng đột biến từ trước chết toàn bộ. Nhóm đã kết luận hiệu quả bảo vệ của chủng đột biến là 100%.



Bệnh Columnaris do vi khuẩn Gram (-) gây bệnh phổ biến và nguy hiểm trên nhiều loài cá nước ngọt da trơn và cá có vẩy trên toàn thế giới. Ở Mỹ, nhiều nghiên cứu cho thấy

vi khuẩn *F. columnare* gây thiệt hại hơn 70% trại ương nuôi cá nheo, gây tổn thất trên 50 triệu đô la hằng năm. Loài vi khuẩn này được xếp vào hàng thứ hai sau bệnh do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* về khả năng gây bệnh cũng như thiệt hại. Năm 2005, patent (US No. 6881412 ) tạo vaccine sống nhược độc *Flavobacterium columnare* kháng bệnh *Columaris* trên cá nheo Mỹ được cấp cho nhóm tác giả Craig A. Shoemaker. Vaccine được chứng minh đạt hiệu quả bảo vệ khoảng 96% khi ngâm cá ở nồng độ 106CFU/ml.

Bệnh do vi khuẩn *Streptococcus phocae* Gram (+) gây ra ở cá hồi Chile. Năm 2011, Patent **US No. 7939088** được cấp cho nhóm tác giả Luc Grisez nghiên cứu phương pháp sản xuất vaccine kháng bệnh do vi khuẩn *Streptococcus phocae*.

Bệnh Piscirickettsiosis do vi khuẩn *Piscirickettsia salmonis* gây ra phổ biến trên cá hồi. Năm 2011, một patent được cấp cho nhóm tác giả David Francis Kirke sáng chế vaccine ngăn ngừa bệnh Piscirickettsiosis (US patent **No. 20110070256A1**) sử dụng protein như một antigen.

## 2. Các loại vaccine cho nuôi trồng thủy sản đang được thương mại trên thế giới

Trong thế kỷ trước, vaccine chống lại bệnh vi khuẩn trong thủy sản đầu tiên là vaccine phòng bệnh nhiễm khuẩn đường ruột đỏ ERM do *Yersinia ruckeri* và bệnh vibriosis gây ra trên cá được thương mại vào cuối những năm 1970. Đối với bệnh gây ra bởi virus, vaccine đầu tiên nhằm ngăn chặn bệnh xuất huyết SVC (spring viremia of carp) trên cá chép được phát triển vào năm 1982 (theo Review: Vaccine cá trong nuôi trồng thủy sản - Ingunn Sommerset và cộng sự, 2005).

Cho đến hiện nay, có rất nhiều vaccine thương mại kháng lại nhiều loại bệnh trên thủy sản gây ra bởi vi khuẩn, virus và ký sinh trùng. Tuy nhiên, theo báo cáo “Vaccine sống nhược độc trong nuôi trồng thủy sản” của Phillip Klesius và Julia Pridgeon năm 2011, chỉ có 14 loại vaccine được cấp licensed ở Mỹ, bao gồm 11 loại vi khuẩn bất hoạt, 1 loại virus bất hoạt và 2 vaccine nhược độc. Trên thế giới có khoảng 17 vaccine kháng lại 12 vi khuẩn gây bệnh đang lưu hành trên toàn thế giới. Phần lớn những vaccine này đều sử dụng trong công nghiệp sản xuất cá hồi. Một số khác dùng cho các loại cá như cá rô phi, cá chêm, cá vền, cá bơn Nhật, yellowtail, cá da trơn... Các vaccine này được liệt kê trong bảng tóm tắt các loại vaccine thương mại cho các bệnh trên cá gây ra do vi khuẩn dưới đây.

**Bảng 3: tóm tắt các loại vaccine thương mại cho các bệnh trên cá gây ra do vi khuẩn (dựa theo Review: Vaccine cá trong nuôi trồng thủy sản - Ingunn Sommerset và cộng sự 2005 và các nguồn khác)**

Vi khuẩn gây	Loài cá	Quốc gia/	Đã có	Tên vaccine thương
--------------	---------	-----------	-------	--------------------

<b>bệnh</b>	<b>nhễm bệnh</b>	<b>khu vực bị ảnh hưởng</b>	<b>Vaccine</b>	<b>mại</b>
Bệnh Vibriosis ( <i>Listonella anguillarum</i> và <i>V. spp</i> )	Cá hồi	Toàn cầu	Có	LIPOGEN FORTE, Novatis (Mỹ)
	Cá tuyết/ cá chim		Có	NORVAX® Vibriose Marine, Intervet (Úc)
	Cá chêm/ cá vền		Có	-
	Cá hồng/ cá Yellowtail		Có	NORVAX® Vibrio mono. Intervet (Úc)
Bệnh Vibriosis nước lạnh ( <i>Vibrio salmonicida</i> )	Cá hồi	Bắc Âu Canada/ Mỹ	Có	LIPOGEN FORTE, Novatis (Mỹ)
Bệnh tạo vết thương ( <i>Moritella viscosa</i> )	Cá hồi	Bắc Âu	Có	NORVAX® Minova 4WD, Intervet (Úc)
Bệnh Furunculosis ( <i>Vibrio salmonicida subsp. Salmonicida</i> )	Cá hồi	Bắc Âu Canada/ Mỹ	Có	FUROGEN DIP, LIPOGEN FORTE, Novartis (Mỹ) AQUAVAC® Furovac, Intervet (Úc)
Bệnh không điển hình do <i>Vibrio salmonicida</i>	Cá hồi	Toàn cầu	Có	-
	Các loài cá nước ngọt/ mặn		Chưa có	-
Bệnh nhiễm khuẩn đường ruột đỏ ERM/ Bệnh Yersiniosis ( <i>Yersinia ruckeri</i> )	Cá hồi nước ngọt	Châu Âu, Chile Canada, Mỹ	Có	ERMOGEN, Novartis (Mỹ) AQUAVAC® RELERA™, Intervet (Úc)

Bệnh Piscirickettsiosis ( <i>Piscirickettsia salmonis</i> )	Cá hồi	Chile	Có	-
Bệnh nhiễm khuẩn mang cá ( <i>Flavobacterium psychrophilum</i> )	Nhiều loài cá Cá hồi, cá chép nước ngọt	Canada, Mỹ, Châu Âu, Chile, Nhật Bản	Chưa có	-
Bệnh Flavobacteriosis ( <i>Flavobacterium psychophilum</i> )	Cá hồi nước ngọt	Phía Tây Chile, Canada, Mỹ	Có	-
Bệnh Columnaris ( <i>Flavobacterium columnare</i> )	Cá da trơn	Mỹ	Có	AQUAVAC-COL™, Intervet (Úc)
	Cá hồi nước ngọt	Chile	Có	FRYVACC1, Novartis (Mỹ)
Triệu chứng trên cá hồi đốm (rainbow trout) giai đoạn bột ( <i>Flavobacterium psychrophilum</i> )	Cá hồi nước ngọt	Châu Âu, Canada/ Mỹ, Chile	Chưa có	-
Bệnh gan thận mũ trên cá da trơn ( <i>Edwardsiella ictaluri</i> )	Các loài cá da trơn	Mỹ	Có	AQUAVAC-ESC®, Intervet (Úc)
		Châu Á	Có	ALPHA JECT® Panga, Pharmaq (Na Uy)
Bệnh Edwardsiella septicaemia ( <i>Edwardsiella tarda</i> )	Cá nheo	Mỹ	Chưa có	-
	Lươn, cá bơn Nhật	Châu Á	Chưa có	-

Bệnh thận ( <i>Renibacterium salmoninarum</i> )	Cá hồi	Chile, Canada/ Mỹ	Có	RENOGEN, Norvatis (Mỹ)
		Châu Âu, Nhật Bản	Chưa có	-
Bệnh Lactococciosis ( <i>Lactococcus garvieae</i> )	Cá hồi đốm rainbow trout	Ý, Pháp, Anh	Có	ICTHIOVAC® LG, Hipra (Tây Ban Nha)
	Cá hồng/ cá Yellowtail	Nhật Bản	Có	-
Bệnh Pasteurellosis ( <i>Photobacterium damsela subspecies piscicida</i> )	Cá tráp/ cá chêm	Địa Trung Hải	Có	ICTHIOVAC® PD, Hipra (Tây Ban Nha)
	Cá hồng/ cá Yellowtail	Nhật Bản	Chưa có	-
Bệnh Streptococciosis ( <i>Streptococcus iniae</i> )  ( <i>Streptococcus phocae</i> )	Cá rô phi	Châu Á	Có	NORVAX® Minova
	Cá chêm châu Á	Châu Á	Chưa có	-
	Cá hồi	Chile	Chưa có	-

Không những giảm tỉ lệ chết, vaccine còn có tác dụng tăng tốc độ phát triển của thủy sản. Điển hình như lợi ích kinh tế thu được từ 3000 – 4000\$/ha được xác định ở trường hợp vaccine AQUAVAC-ESC® so với cá không xử lý vaccine. Một nghiên cứu ở ngành công nghiệp nuôi cá hồi Chile giai đoạn 1999 – 2003, báo cáo rằng số liều dùng vaccine đã tăng từ 97 triệu lên 200 triệu liều dạng ngâm và 2 ngàn lên 16.5 ngàn liều dạng tiêm. Năm 2005, tổng khối lượng đánh bắt là 585 ngàn tấn mang lại 1,721 triệu \$ (<http://salmonchile.cl>). Hơn 20 loại vaccine khác nhau hiện được dùng trong ngành công nghiệp sản xuất cá hồi Chile.

### 3. Các nghiên cứu về vaccine cho thủy sản tại Việt Nam

Theo quyết định của Thủ tướng chính phủ số 10/2006/QĐ-TTg, mục tiêu ngành thủy sản Việt Nam đến năm 2010 đạt 4 tỷ đô la kim ngạch xuất khẩu và thu hút 4,6 triệu lao động tham gia trực tiếp hoặc gián tiếp trong ngành thủy sản.

Tại Việt Nam, đã có một số công trình nghiên cứu và phát triển vaccine tại Việt Nam trong vài năm gần đây. Đã và đang có một số đề tài nghiên cứu vaccine chết hay vaccine sống nhược độc đang trong giai đoạn nghiên cứu đã và đang triển khai tại một số viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản (viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản II, III). Tuy nhiên kết quả chưa được công bố và theo trao đổi cá nhân thì chưa có một vaccine nào có tiềm năng đưa vào sản xuất được tìm ra (Nguyễn Văn Hảo).

Năm 2011, theo Hiệp hội Chế biến và Xuất khẩu Thủy sản Việt Nam (VASEP), vaccine phòng bệnh gan thận mũ trên cá tra có tên thương mại là ALPHA JECT Panga®1 được sản xuất bởi Công ty PHARMAQ, đã được Cục Thú y (Bộ Nông Nghiệp & PTNT) cho phép tiêm thử nghiệm cho cá tra trên diện rộng tại một số ao nuôi trong khu vực đồng bằng sông Cửu Long. Được biết, ALPHA JECT® Panga 1 là vaccine thương mại đầu tiên đang thử nghiệm cho cá tra ở Việt Nam. Loại vaccine này là loại vaccine chết được tiêm vào xoang bụng cá (cá giống) nhằm bảo vệ cá chống lại bệnh gan thận mũ do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây ra trên cá tra nuôi. Kết quả cho thấy ALPHA JECT® Panga 1 không gây shock hay chết cá được tiêm trong suốt quá trình nuôi. Kết quả bảo vệ của loại vaccine này chưa được công bố. Tuy nhiên, việc tiêm vaccine gây nhiều trở ngại khi ứng dụng vào thực tế sản xuất. Phương pháp tiêm đòi hỏi cá thể tiêm phải lớn và phải tiến hành trên từng cá thể. Do đó, người dân phải có trang thiết bị, mất nhiều thời gian

Nhìn chung, ngành nuôi trồng thủy sản Việt Nam còn thiếu các sản phẩm vaccine thích hợp và có tính khả thi khi ứng dụng vào thực tế. Vì vậy, việc phát triển vaccine cho các bệnh có ảnh hưởng lớn trên các đối tượng nuôi chính tại Việt Nam như bệnh xuất huyết đốm đỏ trên cá trắm cỏ, bệnh xuất huyết, mù mắt trên cá rô phi, bệnh gan thận mũ trên cá tra và cá Ba Sa, bệnh virus trên cá chép, và một số loài thủy đặc sản nước ngọt như cá lăng, chiên, salmon, và một số đối tượng quan trọng khác là rất cần thiết (Phạm Văn Thư, Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I).

Một số vaccine cần phát triển và ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản tại Việt Nam

Loại vaccine	Phòng bệnh	Đối tượng nuôi
<i>Streptococcus iniae</i>	Xuất huyết, mù mắt	Cá rô phi
<i>Streptococcus</i> sp.	Xuất huyết, tuột vẩy	Cá chêm
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Lở loét	Trắm cỏ
<i>Edwardsiella ictaluri</i>	Bệnh gan thận mũ	Cá tra, cá Ba Sa

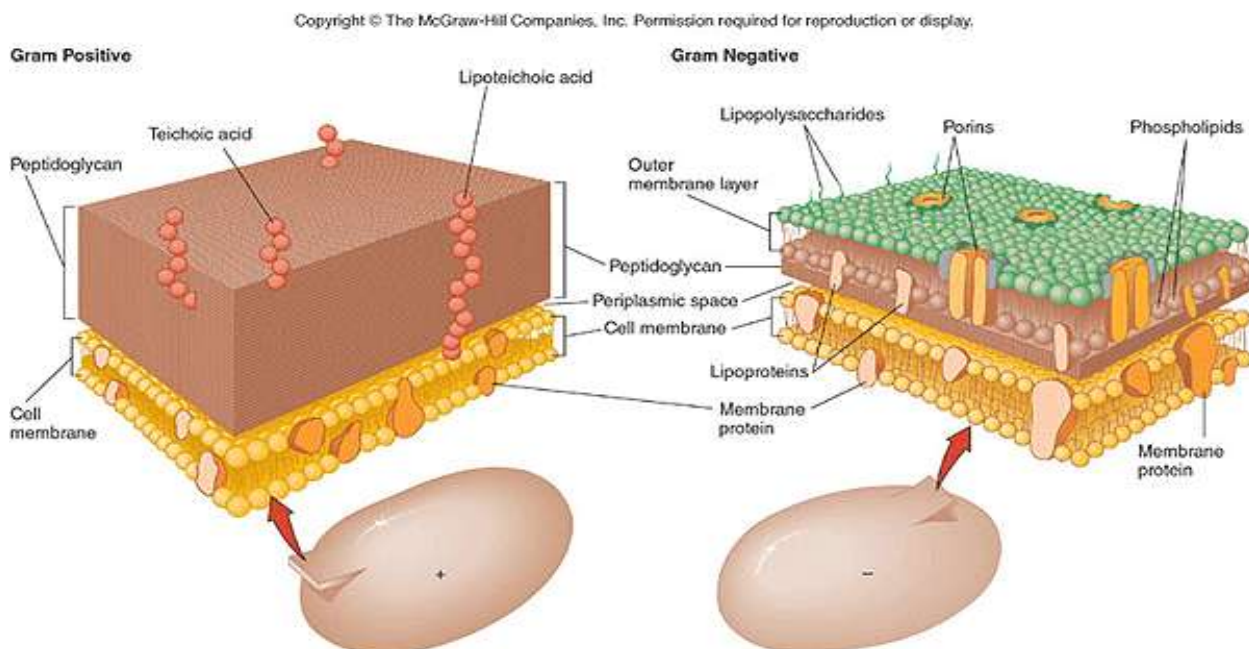


<i>Edwardsiella tarda</i>	Bệnh gan thận mủ	Cá tra, cá Ba Sa
<i>Vibrio</i> sp.	Lở loét, hoại tử	Cá hồi nước ngọt

#### 4. Các nghiên cứu về vaccine cho tôm cá tại Trung tâm Công nghệ Sinh học TP. Hồ Chí Minh

Từ năm 2008 đến nay, Trung tâm công nghệ sinh học TP. Hồ Chí Minh đã tiến hành 06 đề tài cấp cơ sở và 01 đề tài nhánh cấp Bộ liên quan đến vaccine trong nuôi trồng thủy sản. Các đề tài này tập trung ở những loại vaccine như sau:

##### 4.1. Vaccine tiểu phần



##### Protein màng

Với đề tài “Khảo sát đáp ứng miễn dịch ở cá tra đối với protein màng (OMP- outer membrane protein) của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*” (nghiệm thu xếp loại khá vào tháng 03/2012), Trung tâm đã tối ưu được quy trình biểu hiện tinh sạch từ *E. coli* O<sub>2</sub> loại protein màng OmpA và OmpN của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan thận mủ trên cá tra. Kết quả thử nghiệm bước đầu cho thấy sau khi tiêm, protein tái tổ hợp OmpA và OmpN có đáp ứng miễn dịch ở cá tra. Cá tra có tạo ra kháng thể sau khi được tiêm protein dung hợp màng OmpA và OmpN, mặc dù đáp ứng miễn dịch ở OmpN khá yếu.

Đồng thời, kết quả này cũng cho thấy việc sử dụng vắc xin cho cá theo đường tiêm có thể không hiệu quả trong việc tạo kháng thể đáp ứng miễn dịch. Vì vậy, chúng tôi đang

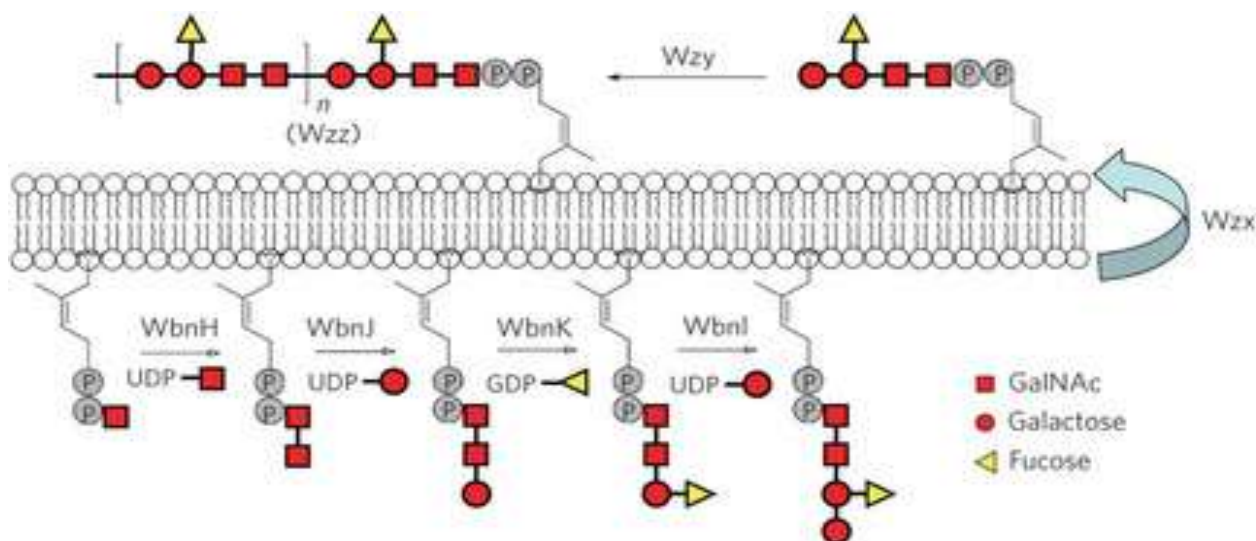
ngiên cứu phương thức sử dụng vắc xin cho cá qua đường miệng, bằng cách cho ăn hoặc kết hợp giữa cho ăn và tiêm.

## 4.2. Vaccine sống nhược độc

### i. Bằng phương pháp knock out gen

Trung tâm đã và đang triển khai các đề tài liên quan đến việc ứng dụng kỹ thuật knock-out gen (cắt loại bỏ gen) để tạo chủng vi khuẩn mất gen, nhược độc, có tiềm năng làm vaccine. Cụ thể là liên quan đến bệnh gan thận mũ, bệnh nhiễm trùng huyết trên cá tra và bệnh Đốm trắng trên tôm sú.

Hiện nay, các đề tài này đã thu được một số kết quả khả quan như sau: thu được một số chủng *Edwardsiella ictaluri* đột biến gen khác nhau nhược độc và một số chủng *Aeromonas hydrophila* có tiềm năng ứng dụng làm vaccine ngừa bệnh gan thận mũ và đốm đỏ, Trong số các kết quả đã đạt được này, Trung tâm đã được Cục Sở hữu trí tuệ Việt Nam công nhận thủ tục đăng ký bản quyền cho 01 chủng *E. ictaluri* đột biến gen Wzz có triển vọng sử dụng làm vaccine sống nhược độc kháng bệnh gan thận mũ cho cá tra.



**Gen WZZ**

Việc thiết lập quy trình xử lý các loại chủng nhược độc trên đang được Trung tâm nghiên cứu để có thể tạo được sản phẩm vaccine có hiệu quả bảo vệ cao bằng phương pháp ngâm ở các giai đoạn cá bột, cá hương hay cá giống.

### ii. Bằng phương pháp chọn lọc bằng kháng sinh

Với đề tài “Tạo chủng *Edwardsiella ictaluri* nhược độc bằng kháng sinh nhằm phòng ngừa bệnh gan thận mũ cho cá tra” Trung tâm đã hoàn thiện quy trình tạo chủng vi khuẩn nhược độc bằng phương pháp sàng lọc trên môi trường có chứa kháng sinh

Rifampicin. Trung tâm hiện đã thu được một số dòng vi khuẩn *E. ictaluri* nhược độc sau 33 lần cấy chuyển trên môi trường BHI có nồng độ rifampicin tăng dần. Thử nghiệm độc lực bằng phương pháp tiêm xoang bụng trên cá tra giống thu được kết quả rất khả quan. Kết quả tương tự trên cá bột và cá hương bằng phương pháp ngâm cho thấy, độc lực của chủng này không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống sót của cá và có hiệu quả bảo vệ trên cá bột. Hiệu quả bảo vệ của các chủng này trên cá tra đang được khảo sát.

### 4.3. DNA Vaccine

Từ những kết quả đạt được từ đề tài “Khảo sát đáp ứng miễn dịch ở cá tra đối với protein màng (OMP- outer membrane protein) của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*”, nhóm nghiên cứu đã chọn gen mã hóa protein OmpA để nhân dòng vào DNA vector pVax nhằm thử nghiệm hiệu quả bảo vệ của loại DNA vaccine này. Hiện nay, Trung tâm đã nhân dòng thành công gen mã hóa OmpA vào pVax và đang thiết kế thí nghiệm để kiểm tra khả năng biểu hiện của OmpA trong cá, hiệu giá kháng thể và hiệu quả bảo vệ bằng phương pháp tiêm và cho ăn.

Đối với tôm, Trung tâm Công nghệ Sinh học TPHCM đưa ra một hướng tiếp cận mới: tạo chủng Vi khuẩn gây bệnh phát sáng nhược độc làm vaccine ngừa bệnh cho tôm đồng thời sử dụng chủng nhược độc này làm vector vận chuyển protein vỏ VP28 của virus đốm trắng vào trong tôm nhằm tăng khả năng kháng bệnh đốm trắng cho tôm..

Chủng vi khuẩn mà nhóm nghiên cứu sử dụng ở đây là *Vibrio harveyi*, một loại vi khuẩn thường xuyên xâm nhiễm vào tôm trong các ao nuôi. Chủng này sẽ được làm nhược độc bằng phương pháp knock-out gen để không còn khả năng gây bệnh. Khi vào trong cơ thể tôm, nó sẽ bị hệ thống thực bào của tôm phá hủy và giải phóng protein vỏ VP28. Với cách tiếp cận này, nhóm nghiên cứu muốn hướng tới mục tiêu tạo ra một loại vaccine cho ăn. Loại vaccine này có nhiều ưu điểm: thứ nhất dễ dàng sử dụng đối với người dân, thứ 2 protein VP28 được bảo vệ trong chủng vi khuẩn nhược độc và được vận chuyển một cách tự nhiên vào trong cơ thể tôm thông qua đường cho ăn hoặc thông qua con đường xâm nhiễm bình thường của *Vibrio*. Mặt khác, với phương pháp này có thể bổ sung định kỳ loại vaccine này vào thức ăn tôm và qua đó có thể kéo dài thời gian đáp ứng miễn dịch ở tôm

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bruce A.D. Stocker(1988) Auxotrophic Salmonella typhi as live vaccine. Vaccine, Vol.6, April 1988.
2. Crumlish M., Dung T.T., Turnbull J.F., Ngoc N.T.N. and Ferguson H.W. (2002) Identification of Edwardsiella ictaluri from diseased freshwater catfish, Pangasius hypophthalmus (Sauvage), cultured in the Mekong Delta, Vietnam. Journal of Fish Diseases 25: 733–736.
3. Evans J.C., Klesius P.H. & Shoemaker C.A. (2006) Therapeutic and prophylactic immunization against Streptococcus iniae infection in hybrid striped bass (Morone chrysops x Morone saxatilis), Aquaculture Research, 37, 742-750.
4. Fang H.M., Ling K.C. and Sin G.Y.M. (2000) Enhancement of protective immunity in blue gourami, Trichogaster trichopterus (Pallas), against Aeromonas hydrophila and Vibrio anguillarum by A. hydrophila major adhesion, Journal of Fish Diseases 23, 137-145.
5. FAO Fisheries and Aquaculture Department (2010) The state of world fisheries and aquaculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. ISSN 1020-5489.
6. Ferguson H.W., Turnbull J.F., Shinn A.P., Thompson K., Dung T.T. & Crumlish M. (2001) Bacillary necrosis in farmed Pangasius hypophthalmus (Sauvage) from the Mekong Delta, Vietnam. Journal of Fish Diseases 24: 509–513.
7. Hawke J. P. (1979) A bacterium associated with disease of pond cultured channel catfish Ictalurus punctatus. J. Fish. Res. Board Can., 36: 1508-1512.
8. Hawke J. P., A. C. McWhorter, A. G. Steigerwalt, and D. J. Brenner (1981) Edwardsiella ictaluri sp. Nov., the causative agent of enteric septicemia of catfish. Int. J. Syst. Bacteriol., 31: 396-400.
9. Huizinga H.W., Esch G.W. and Hazen T.C. (1979) Histopathology of red-sore disease (Aeromonas hydrophila) in naturally and experimentally infected largemouth bass Micropterus salmoides (Lacepede), Journal of Fish Diseases 2, 263-277.
10. Nguyễn Văn Hảo, Nguyễn Văn Du (2008). Tổng quan về các bệnh nguy hiểm thường gặp trên động vật nuôi biển. Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II.
11. Lio-Po G.D., Albright L.J. and Leano E.M. (1996) Experiments on virulence dose and portals of entry for Aeromonas hydrophila in walking catfish, Journal of Aquatic Animal Health 8, 340-343.
12. Lorenzen N. and LaPatra S.E. (2005) DNA Vaccines for aquacultured fish. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 24 (1), 201-213.

13. Phạm Đình Khôi (2009) Bước đầu đánh giá một số các thông số di truyền làm cơ sở cho chọn giống cá tra theo tính trạng kháng bệnh gan thận mũ. Viện Nghiên Cứu Nuôi Trồng Thủy Sản 2.
14. Plumb J.A., Grizzle J.M. and Defigueiredo J. (1976) Necrosis and bacterial infection in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) following hypoxia, *Journal of Wildlife Diseases* 12, 247-253.
15. Plumb J.A. and Vinnitnantharat S. (1989) Biochemical, Biophysical, and Homogeneity *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 1: 51-56.
16. Roberts R.J. (1993) Motile Aeromonad Septicaemia. In: *Bacterial diseases of fish* (Ed. by Inglis V., Roberts R.J. and Bromage N.R.), Blackwell scientific publications, Oxford, 143-155.
17. Souza A.P.D, Haut L., Reyes-Sandoval A., and Pinto A.R. (2005) Recombinant viruses as vaccines against viral diseases. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38:509-522.
18. Tonheim T.C., Bogwald J. and Dalmo R.A.(2008)What happens to the DNA vaccine in fish? A review of current knowledge. *Fish & Shellfish Immunology*, 25, 1-18.