

ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG CHẨN ĐOÁN BỆNH ĐỘNG VẬT THỦY SẢN VÀ PHÁT TRIỂN VẮC - XIN DÙNG TRONG THỦY SẢN: THỰC TRẠNG VÀ ĐỀ XUẤT GIẢI PHÁP

Đặng Thị Lua¹, Phan Thị Vân¹

TÓM TẮT

Công nghệ sinh học (CNSH) đa và đang trở thành lĩnh vực nghiên cứu ứng dụng đóng vai trò quan trọng đối với sự phát triển ổn định và bền vững của ngành nuôi trồng thủy sản không chỉ ở khía cạnh xây dựng phương pháp chẩn đoán mà còn ở cả khía cạnh phát triển vắc xin dùng trong thủy sản. Bài viết này đề cập đến những thành tựu nổi bật của nghiên cứu ứng dụng CNSH trong xây dựng các phương pháp/kít PCR, RT-PCR, Multiplex-PCR và LAMP để chẩn đoán, xét nghiệm tác nhân gây bệnh nguy hiểm thường gặp trên động vật thủy sản và những thành tựu nổi bật trong nghiên cứu sản xuất vắc xin vô hoạt, vắc xin tái tổ hợp phòng bệnh do vi khuẩn và vi rút trên cá nuôi. Bài viết cũng phân tích những mặt còn tồn tại, hạn chế của việc ứng dụng CNSH trong chẩn đoán và sản xuất vắc xin thủy sản, đồng thời đề xuất một số hướng nghiên cứu chính cho lĩnh vực này trong thời gian tới.

Từ khóa: Công nghệ sinh học (CNSH), chẩn đoán, động vật thủy sản, nuôi trồng thủy sản, vắc xin.

1. BẬT VẤN ĐỀ

Trong nuôi trồng thủy sản, sự gia tăng về đối tượng nuôi, quy mô, hình thức nuôi đặc biệt là hình thức nuôi thâm canh với mật độ cao đã dẫn đến sự mất cân bằng về môi trường, sinh thái làm cho dịch bệnh phát triển. Điều này đã thể hiện rõ qua hàng loạt dịch bệnh đa và đang xuất hiện, trở thành một trong những nguyên nhân chính ảnh hưởng tới sự phát triển của nghề nuôi trồng thủy sản theo hướng ổn định và bền vững. Điển hình như dịch bệnh gan thận mù do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* trên cá tra (Từ Thanh Dung *et al.*, 2003), dịch bệnh do vi khuẩn *Streptococcus* trên cá rô phi (Nguyễn Viết Khuê *et al.*, 2009), dịch bệnh do vi khuẩn *Vibrio* và vi rút hoại tử thần kinh (VNN) trên cá nuôi biển (Phan Thị Vân *et al.*, 2006) và dịch bệnh đốm trắng (WSSV), hoại tử gan tụy cấp (AHPND) trên tôm nuôi nước lợ (Tài liệu hội thảo khoa học bệnh đốm trắng và bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm nuôi nước lợ, hội nghị tổng kết nuôi tôm nước lợ năm 2014 và xây dựng kế hoạch năm 2015). Do vậy nghiên cứu chẩn đoán bệnh và phát triển vắc xin phòng bệnh trong nuôi trồng thủy sản có ý nghĩa đặc biệt quan trọng.

Công nghệ sinh học (CNSH) được hiểu là một lĩnh vực công nghệ cao dựa trên nền tảng khoa học

về sự sống, kết hợp với thiết bị kỹ thuật nhằm tạo ra các công nghệ khai thác các hoạt động sống của vi sinh vật, tế bào thực vật và động vật để sản xuất ở quy mô công nghiệp các sản phẩm sinh học có chất lượng cao, phục vụ phát triển kinh tế - xã hội và bảo vệ môi trường. Cùng với sự phát triển vượt bậc của khoa học, ngày nay công nghệ sinh học chia thành nhiều lĩnh vực, bao gồm: (i) Công nghệ gen và công nghệ ADN tái tổ hợp; (ii) công nghệ tế bào; (iii) công nghệ enzym - protein; (iv) công nghệ vi sinh; (v) công nghệ sinh học nano.

Đối với nuôi trồng thủy sản (NTTS), từ khi Thủ tướng Chính phủ phê duyệt “*Đề án phát triển và ứng dụng công nghệ sinh học trong lĩnh vực thủy sản đến năm 2020*” theo Quyết định số 97/2007/QĐ-TTg ngày 29/6/2007, CNSH được ứng dụng rất đa dạng từ vấn đề di truyền tạo ra các giống loài thủy sản mới có chất lượng tốt, tốc độ tăng trưởng nhanh và có tính kháng bệnh giúp cho người nuôi chủ động được con giống, đến việc ứng dụng trong nghiên cứu công nghệ nuôi an toàn sinh học. Đặc biệt, CNSH cho phép nghiên cứu sản xuất các kit chẩn đoán nhanh, chẩn đoán sớm tác nhân gây bệnh trên động vật thủy sản với độ nhạy và độ đặc hiệu cao, đồng thời phát triển vắc xin phòng bệnh giúp ngăn ngừa dịch bệnh, giảm thiểu ô nhiễm môi trường và tăng sức đề kháng cho động vật thủy sản. Những thành tựu nổi bật của ứng dụng CNSH trong chẩn đoán bệnh động vật

¹ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1

hủy sản và phát triển vắc xin thủy sản trong chặng đường gần 10 năm qua được tóm tắt trong các mục lưới đây và trên cơ sở đó đề xuất một số giải pháp nhằm phát huy hơn nữa vai trò của CNSH trong các lĩnh vực nghiên cứu này.

2. THỰC TRẠNG VÀ ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG CHẨN ĐOÁN BỆNH ĐỘNG VẬT THỦY SẢN

2.1. Tình hình nghiên cứu ứng dụng CNSH trong chẩn đoán bệnh động vật thủy sản trên thế giới

Trước đây chẩn đoán bệnh động vật nói chung và bệnh động vật thủy sản nói riêng chỉ dựa vào các phương pháp truyền thống như nuôi cấy phân lập trên môi trường nuôi cấy tổng hợp, dựa trên đặc điểm kiểu hình và biến đổi cấu trúc mô học, dựa trên một số phản ứng sinh hóa dẫn tới có rất nhiều điểm hạn chế như thời gian chẩn đoán lâu và thường cho kết quả có độ chính xác không cao. Ngày nay, với những ứng dụng của CNSH, kỹ thuật sinh học phân tử đã mở ra nhiều hướng nghiên cứu chẩn đoán mới cho ngành thủy sản với những ưu điểm nổi bật như thời gian chẩn đoán nhanh, độ nhạy và độ đặc hiệu cao, giúp cho việc xét nghiệm sớm tác nhân gây bệnh, thậm chí cho phép phát hiện tác nhân gây bệnh ngay cả khi chưa xuất hiện dấu hiệu lâm sàng, điều này đặc biệt có ý nghĩa trong việc sàng lọc con giống trước khi đưa vào nuôi trồng đảm bảo con giống không mang mầm bệnh, giám sát chủ động tình hình dịch bệnh trong quá trình nuôi và kiểm dịch động vật nuôi thủy sản trong quá trình vận chuyển. Một số kỹ thuật sinh học phân tử đã và đang được ứng dụng vào trong chẩn đoán bệnh động vật thủy sản bao gồm kỹ thuật Northern Blot, Western Blot, PCR/RT-PCR, nested PCR, multiplex PCR, real-time PCR, LAMP và kỹ thuật lai ADN (Kumar *et al.*, 2014; Adams *et al.*, 2008).

Thực tế, thế giới đã nghiên cứu phát triển được nhiều phương pháp/kit chẩn đoán nhanh đối với một số bệnh nguy hiểm thường gặp trên tôm, cá. Điển hình như kit chẩn đoán xét nghiệm vi rút VNN (*Viral nervous necrosis*) và *Iridovirus* (gây bệnh trên cá biển), xét nghiệm KHV (*Koi Herpes virus*) và SVC (*Spring viraemia of carp disease*) (gây bệnh trên cá chép, cá koi), xét nghiệm WSSV (*White spot syndrome virus*), YHV (*Yellow head virus*), MBV (*Monodon baculovirus*), TSV (*Taura syndrome virus*), IHNV (*Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus*) và AHPND (*Acute hepatopancreatic necrosis disease*) (gây bệnh trên

tôm nuôi nước lợ) ... Thậm chí nhiều loại kit chẩn đoán đã được thương mại hóa và sản xuất dưới nhiều loại kit khác nhau như kit PCR/RT-PCR, Nested PCR, Real-time PCR và LAMP (ví dụ như hệ thống kit IQ 2000, IQ Plus™) đã mở ra rất nhiều thuận lợi cho việc chẩn đoán bệnh sớm, sàng lọc nguồn con giống, góp phần không nhỏ cho sự phát triển ổn định và bền vững của nghề NTTS trên thế giới.

2.2. Thực trạng nghiên cứu ứng dụng CNSH trong chẩn đoán bệnh động vật thủy sản ở nước ta trong giai đoạn 2007-2015

2.2.1. Những thành tựu nổi bật đã đạt được

Trong chẩn đoán bệnh động vật thủy sản ở nước ta, ngoài việc kế thừa các sản phẩm kit thương mại hoặc kế thừa các công trình nghiên cứu khoa học trên thế giới để chẩn đoán một số bệnh trên động vật thủy sản, một số đề tài nghiên cứu đã ứng dụng CNSH, cụ thể là kỹ thuật sinh học phân tử, trong việc nghiên cứu phát triển các phương pháp/kit chẩn đoán dựa trên các chủng vi sinh vật gây bệnh thu thập được từ động vật thủy sản mắc bệnh ở Việt Nam cho phù hợp với điều kiện thực tế ở nước ta. Trong khoảng 10 năm trở lại đây, nghiên cứu ứng dụng CNSH trong lĩnh vực này ở nước ta đã và đang mang lại những kết quả rõ ràng.

Kỹ thuật PCR/RT-PCR đã được ứng dụng trong nghiên cứu về bệnh và chẩn đoán bệnh trên tôm nuôi nước lợ, trên cá biển, cá cảnh và trên cá rô đồng. Nguyễn Viết Dũng và đồng tác giả (2012) đã nghiên cứu xây dựng kit RT-PCR và qui trình sử dụng kit phát hiện IMNV (*Infectious myonecrosis virus*) và LSNV (*Laem Singh virus*) trên tôm nuôi nước lợ dựa trên các chủng vi rút phân lập được từ tôm bệnh ở nước ta. Nguyễn Hoàng Uyên và đồng tác giả (2011) đã xây dựng kit PCR cho xét nghiệm *Iridovirus* trên cá chép, kit PCR cho xét nghiệm KHV trên cá chép Koi và kit RT-PCR cho xét nghiệm vi rút gây bệnh xuất huyết mùa xuân (SVC) trên cá chép. Kết quả nghiên cứu của đề tài đồng thời bao gồm các qui trình sử dụng tương ứng với từng loại kit được xây dựng. Gần đây, trong khuôn khổ đề tài nghiên cứu cấp Bộ "Nghiên cứu bệnh đen thân trên cá rô đồng nuôi thâm canh và các biện pháp phòng trị", Đặng Thị Lụa và đồng tác giả (2014) đã ứng dụng kỹ thuật PCR để xác định mầm bệnh *Iridovirus* trên cá rô đồng bị bệnh đen thân dựa trên việc khuếch đại đoạn gen MCP (*Major capsid protein*) của vi rút. Đề tài

cũng đã khuyến cáo việc sử dụng cặp mồi được thiết kế để xác định *Iridovirus* trên cá rô đồng bị bệnh bằng kỹ thuật PCR (Đặng Thị Lụa, Phan Thị Vân, 2014; Đặng Thị Lụa *et al.*, 2014).

Đối với kỹ thuật LAMP, một số đề tài nghiên cứu trong thời gian qua cũng tập trung vào nghiên cứu và phát triển kit LAMP trong chẩn đoán xét nghiệm vi rút đốm trắng (WSSV) trên tôm (Nguyễn Việt Dũng và đồng tác giả, 2010), phát hiện vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan thận mù trên cá tra (Nguyễn Thị Trung và đồng tác giả, 2012), chẩn đoán phát hiện vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* gây bệnh *Streptococcosis* trên cá rô phi (Nguyễn Hữu Vũ và đồng tác giả, 2014). Nguyễn Thị Trung và đồng tác giả (2012) đã tạo thành công kit LAMP phát hiện vi khuẩn *E. ictaluri* gây bệnh gan thận mù dựa trên việc khuếch đại đặc hiệu đoạn gen *eip18* của vi khuẩn với độ nhạy là 50 cfu/ml và thời gian đọc kết quả là 90 phút. Nghiên cứu đồng thời xây dựng qui trình sử dụng kit LAMP để chẩn đoán vi khuẩn gây bệnh gan thận mù trên cá tra. Kết quả nghiên cứu này đặc biệt có ý nghĩa và cần thiết bởi lẽ bệnh gan thận mù là bệnh đặc thù trên cá tra, đối tượng nuôi chủ lực ở nước ta.

Ngoài kỹ thuật PCR/RT-PCR và LAMP, một số kỹ thuật sinh học phân tử khác cũng đã được ứng dụng trong nghiên cứu chẩn đoán, xét nghiệm bệnh trên một số đối tượng thủy sản chủ lực ở nước ta. Cao Thành Trung và đồng tác giả (2014) khu nghiên cứu về vi rút gây bệnh hoại tử cơ quan tạo máu và cơ quan phân lập biểu mô (IHHNV) trên tôm sú đã phát triển kit Multiplex PCR để chẩn đoán type IHHNV lây nhiễm. Nguyễn Hữu Vũ và đồng tác giả (2014) cũng xây dựng phương pháp chẩn đoán vi khuẩn *S. agalactiae* bằng kỹ thuật Elisa góp phần hỗ trợ việc định danh vi khuẩn *Streptococcus* spp. bằng phương pháp truyền thống.

2.2.2. Một số tồn tại, hạn chế

Mặc dù CNSH đã và đang được ứng dụng vào trong nghiên cứu chẩn đoán bệnh động vật thủy sản ở nước ta, song thực tế kết quả ứng dụng này vẫn còn một số tồn tại và hạn chế:

Do nuôi trồng thủy sản ở nước ta mang tính nhỏ lẻ (small-scale) nên đã hạn chế nhiều đến việc áp dụng các tiến bộ khoa học kỹ thuật, trong đó có kỹ thuật sàng lọc con giống, chuẩn đoán bệnh sớm. Nhiều hộ nuôi không chú ý tới việc sàng lọc nguồn

con giống trước khi thả nuôi cũng như trong việc giám sát chủ động tình hình sức khỏe của đối tượng thủy sản trong quá trình nuôi.

Việc ứng dụng kỹ thuật sinh học vào trong nghiên cứu và chẩn đoán bệnh động vật thủy sản vẫn còn chậm và có thể nói là chưa bắt kịp với sự phát triển trên thế giới. Nguyên nhân chủ yếu do nguồn nhân lực và điều kiện cơ sở hạ tầng, trang thiết bị.

Tình mới trong nghiên cứu ứng dụng CNSH vào chẩn đoán bệnh động vật thủy sản còn hạn chế, chủ yếu vẫn là những nghiên cứu mang tính kế thừa kết quả nghiên cứu trên thế giới, rất hiếm những nghiên cứu phát triển.

3. THỰC TRẠNG VỀ ỨNG DỤNG CÔNG NGHỆ SINH HỌC TRONG PHÁT TRIỂN VẮC XIN THỦY SẢN

3.1. Tình hình nghiên cứu ứng dụng CNSH trong phát triển vắc xin thủy sản trên thế giới

Không giống như các loại vắc xin ở động vật máu nóng trên cạn, việc sản xuất vắc xin dùng trong thủy sản thường phức tạp hơn nhiều do động vật thủy sản là động vật máu lạnh và sống trong môi trường nước. Chính vì thế, vắc xin phòng bệnh trong NTTS được bắt đầu nghiên cứu và phát triển từ năm 1973 nhưng mãi đến năm 1987 mới được đưa vào sử dụng cho hệ thống nuôi công nghiệp. Trước hết phải kể đến nghiên cứu về vắc xin nhược độc dạng ngâm để phòng bệnh *Yersiniosis* và *Vibriosis* cho đàn cá nuôi đã được tiến hành tại Mỹ từ những năm 1970 (Gudding và Muiswinkel, 2013). Trong suốt thập kỷ 80, ngành công nghiệp nuôi cá hồi ở Na Uy gặp tổn thất lớn do cả mắc bệnh nhiễm khuẩn và kháng sinh là giải pháp duy nhất để trị bệnh lúc bấy giờ. Song với sự thành công của ngành công nghiệp sản xuất vắc xin và giải pháp sử dụng vắc xin phòng bệnh cho cá nuôi đã tạo ra một bước nhảy vượt bậc, đưa sản lượng nuôi cá hồi ở Na Uy tăng từ 65.000 tấn năm 1987 lên trên 700.000 tấn năm 2007, đồng thời lượng kháng sinh sử dụng tương ứng giảm từ 48.500 tấn xuống 649 kg (Gravningen và Berntsen, 2008).

Sau này cùng với sự phát triển của CNSH, ngoài loại vắc xin bất hoạt, vắc xin nhược độc, còn có nhiều loại vắc xin khác như vắc xin tiểu phần và vắc xin ADN được nghiên cứu phát triển dựa trên ứng dụng của công nghệ gen, công nghệ ADN tái tổ hợp và công nghệ enzym – protein. Đồng thời nhiều loại chất bổ trợ cũng được tiến hành thử nghiệm bổ sung vào vắc xin nhằm nâng cao chất lượng và hiệu quả bảo hộ của vắc xin.

Cho đến nay, vắc xin đã được sử dụng rộng rãi trong NTTS trên thế giới, đặc biệt ở các vùng nuôi cá rôi công nghiệp của các nước Bắc Âu, Canada, Mỹ, Nhật hay các trang trại nuôi cá da trơn của Mỹ; trang trại nuôi cá chêm, cá rô phi ở châu Âu. Tính đến năm 2005, thế giới có khoảng 35 loại vắc xin phòng bệnh vi khuẩn và 2 loại vắc xin phòng bệnh vi rút được đăng ký bản quyền và sử dụng trên 41 quốc gia trên thế giới cho 6 đối tượng nuôi phổ biến, bao gồm cá hồi, cá chêm châu Âu, cá chêm châu Á, cá rô phi, cá bơn và cá bơn đuôi vàng. Nhiều loại vắc xin phòng bệnh trên các đối tượng thủy sản khác, thậm chí cả vắc xin phòng bệnh do ký sinh trùng cũng đang được nghiên cứu và phát triển.

3.2. Thực trạng nghiên cứu ứng dụng CNSH trong phát triển vắc xin thủy sản ở nước ta trong giai đoạn 2007 - 2015

3.2.1. Những thành tựu nổi bật đạt được

Cùng với việc tiếp cận những tiến bộ trong nghiên cứu sản xuất vắc xin ở trên thế giới, nhiều đề tài nghiên cứu phát triển vắc xin phòng bệnh trong NTTS ở nước ta cũng đã và đang được chú trọng, tập trung trên một số động vật nuôi thủy sản như cá tra, cá rô phi, cá biển và thậm chí cả nghiên cứu phòng bệnh trên tôm nuôi nước lợ. Các loại vắc xin đã được nghiên cứu phát triển bao gồm vắc xin vô hoạt có sử dụng chất bổ trợ (Nguyễn Mạnh Thắng *et al.*, 2009; Nguyễn Hữu Vũ *et al.*, 2014; Phan Thị Vân *et al.*, 2013; Phạm Thị Tâm *et al.*, 2015); vắc xin bất hoạt thông qua sốc nhiệt protein (Lê Hồng Phước *et al.*, 2012); vắc xin nhược độc thông qua đột biến gen (Vô Văn Nha *et al.*, 2013); vắc xin tái tổ hợp (Phạm Thị Tâm *et al.*, 2015) và vắc xin phòng bệnh dưới dạng Probiotics tái tổ hợp (Anh T. V. Nguyễn *et al.*, 2014).

Đối với bệnh gan thận mù trên cá tra, Nguyễn Mạnh Thắng và đồng tác giả (2009) phối hợp cùng với Công ty Thuốc thú y TW (Navetco) nghiên cứu vắc xin vô hoạt phòng bệnh do vi khuẩn *E. ictaluri* trên cá tra. Vắc xin được sản xuất là vắc xin vô hoạt toàn tế bào được diệt bằng 50-mol 0,4% và sử dụng chất bổ trợ là dung dịch phen chua. Kết quả thử nghiệm vắc xin bước đầu cho tỷ lệ bảo hộ tốt ở quy mô phòng thí nghiệm. Tỷ lệ sống tương đối (Relative Percent Survival - RPS) của cá tra tiêm vắc xin sau 21 ngày công cường độc vi khuẩn ứng với các liều công 2LD₅₀, 20LD₅₀ và 80LD₅₀ lần lượt là 97%, 93% và 71% (Nguyễn Mạnh Thắng *et al.*, 2009). Lê Hồng Phước và đồng tác giả (2012) cũng đã nghiên cứu

nâng cao hiệu quả vắc xin bất hoạt phòng bệnh gan thận mù bằng kỹ thuật sốc nhiệt protein. Kết quả nghiên cứu cho thấy vắc xin bất hoạt thông qua sốc nhiệt protein có khả năng bảo hộ khoảng 52% - 58% đối với bệnh gan thận mù trên cá tra.

Cùng liên quan đến bệnh gan thận mù trên cá tra, bằng việc ứng dụng kỹ thuật đột biến gen Vô Văn Nha và đồng tác giả (2013) phối hợp với Trung tâm Công nghệ sinh học thành phố Hồ Chí Minh đã nghiên cứu tạo ra được 3 chủng vi khuẩn *E. ictaluri* đột biến bằng phương pháp đột biến gen bao gồm chủng *E. ictaluri* PAM với gen đột biến là gen *gumA* mã hóa tiền protein của Adenylosuxinat synthaza, chủng *E. ictaluri* ARO với gen đột biến là gen *aroA* mã hóa tiền protein của 5-enolpyruvylshikimat-3-phosphat synthaza và chủng *E. ictaluri* CH với gen đột biến là gen *CH* mã hóa tiền protein của Chondroitinaza. Trong số đó, chủng đột biến *E. ictaluri* ARO cho khả năng kích thích miễn dịch kháng bệnh gan thận mù tốt nhất, có thể chọn làm vắc xin nhược độc phòng bệnh gan thận mù ở cá tra (Vô Văn Nha *et al.*, 2013).

Đối với bệnh *Streptococcus* trên cá rô phi nuôi thương phẩm, Nguyễn Hữu Vũ và đồng tác giả (2014) đã sản xuất thành công vắc xin toàn khuẩn vô hoạt kéo dài phòng bệnh do vi khuẩn *Streptococcus* spp. trên cá rô phi nuôi. Vắc xin thử nghiệm cho hiệu quả bảo hộ trong phòng thí nghiệm đạt 79,3% bằng phương pháp cho ăn, thời gian bảo hộ 6 tháng. Vắc xin được bảo quản ở nhiệt độ 4°C trong thời gian 12 tháng vẫn giữ nguyên hiệu lực. Hiện tại sản phẩm vắc xin này đang được tiếp tục nghiên cứu sản xuất thử nghiệm ở quy mô công nghiệp, thời gian thực hiện từ năm 2015 đến năm 2017.

Đối với bệnh do vi khuẩn *Vibrio* spp. gây ra trên cá nuôi biển, Phan Thị Vân và đồng tác giả (2013) đã phát triển vắc xin vô hoạt phòng bệnh *Vibriosis* cho cá giò nuôi. Kết quả sản xuất được 52.000 liều vắc xin AquaVib vô hoạt có độ vô trùng tuyệt đối, độ an toàn 100% - có tỷ lệ bảo hộ 70 - 100% sau 7 đến 30 ngày tiêm vắc xin ở quy mô phòng thí nghiệm. Ở ngoài thực địa vắc xin có độ dài miễn dịch từ 3 đến 12 tháng, tỷ lệ bảo hộ trên 70%. Qua nghiên cứu và theo dõi, vắc xin có thời gian bảo quản ở nhiệt độ 4°C ít nhất 9 tháng vẫn giữ nguyên hiệu lực.

Đối với bệnh hoại tử thần kinh do vi rút VNN gây ra trên đối tượng cá nuôi biển, Phạm Thị Tâm và đồng tác giả (2015) đã tạo ra 2 loại vắc xin vô hoạt và

vắc xin tái tổ hợp phòng bệnh VNN cho cá mú nuôi với độ vô trùng tuyệt đối, độ an toàn 100% và hiệu lực bảo vệ trên 83% ở cá giống. Đây là đề tài nghiên cứu đầu tiên phát triển vắc xin dựa trên công nghệ ADN tái tổ hợp.

Khác với đối tượng cá, tôm được cho là không có hệ miễn dịch đặc hiệu hoặc có nhưng rất yếu nên việc sử dụng vắc xin phòng bệnh cho hiệu quả rất thấp. Chính vì vậy, khi nghiên cứu về biện pháp không chế vi rút WSSV gây bệnh đốm trắng trên tôm, nhóm nghiên cứu của PGS.TS. Phan Tuấn Nghĩa, trường Đại học Khoa học tự nhiên, phối hợp cùng với Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản 1 đã sản xuất vắc xin dưới dạng Probiotics tái tổ hợp nhằm nâng cao hiệu quả bảo hộ đối với vi rút WSSV. Kết quả nghiên cứu bước đầu cho hiệu quả bảo hộ tôm chống lại vi rút WSSV ở qui mô pilot (Anh T. V. Nguyễn *et al.*, 2014).

Đặc biệt trong số các loại vắc xin được sản xuất trên thế giới, có một số loại vắc xin được sản xuất phù hợp cho đối tượng thủy sản nuôi ở nước ta, như vắc xin Alpha Ject® Panga 1 phòng bệnh gan thận mù trên cá tra của Công ty Phamarq (Na Uy); vắc xin AquaVac Strep Sa phòng bệnh do vi khuẩn *S. agalactiae* và vắc xin Norvax® Strep Si phòng bệnh do vi khuẩn *S. iniae* của Công ty TNHH InterVet Việt Nam. Vắc xin Alpha Ject® Panga 1 của Công ty Pharmaq đã được Cục Thú y công bố cấp phép lưu hành từ ngày 10/4/2013. Alpha Ject® Panga 1 là loại vắc xin cho cá đầu tiên được cấp phép ở Việt Nam. Vắc xin được dùng qua đường tiêm để phòng bệnh gan thận mù do vi khuẩn *E. ictaluri* gây ra trên cá tra (Theo *Tongcucthuysan.gov.vn*). Đối với vắc xin AquaVac Strep Sa và Norvax® Strep Si đã được khảo nghiệm trên cá chêm và cá điêu hồng ở Việt Nam cho hiệu quả bảo hộ tốt và hiện đang xin phép được lưu hành.

3.2.2. Một số tồn tại, hạn chế

Bên cạnh những thành tựu bước đầu đạt được nêu trên, nghiên cứu sản xuất vắc xin dùng trong thủy sản ở nước ta còn một số tồn tại, hạn chế sau:

Do đặc tính sinh học của nhóm giáp xác (bao gồm có tôm sú và tôm thẻ chân trắng là đối tượng nuôi chủ lực ở nước ta) không có hệ miễn dịch đặc hiệu hoặc có nhưng rất yếu nên hiệu quả sử dụng vắc xin phòng bệnh của chúng là rất kém, gần như không có hiệu quả. Do vậy, ở Việt Nam, cũng như

trên thế giới, chưa có vắc xin thương mại phòng bệnh cho tôm.

Do đặc thù nuôi trồng thủy sản ở nước ta chủ yếu là nuôi nông hộ, quy mô nhỏ lẻ (small-scale) nên đã ảnh hưởng rất lớn đến việc đưa vắc xin vào sử dụng và điều này đã ảnh hưởng đến việc nghiên cứu sản xuất vắc xin ở nước ta.

Các sản phẩm vắc xin tạo ra chủ yếu mới chỉ dừng lại ở nghiên cứu thử nghiệm ở quy mô phòng thí nghiệm, chưa được nâng tầm nghiên cứu thử nghiệm ở quy mô công nghiệp, đại trà (ngoại trừ vắc xin sản xuất cho cá rô phi do Công ty THUNAVET chủ trì). Do vậy chưa có vắc xin thủy sản thương mại do chính Việt Nam sản xuất ra được cấp phép lưu hành.

Cơ sở trang thiết bị phục vụ cho nghiên cứu sản xuất vắc xin còn chưa đồng bộ, trình độ chuyên môn (bề dày kinh nghiệm) trong nghiên cứu vắc xin thủy sản cũng hạn chế.

Thiếu sự liên kết phối hợp giữa các đơn vị nghiên cứu với các công ty/doanh nghiệp cũng như với các cơ sở nuôi để sản xuất vắc xin ở quy mô công nghiệp và thử nghiệm sản phẩm vắc xin ngoài thực địa.

4. ĐỀ XUẤT MỘT SỐ GIẢI PHÁP TRONG ỨNG DỤNG CNSH TRONG CHẨN ĐOÁN BỆNH VÀ PHÁT TRIỂN VẮC XIN THỦY SẢN

Trước thực trạng của việc nghiên cứu ứng dụng CNSH trong chẩn đoán và phát triển vắc xin phòng bệnh dùng trong thủy sản được nêu trên, trong thời gian tới những nghiên cứu thuộc lĩnh vực này nên được tập trung, chú trọng theo một số định hướng sau:

Các nghiên cứu về ứng dụng CNSH nên được tập trung vào giải quyết vấn đề kiểm soát và phòng bệnh cho một số đối tượng nuôi chủ lực theo định hướng tái cơ cấu của ngành và có khả năng nuôi công nghiệp như tôm nuôi nước lợ (tôm sú, tôm thẻ chân trắng), cá tra, cá rô phi và đối tượng nuôi biển.

Nghiên cứu ứng dụng sinh học phân tử trong việc phát triển phương pháp/kít chẩn đoán nhanh đối với một số bệnh nguy hiểm thường gặp trên một số đối tượng nuôi công nghiệp, phục vụ cho công tác sàng lọc bố mẹ trước khi sinh sản, sàng lọc nguồn con giống trước khi thả nuôi và kiểm dịch động vật thủy sản.

Nghiên cứu phát triển vắc xin phòng bệnh cần phát huy hơn nữa vai trò của kỹ thuật sinh học phân tử trong sản xuất vắc xin, đồng thời chú trọng

ên việc phát triển vắc xin đa giá do đối tượng thủy sản thường mắc nhiều hơn một bệnh ở cùng giai đoạn phát triển.

Tiếp cận nghiên cứu khoa học theo hướng hợp tác, phối hợp giữa các đơn vị nghiên cứu và giữa đơn vị nghiên cứu với công ty/đoanh nghiệp để nhanh chóng đưa sản phẩm/công trình nghiên cứu vào thực tiễn sản xuất.

Chú trọng việc phát triển nguồn nhân lực đi đôi với việc đầu tư, trang bị cơ sở hạ tầng và trang thiết bị phục vụ nghiên cứu, tránh đầu tư gián trải và lãng phí mà không có người sử dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Từ Thanh Dung, Nguyễn Ngọc, Nguyễn Quang Thịnh, Đoàn Thị Mai Thy, Crumlish, M. và Ferguson, H. W., 2003. Xác định vi khuẩn gây bệnh lởm trắng trên cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) nuôi thâm canh ở đồng bằng sông Cửu Long. Đại học Cần Thơ và Viện Thủy sản, Đại học Stirling.

2. Nguyễn Viết Dũng và ctv, 2010. Xây dựng quy trình và bộ sinh phẩm phát hiện WSSV bằng phương pháp LAMP và thăm dò sự hiện của vi rút Laem Sing gây bệnh chấm lớn ở tôm nuôi khu vực Nam bộ. Báo cáo tổng kết đề tài.

3. Nguyễn Viết Dũng và ctv, 2012. Nghiên cứu xây dựng quy trình chẩn đoán và chế tạo bộ kit phát hiện vi rút IMNV gây bệnh trên tôm Thẻ chân trắng (*Liptopenaeus vannamei*) và vi rút LSNV gây bệnh trên tôm Sú (*Penaeus monodon*). Báo cáo tổng kết đề tài.

4. Nguyễn Viết Khuê, Nguyễn Thị Hà, Trương Thị Mỹ Hạnh, Đồng Thanh Hà, Phạm Thành Đó, Bùi Ngọc Thanh, Nguyễn Thị Nguyễn, Nguyễn Thị Xuân, Phạm Thái Giang và Nguyễn Thị Thu Hà, 2009. Xác định nguyên nhân gây chết cá rô phi nuôi thương phẩm tại một số tỉnh miền Bắc. Báo cáo tổng kết nhiệm vụ.

5. Đặng Thị Lua và Phan Thị Vân, 2014. Ứng dụng sinh học phân tử trong định danh tác nhân vi rút gây bệnh đen thân trên cá rô đồng (*Anabas testudineus*). Tạp chí NN và PTNT, 15(1)/2014: 95-100.

6. Đặng Thị Lua, Phạm Thị Yến, Mai Thị Phương, Nguyễn Thị Minh Thủy, Đào Xuân Trường, Nguyễn Thị Là, Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Nguyễn

Thị Nguyên, Lê Thị Máy, Phan Thị Vân và Ngô Thị Ngọc Thủy, 2014. Nghiên cứu bệnh đen thân trên cá rô đồng nuôi thâm canh và các biện pháp phòng trị. Báo cáo tổng kết đề tài.

7. Võ Văn Nha và ctv, 2013. Nghiên cứu tạo dòng vi khuẩn nhước độc dùng làm vắc xin phòng bệnh gan thận mù cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bằng kỹ thuật gây đột biến gen. Báo cáo tổng kết đề tài.

8. Lê Hồng Phước và ctv, 2012. Nâng cao hiệu quả sử dụng vắc xin bất hoạt thông qua sốc nhiệt protein trong vắc xin. Báo cáo tổng kết đề tài.

9. Phạm Thị Tâm và ctv, 2015. Nghiên cứu phương pháp phát hiện vi rút gây bệnh và sản xuất vắc xin phòng bệnh hoại tử thần kinh (VNN) cho cá mú nuôi. Báo cáo tổng kết đề tài.

10. *Tongcucthuysan.gov.vn*. Đồng bằng sông Cửu Long: Tiêm vắc xin phòng bệnh cho cá tra.

11. Nguyễn Mạnh Thắng, Nguyễn Diễm Thu, Nguyễn Thị Mộng Hoàng, Nguyễn Thị Hiền, Nguyễn Thị Hồng Vân và Hoàng Thanh Lịch, 2009. Nghiên cứu vắc xin phòng bệnh nhiễm khuẩn cho cá tra, cá basa, cá mú, cá giò và cá hồng mỹ nuôi công nghiệp. Báo cáo tổng kết đề tài.

12. Cao Thành Trung và ctv, 2014. Nghiên cứu vi rút gây bệnh hoại tử cơ quan tạo máu và cơ quan phân lập biểu mô (IHNV) trên tôm sú nuôi tại khu vực đồng bằng sông Cửu Long và giải pháp hạn chế sự lây lan. Báo cáo tổng kết đề tài.

13. Nguyễn Thị Trung, Nguyễn Thanh Thủy, Trương Nam Hải, Nguyễn Hoàng Uyên, Lê Thị Thu Hồng, Đỗ Thị Huyền, Nguyễn Thị Quý và Trần Ngọc Tân, 2012. Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật LAMP xác định vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan thận mù trên cá tra. Báo cáo tổng kết đề tài.

14. Nguyễn Hoàng Uyên và ctv, 2011. Nghiên cứu phát triển phương pháp PCR với tổ hợp mới chế tạo bộ kit phát hiện sớm một số vi rút gây bệnh nguy hiểm ở cá biển, cá cảnh. Báo cáo tổng kết đề tài. Nguyễn Hữu Vũ và ctv, 2014. Nghiên cứu phương pháp chẩn đoán và chế tạo vắc xin phòng bệnh *Streptococcus* trên cá rô phi ở Việt Nam. Báo cáo tổng kết đề tài.

15. Phan Thị Vân và ctv, 2006. Nghiên cứu tác nhân gây bệnh phổ biến đối với cá mú, cá giò nuôi và

đề xuất cả giải pháp phòng trị bệnh. Báo cáo tổng kết đề tài.

16. Phan Thi Van và ctv, 2013. Nghiên cứu và phát triển vắc xin vô hoạt phòng bệnh *Vibriosis* cho cá giò (*Rachycentron canadum*) nuôi. Báo cáo tổng kết đề tài.

17. Adams, A., Aoki T., Berthe, F. C. J., Grisez, L. and Karunasagar, L., 2008. Recent Technological Advancements on Aquatic Animal Health and Their Contributions Toward Reducing Disease Risks - a Review: 71-88. In Bondad-Reantaso, M. G., Mohan, C. V., Crumlish, Margaret and Subasinghe, R. P. (eds.), Diseases in Asian Aquaculture VI. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 505 pp.

18. Anh T. V. Nguyen, Cuong K. Pham, Huong T. T. Pham, Hang L. Pham, Anh H. Nguyen, Lua T. Dang, Hong A. Huynh, Simon M. Cutting & Tuan-

Nghia Phan, 2014. *Bacillus subtilis* spores expressing the VP28 antigen: A potential oral treatment to protect *Litopenaeus vannamei* against white spot syndrome. FEMS Microbiol Lett 358 (2014): 202-208

19. Gravningen, K. and Berntsen, J. O., 2008. Fish vaccination: success with salmon expanding to other marine species. Global Aquaculture advocate: 106-108.

20. Gudding, R. and Muiswinkel, W. B., 2013. A history of fish vaccination: Science-based disease prevention in aquaculture. Fish and Shellfish Immunology, 35 (6): 1683 - 1688.

21. Kumar, V., Roy, S., Barman, D., and Kumar, A., 2014. Immunoserological and molecular techniques used in fish disease diagnosis- A mini review International Journal of Fisheries and Aquatic Studies 1(3):111-117.

APPLICATIONS OF BIOTECHNOLOGY IN DIAGNOSTICS AND VACCINATION IN AQUACULTURE: CURRENT STATUS AND SUGGESTION

Dang Thi Lua, Phan Thi Van

Summary

Biotechnology has been considered as a powerful research tools which have assumed greatest importance for the sustainable development of aquaculture, not only in terms of diagnostics but also in terms of vaccination. Biotechnology allows scientists to develop rapid method/kit for detection of aquatic animal pathogens as well as to develop potential vaccines against aquatic bacteria and viruses. This paper briefly reported the current status/progress of biotechnology in development of PCR, RT-PCR, Multiplex-PCR and LAMP kits for detection of aquatic animal diseases and the current status of biotechnology in development of killed- and subunit- vaccines for prevention of fish bacterial and viral diseases in Vietnam. The paper also mentioned some limitation of application of biotechnological tools in these research fields and following that some research orientations could be proposed.

Key words: Aquaculture, aquatic animal, biotechnology, diagnostics, vaccine, vaccination.

Người phản biện: PGS.TS. Nguyễn Việt Khổng

Ngày nhận bài: 22/6/2015

Ngày thông qua phản biện: 22/7/2015

Ngày duyệt đăng: 29/7/2015