

Hiệu quả của vắc xin bất hoạt phòng ngừa bệnh gan thận mù do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây ra trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*)

Bùi Thị Thanh Tịnh^{1*}, Nguyễn Hoàng Thụy Vy¹, Ngô Huỳnh Phương Thảo¹, Phạm Thiên Hải², Ngô Thanh Thảo²

¹Trung tâm Công nghệ Sinh học, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Đại học Nông Lâm TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

*btthanhtinh@gmail.com

Tóm tắt

Hiện nay, vắc xin hiện nay được xem như một phương pháp hiệu quả và an toàn để thay thế kháng sinh trong phòng bệnh gan thận mù trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây ra. Trung tâm Công nghệ Sinh học TP Hồ Chí Minh đã có nhiều nghiên cứu về vắc xin nhược độc và đã tạo ra chủng vi khuẩn *E. ictaluri* nhược độc đột biến gen wzz (W), đột biến 2 gen wzz và aroA (WA) có hiệu quả bảo vệ cao. Để đảm bảo an toàn sinh học khi ứng dụng vắc xin trong Thủy sản, các chủng vi khuẩn này được bất hoạt bằng formalin và được thử nghiệm hiệu quả bảo vệ bằng phương pháp ngâm. Kết quả cho thấy, khi sử dụng chủng vắc xin nhược độc bất hoạt *E. ictaluri* WA (đột biến 2 gen wzz và aroA) xử lý cá tra theo phương pháp ngâm thì tỷ lệ sống tương đối RPS của cá có thể đạt đến 94 % sau khi công độc. Từ đó cho thấy, chủng vắc xin WA nhược độc bất hoạt là chủng có tiềm năng để sử dụng phòng bệnh gan thận mù cho cá tra.

Nhận 12/07/2025

Được duyệt 01/08/2025

Công bố 28/09/2025

Từ khóa

bệnh gan thận mù, cá tra, tỷ lệ sống tương đối (RPS), vắc xin bất hoạt, vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*

© 2025 Journal of Science and Technology - NTTU

1. Đặt vấn đề

Việc phòng ngừa bệnh gan thận mù do vi khuẩn *E. ictaluri* gây ra trên cá tra chủ yếu dựa vào việc sử dụng thuốc hóa học hay kháng sinh. Điều này dẫn đến vi khuẩn *E. ictaluri* đa số kháng với streptomycin (83 % chủng vi khuẩn), oxytetracycline (81 %), trimethoprim (71 %) và kháng với nhóm quinolone như: flumequin (8 %), oxolinic acid (6 %) và enrofloxacin (5 %). Trong khi đó, hầu hết vi khuẩn đã kháng thuốc tự nhiên đối với kháng sinh colistin (polypeptide) [1]. Ngoài ra, việc tồn dư dư lượng kháng sinh trong sản phẩm cá tra xuất khẩu cũng là một rào cản đối với xuất khẩu cá tra Việt Nam và ảnh hưởng sức khỏe người sử dụng các sản phẩm từ cá. Vì vậy, việc sử dụng vắc xin để hạn chế dịch bệnh là vấn đề hết sức cấp thiết.

Hiện nay, việc tạo chủng vi khuẩn 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 (bất hoạt gen). Trong đó, phương pháp bất hoạt gen là một phương pháp rất hữu dụng 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. Theo Bastin et al. (1993), gen wzz điều hòa sự hình thành chiều dài đặc trưng của chuỗi O antigen [2]. Các nghiên cứu khác cho thấy chủng đột biến gen wzz ở các loài vi khuẩn

Pseudomonas aeruginosa, *Yersinia enterocolitica* có độc lực thấp hơn so với chủng hoang dại (Burrows et al., 1997; Najdenski et al., 2003) [3, 4].

Ngoài ra, gen aro có vai trò chủ đạo trong quy trình sinh tổng hợp các amino acid nhân thơm (shikimate pathway). Gen mục tiêu phổ biến nhất được quan tâm là aroA, mã hóa enzyme 5-enolpyruvoylshikimate-3-phosphate synthase. Các trình tự gen aroA của một số tác nhân vi khuẩn gây bệnh Gram âm đã được công bố, và đột biến gen aroA đã chứng minh là có hiệu quả trong ứng dụng vắc xin.

Chính vì vậy, Phòng Công nghệ Sinh học Thủy Sản tại trung tâm Công nghệ Sinh học TP Hồ Chí Minh đã tạo thành công các chủng *E. ictaluri* nhược độc: chủng *E. ictaluri* đột biến gen wzz (chủng W), chủng *E. ictaluri* đột biến gen wzz và aroA (chủng WA) từ chủng *E. ictaluri* hoang dại cho hiệu quả bảo hộ cao, an toàn cho cá. Trong đó, chủng W đã được cấp bằng sáng chế độc quyền (số 14407 cấp ngày 04/08/2015), chủng WA đã được chấp nhận đơn hợp lệ số 76373/QĐ-SHTT ngày 06/08/2018 đang trong tiến trình xét duyệt và cấp bằng sáng chế độc quyền. Tuy nhiên những loại vắc xin nhược độc trên vẫn chưa được cấp phép để sản xuất thương mại do nghi ngại về các vấn đề an toàn sinh học như khả năng hoàn độc của các chủng khi vào môi trường tự nhiên.



Hiện tại, trên thị Việt Nam đã có vắc xin ALPHA JECT®Panga 1 phòng bệnh gan thận mù trên cá tra do công ty dược phẩm thủy sản PHARMAQ của Na Uy sản xuất. Vắc xin ALPHA JECT®Panga 1 là vắc xin bất hoạt hoàn toàn an toàn cho cá cũng như môi trường tự nhiên. Tuy nhiên nhược điểm lớn nhất của vắc xin ALPHA JECT®Panga 1 là được sử dụng bằng phương pháp tiêm trên cá tra gây tốn nhiều thời gian và dễ làm cho cá bị stress. Do đó, vấn đề cấp thiết hiện nay là tìm được những loại vắc xin chết hoặc bất hoạt có thể sử dụng bằng phương pháp ngâm hoặc cho ăn với hiệu quả bảo vệ tương đương so với các chủng vắc xin nhược độc khác, góp phần thúc đẩy quá trình thương mại các chủng vắc xin này giúp người nông dân giải quyết vấn đề bệnh gan thận mù trên cá tra.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Chủng vi khuẩn *E. ictaluri* hoang dại 5H được phân lập từ mẫu cá tra bệnh tại huyện Cồn Tròn, tỉnh Tiền Giang vào năm 2015. Chủng vi khuẩn *E. ictaluri* đột biến gen wzz (W) được tạo ra từ chủng *E. ictaluri* được phân lập tại tỉnh An Giang và được cấp bằng độc quyền sáng chế (số 14407 cấp ngày 04/8/2015). Chủng vắc xin nhược độc *E. ictaluri* WA có nguồn gốc từ chủng hoang dại phân lập tại Tiền Giang (phân lập năm 2015) đột biến gen wzz và aroA đã được chấp nhận đơn hợp lệ số 76373/QĐ-SHTT ngày 06/08/2018.

Cá thí nghiệm: cá bột được mua từ các trại sản xuất cá tra giống, sau đó được nuôi trong bể composite 500 lít tại phòng thí nghiệm Trung tâm Công nghệ sinh học TP. HCM. Cá được tiếp tục ương dưỡng thành cá tra giống 3 tháng tuổi để sử dụng cho các thí nghiệm.

Cặp mồi đặc hiệu cho chủng vi khuẩn *E. ictaluri* với sản phẩm khuếch đại 191 bp có trình tự F2SerC: 5'-TCTGGTTCTGGCCGAATATGGACTC - 3' và R2A serC: 5'-CGTAATCAAACCAACACCGGGTATT - 3'. Cặp mồi FUwzz/RDwzz khuếch đại 2 đầu phía ngoài gen wzz của *E. ictaluri* đột biến với sản phẩm khuếch đại 886 bp có trình tự Fuwzz: 5' - AAGGTACCGTACCCTGATCGGCTTTACC - 3' và RDwzz: 5' - AATCTAGAACCGGAATTCGCTGGTAAAA - 3'. Cặp mồi Fcyki/Rhypo khuếch đại 2 đầu phía ngoài gen aroA của *E. ictaluri* đột biến sản phẩm khuếch đại 1194 bp có trình tự Fcyki: 5' - AAGAATTCAGTGTGCGGACGGTTTC - 3' và Rhypo: 5' - AAGTCGACTTTTTTATCAGAGTTTGGGATC- 3'

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 Tạo vắc xin bất hoạt từ các chủng *E. ictaluri*

Trước khi tạo vắc xin bất hoạt, các chủng vi khuẩn giống

bao gồm: chủng *E. ictaluri* hoang dại 5H, chủng *E. ictaluri* đột biến gen wzz (W) và chủng *E. ictaluri* đột biến gen wzz và aroA (WA) giữ trong tủ âm 80 °C được kiểm tra nhiễm bằng cách trải trên môi trường BHI agar ủ ở 28 °C trong 24 giờ và được kiểm tra chính xác chủng bằng cách cấy ria trên môi trường BHI agar và ủ ở 28 °C trong 48-72 giờ để được khuẩn lạc đơn. Sau đó, thực hiện PCR các khuẩn lạc này với cặp mồi FserC/RserC đặc hiệu cho chủng hoang dại, FUwzz/RDwzz đối với chủng W và cặp primer đặc hiệu Fcyki/Rhypo đối với chủng WA.

Quy trình tạo vắc xin bất hoạt được thực hiện như sau: Các khuẩn lạc sau khi đã kiểm tra được tăng sinh trong 15 mL môi trường BHI lỏng (BHI broth) và được nuôi cấy qua đêm ở điều kiện lắc 250 vòng/phút ở 28 °C trong 24 giờ. Sau đó, 15 mL dịch nuôi cấy được chuyển vào 250 mL BHI broth và lắc ở điều kiện như trên. Dịch nuôi cấy được ly tâm ở 2000 g trong 20 phút ở 4 °C để loại bỏ dịch nổi thu sinh khối và được rửa hai lần bằng dung dịch PBS 1X nhằm loại bỏ hoàn toàn môi trường nuôi cấy.

Tiếp theo, sinh khối vi khuẩn được bất hoạt bằng dung dịch formalin 40 % với thể tích bằng 1,25 % thể tích dịch vi khuẩn và được khuấy trong 72 giờ bằng máy khuấy từ ở 4 °C. Sau đó được trung hòa bằng dung dịch sodium metabisulphite 15 % với thể tích bằng 1 % thể tích dịch vi khuẩn và tiếp tục được khuấy với điều kiện như trên. Sau thời gian khuấy, dịch vi khuẩn được rửa hai lần bằng dung dịch PBS 1X và được pha loãng đến OD₆₀₀ ~ 1,1 (mật độ vi khuẩn tương đương 10⁹ CFU/mL).

Khả năng sống của vi khuẩn sau khi bất hoạt được kiểm tra bằng cách nuôi cấy trên đĩa thạch BHI agar, ủ ở 28 °C trong 24 giờ. Vắc xin bất hoạt đạt yêu cầu được bảo quản ở 4 °C cho đến khi sử dụng.

2.2.2. Đánh giá hiệu quả bảo vệ của các loại vắc xin

Theo kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả Bùi Thị Thanh Tịnh và ctv (2018), chủng *E. ictaluri* đột biến gen wzz (W) nhược độc cho hiệu quả bảo hộ tốt nhất ở nồng độ 10⁷ CFU/mL trên cá tra giống khi ngâm một lần với hiệu quả bảo hộ RPS là 65 % (vượt ngưỡng 60 %) [5]. Do đó, tiến hành đánh giá hiệu quả bảo vệ của các loại vắc xin trong nghiên cứu này ở nồng độ duy nhất là 10⁷ CFU/mL

Trước khi tiến hành thí nghiệm, cá được chuyển vào các bể composite 60 lít thuần dưỡng trong vòng 1 tuần để ổn định sức khỏe. Cá giống (20 con/nghiệm thức) được vớt ra xô 10 lít để ngâm lần lượt với các loại vắc xin trong thời gian 30 phút, ở nhiệt độ từ 24-26 °C, mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần (Bảng 1). Sau khi ngâm, cá được đưa

trở lại bể nuôi 60 lít và theo dõi, ghi nhận biểu hiện triệu chứng và tỷ lệ chết trong vòng 21 ngày.

Sau 21 ngày theo dõi, cá tra được vớt ra xô 10 lít và được ngâm với chủng hoang dại 5H ở mật độ LD₅₀ trong vòng 30 phút ở nhiệt độ 24–26 °C (Bảng 1), mỗi nghiệm thức lặp lại 3 lần. Sau đó, cá được chuyển trở lại bể 60 lít và theo dõi trong 14 ngày. Số cá chết và các biểu hiện triệu chứng bệnh gan thận mũ được ghi nhận hàng ngày. Mẫu cá chết trong thử nghiệm được mổ lấy gan và thận, dịch

gan thận được cấy phân lập vi khuẩn trên môi trường BHI, ủ ở 28 °C trong 48 giờ. Các khuẩn lạc phát triển được định danh bằng kỹ thuật PCR với cặp mồi đặc hiệu F2SerC/R2SerC cho kích thước 191 bp. Hiệu quả bảo vệ được xác định thông qua tỷ lệ sống tương đối RPS (Relative percentage survival) theo công thức Amend (1981) [6]:

$RPS (\%) = [1 - \text{tỷ lệ cá chết do chủng thử nghiệm/tỷ lệ cá chết ở nghiệm thức đối chứng}] \times 100.$

Bảng 1. Nghiệm thức đánh giá hiệu quả bảo vệ của một số loại vắc xin trên cá tra giống bằng phương pháp ngâm

Nghiệm thức	Mật độ ngâm vắc xin (CFU/mL)	Mật độ chủng hoang dại 5H (CFU/mL)
5H - BH	10 ⁷	LD ₅₀
W - BH	10 ⁷	LD ₅₀
WA - BH	10 ⁷	LD ₅₀
ĐC (+)	Không ngâm	LD ₅₀
ĐC (-)	Không ngâm	Không ngâm

2.3. Phân tích thống kê

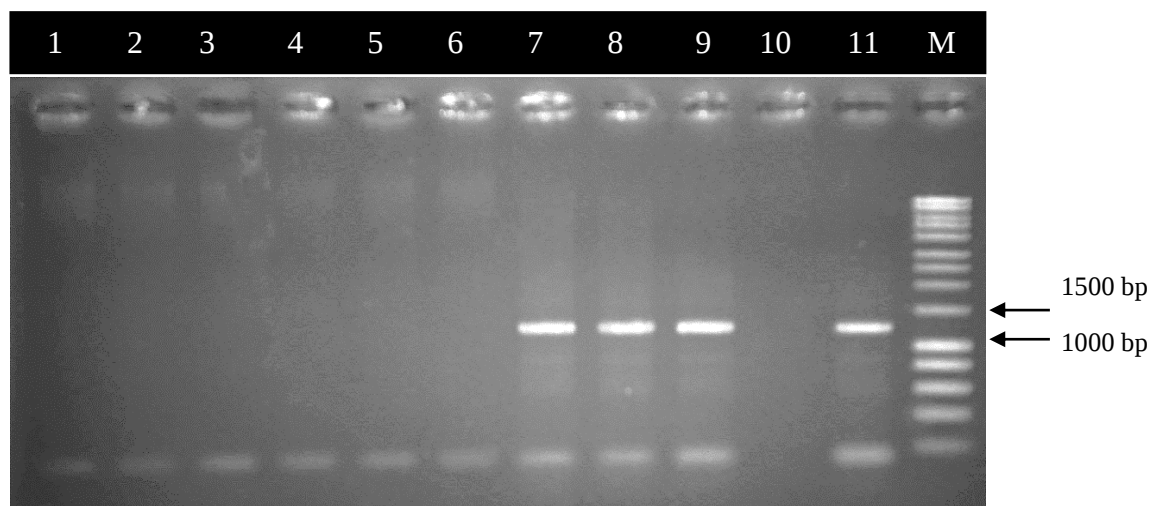
Tất cả các số liệu thí nghiệm được xử lý thống kê bằng phần mềm GraphPad Prism version 8 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Phân tích phương sai (one-way ANOVA) một nhân tố để so sánh sự khác biệt giữa các nghiệm thức. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định thông qua giá trị $p < 0,05$.

3. Kết quả và thảo luận

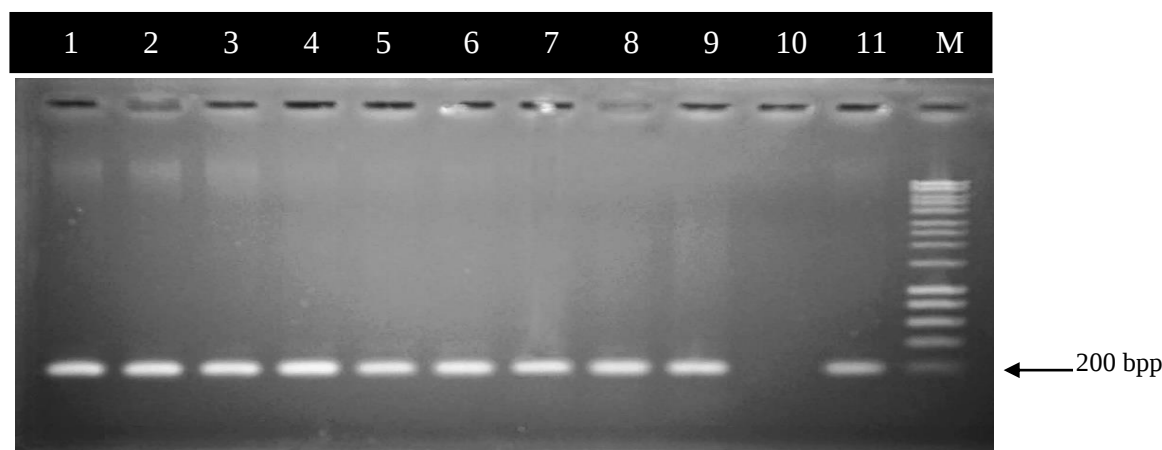
3.1. Tạo vắc xin bất hoạt từ các chủng *E. ictaluri*

Kết quả kiểm tra nhiễm tạp các chủng giống vi khuẩn *E. ictaluri* bảo quản ở -80 °C bằng phương pháp cấy trải trên môi trường BHI agar sau khi ủ ở 28 °C sau 24 giờ, không thấy xuất hiện khuẩn lạc hay nấm mốc chứng tỏ chủng giống không bị nhiễm. Các khuẩn lạc của các chủng vi khuẩn sau khi mọc trên môi trường BHI agar sẽ được kiểm tra bằng PCR với các cặp mồi (primer) đặc hiệu. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,2 % và đọc kết quả bằng máy chụp ảnh gel UVP GelDoc-

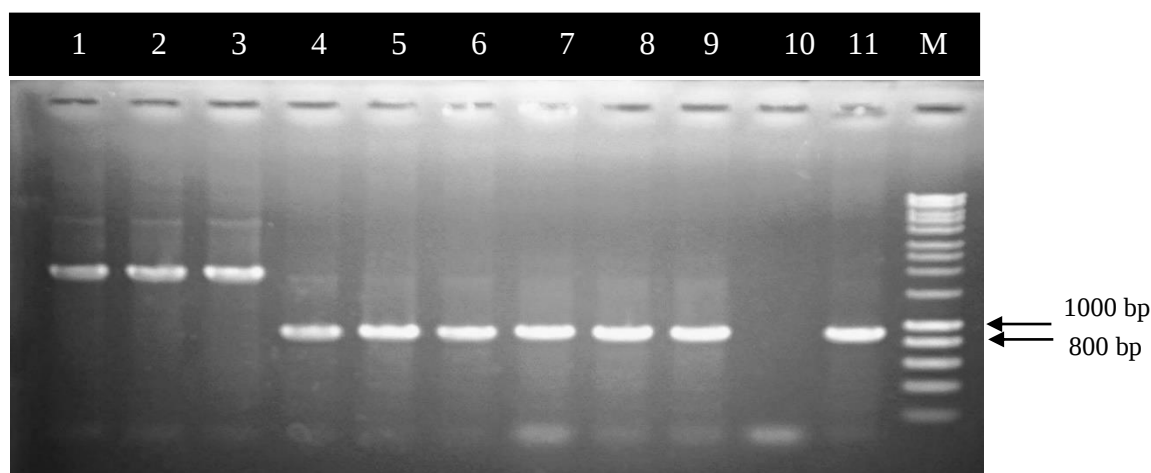
It² Imager liên kết với máy tính. Kết quả điện di sản phẩm PCR với cặp mồi FserC/RserC cho thấy, các khuẩn lạc nghi ngờ đều cho kích thước khoảng 200 bp tương đương dương với mẫu chứng dương kích thước 191 bp (Hình 1). Như vậy chứng tỏ, các khuẩn lạc này đều là vi khuẩn *E. ictaluri*. Kết quả tương tự khi điện di sản phẩm PCR với cặp mồi FUwzz/RDwzz, các khuẩn lạc nghi ngờ là chủng hoang dại đều cho kích thước 1500 bp, trong khi các khuẩn lạc đột biến gen đều cho sản phẩm có kích thước 886 bp, trùng với kích thước của mẫu đối chứng dương (Hình 2). Khi điện di sản phẩm PCR với cặp mồi Fciky/Rhypo để khuếch đại đoạn gen ngoài gen *aroA*, thì các khuẩn lạc hoang dại và đột biến một gen không xuất hiện vạch sáng ở giếng trong khi các khuẩn lạc nghi ngờ WA xuất hiện vạch và trùng với kích thước chứng dương là 1194 bp (Hình 3). Như vậy, chủng được kiểm tra được khẳng định là chủng WA.



Hình 1. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuẩn lạc *E. ictaluri* với cặp primer Fciky/Rhypo. Giếng 1 - 3: DNA khuẩn lạc các chủng *E. ictaluri* hoang dại 5H; Giếng 4 - 6: DNA khuẩn lạc các chủng W; Giếng 7 - 9: DNA khuẩn lạc các chủng WA; Giếng 10: Chứng âm; Giếng 11: Chứng dương; M: Thang DNA 1 kb



Hình 2. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuẩn lạc *E. ictaluri* với cặp primer đặc hiệu FserC/RserC. Giếng 1 - 3: DNA khuẩn lạc các chủng *E. ictaluri* hoang dại 5H; Giếng 4 - 6: DNA khuẩn lạc các chủng W; Giếng 7 - 9: DNA khuẩn lạc các chủng WA; Giếng 10: Chứng âm; Giếng 11: Chứng dương; M: Thang DNA 1 kb



Hình 3. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuẩn lạc *E. ictaluri* với cặp primer FUwzz/RDwzz. Giếng 1 - 3: DNA khuẩn lạc các chủng *E. ictaluri* hoang dại 5H; Giếng 4 - 6: DNA khuẩn lạc các chủng W; Giếng 7 - 9: DNA khuẩn lạc các chủng WA; Giếng 10: Chứng âm; Giếng 11: Chứng dương; M: Thang DNA 1 kb

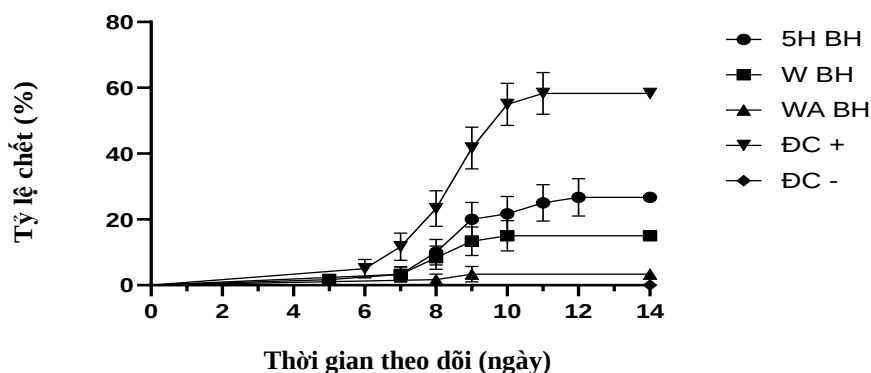
Các chủng vi khuẩn sau khi bất hoạt bằng formalin sẽ được kiểm tra nhiễm tạp và được bảo quản ở nhiệt độ 4 °C. Vắc xin bất hoạt từ các chủng *E. ictaluri* thu được có dạng màu trắng đục, kết quả kiểm tra trải nhiễm trên môi trường BHI agar ủ ở 28 °C trong 24-48 giờ hoàn toàn không có vi khuẩn, nấm mốc phát triển. Như vậy, vắc xin bất hoạt đáp ứng được “Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về thuốc Thú Y” (QCVN: 2016/BNN) [7].

3.2. Hiệu quả bảo vệ của các loại vắc xin bất hoạt

Sau khi cá ra giống được ngâm với các loại vắc xin bất hoạt (W - BH, WA - BH, 5H - BH) và theo dõi trong 21 ngày, không thấy cá chết ở các nghiệm thức. Điều này

chứng tỏ, các vắc xin bất hoạt tạo từ các chủng *E. ictaluri* đều an toàn đối với cá tra.

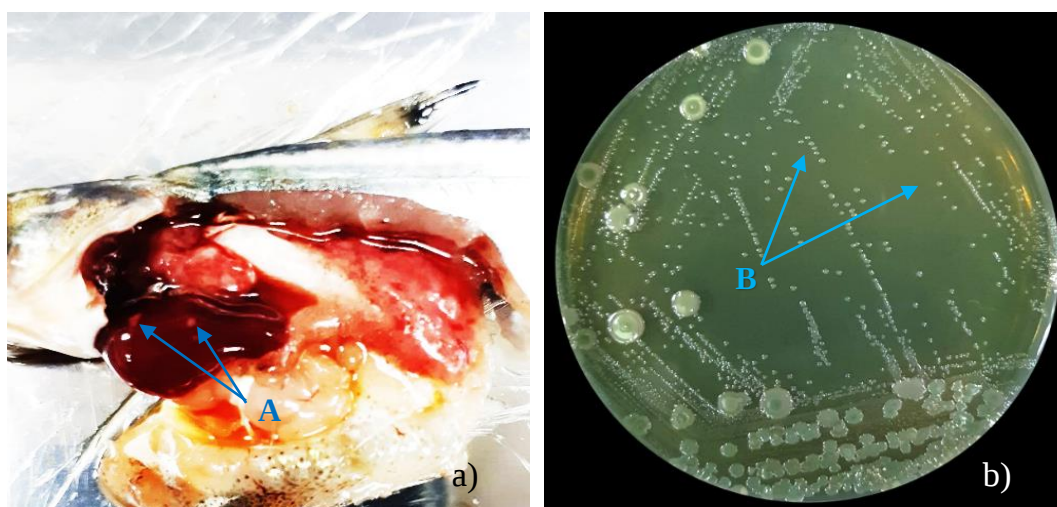
Trong thử nghiệm công độc với chủng hoang dại 5H với mật độ LD₅₀ (10⁶ CFU/mL), sau 14 ngày theo dõi, cá bắt đầu chết từ ngày thứ 5 và kéo dài đến ngày thứ 12 cá bắt đầu ngừng chết. Tỷ lệ cá chết ở các nghiệm thức được trình bày ở Bảng 2 (p < 0,0001). Cá chết được mổ khám, quan sát gan, thận có biểu hiện bệnh lý đặc trưng của *E. ictaluri* như gan có xuất hiện đốm trắng (Hình 5). Kết quả PCR từ các khuẩn lạc phân lập ở 5 mẫu cá chết cho sản phẩm khếch đại có kích thước 191 bp, tương ứng với kích thước đặc trưng của *E. ictaluri* hoang dại (Hình 6).



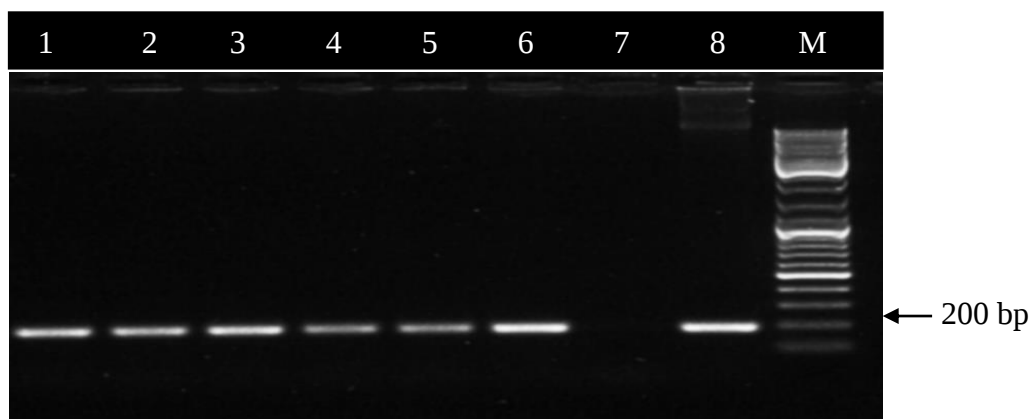
Hình 4. Tỷ lệ cá chết tích lũy theo ngày sau khi công độc với chủng *E. ictaluri* 5H hoang dại

Bảng 2. Tỷ lệ cá chết và hiệu quả bảo vệ của các vắc xin bất hoạt trên cá tra giống

Nghiệm thức	Tỷ lệ cá chết (%) của cá giống ± SD	RPS (%)
5H - BH	(26,67 ± 7,64)**	54
W - BH	(15,00 ± 5,00)***	74
WA - BH	(3,33 ± 2,89)****	94
ĐC (+)	(58,33 ± 12,58)	-
ĐC (-)	(0,00 ± 0,00)	-



Hình 5. Biểu hiện cá tra sau khi công độc với chủng *E. ictaluri* hoang dại 5H. (a) Gan cá có nhiều đốm trắng; (b) Khuẩn lạc phân lập từ mẫu cá chết trên môi trường EIM; A: Đốm trắng trên gan cá tra sau khi công độc; B: Khuẩn lạc chủng *E. ictaluri* hoang dại 5H.



Hình 6. Kết quả điện di sản phẩm PCR khuẩn lạc phân lập từ mẫu cá chết. Giếng 1 - 6: Lần lượt là DNA khuẩn lạc phân lập từ mẫu cá chết ở NT1; NT2; NT3; NT4; NT5; NT6; Giếng 7: Chứng âm; Giếng 8: Chứng dương; M: Thang DNA 1 kb.

Từ kết quả trên cho thấy, vắc xin bất hoạt từ chủng WA cho hiệu quả bảo vệ cao nhất với tỷ lệ sống tương đối RPS là 94 %, tiếp theo là chủng vắc xin bất hoạt từ chủng W với tỷ lệ bảo hộ là 74 %, và vắc xin bất hoạt từ chủng hoang dại 5H cho tỷ lệ bảo hộ thấp nhất là 54 %.

Khi so sánh kết quả nghiên cứu với kết quả của các nghiên cứu trong và ngoài nước đều có sự tương đồng. Đối với vắc xin bất hoạt từ chủng *E. ictaluri* hoang dại 5H cho hiệu quả bảo hộ là 54 %, kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu thu được từ nhóm tác giả Plumb và ctv (1995) khi ngâm cá tra với số lần tăng dần (một lần, hai lần và ba lần) với chủng *E. ictaluri* được bất hoạt bằng formalin cho tỷ lệ sống lần lượt là 56,7; 64,2 và 68,8 % so với đối chứng là 43,6 % [8].

Theo kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả Bùi Thị Thanh Tịnh và ctv (2018), khi ngâm cá tra giống với chủng W nhược độc ở nồng độ 10^7 CFU/mL và công độc với chủng *E. ictaluri* hoang dại 5H ở liều LD_{50} cho hiệu quả bảo hộ RPS là 65 %. Và theo kết quả của đơn đăng ký giải pháp hữu ích (số đơn 2-202-00367)), khi ngâm cá tra giống một lần với chủng WA nhược độc ở nồng độ 10^7 CFU/mL và công độc với chủng *E. ictaluri* hoang dại 5H ở liều LD_{50} cho hiệu quả bảo hộ RPS là 65,6 % [9]. Như vậy, vắc xin bất hoạt từ các chủng nhược độc (chủng W và chủng WA) cho hiệu quả bảo hộ tốt nhất. Trong đó, hiệu quả bảo hộ của vắc xin bất hoạt từ chủng W và chủng WA vượt trội hơn so với các loại vắc xin còn lại với tỷ lệ bảo hộ RPS lên đến 74 % và 94 %.

Hiện nay, trên thế giới chưa có bất kỳ nghiên cứu liên quan được công bố đến hiệu quả bảo hộ của các chủng vắc xin bất hoạt tạo từ các chủng nhược độc trên động vật thủy sản. Chỉ nhóm tác giả Mark Liles và cộng sự đã báo cáo nghiên cứu về vắc xin *Aeromonas hydrophila* tái tổ hợp bất hoạt tại Trung tâm CNSH Thành phố HCM vào năm 2019 và cho kết quả tương tự trên cá nheo (*Ictalurus punctatus*). Tuy nhiên, kết quả này vẫn chưa

được nhóm công bố. Do đó, cần thêm thời gian và các công trình nghiên cứu chuyên sâu để làm rõ cơ chế và xác nhận tính ổn định của hiệu quả này.

Trong thực tế, bệnh gan thận mủ xuất hiện ở tất cả các giai đoạn phát triển của cá tra. Do đó, vấn đề sử dụng vắc xin WA – BH ở tất cả các giai đoạn phát triển của cá là cấp thiết. Đối với cá tra bột và cá hương, vắc xin sử dụng bằng phương pháp tiêm hoặc cho ăn là không hiệu quả vì giai đoạn này cá còn rất nhỏ, nguồn thức ăn chính là các sinh vật phù du, rong, rêu trong tự nhiên; giai đoạn này cá dễ ảnh hưởng bởi các tác nhân ngoại lực. Vì vậy ở giai đoạn cá tra bột và cá hương vắc xin WA - BH được sử dụng như một loại vắc xin ngâm, giúp giảm tác động đến cá đồng thời đối với phương pháp ngâm giúp cá hấp thu vắc xin được đồng đều hơn. Đối với giai đoạn cá Tra giống về sau, vắc xin được sử dụng bằng phương pháp ngâm, tiêm và cho ăn đều cho hiệu quả. Tuy nhiên, mỗi phương pháp có ưu và nhược điểm riêng. Nếu sử dụng phương pháp ngâm sẽ tốn lượng vắc xin lớn. Đối với phương pháp tiêm cần nguồn nhân lực lớn, có kinh nghiệm và kiến thức chuyên môn, đồng thời phương pháp tiêm dễ làm cá bị stress hoặc chết do vết thương để lại trong quá trình tiêm - đây chính là nhược điểm lớn nhất của các loại vắc xin bất hoạt trên thị trường thuốc Thú y tại Việt Nam. Mặt khác, các loại vắc xin bất hoạt trên thị trường chỉ cung cấp cho các trang trại sản xuất cá tra giống công nghệ cao, chưa đáp ứng được nhu cầu thực tế của người nuôi cá tra thương phẩm. Do đó, ở giai đoạn cá tra giống và cá lớn vắc xin được sử dụng bằng phương pháp cho ăn sẽ giúp tiết kiệm thời gian, nguồn nhân công và dễ áp dụng khi nuôi ngoài đồng ruộng.

4. Kết luận và đề xuất

Vắc xin bất hoạt từ chủng *E. ictaluri* bằng formalin có màu trắng đục, hoàn toàn không có vi khuẩn, nấm mốc

phát triển đáp ứng được “Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về thuốc Thú Y” (QCVN: 2016/BNN).

Vắc xin bất hoạt từ chủng *E. ictaluri* khi xử lý bằng phương pháp ngâm ở nồng độ 10^7 CFU/mL trong 30 phút an toàn cho cá và đều cho hiệu quả bảo vệ cao trên cá, trong đó chủng vi khuẩn *E. ictaluri* đột biến 2 gen cho hiệu quả bảo vệ cao nhất (RPS=94 %). Kết quả này chứng tỏ chủng *E. ictaluri* đột biến 2 gen WA hoàn toàn có tiềm năng làm vắc xin giúp phòng bệnh gan thận mủ cho cá tra.

Để tối ưu hiệu quả phòng bệnh gan thận mủ cần khảo sát thêm nồng độ và cách thức cho ăn vắc xin WA BH, đồng

thời thử nghiệm và đưa ra quy trình sử dụng kết hợp giữa vắc xin và probiotic trong quy trình ương nuôi cá tra từ giai đoạn cá bột đến khi thu hoạch cá giống. Quy trình bao gồm sản phẩm probiotic có khả năng ức chế quá trình sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn gây bệnh trong môi trường ao nuôi để giảm bớt hoặc loại bỏ hoàn toàn vi khuẩn gây bệnh, cải thiện môi trường nuôi, đồng thời sản phẩm vắc xin sẽ hỗ trợ tăng đề kháng cho cá tra trong suốt quá trình nuôi.

Lời cảm ơn

Kinh phí thực hiện nghiên cứu này được cung cấp bởi Trung tâm Công nghệ Sinh học TP HCM

Tài liệu tham khảo

1. T.T. Dung, F. Haesebrouck, P. Sorgeloos, M. Baele, A. Decostere, & N.A. Tuấn, (2010). Hiện trạng kháng thuốc kháng sinh trên vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan, thận mủ trên các tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) ở Đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ* 15a, 162.
2. D.A. Bastin, G. Stevenson, P.K. Brown, A. Haase, and P.R. Reeves, (1993). Repeat unit polysaccharides of bacteria: a model for polymerization resembling that of ribosomes and fatty acid synthetase, with a novel mechanism for determining chain length. *Mol Microbiol* 7, 725.
3. L.L. Burrows, D. Chow, and J.S. Lam, (1997). *Pseudomonas aeruginosa* B-band O-antigen chain length is modulated by Wzz (Rol). *J Bacteriol* 179, 1482.
4. N. Chatakondi, B.C. Peterson, T.E. Greenway, T.S. Byards, D.J. Wise, (2018). Efficacy of a Live-attenuated *Edwardsiella ictaluri* Oral Vaccine in Channel and Hybrid Catfish. *Journal of the World Aquaculture Society*, 49(4), 686.
5. Bùi Thị Thanh Tịnh, Trần Hạnh Triết, Trần Văn Hương, Vũ Thị Thanh Hương, Dương Hoa Xô, Nguyễn Quốc Bình, (2018). Tiềm năng sử dụng chủng *Edwardsiella ictaluri* đột biến gen wzz làm vaccine phòng ngừa bệnh gan thận mủ cho cá tra giống. *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam* 7(92), 112
6. D.F Amend, (1981). Potency Testing of Fish Vaccines. *Fish Biologics: Serodiagnostics and Vaccines* 49, 447.
7. Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. (2016). *Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về thuốc thú y – Yêu cầu chung (QCVN 01-01:2016/BNNPTNT)*.
8. J.A. Plumb, S. Vinitmantharat, W.D. Paterson, K. Saloni, A.F.S.F.H.S, (1995). Prevention of enteric septicemia in catfish by vaccination. *Diseases in Asia Aquaculture* 2, 399.
9. Nguyễn Quốc Bình, Bùi Thị Thanh Tịnh, (2025). Chủng vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* đột biến gen wzz và aroA và vắc xin chứa chủng vi khuẩn này. *Bằng độc quyền giải pháp hữu ích*. Cục sở hữu trí tuệ 4254 (2-2022-00367).

Protection efficiency of “formalin-killed” vaccines *Edwardsiella ictaluri* potential vaccine for preventing Bacillary necrosis on catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)

Bui Thi Thanh Tinh^{1*}, Nguyen Hoang Thuy Vy¹, Ngo Huynh Phuong Thao¹, Pham Thien Hai², Ngo Thanh Thao²

¹ Department of Aquacultural Biotechnology, Biotechnology Center of Ho Chi Minh City

² Nong Lam University

Abstract Vaccines are now considered an effective and safe method to replace antibiotics in preventing Bacillary necrosis in catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) caused by *Edwardsiella ictaluri*. The Biotechnology Center of Ho Chi Minh City has conducted many studies on attenuated vaccines and has created a strain of attenuated *E. ictaluri* bacteria with a mutation in the wzz gene (W), a mutation in the 2 genes wzz and aroA (WA) with high protection efficiency. To ensure the biosafety of vaccines in aquaculture, these strains were killed by formalin and evaluated for protection efficiency by the immersion method. The results showed that when using the inactivated vaccine strain *E.*

ictaluri WA (mutation in the 2 genes *wzz* and *aroA*) to treat pangasius by immersion method, the relative survival rate (RPS) can reach 94 % after the challenge test. This shows that the inactivated WA vaccine strain has the potential for preventing *Bacillary necrosis* in catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*).

Keywords *Bacillary necrosis*, tra catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*), relative percent survival (RPS), inactivated vaccine, *Edwardsiella ictaluri*