

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA VẮC XIN PISCIVAC Irido Si TRONG VIỆC PHÒNG BỆNH CÁ MÚ NGỦ DO IRIDOVIRUS GÂY RA Ở CÁ MÚ LAI (*Epinephelus fuscoguttatus* x *E. lanceolatus*) NUÔI TẠI KHÁNH HÒA

EVALUATION OF THE PROTECTIVE EFFICACY OF PISCIVAC IRIDO SI VẮC XIN FOR PREVENTING IRIDOVIRUS IN HYBRID GROUPEL (*Epinephelus fuscoguttatus* x *E. lanceolatus*) CULTURED IN KHANH HOA

Trần Văn Hích¹ Takano R.² và Fukuda K.²

¹Trung tâm Giống và Dịch bệnh, Trường Đại học Nha Trang

²Kyoritsu Seiyaku Corporation, Japan

Tác giả liên hệ: Trần Văn Hích (email: hichtv@ntu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 12/04/2021; Ngày phản biện thông qua: 08/06/2021; Ngày duyệt đăng: 29/06/2021

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm đánh giá hiệu quả bảo vệ cá mú lai khỏi bệnh cá mú ngủ do iridovirus gây ra của vaccine Piscivac Irido Si (chứa chủng iridovirus bất hoạt $\geq 106,6$ TCID₅₀/ml). Kết quả thí nghiệm cho thấy vắc xin hoàn toàn an toàn với cá mú (không có sự khác biệt về chiều dài và khối lượng giữa cá thí nghiệm và cá đối chứng, không có bất kì dấu hiệu bất thường nào được quan sát ở xoang bụng cá được tiêm vắc xin). Trong thí nghiệm công cường độc, vắc xin Piscivac Irido Si đã bảo vệ cho cá khỏi bệnh cá mú ngủ do iridovirus gây ra với hệ số bảo hộ (RPS) là 72,9%.

Từ khóa: Cá mú, vắc xin, iridovirus

ABSTRACT

A study was conducted to evaluate the effectiveness Piscivac Irido Si vaccine (contains inactivated iridovirus strain ≥ 106.6 TCID₅₀/ml) against iridovirus causing Sleepy grouper disease in hybrid grouper. The results show that Piscivac Irido Si vaccine is completely safe for hybrid grouper. (There is no difference in length and weight between experimental and control fish, no abnormalities were observed in intraperitoneal of immunized fish). In challenging trials, the Piscivac Irido Si vaccine effectively protected the hybrid grouper from iridovirus with a Relative Survival Rate (RPS) of 72.9%.

Key words: Grouper, vaccine, iridovirus

1. GIỚI THIỆU

Cá mú là loài có giá trị kinh tế cao và được xem là đối tượng nuôi quan trọng cho những người nuôi ven biển khu vực Châu Á – Thái Bình Dương. Ở Việt Nam, cá mú đã được nuôi từ lâu nhưng cho đến nay nghề nuôi cá mú vẫn chưa phát triển mạnh bởi nhiều nguyên nhân khác nhau trong đó dịch bệnh là một trong những lí do quan trọng. Nhiều báo cáo về tác nhân vi khuẩn (Wong and Leong 1990, Saeed 1995, Nguyễn Thị Thanh Thùy 2014), kí sinh trùng (Đỗ Thị Hòa và cộng sự 2008, Võ Thế Dũng và cộng sự 2007) gây bệnh ở cá mú đã được công bố. Tuy nhiên

tác nhân virus được xem là nguy hiểm nhất, bởi cho đến nay vẫn chưa có phương pháp chữa bệnh hữu hiệu. Nhiều virus đã được tìm thấy ở cá mú như Reovirus, Astro-like virus, Herpes virus...nhưng 2 nhóm virus thường gặp ở cá mú là Nodavirus gây bệnh hoại tử thần kinh thường xuất hiện ở giai đoạn ấu trùng đến cá mú giống và Iridovirus gây bệnh cá mú ngủ thường xuất hiện ở giai đoạn cá mú giống và nuôi thương phẩm. Dấu hiệu đặc trưng của bệnh cá mú ngủ là cá thường chết vào buổi tối hoặc sáng sớm mà không có dấu hiệu thương tổn trên bề mặt cơ thể (Chua và cộng sự 1994).

Trong nhiều năm gần đây, hiện tượng cá mú nuôi chết với dấu hiệu đặc trưng của bệnh cá mú ngủ xảy ra thường xuyên ở Cam Ranh, Cam Lâm và Vạn Ninh với tỉ lệ chết tích lũy lên đến 70% quần đàn cá nuôi. Kết quả xét nghiệm bằng Elisa cho thấy cá dương tính với iridovirus. Trong khi đó vắc xin Piscivac Irido Si phòng bệnh do iridovirus gây ra ở cá chẽm đã chính thức được lưu hành ở Việt Nam từ năm 2019. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá khả năng bảo hộ của vắc xin Piscivac Irido Si đối với bệnh cá mú ngủ do iridovirus gây ra.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Chủng iridovirus thử nghiệm

Cá mú bệnh nuôi ở Cam Ranh, biểu hiện dấu hiệu đặc trưng của bệnh cá mú ngủ, dương tính với iridovirus khi kiểm tra bằng phương pháp elisa được vận chuyển sống về Trung tâm nghiên cứu Giống và dịch bệnh thủy sản. Cá được giải phẫu và thu lá lách cho vào eppendorf 10ml chứa 2ml môi trường Leibovitz's L-15 ở 4°C. Nghiền lách và lọc qua giấy lọc trước khi lọc qua màng 0,2µm. Dịch dưới lọc này được đem đi đánh giá khả năng gây chết 50% quần đàn (LD50) và được lưu giữ ở điều kiện nhiệt độ -80°C.

2.2 Cá thí nghiệm

Cá mú lai có chiều dài thân trung bình 6,31 ± 0,23cm, khối lượng 6,46 ± 0,68g, khỏe mạnh được nuôi trong các bể ương ở độ mặn 30-32ppt, nhiệt độ 29-30°C, pH 8-8,2. Để xác nhận quần đàn cá chưa từng mắc nhiễm iridovirus, mẫu huyết thanh của 20 cá mú lai được thu ngẫu nhiên để kiểm tra kháng thể kháng lại iridovirus bằng phương pháp elisa.

2.3 Kiểm định tính an toàn của vắc xin

Thí nghiệm được tiến hành với 2 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức gồm 25 cá mú được nuôi trong bể 250L chứa 200L nước biển với các thông số môi trường được điều chỉnh tương tự mục 2.2. Cá được cho ăn thức ăn UP mỗi ngày 2 lần theo nhu cầu của cá. Tiêm 0,1ml vắc xin Piscivac irido Si vào xoang bụng của mỗi cá thí nghiệm. Ở nghiệm thức đối chứng, cá được tiêm 0,1 ml nước muối sinh lý. Sau khi tiêm, theo dõi và ghi lại những bất thường của cá thí nghiệm

liên tục trong 5 giờ. Theo dõi các thông số môi trường và số lượng cá chết hàng ngày cho đến ngày thứ 31 sau khi tiêm. Ở ngày thứ 31, đo đạt khối lượng và chiều dài của cá thí nghiệm và giải phẫu quan sát những bất thường của cá thí nghiệm. Thí nghiệm được lặp lại 2 lần.

2.4 Kiểm tra hiệu quả bảo vệ của vắc xin phòng bệnh do iridovirus gây ra ở cá mú.

2.3.1 Chuẩn bị cá thí nghiệm

Cá thí nghiệm được chuẩn bị tương tự như mục 2.2 và được chia thành 2 nhóm, mỗi nhóm gồm 120 cá. Ở nhóm cá vắc xin, mỗi cá được tiêm vắc xin với liều 0,05ml/con, trong khi ở nhóm cá đối chứng mỗi cá được tiêm nước muối sinh lý liều 0,05ml/con. Tiến hành công cường độ cho cá thí nghiệm vào ngày thứ 25 để xác định hiệu quả bảo hộ của vắc xin.

2.3.2 Xác định hiệu quả bảo vệ của vắc xin

Thí nghiệm công cường độ cá thí nghiệm được tiến hành bằng cá tiêm chủng iridovirus kí hiệu ISKNV1302 vào xoang bụng của cá thí nghiệm (cá vắc xin và cá đối chứng) với liều 0,1ml/cá huyền dịch iridovirus 10^{1.5} TCID₅₀. Số lượng cá ở mỗi đơn vị thí nghiệm là 30 cá và được lặp lại 2 lần.

Thường xuyên theo dõi cá thí nghiệm và ghi nhận cá chết trong các bể 3 giờ 1 lần. Cá thí nghiệm được theo dõi liên tục cho đến khi không xuất hiện cá chết trong mọi bể thí nghiệm trong 7 ngày liên tục.

Tất cả cá tiêm vắc xin lẫn cá đối chứng chết trong thời gian theo dõi của thí nghiệm gây nhiễm thực nghiệm đều được giải phẫu, kiểm tra và xác định sự hiện diện của iridovirus bằng kỹ thuật ELISA.

2.3.3 Đánh giá hiệu quả bảo vệ của vắc xin

Hiệu quả bảo vệ của vắc xin được đánh giá dựa trên hệ số bảo vệ (RPS) khi kết thúc thí nghiệm (cá thí nghiệm không chết trong 5 ngày liên tục). Chỉ số RPS được tính theo công thức:

$$RPS = (1 - \frac{\text{Tỷ lệ chết tích lũy ở nhóm cá tiêm vắc xin}}{\text{Tỷ lệ chết tích lũy ở nhóm cá tiêm nước muối sinh lý}}) \times 100 (\%)$$

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1 Tính an toàn của vắc xin thử nghiệm

Sau 31 ngày tiến hành thí nghiệm tất cả cá ở các nghiệm thức tiêm vắc xin cũng như tiêm

nước muối sinh lý đều khỏe mạnh. Toàn bộ cá thí nghiệm không có bất kì dấu hiệu bất thường về trạng thái bơi lội hay về hình thái. Cá phản ứng tốt với tiếng động và không có sự khác biệt

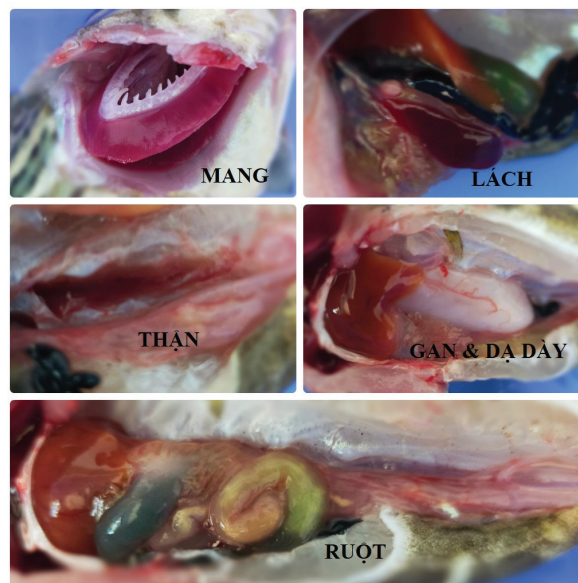
về chiều dài và khối lượng (Bảng 3.1) giữa cá thí nghiệm và cá đối chứng ($P>0,05$) mặc dù ngày đầu tiên của thí nghiệm, cá được tiêm vắc xin ăn ít hơn.

Bảng 3.1. Chiều dài và khối lượng cá mú khi kết thúc thí nghiệm kiểm tra độ an toàn của vắc xin

Lần lặp thứ	Chiều dài và khối lượng của cá mú khi kết thúc thí nghiệm an toàn vắc xin			
	Chiều dài (cm)		Khối lượng (g)	
	Cá đối chứng	Cá vắc xin	Cá đối chứng	Cá vắc xin
1	9,13 ± 0,41	9,21 ± 0,45	11,96 ± 1,49	12,15 ± 1,54
2	9,23 ± 0,27	9,38 ± 0,27	12,02 ± 1,13	12,79 ± 1,12
TB	9,17 ± 0,35	9,29 ± 0,38	11,99 ± 1,30	12,47 ± 1,37

Điều này chứng tỏ vắc xin Piscivac Irido Si không làm ảnh hưởng xấu đến sinh trưởng của cá thí nghiệm. Mặt khác, kết quả giải phẫu và quan sát hình thái nội quan bên

trong xoang bụng của cá mú thí nghiệm cho thấy không có bất kì dấu hiệu bất thường nào được quan sát ở xoang bụng của cá thí nghiệm (hình 3.1)



Hình 3.1 Nội quan của cá mú sau khi tiêm vắc xin Piscivac Irido Si 31 ngày

Kết quả này cho thấy sản phẩm vắc xin Piscivac Irido Si là an toàn với cá mú. Việc tiêm vắc xin này vào xoang bụng cá mú không ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng và tỉ lệ sống của cá hay bất kì bất thường nào có thể quan sát được.

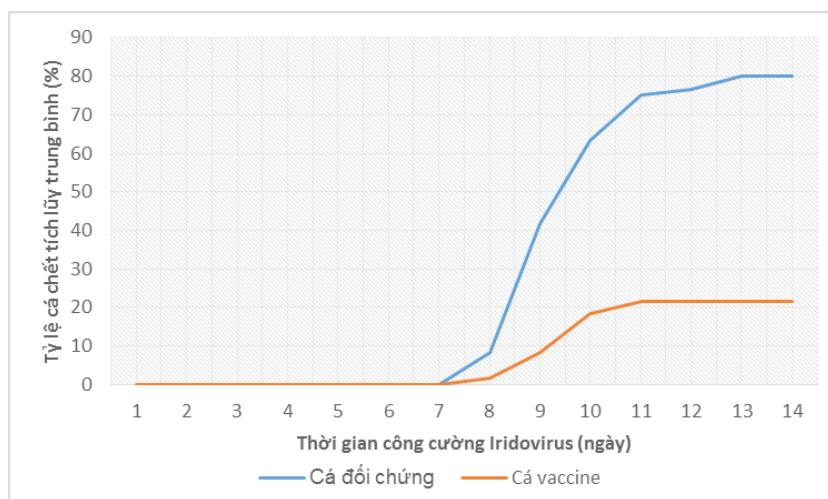
3.2 Hiệu quả bảo hộ của vắc xin đối với bệnh do iridovirus gây ra ở cá mú

Kết quả thí nghiệm cho thấy hầu hết cá mú đều giảm hoạt động bơi lội và nằm ở

đáy bể sau khi tiêm chủng iridovirus kí hiệu ISKNV1302 vào xoang bụng trong ngày đầu tiên. Ngày thứ 2 sau khi tiêm, cá bắt mồi và hoạt động bình thường. Dấu hiệu giảm ăn ở cá thí nghiệm bắt đầu xuất hiện vào ngày thứ 5 và đến ngày thứ 8 sau khi công cường độc, xuất hiện cá chết trong bể thí nghiệm. Tỉ lệ cá chết tăng nhanh trong vòng 2 ngày sau đó giảm dần và ngừng chết ở ngày thứ 14 (hình 3.2). Tỉ lệ cá chết tích lũy ở các

nhóm cá đối chứng khi kết thúc thí nghiệm là $80\% \pm 0,05$ trong khi ở nhóm cá tiêm vắc xin con số này chỉ là $21,67\% \pm 0,02$ (hình

3.2). Hệ số bảo vệ tương đối của vắc xin Piscivac Irido Si đối với bệnh do iridovirus gây ra ở cá mú là 72,9%



Hình 3.2 Tỷ lệ cá chết tích lũy ở các nghiệm thức thí nghiệm khi công cường độc bằng iridovirus

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Vắc xin Piscivac Irido Si hoàn toàn an toàn cho cá mú lai trong quá trình sử dụng.

Vắc xin Piscivac Irido Si giúp cá mú kháng lại bệnh cá mú ngừ do iridovirus gây ra. Hệ số bảo vệ tương đối đạt 72,9%.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Công ty Kyoritsu Seiyaku Corporation, Japan. Xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ quý báu đó.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Võ Thế Dũng, Glenn A. Bristow, Nguyễn Hữu Dũng, Võ Thị Dung, 2007. Một số giáp xác kí sinh ở cá mú giống tự nhiên và cá mú nuôi ao khu vực Tỉnh Khánh Hòa, Việt Nam. Tuyển tập báo cáo Hội nghị Quốc gia “Biển Đông-2007”. trang 223-232.
2. Đỗ Thị Hòa, Trần Văn Hích, Nguyễn Thị Thùy Giang, Phan Văn Út, Nguyễn Thị Nguyệt Huệ, 2008. Các loại bệnh thường gặp trên cá biển nuôi ở Khánh Hòa. Tạp chí Khoa học và Công nghệ Thủy sản số 2. trang 16-24.
3. Nguyễn Thị Thanh Thùy, 2014. Nghiên cứu đáp ứng miễn dịch ở cá mú chấm cam *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822) nuôi tại Khánh Hòa đối với vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus*. Luận án tiến sĩ Nông nghiệp. 127tr.

Tiếng Anh

4. Chua, F.H.C., Ng, M.K., Ng, K.L. Loo, I.J. and Wee, J.Y. 1994. Investigation of outbreaks of a novel disease, ‘Sleepy Grouper Disease’, affecting the brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* Forskal. Journal of Fish Diseases 17:417-427
5. Saeed, M.O. 1995. Association of *Vibrio harveyi* with mortalities in cultured marine fish in Kuwait. Aquaculture 136: 21-29.
6. Wong, S.Y. and Leong, T.S. 1990. A comparative study of *Vibrio* infections in healthy and diseased marine finfishes cultured in floating cages near Penang, Malaysia. Asian Fisheries Science 3: 353- 359.