

CHIẾN LƯỢC PHÁT TRIỂN VẮC-XIN CÔNG NGHỆ CAO TRONG NUÔI TRỒNG THỦY SẢN

A REVIEW OF VACCINE DEVELOPMENT STRATEGIES IN AQUACULTURE

Nguyễn Thị Thùy Giang

Viện Nuôi trồng thủy sản, Trường Đại Học Nha Trang

Email: giangntt@ntu.edu.vn

Ngày nhận bài: 18/05/2022; Ngày phản biện thông qua: 28/10/2022; Ngày duyệt đăng: 28/12/2022

TÓM TẮT

Sử dụng vắc-xin đã được chứng minh có hiệu quả cao và kinh tế trong việc bảo vệ sức khỏe của động vật nuôi trồng thủy sản khỏi các tác nhân truyền nhiễm, đồng thời góp phần xây dựng một ngành nuôi trồng thủy sản thân thiện với môi trường và đáp ứng mối quan tâm về sức khỏe con người. Những tiến bộ trong khoa học đã mở ra những con đường mới để phát triển và thiết kế các loại vắc-xin mới và hiệu quả, cũng như cải tiến các loại vắc-xin hiện có để bảo vệ vật nuôi thủy sản khỏi các loại bệnh truyền nhiễm khác nhau. Bài viết này tập trung vào kiến thức hiện tại, những tiến bộ gần đây và định hướng tương lai của vắc-xin trong ngành nuôi trồng thủy sản, từ vắc-xin bất hoạt và suy giảm truyền thống đến vắc-xin thế hệ mới bao gồm vắc-xin tiểu đơn vị, vắc-xin sống biến đổi gen và vắc-xin DNA.

Từ khóa: vắc-xin cá, nuôi trồng thủy sản, quản lý sức khỏe cá, miễn dịch cá

ABSTRACT

Vaccination have proven to be a highly effective and economical approach in protecting aquatic animals from infectious pathogens, while contributing to developing an environmentally friendly aquaculture industry that meets human health concerns. Advances in science have opened up new avenues to develop and design new and effective vaccines, as well as improve existing vaccines to protect aquatic lives from various infectious diseases. This article focuses on current knowledge, recent advances and the future direction of vaccines in the aquaculture industry, from traditional inactivated vaccines to next-generation vaccines including subunits, genetic modification, and DNA vaccines.

Keywords: fish vaccine, aquaculture, fish welfare, fish immunology

I. Mở đầu

Trong những năm gần đây, nuôi trồng thủy sản (NTTS) đã đạt được một cuộc cách mạng kinh tế lớn trên thế giới Naylor và cộng sự (2021); theo báo cáo của Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hợp Quốc, năm 2018, sản lượng nuôi trồng thủy sản thế giới đạt mức kỉ lục là 114.5 triệu tấn, đạt tổng giá trị 263,6 tỷ USD (FAO, 2020). Tuy nhiên, các bệnh truyền nhiễm có nguồn gốc vi khuẩn, virus, nấm và ký sinh trùng là những tác nhân gây hạn chế đáng kể nhất trong việc phát triển bền vững nuôi trồng thủy sản thâm canh (Rodger, 2016). Theo báo cáo của Ngân hàng thế giới, hàng năm, thiệt hại do dịch bệnh gây ra cho ngành NTTS ước tính là 6 tỉ USD (Stentiford và cộng sự, 2017).

Sử dụng vắc-xin phòng bệnh là một trong

những biện pháp khắc phục hiệu quả và kinh tế nhất đã góp phần giảm đáng kể dịch bệnh và việc sử dụng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản (Rodger, 2016); tuy nhiên, việc sản xuất và cấp phép vắc-xin hiệu quả trong nuôi trồng thủy sản còn hạn chế, do sự khan hiếm kiến thức để làm sáng tỏ các cơ chế miễn dịch bảo vệ của vắc-xin ở động vật thủy sản (Cowan và cộng sự, 2016). Ngoài ra, việc tiêm vắc-xin trong NTTS cũng phải đối mặt với thách thức do áp dụng cho một số lượng quần thể lớn và trong môi trường nước, đây là một nguyên nhân lớn hạn chế sự thành công của vắc-xin trong nuôi trồng thủy sản (Adams, 2019). Các vắc-xin đầu tiên ở cá được chế tạo dựa trên phương pháp truyền thống “phân lập, bất hoạt và tiêm” của Louis Pasteur (Bedekar và Kole, 2022). Ngày nay, những tiến bộ công nghệ sinh

học và khả năng ứng dụng của nó trong lĩnh vực nghiên cứu vắc-xin đã mở ra những con đường mới hơn để thiết kế vắc-xin mới và hiệu quả cũng như phát triển các phương pháp phân phối dễ dàng trong nuôi trồng thủy sản, không gây stress cho động vật thủy sản và tiết kiệm chi phí (Ben Hamed và cộng sự, 2021). Bài viết này là một đánh giá ngắn gọn về việc sử dụng công nghệ sinh học trong các lĩnh vực nghiên cứu và ứng dụng vắc-xin trong NTTS, một sự thay đổi từ vắc-xin truyền thống sang vắc-xin thế hệ mới với sự trợ giúp của công nghệ sinh học.

II. Nội dung

1. Vắc-xin trong nuôi trồng thủy sản

Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu và phát triển trong lĩnh vực điều trị, dịch bệnh vẫn là một nguy cơ gây tổn thất về kinh tế lớn trong nuôi trồng thủy sản thương mại trên toàn thế giới. Tuy rằng thuốc kháng sinh hoặc hóa trị liệu có thể được sử dụng để điều trị bệnh, nhưng biện pháp này có một số nhược điểm rõ ràng, chẳng hạn như các vấn đề về kháng thuốc, an toàn thực phẩm và ô nhiễm môi trường (Rico và cộng sự, 2012; Cabello và cộng sự, 2013). Do đó, tiêm chủng vắc-xin, được xem như một phương pháp tối ưu để ngăn ngừa một loạt các bệnh nguy hiểm do vi khuẩn và virus, và góp phần vào sự bền vững về môi trường, xã hội và kinh tế trong nuôi trồng thủy sản toàn cầu.

Một loại vắc-xin cá điển hình có chứa hoặc tạo ra một sinh chất hoạt động như một kháng nguyên; thành phần này sau đó sẽ được đưa vào cơ thể cá để kích thích phản ứng miễn dịch bẩm sinh và/hoặc thích nghi của cá nhằm chống lại một tác nhân gây bệnh cụ thể (Evensen, 2016). Kể từ báo cáo tiếng Anh đầu tiên được công bố vào năm 1942, về việc sử dụng vắc-xin bất hoạt ở cá hồi, đến nay đã có nhiều loại vắc-xin được nghiên cứu, phát triển và sản xuất, đã làm giảm đáng kể tác hại của một số bệnh do vi khuẩn và virus ở cá (Gudding và Goodrich, 2014). Hàng triệu con cá được tiêm phòng mỗi năm, và ở một số khu vực trên thế giới đã có sự chuyển đổi từ sử dụng kháng sinh để trị bệnh sang tiêm chủng để phòng bệnh. Ví dụ, đã có một sự giảm đáng kể trong việc sử dụng kháng

sinh (giảm 99%) trong nuôi cá hồi ở Na Uy kể từ khi vắc-xin được sử dụng (Sommerset và cộng sự, 2005), và tiêm chủng đã trở thành phương pháp kinh tế và bền vững nhất để kiểm soát các bệnh truyền nhiễm ở cá nuôi (Adams và Subasinghe, 2021).

Những kiến thức quan trọng về vắc-xin và ứng dụng vắc-xin dựa trên hai ngành khoa học: vi sinh học và miễn dịch học (Ma và cộng sự, 2019). Với sự tiên bộ của sinh học phân tử, những hiểu biết về kháng nguyên ngày càng sâu rộng, do đó đã thúc đẩy sự phát triển nhanh chóng của công nghệ vắc-xin để sản xuất ra các thế hệ vắc-xin mới sử dụng ở con người và động vật. Mục tiêu của công nghệ vắc-xin hiện đại nhằm vào các thành phần mang đặc tính kháng nguyên của tác nhân gây bệnh, và vắc-xin được phát triển bằng cách sử dụng các phương pháp như vậy dường như tạo ra mức độ miễn dịch cao hơn so với công nghệ vắc-xin truyền thống (Bedekar và cộng sự, 2020). Cho đến nay, có khoảng hơn 25 loại vắc-xin cá được cấp phép, có sẵn trên thị trường cho nhiều loài cá khác nhau trên thế giới (Bảng 1) (Dhar và cộng sự, 2014; Dadar và cộng sự, 2017; Ma và cộng sự 2019; Mohd-Aris và cộng sự, 2019; Mondal và Thomas, 2022).

2. Phân loại vaccine và phương pháp sử dụng

Có 3 phương pháp tiếp cận chính để thiết kế vắc-xin, đó là: (1) sử dụng toàn bộ tác nhân gây bệnh để tạo vắc-xin; (2) Sử dụng những thành phần sinh miễn dịch (kháng nguyên) của tác nhân gây bệnh để kích thích hệ thống miễn dịch; (3) Chỉ sử dụng vật chất di truyền của tác nhân gây bệnh để cung cấp cho cơ thể vật chủ các hướng dẫn để tạo ra protein kháng nguyên đặc hiệu của tác nhân gây bệnh để kích thích phản ứng miễn dịch.

2.1. Vắc-xin truyền thống

Vắc-xin được chế tạo theo phương pháp truyền thống là vắc-xin sử dụng toàn bộ tác nhân gây bệnh, bị giết chết (bất hoạt) hoặc còn sống suy giảm độc lực, để thiết kế vắc-xin.

2.1.1. Vắc-xin bất hoạt

Vắc-xin bất hoạt là vắc-xin được tạo ra từ một tác nhân gây bệnh bị giết chết bằng

Bảng 1. Tổng quan về vắc-xin được cấp phép sử dụng trong nuôi trồng thủy sản toàn cầu

Bệnh	Tác nhân gây bệnh	Vật chủ chính	Loại vắc-xin	Antigens/ Mục tiêu	Phương pháp sử dụng	Tên thương mại	Nơi sản xuất
Bệnh hoại tử cơ quan tạo máu	IHNV Rhabdo-virus	Cá hồi	DNA	G- Glycoprotein	IM	APEX-IHN	Elanco AH, Canada
Bệnh hoại tử truyền nhiễm tuyền tụy	Birnavirus	Cá hồi, cá vược, cá tráp biển, cá bơn, cá tuyết Thái Bình Dương	Bất hoạt	IPNV	IP	AlphaJects® 1000	Pharmaq AS, Naury
			Tiểu đơn vị	Protein vỏ VP2 và VP3	Cho ăn	AquaVac® IPN Oral	Merck AH, USA
			Tiểu đơn vị	VP2 protein	IP	SRS/IPNV/ <i>Vibrio</i>	Microtek, Canada
			Tiểu đơn vị	VP2 protein	IP	Norvax® Minova 6	Intervet, Hà Lan
			Bất hoạt	IPNV	IP	IPNV	Centrovet, Chile
			Bất hoạt	IPNV	IP	Birnagen Forte	Novartis, Canada
Bệnh thiếu máu truyền nhiễm ở cá hồi	ISAV Ortho-myxo-virus	Cá hồi Đại Tây Dương	Bất hoạt	ISAV (monovalent)	IP	AlphaJects® Micro-1 ISA	Pharmaq AS, Naury
			Bất hoạt	ISAV (multivalent)	IP	FORTE V II	Elanco Canada
			Bất hoạt	ISAV (multivalent)	IP	ISAV	Microtek, Canada
			Tiểu đơn vị	Protein hemagglutinin esterase	Cho ăn	ISAV	Centrovet, Chile
Bệnh virus tuyền tụy	SAV (SAV3)	Cá hồi	Bất hoạt	SAV	IP	AlphaJectMicro®1PD	Pharmaq AS, Naury
			Bất hoạt	SAV	IP	Norvax® Compact PD	Merck, USA
			DNA	SAV 3	IP	Clynav	Elanco, Canada
Bệnh Herpesvirus ở cá chép	KHV Herpesvirus	Cá chép	Sống	KHV	IMM/IP	KV-3 (Cavoy)	KoVax, Israel
Bệnh nhiễm trùng lá lách và hoại tử thận	ISKNV Iridovirus	Cá chêm, cá mú, cá cam, cá chim, cá rô phi	Bất hoạt	ISKNV	IP	AQUAVac® IridoV	Merck, USA
Bệnh hoại tử thân kinh	NNV Nodavirus	50 loài cá biển và nước ngọt	Bất hoạt	RGNNV	IP	Alpha Ject micro® 1 Noda	Pharmaq AS, Naury
			Bất hoạt	Betanodavirus	IP	Icthiovac VNN	HIPRA, Tây Ban Nha

Bệnh viêm đỏ miệng	<i>Yersinia ruckeri</i>	Cá hồi	Bất hoạt	<i>Y. ruckeri</i>	IMM	Ermogen	Elanco, Canada
			Bất hoạt	<i>Y. ruckeri</i>	Cho ăn/ IMM/IP	AquaVac®ERMOral/ AquaVac®ERM/ AquaVac® Relera™	Merck, USA
			Bất hoạt	<i>Y. ruckeri</i>	IMM / IP	Alpha ERM Salar	Pharmaq AS, Nauy
Bệnh do vi khuẩn vibrio (Vibriosis)	<i>Vibrio anguillarum</i> ; <i>V. ordalii</i> ; <i>V. salmonicida</i>	Cá hồi, cá hương ayu, cá mú, cá vược, cá tráp biển, cá cam, cá tuyết, cá bon	Bất hoạt	<i>Vibrio spp.</i>	IMM	ALPHA DIP® Vibrio	Pharmaq AS, Nauy
			Bất hoạt	<i>V. anguillarum</i> & <i>V. ordalii</i>	IMM / IP	Vibrogen 2	Elanco, Canada
			Bất hoạt	<i>V. anguillarum</i>	IP/Cho ăn	AQUAVac® Vibrio/Vibrio Oral	Merck, USA
			Bất hoạt	<i>Vibrio spp.</i> & <i>P. damsela</i>	IP	Ichthiovac® VR/PD	HIPRA Tây Ban Nha
			Bất hoạt	<i>V. anguillarum</i>	IMM	Ichthiovac® VR	
Bệnh u nhọt	<i>Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida</i>	Cá hồi	Tiểu đơn vị	IROMPs	IP	AquaVac® FNM	Merck, USA
			Bất hoạt	<i>A. salmonicida</i>	IP	Norvax® Minova 6	Merck, USA
			Bất hoạt	<i>A. salmonicida</i>	IP	ForteMicro®	Elanco, Canada
Bệnh thận do vi khuẩn	<i>Renibacterium salmoninarum</i>	Cá hồi	Sống	<i>Arthrobacter davidanieli</i>	IP	Renogen	Elanco, Canada
Bệnh nhiễm trùng ruột ở cá da trơn	<i>Edwardsiella ictaluri</i>	Cá tra, cá da trơn	Bất hoạt	<i>E. ictaluri</i>	IP	AlphaJect® Panga 2	Pharmaq AS, Nauy
			Sống	<i>E. ictaluri</i>	IMM	AquaVacESC™	Merck, USA
Bệnh vi khuẩn dạng sợi	<i>Flavobacterium columnaris</i>	Cá vây nước ngọt, cá tráp, cá chêm, cá bon, cá hồi	Sống	<i>F. columnare</i>	IMM	AquaVacCOL™	Merck, USA
			Bất hoạt	<i>F. columnare</i>	IMM	FryVacc1	Novartis, Canada
Pasteurellosis	<i>Photobacterium damsela</i> spp. <i>piscicida</i>	Cá vược, cá tráp biển	Bất hoạt	<i>P. damsela</i>	IMM/ Cho ăn/ IP	AquaVac PhotobacPrime™/ AquaVac®Vibrio Pasteurella	Merck, USA
Bệnh xuất huyết do cầu khuẩn	<i>Lactococcus garviae</i>	Cá hồi cầu vồng, cá cam	Bất hoạt	<i>L. garviae</i>	cho ăn	Amalin™ Rensa	
			Bất hoạt	<i>L. garviae</i> , <i>P. damsela</i> , <i>V. anguillarum</i>	IP	NORVAX® PLV3-way Oil	Merck, USA

Bệnh xuất huyết do cầu khuẩn	<i>S. agalactiae</i>	Cá rô phi, cá đuối	Bất hoạt	<i>S. agalactiae</i>	IP	AquaVac®StrepSa1/ AquaVac®Strep Sa	Merck, USA
	<i>S. iniae</i>	vàng, cá hồi, cá hương, cá vược, cá tráp	Bất hoạt	<i>S. iniae</i>	IP / IMM	AquaVac®Strep Si	
Bệnh nhiễm trùng huyết ở cá hồi do rickettsia	<i>Piscirickettsia</i>	Cá hồi	Bất hoạt	<i>P. salmonis</i>	IP	SRS vaccine	Centrovet, Chile
	<i>salmonis</i>		Sống	<i>P. salmonis</i>	IP	AlphaJect LiVac®SRS	Pharmaq AS, Nauy
			Tiểu đơn vị	Protein ORF1-90 kDa	IP	AQUAVac®SARISTIN 2	Merck, USA
			Tiểu đơn vị	ProteinHSP70, HP60, FLGG2	IP	BirnagenForte4	Novartis, Canada
Bệnh nhiễm trùng huyết Aeromonas	<i>Aeromonas spp.</i>	Cá da trơn					
			Bất hoạt	<i>A. hydrophila</i>	IP	AlphaJect® Panga 2	Pharmaq AS, Nauy
Bệnh mắt nhọt	<i>Moritella viscosa</i>	Cá hồi	Bất hoạt	<i>M. viscosa</i>	IP	AlphaJect®micro 6	Pharmaq AS, Nauy
Bệnh lở loét	<i>Tenacibaculum maritimum</i>	Cá bơn, cá hồi	Bất hoạt	<i>T. maritimum</i>	IP	Icthiovac® TM	HIPRA, Tây Ban Nha

IHNV: Virus hoại tử tạo truyền nhiễm; IPNV: Virus hoại tử tụy truyền nhiễm; ISAV: Virus thiếu máu cá hồi truyền nhiễm; SVCV: Virus đường huyết mùa xuân của virus cá chép; KHV: Koi herpesvirus; ISKNV: Virus hoại tử lá lách và thận truyền nhiễm; NNV: nervous necrosis virus; RGNNV: Red-spotted Grouper Nervous Necrosis Virus; SAV/SAV3: Salmon Alphavirus/salmonid alphavirus subtype 3; IROMPs: Iron regulated Outer Membrane Protein ; IM: Tiêm cơ ; IP: Tiêm nội phúc mạc; IMM: Ngâm mình;

phương pháp lý, hóa học hoặc tia bức xạ, làm cho tác nhân gây bệnh này mất khả năng lây nhiễm hoặc sao chép trong hoặc ngoài vật chủ, mà không ảnh hưởng đến tính kháng nguyên của tác nhân gây bệnh. Vì lý do này, vắc-xin bất hoạt được xem là an toàn do không tồn tại lâu dài trong môi trường hoặc ở trong cơ thể cá được tiêm phòng, nhưng cũng chính vì vắc-xin bất hoạt không thể lây nhiễm vào các tế bào, nên chỉ kích hoạt phản ứng qua trung gian tế bào, nên vắc-xin bất hoạt thường tạo ra khả năng miễn dịch yếu hơn hoặc ngắn hơn khi so sánh các loại vắc-xin khác. Do đó, vắc-xin bất hoạt cần thiết phải nên được phối trộn thêm với tá dược hoặc phải được tiêm chủng nhiều lần để tăng cường khả năng bảo vệ của hệ miễn dịch. Vắc-xin ở cá được cấp phép thương mại đầu

tiên là vắc-xin vi khuẩn *Yersinia ruckeri* bất hoạt, được sử dụng bằng cách ngâm/tắm, nhằm phòng chống lại bệnh viêm đỏ miệng (ERM) ở cá hồi. Phần lớn các vắc-xin được cấp phép và đang được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản là vắc-xin bất hoạt, được sản xuất bằng phương pháp và nguyên tắc tương tự như vắc-xin đầu tiên được phát triển bởi Jenner và Pasteur ở thế kỷ trước: vắc-xin bao gồm tác nhân gây bệnh bị tiêu diệt bởi formalin, có hoặc không có tá dược (Gudding và Goodrich, 2014). Bốn trong số tám loại vắc-xin được cấp phép cho nuôi trồng thủy sản ở Mỹ là vaccine bất hoạt, bao gồm: vắc-xin *A. salmonicida* cho cá hồi và cá chép Koi (*Cyprinus carpio*) và ba loại vắc-xin khác cho cá hồi là: vắc-xin *A. salmonicida*-*Vibrio spp.*, vắc-xin *Y. ruckeri* và vắc-xin vi-rút

ISA (Bảng 1). Hầu hết các loại vắc-xin bất hoạt được sử dụng bằng phương pháp tiêm hoặc tắm, chỉ có một vắc-xin ERM được sử dụng bằng phương pháp cho ăn.

Tuy nhiên, vắc-xin bất hoạt kém hiệu quả đối với các bệnh do virus và các bệnh do vi khuẩn nội bào gây ra (Seder và Hill, 2000). Vắc-xin *Edwardsiella ictaluri* bất hoạt bằng formalin được báo cáo là có khả năng xâm nhập rất kém vào trong cơ thể của cá khi được sử dụng bằng phương pháp ngâm, do đó vắc-xin bất hoạt vi khuẩn *E. ictaluri* đạt được sự bảo hộ thấp (Thinh và cộng sự, 2009). Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng vắc-xin bất hoạt không tạo ra khả năng miễn dịch đối với bệnh virus tuyến tụy cá hồi (SPDV) hoặc bệnh iridovirus cá tráp biển đỏ (Evensen và Leong, 2013).

Mặc dù vẫn còn hạn chế nhưng không thể phủ nhận rằng sự thành công của những vắc-xin này đã dẫn đến việc tăng sản lượng cho nuôi trồng thủy sản thương mại cùng với việc giảm sử dụng liệu pháp hóa học và kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản

2.1.3. Vắc-xin sống giảm độc lực

Vắc-xin sống giảm độc lực được điều chế từ một hoặc nhiều loại virus hoặc vi khuẩn có độc lực đã bị làm suy giảm hoặc có độc lực thấp tự nhiên đối với các loài vật chủ cụ thể. Tác nhân gây bệnh có thể bị suy giảm độc lực bằng các tác động vật lý hoặc hóa học hoặc tác động di truyền. Vắc-xin sống có xu hướng sinh miễn dịch nhiều hơn các vắc-xin bất hoạt do khả năng sinh sôi, nảy nở và xâm nhập vào vật chủ và kích thích các phản ứng tế bào nhiều hơn, do đó kích hoạt cả hệ miễn dịch tự nhiên và thích nghi. Các phản ứng miễn dịch qua trung gian tế bào được tạo ra như vậy rất tương tự với quá trình cảm nhiễm do tác nhân gây bệnh tự nhiên gây ra, do đó sẽ gây ra một phản ứng kháng thể mạnh mẽ từ vật chủ. Do quá trình tác nhân gây bệnh xâm nhập và nhân lên trong vật chủ, vật chủ có thể phát triển khả năng nhớ đầy đủ, dẫn đến khả năng miễn dịch lâu dài, đây rõ ràng là một lợi ích lớn trong nông nghiệp nói chung và nuôi trồng thủy sản nói riêng. Vì vắc-xin sống thường giữ lại các thuộc tính của cảm nhiễm tự nhiên và có hiệu quả, nên không cần thiết phải

sử dụng một tá dược đi kèm để tăng cường tính bảo hộ. Về mặt ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản, thử nghiệm cho thấy vắc-xin sống cũng có hiệu quả tốt với phương pháp cho ăn hoặc ngâm. Do đó, phương pháp sử dụng vắc-xin sống đa dạng hơn so với các loại vắc-xin bất hoạt phải sử dụng tá dược. Vắc-xin sống suy giảm độc lực mặc dù đã được chứng minh là an toàn trong hầu hết các trường hợp; tuy nhiên, vẫn có những rủi ro tiềm ẩn cần phải được chú ý, để đảm bảo các vắc-xin không hồi phục độc lực, không còn sót độc lực và không gây độc cho vật chủ đang bị suy giảm miễn dịch (Mohd-Aris và cộng sự 2019). Hơn thế nữa, vắc-xin sống phải được chứng minh là không gây bệnh cho tất cả các loài sinh vật có liên quan khác trong môi trường thủy sinh. Những dữ liệu về độ an toàn của vắc-xin như vậy, đòi hỏi những chi phí và nỗ lực rất lớn để thực hiện và thu thập. Do đó, mặc dù có nhiều ưu điểm hơn so với vắc-xin bất hoạt nhưng hiện nay, chỉ có rất ít vắc-xin sống suy giảm độc lực đang được sử dụng, những loại vắc-xin khác vẫn chưa được cấp phép và thương mại hóa (Ma và cộng sự 2019).

Hiện nay, mặc dù vắc-xin sống có hiệu quả và nhiều ưu điểm do những lo ngại liên quan đến sự an toàn của động vật được tiêm phòng cũng như môi trường nên các loại vắc-xin này được sử dụng rất hạn chế trong nuôi trồng thủy sản. Chỉ có bốn loại vắc-xin sống được cấp phép dùng trong nuôi trồng thủy sản (bảng 1), trong đó bao gồm vắc-xin vi khuẩn *Arthrobacter* chống lại bệnh viêm thận (BKD) ở cá hồi, vắc-xin *E. ictaluri* chống lại bệnh nhiễm trùng huyết ở cá da trơn (ESC) và vắc-xin vi khuẩn *Flavobacterium columnare* phòng bệnh columnaris, và chỉ có một loại vắc-xin virus nhược độc được thương mại trong NTTS, là vắc-xin Koi herpesvirus (KHV), phòng bệnh viêm ruột và mang cá chép (KHVD). Vắc-xin vi khuẩn *Arthrobacter* sống, được đặt tên là Renogen, đã được cấp phép ở Canada và Chile. Đặc biệt ở chỗ nó không sử dụng chủng vi khuẩn gây bệnh, vi khuẩn *R. salmoninarum*, mà thay vào đó sử dụng một loại vi khuẩn đất sống không gây bệnh *Arthrobacter davidanieli*

để tạo ra khả năng miễn dịch bảo vệ chéo đối với *R. salmoninarum* gây bệnh BKD (Salonius và cộng sự, 2005). Việc sử dụng có hiệu quả vi khuẩn tạo phản ứng chéo kháng nguyên này đã tạo tiền đề cho các nghiên cứu và phát triển các vắc-xin sống suy giảm độc lực khác ở cá như phát triển vắc-xin phòng bệnh vi khuẩn Nocardiosis (Itano và cộng sự, 2006).

Hai loại vắc-xin vi khuẩn sống được cấp phép ở Mỹ được phát triển bởi một quy trình nuôi cấy có sự hiện diện của kháng sinh rifampicin. Đây là một trong những phương pháp gây đột biến hóa học thành công nhất đối với vi khuẩn Gram âm. Ngoài ra, phương pháp đột biến kháng sinh này cũng được nghiên cứu cho các tác nhân gây bệnh cá khác bao gồm *A. hydrophila*, *V. anguillarum*, *F. psychrophilum*, và *E. tarda*. Ngoài ra, các tác nhân hóa học khác, như thuốc nhuộm acriflavine và novobiocin, đã được nghiên cứu sử dụng để làm giảm độc lực của vi khuẩn gây bệnh (Pridgeon và Klesius, 2012). Tuy nhiên, cho đến nay, ngoài ba loại vắc-xin vi khuẩn sống nhược độc đang được sử dụng, những loại vắc-xin khác vẫn chưa được thương mại hóa (Ma và cộng sự 2019).

Ngoài biện pháp vật lý và hóa học để làm suy giảm độc lực của tác nhân gây bệnh, kỹ thuật di truyền học cũng được ứng dụng để tạo ra các đột biến gen cho các ứng cử viên vaccine. Ứng dụng của kỹ thuật di truyền (ví dụ như phương pháp Knock-out gen) đã giúp tạo ra vắc-xin sống suy giảm độc lực bằng cách thực hiện bằng cách tác động (xóa, gián đoạn hoặc chèn gen) đến các gen liên quan đến trao đổi chất hoặc sản sinh độc lực của tác nhân gây bệnh (Shoemaker và cộng sự, 2009). Kết quả là, các tác nhân gây bệnh bị đột biến gen có thể hoạt động nhưng không có độc lực, và vẫn tạo ra phản ứng miễn dịch bảo vệ trong vật chủ mà không gây ra bất kỳ bệnh nào (Mohd-Aris và cộng sự 2019). Phương pháp này đã được ứng dụng với các virus DNA lớn, chẳng hạn như herpesvirus KHV. Các nghiên cứu đã chứng minh rằng, các virus KHV bị đột biến gen hoặc tái tổ hợp các gen liên quan đến ribonucleotide reductase, thymidine kinase (TK), hoặc gen dUTPase, đã tạo ra mức độ kháng thể huyết

thanh tương tự với virus tự nhiên gây ra, do đó có thể sử dụng như vắc-xin sống (Fuchs và cộng sự, 2011; Schröder và cộng sự, 2019). Đối với các tác nhân gây bệnh vi khuẩn, công nghệ này đã được thử nghiệm trong việc tạo ra vắc-xin sống chống lại các tác nhân gây bệnh như *E. ictaluri*, *Flavobacterium columnare*, *E. tarda*, *A. hydrophila*, *S. iniae* và *V. anguillarum* (Bedekar và cộng sự 2020).

2.2. Vắc-xin công nghệ mới

Như đã đề cập ở trên, công thức vắc-xin bất hoạt không thể tạo ra phản ứng miễn dịch bảo vệ như mong muốn đối với một số tác nhân gây bệnh là vi-rút và vi khuẩn kí sinh nội bào. Hơn nữa, việc nuôi cấy và nhân giống trong ống nghiệm của một số vi khuẩn là không thể thực hiện, như với vi khuẩn Rickettsia, do đó việc chế tạo vắc-xin chống lại các tác nhân gây bệnh này là một quá trình chậm và tốn thời gian. Trong bối cảnh như vậy, việc ứng dụng các tiến bộ trong di truyền học, miễn dịch học, hóa học và công nghệ sinh học phân tử, nhằm nghiên cứu xây dựng và phát triển các phương pháp mới để khám phá và chế tạo các loại vắc-xin mới và hiệu quả là vô cùng cần thiết.

2.2.1. Vắc-xin tiểu đơn vị

Vắc-xin tiểu đơn vị là vắc-xin chỉ sử dụng một hoặc nhiều thành phần kháng nguyên đặc hiệu của tác nhân gây bệnh để tạo đáp ứng miễn dịch bảo vệ cơ thể. Vắc-xin tiểu đơn vị kích hoạt hệ thống miễn dịch của cơ thể bằng cách bắt chước sự xâm nhập của tác nhân gây bệnh nhưng không có khả năng gây bệnh. Vắc-xin tiểu đơn vị gồm có: (1) vắc-xin tiểu đơn vị bản chất protein chứa các protein đặc trưng được tách từ tác nhân gây bệnh, (2) vắc-xin tiểu đơn vị “polysaccharide” chứa các chuỗi phân tử polysaccharide được tìm thấy trong thành tế bào của tác nhân gây bệnh là vi khuẩn, và (3) vắc-xin tiểu đơn vị liên hợp gồm chuỗi polysaccharide được gắn vào một “protein mang” để làm tăng đáp ứng miễn dịch. Ưu điểm của vắc-xin tiểu đơn vị là không thể sao chép trong cơ thể vật chủ, do đó không có nguy cơ gây bệnh cho vật chủ hoặc các loài xung quanh. Ngoài ra, vắc-xin tiểu đơn vị có thể được sản xuất ở trạng thái tinh khiết cao,

tạo ra phản ứng miễn dịch đặc hiệu đối với các tác nhân gây bệnh cụ thể, cho phép kết hợp các tá dược và có thể được đông khô, có thể được vận chuyển và lưu trữ không lạnh. Nhược điểm của vắc-xin tiểu đơn vị là có thể thiếu các mô hình phân tử liên quan đến tác nhân gây bệnh (Pathogen-associated molecular pattern, PAMPs), được nhận diện bởi các tế bào miễn dịch của vật chủ, do đó khả năng sinh miễn dịch sẽ yếu đi. Ngoài ra, bởi vì vắc-xin tiểu đơn vị không thể lây nhiễm vào các tế bào, nên chỉ kích thích phản ứng qua trung gian kháng thể, nên phản ứng miễn dịch này có thể yếu hơn và thời gian tồn tại ngắn hơn. Do đó, một số loại vắc-xin tiểu đơn vị phải dựa vào các chất bổ trợ để kích thích cơ thể vật chủ tạo ra miễn dịch đặc hiệu (Clark và Cassidy-Hanley, 2005). Và cũng vì các thành phần kháng nguyên đơn giản của vắc-xin có thể gây ra khả năng sinh miễn dịch yếu, nên có thể cần thiết phải tiêm chủng nhiều lần để đảm bảo khả năng miễn dịch bảo vệ lâu dài. Ngoài ra, phải xác định và kết hợp các thành phần kháng nguyên nào để tạo ra một đáp ứng miễn dịch hiệu quả theo đúng con đường và duy trì được đáp ứng miễn dịch trong thời gian dài, điều này cần thời gian và tốn kém.

Có nhiều cách để tạo ra một vaccine tiểu đơn vị. Các thành phần kháng nguyên (ví dụ như protein đặc hiệu của virút hoặc vi khuẩn) có thể được phân lập và tinh chế trực tiếp từ mầm bệnh. Hạn chế của kỹ thuật này là các protein tách chiết có thể bị biến tính. Phương pháp thứ hai đó là các protein miễn dịch đặc hiệu có thể được sản xuất bằng công nghệ tái tổ hợp hoặc công nghệ vector để sản xuất. Sự xuất hiện của công nghệ DNA tái tổ hợp đã đưa đến sự ra đời và phát triển của vắc-xin tái tổ hợp (Adams và Thompson, 2006). Nhờ những tiến bộ công nghệ sinh học phân tử đã giúp các nhà khoa học định dạng và nhận biết trình tự gen mã hóa cho các protein kháng nguyên của tác nhân gây bệnh để từ đó thiết kế một protein tái tổ hợp. Sau khi được xác định, các gen đã tuyển chọn được tách chiết, tinh lọc và được cấy ghép vào bộ gen của vi khuẩn (*Escherichia coli*) hoặc nấm

men (*Saccharomyces cerevisiae*) để sản xuất ra hàng loạt các protein kháng nguyên bằng phương pháp lên men (Adams và cộng sự, 2005). Một điều quan trọng để thương mại hóa một loại vắc-xin đó khả năng sản xuất quy mô lớn các kháng nguyên cần thiết. Công nghệ DNA tái tổ hợp sử dụng vi khuẩn hoặc nấm men làm “nhà máy sản xuất” được sử dụng rộng rãi do khả năng sản xuất hiệu quả đủ số lượng kháng nguyên cần thiết trong thời gian ngắn. Do đó, vắc-xin tái tổ hợp đã và đang thay thế cho vắc-xin truyền thống, nhờ tính an toàn, hiệu quả và kinh tế hơn. Tương tự như công nghệ tái tổ hợp, công nghệ vector có nguyên tắc tương tự để sản xuất vắc-xin nhưng điểm khác biệt là sử dụng một virút khác làm vector (virút an toàn) để truyền các các protein kháng nguyên của tác nhân gây bệnh vào cơ thể vật chủ kích thích các phản ứng miễn dịch (Adams và cộng sự 2005). Baculovirus và alphavirus thường được sử dụng làm véc-tơ trong công nghệ sản xuất vắc-xin vì có thể hoạt động ở nhiều tế bào động vật khác nhau, phổ nhiệt độ rộng và khả năng gia tăng miễn dịch niêm mạc (Dadar và cộng sự 2017).

Vắc-xin tiểu đơn vị đầu tiên trong nuôi trồng thủy sản được Gilmore và cộng sự (1988) nghiên cứu cho cá hồi cầu vồng (*Oncorhynchus mykiss*), trong đó, glycoprotein (G) của virút gây bệnh hoại tử tạo máu truyền nhiễm (IHNV) được sản xuất qua quá trình lên men vi khuẩn *E. coli* và được tinh chế để sản xuất vắc-xin. Một số nghiên cứu khác cũng cho thấy hiệu quả và tính khả thi của vắc-xin tiểu đơn vị trong việc gây ra phản ứng miễn dịch bảo vệ chống lại mầm bệnh tương ứng như virus nhiễm trùng huyết xuất huyết (VHSV), virus hoại tử thân kinh cá mú (GNNV), reovirus ở cá trắm cỏ, *Ichthyophthirius multifiliis*, *A. hydrophila*, *A. salmonicida* và *Piscirickettsia salmonis* (Dadar và cộng sự 2017; Ma và cộng sự 2019; Bedekar và cộng sự 2020). Thành công của công nghệ vắc-xin tái tổ hợp trong lĩnh vực NTTS được chứng minh bằng việc phát triển thành công và thương mại hóa các loại vắc-xin khác nhau chống lại các bệnh cá quan trọng (Bảng 1).

2.2.2. *Vắc-xin axit nucleic*

Vắc-xin axit nucleic (DNA hoặc RNA) sử dụng một phần mã di truyền của tác nhân gây bệnh để kích thích phản ứng miễn dịch của vật chủ. Hay nói cách khác, vắc-xin axit nucleic mang theo các thông tin di truyền để hướng dẫn tế bào vật chủ tự tạo ra protein kháng nguyên, từ đó kích hoạt phản ứng miễn dịch tự nhiên và đặc hiệu của vật chủ đáp ứng và ghi nhớ các kháng nguyên của tác nhân gây bệnh (Collins và cộng sự, 2019). Việc sử dụng gen mã hóa protein miễn dịch thông qua DNA hoặc RNA đã tạo thành một thế hệ vắc-xin mới nhằm tăng cường hiệu quả của việc sử dụng các protein tái tổ hợp. Vắc-xin axit nucleic được cho là sự kết hợp của các đặc tính tích cực của cả hai loại vắc-xin sống suy giảm độc lực và vắc-xin tiểu đơn vị. Ngoài ra, vắc-xin axit nucleic có lợi thế hơn vắc-xin khác bao gồm tính linh hoạt trong sản xuất nên có thể mở rộng và cạnh tranh về chi phí, và không cần nhu cầu lưu trữ lạnh. Do đó công nghệ tiên tiến này đã mở đầu một cuộc cách mạng trong y học nói chung và trong ngư y nói riêng. Vắc-xin DNA và RNA hoạt động giống nhau, nhưng có một số khác biệt. Với vắc-xin DNA, thông tin di truyền của tác nhân gây bệnh được truyền đến một phân tử khác được gọi là RNA truyền tin (mRNA). Điều này có nghĩa là vắc-xin DNA đòi hỏi một xung điện để đẩy thông điệp di truyền vào tế bào. Hơn thế nữa, vắc-xin mRNA được cho là được cho là đã thu gom tất cả những lợi thế của các phương pháp khác, bao gồm tăng cường khả năng sinh miễn dịch hiệu quả. Một ưu thế khác của vắc-xin RNA so với vắc-xin DNA là vắc-xin mRNA không thể gây ảnh hưởng đến gen của vật chủ, đây là một nguy cơ tiềm ẩn của vắc-xin DNA. Tuy nhiên cho đến nay vẫn chưa có một công bố nào về vắc-xin RNA ở cá.

Vắc-xin DNA là vắc-xin chỉ chứa các đoạn DNA mã hóa protein kháng nguyên đặc hiệu của tác nhân gây bệnh. DNA xâm nhập vào tế bào vật chủ (nhân), hướng dẫn cơ thể vật chủ sản sinh các kháng nguyên đặc hiệu, kích hoạt các phản ứng miễn dịch. Ngoài ra còn có, vắc-xin DNA tái tổ hợp được tạo ra bằng việc gắn kết đoạn gen mã hóa kháng nguyên đặc hiệu

của tác nhân gây bệnh vào một DNA khác, sử dụng làm phương tiện vận chuyển gen (vector) thường là DNA plasmid hoặc DNA phage, sau đó được đưa vào cơ thể vật chủ (Collins và cộng sự 2019). Vắc-xin DNA thường tạo ra một phản ứng miễn dịch mạnh mẽ, cả miễn dịch tế bào và dịch thể. Các protein kháng nguyên được sản sinh bởi cơ thể vật chủ, và được nhận biết bởi hệ thống miễn dịch, tạo ra phản ứng miễn dịch lâu dài mà không có nguy cơ nhiễm bệnh.

Vắc-xin DNA đã đạt được sự chú ý rộng rãi trong nuôi trồng thủy sản nhờ những ưu thế của nó so với các loại vắc-xin khác (Tonheim và cộng sự, 2008) Vắc-xin DNA được coi là an toàn hơn so với vắc-xin sống vì chúng chỉ thể hiện các protein kháng nguyên chứ không phải toàn bộ sinh vật. Vì kháng nguyên được sản xuất bởi cơ thể vật chủ, thời gian phản ứng miễn dịch trong hầu hết các trường hợp là lâu dài (Robertson và cộng sự, 2016). Một lợi thế của vắc-xin DNA là chúng rất dễ dàng thuận lợi trong sản xuất và lưu trữ Vắc-xin DNA có thể được sản xuất ở dạng bột khô hoặc dung dịch và không cần dây chuyền lạnh không giống như vắc-xin truyền thống. Một lợi ích khác bao gồm việc có thể thiết kế một vector mã hóa nhiều kháng nguyên, và do đó tạo ra khả năng vắc-xin đa hóa trị phòng đồng thời nhiều bệnh. Ngoài ra, vắc-xin DNA không cần phải sử dụng tá dược để tăng cường đáp ứng miễn dịch, do đó giảm thiểu những tác dụng phụ của vắc-xin như viêm sưng kết dính màng bụng, sản sinh sắc tố melanin (Holvold và cộng sự, 2014)..

Vắc-xin DNA đầu tiên được công bố trong nuôi trồng thủy sản là vắc-xin phòng chống lại bệnh hoại tử cơ quan tạo máu do IHNV gây ra ở cá hồi. Trong thập kỷ qua, các loại vắc-xin DNA khác đã được phát triển và thử nghiệm đối với nhiều loại tác nhân gây bệnh ở động vật thủy sản và có hiệu quả bảo vệ nhất định như vắc-xin cho IPNV. VNNV và SVCV, vi khuẩn *Mycobacterium marinum*, *V. anguillarum*, *E. tarda*... Tuy nhiên, chỉ có một số lượng hạn chế trong số này đã được thương mại hóa và cung cấp cho thị trường. Một loại là vắc-xin DNA

IHNV, được cấp phép và thương mại hóa ở Canada (vắc-xin Apex-IHN), và một loại khác là vắc-xin bệnh tuyến tụy do vi-rút được sử dụng ở châu Âu (vắc-xin Clynav) (Dadar và cộng sự 2017; Adams, 2019; Bedekar và cộng sự 2020).

Mặc dù, vắc-xin DNA đã được chứng minh là một chiến lược tiêm chủng đầy hứa hẹn trong việc cung cấp sự bảo vệ hiệu quả chống lại các tác nhân gây bệnh virút và vi khuẩn khác nhau, nhưng việc sử dụng vắc-xin DNA trong trong đối tượng nuôi trồng thủy sản bị hạn chế về mặt pháp lý ở hầu hết các quốc gia vì chúng được xếp vào sinh vật biến đổi gen (GMO).

Ngoài ra, phương pháp sử dụng vắc-xin DNA chủ yếu là phương pháp tiêm cơ (IM), vì vật liệu di truyền phải được bảo vệ để có thể thành công xâm nhập vào các tế bào chủ. Một vài hạn chế khác của vắc-xin DNA bao gồm không phù hợp với hệ miễn dịch suy yếu, tích hợp nhiễm sắc thể, nguy cơ gây viêm ở vị trí tiêm và tổn thương mô (Holvold và cộng sự 2014).

3. Ưu và nhược điểm của một số loại vắc-xin trong NTTS

Ưu và nhược điểm của một số loại vắc-xin sản xuất theo phương pháp truyền thống và công nghệ mới được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. So sánh hiệu quả của các loại vắc-xin truyền thống và công nghệ mới

Loại vắc-xin	Ưu điểm	Nhược điểm
Vắc-xin bất hoạt	Có tính đồng bộ	Rất tốn kém và ít hiệu quả đối với vi-rút
	An toàn	Cần sử dụng chất bổ sung
	Dễ sử dụng	Tác dụng phụ do chất bổ sung
Vắc-xin sống suy giảm độc lực	Kích hoạt hiệu quả phản ứng miễn dịch tế bào, dịch thể và niêm mạc	Gây mối lo ngại về sự an toàn đối với sinh vật sử dụng và môi trường
	Không cần chất hỗ trợ	Nguy cơ đột biến trở lại thành các chủng mang độc lực
	Chi phí sản xuất thấp	Xếp trong nhóm sinh vật biến đổi gen (GMO) (vắc-xin sống bằng kỹ thuật di truyền)
Vắc-xin tiểu đơn vị	Chi phí sản xuất thấp	Biến tính của protein
	An toàn	Thiếu các dữ liệu về thử nghiệm tại thực địa
Vắc-xin DNA	Kích hoạt hiệu quả các phản ứng miễn dịch tế bào và dịch thể	Một số tác nhân gây bệnh sở hữu chất sinh miễn dịch không phải là protein
	Dễ dàng sản xuất và lưu giữ	Phản ứng miễn dịch đáp ứng lại chính DNA của tế bào chủ (bệnh tự miễn)
	Có thể tạo ra vắc-xin đa kháng nguyên	Xếp trong nhóm sinh vật biến đổi gen (GMO)
	Không cần chất bổ trợ	Tiêm (viêm cơ, sưng viêm và tạo sắc tố melonine tại vị trí tiêm, tổn thương mô...)

Mặc dù, vắc-xin được xem là biện pháp hiệu quả và kinh tế nhất trong quản lý dịch bệnh trong nuôi trồng thủy sản, vắc-xin cũng đã được chứng minh là gây ra những tác dụng phụ, ảnh hưởng đến sinh trưởng và sức khỏe của chính động vật thủy sản (Midtlyng, 1997). Tác dụng phụ phải kể đến của vắc-xin như: gây bầm tím trong bụng, viêm, u hạt viêm phúc

mạc và hình thành sắc tố melanine ở vị trí tiêm (Midtlyng, 1997), biến dạng cột sống (Berg và cộng sự, 2006), hiện tượng tự miễn (Koppang và cộng sự, 2008). Ngoài ra, ở cá hồi Đại Tây Dương, sau khi sử dụng vắc-xin có kết hợp tá được, bằng phương pháp tiêm xoang bụng, một số nghiên cứu đã báo cáo cho thấy sự chậm lớn, giảm khả năng bắt mồi, có sự phân đàn

lớn trong quần đàn cá và giảm chất lượng thịt cá (Mutoloki và cộng sự, 2004; Sørum và Damsgård, 2004; Berg và cộng sự, 2007). Tác dụng phụ của vắc-xin có thể thay đổi tùy theo độ tuổi, giai đoạn phát triển hay loài cá. Theo như Berg và cộng sự (2007) đã báo cáo rằng có thể giảm nguy cơ bị kết dính bụng sau khi tiêm vắc-xin bằng cách tăng kích cỡ cá khi được tiêm vắc-xin. Do đó, nghiên cứu để làm giảm đi những tác dụng không mong muốn của vắc-xin nhưng vẫn bảo tồn và gia tăng khả năng bảo hộ miễn dịch lâu dài là một mục tiêu đầy thách thức cho ngành công nghiệp sản xuất vắc-xin nuôi trồng thủy sản.

III. Kết luận

Một loại vắc-xin lý tưởng là một loại vắc-xin an toàn cho động vật và môi trường, có thể sản xuất quy mô lớn và chi phí thấp, dễ sử dụng và quản lý, có khả năng gây ra khả năng miễn dịch mạnh mẽ và lâu dài, và có tác dụng phụ tối thiểu. Nhìn chung, với những tiến bộ trong công nghệ sinh học phân tử rất hứa hẹn

để có thể khắc phục những hạn chế khi thực hiện vắc-xin trên thực tế nuôi trồng thủy sản, như đảm bảo độ an toàn cho sinh vật và môi trường, gia tăng thời gian và hiệu quả bảo hộ, giảm stress cho vật nuôi, dễ thực hiện trong môi trường nước và quần đàn lớn. Mặc dù còn có hạn chế, nhưng vắc-xin bất hoạt truyền thống vẫn đang thống lĩnh thị trường nuôi trồng thủy sản do đảm bảo được tính an toàn cho sinh vật và môi trường. Những nghiên cứu phát triển vắc-xin động vật thủy sản mới dựa trên các ứng dụng của công nghệ tiên tiến và những nghiên cứu vắc-xin cho người và động vật khác (vắc-xin RNA, vắc-xin nguồn gốc thực vật) đã cho thấy những hứa hẹn về hiệu quả, cũng như tiềm năng sẽ được thương mại hóa trong nuôi trồng thủy sản. Hơn thế nữa, để đảm bảo một sự phát triển an toàn và bền vững của nuôi trồng thủy sản thế giới, việc ứng dụng các công nghệ sinh học hiện đại trong nghiên cứu và sản xuất vắc-xin là điều cần thiết.

Tài liệu tham khảo.

1. Adams A. (2019), "Progress, challenges and opportunities in fish vaccine development", *Fish & Shellfish Immunology*, 90, pp. 210-214.
2. Adams A., Aoki T., Berthe F., Grisez L. và Karunasagar I. (2005), "Recent technological advancements on aquatic animal health and their contributions toward reducing disease risks - a review", *Diseases in Asian aquaculture VI*.
3. Adams A. và Subasinghe R. (2021), Fish Vaccines, in: *Veterinary Vaccines*, pp. 113-118.
4. Adams A. và Thompson K.D. (2006), "Biotechnology offers revolution to fish health management", *Trends in Biotechnology*, 24(5), pp. 201-205.
5. Bedekar M.K. và Kole S. (2022), "Fundamentals of Fish Vaccination", *Methods Mol Biol*, 2411, pp. 147-173.
6. Bedekar M.K., Kole S. và Tripathi G. (2020), Biotechnological approaches to fish vaccine, in: *Genomics and Biotechnological Advances in Veterinary, Poultry, and Fisheries*, Malik Y.S., Barh D., Azevedo V. và Khurana S.M.P., Editors., Academic Press, pp. 407-419.
7. Ben Hamed S., Tapia-Paniagua S.T., Morinigo M.A. và Ranzani-Paiva M.J.T. (2021), "Advances in vaccines developed for bacterial fish diseases, performance and limits", *Aquaculture Research*, 52(6), pp. 2377-2390.
8. Berg A., Rodseth O.M. và Hansen T. (2007), "Fish size at vaccination influence the development of side-effects in Atlantic salmon (*Salmo Salar L.*)", *Aquaculture*, 265(1-4), pp. 9-15.
9. Berg A., Rødseth O.M., Tangerås A. và Hansen T. (2006), "Time of vaccination influences development

- of adhesions, growth and spinal deformities in Atlantic salmon *Salmo salar*”, *Dis Aquat Organ*, 69(2-3), pp. 239-48.
10. Cabello F.C., Godfrey H.P., Tomova A., Ivanova L., Dölz H., Millanao A. và Buschmann A.H. (2013), “Antimicrobial use in aquaculture re-examined: its relevance to antimicrobial resistance and to animal and human health”, *Environmental Microbiology*, 15(7), pp. 1917-1942.
 11. Clark T.G. và Cassidy-Hanley D. (2005), “Recombinant subunit vaccines: potentials and constraints”, *Dev Biol (Basel)*, 121, pp. 153-63.
 12. Collins C., Lorenzen N. và Collet B. (2019), “DNA vaccination for finfish aquaculture”, *Fish & Shellfish Immunology*, 85, pp. 106-125.
 13. Cowan G., Smith P. và Christoflogiannis P. (2016), Fish Vaccines: The Regulatory Process and Requirements from the Laboratory Bench to a Final Commercial Product, Including Field Trials, in: *Fish Vaccines*, Adams A., Editor, Springer Basel, Basel, pp. 105-118.
 14. Dadar M., Dhama K., Vakharia V.N., Hoseinifar S.H., Karthik K., Tiwari R., Khandia R., Munjal A., Salgado-Miranda C. và Joshi S.K. (2017), “Advances in Aquaculture Vaccines Against Fish Pathogens: Global Status and Current Trends”, *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25(3), pp. 184-217.
 15. Dhar A.K., Manna S.K. và Thomas Allnut F.C. (2014), “Viral vaccines for farmed finfish”, *VirusDisease*, 25(1), pp. 1-17.
 16. Evensen Ø. (2016), Development of Fish Vaccines: Focusing on Methods, in: *Fish Vaccines*, Adams A., Editor, Springer Basel, Basel, pp. 53-74.
 17. Evensen O. và Leong J.A.C. (2013), “DNA vaccines against viral diseases of farmed fish”, *Fish & Shellfish Immunology*, 35(6), pp. 1751-1758.
 18. FAO (2020), *The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). Sustainability in action.*, Rome, Italy.
 19. Fuchs W., Fichtner D., Bergmann S.M. và Mettenleiter T.C. (2011), “Generation and characterization of koi herpesvirus recombinants lacking viral enzymes of nucleotide metabolism”, *Archives of Virology*, 156(6), pp. 1059-1063.
 20. Gilmore R.D., Engelking H.M., Manning D.S. và Leong J.C. (1988), “Expression in Escherichia Coli of an Epitope of the Glycoprotein of Infectious Hematopoietic Necrosis Virus Protects Against Viral Challenge”, *Bio/Technology*, 6(3), pp. 295-300.
 21. Gudding R. và Goodrich T. (2014), The History of Fish Vaccination, in: *Fish Vaccination*, pp. 1-11.
 22. Holvold L.B., Myhr A.I. và Dalmo R.A. (2014), “Strategies and hurdles using DNA vaccines to fish”, *Veterinary Research*, 45.
 23. Itano T., Kawakami H., Kono T. và Sakai M. (2006), “Live vaccine trials against nocardiosis in yellowtail *Seriola quinqueradiata*”, *Aquaculture*, 261(4), pp. 1175-1180.
 24. Koppang E.O., Bjerkaas I., Haugarvoll E., Chan E.K.L., Szabo N.J., Ono N., Akikusa B., Jirillo E., Poppe T.T., Sveier H., Tørud B. và Satoh M. (2008), “Vaccination-Induced Systemic Autoimmunity in Farmed Atlantic Salmon”, *The Journal of Immunology*, 181(7), pp. 4807-4814.
 25. Ma J., Bruce T.J., Jones E.M. và Cain K.D. (2019), “A Review of Fish Vaccine Development Strategies: Conventional Methods and Modern Biotechnological Approaches”, *Microorganisms*, 7(11).
 26. Midtlyng P.J. (1997), “Vaccinated fish welfare: protection versus side-effects”, *Dev Biol Stand*, 90, pp. 371-9.
 27. Mohd-Aris A., Muhamad-Sofie M.H.N., Zamri-Saad M., Daud H.M. và Ina-Salwany M.Y. (2019), “Live

- vaccines against bacterial fish diseases: A review”, *Veterinary world*, 12(11), pp. 1806-1815.
28. Mondal H. và Thomas J. (2022), “A review on the recent advances and application of vaccines against fish pathogens in aquaculture”, *Aquaculture International*.
 29. Mutoloki S., Alexandersen S. và Evensen Ø. (2004), “Sequential study of antigen persistence and concomitant inflammatory reactions relative to side-effects and growth of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) following intraperitoneal injection with oil-adjuvanted vaccines”, *Fish & Shellfish Immunology*, 16(5), pp. 633-644.
 30. Naylor R.L., Hardy R.W., Buschmann A.H., Bush S.R., Cao L., Klinger D.H., Little D.C., Lubchenco J., Shumway S.E. và Troell M. (2021), “A 20-year retrospective review of global aquaculture”, *Nature*, 591(7851), pp. 551-563.
 31. Pridgeon J.W. và Klesius P.H. (2012), “Major bacterial diseases in aquaculture and their vaccine development”, *CAB Reviews*, 2012 v.7 no.048(no. 048), pp. pp. 1-16.
 32. Rico A., Satapornvanit K., Haque M.M., Min J., Nguyen P.T., Telfer T.C. và van den Brink P.J. (2012), “Use of chemicals and biological products in Asian aquaculture and their potential environmental risks: a critical review”, *Reviews in Aquaculture*, 4(2), pp. 75-93.
 33. Robertsen B., Chang C.J. và Bratland L. (2016), “IFN-adjuvanted DNA vaccine against infectious salmon anemia virus: Antibody kinetics and longevity of IFN expression”, *Fish Shellfish Immunol*, 54, pp. 328-32.
 34. Rodger H.D. (2016), Fish Disease Causing Economic Impact in Global Aquaculture, in: *Fish Vaccines*, Adams A., Editor, Springer Basel, Basel, pp. 1-34.
 35. Salonius K., Siderakis C., MacKinnon A.M. và Griffiths S.G. (2005), “Use of *Arthrobacter davidanieli* as a live vaccine against *Renibacterium salmoninarum* and *Piscirickettsia salmonis* in salmonids”, *Dev Biol (Basel)*, 121, pp. 189-97.
 36. Schröder L., Klafack S., Bergmann S.M., Fichtner D., Jin Y., Lee P.-Y., Höper D., Mettenleiter T.C. và Fuchs W. (2019), “Generation of a potential koi herpesvirus live vaccine by simultaneous deletion of the viral thymidine kinase and dUTPase genes”, *Journal of General Virology*, 100(4), pp. 642-655.
 37. Seder R.A. và Hill A.V. (2000), “Vaccines against intracellular infections requiring cellular immunity”, *Nature*, 406(6797), pp. 793-8.
 38. Shoemaker C.A., Klesius P.H., Evans J.J. và Arias C.R. (2009), “Use of Modified Live Vaccines in Aquaculture”, *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(5), pp. 573-585.
 39. Sommerset I., Krossøy B., Biering E. và Frost P. (2005), “Vaccines for fish in aquaculture”, *Expert Review of Vaccines*, 4(1), pp. 89-101.
 40. Sørum U. và Damsgård B. (2004), “Effects of anaesthetisation and vaccination on feed intake and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)”, *Aquaculture*, 232(1), pp. 333-341.
 41. Stentiford G.D., Sritunyalucksana K., Flegel T.W., Williams B.A.P., Withyachumnarnkul B., Itsathitphaisarn O. và Bass D. (2017), “New Paradigms to Help Solve the Global Aquaculture Disease Crisis”, *PLoS pathogens*, 13(2), pp. e1006160-e1006160.
 42. Thinh N.H., Kuo T.Y., Hung L.T., Loc T.H., Chen S.C., Evensen Ø. và Schuurman H.J. (2009), “Combined immersion and oral vaccination of Vietnamese catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) confers protection against mortality caused by *Edwardsiella ictaluri*”, *Fish & Shellfish Immunology*, 27(6), pp. 773-776.
 43. Tonheim T.C., Bøgwald J. và Dalmo R.A. (2008), “What happens to the DNA vaccine in fish? A review of current knowledge”, *Fish & Shellfish Immunology*, 25(1), pp. 1-18.