

ẢNH HƯỞNG CỦA PHƯƠNG PHÁP DẪN TRUYỀN ĐẾN HIỆU QUẢ BẢO HỘ CỦA VACCINE SiV Ở CÁ CHỀM *Lates calcarifer* (Bloch, 1790)

EFFECT OF DELIVERY METHODS ON THE PROTECTIVE EFFICACY OF SiV VACCINE IN ASIAN SEABASS *Lates calcarifer* (Bloch, 1790)

Nguyễn Thị Thanh Thùy, Nguyễn Thị Quế Chi,
Lê Hồng Tuấn, Nguyễn Văn Hùng, Nguyễn Đức Toàn*

Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Thùy; Email: ntthuy25@mae.gov.vn

Ngày nhận bài: 28/08/2025; Ngày phản biện thông qua: 30/09/2025 ; Ngày duyệt đăng: 25/12/2025

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá hiệu quả của các phương pháp dẫn truyền vaccine bất hoạt *Streptococcus iniae* (SiV) đến khả năng đáp ứng miễn dịch và bảo hộ ở cá chẽm (*Lates calcarifer*). Thí nghiệm bao gồm ba nghiệm thức: Ngâm hai lần (NT1), ngâm kết hợp tiêm (NT2) và tiêm hai lần (NT3), với nhóm đối chứng được tiêm dung dịch PBS. Các thông số miễn dịch gồm hiệu giá kháng thể, hàm lượng kháng thể IgM đặc hiệu và hệ số bảo hộ (RPS) được đánh giá tại các mốc thời gian 30, 90 và 180 ngày sau miễn dịch lần hai. Kết quả cho thấy, hiệu giá và hàm lượng kháng thể, cũng như hệ số bảo hộ RPS đều giảm dần theo thời gian tùy thuộc phương pháp dẫn truyền vaccine. Trong đó, phương pháp tiêm hai lần (NT3) đạt hiệu quả cao nhất với hàm lượng kháng thể đạt $OD_{492} = 0,405$, hiệu giá ngưng kết 1:147 và hiệu quả bảo hộ RPS đạt 94,4% tại 30 ngày sau gây miễn dịch và duy trì trên 80 % đến 180 ngày. Phương pháp ngâm tiêm kết hợp (NT2) cũng cho kết quả bảo hộ tương đối cao (70,8% -76,7%). Ngược lại, ngâm đơn thuần (NT1) chỉ tạo đáp ứng miễn dịch thấp và bảo hộ không bền vững. Những kết quả này khẳng định phương pháp tiêm lặp lại là tối ưu trong việc tạo đáp ứng miễn dịch mạnh, bền vững và thích hợp để áp dụng trong điều kiện nuôi thương phẩm cá chẽm quy mô lớn. Đồng thời, việc kết hợp các phương pháp dẫn truyền như ngâm – tiêm có thể là hướng đi khả thi để cân bằng giữa hiệu quả bảo hộ và tính thực tiễn trong sản xuất.

Từ khóa: *Lates calcarifer*, phương pháp dẫn truyền, *Streptococcus iniae*, vaccine bất hoạt.

Abstract

This study was conducted to evaluate the efficacy of different delivery methods of inactivated *Streptococcus iniae* vaccine (SiV) on the immune response and protective efficiency in Asian seabass (*Lates calcarifer*). The experiment consisted of three treatments: double immersion (NT1), immersion combined with injection (NT2), and double injection (NT3), and a control group injected with phosphate-buffered saline (PBS). Immunological parameters, including antibody titers, specific antibody IgM concentration, and Relative Percentage Survival (RPS), were assessed at 30, 90, and 180 days after the second immunization. The results showed that antibody titers, specific antibody concentration, and RPS decreased over time depending on the vaccine delivery methods. In particular, the double injection method (NT3) achieved the highest efficiency with antibody content reaching $OD_{492} = 0.405$, agglutination titer of 1:147 and RPS protection efficiency reaching 94.4% at 30 days after immunization and maintained above 80% up to 180 days. The combined immersion injection method (NT2) also gave relatively high protection results (70.8% -76.7%). In contrast, immersion alone (NT1) only induced a low immune response and unsustainable protection. These findings confirm that intraperitoneal injection is the most effective strategy to induce strong and long-lasting immunity, making it suitable for large-scale commercial farming of *L. calcarifer*. Moreover, combined delivery methods as immersion followed by injection may offer a practical compromise between protective efficacy and operational feasibility in aquaculture.

Key word: *Lates calcarifer*, vaccine delivery methods, *Streptococcus iniae*, inactivated vaccine.

I. MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, cá chêm (*Lates calcarifer*, Bloch 1790) đang được chọn là một trong những đối tượng nuôi chủ lực của các chương trình phát triển nuôi biển ở các vùng biển Việt Nam nhờ tốc độ sinh trưởng nhanh, khả năng thích nghi linh hoạt với nhiều môi trường và giá trị thương phẩm cao. Sản phẩm phi lê đông lạnh từ cá chêm ngày càng được ưa chuộng trên thị trường quốc tế, mở ra hướng phát triển xuất khẩu bền vững.

Cùng với sự phát triển nhanh về diện tích và sản lượng, nghề nuôi cá chêm cũng đang gặp nhiều thách thức do dịch bệnh. Trong đó, bệnh xuất huyết, mù mắt do vi khuẩn *Streptococcus iniae* đang là mối đe dọa lớn, có thể gây chết đến 70 % ở giai đoạn cá chêm giống nếu không kịp thời phòng trị [1]. Điều trị bằng kháng sinh vẫn đang phổ biến nhưng hiệu quả không ổn định và tiềm ẩn nguy cơ kháng thuốc. Các biện pháp thay thế như probiotic hay chất kích thích miễn dịch đã được nghiên cứu nhưng hiệu quả còn phụ thuộc vào loài và điều kiện nuôi.

Vaccine được xem là giải pháp phòng bệnh chủ động hiệu quả và đã chứng minh tính thiết yếu trong giảm thiểu sử dụng kháng sinh tại nhiều quốc gia, như Anh và Na Uy [2, 3]. Trong đó, vaccine bất hoạt là lựa chọn phổ biến nhờ độ an toàn cao, chi phí hợp lý và khả năng kích thích miễn dịch dịch thể. Tuy nhiên, hiệu quả bảo hộ của vaccine phụ thuộc vào loài cá, chủng kháng nguyên, tá chất và phương pháp dẫn truyền.

Hiện nay, các phương pháp dẫn truyền vaccine đang được áp dụng rộng rãi bao gồm: tiêm cơ (Intramuscular injection - IM), tiêm xoang bụng (Intraperitoneal injection - IP), ngâm (immersion vaccination) và trộn vào thức ăn (oral vaccination). Mỗi phương pháp có ưu nhược điểm riêng, phù hợp với từng giai đoạn phát triển của cá, loại vaccine và điều kiện trang trại. Trong đó, tiêm vẫn là phương pháp cho hiệu quả bảo hộ cao và ổn định nhất. Tuy nhiên, đối

với cá, các phương pháp thay thế như ngâm, cho ăn hoặc kết hợp đa phương pháp (ngâm – ăn, ngâm – tiêm, tiêm – ăn) đang được tối ưu nhằm nâng cao hiệu quả miễn dịch, giảm chi phí và tăng tính khả thi trong sản xuất quy mô lớn [4].

Với mục tiêu sản xuất vaccine nội địa giá thành rẻ, phù hợp với tác nhân gây bệnh phân bố trên các loài cá nuôi tại Việt Nam, đề tài “Nghiên cứu sản xuất vaccine vô hoạt phòng bệnh do *Streptococcus iniae* trên cá chêm (*Lates calcarifer*)” được Bộ Nông nghiệp và Môi trường giao cho Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III thực hiện bắt đầu từ năm 2022. Đến nay, nhóm nghiên cứu đã sản xuất thành công vaccine vô hoạt SiV từ chủng vi khuẩn *S. iniae* SiTH1, đại diện cho các chủng phân lập từ cá chêm bệnh thu tại các vùng nuôi cá chêm trọng điểm trong cả nước. Vaccine SiV đã được thử nghiệm lâm sàng trên cá với kết quả an toàn 100%. Để có cơ sở khuyến cáo phương pháp sử dụng vaccine nhằm đem lại hiệu quả tốt nhất, nghiên cứu này thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của con đường dẫn truyền khác nhau đến hiệu quả bảo hộ của vaccine trên cá chêm, góp phần hoàn thiện qui trình sản xuất và sử dụng vaccine phòng bệnh do *Streptococcus iniae* trên cá chêm nuôi tại Việt Nam.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Vật liệu và điều kiện thí nghiệm

- Vaccine SiV là sản phẩm của đề tài “Nghiên cứu sản xuất vaccine vô hoạt phòng bệnh do *Streptococcus iniae* trên cá chêm (*Lates calcarifer*)”, thành phần gồm vi khuẩn *Streptococcus iniae* đã bất hoạt và tá chất, đang bảo quản tại Phòng Công nghệ sinh học và vaccine thủy sản- Viện nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản III.

- Cá thí nghiệm: Cá chêm giống mua từ Công ty TNHH đầu tư thủy sản Khánh Hoà, kích cỡ 8-10 cm, được kiểm tra ngẫu nhiên 3 mẫu xác định không nhiễm vi khuẩn *S. iniae*. Cá được nuôi thuần dưỡng 14 ngày trước khi thí nghiệm nhằm làm quen với hệ thống và điều kiện thí nghiệm,

theo dõi đảm bảo cá khỏe, hoạt động bình thường trước khi thí nghiệm. Cá thí nghiệm được cho ăn 2 lần/ngày bằng thức ăn công nghiệp (Công ty Cổ phần chăn nuôi C.P Việt Nam, protein: 40 - 46 %), khẩu phần 3% BW/ngày. Cá được bỏ đói 24 giờ và gây mê bằng Ethyleneglycol Monophenylether (Merck- Đức), nồng độ 100 ppm trong 2-3 phút trước khi tiêm thí nghiệm.

- Hệ thống bể và điều kiện thí nghiệm: Mỗi nghiệm thức nuôi trong một hệ thống bể composite hình chữ nhật (2,5 x 1,6 x 0,7 m), chia 3 ngăn, cho nước biển đã xử lý vào bể với mực nước nuôi 0,6 m, lắp hệ thống lọc sinh học tuần hoàn riêng, sục khí liên tục. Các yếu tố môi trường duy trì ổn định ở nhiệt độ 27-28°C; độ mặn 33‰, pH 8,2-8,4 trong suốt thời gian thí nghiệm.

2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm gồm 4 nghiệm thức tương ứng với các phương thức dẫn truyền khác nhau, cụ thể, nghiệm thức 1 (Ngâm - Ngâm) được gây miễn dịch 2 lần bằng phương pháp ngâm vaccine SiV (tỷ lệ 1:100 trong nước biển sạch, thời gian 4 phút, sục khí mạnh, toàn bộ cá thí nghiệm ngâm cùng lúc), nhắc lại sau 14 ngày; Nghiệm thức 2 (Ngâm- Tiêm) được gây miễn dịch lần đầu bằng cách ngâm như trên, sau 14 ngày, tiếp tục gây miễn dịch lần 2 bằng cách tiêm vaccine SiV vào xoang bụng với liều 0,1 mL/cá; Nghiệm thức 3 (Tiêm-Tiêm) được gây miễn dịch bằng cách tiêm vaccine SiV liều 0,1 mL/cá và tiêm nhắc lại sau 14 ngày; Nhóm đối chứng được tiêm hai liều PBS cách nhau 14 ngày, mỗi liều 0,1 mL/cá. Mỗi nghiệm thức gồm 315 con cá, chia vào 3 ngăn của hệ thống bể composite tuần hoàn như trên, mỗi ngăn có 105 con (tương ứng với 3 lần lặp). Tổng thời gian thí nghiệm là 194 ngày (kể cả thời gian theo dõi công cường độc ở mốc 6 tháng). Cá được cho ăn theo khẩu phần trên và ghi nhận hoạt động hàng ngày trong suốt thời gian thí nghiệm.

3. Phương pháp thu mẫu và đánh giá hiệu quả của vaccine

Hiệu quả của vaccine SiV sử dụng bằng các phương thức dẫn truyền khác nhau được đánh giá thông qua các chỉ tiêu miễn dịch gồm hiệu giá kháng thể, nồng độ kháng thể và hệ số bảo hộ trong điều kiện cảm nhiễm. Theo đó, tại mỗi thời điểm sau 2 lần gây miễn dịch là 30 ngày, 60 ngày và 180 ngày, cá thí nghiệm được thu mẫu huyết thanh phân tích thông số miễn dịch và thực hiện công cường độc, cụ thể như sau:

3.1. Thu huyết thanh

Vào thời điểm 30, 90, 180 ngày sau khi gây miễn dịch lần 2, tiến hành thu mẫu máu tại tĩnh mạch cuống đuôi, 0,2 mL máu/con. Số mẫu gồm 5 cá /lô thí nghiệm (ngăn), tương ứng 15 con/nghiệm thức với 3 lần lặp. Tiến hành ly tâm mẫu máu 10.000 rpm trong 10 phút/ 4°C, thu dịch nổi (huyết thanh). Bảo quản trong tủ âm -20°C sử dụng cho phân tích kháng thể.

3.2. Xác định hiệu giá kháng thể

Hiệu giá kháng thể trong huyết thanh của cá chēm được xác định theo phương pháp ngưng kết (Agglutinating antibody titre) của Roberson (1990) [5] có chỉnh sửa, theo đó, lấy 100 μ L huyết thanh cá chēm đã pha loãng (1:10) cho vào giếng đầu tiên đĩa 96 giếng. Từ giếng thứ 1, dùng pipet hút thả nhiều lần cho đều, hút 50 μ L cho vào giếng thứ 2, tiếp tục pha loãng theo hệ thống pha loãng 2 lần (2-fold serial dilution) trong dung dịch PBS. Cho 50 μ L dung dịch huyền phù vi khuẩn *S. iniae* SiTH1 nồng độ 10^8 CFU /mL vào mỗi giếng, lắc nhẹ và quan sát, ghi lại sự xuất hiện ngưng kết ở giếng có nồng độ huyết thanh thấp nhất.

3.3. Xác định hàm lượng kháng thể IgM

Hàm lượng kháng thể IgM được xác định bằng phương pháp i-ELISA theo phương pháp của Wang et al. (2000) [6], có chỉnh sửa. Đánh giá độ pha loãng phù hợp bằng kiểm định ELISA với mẫu huyết thanh pha loãng theo hệ thống pha loãng 2 lần, đã xác định tỷ lệ phù hợp là 1:3200; Các bước xác định hàm lượng kháng thể đặc hiệu IgM trên mẫu nghiên cứu bao gồm: vi khuẩn *S. iniae* chủng SiTH1 bất hoạt (40 μ g/mL) được phủ lên đĩa 96 giếng

(100 μ L/giếng), ủ qua đêm ở 4 °C. Sau đó, khoả các vị trí không liên kết bằng PBS-T chứa 3% Skim milk trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Huyết thanh cá chêm pha loãng 1:3200 được thêm vào 50 μ L/giếng, ủ 2 giờ. Tiếp theo là kháng thể đơn dòng Mouse anti-Asian seabass (F02-Aquatic diagnostics Ltd, pha loãng 1:40 trong PBS-T), ủ 2 giờ, rồi kháng thể đa dòng Polyclonal Rabbit anti-mouse Ig-HRP (Dako, pha loãng 1:2000 trong PBS-T), ủ 1 giờ. Giữa các bước đều rửa 3 lần bằng PBS-T. Phản ứng enzyme được kích hoạt bằng cơ chất O-Phenylenediamine trong đệm phosphate-citrate (50 μ L/giếng) và dừng sau 10 phút bằng 50 μ L H₂SO₄ 2.0 M. Mật độ quang được đo tại bước sóng 492 nm bằng máy đọc iMark (Bio-Rad).

3.4. Công cường độc và xác định hệ số bảo hộ

Chủng vi khuẩn *S.iniae* SiTH1 được nuôi tăng sinh trong môi trường BHI broth (Merck,

Đức) trong 36 giờ ở 30 °C, ly tâm dịch khuẩn loại bỏ môi trường nuôi và hoàn nguyên trong PBS, điều chỉnh đạt mật độ 10⁸ CFU/mL sử dụng cho tiêm cảm nhiễm.

Tại thời điểm 30, 90 và 180 ngày kể từ lần gây miễn dịch thứ hai, 30 con cá ở mỗi nghiệm thức sử dụng vaccine được cảm nhiễm bằng cách tiêm xoang bụng 0,1 mL vi khuẩn *S.iniae* SiTH1 với nồng độ 10⁸ CFU/mL; Cá đối chứng được tiêm PBS với liều tương tự, lặp lại 3 lần. Cá được theo dõi 3 giờ/lần để ghi nhận tỷ lệ chết, thời gian theo dõi kéo dài tối thiểu 14 ngày và kết thúc khi không còn cá chết trong 7 ngày liên tiếp. Tất cả cá chết, bao gồm cả cá tiêm vaccine và đối chứng, đều được giải phẫu, kiểm tra và phân lập vi khuẩn trên môi trường CS (CHROMagar Streptococcus, France) nhằm xác định nguyên nhân tử vong. Hệ số bảo hộ RPS được tính theo công thức sau:

$$RPS = \left(1 - \frac{\text{Tỷ lệ chết tích lũy ở nhóm cá sử dụng vaccine}}{\text{Tỷ lệ chết tích lũy ở nhóm cá đối chứng}}\right) \times 100 (\%)$$

4. Xử lý số liệu: Giá trị trung bình của các nghiệm thức thí nghiệm được so sánh sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P<0,05) bằng kiểm

định ANOVA one way và Tukey HSD Post-hoc test trên phần mềm SPSS 20.0. Số liệu trình bày là số trung bình \pm sai số chuẩn.

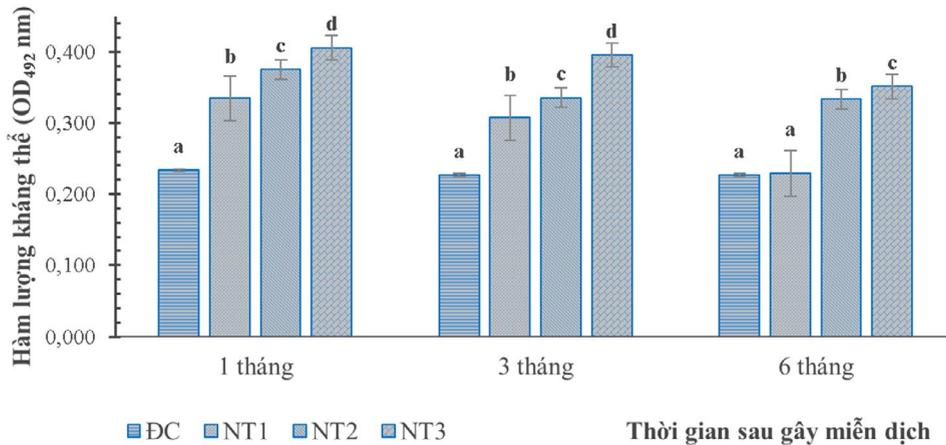
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Ảnh hưởng của phương pháp dẫn truyền vaccine SiV đến khả năng sinh kháng thể của cá chêm.

1.1. Hàm lượng kháng thể

Hàm lượng kháng thể đặc hiệu kháng *S.iniae* trong huyết thanh cá chêm sau gây miễn dịch lần hai bằng các phương pháp dẫn truyền khác nhau đều tăng rõ rệt so với đối chứng (ĐC) tại thời điểm 30 ngày. Trong đó, nghiệm thức NT3 (Tiêm -Tiêm) cho hiệu quả cao nhất với giá trị mật độ quang đo được là 0,405 tại bước sóng 492 nm. Sự khác biệt về hàm lượng kháng thể giữa các nghiệm thức NT1 (Ngâm - Ngâm), NT2 (Ngâm - Tiêm) và NT3 tại thời điểm này đều có ý nghĩa thống kê (P < 0,05). Tương tự vậy, tại mốc kiểm tra sau 3 tháng gây miễn dịch, ghi nhận thấy sự khác biệt rõ rệt về

hàm lượng kháng thể của cá thí nghiệm ở 4 NT (ĐC, NT1, NT2, NT3) (P<0,05). Tuy nhiên, ở mốc thời gian sau 6 tháng gây miễn dịch, hàm lượng kháng thể của cá nhóm ĐC và NT1 lại không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P>0,05), trong khi hàm lượng kháng thể của cá ở NT2 và NT3 cao hơn và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với NT1 và ĐC (P<0,05). Dựa vào kết quả trên có thể thấy, hàm lượng kháng thể của cá ở cả 3 NT thí nghiệm đều có xu hướng giảm dần. Tuy nhiên, phương pháp sử dụng vaccine bằng 1 liều ngâm kết hợp 1 liều tiêm (NT2) và 2 liều tiêm (NT3) đảm bảo hàm lượng kháng thể của cá tương đối ổn định hơn sau 6 tháng gây miễn dịch, lần lượt là 0,333 và 0,351 (Hình 1).



Hình 1. Biến động hàm lượng kháng thể IgM đặc hiệu kháng vi khuẩn *S. iniae* trong huyết thanh của cá chêm được gây miễn dịch bằng vaccine SIV (Các ký tự khác nhau biểu hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê; NT1: Ngâm-Ngâm, NT2: Ngâm -Tiêm, NT3: Tiêm- Tiêm, ĐC: Đối chứng)

1.2. Hiệu giá kháng thể

Tương tự như kết quả phân tích hàm lượng kháng thể trong huyết thanh, hiệu giá kháng thể trong huyết thanh cá chêm chống lại chủng vi khuẩn *Streptococcus iniae* (SiTH1) có sự biến động đáng kể phụ thuộc vào phương pháp dẫn truyền vaccine và thời gian sau khi kích thích miễn dịch. Tại thời điểm 30 ngày sau khi kích thích miễn dịch, tất cả các nghiệm thức đều cho thấy hiệu giá kháng thể tăng so với nhóm đối chứng. Ở nghiệm thức dẫn truyền bằng phương pháp tiêm hai lần, hiệu giá trong huyết thanh đạt cao nhất với chỉ số ngưng kết khoảng 1:147, vượt trội so với các nghiệm thức còn lại. Chỉ số này có thể được xem là tương đối cao khi so sánh với kết quả

thu được từ cá đã được gây miễn dịch bằng một số loại vaccine phòng bệnh do vi khuẩn khác [7]. Đến thời điểm 90 ngày sau kích thích miễn dịch, hiệu giá kháng thể ở tất cả các nghiệm thức có xu hướng giảm đáng kể, cụ thể giá trị chỉ số ngưng kết ở NT2 và NT3 giảm lần lượt còn 1:28 (NT2) và 1:74 (NT3) tương ứng giảm khoảng 50% so với đỉnh điểm tại ngày 30. Đáng chú ý, khi thí nghiệm kéo dài tới ngày 180 sau khi gây miễn dịch, chỉ còn NT2 và NT3 duy trì hiệu giá kháng thể ở mức cao lần lượt đạt (1:12) ở NT2 và (1:37) ở NT3, cả NT1, NT2, NT3 vẫn khác biệt có ý nghĩa so với đối chứng tại thời điểm 180 ngày ($P < 0,05$).

Bảng 1. Hiệu giá kháng thể của huyết thanh cá chêm đối với chủng *S. iniae* SiTH1

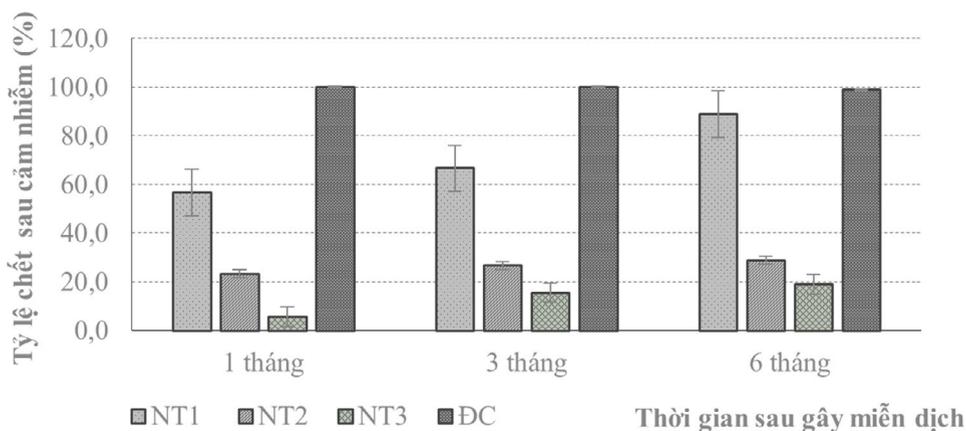
Nghiệm thức	Hiệu giá kháng thể Log ₂ (TB±SE, 5 cá/lô x 3 lần lặp)		
	30 ngày	90 ngày	180 ngày
ĐC	1,4 ^a ± 0,0	1,2 ^a ± 0,0	1,2 ^a ± 0,0
NT1 (Ngâm-Ngâm)	3,8 ^b ± 0,2	3,6 ^b ± 0,0	2,4 ^b ± 0,2
NT2 (Ngâm-Tiêm)	5,8 ^c ± 0,2	4,8 ^c ± 0,0	3,6 ^c ± 0,0
NT3 (Tiêm-Tiêm)	7,2 ^d ± 0,0	6,2 ^d ± 0,2	5,2 ^d ± 0,0

Ghi chú: Các ký tự khác nhau trên cùng cột biểu hiện sự sai khác có ý nghĩa về hiệu giá kháng thể của huyết thanh tại cùng thời điểm thu mẫu.

2. Ảnh hưởng của phương pháp dẫn truyền đến khả năng bảo hộ của vaccine SiV

Tại các mốc thời gian 30 ngày, 90 ngày và 180 ngày sau khi gây miễn dịch lần 2, 30 con cá thí nghiệm ở mỗi nhóm được công

cường độc với vi khuẩn *S.iniae* SiTH1 liều 0,1 mL dịch khuẩn 10^8 cfu/mL, theo dõi tỷ lệ chết tích lũy trong 14 ngày, kết quả cụ thể ở Hình 2 và Hình 4.



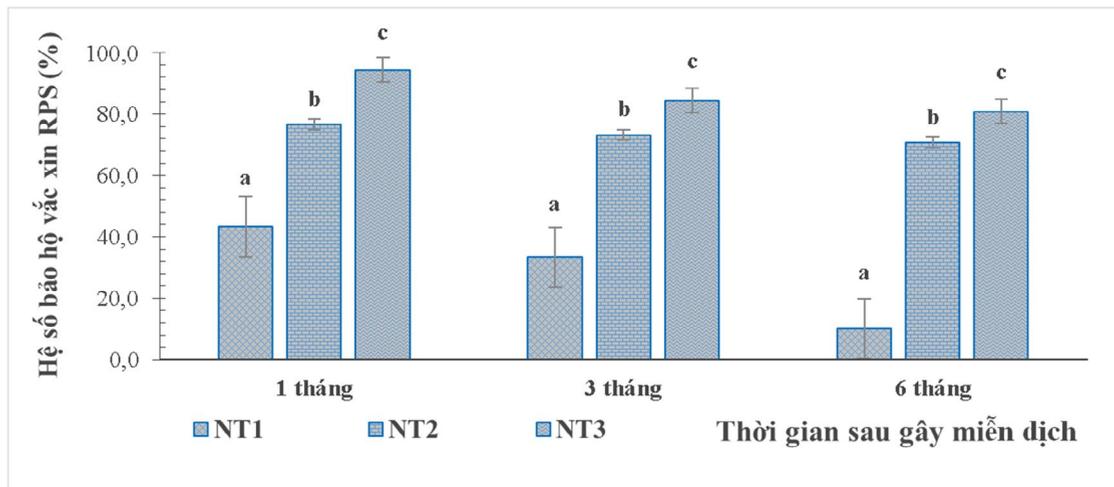
Hình 2. Tỷ lệ chết (%) của cá chēm sau khi gây miễn dịch bằng vaccine SiV và công cường độc tại các điểm thời điểm khác nhau (NT1: Ngâm-Ngâm; NT2: Ngâm-Tiêm; NT3: Tiêm-Tiêm; ĐC: đối chứng tiêm PBS)

Kết quả thí nghiệm công cường độc cho thấy, chỉ 12 giờ sau khi tiến hành gây cảm nhiễm bằng cách tiêm xoang bụng cá với 0,1 mL hỗn dịch vi khuẩn *Streptococcus iniae* chủng SiTH1 ở mật độ 10^8 CFU/mL, các cá thuộc nhóm đối chứng bắt đầu có biểu hiện ngừng bắt mồi, lơ dờ. Từ 24 giờ sau cảm nhiễm, tỷ lệ tử vong bắt đầu ghi nhận và tăng nhanh ở tất cả các đợt kiểm tra của cá đối chứng (30, 90 và

180 ngày sau gây miễn dịch). Các cá chết biểu hiện triệu chứng đặc trưng của bệnh do *S. iniae* gây ra, bao gồm mắt lồi, xuất huyết vùng gốc vây ngực và đuôi. Một số cá biểu hiện chướng bụng và tích dịch trong khoang bụng sau 36–72 giờ (Hình 3). Tỷ lệ chết tích lũy ở nhóm đối chứng tăng nhanh trong vòng 120 giờ đầu, đạt từ 98,9% đến 100% khi kết thúc thí nghiệm (Hình 2).



Hình 3. Cá chēm nhóm đối chứng bị bệnh lồi mắt, xuất huyết (A) sau cảm nhiễm và vi khuẩn *Streptococcus iniae* phân lập từ mắt cá bệnh trên môi trường CS (B).



Hình 4: Hệ số bảo hộ của cá chēm được gây miễn dịch bằng vaccine bất hoạt *S. iniae* (SiV) theo các phương pháp dẫn truyền khác nhau (Các ký tự khác nhau biểu hiện sự sai khác có ý nghĩa thống kê, NT1: Ngâm-Ngâm; NT2: Ngâm-Tiêm; NT3: Tiêm-Tiêm)

Hệ số bảo hộ của vaccine SiV bằng các phương thức sử dụng khác nhau được thể hiện ở Hình 4. Tại thời điểm 30 ngày sau khi kích thích miễn dịch, nghiệm thức NT3 cho thấy hiệu quả bảo hộ cao nhất, với hệ số bảo hộ đạt 94,4% (tỷ lệ chết tích lũy 5,6%). Đây cũng là mức bảo hộ cao nhất đạt được trong toàn bộ nghiên cứu. Trong khi đó, nhóm cá ở nghiệm thức NT2 và NT1 có tỷ lệ chết tích lũy cao hơn, lần lượt là 23,3% và 56,7%, tương ứng với hiệu quả bảo hộ là 76,7% và 43,3% (Hình 2, Hình 4).

Sau 90 ngày, khả năng bảo hộ của vaccine ở cả ba nghiệm thức đều giảm nhẹ. Nghiệm thức NT3 tiếp tục duy trì hiệu quả cao nhất (84,4%), với tỷ lệ chết tích lũy là 15,6%. NT2 đạt hiệu quả bảo hộ 73,3% (tỷ lệ chết tích lũy 26,7%), trong khi NT1 giảm mạnh chỉ còn 33,3% (Tỷ lệ chết tích lũy 66,7%).

Đến thời điểm 180 ngày, chỉ nghiệm thức NT3 vẫn duy trì được mức bảo hộ trên 80% (80,9%), trong khi NT2 giảm nhẹ xuống còn 70,8%. Đáng chú ý, hiệu quả bảo hộ ở nghiệm thức NT1 còn rất thấp, với tỷ lệ chết tích lũy lên đến 88,9%, tương ứng với RPS chỉ còn 10,1% (Hình 2, Hình 4).

IV. THẢO LUẬN

Kết quả nghiên cứu này cho thấy phương thức dẫn truyền vaccine SiV ở cá chēm có ảnh hưởng đến đáp ứng miễn dịch và hệ số bảo hộ của vaccine SiV. Trong thực nghiệm đánh giá khả năng kháng bệnh do *S.iniae*, hệ số bảo hộ RPS của phương pháp ngâm 2 liều (NT1) không cao, sau 1 tháng gây miễn dịch là 43,3%, sau 3 tháng là 33,3% và giảm mạnh còn 10,1% sau 6 tháng gây miễn dịch. Trong khi đó, với phương pháp 1 liều ngâm kết hợp 1 liều tiêm (NT2) và tiêm 2 liều (NT3) cho kết quả hệ số bảo hộ sau 6 tháng gây miễn dịch tương đối cao, trên 70%. Riêng phương pháp tiêm 2 mũi vaccine có hệ số bảo hộ cao nhất sau 1 tháng gây miễn dịch (94,4%) và giảm dần sau 3 tháng và 6 tháng lần lượt là 84,4% và 80,9%. Phép so sánh giá trị RPS của các nghiệm thức tại cùng 1 thời điểm đều có ý nghĩa về mặt thống kê ($P < 0,05$). Tổng hợp cả ba thời điểm, các nghiệm thức NT2 và NT3 đều duy trì hiệu quả bảo hộ trên mức ngưỡng quy ước RPS $\geq 60\%$, được chấp nhận theo tiêu chuẩn đánh giá hiệu lực vaccine của cá do Ủy hội Châu Âu (Commission of the European Communities) [8].

Các nghiên cứu khác về đánh giá phương

thức dẫn truyền vaccine cho cá cũng có kết quả tương tự. Cũng trên đối tượng cá chêm giống (100 g/con), Erfanmanesh *et al*, 2024 [9] đã thí nghiệm đánh giá hiệu quả của vaccine bất hoạt nhĩ giá (*S. iniae* và *V. harveyi*, nồng độ kháng nguyên 10^{10} CFU/mL) gây miễn dịch 1 lần bằng phương pháp ngâm (tỷ lệ 1:10 trong 2 phút) và tiêm xoang bụng (0,1 mL/con). Kết quả cho thấy phương thức dẫn truyền vaccine có ảnh hưởng rõ rệt đến phản ứng miễn dịch của cá chêm. Cụ thể, hàm lượng kháng thể đặc hiệu đối với vi khuẩn *S.iniae* trong huyết thanh của cá tiêm vaccine tại thời điểm 30 và 60 ngày đều cao hơn có ý nghĩa so với phương pháp ngâm (giá trị đo bằng ELISA, OD₄₉₀ ghi nhận 1,813 và 1,343 tại 30 và 60 ngày sau khi tiêm so với 1,015 và 0,900 sau khi ngâm), tuy nhiên, lại không khác biệt về hàm lượng kháng thể giữa thời điểm 30 ngày so với 60 ngày ở mỗi phương thức sử dụng vaccine ($P>0,05$). Khả năng bảo hộ của vaccine sau 60 ngày ở nhóm cá khi được tiêm vaccine tương đối cao, tỷ lệ sống sót sau công cường độc đạt 83,3% cao hơn so với khi ngâm vaccine, chỉ đạt 56,6%. Theo đó, có thể khẳng định, phương thức dẫn truyền vaccine bằng phương pháp tiêm luôn đem lại hiệu quả bảo hộ cao hơn phương pháp ngâm [9]. Một nghiên cứu tương tự trên cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) khi thử nghiệm vaccine đa giá (ME-VAC Aqua Strept, vaccine bất hoạt chứa 4 loại vi khuẩn kháng nguyên, gồm *Streptococcus agalactiae*, *S. iniae*, *Lactococcus garvieae* và *Enterococcus faecalis*, tá dược Montanide IMS 1312 VG). Thử nghiệm vaccine đa giá này cho cá rô phi bố mẹ (500 g/con) qua đường tiêm xoang bụng (thiếu thông tin về liều tiêm và nồng độ kháng nguyên), kết quả ghi nhận hiệu giá kháng thể đặc hiệu (log 2) ở đàn cá sử dụng vaccine khoảng từ 9.38 đến 10.88, cao hơn so với nhóm đối chứng (4.25) gây miễn dịch bằng nước muối sinh lý ($P < 0.05$). Ở giai đoạn giống 1 tháng tuổi (thiếu thông tin cỡ cá), bằng cách

ngâm trong vaccine với tỷ lệ pha loãng 1:10 trong 2 phút, kết quả đã ghi nhận kháng thể đặc hiệu với vi khuẩn kháng nguyên *S. iniae* đạt 5,3 (log 2) và hệ số bảo hộ RPS là 70% sau 3 tháng gây miễn dịch bằng vaccine trên [10]. So sánh với kết quả nghiên cứu này trên cá chêm (8-10 cm), ở nhóm cá gây miễn dịch bằng phương pháp ngâm (2 lần ngâm, nồng độ kháng nguyên 10^{10} CFU/mL, tỷ lệ pha loãng 1:100), hiệu giá kháng thể ở thời điểm 3 tháng chỉ đạt 3,6 (log 2) và RPS là 43,3%, thấp hơn so với kết quả nghiên cứu trên cá rô phi. Lý giải cho kết quả khác biệt này là do loài, cỡ cá thí nghiệm, nồng độ, tỷ lệ pha loãng vaccine khác nhau đã có ảnh hưởng đến hiệu quả của vaccine. Tuy nhiên, việc duy trì hiệu quả bảo hộ cao sau 3 tháng đến 70% bằng phương thức ngâm vaccine 1 lần cũng là một kết quả nhiều khác biệt.

Evans và cộng sự đã đánh giá hiệu quả vaccine bào chế từ vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* bất hoạt bằng formalin và sản phẩm ngoại bào lớn hơn 3 kDa trên cá rô phi (*Oreochromis niloticus*). Thí nghiệm gây miễn dịch bằng hai phương pháp: tiêm xoang bụng và ngâm, áp dụng cho cá 30 g ở nhiệt độ 26°C và 32°C. Kết quả cho thấy, sau 30 ngày gây miễn dịch và công độc bằng tiêm vi khuẩn *S. agalactiae*, hệ số bảo hộ RPS ở phương pháp tiêm vaccine đạt 80 %, trong khi phương pháp ngâm vaccine chỉ đạt RPS 34%. Qua đó, tác giả cho rằng, phương pháp tiêm cho hiệu quả bảo hộ cao ở cá lớn (30g) mà không phụ thuộc nhiệt độ, trong khi ngâm chỉ đạt khoảng một nửa hiệu quả so với tiêm [11].

Với nhiều công trình nghiên cứu tương tự đều đã chỉ ra rằng vaccine bất hoạt khi được dẫn truyền bằng phương pháp tiêm, đặc biệt là tiêm xoang bụng thường tạo ra đáp ứng miễn dịch mạnh và kéo dài hơn so với phương pháp ngâm [9, 10, 11]. Sự khác biệt về hiệu quả này bắt nguồn từ các cơ chế hấp thụ kháng nguyên, bản chất đáp ứng miễn dịch được kích

hoạt, cũng như liều lượng và đường phân phối kháng nguyên vào cơ thể. Về mặt sinh lý miễn dịch, hiệu quả đáp ứng phụ thuộc chủ yếu vào (1) tổng lượng kháng nguyên mà cơ thể tiếp nhận và (2) mức độ phức tạp cấu trúc của kháng nguyên (ví dụ như tính đa dạng epitop và khả năng hoạt hóa các tế bào trình diện kháng nguyên - APCs). Khi tiêm xoang bụng, toàn bộ thể tích vaccine thường được kết hợp với tá chất (adjuvant) được đưa trực tiếp vào khoang cơ thể, đảm bảo lượng kháng nguyên đạt ngưỡng đủ để kích hoạt mạnh mẽ các hệ thống miễn dịch dịch thể (humoral immunity) lẫn miễn dịch tế bào (cell-mediated immunity). Đồng thời, tá chất còn giúp kéo dài thời gian tiếp xúc giữa kháng nguyên và hệ thống miễn dịch, tạo ra một phản ứng bền vững hơn.

Ngược lại, phương pháp ngâm vốn dựa trên khả năng hấp thụ thụ động qua bề mặt niêm mạc (mucosal surfaces) như mang, da, mắt và ống tiêu hóa. Tuy nhiên, lớp biểu mô của các cơ quan này có khả năng hấp thụ rất hạn chế, đặc biệt với các phức hợp kháng nguyên kích thước lớn hoặc có cấu trúc không phù hợp. Bên cạnh đó, quá trình ngâm chỉ cho phép tiếp xúc kháng nguyên trong một thời gian rất ngắn (thường chỉ vài phút), dẫn đến khả năng hấp thụ thấp và phân bố không đồng đều. Hơn nữa, các vaccine ngâm chủ yếu kích hoạt miễn dịch niêm mạc tại chỗ (local mucosal immunity), vốn có cường độ và độ bền thấp hơn nhiều so với miễn dịch toàn thân (systemic immunity) được tạo ra bởi phương pháp tiêm.

Một khía cạnh khác không thể bỏ qua là yếu tố thực tiễn khi áp dụng trong quy mô sản xuất. Phương pháp tiêm, mặc dù hiệu quả về mặt miễn dịch, lại đòi hỏi nhân lực, thời gian và kỹ thuật thao tác cao. Cá phải đạt kích cỡ lớn (> 15 g hoặc > 8 cm), được gây mê trước tiêm, quá trình tiêm dễ gây tổn thương mô, stress sinh lý, hoặc thậm chí tử vong nếu không được thực hiện đúng kỹ thuật. Trong khi đó, phương pháp ngâm đơn giản, tiết kiệm thời gian, chi

phí thấp, ít gây tổn thương và có thể áp dụng đồng loạt trên cá giống có khối lượng nhỏ, vốn rất khó thao tác tiêm.

Tuy nhiên, nhằm tăng hiệu quả của vaccine ngâm, những cải tiến gần đây như tăng thời gian ngâm, xử lý tiền ngâm bằng thẩm thấu ngược, siêu âm tần số thấp, sử dụng nano-vaccine hoặc vaccine DNA, phủ kháng nguyên bằng polymer tích điện dương (ví dụ như chitosan) nhằm tăng khả năng bám dính lên bề mặt niêm mạc... đã giúp cải thiện đáng kể khả năng hấp thụ và đáp ứng miễn dịch. Một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, kết hợp các phương pháp dẫn truyền, chẳng hạn ngâm lần đầu và tiêm nhắc lại, hoặc ngâm kết hợp cho ăn vaccine, có thể tối ưu hóa hiệu quả bảo hộ, kéo dài thời gian miễn dịch, đồng thời vẫn đảm bảo an toàn và khả thi trong sản xuất quy mô lớn [12, 13].

Tóm lại, mỗi phương pháp dẫn truyền vaccine có những ưu điểm và hạn chế riêng. Việc lựa chọn phương pháp phù hợp cần cân nhắc kỹ lưỡng dựa trên nhiều yếu tố: đặc điểm loài nuôi, giai đoạn phát triển, tính chất kháng nguyên, mục tiêu miễn dịch (tại chỗ hay toàn thân), điều kiện sản xuất và chi phí. Trong bối cảnh nuôi trồng thủy sản công nghiệp hóa, chiến lược vaccine hiệu quả không chỉ dựa vào công thức vaccine mà còn phụ thuộc vào kỹ thuật và cách thức đưa vaccine vào cơ thể vật nuôi một cách tối ưu.

V. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT Ý KIẾN

Phương thức dẫn truyền có ảnh hưởng đến khả năng sinh miễn dịch và hệ số bảo hộ của vaccine SiV ở cá chêm kháng lại vi khuẩn *Streptococcus iniae*. Hiệu giá và hàm lượng kháng thể, cũng như khả năng bảo hộ của cá đều giảm dần theo thời gian. Phương pháp tiêm nhắc lại đạt hiệu quả bảo hộ cao nhất (94,4%) tại 30 ngày sau gây miễn dịch và duy trì trên 80% đến 180 ngày. Phương pháp ngâm tiêm kết hợp cũng cho kết quả bảo hộ tương đối cao (70,8% -76,7%). Ngược lại, ngâm đơn thuần chỉ tạo đáp ứng miễn dịch thấp và bảo hộ

không bền vững.

Kết quả nghiên cứu cho thấy phương pháp tiêm hoặc ngâm kết hợp tiêm mang lại hiệu quả bảo hộ cao và bền vững, do đó nên được ưu tiên áp dụng trong thực tiễn sản xuất vaccine cho cá chêm. Tuy nhiên, để tăng tính khả thi trên quy mô lớn, cần nghiên cứu thêm các khía cạnh như: tối ưu lịch trình ngâm-tiêm đồng thời nghiên cứu mật độ ngâm thích hợp gắn liền với hiệu quả kinh tế, cải tiến tá chất phù hợp cho vaccine ngâm, hoặc ứng dụng công nghệ mới như nano-vaccine nhằm nâng cao khả năng hấp thu và kéo dài miễn dịch. Đồng

thời, việc đánh giá hiệu quả vaccine trong điều kiện nuôi thương phẩm ngoài tự nhiên cũng là cần thiết để hoàn thiện quy trình ứng dụng vào sản xuất đại trà.

Lời cảm ơn

Báo cáo trên là một phần kết quả thuộc đề tài “Nghiên cứu chế tạo vaccine vô hoạt phòng bệnh do *Streptococcus iniae* ở cá chêm *Lates calcarifer*”, do Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đã cấp kinh phí và Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản III chủ trì thực hiện. Xin tỏ lòng biết ơn đến sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài và cho phép sử dụng số liệu từ nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Creeper JH, & Buller NB (2006). An outbreak of *Streptococcus iniae* in barramundi (*Lates calcarifera*) in freshwater cage culture. *Australian Veterinary Journal*, 84 (11).
2. O'Neill J (2015). Antimicrobials in Agriculture and the Environment: Reducing Unnecessary Use and Waste.
3. World Health Organization (2015). *Norway: National strategy against antibiotic resistance* [Publication]. WHO. Retrieved [14/7/2025], from <https://www.who.int/publications/m/item/norway-national-strategy-against-antibiotic-resistance>
4. Rathor G S, & Swain B (2024). Advancements in fish vaccination: Current innovations and future horizons in aquaculture health management. *Applied Sciences*, 14(13), 5672.
5. Roberson BS (1990). Bacterial agglutination. *Techniques in fish immunology*. Stolen JS, Fletcher TC, Anderson DP, Roberson BS, WBvan Muiwinkel (eds). *SOS publications, 43 DeNormandie Ave, Fair Haven, NJ 07704-3303 USA*.
6. Wang Q, Fu T, Li X, Luo Q, Huang J, Sun Y, Wang X (2020). Cross-immunity in Nile tilapia vaccinated with *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae* vaccines. *Fish and Shellfish Immunology*, 97: 382-389.
7. Eldar A, Horovitz A, Bercovier H (1997). Development and efficacy of a vaccine against *Streptococcus iniae* infection in farmed rainbow trout. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 56: 175-183.
8. Commission of the European Communities (1998). Specific requirements for the production and control of live and inactivated vaccines intended for fish. In *The rules governing medicinal products in the European Union. Volume VII: Guidelines for the testing of veterinary medicinal products* (pp. 245–250).
9. Erfanmanesh A, Beikzadeh B, Khanzadeh M, Alishahi M (2024). Immuno-protective response of Asian seabass (*Lates calcarifer*) to inactivated vaccines against *Streptococcus iniae* and *Vibrio harveyi*. *BMC Vet Res*, 20(1):89.
10. Nermeen M. Abu-Elala, Ahmed Samir, Momtaz Wasfy, Magdy Elsayed (2019). Efficacy of injectable and immersion polyvalent vaccine against streptococcal infections in broodstock and offspring of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & shellfish immunology*, 88, 293-300.
11. Evans J J, Klesius P H, Shoemaker C A (2004). Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration. *Vaccine*, 22(27-28): 3769-73.
12. Lan NGT, Dong HT, Vinh NT, Senapin S, Shinn AP, Salin KR, Rodkhum C (2024). Immersion prime and oral boost vaccination with an inactivated *Vibrio harveyi* vaccine confers a specific immune response and protection in Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Fish Shellfish Immunol*, 144:1092-93.
13. Thune R L, Collins L A, Peña M P (1997). A comparison of immersion, immersion/oral combination and injection methods for the vaccination of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) against *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 28(2): 193–201.