

## KHẢ NĂNG ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH CỦA CÁ TRA (*PANGASIANODON HYPOPHthalmus*) CHỐNG LẠI *EDWARDSIELLA ICTALURI*

Từ Thanh Dung, Trần Hoa Cúc, Nguyễn Hoàng Nhật Uyên và Mã Lê Diễm Trang<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Bệnh học Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 12/01/2013

Ngày chấp nhận: 20/06/2013

### Title:

The immune response ability of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) against *Edwardsiella ictaluri*

### Từ khóa:

Cá tra, *Pangasianodon hypophthalmus*, kháng thể, *Edwardsiella ictaluri*, vắc-xin

### Keywords:

Catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*, antibody, *Edwardsiella ictaluri*, vaccine

### ABSTRACT

A study on specific immune response of catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) against *Edwardsiella ictaluri* was carried out in the field trial and the wet-lab. Microagglutination test was used to quantify specific antibody levels. From farm observations, results of examination on 419 serum samples of catfish showed that infected fish had low antibodies at 1.7, which demonstrated that striped catfish had antibody response against *E. ictaluri* but at low antibody levels, and short immunity duration, whereas in the wet-lab, antibody levels were evaluated during 15 weeks after vaccination. The results showed a significant increase in the antibody levels (>9.5) of vaccinated group (at  $p < 0.05$ ). Similarly to infections from the farm observations, although significantly increasing after *E. ictaluri* infections, antibody levels of control group were still significantly lower than vaccinated group (>10). In the vaccinated field trial, antibody levels assessed every 10 days during the culture cycle. Results found that antibody levels increased significantly at the vaccinated group after the first 10 days (>9) and remained high (>7) compared with control groups (<4). These showed that vaccinated fish had high antibody levels and long term immunity than natural infections.

### TÓM TẮT

Đề tài thực hiện nhằm nghiên cứu sự đáp ứng miễn dịch đặc hiệu của cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) sau khi nhiễm *Edwardsiella ictaluri* ở ao nuôi và điều kiện cảm nhiễm. Phương pháp vi ngưng kết kháng thể được sử dụng để xác định kháng thể đặc hiệu. Ở ao nuôi, kết quả kiểm tra từ 419 mẫu huyết thanh cá cho thấy: khi cá đang nhiễm bệnh kháng thể tăng ở mức thấp (1,7). Kết quả này cho thấy, cá tra ngoài tự nhiên có đáp ứng kháng thể chống lại vi khuẩn *E. ictaluri* ở mức thấp và thời gian miễn dịch ngắn. Trong khi đó ở điều kiện cảm nhiễm, kháng thể của cá được đánh giá suốt 15 tuần sau tiêm vắc-xin. Kết quả, cá sau tiêm vắc-xin có sự tăng kháng thể (>9,5) đáng kể so với đối chứng (ở  $p < 0.05$ ). Tương tự, khi bệnh do *E. ictaluri* xảy ra ngoài ao nuôi, kháng thể ở nhóm đối chứng gia tăng sau khi nhiễm bệnh nhưng vẫn thấp hơn nhiều so với nhóm cá tiêm vắc-xin (>10). Trong ao nuôi thực nghiệm có tiêm vắc-xin, kháng thể được đánh giá sau mỗi 10 ngày, thu mẫu kiểm tra kháng thể suốt chu kỳ nuôi. Kết quả nhận thấy, kháng thể tăng cao có ý nghĩa sau 10 ngày đầu tiên ở nhóm tiêm vắc-xin (>9) và luôn duy trì mức cao (>7) so với nhóm đối chứng (<4) trong suốt chu kỳ nuôi. Kết quả nghiên cứu này cho thấy, cá tra sau tiêm vắc-xin có đáp ứng kháng thể ở mức cao và thời gian miễn dịch dài hơn so với đối chứng.

## 1 GIỚI THIỆU

Vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* là tác nhân gây thiệt hại nghiêm trọng đến nền công nghiệp nuôi cá da trơn ở nhiều nước trên thế giới. Đây là loại vi khuẩn đặc thù gây bệnh chủ yếu trên cá da trơn nuôi công nghiệp. Theo Mitchell (1997) vi khuẩn *E. ictaluri* cũng là tác nhân gây bệnh nhiễm trùng máu ở cá nheo Mỹ, gây hao hụt trên 60% và thiệt hại trên 50 triệu USD hàng năm. Ở Việt Nam, Crumlish *et al.* (2002) đã xác định tác nhân gây bệnh gan, thận mù trên cá tra là do *E. ictaluri*. Bệnh có thể xảy ra trên tất cả các giai đoạn nuôi, tỷ lệ hao hụt cao từ 10-90% ở giai đoạn cá hương giống (Tư Thanh Dung và *ctv.*, 2004). Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về đặc điểm độc lực, đặc tính gây bệnh, con đường lan truyền (Hawke, 1979; Morrison and Plumb, 1994; Earlix, 1995), cũng như khả năng đáp ứng miễn dịch của cá nheo chống lại *E. ictaluri* (Plumb *et al.*, 1986; Thune *et al.*, 1997; Camp *et al.*, 2000). Nhiều công trình trên thế giới đã nghiên cứu việc ứng dụng vắc-xin trong việc phòng bệnh cho các loài cá nuôi (Sommerset *et al.*, 2005). Tuy nhiên, ở nước ta nghiên cứu về khả năng đáp ứng miễn dịch của cá tra đối với vi khuẩn *E. ictaluri* thì rất ít và rời rạc. Nghiên cứu này nhằm đánh giá sự biến động kháng thể đặc hiệu bảo vệ cá tra (*Pangasianodon*

*hypophthalmus*) chống lại vi khuẩn *E. ictaluri* trên cá tra nhiễm bệnh tự nhiên, cá được tiêm vắc-xin trong phòng thí nghiệm và ao thực nghiệm.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Địa điểm, bố trí thí nghiệm và nhập thu mẫu kiểm tra kháng thể cá tra

#### Kiểm tra kháng thể cá tra ngoài ao nuôi

Để kiểm tra kháng thể của cá tra ngoài ao nuôi tự nhiên, tổng cộng 419 mẫu cá được thu huyết thanh từ 25 ao cá tra nuôi thương phẩm ở một số tỉnh ở đồng bằng sông Cửu Long như: Cần Thơ, Đồng Tháp và Tiền Giang (Bảng 1). Cá được thu mẫu huyết thanh ngẫu nhiên 5-10 con/ao (trọng lượng >20 g) ở các thời điểm ao nuôi: chưa nhiễm bệnh, đang nhiễm bệnh và sau nhiễm bệnh 1, 2 và 3 tháng. Trong đó, ao cá bệnh (3 ao) và ao cá khỏe (3 ao) được thu mẫu định kỳ mỗi tháng/lần từ khi bệnh bộc phát, trong vòng 4 tháng. Ao cá bệnh được nhận biết khi cá bắt đầu có biểu hiện giảm ăn, lơ dờ, da và mang nhợt nhạt, nội tạng xuất hiện rải rác vài đốm trắng, sau đó số lượng và kích cỡ đốm trắng tăng dần. Cá bệnh nặng sẽ bắt đầu chết và tăng trong vài ngày sau.

**Bảng 1: Thời gian, địa điểm và số lượng cá thu mẫu**

Địa điểm	Tổng số ao cá tra	Số ao cá nhiễm E.i	Số ao cá khỏe	Số lượng cá thu mẫu	Số lượng cá nhiễm E.i
Cần Thơ	16	10	6	292	32
Tiền Giang	3	3	0	25	19
Đồng Tháp	6	5	1	102	34
Tổng cộng	25	18	7	419	87

#### Thí nghiệm kiểm tra kháng thể cá tra có tiêm vắc-xin trong phòng thí nghiệm

Thí nghiệm này được bố trí trong phòng thí nghiệm (wet-lab) của Bộ môn Bệnh học Thủy sản, khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ. Cá tra giống (trọng lượng  $15 \pm 2$  g) được bố trí trên bể 500 L và chia thành 2 nghiệm thức: tiêm vắc-xin và đối chứng (không tiêm vắc-xin). Số lượng cá ở mỗi nghiệm thức là 200 con/bể. Nghiệm thức có tiêm vắc-xin ALPHA JECT<sup>®</sup> Panga 1 (Pharmaq, Na-uy),

liều lượng 0,05 mL/cá. Thu mẫu huyết thanh 6 con/nghiệm thức ở các tuần thứ 1, 2, 3, 7, 9, 12 và 15 sau tiêm vắc-xin.

Để so sánh sự biến động kháng thể trên cá tra nhiễm bệnh do *E. ictaluri* ngoài ao nuôi và có tiêm vắc-xin trong phòng thí nghiệm, sau 3 tuần tiêm vắc-xin 90 cá ở mỗi nghiệm thức được gây cảm nhiễm với *E. ictaluri* ( $0,75.10^4$  CFU/cá). Thu mẫu huyết thanh 6 con/mỗi nghiệm thức ở các tuần thứ 1, 3 và 6 sau cảm nhiễm.

**Thực nghiệm kiểm tra kháng thể cá tra có tiêm vắc-xin ngoài ao nuôi**

Ao thí nghiệm vắc-xin được bố trí ở tỉnh An Giang. Diện tích ao 9000 m<sup>2</sup> được chia thành 4 ô bằng lưới chắn: 2 ô có tiêm vắc-xin và 2 ô đối chứng, không tiêm vắc-xin (loại và liều lượng vắc-xin giống thí nghiệm ở wet-lab). Mật độ cá thí nghiệm 40 con/m<sup>2</sup>. Tổng cộng 220 mẫu cá tra có tiêm vắc-xin và đối chứng (trọng lượng > 28 g) cũng được thu mẫu huyết thanh trong suốt chu kỳ nuôi. Tiến hành thu mẫu huyết thanh 10 con/lần ở mỗi thí nghiệm thức vào các giai đoạn: trước tiêm vắc-xin và sau tiêm vắc-xin 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 110, 140 và 170 ngày.



**Hình 1: A) Phương pháp lấy máu cá tra từ động mạch đuôi  
B) Máu cá sau khi ly tâm để lấy huyết thanh**

**Chuẩn bị kháng nguyên (vi khuẩn *E. ictaluri* bất hoạt)**

Sau khi được nuôi tăng sinh trong môi trường BHI (Merck) lỏng, vi khuẩn *E. ictaluri* được bất hoạt bằng formol (Merck) 2% và giữ trong ngăn mát tủ lạnh 24 giờ. Sau đó, dung dịch vi khuẩn được ly tâm 3500 vòng/phút trong 15 phút để rửa sạch formol bằng nước muối sinh lý tiệt trùng, thao tác được lặp lại 2-3 lần. Vi khuẩn sau khi bất hoạt được bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh hoặc ở tủ âm 20°C để xác định hiệu giá kháng thể.

**Xác định hiệu giá kháng thể trong huyết thanh cá thí nghiệm**

Trong nghiên cứu này, hiệu giá kháng thể trong huyết thanh cá thí nghiệm được xác định bằng phản ứng vi ngưng kết kháng nguyên-kháng thể trên các đĩa nhựa (microplate) 96 giếng theo phương pháp của Roberson *et al.* (1990). Cho 25 µL huyết thanh vào giếng số 1 và 2. Từ giếng số 2 trở đi pha loãng huyết

**2.2 Phương pháp xác định hiệu giá kháng thể**

**Thu mẫu máu và huyết thanh cá thí nghiệm**

Mẫu cá được thu ngẫu nhiên từ hệ thống ao nuôi và các thí nghiệm ở trên (Mục 2.1). Trước khi thu mẫu máu, cá được gây mê với benzocain (nồng độ 100 ppm trong 1 - 2 phút). Dùng kim tiêm 1mL tiệt trùng để lấy máu từ động mạch chủ ở cột sống (Houston, 1990) (Hình 1A). Cho máu vào ống eppendorf 1,5 mL, để yên và giữ lạnh ở 4°C, sau 2 - 3 giờ ly tâm 6.000 vòng/phút trong 5 phút. Lấy phần huyết thanh (Hình 1B) cho vào ống eppendorf sạch và xác định hiệu giá kháng thể hoặc trữ lạnh (-20°C).

thanh bằng nước muối sinh lý với nồng độ pha loãng 1/2. Cuối cùng cho 25 µL dung dịch vi khuẩn bất hoạt (kháng nguyên) vào các giếng rồi trộn đều. Để yên 7-8 giờ ở nhiệt độ phòng rồi đọc kết quả trong vòng 24 giờ. Đọc kết quả: dương tính (+): đáy giếng tạo thành một lớp ngưng kết trải rộng; âm tính (-): ở đáy giếng chỉ có một chấm tròn nhỏ màu trắng.

**2.3 Phương pháp xử lý số liệu**

Sử dụng chương trình Anova một nhân tố của phần mềm SPSS 16.0 để đánh giá sự khác biệt hiệu giá kháng thể ở các thời điểm thu mẫu khác nhau và của hai thí nghiệm thức cá được tiêm vắc-xin và đối chứng.

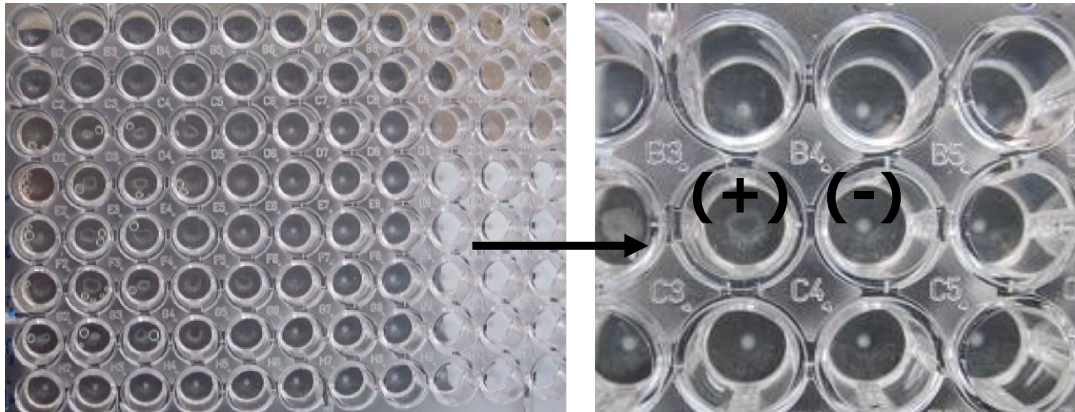
**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Hiệu giá kháng thể trong ao nuôi thương phẩm**

Bệnh gan thận mù trên cá tra nuôi công nghiệp ở đồng bằng sông Cửu Long do vi khuẩn *E. ictaluri* gây ra dù đã được phát hiện

cách đây hơn 10 năm nhưng thiệt hại do nó gây ra đến nay vẫn chưa được ngăn chặn. Gan, thận, tỷ tạng có đốm trắng là các dấu hiệu lâm sàng thường được ghi nhận. Bệnh thường xuất hiện trên cá giống và có thể bùng phát nhiều lần trong chu kì nuôi (trên 3-4 lần) (Tùng Thanh Dung và ctv., 2004). Do đó, việc thu mẫu

thường xuyên để đánh giá hiệu giá kháng thể của cá tra đối với vi khuẩn *E. ictaluri* ở nhiều thời điểm ngoài ao nuôi là rất cần thiết. Kết quả là 419 cá từ 25 ao nuôi cá tra ở địa bàn các tỉnh Cần Thơ, Tiền Giang và Đồng Tháp đã được thu mẫu để đánh giá hiệu giá kháng thể đặc hiệu đối với vi khuẩn *E. ictaluri* (Hình 2).



**Hình 2: Kết quả phản ứng vi ngưng kết: (+) kết quả dương tính, (-) kết quả âm tính**

**Kháng thể cá tra ở thời điểm cá chưa nhiễm bệnh và đang nhiễm bệnh**

Ngoài ao nuôi khi chưa có bệnh do *E. ictaluri* xảy ra, cá tra có hiệu giá kháng thể ở mức rất thấp (<0,5). Tuy nhiên, khi có bệnh do *E. ictaluri* xảy ra, hiệu giá kháng thể từ các ao cá tra đang trong thời điểm nhiễm bệnh có sự gia tăng nhưng tương đối thấp, trung bình là 1,7 (Hình 3). Kết quả này tương tự Bricknell *et al.* (1999) ghi nhận trên cá hồi nhiễm tự nhiên *Aeromonas salmonicida* thì lượng kháng thể tăng không vượt quá 5. Tuy nhiên, một số cá thể có hiệu giá kháng thể lớn hơn 5 và vượt trội so với các cá thể khác cùng đàn. Thực tế, ao có hiện diện những cá thể có hiệu giá kháng thể lớn hơn 5 đều trải qua 2-3 đợt dịch bệnh liên tiếp trong 1 tháng nên kháng thể thứ phát đã có thời gian hình thành.

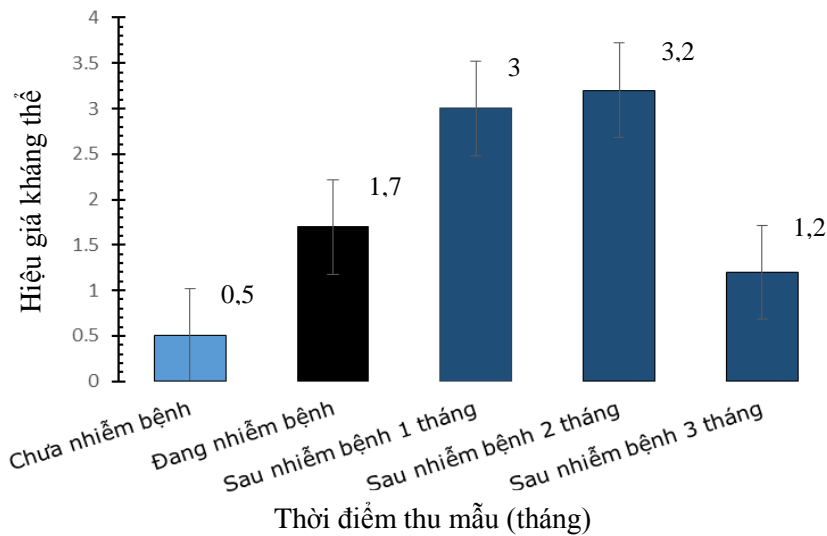
**Kháng thể cá tra ở thời điểm 1 và 2 tháng sau khi nhiễm bệnh**

Trong suốt thời gian theo dõi và thu mẫu từ 4 ao cá sau nhiễm bệnh nhận thấy: hiệu giá trung bình tăng cao đạt 3 sau 1 tháng, khác biệt có ý nghĩa ( $p < 0,05$ ) so với lúc đang nhiễm bệnh và chưa nhiễm bệnh. Lượng kháng thể

này đạt mức cao nhất ở 3,2 sau 2 tháng nhưng khác biệt không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) so với thời điểm sau 1 tháng. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Phạm Công Thành (2010) khi khảo sát đáp ứng miễn dịch của cá tra nhiễm *E. ictaluri*. Cá tra khi gây nhiễm *E. ictaluri* trong ao đất ngoài tự nhiên thì kháng thể hình thành chậm hơn trong phòng thí nghiệm, sau 50 ngày từ khi nhiễm bệnh lần 3 mức kháng thể cao nhất đạt 4,8 và dao động ở mức 4 trong 30 ngày tiếp theo. Sau đó, kháng thể sẽ giảm nhanh trong 60 ngày và gần bằng 0 sau 110 ngày nhiễm bệnh.

**Kháng thể cá tra ở thời điểm 3 tháng sau khi nhiễm bệnh**

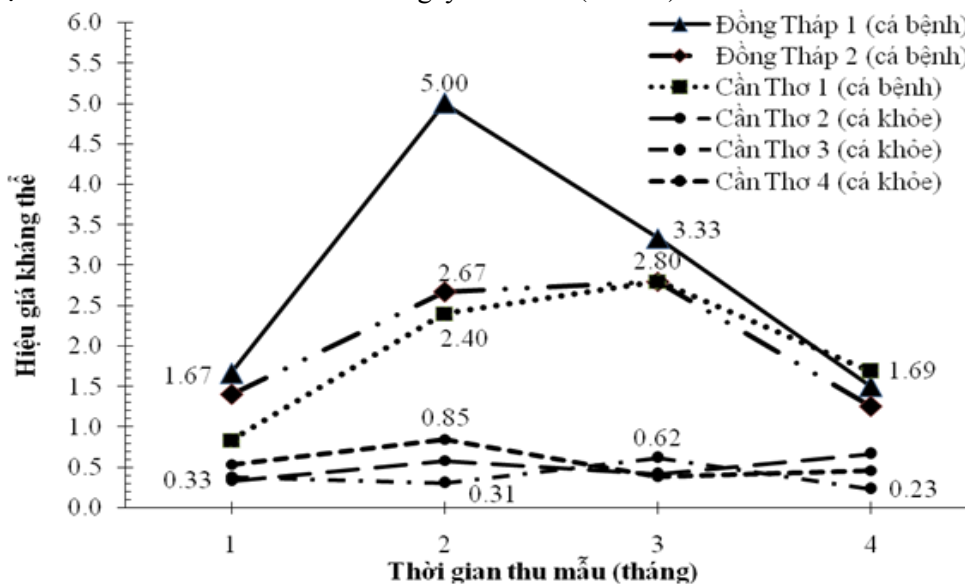
Sau khi đạt mức cao nhất ở tháng thứ 2 sau nhiễm bệnh do *E. ictaluri* thì hiệu giá kháng thể giảm nhanh chóng ở tháng 3 chỉ còn 1,2, tương đương mức hiệu giá kháng thể lúc cá đang nhiễm bệnh. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê so với 3 thời điểm còn lại: chưa nhiễm bệnh, sau nhiễm bệnh 1 tháng và sau nhiễm bệnh 2 tháng ( $p < 0,05$ ). Sự biến động hiệu giá kháng thể qua 4 thời điểm được trình bày ở Hình 3.



**Hình 3: Hiệu giá kháng thể trung bình của cá tra qua các thời điểm thu mẫu**

Qua Hình 3 cho thấy hiệu giá kháng thể đặc hiệu của cá tra lúc chưa nhiễm bệnh rất thấp (<0,5), sau đó tăng nhanh và đạt hiệu giá trung bình cao nhất ở thời điểm 1-2 tháng sau nhiễm bệnh (3,2). Tuy nhiên, hiệu giá kháng thể suy giảm nhanh chóng ở tháng thứ 3, chỉ còn 1,2 do khả năng duy trì yếu tố miễn dịch của cá kém hơn động vật có vú trên cạn. Một nghiên cứu của Thune *et al.* (1997) cũng cho kết quả tương tự. Tác giả thử nghiệm tiêm vắc-xin phòng bệnh *E. ictaluri* trên cá nheo 12 ngày

tuổi và 10 tuần tuổi. Kết quả cho thấy hiệu giá kháng thể khi chưa tiêm vắc-xin là 0 và tăng nhanh sau 10 tuần tiêm vắc-xin. Hiệu giá kháng thể này duy trì ở mức cao trong vòng 8 tuần (hiệu giá kháng thể trung bình từ 7,8 đến 8). Sau đó, hiệu giá kháng thể giảm xuống ở 4 tuần tiếp theo và dần bằng 0. Bên cạnh đó, khi thu mẫu huyết thanh trong cùng một thời điểm thì hiệu giá kháng thể giữa 3 ao trong nhóm cá bệnh có độ biến động khá lớn so với 3 ao cá khỏe (Hình 4).



**Hình 4: Biến động hiệu giá kháng thể trong 3 ao cá bệnh và 3 ao cá khỏe theo dõi suốt 4 tháng nuôi**

Kết quả so sánh sự biến động hiệu giá kháng thể giữa 3 ao cá có xảy ra bệnh và 3 ao cá khỏe (Hình 4) cho thấy: ở các ao cá khỏe có hiệu giá kháng thể thấp, hiệu giá kháng thể trung bình dưới 1 và ít biến động trong suốt thời gian khảo sát. Trong khi đó ở những ao cá bệnh, hiệu giá kháng thể thường ở mức cao hơn và biến động lớn.

Nhìn chung, suốt quá trình từ lúc bệnh gan thận mù xảy ra, hiệu giá kháng thể của cá biến động theo quy luật chung là tăng nhanh so với lúc không bệnh nhưng nhanh chóng suy giảm ở các tháng tiếp theo. Hiệu giá kháng thể có tăng sau mỗi lần nhiễm bệnh nhưng mức tăng cao của kháng thể không đủ sức bảo vệ cá tra chống vi khuẩn *E. ictaluri*. Đây là nguyên nhân cá tra thường mắc bệnh gan, thận mù 3 – 4 lần trong suốt vụ nuôi.

**3.2 Hiệu giá kháng thể trong phòng thí nghiệm**

Qua số liệu cá tra có hiệu giá kháng thể thấp cũng như tình hình xuất hiện bệnh gan thận mù thường xuyên ngoài ao nuôi, chứng tỏ khả năng đáp ứng miễn dịch của cá tra ở điều kiện tự nhiên không đủ bảo vệ cá chống vi khuẩn *E. ictaluri*. Do đó, việc theo dõi và đánh giá hiệu giá kháng thể của cá ở điều kiện tiêm vắc-xin là rất cần thiết. Kết quả thử nghiệm vắc-xin phòng bệnh *E. ictaluri* trong phòng thí nghiệm (Bảng 2) cho thấy cá được tiêm vắc-xin thì đáp ứng miễn dịch tăng nhanh sau 1 tuần và đạt mức cao sau 2 tuần (hiệu giá kháng thể trung bình mức 8,5) khác biệt có ý nghĩa với nhóm đối chứng ( $p < 0,05$ ).

**Bảng 2: Hiệu giá kháng thể trung bình của cá sau tiêm vắc-xin**

Thời gian (Tuần)	Đối chứng	Vắc-xin
0	0,0 <sup>a</sup>	0,0 <sup>a</sup>
1	0,0 <sup>a</sup>	2,8±1,6 <sup>b</sup>
2	0,0 <sup>a</sup>	8,5±0,8 <sup>c</sup>
3	0,0 <sup>a</sup>	9,5±1,4 <sup>c</sup>
7	0,0 <sup>a</sup>	10,0±0,9 <sup>c</sup>
9	1,0 <sup>b</sup>	10,2±1,1 <sup>c</sup>
12	0,7±0,6 <sup>b</sup>	10,7±0,6 <sup>c</sup>
15	0,0 <sup>a</sup>	10,8±0,4 <sup>c</sup>

Ghi chú: các giá trị trong bảng thể hiện giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và số cỡ mẫu  $n = 6$   
 Các giá trị trong cùng một cột mang mũ chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

Sau 1 tuần tiêm vắc-xin, nhóm cá vắc-xin có sự gia tăng hiệu giá kháng thể từ mức 0 đạt được 2,8 khác biệt có ý nghĩa với nhóm đối chứng (mức 0). Hiệu giá kháng thể tiếp tục tăng cao ở tuần thứ 3 (đạt mức 9,5) khác biệt có ý nghĩa thống kê so với tuần 1 và tiếp tục duy trì ở mức cao đến tuần thứ 15 sau tiêm vắc-xin ( $>10$ ). Trong khi đó, lượng kháng thể ở nhóm đối chứng thông thường chỉ ở mức 0 hoặc cao nhất thu được cũng chỉ ở mức 1.

Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Võ Thanh Tùng (2010), hiệu giá kháng thể trên cá tiêm vắc-xin trong phòng thí nghiệm luôn cao hơn nhóm đối chứng và độ dài miễn dịch không dưới 20 tuần. Điều này cho thấy đáp ứng miễn dịch của cá tiêm vắc-xin xảy ra nhanh và duy trì trong thời gian dài sau tiêm vắc-xin.

Để đánh giá sự đáp ứng miễn dịch của cá đối với vi khuẩn *E. ictaluri*, cá được gây cảm nhiễm với vi khuẩn *E. ictaluri* ở thời điểm 3 tuần sau tiêm vắc-xin. Kết quả, hiệu giá kháng thể của cá sau cảm nhiễm cũng có sự tăng cao so với các thời điểm trước đó (Bảng 3).

**Bảng 3: Hiệu giá kháng thể trung bình của cá sau cảm nhiễm với *E. ictaluri***

Thời gian (Tuần)	Đối chứng	Vắc-xin
0	0,0 <sup>a</sup>	9,5±1,4 <sup>d</sup>
1	2,0±1,0 <sup>b</sup>	10,3±0,8 <sup>d</sup>
3	3,0±0,8 <sup>b</sup>	10,5±0,6 <sup>d</sup>
6	5,7±0,6 <sup>c</sup>	11,0 <sup>d</sup>

Ghi chú: các giá trị trong bảng thể hiện giá trị trung bình, độ lệch chuẩn và số cỡ mẫu  $n = 6$   
 Các giá trị trong cùng một cột mang mũ chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ )

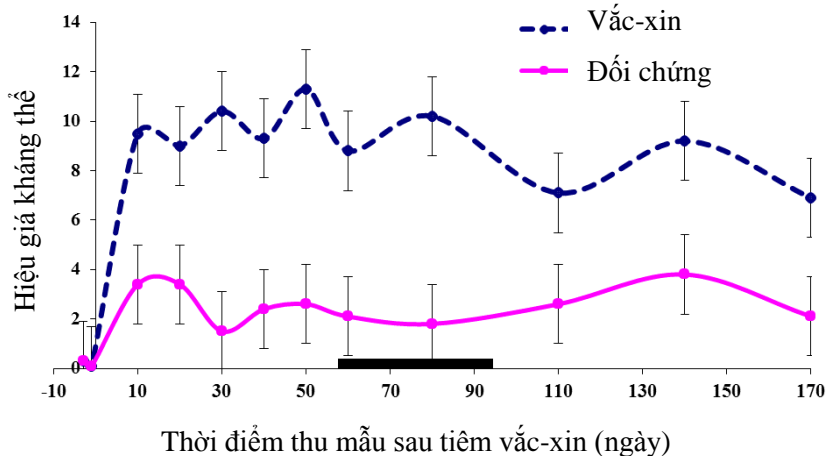
Ở nhóm cá tiêm vắc-xin, hiệu giá kháng thể tiếp tục gia tăng từ mức 9,5 lên 10,3 ở thời điểm 1 tuần, 10,5 sau 3 tuần và mức kháng thể cao nhất là 11 sau 6 tuần cảm nhiễm. Tương tự như cá sau nhiễm bệnh tự nhiên ngoài ao nuôi, nhóm đối chứng cũng có sự tăng hiệu giá kháng thể sau cảm nhiễm từ mức 0 đạt mức 2 sau 1 tuần, mức 3 sau 3 tuần và đạt mức 5,7 sau 6 tuần cảm nhiễm. Tuy nhiên, hiệu giá kháng thể này vẫn thấp hơn nhiều so với nhóm vắc-xin không đủ bảo vệ cá chống lại vi khuẩn *E. ictaluri*. Tương tự với Phạm Công Thành (2010), cá tra được bảo hộ sau nhiễm bệnh tự

nhiên có hiệu giá kháng thể 4-5. Điều này minh chứng lần nữa cho vai trò của vắc-xin trong việc tạo ra kháng thể đặc hiệu bảo vệ cá chống lại vi khuẩn *E. ictaluri*.

### 3.3 Hiệu giá kháng thể ngoài ao nuôi thực nghiệm có tiêm vắc-xin

Từ kết quả hiệu giá kháng thể của cá có tiêm vắc-xin trong wet-lab làm cơ sở cho thí

nghiệm tiêm vắc-xin cho cá ngoài ao nuôi thực nghiệm. Kết quả xác định hiệu giá kháng thể của cá tra trong ao nuôi thực nghiệm có tiêm vắc-xin được trình bày ở Hình 5. Tương tự kết quả hiệu giá kháng thể trong wet-lab, cá tra ngoài ao sau tiêm vắc-xin cũng có hiệu giá kháng thể tăng cao và khác biệt có ý nghĩa so với nhóm đối chứng ( $p < 0,05$ ).



**Hình 5: Hiệu giá kháng thể của cá tra trong ao nuôi thực nghiệm có tiêm vắc-xin**

Sau tiêm vắc-xin, hiệu giá kháng thể ở nhóm cá tiêm vắc-xin tăng cao sau 10 ngày (9,5) và đạt đỉnh điểm ở 50 ngày sau tiêm. Sau đó có xu hướng giảm nhưng luôn lớn hơn có ý nghĩa ( $\geq 7$ ) so với đối chứng ( $\leq 4$ ) trong suốt thời gian thí nghiệm là 170 ngày ( $p \leq 0,01$ ). Từ kết quả hiệu giá kháng thể trong phòng thí nghiệm và ao thực nghiệm, cá tra sau tiêm vắc-xin đã kích thích tạo ra kháng thể cao hơn có ý nghĩa so với nhóm đối chứng. Tương tự như kết quả trong thí nghiệm của Morrison and Novak (2002), vắc-xin tiêm vào xoang bụng kích thích kháng thể đạt mức cao và thời gian bảo hộ lâu nhất.

## 4 KẾT LUẬN

Trong môi trường ao nuôi thương phẩm, cá tra có biểu hiện đáp ứng kháng thể với vi khuẩn *E. ictaluri* khi bùng phát bệnh tự nhiên, nhưng hiệu giá kháng thể biểu hiện ở mức thấp và thời gian miễn dịch chỉ diễn ra trong thời gian ngắn. Trong khi đó, cá tra sau tiêm vắc-xin ở điều kiện trong phòng thí nghiệm và ao

nuôi thực nghiệm thì có hiệu giá kháng thể biểu hiện mức cao ( $> 8,5$ ) sau 10-14 ngày so với nhóm đối chứng và vẫn giữ ở mức cao ( $> 9,5$ ) suốt 15 tuần theo dõi trong phòng thí nghiệm và ( $> 7$ ) suốt 170 ngày ngoài ao nuôi thực nghiệm.

## LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin gửi lời cảm ơn sâu sắc đến các Thầy, Cô Bộ môn Sinh học và Bệnh Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ đã nhiệt tình hỗ trợ trong suốt quá trình thực hiện. Cảm ơn sự giúp đỡ nhiệt tình của các hộ nuôi cá tra ở các tỉnh Tiền Giang, Đồng Tháp, Cần Thơ và đặc biệt là sự hỗ trợ vật liệu, hóa chất và vắc-xin thí nghiệm từ Công ty TNHH Pharmaq Vietnam.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bricknell, L.R., King, J.A., Bowden, T.J. and Ellis, A.E., 1999. Duration of protective antibodies and correlation with protection in Atlantic salmon (*salmon salar L.*), following vaccination with *Aeromonas salmonicidae*

- vaccine containing iron regulated membrane protein and secretory polysaccharide. *Fish and shellfish Immunology*, 9 :139-151.
2. Camp, K.L., Wolters, W.R. and Rice, C.D., 2000. Survivability and immune responses after challenge with *Edwardsiella ictaluri* in susceptible and resistant families of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Fish Shellfish Immunol.* 10(6):475-87.
  3. Crumlish, M., Dung T.T., Turnbull, J.F., Ngoc N.T.N. and Ferguson, H.W., 2002. Identification of *Edwardsiella ictaluri* from diseased freshwater catfish, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage), cultured in the Mekong Delta, Vietnam. *Journal of fish diseases.* 25: 733-736.
  4. Earlix, D.J., 1995. Host, pathogen, and environmental interactions of enteric septicemia of catfish. PhD dissertation, Auburn University, Auburn, Alabama. 102 pp.
  5. Hawke, J.P., 1979. A bacterium associated with disease of pond cultured channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada.* 36: 1508-1512
  6. Houston, H.A., 1990. Blood and circulation. In: C.B. Schreek and P.B. Moyle. *Method for biology.* American Fish society Bethesda, Maryland, USA. 665: 273-322.
  7. Mitchell, A.J., 1997. Fish disease summaries for the southeastern United States from 1976-1995. *Aquaculture Magazine.* 23:87-93.
  8. Morrison, E.E. and Plumb, J.A., 1994. Olfactory organ of channel catfish as a site of experimental *Edwardsiella ictaluri* infection. *Journal of Aquatic Animal Health.* 6: 101-109.
  9. Morrison, R.N. and Nowak, B.F., 2002. The antibody response in teleost fish. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine,* 11: 46-54.
  10. Phạm Công Thành, 2010. Khảo sát đáp ứng miễn dịch của cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) nhiễm vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*. Luận văn tốt nghiệp cao học. Ngành Nuôi trồng Thủy sản. Khoa Thủy sản. Đại học Nông Lâm – Thành phố Hồ Chí Minh.
  11. Plumb, J.A., Wise, M.L. and Rogers, W.A., 1986. Modulatory effects of temperature on antibody response and specific resistance to challenge of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, immunized against *Edwardsiella ictaluri*. *Vet Immunol Immunopathol.* 12(1-4): 297-304.
  12. Roberson, B.S., Stolen, J.S., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S. and Muiswinkel, W.B., 1990. Bacterial agglutination. In: *Techniques in Fish Immunology,* 81–86.
  13. Sommerset, I., Krossoy, B., Beiring, E. and Frost, P., 2005. Vaccine for fish in aquaculture. *Expert review vaccine,* 4-1: 89-101.
  14. Thune, R.L., Hawke, J.P., Fernandez, D.H., Lawrence, M.L. and Moore, M.M., 1997. Immunization with bacterial antigens: Edwardsiellosis. *Fish and shellfish immunology.* 90: 125-34.
  15. Từ Thanh Dung, M. Crumlish, Nguyễn Thị Như Ngọc, Nguyễn Quốc Thịnh và Đặng Thụy Mai Thy, 2004. Xác định vi khuẩn gây bệnh trắng gan trên cá tra (*Pangasius hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ.* 137- 142.
  16. Võ Thanh Tùng, 2010. Thí nghiệm thành công vắc-xin cho cá tra. *Tạp chí Thương mại Thủy sản.* Số 128 – tháng 8/2010.