

# MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ CỦA BỆNH DO *Lates calcarifer herpes virus* (LCHV) GÂY RA TRÊN CÁ CHẼM (*Lates calcarifer* Bloch, 1790)

TRẦN ĐỨC DIỄN <sup>(1)</sup>, MAI ĐẶNG <sup>(2)</sup>, VÕ THỊ HÀ <sup>(1)</sup>, PHAN VĂN ÚT <sup>(3)</sup>, NGUYỄN THỊ HẢI THANH <sup>(1)</sup>, NGUYỄN TRỊNH ĐỨC HIỆU <sup>(1)</sup>, HOÀNG NGỌC LÂM <sup>(1)</sup>, LÊ THỊ KIỀU OANH <sup>(1)</sup>

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh do herpes virus gây ra trên cá chẽm (*Lates calcarifer* Bloch, 1790) đã được công bố tại Việt Nam và Singapore năm 2015 với tỷ lệ gây chết khoảng 60% [1]. Tuy nhiên, tất cả các thông tin về bệnh này đã được đăng ký bản quyền bởi một công ty dược phẩm thủy sản của Mỹ (Intervet international B.V.) và không có bất kỳ một thông tin dịch tễ nào được tiết lộ. Năm 2020, một nhóm nghiên cứu tại Thái Lan đã đưa ra phương pháp chẩn đoán nhanh đối với bệnh do herpes virus, tuy nhiên nhóm này không nói rõ nguồn bệnh phẩm được lấy từ đâu và khuyến cáo các nước có nghề nuôi cá chẽm cần nhanh chóng có các biện pháp giám sát, phát hiện để ngăn chặn các tác động tiêu cực do bệnh này gây ra [2]. Rõ ràng, các công ty dược phẩm thủy sản và các chuyên gia đã sớm nhận định đây là một trong những loại bệnh nguy hiểm, sẽ gây thiệt hại lớn cho nghề nuôi cá chẽm nói riêng và cá biển nói chung.

Cá chẽm là đối tượng nuôi rất quan trọng và có tiềm năng lớn để trở thành một đối tượng nuôi chủ lực có giá trị xuất khẩu cao của Việt Nam. Gần đây, cá chẽm ở khu vực Đông Nam Á được báo cáo bị nhiễm nhiều loại bệnh truyền nhiễm gây ảnh hưởng lớn cho nghề nuôi như bệnh hoại tử thận và lách (ISKNV) [3, 4], hội chứng rụng vây (SDDV) [5-8], bệnh do birnavirus (LCBV) [9] và bệnh do herpes virus (LCHV) [1, 6].

Ở Việt Nam, đặc điểm mô bệnh học của bệnh do herpes virus đã được mô tả [10]. Trong nghiên cứu này, Trần Đức Diễn và cộng sự đã phát hiện sự xuất hiện của một dạng thể vùi đặc trưng trong nhân (IIBs) với đường kính 2,3 - 2,5  $\mu\text{m}$  ở các cơ quan khác nhau của cá bị nhiễm bệnh. Cá nhiễm bệnh ngoài tự nhiên có dấu hiệu thân tối màu, đuôi bị mòn cụt và hoại tử (cá nhiễm nặng có thể bị mất vây trên 80%), mắt mờ đục và gan bị sưng với nhiều mảng trắng. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào về đặc điểm dịch tễ của bệnh. Do đó, rất cần có các nghiên cứu kịp thời về đặc điểm dịch tễ do herpes virus gây bệnh trên cá chẽm để chủ động giám sát tác nhân gây bệnh, khoanh vùng dịch và đề xuất các biện pháp phòng bệnh.

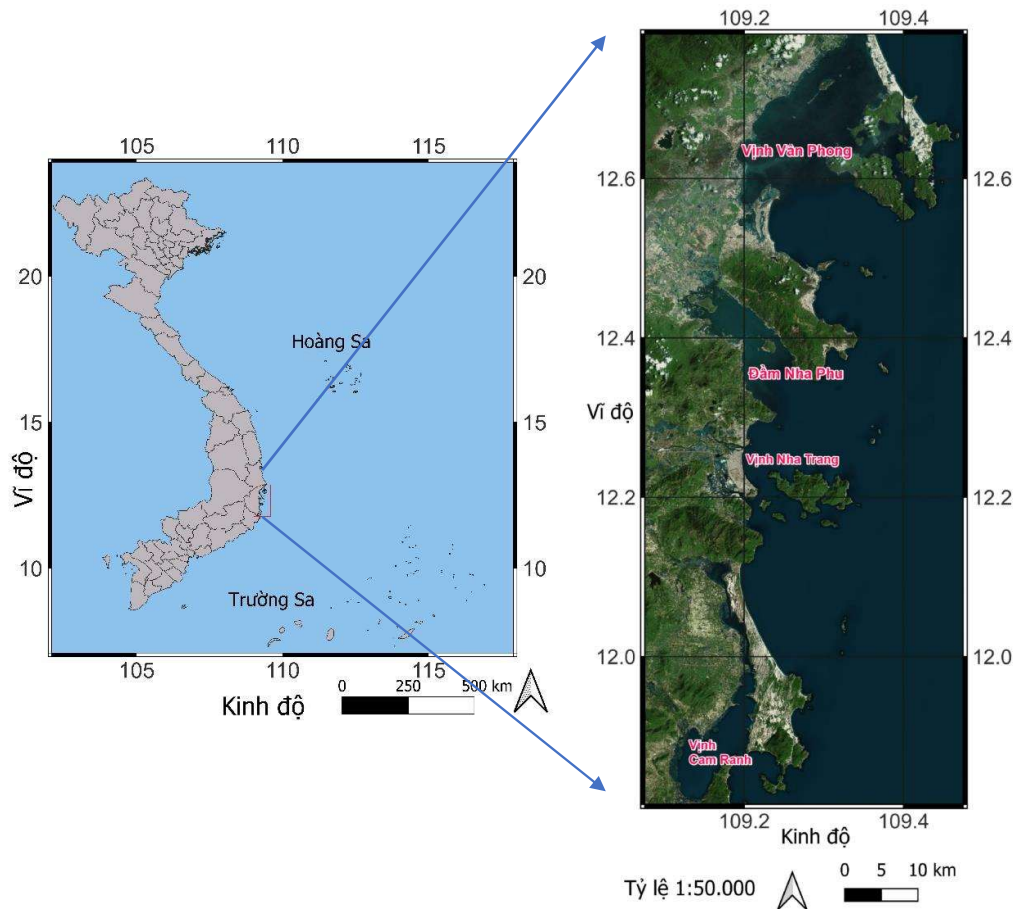
## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**2.1. Đối tượng nghiên cứu:** Herpes virus gây bệnh trên cá chẽm.

**2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu:** từ tháng 11/2021 đến tháng 11/2022 tại các vùng biển ở Khánh Hòa.

**2.3. Phương pháp nghiên cứu**

**2.3.1. Xác định một số đặc điểm dịch tễ**



**Hình 1.** Các vùng biển được khảo sát thu mẫu tại Khánh Hòa

- *Điều tra hiện trạng nuôi*: tiến hành điều tra hiện trạng nuôi cá chẽm tại vịnh Vân Phong, đầm Nha Phu, vịnh Nha Trang và vịnh Cam Ranh (Hình 1). Thu thập dữ liệu từ Cục Thống kê tỉnh Khánh Hòa và phỏng vấn khảo sát trực tiếp các hộ nuôi.

- *Xác định phân bố của bệnh*: tại các vùng nuôi có cá chẽm, thu 3 mẫu tại các lồng, bè nuôi để xác định sự phân bố và lưu hành của bệnh.

- *Xác định các đặc điểm dịch tễ khác của bệnh*: các mẫu cá có dấu hiệu bệnh tại các lồng, bè nuôi tập trung ở vịnh Vân Phong được thu mẫu liên tục trong 12 tháng để xác định tỷ lệ nhiễm bệnh và giai đoạn cá bị bệnh. Mẫu sau khi thu sẽ được bảo quản bằng đá lạnh (trong thùng lạnh 26 lít) và vận chuyển về phòng thí nghiệm.

- *Thu thập dữ liệu về lượng mưa và nhiệt độ không khí*: tại Trạm Khí tượng Vạn Bình, huyện Vạn Ninh, tỉnh Khánh Hòa.

- *Nhiệt độ môi trường nước*: nhiệt độ nước được xác định bằng nhiệt thủy ngân tại độ sâu 1 m so với tầng mặt vào lúc 6:00 và 15:00 vào các ngày thu mẫu.

*- Thí nghiệm xác định phương thức lây truyền bệnh:*

Thí nghiệm (gây nhiễm bằng phương pháp nuôi chung): Cá chẽm khoẻ mạnh ( $n = 24$ ) được thu từ trại nuôi (chiều dài khoảng 10 cm) được vận chuyển về phòng thí nghiệm. Cá được nuôi trong bể lớn (200 L) chứa nước biển sục khí, và lọc tuần hoàn để thuần hoá trong một tuần. Cá được cho ăn 2 lần/ngày bằng thức ăn công nghiệp, nhiệt độ được duy trì ở 25°C. Một miếng nhỏ ở vây bụng của mỗi con cá được thu để chạy realtime PCR. Toàn bộ cá thí nghiệm có kết quả âm tính với LCHV trước khi tiến hành thí nghiệm. Thí nghiệm được tiến hành trong 4 bể nhỏ 60 L chứa nước biển đã lọc, sục khí. Nước được thay mới 2 ngày một lần, nước cũ được xử lý diệt virus và vi khuẩn bằng Vikon trước khi thải ra khỏi hệ thống. Mỗi bể được ngăn làm đôi sử dụng lưới 1 x 1 cm. Dụng cụ thay nước, thức ăn và sục khí của mỗi bể được thiết kế độc lập. Thí nghiệm bao gồm 2 nhóm: nhóm nuôi chung (2 bể) và nhóm đối chứng (2 bể). Các bể của các nhóm cá khác nhau được đặt ở các hệ thống thí nghiệm khác nhau. Đầu thí nghiệm 3 con cá được thả vào nửa trái của mỗi bể. Cá thuộc nhóm nuôi chung sẽ được gây nhiễm bằng cách tiêm vào xoang bụng 0,1 mL dịch chiết như thí nghiệm gây nhiễm trước đó [10]. Cá đối chứng được tiêm PBS 0,1mL/cá. Sau 2 tuần (cá gây nhiễm đã bắt đầu biểu hiện bệnh theo kết quả của thí nghiệm gây nhiễm), 3 con cá khoẻ được tiếp tục thả vào nửa bên phải của mỗi bể. Cá được theo dõi 2 lần/ngày, ghi nhận các dấu hiệu bất thường và cấp đông cá chết trong quá trình thí nghiệm. Dụng cụ của mỗi bể được sử dụng riêng và đảm bảo không gây nhiễm chéo giữa các bể. Sau 2 tuần khi thả cá khoẻ vào nuôi chung ở cả 2 bể, toàn bộ cá còn lại trong các bể được thu và xét nghiệm qPCR cho virus LCHV.

### **2.3.2. Phương pháp phân tích mẫu**

*- Xác định dương tính với herpes:* Cá sau khi thu được cân khối lượng, một mẫu nhỏ các cơ quan gồm vây, da, mang, lách, thận, gan và não được cố định trong Ethanol 95%. Sau đó mẫu sẽ được chẩn đoán dương tính với herpes virus bằng phương pháp qPCR theo phương pháp của Meemetta và cộng sự 2020 [2].

*- Tỷ lệ nhiễm bệnh:* Tỷ lệ nhiễm bệnh do herpes virus được xác định bằng số mẫu dương tính trên tổng số mẫu thu.

## **3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN**

### **3.1. Sự lưu hành của bệnh**

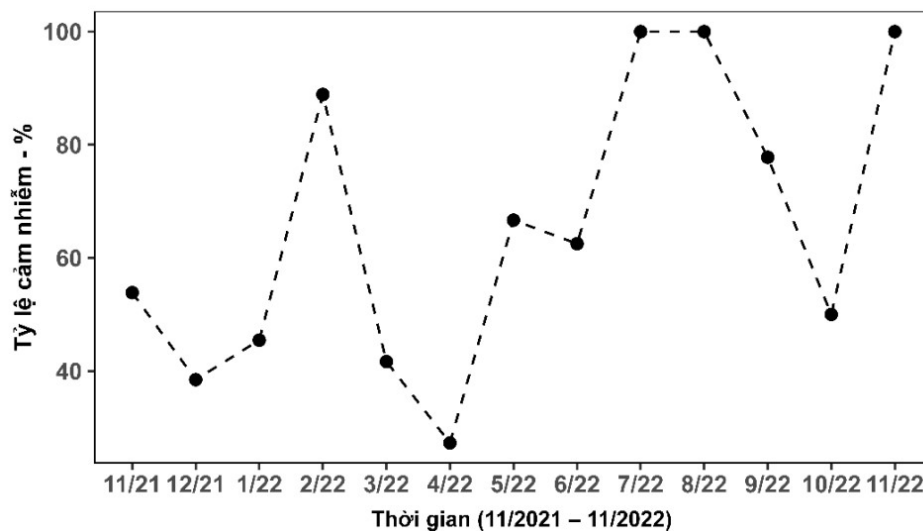
Kết quả phân tích bằng phương pháp realtime PCR đã khẳng định sự lưu hành của bệnh do LCHV trên cá chẽm nuôi tại khu vực biển Ninh Hoà và Vạn Ninh thuộc vịnh Vân Phong. Các vùng biển khác ở Khánh Hòa như đầm Nha Phu, vịnh Nha Trang, vịnh Cam Ranh chưa ghi nhận sự xuất hiện của bệnh này. Tại vịnh Vân Phong có các cơ sở nuôi cá chẽm liên tục trong nhiều năm qua, và sản lượng nuôi không ngừng được tăng lên (khoảng 2000 tấn năm 2008 lên tới 6000 - 7000 tấn năm 2022). Mẫu thu từ vịnh Vân Phong khẳng định sự phân bố và lưu hành của bệnh bằng chẩn đoán sinh học phân tử. Thêm vào đó, các dấu hiệu mô bệnh học của bệnh này lần đầu tiên được mô tả với sự xuất hiện của một loại thể vùi IIBs trong nhân [10].

Tiến hành nghiên cứu mở rộng vùng phân bố của bệnh bằng cách thu thêm mẫu ở vùng biển Long Phú, Vũng Tàu. Kết quả chẩn đoán bằng sinh học phân tử đã chỉ ra sự tồn tại của loại virus này tại Vũng Tàu. Do cá chêm là một loài rộng muối có thể phân bố được trong cả nước mặn, nước ngọt và hiện nay đang được nuôi rộng khắp trên cả ba miền của Việt Nam, sự xuất hiện của virus LCHV trên các vùng nuôi và sản xuất giống quan trọng như Khánh Hoà và Vũng Tàu làm dấy lên sự lo lắng về phân bố của loại virus này trong thực tế có thể lớn hơn nhiều. Tuy nhiên, trong khuôn khổ của nghiên cứu này, chúng tôi không có khả năng thu mẫu liên tục tại các vùng nuôi khác ở Việt Nam. Do vậy, việc mở rộng nghiên cứu này ở các vùng nuôi trên khắp cả nước là hết sức quan trọng, để có thể xác định được khu vực lưu hành và ảnh hưởng của loại virus này đến nghề nuôi cá chêm của Việt Nam.

Từ việc khẳng định tính chính xác về sự lưu hành của bệnh, nhóm nghiên cứu đã tiến hành thu mẫu tập trung và liên tục ở vịnh Vân Phong trong suốt 12 tháng để xác định đặc điểm dịch tễ của bệnh như mùa vụ, các yếu tố môi trường tại thời điểm bùng phát bệnh và giai đoạn cá dễ nhiễm bệnh.

### 3.2. Mùa vụ của bệnh và giai đoạn miễn cảm của cá

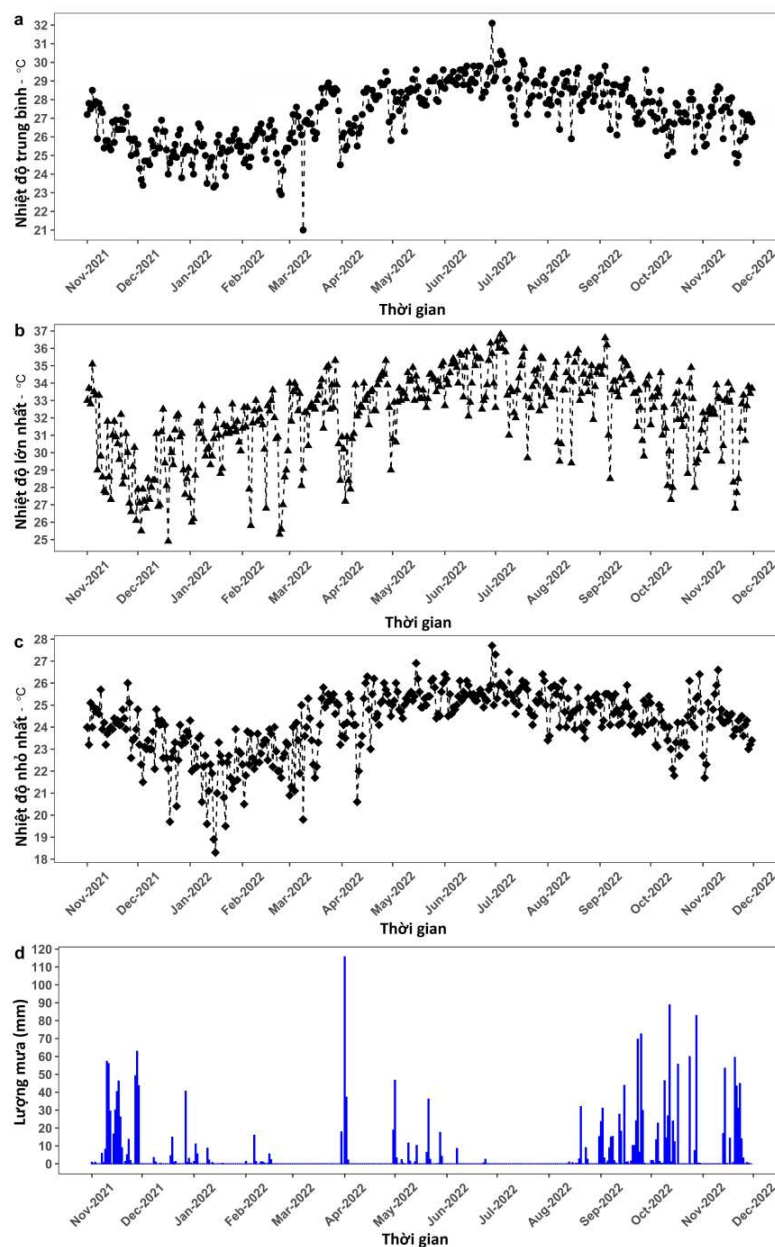
Kết quả nghiên cứu liên tục trong 12 tháng tại vịnh Vân Phong, khu vực nuôi cá chêm có sản lượng lớn nhất Việt Nam, đã chỉ ra rằng bệnh LCHV lưu hành quanh năm trên cá chêm nuôi tại Khánh Hoà, tỷ lệ bệnh trung bình cả năm là rất cao, lên tới khoảng 62,5% trên số mẫu có dấu hiệu bệnh lý được phân tích. Tỷ lệ bệnh của từng tháng dao động khoảng từ 27 - 100%. Cá bị bệnh nhiều vào mùa mưa, đặc biệt là giai đoạn chuyển mùa khoảng tháng 7 đến tháng 11, đỉnh cao là tháng 7, tháng 8 và tháng 11 với tỷ lệ nhiễm 100%. Tỷ lệ cá mắc bệnh thấp hơn vào các tháng đầu năm. Bệnh thường xuất hiện vào mùa mưa, đặc biệt là sau các cơn mưa lớn.



**Hình 2.** Tỷ lệ nhiễm herpes virus của cá chêm nuôi tại Khánh Hoà ở các tháng trong năm (11/2021 - 11/2022)

Giai đoạn cá bị bệnh thường khoảng dưới 250 g, đặc biệt là khoảng thời gian cá mới được chuyển từ trại giống ra lồng nuôi trên biển. Một số vùng nuôi ở Ninh Hòa ghi nhận bệnh xuất hiện ở cá trưởng thành ( $\approx 800$  g).

### 3.3. Các yếu tố liên quan đến sự bùng phát bệnh



**Hình 3.** Biểu đồ nhiệt độ không khí và lượng mưa tại Vạn Ninh - Khánh Hòa (Nov - tháng 11; Dec - tháng 12; Jan - tháng 1; Feb - tháng 2; Mar - tháng 3; Apr - tháng 4; May - tháng 5; Jun - tháng 6; Jul - tháng 7; Aug - tháng 8; Sep - tháng 9; Oct - tháng 10)

Các thông số môi trường liên quan đã được thu để phục vụ cho các phân tích về các yếu tố nguy cơ đối với sự bùng phát bệnh (Biểu đồ nhiệt độ không khí và lượng mưa trình bày ở Hình 3). Kết quả bước đầu cho thấy, có mối liên quan giữa tỷ lệ nhiễm bệnh với nhiệt độ không khí và lượng mưa. Bệnh có xu hướng bùng phát mạnh ở thời điểm chuyển mùa khi có sự biến đổi mạnh về nhiệt độ và lượng mưa (tháng 7, 8 và tháng 11). Rất có thể, khi điều kiện môi trường biến đổi mạnh sẽ làm cho cá bị stress và gián tiếp tạo điều kiện cho LCHV bùng phát. Nhiệt độ môi trường nước biển trung bình vào lúc 6:00 là  $27,3 \pm 2,1^{\circ}\text{C}$  ( $24,4 - 29,9^{\circ}\text{C}$ ) và vào lúc 15:00 là  $28,00 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$  ( $24,4 - 30,7^{\circ}\text{C}$ ). Do chỉ có nhiệt độ nước biển của một ngày thu mẫu trong tháng nên chúng tôi sử dụng nhiệt độ không khí và lượng mưa tại vịnh Vân Phong để thảo luận. Từ tháng 7 đến tháng 11 nhiệt độ không khí có xu hướng giảm, trong khi lượng mưa bắt đầu tăng lên từ tháng 8 trong năm. Đây cũng là thời điểm có tỷ lệ nhiễm herpes virus tăng cao.

Ngoài các yếu tố vô sinh, sự tồn tại cùng lúc của các tác nhân hữu sinh khác (hiện tượng bội nhiễm) cũng có ảnh hưởng tới sự bùng phát của bệnh LCHV. Kết quả nghiên cứu cho thấy cá nhiễm LCHV trong tự nhiên cùng lúc bị bội nhiễm với các tác nhân gây bệnh khác như ISKNV, RSIV, Vibrio, Streptococcus, Neobenedenia sp. và tỷ lệ chết trong tự nhiên dao động 60 - 70% với các bệnh tích khá nghiêm trọng [10].

### 3.4. Phương thức truyền lây

Kết quả thí nghiệm bằng phương pháp nuôi chung cho thấy, cá nuôi chung với cá nhiễm LCHV đều có kết quả dương tính với LCHV sau 2 tuần nuôi, trong khi toàn bộ cá đối chứng đều có kết quả âm tính. Điều này cho thấy, virus này có khả năng lây lan mạnh theo truyền ngang. Cá nuôi chung đầu tiên có dấu hiệu bệnh (da đen tối, bỏ ăn) sau 5 ngày, cá nuôi chung chết đầu tiên sau 9 ngày. Tỷ lệ chết tích lũy nhóm cá nuôi chung là 50%. Cá đối chứng không có dấu hiệu bệnh và không có hiện tượng chết. Điều này chứng tỏ thí nghiệm được tiến hành với điều kiện an toàn sinh học đảm bảo và không có sự lây nhiễm chéo giữa các lô thí nghiệm.

## 4. KẾT LUẬN

- Khẳng định sự lưu hành của herpes virus trên cá chẽm nuôi tại khu vực biển Trung Bộ (Khánh Hòa) và Nam Bộ (Vũng Tàu) của Việt Nam.

- Bệnh lưu hành quanh năm trên cá chẽm nuôi tại khu vực vịnh Vân Phong (Khánh Hòa), các mẫu cá bệnh có tỷ lệ nhiễm herpes virus trung bình cả năm rất cao, lên tới khoảng 62,5% trên tổng số cá có dấu hiệu bệnh lý được phân tích. Tỷ lệ bệnh của từng tháng dao động khoảng từ 27 - 100%.

- Bệnh thường bùng phát vào thời điểm giao mùa, khi có sự dao động lớn về nhiệt độ và lượng mưa. Đặc biệt là giai đoạn chuyển mùa khoảng tháng 7 đến tháng 11, cao nhất là tháng 7, tháng 8 và tháng 11 với tỷ lệ nhiễm 100% trên tổng số cá có dấu hiệu bệnh lý được phân tích.

- Cá bị bệnh thường xuất hiện ở giai đoạn có khối lượng dưới 250 g, đặc biệt là khi mới chuyển từ trại giống ra lồng nuôi.

- Herpes virus gây bệnh trên cá chẽm có khả năng lây lan mạnh theo truyền ngang, với tỷ lệ lây nhiễm trong điều kiện thí nghiệm nuôi chung là 100%.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Chang S. F., Grisez L., Groof A., Vogels W., Hoek L., Deijns M., *Novel fish pathogenic virus*, WO 2018/029301 A1, 2018.
2. Meemetta W., Domingos J. A., Dong H. T., Senapin S., *Development of a SYBR green quantitative PCR assay for detection of Lates calcarifer herpes virus (LCHV) in farmed barramundi*, J. Virol, 2020, Methods **285**:1-18. DOI: 10.1016/j.jviromet.2020.113920
3. Dong H. T., Jitrakorn S., Kayansamruaj P., Pirarat N., Rodkhum C., Rattanarojpong T., Senapin S., Saksmerprom V., *Infectious spleen and kidney necrosis disease (ISKND) outbreaks in farmed barramundi (Lates calcarifer) in Vietnam*, Fish Shellfish Immunol, 2017a, **68**:65-73. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.06.054
4. Thanasaksiri K., Takano R., Fukuda K., Chaweepack T., Wongtavatchai J., *Identification of infectious spleen and kidney necrosis virus from farmed barramundi Lates calcarifer in Thailand and study of its pathogenicity*, Aquaculture, 2019, **500**:188-191. DOI:10.1016/j.aquaculture.2018.09.035
5. De Groof A., Guelen L., Deijns M., Van Der Wal Y., Miyata M., Ng K. S., Van Grinsven L., Simmelink B., Biermann Y., Grisez L., Van Lent J., De Ronde A., Chang S. F., Schrier C., Van Der Hoek L., *A novel virus causes scale drop disease in Lates calcarifer*, PLoS Pathog, 2015, **11**:1-21. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005074
6. Domingos J. A., Shen X., Terence C., Senapin S., Dong H. T., Tan M. R., Gibson-Kueh S., Jerry D. R., *Scale drop disease virus (SDDV) and Lates calcarifer herpes virus (LCHV) coinfection downregulate immune-relevant pathways and cause splenic and kidney necrosis in barramundi under commercial farming conditions*, Front. Genet, 2021, **12**. DOI: 10.3389/fgene.2021.666897
7. Gibson-Kueh S., Chee D., Chen J., Wang Y. H., Tay S., Leong L. N., Ng M. L., Jones J. B., Nicholls P. K., Ferguson H. W., *The pathology of "scale drop syndrome" in Asian seabass, Lates calcarifer Bloch, a first description*, J. Fish Dis., 2012, **35**:19-27. DOI:10.1111/j.1365-2761.2011.01319.x
8. Gibson-Kueh S., *Diseases of Asian Seabass (or Barramundi), Lates calcarifer Bloch* (Doctor of Philosophy), Murdoch University, Perth, Australia, 2012.
9. Chen J., Toh X., Ong J., Wang Y. H., Teo X. H., Lee B., Wong P. S., Khor D., Chong S. M., Chee D., Wee A., Wang Yifan, Ng M. K., Tan B. H., Huangfu T., *Detection and characterization of a novel marine birnavirus isolated from Asian seabass in Singapore*, Virol. J., 2019, **16**:1-10. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1174-0>
10. Dang M., Dien T. D., Van U. P., Ha V. T., Dung V. V., Hieu N. T. D., Hua V. C., Hue N. T. K., Giang N. T. T., Trương V. H., Dong H. T., *The first description of histopathology of Lates calcarifer herpes virus (LCHV) infection in barramundi (Lates calcarifer)*, Aquaculture, 2023, Vol. 565, 739091. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.739091>

## SUMMARY

### SOME EPIDEMIOLOGICAL FEATURES OF DISEASE CAUSED BY LCHV IN BARRAMUNDI (*Lates calcarifer* Bloch, 1790)

This study investigated epidemiological features of disease caused by LCHV, is a new emerging virus in barramundi. Sick barramundi was collected monthly from the field through-out a year and diagnosed for the presence of LCHV using realtime PCR. The virus was detected in farmed barramundi in the Central region (Khanh Hoa) and Southern region (Vung Tau) of Vietnam. Positive samples were found every month with an average prevalence up to about 62.5% (27 - 100%) at the total samples showed signs at disease. Fish were more sensitive to the disease in rainy season, especially during the transition period from July to November, with the peak in July, August and November with an infection rate of 100%. Large fluctuations in temperature and rainfall were associated with the outbreak of the disease. Fish weighing at less than 250 g, especially when first transferred from the hatchery to the cage, were more sensitive. Horizontal transmission was confirmed in controlled experiments. These epidemiological features were critical for prevention and management of this disease.

**Keywords:** *LCHV, barramundi, epidemiology, infectious, Asian seabass, cá chẽm, đặc điểm dịch tễ, truyền nhiễm, cá chẽm châu Á.*

*Nhận bài ngày 05 tháng 10 năm 2023*

*Phản biện xong ngày 15 tháng 10 năm 2023*

*Hoàn thiện ngày 23 tháng 10 năm 2023*

<sup>(1)</sup> *Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga*

<sup>(2)</sup> *Phân viện Thú y Miền trung*

<sup>(3)</sup> *Trường Đại học Nha Trang*

**Liên hệ: Trần Đức Diễn**

Chi nhánh Ven Biển, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Số 30 Nguyễn Thiện Thuật, Nha Trang, Khánh Hòa

Điện thoại: 098601997; Email: mrtran\_cnvb@yahoo.com