



DOI:10.22144/ctujos.2025.006

CÁC LIỆU PHÁP PHÒNG, TRỊ BỆNH MỚI TRONG NUÔI TRỒNG THỦY SẢN

Nguyễn Thị Thu Hằng*

Khoa Bệnh học thủy sản, Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

*Tác giả liên hệ (Corresponding author): nthang@ctu.edu.vn

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 23/06/2024

Sửa bài (Revised): 02/08/2024

Duyệt đăng (Accepted): 01/12/2024

Title: New preventive and treatment therapies in aquaculture

Author(s): Nguyen Thi Thu Hang*

Affiliation(s): Faculty of Aquatic Pathology, College of Aquaculture and Fisheries, Can Tho University, Viet Nam

TÓM TẮT

Sự mở rộng về quy mô của nghề nuôi trồng thủy sản đã dẫn đến dịch bệnh phát sinh ngày một phức tạp hơn. Trong khi đó, việc lạm dụng thuốc kháng sinh để giải quyết dịch bệnh đã dẫn đến gia tăng tình trạng kháng thuốc, khiến các loại kháng sinh mạnh nhất ngày càng mất hiệu quả. Việc tập trung nghiên cứu các giải pháp thay thế bền vững, sáng tạo trong điều trị bệnh sẽ mở ra một giai đoạn mới về sức khỏe thủy sản. Bài báo này nhằm mục đích tổng hợp và đánh giá một số liệu pháp điều trị mới, tiên tiến nhằm kiểm soát dịch bệnh truyền nhiễm trong nuôi trồng thủy sản hiện nay. Các liệu pháp tiên tiến như thực khuẩn thể, endolysin, bacteriocin và quorum quenching đang ngày càng chứng minh được hiệu quả vượt trội cùng với tính an toàn cao. Bên cạnh đó, các liệu pháp như peptide kháng khuẩn, kháng thể IgY, hạt nano cũng mang lại những hiệu quả nhất định trong điều trị bệnh cho thủy sản hiện nay.

Từ khóa: Dịch bệnh, nuôi trồng thủy sản, phương pháp điều trị

ABSTRACT

Aquaculture's expansion and intensification have made sudden disease outbreaks more common. Meanwhile, the overuse of antibiotics to tackle epidemics has resulted in increased antibiotic resistance, rendering the most potent antibiotics increasingly ineffective. Focusing on research into innovative, sustainable alternatives to disease treatment will unlock a new era in aquatic health. This article aims to synthesize and evaluate a number of novel therapeutic approaches to control infectious diseases in aquaculture. Advanced therapies such as bacteriophage, endolysin, bacteriocin and quorum quenching increasingly demonstrated to have outstanding effectiveness along with high safety. In addition, therapies such as antimicrobial peptides, IgY antibodies, and nanoparticles have also been shown to be effective in treating aquatic diseases.

Keywords: Aquaculture, disease, therapeutic approaches

1. GIỚI THIỆU

Nuôi trồng thủy sản đã và đang là ngành nghề mang lại giá trị kinh tế tại Việt Nam. Theo báo cáo của Cục Thủy sản, tổng sản lượng nuôi trồng thủy sản cả năm 2023 ước đạt 5.455 nghìn tấn, tăng 4,2% so với năm 2022. Trong đó, sản lượng cá ước đạt 3.631,4 nghìn tấn, tăng 3,7%; sản lượng tôm ước đạt 1.211,6 nghìn tấn, tăng 5,8% (Thanh, 2024). Sản xuất thủy sản cả nước đang tập trung phát triển theo hướng bền vững, thực hiện các giải pháp nuôi trồng thủy sản theo cơ cấu nuôi hợp lý, phát triển các vùng nuôi tôm cá tập trung vào việc ứng dụng công nghệ cao và các phương pháp nuôi trồng thân thiện với môi trường.

Sự mở rộng và thâm canh hóa của ngành nuôi trồng thủy sản đã làm cho các đợt bùng phát dịch bệnh trở nên phổ biến, làm cho việc quản lý hiệu quả trở thành một khía cạnh thiết yếu của tăng trưởng bền vững. Theo báo cáo của các địa phương, tám tháng đầu năm 2023, tổng diện tích nuôi trồng thủy sản bị thiệt hại có chiều hướng tăng so với cùng kỳ năm 2022, trong đó thiệt hại do nguyên nhân dịch bệnh vẫn còn xảy ra tại nhiều vùng nuôi, đặc biệt là ở 2 đối tượng nuôi chủ lực tôm và cá tra, với tổng diện tích nuôi tôm bị bệnh là hơn 5.518 ha, trong đó diện tích bị bệnh đốm trắng là gần 1.606 ha (chiếm 31,6%) và diện tích bị bệnh hoại tử gan tụy cấp là 1.071 ha (chiếm 21%). Tổng diện tích nuôi cá tra bị bệnh là trên 331 ha, giảm nhẹ (0,6%) so với cùng kỳ năm 2022 (333 ha), các bệnh chủ yếu vẫn là xuất huyết và gan thận mủ. Song song đó, kết hợp với tình trạng ô nhiễm môi trường và biến đổi khí hậu cực đoan, dịch bệnh đã tác động xấu đến hoạt động nuôi trồng thủy sản, gây thiệt hại kinh tế cho người dân, ngân sách nhà nước và ảnh hưởng đến kim ngạch xuất khẩu thủy sản (Nguyet, 2023).

Việc sử dụng kháng sinh là một giải pháp phổ biến để giải quyết dịch bệnh trong nuôi trồng thủy sản. Tuy nhiên, việc lạm dụng thuốc kháng sinh đã dẫn đến gia tăng tình trạng kháng thuốc kháng sinh, làm các loại thuốc ngày càng mất đi hiệu quả tiêu diệt mầm bệnh. Điều này không chỉ đe dọa các loài thủy sản nuôi trồng mà còn ảnh hưởng đến sức khỏe con người, do sự giảm hiệu quả của các loại kháng sinh mạnh nhất và thiếu các giải pháp thay thế khả thi. Cho đến nay, đã có nhiều báo cáo khoa học ghi nhận về tình trạng vi khuẩn đa kháng thuốc kháng sinh trên các loài cá (Azzam-Sayuti et al., 2021; Krahulcova et al., 2023), tôm và động vật có vỏ khác (Li et al., 2024; Liu et al., 2024), thậm chí là trong môi trường nước (Peng et al., 2024; Xia et al., 2024). Ở Việt Nam, nhiều báo cáo cho thấy sự hiện diện

của vi khuẩn kháng thuốc trong các hệ thống nuôi thủy sản như *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Edwardsiella* và các loài vi khuẩn khác (Dang et al., 2005; Tu et al., 2010; Doan et al., 2018; Tran et al., 2022; Nguyen et al., 2023).

Trước tình hình toàn thế giới quan tâm đến các vấn đề như kháng kháng sinh và dư lượng kháng sinh, kế hoạch hành động của FAO về kháng kháng sinh giai đoạn 2021-2025 là hỗ trợ các nỗ lực toàn cầu để giải quyết tình trạng kháng kháng sinh trong thực phẩm và nông nghiệp (FAO, 2022). Việc tập trung nghiên cứu các giải pháp thay thế bền vững, sáng tạo trong điều trị bệnh sẽ mở ra một giai đoạn mới về sức khỏe thủy sản. Một số phương pháp điều trị mới nhằm kiểm soát các bệnh truyền nhiễm trong nuôi trồng thủy sản được trình bày trong nghiên cứu, góp phần gia tăng sức khỏe tôm cá, gia tăng hiệu quả chi phí và nâng cao năng suất sản xuất trong nuôi trồng thủy sản.

2. LIỆU PHÁP THỰC KHUẨN THỂ

Thực khuẩn thể hay thể thực khuẩn còn được gọi là bacteriophage hay phage. Thể thực khuẩn là một nhóm các vi rút chuyên biệt lây nhiễm vào các loài vi khuẩn khác nhau. Chúng được phát hiện cách đây hơn một thế kỷ. Phage vô hại đối với con người, động vật hoặc thực vật. Chúng chỉ nhắm mục tiêu lây nhiễm vào các tế bào vi khuẩn. Chúng đã kiểm soát sự phát triển và lây lan của vật chủ vi khuẩn từ hàng triệu năm về trước. Thể thực khuẩn là thực thể sinh học phổ biến nhất trong hệ sinh thái trên trái đất, có số lượng gấp mười lần so với quần thể vi khuẩn trong tự nhiên. Các thể thực khuẩn có mặt khắp sinh quyển và thậm chí còn xâm chiếm những môi trường khắc nghiệt như suối nước nóng, núi lửa. Các đại dương và lớp đất mặt là môi trường sống chính của chúng (Ali et al., 2023).

Dựa trên phương thức lây nhiễm, các phage có thể được phân loại thành hai nhóm chính: phage ly giải (lytic phage) và phage thể thực (lysogenic phage). Các phage ly giải dẫn đến sự ly giải hoàn toàn và lây nhiễm thành công vào tế bào vi khuẩn, trong khi các phage thể thực tích hợp bộ gen của chúng với bộ gen của vi khuẩn. Mặc dù được coi là thực thể sinh học phổ biến nhất trong sinh quyển, số lượng thể thực khuẩn được phát hiện và xác định chỉ là phần nổi của tảng băng chìm. Các phage thuộc các họ khác nhau và được phân loại dựa trên các tiêu chí như vật chủ mục tiêu cụ thể, hình thái học và trình tự phân tử (Ali et al., 2023).

Liệu pháp thể thực khuẩn (phage therapy) là phương pháp điều trị sử dụng thể thực khuẩn để điều

trị tình trạng bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn gây ra. Việc sử dụng các thể thực khuẩn làm liệu pháp điều trị đã có từ đầu thế kỷ 20. Cơ chế của liệu pháp thể thực khuẩn là vi rút thể thực khuẩn chèn bộ gen của nó vào vi khuẩn chủ, sao chép và nhân lên bên trong, gây ra sự phân giải tế bào và cuối cùng giết chết vi khuẩn. Trong khi một số thể thực khuẩn rất đặc trưng cho vật chủ thì một số khác có thể lây nhiễm sang nhiều vật chủ khác nhau. Nhược điểm chính của phương pháp điều trị bằng thể thực khuẩn đơn là có thể tạo ra vi khuẩn kháng thể thực khuẩn; các phage khác nhau có thể có kết quả khác nhau trên vật chủ vi khuẩn sau khi bị nhiễm. Theo Easwaran et al. (2022) và Egido et al. (2022), liệu pháp thực khuẩn thể bao gồm 6 nhóm liệu pháp như sau:

- Liệu pháp thể thực khuẩn đơn.
- Liệu pháp phối hợp giữa thực khuẩn thể và thuốc kháng sinh.
- Liệu pháp thiết kế các thể thực khuẩn biến đổi gen đặc hiệu.
- Liệu pháp thiết kế tổ hợp thể thực khuẩn (Phage Cocktail).
- Liệu pháp thể thực khuẩn mã hóa enzym.
- Liệu pháp thể thực khuẩn được mã hóa để chống lại hệ thống CRISPR (Clustered regularly interspaced short palindromic repeat).

Nghiên cứu của Le et al. (2018) đã xác định hiệu quả của thực khuẩn thể trong việc kiểm soát tỷ lệ chết hàng loạt của cá tra (*P. hypophthalmus*) do nhiễm vi khuẩn *A. hydrophila* ở các trại cá tại Việt Nam. Hai thực khuẩn thể với tên gọi là *A. hydrophila*-phage 2 và *A. hydrophila*-phage 5 đã được phân lập thành công từ các mẫu nước ở sông Sài Gòn, Việt Nam. Các thực khuẩn thể này thuộc họ Myoviridae, được phát hiện có phổ hoạt tính rộng, thậm chí chống lại các chủng *Aeromonas* kháng nhiều loại kháng sinh. Thời gian tiềm ẩn và kích thước bùng nổ của phage 2 lần lượt là 10 phút và 213 PFU trên mỗi tế bào chủ bị nhiễm.

Các phương pháp điều trị sử dụng phage được áp dụng cho các chủng vi khuẩn gây bệnh trong quá trình xâm nhiễm trên cá, đã giúp cải thiện đáng kể tỷ lệ sống của cá thử nghiệm, với tỷ lệ sống sót lên đến 100% so với tỷ lệ sống sót được quan sát thấy trong các thí nghiệm đối chứng là 18,3%. Kết quả thu được từ việc sử dụng một loại phage cocktail chỉ ra rằng thực khuẩn thể có thể được sử dụng thành công để điều trị bệnh do nhiễm *A. hydrophila* ở cá tra qua đường tiêm vào xoang bụng của cá. Những

phát hiện này chứng minh tiềm năng sử dụng thực khuẩn thể như một phương pháp xử lý sinh học hiệu quả để kiểm soát bệnh xuất huyết trong các trang trại nuôi cá.

Nghiên cứu của Tran et al. (2018) đã chứng minh thực khuẩn thể TG25P và CT45P có hiệu quả ức chế cao đối với vi khuẩn *A. hydrophila* gây bệnh xuất huyết trên cá tra. Hoạt tính của thực khuẩn thể TG25P được giữ lại lần lượt là khoảng 90% và 80% ở 37°C và 50°C trong 1 giờ. Hoạt tính của nó được duy trì đến hơn 80% ở pH 5-9 trong 24 giờ và khoảng 90-100% trong dung môi hữu cơ, chẳng hạn như cloroform hoặc diethyl ete trong 1 giờ. Ngoài ra, tính ổn định và hoạt động của thực khuẩn thể TG25P để kiểm soát *A. hydrophila* trong nước ao nuôi cá tra cũng được đánh giá cao trong 48 giờ. Điều này cho thấy, thực khuẩn thể TG25P có khả năng ứng dụng cao trong việc tạo ra các sản phẩm có chứa thực khuẩn thể với chi phí thấp.

Nghiên cứu của Dang et al. (2021) khảo sát hiệu quả bảo vệ của thực khuẩn thể PVN02 chống lại bệnh xuất huyết do *A. hydrophila* ở cá tra qua phương pháp cho ăn. Cá tra được cho ăn hai lần mỗi ngày bằng thức ăn viên có chứa thực khuẩn thể. Kết quả cho thấy, nếu không có sự tồn tại của thể thực khuẩn, tỷ lệ chết cao nhất là $68,3 \pm 2,9\%$ ở nhóm cá phơi nhiễm với mật độ vi khuẩn cao nhất. Ngược lại, tỷ lệ chết ở mật độ vi khuẩn *A. hydrophila* cao nhất giảm đáng kể xuống $8,33 \pm 2,9\%$ hoặc $16,67 \pm 2,9\%$ khi cá tra được cho ăn thức ăn chứa thực khuẩn thể liều lượng $\log 6,2 \pm 0,09$ hoặc $\log 4,2 \pm 0,09$ PFU/g. Nghiên cứu này chỉ ra rằng, việc bổ sung thực khuẩn thể vào thức ăn cho cá tra là một phương pháp rất khả thi trong việc ngăn ngừa dịch bệnh do vi khuẩn *A. hydrophila* ở các trang trại nuôi cá tra quy mô lớn.

Nghiên cứu của Droubogiannis et al. (2023) đã phân lập và mô tả đầy đủ một thể thực khuẩn đặc hiệu mới là vB_VhaS_MAG7, lây nhiễm trong vi khuẩn *V. harveyi* MM46, thử nghiệm hiệu quả của nó như một phương pháp điều trị ở ấu trùng cá tráp đầu vàng bị cảm nhiễm. Khi được áp dụng trong các thử nghiệm liệu pháp phage ở ấu trùng cá tráp đầu vàng bị cảm nhiễm, vB_VhaS_MAG7 có khả năng cải thiện khả năng sống sót của ấu trùng lên tới 20%. Do những tính năng khác biệt và an toàn, vB_VhaS_MAG7 được coi là ứng cử viên phù hợp cho liệu pháp phage ứng dụng.

Nghiên cứu của Hossain et al. (2024) giải quyết sự bùng phát thường xuyên của bệnh vi khuẩn trong nuôi tôm ở Bangladesh bằng cách tập trung nghiên cứu vào việc sử dụng thực khuẩn thể. Các thể thực khuẩn được phân lập từ mẫu nước thải được thu thập

từ trang trại nuôi tôm, trại giống. Trong các thử nghiệm *in vitro*, các thể thực khuẩn đã lây nhiễm thành công 91% chủng *Vibrio* được thử nghiệm (19 trong số 21 chủng). Trong thử nghiệm *in vivo*, tôm được áp dụng phương pháp dự phòng bằng thể thực khuẩn và điều trị bằng thể thực khuẩn đã chứng tỏ khả năng sống sót của tôm nuôi gia tăng sau thử nghiệm cảm nhiễm vi khuẩn *Vibrio* có độc tính.

3. LIỆU PHÁP ENDOLYSIN

Liệu pháp endolysin (lysin) bắt nguồn từ liệu pháp thể thực khuẩn (phage), liên quan đến việc sử dụng các enzyme thủy phân 'endolysin' giống như các enzym thủy phân được các thể thực khuẩn sử dụng để tách thành tế bào peptidoglycan của vi khuẩn (Deshotel et al., 2024). Endolysin được sản xuất và biểu hiện vào cuối chu kỳ phân giải của thể thực khuẩn, giải phóng thể hệ thể thực khuẩn sau sự thoái hóa của thành tế bào peptidoglycan của vi khuẩn (Wong et al., 2022).

Các endolysin của thể thực khuẩn ở dạng tái tổ hợp đã được áp dụng vào vi khuẩn Gram dương, gây ra sự ly giải nhanh chóng thành tế bào và làm chết tế bào vi khuẩn. Kể từ khi được phát hiện, các endolysin của thể thực khuẩn được đề xuất là tác nhân kháng khuẩn vì phương thức hoạt động riêng biệt và hoạt tính kháng khuẩn đặc hiệu cao, độc lập với các kiểu nhạy cảm với kháng sinh của vi khuẩn (Loessner, 2005). Một số nghiên cứu trước đây đã áp dụng endolysin của phage để nhắm vào các mầm bệnh như *Bacillus anthracis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* và *Bacillus thuringiensis* và thu được kết quả đầy hứa hẹn (Jun et al., 2017).

Endolysin của phage khác với các kháng sinh tiêu chuẩn về hiệu lực, tốc độ diệt khuẩn, tính đặc hiệu và hoạt tính chống lại các chủng kháng kháng sinh. Ngoài ra, endolysin của phage thường có tính đặc hiệu cao đối với các loài vi khuẩn cụ thể và hiếm khi tiêu diệt vi khuẩn không phải mục tiêu, bao gồm cả vi khuẩn hội sinh, điều này có thể làm giảm các biến chứng lâm sàng. Do đó, endolysin của thể thực khuẩn có thể được nghiên cứu phát triển nhằm thay thế thuốc kháng sinh hóa học hiện nay. Nhược điểm của phương pháp này là ít có hiệu quả đối với vi khuẩn Gram âm (Fenton et al., 2010).

Khi endolysin được sử dụng làm enzyme tái tổ hợp và được áp dụng ngoại sinh cho vi khuẩn Gram dương, chúng sẽ gây ra sự ly giải nhanh chóng tế bào vi khuẩn vì không có màng ngăn cản sự xâm nhập của chúng vào thành tế bào vi khuẩn. Chính khả năng mạnh mẽ này đã giúp tiêu diệt nhanh

chống các vi khuẩn Gram dương gây bệnh. Trong trường hợp là vi khuẩn Gram âm, màng ngoài của tế bào ngăn cản sự tiếp cận của endolysin ngoại sinh với peptidoglycan của thành tế bào vi khuẩn. Do đó, việc khai thác endolysin như chất kháng khuẩn bị hạn chế (Fenton et al., 2010). Việc sử dụng các chất thẩm màng tế bào như EDTA sẽ giúp endolysin đi qua màng ngoài của tế bào vi khuẩn Gram âm, từ đó giúp chúng chống lại vi khuẩn Gram âm tốt hơn.

Phương pháp endolysin được mô tả đầu tiên vào năm 2001 (Nelson et al., 2001) và được nghiên cứu trong hai thập kỷ qua đã cho thấy tiềm năng đáng kể của nó với các thử nghiệm lâm sàng đang diễn ra trên người (Jun et al., 2017; Fowler et al., 2020).

Nhìn chung, các endolysin được nghiên cứu cho đến nay có cấu trúc mô-đun hai miền. Endolysin được phân loại thành bốn nhóm khác nhau:

- N-acetylmuramidase (lysozyme)
- N-acetyl-β-D-glucosaminidase (glycosidase)
- N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase
- Các endopeptidase L-alanoyl-D-glutamate và các endopeptidase cầu nối đặc hiệu interpeptide.

Giống như thể thực khuẩn, endolysin có lợi thế hơn kháng sinh truyền thống ở chỗ chúng đặc hiệu cho từng giống hoặc thậm chí đặc trưng cho từng loài vi khuẩn. Từ đó chúng chỉ tiêu diệt mầm bệnh vi khuẩn mục tiêu trong khi vẫn giữ nguyên hệ vi khuẩn có lợi trong cơ thể sinh vật (Danis-Wlodarczyk et al., 2021). Điều này xảy ra do các thể thực khuẩn hoặc endolysin liên kết với các thụ thể đặc hiệu của một mầm bệnh nhất định trong khi kháng sinh thì có phổ kháng khuẩn rộng, tác dụng lên nhiều thành phần cấu tạo và quy trình chuyển hóa của vi khuẩn (Linden et al., 2021).

Ngoài ra, thể thực khuẩn và endolysin còn có ưu điểm là có khả năng tiêu diệt vi khuẩn đã kháng nhiều loại kháng sinh. Khi so sánh với liệu pháp thực khuẩn thể tiền nhiệm, các endolysin mang lại những lợi thế bổ sung về tốc độ (các phage yêu cầu phải tiến hành toàn bộ chu trình sao chép bên trong tế bào vi khuẩn trong khi đó các endolysin có thể tiêu diệt tế bào vi khuẩn ngay khi tiếp xúc) và khả năng cao là vi khuẩn sẽ không phát triển tính đề kháng (Schmelcher & Loessner, 2021).

Trong một báo cáo tổng hợp vào năm 2019, Matamp and Bhat đã cho rằng, có rất nhiều đánh giá về endolysin như chất chống lại vi khuẩn Gram dương. Tuy nhiên, cũng có một số endolysin cũng

có khả năng chống lại các mầm bệnh vi khuẩn Gram âm như *Vibrio alginolyticus* và *V. parahaemolyticus*. Trong đó, endolysin Lysqdv001 là endolysin có đặc tính tốt nhất với hoạt tính ly giải chống lại nhiều loài *Vibrio*. Endolysin được nhân bản trong chủng *E. coli* BL21 Star. Thử nghiệm cho thấy kết quả đầy hứa hẹn vì endolysin làm giảm độ đục của vi khuẩn *Vibrio* sau 5 phút. Sự giảm mật độ này được quan sát thấy do tiền xử lý nuôi cấy vi khuẩn bằng EDTA trong 5 phút. Lysqdv001 có thể phân giải 11/11 chủng *V. parahaemolyticus* đã được thử nghiệm.

Các loài *Aeromonas* có khả năng kháng kháng sinh cao, là vi khuẩn gây bệnh và là nguyên nhân gây tử vong hàng loạt ở cá nuôi. Một nghiên cứu đã tiến hành so sánh về hiệu quả kháng khuẩn của ba loại endolysin (LysPA26, Gp110 và OBPgp279) chống lại vi khuẩn kháng kháng sinh thuộc giống *Aeromonas*. Endolysin tinh khiết biểu hiện hoạt động kháng khuẩn đối với các loài *Aeromonas* bao gồm *A. hydrophila*, *A. salmonicida* và *A. veronii* mà không cần xử lý trước bằng chất thẩm màng ngoài. Hiệu ứng rõ rệt nhất được phát huy bởi endolysin Gp110. Kết quả thu được trong ống nghiệm đã được xác nhận bằng các thử nghiệm *in vivo* vì khả năng sống sót của cá *Oreochromis niloticus* bị nhiễm bệnh được điều trị bằng endolysin Gp110 cao hơn so với các endolysin khác. Hơn nữa, tác dụng của việc tiêm bắp Gp110 lên quá trình lành vết thương đã được đánh giá ở cá *Acipenser baerii* bị ảnh hưởng tự nhiên bởi bệnh Aeromonosis. Tỷ lệ liền vết thương ở cá được điều trị bằng Gp110 là 41,8% vào ngày thứ 6, tỷ lệ 79% vào ngày thứ 12 và 95,7% vào ngày thứ 25. Vì vậy, Gp110 là một ứng cử viên đầy hứa hẹn cho việc phát triển các phương pháp điều trị chống nhiễm trùng *Aeromonas* trong nuôi trồng thủy sản (Bakiyev et al., 2023).

Một nghiên cứu đánh giá hiệu quả của endolysin ClyX-2 điều trị cá vược sọc lai bị nhiễm *Streptococcus iniae* cải thiện tỷ lệ sống sót cao đáng kể là 95%, trái ngược với tỷ lệ sống sót 5% ở nhóm cá đối chứng không được điều trị. Kết quả thử nghiệm chứng minh rằng ClyX-2 thể hiện khả năng tiêu diệt vi khuẩn vượt trội, với hoạt tính tiêu hủy vi khuẩn được phát hiện ở nồng độ thấp dưới 15 µg/mL. Điều này cho thấy ClyX-2 là một giải pháp thay thế đầy hứa hẹn để chống lại nhiễm trùng *S. iniae* trong nuôi trồng thủy sản (Deshotel et al., 2024).

4. LIỆU PHÁP BACTERIOCIN

Nhiều chủng probiotic sản sinh ra chất kháng khuẩn đa dạng, chẳng hạn như enzyme phân giải,

hợp chất chelat sắt, kháng sinh, hydrogen peroxide, axit hữu cơ và bacteriocin. Trong số các chất kháng khuẩn này, bacteriocin là những peptide nhỏ phá vỡ tính toàn vẹn của màng tế bào vi khuẩn, nổi bật như một công cụ thay thế để kiểm soát vi khuẩn gây bệnh, các peptide kháng khuẩn hoặc bacteriocin gần đây đang được xem xét nghiên cứu. Vi khuẩn axit lactic (LAB) là một trong những nguồn tài nguyên chính cho quá trình sinh tổng hợp bacteriocin (Iyapparaj et al., 2013).

Tất cả các sinh vật sống đều sản xuất ra protein kháng khuẩn (antimicrobial proteins - AMP), nhiều loại trong số đó được gọi là peptide kháng khuẩn vì kích thước tương đối nhỏ của chúng. Vi khuẩn tạo ra hai loại AMP: loại được tổng hợp bởi ribosome (còn gọi là bacteriocin) và AMP không được tổng hợp bởi ribosome, không có gen cấu trúc mã hóa cho các AMP này (Negash & Tsehai, 2020).

Nhìn chung, bacteriocin là các chất protein đa chức năng, được sản xuất bởi ribosome với hoạt tính kháng khuẩn rõ rệt ở nồng độ nhất định. Chúng là những chất protein độc được tạo ra bởi vi khuẩn và một số thành viên của vi khuẩn cổ để ức chế sự phát triển của các chủng vi khuẩn khác. Những phân tử này có hoạt tính kháng khuẩn chống lại vi khuẩn gây bệnh. Nếu các bacteriocin do vi khuẩn tạo ra ức chế các vi khuẩn khác cùng loài thì chúng thường được coi là các bacteriocin phổ hẹp. Ngược lại, nếu chúng ức chế vi khuẩn thuộc giống khác thì chúng được coi là bacteriocin phổ rộng. Điều thú vị là các tế bào vi khuẩn sản xuất bacteriocin có khả năng kháng lại các peptide kháng khuẩn của chúng, qua trung gian là các protein miễn dịch cụ thể do tế bào chủ tạo ra (Negash & Tsehai, 2020).

Phương thức hoạt động của bacteriocin có thể thay đổi tùy theo đặc điểm của chúng. Chúng có thể tiêu diệt vi khuẩn thông qua sự hình thành lỗ trên màng tế bào, ngăn chặn hoạt động của các chất vận chuyển peptidoglycan và do đó ngăn cản quá trình tổng hợp thành tế bào và gây tổn hại đến vật liệu di truyền hoặc tổng hợp protein (Pereira et al., 2022).

Bacteriocin có bản chất tổng hợp ở ribosome, trong khi kháng sinh được sản xuất bởi nhiều phức hợp enzyme. Do đó, nhược điểm của bacteriocin là chúng có tác dụng diệt khuẩn hoặc kìm khuẩn trên phạm vi vi khuẩn hẹp, so với kháng sinh truyền thống có phổ rộng hơn rất nhiều. Ngoài ra, ở nồng độ thấp hơn, hầu hết các bacteriocin đều có hiệu quả chống lại vi khuẩn mục tiêu hơn so với kháng sinh. Bacteriocin thường được coi là tự nhiên hơn vì chúng được cho là có mặt trong nhiều loại thực phẩm được tiêu thụ từ thời cổ đại. Bacteriocin bị bất

hoạt bởi các enzyme, chẳng hạn như trypsin và pepsin, được tìm thấy trong đường tiêu hóa và do đó không làm thay đổi hệ vi sinh vật của đường tiêu hóa (Negash & Tsehai, 2020). Bacteriocin được phân loại như sau:

- Bacteriocin của vi khuẩn Gram dương: (1) Bacteriocin/Lantibiotic loại I; (2) Bacteriocin loại II; (3) Bacteriocin loại III.

- Bacteriocin của vi khuẩn Gram âm: (1) Protein có khối lượng phân tử cao (30-80 kDa) được gọi là colicin; (2) Peptide khối lượng phân tử thấp (từ 1 đến 10 kDa) được gọi là microcin.

Năm 1925, cùng với việc phát hiện ra colicin, nghiên cứu về bacteriocin đã nhận được sự chú ý đáng kể. Đến năm 1995, hơn một trăm loại bacteriocin khác nhau đã được xác định. Bacteriocin có thể mang lại lợi thế cạnh tranh quan trọng cho loài sản sinh ra chúng. Probiotic được quan tâm có thể tạo ra bacteriocin tại vị trí hoạt động của chúng (Pereira et al., 2022).

Trong một báo cáo tổng hợp vào năm 2021, Hernández-González đã cho rằng, một số loại nisin có hiệu quả chống lại mầm bệnh trong nuôi trồng thủy sản. Báo cáo ghi nhận Nisin Z được sản xuất bởi *L. lactis* subsp. *cremoris*, có thể ngăn ngừa bệnh Lactococcosis ở cá hồi vân. *Pediococcus acidilactici* L-14 tạo ra bacteriocin Pediocin PA-1, được chứng minh là có hoạt tính kháng khuẩn chống lại mầm bệnh ở cá như *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus iniae*, *Carnobacteria maltaromaticum* và *Aeromonas salmonicida*. Điều trị bằng enterocin AS-48 ở cá hồi bị nhiễm *L. garvieae* cho tỷ lệ sống sót là 60%, so với cá không được điều trị. Các nghiên cứu khác cho thấy *Lactobacillus pentosus* HC-2 và *E. faecium* NRW-2 có thể được sử dụng trong chế độ ăn của tôm vì chúng có hoạt tính kháng khuẩn chống lại *Vibrio harveyi* và *Vibrio parahaemolyticus* (ATCC 17802). Sự kết hợp của bacteriocin từ LAB và peptide kháng khuẩn (AMP) cho thấy tác dụng hiệp đồng và mở rộng phạm vi phổ.

Trong một bài báo cáo tổng quan năm 2022, Ninh và các cộng sự cho rằng, so với việc bổ sung bacteriocin tinh chế thì việc bổ sung chủng sản xuất bacteriocin vào chế phẩm probiotic có nhiều ưu điểm hơn, do chúng là các chủng vi khuẩn sống nên có khả năng điều chỉnh để hoạt động tốt hơn trong cơ thể vật chủ và trong môi trường. "Alchem Poseidon" là một chế phẩm probiotic đã được thương mại hóa và sử dụng rộng rãi trong nuôi trồng thủy sản nhằm kiểm soát vi khuẩn *V. harveyi* gây

bệnh trên tôm sú, vi khuẩn *V. anguillarum* gây bệnh trên cá. Chế phẩm này có chứa chủng vi khuẩn *Bacillus subtilis* sinh bacteriocin: bacillocin 22, chủng vi khuẩn *Lactobacillus acidophilus* sinh actacin và acidocin, chủng vi khuẩn *Clostridium butyricum* sinh butyricin 7423.

Organicin Scientific đang sử dụng bacteriocin để ngăn ngừa nhiễm trùng *Vibrio* ở tôm nuôi, cải thiện khả năng sống sót của tôm bị nhiễm bệnh và giải quyết bệnh EMS. Việc kết hợp bacteriocin vào thức ăn là phương pháp quản lý hữu ích nhất. Trên thực tế, thức ăn bổ sung bacteriocin của Organicin Scientific phát triển đã cải thiện tỷ lệ sống sót của tôm mắc bệnh EMS gần 100%, cũng như duy trì hoạt động sau khi tiếp xúc với nhiệt độ và áp suất cao. Với khả năng chịu nhiệt cao của bacteriocin, chúng có thể dễ dàng được đưa vào thức ăn ở cấp độ nhà sản xuất, chịu đựng quá trình ép đùn nhiệt và được cung cấp trực tiếp cho các loài, khiến việc áp dụng chúng trở nên đơn giản đối với người nông dân và giảm thiểu mọi thay đổi cần thiết đối với quá trình nuôi dưỡng. EMS xảy ra do vi khuẩn *Vibrio* gây bệnh xâm nhập vào ruột tôm, do đó việc đưa bacteriocin qua thức ăn là một chiến lược phòng ngừa đáng tin cậy (Waycott, 2023).

Một nghiên cứu của Mitchell et al. (2023) đã đánh giá tác động của việc sử dụng thức ăn có chứa bacteriocin có làm tăng tỷ lệ sống của tôm bị nhiễm AHPND. Kết quả cho thấy, các nhóm tôm được điều trị có tỷ lệ sống sót trung bình đạt 96%, với nồng độ thấp nhất và cao nhất của bacteriocin mang lại tỷ lệ sống sót cao nhất. Những kết quả này cho thấy chất phụ gia bacteriocin có thể được sử dụng để ngăn ngừa hoặc giảm thiểu nhiễm trùng AHPND ở tôm. Tỷ lệ kết hợp 0,84 mg/g và 84 mg/g đã được chứng minh là mang lại tỷ lệ sống tương đương. Các thử nghiệm bổ sung cũng đã được thực hiện cho thấy loại bacteriocin đặc biệt này có độ đặc hiệu cao đối với một số mầm bệnh *Vibrio*, với hoạt tính hạn chế chống lại các vi khuẩn có lợi của hệ vi sinh vật đường ruột tôm. Những kết quả này cho thấy rằng, so với điều trị bằng kháng sinh thông thường, phương pháp điều trị bằng bacteriocin có thể loại bỏ mầm bệnh tôm một cách cụ thể hơn trong khi vẫn giữ lại hệ vi sinh vật tôm tương đối nguyên vẹn và do đó tăng cường sức khỏe tôm.

5. LIỆU PHÁP PEPTIDE KHÁNG KHUẨN

Các protein và peptide kháng khuẩn, gọi chung là peptide kháng khuẩn (antimicrobial peptides-AMP, còn được gọi là host defense peptides-HDP) có thể là giải pháp thay thế an toàn và hiệu quả vì vi

trí tác dụng của chúng là trên các thành phần của vi sinh vật; chúng có khả năng phân hủy sinh học; tính đa dạng của chúng về cơ chế hoạt động rất rộng (Zermeno-Cervantes et al., 2020). Phương pháp kháng khuẩn thay thế này vẫn đang được nghiên cứu nên sẽ còn rất nhiều thách thức và cơ hội chưa được khám phá để ứng dụng trong việc điều trị các bệnh do vi khuẩn trong nuôi trồng thủy sản. Hiện nay, nhiều AMP khác nhau đã được tìm thấy trong cá như defensin, cathelicidin, natural killer lysin (NK-lysin), hepcidin (liver expression antimicrobial peptide 1, LEAP1) và LEAP2 (Zhang et al., 2024a).

Việc sử dụng peptide kháng khuẩn (AMP) trên lâm sàng là một trong những lựa chọn thay thế hứa hẹn nhất để ngăn chặn sự phát triển của mầm bệnh kháng kháng sinh. Các AMP được sản xuất bởi nhiều loại sinh vật, có hoạt tính rộng và phần lớn không đặc hiệu, đây là đặc điểm khiến chúng trở thành ứng cử viên tiềm năng cho các ứng dụng được lý. Việc liên tục phát hiện ra các nhóm AMP mới ở các vi sinh vật đa dạng đã mở rộng tiềm năng của chúng như là một thể hệ thuốc kháng khuẩn mới để điều trị các bệnh do vi khuẩn ở người và cả ở động vật. Các AMP có phổ hoạt động sinh học rộng do đó có thể được kết hợp trong các chiến lược phác đồ tổng hợp chống lại nhiều bệnh do vi rút, nấm và ký sinh trùng, cũng như điều chỉnh hệ thống miễn dịch (Lopez-Meza et al., 2011).

Peptide kháng khuẩn (AMP) là một phần thiết yếu của phản ứng bẩm sinh, được tạo ra bởi hầu hết các dạng sống, bao gồm vi khuẩn, côn trùng và thực vật đến động vật có xương sống và con người (Lazzaro et al., 2020). Cơ chế hoạt động của các peptide này bắt đầu bằng sự tương tác tĩnh điện với màng tế bào tích điện âm của tế bào đích, dẫn đến khả năng thẩm thấu của chúng, gây ra sự ly giải và tử vong của các tế bào. AMP có thể đi qua màng tế bào và tương tác với các mục tiêu nội bào khác nhau. Tính không đặc hiệu rõ ràng của sự tương tác với màng tế bào và nhiều mục tiêu cuối cùng của các peptide này làm cho vi khuẩn gây bệnh gặp phải khó khăn trong việc phát triển khả năng đề kháng lại chúng. Nhiều AMP trong số này thể hiện ngoài các đặc tính kháng khuẩn, còn có các hoạt tính sinh học khác, chẳng hạn như chức năng điều hòa miễn dịch, cảm ứng sản xuất cytokine và phản ứng viêm (Lopez-Sanmartin et al., 2023). Có 3 cách phân loại AMP: (Naiel et al., 2023)

- Phân loại theo cấu trúc, gồm có các loại như the α -helical AMP, the β -sheet AMP, extended linear structure AMP, mixed AMP.

- Phân loại theo sự phong phú của axit amin, gồm có các loại như proline-rich AMP, tryptophan-rich AMP, arginine-rich AMP, histidine-rich AMP, glycine-rich AMP.

- Phân loại theo nguồn gốc ly trích, gồm có các loại như Mammalian AMP, Amphibian-derived AMP, Insect-derived AMP, Microorganisms-derived AMP, Plant-derived AMP, Aquatic-derived AMP.

Trong một báo cáo tổng hợp vào năm 2023, Naiel et al. đã ghi nhận về hoạt động chống ký sinh trùng của AMP. Một số nghiên cứu có thể kể đến là AMP “piscidin-2” tổng hợp, có nguồn gốc từ cá vược sọc lai cho thấy hoạt động chống ký sinh trùng mạnh mẽ chống lại nhiều loại ký sinh trùng ở cá như *Trichodina*, *Amyloodinium ocellatum*, *Cryptocaryon irritans* ở cá biển và *Ichthyophthirius multifiliis* ở cá nước ngọt. Hơn nữa, người ta cũng chứng minh rằng AMP “Ofpis-1” thu được từ cá tráp đá có hoạt tính chống ký sinh trùng được gọi là *Miamiensis avidus*. Loại AMP piscidin-1 cation, piscidin-2 không cation và biến thể piscidin-2b có nguồn gốc từ cá tuyết Đại Tây Dương thể hiện các hoạt động chống ký sinh trùng được gọi là *Tetrahymena pyriformis*. Tương tự, AMP tổng hợp “ecPis-3” được xác định từ cá mú đốm cam có thể phá vỡ màng giai đoạn lây nhiễm của *C. irritans*. AMP “HLP-1” đặc trưng từ cá vược sọc lai đã chứng tỏ tác dụng chống ký sinh trùng mạnh mẽ chống lại trophont của *A. ocellatum*. AMP “Hb β P-1” được xác định từ *Ictalurus punctatus* cũng đã chứng minh tác dụng chống ký sinh trùng chống lại các giai đoạn trophont của ký sinh trùng *I. multifiliis* và *T. pyriformis*.

Trong nghiên cứu của Lopez-Sanmartin et al. (2023), cấu trúc 3D và tính ổn định của peptide tổng hợp D-amino axit (D-Caerin) đối với protease và các điều kiện pH khắc nghiệt đã được phân tích và so sánh với peptide tự nhiên L-enantiomer tương ứng của nó (Caerin 1.1). Hơn nữa, hoạt tính kháng khuẩn của D-Caerin đã được thử nghiệm *in vitro* cho thấy chống lại vi khuẩn *Micrococcus luteus*, *Vibrio aestuarianus*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio harveyi* và *Vibrio tapetis*, là một trong những tác nhân gây bệnh tiêu biểu nhất trong nuôi trồng thủy sản. Hoạt tính sinh học của D-Caerin cũng đã được thử nghiệm *in vivo* trên ghê bị nhiễm trùng vi khuẩn hỗn hợp của các loài *Vibrio*. Những thử nghiệm sơ bộ cho thấy các mẫu được xử lý bằng D-Caerin có tỷ lệ sống sót cao hơn sau khi nhiễm bệnh, chứng tỏ tính ổn định vượt trội của D-Caerin và tính hiệu quả của nó đối với các tác nhân gây bệnh Vibriosis.

Nghiên cứu của Zhang et al. (2024a) cho rằng LEAP2 đóng một vai trò quan trọng trong khả năng miễn dịch bẩm sinh của vật chủ. Trong nghiên cứu này, một chất tương đồng LEAP2 (SsLEAP2) đã được phân lập từ cá đá đen *Sebastes schlegelii*. Kết quả cho thấy biểu hiện của SsLEAP2 cao nhất ở gan và có thể được gây ra do nhiễm thực nghiệm với tác nhân gây bệnh *Listonella anguillarum*, *Edwardsiella piscicida* và Rock bream iridovirus C1 (RBIV-C1). SsLEAP2 tái tổ hợp (rSsLEAP2) được tinh chế từ *E. coli* có thể liên kết với nhiều loại vi khuẩn Gram dương và Gram âm khác nhau. Ngoài ra, các thí nghiệm *in vivo* chỉ ra rằng sự biểu hiện quá mức của SsLEAP2 có thể ức chế sự lây nhiễm của vi khuẩn và làm tăng mức độ biểu hiện của các gen miễn dịch. Việc giảm hoạt động của SsLEAP2 sẽ thúc đẩy sự lây nhiễm vi khuẩn và làm giảm mức độ biểu hiện của các gen trên. Nhìn chung, những kết quả này cho thấy SsLEAP2 là một chất tương đồng LEAP2 mới, có hoạt tính kháng khuẩn và điều hòa miễn dịch rõ ràng, do đó đóng một vai trò quan trọng trong việc bảo vệ vật chủ chống lại sự xâm nhập của mầm bệnh.

6. LIỆU PHÁP KHÁNG THỂ IgY

Kháng thể lòng đỏ trứng gà hay còn gọi là Immunoglobulin Y (IgY) hoặc chicken egg yolk antibody, là một loại kháng thể đặc biệt có mặt trong lòng đỏ trứng của các loài lưỡng cư, chim và bò sát. Khi cơ thể bị kích thích bởi một chất lạ, các tế bào B trưởng thành trong bao Fabricius sẽ biệt hóa thành tế bào plasma; các kháng thể được tạo ra bởi các tế bào plasma này sau đó di chuyển qua dòng máu và kết tụ trong lòng đỏ, sau đó hình thành IgY. Kháng thể IgY được Klemperer phát hiện lần đầu tiên vào năm 1889. Sau đó được Leslie và Clem đặt tên chính thức vào năm 1969 (Zhang et al., 2024b).

Ưu điểm của việc sử dụng IgY cho các hoạt động nuôi trồng thủy sản là vì chúng có tính đặc hiệu cao, không xâm lấn, không hình thành tình trạng kháng thuốc ở vi sinh vật, có thể được sản xuất hàng loạt và không gây ô nhiễm hay tồn dư. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh IgY có hiệu quả chống lại nhiều loại mầm bệnh trên cá và tôm như nhóm vi khuẩn *Vibrio* (tiêu biểu là *Vibrio alginolyticus*), AHPND, WSSV, *Yersinia ruckeri*, *Edwardsiella tarda*. Nhược điểm của IgY là IgY hoạt động chủ yếu ở ruột và dễ bị ảnh hưởng bởi hoạt động của protease cao trong dạ dày và dịch vị, do đó làm giảm đáng kể hoạt tính sinh học của IgY (Zhang et al., 2024b).

IgY đã được chứng minh là ổn định ở 60°C trong tối đa 8 giờ. Tuy nhiên, hoạt tính của IgY giảm ở nhiệt độ trên 70°C trong 15 phút và mất hoạt tính ở

80°C. IgY có thể được bảo quản ở 37°C trong 1 tháng hoặc ở nhiệt độ phòng trong 12 tháng. Trong quy trình sản xuất hàng loạt bột kháng thể IgY, người ta thường phun chất bảo vệ Glycoprotectant, (37,5% mannitol hoặc sorbitol hoặc cellulose vi tinh thể).

IgY ức chế sự kết dính của vi khuẩn vào tế bào vật chủ, từ đó làm giảm hoạt động, cản trở sự tăng trưởng và sinh sản của vi khuẩn. Thử nghiệm *in vitro* cho thấy IgY hình thành một dạng liên kết đặc hiệu với tế bào vi khuẩn, sau đó làm giảm khả năng hấp thu dinh dưỡng của vi khuẩn. Cho đến nay, IgY đặc hiệu chống lại *Vibrio vulnificus*, *E. tarda*, *Streptococcus iniae*, *V. parahaemolyticus*, *A. hydrophila* và *V. splendidus* đã được áp dụng để điều trị bệnh cho động vật thủy sản với phương thức áp dụng bao gồm cho ăn, tiêm và ngâm (Zhang et al., 2024b).

Trong nghiên cứu của Lu et al. (2009), IgY hoạt tính cao chống lại WSSV đã được sử dụng để gây miễn dịch thụ động cho tôm *Procambarus clarkia*. Kết quả cho thấy các nhóm được điều trị bằng cách tiêm IgY có nguồn gốc từ WSSV bất hoạt và có nguồn gốc từ DNA có tỷ lệ tử vong lần lượt là 20% và 80%. Các nhóm trong chế độ ăn bổ sung 10% bột lòng đỏ trứng và 1% IgY cho tỷ lệ tử vong lần lượt là 53,3% và 67,7%, và nhóm ngâm cho tỷ lệ tử vong là 46,7%. Những kết quả này cho thấy việc tạo miễn dịch thụ động bằng các kháng thể IgY đặc hiệu thông qua tiêm bắp, cho ăn và ngâm có hiệu quả để bảo vệ tôm càng chống lại WSSV. Điều đáng chú ý là IgY làm phụ gia trộn thức ăn và dung dịch ngâm là phương pháp hữu ích và khả thi trong thực tế (Lu et al., 2009).

Nakamura et al. (2019) đã tiến hành hàng loạt thí nghiệm nhằm đánh giá tác dụng bảo vệ của IgY chống lại nhiễm AHPND ở tôm thẻ *Litopenaeus vannamei*. Các kết quả cho thấy, tỷ lệ sống của tôm bị cảm nhiễm được cho ăn các chế độ ăn chứa PirA-IgY, PirB-IgY lần lượt là 86% và 14%. Chỉ có tôm được cho ăn thức ăn chứa kháng thể PirA-IgY mới có khả năng chống lại AHPND. Việc tăng nồng độ kháng nguyên rPirA để tạo miễn dịch cho gà mái và giảm lượng bột trứng trong thức ăn xuống 10% cho thấy tỷ lệ sống sót cao hơn ở tôm được nuôi bằng PirA-IgY (87%) so với đối chứng (12%). Những kết quả này xác nhận rằng việc bổ sung kháng thể PirA-IgY trong thức ăn có thể là một phương pháp phòng ngừa hiệu quả chống lại nhiễm AHPND ở tôm.

Bệnh Herpesviral hematopoietic necrosis do cyprinid herpesvirus-2 (CyHV-2) gây ra rất phổ biến ở cá *Carassius gibelio* và có liên quan đến tỷ lệ

từ vong cao, gây thiệt hại kinh tế lớn. Hiện tại, không có phương pháp phòng ngừa và kiểm soát nhiễm CyHV-2 hiệu quả nào. Ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy rằng IgY đặc hiệu có hiệu quả cao chống lại nhiễm CyHV-2 ở cá. Trong một nghiên cứu gần đây, IgY đặc hiệu cho thấy hoạt tính trung hòa cao trong ống nghiệm chống lại CyHV-2, bằng chứng là sự giảm đáng kể tác dụng gây bệnh tế bào ở tế bào não cá được nuôi cấy với sự có mặt của kháng thể IgY. Cá được cho ăn IgY trước khi cảm nhiễm với vi rút CyHV-2, có tỷ lệ sống sót cao hơn đáng kể và tải lượng vi rút trong thận thấp hơn đáng kể. Khả năng sống sót được cải thiện và giảm lượng vi rút cũng được quan sát thấy ở cá bị nhiễm CyHV-2 sau đó mới được bổ sung D4ORFs-IgY vào chế độ ăn. Nhìn chung, những kết quả này đã chứng minh cả tác dụng phòng ngừa và điều trị của IgY chống lại nhiễm trùng CyHV-2 (Sun et al., 2023).

Nghề nuôi của *Eriocheir sinensis* đã trở thành một trụ cột quan trọng trong ngành nuôi trồng thủy sản ở Trung Quốc. Bệnh run (TD) do *Spiroplasma eriocheiris* gây ra là một trong những bệnh nghiêm trọng nhất đối với của *E. sinensis*. IgY kháng *S. eriocheiris* ức chế sự phát triển của *S. eriocheiris* trong ống nghiệm. Tác dụng của IgY trong việc chống lại nhiễm trùng *S. eriocheiris* được chứng minh *in vivo* bằng cách cho ăn hoặc tiêm IgY đặc hiệu vào cá. Số lượng bản sao của *S. eriocheiris* trong tế bào máu của cá sử dụng IgY đặc hiệu ít hơn đáng kể so với cá nhận được IgY bình thường hoặc không có IgY. Trong khi đó, tỷ lệ sống sót của cá *E. sinensis* sử dụng cả phương pháp tiêm và cho ăn IgY đã tăng đáng kể trong quá trình cảm nhiễm *S. eriocheiris*. Kết quả kính hiển vi điện tử cho thấy cấu trúc của *S. eriocheiris* trong nhóm được điều trị bằng IgY đặc hiệu hoàn toàn không đều và bị phá vỡ (Guo et al., 2023).

7. LIỆU PHÁP SỬ DỤNG CÁC HẠT NANO

Các báo cáo tổng hợp của Easwaran et al. (2022) đã chỉ ra rằng, các hạt nano (Nanoparticle -NP) thể hiện hoạt tính kháng khuẩn cao chống lại hầu hết các vi khuẩn, nấm và vi rút. Với các đặc tính hóa học, vật lý và sinh học mới, các phương pháp tiếp cận dựa trên nano được coi là một lựa chọn đầy hứa hẹn trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là trong lĩnh vực điều trị bệnh cho cá (Das et al., 2020).

Công nghệ nano là một lĩnh vực liên ngành đang phát triển nhanh chóng, liên quan đến kỹ thuật chế tạo vật liệu có kích thước nano (1-100 nm). Các vật liệu này có đặc tính hóa lý khác biệt rất nhiều so với các dạng có kích thước khối. Vì vật liệu nano có kích

thước tương tự như các phân tử sinh học trong tế bào sống và vì rút nên chúng đã trở thành công cụ có giá trị để chẩn đoán và điều trị trong y học. Trong số các loại hạt nano, các hạt nano kim loại đã thu hút được sự chú ý đặc biệt là nhờ vào chất kháng khuẩn mạnh do hoạt động phổ rộng, độ bền, sức đề kháng, tính chọn lọc và tính đặc hiệu. Các hạt nano này thường thể hiện hoạt động kháng khuẩn đa cơ chế, thông qua việc phá vỡ tính toàn vẹn màng tế bào vi khuẩn và tạo ra các loại oxy phản ứng. Trong số các hạt nano kim loại kháng khuẩn khác nhau, hạt nano bạc (Ag-NP) và oxit kẽm (ZnO-NP) được nghiên cứu rộng rãi nhất (Das et al., 2020). Việc sử dụng các hạt nano trong phòng trị bệnh cho động vật thủy sản có nhiều ưu điểm nổi bật, tuy nhiên cũng tồn tại một số nhược điểm và rủi ro như các hạt nano có khả năng tích tụ trong môi trường nước, gây ra ô nhiễm và ảnh hưởng tiêu cực đến các loài sinh vật không phải mục tiêu, vi khuẩn và virus có khả năng kháng cự lại các hạt nano theo thời gian, làm giảm hiệu quả của liệu pháp.

7.1. Hạt nano bạc

Theo Duran et al. (2016), hạt nano bạc (Ag-NP) được công nhận là tác nhân kháng khuẩn hàng đầu với khả năng chống lại vi khuẩn thông qua một số cơ chế sau:

- Tác động lên axit deoxyribonucleic (DNA) của vi khuẩn.
- Phá vỡ màng tế bào của vi khuẩn.
- Ức chế sự phân chia tế bào vi khuẩn.
- Làm rối loạn quá trình tổng hợp protein, có thể phá vỡ sự kháng thuốc của vi khuẩn.

Hoạt tính kháng khuẩn mạnh của Ag-NP đã được chứng minh chống lại các vi khuẩn Gram dương và Gram âm như *Staphylococcus aureus* và *Pseudomonas fluorescens*, *Edwardsiella tarda*, *Proteus* spp., *Flavobacter* spp. Báo cáo trước đây cho rằng Ag-NP đã được sử dụng để cải thiện chất lượng thức ăn và nước cho cá trong nuôi trồng thủy sản (Das et al., 2020).

Trong các nghiên cứu *in vitro* trước đây, hạt nano bạc Ag-NP cho thấy hoạt động kháng khuẩn tiềm năng chống lại các vi khuẩn cá khác nhau, bao gồm *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacter* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Vibrio harveyi*, *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*, *Yersinia ruckeri*. Hạt nano bạc cũng đã được ghi nhận có tác dụng chống nấm *Aphanomyces invadans* (Shaalan et al., 2017). Cụ thể, Ag-NP đã cho thấy hiệu quả

kháng khuẩn chống lại *A. hydrophila* ở cá *Catla catla* (Antony et al., 2013) và các hạt nano liên hợp rifampicin có hiệu quả chống lại sự lây nhiễm *Mycobacteria marinum* trong phôi cá ngựa vằn (Fenaroli et al., 2014).

Trong một báo cáo tổng hợp gần đây, Camacho-Jimenez et al. (2020) đã ghi nhận về nhiều kết quả nghiên cứu cho thấy tác dụng kháng vi rút WSSV của Ag-NP bằng cách sử dụng một sản phẩm được cấp bằng sáng chế là Argovit® (Ochoa-Meza et al., 2019) và Argovit-4® (Romo-Quinonez et al., 2020). Đây là một huyền phù của các hạt nano bạc hình cầu được phủ PVP. Tác dụng chống WSSV của các loại thuốc này phụ thuộc vào liều lượng, cơ chế phân phối và loại vi rút được sử dụng. Argovit-4® đã được thử nghiệm để phòng bệnh khi áp dụng đồng thời với chủng WSSV, cho thấy giảm tỷ lệ tử vong của tôm ở mức tối đa 50% với liều 1000 ng. Ngoài ra, sử dụng Argovit-4® bằng cách cho ăn đường như có tác dụng bảo vệ tôm một cách hiệu quả khi tiếp xúc với mô bị nhiễm bệnh. Liều tối thiểu 10 µg/g đủ để bảo vệ tôm chống lại WSSV, tôm được điều trị có tỷ lệ tử vong là 16% sau 192 giờ. Điều quan trọng là không quan sát thấy tác dụng độc hại nào ở nồng độ Ag-NP này. Hơn nữa, Argovit® có hiệu quả trong điều trị WSSV ở tôm *L. vannamei* bằng cách tăng tỷ lệ sống sót của tôm bị nhiễm bệnh từ 70-80% tùy theo liều lượng, cùng với việc giảm tải lượng vi rút được định lượng bằng phân tích phân tử. Điều thú vị là tôm dương tính với WSSV được điều trị bằng Argovit-4® không phát triển các dấu hiệu và triệu chứng của bệnh đốm trắng, cho thấy rằng virion của vi rút trong tôm đã mất khả năng lây nhiễm theo một cách nào đó (Juarez-Moreno et al., 2017). Có ý kiến cho rằng Argovit® phát huy tác dụng kháng vi rút bằng cách tạo ra khả năng miễn dịch bẩm sinh ở tôm bị nhiễm WSSV, thông qua cơ chế nhận biết protein màng tế bào của Ag-NP hoặc bằng sự tương tác của nó với lớp vỏ WSSV (Ochoa-Meza et al., 2019).

7.2. Hạt nano oxit kẽm

Các hạt nano oxit kẽm (ZnO-NP) có thể gây rò rỉ các thành phần nội bào do màng tế bào vi khuẩn bị phá hủy. So với ZnO thông thường, ZnO-NP thể hiện hoạt tính diệt khuẩn vượt trội, đặc biệt là chống lại các chủng vi khuẩn Gram âm. Không giống như Ag-NP, ZnO-NP chịu trách nhiệm cho hầu hết các hoạt động bất thường như các loại oxy phản ứng (ROS), rối loạn màng tế bào, hình thành hydro peroxide và tổn thương tế bào khi vi khuẩn được xử lý bằng ZnO-NP. Điều thú vị là ZnO-NP có thể được sinh tổng hợp với sự trợ giúp của các chủng

Aeromonas hydrophila và có hoạt tính chống lại *Aeromonas hydrophila*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* và *Pseudomonas aeruginosa* (Jayaseelan et al., 2012).

ZnO-NP có khả năng kiểm soát bệnh do nhiễm vi khuẩn *Aeromonas veronii* và ít gây thiệt hại nhất cho cá cảnh *Xiphophorus hellerii*. Các hạt nano bạc Ag-NP và ZnO-NP đều có hoạt tính diệt khuẩn chống lại *A. veronii*. Việc xử lý bằng Ag-NP và ZnO-NP ở nồng độ 1 mg/L cho thấy tăng cường tỷ lệ sống sót của cá *X. hellerii* lên lần lượt là 83,3% và 100%. Phương pháp nhúng trong bể tiếp tục khẳng định khả năng bảo vệ của các hạt nano oxit kẽm (1 mg/L) đối với cá *X. hellerii* (Das et al., 2020).

Nghiên cứu của Vinu et al. (2021) đã điều chế sinh học các hạt nano oxit kẽm (ZnO), bằng cách sử dụng tảo biển nâu *Sargassum swartzii*. Hoạt tính kháng khuẩn của vật liệu nano sinh học (ZnO-NP) được nghiên cứu chống lại *V. parahaemolyticus* phân lập từ tôm nuôi với nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) đạt 25 µg/mL. Kết quả cho thấy ZnO-NP có khả năng ức chế vi khuẩn mạnh mẽ tùy theo liều lượng. Hơn nữa, phân tích kính hiển vi điện tử SEM cho thấy rằng, sự tương tác của vật liệu nano với *V. parahaemolyticus* đã dẫn đến sự thay đổi sức căng bề mặt, dẫn đến khử cực màng, hình thành các kết cấu bất thường như vỡ màng, phồng màng, vón cục màng và - gây chết tế bào.

Cá rô phi *Oreochromis niloticus* được cho ăn bổ sung 40 mg/kg Zn-NP mang lại hiệu quả tốt nhất về các thông số sức khỏe, tình trạng oxy hóa và khả năng kháng bệnh. Hơn nữa, cá được cho ăn theo chế độ này đã có tỷ lệ tử vong giảm đáng kể khi bị *Staphylococcus aureus* tấn công gây bệnh. Do đó, có thể khuyến nghị sử dụng 40 mg/kg ZnO-NP để xây dựng chế độ ăn thiết thực cho cá nhằm tăng cường cải thiện sức khỏe, điều hòa miễn dịch và khả năng chống lại bệnh do vi khuẩn (Yaqub et al., 2023).

8. LIỆU PHÁP QUORUM QUENCHING

Quorum quenching (QQ) là một liệu pháp được sử dụng để ức chế tín hiệu Quorum sensing (QS) – cơ chế giao tiếp liên khuẩn thông qua các tín hiệu hoá học. Một số phương pháp đã được đề xuất và phát triển nhằm tác động tiêu cực đến quá trình giao tiếp này, từ đó ngăn chặn các hoạt động của vi khuẩn có hại (Jayaprakashvel & Subramani, 2019; Lubis et al., 2024).

Điều thú vị là các tín hiệu QS được tìm thấy có cấu trúc đa dạng và phức tạp. Ví dụ, các tín hiệu QS

như acyl-homoserine lactone (AHL), *Pseudomonas* quinolone signal (PQS), diffusible signal factor (DSF) và autoinducer-3 (AI-3) đã được nghiên cứu kỹ ở các vi khuẩn khác nhau. Các mầm bệnh vi khuẩn phổ biến nhất ảnh hưởng đến nuôi trồng thủy sản bao gồm các loài thuộc *Pseudomonas*, *Aeromonas* và *Vibrio* được phát hiện có hệ thống QS khác nhau. Ví dụ, *Pseudomonas* có 4 loại hệ thống QS là LasI/R, RhlI/R, Pqs-PqsR và Iqs; *Aeromonas* có hệ thống AhyRI. Nhưng thực tế quan trọng nhất là hệ thống QS qua trung gian AHL rất phổ biến trong số tất cả các mầm bệnh và mầm bệnh vi khuẩn biển khác (Priya et al., 2023).

Hầu hết các mầm bệnh vi khuẩn điều chỉnh các yếu tố độc lực của chúng, bao gồm hình thành màng sinh học, tổng hợp peptide và sản xuất một số enzyme thông qua hệ thống giao tiếp Quorum sensing (QS). Khi các hệ thống QS này bị gián đoạn, mầm bệnh vi khuẩn sẽ mất đi khả năng gây bệnh. Các phân tử tự động cảm ứng (Autoinducer-AI) được tạo ra dưới dạng phân tử tín hiệu để cảm nhận được quần thể vi khuẩn trong vùng lân cận. Nhiều nhà nghiên cứu ở những nơi khác trên thế giới đã nghiên cứu cách kiểm soát dịch bệnh mới lạ và ấn tượng này trong nuôi trồng thủy sản. Tuy nhiên, chiến lược đầy hứa hẹn này vẫn chưa được thử nghiệm một cách toàn diện. Do đó, phương pháp này vẫn còn rất nhiều thách thức và cơ hội chưa được khai thác để ứng dụng trong việc điều trị các bệnh do vi khuẩn trong nuôi trồng thủy sản. Người ta dự đoán rằng một số chất ức chế QS mới và mạnh mẽ có thể được khai thác từ các nguồn tài nguyên ở đại dương của chúng ta như vi khuẩn biển và các sinh vật khác trong các hệ sinh thái biển và ven biển (Jayaprakashvel & Subramani, 2019).

Các nhà nghiên cứu đang hướng tới việc áp dụng liệu pháp QQ như một chiến lược mới để chống lại các bệnh truyền nhiễm ở động vật trong nuôi trồng thủy sản như tôm càng xanh *Macrobrachium rosenbergii* (Baruah et al., 2009); *Artemia* (Van Cam et al., 2009), luân trùng *Brachionus plicatilis* (Tinh et al., 2007) và trên ấu trùng cá bơn *Scophthalmus maximus* ở giai đoạn đầu (Tinh et al., 2008).

Trong một báo cáo tổng hợp năm 2021, Shaheer et al. đã mô tả khả năng của các chủng *Bacillus* spp. Trong việc thực hiện liệu pháp QQ nhằm làm giảm sự biểu hiện của một số yếu tố độc lực của mầm bệnh *Vibrio harveyi* trên tôm. Nghiên cứu này đã sàng lọc tổng cộng 118 chủng vi khuẩn hình thành bào tử từ các ao nuôi trồng thủy sản và đất ngập mặn, có khả năng phân hủy acyl-homoserine lactone

(AHL), C4-HSL, C6-HSL, C8-HSL và C10-HSL. Trong đó, *B. subtilis* MFB10, *B. lentus* MFB2 và *B. firmus* MFB7 có khả năng phân hủy cao nhất. Các chủng đã phân lập ngăn chặn sự biểu hiện của các gen độc lực mã hóa protease, lipase, phospholipase, caseinase, chitinase và gelatinase, đồng thời ức chế sự hình thành màng sinh học của vi khuẩn *V. harveyi* MFB32. Việc giảm biểu hiện các gen độc lực như các gen mã hóa metalloprotease, serine protease và haemolysin đã được xác nhận bằng phân tích PCR. Hơn nữa, trong một thử nghiệm *in vivo*, các vi khuẩn *Bacillus* spp. đã bảo vệ hậu ấu trùng tôm *Penaeus monodon* không bị nhiễm *V. harveyi* MFB3. Kết quả này đã chứng minh ứng dụng tiềm năng của *Bacillus* spp. phân hủy AHL như là giải pháp thay thế kháng sinh trong trại giống tôm để kiểm soát bệnh Vibriosis phát quang.

Trong một nghiên cứu khác, Ghanei-Motlagh et al. (2021) đã điều tra ảnh hưởng của việc bổ sung chế phẩm sinh học QQ vào chế độ ăn của cá chêm châu Á *Lates calcarifer*. Cá được cho ăn chế độ ăn cơ bản bổ sung 1×10^9 CFU/g *Bacillus thuringiensis* QQ1 hoặc *Bacillus cereus* QQ2 trong 6 tuần. Cho ăn với khẩu phần bổ sung men vi sinh QQ trong 35 ngày (giai đoạn trước khi nhiễm bệnh) dẫn đến sự cải thiện đáng kể các thông số tăng trưởng và hoạt động của các enzyme tiêu hóa. Sau 5 tuần, QQ1 và QQ2 đã phân bố rộng rãi trong ruột của cá. Đặc biệt, QQ đã cải thiện đáng kể tỷ lệ sống sót tích lũy của cá chêm khi bị nhiễm vi khuẩn *V. harveyi*. Theo những phát hiện này, *B. cereus* QQ2 và đặc biệt là *B. thuringiensis* QQ1 có tiềm năng cao trong việc nâng cao năng suất của cá chêm châu Á và có thể được áp dụng hiệu quả để kiểm soát bệnh do *V. harveyi*.

9. KẾT LUẬN

Các liệu pháp điều trị mới đang được nghiên cứu, bước đầu đã chứng minh được tính ưu việt trong việc thay thế thuốc kháng sinh để điều trị bệnh truyền nhiễm trong nuôi trồng thủy sản. Các liệu pháp bao gồm:

- Liệu pháp thực khuẩn thể: Sử dụng các thực khuẩn thể để tiêu diệt các mầm bệnh vi khuẩn cụ thể.
- Liệu pháp Endolysin: Ứng dụng các enzyme do thực khuẩn thể sản sinh để phá vỡ màng tế bào của vi khuẩn gây bệnh.
- Liệu pháp Bacteriocin: Sử dụng các peptide kháng khuẩn do vi khuẩn sản xuất để ức chế sự phát triển của các vi khuẩn gây bệnh.

- Liệu pháp peptide kháng khuẩn: Ứng dụng các peptide có khả năng tiêu diệt hoặc ức chế vi khuẩn gây bệnh.
- Liệu pháp kháng thể IgY: Sử dụng kháng thể IgY có nguồn gốc từ trứng gia cầm, để chống lại các mầm bệnh.

- Liệu pháp sử dụng các hạt nano: Ứng dụng các vật liệu nano như nanoparticle để tiêu diệt vi khuẩn hoặc điều chỉnh các quá trình sinh học của chúng.
- Liệu pháp Quorum quenching: Can thiệp vào hệ thống giao tiếp Quorum sensing (QS) của vi khuẩn để giảm hoặc ngăn chặn các yếu tố độc lực và khả năng gây bệnh của chúng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO (REFERENCES)

- Ali, Y., Inusa, I., Sanghvi, G., Mandaliya, V., & Bishoyi, A. K. (2023). The current status of phage therapy and its advancement towards establishing standard antimicrobials for combating multi drug-resistant bacterial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 106199. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106199>
- Antony, J. J., Nivedheetha, M., Siva, D., Pradeepa, G., Kokilavani, P., Kalaiselvi, S., Sankarganesh, A., Balasundaram, A., Masilamani, V., & Achiraman, S. (2013). Antimicrobial activity of *Leucas aspera* engineered silver nanoparticles against *Aeromonas hydrophila* in infected *Catla catla*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 109, 20-24. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.03.020>
- Azzam-Sayuti, M., Ina-Salwany, M. Y., Zamri-Saad, M., Yusof, M. T., Annas, S., Najihah, M. Y., & Amal, M. N. A. (2021). The prevalence, putative virulence genes and antibiotic resistance profiles of *Aeromonas* spp. isolated from cultured freshwater fishes in peninsular Malaysia. *Aquaculture*, 540, 736719. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736719>
- Bakiyev, S., Smekenov, I., & Bissenbaev, A. K. (2023). Comparative analysis of potential effects of three phage endolysins against antibiotic-resistant bacteria from the genus *Aeromonas*. *International Aquatic Research*, 15(3), 249-262.
- Baruah, K., Cam, D. T., Dierckens, K., Wille, M., Defoirdt, T., Sorgeloos, P., & Bossier, P. (2009). In vivo effects of single or combined N-acyl homoserine lactone quorum sensing signals on the performance of *Macrobrachium rosenbergii* larvae. *Aquaculture*, 288(3-4), 233-238. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.11.034>
- Camacho-Jimenez, L., Álvarez-Sánchez, A. R., & Mejía-Ruiz, C. H. (2020). Silver nanoparticles (AgNPs) as antimicrobials in marine shrimp farming: A review. *Aquaculture reports*, 18, 100512. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100512>
- Doan, C. T. M., Luu, M. H., & Tu, D. T. (2018). Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogen causing internal white spot disease in snakehead fish (*Channa striata*) in Tra Vinh province. *CTU Journal of Science*, 54, 108-115 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2018.043>
- Tran, C. K., Huynh, D. T. T., Phan, D. T., Nguyen, L. T., & Pham, H. T. H. (2022). Multi-antibiotic resistant bacteria from Vietnamese climbing perch (*Anabas testudineus*) on fish farms in Ho Chi Minh City. *Ho Chi Minh City Open University Journal Of Science*, 17(2), 30-45 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.17.2.2249.2022>
- Danis-Wlodarczyk, K. M., Wozniak, D. J., & Abedon, S. T. (2021). Treating bacterial infections with bacteriophage-based enzybiotics: in vitro, in vivo and clinical application. *Antibiotics*, 10(12), 1497-1500. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121497>
- Das, S., Aswani, R., Midhun, S. J., Radhakrishnan, E. K., & Mathew, J. (2020). Advantage of zinc oxide nanoparticles over silver nanoparticles for the management of *Aeromonas veronii* infection in *Xiphophorus hellerii*. *Microbial Pathogenesis*, 147, 104348. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104348>
- Deshotel, M. B., Dave, U. M., Farmer, B., Kemboi, D., & Nelson, D. C. (2024). Bacteriophage endolysin treatment for systemic infection of *Streptococcus iniae* in hybrid striped bass. *Fish & Shellfish Immunology*, 145, 109296. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.109296>
- Droubogiannis, S., Pavlidi, L., Skliros, D., Flemetakis, E., & Katharios, P. (2023). Comprehensive characterization of a novel bacteriophage, vB_VhaS_MAG7 against a fish pathogenic strain of *Vibrio harveyi* and its in vivo efficacy in phage therapy trials. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), 8200. <https://doi.org/10.3390/ijms24098200>
- Tu, D. T., Freddy, H., Partrick, S., Margo, B., Annemie, D., & Nguyen, T. A. (2010). Antimicrobial resistance of *Edwardsiella ictaluri* isolates from natural outbreaks of bacillary necrosis of Pangasianodon hypophthalmus. *CTU*

- Journal of Science*, 2010(15a), 162-171 (in Vietnamese).
- Duran, N., Durán, M., De Jesus, M. B., Seabra, A. B., Fávoro, W. J., & Nakazato, G. (2016). Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*, 12(3), 789-799. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.016>
- Easwaran, M., Raja, N., Eveline, D., Monford Paul Abishek, N., Ahn, J., & Shin, H. J. (2022). Future therapeutic approaches to annihilate bacterial fish diseases in aquaculture. In *Aquaculture Science and Engineering* (pp. 463-495). Singapore: Springer Nature Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-0817-0_17
- Egido, J. E., Costa, A. R., Aparicio-Maldonado, C., Haas, P. J., & Brouns, S. J. (2022). Mechanisms and clinical importance of bacteriophage resistance. *FEMS microbiology reviews*, 46(1), 1-16. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuab048>
- FAO, (2022). *Progress report on the FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance (AMR) 2021-2025*. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/cb5545en>
- Fenaroli, F., Westmoreland, D., Benjaminsen, J., Kolstad, T., Skjeldal, F. M., Meijer, A. H., Michiel, V., Lilia, U., Norbert, R., Bo, N., Jon, H., & Griffiths, G. (2014). Nanoparticles as drug delivery system against tuberculosis in zebrafish embryos: direct visualization and treatment. *ACS nano*, 8(7), 7014-7026. <https://doi.org/10.1021/nn5019126>
- Fenton, M., McAuliffe, O., O'Mahony, J., & Coffey, A. (2010). Recombinant bacteriophage lysins as antibacterials. *Bioengineered bugs*, 1(1), 9-16. <https://doi.org/10.4161/bbug.1.1.9818>
- Fowler, V. G., Das, A. F., Lipka-Diamond, J., Schuch, R., Pomerantz, R., Jáuregui-Peredo, L., Adam, B., David, E., Gregory, J. M., Mark, E. R., Robert, W., Ralph, C., Marcus, Z., Pamela, S. D., & Cassino, C. (2020). Exebacase for patients with *Staphylococcus aureus* bloodstream infection and endocarditis. *The Journal of clinical investigation*, 130(7), 3750-3760. <https://doi.org/10.1172/JCI136577>
- Ghanei-Motlagh, R., Mohammadian, T., Gharibi, D., Khosravi, M., Mahmoudi, E., Zarea, M., Mansour, E. M., & Menanteau-Ledouble, S. (2021). Quorum quenching probiotics modulated digestive enzymes activity, growth performance, gut microflora, haemato-biochemical parameters and resistance against *Vibrio harveyi* in Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture*, 531, 735874. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735874>
- Guo, Y., Ma, Y., Endri, H., Huang, Y., Pan, X., Qiu, S., Yawei, C., Wei, G., Jie, D., Li, W., & Meng, Q. (2023). Protective effect of chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) against *Spiroplasma eriocheiris* infection in Chinese mitten crab. *Aquaculture*, 572, 739488. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739488>
- Nguyen, H. T. T., Truong, N. Q., & Dang, O. T. H. (2023). The study on parasitic and bacterial pathogens in dry and commercial Asian swamp eels (*Monopterus albus*). *CTU Journal of Science*, 59(4), 133-144 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.22144/ctujos.2023.172>
- Hernández-González, J. C., Martínez-Tapia, A., Lazcano-Hernández, G., García-Pérez, B. E., & Castrejón-Jiménez, N. S. (2021). Bacteriocins from lactic acid bacteria. A powerful alternative as antimicrobials, probiotics, and immunomodulators in veterinary medicine. *Animals*, 11(4), 979. <https://doi.org/10.3390/ani11040979>
- Hossain, M. M. M., Tanni, L. N., Rahman, M. A., Farjana, N., Moon, R. S., Tonni, N. Z., Mahbuba, R. M., Shoumik, M., Nimur, R. Bipul, K. S., Suraiya, A. R., Ummay, R., & Saha, P. K. (2024). Bacteriophage and non-pathogenic *Vibrio* to control diseases in shrimp aquaculture. *Comparative Immunology Reports*, 6, 200126. <https://doi.org/10.1016/j.cirep.2023.200126>
- Iyapparaj, P., Maruthiah, T., Ramasubburayan, R., Prakash, S., Kumar, C., Immanuel, G., & Palavesam, A. (2013). Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus* sp. MSU3IR against shrimp bacterial pathogens. *Aquatic biosystems*, 9, 1-10. <https://doi.org/10.1186/2046-9063-9-12>
- Jayaprakashvel, M., & Subramani, R. (2019). Implications of quorum sensing and quorum quenching in aquaculture health management. *Implication of quorum sensing and biofilm formation in medicine, agriculture and food Industry*, 299-312. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9409-7_18
- Jayaseelan, C., Rahuman, A. A., Kirthi, A. V., Marimuthu, S., Santhoshkumar, T., Bagavan, A., Gaurav, K., Karthik, L., & Rao, K. B. (2012). Novel microbial route to synthesize ZnO nanoparticles using *Aeromonas hydrophila* and their activity against pathogenic bacteria and fungi. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 90, 78-84. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.01.006>
- Jun, S. Y., Jang, I. J., Yoon, S., Jang, K., Yu, K. S., Cho, J. Y., Moon-Woo, S., Gi, M. J., Seong, J. Y., & Kang, S. H. (2017). Pharmacokinetics and tolerance of the phage endolysin-based candidate drug SAL200 after a single intravenous administration among healthy volunteers. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 61(6), 1110-1128. <https://doi.org/10.1128/AAC.02629-16>

- Krahulcova, M., Cverenkárová, K., Koreneková, J., Oravcová, A., Koščová, J., & Bírošová, L. (2023). Occurrence of antibiotic-resistant bacteria in fish and seafood from Slovak market. *Foods*, 12(21), 3912. <https://doi.org/10.3390/foods12213912>
- Lazzaro, B. P., Zasloff, M., & Rolff, J. (2020). Antimicrobial peptides: Application informed by evolution. *Science*, 368(6490), 5480. <https://doi.org/10.1126/science.aau5480>
- Le, T. S., Nguyen, T. H., Vo, H. P., Doan, V. C., Nguyen, H. L., Tran, M. T., Tran, T. T., Paul, C. S., & Kurtböke, D. İ. (2018). Protective effects of bacteriophages against *Aeromonas hydrophila* causing motile Aeromonas septicemia (MAS) in striped catfish. *Antibiotics*, 7(1), 16-26. <https://doi.org/10.3390/antibiotics7010016>
- Li, M., Wang, Y., Hou, B., Chen, Y., Hu, M., Zhao, X., Qing, Z., Lulu, L., Yanbo, L., Yuqing, L., & Cai, Y. (2024). Toxin gene detection and antibiotic resistance of *Clostridium perfringens* from aquatic sources. *International Journal of Food Microbiology*, 110642. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2024.110642>
- Linden, S. B., Alreja, A. B., & Nelson, D. C. (2021). Application of bacteriophage-derived endolysins to combat streptococcal disease: Current state and perspectives. *Current Opinion in Biotechnology*, 68, 213-220. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.01.012>
- Liu, J., Wu, Q., Xu, H., Pan, Y., Malakar, P. K., Zhao, Y., & Zhang, Z. (2024). Change of antibiotic resistance in *Vibrio* spp. during shrimp culture in Shanghai. *Aquaculture*, 580, 740303. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740303>
- Loessner, M. J. (2005). Bacteriophage endolysins - current state of research and applications. *Current opinion in microbiology*, 8(4), 480-487. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.06.002>
- Lopez-Meza, J. E., Ochoa-Zarzosa, A., Aguilar, J. A., & Loeza-Lara, P. D. (2011). Antimicrobial peptides: diversity and perspectives for their biomedical application. *Biomedical Engineering, Trends, Research and Technolnc*, 275-304.
- Lopez-Sanmartin, M., Rengel, R., López-López, M., Lebrón, J. A., Molina-Márquez, A., de la Rosa, I., Pilar, L. C., Alberto, C., Javier, V., & León, R. (2023). D-amino acid peptides as antimicrobial agents against vibrio-associated diseases in aquaculture. *Aquaculture*, 569, 739362. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739362>
- Lu, Y., Liu, J., Jin, L., Li, X., Zhen, Y., Xue, H., Qiuye, L., & Xu, Y. (2009). Passive immunization of crayfish (*Procambarus clarkiaii*) with chicken egg yolk immunoglobulin (IgY) against white spot syndrome virus (WSSV). *Applied biochemistry and biotechnology*, 159, 750-758. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8555-6>
- Lubis, A. R., Sumon, M. A. A., Dinh-Hung, N., Dhar, A. K., Delamare-Deboutteville, J., Kim, D. H., Andrew, P. S., Duangkhaetita, K., Patima, P., Doan, H. V., Nguyen, L. V., & Brown, C. L. (2024). Review of quorum-quenching probiotics: A promising non-antibiotic-based strategy for sustainable aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, e13941. <https://doi.org/10.1111/jfd.13941>
- Matamp, N., & Bhat, S. G. (2019). Phage endolysins as potential antimicrobials against multidrug resistant *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*: current status of research and challenges ahead. *Microorganisms*, 7(3), 84-90. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7030084>
- Mitchell, M., O'Driscoll, G., & Riley, M. (2023). Bacteriocin-infused shrimp feed prevents acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). World Aquaculture 2023. The Annual International Conference & Exposition of World Aquaculture Society and Asian Pacific Aquaculture 2023, Annual meeting of Asian Pacific Chapter, WAS, Northern Territory, Australia, p. 191.
- Naiel, M. A., Ghazanfar, S., Negm, S. S., Shukry, M., & Abdel-Latif, H. M. (2023). Applications of antimicrobial peptides (AMPs) as an alternative to antibiotic use in aquaculture—A mini-review. *Annals of Animal Science*, 23(3), 691-701. <https://doi.org/10.2478/aoas-2022-0090>
- Nakamura, R., Pedrosa-Gerasmio, I. R., Alenton, R. R. R., Nozaki, R., Kondo, H., & Hirono, I. (2019). Anti-PirA-like toxin immunoglobulin (IgY) in feeds passively immunizes shrimp against acute hepatopancreatic necrosis disease. *Journal of fish diseases*, 42(8), 1125-1132. <https://doi.org/10.1111/jfd.13024>
- Negash, A. W., & Tsehail, B. A. (2020). Current applications of bacteriocin. *International Journal of Microbiology*, 2020(1), 1-7. <https://doi.org/10.1155/2020/4374891>
- Nelson, D., Loomis, L., & Fischetti, V. A. (2001). Prevention and elimination of upper respiratory colonization of mice by group A streptococci by using a bacteriophage lytic enzyme. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(7), 4107-4112. <https://doi.org/10.1073/pnas.061038398>
- Nguyet, A. (2023). Develop plan to prevent and control aquatic diseases in 2024. <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/nu%C3%B4i-tr%E1%BB%93ng-th%E1%BB%A7y-s%E1%BA%A3n-ph%C3%B2ng-ch%E1%BB%91ng-d%E1%BB%8Bch-b%E1%BB%87nh/doc->

- tin/019588/2023-09-06/xay-dung-ke-hoach-phong-chong-dich-benh-thuy-san-nam-2024 (in Vietnamese).
- Ninh, T. T., Nong, H. T., Dinh, S. T., & Nguyen, C. X. (2022). Bacteriocins - Classification, Antibacterial Activities and Applications. *Vietnam Journal of Agricultural Sciences*, 20(10), 1427-1440 (in Vietnamese).
- Dang, O. T. H., Nguyen, P. T., Temdoun, S., Suprance, C., Fatimah, Y., Mohamed, S., Kerry, B., Geert, H., Mauro, G., Stefania, B., Jean, S., & Alan, T. (2005). Antibiotic susceptibility testing of aquaculture associated bacteria originating from integrated farming systems in the Mekong River Delta, Viet Nam. *CTU Journal of Science*, 2005(4), 136-144 (in Vietnamese). <https://doi.org/10.1111/jfd.13387>
- Dang, O. T. H., Tran, X. T. T., Le, D. T. M., Le, N. P., & Hoang, H. A. (2021). Protective efficacy of phage PVN02 against haemorrhagic septicaemia in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus* via oral administration. *Journal of Fish Diseases*, 44(8), 1255-1263.
- Ochoa-Meza, A. R., Álvarez-Sánchez, A. R., Romo-Quinonez, C. R., Barraza, A., Magallón-Barajas, F. J., Chávez-Sánchez, A., Juan, C. G. R., Yanis, T. M., Nina, B., Alexey, P., & Mejía-Ruiz, C. H. (2019). Silver nanoparticles enhance survival of white spot syndrome virus infected *Penaeus vannamei* shrimps by activation of its immunological system. *Fish & Shellfish Immunology*, 84, 1083-1089. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.10.007>
- Peng, J., Wang, D., He, P., Wei, P., Zhang, L., Lan, W., Xingzhi, Z., Junliang, G., Yongxian, C., Wei, L., Yusi, Z., Yusen, L., Wenjian, C., Zelong, Z., Linyuan, J., & Zhou, L. (2024). Seasonal dynamics of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in a subtropical coastal ecosystem: implications for environmental health risks. *Environmental Research*, 119298. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.119298>
- Pereira, W. A., Mendonça, C. M. N., Urquiza, A. V., Marteinsson, V. P., LeBlanc, J. G., Cotter, P. D., Elias, F. V., Jaime, R., & Oliveira, R. P. (2022). Use of probiotic bacteria and bacteriocins as an alternative to antibiotics in aquaculture. *Microorganisms*, 10(9), 1705-1712. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10091705>
- Priya, P. S., Boopathi, S., Murugan, R., Haridevamuthu, B., Arshad, A., & Arockiaraj, J. (2023). Quorum sensing signals: Aquaculture risk factor. *Reviews in Aquaculture*, 15(4), 1294-1310. <https://doi.org/10.1111/raq.12774>
- Romo-Quinonez, C. R., Álvarez-Sánchez, A. R., Álvarez-Ruiz, P., Chávez-Sánchez, M. C., Bogdanchikova, N., Pestryakov, A., & Mejía-Ruiz, C. H. (2020). Evaluation of a new Argovit as an antiviral agent included in feed to protect the shrimp *Litopenaeus vannamei* against White Spot Syndrome Virus infection. *PeerJ*, 8, e8446. <https://doi.org/10.7717/peerj.8446>
- Schmelcher, M., & Loessner, M. J. (2021). Bacteriophage endolysins - extending their application to tissues and the bloodstream. *Current opinion in biotechnology*, 68, 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.09.012>
- Shaalán, M. I., El-Mahdy, M. M., Theiner, S., El-Matbouli, M., & Saleh, M. (2017). In vitro assessment of the antimicrobial activity of silver and zinc oxide nanoparticles against fish pathogens. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 59, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13028-017-0317-9>
- Shaheer, P., Sreejith, V. N., Joseph, T. C., Murugadas, V., & Lalitha, K. V. (2021). Quorum quenching *Bacillus* spp.: an alternative biocontrol agent for *Vibrio harveyi* infection in aquaculture. *Diseases of Aquatic Organisms*, 146, 117-128. <https://doi.org/10.3354/dao03619>
- Sun, B. Y., Kou, H. Y., Jian, P. Y., Kong, L. J., Fang, J., Meng, P. K., Kang, W., Cai-Gen, Y., Gang, Y., & Song, X. H. (2023). Protective effects of egg yolk immunoglobulins (IgY) against CyHV-2 infection in gibel carp (*Carassius gibelio*). *Aquaculture*, 569, 739371. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739371>
- Thanh, T. (2024). Total aquatic product output in 2023 is estimated to reach over 9,312 thousand tons. <https://tongcuthuysan.gov.vn/vi-vn/nu%C3%B4i-tr%E1%BB%93ng-th%E1%BB%A7y-s%E1%BA%A3n/doc-tin/020238/2024-01-19/tong-san-luong-thuy-san-nam-2023-uoc-dat-tren-9312-nghin-tan> (in Vietnamese).
- Tinh, N. T. N., Asanka Gunasekara, R. A. Y. S., Boon, N., Dierckens, K., Sorgeloos, P., & Bossier, P. (2007). N-acyl homoserine lactone-degrading microbial enrichment cultures isolated from *Penaeus vannamei* shrimp gut and their probiotic properties in *Brachionus plicatilis* cultures. *FEMS microbiology ecology*, 62(1), 45-53. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00378.x>
- Tinh, N. T. N., Yen, V. H. N., Dierckens, K., Sorgeloos, P., & Bossier, P. (2008). An acyl homoserine lactone-degrading microbial community improves the survival of first-feeding turbot larvae (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, 285(1-4), 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.08.018>

- Van Cam, D. T., Van Hao, N., Dierckens, K., Defoirdt, T., Boon, N., Sorgeloos, P., & Bossier, P. (2009). Novel approach of using homoserine lactone-degrading and poly- β -hydroxybutyrate-accumulating bacteria to protect *Artemia* from the pathogenic effects of *Vibrio harveyi*. *Aquaculture*, 291(1-2), 23-30.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.03.009>
- Vinu, D., Govindaraju, K., Vasantharaja, R., Amreen Nisa, S., Kannan, M., & Vijai Anand, K. (2021). Biogenic zinc oxide, copper oxide and selenium nanoparticles: preparation, characterization and their anti-bacterial activity against *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 11, 271-286.
<https://doi.org/10.1007/s40097-020-00365-7>
- Waycott, B. (2023). *Novel alternatives like bacteriocins take the lead as future antibiotics replacements for aquaculture*,
<https://www.globalseafood.org/advocate/novel-alternatives-like-bacteriocins-take-the-lead-as-future-antibiotics-replacements-for-aquaculture/>
- Wong, K. Y., Megat Mazhar Khair, M. H., Song, A. A. L., Masarudin, M. J., Chong, C. M., In, L. L. A., & Teo, M. Y. M. (2022). Endolysins against *Streptococci* as an antibiotic alternative. *Frontiers in Microbiology*, 13, 935145.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.935145>
- Xia, J., Ge, C., & Yao, H. (2024). Antimicrobial peptides: An alternative to antibiotic for mitigating the risks of Antibiotic resistance in aquaculture. *Environmental Research*, 251, 118619.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118619>
- Tran, X. T. T., Hoang, H. A., & Le, T. D. (2018). Stability and activity of TG25P phage in control of *Aeromonas hydrophila* in striped catfish pond water. *Science and Technology Development Journal*, 21(2), 64-70.
<https://doi.org/10.32508/stdj.v21i2.429>
- Yaqub, A., Nasir, M., Kamran, M., Majeed, I., & Arif, A. (2023). Immunomodulation, fish health and resistance to *Staphylococcus aureus* of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diet supplemented with zinc oxide nanoparticles and zinc acetate. *Biological Trace Element Research*, 201(10), 4912-4925.
<https://doi.org/10.1007/s12011-023-03571-w>
- Zermeno-Cervantes, L. A., González-Acosta, B., Martínez-Díaz, S. F., & Cardona-Félix, C. S. (2020). Antibacterial proteins and peptides as potential treatment in aquaculture: current status and perspectives on delivery. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 1135-1156.
<https://doi.org/10.1111/raq.12376>
- Zhang, L., Lin, L., & Qin, Z. (2024b). A review on the application of chicken immunoglobulin Y in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 16(1), 536-551. <https://doi.org/10.1111/raq.12850>
- Zhang, M., Yan, X., Wang, C. B., Liu, W. Q., Wang, Y., Jing, H., Bing, W., Kai, Y., Zi-yue, C., Yu-yu, L., & Wang, G. H. (2024a). Molecular characterization, antibacterial and immunoregulatory activities of liver-expressed antimicrobial peptide 2 (LEAP-2) in black rockfish, *Sebastes schlegelii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 109467.
<https://doi.org/10.2139/ssrn.4695724>