

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ MÔI TRƯỜNG ĐẾN KHẢ NĂNG GÂY BỆNH CỦA TILAPIA LAKE VIRUS (TiLV) VÀ ĐỘNG HỌC BÀI THẢI VIRUS Ở CÁ NHIỄM BỆNH

Phạm Thị Tâm^{1,*}, Lê Minh Hải², Nguyễn Thị Thu Hiền¹,

Bùi Thị Hải Hòa¹, Nguyễn Thị Trung³

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá mức độ miễn dịch của cá rô phi giai đoạn ương giống đối với Tilapia Lake virus, đánh giá sự ảnh hưởng của nhiệt độ và độ mặn đối với khả năng gây bệnh, đồng thời xác định động học bài thải virus. Sau khi gây nhiễm 17 ngày, tỷ lệ tử vong tích lũy của cá bột, cá hương, cá giống đạt cực đại; sau 21 ngày, tỷ lệ tử vong tích lũy trung bình của cá ở các độ tuổi này lần lượt là 100%, 96,5% và 74%. Ở điều kiện nhiệt độ là 22°C, 25°C, 27°C, 30°C, 32°C và độ mặn là 3 ppt, 5 ppt, tỷ lệ sống sót của cá giống sau 30 ngày thí nghiệm ở ngưỡng nhiệt độ 22°C và 32°C giảm 2,2-2,3 lần so với các ngưỡng nhiệt độ là 25°C, 27°C, 30°C; stress nhiệt độ đã làm suy giảm khả năng chống chịu của cá đối với tác nhân gây bệnh. Động học bài thải của chủng TiLV NĐ38 từ cá nhiễm bệnh vào môi trường nước được xác định trong 30 ngày, ARN của virus được phát hiện bằng RT-qPCR sau khi gây nhiễm 3-16 ngày; nồng độ virus cao nhất được phát hiện trong khoảng 6-8 ngày sau gây nhiễm, với giá trị log₁₀ tương ứng là 4,35, 5,15 và 4,8 (tương đương với 2,26 x 10⁴, 1,41 x 10⁶, 6,28 x 10⁵ bản sao ARN/lít nước); sau đó mật độ virus giảm dần và ở dưới ngưỡng được phát hiện thấy từ ngày thứ 17 sau khi gây nhiễm. Các kết quả thu được bước đầu là căn cứ để xác định đặc điểm dịch tễ của bệnh, từ đó tiến hành các nghiên cứu nhằm đưa ra các giải pháp phòng bệnh phù hợp.

Từ khoá: *Tilapia Lake virus, cá rô phi, miễn dịch, nhiệt độ, độ mặn, gây nhiễm, bài thải virus.*

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh do Tilapia Lake virus (TiLV) còn được gọi là bệnh viêm gan hợp bào ở cá rô phi (Syncytial Hepatitis of Tilapia - SHT) là bệnh mới được phát hiện từ năm 2013, 2014 ở Ecuador và Israel [1, 2]. Trong tự nhiên, bệnh này là căn nguyên gây tử vong ở cá rô phi lên đến 9,2 - 90%, cá giống và cá con dễ bị ảnh hưởng bởi virus hơn cá lớn [1, 3, 4, 5]. Không giống như các bệnh do virus khác ở cá rô phi, TiLV dường như đang lan truyền rộng rãi và do đó có thể có mặt ở nhiều quốc gia mặc dù chưa được báo cáo [4]. Với nhận

định đó, FAO (2017) đã dự báo về sự lây lan của bệnh do virus này ở 43 quốc gia trên toàn thế giới, trong đó có Việt Nam [6].

Ở Việt Nam, căn cứ vào cảnh báo của FAO, ngày 3/10/2017, Bộ Nông nghiệp và PTNT đã phối hợp với FAO tổ chức Hội nghị phòng, chống bệnh do TiLV gây ra trên cá rô phi, hội nghị đã khẳng định nguy cơ xuất hiện, lưu hành TiLV tại một số tỉnh nuôi cá rô phi là rất cao [7]. Sau đó, để chủ động ứng phó nguy cơ dịch bệnh do TiLV bùng phát, hạn chế tối đa tác động tiêu cực đến tình hình sản xuất, nuôi cá rô phi tiêu thụ trong nước và xuất khẩu, ngày 20/10/2017, Bộ Nông nghiệp và PTNT đã có văn bản chỉ đạo về việc áp dụng các biện pháp cấp bách phòng, chống dịch bệnh mới do TiLV gây ra trên cá rô phi [8].

Năm 2022, đã phân lập được TiLV trong mẫu

¹ Trường Đại học Mở Hà Nội

² Trường Đại học Vinh

³ Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

*Email: pttam@hou.edu.vn

cá rô phi tự nhiên và bước đầu xác định được LD₅₀ của chủng virus này trên cá giống là 10^{3,047} [9]. Để có cơ sở khoa học trong công tác giám sát bệnh, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xác định ảnh hưởng của tuổi cá, nhiệt độ, độ mặn của môi trường đến khả năng gây bệnh của TiLV và đánh giá sự bài thải virus từ cá rô phi nhiễm bệnh.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) ở các giai đoạn ương giống, sạch bệnh được đặt mua tại Trung tâm Quốc gia Giống thủy sản miền Bắc.

Chủng TiLV NĐ38 phân lập từ mẫu cá rô phi tự nhiên, được lưu giữ tại Phòng thí nghiệm Công nghệ sinh học, Trường Đại học Mở Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nuôi cấy tế bào

Dòng tế bào E-11 (Sigma, Aldrich) được nuôi cấy trong môi trường Leibovitz L15 bổ sung 10% huyết thanh bào thai bê, 0,1% L-glutamine-penicillin-streptomycin (Invitrogen). Tế bào được nuôi trong chai nhựa có nút vận dụng tích 25 cm² cho đến khi tế bào mọc thành một lớp rồi thực hiện nuôi cấy chủng TiLV NĐ38. Nuôi tế bào ở 28°C, hàng ngày bổ sung môi trường nuôi cấy tế bào và quan sát hiệu ứng huỷ hoại tế bào (cytopathic effects - CPE).

2.2.2. Phương pháp kiểm tra mô bệnh học

Mẫu gan, lách cá nhiễm TiLV được cắt thành các lát có độ dày 3-5 µm bằng thiết bị cắt lạnh rồi được cố định lên phiến kính bằng cồn tuyệt đối 97% trong 20 giây. Nhuộm mẫu bằng dung dịch hematoxylin và eosin. Mẫu bệnh phẩm được quan sát bằng kính hiển vi quang học ở độ phóng đại 40x.

2.2.3. Phương pháp RT-qPCR

Trong số 10 phân đoạn của bộ gen của TiLV, phân đoạn 9 được báo cáo là có tỷ lệ đồng nhất tương đối cao (97,44 - 99,15%) ở các chủng TiLV có nguồn gốc khác nhau [10]. Các đoạn mỗi sử dụng

bao gồm TiLV-F (5'-CTAGAC AAT GTT TTC GAT CCA G-3'), TiLV-R (5'-TTC TGT GTC AGT AAT CTT GAC AG-3') và mẫu dò TiLV-P (5'-6-FAM-TGC CGC CGC AGC ACA AGC TCC A-BHQ-1-3') [11]. Thành phần trong 20 µl của phản ứng TiLV RT-qPCR bao gồm 0,9 µM của mỗi TiLV-F, TiLV-R, 0,25 µM TiLV-P 1X, 4 µl mẫu ARN của TiLV, 5 µl RT-qPCR mix 4x, 8 µl nước cấp phân tử (molecular-grade water). Chu trình nhiệt bao gồm sao chép ngược ở 50°C trong 10 phút, bước biến tính ban đầu ở 95°C trong 1 phút, 40 chu kỳ 95°C trong 10 giây và 58°C trong 30 giây.

2.3.4. Đánh giá ảnh hưởng của độ mặn cảm của cá đối với TiLV ở giai đoạn ương giống

Cá ở giai đoạn cá bột (0,5 - 0,7 cm), cá hương (2,0 - 2,5 cm), cá giống (5 - 6 cm) được bố trí ngẫu nhiên vào các bể nhựa dung tích 500 lít, mỗi bể 200 con, nhiệt độ duy trì ở ngưỡng tối ưu cho cá rô phi là 27 - 30°C, cá cho ăn thức ăn phù hợp, theo nhu cầu. Cá được gây nhiễm với TiLV bằng phương pháp ngâm, liều 2 LD₅₀/ml, mỗi ml dịch virus được gây nhiễm cho 10 con cá, thời gian gây nhiễm 120 phút, trong cùng điều kiện nhiệt độ, trong các bể có sục khí. Theo dõi thí nghiệm trong vòng 21 ngày, hàng ngày vớt bỏ số cá chết để kiểm tra ngẫu nhiên TiLV bằng RT-PCR và mô bệnh học, đồng thời, xác định tỷ lệ chết tích lũy. Bể đối chứng âm được nuôi với điều kiện như trên nhưng không gây nhiễm với TiLV.

2.3.5. Đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ, độ mặn đối với khả năng gây bệnh của TiLV

Cá giống được bố trí ngẫu nhiên trong các bể được duy trì ở các mức nhiệt độ 22°C, 25°C, 27°C, 30°C, 32°C, nhiệt độ được theo dõi hàng ngày và điều chỉnh theo các mức đã thiết lập cho thí nghiệm; độ mặn là 3 ppt và 5 ppt, các bể thí nghiệm đều có hệ thống lọc nước tuần hoàn và sục khí và cho ăn 2 lần/ngày tùy theo nhu cầu ăn của cá, thức ăn thừa được vớt ra khỏi bể sau khi cho ăn sau 30 phút. Nuôi thuần cá trong bể trong 10 ngày để thích nghi với các điều kiện thí nghiệm. Cá trong các bể thí nghiệm được gây nhiễm với điều

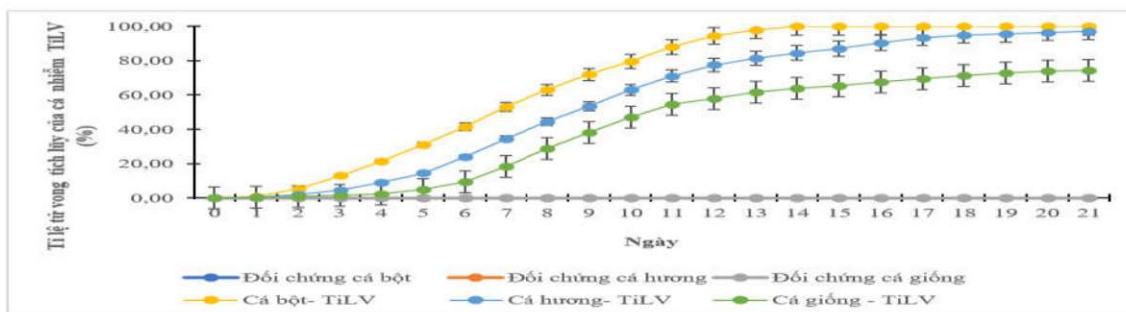
kiện như mô tả ở mục 2.2.4. Thời gian theo dõi thí nghiệm là 30 ngày, hàng ngày, vớt bỏ số cá chết để kiểm tra ngẫu nhiên TiLV bằng phương pháp RT-PCR, mô bệnh học và tính toán tỷ lệ sống sót sau mỗi ngày.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định mức độ miễn cảm của cá rô phi ở các giai đoạn cá bột, cá hương, cá giống với TiLV

Nghiên cứu của Roy và cs (2021) về mức độ miễn cảm với TiLV ở các nhóm cá có khối lượng 5 g, 25 g, 65 g cho kết quả là nhóm cá 5 g có tỷ lệ tử vong cao hơn, các dấu hiệu lâm sàng trầm trọng

hơn so với cá có khối lượng 25 g và 65 g [12]. Báo cáo của Kumar và cs (2018) về kết quả điều tra ở một ổ dịch nhiễm TiLV tự nhiên cho thấy, cá rô phi có khối lượng 10 g có tỷ lệ tử vong là 80%, trong khi đó cá rô phi có khối lượng 120 g có tỷ lệ tử vong là 50% [13]. Như vậy, các công bố kể trên đều đã đưa ra kết quả rằng cá rô phi có khối lượng nhỏ miễn cảm hơn với TiLV so với cá có khối lượng lớn hơn. Từ những phân tích này, đã lựa chọn cá rô phi ở các giai đoạn cá bột, cá hương, cá giống để thực hiện xác định mức độ miễn cảm đối với chủng TiLV ND38 đã được phân lập. Kết quả được thể hiện trong hình 1.



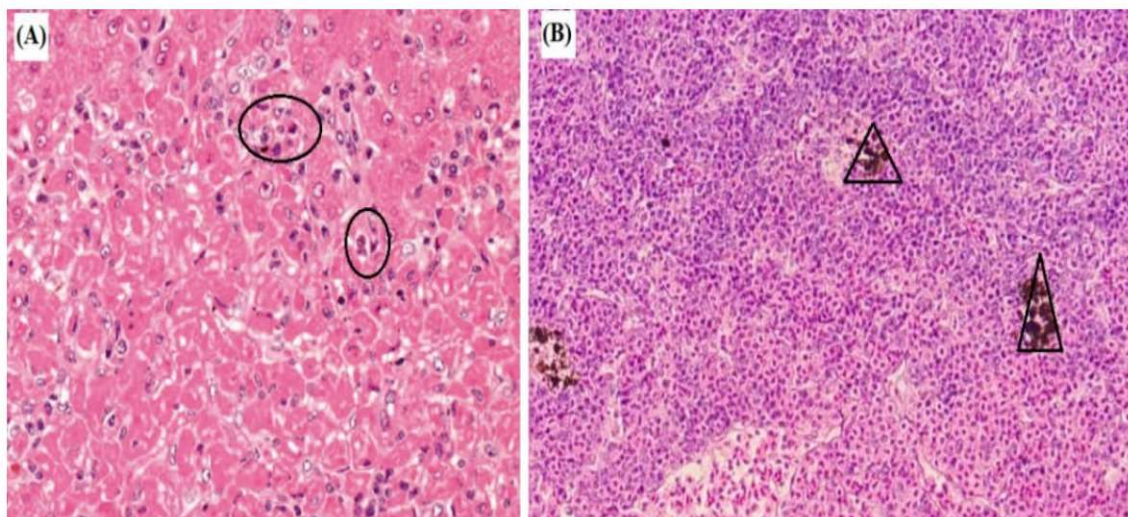
Hình 1. Tỷ lệ tử vong tích lũy của cá thí nghiệm sau khi gây nhiễm với chủng TiLV ND38

Sau 2 ngày gây nhiễm TiLV, cá ở cả 3 nhóm thí nghiệm đều bắt đầu xuất hiện các dấu hiệu lâm sàng như thờ ơ, chán ăn, vận động giảm, nằm tập trung dưới đáy bể. Sau 3 ngày, các dấu hiệu lâm sàng nghiêm trọng hơn, bao gồm lở loét, xuất huyết da, bong vảy, thiếu máu, xói mòn vảy và trương bụng. Số lượng cá tử vong hàng ngày tăng mạnh từ ngày thứ 3-10 sau khi gây nhiễm, sau đó giảm dần, tỷ lệ tử vong tích lũy đạt cực đại sau 17 ngày gây nhiễm. Khi kết thúc thí nghiệm, tỷ lệ tử vong tích lũy trung bình của cá bột, cá hương, cá giống lần lượt là 100%, 96,5% và 74% (Hình 1). Không có trường hợp tử vong hoặc dấu hiệu nhiễm TiLV nào được ghi nhận ở cá ở bể đối chứng âm ở cả 3 nhóm tuổi tại bất kỳ thời điểm nào trong quá trình nghiên cứu.

Theo báo cáo của Behera và cs (2021), cá rô phi gây bệnh thực nghiệm với TiLV có tỷ lệ tử vong cao, trên 50% [14], trong khi đó, Nicholson và cs

(2020) đưa ra kết quả, trong điều kiện lây nhiễm tự nhiên, TiLV có thể gây ra tỷ lệ tử vong từ 5 - 90% tùy thuộc vào nhiều yếu tố, có thể do đồng nhiễm với các tác nhân gây bệnh khác hoặc liên quan đến an toàn sinh học trang trại [15]. So sánh với các số liệu đã công bố trước đây, kết quả nghiên cứu này bước đầu khẳng định rằng, chủng TiLV ND38 gây tỷ lệ chết cao cho cá ở giai đoạn ương giống.

Kiểm tra mô bệnh học của gan và lách cá tử vong sau khi gây nhiễm chủng TiLV ND38 cho thấy, bệnh tích xuất hiện trong gan và thận cá có các đặc điểm điển hình của bệnh do TiLV gây ra với sự hình thành các hợp bào trong gan và các trung tâm đại thực bào hắc tố (melanomacrophage center) ở lách (Hình 2). Kết quả này phù hợp với báo cáo của del-Pozo và cs (2016) về sự hình thành các hợp bào trong gan và sự gia tăng các MMC ở lách của cá nhiễm TiLV [16].



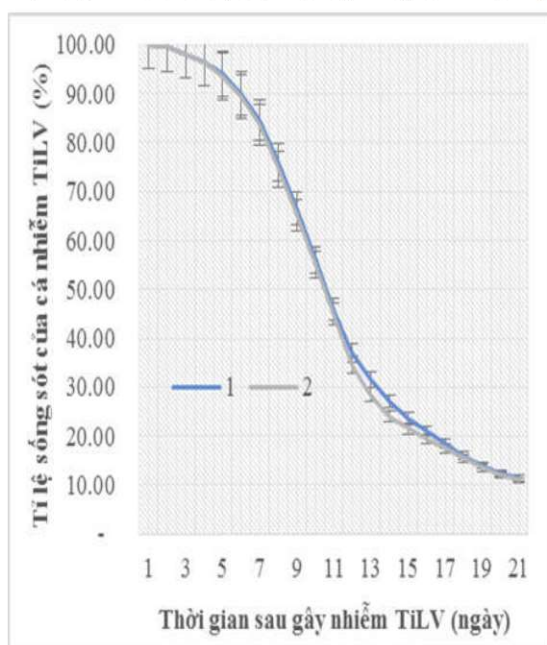
Hình 2. Hình ảnh mô bệnh học của cá gây nhiễm TiLV NĐ38

Ghi chú: A: gan cá nhiễm TiLV với các hợp bào chứa 4-10 tế bào, B: lách cá nhiễm TiLV với sự gia tăng các MMC.

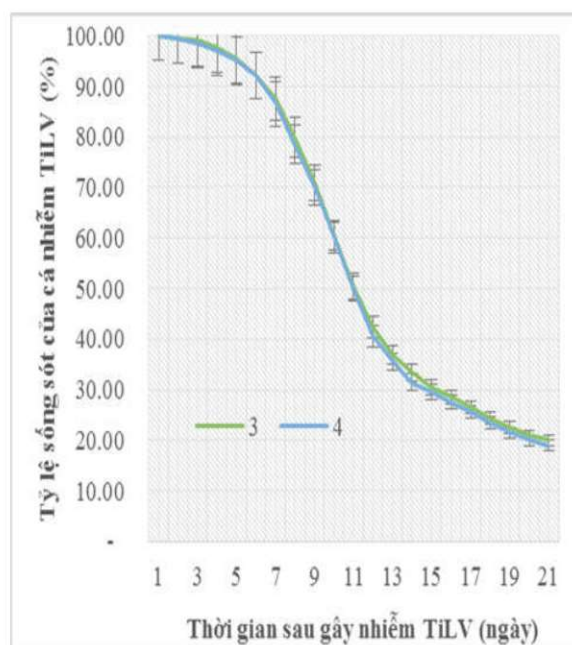
3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ và độ mặn đến khả năng lây nhiễm của TiLV

Để đánh giá mức độ ảnh hưởng của TiLV đối với cá rô phi nuôi thả, đã xác định sự ảnh hưởng

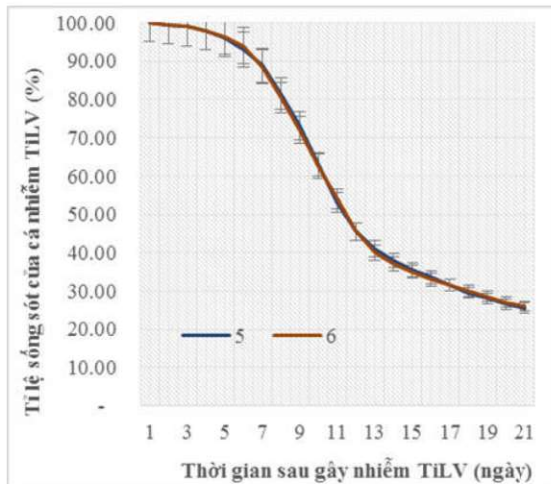
kết hợp của nhiệt độ và độ mặn đến khả năng gây bệnh của TiLV ở cá rô phi giống. Kết quả được trình bày trong các hình 3-8.



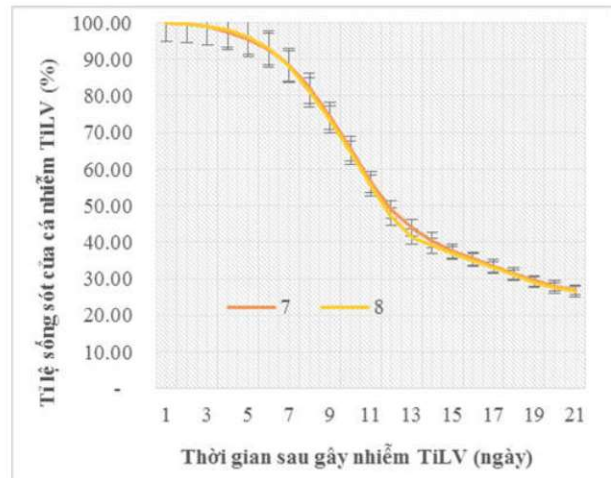
Hình 3. Tỷ lệ sống sót của cá nhiễm TiLV ở điều kiện 22°C, độ mặn 3 ppt (1) và 5 ppt (2)



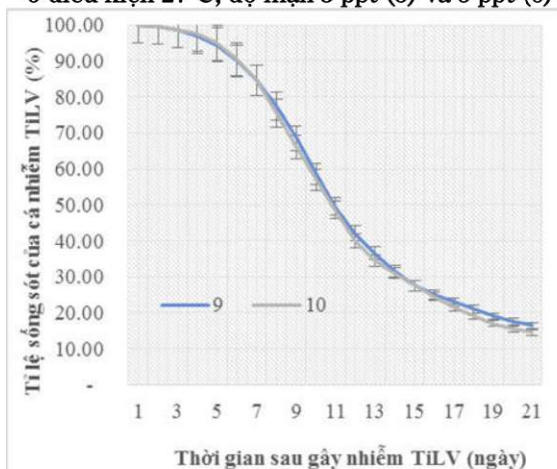
Hình 4. Tỷ lệ sống sót của cá nhiễm TiLV ở điều kiện 25°C, độ mặn 3 ppt (3) và 5 ppt (4)



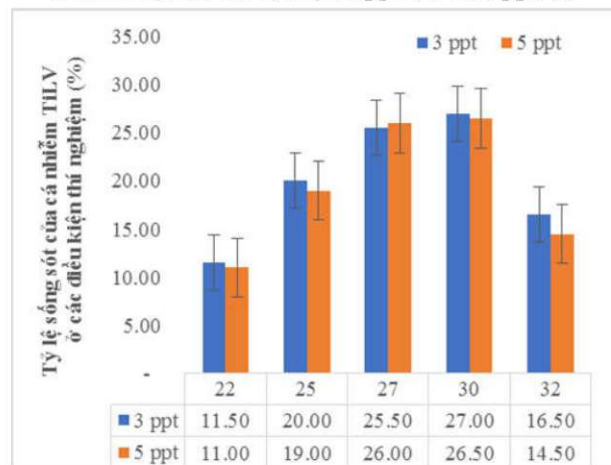
Hình 5. Tỷ lệ sống sót của cá nhiễm TiLV ở điều kiện 27°C, độ mặn 3 ppt (5) và 5 ppt (6)



Hình 6. Tỷ lệ sống sót của cá nhiễm TiLV ở điều kiện 30°C, độ mặn 3 ppt (7) và 5 ppt (8)



Hình 7. Tỷ lệ sống sót của cá nhiễm TiLV ở điều kiện 33°C, độ mặn 3 ppt (9) và 5 ppt (10)



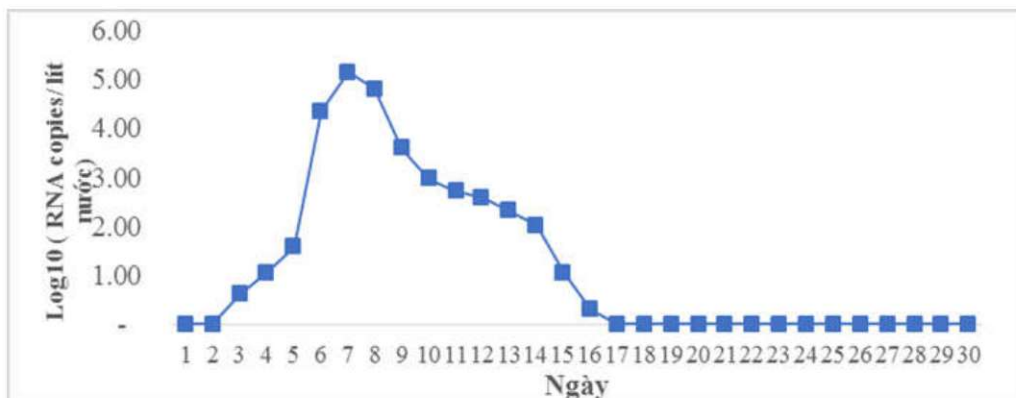
Hình 8. Tỷ lệ sống sót của cá nhiễm TiLV sau 30 ngày ở các điều kiện thí nghiệm

Kết quả thí nghiệm chỉ ra rằng, các nồng độ muối 30 ppt và 50 ppt không ảnh hưởng nhiều đến khả năng nhiễm bệnh ở cá thí nghiệm, trong khi đó, nhiệt độ lại có ảnh hưởng đáng kể đến tỷ lệ nhiễm bệnh. Ở điều kiện 22°C, cá mẫn cảm hơn cả đối với TiLV so với các mức nhiệt độ thí nghiệm còn lại, tỷ lệ cá sống sót sau 30 ngày thí nghiệm tương ứng với độ mặn 30 ppt và 50 ppt là 11,5% và 11%, trong khi đó, ở các điều kiện 27°C và 30°C, tỷ lệ cá sống sót đạt 25,5%, 26% và 27%, 26,5%; ở điều kiện 32°C, tỷ lệ cá sống sót cũng giảm mạnh, còn 16,5% và 14,5% (Hình 8). Kết thúc quá trình thí nghiệm, tỷ lệ cá sống sót ở các mức nhiệt độ là 22°C và 32°C, giảm 2,2-2,3 lần so với ở các mức

25°C, 27°C và 30°C. Điều này có thể được giải thích bởi tác động của stress nhiệt độ đã làm suy giảm khả năng chống chịu của cá đối với tác nhân gây bệnh.

Các kết quả thu được trong thí nghiệm này tương tự với công bố của Diegane và cs (2007), theo đó cá rô phi nói chung và cá rô phi vằn nói riêng thích nghi tốt nhất ở trong khoảng nhiệt độ từ 23-31°C, mức nhiệt độ cao hơn hoặc thấp hơn ở ngưỡng nhiệt độ thích nghi đều gây sự suy giảm của các yếu tố miễn dịch không đặc hiệu như tổng số tế bào bạch cầu, hoạt động đại thực bào, chỉ số đại thực bào, hoạt tính lysozyme [17].

Trong quá trình theo dõi, cá ở tất cả các bể thí nghiệm đều bắt đầu chết ở ngày thứ hai, sau đó tăng dần và đạt mức cao nhất ở ngày thứ 8-12, số lượng cá chết trong khoảng thời gian này chiếm khoảng 20%/ngày ở các bể thí nghiệm; sau đó, số lượng cá chết giảm mạnh kể từ ngày thứ 16 với tỷ lệ còn 1-2%/ngày.



Hình 9. Kết quả kiểm tra bài thải virus ở cá gây nhiễm với TiLV

Kết quả trong hình 9 cho thấy, virus được bài thải trong khoảng thời gian từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 16 sau khi gây nhiễm. Nồng độ virus cao nhất được phát hiện trong khoảng 6 - 8 ngày sau gây nhiễm với log10 là 4,35, 5,15 và 4,8 (tương đương với $2,26 \times 10^4$, $1,41 \times 10^5$, $6,28 \times 10^5$ bản sao ARN/lít nước); sau đó mật độ virus giảm dần và ở dưới ngưỡng được phát hiện thấy từ ngày thứ 17 sau khi gây nhiễm.

Có nhiều nghiên cứu trước đây về động học bài thải virus ở cá nhiễm bệnh. Nghiên cứu của Daniel và cs (2022) về động học bài thải virus gây bệnh hoại tử cơ quan tạo máu (Infectious Hematopoietic Necrosis Virus -IHNV) ở cá hồi Chinook đã chỉ ra rằng, cá bài thải virus sau 2-3 ngày nhiễm bệnh, sau đó mật độ virus giảm nhanh dưới ngưỡng phát hiện sau 7 ngày gây nhiễm, cường độ bài thải virus phụ thuộc vào chủng gây bệnh và mùa mắc bệnh [18]. Đối với TiLV, nghiên cứu của Taengphu và cs (2021) đã báo cáo về nồng độ TiLV trong mẫu nước ở các lồng nuôi trên sông và ao có cá nhiễm bệnh tự nhiên, tải lượng virus tương ứng $8,5 \times 10^2$ - $2,79 \times 10^4$ bản sao ARN/lít

3.3. Động học bài thải virus

Kết quả nghiên cứu động học bài thải TiLV ở cá thí nghiệm được thực hiện bằng phương pháp RT-qPCR với mẫu nước nuôi cá được trình bày trong hình 9.

nước và $4,29 \times 10^2$ - $3,53 \times 10^3$ bản sao ARN/lít nước [19]; mẫu nước có tải lượng virus cao hơn được quan sát thấy trong các ổ bệnh đang bùng phát. So với các công bố trước đây, kết quả thu được về động lực học bài thải virus của cá nhiễm TiLV trong nghiên cứu này cho thấy, dường như chủng TiLV ND38 bài thải chậm hơn so với IHNV; cường độ bài thải của chủng virus này ở cá rô phi gây nhiễm cao hơn so với cá nhiễm bệnh trong điều kiện tự nhiên.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu này đã xác định được mức độ miễn cảm của cá rô phi ở giai đoạn ương giống đối với TiLV, ảnh hưởng của nhiệt độ và độ mặn đến mức độ miễn cảm của cá giống đối với virus này; đồng thời xác định được động học của quá trình bài thải virus từ cá gây nhiễm chủng TiLV ND38. Tuy nhiên, cần tiếp tục nghiên cứu về dịch tễ bệnh, từ đó đề xuất các giải pháp phòng bệnh phù hợp.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi đề tài cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo, mã số B2019-MHN-06.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. H. W. Ferguson, R. Kabuusu, S. Beltran, E. Reyes, J. A. Lince, and J. del Pozo (2014). Syncytial hepatitis of farmed tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.): a case report. *J Fish Dis* 37: 583- 369.
2. M. Eyngor, R. Zamostiano, J. E. K. Tsofack, A. Berkowitz, H. Bercovier, S. Tinman, A. Eldar (2014). Identification of a novel ARN virus lethal to tilapia. *JouARNI of Clinical Microbiology*, 52 (12), pp. 4137-4146.
3. P. Nicholson, M.A. Fathi, A. Fischer, C. Mohan, E. Schieck, N. Mishra, J. Jores (2017). Detection of Tilapia Lake Virus in Egyptian fish farms experiencing high mortalities in 2015 of Fish Diseases, 40 (12), pp. 1925-1928.
4. H. T. Dong, G. A. Ataguba, P. Khunrae, T. Rattanarojpong, S. Senapin (2017). Evidence of TiLV infection in tilapia hatcheries from 2012 to 2017 reveals probable global spread of the disease *Aquaculture*, 479, pp. 579-583.
5. W. Surachetpong, S. R. K. Roy, and P. Nicholson (2020). Tilapia lake virus: The story so far. *J Fish Dis* 43:1115-1132.
6. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)/GIEWS Special Alert nr. 338. (2017). Outbreaks of Tilapia lake virus (TiLV) threaten the livelihoods and food security of millions of people dependent on tilapia farming.
7. Cục Thú y (2017). Hội nghị phòng chống bệnh mới do Tilapia lake virus (TiLV) trên cá rô phi tại Việt Nam. Hà Nội, 3/10/2017.
8. Bộ Nông nghiệp và PTNT (2017). *Công văn số 8862/BNN-TY, ngày 20/10/2017 về việc chỉ đạo áp dụng các biện pháp cấp bách phòng, chống dịch bệnh mới do TiLV gây ra trên cá rô phi*.
9. Phạm Thị Tâm, Lê Minh Hải, Nguyễn Thị Thu Hiền (2022). Phân lập tilapia lake virus và xác định một số đặc điểm bệnh lý ở cá rô phi cảm nhiễm. *Tạp chí Nông nghiệp và PTNT*, 10, 238-244.
10. Pulido, L. L. H., Mora, C. M., Hung, A. L., Dong, H. T., & Senapin, S. (2019). Tilapia lake virus (TiLV) from Peru is genetically close to the Israeli isolates. *Aquaculture*, 510, 61– 65.
11. S. Taengphu, P. Kayansamruaj, Y. Kawato, J. D. Deboutteville, C. V. Mohan, H. T. Dong, S. Senapin (2021). Concentration and quantification of Tilapia tilapinevirus from water using a simple iron flocculation coupled with probe-based RT-qPCR. *PeerJ*.13157.
12. S. R. K. Roy, J. Yamkasem, P. Tattiyapong, W. Surachetpong (2021). Weight-dependent susceptibility of tilapia to Tilapia Lake virus infection. *PeerJ*9:e11738.
13. R. Kumar, M. K. Yadav, A. K. Dev, P. K. Parida, B. K. Das, K. K. Lal, J. K. Jena (2018). Emergence of Tilapia Lake Virus associated with mortalities of farmed Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) in India. *Aquaculture* 484(3–4):168–174.
14. B. K. Behera, P. K. Pradhan, T. R. Swaminathan, N. Sood, P. Paria, A. Das, D. K. Verma, G. Tripathi, R. Kooloth Valappil (2021). Microbiological investigation of Tilapia lake virus-associated mortalities in cage-farmed *Oreochromis niloticus* in India. *Aquaculture International* 29(2):511–526.
15. P. Nicholson, N. Mon-on, P. Jaemwimol, P. Tattiyapong, W. Surachetpong (2020). Coinfection of tilapia lake virus and *Aeromonas hydrophila* synergistically increased mortality and worsened the disease severity in tilapia (*Oreochromis* spp.). *Aquaculture* 520 (1):734746.
16. J. Del-Pozo, N. Mishra, R. Kabuusu, S. Cheetham, A. Eldar, E. Bacharach, W. I. Lipkin, & H. W. Ferguson (2016). Syncytial Hepatitis of Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) is Associated With Orthomyxovirus-Like Virions in Hepatocytes. *Veterinary Pathology* 51 (1).
17. N. Diegane, Y. Y. Chen, Y. H. Lin, B. Vaseeharan, J. C. Chen (2007). The

immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures. Fish & Shellfish Immunology Volume 22, Issue 6, June 2007, pp 686-694.

18. H. Daniel and G. Kurath (2022). Shedding kinetics of Infectious Hematopoietic Necrosis Virus (IHNV) in juvenile spring- and fall run

Chinook Salmon of the Columbia River Basin. Animals, 12, 1887.

19. S. Taengphu, P. Kayansamruaj, Y. Kawato, J. Delamare-Deboutteville, C. V. Mohan, H. T. Dong, S. Senapin (2022). Concentration and quantification of Tilapia tilapinevirus from water using a simple iron flocculation coupled with probe-based RT-qPCR. PeerJ 10:e13157.

IMPACT OF SOME ENVIRONMENTAL FACTORS FOR THE PATHOGENICITY BY TILAPIA LAKE VIRUS AND SHEDDING KINETIC FROM INFECTED FISH

Pham Thi Tam¹, Le Minh Hai², Nguyen Thi Thu Hien¹

Bui Thi Hai Hoa¹, Nguyen Thi Trung³

¹Hanoi Open University

²Vinh University

³Vietnam Academy of Science and Technology

Summary

This study was conducted to evaluate the susceptibility of tilapia in the nursery stage to tilapia lake virus, to assess the influence of temperature and salinity on pathogenicity, and to determine kinetics of virus shedding. After 17 dpi, the cumulative mortality of juveniles, fry and fingerlings reached the maximum, after 21 dpi, the average cumulative mortality of fry, fry, and fingerlings, respectively, was 100%, 96.5% and 74%. At the temperature conditions of 22°C, 25°C, 27°C, 30°C, 32°C and salinity of 3 ppt and 5ppt, the survival rate of fingerlings after 30 dpi at the temperature threshold of 22°C and 32°C decreased by 2.2-2.3 times compared with the temperature thresholds of 25°C, 27°C and 30°C, temperature stress has reduced the resistance ability of fish to pathogens. The shedding kinetics of strain TiLV ND38 from infected fish into the aquatic environment was determined in 30 days, by RT-qPCR, viral ARN was detected during 3-16 dpi; the highest viral concentrations were detected between 6-8 dpi with log₁₀ value of 4.35, 5.15 and 4.8 (equivalent to 2.26 x 10⁴, 1.41 x 10⁶, 6.28 x 10⁵ ARN copies/liter of water), respectively. From 17 dpi, the virus load gradually decreased and was below the detection threshold. The obtained results are initially the basis for determining the epidemiology of the disease, from which to continue to research and propose appropriate prevention solutions.

Keywords: *Tilapia Lake virus*, tilapia, susceptibility, temperature, salinity, infected, virus shedding.

Người phản biện: PGS.TS. Tô Long Thành

Ngày nhận bài: 6/02/2023

Ngày thông qua phản biện: 22/02/2023

Ngày duyệt đăng: 28/02/2023