

PHÁT HIỆN VLPs (VIRUS-LIKE PARTICLES) Ở TU HẢI GIỐNG CẤP 1 (*Lutraria philippinarum* Reeve, 1854) THU TỪ TRẠI SẢN XUẤT

Đặng Thị Lua^{1*}, Phan Thị Vân¹, Nguyễn Thanh Thủy²

¹*Viện nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I*

²*Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương*

*Tác giả liên hệ: danglua@ria1.org

Ngày nhận bài: 25.09.2018

Ngày chấp nhận đăng: 29.01.2019

TÓM TẮT

Bệnh sưng vòi trên tu hải nuôi đã và đang là mối nguy ảnh hưởng nghiêm trọng đến nghề nuôi tu hải ở nước ta. Tác nhân chính gây bệnh được xác định là vi sinh vật có cấu trúc giống virus (Virus-like particles, VLPs), tuy nhiên con đường lây lan của VLPs và nguyên nhân phát sinh bệnh vẫn chưa được làm rõ. Nghiên cứu được tiến hành nhằm xác định liệu nguồn giống tu hải đối tượng nguy hiểm thể nuôi chung cùng tu hải có phải là nguồn lây lan. Lan truyền mầm bệnh. Trong nghiên cứu này, bằng việc áp dụng phương pháp hiển vi điện tử, một số nguồn vật chủ như tu hải giống cấp 1, ngao hoa đã được kiểm tra xác định sự có mặt của VLPs. Sau đó, VLPs được phân tích đặc điểm hình dạng, kích thước, cấu trúc và vị trí ký sinh bên trong tế bào. Kết quả cho thấy VLPs có mặt ở nguồn giống tu hải cấp 1 thu từ trại sản xuất. Điều này khẳng định nguồn giống là một nguyên nhân làm lây lan bệnh sưng vòi ở tu hải nuôi. VLPs có dạng hình que dài, kích thước khoảng 70-90 nm x 600-1.000 nm, cấu trúc gồm vỏ bọc ngoài, màng ngoài, màng trong và lõi. VLPs ký sinh trong bào tương của tế bào vật chủ. Kết quả nghiên cứu này là cơ sở khoa học cho việc định hướng nghiên cứu phân loại, định danh VLPs và xây dựng biện pháp kiểm soát, phòng trị bệnh sưng vòi trên tu hải nuôi.

Từ khóa: Ngao hoa, nhuyễn thể, tu hải, sưng vòi, VLPs.

Detection of Virus-like Particles (VLPs) in Otter Clam (*Lutraria philippinarum* Reeve, 1854) Spat Collected from Hatchery

ABSTRACT

Swollen siphon disease has been considered as a serious threat to otter clam farming in Vietnam. Virus-like particles (VLPs) were identified as the main causative agent of the disease, however, the transmission pathway and the pathogenesis of the disease have not been clarified yet. The study was conducted in order to determine whether the source of otter clam or other molluscs could be sources/carriers for transfer of VLPs. In this study, by electron microscopy analysis, some host species such as otter clam spat and venerid clam (*Tapes dorsatus*) were selected to screen for the presence of VLPs, then VLPs were further analyzed for their size, structure and location in the host cells. Results showed that VLPs were present in otter clam spat sampled from the hatchery. This indicated that the otter clam spat is one of the causes of spread of the swollen siphon disease in otter clam. VLPs have rod-like shape with the size ranging from 70-90 nm x 600-1,000 nm. They consist of outer shell, outer membrane, inner membrane, and core and are located in the cytoplasm of the host cells. These findings can serve as scientific basis for developing strategies for classification of VLPs and control, prevention and treatment of swollen siphon disease in otter clam.

Keywords: Venerid clam, mollusc, otter clam, swollen siphon, VLPs.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tu hải (*Lutraria philippinarum* Reeve, 1854) đã và đang là đối tượng nuôi nhuyễn thể hai mảnh vỏ có giá trị kinh tế cao ở nước ta, được

nuôi phổ biến tại vùng biển Cát Bà, Hải Phòng, Vân Đồn, Quảng Ninh và Cam Ranh, Khánh Hòa. Diện tích nuôi tu hải lên tới 226 bè với hơn 3.000 giàn nuôi tại Lan Hạ, Cát Bà, Hải Phòng năm 2010 và năm 2011 Quảng Ninh có trên 700

hộ nuôi tu hài với tổng diện tích hơn 400 ha mặt nước (Trương Thị Mỹ Hạnh và cs., 2014; Phan Thị Vân và cs., 2013). Tuy nhiên, từ cuối năm 2011 trở lại đây dịch bệnh sưng vôi xuất hiện trên tu hài đã ảnh hưởng nghiêm trọng đến sự phát triển bền vững của nghề nuôi đối tượng này. Dịch bệnh sưng vôi bắt đầu được ghi nhận lần đầu tiên tại vịnh Cam Ranh, Khánh Hoà vào đầu tháng 4 năm 2011, sau đó được phát hiện tại vịnh Lan Hạ, Cát Bà, Hải Phòng tháng 9 năm 2011 và tại Vân Đồn, Quảng Ninh đầu năm 2012 (Phan Thị Vân và cs., 2014).

Dịch bệnh sưng vôi xuất hiện ở cả tu hài giống bé (kích thước khoảng 2 mm), tu hài giống lớn (kích cỡ khoảng 2-3 cm), tu hài kích cỡ thương phẩm với tỷ lệ chết trong đợt dịch lên đến 100% và dấu hiệu đặc trưng của tu hài bị bệnh là vôi bị sưng, bong nước và bong tróc (Phan Thị Vân và cs., 2013; 2014; Trương Thị Mỹ Hạnh và cs., 2014; 2015). Từ đó đến nay, mặc dù không xuất hiện thành dịch do hộ nuôi tu hài đã giảm xuống rõ rệt về cả số lượng và quy mô, song diễn biến bệnh sưng vôi gây chết trên tu hài vẫn xuất hiện rải rác quanh năm tại Quảng Ninh, Hải Phòng và Nha Trang.

Nguyên nhân chính gây bệnh sưng vôi bước đầu được xác định là do tác nhân VLPs (Virus-like particles) ký sinh trong phần vôi của tu hài bệnh (Phan Thị Vân và cs., 2013; Trương Thị Mỹ Hạnh và cs., 2014; 2015). Tuy nhiên, nguồn gốc VLPs được lan truyền từ đâu hay vật mang VLPs là gì vẫn còn là ẩn số. Do vậy, mục tiêu của nghiên cứu này là sàng lọc, phát hiện nguồn mang VLPs và xác định hình dạng, kích thước, vị trí ký sinh và đặc điểm cấu trúc của VLPs nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho việc xây dựng biện pháp kiểm soát, khống chế và phòng trị bệnh sưng vôi.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nguồn nguyên liệu được dùng trong nghiên cứu này gồm nguồn giống tu hài cấp 1 (kích thước khoảng 3-4 mm) và loài nhuyễn thể (ngao hoa). Tu hài cấp 1 được thu ngẫu nhiên tại các trại/cơ sở sản xuất giống tu hài ở Khánh Hoà trước khi xuất giống hoặc được thu tại các cơ sở

nuôi tu hài thương phẩm ở Cát Bà, Hải Phòng và Vân Đồn, Quảng Ninh vào thời điểm tu hài giống cấp 1 mới được chuyển về chuẩn bị ương lên giống cấp 2. Ngao hoa (*Tapes dorsatus*), loài nhuyễn thể nuôi chung cùng tu hài từ sau khi dịch bệnh tu hài xuất hiện nhằm nâng cao thu nhập, được thu tại các cơ sở nuôi tu hài thương phẩm ở Cát Bà, Hải Phòng và Vân Đồn, Quảng Ninh.

Mẫu tu hài có biểu hiện đặc trưng của bệnh sưng vôi (vôi sưng, bong tróc) được dùng làm nguyên liệu để xác định hình dạng, kích thước, đặc điểm cấu trúc và vị trí ký sinh trong tế bào vật chủ của VLPs.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp thu mẫu

Tổng số 16 đợt mẫu tu hài giống cấp 1 đã được thu trong khoảng thời gian 2013-2014 và 2017-2018, và 6 đợt mẫu ngao hoa được thu trong thời gian 2017-2018. Mỗi đợt mẫu tu hài giống cấp 1 là đại diện cho một đợt sản xuất giống tu hài của trại sản xuất hoặc một đợt giống được chuyển đến vùng nuôi phục vụ việc ương nuôi tu hài của một số hộ nuôi xuống giống cùng một thời điểm. Mỗi đợt mẫu ngao hoa là đại diện cho một đợt thu mẫu giám sát định kỳ tại vùng nuôi tu hài thương phẩm.

2.2.2. Phương pháp lát cắt siêu mỏng sử dụng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM)

Phương pháp lát cắt siêu mỏng được sử dụng để xác định sự có mặt cấu trúc VLPs ở các nguồn vật chủ và xác định hình dạng, kích thước, vị trí ký sinh trong tế bào vật chủ của VLPs.

Mẫu tu hài giống cấp 1, mẫu vôi của ngao hoa (phục vụ cho mục đích xác định sự có mặt của VLPs ở các nguồn vật chủ) và mẫu vôi của tu hài biểu hiện bệnh sưng vôi (phục vụ cho mục đích xác định hình dạng, kích thước và đặc điểm nhân lên trong tế bào vật chủ của VLPs) được thu và cố định tại hiện trường trong dung dịch đệm glutaraldehyde 2,5% pha trong dung dịch đệm cacodylate 0,1 M (pH = 7,2-7,4) qua đêm và bảo quản lạnh ở khoảng 4°C trước khi chuyển đến phân tích tại phòng thí nghiệm siêu cấu trúc, Trung tâm nghiên cứu Y sinh, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương. Do tu hài giống cấp 1 vào thời

điểm xuống giống rất nhỏ (kích cỡ 3-4 mm) nên số lượng mẫu mỗi lần thu sẽ là một hỗn hợp nhiều tu hài (ước lượng khoảng hàng trăm con/mẫu thu) thay vì thu từng mẫu (con) riêng lẻ như đối với các mẫu tu hài giống lớn và thương phẩm.

Mẫu thu được xử lý như sau: Rửa mẫu 3 lần bằng dung dịch cacodylate 0,1M (15 phút/mẫu), cố định mẫu bằng OsO₄ 1%/cacodylate 0,1M trong thời gian 1 giờ ở nhiệt độ phòng và tiếp tục rửa mẫu 3 lần bằng dung dịch cacodylate 0,1M (15 phút/lần). Mẫu sau đó được rút nước qua cồn ở các nồng độ 50°, 70°, 90° và 100° (10 phút/nồng độ và mỗi nồng độ lặp lại 2 lần), tẩy cồn trong mẫu bằng propylene oxyde (10 phút/lần, 2 lần), ngâm tẩm mẫu trong dung dịch propylene oxide và Epon với tỷ lệ 1:1 (60 phút/lần, 2 lần) và ngâm trong dung dịch Epon nguyên chất qua đêm. Mẫu sau quá trình xử lý được đúc trong con nhộng gelatin trong thời gian 48 giờ và ở 60°C, cắt mẫu với độ dày 60-70 nm và đặt lên lưới đồng có màng collodion. Mẫu được nhuộm bằng Uranyl acetate trong 10 phút, citrate chì trong 5 phút và đọc mẫu dưới KHVĐT (Kính hiển vi điện tử) JEOL 1010 (Nhật Bản) để quan sát sự hiện diện của VLPs.

2.2.2. Nhuộm âm bản sử dụng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM)

Phương pháp nhuộm âm bản được sử dụng để xác định đặc điểm cấu trúc hình thái của VLPs. Tóm tắt phương pháp nhuộm âm bản như sau: Mẫu vòi tu hài có biểu hiện bệnh sưng vòi được cắt nhỏ và nghiền bằng cối sứ trong dung dịch nước cất (tỷ lệ mẫu và nước cất là 1 : 1). Dung dịch nghiền được ly tâm ở tốc độ 1.000 vòng/phút trong thời gian 5 phút ở nhiệt độ 4°C. 50 µl dịch nổi sau khi ly tâm được nhỏ lên tấm parafin, dung tẩm màng đồng đặt lên giọt nước trên tấm paraffin, để cố định trong 1 phút. Mẫu cố định sau đó được nhuộm trong dung dịch Uranyl acetate 1%. Kiểm tra mẫu dưới KHVĐT Philips 208 TEM ở 80 kV. Công việc này được thực hiện tại phòng hiển vi điện tử, Viện Nông nghiệp Elizabet Marcuthur, Úc.

2.3. Phân tích, xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Excel, sử dụng kỹ thuật phân tích chuyên gia và thống kê mô tả.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xác định nguồn vật chủ mang mầm bệnh VLPs

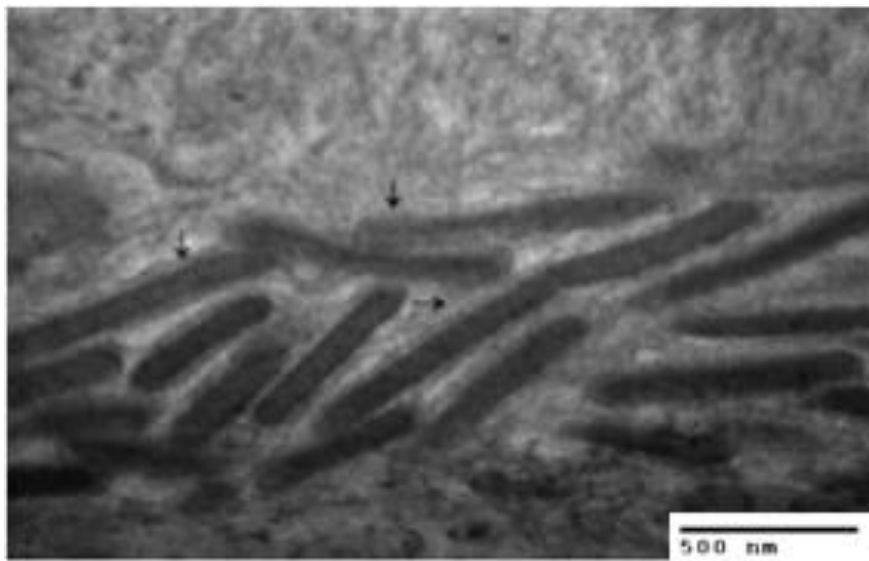
Kết quả xác định sự có mặt của VLPs ở tu hài giống cấp 1 và ngao hoa bằng phương pháp KHVĐT được trình bày ở bảng 1 và hình 1.

Kết quả phân tích trên KHVĐT cho thấy mẫu ương tính với VLPs ở một đợt mẫu tu hài giống cấp 1 thu từ trại giống và âm tính với VLPs ở tất cả các đợt mẫu ngao hoa (Bảng 1). Kết quả này đã khẳng định rằng VLPs không chỉ được tìm thấy ở tu hài giống giai đoạn ương nuôi và tu hài thương phẩm (Phan Thị Vân và cs., 2014) mà chúng còn được tìm thấy ở nguồn tu hài giống cấp 1 thu từ trại sản xuất giống trước khi chuyển ra vùng ương nuôi thương phẩm (Bảng 1, Hình 1). Kết quả nghiên cứu này đã khẳng định con giống là một nguồn lây lan mầm bệnh sưng vòi đến các vùng nuôi tu hài. Đây là một phát hiện mới có ý nghĩa khoa học quan trọng trong việc xác định con đường lây lan của tác nhân gây bệnh, làm cơ sở cho việc xây dựng, đề xuất các biện pháp kiểm soát, phòng và trị bệnh sưng vòi.

Thực tế kết quả theo dõi giám sát định kỳ sự xuất hiện bệnh sưng vòi trên tu hài nuôi tại các vùng nuôi thuộc Cát Bà, Hải Phòng và Vân Đồn, Quảng Ninh trong đề tài cấp Bộ “*Nghiên cứu các giải pháp kỹ thuật và quản lý nhằm kiểm soát hiệu quả bệnh sưng vòi trên tu hài nuôi*” cho thấy vào đợt thu mẫu định kỳ tháng 5 năm 2018 tại Quảng Ninh đã xuất hiện bệnh sưng vòi trên tu hài giống cấp 1 vào thời điểm vừa mới xuống giống ương nuôi. Điều này đã góp phần minh chứng cho phát hiện của chúng tôi rằng nguồn tu hài giống trước khi được thả nuôi đã mang mầm bệnh sưng vòi. Hơn nữa, sự lây lan mầm bệnh từ nguồn tu hài giống đã lý giải cho thực tế về đợt dịch bệnh sưng vòi đầu tiên đã xuất hiện ở tất cả 3 vùng nuôi tu hài trên cả nước là Cam Ranh, Khánh Hoà; Cát Bà, Hải Phòng và Vân Đồn, Quảng Ninh vào thời gian 2011-2012 (Phan Thị Vân và cs., 2013; 2014; Trương Thị Mỹ Hạnh và cs., 2014; 2015).

Bảng 1. Kết quả xác định VLPs trên nguồn tu hài giống cấp 1 và ngao hoa

Đợt thu mẫu	Địa điểm thu mẫu	Giai đoạn thu mẫu	Cơ quan thu mẫu	Số lượng mẫu	Cấu trúc VLPs	
					Phát hiện	Tỷ lệ nhiễm
Tu hài giống cấp 1 (thời điểm trước khi thả giống)	Trại sản xuất giống Nha Trang, Khánh Hoà	2013-2014	Nguyên con	10	-	0/10
	Trại sản xuất giống Nha Trang, Khánh Hoà	2017-2018	Nguyên con	4	+	1/4
	Cát Bà, Hải Phòng	2017-2018	Nguyên con	1	-	0/1
	Vân Đồn, Quảng Ninh	2017-2018	Nguyên con	1	-	0/1
Ngao hoa	Cát Bà, Hải Phòng	2017-2018	Vòi (miệng)	3	-	0/3
	Vân Đồn, Quảng Ninh	2017-2018	Vòi (miệng)	3	-	0/3



Hình 1. Cấu trúc VLPs phát hiện trên nguồn giống tu hài cấp 1 thu từ trại sản xuất

Phân tích siêu cấu trúc bằng KHVĐT là một trong những phương pháp đã và đang được ứng dụng trong chẩn đoán, khám phá và miêu tả vi sinh vật gây bệnh mới (Doane & Anderson, 1987; Goldsmith & Miller, 2009). Phương pháp này đặc biệt có ý nghĩa đối với trường hợp chẩn đoán bệnh mới hoàn toàn chưa xác định được hướng tác nhân gây bệnh, do vậy đã rút ngắn được thời gian chẩn đoán và điều trị bệnh. Phương pháp KHVĐT đã được ứng dụng trong chẩn đoán tác nhân gây bệnh truyền nhiễm ở người (Biel *et al.*, 2004; Chua *et al.*, 2007), động vật trên cạn (Bayer-Garner, 2005; Hyatt & Selleck, 1996) và đối tượng thuỷ sản (Đặng Thị Lụa và cs., 2013; Đỗ Thị Hoà và cs., 2004). Kết quả tham khảo các tài liệu xuất bản trong nước và quốc tế cho thấy bệnh sùng vòi trên tu hài *Lutreria philippinarum* (Reeve, 1854) hay bệnh

tương tự chưa từng được miêu tả ở nơi nào khác. Đây là một bệnh mới được miêu tả trên đối tượng tu hài nuôi đối với thế giới cũng như ở Việt Nam. Kết quả nghiên cứu trước đây của Phan Thị Vân và cs. (2014) về sàng lọc tác nhân gây bệnh sùng vòi bằng phương pháp nghiên cứu bao vây cho thấy KHVĐT đã giúp xác định sự có mặt của cấu trúc VLPs, làm tiền đề cho việc tiến hành các thí nghiệm khẳng định VLPs là tác nhân chính gây bệnh sùng vòi trên tu hài nuôi. Cũng xuất phát từ kết quả nghiên cứu đó, phương pháp KHVĐT được sử dụng chẩn đoán bệnh sùng vòi dựa trên việc xác định sự có mặt của VLPs và kết hợp với việc quan sát biểu hiện bệnh lý đặc trưng trên tu hài. Trong nghiên cứu này, phương pháp KHVĐT đã xác định sự có mặt của VLPs trong nguồn vật chủ là tu hài cám (Bảng 1, Hình 1). Kết quả này đã cung cấp

cơ sở khoa học về khả năng phát tán nguồn tác nhân gây bệnh sùng vôi từ nguồn con giống trước khi thả nuôi.

3.2. Đặc điểm hình dạng, kích thước, vị trí ký sinh và cấu trúc hình thái của VLPs

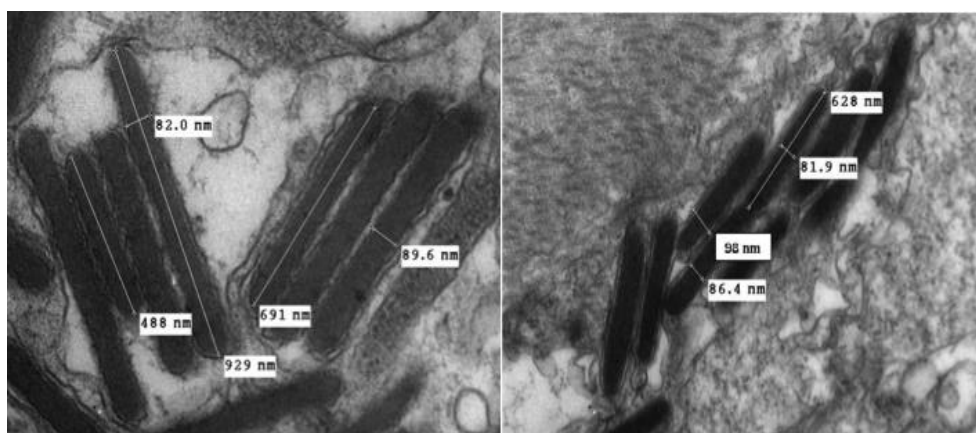
Kết quả quan sát các lát cắt siêu mỏng của mô vôi tu hài bị bệnh sùng vôi dưới KHVĐT cho thấy VLPs có dạng hình que với kích thước khoảng 70-90 nm × 600-1.000 nm (Hình 2). Quan sát đặc điểm nhân lên trong tế bào vật chủ của VLPs từ rất nhiều lát cắt siêu mỏng đã khẳng định VLPs thường tập trung thành từng đám và ký sinh trong bào tương của tế bào vật chủ (Hình 3).

Với việc áp dụng kỹ thuật nhuộm âm bản và quan sát dưới KHVĐT, VLPs được xác định có cấu trúc gồm vỏ bọc ngoài, màng ngoài, màng trong và lõi (Hình 4A). Ngoài ra giữa các VLPs còn liên kết với nhau bằng màng phức hợp ngoài (Hình 4B).

Với đặc điểm hình dạng và cấu trúc được miêu tả ở hình 2 và hình 4, tác nhân chính gây bệnh sùng vôi trên tu hài nuôi được cho rằng chúng không phải là vi khuẩn vì có cấu trúc không giống vi khuẩn và kích thước nhỏ hơn rất nhiều so với vi khuẩn (Bách khoa toàn thư Wikipedia). Hơn nữa, kết quả gây nhiễm nhân tạo trong điều kiện phòng thí nghiệm cho tu hài khoẻ với hỗn hợp vi khuẩn phân lập được từ tu hài bệnh (*Vibrio cholera*, *V. alginolyticus* và *V. mediterrane*) đã khẳng định vi khuẩn chỉ có thể là tác nhân cơ hội đối với bệnh sùng vôi trên tu

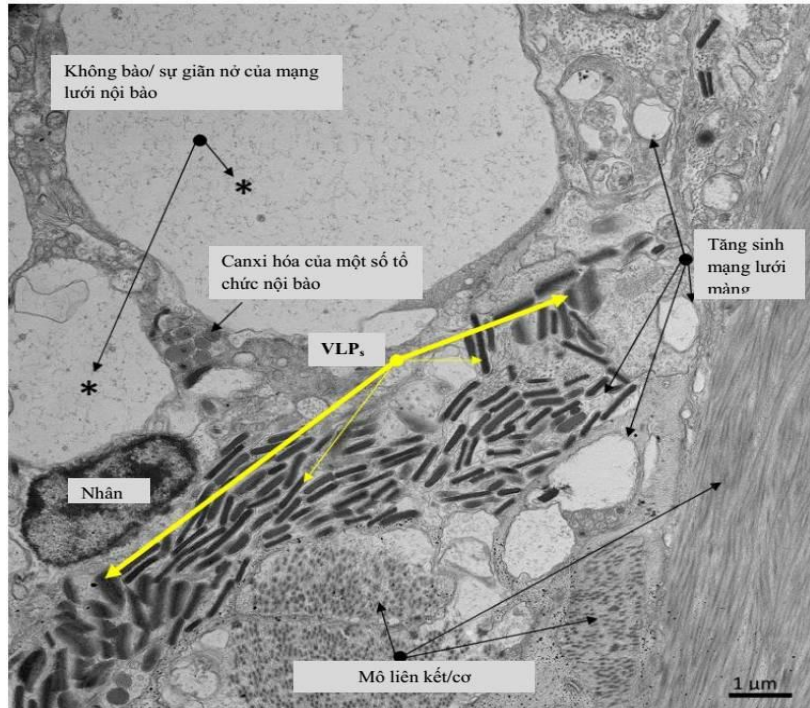
hài nuôi (Trương Thị Mỹ Hạnh và cs., 2015). Kết quả theo dõi sự biến động của mật độ *Vibrio* spp. trong vùng nuôi tu hài tại Cát Bà, Hải Phòng và Vân Đồn, Quảng Ninh cũng khẳng định *Vibrio* spp. chỉ là tác nhân cơ hội đối với bệnh sùng vôi trên tu hài nuôi (Đặng Thị Lụa và Phạm Thị Yến, 2017). Kết hợp với kết quả thí nghiệm gây nhiễm dịch lọc phần vôi tu hài bệnh (lọc qua màng lọc 0,45 µm) cho tu hài khoẻ trong các điều kiện môi trường khác nhau của yếu tố pH, độ mặn và sự có mặt của vi khuẩn *Vibrio* spp., tu hài thí nghiệm xuất hiện các biểu hiện bệnh lý của bệnh sùng vôi tương tự ngoài thực địa (Trương Thị Mỹ Hạnh và cs., 2015), tác nhân chính gây bệnh sùng vôi đã được khẳng định là gần gũi nhất với virus do vậy chúng được đặt tên là virus-like particles (VLPs).

Tuy nhiên với cấu trúc dạng hình que, kích thước khoảng 70-90 nm × 600-1.000 nm (Hình 2), VLPs không giống với bất kỳ loại virus nào đã được miêu tả trước đây. Hơn nữa, bệnh sùng vôi trên tu hài là bệnh mới, mới chỉ xuất hiện mấy năm gần đây ở Việt Nam, trên thế giới chưa có nghiên cứu nào mô tả về tác nhân gây bệnh này. Đây chính là khó khăn lớn nhất của chúng tôi khi tiến hành thực hiện các nghiên cứu liên quan đến VLPs và bệnh sùng vôi. Căn cứ trên những kết quả nghiên cứu này, các chuyên gia trong và ngoài nước cho rằng để có thể phân loại, định danh được VLPs, cần thiết phải áp dụng kỹ thuật phân tích metagenome. Như vậy có thể nói kết quả nghiên cứu của chúng tôi là cơ sở khoa học để tiếp tục nghiên cứu định danh VLPs bằng kỹ thuật sinh học phân tử.

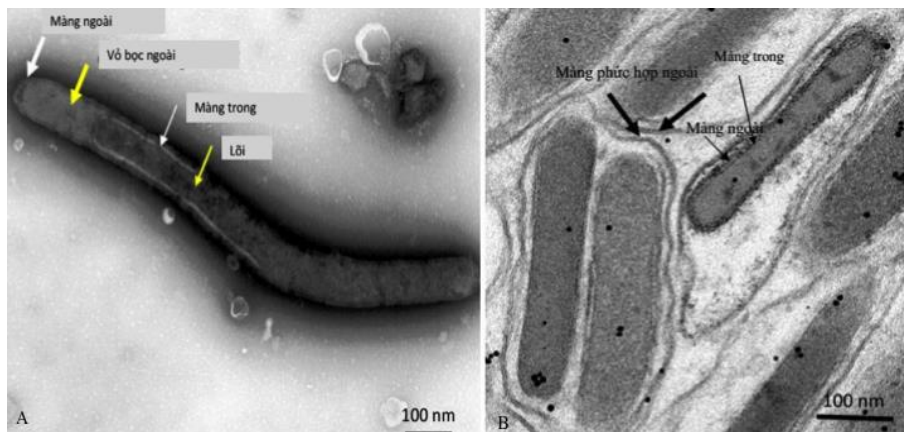


Hình 2. Hình dạng kích thước của VLPs

Phát hiện VLPs (Virus-like particles) ở tu hài giống cấp 1 (*Lutraria philippinarum* Reeve, 1854) thu từ trại sản xuất



Hình 3. Vị trí ký sinh của VLPs



Hình 4. Đặc điểm cấu trúc của VLPs

4. KẾT LUẬN

VLPs đã được phát hiện thấy từ nguồn giống tu hài giống cấp 1 thu tại trại sản xuất. VLPs có dạng hình que, kích thước khoảng 70-90 nm × 600-1.000 nm, cấu trúc gồm vỏ bọc ngoài, màng ngoài, màng trong, lõi và VLPs ký sinh trong bào tương của tế bào vật chủ. Kết quả nghiên cứu đã khẳng định nguồn giống là một nguyên nhân làm lây lan bệnh sưng vôi trên tu hài nuôi.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn TS. Alex Hyatt, ông Mukesh Srivastava - cán bộ phòng KHVĐT, Viện Nông nghiệp Elizabeth Macarthur, Úc và TS. Trương Thị Mỹ Hạnh, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I đã tư vấn, hỗ trợ trong việc phân tích mẫu KHVĐT tại Úc. Nghiên cứu này là một phần kết quả của đề tài nghiên cứu về bệnh sưng vôi trên tu hài nuôi do Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I chủ trì thực hiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bách khoa toàn thư Wikipedia. Vi khuẩn. https://vi.wikipedia.org/wiki/Vi_khuẩn.
- Bayer-Garner, I.B. (2005). Monkeybox virus: histologic, immune-histochemical and electron microscopic findings. *Journal Cutaneous Pathology*, 32: 28-34.
- Biel, S.S., Nitsche A., Kurth A., Siegert W., Ozel M., and Gelderblom H.R. (2004). Detection of human polyomaviruses in urine from bone marrow transplant patients: comparison of electron microscopy with PCR. *Clinical Chemistry*, 50: 306-312.
- Chua, K.B., Wong E.M., Cropp B.C., and Hyatt A.D. (2007). Role of electron microscopy in Nipah virus outbreak investigation and control. *Medical Journal of Malaysia*, 62: 139-142.
- Doan, F.W. and Anderson N. (1987). *Electron microscopy in diagnostic virology: a practical guide and atlas*. Cambridge University Press, New York.
- Goldsmith, C.S. and Miller S.E. (2009). Modern use of electron microscopy for detection of viruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(4): 552-563.
- Trương Thị Mỹ Hạnh, Đặng Thị Lựa và Phan Thị Vân (2014). Nghiên cứu thành phần loài vi khuẩn trên tu hài (*Lutaria philippinarum* Reeve, 1854) nuôi tại Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 9: 90-94.
- Trương Thị Mỹ Hạnh, Đặng Thị Lựa và Phan Thị Vân (2015). Vai trò của virus (dịch lọc) đến hiện tượng sung vôi trên tu hài (*Lutaria philippinarum* Reeve, 1854) nuôi trong điều kiện môi trường khác nhau. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 7: 96-101.
- Đỗ Thị Hoà, Bùi Quang Tề, Nguyễn Hữu Dũng và Nguyễn Thị Muội (2004). *Bệnh học thủy sản*. Nhà xuất bản Nông nghiệp, thành phố Hồ Chí Minh.
- Hyatt, A.D. and Selleck P.W. (1996). Ultrastructure of equine morbillivirus. *Virus Research*, 43: 1-15.
- Đặng Thị Lựa và Phạm Thị Yến (2017). Theo dõi sự biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. trong vùng nuôi tu hài tại Hải Phòng và Quảng Ninh. Sách “Phát triển nuôi hải sản: Thành tựu và thách thức”. Nhà xuất bản Nông nghiệp, tr. 222-230.
- Phan Thị Vân, Đặng Thị Lựa, Trương Thị Mỹ Hạnh và Trần Thị Lý (2013). Kết quả nghiên cứu sự biến đổi cấu trúc mô đại thể và vi thể của tu hài (*Lutaria philippinarum* Reeve, 1854) trong các đợt dịch bệnh gây chết hàng loạt. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 10: 38-42.
- Phan Thị Vân, Trương Thị Mỹ Hạnh, Đặng Thị Lựa, Đào Xuân Trường, Phạm Thế Việt, Lê Thị Mây, Phạm Thị Yến, Nguyễn Thị Hạnh, Nguyễn Thị Lệ và Nguyễn Đức Bình (2014). Nghiên cứu dịch bệnh gây chết hàng loạt ở Tu hài (*Lutaria philippinarum* Reeve, 1854) nuôi tại Việt Nam. Báo cáo tổng kết đề tài cấp Bộ.