

XÁC ĐỊNH MẦM BỆNH VI KHUẨN TRÊN CÁ TRA (*PANGASIANODON HYPOPHTHALMUS*) BỊ BỆNH XUẤT HUYẾT THỐI CƠ THỊT

Nguyễn Thị Thu Hằng^{1*}, Trương Quỳnh Như²

*Tác giả liên hệ email: ntthang@ctu.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm hiểu về loài vi khuẩn nhiễm trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bị bệnh xuất huyết thối cơ thịt, từ đó cung cấp những thông tin cho việc chẩn đoán, phòng và điều trị bệnh do loài vi khuẩn này trên cá tra đạt hiệu quả. Nghiên cứu tiến hành thu mẫu cá tra ở tỉnh Đồng Tháp trong thời gian từ tháng 1/2023 đến tháng 7/2023. Tổng cộng thu được 127 mẫu cá tra, với 97 mẫu cá bệnh và 30 mẫu cá khỏe. Mẫu cá tra bệnh thu được có khối lượng cá thể trung bình là 584,8g và chiều dài trung bình là 32,3cm. Cá tra bệnh xuất huyết thối cơ thịt có dấu hiệu bệnh lý đặc trưng là phần cơ thịt ngay vị trí bong tróc lớp biểu bì da thường sưng tấy, mềm nhũn, hoại tử và thối rữa. Gan, thận và tỳ tạng xuất huyết, mềm nhũn, xoang bụng có chứa chất dịch màu đỏ. Kết quả phân lập vi khuẩn từ 97 mẫu cá bệnh đã thu được 82 chủng vi khuẩn. Các chủng vi khuẩn phân lập từ cơ cá bị hoại tử chiếm 22,0%; có đến 30,5% và 32,9% số chủng vi khuẩn được phân lập lần lượt từ gan và thận cá bệnh. Kết quả định danh vi khuẩn cho thấy, loài vi khuẩn được phân lập từ cá tra bị bệnh xuất huyết thối cơ thịt là vi khuẩn *Aeromonas dhakensis*. Kết quả kháng sinh đồ cho thấy các chủng vi khuẩn nhạy cảm cao với doxycycline, colistin, flumequine (76%), levofloxacin (72%), rifampin và norfloxacin (60%).

Từ khóa: *Aeromonas dhakensis*, *Pangasianodon hypophthalmus*, xuất huyết, thối thịt.

Determining bacterial pathogens in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) caused hemorrhagic muscle rotting disease

Nguyễn Thị Thu Hằng, Trương Quỳnh Như

SUMMARY

The study was carried out to learn about the bacterial pathogen in striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in order to provide information for effective diagnosis, prevention and treatment of this bacterial species caused diseases on striped catfish. A total of 127 striped catfish samples were collected in Dong Thap province from 1/2023 to 7/2023, of which there were 97 diseased fish samples and 30 healthy fish samples. The individual average weight of diseased fish samples was about 584.8g/fish and an average length was about 32.3cm/fish. Striped catfish with hemorrhagic flesh-rotting disease had typical pathological signs, such as: the muscle tissue at the site of the skin peeling were often swollen, soft, necrotic and putrefied. The liver, kidneys and spleen hemorrhage were soft, and the abdominal cavity contained red fluid. Results of bacterial isolation from 97 diseased fish samples obtained 82 bacterial strains. Bacterial strains isolated from necrotic muscles accounted for 22.0%, up to 30.5% and 32.9% of bacterial strains isolated from liver and kidney, respectively. The results of bacterial identification showed that the bacterial strains isolated from hemorrhagic flesh-rotting diseased striped catfishes were *Aeromonas dhakensis*. In this study, the *A. dhakensis* strains were sensitive to doxycycline, colistin, flumequine (76%), levofloxacin (72%), rifampin and norfloxacin (60%).

Keywords: *Aeromonas dhakensis*, *Pangasianodon hypophthalmus*, hemorrhagic, flesh-rotting.

¹. Khoa Bệnh học Thủy sản, Trường Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

². Khoa Chăn nuôi, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đồng bằng sông Cửu Long với hơn 700.000 ha mặt nước nuôi thủy sản, đã trở thành vùng trọng điểm nuôi trồng thủy sản của cả nước. Việc phát triển nhanh chóng của nghề nuôi và gia tăng mật độ thâm canh hoá đồng nghĩa với sự gia tăng tình hình dịch bệnh trên cá tra. Trong đó, bệnh do vi khuẩn là phổ biến nhất và gây thiệt hại cho nghề nuôi cá tra. Các bệnh do vi khuẩn thuộc giống *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Edwardsiella* đã được nhiều tác giả ghi nhận là các bệnh nghiêm trọng trên cá tra (Aisiah *et al.*, 2020; Huyền và Oanh, 2020; Dung và ctv, 2022).

Trong những năm gần đây, các bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn xuất hiện ở hầu hết các vùng nuôi và có chiều hướng gia tăng theo thời gian. Theo Tổng cục Thủy sản, bệnh trên cá tra xảy ra tại 32 xã của 13 huyện của tỉnh An Giang và Đồng Tháp với tổng diện tích bị thiệt hại là gần 501 ha trong năm 2021 (Thúy, 2022). Vi khuẩn *E. ictaluri* gây bệnh gan thận mũ trên cá tra hay còn gọi bệnh đốm trắng nội tạng, với biểu hiện chung là các nốt màu trắng nhỏ trong gan, thận, tỳ tạng. Nhóm vi khuẩn *Aeromonas* di động, bao gồm: *A. hydrophila*, *A. caviae* và *A. sobria* là những vi khuẩn gây bệnh nhiễm trùng huyết (Motile Aeromonad Septicemia, MAS) phổ biến nhất trong môi trường nước ngọt trên toàn thế giới. Điển hình nhất là loài *A. hydrophila* gây bệnh xuất huyết, phù đầu trên cá da trơn nuôi thâm canh với dấu hiệu đặc trưng là xuất huyết trên bề mặt cơ thể và trong các cơ quan nội tạng của cá (Hằng, 2023a).

Tuy nhiên trong khoảng 1-2 năm gần đây, cá tra nuôi ở tỉnh Đồng Tháp thường xảy ra dịch bệnh với các dấu hiệu bệnh lý khác biệt. Các dấu hiệu đặc trưng là các mảng xuất huyết trên bề mặt cơ thể, cùng với đó là gan, thận, tỳ tạng xuất huyết. Đặc biệt là da có dấu hiệu bị lở loét, ăn mòn với phần thịt bên dưới da bị hoại tử, thối rữa, đôi khi lộ cả xương cá bên dưới. Những dấu hiệu bệnh lý này không giống với những miêu tả trong các nghiên cứu trước đây đã báo cáo về vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* gây bệnh xuất huyết trên cá tra (Dung *et al.*, 2008; Crumlish *et al.*, 2010;

Aisiah *et al.*, 2020). Trong lúc nghề nuôi phát triển nhanh chóng, diễn biến dịch bệnh ngày càng phức tạp thì việc hiểu rõ các tác nhân vi khuẩn gây bệnh xuất huyết này càng trở nên cấp thiết. Vì vậy, nghiên cứu “Xác định mầm bệnh vi khuẩn trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bị bệnh xuất huyết thối cơ thịt” được thực hiện.

II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: Mẫu cá tra thịt nuôi thương phẩm.

Thời gian và địa điểm thu mẫu: Từ tháng 1/2023 đến tháng 7/2023. Mẫu cá tra nuôi theo hình thức công nghiệp (thâm canh) được thu tại 15 ao nuôi thuộc huyện Cao Lãnh, tỉnh Đồng Tháp.

Địa điểm phân tích mẫu:

Phân lập, nuôi cấy, định danh vi khuẩn và kháng sinh đồ được thực hiện tại phòng thí nghiệm của Khoa Bệnh học Thủy sản, Trường Thủy sản, Đại học Cần Thơ.

Giải trình tự gen tại công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam Khoa.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu mẫu

Tiến hành thu mẫu cá tra tại các ao nuôi thâm canh. Thu mẫu khi có dịch bệnh xảy ra. Mẫu cá tra có biểu hiện bệnh xuất huyết được nuôi trong ao, bao gồm các mẫu có dấu hiệu xuất huyết mảng/chấm trên da hoặc lở loét da; gan, thận, tỳ tạng xuất huyết, đỏ bầm. Cá được thu từ 15 ao, mỗi ao thu 3-8 con cá có biểu hiện bệnh và 2 con cá khỏe (không có biểu hiện bệnh), tùy thuộc vào điều kiện cho phép của hộ nuôi. Cá được giữ sống trong thùng xốp có sục khí, vận chuyển về phòng thí nghiệm của khoa Bệnh học Thủy sản, Trường Thủy sản, Đại học Cần Thơ và tiến hành phân tích mẫu trong ngày.

2.2.2. Phân lập vi khuẩn

Tiến hành quan sát và ghi nhận dấu hiệu bệnh lý bên ngoài của cá. Cá được phân tích mẫu vi khuẩn theo phương pháp của Frerichs và Millar

(1993). Vi khuẩn được phân lập từ các cơ quan khác nhau như gan, thận, tỳ tạng và cơ. Cây mẫu bệnh phẩm trên môi trường TSA (Tryptic soy agar). Chọn những khuẩn lạc rời rạc, chiếm đa số và có hình dạng đặc trưng nằm trên đường cấy để tách ròng, tiếp tục cấy truyền để tạo dòng thuần chủng. Sau đó, tiến hành định danh và lưu giữ vi khuẩn.

2.2.3. Định danh vi khuẩn bằng các chỉ tiêu sinh hóa

Các chủng vi khuẩn đã thuần chủng được xác định hình thái, màu sắc và kích thước của khuẩn lạc. Xác định hình dạng và tính ròng của vi khuẩn bằng phương pháp nhuộm gram. Đặc điểm sinh hóa cơ bản của các chủng vi khuẩn được xác định theo cẩm nang của Cowan và Steels (Barrow và Feltham, 1993). Thực hiện định danh ngẫu nhiên 5 chủng vi khuẩn bằng bộ kit API 20E (BioMérieux).

2.2.4. Xác định loài vi khuẩn bằng phương pháp sinh học phân tử

Chọn 1 chủng vi khuẩn từ 5 chủng đã kiểm tra bằng API 20E để tiến hành giải trình tự gen. Chủng vi khuẩn được gửi đến công ty TNHH Dịch vụ và Thương mại Nam Khoa để giải trình tự gen bằng phương pháp giải trình tự Sanger. Mức độ tương đồng của đoạn gen chủng vi khuẩn trong nghiên cứu này được so sánh với trình tự của các đoạn gen được đăng ký trên Ngân hàng Gen (GenBank) bằng chương trình BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) để định danh vi khuẩn đến loài. Sau đó, trình tự gen của chủng vi khuẩn phân lập từ cá tra bệnh xuất huyết thối thịt được đăng ký trên GenBank với số tham chiếu là OR693500.

2.2.5. Làm kháng sinh đồ

Phương pháp kháng sinh đồ được thực hiện theo tiêu chuẩn của Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) năm 2006. Vi khuẩn sau khi được phục hồi và thuần chủng thì tiến hành kiểm tra tính mẫn cảm kháng sinh.

Chọn 25 chủng vi khuẩn để làm kháng sinh đồ. Dùng que cấy tiết trùng, lấy một ít khuẩn lạc trên đĩa vi khuẩn cho vào ống nghiệm chứa 5 ml nước muối sinh lý (0,85% NaCl) đã tiết trùng. Trộn mẫu và xác định mật số của vi khuẩn bằng cách so với độ đục của ống McFarland số 3, tương ứng mật độ vi khuẩn là 10^8 tế bào/mL. Sau khi xác định mật số vi khuẩn, cho dung dịch vi khuẩn lên môi trường thạch. Dùng tấm bông tiết trùng nhúng vào dung dịch vi khuẩn, quét đều lên mặt môi trường thạch MHA. Sau đó dùng pel tiết trùng lấy đĩa thuốc kháng sinh đặt vào đĩa petri sau cho khoảng cách giữa 2 tâm của đĩa thuốc kháng sinh khoảng 24 mm và khoảng cách giữa tâm đĩa kháng sinh với rìa của đĩa petri là 10-15 mm. Sau khi hoàn tất việc dán đĩa thuốc kháng sinh, đặt đĩa petri vào tủ ẩm ở nhiệt độ 28-30°C. Sau 24 giờ tiến hành đọc kết quả.

Đọc kết quả:

Đo đường kính vòng vô trùng (mm), dựa vào chuẩn đường kính vòng vô trùng của CLSI (2006) và dùng chủng chuẩn *E. coli* ATCC 25922 làm đối chứng để xác định loại kháng sinh nhạy, nhạy trung bình và kháng.

2.2.6. Xử lý số liệu

Các số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel và Microsoft Word. Cây phát sinh loài được xây dựng theo phương pháp Neighbor-Joining Tree, bootstrap 1.000 lần, sử dụng phần mềm MEGA 11. Tất cả các chuỗi tham chiếu được lấy từ cơ sở dữ liệu GenBank.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thu mẫu cá tra bị bệnh xuất huyết thối thịt

3.1.1. Thông tin về mẫu cá tra

Qua 6 tháng thu mẫu, từ tháng 1/2023 đến tháng 7/2023, nghiên cứu đã thu được tổng cộng 127 mẫu cá (97 cá bệnh và 30 cá khỏe). Phần lớn các mẫu cá bệnh có biểu hiện như lơ đờ, bỏ ăn và chết. Kết quả thu mẫu cho thấy, bệnh thường xảy ra trên cá tra giai đoạn nuôi thương phẩm giữa và cuối vụ nuôi, khi cá tra đã đạt kích

thước lớn. Tốc độ lây nhiễm nhanh, từ lúc cá có dấu hiệu nhiễm bệnh (tuột nhớt, mất lớp biểu bì da) cho đến lúc phát bệnh nặng (loét cơ thịt) trong khoảng thời gian từ 3-4 ngày, tỷ lệ hao hụt từ 10-20%. Mẫu cá tra thu được có trọng lượng dao động từ 200,0-950,0g; trung bình khoảng 584,8g. Chiều dài trung bình khoảng 32,3 cm; chiều dài nhỏ nhất được ghi nhận là 22,0 cm và lớn nhất là 39,0 cm.

3.1.2. Dấu hiệu bệnh lý của cá tra bị bệnh xuất huyết thối thịt

Theo thông tin ghi nhận được từ người nuôi thì bệnh xuất huyết dạng này trên cá tra có tần suất xuất hiện cao nhất trong khu vực nuôi so với các bệnh khác ở thời điểm một năm trở lại đây. Mức độ thiệt hại của bệnh xuất huyết này khá lớn ở suốt giai đoạn cá thương phẩm. Bệnh xảy ra tập trung ở các giai đoạn cá thương phẩm và có xu hướng gia tăng tỷ lệ nhiễm vào tháng 4 đến tháng 8. Cá bệnh thường chết khoảng 1-2%/ngày ở giai đoạn mới khởi phát. Khi bệnh nhiễm nặng, thời điểm 3-4 ngày sau khi khởi phát, đàn cá bệnh chết từ 10-20%/ngày nếu không được điều trị kịp thời.

Dấu hiệu bệnh lý bên ngoài

Kết quả ghi nhận của nghiên cứu cho thấy, những cá thể cá bệnh trong ao thường bơi lội

chậm chạp, lơ dờ, bơi nổi nghiêng, nổi đứng trên mặt nước, tấp vào mé ao và thường ăn ít hoặc bỏ ăn. Cơ thể cá nhạt màu, tình trạng xuất huyết trên da xuất hiện ở 37,1% mẫu cá bệnh. Trong đó, da thường có các vùng xuất huyết dạng chấm ở dưới bụng hoặc xuất huyết thành từng mảng lớn ở hai bên thân. Các vây ngực, vây hậu môn thường bị xuất huyết dạng chấm ở gốc vây, vây bị rách hoặc trua. Ngoài ra, lỗ hậu môn cũng có thể bị xuất huyết và lòi ra.

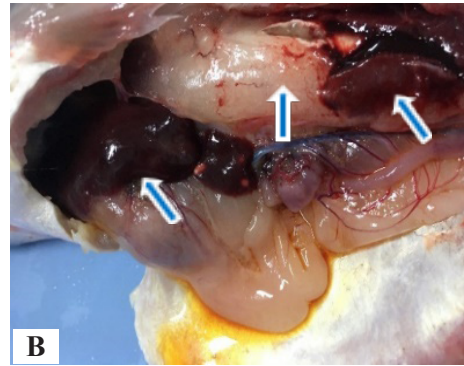
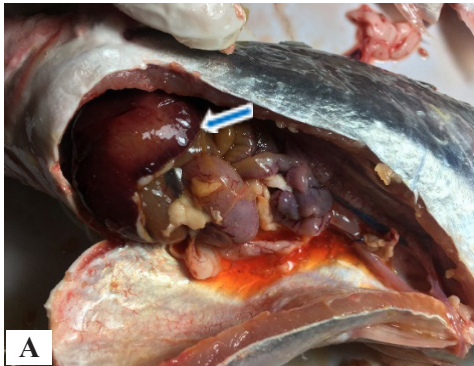
Cá bị mất nhớt (9,3%), bong tróc lớp biểu bì da từng mảng nhỏ, mảng lớn hoặc có một số đốm loét nhỏ, các vùng này sẽ tiến triển thành các vết lở loét lớn hơn (chiếm 47,4% các mẫu cá bệnh). Dấu hiệu bệnh lý điển hình nhất của dạng bệnh xuất huyết này là phần cơ thịt ngay vị trí bong tróc lớp biểu bì thường sưng tấy, mềm nhũn, hoại tử, thối rữa, sau đó da bị bong ra cùng với phần cơ thịt, tạo thành vết loét ở các vị trí khác nhau như: bên dưới miệng cá (hàm dưới), trên lưng, hai bên thân hoặc vùng đuôi. Biểu hiện bệnh lý này đã được ghi nhận ở 68,0% mẫu cá bệnh. Nhiều mẫu cá bệnh nặng có thể nhìn thấy xương cá lộ ra ngoài. Cá bệnh nặng có thể kèm theo các dấu hiệu của vàng da, chiếm 4,1% số mẫu cá bệnh.



Hình 1. Dấu hiệu bên ngoài cá tra bệnh xuất huyết thối thịt với những vùng đỏ (A), vùng trắng (B, C)

Dấu hiệu bệnh lý bên trong

Quan sát bên trong xoang bụng của cá tra bệnh xuất huyết thối thịt, có thể thấy các cơ quan nội tạng như gan, thận, tỳ tạng xuất huyết, mềm nhũn; chiếm 46,4% mẫu cá tra bệnh. Một số mẫu cá bị xuất huyết nặng thường đi kèm với tình trạng xoang bụng có chứa chất dịch máu đỏ

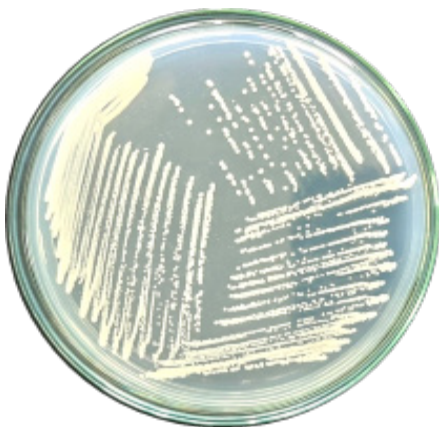


Hình 2. Cá bệnh có gan xuất huyết, dịch xoang bụng (A), gan đỏ bầm, thận nhũn và bóng hơi (mũi tên) xuất huyết nặng (B)

Dựa vào các đặc điểm chính về dấu hiệu bệnh lý bên trong và bên ngoài của các mẫu cá tra bệnh, nghiên cứu tạm gọi dạng bệnh xuất huyết này là “bệnh xuất huyết thối thịt” để trình bày kết quả trong các phần sau.

3.2. Kết quả phân lập và định danh vi khuẩn

3.2.1. Kết quả phân lập vi khuẩn



Hình 3. Khuẩn lạc của vi khuẩn phân lập từ cá bệnh xuất huyết thối thịt trên thạch TSA

hoặc vàng; chiếm 19,6% mẫu cá bệnh. Ở những mẫu cá bệnh nặng có thể xuất hiện tình trạng xuất huyết bóng hơi (15,5%) và sung cuống mật (6,2%). Cá bệnh thường bị sung cuống mật do nhiễm giun tròn, dịch mật nhiễm các giống thích bào từ trùng *Ceratomyxa*, *Ellipsomyxa* và *Myxobolus*.

Sau 24 giờ ở 28°C, vi khuẩn tạo thành những khuẩn lạc tương đồng nhau, với hình dạng tròn, nhỏ, lồi, rìa trơn láng, không nhân, màu kem, đường kính 0,5-1,0 mm. Các khuẩn lạc điển hình nằm trên đường cấy sẽ được chọn để cấy tách rỗng nhằm thu được những khuẩn lạc thuần (xác định bằng phương pháp nhuộm gram).

Quá trình phân lập vi khuẩn từ 97 mẫu cá bệnh đã thu được 82 chủng vi khuẩn. Theo đó, các chủng vi khuẩn phân lập từ mẫu bệnh phẩm cơ cá bị hoại tử chiếm 22,0%. Bên cạnh đó, có đến 30,5% và 32,9% số chủng vi khuẩn được phân lập lần lượt từ gan và thận cá bệnh. Số chủng vi khuẩn phân lập được từ tỳ tạng cá bệnh chiếm 14,6%. Không phân lập được vi khuẩn trên các mẫu cá khỏe.

3.2.2. Kết quả định danh vi khuẩn

Kết quả kiểm tra đặc điểm sinh hoá cơ bản cho thấy đây là những chủng vi khuẩn gram âm, hình que ngắn, dương tính với catalase, oxidase và có khả năng lên men trong cả điều kiện hiếu khí và yếm khí, kháng với O/129. Vi khuẩn

di động mạnh ở 37°C. Ngoài ra, các chủng vi khuẩn này còn phát triển thành những khuẩn lạc có màu vàng trên môi trường GSP. Kết quả ban đầu đã xác định vi khuẩn này thuộc giống vi khuẩn *Aeromonas* di động.

Để định danh đến loài, nghiên cứu chọn ngẫu nhiên 5 chủng vi khuẩn tiếp tục thử với 20 chỉ tiêu sinh hoá của bộ kit API 20E. Kết quả các chủng vi khuẩn đều sinh indol, chỉ sử dụng đường mannitol, glucose và sucrose, không sử dụng các loại đường khác, đặc biệt là không tạo acid từ arabinose. Đồng thời, cho phản ứng dương tính với arginine, Voges-Proskauer, ornithine và lysine; phản ứng âm tính với H₂S. Từ kết quả các đặc tính sinh hóa thể hiện qua bộ kit API 20E, có thể xác định các chủng vi khuẩn phân lập được từ cá tra bị bệnh xuất huyết thối thịt có các đặc điểm sinh hóa tương đồng với loài vi khuẩn *Aeromonas dhakensis* mới được công nhận trong những năm gần đây. Theo đó, các đặc điểm sinh hóa của các chủng phân lập được có nhiều đặc tính tương đồng với chủng *A. dhakensis* EU085557, chủng *A. dhakensis* CCUG50511 tham khảo từ bacdive.dsmz.de; các chủng *A. dhakensis* tham khảo từ Esteve *et al.* (2012) và các chủng *A. dhakensis* theo mô tả của Chen *et al.* (2016).

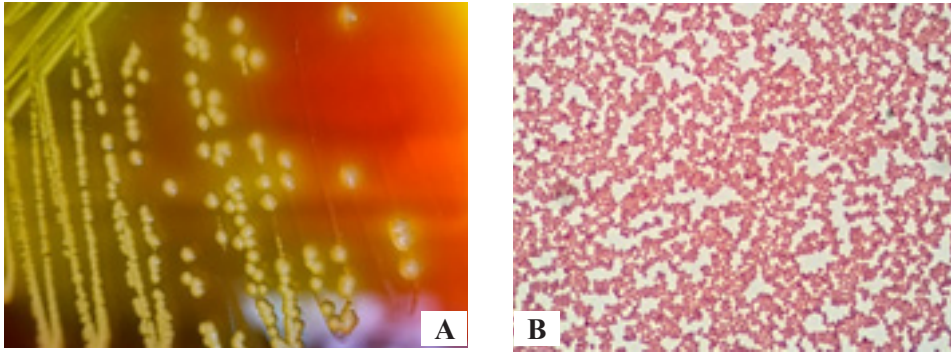
Các kết quả phân tích đặc điểm sinh hóa của các chủng vi khuẩn khá trùng khớp với những nhận định của Chen *et al.* (2016) và Huys *et al.* (2002, 2003). Theo đó, đặc điểm kiểu hình của *A. dhakensis* khác với hai phân loài *A. hydrophila* khác (*A. hydrophila* subsp. *hydrophila* hoặc *A. hydrophila* subsp. *ranae*) ở ít nhất ba đặc tính sinh hóa, cụ thể là sử dụng acid urocanic, L-arabinose và sản xuất acid từ L-arabinose.

Là một thành viên mới nổi của *Aeromonas* spp., *A. dhakensis* thường bị xác định nhầm là *A. hydrophila*, *A. veronii* hoặc *A. caviae* bằng các xét nghiệm sinh hóa thương mại (Nithin *et al.*, 2023). Do sự phức tạp trong phân loại và thiếu thông tin trong cơ sở dữ liệu về các loài mới, đã gây khó khăn cho việc xác định

các loài *Aeromonas* (Chen *et al.*, 2016). Loài *A. dhakensis* phân biệt với *A. hydrophila* ở đặc tính không tạo acid từ arabinose. Trong khi đó, chúng phân biệt với *A. caviae* ở đặc tính dương tính với LDC, ADH và VP (Esteve *et al.*, 2012).

Các loài *Aeromonas* nói chung và gần đây nhất là *A. dhakensis* thường được ghi nhận là tác nhân chính gây ra tình trạng nhiễm trùng da và mô mềm (Skin and soft tissue infections - SSTI). Tình trạng nhiễm khuẩn này thường bao gồm các triệu chứng của viêm mô tế bào, áp xe, viêm mô hoại tử và hoại tử cơ (Chen *et al.*, 2016). SSTI nghiêm trọng đã được báo cáo là chủ yếu liên quan đến *A. hydrophila*. Tuy nhiên, tỷ lệ mắc SSTI do *A. dhakensis* gây ra có thể đã được đánh giá thấp, vì loài này có thể được báo cáo là *A. hydrophila* dựa trên các xét nghiệm đặc điểm sinh hóa (Aravena-Roman *et al.*, 2011; Chao *et al.*, 2013). Tương tự như những chỉ tiêu sinh hóa mà nghiên cứu đã phân tích được, kết quả phân lập và kiểm tra các đặc điểm sinh hóa của Carrero *et al.* (2016) cũng cho thấy, các chủng vi khuẩn này có đặc điểm sinh hóa tương đồng với vi khuẩn *A. hydrophila*. Tuy nhiên khi phân tích sâu hơn về kiểu gen thì có sự khác biệt và có sự tương đồng hơn 99% với loài vi khuẩn *A. dhakensis*.

Gần đây, nghiên cứu của Nithin *et al.* (2023) đã báo cáo về nhiều trường hợp cá *Dawkinsia assimilis* bị chết nghiêm trọng ở Ấn Độ do *A. dhakensis*. Các dấu hiệu bệnh lý cũng tương tự như các trường hợp cá tra bệnh. Các thí nghiệm của Chen *et al.* (2023) cũng cho thấy các cá thể cá *D. rerio* nhiễm *A. dhakensis* cũng có các dấu hiệu bệnh lý tương đồng với ghi nhận trên cá tra như dịch xoang bụng; hoại tử, loét, chảy máu vây, đuôi; gan, tỳ tạng và thận xuất huyết, mềm nhũn. Vi khuẩn *A. dhakensis* có thể tồn tại trong điều kiện môi trường khắc nghiệt, kháng nhiều loại kháng sinh và tạo ra các sản phẩm gây độc tế bào (Awan *et al.*, 2018; Nithin *et al.*, 2023). Nghiên cứu cho thấy *A. dhakensis* chiếm ưu thế hơn và có độc lực cao hơn so với các loài *Aeromonas* khác (Chen *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2023).



Hình 4. Khuẩn lạc trên môi trường GSP (A) và hình nhuộm gram (B-100x) của vi khuẩn *A. dhakensis* phân lập từ cá bệnh xuất huyết thối thịt

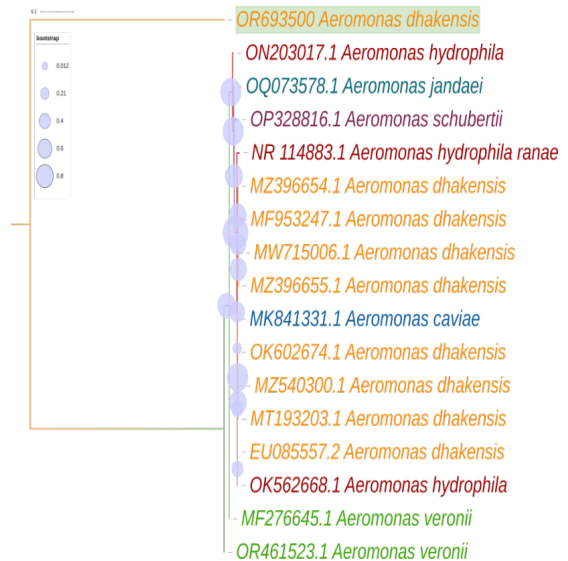
3.3. Kết quả giải trình tự gen

Nghiên cứu chọn ra 1 chủng vi khuẩn từ 5 chủng được kiểm tra API 20E để giải trình tự gen nhằm xác định chính xác tên loài vi khuẩn. Kết quả giải trình tự của chủng vi khuẩn phân lập từ cá tra bệnh xuất huyết thối thịt cho thấy, sản phẩm sau khi giải trình tự có tổng cộng 1.437 nucleotide. Trình tự này được so sánh với các trình tự gen trên GenBank bằng chương trình BLASTN. Kết quả so sánh các trình tự gen cho thấy mẫu vi khuẩn phân lập từ cá tra bị bệnh xuất huyết thối thịt tương đồng với trình tự gen của loài *Aeromonas dhakensis* được đăng trên GenBank (mã số: MT193203.1) với mức độ tương đồng là 99,72%. Trình tự này được đăng trên GenBank do tác giả Vijayalakshmi và Saritha phân lập được từ Ấn Độ năm 2019. Từ kết quả so sánh trình tự gen trên GenBank kết hợp với những kết quả của bộ kit API 20E, có thể kết luận rằng các chủng vi khuẩn phân lập được từ cá tra bị bệnh xuất huyết thối thịt là loài *Aeromonas dhakensis*.

Trình tự gen của chủng vi khuẩn *A. dhakensis* thu từ cá tra bị bệnh xuất huyết thối thịt đã được nghiên cứu đăng ký trên GenBank của NCBI với mã số truy cập là OR693500. Từ phiên bản trình tự này, cây phát sinh loài được xây dựng, sử dụng các chuỗi tham chiếu lấy từ cơ sở dữ liệu GenBank.

Cây phát sinh loài xây dựng từ các trình tự gen đã chứng minh trình tự của chủng vi khuẩn *A. dhakensis* thu từ cá tra bị bệnh xuất huyết thối cơ

thịt (mã số: OR693500) tách biệt rõ ràng với các trình tự vi khuẩn cùng loài đã được báo cáo trước đó và hình thành nhánh đơn riêng.



Hình 5. Cây phát sinh loài của chủng vi khuẩn *A. dhakensis* nhiễm trên cá tra bị bệnh xuất huyết thối thịt (mã số: OR693500)

Đáng chú ý, cây phát sinh loài cho thấy chủng vi khuẩn mà nghiên cứu phân lập được có khoảng cách tiến hóa gần nhất với các chủng *Aeromonas veronii* thu từ gan của cá *Poecilia reticulata* ở Israel năm 2017 (mã số: MF276645.1). Bên cạnh đó, chủng vi khuẩn của nghiên cứu cũng có khoảng cách tiến hóa gần nhất với chủng vi khuẩn *A. veronii* thu từ cá lóc *Channa striata* bị bệnh xuất huyết ruột đỏ tại Việt Nam năm 2023 (mã số: OR461523). Điều

đặc biệt là các mẫu gen của các chủng vi khuẩn *A. dhakensis* khác được thu tại Ai Cập, Trung Quốc, Ấn Độ, Tây Ban Nha, Việt Nam đều có khoảng cách tiến hóa khá xa so với mẫu gen của chủng vi khuẩn *A. dhakensis* thu tại đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam.

Phân loài *A. hydrophila* subsp. *dhakensis*, được phân lập từ trẻ em bị tiêu chảy ở Dhaka, Bangladesh trong khoảng thời gian từ 1993 đến 1994, được báo cáo lần đầu tiên bởi Huys *et al.* (2002). Kể từ đó, toàn bộ quá trình phân tích trình tự bộ gen đã xác nhận rằng *A. dhakensis* đã đạt đến cấp độ loài và cho thấy nhiều chủng đã bị xác định nhầm là *A. hydrophila* (Colston *et al.*, 2014; Beaz- Hidalgo *et al.*, 2015). Do tính chất dễ bị nhầm lẫn với các loài *Aeromonas* khác khi kiểm tra các đặc điểm sinh hóa nên phương pháp giải trình tự gen được xem là cách thức định danh loài vi khuẩn *A. dhakensis* chính xác nhất.

Tương tự, quy trình phân tích định danh vi khuẩn trong nghiên cứu này, bên cạnh nghiên cứu của Azzam-Sayuti *et al.* (2021) đã mô tả một bộ sưu tập lớn các loài *Aeromonas* spp. ở Malaysia, dựa trên phân tích phát sinh loài của các chủng vi khuẩn *A. dhakensis* bằng cách giải trình tự gen cùng với phân tích dựa trên một loạt các xét nghiệm sinh hóa. Kết quả là năm loài *Aeromonas* đã được xác định, trong đó *Aeromonas dhakensis* xuất hiện thường xuyên nhất với tỷ lệ 43%, tiếp theo là *A. veronii* (22%), *A. hydrophila* (20%), *A. caviae* (8%) và *A. jandaei* (7%).

Các báo cáo của Cường và ctv (2022) về các loài vi khuẩn phân lập được trên các rô đồng *Anabas testudineus* đã cho thấy sự hiện diện của loài *A. dhakensis* trong các mẫu cá bệnh thông qua phương pháp phân tích trình tự gen. Gần đây, Nithin *et al.* (2023) báo cáo về các trường hợp cá *Dawkinsia assimilis* bị chết nghiêm trọng ở Ấn Độ do nhiễm vi khuẩn. Các kết quả dựa trên các xét nghiệm sinh hóa, ban đầu được cho là loài vi khuẩn *A. hydrophila*. Sau đó, xét nghiệm PCR để xác nhận phân tử bằng trình tự gen *gyrB* đã đưa đến kết luận rằng, loài vi khuẩn phân lập được từ mẫu cá bệnh là loài *A. dhakensis* với độ tương đồng lên đến 99,63%.

Một nghiên cứu của Bartie *et al.* (2023) đã phân tích các mẫu vi khuẩn được thu thập trong giai đoạn 2013-2019 từ cá tra ở khu vực đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam. Các chủng *A. dhakensis* phổ biến nhất trong các mẫu được thu thập từ cá tra có kết quả xét nghiệm dương tính bằng phương pháp PCR. Đây là nghiên cứu đầu tiên báo cáo *A. dhakensis* là mầm bệnh chính ảnh hưởng đến ngành nuôi cá tra ở đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam. Việc phát hiện *A. dhakensis* là điều bất ngờ, vì trước đó *A. hydrophila* thường được coi là mầm bệnh quan trọng nhất gây ra bệnh xuất huyết trên cá tra nuôi ở Việt Nam.

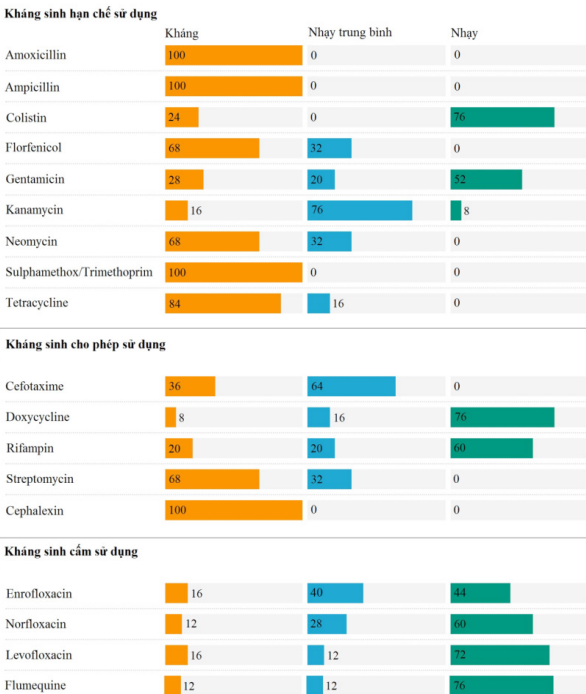
3.4. Kết quả kháng sinh đồ của các chủng vi khuẩn *A. dhakensis*

Từ 82 chủng vi khuẩn *A. dhakensis* phân lập trên cá tra bị bệnh xuất huyết thối cơ thịt, nghiên cứu chọn ngẫu nhiên 25 chủng vi khuẩn từ các chủng vi khuẩn đã kiểm tra các đặc điểm sinh hóa để thực hiện kháng sinh đồ. Kết quả phân trăm chủng vi khuẩn *A. dhakensis* nhạy, nhạy trung bình và kháng được trình bày ở hình 6.

Kết quả kháng sinh đồ cho thấy các chủng vi khuẩn vẫn còn nhạy cao với doxycycline, colistin, flumequine (76%). Bên cạnh đó, các chủng vi khuẩn này cũng còn nhạy với levofloxacin (72%), rifampin và norfloxacin (60%). Mặc khác, chúng nhạy trung bình với kanamycin đến 76% và với cefotaxime ở mức 64%. Đa số các chủng đã kháng với ampicillin, amoxicillin, cephalixin, trimethoprim + sulfamethoxazol (100%), tetracycline (84%) và florfenicol, streptomycin (68%). Do các loại thuốc kháng sinh như flumequine, levofloxacin, norfloxacin thuộc nhóm kháng sinh bị cấm sử dụng nên chỉ có thể sử dụng doxycycline, colistin, rifampin và cefotaxime để điều trị bệnh do vi khuẩn *A. dhakensis* gây ra trên cá tra.

Kết quả kháng sinh đồ của các chủng vi khuẩn *A. dhakensis* hoàn toàn phù hợp với đặc tính sinh học của các loài vi khuẩn *Aeromonas*, chúng được xem là kháng thuốc tự nhiên đối với nhóm β -lactam. Vi khuẩn *Aeromonas* sinh ra

enzym β -lactamases làm vỡ vòng β -lactam, làm cho thuốc bị mất tác dụng (Miller và Harbottle, 2017). Hai loại kháng sinh amoxicillin và ampicillin đều thuộc nhóm Penicillin, phân nhóm Aminopenicillin. Phân nhóm này không bền với β -lactamase. Cephalexin thuộc phân nhóm Cephalosporin thế hệ 1, là một nhánh khác của nhóm kháng sinh β -lactam (Hằng, 2023b). Do đó, các chủng *A. dhakensis* thể hiện tính kháng 100% với ba loại kháng sinh này là hoàn toàn hợp lý.



Hình 6. Kết quả kháng sinh đồ của các chủng vi khuẩn *A. dhakensis* thu từ cá tra bị bệnh xuất huyết thối cơ thịt

Ghi chú: các loại kháng sinh cấm và cho phép sử dụng được tham khảo theo Thông tư số 10/2016/TT-BNNPTNT ngày 01/06/2016 của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn

Những báo cáo gần đây về tính nhạy của các chủng vi khuẩn *A. dhakensis* gây bệnh trên các loài cá khác nhau cho thấy tính đa dạng trong đặc tính kháng thuốc kháng sinh của loài vi khuẩn này. Nghiên cứu của Esteve *et al.* (2012) ghi nhận mức độ kháng cao nhất của *A. dhakensis* đối với ticarcillin,

piperacillin, amoxicillin/clavuronic, cefoxitin, imipenem, flumequine, acid nalidix, acid oxolinic, erythromycin và ticarcillin. Tuy nhiên, các chủng vi khuẩn này cũng nhạy với các cephalosporin thế hệ mới nhất và các fluoroquinolone. Tương tự, báo cáo của Azzam-Sayuti *et al.* (2021) cũng đã cho rằng các loài *Aeromonas* spp. ở Malaysia, trong đó *A. dhakensis* có khả năng kháng cao với ampicillin và amoxicillin. Các chủng vi khuẩn *A. dhakensis* cũng nhạy với levofloxacin (100%), amikacin (95%), cefotaxime (93%), gentamicin (98%), chloramphenicol (98%) và tetracycline (85%). Trong khi đó, nghiên cứu của Nithin *et al.* (2023) ghi nhận được các chủng *A. dhakensis* phân lập từ loài cá *Dawkinsia assimilis* ở Ấn Độ là một loại siêu độc lực, kháng với hầu hết các kháng sinh nhóm β -lactam, nhóm tetracycline và colistin.

Nghiên cứu của Cường và ctv (2022) cũng có những nhận định tương tự kết quả mà nghiên cứu thu được. Các chủng vi khuẩn *A. dhakensis* nhiễm trên cá rô đồng tại Việt Nam được nghiên cứu phân lập đã kháng hoàn toàn với kháng sinh ampicillin, amoxicillin, ciprofloxacin, tetracyclin, doxycyclin, clindamycin. Tuy nhiên, khác với kết quả của nghiên cứu, các chủng vi khuẩn *A. dhakensis* nhiễm trên cá rô đồng lại nhạy cao với kháng sinh cephalexin, chloramphenicol và ofloxacin.

Các báo cáo của Bartie *et al.* (2023) trong một nghiên cứu phân tích các mẫu vi khuẩn được thu thập trong giai đoạn 2013-2019 từ cá tra ở khu vực đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam cho thấy bộ gen của các chủng *A. dhakensis* sở hữu các gen liên quan đến đặc điểm kháng nhiều loại thuốc như kháng sulphonamide, trimethoprim, tetracycline và gen kháng quinolone qua trung gian plasmid. Điều này nhấn mạnh sự cần thiết phải giảm sử dụng kháng sinh để hạn chế sự phát sinh của các gen kháng thuốc kháng sinh khác.

IV. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thu được tổng cộng 127 mẫu cá (97 cá bệnh và 30 cá khỏe). Mẫu cá tra thu được có trọng lượng trung bình 584,8g. Chiều dài trung bình 32,3cm. Các mẫu cá tra bệnh có dấu

hiệu bệnh lý điển hình nhất là phần cơ thịt ngay vị trí bong tróc lớp biểu bì da thường sưng tấy, mềm nhũn, hoại tử, thối rữa, sau đó da bị bong ra cùng với phần cơ thịt, tạo thành vết loét ở các vị trí khác nhau. Gan, thận, tỳ tạng xuất huyết, mềm nhũn, xoang bụng có chứa chất dịch.

Kết quả phân lập vi khuẩn từ 97 mẫu cá bệnh đã thu được 82 chủng vi khuẩn. Các chủng vi khuẩn phân lập từ mẫu bệnh phẩm cơ cá bị hoại tử chiếm 22,0%. Bên cạnh đó, có đến 30,5% và 32,9% số chủng vi khuẩn được phân lập lần lượt từ gan và thận cá bệnh. Kết quả so sánh trình tự gen kết hợp với kết quả của bộ kit API 20E cho thấy, các chủng vi khuẩn phân lập được từ cá tra bị bệnh xuất huyết thối cơ thịt là loài *Aeromonas dhakensis*.

Kết quả kháng sinh đồ cho thấy các chủng vi khuẩn vẫn còn nhạy cao với doxycycline, colistin, flumequine (76%), levofloxacin (72%), rifampin và norfloxacin (60%).

Lời cảm tạ: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn công ty Khang Anh đã hỗ trợ thu thập số liệu và lấy mẫu bệnh phẩm phục vụ nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Aisiah, S., Prajitno, A., Maftuch, M., & Yuniarti, A., 2020. Effect of *Nauclea subdita* (Korth.) Steud. leaf extract on hematological and histopathological changes in liver and kidney of Striped catfish infected by *Aeromonas hydrophila*. *Veterinary World*, 13(1): 47-53. doi.org/10.14202/vetworld.2020.47-53.
- Aravena-Roman, M., Harnett, G. B., Riley, T. V., Inglis, T. J., & Chang, B. J., 2011. *Aeromonas aquariorum* is widely distributed in clinical and environmental specimens and can be misidentified as *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(8), 3006-3008. https://doi.org/10.1128/jcm.00472-11
- Awan, F., Dong, Y., Liu, J., Wang, N., Mushtaq, M. H., Lu, C., & Liu, Y., 2018. Comparative genome analysis provides deep insights into *Aeromonas hydrophila* taxonomy and virulence-related factors. *BMC genomics*, 19(1), 1-18. https://doi.org/10.1186/s12864-018-5100-4.
- 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.
- Barrow, G. I., & Feltham, R. K. A., 1993. *Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria*, third edition. Cambridge University press. Cambridge. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736719
- Bartie, K. L., Ngô, T. P., Bekaert, M., Hoang Oanh, D. T., Hoare, R., Adams, A., & Desbois, A. P., 2023. *Aeromonas hydrophila* ST251 and *Aeromonas dhakensis* are major emerging pathogens of striped catfish in Vietnam. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1067235. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1067235.
- Breed, R. S., Murray, E. G. D., & Smith, N. R., 1957. *Bergey's manual of determinative bacteriology. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, (7th Edition).
- Buller, N. B., 2004. *Bacteria from fish and other aquatic animal: A practical identification manual*. CABI publishing.
- Carriero, M. M., Mendes Maia, A. A., Moro Sousa, R. L., & Henrique Silva, F., 2016. Characterization of a new strain of *Aeromonas dhakensis* isolated from diseased pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*) in Brazil. *Journal of fish diseases*, 39(11), 1285-1295. https://doi.org/10.1111/jfd.12457.
- Chao, C. M., Lai, C. C., Tang, H. J., Ko, W. C., & Hsueh, P. R., 2013. Skin and soft-tissue infections caused by *Aeromonas* species. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 32, 543-547. https://doi.org/10.1007/s10096-012-1771-y.
- Chen, L., Wang, Y., Fan, L., Yang, N., Zeng, J., Guo, G., & Zheng, J., 2023. Response regulator KdpE contributes to *Aeromonas dhakensis* virulence. *Aquaculture*, 568, 739298. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739298.
- Chen, P. L., Lamy, B., & Ko, W. C., 2016. *Aeromonas dhakensis*, an increasingly recognized human pathogen. *Frontiers in microbiology*, 7, 793-800. https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00793
- Chen, P. L., Wu, C. J., Chen, C. S., Tsai, P. J., Tang, H. J., & Ko, W. C., 2014. A comparative study of clinical *Aeromonas dhakensis* and *Aeromonas hydrophila* isolates in southern Taiwan: *A. dhakensis* is more predominant and virulent. *Clinical Microbiology and Infection*,

- 20(7), O428-O434. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12456>
14. Colston, S. M., Fullmer, M. S., Beka, L., Lamy, B., Gogarten, J. P., & Graf, J., 2014. Bioinformatic genome comparisons for taxonomic and phylogenetic assignments using *Aeromonas* as a test case. *MBio*, 5(6), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/mbio.02136-14>.
 15. Crumlish, M., Thanh, P. C., Koesling, J., Tung, V. T., & Gravningen, K., 2010. Experimental challenge studies in Vietnamese catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage), exposed to *Edwardsiella ictaluri* and *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Fish Diseases*, 33, 717-722. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2010.01173.x>
 16. Cường, T. K., Doan, H. T. T., Dũng, P. T., Luân, N. T., & Hà, P. T. H., 2022. Hiện trạng kháng thuốc kháng sinh của một số chủng vi khuẩn gây bệnh phân lập từ cá rô đồng (*Anabas testudineus*) ở các trang trại trên địa bàn Thành Phố Hồ Chí Minh. *Tạp chí khoa học đại học mở thành phố hồ chí minh-kỹ thuật và công nghệ*, 17(2), 30-45. <https://doi.org/10.46223/HCMCOUJS.tech.vi.17.2.2249.2022>
 17. Dung, T. T., Khôi, L. M., Trung, N. B., & Hằng, B. T. B., 2022. Giải pháp phòng chống dịch bệnh truyền nhiễm trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 58(SDMD), 65-78. <https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2022.193>
 18. Dung, T.T., N. Ngoc, N. Thinh, D. Thy, N. Tuan, A. Shinn and M. Crumlish, 2008. Common diseases of pangasius catfish farmed in Viet Nam. *GAA*. 11: 77-78.
 19. Esteve, C., Alcaide, E., & Blasco, M. D., 2012. *Aeromonas hydrophila* subsp. *dhakensis* isolated from feces, water and fish in Mediterranean Spain. *Microbes and environments*, 27(4), 367-373. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME12009>
 20. Huys, G., Kämpfer, P., Albert, M. J., Kühn, I., Denys, R., & Swings, J., 2002. *Aeromonas hydrophila* subsp. *dhakensis* subsp. nov., isolated from children with diarrhoea in Bangladesh, and extended description of *Aeromonas hydrophila* subsp. *hydrophila* (Chester 1901) Stanier 1943 (approved lists 1980). *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 52(3), 705-712. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-3-705>
 21. Huys, G., Pearson, M., Kampf, P., Denys, R., Cnockaert, M., Inglis, V., & Swings, J., 2003. *Aeromonas hydrophila* subsp. *ranae* subsp. nov., isolated from septicaemic farmed frogs in Thailand. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(3), 885-891. <https://doi.org/10.1099/ij.s.0.02357-0>
 22. Miller, R. A., & Harbottle, H., 2017. Antimicrobial drug resistance in fish pathogens. *Microbiol Spectrum*, 6(1), 17-37. <https://doi.org/10.1128/9781555819804.ch24>
 23. Huyền, N. T. N., & Oanh, Đ. T. H., 2020. Đặc điểm bệnh học của vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây bệnh gan thận mù trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) và cá diêu hồng (*Oreochromis* sp.). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 56(Số chuyên đề: Thủy sản)(1), 52-63. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2020.007>
 24. Hằng, N. T. T., 2023a. *Bệnh cá, những vấn đề về nấm, ký sinh trùng, vi khuẩn và vi rút*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
 25. Hằng, N. T. T., 2023b. *Thuốc kháng sinh - Những vấn đề cần biết khi sử dụng trong nuôi trồng thủy sản*. Nhà xuất bản Nông nghiệp.
 26. Nithin, M. S., Kushala, K. B., Girisha, S. K., Dheeraj, S. B., Harshitha, H., Sowndarya, N. S., & Vinay, T. N., 2023. First evidence of extensively drug-resistant virulent *Aeromonas dhakensis* isolated from diseased endemic Mascara barb (*Dawkinsia assimilis*) in India. *Aquaculture*, 569, 739337. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739337>
 27. Thúy, N., 2022. Dịch bệnh thủy sản tiếp tục được kiểm soát. <https://tongcucthuysan.gov.vn/vivn/nuoi-trong-thuy-san/-phong-chong-dichbenh/doc-tin/017384/2022-05-20/dich-benhthuy-san-tiep-tuc-duoc-kiem-soat>.
 28. Yang, Q., Tu, Y. Y., Zhang, N., Miao, B., Zhang, Y. Z., Deng, X. T., & Zhu, S., 2023. Co-infections of *Aeromonas dhakensis* and *Chryseobacterium indologenes* in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, 740259. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023740259>

Ngày nhận: 11-7-2024

Ngày phản biện: 18-8-2024

Ngày đăng: 1-11-2024