

ĐẶC ĐIỂM PHÁT TRIỂN VÀ ĐỘC LỰC CỦA *Vibrio parahaemolyticus* CED25.047 PHÂN LẬP TỪ TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Penaeus vannamei*) GIAI ĐOẠN HẬU ẤU TRÙNG MẮC BỆNH MỜ ĐỤC

Lê Thị Mây¹, Nguyễn Thị Hạnh¹, Nguyễn Minh Quân¹,
Nguyễn Thị Nguyễn¹, Trương Thị Mỹ Hạnh¹, Đặng Thị Lụa², Phan Trọng Bình^{1*}

¹*Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I*

²*Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I*

*Tác giả liên hệ: trongbinh@ria1.org

Ngày nhận bài: 15.09.2025

Ngày chấp nhận đăng: 02.07.2026

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định đặc điểm gây bệnh của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh Translucent Postlarvae Disease (TPD) trên tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) giai đoạn tôm hậu ấu trùng, đồng thời đánh giá ảnh hưởng của độ mặn đến sự sinh trưởng của vi khuẩn. Mẫu tôm được phân tích để xác định tác nhân gây bệnh bằng cả phương pháp định danh truyền thống và kỹ thuật PCR. Tổng cộng 6 chủng *V. parahaemolyticus* đã được phân lập, có 2 chủng mang đồng thời 3 gen độc lực và 4 chủng mang đơn gen. Chủng *V. parahaemolyticus* mang 3 gen độc lực bệnh TPD được mã hóa CED25.047 đã được thử nghiệm ở 7 giá trị độ mặn khác nhau (5, 10, 15, 20, 25, 30 và 35‰). Kết quả cho thấy CED25.047 phát triển mạnh ở độ mặn từ 15-35‰, tối ưu ở 15-30‰ và bị ức chế ở độ mặn 5‰ và 10‰. Liều gây chết trung bình (LD₅₀) gây chết ở thời điểm 18h và 40h với nồng độ vi khuẩn lần lượt là $1,1 \times 10^6$ CFU/ml và $5,0 \times 10^3$ CFU/ml. Quan sát biến đổi mô học đặc trưng ghi nhận các tổn thương điển hình ở gan tụy bao gồm hoại tử và thoái hóa tế bào ống gan tụy, bong tróc ống biểu mô, nhân co lại/biến dạng.

Từ khóa: Tôm thẻ chân trắng, *Penaeus vannamei*, hội chứng mờ đục, độ mặn, độc lực.

Developmental Characteristics and Pathogenicity of *Vibrio Parahaemolyticus* Strain Ced25.047 isolated from Post-Larvae of White-Leg Shrimp (*Penaeus vannamei*) Affected by Translucent Post-Larvae Disease

ABSTRACT

The study was conducted to determine the pathogenic characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* causing Translucent Postlarvae Disease (TPD) in whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) at the postlarval stage, and to evaluate the effect of salinity on bacterial growth. Shrimp samples were analyzed to identify the causative agent using both conventional methods and PCR technique. A total of six *V. parahaemolyticus* strains were isolated, of which two strains carried three virulence genes simultaneously and four strains carried a single gene. The *V. parahaemolyticus* strain carrying three TPD virulence genes, designated CED25.047, was tested at seven salinity levels (5, 10, 15, 20, 25, 30, and 35‰). Results showed that CED25.047 grew strongly at salinities ranging from 15 to 35‰, with optimal growth at 15-30‰, and was inhibited at 5‰ and 10‰. The median lethal dose (LD₅₀) caused mortality at 18h and 40h with bacterial concentrations of 1.1×10^6 CFU/ml and 5.0×10^3 CFU/ml, respectively. Histopathological observations revealed typical lesions in the hepatopancreas, including necrosis and degeneration of hepatopancreatic tubule cells, epithelial cell sloughing, and nuclear shrinkage/deformation.

Keywords: Whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei*, Translucent Post-larvae Disease, salinity, toxicity.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghề nuôi tôm nước lợ phát triển ở nhiều

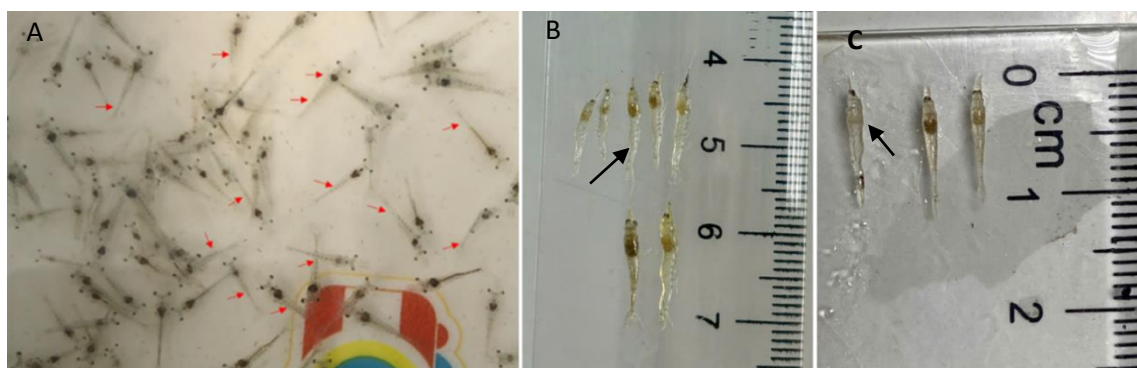
quốc gia trên thế giới, trong đó có các vùng nuôi trọng điểm như Đông Nam Á, Trung Quốc, Ấn Độ, châu Mỹ và Trung Đông. Sản lượng tôm

nuôi toàn cầu năm 2023 đạt khoảng 5,6 triệu tấn, dự kiến tăng khoảng 4,8% trong năm 2024 (FAO, 2023). Loài tôm được nuôi phổ biến nhất là tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*), tiếp theo là tôm sú (*P. monodon*). Tôm thẻ chân trắng đang được nuôi ở khoảng 40 quốc gia trên thế giới. Trong đó, các quốc gia có sản lượng nuôi lớn nhất bao gồm: Ấn Độ, Trung Quốc, Ecuador, Việt Nam và Indonesia (chiếm 74% sản lượng tôm toàn cầu năm 2023).

Tuy nhiên, trong những năm gần đây, “bệnh mới” liên tục xuất hiện gây khó khăn cho nghề nuôi tôm nói chung. Từ khoảng tháng 10 năm 2019, tôm thẻ chân trắng xuất hiện hiện tượng chết hàng loạt ở cỡ tôm post-larvae 6 (PL6)-PL12 tại nhiều trang trại giống, gây thiệt hại rất lớn cho ngành sản xuất tôm của các tỉnh ven biển ở Trung Quốc (Harkell, 2020; Jia & cs., 2024; Jia & cs., 2023; Liu & cs., 2023; Xu & cs., 2023; Yang & cs., 2022; Zou & cs., 2020). Triệu chứng điển hình bao gồm ngừng ăn, hoạt động kém, ruột không có thức ăn, gan tụy nhợt nhạt hoặc không có màu sắc. Bệnh đã lan rộng và ảnh hưởng đến nhiều cơ sở sản xuất giống tại Trung Quốc, kể cả những trại lớn có hệ thống quản lý an toàn sinh học tốt (Yang & cs., 2022). Tỷ lệ tôm chết rất cao > 90% sau 24-48h kể từ thời điểm phát hiện dấu hiệu bệnh lý. Tuy đã có nghiên cứu điều tra để xác định nguyên nhân nhưng thông tin còn rất hạn chế (Yang & cs., 2022). Zou & cs. (2020) đã phân lập từ các mẫu tôm giống có các dấu hiệu bệnh lý tương tự tại Giang Tô, Trung Quốc và xác định nguyên nhân là do chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây ra và đặt tên bệnh là

TPD (Translucent Post-Larva Disease). Các dấu hiệu bệnh lý chính bao gồm gan tụy và ruột chuyển màu trong suốt, cơ thể nhợt nhạt, trong suốt nên có tên gọi là “translucent post-larva”, các biểu hiện này gần giống như biểu hiện của bệnh hoại tử gan tụy cấp (Zou & cs., 2020). Tuy nhiên, độc lực của loài tác nhân này cao gấp 1.000 lần so với các chủng vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (Yang & cs., 2022).

Ở Việt Nam, nghề nuôi tôm nước lợ đóng góp quan trọng vào việc phát triển kinh tế ở nước ta. Năm 2024, xuất khẩu đạt 3,9 tỷ USD, tăng 14% so với năm 2023 (Vasep, 2025). Tuy nhiên, trong những năm gần đây, nghề nuôi tôm liên tục đối mặt với các vấn đề về dịch bệnh, gần đây nhất là bệnh TPD. Dấu hiệu bệnh lý của bệnh TPD bắt đầu xuất hiện ở các trại giống khu vực miền Trung vào khoảng tháng 4/2023, ở Tây Nam Bộ vào tháng 9/2023. Ngay sau đó, Cục Thủy sản ra công văn số 92/TS-NTTS cảnh báo nguy cơ dịch bệnh mờ đục trên ấu trùng tôm thẻ chân trắng tại Việt Nam và khả năng ảnh hưởng lớn đến nghề nuôi tôm nước lợ nói chung và sản xuất tôm giống nói riêng. Nhằm góp phần giảm thiểu được sự xuất hiện của tác nhân gây bệnh trong các trại sản xuất giống cũng như cơ sở ương dưỡng. Nghiên cứu thực hiện với mục đích xác định đặc điểm gây bệnh và độc lực của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* liên quan đến bệnh TPD trên tôm thẻ chân trắng giai đoạn hậu ấu trùng, đồng thời đánh giá ảnh hưởng của độ mặn đến khả năng sinh trưởng của vi khuẩn nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho công tác giám sát và phòng ngừa bệnh hiệu quả trong ương nuôi.



Ghi chú: A: Nhiều con tôm không có thức ăn, màu sắc tôm chuyển sang trong (mũi tên); B và C: Cơ thể tôm và khô gan tụy, ruột chuyển màu trắng (mũi tên).

Hình 1. Tôm thẻ chân trắng bị TPD

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thu mẫu tôm nghi ngờ bệnh

Nghiên cứu được thực hiện trong thời gian từ tháng 3 đến tháng 5 năm 2025, tại các tỉnh Quảng Ninh, Nam Định, Thanh Hóa, Sóc Trăng và Cà Mau. Hai mươi lăm mẫu tôm thẻ chân trắng (mỗi mẫu 20-30 con tôm), cỡ tôm post 7-12 đã được thu, khi tôm có các dấu hiệu bệnh lý điển hình bao gồm: cơ thể trắng đục, ruột không có thức ăn, gan tụy teo, nhợt nhạt, trong suốt, tôm bơi lơ lửng ở đáy thành bể, ao ương được thu, bảo quản lạnh, hoặc đóng túi oxy chuyển về phòng thí nghiệm để thực hiện phân tích.

2.2. Phân tích mẫu xác định tác nhân

Tôm sau khi thu mẫu được rửa qua nước muối 2%, gan tụy được tách và cho vào các ống Eppendorf vô trùng. Tiếp đó, mẫu được đồng nhất bằng chày nhựa vô trùng. Dịch đồng nhất thu được được chia làm hai phần. Một phần được sử dụng để phân tích bằng phương pháp PCR theo mô tả của Jia & cs. (2024) (Bảng 1). Cụ thể, mẫu dịch đồng nhất được tách chiết DNA bằng Exgene Tissue SV mini kit (Gene all, Hàn Quốc) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Hỗn hợp phản ứng PCR xác định các đoạn gen VHVP-1-P, VHVP-2-P và VHVP-3-P được thực hiện trong thể tích 25µl, bao gồm: 12,5µl Taq 2X Master Mix (Biolab, Mỹ), 0,5µl (0,2µm) mỗi môi tương ứng (VHVP-1-P F/R, VHVP-2-P F/R hoặc VHVP-3-P F/R), 2µl DNA mẫu (150-200ng) và 9,5µl nước. Phản ứng khuếch đại thực hiện trên máy PCR ProFlex (Thermo Fisher Scientific, Singapore) với chu trình: 95°C trong 30 giây; 30 chu kỳ gồm 95°C trong 20 giây, 62°C đối với VHVP-1-P/ 57°C đối với VHVP-2-P/ 58°C đối với VHVP-3-P trong 30 giây, 68°C trong 1 phút;

kết thúc với 68°C trong 5 phút và giữ ở 4°C. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% trong đệm 1X TBE và quan sát dưới đèn UV.

Phần còn lại được sử dụng để phân lập vi khuẩn bằng cách cấy lên môi trường TSA và TCBS (Merck, Đức). Mẫu dịch đồng nhất sau khi pha loãng thập phân từ 10⁻¹ đến 10⁻⁴ được cấy trang lên các đĩa môi trường. Các đĩa đã cấy được ủ ở 28-29°C trong 24 giờ. Sau thời gian ủ, 3-5 khuẩn lạc được chọn và cấy chuyển lại vào môi trường TSA hoặc TCBS hoặc ChromoGel™ *Vibrio* (ALPHACHEM, Việt Nam) để thu nhận dòng thuần. Vi khuẩn sau đó được tăng sinh trong môi trường TSB (Merck, Đức) ở 28°C trong 24 giờ để thu sinh khối. Khi có được kết quả dương tính với TPD bằng phương pháp PCR, khuẩn lạc sẽ được chọn lại, lưu giữ.

2.3. Đánh giá ảnh hưởng của độ mặn đến sinh trưởng của vi khuẩn

Dãy độ mặn gồm 7 nồng độ: 5, 10, 15, 20, 25, 30 và 35‰ được chuẩn bị bằng cách bổ sung NaCl (Merck, Đức) vào môi trường TSB (Merck, Đức). Dung dịch TSB có độ mặn khác nhau sau đó được phân chia vào các ống nghiệm thủy tinh, mỗi ống chứa 5ml. Chúng *V. parahaemolyticus* CED25.047 sau khi được tăng sinh trong 24 giờ được bổ sung vào các ống nghiệm với thể tích 0,1 ml/ống. Các ống nghiệm được đậy kín và lắc ở 29°C trong 24 giờ. Thí nghiệm được thiết kế với 3 lặp lại cho mỗi mức độ mặn. Mật độ sinh trưởng của vi khuẩn được đánh giá bằng cách đo độ hấp thụ quang học (OD₆₀₀) UV/Vis Spectrophotometers, U-2900 (Hitachi, Nhật Bản). Dung dịch NaCl vô trùng tương ứng với các mức độ mặn từ 5-35‰ được sử dụng làm mẫu trắng (blank).

Bảng 1. Các cặp mồi phát hiện gen độc lực tác nhân gây bệnh TPD (Jia & cs., 2024)

Gene	Mồi	Trình tự mồi 5'-3'	Kích thước
VHVP-1-P	VHVP-1-P -F	GAGGAGAGTGTGACCGAAATC	361bp
	VHVP-1-P -R	CTGCGCCAGTAGTAACGATAAG	
VHVP-2-P	VHVP-2-P -F	GCTGGTCCGGACGGTGCC	861bp
	VHVP-2-P -R	GTGATACATTAATACTTGTCTACAA	
VHVP-3-P	VHVP-3-P -F	CCCGTATCACAGAGCGATTT	306bp
	VHVP-3-P -R	CTTTGGTGTCTCGTCGTAGTT	

2.4. Xác định liều gây chết LD₅₀

Chủng *V. parahaemolyticus* CED25.047, đã được xác định mang đồng thời ba gen độc lực VHVP-1-P, VHVP-2-P và VHVP-3-P được sử dụng để xác định liều gây chết trung bình (LD₅₀) trên tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*) ở giai đoạn postlarvae. Tôm postlarvae ở giai đoạn post-10 được thu từ một trại giống và vận chuyển về phòng thí nghiệm trong điều kiện đảm bảo. Sau khi về phòng thí nghiệm, tôm được thích nghi trong bể chứa nước biển nhân tạo 20‰ (Blue Bay Sea Salt Pro, Việt Nam) trong thời gian 2-3 ngày. Các bể thí nghiệm làm bằng nhựa PE có thể tích 2l, chứa 1l nước muối nhân tạo, mật độ thả 30 tôm/bể. Thí nghiệm xác định LD₅₀ được thực hiện bằng phương pháp ngâm. Sáu nghiệm thức được thiết lập bao gồm: đối chứng (không có vi khuẩn) và các nghiệm thức có vi khuẩn ở các nồng độ khác nhau: 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶ và 10⁷ CFU/ml. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Trong quá trình thí nghiệm, tôm chết được ghi nhận và thu mẫu để phân tích nguyên nhân gây chết bằng kỹ thuật PCR như đã mô tả ở trên. Đồng thời, một số mẫu tôm được thu và cố định trong dung dịch Davidson trong 24 giờ để phân tích biến đổi mô học. Liều gây chết 50% tôm thí nghiệm (LD₅₀, lethal dose) được xác định theo công thức của (Reed & Muench, 1938) như sau:

$$LD_{50} = 10^{(a-x)}$$

Trong đó: a: Nồng độ vi khuẩn gây chết tôm thí nghiệm với tỷ lệ cận trên 50%; x = (Pa – 50)/(Pa – Pu); Pa, Pu tỷ lệ tôm chết cận trên và cận dưới của ngưỡng chết 50%.

2.5. Phân tích mô bệnh học

Mẫu tôm chết từ thí nghiệm xác định LD₅₀ được thu và phân tích mô bệnh học theo phương pháp của (Lightner, 1996). Cụ thể, mẫu được cố định trong dung dịch Davidson trong 24 giờ, sau đó chuyển sang bảo quản trong ethanol 70%. Mẫu mô được khử nước qua dãy ethanol tăng dần, tiếp đến tuluen và paraffin nóng chảy. Mẫu được đúc paraffin, cắt lát với độ dày 5μm và nhuộm bằng hematoxylin và eosin (H&E). Mô

bệnh học gan tụy được quan sát nhằm đánh giá các biến đổi cấu trúc và tổn thương bệnh lý.

2.6. Phân tích số liệu

Dữ liệu được tổng hợp bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Sự khác biệt về giá trị OD₆₀₀ giữa các nghiệm thức được phân tích bằng phần mềm SPSS phiên bản 20.0. Trước khi phân tích, dữ liệu được kiểm tra tính phân phối chuẩn bằng phép kiểm Shapiro-Wilk và tính đồng nhất phương sai bằng phép kiểm Levene. Phép kiểm ANOVA một yếu tố được sử dụng, và các cặp giá trị trung bình được so sánh bằng kiểm định Tukey HSD với mức ý nghĩa P ≤ 0,05.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và xác định tác nhân

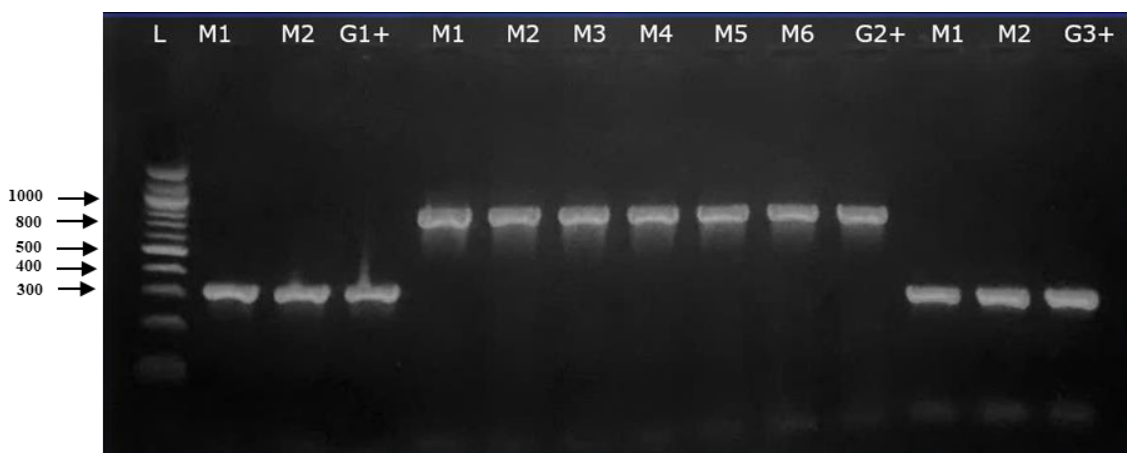
Kết quả phân tích các mẫu tôm nghi ngờ bằng phương pháp sinh hóa truyền thống và PCR xác định được 6 chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (Bảng 2). Phân tích PCR cho thấy 6 chủng vi khuẩn mang gen độc lực gây bệnh TPD, trong đó có 2 chủng mang đồng thời 3 gen VHVP-1-P, VHVP-2-P và VHVP-3-P được mã hóa là CED25.047 và CED25.054 trong khi 4 chủng còn lại mang kiểu đơn gen VHVP-2-P được mã hóa là CED25.011, CED25.016, CED25.027 và CED25.028 (Bảng 2 và Hình 2). Việc phát hiện sáu chủng *V. parahaemolyticus* mang gen gây bệnh TPD từ các mẫu tôm post tại năm khu vực ương giống dưỡng (Quảng Ninh, Nam Định, Thanh Hóa, Cà Mau và Sóc Trăng) cho thấy sự phân bố rộng và tiềm ẩn nguy cơ lan truyền của tác nhân này trong hệ thống sản xuất giống. Đáng chú ý, hai chủng mang đồng thời ba gen VHVP-1-P, VHVP-2-P và VHVP-3-P, vốn liên quan đến độc lực cao theo các nghiên cứu gần đây (Jia & cs., 2024), trong khi bốn chủng còn lại chỉ mang VHVP-2-P, gợi ý sự tồn tại của các biến thể gây bệnh ở mức độ thấp hơn. Sự hiện diện của các chủng mang gen gây bệnh tại nhiều địa phương khác nhau cho thấy khả năng lây lan qua nguồn giống hoặc môi trường.

Đặc điểm phát triển và độc lực của *Vibrio parahaemolyticus* CED25.047 phân lập từ tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) giai đoạn hậu ấu trùng mắc bệnh mờ đục

Bảng 2. Kết quả phân tích xác định tác nhân gây bệnh TPD từ các mẫu tôm nghi ngờ

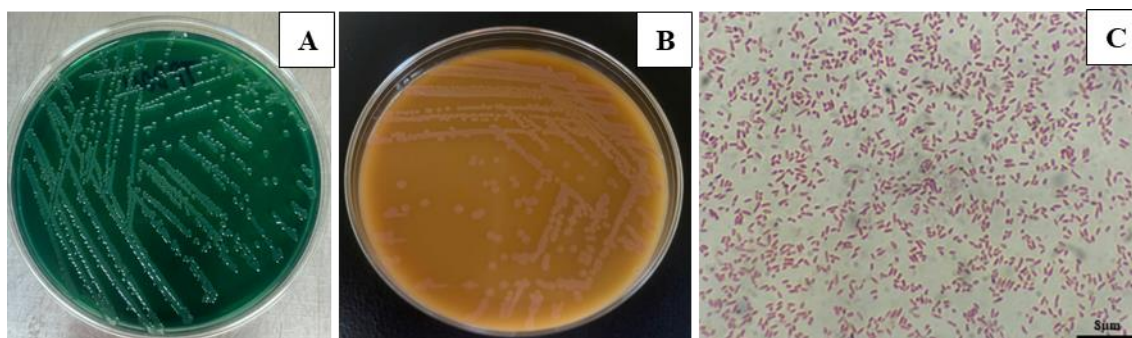
Địa điểm	Loài vi khuẩn	Gen độc lực			Code mã hóa
		VHVP-1-P	VHVP-2-P	VHVP-3-P	
Quảng Ninh	<i>V. parahaemolyticus</i>	-	+	-	CED25.011
Quảng Ninh	<i>V. parahaemolyticus</i>	-	+	-	CED25.016
Nam Định	<i>V. parahaemolyticus</i>	-	+	-	CED25.027
Thanh Hóa	<i>V. parahaemolyticus</i>	-	+	-	CED25.028
Cà Mau	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	+	+	CED25.047
Sóc Trăng	<i>V. parahaemolyticus</i>	+	+	+	CED25.054

Ghi chú: Dấu (+): Dương tính với gen độc lực được phân tích, (-): Âm tính với gen độc lực được phân tích.



Ghi chú: L: Ladder 100bp; M1, M2 mẫu dương tính 3 gen VHVP-1-P (~ 361bp), VHVP-2-P (~861bp) và VHVP-3-P (~ 306bp); M3, M4, M5, M6 mẫu dương tính với gen VHVP-2-P (~861bp); G1+; G2+; G3+ là mẫu dương tính 3 gen đã được gửi đi so sánh liên phòng.

Hình 2. Kết quả xác định gen độc lực vi khuẩn gây bệnh TPD bằng phương pháp PCR



Ghi chú: A: Vi khuẩn trên môi trường TCBS, B: Vi khuẩn trên môi trường ChromoGel™ Vibrio, C: Hình thái vi khuẩn khi nhuộm Gram.

Hình 3. Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* CED 25.047 gây bệnh TPD

Bằng phương pháp nuôi cấy và phân lập, 6 chủng vi khuẩn cho kết quả dương tính với TPD bằng kỹ thuật PCR được phân lập và lưu giữ.

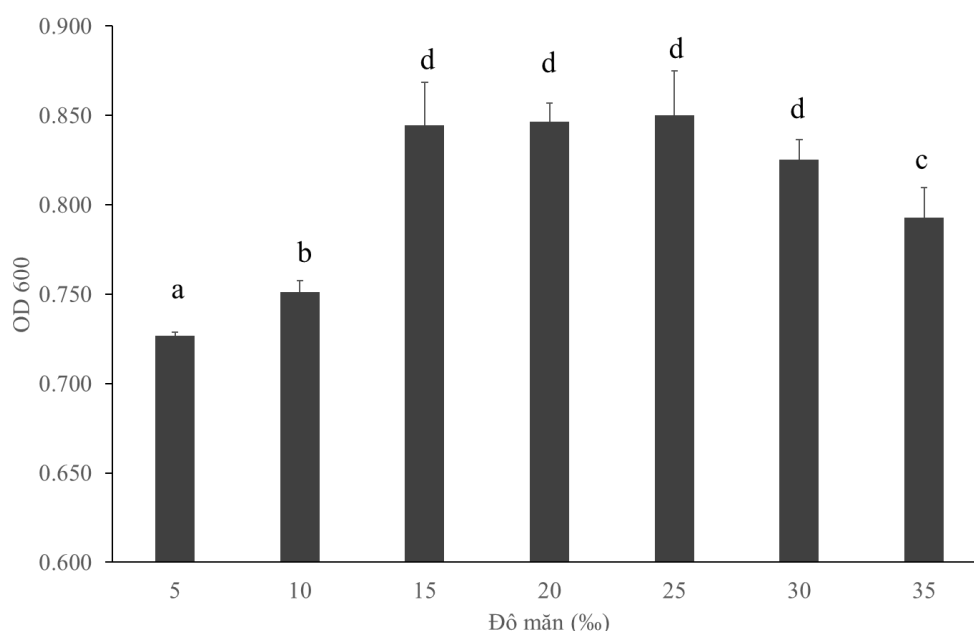
Các khuẩn lạc có màu xanh đặc trưng trên môi trường TCBS, màu tím nhạt trên môi trường ChromoGel™ Vibrio (Hình 3). Kết quả

định danh bằng Kit API20E cho thấy, 6 chủng vi khuẩn đã phân lập được là *V. parahaemolyticus* với độ tương đồng 99,3-99,9%. Nghiên cứu lựa chọn chủng *V. parahaemolyticus* CED25.047, mang đồng thời ba gen mục tiêu để thực hiện thí nghiệm tiếp theo.

3.2. Ảnh hưởng của độ mặn đến sự sinh trưởng của chủng *V. parahaemolyticus*

Sự phát triển của chủng *V. parahaemolyticus* CED25.047 ở các độ mặn khác nhau thể hiện ở hình 4. Kết quả cho thấy vi khuẩn phát triển tốt ở độ mặn 15-35‰, trong đó sinh trưởng tốt nhất ở độ mặn 15-30‰, giá trị OD₆₀₀ từ 0,825 ± 0,011 đến 0,850 ± 0,025. Ở độ mặn 5‰ và 10‰, tốc độ sinh trưởng bị ức chế đáng kể, có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$) đối với các nhóm nghiệm thức từ 15-35‰, giá trị OD₆₀₀ lần lượt là 0,727 ± 0,002 và 0,751 ± 0,006. Tôm thẻ chân trắng là loài tôm nước lợ, có khả năng thích nghi rộng với độ mặn trong khoảng 0,5-35‰ (Luo & cs., 2022). Tuy nhiên, hiệu suất sinh trưởng và miễn dịch thường đạt tối ưu trong khoảng 15-25‰ (Maicá & cs., 2014). Việc vi khuẩn gây

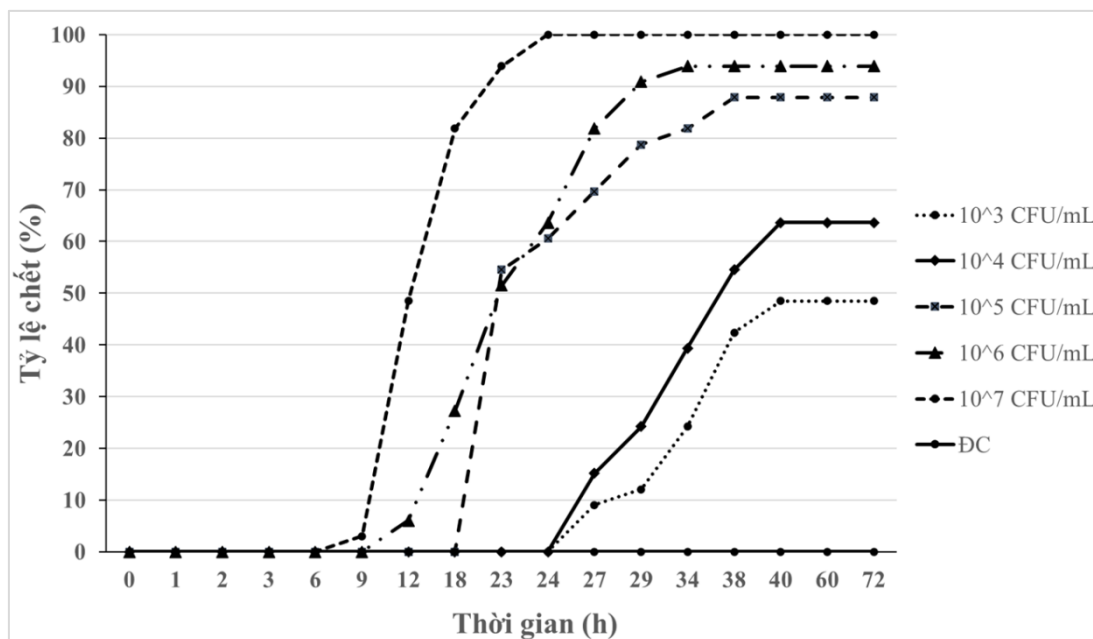
bệnh TPD phát triển mạnh ở độ mặn cao (15-35‰) và bị ức chế ở độ mặn thấp (5-10‰) cho thấy yếu tố môi trường, đặc biệt là độ mặn, đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát mật độ của vi khuẩn. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đó cho thấy *V. parahaemolyticus* là vi khuẩn ưa mặn và có khả năng thích nghi cao trong môi trường nước mặn lợ (Kalburge & cs., 2014). Sự suy giảm tốc độ sinh trưởng ở độ mặn thấp có thể do rối loạn áp suất thẩm thấu nội bào, ảnh hưởng đến hoạt động enzyme và sinh tổng hợp protein (Chen & cs., 2015; Rahi & cs., 2021; Ye & cs., 2023). Từ kết quả này, có thể gợi mở một hướng ứng dụng trong kiểm soát dịch bệnh TPD bằng biện pháp quản lý môi trường: duy trì độ mặn thấp (dưới 10‰) trong giai đoạn nhạy cảm (postlarvae đến 20 ngày tuổi) có thể góp phần hạn chế khả năng nhân lên và phát tán của vi khuẩn gây bệnh trong ao/bể ương nuôi. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng tôm thẻ chân trắng ở giai đoạn giống cũng nhạy cảm với độ mặn thấp, do đó việc áp dụng biện pháp này cần được cân nhắc kỹ lưỡng dựa trên khả năng thích nghi của tôm và điều kiện cụ thể của hệ thống nuôi.



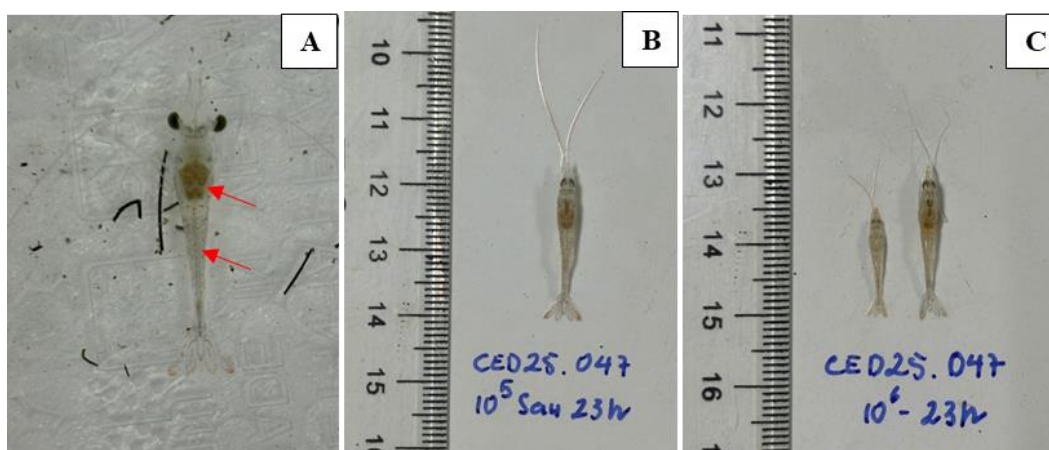
Ghi chú: Các cột biểu thị giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn (SD) ($n = 3$). Các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Hình 4. Ảnh hưởng của độ mặn đến mật độ tế bào *V. parahaemolyticus* CED25.047 được đo bằng giá trị OD₆₀₀ sau 24 giờ nuôi cấy trong môi trường TSB

Đặc điểm phát triển và độc lực của *Vibrio parahaemolyticus* CED25.047 phân lập từ tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) giai đoạn hậu ấu trùng mắc bệnh mờ đục



Hình 5. Tỷ lệ chết tích lũy của tôm thẻ chân trắng sau 70h gây nhiễm chủng *V. parahaemolyticus* CED25.047 với các nồng độ vi khuẩn khác nhau



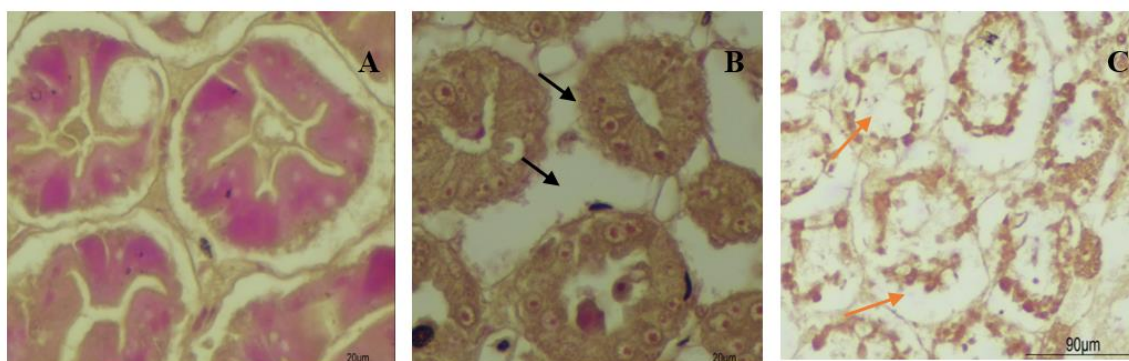
Ghi chú: A: Tôm xuất hiện các dấu hiệu bệnh lý đặc trưng như gan teo, ruột trống, không có thức ăn; B và C: Tôm chết ở các nghiệm thức 10⁵ CFU/ml và 10⁶ CFU/ml sau 23h gây nhiễm bằng phương pháp ngâm.

Hình 6. Gây nhiễm thực nghiệm tôm thẻ chân trắng với chủng *V. parahaemolyticus* CED25.047

3.3. Gây nhiễm thực nghiệm và xác định liều gây chết LD₅₀

Tỷ lệ chết tích lũy của tôm sau khi gây nhiễm *V. parahaemolyticus* CED25.047 ở các nồng độ khác nhau được trình bày tại hình 5. Tôm thẻ chân trắng ở nghiệm thức ngâm 10⁷ CFU/ml có tỷ lệ chết tích lũy đạt 100% sau 24h. Tương tự, nhóm 10⁶ và 10⁵ CFU/ml ghi nhận

tỷ lệ chết tích lũy lần lượt đạt trung bình 93,9% và 87,8% sau 40h. Trong khi đó, với liều ngâm 10⁴ và 10³ CFU/ml có tỷ lệ chết tích lũy trung bình thấp hơn, lần lượt đạt 66,6% và 48,5%. Nhóm đối chứng không ghi nhận trường hợp chết nào trong suốt thời gian thí nghiệm. Dựa trên dữ liệu tỷ lệ chết tại thời điểm 18h và 40h, liều gây chết 50% (LD₅₀) tại hai thời điểm trên lần lượt là 1,1 × 10⁶ CFU/ml và 5,0 × 10³ CFU/ml.



Ghi chú: A: Mô gan tụy tôm lô đối chứng, các ống gan có sự liên kết với nhau; B: Mô gan tụy tôm lô gây nhiễm vi khuẩn gây bệnh TPD ở thời điểm 12h sau gây nhiễm; các ống gan teo lại, mất kết nối (mũi tên đen); C: Mô gan tụy tôm lô gây nhiễm thời điểm 24h sau gây nhiễm, các ống gan hoại tử, biến dạng (mũi tên vàng).

Hình 7. Biến đổi mô học gan tụy tôm thẻ chân trắng nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh TPD

Các mẫu tôm chết có dấu hiệu teo gan tụy, trống ruột, cơ thể trong suốt (Hình 6). So với các chủng *V. parahaemolyticus* gây TPD đã được báo cáo trước đó bởi Jia & cs. (2024), CED25.047 thể hiện độc lực tương đương cả về thời gian gây chết và mức độ nhiễm, cho thấy tính ổn định của kiểu gen độc lực cao trong nhóm vi khuẩn này. Tuy nhiên, chủng CED25.047 thể hiện độc lực thấp hơn khi gây nhiễm ở nồng độ 10^5 CFU/ml so với chủng *V. parahaemolyticus* mang hai gen VHVP-1 và VHVP-2 được báo cáo bởi Liu & cs. (2023). Điều này cho thấy gen VHVP-3 có thể không đóng vai trò tăng cường độc lực như giả định trước đây, hoặc hiệu quả gây bệnh phụ thuộc vào sự phối hợp giữa các yếu tố di truyền và điều kiện cảm nhiễm của vật chủ. Do đó, cần có thêm nghiên cứu để làm rõ vai trò cụ thể của gen VHVP-3 trong cơ chế gây bệnh TPD.

3.4. Biến đổi mô bệnh học trên gan tụy tôm sau gây nhiễm

Kết quả mô bệnh học gan tụy tôm thẻ chân trắng cho thấy sự khác biệt rõ rệt giữa nhóm đối chứng và các nhóm tôm gây nhiễm với *V. parahaemolyticus* CED25.047 gây bệnh TPD. Ở nhóm đối chứng (Hình 7A), cấu trúc mô tụy bình thường với các ống tụy đều đặn, lớp biểu mô nguyên vẹn và không ghi nhận dấu hiệu hoại tử hay viêm. Trong khi đó, ở nhóm tôm gây nhiễm (Hình 7B và 7C), xuất hiện dấu hiệu tổn

thương mô tụy như bong tróc nhẹ tế bào biểu mô và hoại tử từng phần. Ở thời điểm sau 24 giờ gây nhiễm (Hình 7C), các tổn thương trở nên nghiêm trọng hơn, biểu mô ống tụy bị phá vỡ hoàn toàn, lòng ống chứa đầy mảnh vỡ tế bào và dấu hiệu hoại tử lan rộng, cho thấy độc lực mạnh của vi khuẩn. Những biến đổi này phù hợp với đặc điểm mô bệnh học của đã được ghi nhận trong nghiên cứu trước đây liên qua đến bệnh TPD (Jia & cs., 2024; Liu & cs., 2023).

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định sự hiện diện và độc lực của *V. parahaemolyticus* trên tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*) ở giai đoạn hậu ấu trùng. Tổng cộng 6 chủng *V. parahaemolyticus* đã được phân lập và xác định, trong đó có 2 chủng mang đồng thời ba gen độc lực VHVP-1-P, VHVP-2-P và VHVP-3-P và 4 chủng còn lại mang đơn gen VHVP-2-P. Chủng *V. parahaemolyticus* CED25.047 mang ba gen độc lực cho thấy khả năng gây bệnh cao với giá trị LD₅₀ bằng phương pháp ngâm là $1,1 \times 10^6$ CFU/ml sau 18 giờ và $5,0 \times 10^3$ CFU/ml sau 40 giờ. Phân tích mô bệnh học cho thấy các tổn thương đặc trưng ở gan tụy của tôm bao gồm: hiện tượng bong tróc tế bào biểu mô và hoại tử. Thử nghiệm sinh trưởng cho thấy chủng CED25.047 phát triển mạnh trong khoảng độ mặn từ 15‰ đến 35‰, với điều kiện tối ưu tại 15-30‰, trong khi bị ức chế đáng kể ở độ mặn

dưới 10‰. Nghiên cứu cung cấp thêm bằng chứng khoa học về đặc điểm gây bệnh và điều kiện thuận lợi cho sự phát triển của *V. parahaemolyticus* trong giai đoạn ương tôm giống.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài khoa học công nghệ cấp bộ: “Nghiên cứu xác định nguyên nhân, tình hình lưu hành và đề xuất giải pháp phòng chống bệnh mờ đục (Translucent PostLarva Disease - TPD) trên tôm giống nước lợ”; Mã số hợp đồng: 02/2025/KHCN-TS.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chen K., Li E., Li T., Xu C., Wang X., Lin H., Qin J.G. & Chen L. (2015). Transcriptome and molecular pathway analysis of the hepatopancreas in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* under chronic low-salinity stress. PLoS One. 10(7): e0131503. doi.org/10.1371/journal.pone.0131503.
- FAO (2023). International markets for fisheries and aquaculture products-Fourth issue 2023, with January-June 2023 statistics. GLOBEFISH Highlights, No. 4. Rome. <https://doi.org/10.4060/cc9176en>.
- Flegel T.W., Lightner D.V., Lo C.F. & Owens L. (2008). Shrimp disease control: past, present and future. Diseases in Asian Aquaculture VI. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. 505: 355-378.
- Harkell L. (2020). Shrimp Hatcheries in China Hit by ‘Glass Post-Larvae’. Retrieved from <https://www.undercurrentnews.com/2020/04/22/shrimp-hatcheries-in-china-hit-by-glass-post-larvae/> ngày on July 03, 2025.
- Jia T., Liu S., Yu X., Xu T., Xia J., Zhao W., Wang W., Kong J. & Zhang Q. (2024). Prevalence investigation of translucent post-larvae disease (TPD) in China. Aquaculture 583: 740583. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.740583>.
- Jia T., Xu T., Xia J., Liu S., Li W., Xu R., Kong J. & Zhang Q. (2023). Clinical protective effects of polyhexamethylene biguanide hydrochloride (PHMB) against *Vibrio parahaemolyticus* causing translucent post-larvae disease (VpTPD) in *Penaeus vannamei*. Journal of invertebrate pathology. 201: 108002. doi.org/10.1016/j.jip.2023.108002.
- Kalburge S.S., Whitaker W.B. & Boyd E.F. (2014). High-salt preadaptation of *Vibrio parahaemolyticus* enhances survival in response to lethal environmental stresses. Journal of food protection. 77(2): 246-253. doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-241.
- Lightner D.V. (1996). A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.
- Liu S., Wang W., Jia T., Xin L., Xu T.-t., Wang C., Xie G., Luo K., Li J. & Kong J. (2023). *Vibrio parahaemolyticus* becomes lethal to post-larvae shrimp via acquiring novel virulence factors. Microbiology Spectrum. 11(6): e00492-00423. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00492-23>.
- Luo Z., Yu Y., Bao Z., Xiang J. & Li F. (2022). Evaluation of genomic selection for high salinity tolerance traits in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. 557: 738320. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738320>.
- Maicá P.F., Borba M.R.d., Martins T.G. & Wasielesky Junior W. (2014). Effect of salinity on performance and body composition of Pacific white shrimp juveniles reared in a super-intensive system. Revista Brasileira de Zootecnia. 43: 343-350. doi.org/10.1590/S1516-35982014000700001.
- Rahi M.L., Azad K.N., Tabassum M., Irin H.H., Hossain K.S., Aziz D., Moshtaghi A. & Hurwood D.A. (2021). Effects of salinity on physiological, biochemical and gene expression parameters of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*): Potential for farming in low-salinity environments. Biology. 10(12): 1220. doi.org/10.3390/biology10121220.
- Reed L.J. & Muench H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. American Journal of Hygiene. 27:493-497.
- Xu A., Xu S., Tu Q., Qiao H., Lin W., Li J., He Y., Xie T., Pan L. & Pan Q. (2023). A novel virus in the family Marnaviridae as a potential pathogen of *Penaeus vannamei* glass post-larvae disease. Virus research. 324: 199026. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.199026>.
- Yang F., Xu L., Huang W. & Li F. (2022). Highly lethal *Vibrio parahaemolyticus* strains cause acute mortality in *Penaeus vannamei* post-larvae. Aquaculture. 548: 737605. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737605>.
- Ye Y., Zhu B., Zhang J., Yang Y., Tian J., Xu W., Du X., Huang Y., Li Y. & Zhao Y. (2023). Comparison of growth performance and biochemical components between low-salinity-tolerant hybrid and normal variety of pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). Animals. 13(18): 2837. <https://doi.org/10.3390/ani13182837>.
- Zou Y., Xie G., Jia T., Xu T., Wang C., Wan X., Li Y., Luo K., Bian X. & Wang X. (2020). Determination of the infectious agent of translucent post-larva disease (TPD) in *Penaeus vannamei*. Pathogens. 9(9): 741. doi.org/10.3390/pathogens9090741.