

MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA MẬT ĐỘ VI KHUẨN *Vibrio* spp. VÀ ĐỘ MẶN TRONG AO NUÔI TÔM

Trương Thị Mỹ Hạnh^{1*}, Kim Văn Vạn², Huỳnh Thị Mỹ Lệ³ và Phan Thị Vân¹

¹*Viện nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản 1*

²*Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

³*Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

Email*: tmhanh@ria1.org

Ngày gửi bài: 09.01.2017

Ngày chấp nhận: 24.04.2017

TÓM TẮT

Nghiên cứu này đánh giá sự tương quan giữa độ mặn và sự phát triển của vi khuẩn *Vibrio* trong điều kiện thực địa và phòng thí nghiệm. Tổng số 90 mẫu nước được thu từ 9 ao nuôi tại 10 thời điểm tương ứng độ mặn khác nhau. Nuôi cấy 3 chủng vi khuẩn bao gồm *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* 14.2 và *V. vulnificus* 17.5 trong điều kiện độ mặn khác nhau (3, 15, 25, 35 và 40‰). Nuôi cấy chủng vi khuẩn *V. cholerae* trong môi trường nước cất và nước ao nuôi khử trùng. Định lượng mật độ vi khuẩn tổng số trong mẫu nước ao nuôi tôm, mật độ các chủng vi khuẩn trong môi trường thí nghiệm sau nuôi cấy. Kết quả cho thấy có sự liên quan giữa mật độ vi khuẩn và độ mặn môi trường nước ao nuôi cũng như môi trường nuôi cấy thí nghiệm. Vi khuẩn *Vibrio* spp. và độ mặn trong ao nuôi tôm có hệ số tương quan 0,75 ($P < 0,05$); giữa *V. vulnificus* 17.5 và độ mặn là 0,69 ($P < 0,05$). Mật độ vi khuẩn *V. cholerae* trong nước ao nuôi vô trùng là $7,5 \times 10^6$ cfu, cao hơn so với trong nước cất ($1,3 \times 10^2$ cfu/ml). Tuy nhiên, sự phát triển của *V. parahaemolyticus* và *V. vulnificus* 14.2 lại không tương quan với độ mặn, hệ số tương quan tương ứng là 0,19 và 0,17. Nghiên cứu chỉ ra rằng độ mặn có thể có vai trò lớn trong việc phát triển bệnh do vi khuẩn *Vibrio* gây ra.

Từ khóa: Mối tương quan, *Vibrio* spp., AHPND.

Correlation between Density of *Vibrio* spp. and Salinity in Shrimp Pond

ABSTRACT

This study investigated the relationship between the salinity and development of *Vibrio* bacteria in the field and laboratory conditions. A total of 90 water samples were collected from 9 ponds at times corresponding to 10 different salinities. Three strains of bacteria. *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* 14.2 and *V. vulnificus* were experimentally cultured in different conditions of salinity (3, 15, 25, 35 and 40 ‰). *V. cholerae* was cultured in sterilized shrimp pond and distilled water. The densities of bacteria in shrimp pond water samples and cultured media were measured. Research results showed that there was a correlation between bacterial density and salinity in pond water environment as well as in experimental culture media. The correlation coefficient between *Vibrio* spp. and salinity in the pond was 0.75 ($P < 0.05$); between *V. vulnificus* 17.5 and the salinity was 0.69 ($P < 0.05$). *V. cholerae* density in sterile water pond was ($7,5 \times 10^6$), significantly higher than that in distilled water (1.3×10^2 colonies/ml). However, the growth of *V. vulnificus* 14.2 and *V. parahaemolyticus* was not significantly correlated with salinity ($r = 0.19$ and 0.17), respectively. Research showed that salinity can have an important role in disease outbreak caused by *Vibrio*.

Keywords: Correlation, *Vibrio* spp., AHPND.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vibrio spp. là vi khuẩn sống tự nhiên phổ biến trong môi trường nước biển và vùng cửa

sông ở cả hai khu vực nhiệt đới và ôn đới trên thế giới, chúng là tác nhân gây bệnh cơ hội phổ biến nhất cho các đối tượng nuôi thủy sản, hầu hết các loài hải sản đều chứa các chủng vi khuẩn *Vibrio*

parahaemolyticus, *Vibrio cholerae* và *Vibrio vulnificus* (Messelhäusser *et al.*, 2010). Điều này cũng được chỉ ra ở vùng biển nước Ý, khi mật độ và tần suất bắt gặp các chủng vi khuẩn *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* và *V. vulnificus* cao, tần xuất mắc bệnh của các loài hải sản trong vùng nuôi cũng cao (Barbieri *et al.*, 1999). Đối với tôm nuôi, bệnh *Vibriosis* được xác định là bệnh phổ biến và gây tỷ lệ chết cao cho tôm từ giai đoạn ấu trùng đến thương phẩm (Chen *et al.*, 2000), tỷ lệ phân lập vi khuẩn thuộc nhóm *Vibrio* spp. chủ yếu là các chủng *V. alginolyticus* (53,8%), *V. parahaemolyticus* (8,4%) và *V. cholerae* (2%), *Vibrio* sp. (35,8%) (Kriem *et al.*, 2015). Trong 5 năm gần đây, vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) do tác nhân gây bệnh *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus* (Phan Thị Vân và cs., 2013), *Vibrio parahaemolyticus* (Tran *et al.*, 2013), *V. harveyi* (Kondo *et al.*, 2015) và *V. campbellii* (Han, 2017) gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến ngành nuôi tôm công nghiệp, bệnh làm giảm 20% sản lượng tôm trên toàn thế giới (Hong *et al.*, 2016). Bệnh xuất hiện lần đầu tiên tại Trung Quốc năm 2009 (Flegel, 2012), sau đó ở Việt Nam, Thái Lan năm 2011 (Leano, 2012) và ở Mexico đầu năm 2013 (Nunan *et al.*, 2014). Ở Việt Nam, bệnh gây thiệt hại lớn với tổng diện tích chịu ảnh hưởng 9.284 ha, chiếm 1,37% tổng diện tích nuôi thả. So với năm 2014, phạm vi dịch bệnh (số xã) tăng 23% và diện tích có dịch bệnh tăng 68,5% (Cục Thú y, 2015). Chính vì vậy, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* (tác nhân gây bệnh AHPND) và *V. cholerae* (loài có mặt phổ biến trong môi trường nuôi tôm nước lợ) là ba loài vi khuẩn được quan tâm trong nghiên cứu này.

Sự phát triển về mật độ cũng như tính độc tố của các chủng vi khuẩn thuộc *Vibrio* chịu ảnh hưởng bởi 2 yếu tố chính bao gồm độ mặn và nhiệt độ môi trường nước (Kim *et al.*, 2012; Randa *et al.*, 2004). Độ mặn đã được tìm thấy có ảnh hưởng đến sinh trưởng của *Vibrio* spp. thông qua việc đo sự hấp thu của 14C- axit amin và nghiên cứu đã chứng minh rằng Na^+ được xác định là ion thiết yếu cho sự tăng trưởng và hoạt động của *Vibrio* spp. (Singleton *et al.*, 1982).

Vùng nuôi tôm tại Việt Nam nói chung và ở miền Bắc nói riêng độ mặn thường có sự biến động vào mùa mưa, chính vì vậy sự dao động mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. có thể đã diễn ra do sự thay đổi độ mặn, vì vậy mục đích của nghiên cứu nhằm hiểu rõ hơn sự tương quan giữa độ mặn và mật độ vi khuẩn tổng số *Vibrio* spp. trong ao nuôi, làm cơ sở chủ động kiểm soát mật độ vi khuẩn tổng số *Vibrio* spp. đạt trong ngưỡng giới hạn cho phép của ngành mà không ảnh hưởng đến sức khỏe tôm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Tổng số 90 mẫu nước với 10 đợt thu mẫu khi có sự biến động về độ mặn của 9 ao nuôi tôm công nghiệp tại huyện Hải Hà, tỉnh Quảng Ninh và 4 chủng vi khuẩn phân lập từ tôm bị bệnh hoại tử gan tụy cấp tại Nghệ An năm 2013 bao gồm (*Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus* 14.2, *V. vulnificus* 17.5 và *V. cholerae*)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

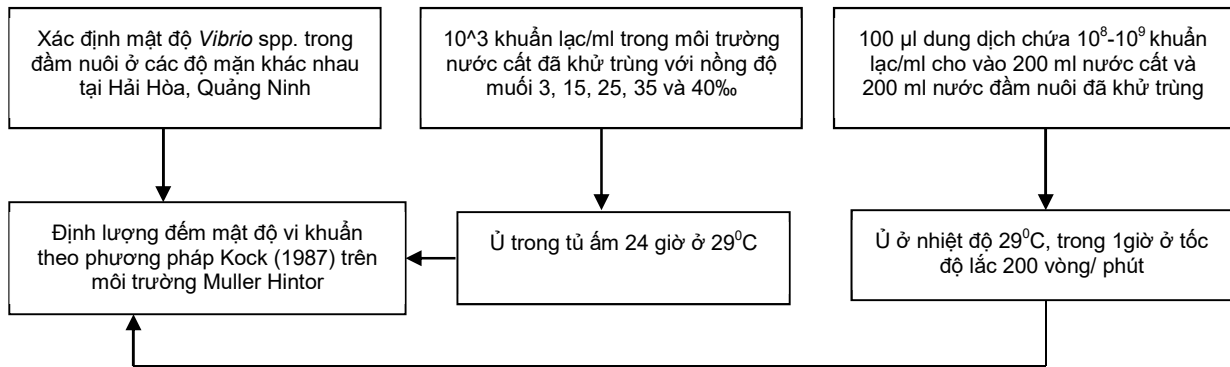
2.2.1. Bố trí thí nghiệm

Nghiên cứu được thực hiện với 3 nhóm thí nghiệm (Hình 1). Thí nghiệm thứ nhất, tiến hành thu mẫu nước của 9 ao nuôi tôm tại Hải Hà, Quảng Ninh khi giám sát thấy có sự biến động về độ mặn. Thí nghiệm thứ 2, 3 chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* 14.2 và *V. vulnificus* 17.5 được nuôi cấy trong điều kiện độ mặn khác nhau. Thí nghiệm thứ 3, vi khuẩn *V. cholerae* được nuôi cấy trong nước cất và nước ao nuôi tôm đã được khử trùng.

2.2.2. Định lượng vi khuẩn

Vi khuẩn trong mẫu nước, môi trường sau nuôi cấy được định lượng theo phương pháp Kock (1987). Chuẩn bị dãy 9 ml nước 2% NaCl vào ống nghiệm đánh số thứ tự từ 1 đến 9, sử dụng 1 ml nước đậm nuôi cho vào ống nghiệm thứ 1 (được pha loãng ở 10^{-1}), sử dụng 1 ml ở ống thứ 1 cho sang ống thứ 2 (được pha loãng 10^{-2}), cứ như thế cho đến độ pha loãng 10^{-4} . Sử dụng 1 ml ở mỗi nồng độ pha loãng 10^{-2} , 10^{-3} và 10^{-4} trang đều trên đĩa lông TCBS, mỗi nồng độ lặp

Mối tương quan giữa mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. và độ mặn trong ao nuôi tôm



Hình 1. Sơ đồ bố trí thí nghiệm đánh giá mối tương quan giữa độ mặn và sự phát triển của vi khuẩn

lại 3 lần. Ủ đĩa lỏng TCBS trong tủ ấm 28°C, sau 24 giờ đếm số lượng khuẩn lạc mọc trên mỗi đĩa. Công thức tính mật độ vi khuẩn trên 1 ml nước ao đầm như sau:

$$A = X/K \cdot V$$

Trong đó, A là số khuẩn lạc trong 1 ml nước định lượng; X: Số khuẩn lạc trung bình trên đĩa

V: Thể tích mẫu sử dụng ; K: Độ pha loãng

2.3. Xử lý số liệu

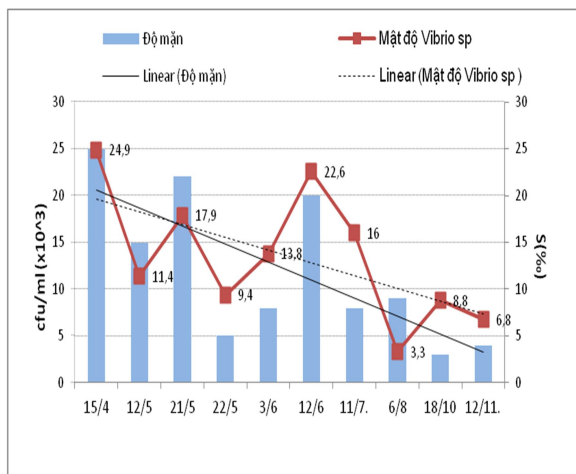
Sử dụng phần mềm Microsoft Excel (2007) phân tích mối tương quan mật độ *Vibrio* spp. và độ mặn đồng thời so sánh sự khác biệt mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. nuôi cấy trong môi trường

nước cất và nước ao nuôi khử trùng bằng T-test. Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $P < 0,05$.

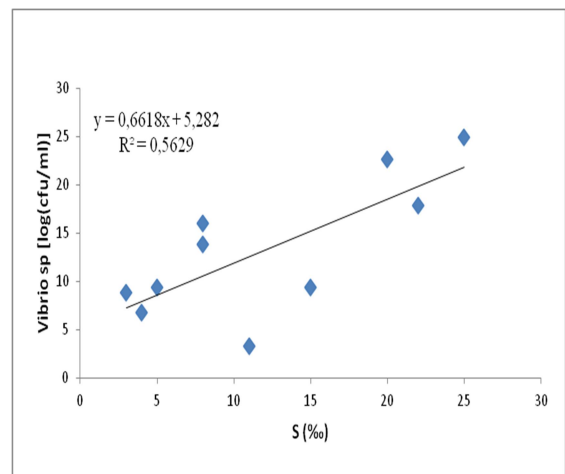
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Biến động độ mặn và *Vibrio* spp. tổng số trong ao nuôi

Biến động mật độ vi khuẩn *Vibrio* tổng số trong môi trường nước ao nuôi tôm tại các thời điểm có độ mặn thay đổi từ 3 đến 25‰ và mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. dao động $3,3 \times 10^2$ đến $24,9 \times 10^2$ cfu/ml (Hình 1). Mật độ *Vibrio* spp. và độ mặn có mối tương quan chặt chẽ với $R^2 = 0,562$ (Hình 2)



Hình 1. Mật độ *Vibrio* spp. ở các thời điểm độ mặn khác nhau trong ao nuôi tôm theo thời gian



Hình 2. Mối tương quan giữa mật độ *Vibrio* spp. và độ mặn ($R^2 = 0,562$)

3.2. Biến động mật độ vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tại các độ mặn khác nhau trong điều kiện thí nghiệm

V. vulnificus 14.2, *V. vulnificus* 17.5 và *V. parahaemolyticus* đều là chủng vi khuẩn thuộc nhóm *Vibrio*, tuy nhiên độ mặn ảnh hưởng đến sự phát triển của chúng có sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$). *V. vulnificus* 17.5 phát triển đạt mật độ cao nhất ở 35‰ (518 x 10⁶ cfu/ml), tiếp đến ở 25‰ (490 x 10⁶ cfu/ml) và mật độ vi khuẩn đạt mức thấp ở độ mặn 15 và 3‰. Trong khi đó *V. parahaemolyticus* và *V. vulnificus* 14.2 phát triển mạnh ở độ mặn 25‰ với mật độ vi khuẩn đạt lần lượt tương ứng 272 x 10⁶ và 218 x 10⁶ cfu/ml và chúng phát triển đạt mật độ thấp ở độ mặn 3‰ (Hình 3). Hơn nữa, sự phát triển của *V. vulnificus* 17.5 với độ mặn có mối tương quan với nhau nhưng không rõ ràng với $R^2 = 0,478$, trong khi *V. parahaemolyticus* và *V. vulnificus* 14.2 không có tính tương quan với độ mặn với R^2 lần lượt tương ứng 0,036 và 0,029 (Hình 4).

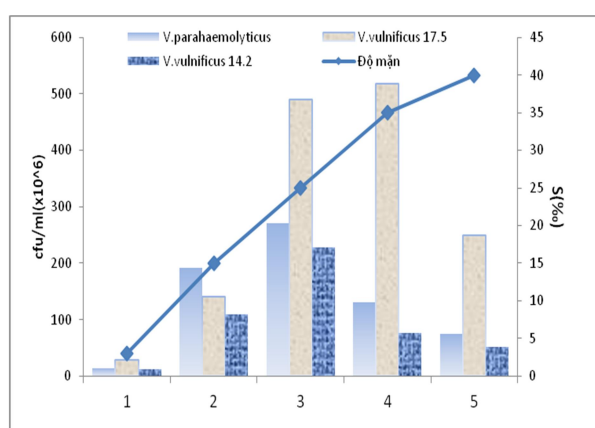
3.3. Biến động *V. cholerae* trong điều kiện pha loãng mật độ vi khuẩn trong nước cất và nước ao nuôi khử trùng

Cho 100 µl với mật độ vi khuẩn 10⁸ - 10⁹ khuẩn lạc/ml vào trong bình chứa 200 ml nước cất và bình chứa 200 ml nước ao nuôi tôm khử trùng, lắc hỗn dịch hai bình trên ở 29°C, tốc độ

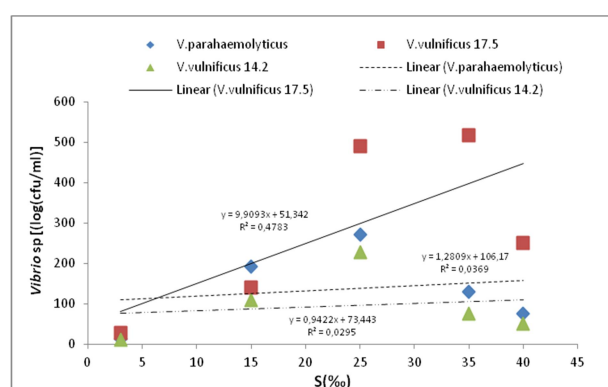
vòng lắc 200 vòng/phút. Sau 1 giờ định lượng đếm mật độ vi khuẩn trong 2 bình, kết quả cho thấy mật độ vi khuẩn *V. cholerae* ở bình chứa nước ao nuôi vô trùng và ở bình chứa nước cất lần lượt đạt 7,5 x 10⁶ và 1,3 x 10² cfu/ml ($P < 0,05$).

4. THẢO LUẬN

Trong 1 năm các hộ nuôi tôm ở miền Bắc nói chung và tại Quảng Ninh nói riêng thả nuôi tôm 2 vụ, trong đó vụ 1 từ cuối tháng 3 đến cuối tháng 6 và vụ 2 từ tháng 7 đến tháng 11. Nhìn chung kết quả giám sát chỉ rõ độ mặn và mật độ *Vibrio* tổng số đều có xu hướng giảm dần theo thời gian, đặc biệt thể thể hiện rõ ở vụ 2 (Hình 1). Kết quả này trái ngược với nghiên cứu của Phạm Thị Tuyết Ngân (2010) khi chỉ ra mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. và vi khuẩn tổng số trong ao tôm sú thâm canh tăng dần theo thời gian từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 135 của vụ nuôi và nguyên nhân làm tăng mật độ vi khuẩn theo thời gian trong ao nuôi được cho rằng do sự tích lũy vật chất hữu cơ trong quá trình nuôi, vật chất hữu cơ có thể từ nhiều nguồn (phân tôm, thức ăn dư thừa, tảo chết...). Hơn thế nữa, kết quả chỉ ra ở độ mặn 20 - 25‰ mật độ *Vibrio* spp. đạt mức cao nhất (khoảng 17,9 - 24,9 x 10² cfu/ml) và thấp nhất (6,8 - 9,4 x 10² cfu/ml) khi độ mặn môi trường nước từ 3 - 5‰ (Hình 1).



Hình 3. Mật độ *V. parahaemolyticus* và *V. vulnificus* ở các độ mặn khác nhau



Hình 4. Mối tương quan giữa *V. parahaemolyticus* và *V. vulnificus* với độ mặn ($R^2 = 0,478$; $R^2 = 0,036$ và $R^2 = 0,029$)

Mật độ *Vibrio* spp. ở các thời điểm đo khác nhau ý nghĩa với $P < 0,05$ đồng thời chúng có mối tương quan chặt chẽ với độ mặn môi trường với $R^2 = 0,562$ (Hình 2). Kết quả này trùng khớp với nghiên cứu của Eiler *et al.* (2006) khi chỉ ra mật độ vi khuẩn *Vibrio* có mối tương quan đáng kể với độ mặn ($R^2 = 0,42$, $P < 0,01$), đồng thời độ mặn được xác định là một trong những yếu tố chỉ thị có nghĩa đối với mật độ *Vibrio* trong môi trường nước. Bên cạnh đó, nghiên cứu khác cũng chỉ ra *Vibrio* tại vùng biển phía Bắc Carolina có mối tương quan chặt chẽ với nhiệt độ, độ mặn và sự ô nhiễm nền đáy của vùng biển (Wetz *et al.*, 2014).

V. vulnificus 14.2, *V. vulnificus* 17.5 và *V. parahaemolyticus* được xác định là tác nhân gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (Phan Thị Vân và cs., 2013) và hiện được lưu giữ tại Trung tâm quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc-Viện nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I. Thực tế trong môi trường ao nuôi, độ mặn hiếm khi đạt mức 35‰ và không đạt đến ngưỡng 40‰, chính vì vậy thí nghiệm sự phát triển của 3 chủng vi khuẩn gây bệnh hoại tử gan tụy cấp được tiến hành thử nghiệm từ độ mặn phổ biến trong ao nuôi 3, 15, 25‰ đến độ mặn hiếm và không xảy ra trong ao nuôi 35, 40‰. Qua kết quả nghiên cứu nhận thấy mặc dù cùng có chung tên *V. vulnificus* nhưng lại có điểm độ mặn phát triển tối ưu khác nhau, cụ thể *V. vulnificus* 17.5 phát triển đạt mật độ cao gấp 6 lần so với *V. vulnificus* 14.2 ở cùng độ mặn 35‰, gấp 4 lần ở độ mặn 40‰ và gấp 2 lần ở độ mặn 3‰ và 25‰ (Hình 3). Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra độ mặn có mối tương quan với mật độ *V. vulnificus* 17.5, nhưng không có mối tương quan với mật độ *V. vulnificus* 14.2 với hệ số R^2 lần lượt tương ứng 0,478 và 0,036 (Hình 4). Kết quả nghiên cứu mối tương quan giữa độ mặn và mật độ vi khuẩn *V. vulnificus* trên thế giới hiện nay có nhiều mâu thuẫn. Kaspar và Tamplin (1993) cho thấy sự tồn tại và phát triển tăng sinh của *V. vulnificus* chịu ảnh hưởng bởi độ mặn cao ($> 25‰$). Trong kết quả nghiên cứu khảo sát tại thực địa, Wright *et al.* (1996) cho thấy mật độ *V. vulnificus* trong vịnh Chesapeake không có mối tương quan với độ mặn, trong khi đó một số tác

giả khác cho thấy độ mặn có tương quan chặt chẽ với mật độ *V. vulnificus* (Høi *et al.*, 1998; Pfeffer *et al.*, 2003). Mặt khác, mật độ *V. vulnificus* tại vịnh Mexico có mối tương quan với độ mặn khi độ mặn dưới 15‰ và không có mối tương quan khi độ mặn $> 15‰$ (Lipp *et al.*, 2001; Motes *et al.*, 1998). Đối với *V. parahaemolyticus*, mật độ phát triển đạt cao nhất ở độ mặn 25‰ (271×10^6 cfu/ml), tiếp đến 15‰ (192×10^6 cfu/ml), 35‰ (130×10^6 cfu/ml) và thấp nhất ở độ mặn 3‰ (14×10^6 cfu/ml), đồng thời sự phát triển tăng sinh *V. parahaemolyticus* và độ mặn không có mối quan ($R^2 = 0,036$) (Hình 2,3). Kết quả nghiên cứu này trùng hợp với kết quả nghiên cứu của Deepanjali *et al.* (2005); Sobrinho và *et al.* (2010) và Martinez-Urtaza *et al.* (2012), nhóm nghiên cứu này đã không tìm thấy mối tương quan giữa độ mặn và tăng sinh về mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Tuy nhiên, DePaola *et al.* (2003) lại chỉ ra rằng độ mặn và sự tăng sinh *V. parahaemolyticus* có mối tương quan chặt chẽ khi nghiên cứu chúng tại vùng Vịnh Mobile thuộc Alabama, Hoa Kỳ.

Khi nghiên cứu thử nghiệm chủng vi khuẩn *V. cholerae* nuôi cấy ở 2 môi trường khác nhau (nước ao tôm vô trùng và nước cất) trong 1 giờ nhằm kiểm tra ảnh hưởng của độ mặn lên khả năng phát triển *V. cholerae* trên môi trường chọn lọc TCBS. Kết quả cho thấy *V. cholerae* ở môi trường nước ao nuôi vô trùng có mật độ cao gấp 10.000 lần so với môi trường nước cất. Như vậy kết quả cho thấy khi nuôi cấy trong môi trường độ mặn thấp dù trong thời gian ngắn (1 giờ) đã làm tổn thương *V. cholerae* do sốc về áp suất thẩm thấu, vì vậy ảnh hưởng đến sự phát triển *V. cholerae* trên môi trường TCBS. Kết quả nghiên cứu này trùng hợp với kết quả nghiên cứu của Lê Hồng Phước và Sorgeloos (2012) khi nêu rửa vi khuẩn (3 chủng vi khuẩn *V. harveyi* và 1 chủng *V. campbellii*) bằng nước biển vô trùng cho số khuẩn lạc trên môi trường TCBS cao gấp 10 - 300 lần so với bằng nước muối sinh lý ($P < 0,01$), hơn nữa tác giả cũng đã chỉ ra phân tích thống kê cho thấy có sự tương tác giữa hai yếu tố dung dịch rửa vi khuẩn (nước biển vô trùng và nước cất) và môi trường

nuôi cấy (môi trường chọn lọc và môi trường cơ bản) lên khả năng phát triển của 4 chủng vi khuẩn nghiên cứu ($P < 0,01$).

4. KẾT LUẬN

Tại vùng nuôi tôm thuộc Hải Hà, Quảng Ninh, độ mặn và sự phát triển mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. có mối tương quan chặt chẽ với nhau ($P < 0,05$; $R^2 = 0,562$)

Mật độ phát triển của *Vibrio parahaemolyticus*; *V. vulnificus* 14.2 gây bệnh hoại tử gan tụy cấp và độ mặn không có mối tương quan với nhau với giá trị R^2 lần lượt tương ứng 0,036 và 0,029

Mật độ phát triển của *Vibrio vulnificus* 17.5 gây bệnh hoại tử gan tụy cấp và độ mặn có mối tương quan chặt chẽ với nhau ($P < 0,05$; $R^2 = 0,478$).

Mật độ *V. cholerae* nuôi lắc ở điều kiện nước ao nuôi vô trùng và nước cất trong 1 giờ có sự khác biệt ý nghĩa ($P < 0,05$), tương ứng lần lượt đạt $7,5 \times 10^6$ và $1,3 \times 10^2$ khuẩn lạc/ml

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Barbieri, E., Falzano, L., Fiorentini, C., Pianetti, A., Baffone, W., Fabbri, A., Matarrese, P., Casiere, A., Katouli, M., Kühn, I., Möllby, R., Bruscolini, F., Donelli, G. (1999). Occurrence, diversity, and pathogenicity of halophilic *Vibrio* spp. and non-O1 *Vibrio cholerae* from estuarine waters along the Italian Adriatic coast. Appl. Environ. Microbiol., 65: 2748-2753.
- Chen, L.L., Lo, C.F., Chiu, Y.L., Chang, C.F., Kou, G.H. (2000). Natural and experimental infection of white spot syndrome virus (WSSV) in benthic larvae of mud crab *Scylla serrata*. Dis. Aquat. Organ., 40: 157-161. doi:10.3354/dao040157
- Sobrinho D.C., P., Destro, M.T., Franco, B.D.G.M., Landgraf, M. (2010). Correlation between environmental factors and prevalence of *Vibrio parahaemolyticus* in oysters harvested in the southern coastal area of Sao Paulo state, Brazil. Appl. Environ. Microbiol. 76, 1290-1293. doi:10.1128/AEM.00861-09
- Deepanjali, A., Kumar, H.S., Karunasagar, I., Karunasagar, I. (2005). Seasonal variation in abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* bacteria in oysters along the southwest coast of India. Appl. Environ. Microbiol. 71, 3575-3580. doi:10.1128/AEM.71.7.3575-3580.2005
- DePaola, A., Nordstrom, J.L., Bowers, J.C., Wells, J.G., Cook, D.W. (2003). Seasonal abundance of total and pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in Alabama oysters. Appl. Environ. Microbiol. 69, 1521-1526. doi:10.1128/AEM.69.3.1521-1526.2003.
- Eiler, A., Johansson, M., Bertilsson, S. (2006). Environmental influences on *Vibrio* populations in northern temperate and boreal coastal waters (Baltic and Skagerrak Seas). Appl. Environ. Microbiol. 72, 6004-6011. doi:10.1128/AEM.00917-06.
- Flegel, T.W. (2012). Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. J. Invertebr. Pathol. 110, 166-73. doi:10.1016/j.jip.2012.03.004.
- Han, J.E. (2017). Four AHPND strains identified on Latin American shrimp farms. <http://advocate.gaalliance.org/four-ahpnd-strains-identified-on-latin-american-shrimp-farms/>.
- Høi, L., Larsen, J.L., Dalsgaard, I., Dalsgaard, A., 1998. Occurrence of *Vibrio vulnificus* biotypes in Danish marine environments. Appl. Environ. Microbiol., 64: 7-13.
- Hong, X., Lu, L., Xu, D. (2016). Progress in research on acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). Aquac. Int. doi:10.1007/s10499-015-9948-x.
- Kaspar, C.W., Tamplin, M.L. (1993). Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. Appl. Environ. Microbiol., 59: 2425-2429.
- Kim, Y.W., Lee, S.H., Hwang, I.G., Yoon, K.S. (2012). Effect of temperature on growth of *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* in flounder, salmon sashimi and oyster meat. Int. J. Environ. Res. Public Health 9, 4662-4675. doi:10.3390/ijerph9124662
- Kondo, H., Van, P.T., Dang, L.T., Hirano, I. (2015). Draft Genome Sequence of Non-*Vibrio parahaemolyticus* Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease Strain KC13.17.5, Isolated from Diseased Shrimp in Vietnam. Genome Announc 3. doi:10.1128/genomeA.00978-15
- Kriem, M.R., Banni, B., El Bouchtaoui, H., Hamama, A., El Marrakchi, A., Chaouqy, N., Robert-Pillot, A., Quilici, M.L. (2015). Prevalence of *Vibrio* spp. in raw shrimps (*Parapenaeus longirostris*) and performance of a chromogenic medium for the isolation of *Vibrio* strains. Lett. Appl. Microbiol. 61, 224-230. doi:10.1111/lam.12455
- Lê Hồng Phước, P. Sorgeloos, P.B. (2012). Ảnh hưởng của độ mặn lên sự phát triển của các loài vi khuẩn thuộc giống *Vibrio* trên môi trường chọn lọc và

- không chọn lọc. Báo cáo tổng kết, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II 1-42.
- Leano, E. and C.V.M. (2012). Early Mortality Syndrome Threatens Asia's Shrimp Farms. Glob. Aquac. Advocate, 38:39.
- Lipp, E.K., Rodriguez-Palacios, C., Rose, J.B. (2001). Occurrence and distribution of the human pathogen *Vibrio vulnificus* in a subtropical Gulf of Mexico estuary. Hydrobiologia 460, 165-173.
- Martinez-Urtaza, J., Blanco-Abad, V., Rodriguez-Castro, A., Ansedo-Bermejo, J., Miranda, A., Rodriguez-Alvarez, M.X. (2012). Ecological determinants of the occurrence and dynamics of *Vibrio parahaemolyticus* in offshore areas. ISME J. 6, 994-1006. doi:10.1038/ismej.2011.156
- Messelhäusser, U., Colditz, J., Thäringen, D., Kleih, W., Höller, C., Busch, U. (2010). Detection and differentiation of *Vibrio* spp. in seafood and fish samples with cultural and molecular methods. Int. J. Food Microbiol. 142, 360-364. doi:10.1016/j.ijfoodmicro. 2010.07.020
- Motes, M.L., DePaola, A., Cook, D.W., Veazey, J.E., Hunsucker, J.C., Garthright, W.E., Blodgett, R.J., Chirtel, S.J. (1998). Influence of water temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* in Northern Gulf and Atlantic Coast oysters (*Crassostrea virginica*). Appl. Environ. Microbiol. 64, 1459-1465.
- Nunan, L., Lightner, D., Pantoja, C., Gomez-Jimenez, S. (2014). Detection of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Mexico. Dis. Aquat. Organ. 111, 81-6. doi:10.3354/dao02776
- Pfeffer, C.S., Hite, M.F., Oliver, J.D. (2003). Ecology of *Vibrio vulnificus* in estuarine waters of eastern North Carolina. Appl. Environ. Microbiol. 69, 3526-3531. doi:10.1128/AEM.69.6.3526
- Phạm Thị Tuyết Ngân, N.H.T. (2010). Biến động mật độ vi khuẩn hữu ích trong ao nuôi tôm sú (*Penaeus monodon*) thâm canh. Tập chí khoa học, Đại học Cần Thơ, 12: 166-176.
- Phan Thị Vân, Bùi Ngọc Thanh, Phạm Thị Yến, N.T.H. (2013). Xác định nguyên nhân gây bệnh hoại tử gan tụy cấp trên tôm nuôi tại miền Bắc. Báo cáo tổng kết đề tài, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I 1-65.
- Randa, M.A., Polz, M.F., Lim, E. (2004). Effects of temperature and salinity on *Vibrio vulnificus* population dynamics as assessed by quantitative PCR. Appl. Environ. Microbiol. 70, 5469-5476. doi:10.1128/AEM. 70.9.5469-5476.2004
- Singleton, F.L., Attwell, R., Jangi, S., Colwell, R.R. (1982). Effects of temperature and salinity on *Vibrio cholerae* growth. Appl. Environ. Microbiol. 44, 1047-1058.
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R.M., Mohny, L.L., Pantoja, C.R., Fitzsimmons, K., Lightner, D. V. (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. Dis. Aquat. Organ. 105, 45-55. doi:10.3354/dao02621
- Wetz, J.J., Blackwood, A.D., Fries, J.S., Williams, Z.F., Noble, R.T. (2014). Quantification of *Vibrio vulnificus* in an Estuarine Environment: A Multi-Year Analysis Using QPCR. Estuaries and Coasts 37, 421-435. doi:10.1007/s12237-013-9682-4
- Wright, A.C., Hill, R.T., Johnson, J.A., Roghman, M.C., Colwell, R.R., Morris, J.G. (1996). Distribution of *Vibrio vulnificus* in the Chesapeake Bay. Appl. Environ. Microbiol., 62: 717-724.
- Cục Thú y (2015). Báo cáo kết quả công tác Thú y năm 2015. Báo cáo cuối năm 2015, tr. 1-32.