

## XÁC ĐỊNH NGUỒN XUẤT HIỆN BỆNH HOẠI TỬ GAN TUY CẤP Ở TÔM THẺ CHÂN TRẮNG CỦA YẾU TỐ HỮU SINH, VÔ SINH TRONG AO NUÔI TÔM THƯƠNG PHẨM

### DETERMINATION OF THE THRESHOLD CAUSING ACUTE HEPATOPANCREATIC NECROSIS DISEASE IN WHITE LEG SHRIMP OF BIOTIC AND ABIOTIC FACTORS IN COMMERCIAL SHRIMP PONDS

Võ Văn Nha<sup>1</sup>, Trần Thanh Sơn<sup>2</sup>, Hồ Nhật Nguyệt<sup>2</sup>,  
Võ Thị Ngọc Trâm<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Chi<sup>1</sup>, Hà Thị Thanh Huyền<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III

<sup>2</sup>Đại học Qui Nhơn

Tác giả liên hệ: Võ Văn Nha (nharia3@yahoo.com; vovannha@ria3.vn)

Ngày nhận bài: 16/03/2023; Ngày phân biện thông qua: 25/03/2023; Ngày duyệt đăng: 28/03/2023

### TÓM TẮT

Nghiên cứu xác định ngưỡng mật độ của tác nhân gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) và các yếu tố trong môi trường ao nuôi (vô sinh, hữu sinh) có vai trò quan trọng, làm cơ sở để đề xuất các giải pháp kiểm soát tác nhân gây AHPND trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng thương phẩm. Nghiên cứu này đã thu và phân tích mẫu nước, mẫu tôm thẻ chân trắng ở 54 ao tôm nghi ngờ bị AHPND và mẫu nước, mẫu tôm thẻ ở 76 ao tôm không nghi ngờ AHPND tại Nam Định, Phú Yên và Bạc Liêu từ tháng 6/2020 đến tháng 6/2022 để so sánh, xác định điểm cắt (ngưỡng) của tác nhân gây AHPND. Sử dụng phương pháp hồi qui đa biến và phương pháp đường cong ROC (Receiver Operating Characteristic) trên SPSS để xử lý các số liệu thu được, kết quả cho thấy ở ngưỡng mật độ  $1,6 \times 10^3$  cfu/g (gan tụy tôm) và  $1,3 \times 10^3$  cfu/mL (nước ao nuôi), *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* gây AHPND là rõ ràng nhất. Ngoài ra, các yếu tố hữu sinh và vô sinh, gồm: *Vibrio* spp. nước ao nuôi và trong gan tụy tôm theo thứ tự  $\geq 6,7 \times 10^3$  cfu/mL và  $\geq 1,2 \times 10^4$  cfu/g; *V. parahaemolyticus* nước ao nuôi và trong gan tụy tôm theo thứ tự  $\geq 4,7 \times 10^3$  cfu/mL và  $\geq 7,7 \times 10^3$  cfu/g; độ mặn  $\geq 30,5\%$ ; pH  $\geq 8,15$ ;  $NO_2^- \geq 0,015$ mg/L; TSS  $\geq 14,15$  mg/L cũng có mối quan hệ rõ ràng, có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ), góp phần làm cho tôm thẻ chân trắng bị AHPND trong ao nuôi thương phẩm. Mặt khác, bài báo cũng đã chỉ ra các giải pháp kiểm soát vi khuẩn gây AHPND dưới ngưỡng từ việc tổng hợp các kết quả nghiên cứu trước: kiểm soát chặt chẽ chất lượng đầu vào trong quá trình nuôi; sử dụng chất kháng khuẩn có nguồn gốc từ tự nhiên; sử dụng thực khuẩn thể đặc hiệu; sử dụng các công nghệ quản lý chất lượng nước trong nuôi tôm; sử dụng định kỳ chế phẩm sinh học (*Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp.....) kết hợp các chất làm tăng khả năng miễn dịch không đặc hiệu, và cuối cùng là việc sử dụng kháng sinh.

**Từ khóa:** Tôm thẻ chân trắng, AHPND, đường cong ROC.

### ABSTRACT

The study determined the density threshold of the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and the pond environment factors (biotic factors, abiotic factors) that play an important role as a basis to propose solutions to control the causative agent of AHPND in commercial white leg shrimp ponds. This study collected and analyzed water samples, white leg shrimp samples from 54 ponds with suspected AHPND and water samples, white leg shrimp samples from 76 ponds without suspected AHPND in Nam Dinh, Phu Yen and Bac Lieu provinces since June 2020 to June 2022 to compare and determine the cut-off point (threshold) of the causative agent of AHPND. Using multivariate regression and ROC (Receiver Operating Characteristic) curve method on specialized biological statistical software SPSS to process the obtained data, the results showed that the density threshold is  $1.6 \times 10^3$  cfu/g and  $1.3 \times 10^3$  cfu/mL, *V. parahaemolyticus* carrying the *pirA/pirB* gene causing AHPND was the most obvious. In addition, biotic and abiotic factors, including: *Vibrio* spp. pond water and shrimp hepatopancreas in the order of  $\geq 6.7 \times 10^3$  cfu/mL and  $\geq 1.2 \times 10^4$  cfu/g; *V. parahaemolyticus* pond water and shrimp hepatopancreas in the order of  $\geq 4.7 \times 10^3$  cfu/mL

and  $\geq 7.7 \times 10^3$  cfu/g; salinity  $\geq 30.5\%$ ; pH  $\geq 8.15$ ; NO<sub>2</sub>-  $\geq 0.015$ mg/L; TSS  $\geq 14.15$  mg/L also had a clear and statistically significant relationship ( $p < 0.05$ ), contributing to whiteleg shrimp suffering from AHPND in grow-out ponds. On the other hand, the article also pointed out solutions to control bacteria causing AHPND below threshold from the synthesis of previous research results: strict control of input quality in the rearing process; using antibacterial substances of natural origin; use specific bacteriophages; using water quality management technologies in shrimp farming; periodic use of probiotics (*Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp.,...) in combination with non-specific immunomodulators, and finally the use of antibiotics.

**Keywords:** Whiteleg shrimp, Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease, Receiver Operating Characteristic curve.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) trên tôm thẻ chân trắng nuôi thương phẩm là mối đe dọa nghiêm trọng trên toàn cầu, đặc biệt đối với ngành nuôi tôm công nghiệp Việt Nam kể từ khi phát hiện đầu tiên ở Trung Quốc năm 2009 [3], [10]. AHPND cũng được phát hiện ở Mexico và các quốc gia vùng Nam Mỹ trong giai đoạn 2013 - 2015 [6], [13]. Tôm thẻ chân trắng bị AHPND có biểu hiện tuyến gan tụy bị sưng hoặc teo, có màu sắc bất thường, đường tiêu hóa rỗng hoặc không đầy thức ăn, vỏ mềm, màu sắc nhợt nhạt, tỷ lệ chết lên đến 100% ở giai đoạn tôm non và có thể lây lan nhanh giữa các vùng nuôi tôm [10], [11]. Bệnh có liên quan đến việc quản lý môi trường ao nuôi tôm, trong đó tác nhân gây bệnh đã được xác định là một chủng *Vibrio parahaemolyticus* mang plasmid pVA1 chứa gene sản sinh ra 2 loại protein PirAvp và PirBv, là độc tố phá hủy tuyến gan tụy của tôm bị bệnh [9], [14]. Tuy nhiên, cho đến nay ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào đề cập việc xác định giá trị ngưỡng của tác nhân gây AHPND trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng thương phẩm dựa vào việc thu và phân tích mẫu nước, mẫu tôm thẻ chân trắng nghi ngờ và không nghi ngờ AHPND để so sánh, phân tích hồi qui, xác định điểm cắt (ngưỡng) bằng phần mềm thống kê sinh học chuyên dùng SPSS.

Nhằm làm cơ sở đề xuất các giải pháp kiểm soát tác nhân gây AHPND dựa trên việc tìm ra ngưỡng gây bệnh của tác nhân trong điều kiện cụ thể tại các ao nuôi tôm thẻ chân trắng thương phẩm, chúng tôi thực hiện nghiên cứu “Xác định giá trị ngưỡng của tác nhân gây bệnh hoại tử gan tụy cấp ở tôm thẻ chân trắng trong ao nuôi tôm thương phẩm và đề xuất giải pháp phòng ngừa”. Nghiên cứu này là kết quả của đề tài cấp Bộ: “Nghiên cứu xây dựng quy trình kiểm soát bệnh do vi khuẩn gây ra trên một số đối tượng thủy sản quan trọng” do Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III chủ trì thực hiện từ năm 2020-2023.

## II. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Thu thập, phân tích mẫu để xác định giá trị điểm cắt (ngưỡng)

Thu thập mẫu nước và mẫu tôm thẻ chân trắng cùng một thời điểm tại các ao nuôi tôm thương phẩm ở các tỉnh Nam Định (xã Bạch Long, huyện Giao Thủy; xã Hải Triều, huyện Hải Hậu; thị trấn Rạng Đông, huyện Nghĩa Hưng), Phú Yên (xã Xuân Cảnh, thị xã Sông Cầu; xã An Ninh Đông, huyện Tuy An; xã Hòa Hiệp Nam, thị xã Đông Hoà) và Bạc Liêu (xã Vĩnh Hậu, xã Vĩnh Thịnh, huyện Hoà Bình; phường Nhà Mát, thành phố Bạc Liêu) từ tháng 6/2020 đến tháng 6/2022. Số lượng mẫu thu được thể hiện ở Bảng 1.

**Bảng 1. Số lượng mẫu thu (tôm và nước ao tương ứng) ở các tỉnh Nam Định, Phú Yên và Bạc Liêu**

	Địa điểm thu mẫu			Tổng
	Nam Định	Phú Yên	Bạc Liêu	
Ao nghi ngờ bị AHPND (ao)	17	21	20	54
Ao không nghi ngờ bị AHPND (ao)	24	22	26	76
Tổng (ao)	41	43	46	130

Ao nuôi nghi ngờ bị AHPND là ao có tôm thẻ chân trắng biểu hiện dấu hiệu bệnh lý đặc trưng của AHPND (hoạt động không bình thường, hay tập mé/rót đáy; gan tụy teo, có đốm đen). Ao nuôi không nghi ngờ bị AHPND là những ao không thuộc ao nghi ngờ bị AHPND.

Mẫu thu được vận chuyển về phòng thí nghiệm của Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III (số 02 Đặng Tất, Nha Trang, Khánh Hoà) bằng thùng lạnh để phân tích. Riêng nhiệt độ, pH, độ mặn nước ao được đo tại nơi thu mẫu bằng máy đo đa chỉ tiêu Horiba, có độ chính xác 0,01 đơn vị đo.

Tôm thẻ chân trắng thu ở các ao được phân tích các chỉ tiêu: *V.parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB*, *V.parahaemolyticus* và *Vibrio* spp. trong tôm.

Mẫu nước đưa về phòng thí nghiệm phân tích các chỉ tiêu: N-NH<sub>3</sub>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, TSS, mật độ *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus* và *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* bằng phương pháp thể hiện ở Bảng 2.

Phương pháp định lượng *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus* và *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong các mẫu tôm và mẫu nước, cụ thể trình tự các bước như sau:

+ Định lượng *Vibrio* spp. tổng số (cfu/mL hoặc g) bằng việc nuôi cấy trên môi trường đặc thù TCBS.

+ Định lượng *V. parahaemolyticus* được thực hiện bằng việc nuôi các khuẩn lạc xanh (trên TCBS) trên môi trường chuyên biệt Chrom agar. Số khuẩn lạc (cfu/mL hoặc g) có màu tím hoa cà trên môi trường Chrom agar đó chính là *V. parahaemolyticus*.

+ Xác định mật độ *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* (cfu/mL hoặc g) bằng việc sử dụng phương pháp Realtime PCR kiểm tra các khuẩn lạc màu tím hoa cà (trên môi trường Chrom agar), khuẩn lạc nào cho kết quả dương tính với cặp mồi AHPND, đó chính là *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* gây AHPND tôm thẻ chân trắng.

**Bảng 2. Phương pháp phân tích các chỉ tiêu môi trường nước ở ao nuôi tôm thẻ chân trắng**

TT	Chỉ tiêu	Phương pháp phân tích
1	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	Diazotization Method (Method 8507 Hach)
2	N- NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	Salicylate Method (Method 8155 Hach)
3	TSS (mg/L)	TCVN 6625:2000

**2.2. Phương pháp xử lý số liệu**

- Sử dụng phép kiểm định Independent-Samples T-Test trên SPSS ver 20.0 [8] cho các số liệu thu được để so sánh sự khác biệt trung bình giữa các biến định lượng với các giá trị khác nhau của một biến định tính.

- Xác định điểm cắt (ngưỡng) bằng phương pháp đường cong ROC trên SPSS, cụ thể:

Xác định điểm cắt (ngưỡng) dựa trên số liệu đo, phân tích được (các biến độc lập định lượng) gồm: độ mặn, pH, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, TSS, *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus*, *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong nước; *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus*, *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong mẫu tôm với bệnh trạng tôm thẻ chân trắng (biến phụ thuộc), có 2 trạng thái phân biệt: có/không AHPND. Nghĩa là tìm điểm cắt (ngưỡng) có độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhất khi phân tích các số liệu thu được bằng phương

pháp đường cong ROC trên SPSS.

Điểm cắt (ngưỡng) là điểm có chỉ số J (Youden index) cao nhất. Chỉ số J là trị số cao nhất của tổng độ nhạy (Se) và độ đặc hiệu (Sp) trừ đi 1, nghĩa là J= max (Se+Sp-1). Sử dụng bảng tọa độ của đường cong ROC (Coordinates of the Curve) trong kết quả phân tích bằng SPSS để xác định giá trị J.

Mỗi điểm trên đường cong ROC là tọa độ tương ứng với tần suất dương tính thật (độ nhạy) trên trục tung và tần suất dương tính giả (1- độ đặc hiệu) trên trục hoành. Đường biểu diễn càng lệch về phía trên, bên trái thì sự phân biệt giữa 2 trạng thái (có/không AHPND) càng rõ. Độ chính xác được đo lường bằng vùng dưới đường cong ROC (AUC-Area Under the Curve), là tích phân của hàm y (độ nhạy) theo x (1-độ đặc hiệu). Phương pháp đánh giá dựa vào thang giá trị AUC như Bảng 3 [12].

**Bảng 3. Đánh giá ý nghĩa của vùng dưới đường cong ROC (AUC)**

Giá trị AUC	Ý nghĩa
0,9-1,0 (90-100%)	Tuyệt hảo
0,8-0,9 (80-90%)	Rất tốt
0,7-0,8 (70-80%)	Tốt
0,6-0,7 (60-70%)	Tạm được
0,5-0,6 (50-60%)	Không giá trị

Độ nhạy (Sensitivity-Se) của một thử nghiệm là tỷ lệ những trường hợp thực sự có bệnh (AHPND) và có kết quả xét nghiệm dương tính với tác nhân gây bệnh (dương tính thật) trong toàn bộ các trường hợp có kết quả dương tính (dương tính thật và âm tính giả).

Độ đặc hiệu (Specificity-Sp) của một thử nghiệm là tỷ lệ những trường hợp thực sự không có bệnh (AHPND) và có kết quả xét nghiệm âm tính với tác nhân gây bệnh (âm tính thật) trong toàn bộ các trường hợp có kết quả âm tính (âm tính thật và dương tính giả).

Giá trị tiên đoán dương (Positive Predictive Value - PPV) là tỷ lệ giữa các kết quả xét nghiệm dương tính với tác nhân gây bệnh (dương tính thật) so với tổng số các kết quả xét nghiệm dương tính, hay chính là xác suất bị bệnh của đàn tôm có kết quả dương tính qua thử nghiệm.

Giá trị tiên đoán âm (Negative Predictive Value - NPV) là tỷ lệ giữa các kết quả xét nghiệm âm tính với tác nhân gây bệnh (âm tính thật) so với tổng số các kết quả xét nghiệm âm tính, hay chính là xác suất không bị bệnh của đàn tôm có kết quả âm tính qua thử nghiệm.

Sử dụng phân tích hồi qui nhị phân đa biến (binary logistic) trên SPSS [8] để xác định giá trị tiên đoán kết quả tôm thể chân trắng nuôi thương phẩm trong ao bị AHPND (giá trị tiên đoán dương -PPV) hay không bị AHPND (giá trị tiên đoán âm-NPV).

### III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. Kết quả thống kê mô tả mẫu nghiên cứu

Kết quả thống kê mô tả mẫu nghiên cứu (các yếu tố môi trường nước/tôm trong các ao nghi ngờ/không nghi ngờ có tôm bị AHPND) được trình bày ở Bảng 4.

**Bảng 4. Thông kê mô tả các yếu tố môi trường nước/tôm ở ao nghi ngờ có và không có tôm bị AHPND**

Các yếu tố	Ao tôm không bị AHPND		Ao tôm bị AHPND		p
	N	Trung bình (Nhỏ nhất-Lớn nhất)	N	Trung bình (Nhỏ nhất-Lớn nhất)	
<b>Tôm thể chân trắng</b>					
<i>Vibrio</i> spp. tôm (cfu/g)	54	3,7x10 <sup>3</sup> (<10 - 1,1x10 <sup>4</sup> )	54	2,2x10 <sup>5</sup> (4,0x10 <sup>3</sup> - 7,8x10 <sup>5</sup> )	0,000
<i>V. parahaemolyticus</i> tôm (cfu/g)	54	1,2x10 <sup>3</sup> (<10 - 7,4x10 <sup>3</sup> )	54	8,3x10 <sup>4</sup> (3,2x10 <sup>3</sup> - 4,3x10 <sup>5</sup> )	0,000
<i>V. parahaemolyticus</i> mang gen <i>pirA/pirB</i> (cfu/g)	54	<10	54	8,0x10 <sup>4</sup> (3,2x10 <sup>3</sup> - 4,3x10 <sup>5</sup> )	0,000
<b>Trong môi trường nước</b>					
<i>Vibrio</i> spp. nước (cfu/ml)	54	1,6x10 <sup>3</sup> (0 - 4,5x10 <sup>3</sup> )	54	6,0x10 <sup>4</sup> (3,0x10 <sup>3</sup> - 2,2x10 <sup>5</sup> )	0,000
<i>V. parahaemolyticus</i> nước (cfu/mL)	54	7,9x10 <sup>2</sup> (0 - 3,0x10 <sup>3</sup> )	54	4,0x10 <sup>4</sup> (2,9x10 <sup>3</sup> - 1,0x10 <sup>5</sup> )	0,000
<i>V. parahaemolyticus</i> mang gen <i>pirA/pirB</i> (cfu/g)	54	<10	54	3,4x10 <sup>4</sup> (2,7x10 <sup>3</sup> - 9,9x10 <sup>4</sup> )	0,000
Nhiệt độ (°C)	76	28,80 (24,00 - 32,40)	54	30,00 (24,00 - 33,40)	0,002
Độ mặn (‰)	76	29,00 (27,00 - 32,00)	54	31,00 (26,00 - 32,00)	0,000



Các yếu tố	Ao tôm không bị AHPND		Ao tôm bị AHPND		p
	N	Trung bình (Nhỏ nhất-Lớn nhất)	N	Trung bình (Nhỏ nhất-Lớn nhất)	
pH	76	7,90 (7,40 - 8,50)	54	8,30 (7,20 - 8,80)	0,000
N-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	54	0,032 (0,006 - 0,130)	54	0,106 (0,010 - 0,185)	0,000
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	54	0,011 (0,001 - 0,041)	54	0,048 (0,002 - 0,148)	0,000
TSS (mg/L)	54	10,4 (1,1 - 44,0)	54	23,9 (8,9 - 51,0)	0,000

N- Số lượng ao; p- mức ý nghĩa

Kết quả từ Bảng 4 cho thấy, ở các ao tôm thể chân trắng bị AHPND (tôm có biểu hiện hoạt động không bình thường, hay tấp mé/rớt đáy; gan tụy teo, có đốm đen), trung bình của mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus* và *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong mẫu gan tụy tôm lần lượt theo thứ tự là: 2,2x10<sup>5</sup> cfu/g; 8,3x10<sup>4</sup> cfu/g và 8,0x10<sup>4</sup> cfu/g, cao hơn đáng kể so ao không bị AHPND (Bảng 4). Tương tự vậy, trung bình mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus*, *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* và các thông số: nhiệt độ, độ mặn, N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, TSS trong mẫu nước ở các ao tôm thể chân trắng bị AHPND lần lượt là: 6,4x10<sup>4</sup> cfu/mL; 4,0x10<sup>4</sup> cfu/mL; 3,4x10<sup>4</sup> cfu/mL; 30,00°C; 31,00‰; 8,30; 0,106 mg/L, 0,048 mg/L và 23,9 mg/L, tăng so với ao không bị AHPND (Bảng 4).

Kết quả kiểm định Independent-Samples Test trên SPSS cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05) giữa giá trị trung bình của các yếu tố: nhiệt độ, độ mặn, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, TSS, *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus*, *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong

nước và yếu tố *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus*, *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong gan tụy tôm ở những ao bị AHPND và ao không bị AHPND. Điều này cho thấy, có mối quan hệ chặt chẽ giữa các yếu tố với sự xuất hiện của bệnh hoại tử gan tụy cấp tôm thể chân trắng trong ao nuôi thương phẩm.

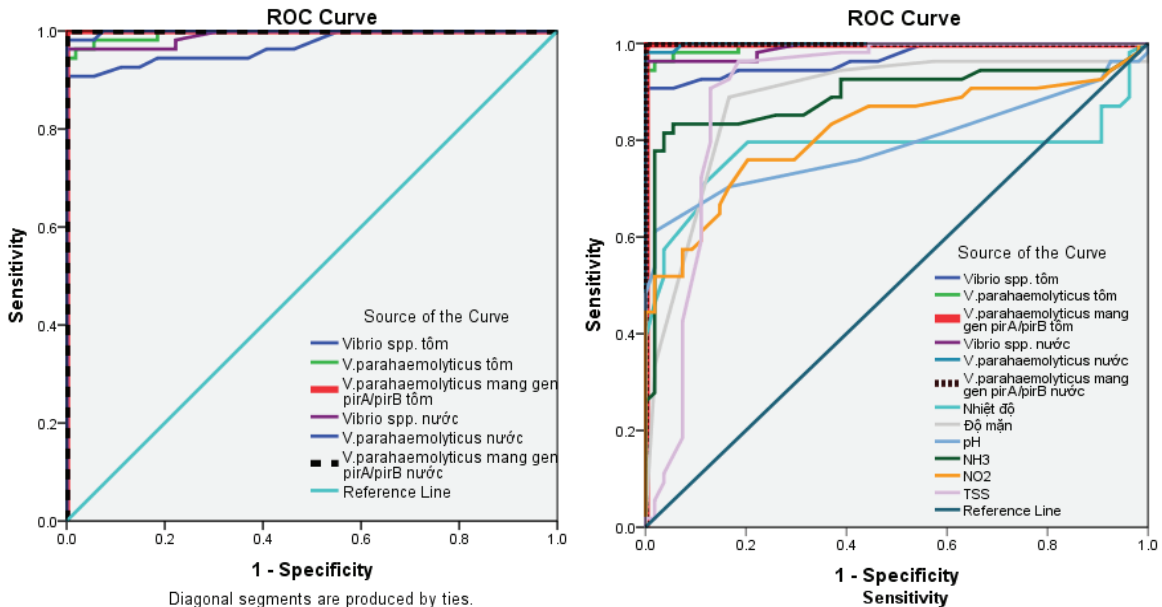
### 3.2. Kết quả xác định giá trị điểm cắt (ngưỡng) bằng phương pháp đường cong ROC

Từ số liệu đo hiện trường, phân tích trong phòng thí nghiệm môi trường nước các ao nuôi thương phẩm tôm thể chân trắng (các biến độc lập định lượng) gồm: Nhiệt độ, độ mặn, pH, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, TSS, *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus*, *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong nước; các yếu tố *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus*, *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong mẫu tôm thu được ở các ao cùng thời điểm với bệnh trạng tôm thể chân trắng tại lúc thu mẫu (biến phụ thuộc: có/không AHPND), được đưa vào phân tích bằng phương pháp đường cong ROC trên SPSS. Kết quả thu được thể hiện ở Bảng 5 và Hình 1.

**Bảng 5. Giá trị điểm cắt (ngưỡng) của các yếu tố vô sinh, hữu sinh trong môi trường nước ao nuôi và tôm nuôi có tác động đến AHPND ở tôm thể chân trắng trong ao nuôi thương phẩm**

Các yếu tố	Điểm cắt (ngưỡng)	AUC (vùng dưới đường cong ROC)	Sensitivity (độ nhạy) (Se)	1-Specificity (Sp) (1-Độ đặc hiệu)	J	P
<b>Trong tôm thể chân trắng nuôi</b>						
<i>Vibrio</i> spp. (cfu/g)	1,2x10 <sup>4</sup>	0,969	0,907	0,000	0,907	0,000
<i>V. parahaemolyticus</i> (cfu/g)	7,7x10 <sup>3</sup>	0,995	0,944	0,000	0,944	0,000
<i>V. parahaemolyticus</i> mang gen <i>pirA/pirB</i> (cfu/g)	1,6x10 <sup>3</sup>	1,000	1,000	0,000	1,000	0,000

Các yếu tố	Điểm cắt (ngưỡng)	AUC (vùng dưới đường cong ROC)	Sensitivity (độ nhạy) (Se)	1-Specificity (Sp) (1-Độ đặc hiệu)	J	P
<b>Trong môi trường nước ao nuôi</b>						
<i>Vibrio</i> spp. (cfu/mL)	6,7x10 <sup>3</sup>	0,991	0,963	0,000	0,963	0,000
<i>V. parahaemolyticus</i> (cfu/mL)	4,7x10 <sup>3</sup>	0,999	0,981	0,000	0,981	0,000
<i>V. parahaemolyticus</i> mang gen <i>pirA/pirB</i> (cfu/mL)	1,3x10 <sup>3</sup>	1,000	1,000	0,000	1,000	0,000
Nhiệt độ (°C)	29,95	0,778	0,796	0,224	0,573	0,002
Độ mặn (‰)	30,50	0,884	0,889	0,276	0,613	0,000
pH	8,15	0,791	0,611	0,079	0,532	0,000
N-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> (mg/l)	0,080	0,891	0,815	0,037	0,778	0,000
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	0,015	0,818	0,759	0,204	0,556	0,000
TSS (mg/L)	14,15	0,900	0,907	0,130	0,778	0,000



**Hình 1.** Đồ thị biểu diễn vùng dưới đường cong ROC (AUC) của các biến độc lập định lượng: *Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus*, *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong mẫu tôm và mẫu nước (bên trái) và các biến độc lập định lượng (bên phải) thu được ở các ao nuôi có/không có AHPND.

Kết quả từ Bảng 5 và Hình 1 cho thấy, vùng AUC ở mức tốt trở lên (AUC ≥ 70%) gồm các yếu tố vô sinh trong môi trường nước như: Nhiệt độ 0,778 (77,8%); độ mặn: 0,884 (88,4%); pH: 0,791 (79,1%), N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>: 0,891 (89,1%); N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>: 0,818 (81,8%) và TSS: 0,900 (90,0%), với mức ý nghĩa p<0,05. Vùng AUC của các yếu tố hữu sinh gồm: *Vibrio* spp., *V.*

*parahaemolyticus*, *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong mẫu tôm thẻ chân trắng nuôi trong ao ở mức tốt trở lên (AUC ≥ 70%) lần lượt là 0,969 (96,9%), 0,995 (99,5%) và 1,000 (100,0%), với p<0,05; trong môi trường nước ao nuôi tương ứng là 0,991 (99,1%), 0,999 (99,9%) và 1,000 (100,0%), với p<0,05. Như vậy, hàm lượng các yếu tố vô sinh (nhiệt

độ, độ mặn, pH, N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> và TSS) và mật độ các yếu tố hữu sinh (*Vibrio* spp., *V. parahaemolyticus*, *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB*) ở môi trường nước và tôm thẻ chân trắng nuôi trong ao thương phẩm cao hay thấp đều có khả năng phân biệt giữa hai trạng thái: bị và không bị bệnh hoại tử gan tụy cấp ở tôm thẻ chân trắng trong ao nuôi thương phẩm. Riêng mật độ *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* ở tôm thẻ chân trắng và trong nước ao đều cho giá trị AUC = 1,000 (100,0%);

Giá trị J = max (Se+Sp-1) của *Vibrio parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* (tác nhân gây AHPND) trong 108 mẫu tôm thẻ chân trắng và mẫu nước ao nuôi tôm tương ứng được xác định trong kết quả phân tích bảng tọa độ của đường cong ROC (Coordinates of the Curve) bởi SPSS đều bằng 1,000, ứng với giá trị điểm cắt (ngưỡng) lần lượt là 1,6x10<sup>3</sup> cfu/g và 1,3x10<sup>3</sup>cfu/mL, với độ nhạy và độ đặc hiệu đều bằng 1,000 (Bảng 5). Điều này chứng tỏ, sự phân biệt giữa hai trạng thái: bị và không bị AHPND ở tôm thẻ chân trắng trong ao nuôi thương phẩm là tuyệt đối. Đồng nghĩa với việc *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* chính là tác nhân gây AHPND ở tôm thẻ chân trắng trong ao nuôi tôm thương phẩm thu mẫu ở các vùng nghiên cứu của các tỉnh Nam Định, Phú Yên và Bạc Liêu từ 6/2020-6/2022.

Ngoài ra, kết quả từ Bảng 5 cũng cho thấy, điểm cắt (ngưỡng) xuất hiện AHPND của *Virio* spp., *V. parahaemolyticus* trong mẫu tôm thẻ chân trắng và mẫu nước ao nuôi thương phẩm lần lượt là 1,2x10<sup>4</sup> cfu/g và 7,7 x 10<sup>3</sup> cfu/g (mẫu

tôm); 6,7x10<sup>3</sup> cfu/mL và 4,7 x 10<sup>3</sup> cfu/mL (mẫu nước), tương ứng với độ nhạy (Se) 0,907 và 0,944 (mẫu tôm); 0,963 và 0,981 (mẫu nước); độ đặc hiệu (Sp) đều bằng 1,000 (100,0%). Mặc khác kết quả của bảng 6 cũng chỉ ra, giá trị điểm cắt của hàm lượng các yếu tố vô sinh (nhiệt độ, độ mặn, pH, N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> và TSS) trong môi trường nước ao nuôi tôm lần lượt là 29,95°C; 30,5‰; 8,15, 0,080 mg/L, 0,015 mg/L và 14,15 mg/L, tương ứng với độ nhạy (Se) 0,796 (79,6%); 0,889 (88,9%), 0,611 (61,1%), 0,815 (81,5%), 0,759 (75,9%) và 0,907 (90,7%); độ đặc hiệu (Sp) lần lượt là 0,776; (77,6%), 0,724 (72,4%), 0,921 (92,1%), 0,963 (96,3%), 0,796 (79,6%) và 0,870 (87,0%). Điều này có nghĩa là, khi các yếu tố hữu sinh: *Vibrio* spp. ≥ 1,2 x 10<sup>4</sup> cfu/g (trong tôm), ≥ 6,7 x 10<sup>3</sup> cfu/mL (trong nước), *V. parahaemolyticus* ≥ 7,7 x 10<sup>3</sup> cfu/g (trong tôm), ≥ 4,7 x 10<sup>3</sup> cfu/mL (trong nước) và các yếu tố vô sinh: Nhiệt độ ≥ 29,95°C, độ mặn ≥ 30,5‰, pH ≥ 8,15, N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup> ≥ 0,080 mg/L, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ≥ 0,015 mg/L, TSS ≥ 14,15 mg/L thì giá trị tiên đoán tôm thẻ chân trắng nuôi thương phẩm trong ao bị AHPND từ tốt đến rất tốt và ngược lại.

Để xác định rõ hơn giá trị tiên đoán kết quả tôm thẻ chân trắng nuôi thương phẩm trong ao bị AHPND (giá trị tiên đoán dương -PPV) hay không bị AHPND (giá trị tiên đoán âm-NPV) khi giá trị các yếu tố vô sinh, hữu sinh trong ao nuôi tôm nhỏ hơn, lớn hơn/bằng giá trị điểm cắt, sử dụng phân tích hồi qui nhị phân đa biến trên phần mềm SPSS, kết quả được thể hiện ở Bảng 6.

**Bảng 6. Giá trị tiên đoán dương, giá trị tiên đoán âm tại điểm cắt (ngưỡng) của các yếu tố vô sinh, hữu sinh trong môi trường nước và tôm thẻ chân trắng nuôi thương phẩm**

Các yếu tố	Giá trị tiên đoán dương PPV (%)	Giá trị tiên đoán âm NPV (%)
<b>Trong tôm thẻ chân trắng nuôi</b>		
<b>Vibrio spp. (cfu/g)</b>	90,7	96,3
<i>V.parahaemolyticus</i> (cfu/g)	96,3	98,1
<i>V.parahaemolyticus</i> mang gen <i>pirA/pirB</i> (cfu/g)	100,0	100,0
<b>Trong môi trường nước ao nuôi</b>		
<b>Vibrio spp. (cfu/mL)</b>	96,3	100,0
<i>V.parahaemolyticus</i> (cfu/mL)	98,1	100,0
<i>V.parahaemolyticus</i> mang gen <i>pirA/pirB</i> (cfu/mL)	100,0	100,0

Nhiệt độ (°C)	51,9	94,7
Độ mặn (‰)	88,9	72,4
pH	61,1	92,1
N-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> (mg/L)	83,3	88,9
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	61,1	88,9
TSS (mg/L)	81,5	87,0

Kết quả từ Bảng 6 cho thấy giá trị tiên đoán dương tính (PPV) và âm tính (NPV) tại điểm cắt (ngưỡng) của yếu tố *Vibrio parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong mẫu tôm và mẫu nước ao nuôi đều bằng 100,0% (Bảng 6). Điều này có nghĩa là, xác suất có xuất hiện AHPND bằng 100% khi mật độ vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* lớn hơn hay bằng giá trị điểm cắt/ngưỡng ( $\geq 1,6 \times 10^3$  cfu/g hay  $1,3 \times 10^3$  cfu/mL) (PPV = 1,000) và ngược lại, xác suất không xuất hiện AHPND bằng 100% khi mật độ vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* nhỏ hơn giá trị điểm cắt/ngưỡng ( $< 1,6 \times 10^3$  cfu/g hay  $1,3 \times 10^3$  cfu/mL). Nói cách khác, ngưỡng mật độ vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* trong tôm thẻ chân trắng và môi trường nước ao nuôi thương phẩm là  $1,6 \times 10^3$  cfu/g hay  $1,3 \times 10^3$  cfu/mL.

Tương tự vậy, giá trị tiên đoán của kết quả dương tính (PPV) và âm tính (NPV) tại điểm cắt (ngưỡng) yếu tố *Virio spp.*, *V. parahaemolyticus* trong mẫu tôm thẻ chân trắng nuôi thương phẩm lần lượt là 90,7% và 96,3% (*Vibrio spp.*), 96,3% và 98,1% (*V. parahaemolyticus*) (Bảng 6). Điều này có nghĩa là, xác suất có xuất hiện AHPND bằng 90,7% khi mật độ vi khuẩn *Vibrio spp.*  $\geq 1,2 \times 10^4$  cfu/g (giá trị điểm cắt/ngưỡng); bằng 96,3% khi mật độ *Vibrio parahaemolyticus*  $\geq 7,7 \times 10^3$  cfu/g (giá trị điểm cắt/ngưỡng) và ngược lại, xác suất không xuất hiện AHPND bằng 96,3% khi mật độ vi khuẩn *Vibrio spp.*  $< 1,2 \times 10^4$  cfu/g (giá trị điểm cắt/ngưỡng); bằng 98,1% khi mật độ *Vibrio parahaemolyticus*  $< 7,7 \times 10^3$  cfu/g (giá trị điểm cắt/ngưỡng). Đồng thời, giá trị tiên đoán của kết quả dương tính (PPV) tại điểm cắt (ngưỡng) yếu tố của *Virio spp.*, *V. parahaemolyticus* mẫu nước ao nuôi lần lượt là 96,3% (*Vibrio spp.*), 98,1% (*V. parahaemolyticus*). Có nghĩa là xác

suất có xuất hiện AHPND bằng 96,3% khi mật độ vi khuẩn *Vibrio spp.* trong nước ao  $\geq 6,7 \times 10^3$  cfu/mL (giá trị điểm cắt/ngưỡng); bằng 98,1% khi mật độ *Vibrio parahaemolyticus*  $\geq 4,7 \times 10^3$  cfu/mL (giá trị điểm cắt/ngưỡng). Giá trị tiên đoán của kết quả âm tính (NPV) tại điểm cắt (ngưỡng) yếu tố của *Virio spp.*, *V. parahaemolyticus* mẫu nước ao nuôi đều bằng 100,0% (Bảng 6), đồng nghĩa với việc xác suất không xuất hiện AHPND bằng 100,0% khi mật độ vi khuẩn *Vibrio spp.* trong nước ao  $< 6,7 \times 10^3$  cfu/mL và *Vibrio parahaemolyticus*  $< 4,7 \times 10^3$  cfu/mL (giá trị điểm cắt/ngưỡng). Như vậy, vi khuẩn *Vibrio spp.* ở mật độ  $6,7 \times 10^3$  cfu/mL (trong nước),  $1,2 \times 10^4$  cfu/g (trong tôm); *V. parahaemolyticus* ở mật độ  $4,7 \times 10^3$  cfu/mL (trong nước),  $7,7 \times 10^3$  cfu/g (trong tôm) được xem là giá trị ngưỡng, góp phần gây AHPND ở các ao tôm thẻ chân trắng nuôi thương phẩm khi đã đủ số lượng tác nhân gây bệnh.

Giá trị tiên đoán của kết quả dương tính (PPV) và âm tính (NPV) tại điểm cắt (ngưỡng) của các yếu tố: Nhiệt độ, độ mặn, pH, N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> và TSS trong mẫu môi trường nước ao nuôi (Bảng 7) cho thấy, xác suất có xuất hiện AHPND bằng 51,9% khi giá trị nhiệt độ  $\geq 29,95^\circ\text{C}$  (giá trị điểm cắt/ngưỡng); bằng 88,9% khi giá trị độ mặn  $\geq 30,5\text{‰}$ ; bằng 61,1% khi giá trị pH  $\geq 8,15$ , bằng 83,3% khi giá trị N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>  $\geq 0,080$  mg/L; bằng 61,1% khi giá trị N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>  $\geq 0,015$  mg/L; bằng 81,5% khi giá trị TSS  $\geq 14,15$  mg/L và ngược lại, xác suất không xuất hiện AHPND bằng 94,7% khi giá trị nhiệt độ  $< 29,95^\circ\text{C}$ ; bằng 72,4% khi giá trị độ mặn  $< 30,5\text{‰}$ ; bằng 92,1% khi giá trị pH  $< 8,15$ ; bằng 88,9% khi giá trị N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>  $< 0,080$  mg/L; bằng 88,9% khi giá trị N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>  $< 0,015$  mg/L; bằng 87,0% khi giá trị TSS  $< 14,15$  mg/L. Nói cách khác, giá trị các yếu tố nhiệt độ:  $29,95^\circ\text{C}$ ; độ mặn: 30,5‰; pH: 8,15; N-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>: 0,080 mg/L;



N-NO<sub>2</sub>: 0,015 mg/L; TSS: 14,15 mg/L được xem là giá trị ngưỡng, góp phần gây AHPND ở các ao tôm thẻ chân trắng nuôi thương phẩm khi đã đủ số lượng tác nhân gây bệnh.

Kết quả nghiên cứu của Tran *et al.* (2013) [14], cảm nhiễm nhân tạo trong điều kiện phòng thí nghiệm bằng phương pháp ngâm cho thấy mật độ cảm nhiễm của chủng *V. parahaemolyticus* gây AHPND là  $2 \times 10^6$  cfu/mL. Kết quả nghiên cứu của Soto-Rodriguez *et al.* (2015) [13] cho thấy các chủng *V. parahaemolyticus* gây AHPND được phân lập ở Mexico có độc tính khác nhau, một số chủng không có khả năng gây chết tôm 100%. Mật độ cảm nhiễm có khả năng gây bệnh của các chủng này cũng đã được xác định là từ  $10^4$  cfu/mL trở lên. Chủng *V. parahaemolyticus* BĐB1.4v ở Đồng bằng sông Cửu Long đã được công bố giá trị LD<sub>50</sub> sau 24 giờ cảm nhiễm trong điều kiện thí nghiệm là  $8,0 \times 10^3$  [16]. Như vậy, có thể thấy rằng ở ngưỡng mật độ  $1,6 \times 10^3$  cfu/g gan tụy tôm và  $1,3 \times 10^3$  cfu/mL nước ao nuôi tôm thẻ chân trắng ở các vùng nuôi tại Nam Định, Phú Yên và Bạc Liêu, vi khuẩn *V. parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* phân lập được đã gây AHPND ở tôm thẻ chân trắng nuôi thương phẩm trong ao. Kết quả nghiên cứu này có thấp hơn kết quả nghiên cứu của Lê Thế Xuân (2020) và các nghiên cứu khác, điều này có thể được giải thích bởi vì số liệu nghiên cứu này được thu từ các ao đang nuôi tại các vùng nuôi tôm thương phẩm, trong khi nghiên cứu của Lê Thế Xuân (2020) [16] và các nghiên cứu khác là ở trong điều kiện thí nghiệm, đã được khống chế tối ưu các yếu tố môi trường.

Nghiên cứu của Bondad -Reantato (2016) [1] cho thấy, điều kiện môi trường ao nuôi tôm là yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến tác nhân gây bệnh và tôm nuôi, quyết định đến sự bùng phát dịch bệnh trong ao nuôi tôm [1]. Các yếu tố môi trường được cho là thúc đẩy bùng phát AHPND trong ao nuôi tôm bao gồm: nhiệt độ nước cao, độ mặn cao, pH cao, hàm lượng các chất dinh dưỡng trong nước cao; oxy hoà tan thấp và sự tích tụ nhiều của lớp bùn đáy ao [1]. Tôm nuôi dễ bị bệnh hơn khi có sự xuất hiện

của tác nhân gây bệnh kết hợp với stress bởi các điều kiện môi trường nuôi dưới mức tối ưu. Như vậy, có thể thấy rằng, kết quả nghiên cứu này cũng đã chỉ ra được 6 yếu tố môi trường, trong đó có 3 yếu tố (nhiệt độ, độ mặn, pH) giống với nhận định của Bondad - Reantato (2016) [1].

Như vậy, việc xác định giá trị ngưỡng của tác nhân gây AHPND và ngưỡng của các yếu tố hữu sinh, vô sinh khác trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng thương phẩm có mối quan hệ chặt chẽ với tác nhân gây AHPND là cơ sở khoa học quan trọng để kiểm soát các nhân tố này trong ao nuôi tôm, nhằm phòng ngừa sự xuất hiện của AHPND. Các kết quả nghiên cứu trước đây về kiểm soát sự xuất hiện AHPND ở tôm nước lợ nuôi thương phẩm gồm: Kiểm soát chặt chẽ chất lượng đầu vào trong quá trình nuôi như: con giống, thức ăn, nước, môi trường xung quanh,...[7], [15]; sử dụng chất kháng khuẩn có nguồn gốc từ tự nhiên như: dịch chiết lá trà không, lá ổi, thân lá cây thồm lôm, lá cây bàng, lựu, diệp hạ châu thân đỏ, diệp hạ châu thân xanh, bần ổi và bần chua [5], [17]; sử dụng thực khuẩn thể đặc hiệu [4]; sử dụng các công nghệ quản lý chất lượng nước trong nuôi tôm như công nghệ bio-floc, công nghệ semi-bio floc, công nghệ nuôi tôm 2 giai đoạn,... ([2], [15]; sử dụng định kỳ chế phẩm sinh học (*Bacillus spp.*, *Lactobacillus spp.*,...) kết hợp các chất làm tăng khả năng miễn dịch không đặc hiệu [7], [18], và cuối cùng là việc sử dụng kháng sinh (không có tính bền vững) đã được đề nghị áp dụng để hạn chế sự xuất hiện AHPND, tức là làm giảm dưới ngưỡng mật độ *V. parahaemolyticus* gây bệnh, làm tôm nuôi không xuất hiện bệnh hoại tử gan tụy cấp tính.

#### IV. KẾT LUẬN

Giá trị ngưỡng xuất hiện bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) của tác nhân gây bệnh *Vibrio parahaemolyticus* mang gen *pirA/pirB* ở gan tụy tôm thẻ chân trắng và trong môi trường nước ao nuôi thương phẩm tại các vùng thu mẫu trong nghiên cứu này lần lượt là  $1,6 \times 10^3$  cfu/g hay  $1,3 \times 10^3$  cfu/mL nước ao nuôi. Tôm thẻ chân trắng nuôi trong ao thương

phẩm bị AHPND khi trong gan tụy tôm và môi trường nước ao nuôi có mật độ vi khuẩn gây bệnh bằng hay vượt ngưỡng giá trị này.

Giá trị ngưỡng mật độ các yếu tố hữu sinh trong ao nuôi tôm thẻ chân trắng thương phẩm gồm: *Vibrio* spp.  $\geq 1,2 \times 10^4$  cfu/g (trong gan tụy tôm),  $\geq 6,7 \times 10^3$  cfu/mL (trong nước ao nuôi), *V. parahaemolyticus*  $\geq 7,7 \times 10^3$  cfu/g (trong gan tụy tôm),  $\geq 4,7 \times 10^3$  cfu/mL (trong nước ao nuôi) và giá trị ngưỡng của các yếu tố vô sinh: Nhiệt độ  $\geq 29,95^\circ\text{C}$ , độ mặn  $\geq 30,5\text{‰}$ , pH  $\geq 8,15$ ,  $\text{N-NH}_3^+$   $\geq 0,080$  mg/L,  $\text{N-NO}_2^-$   $\geq 0,015$  mg/L và TSS  $\geq 14,2$  mg/L được xem là các yếu tố liên quan mật thiết và quan trọng, góp phần gây bùng phát dịch bệnh hoại tử gan tụy cấp ở các ao tôm thẻ chân trắng nuôi thương

phẩm khi tác nhân gây bệnh đã đủ số lượng. Việc xác định giá trị ngưỡng xuất hiện AHPND của các yếu tố hữu sinh, vô sinh trong ao nuôi tôm thẻ phương phẩm là cơ sở khoa học quan trọng trong việc đánh giá các giải pháp kiểm soát bệnh này trước đây, gồm: Kiểm soát chặt chẽ chất lượng đầu vào trong quá trình nuôi; sử dụng chất kháng khuẩn có nguồn gốc từ tự nhiên; sử dụng thực khuẩn thể đặc hiệu; sử dụng các công nghệ quản lý chất lượng nước trong nuôi tôm; sử dụng định kỳ chế phẩm sinh học (*Bacillus* spp., *Lactobacillus* spp.,...) kết hợp các chất làm tăng khả năng miễn dịch không đặc hiệu, và cuối cùng là việc sử dụng kháng sinh.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bondad-Reantaso, M. (2016). Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of penaeid shrimps: Global perspective. In R. V. Pakingking Jr., E. G. T. de Jesus Ayson, & B. O. Acosta (Eds.), *Addressing Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) & Other Transboundary Diseases for Improved Aquatic Animal Health in Southeast Asia: Proceedings of the ASEAN Regional Technical Consultation on EMS/AHPND & Other Transboundary Diseases for Improved Aquatic Animal Health in Southeast Asia*, 2224 February 2016, Makati City, Philippines (pp. 1623). Tigbauan, Iloilo, Philippines: Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.
2. Dash, P., Avunje, S., Tandel, R. S., K. P., S., & Panigrahi, A. (2017). Biocontrol of Luminous Vibriosis in Shrimp Aquaculture: A Review of Current Approaches and Future Perspectives. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 25(3), 245–255.
3. Flegel T.W. (2012) Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia. *J. Invertebr. Pathol.* 110: 166-173.
4. Jun, J. W., Han, J. E., Tang, K. F. J., Lightner, D. V., Kim, J., Seo, S. W., & Park, S. C. (2016). Potential application of bacteriophage pVp-1: Agent combating *Vibrio parahaemolyticus* strains associated with acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp. *Aquaculture*, 457, 100-103.
5. Ghosh, A.K., Panda, S.K., and Luyten, WW., (2021). Anti-Vibrio and immune-enhancing activity of medicinal plant in shrimp: A comprehensive review. *Fish and Shellfish Immunology*, 117:192-210.
6. Han J.E., Tang K.F.J., Lightner D.V. (2015) Genotyping of the virulence plasmid harbored in the *Vibrio parahaemolyticus* isolates causing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp. *Dis. Aquat. Organ.* 115: 245–251
7. Võ Văn Nha (2015), *Nghiên cứu hội chứng gan tụy trên tôm sú và tôm thẻ chân trắng ở Đồng bằng sông Cửu Long*. Báo cáo tổng kết Đề tài KHCN cấp Nhà nước, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III.
8. Hoàng Trọng và Chu Nguyễn Mộng Ngọc (2005). Phân tích dữ liệu nghiên cứu với SPSS. *Nhà xuất bản Thống kê*, 349 trang.

9. Lai H.C., Tze H.N., Ando M., Lee C.T., Chen I.T., Chuang J.C., Mavichak R., Chang S.H., Yeh M.D., Chiang Y.A., Takeyama H., Hamaguchi H., Lo C.F., Aoki T., Wang H.C. (2015) Pathogenesis of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp. *Fish & Shellfish Immunology* 47: 1006-1014.
10. Lightner D.V., Redman R.M., Pantoja C.R., Noble B.L., Tran L. (2012) Early Mortality Syndrome affects shrimps in Asia. *Glob. Aquacult. Advocate*
11. Leano E.M., Mohan C.V. (2012) Early mortality syndrome threatens Asia's shrimp farms. *Global Aquaculture Advocate* July/Aug: 38-39.
12. Pepe MS. (2004). The statistical evaluation of medical tests for classification and prediction. Oxford University Press.
13. Soto-Rodriguez S.A., Gomez-Gill B., Lozano-Olvera R., Betancourt-Lozano M., MoralesCoarrubias M.S. (2015). Field and experimental evidence of *Vibrio parahaemolyticus* as the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease of cultured shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico. *Appl. Environ. Micro.* 81: 1689- 1699.
14. Tran L., Nunan L., Redman R.M., Mohney L.L., Pantoja C.R., 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.
15. Lê Hữu Tình, Lê Hồng Duyệt, Võ Văn Nha (2020), Ảnh hưởng của chế độ sử dụng chế phẩm sinh học đến hiệu quả nuôi tôm chân trắng (*Litopenaeus vannamei* boone, 1931) trong ao trên cát với nguồn nước biển ven bờ, *Tap chí Khoa học Công nghệ Thủy sản, số 4/2020*, Đại học Nha Trang, trang 94-104.
16. Lê Thế Xuân (2020), *Nghiên cứu ứng dụng vi khuẩn Bacillus sp. đối kháng với Vibrio parahaemolyticus trong nuôi tôm công nghiệp*, Luận án tiến sĩ ngành Nuôi trồng Thủy sản, Đại học Cần Thơ.
17. Hồng Mộng Huyền (2022), *Ảnh hưởng của chiết xuất thảo dược lên đáp ứng miễn dịch và khả năng kháng bệnh vi khuẩn trên tôm thẻ chân trắng (Penaeus vannamei)*, Luận án tiến sĩ ngành Nuôi trồng Thủy sản, Đại học Cần Thơ.
18. Zokaeifar, H. (2012). Selection and identification of non-pathogenic bacteria isolated from fermented pickles with antagonistic properties against two shrimp pathogens. *The Journal of antibiotics*, 65(6), 289-294.