

PHÂN LẬP VÀ ĐỊNH DANH VI KHUẨN *PHOTOTOBACTERIUM DAMSELAE* GÂY BỆNH TRÊN CÁ CHIM VÂY VÀNG TẠI KHÁNH HÒA BẰNG PHƯƠNG PHÁP SINH HÓA VÀ PHÂN TỬ

MOLECULAR AND BIOCHEMICAL IDENTIFICATION OF *PHOTOTOBACTERIUM DAMSELAE* ISOLATED FROM DISEASED GOLDEN POMPANO IN VIETNAM

Nguyễn Thị Anh Thu¹, Lê Thành Cường², Lê Ngọc Khoa³,
Văn Hồng Cẩm¹, Trương Ngọc Cao Trĩ³, Nguyễn Sỹ Tuấn⁴

1. Viện Công nghệ Sinh học và Môi trường, trường Đại học Nha Trang

2. Viện Nuôi trồng Thủy sản, trường Đại học Nha Trang

3. Sinh viên K63CNSH - Viện CNSH& MT, Đại học Nha Trang

4. Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế

*Tác giả liên hệ: Lê Thành Cường, Email: cuonglt@ntu.edu.vn

Ngày nhận bài: 16/5/2025; Ngày phản biện thông qua: 30/6/2025; Ngày duyệt đăng: 27/09/2025

TÓM TẮT

Nhiễm trùng xuất huyết và lở loét da ở cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.) là hội chứng thường gặp và ảnh hưởng lớn đến năng suất vụ nuôi. Nghiên cứu này tiến hành phân lập và định danh các vi khuẩn nghi ngờ là nguyên nhân gây bệnh ở cá chim nuôi lồng có dấu hiệu nhiễm trùng xuất huyết và chết rải rác tại Khánh Hòa. Các vi khuẩn Gram âm, hình que ngắn được quan sát và phân lập từ nội tạng của cá bệnh. Tổng số 10 chủng vi khuẩn có đặc điểm hình thái khuẩn lạc tương đồng trên các môi trường Nutrient Agar, TCBS, Hicrome™ *Vibrio* agar. Phân tích đặc tính sinh hóa bằng bộ API 20E cho thấy các chủng có phản ứng đồng nhất, phù hợp với *P. damsela* subsp. *damsela*. Phân tích khuếch đại gen *ureC* đặc hiệu bằng PCR cho sản phẩm ~448 bp ở tất cả các chủng, trùng khớp với đối chứng dương sử dụng DNA của loài *P. damsela*. Kết quả xác định tất cả các chủng vi khuẩn phân lập được từ cá chim vây vàng bệnh là *P. damsela* subsp. *damsela*. Kết quả này là cơ sở để thực hiện các nghiên cứu tiếp theo về độc lực và khả năng gây bệnh của vi khuẩn này trên cá chim vây vàng tại Việt Nam.

Từ khóa: *Photobacterium damsela*, cá chim vây vàng, vi khuẩn gây bệnh, cá nuôi lồng, Khánh Hoà.

ABSTRACT

Hemorrhagic septicemia and skin ulcers in golden pompano (*Trachinotus* spp.) are common syndromes that significantly impact aquaculture productivity. This study aimed to isolate and identify bacteria suspected to be the causative agents in cage-cultured pompano exhibiting hemorrhagic septicemia and sporadic mortality in Khanh Hoa. Gram-negative, short rod-shaped bacteria were observed and isolated from the internal organs of diseased fish. A total of six bacterial strains with similar colony morphology were obtained on Nutrient Agar, TCBS, and Hicrome™ *Vibrio* agar. Biochemical characterization using the API 20E system showed that all isolates had identical profiles of *P. damsela* subsp. *damsela*. Species-specific PCR amplification of the *ureC* gene produced ~448 bp products in all isolates, matching the positive control using DNA from *P. damsela*. The results confirm that all bacterial isolates from diseased pompano are *P. damsela* subsp. *damsela*. These findings provide a basis for further studies on the virulence and pathogenicity of this bacterium in golden pompano in Việt Nam.

Keywords: *Photobacterium damsela*, golden pompano, pathogenic bacteria, sea-cage farming, Khánh Hoà

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xuất huyết và lở loét da là một trong những bệnh lý thường gặp ở cá nuôi, trong đó

có cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.) nuôi lồng trên biển. Nhiều loài cá biển có giá trị kinh tế cao được nuôi phổ biến trên thế giới

đã được báo cáo mắc bệnh lý này bao gồm cá mú (*Epinephelus spp.*), cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii*), cá tráp (*Sparus aurata*), cá chẽm (*Lates calcarifer*), cá cam (*Seriola quinqueradiata*), và cá hồng (*Pagrus major*). Bệnh có thể xảy ra ở mọi giai đoạn phát triển, nhưng tỷ lệ nhiễm cao nhất thường gặp ở cá giống và cá thương phẩm có trọng lượng từ 50–500 g/con. Trong các đợt bùng phát nghiêm trọng, tỷ lệ chết tại ao hoặc lồng bè có thể dao động từ 30–80%, đặc biệt khi cá bị stress do thay đổi môi trường hoặc mật độ nuôi cao [4]. Ở Việt Nam và các nước Đông Nam Á, cá chim vây vàng, cá bớp và cá mú là đối tượng thường xuyên ghi nhận dịch bệnh với mức độ thiệt hại lớn, ảnh hưởng trực tiếp đến sản lượng và lợi nhuận của người nuôi [9]. Các báo cáo gần đây cũng cho thấy bệnh đang có xu hướng gia tăng ở các vùng nuôi thâm canh, đặc biệt trong điều kiện biến đổi khí hậu và ô nhiễm môi trường nước.

Dấu hiệu bệnh lý của bệnh cá rất đa dạng và thay đổi tùy theo loài cá nhưng phổ biến là màu da cá sẫm, lở loét, xuất huyết trên vây hoặc da, mòn cục vẩy. Mắt cá có thể bị lồi, đục hoặc xuất huyết. Cá bệnh thường bơi lơ dờ, mất phản xạ, nổi gần mặt nước hoặc nằm đáy ao/lồng, giảm hoặc bỏ ăn, thân hình gầy yếu. Nội tạng có các dấu hiệu như xuất huyết, hoại tử ở gan, thận, lách; lách thường sưng to, dễ vỡ; ứ dịch viêm trong khoang bụng; mang nhợt màu hoặc xuất huyết. Bệnh có thể do nhiều nguyên nhân trong đó vi khuẩn, virus, ký sinh trùng và nấm là nguyên nhân sinh học có thể đóng vai trò là tác nhân chính hoặc cơ hội trong quá trình gây bệnh cho cá nuôi.

Photobacterium damsela thuộc họ Vibrionaceae được xác định là một trong những tác nhân vi khuẩn phổ biến nhất gây hội chứng xuất huyết và lở loét trên cá nuôi. *P. damsela* mang nhiều yếu tố gây độc như khả năng dung giải hồng cầu (hemolysin), gây độc tế bào (cytotoxin), khả năng hình thành màng sinh học và kháng kháng sinh. Các khả năng này giúp chúng xâm nhập dễ dàng vào vật chủ qua các vết thương ngoài da, sau đó lan truyền

vào máu và gây vết loét rộng trên thân, tổn thương nghiêm trọng đến các cơ quan nội tạng như gan, thận, lách, trứng bụng và đôi khi mất lồi. Vi khuẩn này bao gồm hai phân loài chính là *P. damsela* subsp. *damsela* và *P. damsela* subsp. *piscicida* được phân biệt bởi sự có mặt gen độc tố ureC ở phân loài subsp. *damsela*.

Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận *P. damsela* là tác nhân gây bệnh nghiêm trọng trên cá chim vây vàng với tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ chết rất cao. Theo Wang et al. (2013), *P. damsela* subsp. *piscicida* lần đầu tiên được phân lập từ cá chim vây vàng nuôi tại Trung Quốc, với liều gây chết LD₅₀ là $1,1 \times 10^6$ CFU/mL [13]. Trong các thí nghiệm cảm nhiễm cho thấy cá có tỷ lệ chết lên tới 80–85% chỉ trong vòng 7 ngày sau khi tiêm nồng độ vi khuẩn ($2,75 \times 10^6$ – $2,75 \times 10^7$ CFU/con), trong khi nhóm đối chứng không ghi nhận cá chết. Ngoài ra, các báo cáo tại Indonesia và Ấn Độ cũng xác nhận *P. damsela* subsp. *damsela* gây chết hàng loạt trên cá chim vây vàng, với biểu hiện bệnh lý điển hình là xuất huyết, tổn thương lách, thận, gan, và tỷ lệ chết tự nhiên tại ao/lồng có thể từ 30% đến trên 80% tùy điều kiện môi trường và mật độ nuôi [7]. Một số trường hợp, bệnh có thể gây chết toàn bộ đàn cá nếu không được phát hiện và xử lý kịp thời. Các tác giả đều nhấn mạnh mức độ nguy hiểm và khả năng lây lan nhanh của *P. damsela* trong điều kiện nuôi thâm canh, đặc biệt khi nhiệt độ nước cao và chất lượng môi trường suy giảm.

Tại Việt Nam, một số nghiên cứu cho thấy *P. damsela* là nguyên nhân gây bệnh lý viêm loét da, xuất huyết và phù mắt trên các loài cá bớp, cá mú, cá hồng và tôm chân trắng [3, 12]. Các dấu hiệu tương tự đã được ghi nhận trên một số lồng nuôi cá chim vây vàng thương phẩm trên biển tại Khánh Hòa, đặc biệt là vào các tháng nhiệt độ cao trong năm. Nghiên cứu này tiến hành khảo sát sự hiện diện của loài vi khuẩn nghi ngờ là nguyên nhân gây ra các đợt dịch bệnh trên, góp phần hoàn thiện cơ sở khoa học cho công tác chẩn đoán, phòng ngừa và kiểm soát dịch bệnh trong nuôi cá chim biển tại Việt Nam.

II. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Thu mẫu

Tổng số 18 cá thể của 6 mẫu cá chim vây vàng (*Trachinotus spp.*), trọng lượng từ 32-325g, từ các lồng nuôi thương phẩm có hiện tượng chết rải rác tại xã Cam Lập và xã Vạn Thạnh, tỉnh Khánh Hòa đã được thu từ tháng 4-10 năm 2021. Mẫu cá bệnh thu tại hiện trường được cho vào túi nhựa riêng, giữ lạnh trong quá trình vận chuyển về phòng thí nghiệm.

2. Phân lập và nuôi cấy vi khuẩn

Bề mặt cá và nội tạng được sát trùng bằng cồn 70% trước khi dịch từ gan, thận và lách được cấy ria lên môi trường Nutrient Agar có bổ sung 1,5% NaCl (NA+). Đồng thời, các tác nhân nghi ngờ ở các cơ quan trên cũng được kiểm tra thông qua phương pháp soi tươi và mẫu phết nhuộm Gram. Các đĩa môi trường cấy khuẩn được ủ 16-24 giờ ở 28–30°C trước khi các đặc điểm hình thái kích thước, hình dạng, rìa và màu sắc các khuẩn lạc phát triển được quan sát và ghi nhận. Dạng khuẩn lạc phổ biến nhất được làm thuần bằng cách tiếp tục cấy truyền sang các môi trường NA+, TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar) và Hicrome™ *Vibrio* agar. Chúng thuần được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB (Tryptic Soy Broth) có bổ sung 1,5% NaCl và giữ giống vi khuẩn trong glycerol (15% thể tích) bảo quản ở -20°C và -80°C [2].

3. Định danh hình thái và sinh hóa

3.1. Nhuộm Gram, quan sát hiển vi

Để xác định tính chất Gram và hình thái tế bào, nhuộm Gram được thực hiện theo quy trình tiêu chuẩn. Một khuẩn lạc thuần được dàn mỏng trên lam kính có nhỏ sẵn dung dịch NaCl 1,5%, cố định bằng cách hơi nhẹ qua ngọn lửa, sau đó lần lượt nhuộm bằng Crystal Violet, dung dịch Lugol, tẩy bằng cồn 70% và nhuộm nền bằng fuchsin. Quan sát dưới kính hiển vi quang học (vật kính dầu 100×) để nhận diện vi khuẩn Gram âm – màu hồng, hay Gram dương - màu xanh.

3.2. Test sinh hóa bằng bộ API 20E

Bộ test API 20E (BioMérieux, Pháp) được sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất để định danh các chủng vi khuẩn. Cụ thể, vi khuẩn phát triển trên môi trường NA+ ở nhiệt độ 28–30°C

trong 16–24 giờ được thu để chuẩn bị dung dịch huyền phù bằng nước muối sinh lý 0,85%. Mật độ vi khuẩn điều chỉnh đến độ đục tương đương chuẩn McFarland 0.5 ($\sim 1.5 \times 10^8$ CFU/mL). Huyền phù được nhỏ vào 20 vi ống của strip API 20E bằng micropipette vô trùng và ủ trong buồng ẩm ở 28–30°C. Sau 16–24 giờ ủ, thuốc thử đặc hiệu như Kovac's (cho ống INDO) và VP1/VP2 (cho ống VP) được bổ sung. Kết quả được ghi nhận dựa trên sự thay đổi màu sắc của từng vi ống, sau đó mã hóa thành chuỗi 7 chữ số. Sau khi đọc và mã hóa kết quả, các profile kể trên được nhập vào hệ thống APIweb để so sánh với cơ sở dữ liệu chuẩn, từ đó xác định loài vi khuẩn với độ tin cậy cao. Khả năng tán huyết của các chủng được kiểm tra bằng cách cấy lên môi trường thạch máu Blood Agar (bổ sung 5% máu cừu). Tiến hành với vi khuẩn đối chứng không tan huyết. Đọc kết quả sau khi ủ ở 28-30°C trong 24 giờ.

4. Định danh sinh học phân tử

Khuẩn lạc đơn của mỗi chủng từ môi trường NA+ được thu để tách chiết DNA tổng số theo phương pháp CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) với một số điều chỉnh. Cụ thể, khuẩn lạc được nghiền trong 600 μ L dung dịch CTAB 2% và ủ ở 65°C trong 30 phút, vortex định kỳ mỗi 5 phút. Mẫu sau đó được ly tâm ở 8.000 vòng/phút trong 25 phút (4°C) để thu dịch nổi, tiếp tục xử lý bằng sodium acetate và isopropanol để kết tủa DNA. Sau hai lần rửa bằng ethanol 70%, tủa DNA được hòa tan trong 30 μ L Elution buffer và bảo quản ở -20°C. Nồng độ và độ tinh sạch DNA được kiểm tra bằng máy đo NanoDrop 2000c (Thermo Fisher Scientific).

DNA của vi khuẩn đã được sử dụng trong phản ứng PCR định danh các loài *Vibrio*, *Photobacterium* thông qua khếch đại một số gen chỉ thị đặc trưng cho loài. Tuy nhiên, kết quả dương tính được phát hiện trong phản ứng khếch đại gen độc tố *ureC* đặc trưng cho *P. damsela* theo quy trình của Terceti và cộng sự [10]. Cụ thể, cặp mồi đặc hiệu ureC-VP-F (TCCGGAATAGGTAAAGCGG) và ureC-VP-R (CTTGAATATCCATCTCATCTGC) được sử dụng trong phản ứng PCR với thể tích 25 μ L chứa 12,5 μ L HS Mix (enzyme), 0,5 μ L

mỗi loại mồi, 2 μ L DNA khuôn và 9,5 μ L nước cất vô trùng. Chu trình nhiệt gồm các bước biến tính ban đầu ở 95°C trong 5 phút; 30 chu kỳ với 95°C trong 30 giây, 52,5°C trong 30 giây, 72°C trong 30 giây; và kéo dài cuối cùng ở 72°C trong 1 phút, thực hiện trên máy PCR BioRad. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose 1,5% nhuộm ethidium bromide, chạy trong đệm TBE 1X ở 100V trong 25 phút, kèm thang chuẩn DNA (marker 1000 bp). Kết quả được phát hiện và ghi nhận bằng hệ thống phát tia UV (Transilluminator Cleaver Scientific, Anh).

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

1. Dấu hiệu bệnh lý



Hình 1: Cá chim vây vàng (*Trachinotus spp.*) nuôi lồng trên biển bị xuất huyết lở loét. Hình A: cá bị lở loét ở đuôi (mũi tên) và đục mắt (mũi tên). Hình B: xuất huyết ở mắt (mũi tên). Hình C: nhiễm trùng xuất huyết ở gốc vây (mũi tên). Hình D: nhiễm trùng xuất huyết ở các vây (mũi tên).

2. Kết quả phân lập vi khuẩn

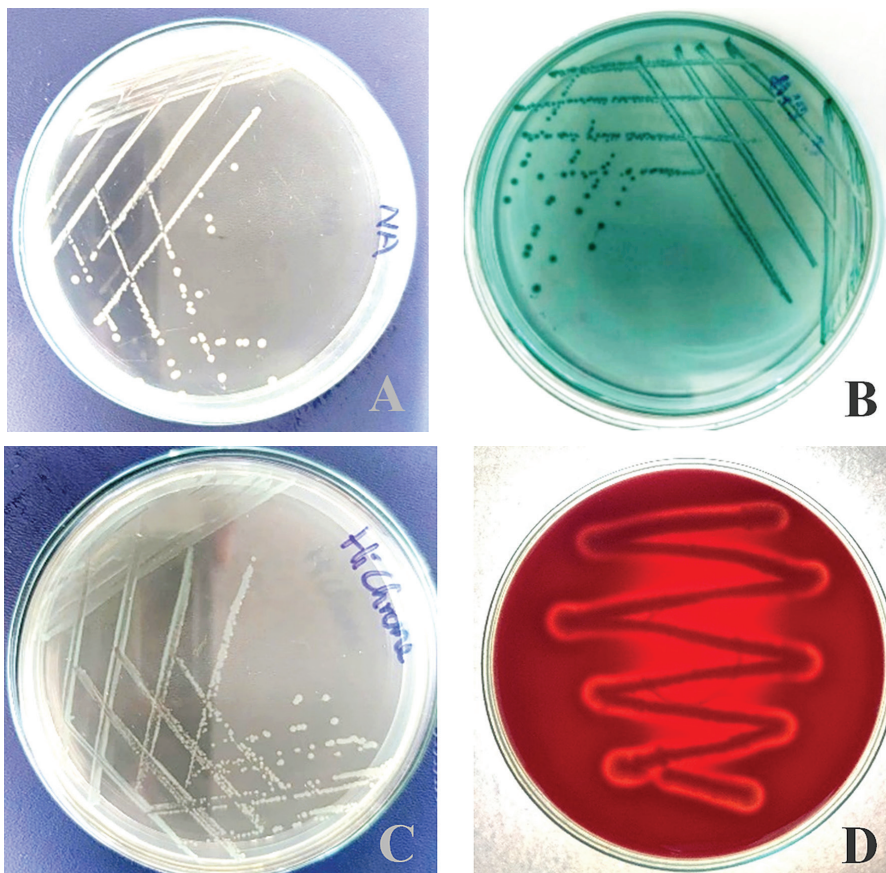
Tổng số 10 chủng vi khuẩn Gram âm, hình que ngắn đã được phân lập thành công từ nội tạng của các mẫu cá chim vây vàng. Trên môi trường Nutrient Agar và Hicrome™ *Vibrio* agar, các các chủng phân lập tạo khuẩn lạc tròn đều, bề mặt trơn bóng và có màu trắng sữa đến trắng ngà. Trên môi trường TCBS, khuẩn lạc có bề

Dấu hiệu bệnh lý bên ngoài phổ biến được quan sát ở các mẫu cá phân tích là các vết lở loét trên thân, nhiễm khuẩn mắt, xuất huyết ở các gốc vây và đuôi (Hình 1). Các vết lở loét nhiều kích cỡ gặp ở thân, đầu và ở gần lỗ hậu môn của cá. Biểu hiện nhiễm khuẩn mắt xuất hiện các dạng khác nhau như mờ đục mắt, viêm đỏ và ứ dịch hoặc mắt bị tiêu biến (nổ mắt) gặp ở một số cá bệnh nặng. Xuất huyết ở các mức độ khác nhau được quan sát chủ yếu ở gốc vây, phần đầu của cá. Cơ quan nội tạng như gan, thận lách nhạt màu và không đồng màu. Các cá thể bị bệnh nặng có ứ dịch trong nội tạng trong đó thận cá bị hoại tử và lách sưng to.

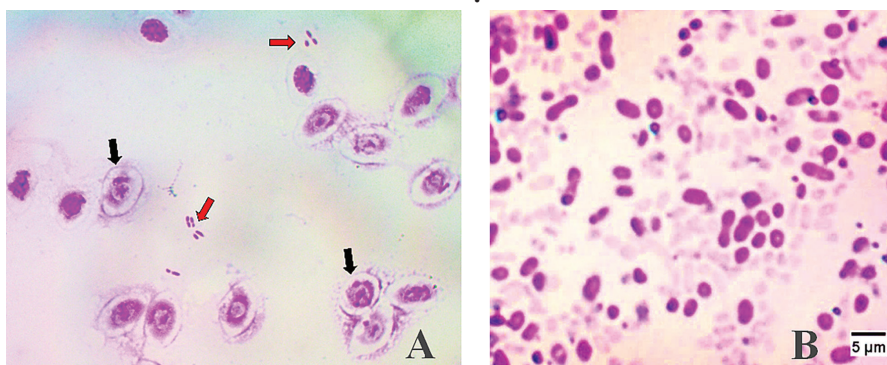
mặt trơn bóng, màu xanh lục đậm, đường kính 1–3 mm và không sinh nhầy (Hình 2). Kết quả quan sát hình thái cho thấy tế bào của tất cả các chủng vi khuẩn bắt màu hồng đặc trưng của vi khuẩn Gram âm; tế bào có dạng trực khuẩn ngắn, kích thước nhỏ, sắp xếp đơn lẻ hoặc thành đôi, không tạo chuỗi, có khả năng di động, và tạo phản ứng dương tính với test oxidase and

catalase. Đặc điểm trên cho thấy các chủng phân lập là loài vi khuẩn Gram âm thuộc họ Vibrionaceae. Đồng thời, tất cả các chủng đều

cho thấy có khả năng gây dung giải hồng cầu kiểu tan huyết beta (Hình 2)



Hình 2: Hình dạng khuẩn lạc của chủng vi khuẩn P.d-01 của loài *Photobacterium damsela* phát triển trên ba loại môi trường nuôi cấy khác nhau. Hình A: môi trường Nutrient Agar (NA) bổ sung 1,5% NaCl. Hình B: môi trường TCBS. Hình C: môi trường Hicrome™ *Vibrio* Agar. Hình D: Kiểu tan huyết beta trên thạch máu



Hình 3: Hình thái vi khuẩn quan sát và phân lập từ mô thận cá chim vây vàng bị xuất huyết. Hình A: Vi khuẩn có hình dạng trực khuẩn ngắn (mũi tên đỏ) trong mô thận (Mũi tên đen) của cá. Hình B: tế bào vi khuẩn được nhuộm Gram.

3. Kết quả định danh sinh hóa

Kết quả kiểm tra đặc điểm sinh hóa của các chủng bằng hệ thống API 20E (BioMérieux) của 5 chủng được chọn ngẫu nhiên từ 10 chủng phân lập cho thấy đều có các phản ứng sinh hóa đặc trưng giống nhau bao gồm: dương tính với A-dihydrolase, LDC (lysine decarboxylase), urease, TDA (tryptophan deaminase), VP (Voges–Proskauer), gelatinase và glucose; trong khi các phản ứng còn lại như ONPG, ODC, citrate, H₂S, indole, mannitol, inositol, sorbitol, rhamnose, sucrose, melibiose, amygdalin và arabinose đều âm tính. Dựa trên tổ hợp các phản ứng sinh hóa, mã định danh được hệ thống API tự động mã hóa là

601400417, phù hợp với mã điển hình của *P. damsela* subsp. *damsela* đã được ghi nhận trong các nghiên cứu trước đây [11]. Ngoài ra, mã định danh API 20E thu được là 601400417 cũng nằm trong số các mã đã được ghi nhận trong cơ sở dữ liệu định danh của *P. damsela* subsp. *damsela*. Sự khác biệt nhỏ này có thể phản ánh ảnh hưởng của điều kiện môi trường, chủng vi khuẩn bản địa hoặc biến dị sinh hóa thứ cấp, nhưng vẫn nằm trong phổ dao động cho phép của loài. Việc các chủng đều cho cùng một profile sinh hóa phản ánh tính đồng nhất cao của quần thể *P. damsela* subsp. *damsela* được phân lập trong nghiên cứu này.

Bảng 3. Phản ứng API 20E của 6 chủng (P.d-01- P.d-06) phân lập từ cá chim vây vàng so sánh giá trị tham khảo với phân chủng tiêu chuẩn *P. damsela* subsp. *damsela* (ATCC 33539) và *piscicida* (ATCC 17911).

Chỉ tiêu	Chủng P.d-01- P.d-05	Phân loài <i>damsela</i> (ATCC 33539)	Phân loài <i>piscicida</i> (ATCC 17911)
Gram	-	-	-
Di động	+	+	-
Oxidase	+	+	+
Catalase	+	+	+
Sinh khí từ glucose	-	-	-
Tạo indole	-	-	-
Urease	+	+	-
β-galactosidase	-	-	-
H ₂ S	-	-	-
Tryptophan Deaminase (TDA)	+	NT	NT
Voges–Proskauer (VP)	+	NT	NT
Lysine decarboxylase	+	+	+
Arginine dihydrolase	-	-	-
Ornithine decarboxylase	+	+	+
Phân giải gelatin	-	-	-
Thủy phân esculin	+	+	+

Chỉ tiêu	Chủng P.d-01- P.d-05	Phân loài <i>damselae</i> (ATCC 33539)	Phân loài <i>piscicida</i> (ATCC 17911)
Tạo amylase	+	+	+
Tan huyết	+	+	+
Sử dụng citrate	-	-	NT
Tạo acid từ:			
D-glucose	+	+	+
Lactose	-	-	-
Mannitol	-	-	-
Sorbitol	-	-	-
Inositol	-	-	-
Arabinose	-	-	-
Rhamnose	-	-	-
Sucrose	-	-	-
Melibiose	-	-	-
Sinh trưởng ở:			
4°C	-	-	-
22°C	+	+	+
37°C	+	+	+
Sinh trưởng trong % NaCl:			
0%	+	+	-
3%	+	+	-
6%	+	+	-
8%	+	+	-
Sinh trưởng trên TCBS	+	+	-

Phản ứng dương/âm: "+/-", không kiểm tra: NT

3. Kết quả định danh phân tử bằng PCR khuếch đại gen *ureC*

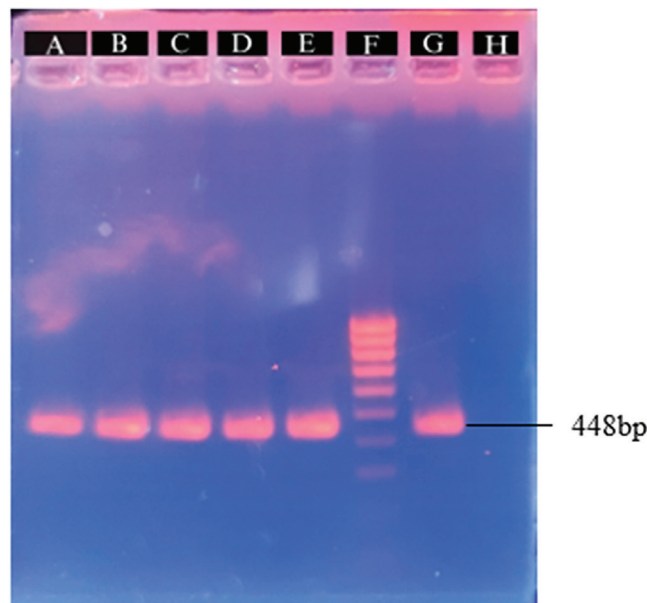
Phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu *ureC-VP-F* và *ureC-VP-R* đặc hiệu khuếch đại đoạn gen *ureC* cho thấy tất cả các chủng vi khuẩn đều dương tính và tạo sản phẩm có kích thước 448 bp, trùng với đối chứng dương là chủng *P. damsela* đã biết. Đối chứng âm (không chứa DNA vi khuẩn) không xuất hiện sản

phẩm, và không có hiện tượng nhiễm chéo hay tạo sản phẩm nhiễm (Hình 3).

Các kết quả phân tích đặc điểm hình thái, sinh hoá, phân tử của các chủng vi khuẩn phân lập khẳng định chúng đều là *P. damsela* subsp. *damsela*. Sự tương đồng này cho thấy mức độ phổ biến của chủng và loài vi khuẩn này ở cá chim vây vàng nuôi tại khu vực Khánh Hoà. Tương tự như các nghiên

cứu trước đây, các đợt cá chết thu được trong nghiên cứu này diễn ra vào các tháng có nhiệt độ cao ở Việt Nam. Điều này có thể cho thấy nhiệt độ cao có thể đóng vai trò yếu tố khởi phát của các đợt bùng phát bệnh ở cá nuôi [6, 13]. Tuy nhiên, theo Tao và cộng sự (2018) sự biến động của các yếu tố môi trường nước đặc biệt là độ mặn và oxy hoà tan là nhân tố làm suy giảm miễn dịch của cá nuôi, khiến cho dịch bệnh do *P. damsela* vẫn bùng phát vào các tháng có nhiệt độ nước thấp [10]. Tại Việt Nam, theo Lê Dũng và cộng sự (2024) *P. damsela* không được phát hiện trên cá chim vây vàng nuôi ao cát ở Đồng bằng sông Cửu

Long từ 2022–2023[1]. Thay vào đó, các tác nhân chính gây bệnh là *Vibrio alginolyticus* (tỷ lệ nhiễm 20–60%) và ký sinh trùng *Amyloodinium* sp. (tỷ lệ 100%). Sự khác biệt này có thể liên quan đến điều kiện môi trường (nhiệt độ, độ mặn) và phương pháp quản lý dịch bệnh trong nuôi trồng thủy sản [1]. Các nghiên cứu tiếp theo lên sự đa dạng di truyền của *P. damsela* phân lập từ các vùng khác nhau và vào các tháng khác nhau tại Việt Nam khi so sánh đặc điểm với các chủng ở các nước khác có thể góp phần gia tăng hiểu biết về nguồn gốc lây truyền và cơ chế tiến hoá của loài này.



Hình 4: Kết quả điện di sản phẩm PCR khuếch đại gen *ureC* của vi khuẩn *Photobacterium damsela* trên gel agarose. Cột A–E: Sản phẩm PCR từ các chủng vi khuẩn phân lập (P.d01 -P.d05), cột G: đối chứng dương. Cột F: Thang DNA chuẩn (ladder 1000 bp). Cột H: Đối chứng âm.

Cơ chế gây độc của *P. damsela* ở cá chủ yếu dựa vào các yếu tố độc lực như enzyme gây độc, khả năng dung giải hồng cầu và các độc tố được mã hóa trên plasmid pPHDD1. Hai độc tố chính là Dly (damselysin, một loại phospholipase D) và HlyA (hemolysin dạng tạo lỗ), đều được mã hóa trên plasmid này, có khả năng phá hủy màng tế bào hồng cầu, tế bào mô, gây xuất huyết, hoại tử và tổn thương nghiêm trọng các cơ quan nội tạng của cá [8]. Các nghiên cứu đột biến gen cho thấy

khi mất đồng thời cả hai gen *dly* và *hlyA*, độc tính và khả năng tan huyết giảm mạnh, chứng minh vai trò cộng hưởng của hai độc tố này trong gây bệnh. Ngoài ra, *P. damsela* còn có các enzyme ngoại bào khác như amylase, lipase, phospholipase, esterase-lipase, acid phosphatase và β -glucosaminidase, góp phần làm tăng độc lực và khả năng lây lan trong môi trường nước. Đặc biệt, vi khuẩn này có thể né tránh miễn dịch của vật chủ bằng cách kí sinh trong đại thực bào, góp phần vào

khả năng lan truyền và gây bệnh [4]. Trong nghiên cứu này, các chủng *P. damsela* đều cho thấy gây tan huyết dạng beta, đây có thể là một trong những đặc điểm gây xuất huyết ở cá chim, tuy nhiên các thí nghiệm cảm nhiễm và so sánh độc lực của các chủng trên sẽ góp phần làm sáng tỏ cơ chế gây hại của loài này [4-6].

Bệnh xuất huyết lở loét ở cá biển nuôi thương phẩm là hội chứng phổ biến do nhiều nguyên nhân gồm các loài vi khuẩn thuộc giống *Vibrio* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., các kí sinh trùng *Trichodina* spp., *Neobenedenia* spp., virus và nấm gây ra. Các nhóm sinh vật này có thể đóng vai trò là tác nhân chính hoặc cơ hội trong quá trình gây bệnh cho cá nuôi [4]. Chính vì vậy, việc đánh giá vai trò riêng biệt và mức độ nguy hiểm của *P. damsela* đối với từng loài cá, từng điều kiện nuôi là rất cần thiết. Các nghiên cứu sâu hơn về độc lực, khả năng kháng thuốc và cơ chế lây lan của loài vi khuẩn này sẽ giúp xây dựng các biện pháp

phòng trị hiệu quả, giảm thiểu thiệt hại trong nuôi cá biển thương phẩm.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập và định danh thành công chủng *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* từ cá chim vây vàng nuôi thương phẩm bị xuất huyết lở loét tại Khánh Hòa bằng phương pháp sinh hóa và sinh học phân tử. Các chủng vi khuẩn thu được có đặc điểm hình thái, sinh hoá và di truyền hoàn toàn phù hợp với mô tả của *P. damsela* subsp. *damsela* đã được công bố trước đây. Việc kết hợp hai phương pháp giúp nâng cao độ chính xác trong chẩn đoán, đồng thời cung cấp cơ sở khoa học phục vụ phòng bệnh và giám sát dịch tễ trong nuôi trồng thủy sản.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là một phần của đề tài SV2023-13-51 được thực hiện với nguồn kinh phí từ Trường Đại học Nha Trang. Nhóm tác giả chân thành cảm ơn Trường Đại học Nha Trang đã tài trợ cho nghiên cứu này.

Tài liệu tham khảo

1. Phan Thị Thu Hiền Lê Dũng, Chu Chí Thiết, Phan Trọng Bình, Nguyễn Thị Hạnh, (2024), “Một số bệnh thường gặp trên Cá chim vây vàng (*Trachinotus falcatus*) nuôi trong ao cát tuần hoàn nước tại huyện Cẩm Xuyên, Hà Tĩnh và biện pháp trị bệnh”, *Tạp chí Khoa học*. 53(1A).
2. Phạm Thị Tâm Lê Minh Hải, Tô Long Thành, Mẫn Hồng Phước, (2016), “Phân lập và xác định một số đặc điểm sinh học của vi khuẩn *Photobacterium damsela* gây bệnh tụ huyết trùng trên cá biển”, *Tạp chí NN&PTNT*. 20, tr. 115-121.
3. Phạm Thị Tâm (2018), *Nghiên cứu đặc tính hình học của vi khuẩn Photobacterium damsela* gây bệnh trên một số loài cá biển nuôi lồng tại Việt Nam và tạo chủng đột biến giảm độc lực phục vụ sản xuất vắc xin phòng bệnh, Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.
4. Brian Austin và Dawn A Austin (2016), *Bacterial fish pathogens: disease of farmed and wild fish*, Springer.
5. IAM Eissa và các cộng sự. (2018), “Molecular and phenotypic characterization of *Photobacterium damsela* among some marine fishes in Lake Tamsa”, *Microbial Pathogenesis*. 114, tr. 315-322.
6. HM Essam và các cộng sự. (2016), “Pathogenesis of *Photobacterium damsela* subspecies infections in sea bass and sea bream”, *Microbial pathogenesis*. 99, tr. 41-50.
7. Muthusamy Petchimuthu và các cộng sự. (2022), “Pathogenicity potential of antimicrobial-resistant *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* isolated from maricultured and wild-caught fish of the southeast coast of India”, *Aquaculture Research*. 53(12), tr. 4505-4520.
8. Amable J Rivas và các cộng sự. (2011), “The *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* hemolysins damselysin and HlyA are encoded within a new virulence plasmid”, *Infection and Immunity*. 79(11), tr. 4617-4627.
9. Murugeswaran Dayana Senthamarai, Muthuswami Ruby Rajan và Palanichamy Vidhya Bharathi

- (2023), “Current risks of microbial infections in fish and their prevention methods: A review”, *Microbial pathogenesis*. 185, tr. 106400.
10. Zhen Tao và các cộng sự. (2018), “An outbreak of *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* infection in cultured silver pomfret *Pampus argenteus* in Eastern China”, *Aquaculture*. 492, tr. 201-205.
 11. Mateus S Terceti, Hamdi Ogut và Carlos R Osorio (2016), “*Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, an emerging fish pathogen in the Black Sea: evidence of a multiclonal origin”, *Applied and Environmental Microbiology*. 82(13), tr. 3736-3745.
 12. Nguyễn Bảo Trung và Từ Thanh Dung (2018), “Nghiên cứu bệnh vi khuẩn trên cá bớp (*Rachycentron canadum*) nuôi lồng ở tỉnh Kiên Giang”, *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. 54, tr. 60-67.
 13. Ruixuan Wang và các cộng sự. (2013), “Studies on the isolation of *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* from diseased golden pompano (*Trachinotus ovatus* Linnaeus) and antibacterial agents sensitivity”, *Veterinary Microbiology*. 162(2-4), tr. 957-963.