ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

NGUYỄN NAM QUANG

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA VI KHUẨN *Vibrio alginolyticus* VÀ ĐIỀU CHẾ VACCINE BẤT HOẠT TOÀN BỘ TẾ BÀO ĐỂ PHÒNG BỆNH XUẤT HUYẾT TRÊN CÁ HỒNG MỸ (*Sciaenops ocellatus*)

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ THỦY SẢN

HUẾ - 2026

ĐẠI HỌC HUẾ
TRƯỜNG ĐẠI HỌC NÔNG LÂM

NGUYỄN NAM QUANG

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM SINH HỌC CỦA VI KHUẨN *Vibrio alginolyticus* VÀ ĐIỀU CHẾ VACCINE BẤT HOẠT TOÀN BỘ TẾ BÀO ĐỂ PHÒNG BỆNH XUẤT HUYẾT TRÊN CÁ HỒNG MỸ (*Sciaenops ocellatus*)

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ THỦY SẢN

Người hướng dẫn 1: PGS.TS NGUYỄN NGỌC PHƯỚC
Người hướng dẫn 2: TS. NGUYỄN THỊ HUẾ LINH

HUẾ - 2026

MỞ ĐẦU

1. Đặt vấn đề

Cá Hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*) là đối tượng nuôi biển có giá trị kinh tế cao, có tốc độ sinh trưởng nhanh, khả năng thích nghi rộng và được xác định là một trong những loài nuôi tiềm năng trong chiến lược phát triển nuôi biển của Việt Nam đến năm 2030, tầm nhìn đến năm 2045. Tuy nhiên, cùng với xu hướng phát triển nuôi thâm canh, dịch bệnh đang trở thành một trong những rào cản lớn đối với hiệu quả và tính bền vững của nghề nuôi, trong đó bệnh xuất huyết do vi khuẩn *Vibrio alginolyticus* gây thiệt hại đáng kể về tỷ lệ sống, năng suất và hiệu quả kinh tế.

Vibrio alginolyticus là vi khuẩn phân bố phổ biến trong môi trường nước mặn và nước lợ, có khả năng tồn tại lâu dài trong hệ thống nuôi và lây truyền qua nhiều con đường khác nhau. Khả năng gây bệnh của loài vi khuẩn này là kết quả của sự phối hợp nhiều yếu tố độc lực liên quan đến khả năng di động, bám dính, xâm nhập, hình thành màng sinh học, thu nhận sắt và tiết các độc tố. Bên cạnh đó, việc sử dụng kháng sinh kéo dài trong phòng và điều trị bệnh đã làm gia tăng nguy cơ xuất hiện các chủng vi khuẩn kháng thuốc, ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị, an toàn thực phẩm và môi trường nuôi.

Trong bối cảnh phát triển nuôi trồng thủy sản theo hướng tiếp cận Một sức khỏe (One Health), giảm phụ thuộc vào kháng sinh và tăng cường các biện pháp phòng bệnh chủ động đang trở thành yêu cầu cấp thiết. Vaccine được xem là một trong những giải pháp bền vững nhằm nâng cao khả năng bảo vệ vật nuôi, hạn chế sử dụng kháng sinh và nâng cao hiệu quả quản lý dịch bệnh. Trong đó, vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào có ưu điểm về tính an toàn, dễ điều chế và

vẫn duy trì được phổ kháng nguyên tương đối đầy đủ của tác nhân gây bệnh.

Mặc dù bệnh do *V. alginolyticus* trên cá biển đã được nghiên cứu tại nhiều quốc gia, nhưng ở Việt Nam vẫn còn thiếu các nghiên cứu mang tính hệ thống về đặc điểm sinh học, độc lực, khả năng kháng kháng sinh, con đường lây truyền cũng như phát triển vaccine trên cá Hồng mỹ. Đặc biệt, chưa có nhiều dữ liệu phục vụ việc lựa chọn chủng vi khuẩn đại diện để phát triển vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào sử dụng qua thức ăn. Vì vậy, luận án **"Nghiên cứu đặc điểm sinh học của vi khuẩn *Vibrio alginolyticus* và điều chế vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào để phòng bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*)"** được thực hiện nhằm góp phần bổ sung cơ sở khoa học và thực tiễn cho công tác phòng bệnh trong nuôi cá biển.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Xây dựng cơ sở khoa học và thực tiễn cho việc phát triển vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *Vibrio alginolyticus* phòng bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*) thông qua: (i) xác định đặc điểm hình thái, sinh hóa, độc lực, khả năng kháng kháng sinh và khả năng gây bệnh của *V. alginolyticus* phân lập từ cá Hồng mỹ mắc bệnh xuất huyết; (ii) xác định các con đường lây truyền của *V. alginolyticus* trên cá Hồng mỹ trong điều kiện thực nghiệm; và (iii) điều chế vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào, đánh giá tính an toàn, khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch và hiệu quả bảo hộ của vaccine khi sử dụng qua thức ăn.

3. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn

3.1. Ý nghĩa khoa học

Luận án bổ sung cơ sở khoa học về đặc điểm sinh học, độc lực, khả năng kháng kháng sinh, khả năng gây

bệnh và con đường lây truyền của *V. alginolyticus* gây bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ trong điều kiện nuôi biển tại Việt Nam. Kết quả nghiên cứu góp phần làm sáng tỏ cơ sở khoa học cho việc lựa chọn chủng vi khuẩn phục vụ phát triển vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào phòng bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ.

3.2. Ý nghĩa thực tiễn

Kết quả nghiên cứu cung cấp cơ sở thực tiễn phục vụ nhận diện tác nhân gây bệnh, đánh giá nguy cơ kháng kháng sinh, xây dựng các biện pháp quản lý dịch bệnh và phát triển vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào sử dụng qua thức ăn phòng bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ, góp phần giảm sử dụng kháng sinh và hướng tới phát triển bền vững nghề nuôi cá biển tại Việt Nam.

Chương 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1. Đặc điểm sinh học của cá Hồng mỹ và bối cảnh phát triển nghề nuôi

Cá Hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*) là loài cá biển có giá trị kinh tế cao, có nguồn gốc từ vùng ven biển phía Tây Đại Tây Dương và hiện được nuôi thương phẩm tại nhiều quốc gia, trong đó Trung Quốc chiếm phần lớn sản lượng toàn cầu. Với tốc độ sinh trưởng nhanh, khả năng thích nghi rộng, hiệu quả sử dụng thức ăn cao và chất lượng thịt tốt, cá Hồng mỹ được xác định là một trong những đối tượng ưu tiên phát triển trong chiến lược nuôi biển của Việt Nam. Tuy nhiên, cùng với quá trình mở rộng quy mô nuôi thâm canh, nghề nuôi cá Hồng mỹ đang phải đối mặt với nhiều thách thức như biến động môi trường, chi phí sản xuất tăng, yêu cầu hạn chế sử dụng kháng sinh và đặc biệt là sự gia tăng của các bệnh truyền nhiễm do vi khuẩn, trong đó bệnh do *Vibrio alginolyticus* được xem là một trong những nguy cơ quan trọng đối với sự phát triển bền vững của nghề nuôi.

2. Bệnh do *Vibrio alginolyticus*, kháng kháng sinh và vaccine trong nuôi cá biển

Vibrio alginolyticus là vi khuẩn Gram âm, ưa mặn, phân bố phổ biến trong môi trường nước biển và nước lợ, có khả năng tồn tại lâu dài trong hệ thống nuôi và gây bệnh trên nhiều đối tượng thủy sản. Khả năng gây bệnh của vi khuẩn là kết quả của sự phối hợp nhiều yếu tố độc lực như khả năng di động, bám dính, hoạt tính enzyme ngoại bào, độc tố tan máu, hệ thống tiết protein, khả năng thu nhận sắt và hình thành màng sinh học. Trong điều kiện nuôi thâm canh, vi khuẩn có thể lây truyền qua nguồn nước, tiếp xúc trực tiếp giữa cá bệnh và cá khỏe hoặc qua thức ăn nhiễm khuẩn, làm gia tăng nguy cơ bùng phát dịch bệnh trong hệ thống nuôi.

Song song với đó, việc sử dụng kháng sinh kéo dài trong nuôi trồng thủy sản đã làm gia tăng hiện tượng kháng kháng sinh ở các loài *Vibrio*, ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị và làm tăng nguy cơ lan truyền các gene kháng thuốc trong môi trường. Trong bối cảnh đó, vaccine được xem là giải pháp phòng bệnh chủ động có nhiều triển vọng. Đặc biệt, vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào có ưu điểm về tính an toàn, dễ điều chế, chi phí hợp lý và vẫn duy trì được phổ kháng nguyên tương đối đầy đủ của tác nhân gây bệnh. Mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về vaccine phòng bệnh do *Vibrio* trên một số loài cá biển, nhưng các nghiên cứu đối với *V. alginolyticus* trên cá Hồng mỹ vẫn còn hạn chế, đặc biệt đối với vaccine sử dụng qua đường ăn.

3. Khoảng trống nghiên cứu và hướng tiếp cận của luận án

Các nghiên cứu trước đây cho thấy vẫn còn nhiều khoảng trống trong nghiên cứu bệnh xuất huyết do *Vibrio alginolyticus* trên cá Hồng mỹ tại Việt Nam, bao gồm việc thiếu các dữ liệu mang tính hệ thống về đặc điểm sinh học, độc lực, khả năng kháng kháng sinh, khả năng gây bệnh và con đường lây truyền của vi khuẩn. Đồng thời, chưa có nhiều nghiên cứu lựa chọn chủng vi khuẩn đại diện phục vụ phát triển vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào cũng như đánh giá tính an toàn, khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch và hiệu quả bảo hộ của vaccine sử dụng qua thức ăn.

Trên cơ sở đó, luận án được thực hiện theo hướng tiếp cận từ nghiên cứu đặc điểm sinh học, độc lực, khả năng kháng kháng sinh, khả năng gây bệnh và con đường lây truyền của *V. alginolyticus* đến lựa chọn chủng vi khuẩn đại diện, điều chế vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào và đánh giá tính an toàn, khả năng sinh miễn dịch cũng như hiệu quả bảo hộ trên cá

Hồng mỹ. Cách tiếp cận này góp phần xây dựng cơ sở khoa học cho việc phát triển vaccine phòng bệnh xuất huyết và định hướng các giải pháp phòng bệnh bền vững trong nuôi cá biển.

Từ tổng quan tài liệu cho thấy, mặc dù đã có nhiều nghiên cứu về *Vibrio alginolyticus* trên các loài cá biển, nhưng tại Việt Nam chưa có nghiên cứu đầy đủ từ phân lập, đánh giá độc lực, kháng kháng sinh, cơ chế lây truyền đến phát triển vaccine bất hoạt trên cá Hồng mỹ. Đây chính là khoảng trống khoa học mà luận án tập trung giải quyết.

Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu của luận án là vi khuẩn *Vibrio alginolyticus* phân lập từ cá Hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*) mắc bệnh xuất huyết tại các vùng nuôi lồng biển thuộc Phú Lộc và Phú Vang, thành phố Huế. Cá Hồng mỹ khỏe mạnh được sử dụng trong các thí nghiệm đánh giá khả năng gây bệnh, con đường lây truyền và hiệu quả vaccine.

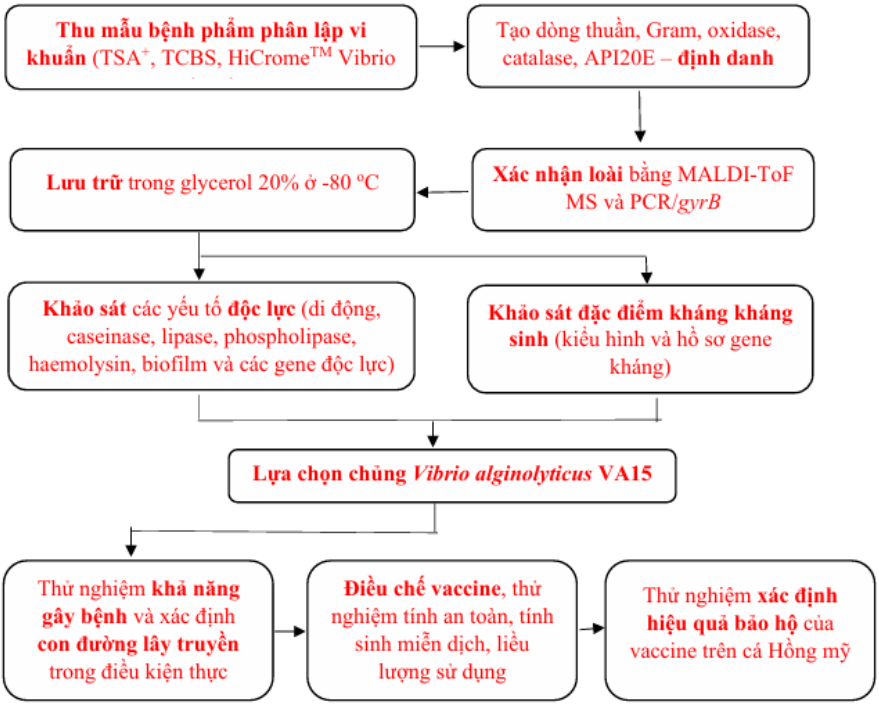
Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 11 năm 2023 đến tháng 01 năm 2026 tại Phòng thí nghiệm Bệnh học thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế; Phòng thí nghiệm Sinh học phân tử, Trường Khoa học Thú y, Đại học Sydney (Úc); Trung tâm Công nghệ Sinh học Thành phố Hồ Chí Minh và Công ty TNHH MTV Sinh hóa Phù Sa (Cần Thơ).

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Phân lập, xác định đặc điểm hình thái, sinh hóa và định danh vi khuẩn gây bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ.
- Nghiên cứu các đặc điểm độc lực và khảo sát các gene liên quan đến độc lực của *V. alginolyticus*.
- Nghiên cứu đặc điểm kháng kháng sinh và khảo sát các gene liên quan đến khả năng kháng kháng sinh của *V. alginolyticus*.
- Đánh giá khả năng gây bệnh và xác định các con đường lây truyền của *V. alginolyticus* trên cá Hồng mỹ trong điều kiện thực nghiệm.
- Điều chế vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *V. alginolyticus* và đánh giá tính an toàn, khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch trên cá Hồng mỹ.
- Đánh giá hiệu quả bảo hộ của vaccine bất hoạt toàn bộ

tế bào phòng bệnh xuất huyết do *V. alginolyticus* trên cá Hồng mỹ.

Hệ thống nội dung nghiên cứu và mối liên hệ giữa các hợp phần nghiên cứu của luận án được trình bày tại Sơ đồ 2.1



Hình 2.1. *Sơ đồ nghiên cứu tổng thể của luận án*

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thu mẫu, phân lập và định danh vi khuẩn

Mẫu cá Hồng mỹ mắc bệnh xuất huyết được thu tại các vùng nuôi lồng biển thuộc Phú Lộc và Phú Vang, thành phố Huế. Vi khuẩn được phân lập trên các môi trường TSA bổ sung NaCl, TCBS và HiCrome™ Vibrio Agar. Các chủng phân lập được xác định đặc điểm hình thái, sinh hóa, định danh bằng MALDI-TOF MS và xác nhận bằng PCR khuếch

đại gene *gyrB*. Quan hệ di truyền giữa các chủng được phân tích dựa trên trình tự nucleotide của gene *gyrB*.

2.3.2. Đánh giá độc lực và đặc điểm kháng kháng sinh

Các chủng *V. alginolyticus* được đánh giá khả năng di động, hoạt tính enzyme ngoại bào, hoạt tính tan máu, khả năng hình thành màng sinh học và khảo sát các gene liên quan đến độc lực bằng PCR. Kiểu hình kháng kháng sinh được xác định bằng phương pháp khuếch tán đĩa giấy Kirby–Bauer đối với 21 loại kháng sinh thuộc 9 nhóm khác nhau dưới các điều kiện độ mặn khác nhau. Chủng có tiềm năng độc lực cao nhất được khảo sát các gene kháng kháng sinh bằng kỹ thuật PCR.

2.3.3. Thử nghiệm gây bệnh, nghiên cứu con đường lây truyền và vaccine

Chủng *V. alginolyticus* có tiềm năng độc lực cao nhất được sử dụng trong các thí nghiệm xác định giá trị LD_{50}, đánh giá các con đường lây truyền qua nguồn nước, tiếp xúc trực tiếp và thức ăn. Vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào được điều chế bằng formalin, phối trộn vào thức ăn và đánh giá tính an toàn, khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch, hiệu quả bảo hộ trên cá Hồng mỹ thông qua hiệu giá kháng thể, tỷ lệ sống và tỷ lệ bảo hộ tương đối (RPS).

2.3.4. Phân tích số liệu

Các số liệu được xử lý bằng phần mềm IBM SPSS Statistics 20.0. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức được đánh giá bằng phân tích phương sai một nhân tố (One-way ANOVA) kết hợp phép kiểm định Tukey HSD ở mức ý nghĩa $p < 0,05$. Đối với dữ liệu tỷ lệ sống, sự khác biệt được đánh giá bằng kiểm định log-rank theo mô hình Kaplan–Meier.

Chương 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Phân lập, định danh và xác nhận loài vi khuẩn gây bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ

3.1.1. Kết quả thu mẫu bệnh phẩm và phân lập vi khuẩn

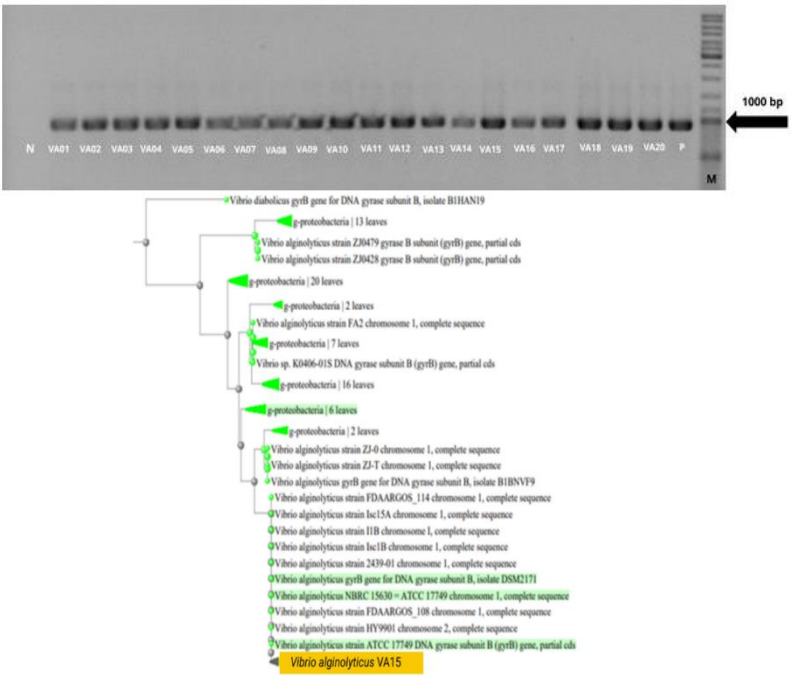
Từ các mẫu cá Hồng mỹ còn sống có biểu hiện điển hình của bệnh xuất huyết thu tại vùng nuôi lồng ven biển Phú Lộc và Phú Vang, thành phố Huế, nghiên cứu đã phân lập được 20 chủng vi khuẩn, ký hiệu từ VA01 đến VA20. Các chủng phân lập đều có hình thái khuẩn lạc và đặc điểm hình thái tế bào điển hình của nhóm *Vibrio*, là cơ sở cho các bước định danh và xác nhận loài tiếp theo.



Hình 3.1. Tọa độ vùng thu mẫu bệnh phẩm

3.1.2. Đặc điểm hình thái, sinh hóa và định danh vi khuẩn

Kết quả khảo sát đặc điểm hình thái, sinh hóa và phản ứng API 20E cho thấy toàn bộ 20 chủng phân lập có các đặc điểm phù hợp với *Vibrio alginolyticus*. Kết quả định danh bằng khối phổ MALDI-TOF MS và PCR khuếch đại gene *gyrB* đều xác nhận 20 chủng phân lập thuộc loài *Vibrio alginolyticus*. Phân tích trình tự nucleotide gene *gyrB* và cây phát sinh chủng loài tiếp tục khẳng định mối quan hệ di truyền của các chủng nghiên cứu với các chủng *V. alginolyticus* đã công bố trên GenBank.

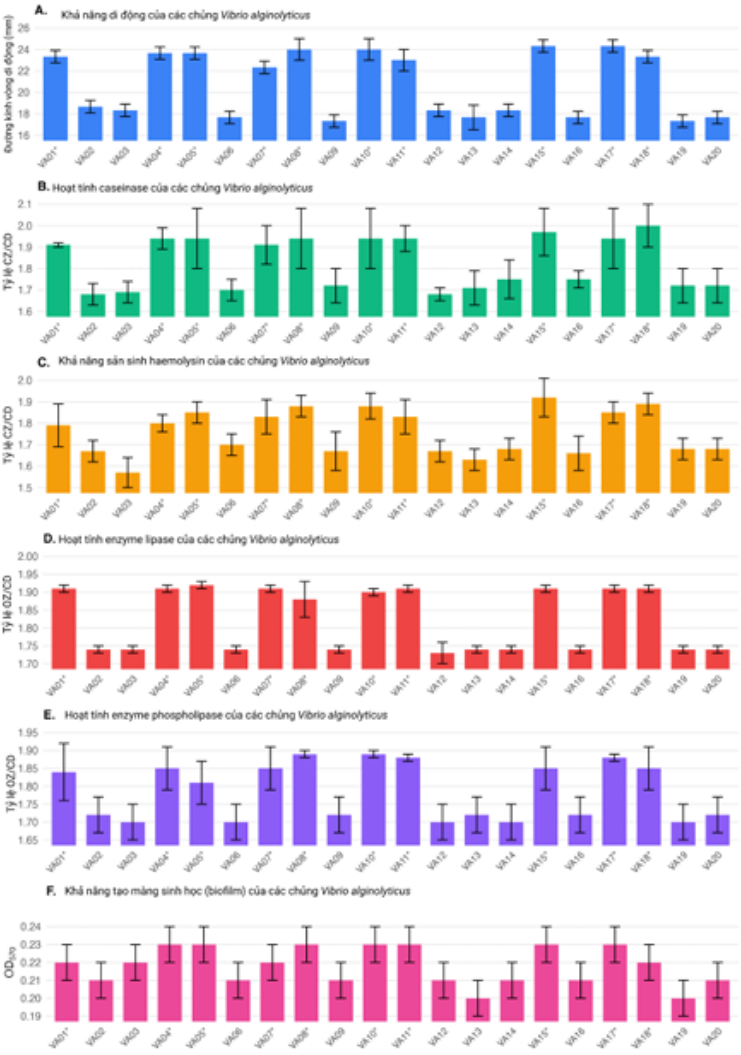


Hình 3.2. Kết quả PCR/*gyrB* của 20 chủng vi khuẩn và cây phát sinh chủng loài của VA15

3.2. Đặc điểm độc lực và các gene liên quan đến độc lực của Vibrio alginolyticus

3.2.1. Biểu hiện các yếu tố độc lực

Các chủng *V. alginolyticus* phân lập đều biểu hiện khả năng di động, hoạt tính enzyme ngoại bào, hoạt tính tan máu và khả năng hình thành màng sinh học ở các mức độ khác nhau. Kết quả đánh giá tổng hợp cho thấy 10 chủng gồm VA15, VA17, VA10, VA08, VA05, VA04, VA11, VA18, VA01 và VA07 có tiềm năng độc lực cao hơn các chủng còn lại, trong đó chủng VA15 đạt giá trị cao nhất và được lựa chọn làm chủng đại diện cho các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3.3. Kết quả nghiên cứu biểu hiện độc lực của các chủng vi khuẩn

Bảng 3.1 Xếp hạng tiềm năng độc lực của 20 chủng vi khuẩn *V. alginolyticus*

Chủng vi khuẩn	Di động	Caseinase	Lipase	Phospholipase	Haemolysin	Biofilm	Mean Enzyme_ Index	N_ Motility	N_Enzyme_ Index	N_ Biofilm	Tổng điểm	Xếp hạng
VA15	24,330	1,970	1,910	1,850	1,920	0,230	1,912	1,000	1,000	1,000	3,000	**1**
VA17	24,330	1,940	1,910	1,880	1,850	0,230	1,895	1,000	0,926	1,000	2,926	**2**
VA10	24,000	1,940	1,900	1,890	1,880	0,230	1,902	0,953	0,958	1,000	2,911	**3**
VA08	24,000	1,940	1,880	1,890	1,880	0,230	1,898	0,953	0,937	1,000	2.890	**4**
VA05	23,670	1,940	1,920	1,810	1,850	0,230	1,880	0,906	0,863	1,000	2,769	**5**
VA04	23,670	1,940	1,910	1,850	1,800	0,230	1,875	0,906	0,842	1,000	2,748	**6**
VA11	23,000	1,940	1,910	1,880	1,830	0,230	1,890	0,810	0,905	1,000	2,715	**7**
VA18	23,330	2,000	1,910	1,850	1,890	0,220	1,912	0,857	1,000	0,667	2,524	**8**
VA01	23,330	1,910	1,910	1,840	1,790	0,220	1,862	0,857	0,789	0,667	2,313	**9**
VA07	22,330	1,910	1,910	1,850	1,830	0,220	1,875	0,714	0,842	0,667	2,223	**10**
VA03	18,330	1,690	1,740	1,700	1,570	0,220	1,675	0,143	0.000	0,667	0,810	11
VA14	18,330	1,750	1,740	1,700	1,680	0,210	1,718	0,143	0,179	0,333	0,655	12
VA02	18,670	1,680	1,740	1,720	1,670	0,210	1,702	0,191	0,116	0,333	0,641	13
VA16	17,670	1,750	1,740	1,720	1,660	0,210	1,718	0,490	0,179	0,333	0,561	14
VA12	18,330	1,680	1,730	1,700	1,670	0,210	1,695	0,143	0,840	0,333	0,560	15
VA20	17,670	1,720	1,740	1,720	1,680	0,210	1,715	0,490	0,168	0,333	0,550	16
VA06	17,670	1,700	1,740	1,700	1,700	0,210	1,710	0,490	0,147	0,333	0,529	17
VA09	17,330	1,720	1,740	1,720	1,670	0,210	1,712	0,000	0,158	0,333	0,491	18
VA13	17,670	1,710	1,740	1,720	1,630	0,200	1,700	0,490	0,105	0,000	0,154	19
VA19	17,330	1,720	1,740	1,700	1,680	0,200	1,710	0,000	0,147	0,000	0,147	20

3.2.2. Hồ sơ gene độc lực

Kết quả khảo sát các gene liên quan đến độc lực cho thấy các chủng có độc lực cao mang nhiều gene liên quan đến khả năng di động, bám dính, hệ thống tiết, độc tố tan máu và cơ chế thu nhận sắt. Chủng VA15 đồng thời mang nhiều gene độc lực quan trọng, phù hợp với kết quả đánh giá độc lực kiểu hình và được lựa chọn để nghiên cứu khả năng gây bệnh, con đường lây truyền và điều chế vaccine.

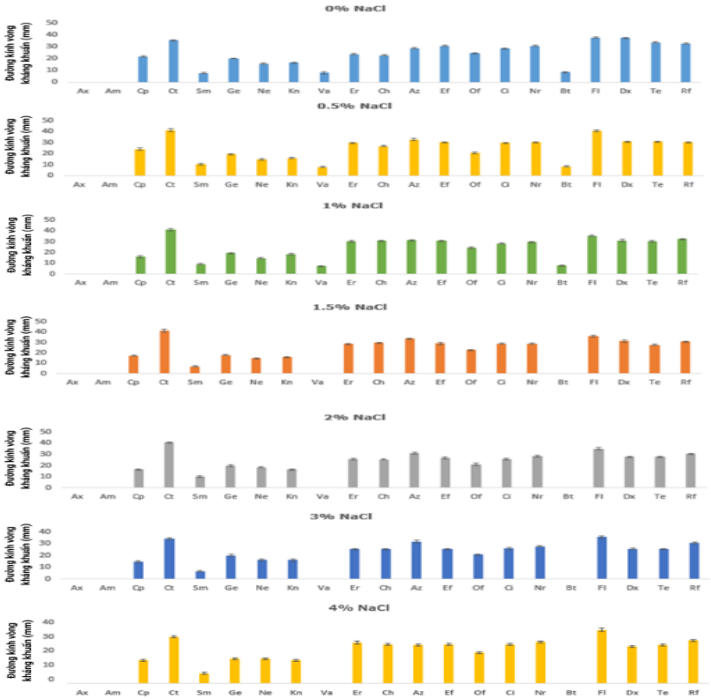
Bảng 3.2. Kết quả khảo sát gene độc lực của vi khuẩn *V. alginolyticus*

STT	Gene mục tiêu	Kiểu hình	Kết quả phân tích PCR genes độc lực của 10 chủng vi khuẩn *V. alginolyticus*									
			VA01	VA04	VA05	VA07	VA08	VA10	VA11	VA15	VA17	VA18
1	*flaA*	Khả năng di động	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	*flaC*		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	*flaE*		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	*flrA*		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	*flrB*		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	*flrC*		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	*flaK*		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	*tdh*	Độc tố tan huyết haemolysin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	*trh*		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	*tlh*		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	*tcpA*	Lông mao (pili)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	*vopB*	Hệ thống tiết T3SS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	*vopD*		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	*vgrG*	Hệ thống tiết T6SS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	*pvuA*	Thu nhận sắt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	*pvsA*		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

3.3. Đặc điểm kháng kháng sinh và các gene liên quan đến khả năng kháng kháng sinh của *Vibrio alginolyticus*

3.3.1. Ảnh hưởng của độ mặn đến kiểu hình kháng kháng sinh

Kết quả khảo sát cho thấy nồng độ NaCl trong môi trường nuôi cấy ảnh hưởng đến mức độ nhạy cảm kháng sinh của các chủng *V. alginolyticus*. Các chủng phân lập biểu hiện kháng với amoxicillin, ampicillin, vancomycin, streptomycin và trimethoprim/sulfamethoxazole, trong khi vẫn nhạy cảm với nhiều nhóm kháng sinh khác. Sự thay đổi nồng độ NaCl làm thay đổi đường kính vòng vô khuẩn đối với một số kháng sinh khảo sát.



Hình 3.4. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của NaCl tới kiểu hình kháng kháng sinh của vi khuẩn *V. alginolyticus*

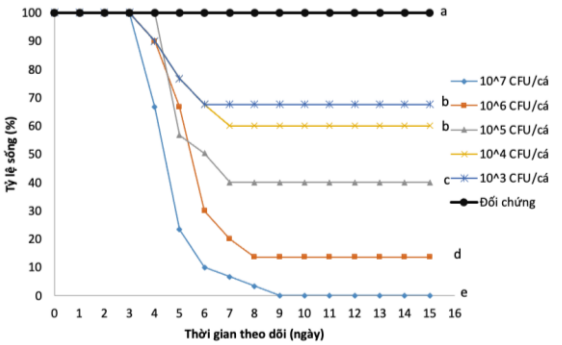
3.3.2. Hồ sơ gene kháng kháng sinh

Kết quả PCR cho thấy chủng VA15 mang nhiều gene liên quan đến kháng fluoroquinolone (*qnrA, qnrB, qnrS*), β-lactam (*blaSHV, blaCTX-M*), macrolide (*ermA, ermB, ermC*), tetracycline (*tetB, tetE, tetG*), sulfonamide (*sul1, sul2, sul3*), aminoglycoside (*strA-strB*), phenicol (*fexA*), polymyxin (*mcr*) và gene đa kháng (*cfr*). Kết quả này phù hợp với kiểu hình kháng kháng sinh của chủng nghiên cứu và cho thấy VA15 có tiềm năng đa kháng kháng sinh.

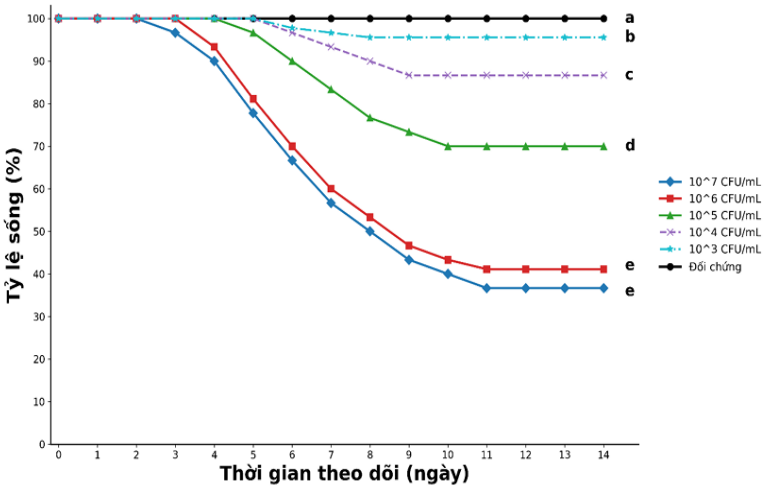
3.4. Khả năng gây bệnh thực nghiệm của Vibrio alginolyticus trên cá Hồng mỹ

3.4.1. Giá trị LD_{50} của chủng Vibrio alginolyticus VA15

Trên cơ sở kết quả đánh giá độc lực, chủng *V. alginolyticus* VA15 được lựa chọn để xác định khả năng gây bệnh thực nghiệm trên cá Hồng mỹ bằng phương pháp tiêm và phương pháp ngâm. Kết quả cho thấy chủng VA15 có khả năng gây bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ với giá trị LD_{50} theo đường tiêm là 4×10^4 CFU/cá và theo đường ngâm là 5×10^5 CFU/mL, chứng minh đây là chủng có độc lực cao và thích hợp để sử dụng trong các nghiên cứu tiếp theo.



Hình 3.5. Tỷ lệ sống của cá Hồng mỹ sau khi cảm nhiễm VA15 bằng phương pháp tiêm



Hình 3.6. Tỷ lệ sống của cá Hồng mỹ sau khi cảm nhiễm VA15 bằng phương pháp ngâm

3.4.2. Biểu hiện bệnh lý và tái phân lập vi khuẩn

Sau khi cảm nhiễm, cá Hồng mỹ xuất hiện các dấu hiệu bệnh lý điển hình của bệnh xuất huyết như giảm ăn, bơi lờ đờ, sẫm màu cơ thể, tuột vảy, xuất huyết ngoài da, mòn vây, gan sưng và xung huyết. Vi khuẩn *V. alginolyticus* được tái phân lập thành công từ các cá thể cảm nhiễm và được xác nhận bằng PCR khuếch đại gene *gyrB*, đáp ứng các tiêu chuẩn xác định tác nhân gây bệnh trong điều kiện thực nghiệm.



Hình 3.7. Dấu hiệu bệnh lý của cá Hồng mỹ sau khi cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus*

3.5. Con đường lây truyền của *Vibrio alginolyticus* trên cá Hồng mỹ trong điều kiện thực nghiệm

3.5.1. Lây truyền qua nguồn nước

Kết quả thí nghiệm cho thấy *V. alginolyticus* có khả năng lây truyền qua môi trường nước. Cá khỏe sau khi tiếp xúc với nguồn nước chứa vi khuẩn hoặc sử dụng chung nguồn nước với cá mang mầm bệnh đều xuất hiện dấu hiệu bệnh lý đặc trưng và ghi nhận tỷ lệ chết tích lũy tăng theo thời gian. Mật độ *Vibrio* tổng số và *V. alginolyticus* trong nước thay đổi theo thời gian thí nghiệm, phản ánh khả năng tồn tại và phát tán của vi khuẩn trong môi trường nuôi.

3.5.2. Lây truyền qua tiếp xúc trực tiếp

Trong điều kiện nuôi chung, *V. alginolyticus* có khả năng lây truyền từ cá bệnh sang cá khỏe thông qua tiếp xúc trực tiếp. Tỷ lệ chết tích lũy của nhóm cá khỏe tăng dần trong thời gian theo dõi và vi khuẩn được tái phân lập từ các cá thể mắc bệnh, khẳng định khả năng lây truyền trực tiếp của tác

nhân gây bệnh trong quần đàn nuôi.

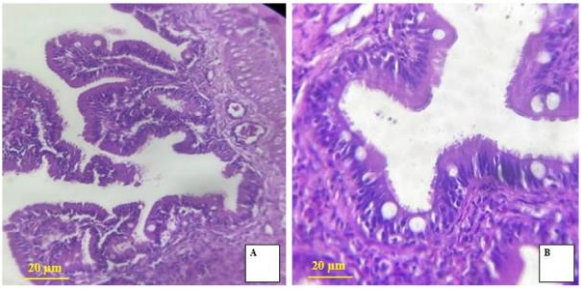
3.5.3. Lây truyền qua thức ăn

Kết quả nghiên cứu cho thấy *V. alginolyticus* có khả năng lây truyền qua thức ăn nhiễm khuẩn. Cá sử dụng thức ăn bổ sung vi khuẩn xuất hiện các biểu hiện bệnh lý điển hình, tỷ lệ chết tích lũy tăng theo thời gian và vi khuẩn được tái phân lập từ các mẫu bệnh phẩm. Tổng hợp kết quả các thí nghiệm cho thấy *V. alginolyticus* có thể lây truyền qua ba con đường gồm nguồn nước, tiếp xúc trực tiếp và thức ăn, trong đó lây truyền qua nguồn nước là con đường có ý nghĩa quan trọng đối với sự phát tán mầm bệnh trong hệ thống nuôi.

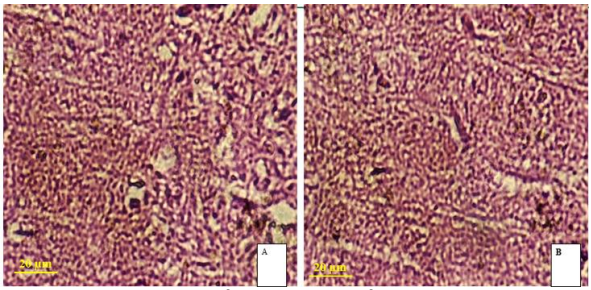
3.6. Điều chế và đánh giá hiệu quả vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào Vibrio alginolyticus

3.6.1. Tính an toàn của vaccine

Chủng *V. alginolyticus* VA15 được bất hoạt hoàn toàn bằng formalin và sử dụng để điều chế vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào. Kết quả đánh giá trên cá Hồng mỹ cho thấy vaccine không ảnh hưởng đến tỷ lệ sống, tốc độ tăng trưởng và hệ số chuyển đổi thức ăn của cá. Phân tích mô bệnh học gan và ruột không ghi nhận các biến đổi bất thường giữa nhóm sử dụng vaccine và nhóm đối chứng, chứng tỏ vaccine bảo đảm tính an toàn trong điều kiện thí nghiệm.



Hình 3.8. Mô bệnh học ruột cá Hồng mỹ (A – đối chứng; B – cá dùng vaccine)



Hình 3.9. Mô bệnh học gan cá Hồng mỹ (A – đối chứng; B – cá dùng vaccine)

3.6.2. Khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch

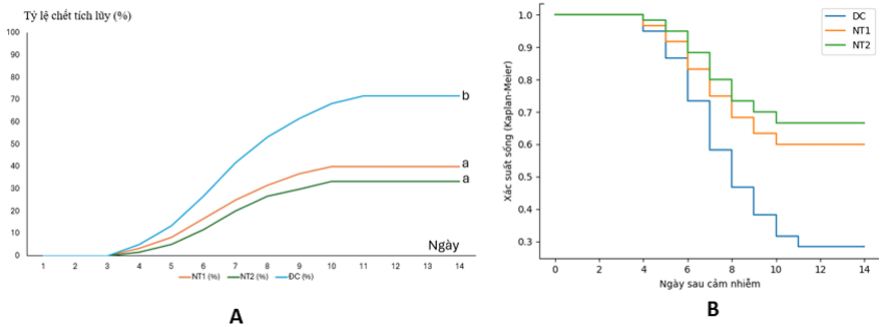
Vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *V. alginolyticus* sử dụng qua thức ăn có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch đặc hiệu trên cá Hồng mỹ. Hiệu giá kháng thể tăng theo thời gian sau khi sử dụng vaccine và đạt giá trị cao nhất ở nghiệm thức sử dụng nồng độ 10^6 CFU equivalent/cá, được lựa chọn cho các thí nghiệm đánh giá hiệu quả bảo hộ tiếp theo.

Bảng 3.3. Hiệu giá kháng thể ngưng kết của cá Hồng mỹ sau khi thử nghiệm vaccine

Nghiệm thức	Liều vaccine	Hiệu giá kháng thể (log_2, Mean ± SD)			
		Ngày 0	Ngày 7	Ngày 14	Ngày 28
Đối chứng	0	$6,00 \pm 0,00^a$	$5,67 \pm 0,58^a$	$6,33 \pm 0,58^a$	$7,00 \pm 1,00^a$
NT1	10^5 CFU equivalent/cá	$6,33 \pm 0,58^a$	$8,33 \pm 0,58^b$	$8,67 \pm 0,58^b$	$8,67 \pm 0,58^b$
NT2	10^6 CFU equivalent/cá	$6,33 \pm 0,58^a$	$9,00 \pm 0,00^c$	$9,67 \pm 0,33^c$	$10,33 \pm 0,00^c$
NT3	10^7 CFU equivalent/cá	$5,76 \pm 0,33^a$	$9,33 \pm 0,58^c$	$9,33 \pm 0,58^c$	$10,33 \pm 0,00^c$

3.6.3. Hiệu quả bảo hộ của vaccine

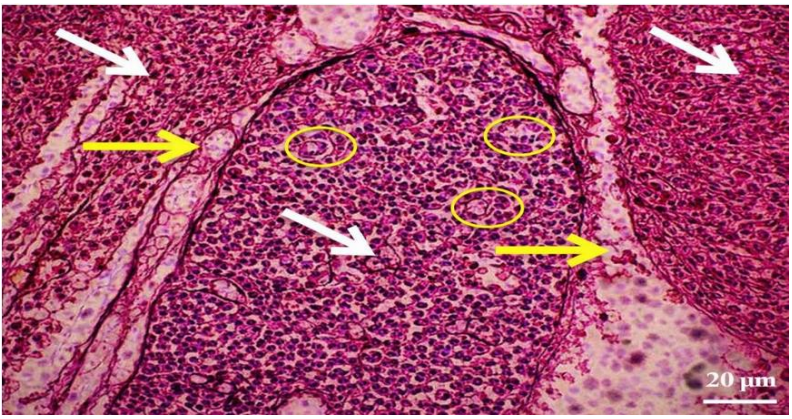
Sau khi cảm nhiễm thực nghiệm bằng chủng *V. alginolyticus* VA15, các nhóm sử dụng vaccine đều có tỷ lệ sống cao hơn nhóm đối chứng. Vaccine sử dụng một liều đạt tỷ lệ bảo hộ tương đối (RPS) **44,2%**, trong khi nghiệm thức sử dụng liều nhắc lại đạt **53,5%**, cho thấy việc sử dụng liều nhắc lại giúp nâng cao hiệu quả bảo hộ của vaccine đối với bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ.



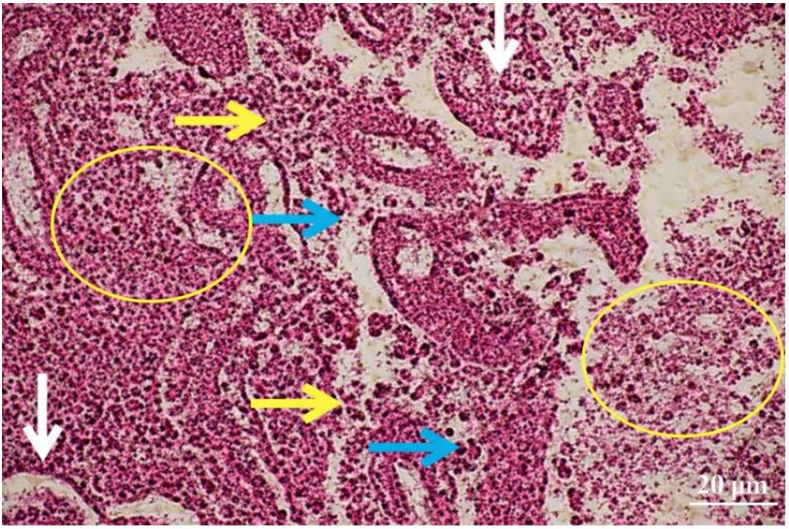
Hình 3.10. Tỷ lệ chết tích lũy (A) và xác suất sống của cá Hồng mỹ (B) trong thử nghiệm hiệu quả bảo hộ của vaccine

3.6.4. Biểu hiện bệnh lý, tái phân lập vi khuẩn và mô bệnh học sau cảm nhiễm

Sau cảm nhiễm, nhóm đối chứng xuất hiện các dấu hiệu bệnh lý điển hình của bệnh xuất huyết với mức độ tổn thương mô gan và thận rõ rệt. Trong khi đó, các nhóm sử dụng vaccine có biểu hiện bệnh nhẹ hơn, tỷ lệ tái phân lập vi khuẩn thấp hơn và cấu trúc mô gan, thận được bảo tồn tốt hơn so với nhóm đối chứng. Kết quả này khẳng định vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *V. alginolyticus* có khả năng hạn chế tổn thương bệnh lý và nâng cao khả năng bảo vệ cá Hồng mỹ trước sự cảm nhiễm của vi khuẩn gây bệnh.



Hình 3.10. *Tổn thương mô gan của cá Hồng mỹ khi cảm nhiễm vi khuẩn V. alginolyticus* (Mũi tên vàng: cấu trúc bè gan bị phá vỡ; mũi tên trắng: xuất hiện vùng hoại tử lan tỏa; vòng tròn vàng: ghi nhận sự xâm nhiễm của các tế bào viêm)



Hình 3.11. Tổn thương mô thận của cá Hồng mỹ khi cảm nhiễm vi khuẩn *V. alginolyticus.* Mũi tên trắng: biến dạng cầu thận; mũi tên vàng: giãn thoái hóa và bong tróc biểu mô ống thận; mũi tên xanh: xung huyết và sự xâm nhiễm tế bào viêm tại mô kẽ; vòng tròn vàng: hoại tử lan tỏa.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

1. Nghiên cứu đã phân lập và định danh 20 chủng vi khuẩn (VA01 - VA20) từ cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) mắc bệnh xuất huyết tại thành phố Huế. Kết quả định danh bằng các đặc điểm hình thái, sinh hóa, MALDI-TOF MS và PCR gene *gyrB* xác nhận toàn bộ các chủng phân lập thuộc loài *V. alginolyticus*.
2. Các chủng *V. alginolyticus* phân lập biểu hiện nhiều đặc tính liên quan đến độc lực, bao gồm khả năng di động, hoạt tính enzyme ngoại bào (caseinase, lipase và phospholipase), hoạt tính β - haemolysin và khả năng tạo màng sinh học. Kết quả PCR xác định sự hiện diện của các gene liên quan đến khả năng di động, bám dính, sản sinh độc tố, hệ thống tiết và thu nhận sắt. Trên cơ sở điểm độc lực tổng hợp, VA15, VA17, VA10, VA08, VA05, VA04, VA11, VA18, VA01 và VA07 thể hiện tiềm năng độc lực *in vitro* cao hơn so với các chủng còn lại.
3. Các chủng *V. alginolyticus* phân lập biểu hiện kháng với amoxicillin, ampicillin, vancomycin, streptomycin và trimethoprim/sulfamethoxazole. Nồng độ NaCl trong môi trường thử nghiệm ảnh hưởng đến kiểu hình nhạy cảm kháng sinh của vi khuẩn. Chủng VA15 mang 18 trong số 21 gene liên quan đến kháng kháng sinh được khảo sát; tuy nhiên, sự hiện diện của các gene này không hoàn toàn tương đồng với kiểu hình kháng kháng sinh.
4. Trên cơ sở các đặc tính liên quan đến độc lực *in vitro* và sự hiện diện của các gene liên quan đến độc lực, VA15 được lựa chọn làm chủng đại diện cho các nghiên cứu tiếp theo. Kết quả cảm nhiễm thực nghiệm xác nhận VA15 có khả năng gây bệnh trên cá Hồng mỹ, với LD_{50} là $4{,}0 \times 10^4$ CFU/cá đối với phương pháp tiêm và $5{,}0 \times 10^5$ CFU/mL đối với phương pháp ngâm. Trong điều kiện thí nghiệm, *V. alginolyticus* VA15 có khả năng gây nhiễm qua đường ngâm, lây truyền gián tiếp qua môi trường nước và tiếp xúc giữa cá nguồn lây với cá nhận; vi khuẩn cũng có khả năng gây nhiễm khi được cung cấp qua thức ăn có bổ sung vi khuẩn.

5. Vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào từ *V. alginolyticus* VA15 đã được điều chế và đánh giá tính an toàn, đáp ứng kháng thể ngưng kết và hiệu quả bảo hộ trên cá Hồng mỹ trong điều kiện thí nghiệm. Vaccine sử dụng qua đường thức ăn ở liều 10^6 CFU-equivalent/cá đạt tỷ lệ bảo hộ tương đối (RPS) 44,2% với phác đồ một liều và 53,5% với phác đồ có liều nhắc lại. Kết quả này là cơ sở cho việc tiếp tục tối ưu hóa công thức và phác đồ sử dụng vaccine nhằm nâng cao hiệu quả bảo hộ.

Kiến nghị

1. Đánh giá mức độ biểu hiện gene liên quan đến độc lực và kháng kháng sinh trong quá trình cảm nhiễm *in vivo* bằng các phương pháp phù hợp nhằm làm rõ hơn mối liên hệ giữa sự hiện diện của gene, biểu hiện gene và kiểu hình quan sát được.
2. Tiếp tục nghiên cứu cơ chế đáp ứng miễn dịch của cá Hồng mỹ đối với vaccine *V. alginolyticus*, bao gồm các chỉ tiêu miễn dịch tế bào, dịch thể và biểu hiện các gene liên quan đến đáp ứng miễn dịch. Đồng thời, tăng tần suất lấy mẫu, đặc biệt bổ sung thời điểm ngày 21, để mô tả đầy đủ hơn động học đáp ứng kháng thể sau khi sử dụng vaccine và liều nhắc lại.
3. Nghiên cứu tối ưu hóa công thức vaccine bất hoạt toàn tế bào, bao gồm việc lựa chọn chất bổ trợ, hệ dẫn truyền và vật liệu bao vi nang phù hợp nhằm nâng cao tính ổn định, khả năng bảo vệ kháng nguyên và hiệu quả bảo hộ khi sử dụng qua đường ăn.
4. Đánh giá các phương thức và phác đồ cấp vaccine khác nhau, đặc biệt là phác đồ gây miễn dịch ban đầu bằng phương pháp ngâm ở giai đoạn cá giống và sử dụng vaccine đường ăn làm liều nhắc lại ở giai đoạn cá lớn.
5. Đánh giá hiệu quả bảo hộ của vaccine ở quy mô lớn hơn và trong điều kiện nuôi thực tế, với thời gian theo dõi dài hơn, trước khi xem xét khả năng ứng dụng trong phòng bệnh do *V. alginolyticus* trên cá Hồng mỹ nuôi thương phẩm.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NCKH CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ

1. Nguyễn Nam Quang, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Nguyễn Thị Xuân Hồng, Trương Thị Hoa, Nguyễn Ngọc Phước, "Nghiên cứu khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ cá biển nuôi lồng bị bệnh xuất huyết tại vùng ven biển Thành phố Huế", *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, Tập 134, Số 3B, 2025, Trang.23-37.
2. Nguyen Nam Quang, Nguyen Duc Quynh Anh, Nguyen Thị Hue Linh, Carola Venturini, Fransisca Samsing, Nguyen Ngoc Phuoc, "Virulence traits and gene profiles of *Vibrio alginolyticus* from farmed red drum in Vietnam", *Biodiversitas*, 27(1), d270145, January 2026, pp.1/11-11/11.
3. Nguyen Nam Quang, Nguyen Duc Quynh Anh, Nguyen Thị Hue Linh, Carola Venturini, Fransisca Samsing, Nguyen Ngoc Phuoc, "Antimicrobial resistance gene and salt dependent antibiotic susceptibility in *Vibrio alginolyticus* isolated from diseased *Sciaenops ocellatus* (Linnaeus, 1766) in Vietnam", *AACl Bioflux*, 19(2), 2026, pp.526-538.
4. Nguyễn Nam Quang, Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Ngọc Phước. "Nghiên cứu con đường lây truyền bệnh của vi khuẩn *Vibrio alginolyticus* trên cá Hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*) trong điều kiện nuôi thực nghiệm", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ nông nghiệp, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế*, Tập 10, Số 2, 2026, Trang 5550-5561
5. Nguyễn Nam Quang, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Nguyễn Ngọc Phước, "Nghiên cứu hiệu quả vaccine bất hoạt *Vibrio alginolyticus* trong phòng bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*)", *Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, Tập 135, Số 3B,2026, Trang 135–147.

HUE UNIVERSITY
UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND FORESTRY

NGUYEN NAM QUANG

STUDY ON THE BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *Vibrio alginolyticus* AND THE DEVELOPMENT OF AN INACTIVATED WHOLE-CELL VACCINE FOR THE PREVENTION OF HEMORRHAGIC DISEASE IN RED DRUM (*Sciaenops ocellatus*)

SUMMARY OF PhD DISSERTATION IN AQUACULTURE

HUE – 2026

HUE UNIVERSITY
UNIVERSITY OF AGRICULTURE AND FORESTRY

NGUYEN NAM QUANG

STUDY ON THE BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *Vibrio alginolyticus* AND THE DEVELOPMENT OF AN INACTIVATED WHOLE-CELL VACCINE FOR THE PREVENTION OF HEMORRHAGIC DISEASE IN RED DRUM (*Sciaenops ocellatus*)

SUMMARY OF PhD DISSERTATION IN AQUACULTURE

Supervisor 1: Assoc. Prof. Dr. NGUYEN NGOC PHUOC
Supervisor 2: Dr. NGUYEN THI HUE LINH

HUE - 2026

INTRODUCTION

1. Background of the study

Red drum (*Sciaenops ocellatus*) is a highly economically valuable marine cultured species, exhibiting rapid growth and broad adaptability. It has been identified as a highly potential candidate in Vietnam's marine aquaculture development strategy up to 2030, with a vision toward 2045. However, concomitant with the intensification of aquaculture, infectious diseases have emerged as a major hurdle to the efficiency and sustainability of the industry. Notably, hemorrhagic disease caused by the bacterium *Vibrio alginolyticus* results in substantial losses in terms of survival rate, productivity, and economic profitability.

Vibrio alginolyticus is a bacterium ubiquitous in marine and brackish water environments, capable of long-term persistence in aquaculture systems and transmitting via multiple routes. Its pathogenicity is driven by the synergistic action of multifactorial virulence characteristics related to motility, adhesion, invasion, biofilm formation, iron acquisition, and toxin secretion. Furthermore, the prolonged use of antibiotics for disease prophylaxis and treatment has escalated the risk of antibiotic-resistant strains emerging, which subsequently compromises therapeutic efficacy, food safety, and the aquaculture environment.

In the context of aquaculture development aligned with the One Health approach, reducing antibiotic dependence and strengthening proactive disease prevention measures have become imperative. Vaccination is considered a sustainable

strategy to enhance host protection, minimize antibiotic usage, and improve disease management efficacy. Among vaccine types, the inactivated whole-cell vaccine offers distinct advantages, including safety, ease of preparation, and the retention of a relatively comprehensive antigenic profile of the pathogen.

Although *V. alginolyticus*-induced diseases in marine fish have been investigated in numerous countries, Vietnam still lacks systematic studies concerning the biological characteristics, virulence, antibiotic resistance, transmission routes, and vaccine development specifically for red drum. Particularly, there is a scarcity of data supporting the selection of a representative bacterial strain for the development of an inactivated whole-cell vaccine administered orally via feed. Therefore, the dissertation entitled "Study on the biological characteristics of *Vibrio alginolyticus* and the development of an inactivated whole-cell vaccine for the prevention of hemorrhagic disease in red drum (*Sciaenops ocellatus*)" was conducted to establish a comprehensive scientific and practical foundation for disease prevention in marine aquaculture.

2. Objectives of the study

To establish the scientific and practical basis for the development of an inactivated whole-cell *Vibrio alginolyticus* vaccine for the prevention of hemorrhagic disease in red drum (*Sciaenops ocellatus*) through: (i) determining the morphological, biochemical, virulence, antibiotic resistance characteristics, and pathogenicity of *V. alginolyticus* isolated from diseased red drum; (ii) determining the transmission routes

of *V. alginolyticus* in red drum under experimental conditions; and (iii) developing an inactivated whole-cell vaccine, and evaluating its safety, immunogenicity, and protective efficacy when administered orally via feed.

3. Scientific and practical significance

3.1. Scientific significance

The dissertation enriches the scientific basis regarding the biological characteristics, virulence, antibiotic resistance, pathogenicity, and transmission routes of *Vibrio alginolyticus* causing hemorrhagic disease in red drum (*Sciaenops ocellatus*) under marine aquaculture conditions in Vietnam. The research findings contribute to elucidating the scientific foundation for the selection of a representative bacterial strain to develop an inactivated whole-cell vaccine for the prevention of hemorrhagic disease in red drum.

3.2. Practical significance

The research findings provide a practical foundation for pathogen identification, antibiotic resistance risk assessment, the establishment of disease management strategies, and the development of an inactivated whole-cell vaccine administered orally via feed for the prevention of hemorrhagic disease in red drum. Consequently, these contributions facilitate the reduction of antibiotic dependence and align with the sustainable development of marine aquaculture in Vietnam.

Chapter 1. LITERATURE REVIEW

1. Biological characteristics of red drum and the context of its aquaculture development

Red drum (*Sciaenops ocellatus*) is a highly economically valuable marine fish species originating from the western Atlantic coast. It is currently cultured commercially in numerous countries, with China accounting for the vast majority of global production. Owing to its rapid growth rate, broad environmental adaptability, high feed utilization efficiency, and excellent meat quality, red drum has been identified as a priority species in Vietnam's marine aquaculture development strategy. However, concomitant with the expansion of intensive farming scales, red drum aquaculture is encountering multiple challenges, including environmental fluctuations, rising production costs, stringent requirements to restrict antibiotic use, and notably, the escalation of bacterial infectious diseases. Among these, the disease caused by *Vibrio alginolyticus* is considered one of the critical threats to the sustainable development of the industry.

2. *Vibrio alginolyticus*-induced disease, antibiotic resistance, and vaccines in marine aquaculture

Vibrio alginolyticus is a Gram-negative, halophilic bacterium ubiquitously distributed in marine and brackish water environments, capable of long-term persistence in aquaculture systems and causing diseases in various aquatic species. Its pathogenicity results from the synergistic action of multifactorial virulence characteristics, including motility, adhesion, extracellular enzyme activity, hemolysin toxins, protein secretion systems, iron acquisition ability, and biofilm formation. Under intensive farming conditions, the bacterium can be transmitted via waterborne exposure, direct contact between diseased and healthy fish, or feedborne transmission, thereby exacerbating the risk of disease outbreaks in aquaculture systems.

Concurrently, the prolonged use of antibiotics in aquaculture has

escalated antibiotic resistance in Vibrio species, compromising therapeutic efficacy and increasing the risk of disseminating antibiotic resistance gene in the environment.

In this context, vaccination is considered a highly promising proactive disease prevention strategy. Particularly, the inactivated whole-cell vaccine offers advantages in terms of safety, ease of preparation, reasonable cost, and the retention of a relatively comprehensive antigenic profile of the pathogen. Although numerous studies have investigated vaccines against Vibrio-induced diseases in several marine fish species, research on V. alginolyticus in red drum remains limited, especially regarding vaccines administered orally via feed.

3. Research gaps and the research approach of the dissertation

Previous studies indicate that there remain substantial research gaps concerning hemorrhagic disease caused by *Vibrio alginolyticus* in red drum in Vietnam, including a lack of systematic data on the biological, virulence, antibiotic resistance, and pathogenic characteristics, as well as the transmission routes of the bacterium.

Furthermore, there is a scarcity of research regarding the selection of representative bacterial strains for the development of inactivated whole-cell vaccines, alongside the evaluation of the safety, immunogenicity, and protective efficacy of such vaccines administered orally via feed.

Accordingly, the dissertation was conducted using an approach that progresses from investigating the biological characteristics, virulence, antibiotic resistance, pathogenicity, and transmission routes of *V. alginolyticus*, to the selection of a representative bacterial strain, the formulation of an inactivated whole-cell vaccine, and the subsequent evaluation of its safety, immunogenicity, and protective efficacy in red drum. This comprehensive approach contributes to establishing the scientific foundation for the development of vaccines against

hemorrhagic disease and orienting sustainable disease prevention strategies in marine aquaculture.

The literature review demonstrates that although numerous studies have investigated *Vibrio alginolyticus* in various marine fish species, Vietnam still lacks comprehensive research encompassing the isolation, virulence assessment, antibiotic resistance profiling, transmission mechanisms, and the development of inactivated vaccines specifically for red drum. This constitutes the fundamental scientific gap that the dissertation aims to address.

Chapter 2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Object and scope of the study

The research object of this dissertation is the bacterium *Vibrio alginolyticus* isolated from diseased red drum (*Sciaenops ocellatus*) in marine cage-culture areas in Phu Loc and Phu Vang communes, Hue City. Healthy red drum were utilized in experiments evaluating pathogenicity, transmission routes, and vaccine efficacy.

The research was conducted from November 2023 to January 2026 at the Laboratory of Aquatic Animal Pathology, Faculty of Fisheries, University of Agriculture and Forestry, Hue University; the Molecular Biology Laboratory, Sydney School of Veterinary Science, The University of Sydney (Australia); the Biotechnology Center of Ho Chi Minh City; and Phu Sa Biochem Co., Ltd. (Can Tho City).

2.2. Research contents

- Isolation, morphological and biochemical characterization, and identification of the bacteria causing hemorrhagic disease in red drum.
- Investigation of the virulence characteristics and screening of virulence-associated gene of *V. alginolyticus*.

- Investigation of the antibiotic resistance characteristics and screening of antibiotic resistance gene of *V. alginolyticus*.
- Evaluation of the pathogenicity and determination of the transmission routes of *V. alginolyticus* in red drum under experimental conditions.
- Preparation of an inactivated whole-cell *V. alginolyticus* vaccine, and evaluation of its safety and immunogenicity in red drum.
- Evaluation of the protective efficacy of the inactivated whole-cell vaccine for the prevention of hemorrhagic disease caused by *V. alginolyticus* in red drum.

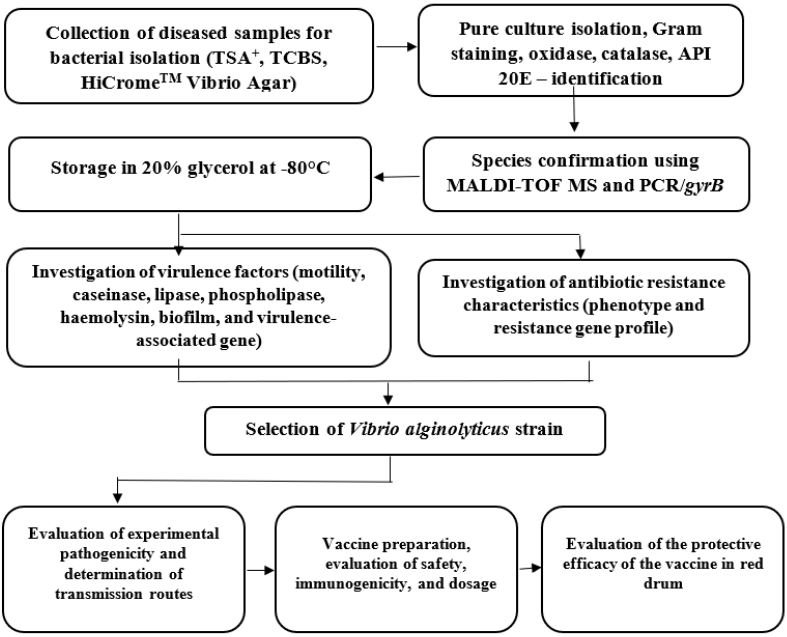


Figure 2.1. Overall research flowchart of the dissertation

2.3. Research methods

2.3.1. Sample collection, bacterial isolation, and identification

Diseased red drum samples were collected from marine cage-culture areas in Phu Loc and Phu Vang districts, Hue City. Bacteria were isolated on TSA supplemented with NaCl, TCBS, and HiCrome™ Vibrio Agar. The isolates were subjected to morphological and biochemical characterization, identified by MALDI-TOF MS, and confirmed via PCR targeting the *gyrB* gene. The phylogenetic relationship among the isolates was analyzed based on the nucleotide sequence of the *gyrB* gene.

2.3.2. Evaluation of virulence and antibiotic resistance characteristics

The *V. alginolyticus* strains were evaluated for their motility, extracellular enzymatic activities, hemolytic activity, and biofilm formation ability, alongside the screening of virulence-associated gene using PCR. The antibiotic resistance phenotype was determined by the Kirby-Bauer disk diffusion method against 21 antibiotics belonging to 9 different classes under various salinity conditions. The strain exhibiting the highest virulence potential was subsequently subjected to the screening of antibiotic resistance gene via PCR.

2.3.3. Pathogenicity assay, investigation of transmission routes, and vaccine evaluation

The *V. alginolyticus* strain exhibiting the highest virulence potential was utilized in experiments to determine the LD_{50} value, and evaluate the transmission routes via waterborne exposure, direct contact, and feedborne transmission. An inactivated whole-cell vaccine was prepared using formalin, incorporated into feed, and evaluated for its safety, immunogenicity, and protective efficacy in red drum based on antibody titers, survival rate, and relative percent survival (RPS).

2.3.4. Statistical analysis

Data were analyzed using IBM SPSS Statistics version 20.0 software. Differences among treatments were evaluated using one-way Analysis of Variance (ANOVA) followed by Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test at a significance level of $p < 0.05$. For survival data, differences were assessed using the log-rank test based on the Kaplan-Meier model.

Chapter 3. RESULTS

3.1. Isolation, identification, and species confirmation of the bacteria causing hemorrhagic disease in red drum

3.1.1. Results of sample collection and bacterial isolation

From live red drum samples exhibiting typical signs of hemorrhagic disease collected from marine cage-culture areas in Phu Loc and Phu Vang communes, Hue City, a total of 20 bacterial strains, designated as VA01 to VA20, were isolated. All isolates displayed colony and cellular morphological characteristics typical of the *Vibrio* group, serving as the basis for subsequent identification and species confirmation steps.



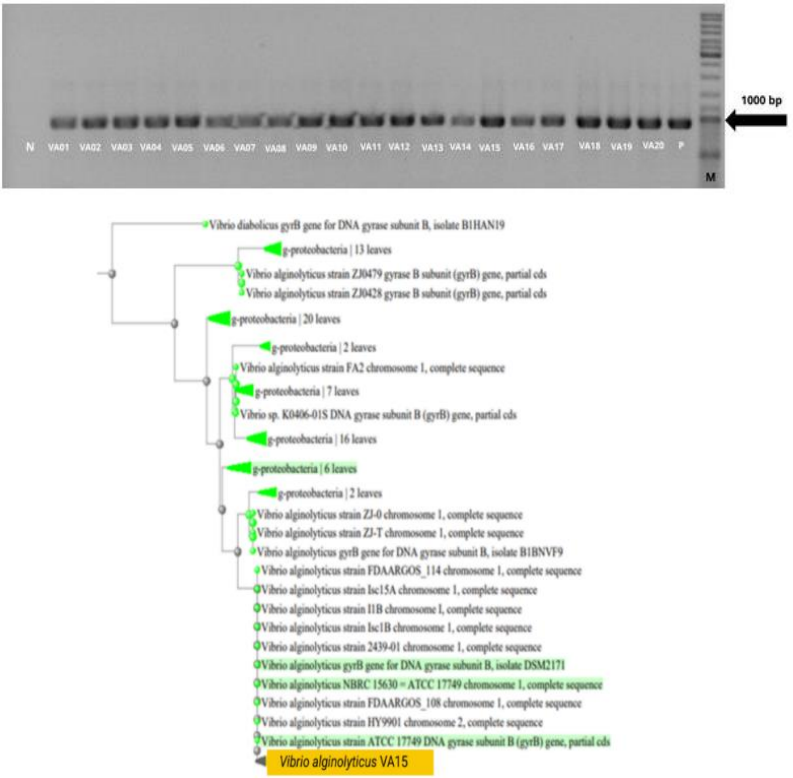
Figure 3.1. Coordinates of the sampling areas

3.1.2. Morphological and biochemical characterization, and bacterial identification

The results of the morphological and biochemical characterization, alongside API 20E profiles, demonstrated that

all 20 isolates exhibited characteristics consistent with *Vibrio alginolyticus*. Species identification via MALDI-TOF MS and PCR targeting the *gyrB* gene confirmed that all 20 isolates belonged to *Vibrio alginolyticus*. Furthermore, nucleotide sequence analysis of the *gyrB* gene and phylogenetic tree construction reaffirmed the phylogenetic relationship between the investigated isolates and *V. alginolyticus* strains published in GenBank.

Figure 3.2. PCR results targeting the *gyrB* gene of the 20



bacterial isolates and the phylogenetic tree of strain VA15

3.2. Virulence characteristics and virulence-associated

gene of *Vibrio alginolyticus*

3.2.1. Expression of virulence factors

The *V. alginolyticus* isolates exhibited motility, extracellular enzymatic activities, hemolytic activity, and biofilm formation ability to varying degrees. The comprehensive assessment results revealed that 10 strains, namely VA15, VA17, VA10, VA08, VA05, VA04, VA11, VA18, VA01, and VA07, possessed higher virulence potential compared to the remaining isolates. Among them, strain VA15 achieved the highest value and was selected as the representative strain for subsequent studies.

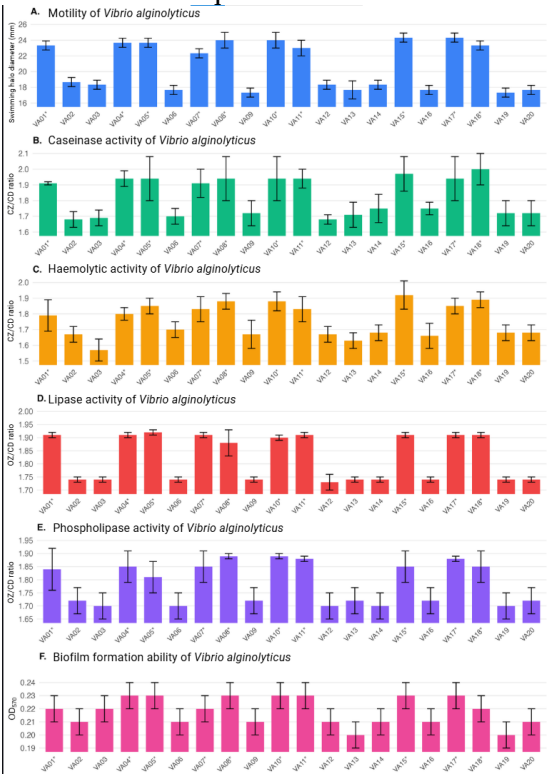


Figure 3.3. Results of virulence expression of the bacterial isolates

Table 3.1. Virulence potential ranking of the 20 *V.*

alginolyticus isolates

Strain	Motility	Caseinase	Lipase	Phospholipase	Haemolysin	Biofilm	Mean Enzyme_ Index	N_ Motility	N_Enzyme_ Index	N_ Biofilm	Score	Rank
VA15	24,330	1,970	1,910	1,850	1,920	0,230	1,912	1,000	1,000	1,000	3,000	**1**
VA17	24,330	1,940	1,910	1,880	1,850	0,230	1,895	1,000	0,926	1,000	2,926	**2**
VA10	24,000	1,940	1,900	1,890	1,880	0,230	1,902	0,953	0,958	1,000	2,911	**3**
VA08	24,000	1,940	1,880	1,890	1,880	0,230	1,898	0,953	0,937	1,000	2.890	**4**
VA05	23,670	1,940	1,920	1,810	1,850	0,230	1,880	0,906	0,863	1,000	2,769	**5**
VA04	23,670	1,940	1,910	1,850	1,800	0,230	1,875	0,906	0,842	1,000	2,748	**6**
VA11	23,000	1,940	1,910	1,880	1,830	0,230	1,890	0,810	0,905	1,000	2,715	**7**
VA18	23,330	2,000	1,910	1,850	1,890	0,220	1,912	0,857	1,000	0,667	2,524	**8**
VA01	23,330	1,910	1,910	1,840	1,790	0,220	1,862	0,857	0,789	0,667	2,313	**9**
VA07	22,330	1,910	1,910	1,850	1,830	0,220	1,875	0,714	0,842	0,667	2,223	**10**
VA03	18,330	1,690	1,740	1,700	1,570	0,220	1,675	0,143	0.000	0,667	0,810	11
VA14	18,330	1,750	1,740	1,700	1,680	0,210	1,718	0,143	0,179	0,333	0,655	12
VA02	18,670	1,680	1,740	1,720	1,670	0,210	1,702	0,191	0,116	0,333	0,641	13
VA16	17,670	1,750	1,740	1,720	1,660	0,210	1,718	0,490	0,179	0,333	0,561	14
VA12	18,330	1,680	1,730	1,700	1,670	0,210	1,695	0,143	0,840	0,333	0,560	15
VA20	17,670	1,720	1,740	1,720	1,680	0,210	1,715	0,490	0,168	0,333	0,550	16
VA06	17,670	1,700	1,740	1,700	1,700	0,210	1,710	0,490	0,147	0,333	0,529	17
VA09	17,330	1,720	1,740	1,720	1,670	0,210	1,712	0,000	0,158	0,333	0,491	18
VA13	17,670	1,710	1,740	1,720	1,630	0,200	1,700	0,490	0,105	0,000	0,154	19
VA19	17,330	1,720	1,740	1,700	1,680	0,200	1,710	0,000	0,147	0,000	0,147	20

3.2.2. Virulence gene profile

The screening results of virulence-associated gene demonstrated that highly virulent strains harbored multiple gene related to motility, adhesion, secretion systems, hemolytic toxins, and iron acquisition mechanisms. Strain VA15 simultaneously possessed numerous crucial virulence gene, which was consistent with the phenotypic virulence assessment results, and was subsequently selected for further investigations into pathogenicity, transmission routes, and vaccine preparation.

Table 3.2. PCR detection of virulence-associated genes in the ten *Vibrio alginolyticus* isolates with the highest composite virulence scores

Targeted gene	Phenotype	Isolate									
		VA15	VA17	VA10	VA08	VA05	VA04	VA11	VA18	VA01	VA07
flaA	Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
flaC		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
flgE		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
flrA		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
flrB		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
flrC		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
flaK		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
tdh	Hemolysin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trh		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
tlh		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
tcpA	Pili	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
vopB	T3SS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
vopD		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
vgrG	T6SS	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pvuA	Iron acquisition	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pvsA		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Note: +: Indicates presence, and -: Indicates absence of PCR amplification for the corresponding target gene

3.3. Antibiotic resistance characteristics and antimicrobial resistance gene profile of *Vibrio alginolyticus*

3.3.1. Influence of salinity on the antibiotic resistance phenotype

The survey results indicated that the NaCl concentration in the culture medium affected the antibiotic susceptibility levels of the *V. alginolyticus* strains. The isolates exhibited resistance to amoxicillin, ampicillin, vancomycin, streptomycin, and trimethoprim/sulfamethoxazole, while remaining susceptible to numerous other antibiotic classes. Variations in NaCl concentration altered the inhibition zone diameters for several tested antibiotics.

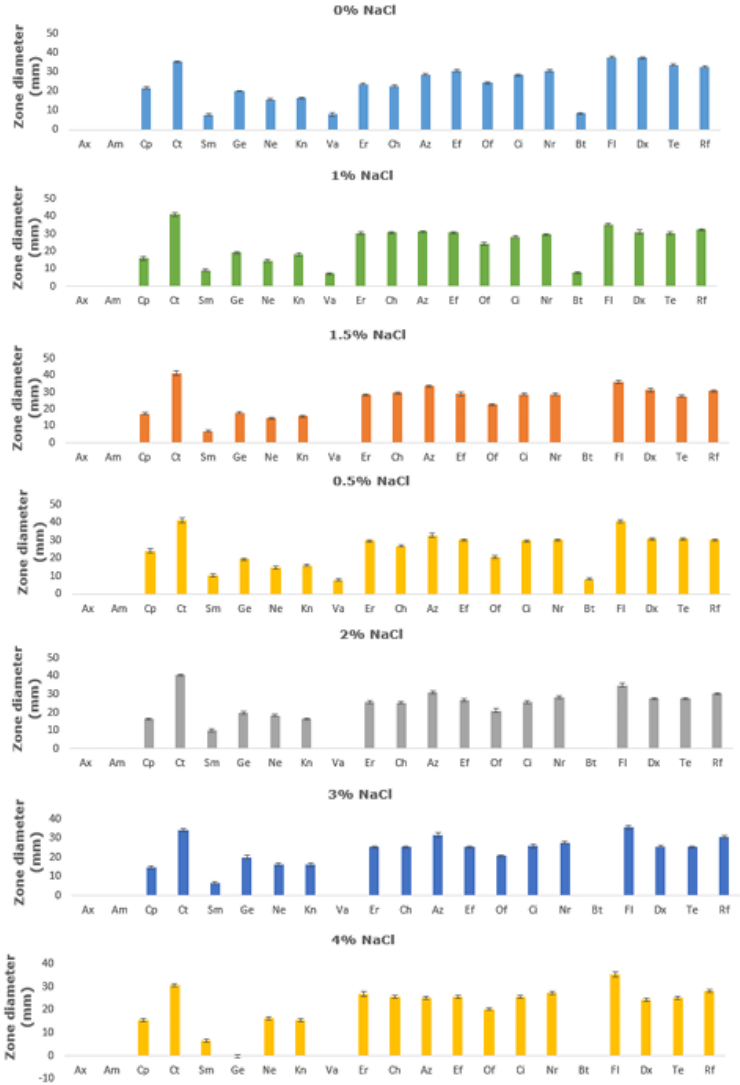


Figure 3.4. Effects of NaCl on the antibiotic resistance phenotype of *Vibrio alginolyticus*

3.3.2. Antibiotic resistance gene profile

The PCR results revealed that strain VA15 harbored multiple gene related to fluoroquinolone resistance (*qnrA, qnrB, qnrS*), beta-lactam resistance (*bla*SHV, *bla*CTX-M), macrolide resistance (*ermA, ermB, ermC*), tetracycline resistance (*tetB, tetE, tetG*), sulfonamide resistance (*sul1, sul2, sul3*), aminoglycoside resistance (*strA-strB*), phenicol resistance (*fexA*), polymyxin resistance (*mcr*), and multidrug resistance (*cfr*). These findings are consistent with the antibiotic resistance phenotype of the investigated strain and indicate that strain VA15 possesses a high potential for multidrug resistance.

3.4. Experimental pathogenicity of *Vibrio alginolyticus* in red drum

3.4.1. LD_{50} value of Vibrio alginolyticus strain VA15

Based on the virulence evaluation results, *V. alginolyticus* strain VA15 was selected to determine its experimental pathogenicity in red drum via injection and immersion challenge methods. The results demonstrated that strain VA15 is capable of causing hemorrhagic disease in red drum, with an LD_{50} value of 4.0×10^4 CFU $fish^{-1}$ via the injection route and 5.0×10^5 CFU mL^{-1} via the immersion route, proving that this is a highly virulent strain suitable for use in subsequent studies.

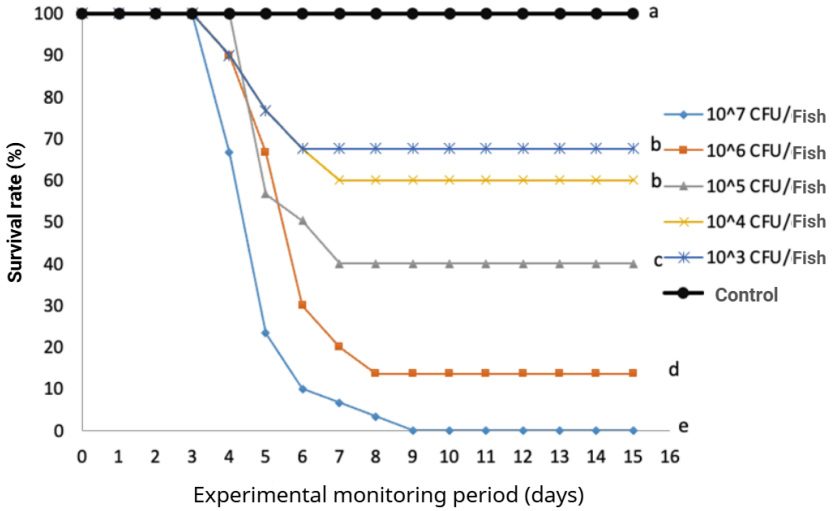


Figure 3.5. Survival rate of red drum (*Sciaenops ocellatus*) following challenge with *V. alginolyticus* VA15 via injection

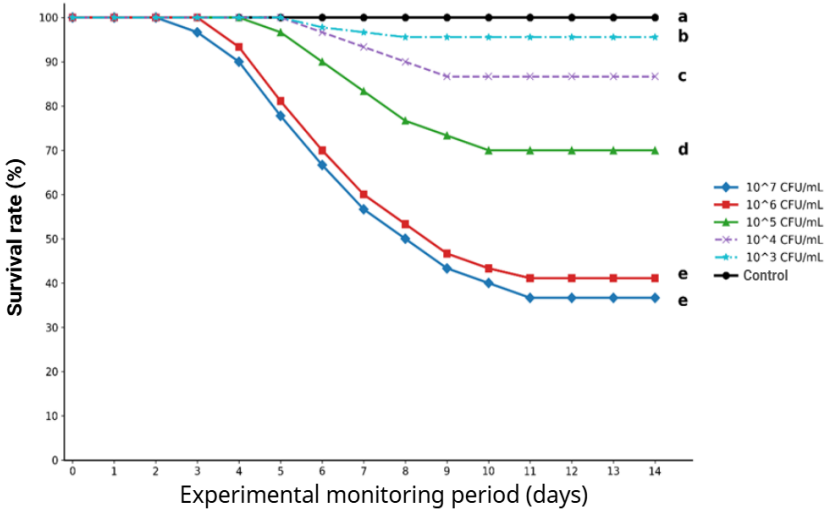


Figure 3.6. Survival rate of red drum (*Sciaenops ocellatus*) following challenge with *V. alginolyticus* VA15 via immersion

3.4.2. Clinical signs and bacterial re-isolation

Following challenge, red drum exhibited typical clinical signs of hemorrhagic disease, including anorexia, lethargy, body darkening, scale loss, cutaneous hemorrhage, fin erosion, as well as a swollen and congested liver. *V. alginolyticus* was successfully re-isolated from infected fish and confirmed via PCR targeting the *gyrB* gene, satisfying the criteria for confirming the causative pathogen under experimental conditions.



Figure 3.7. Clinical signs of red drum (*Sciaenops ocellatus*) following challenge with *V. alginolyticus VA15*

3.5. Transmission routes of *Vibrio alginolyticus* in red drum under experimental conditions

3.5.1. Waterborne transmission

Experimental results demonstrated that *V. alginolyticus* is capable of waterborne transmission. Healthy fish exposed to bacteria-containing water or sharing a water supply with pathogen-carrying fish both exhibited characteristic clinical signs and recorded an increasing cumulative mortality over time. Total *Vibrio* density and *V. alginolyticus* counts in the water fluctuated over the experimental period, reflecting the survival and dissemination capacity of the

bacterium in the aquaculture environment.

3.5.2. Direct contact transmission

Under cohabitation conditions, *V. alginolyticus* is capable of transmitting from diseased fish to healthy fish via direct contact. Cumulative mortality of the healthy fish group increased progressively over the monitoring period, and the bacterium was successfully re-isolated from affected individuals, confirming the direct transmission capacity of the pathogen within farmed fish populations.

3.5.3. Feedborne transmission

Research results indicated that *V. alginolyticus* is capable of feedborne transmission. Fish fed with bacteria-supplemented diets exhibited typical clinical signs, cumulative mortality increased over time, and the bacterium was successfully re-isolated from clinical specimens. Overall findings from the transmission trials demonstrated that *V. alginolyticus* can be transmitted through three distinct pathways: waterborne, direct contact, and feedborne, among which waterborne transmission represents a major pathway for pathogen dissemination in aquaculture systems.

3.6. Formulation and efficacy evaluation of an inactivated whole-cell *Vibrio alginolyticus* vaccine

3.6.1. Vaccine safety

V. alginolyticus strain VA15 was completely inactivated with formalin and utilized to formulate a whole-cell inactivated vaccine. Evaluation in red drum demonstrated that the vaccine exerted no adverse effects on the survival rate, growth rate, or feed conversion ratio (FCR) of the fish. Histopathological analysis of liver and intestinal tissues revealed no abnormal alterations between the vaccinated and control groups, confirming that the vaccine maintains safety under experimental conditions.

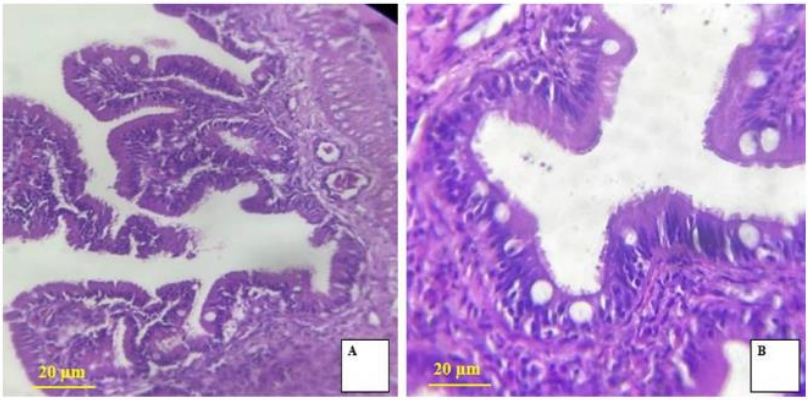


Figure 3.8. Intestinal histopathology of red drum (*Sciaenops ocellatus*) (A – control; B – vaccinated fish)

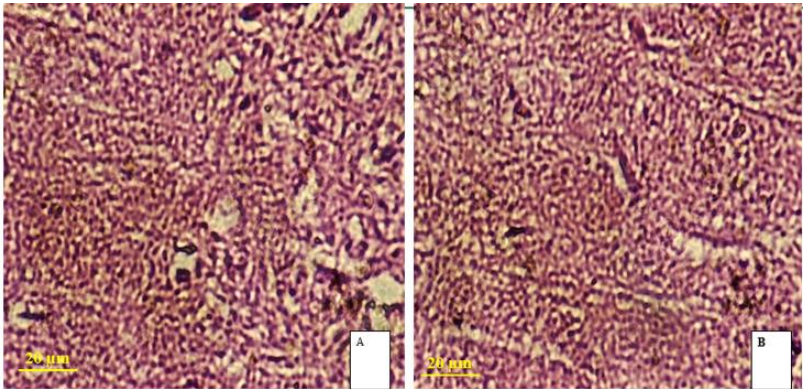


Figure 3.9. Liver histopathology of red drum (*Sciaenops ocellatus*) (A – control; B – vaccinated fish)

3.6.2. Ability to stimulate immune response

The whole-cell inactivated *V. alginolyticus* vaccine administered via feed demonstrated the capacity to stimulate a specific immune response in red drum (*Sciaenops ocellatus*). Antibody titers increased over time post-vaccination, reaching the highest level in the treatment group receiving a dose of 10^6 CFU-equivalent $fish^{-1}$, which was selected for subsequent protective efficacy challenge experiments.

Table 3.3. Agglutinating antibody titers of red drum (*Sciaenops ocellatus*) post-vaccination

Treatment	Dose (CFU equivalent/fish)	SGR (%/date)	FCR (Mean ± SD)	Survival rate (%)
NT1	10^5	2,14 ± 0,12	1,33 ± 0,10	100
NT2	10^6	2,26 ± 0,18	1,35 ± 0,12	100
NT3	10^7	2,18 ± 0,15	1,40 ± 0,14	100
Control	0	2,16 ± 0,14	1,34 ± 0,11	100

3.6.3. Vaccine protective efficacy

Following experimental challenge with *V. alginolyticus* strain VA15, all vaccinated groups exhibited higher survival rates compared to the control group. The single-dose vaccine administration achieved a relative percent survival (RPS) of 44.2%, whereas the booster-dose regimen reached 53.5%, demonstrating that the administration of a booster dose enhances the protective efficacy of the vaccine against hemorrhagic disease in red drum (*Sciaenops ocellatus*).

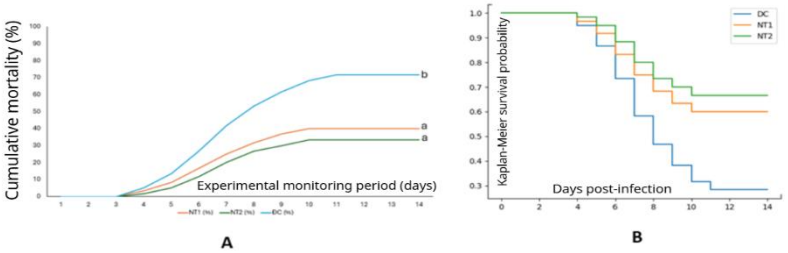


Figure 3.10. Cumulative mortality (A) and survival probability of red drum (*Sciaenops ocellatus*) (B) in the vaccine protective efficacy trial

3.6.4. Clinical signs, bacterial re-isolation, and histopathology post-challenge

Following challenge, the control group exhibited typical clinical signs of hemorrhagic disease, accompanied by marked tissue damage in the liver and kidneys. In contrast, the vaccinated groups showed milder disease manifestations, lower bacterial re-isolation rates, and better-preserved liver and kidney tissue architecture compared to the control group. These findings confirm that the whole-cell inactivated *V. alginolyticus* vaccine can mitigate pathological damage and enhance protection in red drum (*Sciaenops ocellatus*) against pathogenic bacterial challenge.

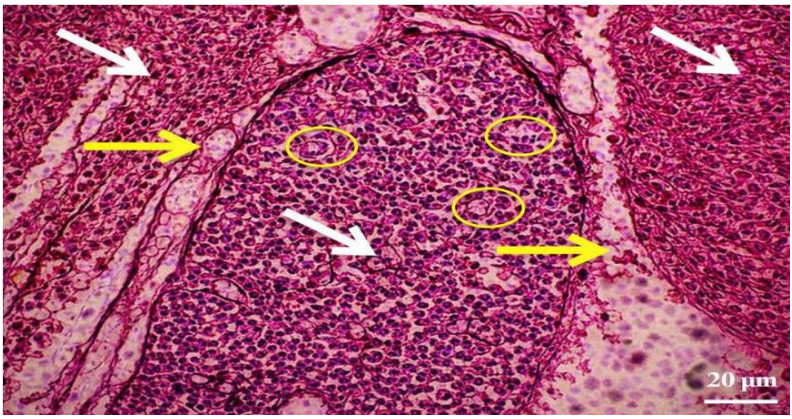


Figure 3.10. Liver tissue lesions in red drum (*Sciaenops ocellatus*) following *V. alginolyticus* challenge (yellow arrows: disruption of hepatic cord architecture; white arrows: diffuse necrotic areas; yellow circles: inflammatory cell infiltration)

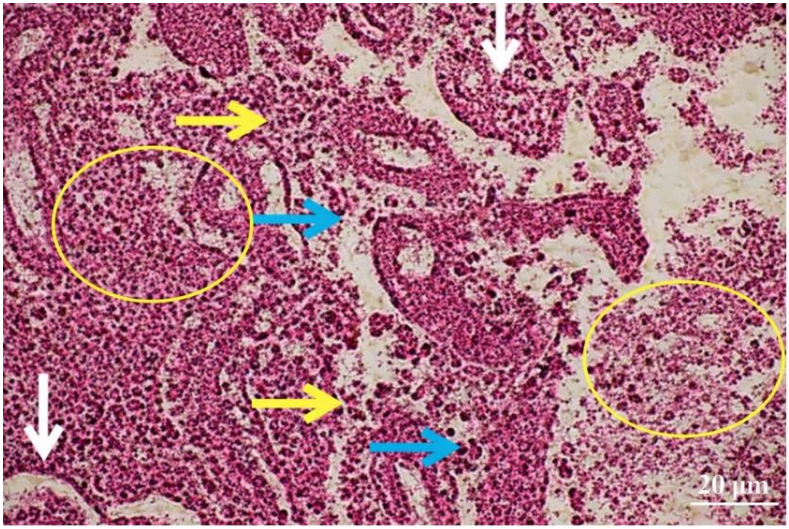


Figure 3.11. Kidney tissue lesions in red drum (*Sciaenops ocellatus*) following *V. alginolyticus* challenge (white arrows: glomerular deformation; yellow arrows: degenerative dilation and desquamation of tubular epithelium; green arrows: congestion and inflammatory cell infiltration in interstitial tissue; yellow circles: diffuse necrosis)

Chapter 4. CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

CONCLUSIONS

1. The study isolated and identified 20 bacterial strains (VA01–VA20) from red drum (*S. ocellatus*) suffering from hemorrhagic disease in Hue City. Species identification based on morphological and biochemical characteristics, MALDI-TOF MS, and PCR targeting the gyrB gene confirmed that all isolated strains belonged to *V. alginolyticus*.
2. The isolated *V. alginolyticus* strains exhibited various virulence-associated traits, including motility, extracellular enzymatic activities (caseinase, lipase, and phospholipase), beta-haemolysin activity, and biofilm formation capability. PCR analysis determined the presence of gene associated with motility, adhesion, toxin production, secretion systems, and iron acquisition. Based on composite virulence scores, strains VA15, VA17, VA10, VA08, VA05, VA04, VA11, VA18, VA01, and VA07 demonstrated higher *in vitro* virulence potential compared to the remaining strains.
3. The isolated *V. alginolyticus* strains exhibited resistance to amoxicillin, ampicillin, vancomycin, streptomycin, and trimethoprim/sulfamethoxazole. The NaCl concentration in the testing medium influenced the antibiotic susceptibility phenotypes of the bacteria. Strain VA15 harbored 18 out of the 21 investigated antibiotic resistance gene; however, the presence of these gene did not completely correspond to the antimicrobial resistance phenotypes.
4. Based on *in vitro* virulence-associated traits and the presence of virulence-associated gene, VA15 was selected as the representative strain for subsequent studies. Experimental challenge confirmed that VA15 is pathogenic to red drum, with an LD_{50} value of 4.0×10^4 CFU $fish^{-1}$ via injection and 5.0×10^5 CFU mL^{-1} via immersion. Under experimental conditions, *V. alginolyticus* VA15 demonstrated the ability to cause infection via immersion, indirect transmission through the water environment, and contact between shedding host fish and recipient fish; the bacterium was also capable of causing infection when administered via bacteria-supplemented feed.

5. A whole-cell inactivated vaccine prepared from *V. alginolyticus* VA15 was formulated, and its safety, agglutinating antibody response, and protective efficacy were evaluated in red drum under experimental conditions. Oral administration via feed at a dose of 10^6 CFU-equivalent $fish^{-1}$ achieved a relative percent survival (RPS) of 44.2% with a single-dose regimen and 53.5% with a booster regimen. These results provide the baseline for further optimizing the vaccine formulation and administration protocols to enhance protective efficacy.

RECOMMENDATIONS

1. Evaluate the expression levels of virulence-associated and antibiotic resistance gene during *in vivo* infection using appropriate methods to further clarify the relationship between gene presence, gene expression, and observed phenotypes.
2. Further investigate the immune response mechanisms of red drum to the *V. alginolyticus* vaccine, encompassing cellular and humoral immune indicators as well as the expression of immune-related gene. Additionally, increase sampling frequency—specifically incorporating a day-21 time point—to more comprehensively describe antibody response kinetics following primary vaccination and booster administration.
3. Conduct research to optimize the whole-cell inactivated vaccine formulation, including the selection of suitable adjuvants, delivery systems, and microencapsulation materials to enhance stability, antigen protection, and protective efficacy when administered orally via feed.
4. Evaluate different vaccine administration methods and immunization regimens, particularly a strategy combining primary immunization via immersion at the fingerling stage with oral booster administration during the grow-out stage.
5. Assess the protective efficacy of the vaccine on a larger scale and under field farming conditions, with extended monitoring periods, prior to considering its practical application for preventing disease caused by *V. alginolyticus* in commercial red drum aquaculture.

LIST OF PUBLICATIONS BY THE AUTHOR

1. **Nguyen Nam Quang**, Nguyen Thi Hue Linh, Nguyen Duc Quynh Anh, Nguyen Thi Xuan Hong, Truong Thi Hoa, Nguyen Ngoc Phuoc, "Study on antibiotic resistance of *Vibrio* bacteria isolated from cage-cultured marine fish suffering from hemorrhagic disease in coastal areas of Hue City", Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development, Vol. 134, No. 3B, 2025, pp. 23–37.
2. **Nguyen Nam Quang**, Nguyen Duc Quynh Anh, Nguyen Thi Hue Linh, Carola Venturini, Fransisca Samsing, Nguyen Ngoc Phuoc, "Virulence traits and gene profiles of *Vibrio alginolyticus* from farmed red drum in Vietnam", Biodiversitas, 27(1), d270145, January 2026, pp. 1/11–11/11.
3. **Nguyen Nam Quang**, Nguyen Duc Quynh Anh, Nguyen Thi Hue Linh, Carola Venturini, Fransisca Samsing, Nguyen Ngoc Phuoc, "Antimicrobial resistance gene and salt dependent antibiotic susceptibility in *Vibrio alginolyticus* isolated from diseased Sciaenops ocellatus (Linnaeus, 1766) in Vietnam", AACL Bioflux, 19(2), 2026, pp. 526–538.
4. **Nguyen Nam Quang**, Nguyen Duc Quynh Anh, Nguyen Thi Hue Linh, Nguyen Ngoc Phuoc, "Study on transmission routes of *Vibrio alginolyticus* in red drum (*Sciaenops ocellatus*) under experimental conditions", Journal of Agricultural Science and Technology, University of Agriculture and Forestry, Hue University, Vol. 10, No. 2, 2026, pp. 5550–5561.
5. **Nguyen Nam Quang**, Nguyen Thi Hue Linh, Nguyen Duc Quynh Anh, Nguyen Ngoc Phuoc, "Efficacy of an inactivated *Vibrio alginolyticus* vaccine in preventing hemorrhagic disease in red drum (*Sciaenops ocellatus*)", Hue University Journal of Science: Agriculture and Rural Development, Vol. 135, No. 3B, 2026, pp. 135–147.