

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

Nguyễn Thị Biên Thùy

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA SẢN PHẨM POSTBIOTICS TỪ
Saccharomyces cerevisiae ĐẾN ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH VÀ SỨC ĐỀ
KHÁNG VỚI VI KHUẨN GÂY BỆNH *Vibrio parahaemolyticus* CỦA
TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Penaeus vannamei*)

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

Hà Nội - 2026

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN

Nguyễn Thị Biên Thùy

NGHIÊN CỨU ẢNH HƯỞNG CỦA SẢN PHẨM POSTBIOTICS TỪ
Saccharomyces cerevisiae ĐẾN ĐÁP ỨNG MIỄN DỊCH VÀ SỨC ĐỀ
KHÁNG VỚI VI KHUẨN GÂY BỆNH *Vibrio parahaemolyticus* CỦA
TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Penaeus vannamei*)

Chuyên ngành: Vi sinh vật học
Mã số: 9420107

LUẬN ÁN TIẾN SĨ SINH HỌC

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

- PGS.TS. Đặng Thị Lựa
- PGS.TS. Trần Văn Tuấn

Hà Nội - 2026

Lời cam đoan

Tôi xin cam đoan rằng luận án tiến sĩ “*Nghiên cứu ảnh hưởng của sản phẩm postbiotics từ Saccharomyces cerevisiae đến đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng với vi khuẩn gây bệnh Vibrio parahaemolyticus của tôm thẻ chân trắng (Penaeus vannamei)*” là công trình nghiên cứu khoa học của tôi. Các số liệu, kết quả nghiên cứu và các trích dẫn trong luận án đều được trích dẫn rõ ràng và trung thực theo đúng quy định. Những kết quả và kết luận trình bày trong luận án chưa từng được ai công bố trong bất kỳ công trình nào khác dưới bất kỳ hình thức nào, trừ những công bố của tôi và các đồng tác giả liên quan đến luận án này và đã được các đồng tác giả đồng ý cho phép sử dụng trong luận án.

Tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật và trước Hội đồng chấm luận án về tính trung thực và nguyên bản của toàn bộ nội dung luận án này.

Hà Nội, ngày 14 tháng 7 năm 2026

Tác giả luận án

Nguyễn Thị Biên Thùy

Lời cảm ơn

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc đến PGS.TS. Đặng Thị Lua và PGS.TS. Trần Văn Tuấn, là những người thầy đã tận tình hướng dẫn, truyền đạt kiến thức, kinh nghiệm, đã luôn đồng hành cùng tôi trong suốt quá trình thực hiện và hoàn thiện luận án này.

Tôi xin chân thành cảm ơn Tổ chức phát triển quốc tế Hoa Kỳ (USAID) và Công ty Cargill Việt Nam đã hỗ trợ kinh phí và tạo điều kiện thuận lợi để tôi có thể triển khai các hoạt động nghiên cứu phục vụ cho luận án này.

Tôi cũng xin trân trọng cảm ơn Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I (nay là Viện Khoa học Thủy sản Việt Nam), nơi đã tạo điều kiện thuận lợi về môi trường học tập, nghiên cứu, cơ sở vật chất và tài liệu phục vụ cho quá trình thực hiện luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn quý Thầy Cô Bộ môn Vi sinh vật học - Khoa Sinh học cùng các nhà khoa học và đồng nghiệp thuộc Trung tâm Công nghệ sinh học thủy sản và Trung tâm Quan trắc môi trường và bệnh thủy sản - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I (nay là Trung tâm Nghiên cứu môi trường và bệnh thủy sản miền Bắc - Viện Khoa học Thủy sản Việt Nam) đã nhiệt tình hỗ trợ, chia sẻ và góp ý trong quá trình học tập và nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc đến gia đình và những người thân yêu, những người luôn là điểm tựa tinh thần vững chắc, luôn động viên, khích lệ và ủng hộ tôi không ngừng nghỉ trong suốt chặng đường học tập và nghiên cứu.

Dù đã hết sức cố gắng, luận án không tránh khỏi những thiếu sót. Tôi kính mong tiếp tục nhận được sự cảm thông và các góp ý quý báu từ quý Thầy Cô và các nhà khoa học để luận án được hoàn thiện hơn.

Xin chân thành cảm ơn!

Hà Nội, ngày 14 tháng 7 năm 2026

Tác giả luận án

Nguyễn Thị Biên Thùy

MỤC LỤC

Lời cam đoan.....	
MỤC LỤC.....	1
DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT.....	3
DANH MỤC CÁC BẢNG.....	4
DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ	5
MỞ ĐẦU.....	7
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU NGHIÊN CỨU	11
1.1. Hiện trạng nuôi tôm thẻ chân trắng trên thế giới và Việt Nam	11
1.2. Vi khuẩn <i>Vibrio parahaemolyticus</i> và bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) ở tôm	13
1.3. Đặc điểm hệ miễn dịch của tôm	17
1.3.1. Nhận dạng mầm bệnh.....	18
1.3.2. Đáp ứng miễn dịch tế bào	21
1.3.3. Đáp ứng miễn dịch dịch thể	24
1.4. Giải pháp kích thích miễn dịch, tăng cường sức đề kháng cho tôm bằng chế phẩm postbiotics	26
1.4.1. Tình hình sử dụng chất kích thích miễn dịch trong nuôi tôm	26
1.4.2. Thành phần và cơ chế tác động của postbiotics lên đáp ứng miễn dịch động vật thủy sản.....	34
1.4.3. Những nghiên cứu ứng dụng postbiotics trong nuôi trồng thủy sản....	37
1.5. Những nghiên cứu ứng dụng <i>Saccharomyces cerevisiae</i> trong nuôi tôm	40
CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	46
2.1. Vật liệu nghiên cứu.....	47
2.1.1. Tôm thí nghiệm.....	47
2.1.2. SCFP sử dụng trong nghiên cứu	47
2.1.3. Phytogenics sử dụng trong nghiên cứu	48
2.1.4. Vi khuẩn <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	48
2.2. Phương pháp nghiên cứu	49
2.2.1. Nghiên cứu xác định hàm lượng SCFP lên đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng.....	50
2.2.2. Nghiên cứu khảo sát độc lực chủng vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i> gây bệnh AHPND trên tôm	51

2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng của tôm thẻ chân trắng đối với vi khuẩn gây bệnh <i>V. parahaemolyticus</i> .	55
2.2.4. Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng ở quy mô pilot.	58
2.2.5. Phương pháp phân tích mẫu	60
2.2.6. Xử lý số liệu	63
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	64
3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng SCFP lên đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng	64
3.1.1. Chỉ số tế bào máu của tôm được cho ăn bổ sung SCFP	64
3.1.2. Hoạt động của một số enzyme miễn dịch ở tôm được cho ăn bổ sung SCFP	66
3.2. Độc lực chủng vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i> gây bệnh AHPND trên tôm.	71
3.2.1. Sàng lọc các chủng vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i> mang gene độc tố <i>pirA^{vp}</i> , <i>pirB^{vp}</i>	71
3.2.2. Hoạt tính hemolysin, phospholipase và lipase của các chủng vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i> mang gene độc tố <i>pirA^{vp}</i> và <i>pirB^{vp}</i>	73
3.2.3. Giá trị LD ₅₀ của vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i> gây bệnh AHPND trên tôm thẻ chân trắng	75
3.3. Ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng của tôm thẻ chân trắng đối với vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i> CED12020	78
3.3.1. Tỷ lệ sống và chết tích lũy của tôm sau khi gây nhiễm bằng vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i>	78
3.3.2. Biến đổi mô bệnh tôm sau gây nhiễm vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i>	82
3.3.3. Đáp ứng miễn dịch của tôm sau khi gây nhiễm vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i>	85
3.4. Ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng ở quy mô pilot	93
3.4.1. Kết quả chỉ số tế bào máu của tôm	93
3.4.2. Kết quả hoạt động một số enzyme miễn dịch	95
3.4.3. Kết quả tăng trưởng, tỷ lệ sống của tôm	97
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ	101
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	103
TÀI LIỆU THAM KHẢO	104
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC KÍ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Chú giải
AHPND	Bệnh hoại tử gan tụy cấp (Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease)
AMPs	Peptide kháng khuẩn (Antimicrobial peptides)
AMR	Kháng kháng sinh (Antimicrobial resistance)
DAMPs	Mô hình phân tử liên quan đến tổn thương (Damage-Associated Molecular Patterns)
EMS	Bệnh hội chứng tôm chết sớm (Early Mortality Syndrome)
FOS	Fructo-oligosaccharide
GC	Tế bào bạch cầu hạt - gọi tắt là bạch cầu hạt (Granulocyte)
GOS	Galacto-oligosaccharide
HC	Tế bào bạch cầu không hạt - gọi tắt là bạch cầu không hạt (Hyalinocyte)
IHHNV	Bệnh hoại tử dưới vỏ và cơ quan tạo máu (Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis)
MOS	Mannan-oligosaccharide
PAMPs	Mô hình phân tử liên quan đến mầm bệnh (Pathogen-Associated Molecular Patterns)
PO	Phenoloxidase
ProPO	Hệ thống Prophenoloxidase
PRRs	Các thụ thể nhận diện mẫu (Pattern Recognition Receptors)
RIA1	Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I
RES	Bùng phát hô hấp (Respiratory burst)
ROI	Chất trung gian oxy phản ứng (Reactive oxygen intermediates)
SCFP	Postbiotics có nguồn gốc từ nấm men <i>S. cerevisiae</i> lên men (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> fermentation-derived postbiotics).
SGC	Tế bào bạch cầu bán hạt - gọi tắt là bạch cầu bán hạt (Semi- granulocyte)
SOD	Superoxide dismutase
THC	Tổng tế bào máu (Total hemocyte)
TSV	Virus gây hội chứng Taura (Taura Syndrome Virus)
WSD	Bệnh đốm trắng (White Spot Disease)
YHD	Bệnh đầu vàng (Yellow Head Disease)

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 1.1. Những nghiên cứu ứng dụng <i>S. cerevisiae</i> trong nuôi tôm	43
Bảng 2.1. Thành phần dinh dưỡng của CFP.....	47
Bảng 2.2. Thành phần dinh dưỡng gần đúng của các chế độ ăn thử nghiệm.....	51
Bảng 2.3. Trình tự 02 cặp môi sử dụng.....	52
Bảng 2.4. Số tôm trong từng bể ở mỗi nghiệm thức sau 45 ngày thử nghiệm.....	57
Bảng 2.5. Thành phần dinh dưỡng gần đúng của các nghiệm thức ở qui mô pilot.....	59
Bảng 3.1. Kết quả phân tích gene độc lực các chủng vi khuẩn <i>V.</i> <i>parahaemolyticus</i>	72
Bảng 3.2. Xác định giá trị LD ₅₀ của <i>V. parahaemolyticus</i> trên tôm thẻ chân trắng..	77
Bảng 3.3. THC, GC và HC của tôm chân trắng sau gây nhiễm với vi khuẩn <i>V.</i> <i>parahaemolyticus</i>	86
Bảng 3. 4. Các thông số tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng sau 45 ngày thí nghiệm nuôi ở quy mô pilot.....	98

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

Hình 1.1. Quá trình thực bào, bao bọc và hình thành nốt sần	21
Hình 2. 1. Hình ảnh đại diện của vật liệu thử nghiệm SCFP (a) và Phytogenics (b).....	48
Hình 2. 2. Hình ảnh đại diện của các chủng <i>V. parahaemolyticus</i> trong nghiên cứu	48
Hình 2. 3. Sơ đồ phương pháp nghiên cứu	49
Hình 2.4. Sơ đồ bố trí thí nghiệm xác định hàm lượng SCFP lên đáp ứng miễn dịch tôm	50
Hình 2.5. Sơ đồ bố trí thí nghiệm đánh giá đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng của tôm thẻ chân trắng với vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i>	55
Hình 2.6. Sơ đồ bố trí thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của SCFP lên tăng trưởng và đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng ở qui mô pilot	58
Hình 2.7. Phân tích chỉ số tế bào máu. Thu mẫu máu (a); Tế bào máu (b)	61
Hình 3.1. Mật độ THC, GC và HC ở tôm thẻ chân trắng được cho ăn bổ sung SCFP với các mức khác nhau trong 45 ngày.	64
Hình 3.2. Hoạt động PO ở tôm thẻ chân trắng được cho ăn chế độ ăn bổ sung SCFP với các mức khác nhau trong 45 ngày.	66
Hình 3.3. Hoạt động RES ở tôm thẻ chân trắng được cho ăn chế độ ăn bổ sung SCFP với các mức khác nhau trong 45 ngày.	67
Hình 3.4. Hoạt động SOD ở tôm thẻ chân trắng được cho ăn chế độ ăn bổ sung SCFP với các mức khác nhau trong 45 ngày.	67
Hình 3.5. Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu vi khuẩn.....	72
Hình 3.6. Hoạt tính hemolysin của các chủng <i>V. parahaemolyticus</i>	73
Hình 3.7. Hoạt tính phospholipase của các chủng <i>V. parahaemolyticus</i>	74
Hình 3.8. Hoạt tính lipase của các chủng <i>V. parahaemolyticus</i>	75

Hình 3.9. Tỷ lệ chết tích lũy của tôm thẻ chân trắng bị gây nhiễm bởi <i>V. parahaemolyticus</i>	76
Hình 3.10. Phản ứng sinh hóa kit API 20E và điện di sản phẩm PCR vi khuẩn phân lập từ tôm biểu hiện bệnh sau khi gây nhiễm <i>V. parahaemolyticus</i> CED12020.	77
Hình 3.11. Tỷ lệ chết tích lũy và tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng sau khi gây nhiễm vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i> ở các nghiệm thức khác nhau.	79
Hình 3.12. Các lát cắt mô học của mô gan tụy tôm thẻ chân trắng (<i>P. vannamei</i>)...	82
Hình 3.13. Các lát cắt mô học của mô mang tôm thẻ chân trắng (<i>P. vannamei</i>).....	83
Hình 3.14. Các lát cắt mô học của mô ruột tôm thẻ chân trắng (<i>P. vannamei</i>).	83
Hình 3.15. Biến động THC, GC và HC của tôm thẻ chân trắng tại các thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i>	87
Hình 3.16. Hoạt động PO của tôm thẻ chân trắng tại các thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm với vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i>	89
Hình 3.17. Hoạt động RES của tôm thẻ chân trắng tại các thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm với vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i>	90
Hình 3.18. Hoạt động SOD của tôm thẻ chân trắng tại các thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm với vi khuẩn <i>V. parahaemolyticus</i>	91
Hình 3.19. THC, GC và HC của tôm thẻ chân trắng sau 45 ngày ở quy mô pilot....	94
Hình 3.20. Hoạt động PO, RES, SOD của tôm thẻ chân trắng sau 45 ngày ở quy mô pilot	96

MỞ ĐẦU

1. Lý do lựa chọn đề tài

Trong những năm gần đây, nghề nuôi tôm nước lợ phát triển mạnh và giữ vai trò chủ lực trong xuất khẩu thủy sản của Việt Nam, chiếm khoảng 40-45% tổng giá trị xuất khẩu, tương đương 3,5-4,0 tỷ USD/năm [192]. Sự mở rộng diện tích và gia tăng đầu tư thúc đẩy tăng trưởng, nhưng đồng thời làm gia tăng các vấn đề về môi trường và dịch bệnh [75, 174]. Các bệnh trên tôm chủ yếu do vi khuẩn, virus, kí sinh trùng và nấm, trong đó bệnh do vi khuẩn thường gây thiệt hại nghiêm trọng nhất, điển hình là bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) [72] và bệnh mờ đục hậu ấu trùng (TPD) mới xuất hiện do vi khuẩn *Vibrio* gây ra [62]. Kháng sinh thường được sử dụng phổ biến để phòng trị bệnh, nhất là các đợt bùng phát dịch bệnh do vi khuẩn [145]. Gần 70% tổng lượng kháng sinh được sử dụng là ở vật nuôi và mức tiêu thụ này dự kiến sẽ tăng 67% vào năm 2030 [168]. Lạm dụng kháng sinh làm gia tăng nguy cơ kháng kháng sinh (AMR), với bằng chứng về sự lan truyền gene AMR từ vi khuẩn lâm sàng sang sinh vật thủy sinh [105]. Với mức độ thương mại quốc tế cao và kết nối trực tiếp với môi trường nước, nuôi tôm có thể góp phần phát tán AMR [162]. Do đó, việc tìm kiếm các giải pháp thay thế kháng sinh nhằm giảm nguy cơ AMR, giảm chi phí sản xuất và hướng tới phát triển bền vững nghề nuôi tôm là rất cần thiết.

Các biện pháp giảm thiểu nguy cơ bùng phát dịch bệnh ở tôm đã được nghiên cứu, bao gồm an toàn sinh học, chọn giống kháng bệnh, sử dụng kháng sinh và bổ sung phụ gia thức ăn [162]. Trong đó, phụ gia thức ăn được xem là giải pháp hiệu quả về kinh tế và bền vững về môi trường trong quản lý sức khỏe và phòng bệnh cho tôm [59, 150, 166]. Nhiều loại phụ gia như phytogenics, probiotics, prebiotics và synbiotics đã được ứng dụng nhằm cải thiện tăng trưởng, tăng cường miễn dịch và khả năng kháng bệnh của tôm thẻ chân trắng [58, 59, 68, 69, 162], trong đó probiotics được đánh giá là một trong những lựa chọn hứa hẹn nhất [69, 114, 162]. Tuy nhiên, việc sử dụng vi sinh vật sống trong probiotics còn tồn tại một số hạn chế như giảm

khả năng sống, tiềm ẩn rủi ro an toàn sinh học và yêu cầu bảo quản phức tạp [34]. Những hạn chế này đã thúc đẩy việc tìm kiếm các chiến lược thay thế. Những nghiên cứu gần đây đã cho thấy các sản phẩm phụ không sống và các thành phần tế bào của vi sinh vật có thể tạo ra tác động sinh lý tương tự probiotics, được gọi là postbiotics [160]. So với probiotics sống, postbiotics có nhiều ưu thế như giảm nguy cơ nhiễm khuẩn huyết, hạn chế hiện tượng vi sinh vật vượt qua hàng rào ruột và làm giảm nguy cơ lan truyền các gene kháng kháng sinh, không có nguy cơ nhiễm phage, an toàn hơn, cấu trúc hóa học rõ ràng, ổn định cao, dễ lưu trữ và vận chuyển, đồng thời có khả năng chịu được dịch vị dạ dày, enzyme tiêu hóa và mật của vật nuôi [160]. Nhờ những ưu điểm này, postbiotics cho thấy tiềm năng lớn trong nuôi trồng thủy sản, không chỉ nâng cao tăng trưởng và sức khỏe vật nuôi mà còn cải thiện chất lượng và độ an toàn của sản phẩm thủy sản [160].

Sản phẩm postbiotics từ *Saccharomyces cerevisiae* được viết tắt là SCFP (*Saccharomyces cerevisiae* fermentation-derived postbiotics). SCFP có nguồn gốc từ quá trình lên men nấm men *S. cerevisiae* và chứa các chất chuyển hóa có lợi của chúng như mannan oligosaccharides, axit hữu cơ nucleotide, beta-glucan và peptide [9]. SCFP được sử dụng như là thức ăn bổ sung, đã được đánh giá là có tác động có lợi đến tốc độ tăng trưởng, đáp ứng miễn dịch tự nhiên và khả năng kháng bệnh trên cá rô phi [6, 49] và cá da trơn [107]. Nghiên cứu thăm dò cũng cho thấy SCFP có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch ở tôm thẻ chân trắng [122, 164], nhưng ứng dụng của nó trên tôm vẫn chưa được khám phá đầy đủ, cần có thêm nghiên cứu để thiết lập nền tảng khoa học vững chắc cho việc ứng dụng SCFP trong nuôi tôm. Do đó, đề tài “Nghiên cứu ảnh hưởng của sản phẩm postbiotics từ *Saccharomyces cerevisiae* đến đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng với vi khuẩn gây bệnh *Vibrio parahaemolyticus* của tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*)” được thực hiện. Nghiên cứu này nhằm xác định mức bổ sung SCFP trong khẩu phần ăn để tăng cường chức năng miễn dịch và khả năng kháng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) ở tôm thẻ chân trắng. Bên cạnh đó, thử nghiệm quy mô pilot được thực hiện nhằm đánh giá tác động của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và độ tăng trưởng của

tôm, đồng thời so sánh hiệu quả với một chế phẩm phytogenics (nguồn gốc thực vật) thương mại có tác dụng tương tự. Kết quả của nghiên cứu cung cấp cơ sở khoa học quan trọng cho việc phát triển sản phẩm postbiotics nhằm nâng cao sức khỏe tôm và hướng tới nuôi tôm bền vững.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Mục tiêu chung:

Đánh giá được ảnh hưởng của việc cho ăn bổ sung sản phẩm postbiotics có nguồn gốc từ nấm men *S. cerevisiae* lên men (SCFP) đến đáp ứng miễn dịch và tăng cường sức đề kháng của tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*) đối với vi khuẩn gây bệnh *V. parahaemolyticus*, góp phần phát triển ngành nuôi tôm theo hướng bền vững, thân thiện với môi trường.

Mục tiêu cụ thể:

- Xác định được hàm lượng SCFP đến đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng.
- Xác định được giá trị LD₅₀ của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm thẻ chân trắng.
- Đánh giá được hiệu quả của SCFP đến khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng của tôm thẻ chân trắng đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*.
- Đánh giá được ảnh hưởng của việc bổ sung SCFP lên khả năng đáp ứng miễn dịch và tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng ở quy mô pilot.

3. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

Luận án tập trung nghiên cứu ảnh hưởng của postbiotics, một sản phẩm lên men *S. cerevisiae* (SCFP) đến đáp ứng miễn dịch và khả năng kháng bệnh của tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*). Phạm vi nghiên cứu của luận án được giới hạn trong các nội dung nghiên cứu sau:

Nội dung 1: Nghiên cứu xác định hàm lượng SCFP lên đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng.

Nội dung 2: Nghiên cứu khảo sát độc lực chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh AHPND trên tôm thẻ chân trắng.

Nội dung 3: Nghiên cứu ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng của tôm thẻ chân trắng đối với vi khuẩn gây bệnh *V. parahaemolyticus*.

Nội dung 4: Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng ở quy mô pilot.

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của luận án

Xác định độc lực của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm thẻ chân trắng, qua đó góp phần xây dựng và chuẩn hóa mô hình cảm nhiễm nhân tạo phục vụ cho các nghiên cứu về miễn dịch và bệnh học thủy sản

Đóng góp cơ sở khoa học về vai trò của postbiotics từ *S. cerevisiae* (SCFP) đối với đáp ứng miễn dịch và khả năng kháng bệnh của tôm thẻ chân trắng, góp phần hoàn thiện hiểu biết về ứng dụng postbiotics trong nuôi trồng thủy sản.

Việc đánh giá SCFP ở quy mô pilot đã góp phần thu hẹp khoảng cách giữa nghiên cứu phòng thí nghiệm và sản xuất, tạo tiền đề cho nghiên cứu ứng dụng và phát triển giải pháp thay thế kháng sinh trong nuôi tôm.

5. Những đóng góp mới của luận án

Là nghiên cứu có hệ thống về tác động của SCFP đến tăng cường miễn dịch và sức đề kháng của tôm khi nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*.

Đánh giá được hiệu quả của SCFP đối với miễn dịch và tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng ở quy mô pilot.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU NGHIÊN CỨU

1.1. Hiện trạng nuôi tôm thẻ chân trắng trên thế giới và Việt Nam

Tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*) hiện là loài tôm nuôi chủ lực trên thế giới nhờ khả năng thích nghi rộng, tốc độ sinh trưởng nhanh, hiệu quả kinh tế cao và khả năng sinh sản tốt trong điều kiện nuôi công nghiệp [38]. Loài tôm này chiếm tỷ trọng chủ yếu trong tổng sản lượng tôm nuôi toàn cầu, trở thành nguồn cung cấp quan trọng cho ngành thủy sản xuất khẩu của nhiều quốc gia. Theo FAO (2023), sản lượng tôm nuôi toàn cầu dao động khoảng 5-6 triệu tấn mỗi năm, trong đó tôm thẻ chân trắng chiếm khoảng 80% [38]. Năm quốc gia dẫn đầu về sản xuất tôm gồm Ecuador, Trung Quốc, Ấn Độ, Việt Nam và Indonesia, chiếm 74% sản lượng toàn cầu [65]. Tăng trưởng tiêu thụ tại thị trường Hoa Kỳ đã thúc đẩy xuất khẩu tôm của các nước này tăng 123%, từ 225,21 triệu USD (2013-2014) lên 501,57 triệu USD (2022-2024) [98].

Châu Á là khu vực sản xuất tôm lớn nhất thế giới. Mặc dù sản lượng tôm tại châu lục này giảm 3% vào năm 2023, ngành nuôi tôm đã phục hồi với mức tăng 4% vào năm 2024. Trung Quốc hưởng lợi từ các hệ thống nuôi trồng thủy sản tuần hoàn (RAS) và nuôi trong nhà kính, trong khi Ấn Độ ghi nhận sự giảm 12% sản lượng tôm thẻ chân trắng vào năm 2023, phục hồi nhẹ 2% vào năm 2024. Indonesia tăng trưởng 3,5% vào năm 2024 sau khi giảm 5% năm 2023 [98]. Trong hai thập kỷ qua, sản lượng tôm của Trung Quốc tăng trưởng 120%, với tốc độ tăng trưởng kép hàng năm dự kiến từ 1,5-4,3% (2023-2028), nhờ áp dụng hệ thống RAS, công nghệ biofloc và nuôi trong nhà kính. Ấn Độ cũng chứng kiến mức tăng trưởng đáng kể với sản lượng tăng từ 0,322 triệu tấn lên 1,184 triệu tấn trong giai đoạn 2014-2023, đi kèm giá trị xuất khẩu tăng từ 348,84 triệu USD lên 697,67 triệu USD, thị trường tôm Ấn Độ dự kiến đạt 14 tỷ USD vào năm 2028 [98].

Mỹ Latinh là khu vực sản xuất tôm lớn thứ hai, trong đó Ecuador dẫn đầu với sản lượng tăng 4% năm 2023, đạt 1,49 triệu tấn. Tuy nhiên, giá tôm toàn cầu giảm và

nhu cầu từ Trung Quốc giảm đã gây ảnh hưởng đến doanh thu, dẫn đến tổn thất khoảng 1 tỷ USD trong năm này [98]. Châu Âu hiện là khu vực nhập khẩu tôm lớn thứ ba, với các thị trường chủ đạo là Pháp, Tây Ban Nha, Vương quốc Anh, Ý, Hà Lan, Đức và Bỉ. Thị trường này dự kiến tăng trưởng với tốc độ 8,1% trong giai đoạn 2023-2033 [98].

Ở Việt Nam, trong 5 năm (2019-2024), ngành tôm đã đạt được nhiều kết quả tích cực cả về sản xuất lẫn xuất khẩu, khẳng định vai trò là một trong những ngành hàng chủ lực của thủy sản quốc gia. Diện tích nuôi tôm cả nước duy trì xu hướng tăng trưởng ổn định, với mức tăng trung bình khoảng 5% mỗi năm. Cùng với tăng trưởng về diện tích, sản lượng tôm tăng trung bình 8,4%/năm, phản ánh sự cải thiện đáng kể về năng suất nuôi, đặc biệt là đối với đối tượng tôm thẻ chân trắng. Sự chênh lệch giữa tốc độ tăng diện tích và sản lượng cho thấy hiệu quả của quá trình chuyển đổi từ mô hình nuôi truyền thống sang các hình thức nuôi thâm canh và ứng dụng công nghệ cao trong những năm gần đây [193].

Trong cơ cấu sản xuất, tôm thẻ chân trắng tiếp tục giữ vai trò chủ đạo và là động lực chính thúc đẩy tăng trưởng của toàn ngành. Sản lượng tôm thẻ chân trắng tăng liên tục qua các năm và ghi nhận mức tăng mạnh, đạt khoảng 82% sau 5 năm (2019-2024), tương ứng với tốc độ tăng trung bình 13%/năm [193]. Cùng với sự tăng trưởng về sản xuất, hoạt động xuất khẩu tôm của Việt Nam trong giai đoạn 2019-2024 tiếp tục duy trì vai trò then chốt trong cơ cấu xuất khẩu thủy sản. Sau 5 năm, tôm thẻ chân trắng ngày càng chiếm ưu thế trong nhóm sản phẩm tôm xuất khẩu và trở thành mặt hàng đóng góp lớn nhất cho kim ngạch xuất khẩu thủy sản, chiếm khoảng 35-40% tổng giá trị xuất khẩu thủy sản hàng năm. Xuất khẩu tôm thẻ chân trắng đạt tốc độ tăng trưởng trung bình khoảng 7%/năm, bất chấp những biến động của thị trường quốc tế, tác động của dịch bệnh và chi phí đầu vào gia tăng [193].

Về không gian sản xuất, Đồng bằng sông Cửu Long tiếp tục giữ vai trò là vùng nuôi tôm trọng điểm của Việt Nam, chiếm khoảng 91,7% tổng diện tích nuôi tôm toàn quốc. Hiện nay, Việt Nam có hơn 350 cơ sở chế biến tôm đạt tiêu chuẩn xuất

khẩu quốc tế, hình thành mạng lưới chế biến quy mô lớn, phân bố chủ yếu tại các tỉnh ven biển phía Nam. Trong đó, năm doanh nghiệp xuất khẩu tôm lớn nhất gồm Công ty Cổ phần Tập đoàn Thủy sản Minh Phú, Công ty Cổ phần Thực phẩm Sao Ta (Fimex Việt Nam), Công ty Cổ phần Thủy sản Sóc Trăng (Stapimex), Công ty Cổ phần Camimex Group và Công ty Cổ phần Chế biến Thủy sản Tài Kim Anh, chiếm gần 35% tổng giá trị xuất khẩu, phản ánh xu hướng tập trung hóa trong ngành chế biến và xuất khẩu tôm [194].

Ở cấp độ chính sách, tôm được xác định là một trong hai đối tượng nuôi trồng thủy sản chiến lược, chủ lực trong chiến lược phát triển nuôi trồng thủy sản quốc gia. Sự ưu tiên này thể hiện cam kết mạnh mẽ của Chính phủ trong việc thúc đẩy phát triển ngành tôm theo hướng hiện đại, bền vững và thích ứng với biến đổi khí hậu. Đồng thời, các chương trình tái cơ cấu ngành thủy sản, khuyến khích ứng dụng khoa học công nghệ, nâng cao chất lượng con giống và kiểm soát dịch bệnh đang được triển khai, tạo điều kiện thuận lợi cho sự phát triển dài hạn của ngành tôm Việt Nam [194].

1.2. Vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* và bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) ở tôm

Dù đạt được nhiều thành tựu nhưng ngành nuôi tôm luôn phải đối mặt với nhiều thách thức, trong đó dịch bệnh, đặc biệt là các bệnh do vi khuẩn gây ra, được xem là mối nguy cơ lớn nhất ảnh hưởng đến hiệu quả và tính bền vững của sản xuất. Trong số các bệnh vi khuẩn trên tôm, bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease - AHPND) được đánh giá là mối đe dọa nghiêm trọng nhất đối với ngành nuôi tôm công nghiệp trên phạm vi toàn cầu. Kể từ khi lần đầu được phát hiện tại Trung Quốc vào năm 2010, AHPND đã gây thiệt hại kinh tế lên tới hàng tỷ USD, làm suy giảm nghiêm trọng năng suất và sản lượng nuôi tôm ở nhiều quốc gia [158]. AHPND có khả năng lây lan nhanh và phạm vi ảnh hưởng rộng, với các ổ dịch đã được ghi nhận liên tiếp tại nhiều khu vực nuôi tôm trọng điểm trên thế giới, bao gồm Malaysia (2010), Thái Lan (2011), Mexico (2013), Philippines (2014), các quốc gia

Nam Mỹ (2014-2016), Bangladesh (2017), Hoa Kỳ (2017), Đài Loan (2018), Hàn Quốc (2019) và Nhật Bản (2020) [47, 51, 158, 179]. Tại các khu vực bị ảnh hưởng bởi dịch bệnh AHPND như Trung Quốc, Malaysia, Thái Lan, Việt Nam và Mexico, sản lượng tôm nuôi giảm xuống còn khoảng 60% và ước tính thiệt hại hơn 43 tỷ USD [1].

Tại Việt Nam, bệnh AHPND được báo cáo chính thức lần đầu tại tỉnh Sóc Trăng vào năm 2011 và nhanh chóng gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến ngành nuôi tôm nước lợ, đặc biệt tại khu vực Đồng bằng sông Cửu Long. Trong năm 2011, tổng diện tích nuôi tôm bị ảnh hưởng bởi AHPND trong khu vực này đạt 58.812 ha, phân bố chủ yếu tại các tỉnh Trà Vinh (6.200 ha), Sóc Trăng (20.648 ha), Cà Mau (15.000 ha) và Bạc Liêu (16.964 ha). Riêng tại tỉnh Sóc Trăng, tỷ lệ diện tích nuôi bị thiệt hại do dịch bệnh lên tới khoảng 68,5%, trong khi tại hai tỉnh Bạc Liêu và Cà Mau, ước tính có khoảng 30.000 hộ nuôi tôm bị ảnh hưởng. Sang năm 2012, dịch bệnh AHPND tiếp tục lan rộng và được ghi nhận tại 19 tỉnh, thành phố trên cả nước, với tổng diện tích nuôi tôm bị nhiễm bệnh lên tới 46.093 ha, tương đương khoảng 45,7% tổng diện tích nuôi tôm. Trong số các địa phương chịu tác động, Sóc Trăng là tỉnh bị ảnh hưởng nặng nề nhất với 23.371 ha, chiếm khoảng 56,6% tổng diện tích nuôi tôm của tỉnh; tiếp theo là Bạc Liêu với 16.919 ha (41,9%), Trà Vinh với 12.224 ha (49,5%) và Bến Tre với 2.237 ha (29%) [1]. Giai đoạn từ 2014-2023, bệnh gây thiệt hại 2-57,2% diện tích nuôi tại các tỉnh Bến Tre, Long An, Bạc Liêu, Kiên Giang, tương đương thiệt hại trung bình khoảng 8,9 triệu USD mỗi năm đối với tôm thẻ chân trắng [192].

Dịch bệnh chủ yếu xảy ra ở các vùng nuôi thâm canh và bán thâm canh, có thể gây chết tôm 100% trong khoảng thời gian 2-3 ngày sau khi nhiễm hoặc có thể làm tôm chết dai dẳng trong suốt quá trình nuôi. Bệnh thường xuất hiện ở giai đoạn 30 - 40 ngày (tương ứng với cỡ tôm từ 5 - 6 g/con), nhưng sớm nhất là 10 ngày sau khi thả tôm postlarvae, tương ứng với cỡ tôm từ 1-2 g/con [1, 5]. Triệu chứng lâm sàng ở tôm bao gồm ngừng ăn, bơi chậm, vỏ mỏng, gan tụy sưng, nhũn hoặc teo. Dịch bệnh có thể xảy ra quanh năm và đến nay vẫn chưa có phương pháp điều trị hiệu quả.

Do tốc độ lây lan nhanh chóng và mức độ thiệt hại nặng nề của dịch bệnh AHPND gây ra, nên dịch bệnh AHPND đã thu hút sự quan tâm nghiên cứu của nhiều nhà khoa học trên thế giới, bao gồm cả Việt Nam. Chính vì vậy, chỉ 4 năm sau khi đợt dịch bệnh đầu tiên được phát hiện ở Trung Quốc, thông qua thí nghiệm gây nhiễm thực nghiệm cho tôm bằng phương pháp ngâm và dựa trên nguyên lý Koch, tác nhân gây bệnh AHPND đã được xác định là chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* mang plasmid pVA chứa gene độc tố *pirA^{vp}* và *pirB^{vp}* [1, 151].

V. parahaemolyticus là chủng vi khuẩn Gram âm thuộc họ Vibrionaceae, sống ưa mặn, phân bố rộng rãi trong môi trường biển và nước lợ. Vi khuẩn này là lưỡng hình, có khả năng tồn tại trong dải nhiệt độ rộng (khoảng 5 - 43°C) và phát triển tốt ở nhiệt độ 15 - 37°C với nồng độ muối phù hợp. Về xét nghiệm sinh hoá, *V. parahaemolyticus* thường dương tính với catalase và oxidase, đồng thời có thể phân biệt bằng một số phản ứng sinh hoá đặc thù trong phòng thí nghiệm vi sinh thực phẩm [78]. Về cấu trúc phân tử, *V. parahaemolyticus* sở hữu lớp màng ngoài đặc trưng của vi khuẩn Gram âm, bao gồm lipopolysaccharide có vai trò gây viêm và tương tác với hệ miễn dịch vật chủ. Nhiều chủng chứa các gene mã hóa hệ thống tiết độc tố và protein vận chuyển, đặc biệt là hệ thống tiết loại III (T3SS) và loại VI (T6SS), cùng các gene mã hóa enzyme thích nghi môi trường và yếu tố điều hòa stress. Sự đa dạng về gene dẫn tới phân hóa giữa các dòng dịch tễ học và các dòng gây bệnh [175].

V. parahaemolyticus gây bệnh AHPND chủ yếu thông qua plasmid pVA mang hai gene *pirA^{vp}* và *pirB^{vp}*, mã hóa cho độc tố nhị phân PirA/PirB. Sau khi xâm nhập vào cơ thể tôm qua đường tiêu hóa, vi khuẩn định cư tại dạ dày hoặc thành ống gan tụy và bắt đầu tiết độc tố. Thành phần PirBvp của độc tố có khả năng gắn đặc hiệu vào các nhóm monosaccharide trên bề mặt tế bào nhờ đặc tính lectin, từ đó tạo điều kiện hình thành phức hợp PirA/PirB và gây độc tế bào [30]. Sự biểu hiện của các gene *pirA/pirB* được điều hòa bởi hệ thống cảm biến tín hiệu của vi khuẩn, trong đó LuxO^{vp} đóng vai trò ức chế trực tiếp, còn AphBvp là yếu tố điều hòa dương, gắn vào vùng promoter của operon *pirAB* để kích thích quá trình phiên mã và tổng hợp độc

tổ. Sau khi được tiết ra, PirBvp xâm nhập vào các tế bào miễn dịch của tôm, tương tác với histone H4, gây tổn thương mô gan tụy, làm suy giảm chức năng miễn dịch và dẫn đến tỷ lệ chết cao [89]. Trên cơ sở tổng hợp các bằng chứng thực nghiệm, Kumar và cộng sự (2020) đã đề xuất mô hình cơ chế gây bệnh AHPND ở tôm gồm các giai đoạn chính như sau: (1) Trong điều kiện bình thường, tôm khỏe mạnh có dạ dày với hệ thống tế bào biểu mô nguyên vẹn, lớp chitin và chất nhầy bảo vệ, cùng hệ vi sinh vật đường ruột có lợi tham gia vào quá trình tiêu hóa và duy trì cân bằng sinh; (2) Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây AHPND xâm nhập vào dạ dày tôm qua đường miệng; (3) Khi vào môi trường dạ dày, vi khuẩn tiết ra các chất chuyển hóa bất lợi, làm rối loạn hệ vi sinh vật đường ruột và phá vỡ trạng thái cân bằng sinh học; (4) Điều kiện rối loạn này tạo thuận lợi cho *V. parahaemolyticus* tăng sinh, định cư và giải phóng độc tố PirA/PirB; (5) Độc tố PirA/PirB kích hoạt đáp ứng miễn dịch của tôm, đồng thời khởi phát cơ chế truyền tín hiệu *Rho* trong tế bào biểu mô; (6) Tín hiệu *Rho* làm suy yếu các mối liên kết chặt chẽ giữa các tế bào biểu mô dạ dày, dẫn đến hình thành các khoảng trống gian bào; (7) Các khoảng trống này tạo điều kiện cho độc tố PirA/PirB và vi khuẩn *V. parahaemolyticus* di chuyển từ dạ dày đến gan tụy, gây tổn thương nghiêm trọng mô đích và dẫn đến biểu hiện bệnh lý đặc trưng của AHPND [70].

Ngoài ra, một số nghiên cứu gần đây cho thấy không phải tất cả các chủng *V. parahaemolyticus* mang plasmid pVA chứa gene *pirA/pirB* đều có khả năng sản sinh độc tố PirA/PirB và gây bệnh AHPND. Ngược lại, cũng có những chủng vi khuẩn mang các gene mã hóa độc tố PirA/PirB nhưng không gây ra các biến đổi mô bệnh học điển hình của AHPND và không làm tăng tỷ lệ chết ở tôm. Những phát hiện này cho thấy độc lực của các chủng *V. parahaemolyticus* gây AHPND không phụ thuộc đơn thuần vào sự hiện diện hay số lượng bản sao của gene *pirA/pirB*, mà chủ yếu liên quan đến mức độ biểu hiện và lượng độc tố PirA/PirB thực sự được sản sinh [1]. Đáng chú ý, plasmid pVA còn chứa các gene liên quan đến sự chuyển vị và hệ thống chuyển giao tiếp hợp, cho thấy khả năng lan truyền của plasmid này không chỉ giới hạn trong các loài thuộc *Vibrio* mà còn có thể mở rộng sang những nhóm vi khuẩn

khác [1]. Điều này làm gia tăng nguy cơ phát tán các yếu tố độc lực trong môi trường nuôi trồng thủy sản. Bên cạnh độc tố PirA/PirB, độc lực của *V. parahaemolyticus* còn được tăng cường bởi hoạt động của nhiều enzyme ngoại bào. Hemolysin là một trong những yếu tố độc lực quan trọng, có khả năng phá hủy hồng cầu và giải phóng hemoglobin, góp phần làm trầm trọng thêm quá trình gây bệnh [100]. Ngoài ra, các enzyme như phospholipase và lipase cũng đóng vai trò đáng kể trong cơ chế gây bệnh, liên quan trực tiếp đến tổn thương mô và biểu hiện lâm sàng của bệnh do vi khuẩn này gây ra [169]. Nhìn chung, độc lực của *V. parahaemolyticus* không chỉ phụ thuộc vào đặc điểm di truyền mà còn chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố khác như mật độ vi khuẩn, khả năng truyền plasmid và điều kiện môi trường, những yếu tố này quyết định cường độ biểu hiện độc tố cũng như khả năng lây lan của mầm bệnh trong hệ thống nuôi.

1.3. Đặc điểm hệ miễn dịch của tôm

Trong hệ thống nuôi thủy sản, luôn tồn tại các tác nhân gây bệnh cơ hội, dẫn đến nguy cơ bùng phát dịch và gây tỷ lệ tử vong cao ở nhiều loài thủy sinh, bao gồm cả động vật giáp xác. Do đó, một hệ thống miễn dịch hoạt động hiệu quả và duy trì trạng thái cảnh giác liên tục đóng vai trò then chốt trong việc bảo vệ cơ thể trước sự xâm nhập của mầm bệnh. Hệ thống miễn dịch thực hiện chức năng nhận diện các phân tử ngoại lai, sau đó kích hoạt và huy động các loại tế bào miễn dịch cùng những thành phần phân tử khác nhau nhằm trung hòa và loại bỏ tác nhân gây bệnh. Quá trình này góp phần hình thành hàng rào phòng vệ sinh học giúp ngăn chặn sự xâm nhập và phát triển của mầm bệnh trong cơ thể. Sự khác biệt cốt lõi giữa miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch thích nghi nằm ở cơ chế nhận diện tác nhân gây bệnh. Miễn dịch bẩm sinh được mã hóa theo dòng mầm, mang tính không đặc hiệu, không dự đoán trước và không phụ thuộc vào quá trình tái tổ hợp soma [103]. Ngược lại, miễn dịch thích nghi có tính đặc hiệu cao, dự đoán được và hình thành thông qua quá trình tái tổ hợp gene soma, đặc trưng cho các loài động vật có xương sống [101, 102]. Ở nhóm động vật không xương sống như tôm, hệ miễn dịch thích nghi không hiện diện hoặc nếu có

thì rất yếu, thay vào đó hệ miễn dịch bẩm sinh phát triển mạnh và đóng vai trò chủ đạo. Mặc dù không có tính đặc hiệu cao như miễn dịch thích nghi, hệ thống phòng vệ bẩm sinh ở tôm lại mang đến những đáp ứng nhanh chóng và hiệu quả nhằm bảo vệ cơ thể trước nhiều loại tác nhân gây bệnh khác nhau [174].

Hệ thống miễn dịch bẩm sinh của tôm bao gồm các cơ chế phòng vệ tế bào và dịch thể, phối hợp chặt chẽ với nhau để tạo thành mạng lưới bảo vệ toàn diện. Quá trình đáp ứng bắt đầu bằng việc nhận diện tác nhân gây bệnh, tiếp đó là sự huy động các tế bào máu và các phân tử hòa tan trong huyết tương để thực thi chức năng miễn dịch [11]. Đáp ứng miễn dịch tế bào bao gồm các phản ứng được thực hiện trực tiếp bởi tế bào máu, chẳng hạn như thực bào (phagocytosis), bao bọc (encapsulation) và tạo nốt sần (nodulation), hình thành sắc tố melanin. Đáp ứng miễn dịch dịch thể bao gồm các thành phần không chứa tế bào, chủ yếu là các phân tử có mặt trong huyết tương như hệ thống prophenoloxidase (proPO), các agglutinin tham gia đông máu, các chất ức chế protease, peptide kháng khuẩn (AMPs), phosphatase, lysozyme, và các chất trung gian oxygen - nitrogen phản ứng [63]. Mặc dù hai nhóm cơ chế này được phân loại tách biệt, chúng thực chất liên kết chặt chẽ và hoạt động hiệp đồng, đảm bảo khả năng đáp ứng nhanh và mạnh mẽ trước sự xâm nhiễm của mầm bệnh. Sự phối hợp này đóng vai trò đặc biệt quan trọng đối với tôm và các loài không xương sống khác, những sinh vật không có hệ miễn dịch thích nghi nhưng lại phải đối mặt với môi trường sống chứa nhiều tác nhân gây bệnh đa dạng và biến động.

1.3.1. Nhận dạng mầm bệnh

Quá trình phát hiện mầm bệnh ở nhóm giáp xác nói chung, bao gồm tôm, được thực hiện thông qua các protein được mã hóa bởi dòng mầm, gọi là các thụ thể nhận dạng mẫu phân tử (Pattern Recognition Receptors - PRRs), được biểu hiện trong nhiều loại tế bào khác nhau. PRRs có khả năng nhận diện các mô hình phân tử liên quan đến mầm bệnh (Pathogen-Associated Molecular Patterns - PAMPs), vốn là những cấu trúc phân tử được bảo tồn cao và phổ biến ở nhiều loại vi sinh vật. Bên cạnh đó, PRRs cũng nhận diện các tín hiệu nguy hiểm phát sinh từ tổn thương hoặc

căng thẳng tế bào, được gọi là các mô hình phân tử liên quan đến tổn thương (Damage-Associated Molecular Patterns - DAMPs) [102].

Các mô hình phân tử liên quan đến mầm bệnh (PAMPs) điển hình bao gồm lipopolysaccharides từ vi khuẩn Gram âm, peptidoglycan từ vi khuẩn Gram dương, RNA sợi đôi (dsRNA) từ virus và beta-glucans từ nấm. Ở động vật có xương sống, sự gắn kết giữa PRRs và PAMPs khởi phát quá trình biểu hiện và điều hòa tăng cường các cytokine tiền viêm cũng như các phân tử kháng khuẩn, qua đó hạn chế sự nhân lên và lan truyền của mầm bệnh trong quá trình nhiễm trùng [178]. Ở tôm, các cytokine đóng vai trò điều hòa tích cực trong việc tăng cường đáp ứng miễn dịch chống lại virus. Đặc biệt, sự tăng biểu hiện của ba loại cytokine, bao gồm thụ thể Fas (Fas receptor), yếu tố tiểu cầu 4 (Platelet Factor 4 - PF4) và interleukin 22 (IL-22) đã được ghi nhận trong quá trình nhiễm virus gây hội chứng đốm trắng [24].

PRRs ở tôm khi được kích hoạt, có thể trực tiếp hoặc gián tiếp khởi phát một loạt các đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào và thể dịch, bao gồm hệ thống kích hoạt prophenoloxidase (proPO), cơ chế đông máu, thực bào, cũng như quá trình giải phóng các peptide kháng khuẩn (antimicrobial peptides - AMPs) thông qua con đường phụ thuộc NF- κ B. Các phản ứng miễn dịch bẩm sinh này được điều hòa bởi các con đường truyền tín hiệu, được kích hoạt sau khi PRRs gắn kết với các PAMP đặc hiệu [126]. Ở sinh vật mô hình *Drosophila*, ba con đường truyền tín hiệu chính đã được xác định, bao gồm: con đường Toll, con đường suy giảm miễn dịch (IMD) và con đường JAK/STAT. Các con đường này cũng đã được báo cáo ở tôm. Trong khi con đường Toll ở *Drosophila* chủ yếu liên quan đến đáp ứng miễn dịch chống lại nấm, vi khuẩn Gram dương và virus, thì ở tôm, con đường này còn có vai trò trong đáp ứng với vi khuẩn Gram âm [79]. Con đường IMD có vai trò thiết yếu trong việc kiểm soát các tác nhân gây bệnh là vi khuẩn Gram âm và virus, trong khi con đường JAK/STAT chủ yếu liên quan đến phản ứng kháng virus [79]. Ngoài ra, con đường MAPK (protein Kinase hoạt hóa bởi Mitogen) cũng đã được xác định và chứng minh có vai trò chức năng trong đáp ứng miễn dịch của tôm [170]. Nhiều thành phần thuộc

các con đường trên cũng đã được xác định ở các loài giáp xác khác.

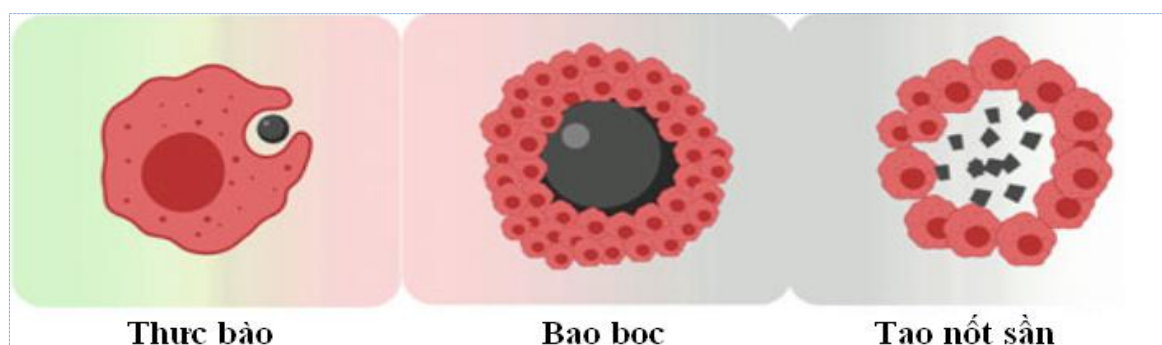
Tôm sở hữu hệ thống điều hòa miễn dịch tương tự interferon (IFN), đóng vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch kháng virus. Một yếu tố điều hòa interferon mới (IRF) đã được xác định ở tôm [79], có chức năng điều hòa biểu hiện gene *Vago*, một cytokine kháng virus ở động vật chân đốt và kích hoạt con đường JAK/STAT nhằm ức chế sự nhân lên của virus [170]. Một số thụ thể Toll khi nhận diện các PAMPs như RNA sợi đôi (dsRNA) cũng có thể cảm ứng biểu hiện IRF và các gene *Vago4/Vago5* [44]. Bên cạnh đó, các chất hoạt hóa interferon liên quan đến miễn dịch kháng khuẩn cũng đã được mô tả ở tôm [79]. Đáng chú ý, con đường cảm nhận DNA ngoại lai và sự tương tác với các chất hoạt hóa IFN được chứng minh góp phần tăng cường đáp ứng miễn dịch kháng virus thông qua việc kích hoạt các con đường tín hiệu IFN- β và NF- κ B [154].

Các thụ thể dọn dẹp (scavenger receptors - SR) là một họ lớn glycoprotein xuyên màng có cấu trúc đa dạng, đã được xác định trên màng tế bào của nhiều loài giáp xác và được xem như thụ thể nhận diện mẫu PRRs [110]. SR có khả năng liên kết với nhiều loại phối tử và tham gia nhận diện các thành phần bề mặt cũng như toàn bộ vi khuẩn, chủ yếu đóng vai trò là thụ thể thực bào trung gian cho quá trình thực bào không phụ thuộc opsonin. Ngoài ra, một số SR còn tham gia điều hòa phản ứng viêm thông qua kiểm soát sản xuất cytokine tiền viêm đáp ứng với các phân tử vi sinh vật khác nhau [110]. Dựa trên đặc điểm cấu trúc domain, SR được phân thành tám lớp (A-H), trong đó lớp B là nhóm được nghiên cứu nhiều nhất về khả năng tương tác với vi sinh vật gây bệnh [110]. Một đại diện tiêu biểu của lớp B là Croquemort, chất tương đồng với CD36 ở người, đã được xác định ở nhiều loài giáp xác như tôm, cua và tôm càng nước ngọt, với vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch kháng khuẩn [53]. Bên cạnh đó, một thụ thể lớp C (SRC) cũng đã được phát hiện ở tôm và được chứng minh có chức năng kháng virus [184]. Cụ thể, thụ thể MjSRC ở tôm *Marsupenaeus japonicus* hoạt động như thụ thể thực bào đối với virus đốm trắng (WSSV) thông qua tương tác với protein VP19 và kích hoạt quá trình thực bào trung

gian bởi clathrin [181, 184].

1.3.2. *Đáp ứng miễn dịch tế bào*

Khi vượt qua hàng rào bảo vệ ban đầu, mầm bệnh xâm nhập vào khoang cơ thể và chịu sự giám sát, đáp ứng của các tế bào máu lưu thông cũng như các tế bào cố định tại mang, cơ quan lymphoid và gan tụy. Khác với động vật có xương sống, tôm có hệ tuần hoàn hở, đặc trưng bởi các mạch và kênh dẫn thấm qua nhiều mô khác nhau [90]. Các tế bào máu lưu thông đóng vai trò trung tâm trong miễn dịch tế bào và được phân thành ba nhóm chính: tế bào bạch cầu không hạt (hyalinocyte - HC), tế bào bạch cầu bán hạt (semi-granulocyte - SGC) và tế bào bạch cầu hạt (granulocyte - GC), dựa trên kích thước, tỷ lệ nhân/tế bào chất và số lượng hạt nội bào [90]. HC có kích thước nhỏ, ít hoặc không có hạt và tỷ lệ nhân/tế bào chất cao, chủ yếu tham gia thực bào, bao bọc và đông máu [133]. SGC chứa nhiều hạt nhỏ, tham gia vào thực bào, bao bọc, hình thành nốt sần, đông máu và kích hoạt hệ prophenoloxidase (proPO), đồng thời chứa protein kết dính tế bào peroxinectin [132]. GC giàu hạt, có tỷ lệ nhân/tế bào chất thấp, đảm nhiệm các chức năng miễn dịch như hình thành nốt sần, bao bọc, kích hoạt proPO, đông máu và sản xuất các peptide kháng khuẩn (AMPs) [132]. Quá trình bao bọc vi khuẩn thường đi kèm với sự tổng hợp melanin thông qua proPO được lưu trữ ở dạng không hoạt động trong các hạt của GC; ngoài ra, GC còn chứa AMPs, chất ức chế protease và các yếu tố kết dính hoặc giải phóng hạt, trong đó peroxinectin giữ vai trò quan trọng [90].



Hình 1.1. Quá trình thực bào, bao bọc và hình thành nốt sần (Rajendran, 2022) [126]

Thực bào là một quá trình cơ bản trong tất cả các ngành động vật, đóng vai trò chủ yếu trong việc loại bỏ vi sinh vật hoặc các hạt nhỏ khác, bao gồm cả sinh học và phi sinh học. Ở tôm, thực bào chủ yếu được thực hiện bởi các tế bào máu chuyên biệt [63]. Các tế bào thực bào ở tôm có thể tồn tại tự do trong khoang máu hoặc liên kết với hệ thống mạch máu của các cơ quan lymphoid, gan tụy, mang và các mô khác [167]. Quá trình này bắt đầu bằng việc nhận diện và gắn kết các vật liệu ngoại lai hoặc nội sinh, thông qua các thụ thể bề mặt của tế bào thực bào đối với tác nhân gây bệnh (Hình 1.1). Sau khi nhận diện, các vật liệu ngoại lai hoặc các thụ thể bề mặt của tác nhân gây bệnh được hấp thụ và đưa vào tế bào, hình thành một không bào tiêu hóa gọi là thể thực bào. Sự hình thành thể thực bào kích hoạt một chuỗi tín hiệu dẫn đến dung hợp thể thực bào với lysosome, tạo ra phagolysome, nơi các enzyme phân hủy được giải phóng và các chất trung gian oxy phản ứng (reactive oxygen intermediates - ROI) được sản sinh để tiêu diệt các hạt bị nuốt [167]. Quá trình này còn được gọi là bùng phát hô hấp (Respiratory burst - RES), dẫn đến sự hình thành các ROI khác nhau (O_2^- , H_2O_2 và OH^-) cùng với các chất trung gian nitơ phản ứng (nitric oxide và peroxynitrite). Những hợp chất này có khả năng vượt qua hàng rào tế bào và phá hủy cả các tế bào lân cận [111]. Để giảm thiểu tổn thương do các ROI và các chất trung gian nitơ phản ứng gây ra, tế bào máu sử dụng nhiều chiến lược chống oxy hóa hiệu quả, bao gồm các enzyme chống oxy hóa gồm superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase và peroxiredoxin, cũng như các thành phần không phải enzyme như ascorbate, beta-carotene, flavonoid, alpha-tocopherol và vitamin E [111]. Trong đó, SOD đóng vai trò thu gom O_2^- và chuyển đổi chúng thành H_2O_2 , sau đó H_2O_2 được giải độc thành nước và oxy nhờ tác động phối hợp của các enzyme chống oxy hóa khác [111].

Bao bọc là một cơ chế miễn dịch tế bào quan trọng ở tôm, được kích hoạt khi kích thích của tác nhân gây bệnh, chẳng hạn như bào tử nấm, giun sán... quá lớn, không thể bị thực bào bởi một tế bào đơn lẻ [126] (Hình 1.1). Trong quá trình này, nhiều tế bào máu hợp tác và bám dính với nhau để tạo thành một lớp bao quanh các kháng nguyên lạ, ngăn chặn chúng xâm nhập vào hệ tuần hoàn. Bao bọc là một phản

ứng phối hợp, liên quan đến nhiều tế bào để loại bỏ các vật liệu ngoại lai mà không thể bị thực bào hoặc không thể bị phá hủy bởi các yếu tố dịch thể [126]. Quá trình bao bọc bao gồm việc nhiều tế bào máu bám dính lên bề mặt các vật liệu ngoại lai xâm nhập, được hỗ trợ bởi các phân tử kết dính, từ đó hình thành các lớp vỏ tế bào nhiều lớp [152]. Trong đó, peroxinectin, một phân tử kết dính tế bào, đóng vai trò quan trọng trong việc tăng cường sự gắn kết và ổn định của lớp bao bọc. Một vỏ điển hình có thể gồm 5-30 lớp tế bào máu đặc, gần như không có khoảng gian bào [126]. Các chất dịch thể trong lớp bao bọc chịu trách nhiệm phá hủy các vật liệu bị bao quanh. Mặc dù quá trình bao bọc có thể dẫn đến sự giảm đáng kể số lượng tế bào máu lưu thông, số lượng này thường phục hồi về mức bình thường sau vài ngày [126].

Tạo nốt sần hình thành khi số lượng vi sinh vật xâm nhập vượt quá khả năng loại bỏ thông qua thực bào. Tương tự quá trình bao bọc, chức năng chính của nốt sần là cô lập và ngăn chặn sự lan rộng của vi khuẩn và vi kí sinh trùng. Tuy nhiên, hai quá trình này vẫn có sự khác biệt: bao bọc thường liên quan đến các kháng nguyên lớn hoặc kí sinh trùng kích thước lớn, trong khi sự hình thành nốt sần chủ yếu bao gồm các cụm tế bào máu bao quanh các vi sinh vật nhân thực nhỏ hơn hoặc tập hợp vi khuẩn (Hình 1.1). Quá trình tạo nốt sần được kích hoạt bởi sự cảm ứng hoặc tăng cường biểu hiện các phân tử kết dính tế bào, bao gồm peroxinectin và integrin [126]. Các vi sinh vật bị bao vây trong nốt sần nhanh chóng được loại bỏ khỏi hệ tuần hoàn, thường được quan sát tại mang và trong xoang giữa các ống gan tụy. Cả bao bọc và tạo nốt sần đều kích hoạt hệ thống proPO, dẫn đến tổng hợp melanin, sản xuất ROI và AMP, từ đó góp phần tiêu diệt vi khuẩn [64]. Ngoài ra, các cơ chế này cũng đóng vai trò thiết yếu trong quá trình xơ cứng và chữa lành vết thương ở giáp xác [126].

Bên cạnh vai trò trong hình thành nốt sần và bao bọc tác nhân gây bệnh, các tế bào máu còn tham gia vào quá trình lành vết thương thông qua cơ chế kết dính tế bào. Ở tôm thẻ chân trắng và tôm sú, protein peroxinectin chứa một mô típ liên kết receptor bám dính tế bào (Lys-Gly-Asp) gần đầu C, trong khi đầu N có trình tự tương đồng với enzyme superoxide dismutase của người, cho thấy peroxinectin có vai trò kích

hoạt hệ enzyme proPO [64]. Một loại protein bám dính khác, protein giống Mas (Mas-like protein), thực hiện chức năng kết dính thông qua domain serine protease ở đầu C. Protein này đã được chứng minh có khả năng liên kết với *V. harveyi* và lipopolysaccharide (LPS), đồng thời có vai trò trong quá trình loại bỏ vi khuẩn và hoạt động kháng khuẩn [64].

Do hệ tuần hoàn của động vật không xương sống là hệ mở, một hệ thống đông máu hiệu quả là rất cần thiết để ngăn chặn sự mất huyết tương quá mức sau chấn thương, cũng như hạn chế sự lan truyền của vi sinh vật lợi dụng cấu trúc tuần hoàn mở. Cơ chế đông máu ở những loài này là một phần thiết yếu của hệ thống phòng vệ và bao gồm cả yếu tố tế bào và yếu tố dịch thể [64]. Ở tôm, quá trình đông máu được kích hoạt thông qua sự trùng hợp của protein đông máu huyết tương dưới sự xúc tác của enzyme transglutaminase, vốn được lưu trữ trong tế bào máu và hoạt hóa bởi sự hiện diện của ion Ca^{2+} . Ngoài ra, quá trình này còn có thể thúc đẩy sự tái cấu trúc mạng lưới ngoại bào và huy động các tế bào máu mới đến vị trí tổn thương [24].

1.3.3. Đáp ứng miễn dịch dịch thể

Trong đáp ứng miễn dịch dịch thể, các phân tử tác nhân hòa tan được tổng hợp và lưu trữ trong các tế bào máu sẽ được tiết ra nhằm chống lại sự xâm nhập của tác nhân gây bệnh. Các yếu tố dịch thể chính bao gồm prophenoloxidase (proPO), AMPs, lectin, cùng một số phân tử khác và chúng hoạt động phối hợp với các tế bào thực bào để loại bỏ các tác nhân gây bệnh đã vượt qua hàng rào bảo vệ ban đầu của vật chủ [45].

Hệ thống proPO là một trong những thành phần quan trọng nhất của đáp ứng miễn dịch dịch thể ở tôm. Hệ thống này đóng vai trò quan trọng trong nhiều phản ứng miễn dịch, bao gồm tạo sắc tố, phản ứng gây độc tế bào, bám dính tế bào, bao bọc và thực bào [126]. Nhờ đó, proPO không chỉ giúp tiêu diệt vi khuẩn mà còn tham gia vào việc chữa lành vết thương và bắt giữ kí sinh trùng trong cơ thể vật chủ [11]. Các tế bào máu bán hạt và tế bào hạt là nơi chứa hệ thống proPO, có thể được kích hoạt

bởi sự hiện diện của vi khuẩn hoặc các thành phần của vi khuẩn [154]. Khi được kích hoạt, proPO tác động lên dihydrophenylalanine, một chất nền phenolic, chuyển hóa nó thành dopaquinone. Dopaquinone sau đó trải qua quá trình trùng hợp không qua enzyme để hình thành melanin, một sắc tố nâu sẫm. Melanin giúp ngăn chặn sự lan truyền của các vật liệu ngoại lai trong cơ thể và hỗ trợ chữa lành các tổn thương ở lớp biểu bì. Ngoài ra, các hợp chất trung gian trong con đường tổng hợp melanin còn có đặc tính diệt khuẩn, đóng góp trực tiếp vào các phản ứng miễn dịch, từ đó tăng cường khả năng phòng vệ của vật chủ. Các thành phần của thành tế bào vi khuẩn, ngay cả khi có mặt ở nồng độ rất thấp, có thể kích hoạt hệ thống proPO, dẫn đến sự hình thành melanin [153]. Phenoloxidase (PO) là enzyme chính tham gia vào chuỗi phản ứng này. PO được tổng hợp dưới dạng zymogen không hoạt động (proPO) trong các tế bào máu và được giải phóng ra ngoài trong quá trình giải hạt. Sự chuyển đổi từ proPO không hoạt động sang PO hoạt động xảy ra thông qua phân cắt protein, được kích hoạt bởi nhận diện đặc hiệu của vi sinh vật nhờ PRPs. Sau khi PO được kích hoạt, nó xúc tác sản xuất melanin và các chất trung gian phản ứng gây độc, góp phần tiêu diệt các mầm bệnh xâm nhập.

AMPs là các protein có khối lượng phân tử nhỏ, phổ biến ở cả sinh vật nhân sơ và nhân thực, với phổ hoạt tính rộng chống lại động vật nguyên sinh, nấm, nấm men, vi khuẩn Gram dương, Gram âm và một số virus. AMPs hoạt động như các kháng sinh nội sinh, chủ yếu được sản xuất bởi tế bào máu của động vật đa bào, đồng thời cũng được tìm thấy ở tế bào biểu mô và gan, thể mỡ của cả động vật có xương sống và không xương sống [126]. Ở tôm, các AMP quan trọng gồm penaeidin, lysozyme, crustin và yếu tố kháng lipopolysaccharide (ALF), được tổng hợp và lưu trữ trong tế bào máu, tương tự cơ chế ở ruồi giấm; sự biểu hiện của chúng chủ yếu được điều hòa thông qua các con đường tín hiệu Toll và IMD [30, 79]. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh vai trò của các AMP trong đáp ứng miễn dịch kháng khuẩn ở tôm. Trong số các penaeidin được phát hiện ở tôm sú (*P. monodon*), PmPEN4 có hoạt tính diệt khuẩn mạnh nhất, trong khi PmPEN5 được ghi nhận tham gia vào đáp ứng miễn dịch kháng virus [82, 83]. Gần đây, một cơ chế kháng virus mới của penaeidin đã được mô tả,

trong đó sự xâm nhập của virus đốm trắng (WSSV) bị ức chế thông qua việc phá vỡ tương tác giữa các protein vỏ virus và các thụ thể miễn dịch của vật chủ [182]. ALF là một AMP khác có hoạt tính kháng khuẩn phổ rộng, đồng thời đã được chứng minh có vai trò kháng WSSV ở nhiều loài tôm càng xanh và tôm sú [88]. Ở tôm sú, ALF3 được cho là tác động trực tiếp lên nhiều protein cấu trúc của WSSV, làm phá vỡ vỏ virus và ngăn cản quá trình xâm nhập của virus vào vật chủ [104, 157].

Lectin đặc trưng bởi domain nhận dạng carbohydrate, đóng vai trò quan trọng trong các phản ứng miễn dịch, chủ yếu thông qua việc thúc đẩy thực bào chống lại các tác nhân gây bệnh vi khuẩn thông qua quá trình opsonin hóa [100]. Trong số bảy loại lectin được xác định ở tôm, lectin loại C đóng vai trò then chốt trong các phản ứng miễn dịch bẩm sinh, bao gồm khả năng ngưng kết và ức chế sự phát triển của cả vi khuẩn Gram dương và Gram âm [170, 177]. Bên cạnh đó, nhiều lectin loại C ở tôm còn được báo cáo có hoạt tính chống lại WSSV [133, 177]. Việc loại bỏ gene lectin ở tôm thẻ chân trắng (LvCTL3) và *Fenneropenaeus merguensis* (FmLC3) làm tăng khả năng nhạy cảm với WSSV và *V. harveyi* [134]. Các nghiên cứu cũng chỉ ra rằng sự điều hòa lectin loại C ở tôm thẻ chân trắng được trung gian bởi con đường NF- κ B, điều này cho thấy lectin không chỉ đóng vai trò trong nhận diện và loại bỏ mầm bệnh mà còn liên kết với các con đường truyền tín hiệu miễn dịch quan trọng, để tăng cường phản ứng bảo vệ vật chủ [81].

1.4. Giải pháp kích thích miễn dịch, tăng cường sức đề kháng cho tôm bằng chế phẩm postbiotics

1.4.1. Tình hình sử dụng chất kích thích miễn dịch trong nuôi tôm

Các biện pháp giảm thiểu nguy cơ bùng phát dịch bệnh trong nuôi tôm đã được nghiên cứu và áp dụng, bao gồm tăng cường an toàn sinh học, chọn giống kháng bệnh, sử dụng kháng sinh và bổ sung phụ gia thức ăn như các chất kích thích miễn dịch. Tuy nhiên, việc phát triển các dòng tôm kháng bệnh vẫn còn gặp nhiều tranh cãi do chi phí cao và khó khăn trong việc xác định cũng như khai thác các đặc điểm

di truyền liên quan đến khả năng kháng bệnh [165]. Trong khi đó, kháng sinh được sử dụng phổ biến, đặc biệt trong các đợt bùng phát bệnh do vi khuẩn. Việc lạm dụng kháng sinh không chỉ làm gia tăng vi khuẩn kháng thuốc mà còn gây ảnh hưởng tiêu cực đến cá thể, quần thể và hệ sinh thái [168]. Trước những rủi ro này, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn (nay là Bộ Nông nghiệp và Môi trường) đã không cho phép sử dụng kháng sinh với mục đích kích thích sinh trưởng trong chăn nuôi từ 01/01/2018 và cấm hoàn toàn việc sử dụng kháng sinh với mục đích phòng bệnh trong chăn nuôi kể từ 01/01/2026 theo quy định tại Nghị định số 13/2020/NĐ-CP của Chính phủ. Do đó, việc sử dụng các chất kích thích miễn dịch nổi lên như một giải pháp thay thế hiệu quả và an toàn hơn trong quản lý sức khỏe tôm nuôi.

Các cơ chế phòng vệ của tôm hoàn toàn dựa vào hệ miễn dịch bẩm sinh, bao gồm các hàng rào vật lý, enzyme, tế bào và các phân tử kháng khuẩn tự nhiên. Đặc điểm này khiến việc nghiên cứu và phát triển vắc xin phòng bệnh cho tôm trở nên đặc biệt khó khăn, chưa khả thi trong thực tiễn sản xuất. Trong bối cảnh dịch bệnh ngày càng phức tạp và điều kiện nuôi thâm canh làm gia tăng stress, việc bổ sung các chất kích thích miễn dịch thông qua thức ăn được xem là một trong những hướng tiếp cận hiệu quả và mang tính bền vững nhằm tăng cường sức đề kháng, góp phần kiểm soát và giảm thiểu dịch bệnh trong nuôi tôm [16]. Giải pháp này không chỉ giúp nâng cao khả năng chống chịu của tôm trước tác nhân gây bệnh mà còn góp phần giảm phụ thuộc vào kháng sinh, hạn chế nguy cơ xuất hiện và lan rộng của các chủng vi khuẩn kháng thuốc, đồng thời cải thiện mức độ an toàn sinh học trong hệ thống nuôi. Đây cũng là xu hướng được Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hợp Quốc (FAO) cùng nhiều quốc gia có ngành nuôi tôm phát triển khuyến nghị, nhằm đáp ứng yêu cầu phát triển bền vững, đảm bảo an toàn thực phẩm và giảm thiểu ô nhiễm môi trường [39].

Các chất kích thích miễn dịch chủ yếu tác động thông qua cơ chế nhận diện các mẫu phân tử liên quan đến mầm bệnh (PAMPs) bởi các thụ thể nhận dạng mẫu (PRRs) nằm trên bề mặt tế bào miễn dịch của tôm. Quá trình nhận diện này kích hoạt hàng

loạt các con đường truyền tín hiệu nội bào quan trọng như Toll, IMD và JAK/STAT, từ đó khởi động các phản ứng phòng vệ không đặc hiệu của vật chủ mà không cần đến cơ chế ghi nhớ miễn dịch [29]. Trên cơ sở nguồn gốc và cơ chế tác động, các chất kích thích miễn dịch hiện đang được ứng dụng trong nuôi tôm có thể được chia thành một số nhóm chính như probiotics, prebiotics, synbiotics, phytogenics và các yếu tố sinh học khác (ví dụ: lectin, peptide kháng khuẩn) [176]. Trong những thập kỷ gần đây, việc sử dụng probiotics, prebiotics, synbiotics và phytogenics như các phụ gia thức ăn chức năng nhằm cải thiện đáp ứng miễn dịch ở tôm đã thu hút sự quan tâm ngày càng lớn của giới nghiên cứu khoa học cũng như ngành sản xuất thủy sản [8].

Probiotics đã được chứng minh là mang lại nhiều hiệu quả tích cực trong nuôi trồng thủy sản nhờ tác động theo đa cơ chế sinh học và sinh thái học trong hệ vi sinh vật đường ruột. Trước hết, một trong những cơ chế quan trọng nhất của probiotics là khả năng cạnh tranh không gian cư trú và nguồn dinh dưỡng với các vi sinh vật gây bệnh. Khi được bổ sung vào khẩu phần ăn hoặc môi trường nuôi, các chủng vi khuẩn có lợi thuộc chi *Lactobacillus*, *Bacillus* hay *Pseudomonas* có thể nhanh chóng chiếm lĩnh bề mặt niêm mạc ruột, sử dụng hiệu quả các nguồn carbon và nitrogen sẵn có, từ đó hạn chế sự xâm nhập và phát triển của các tác nhân gây bệnh, điển hình là các loài vi khuẩn *Vibrio* [129]. Cơ chế này không chỉ làm giảm mật độ vi khuẩn gây hại mà còn góp phần duy trì sự cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột, một yếu tố then chốt đối với sức khỏe vật chủ. Bên cạnh đó, nhiều chủng probiotics có khả năng sản xuất các hợp chất kháng khuẩn tự nhiên, góp phần ức chế trực tiếp vi sinh vật gây bệnh. Các chất này bao gồm bacteriocin là những peptide có hoạt tính kháng khuẩn phổ hẹp hoặc rộng, axit hữu cơ (như axit lactic, axit acetic) làm giảm pH môi trường, hydrogen peroxide gây stress oxy hóa, cũng như các enzyme ngoại bào có khả năng phân giải cấu trúc tế bào vi khuẩn gây bệnh [68].

Probiotics còn có khả năng điều hòa và tăng cường hệ miễn dịch bẩm sinh của vật chủ. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy việc bổ sung probiotics có thể làm tăng tổng số tế bào máu, tăng hoạt tính của enzyme phenoloxidase (PO) và thúc đẩy sự tổng

hợp các peptide kháng khuẩn. Một số nghiên cứu đã ghi nhận sự gia tăng biểu hiện của các gene liên quan đến miễn dịch khi tôm được bổ sung probiotics trong khẩu phần ăn [43, 68]. Ngoài vai trò bảo vệ sức khỏe, probiotics còn góp phần cải thiện hiệu quả tiêu hóa và sử dụng thức ăn. Nhiều chủng vi sinh vật có lợi có khả năng tiết ra các enzyme tiêu hóa như protease, amylase và lipase, hỗ trợ quá trình phân giải protein, carbohydrate và lipid trong khẩu phần ăn. Nhờ đó, khả năng hấp thu dinh dưỡng của vật nuôi được nâng cao, dẫn đến cải thiện tốc độ tăng trưởng và giảm hệ số chuyển hóa thức ăn. Đồng thời, việc cải thiện môi trường vi sinh vật đường ruột còn giúp tăng cường tính toàn vẹn của biểu mô ruột, giảm hiện tượng viêm và tăng hiệu quả trao đổi chất [68, 92].

Tuy nhiên, hiệu quả của probiotics bị phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác nhau. Trước hết là đặc tính của từng chủng vi sinh vật, bao gồm khả năng bám dính, sinh trưởng, sản xuất chất kháng khuẩn và thích nghi với điều kiện đường ruột của vật chủ. Ngoài ra, các yếu tố môi trường như nhiệt độ, độ mặn, pH và chất lượng nước cũng ảnh hưởng đáng kể đến khả năng sống sót và hoạt động của probiotics. Phương thức sử dụng (trộn vào thức ăn, bổ sung trực tiếp vào nước hay sử dụng dạng bao vi nang) cũng quyết định mức độ hiệu quả thực tế. Đặc biệt, khả năng sống sót của probiotics khi đi qua dạ dày và đến được ruột là yếu tố then chốt quyết định tác dụng sinh học của chúng [68]. Trong một số trường hợp, probiotics có thể không phát huy được tác dụng mong muốn hoặc thậm chí tiềm ẩn những rủi ro nhất định. Ví dụ, một số chủng có thể bị ức chế bởi hệ vi sinh bản địa hoặc điều kiện môi trường bất lợi, dẫn đến hiệu quả không ổn định. Ngoài ra, các nguy cơ như nhiễm khuẩn huyết, chuyển vị vi sinh qua hàng rào ruột hoặc lan truyền gene kháng kháng sinh cũng đã được ghi nhận [138].

Prebiotics được định nghĩa là các hợp chất không tiêu hóa được bởi enzyme của vật chủ nhưng có khả năng được sử dụng chọn lọc bởi hệ vi sinh vật đường ruột, qua đó thúc đẩy sự phát triển hoặc hoạt tính của các vi khuẩn có lợi, mang lại lợi ích sức khỏe cho vật chủ [68, 129]. Prebiotics thường có nguồn gốc từ thực vật, thành tế

bào nấm men, tảo hoặc các sản phẩm vi sinh, đóng vai trò như cơ chất chức năng điều hòa hệ vi sinh vật đường ruột [129]. Một đặc điểm quan trọng của prebiotics là chúng không bị thủy phân hay hấp thu ở đoạn trước của ống tiêu hóa do vật chủ thiếu các enzyme tương ứng, thay vào đó, chúng đi đến ruột sau và được lên men bởi hệ vi sinh vật cư trú, từ đó tạo ra các chất chuyển hóa có lợi [129]. Sự thay đổi tích cực trong cấu trúc và chức năng của quần xã vi sinh vật đường ruột dưới tác động của prebiotics là cơ sở cho nhiều lợi ích sinh học quan sát được. Khi được bổ sung vào khẩu phần ăn, prebiotics làm tăng tỷ lệ các nhóm vi khuẩn có lợi như *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* hoặc *Bacillus*, đồng thời ức chế gián tiếp sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh thông qua cơ chế cạnh tranh sinh thái và thay đổi điều kiện môi trường ruột. Ở tôm, những biến đổi này đã được chứng minh có liên quan đến việc cải thiện tình trạng sức khỏe, tăng cường khả năng chống chịu stress và nâng cao đáp ứng miễn dịch [43, 68].

Trong nuôi tôm, các nhóm prebiotics được sử dụng phổ biến bao gồm polysaccharide và oligosaccharide. Các polysaccharide (beta-1,3/1,6-glucan) là thành phần chính của thành tế bào nấm men, được biết đến với khả năng kích thích mạnh mẽ hệ miễn dịch bẩm sinh thông qua việc hoạt hóa đại thực bào và tăng cường hoạt tính các enzyme miễn dịch. Trong khi đó, các oligosaccharide (MOS, FOS và GOS) có tác dụng nổi bật trong việc điều hòa hệ vi sinh vật đường ruột và cải thiện chức năng tiêu hóa [84, 189]. Khi được bổ sung vào khẩu phần ăn, các hợp chất này có thể kích hoạt miễn dịch tại chỗ ở biểu mô ruột, làm tăng hoạt tính các enzyme như phenoloxidase (PO), lysozyme và tăng mật độ tế bào miễn dịch, từ đó nâng cao khả năng bảo vệ của tôm thẻ chân trắng trước các tác nhân gây bệnh [84]. Một cơ chế quan trọng khác của prebiotics là thông qua các sản phẩm chuyển hóa của quá trình lên men vi sinh. Khi được vi khuẩn đường ruột phân giải, prebiotics tạo ra các axit béo chuỗi ngắn (SCFAs) như acetate, propionate và butyrate. Các SCFAs này đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì cân bằng nội môi đường ruột, điều hòa pH, ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây bệnh và đặc biệt là điều hòa đáp ứng miễn dịch thông qua các con đường tín hiệu phân tử liên quan đến viêm. Ngoài ra, SCFAs còn

có khả năng tăng cường tính toàn vẹn của hàng rào biểu mô ruột, giảm tính thấm và hạn chế sự xâm nhập của mầm bệnh [113]. Không chỉ tác động gián tiếp thông qua hệ vi sinh vật, một số prebiotics còn có khả năng tương tác trực tiếp với PRRs trên bề mặt tế bào miễn dịch của vật chủ. Ví dụ, beta-glucan có thể liên kết với các thụ thể như beta-glucan binding protein (β -GBP) hoặc Toll-like receptors, từ đó kích hoạt các con đường tín hiệu miễn dịch bẩm sinh như hệ thống proPO, dẫn đến tăng cường khả năng nhận diện và loại bỏ tác nhân gây bệnh [68]. Cơ chế này cho thấy prebiotics không chỉ đóng vai trò là thức ăn cho vi khuẩn có lợi mà còn là các phân tử tín hiệu sinh học có khả năng điều hòa miễn dịch trực tiếp.

Tuy nhiên, khác với probiotics vốn cung cấp trực tiếp vi sinh vật sống có lợi, tác dụng của prebiotics thường mang tính gián tiếp và phụ thuộc lớn vào cấu trúc hệ vi sinh vật sẵn có trong đường ruột vật chủ. Hiệu quả của prebiotics do đó có thể biến động tùy theo điều kiện nuôi, chế độ ăn, giai đoạn phát triển của tôm và đặc điểm hệ vi sinh bản địa. Trong những trường hợp hệ vi sinh vật đường ruột không đủ đa dạng hoặc bị mất cân bằng nghiêm trọng, prebiotics có thể không phát huy được hiệu quả tối ưu. Vì vậy, mặc dù prebiotics có nhiều ưu điểm như tính an toàn cao, ổn định và không gây nguy cơ lan truyền gene kháng kháng sinh, nhưng hiệu quả tăng cường miễn dịch và kháng bệnh nhìn chung được đánh giá là thấp hơn so với probiotics [68, 165]. Điều này cũng là cơ sở cho xu hướng kết hợp cả probiotics và prebiotics (synbiotics) nhằm tận dụng đồng thời lợi ích của cả hai nhóm hợp chất trong cải thiện sức khỏe và năng suất nuôi trồng thủy sản.

Synbiotics là sự kết hợp có chủ đích giữa probiotics và prebiotics trong cùng một chế phẩm hoặc khẩu phần ăn, nhằm tối ưu hóa khả năng tồn tại, định cư và hoạt động sinh học của vi sinh vật có lợi trong đường ruột vật chủ. Trong tổ hợp này, prebiotics đóng vai trò như nguồn dinh dưỡng đặc hiệu, tạo điều kiện thuận lợi cho probiotics phát triển và duy trì mật độ ổn định trong hệ tiêu hóa, từ đó gia tăng hiệu quả chức năng so với việc sử dụng riêng lẻ từng thành phần. Chính sự tương tác hỗ trợ này tạo nên hiệu ứng hiệp đồng, giúp nâng cao hiệu quả điều hòa hệ vi sinh vật

và tăng cường sức khỏe vật chủ [73]. Synbiotics bắt đầu được nghiên cứu và ứng dụng trong nuôi trồng thủy sản từ khoảng giữa những năm 2005, khi nhu cầu thay thế kháng sinh và nâng cao tính bền vững của hệ thống nuôi ngày càng trở nên cấp thiết [150]. Kể từ đó, nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng việc bổ sung synbiotics vào khẩu phần ăn có thể mang lại những cải thiện rõ rệt về hiệu suất tăng trưởng, hệ số chuyển đổi thức ăn, tỷ lệ sống và khả năng chống chịu stress ở các loài thủy sản, đặc biệt là tôm thẻ chân trắng và tôm sú [129, 150]. Những lợi ích này chủ yếu xuất phát từ sự cải thiện cấu trúc và chức năng của hệ vi sinh vật đường ruột, cũng như sự tăng cường hoạt động của hệ miễn dịch bẩm sinh.

Synbiotics đã được ghi nhận có khả năng kích thích mạnh mẽ các chỉ số miễn dịch không đặc hiệu ở tôm. Nhiều nghiên cứu cho thấy sự gia tăng đáng kể hoạt tính của các enzyme miễn dịch quan trọng như PO, lysozyme và SOD khi tôm được bổ sung synbiotics trong khẩu phần ăn. Sự gia tăng đồng thời các chỉ số này cho thấy synbiotics không chỉ kích hoạt phản ứng miễn dịch mà còn góp phần duy trì cân bằng oxy hóa khử trong cơ thể, từ đó nâng cao khả năng kháng bệnh của vật chủ [27, 43, 57]. Ngoài tác động lên hệ miễn dịch, synbiotics còn cải thiện chức năng tiêu hóa và khả năng sử dụng dinh dưỡng. Probiotics trong tổ hợp có thể tiết ra các enzyme tiêu hóa như protease, amylase và lipase, trong khi prebiotics tạo điều kiện thuận lợi cho các vi sinh vật này phát triển và hoạt động hiệu quả hơn. Kết quả là quá trình phân giải và hấp thu dinh dưỡng được tối ưu hóa, giúp cải thiện tốc độ tăng trưởng và giảm hệ số chuyển đổi thức ăn. Đồng thời, sự hiện diện của prebiotics còn thúc đẩy quá trình lên men vi sinh, tạo ra các axit béo chuỗi ngắn có vai trò điều hòa miễn dịch và cải thiện sức khỏe đường ruột, góp phần củng cố hàng rào bảo vệ chống lại mầm bệnh [68].

Tuy nhiên, hiệu quả của synbiotics phụ thuộc chặt chẽ vào mức độ tương thích giữa chủng probiotics và loại prebiotics được sử dụng. Không phải mọi sự kết hợp đều mang lại hiệu quả hiệp đồng, việc lựa chọn không phù hợp có thể dẫn đến cạnh tranh không hiệu quả, giảm khả năng định cư của probiotics hoặc thậm chí làm mất

cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột. Do đó, việc thiết kế synbiotics cần dựa trên hiểu biết sâu về đặc tính sinh học của từng chủng vi sinh vật và khả năng sử dụng cơ chất của chúng. Ngoài ra, các yếu tố như liều lượng, thời gian sử dụng, điều kiện môi trường nuôi và giai đoạn phát triển của vật nuôi cũng ảnh hưởng đáng kể đến hiệu quả thực tế [68]. Một hạn chế đáng lưu ý khác là chi phí sản xuất và ứng dụng synbiotics thường cao hơn so với các chế phẩm đơn lẻ như probiotics hoặc prebiotics. Điều này xuất phát từ yêu cầu kiểm soát chất lượng nghiêm ngặt đối với cả hai thành phần, cũng như quá trình phối trộn và bảo quản phức tạp nhằm đảm bảo tính ổn định và hiệu quả sinh học của sản phẩm. Do đó, việc triển khai synbiotics ở quy mô thương mại cần được cân nhắc kỹ lưỡng giữa lợi ích kinh tế và hiệu quả sinh học [68, 165].

Phytogenics là các hợp chất sinh học có nguồn gốc từ thực vật, bao gồm tinh dầu, bột thảo dược và các dạng chiết xuất thực vật khác, trong đó tinh dầu là dạng được sử dụng phổ biến nhất [180]. Trong hơn 15 năm qua, phytogenics đã được ứng dụng rộng rãi trong sản xuất thức ăn chăn nuôi và nuôi trồng thủy sản với nhiều kết quả tích cực [66, 67, 119, 120]. Khi bổ sung vào khẩu phần ăn của tôm, phytogenics có thể cải thiện khả năng tiêu hóa, kích thích tính bắt mồi và tăng hiệu quả sử dụng thức ăn, từ đó thúc đẩy tăng trưởng và làm giảm hệ số chuyển đổi thức ăn [66, 67]. Đồng thời, nhờ chứa các hợp chất hoạt tính sinh học như phenol, flavonoid, terpenoid..., phytogenics thể hiện hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hóa, góp phần cải thiện sức khỏe đường ruột, giảm stress oxy hóa và hỗ trợ tăng cường miễn dịch tự nhiên, qua đó nâng cao khả năng kháng bệnh của tôm [118]. Tuy nhiên, một số vấn đề vẫn cần được làm rõ, bao gồm khả năng tích lũy các chất chuyển hóa trong môi trường ao nuôi và tác động lâu dài của chúng đến hệ sinh thái vi sinh vật trong nước và trầm tích, do đó việc sử dụng phytogenics trên diện rộng cần được thận trọng và kiểm soát chặt chẽ [117]. Hơn nữa, do là hỗn hợp phức tạp của nhiều hợp chất thực vật khác nhau, việc xác định liều lượng tối ưu nhằm đạt hiệu quả mong muốn mà không gây stress hoặc độc tính cho tôm vẫn còn là một thách thức lớn trong thực tế sản xuất [118].

Nhìn chung, trong các nhóm phụ gia thức ăn được nghiên cứu và sử dụng phổ biến như chất kích thích miễn dịch trong nuôi tôm (probiotics, prebiotics, synbiotics và phytogenics), probiotics thường được đánh giá là có hiệu quả cao, dễ ứng dụng và mang lại nhiều lợi ích rõ rệt cả về mặt sinh học lẫn kinh tế [15, 114, 165]. Tuy nhiên, việc sử dụng vi sinh vật sống trong các chế phẩm probiotics vẫn tồn tại những hạn chế nhất định [33]. Chính những hạn chế này đã thúc đẩy các nghiên cứu tìm kiếm các giải pháp thay thế an toàn và ổn định hơn. Các tiến bộ gần đây trong lĩnh vực probiotics đã chỉ ra rằng các sản phẩm chuyển hóa của vi sinh vật không còn sống, cũng như các thành phần cụ thể của tế bào vi sinh vật, vẫn có thể tạo ra các hiệu ứng sinh học tương đương hoặc thậm chí vượt trội so với probiotics, đó chính là postbiotics.

1.4.2. Thành phần và cơ chế tác động của postbiotics lên đáp ứng miễn dịch động vật thủy sản

Postbiotics đại diện cho một lĩnh vực dinh dưỡng mới nổi trong những năm gần đây, mở rộng các lĩnh vực đã được thiết lập của prebiotics và probiotics. Thuật ngữ “postbiotics” lần đầu tiên được giới thiệu vào năm 2012 bởi Tsilingiri và cộng sự [166]. Vào tháng 5 năm 2021, Hiệp hội Khoa học Quốc tế về probiotics và prebiotics (ISAPP) đã công bố một tuyên bố đồng thuận, định nghĩa postbiotics là sản phẩm chứa các vi sinh vật không hoạt động hoặc các thành phần của chúng mang lại lợi ích cho vật chủ [138]. Thành phần postbiotics bao gồm chủ yếu là ba loại hợp chất, cụ thể là tế bào vi sinh vật bất hoạt, thành phần của tế bào vi sinh vật và các hợp chất sinh học có nguồn gốc từ quá trình lên men của vi sinh vật. Các hợp chất này thường có nguồn gốc từ một phổ rộng các vi sinh vật probiotics, bao gồm nhiều chi và loài khác nhau [160].

Tế bào vi sinh vật bất hoạt là một thành phần quan trọng của postbiotics, bao gồm các tế bào probiotics đã bị bất hoạt bằng những phương pháp thích hợp nhưng vẫn giữ được tính toàn vẹn cấu trúc. Cần phân biệt rõ các tế bào này với vắc-xin bất hoạt, vốn có nguồn gốc từ vi sinh vật gây bệnh và không được xếp vào nhóm

postbiotics [138]. Mặc dù không còn khả năng sống, các tế bào vi sinh vật bất hoạt vẫn thể hiện nhiều chức năng sinh học, như cải thiện cấu trúc và chức năng hàng rào ruột, nâng cao hiệu quả sử dụng thức ăn và tăng trưởng, tăng cường khả năng bảo vệ vật chủ trước mầm bệnh và điều hòa đáp ứng miễn dịch. Những tác động tích cực này đạt được thông qua sự tương tác của tế bào vi sinh vật bất hoạt với hệ thống sinh lý của vật chủ, khẳng định tiềm năng và giá trị ứng dụng của chúng như một thành phần của các chế phẩm postbiotics trong nuôi trồng thủy sản [160].

Thành phần tế bào vi sinh vật chủ yếu bao gồm lông mao, roi, peptidoglycan (PGN), axit teichoic (TA) và các protein bề mặt tế bào, trong đó PGN và TA là những cấu phần quan trọng của thành tế bào và đóng vai trò then chốt trong postbiotics. PGN là cấu trúc chính của thành tế bào vi khuẩn, được tạo bởi các chuỗi glycan tuyến tính liên kết chéo với nhau thông qua các peptide ngắn, gồm các đơn vị axit N-acetylmuramic và N-acetylglucosamine liên kết bằng liên kết beta-1,4; axit N-acetylmuramic còn gắn với peptide ngắn, tạo nên cấu trúc dạng lưới bền vững [161]. PGN có vai trò quan trọng trong điều hòa miễn dịch [133], trong đó mô tip muramyl dipeptide (MDP) có khả năng kích thích tế bào gốc biểu mô ruột Lgr5⁺ biểu hiện thụ thể cảm biến miễn dịch bẩm sinh NOD2, góp phần phục hồi tổn thương ruột [116]. TA là thành phần đặc trưng của thành tế bào vi khuẩn Gram dương và được phân loại thành axit lipoteichoic (LTA), neo vào màng tế bào chất thông qua glycolipid, và axit teichoic thành (WTA), liên kết cộng hóa trị với PGN trong thành tế bào. Cả LTA và WTA đều góp phần quyết định độ cứng, độ xốp và hình thái của thành tế bào [161]. Trong đó, WTA tham gia duy trì hình thái tế bào, điều hòa sự xâm chiếm và bám dính của vi khuẩn gây bệnh, cũng như ảnh hưởng đến khả năng kháng peptide kháng khuẩn, trong khi LTA đóng vai trò quan trọng trong cân bằng cation của thành tế bào, điều hòa phản ứng viêm và nhận diện thụ thể của tế bào chủ [161].

Các hợp chất sinh học bao gồm hợp chất kháng khuẩn, axit hữu cơ và những hợp chất có khối lượng phân tử lớn, được tạo ra trong quá trình sinh trưởng và phát triển của vi sinh vật và là thành phần quan trọng của postbiotics. Các chất chuyển hóa

này gồm nhiều chất như vitamin B, vitamin K, axit amin thơm, axit béo chuỗi ngắn (SCFA) như axit axetic, propionic và butyric, glutathione được sản xuất bởi vi khuẩn axit lactic, các peptide kháng khuẩn được phân loại là bacteriocin và defensin, axit phenyllactic, D-amino axit, hydrogen peroxide, các hợp chất hữu cơ dễ bay hơi (VOC), phytoestrogen (equol, enterolactone, enterodiol), urease A và B, axit phydroxyphenylacetic và exopolysaccharides (EPS), cùng nhiều chất khác [159, 183].

Hợp chất kháng khuẩn là một nhóm các hợp chất hoạt tính sinh học không đồng nhất, bao gồm protein, peptide và các dạng tiền chất của chúng, được tổng hợp bởi nhiều loại vi sinh vật [191]. Các bacteriocin này góp phần ức chế vi khuẩn gây bệnh và điều hòa chức năng miễn dịch, khiến chúng trở thành thành phần thiết yếu của postbiotics trong việc duy trì sức khỏe đường tiêu hóa và phòng ngừa các bệnh truyền nhiễm.

Axit hữu cơ là một phân nhóm quan trọng của các hợp chất sinh học trong postbiotics, thực hiện nhiều chức năng không thể thiếu đối với sức khỏe đường tiêu hóa. Những chức năng này bao gồm việc giảm độ pH đường ruột và ức chế sự phát triển của mầm bệnh [34]. Probiotics tạo điều kiện thuận lợi cho việc sản xuất nhiều loại axit hữu cơ, chẳng hạn như SCFA, axit lactic, axit malic và axit succinic, thông qua quá trình dị hóa carbohydrate [108]. SCFA có khả năng điều chỉnh phản ứng của tế bào bằng cách ức chế histone deacetylase. Lợi ích của SCFA đối với vật chủ rất đa dạng, bao gồm việc điều hòa giảm các chất trung gian gây viêm và điều chỉnh sự biệt hóa đại thực bào và tế bào điều hòa T. SCFA là nguồn năng lượng chính cho sự phát triển và chuyển hóa của các tế bào biểu mô ruột, góp phần cải thiện môi trường vi sinh vật đường ruột, tăng cường chức năng hàng rào ruột và tăng cường khả năng miễn dịch niêm mạc [96]. Những đặc tính này rất quan trọng để duy trì sự cân bằng giữa tình trạng viêm ruột và đáp ứng miễn dịch. Vai trò đa dạng và tác động mạnh mẽ của axit hữu cơ, đặc biệt là SCFA, trong sinh lý vật chủ nhấn mạnh tầm quan trọng của chúng trong bối cảnh can thiệp hậu sinh học và sức khỏe đường ruột nói

chung.

EPS các polyme sinh học có trọng lượng phân tử cao được tiết ra bởi nhiều loại vi sinh vật khác nhau, chủ yếu bao gồm các aldose hoặc ketose được liên kết bằng liên kết glycosid. Các polyme sinh học này được phân loại dựa trên khả năng bám dính của chúng vào tế bào vi khuẩn thành ba loại chính: EPS liên kết lỏng lẻo, EPS liên kết chặt chẽ và EPS dạng nang [119]. Quá trình tổng hợp EPS liên quan đến hoạt động phối hợp của nhiều enzyme và các con đường chuyển hóa bên trong các vi sinh vật sản xuất. EPS nổi tiếng với vai trò điều hòa hệ vi sinh vật đường ruột và sở hữu các đặc tính chống viêm, chống oxy hóa và điều hòa miễn dịch [149]. Những phát hiện này làm nổi bật tiềm năng của EPS như các hợp chất hoạt tính sinh học có ý nghĩa quan trọng đối với sức khỏe động vật, đặc biệt là trong bối cảnh sức khỏe đường ruột và điều hòa miễn dịch.

1.4.3. Những nghiên cứu ứng dụng postbiotics trong nuôi trồng thủy sản

Trong nuôi trồng thủy sản, probiotics đã được sử dụng rộng rãi, trong khi ứng dụng postbiotics vẫn còn tương đối mới, đặc biệt trên tôm. Các nghiên cứu hiện nay chủ yếu tập trung vào cá, trong khi các dữ liệu về tôm vẫn còn hạn chế, nhưng các kết quả sơ bộ đã cho thấy tiềm năng rõ rệt của postbiotics trong cải thiện miễn dịch, sức khỏe đường ruột, hiệu suất tăng trưởng và khả năng kháng mầm bệnh đối với động vật thủy sản.

Postbiotics có khả năng kích thích cả miễn dịch bẩm sinh và đặc hiệu, thúc đẩy sự hình thành, biệt hóa tế bào miễn dịch và tăng cường giải phóng cytokine chống viêm [125]. Sagada và cộng sự (2021) cho thấy việc bổ sung postbiotics từ *Lactiplantibacillus plantarum* cho cá tráp (*Acanthopagrus schlegelii*) trong 8 tuần làm tăng đáng kể tổng protein huyết thanh và hoạt tính lysozyme so với đối chứng [136]. Tương tự, Wu và cộng sự (2023) ghi nhận ở cá chép koi sau 28 ngày bổ sung chế phẩm sinh học phức hợp bất hoạt bằng nhiệt (3% và 6%) sự gia tăng rõ rệt hoạt tính các enzyme miễn dịch và chống oxy hóa, gồm ACP, AKP, CAT và T-SOD [180].

Trên cá da trơn, Shawky và cộng sự (2023) báo cáo rằng postbiotics từ *Bacillus subtilis* bắt hoạt bằng nhiệt (1,42-1,66 g/kg thức ăn, 60 ngày) cải thiện hoạt tính lysozyme, khả năng thực bào và làm tăng hoạt động của T-SOD, CAT và GPx [147]. Ngoài ra, các nghiên cứu trên cá tráp, cá ngựa và cá chép cũng cho thấy postbiotics làm tăng hoạt tính lysozyme, khả năng thực bào, hoạt động của SOD, CAT, GPx và biểu hiện các chỉ dấu miễn dịch đặc hiệu như IgM, C3, CD4-1⁺ và CD8 [127, 137]. Đáng chú ý, Ballantyne và cộng sự (2023) trên tôm thẻ chân trắng cho thấy bổ sung postbiotics từ *Pediococcus pentosaceus* trong 12 tuần làm tăng đáng kể hoạt tính lysozyme và thực bào, qua đó nâng cao đáp ứng miễn dịch bẩm sinh ở tôm [15]. Nhìn chung, các kết quả này khẳng định vai trò của postbiotics trong việc tăng cường miễn dịch bẩm sinh và đặc hiệu, góp phần nâng cao sức khỏe tổng thể của động vật thủy sản.

Bên cạnh đó, postbiotics đã cho thấy khả năng phát huy tác dụng trực tiếp tại đường tiêu hóa của động vật thủy sản, cơ quan đảm nhiệm quá trình hấp thụ chất dinh dưỡng và duy trì sự đa dạng của hệ vi sinh vật đường ruột [7, 72]. Các hợp chất này có tác dụng củng cố hàng rào miễn dịch ruột bằng cách làm tăng độ dày lớp niêm mạc, kéo dài vi nhung mao, đồng thời kích thích sản xuất các peptide kháng khuẩn, từ đó góp phần ổn định hệ vi sinh và hạn chế sự xâm nhập của tác nhân gây bệnh [51]. Sheikhzadeh và cộng sự (2017) khi bổ sung postbiotics có nguồn gốc từ *Gordonia bronchialis* vào khẩu phần ăn của cá hồi (*Oncorhynchus mykiss*) đã ghi nhận sự gia tăng chiều dài các nếp gấp ở vùng manh tràng và môn vị so với nhóm đối chứng [148]. Tương tự, Dawood và cộng sự (2020) thử nghiệm trên cá rô phi (GIFT) được cho ăn khẩu phần bổ sung postbiotics có nguồn gốc từ *Lactobacillus plantarum* trong 12 tuần cho thấy sự gia tăng đáng kể chiều dài niêm mạc và vi nhung mao ruột, đồng thời làm tăng độ dày lớp cơ ruột và cải thiện đáng kể tính toàn vẹn của mô ruột [28]. Ở cá chép (*Cyprinus carpio*), Yu và cộng sự (2023) quan sát thấy việc bổ sung postbiotics SWFC (hỗn hợp của dịch nuôi cấy *Cetobacterium somerae* và *Lactobacillus lactis*) đã làm tăng biểu hiện của các gene mã hóa enzyme chống oxy hóa (Nrf2, CAT, GPx), các yếu tố miễn dịch (Hepcidin, IL-10) cũng như các protein

liên kết chặt của biểu mô ruột (ZO-1, Occludin). Sự thay đổi này có liên quan chặt chẽ đến việc cải thiện tính toàn vẹn hàng rào ruột và duy trì cân bằng hệ vi sinh vật đường ruột [187]. Kết quả tương tự cũng được ghi nhận trên cá ngựa vằn (*Danio rerio*), khi bổ sung postbiotics SWFC trong 6 tuần đã làm tăng biểu hiện các gene liên quan đến quá trình oxy hóa axit béo (PPAR α và carnitine palmitoyltransferase I), đồng thời làm giảm biểu hiện các gene liên quan đến tích lũy lipid (C/EBP α , PPAR γ , ACC1 và DGAT-2), từ đó góp phần hạn chế rối loạn chuyển hóa lipid và cải thiện cân bằng hệ vi sinh đường ruột [160]. Đối với việc sử dụng postbiotics trên tôm, Ai và cộng sự (2022) cho thấy khi bổ sung postbiotics có nguồn gốc từ *Enterococcus faecalis* với liều 0,1 mL/g vào thức ăn nuôi tôm thẻ chân trắng trong 28 ngày đã làm thay đổi đáng kể thành phần, độ phong phú và tính đa dạng của hệ vi sinh vật đường ruột của tôm [10]. Tương tự, trên tôm càng xanh, khi sử dụng postbiotics có nguồn gốc từ *Bacillus*, *Lactobacillus* và *Saccharomyces*, đã ghi nhận sự kéo dài vi nhung mao, sự sắp xếp chặt chẽ hơn của các tế bào biểu mô và cấu trúc màng đáy, những yếu tố phản ánh sự cải thiện rõ rệt về mặt cấu trúc của mô ruột [160]. Nhìn chung, các kết quả này nhấn mạnh vai trò quan trọng của postbiotics trong việc duy trì tính toàn vẹn cấu trúc ruột, ổn định hệ vi sinh vật đường ruột và nâng cao sức khỏe đường tiêu hóa ở động vật thủy sản.

Đồng thời, postbiotics đã được chứng minh mang lại nhiều tác dụng có lợi thông qua việc tăng cường sức đề kháng của động vật thủy sản trước các tác nhân gây bệnh. Luo và cộng sự (2021) khi bổ sung postbiotics có nguồn gốc từ *Clostridium butyricum* vào khẩu phần ăn của tôm thẻ chân trắng đã ghi nhận tỷ lệ sống sót của tôm sau khi gây nhiễm *V. parahaemolyticus* tăng lên đáng kể so với nhóm đối chứng [97]. Ngoài ra, nghiên cứu của Dadi và cộng sự (2022) trên tôm thẻ chân trắng, khi sử dụng postbiotics có nguồn gốc từ nấm (MCR433 và MCR440), đã làm tăng khả năng chống chịu với *V. parahaemolyticus*, qua đó góp phần bảo vệ tôm khỏi bệnh AHPND [26]. Trên cá, Giri và cộng sự (2020) ghi nhận việc bổ sung postbiotics từ vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa* vào khẩu phần ăn đã làm tăng đáng kể tỷ lệ sống của cá chép sau khi gây nhiễm *Aeromonas hydrophila* [42]. Kết quả tương tự cũng được báo

cáo bởi Wang và cộng sự (2021), trong đó cá chép được cho ăn postbiotics từ *Lactococcus lactis* trong 7 ngày đã biểu hiện sự gia tăng rõ rệt nồng độ cytokine, nitric oxide, hoạt tính các enzyme chống oxy hóa, hoạt tính lysozyme, phosphatase kiềm (AKP), cũng như các enzyme tiêu hóa (amylase, lipase, protease) và sự biểu hiện của các gene vận chuyển chất dinh dưỡng (Sglt1, Glut2, Pept1, rBAT) sau 24 giờ nhiễm *A. hydrophila*, so với nhóm đối chứng [172]. Nhìn chung, các kết quả này cho thấy cơ chế kích thích miễn dịch đóng vai trò trung tâm trong việc tạo ra khả năng kháng mầm bệnh của postbiotics ở động vật thủy sản.

Các nghiên cứu trên cho thấy postbiotics là giải pháp phụ gia thức ăn đầy triển vọng trong nuôi trồng thủy sản, giúp kích thích miễn dịch bẩm sinh và đặc hiệu, tăng hoạt động lysozyme, thực bào, cytokine và enzyme chống oxy hóa, đồng thời củng cố cấu trúc và chức năng đường tiêu hóa. Bổ sung postbiotics cải thiện tính toàn vẹn biểu mô ruột, kéo dài vi nhung mao, tăng độ dày niêm mạc và điều hòa biểu hiện gene liên quan đến miễn dịch, chống oxy hóa và chuyển hóa lipid. Chúng cũng ổn định hệ vi sinh vật đường ruột, tạo môi trường bất lợi cho mầm bệnh, nâng cao sức đề kháng và tỷ lệ sống sót của tôm và cá. Tuy nhiên, hiện nay nghiên cứu chủ yếu tập trung vào một số loài cá và các vi sinh vật phổ biến như *Lactobacillus* và *Bacillus*, trong khi nghiên cứu trên tôm và các loài vi sinh vật khác như nấm men *Saccharomyces* vẫn còn hạn chế. Do đó, cần mở rộng nghiên cứu để đánh giá toàn diện hiệu quả và cơ chế hoạt động của postbiotics trên tôm.

1.5. Những nghiên cứu ứng dụng *Saccharomyces cerevisiae* trong nuôi tôm

Nấm men là nhóm nấm đơn bào thuộc ngành nấm đảm và nấm túi, có khả năng sinh sản chủ yếu bằng hình thức nảy chồi hoặc phân đôi. Cho đến nay, chỉ khoảng 1% tổng số loài nấm men trên thế giới được nhận diện và nghiên cứu, trong đó *S. cerevisiae* là loài được biết đến và ứng dụng rộng rãi nhất. Trong nuôi tôm, *S. cerevisiae* thường được sử dụng (toàn phần hoặc bán phần) như một thành phần bổ sung trong khẩu phần ăn nhằm kích thích miễn dịch, tăng cường sức đề kháng với các tác nhân gây bệnh, đồng thời cải thiện tăng trưởng ở tôm nuôi [23]. Các nghiên

cứu hiện nay chủ yếu tập trung vào việc sử dụng *S. cerevisiae* dưới dạng probiotics, prebiotics hoặc synbiotics (Bảng 1.1), trong khi nghiên cứu chuyên sâu về postbiotics có nguồn gốc từ *S. cerevisiae* trên tôm và cá vẫn còn tương đối hạn chế [31].

S. cerevisiae giữ vai trò quan trọng trong việc kích thích hệ miễn dịch và tăng cường sức đề kháng của tôm và hiện đã trở thành một trong những chất kích thích miễn dịch được sử dụng phổ biến trong nuôi tôm. Nhiều nghiên cứu cho thấy nấm men này và các sản phẩm có nguồn gốc từ nó hoạt động như các chất điều hòa miễn dịch và chất chống oxy hóa hiệu quả, giúp cải thiện tình trạng sức khỏe tổng thể cũng như tăng khả năng chống chịu với stress ở tôm. Các thành phần và sản phẩm sinh học từ *S. cerevisiae* đã được ghi nhận với vai trò là tác nhân kích thích miễn dịch, bao gồm protein chống đông, agglutinin, peptide kháng khuẩn như defensin và chemokine, protein ức chế quá trình apoptosis. Bên cạnh đó, các hợp chất này còn tham gia vào các cơ chế miễn dịch bẩm sinh như trung hòa các gốc tự do, kích thích hình thành nốt sần, tăng cường các thành phần dịch thể và hoạt hóa các yếu tố miễn dịch như lysozyme, monostatin, tế bào thực bào, enzyme phenol oxidase, protease, hydrogen peroxide và siderophore. Một số hợp chất kháng khuẩn khác như gramicidin, polymyxin và tyrotricin cũng được ghi nhận có khả năng ức chế sự phát triển của vi sinh vật gây bệnh [97].

Một số sản phẩm sinh học quan trọng từ *S. cerevisiae*, điển hình là beta-glucan và nucleotide, đã được sử dụng để nâng cao khả năng kháng bệnh vibriosis ở tôm thẻ chân trắng và tôm sú, đặc biệt đối với các chủng *V. alginolyticus* và *V. parahaemolyticus* [97]. Đồng thời, beta-glucan từ *S. cerevisiae* còn được chứng minh có tác dụng bảo vệ chống lại các virus nguy hiểm như IMNV và WSSV trên các loài tôm *P. vannamei*, *M. japonicus* và *P. monodon* [97]. Những kết quả này cho thấy beta-glucan từ *S. cerevisiae* có khả năng hoạt hóa biểu hiện của các gene liên quan đến hệ miễn dịch, bao gồm các peptide kháng khuẩn, yếu tố kháng lipopolysaccharide, penaeidin, prophenoloxidase (ProPO) và superoxide dismutase (SOD). Do đó, việc sử dụng beta-glucan và các sản phẩm từ *S. cerevisiae* như một

chiến lược phòng bệnh sinh học được xem là giải pháp bền vững, góp phần giảm sự phụ thuộc vào hóa chất và kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản, mang lại lợi ích đáng kể về mặt môi trường.

Tác động của *S. cerevisiae* và các dẫn xuất của nó đối với các thông số miễn dịch đã được ghi nhận rõ nét. Các chất kích thích miễn dịch có khả năng thúc đẩy và tạo ra phản ứng phòng vệ mạnh mẽ ở vật chủ [124]. Những hợp chất có hoạt tính sinh học từ *S. cerevisiae* bao gồm sắc tố carotenoid, glucan, lipid, nucleotide, polysaccharide, protein và vitamin, có thể kích hoạt trực tiếp hệ miễn dịch hoặc gián tiếp thông qua việc cải thiện hệ vi sinh vật đường ruột [130]. Mannan oligosaccharide (MOS), một carbohydrate được phân lập từ thành tế bào *S. cerevisiae*, có khả năng ức chế sự bám dính của vi khuẩn gây bệnh vào biểu mô ruột bằng cách ngăn cản sự tương tác giữa lectin vi khuẩn và các carbohydrate trên bề mặt tế bào ruột, từ đó làm giảm nguy cơ xâm nhiễm của vi sinh vật gây bệnh [144]. Sự biến đổi về tổng số tế bào máu (THC) cũng được ghi nhận khi bổ sung *S. cerevisiae* vào khẩu phần ăn của tôm. Rivera và cộng sự (2019) ghi nhận THC cao hơn đáng kể so với đối chứng khi bổ sung hỗn hợp fructooligosaccharide (FOS) và *S. cerevisiae* [131]. Tương tự, Sang và cộng sự (2014) khi bổ sung MOS vào khẩu phần ăn của tôm sú đã quan sát thấy sự gia tăng THC so với nhóm đối chứng [144]. Ngoài ra, hàm lượng THC, GC, hoạt tính PO và lysozyme cũng được cải thiện ở tôm thẻ chân trắng khi bổ sung *S. cerevisiae* trong khẩu phần ăn, từ đó tăng cường khả năng kháng bệnh [31]. Mặt khác, việc bổ sung sản phẩm từ *S. cerevisiae* đã được chứng minh làm tăng biểu hiện gene *proPO* ở tôm thẻ chân trắng cho thấy vai trò điều hòa miễn dịch rõ rệt của loài nấm men này [62]. Biswas và cộng sự (2012) ghi nhận sự gia tăng đáng kể biểu hiện gene crustin, lysozyme và penaeidin trong cơ quan lymphoid của tôm *M. japonicus* khi sử dụng chiết xuất *S. cerevisiae* [18].

Bên cạnh tác động lên miễn dịch, *S. cerevisiae* còn được chứng minh có ảnh hưởng đáng kể đến năng suất và hiệu quả sử dụng thức ăn ở tôm nuôi. *S. cerevisiae* và các chiết xuất của nó đã được sử dụng trong khẩu phần của tôm thẻ chân trắng và

tôm sú ở các mức khác nhau (1-60% hoặc 0,2-8 g/kg thức ăn) với vai trò là nguồn protein thay thế bột cá hoặc chất bổ sung dinh dưỡng [62]. Gamboa-Delgado và cộng sự (2016) cho thấy khi thay thế đến 60% bột cá bằng *S. cerevisiae* trong khẩu phần của tôm thẻ chân trắng, hiệu quả dinh dưỡng vẫn không bị suy giảm [41]. Tương tự, Deng và cộng sự (2013) ghi nhận rằng việc bổ sung *S. cerevisiae* thương mại ở mức 1,0-1,5 g/kg thức ăn giúp cải thiện đáng kể chiều dài cơ thể cuối, hệ số chuyển đổi thức ăn và tỷ lệ sống so với nhóm đối chứng [32]. Jin và cộng sự (2018) cũng báo cáo rằng bổ sung 1% *S. cerevisiae* trong khẩu phần làm tăng đáng kể các chỉ số tăng trưởng của tôm [62]. Tuy nhiên, khi sử dụng ở hàm lượng quá cao, nấm men có thể gây ảnh hưởng tiêu cực đến khối lượng cơ thể cuối, tốc độ tăng trưởng cụ thể và tỷ lệ sống [146]. Ngoài ra, các sản phẩm từ *S. cerevisiae* như beta-glucan và MOS (1-8 g/kg thức ăn) được bổ sung vào khẩu phần của tôm sú đã cho thấy sự gia tăng rõ rệt về tăng trọng, tốc độ tăng trưởng và tỷ lệ sống [141]. Những kết quả này khẳng định tiềm năng của *S. cerevisiae* không chỉ như một nguồn cung cấp protein và axit amin mà còn là một phụ gia chức năng có tác dụng trực tiếp và gián tiếp đến sinh trưởng và sức khỏe của tôm.

Bảng 1.1. Những nghiên cứu ứng dụng *S. cerevisiae* trong nuôi tôm

Loài tôm	Hàm lượng	Tác dụng	Tác giả
<i>S. cerevisiae</i> được sử dụng như probiotics:			
Tôm he Ấn Độ <i>Fenneropenaeus indicus</i> 0,02±0,018g	<i>S. cerevisiae</i> (3x10 ⁶ tế bào/g)	Cải thiện tăng trưởng. Tăng hiệu quả sử dụng thức ăn và độ ngon miệng.	Sharawy và cộng sự (2016) [146]
Tôm thẻ chân trắng <i>P. vannamei</i> 1,78±0,03g	<i>S. cerevisiae</i> khô 10; 20; 40; 60 g/kg thức ăn	Ảnh hưởng đến khả năng tiêu hóa biểu kiến của các axit amin. Tác động tiêu cực đến tăng trưởng; hệ số chuyển đổi thức ăn và tích lũy protein (40 và 60 g/kg).	Qiu và Davis (2017) [123]

Loài tôm	Hàm lượng	Tác dụng	Tác giả
Tôm thẻ chân trắng <i>P. vannamei</i> 0,88±0,02g	<i>S. cerevisiae</i> 1%	Cải thiện tăng trưởng, đáp ứng miễn dịch (biểu hiện gene) và stress nitor.	Jin và cộng sự (2018) [62]
<i>S. cerevisiae</i> được sử dụng như prebiotics:			
Tôm càng xanh (<i>C. tenuimanus</i>) 4,4±0,20g	beta-1,3-glucan 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 g/kg thức ăn	Tăng tiêu hóa. Giảm số lượng <i>Vibrio</i> spp trong đường tiêu hóa. Tăng đáp ứng miễn dịch, giảm bệnh do vi khuẩn.	Sang và Fotedar (2010a) [139]
Tôm càng xanh (<i>C. destructor</i>) 35,14±0,48g	MOS (BIO-MOS®) 0,4%	Cải thiện tăng trưởng và tỷ lệ sống. Tăng cường đáp ứng miễn dịch và hoạt động của enzyme tiêu hóa.	Sang và cộng sự, (2011a, b) [142, 143]
Tôm thẻ chân trắng (<i>P. vannamei</i>) 4,70±0,20g	Beta-glucan 2000 mg/kg thức ăn.	Cải thiện hiệu suất tăng trưởng Tăng cường đáp ứng miễn dịch.	Bai và cộng sự, (2010) [14]
Tôm thẻ chân trắng (<i>P. vannamei</i>) 2,54±0,02g	MOS (BIO-MOS®) 0,1; 0,2; 4; 6; 8g/kg thức ăn	Cải thiện tăng trưởng, hình thái ruột, tăng chiều dài và mật độ vi nhung mao ruột và khả năng chịu đựng với phơi nhiễm NH ₃ . Tăng hoạt tính của henoloxidase và SOD.	Zhang và cộng sự (2000) [189]
Tôm thẻ chân trắng (<i>P. vannamei</i>) 0,65±0,05g	beta-glucan (0,1; 0,2%) và các dẫn xuất (carboximethylglucans (CMGs); sulfoethylglucans	Cải thiện hiệu suất tăng trưởng. Cải thiện khả năng kháng virus gây bệnh đốm	Bai và cộng sự, (2014) [13]

Loài tôm	Hàm lượng	Tác dụng	Tác giả
	(DSs) với các mức độ thay thế khác nhau 0,1 và 0,2% khẩu phần.	trắng.	
Tôm thẻ chân trắng (<i>P. vannamei</i>) 2,2±0,53g	MOS 0,5% (w/w)	Cải thiện tỷ lệ sống trước tác nhân gây bệnh. Tăng hệ vi sinh vật đường ruột	Gainza và Romero (2020) [40]
Tôm hùm (<i>Panulirus ornatus</i>) 1,28±0,01g	MOS (BIO-MOS®) 0,4%	Cải thiện tỷ lệ sống. Tăng chỉ số cơ đuôi ướt và khô và chỉ số gan.	Sang và Fotedar, 2010b [140]
Tôm hùm (<i>P. homarus</i>) 0,16±0,02g	MOS (BIO-MOS®) 0,2; 0,4; 0,6; 0,8%	Cải thiện hiệu suất tăng trưởng và tỷ lệ sống. Tăng cường sức khỏe hệ tiêu hóa.	Do Huu và Jones (2014) [35]
Tôm sú (<i>P. monodon</i>) 0,4 ±0,06g	MOS 1; 2; 4; 8 g/kg thức ăn	Cải thiện hiệu suất tăng trưởng. Cải thiện thể chất Tăng đáp ứng miễn dịch. Tăng tế bào biểu mô ruột dày.	Sang và cộng sự (2014) [144]
Tôm sú (<i>P. monodon</i>) 2-3 cm	MOS (BIO-MOS®) 0,15%	Cải thiện tỷ lệ sống. Cải thiện khả năng kháng bệnh do <i>Vibrio alginolyticus</i> và chống chịu stress do phơi nhiễm NH ₃ .	Sang và Thuy (2014) [141]
Tôm hùm nước ngọt (<i>Procambarus clarkii</i>) 2,5±0,5g	Beta- glucan sulfat 0,025; 0,05; 0,1; 0,2%	Tác động tích cực đến hệ vi sinh vật đường ruột. Cải thiện tăng trưởng, đáp ứng miễn dịch. Cải thiện khả năng chống oxy hóa.	Huang và cộng sự (2022) [56]

Loài tôm	Hàm lượng	Tác dụng	Tác giả
<i>S. cerevisiae</i> được sử dụng như postbiotics:			
Tôm thẻ chân trắng (<i>P. vannamei</i>) 1,5±0,0g	<i>S. cerevisiae</i> lên men và các chất chuyển hóa trung gian (DVAqua): 0%; 0,125% và 0,25%	Cải thiện tổng số tế bào máu, tỷ lệ thực bào và hoạt động của SOD.	Tipsemongkol và cộng sự (2009) [164]
Tôm thẻ chân trắng (<i>P. vannamei</i>) 1,54 ±0,04 g	SCFP (DVAqua): 0; 0,25%, 0,35% và 0,45%	Cải thiện tăng trưởng trưởng trong 60 ngày. Cải thiện tỷ lệ sống khi được gây nhiễm với <i>V.</i> <i>prahaemolyticus</i> .	Prabu và cộng sự, 2025 [122]

Tóm lại, bệnh AHPND do vi khuẩn *V. parahaemolyticus* vẫn là một trong những thách thức lớn nhất đối với nghề nuôi tôm thẻ chân trắng, trong khi việc sử dụng kháng sinh ngày càng bị hạn chế do nguy cơ kháng kháng sinh và yêu cầu phát triển nuôi trồng thủy sản bền vững. Vì vậy, các chất kích thích miễn dịch, đặc biệt là postbiotics, đang được quan tâm nhờ khả năng tăng cường miễn dịch và nâng cao sức đề kháng của vật nuôi. Tuy nhiên, hiệu quả của các chế phẩm postbiotics, nhất là SCFP vẫn chưa được đánh giá đầy đủ. Các nghiên cứu còn thiếu sự đánh giá đồng thời đáp ứng miễn dịch, mô bệnh học, khả năng kháng *V. parahaemolyticus* gây AHPND, đồng thời chưa xác định rõ mức bổ sung SCFP phù hợp trong điều kiện nuôi tôm ở Việt Nam cũng như còn ít nghiên cứu so sánh với phụ gia có nguồn gốc thực vật (phytogenics). Do đó, việc thực hiện đề tài nhằm đánh giá ảnh hưởng của SCFP đến đáp ứng miễn dịch và khả năng kháng bệnh AHPND trên tôm thẻ chân trắng có ý nghĩa khoa học và thực tiễn, góp phần phát triển các giải pháp thay thế kháng sinh trong nuôi tôm bền vững.

CHƯƠNG 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

2.1.1. Tôm thí nghiệm

Tôm thí nghiệm là tôm thẻ chân trắng khỏe mạnh, trọng lượng từ 1-2 g/con và 5-6 g/con (thí nghiệm LD₅₀). Trước khi thử nghiệm, tôm được nuôi thích nghi khoảng một tuần tại phòng thí nghiệm ươm thuộc Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I (nay là Viện Khoa học Thủy sản Việt Nam - VAFIS) và được kiểm tra, xác nhận âm tính với các bệnh đốm trắng (WSD), bệnh đầu vàng (YHD), bệnh đỏ đuôi (TSV), bệnh hoại tử dưới vỏ và cơ quan tạo máu (IHHNV) và bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND).

2.1.2. SCFP sử dụng trong nghiên cứu

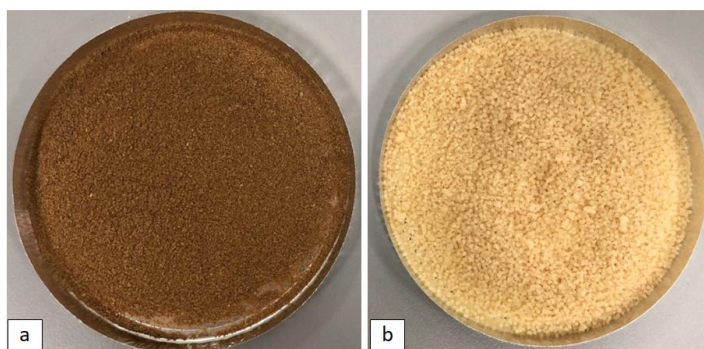
SCFP sử dụng trong các thí nghiệm là một postbiotics có nguồn gốc từ quá trình lên men nấm men *S. cerevisiae* (Hình 2.1a). Theo nhà sản xuất, SCFP chứa tế bào *S. cerevisiae* phát triển trên môi trường vỏ đậu nành, tấm lúa mì, lúa mạch, mật đường, đồng thời giàu các chất chuyển hóa như mannan oligosaccharides, axit hữu cơ, nucleotide, beta-glucan và peptide. Thành phần dinh dưỡng của SCFP được thể hiện trong Bảng 2.1.

Bảng 2.1. Thành phần dinh dưỡng của SCFP

Thành phần dinh dưỡng gần đúng:		Axit amin:	
Protein thô	19,20 %	Arginine	0,78 %
Lipid thô	4,20 %	Cysteine	0,45 %
Xơ thô	17,00 %	Glycine	0,92 %
Tro tổng số	9,00 %	Histidine	0,42 %
Độ ẩm	11,00 %	Isoleucine	0,56 %
Carbohydrates	10,00%	Leucine	1,13 %
Khoáng chất:		Lysine (total)	0,81 %
Calcium (Ca)	0,53 %	Methionine	0,33 %
Chloride (Cl)	0,42 %	Phenylalanine	0,62 %
Magnesium (Mg)	0,42 %	Proline	1,06 %
Phosphorus (P)	0,54 %	Threonine	0,63 %
Potassium (K)	2,43 %	Tyrosine	0,60 %
Sodium (Na)	0,05 %	Tryptophan	0,23 %
Sulfur (S)	0,42 %	Valine	0,81 %

2.1.3. *Phytogenics sử dụng trong nghiên cứu*

Phytogenics được sử dụng trong thí nghiệm là Biomin® P.E.P. MGE 150, một sản phẩm thương mại được phân phối từ Công ty TNHH Biomin Việt Nam. Đây là hỗn hợp phytogenics tự nhiên, có tác dụng kháng khuẩn và tăng cường hệ miễn dịch cho tôm. Thành phần của sản phẩm bao gồm tinh dầu oregano, tinh dầu hồi, tinh dầu cam chanh và chất nền mang (carbohydrate) (Hình 2.1b).



Hình 2. 1. Hình ảnh đại diện của vật liệu thử nghiệm SCFP (a) và Phytogenics (b)

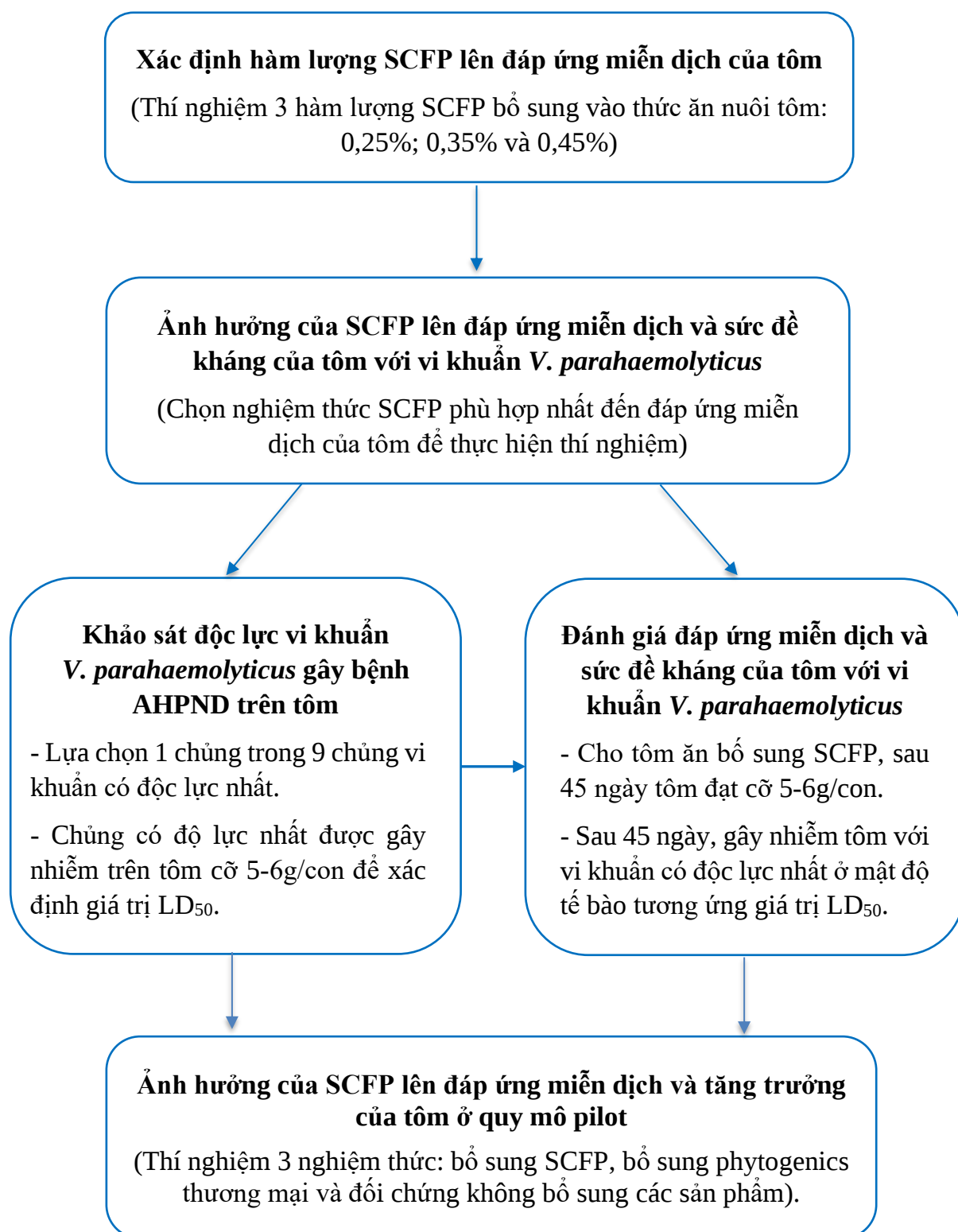
2.1.4. *Vi khuẩn Vibrio parahaemolyticus*

Chín chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* kí hiệu là CAB16002, CAB19003, CAB20002, CAB21001, CAB22001, CAB25001, CAB28002, CED12020 và CAB30002 được phân lập trên mẫu tôm thẻ chân trắng bị bệnh AHPND (Hình 2.2), được lưu giữ tại phòng thí nghiệm bệnh động vật thủy sản miền Bắc thuộc VAFIS.



Hình 2. 2. Hình ảnh đại diện của các chủng *V. parahaemolyticus* trong nghiên cứu

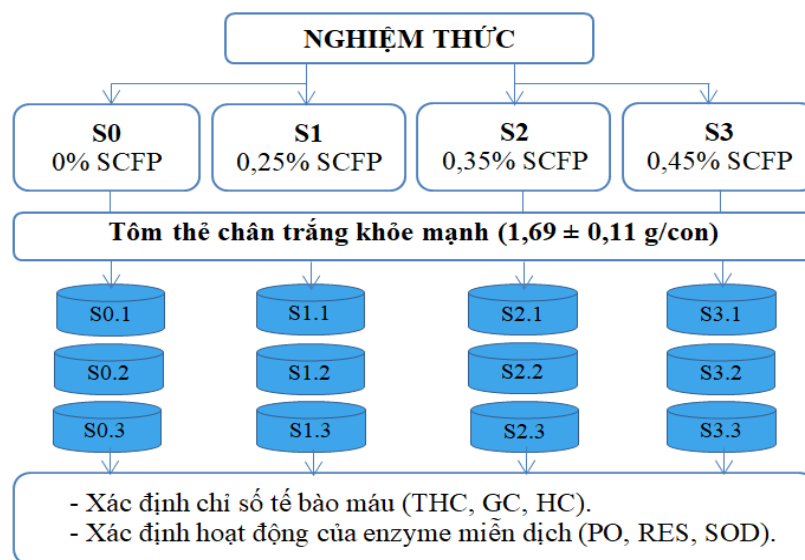
2.2. Phương pháp nghiên cứu



Hình 2.3. Sơ đồ phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Nghiên cứu xác định hàm lượng SCFP lên đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng

2.2.1.1. Bố trí thí nghiệm



Hình 2.4. Sơ đồ bố trí thí nghiệm xác định hàm lượng SCFP lên đáp ứng miễn dịch tôm

Thí nghiệm được tiến hành với 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần về hàm lượng bổ sung SCFP khác nhau vào thức ăn nuôi tôm, bao gồm: S0 (0% SCFP), S1 (0,25% SCFP), S2 (0,35% SCFP) và S3 (0,45% SCFP) (Hình 2.4). Thức ăn cho tôm là thức ăn thương mại De heus (mã 9802, 9803). Các chế độ ăn thử nghiệm được chuẩn bị bằng cách hòa tan hoàn toàn SCFP và chất kết dính vào nước, sau đó trộn đều với thức ăn. Các chế độ ăn được sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong 10 giờ để đạt độ ẩm 11%. Thành phần dinh dưỡng của các chế độ cho ăn thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 2.2.

Bảng 2.2. Thành phần dinh dưỡng gần đúng của các chế độ ăn thử nghiệm

Thành phần	S0	S1	S2	S3
Bổ sung SCFP (%)	0	0,25	0,35	0,45
Thành phần dinh dưỡng của các chế độ ăn thử nghiệm (%/chất khô)				
Protein thô (%)	40,00	40,05	40,07	40,09
Lipid thô (%)	4,00	4,01	4,01	4,02
Xơ thô (%)	4,00	4,04	4,06	4,08
Tro tổng số (%)	15,00	15,02	15,03	15,04
Độ ẩm (%)	11,00	11,00	11,00	11,00

Các nghiệm thức được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên trong 12 bể composite 200L (đổ đầy 150L nước có độ mặn 18 ‰) trong hệ thống mở tại phòng thí nghiệm ươm của VAFIS. Mỗi nghiệm thức được thực hiện trong 3 bể, tương ứng với 3 lần lặp lại, mỗi bể thả với mật độ 40 con tôm/bể. Tôm được cho ăn 4 lần/ngày vào các thời điểm 06-07 giờ, 10-11 giờ, 14-15 giờ và 17-18 giờ, với khối lượng thức ăn trong ngày bằng 6% khối lượng tôm. Thời gian thử nghiệm cho ăn là 45 ngày.

Trong quá trình thí nghiệm, các thông số chất lượng nước (nhiệt độ, DO, pH và độ mặn) được kiểm tra 2 lần/ngày và duy trì trong khoảng: nhiệt độ 26-30 °C, oxy hòa tan ở mức 6 mg/L, pH 7,5-8,5, độ mặn 16-18 ‰. Các thông số độ kiềm, NH₃ được đo 3 ngày/lần và trung bình lần lượt là 179 và 0,05 mg/L. Tăng trưởng của tôm được kiểm tra 7 ngày/lần để điều chỉnh lượng thức ăn cho phù hợp. Tốc độ tăng trưởng cuối cùng của tôm là 4,90-5,18 g/con và không khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức. Các bể được xi phông đáy hàng ngày để loại bỏ chất thải và khoảng 20% nước được thay mới.

2.2.1.2. Thu mẫu

Vào ngày cuối cùng của thử nghiệm cho ăn, các mẫu huyết tương tôm (10 mẫu mỗi bể) được thu thập ngẫu nhiên để đánh giá chỉ số tế bào máu bao gồm tổng số tế bào máu (THC), số lượng bạch cầu hạt (GC), số lượng bạch cầu không hạt (HC), cùng với hoạt động của các enzyme miễn dịch như phenoloxidase (PO), respiratory burst (RES) và superoxide dismutase (SOD).

2.2.2. Nghiên cứu khảo sát độc lực chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh AHPND trên tôm

2.2.2.1. Sàng lọc các chủng *V. parahaemolyticus* mang gene độc tố *pirA^{vp}*, *pirB^{vp}*

ADN của 9 chủng vi khuẩn được tách chiết bằng bộ kit DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Cụ thể, mẫu vi khuẩn được ủ ở 56°C trong hỗn hợp gồm 180 µL đệm ATL và 20 µL proteinase K (20 mg/mL) cho đến khi tế bào được ly giải hoàn toàn. Sau đó, bổ sung lần lượt 200 µL

đệm AL và 200 μ L ethanol 96%, trộn đều, rồi chuyển toàn bộ hỗn hợp vào cột DNeasy Mini đặt trong ống thu 2 mL. Mẫu được ly tâm ở 8.000 vòng/phút trong 1 phút, loại bỏ dịch chảy qua và tiến hành rửa cột tuần tự bằng các đệm AW1 và AW2 theo quy trình của bộ kit. DNA được tách khỏi màng silica bằng cách bổ sung 200 μ L đệm AE lên màng, ủ trong 1 phút ở nhiệt độ phòng (15-25°C), sau đó ly tâm ở 6.000 vòng/phút trong 1 phút để thu dịch rửa chứa ADN. ADN sau khi tách chiết được bảo quản ở 4°C cho đến khi sử dụng.

Gene độc tố của 9 chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được xác định thông qua sự có mặt của gene mã hóa protein độc tính *pirA^{vp}* dựa trên cặp mồi đặc hiệu VpPirA-284 và gene *pirB^{vp}* dựa trên cặp mồi VpPirB-392 [47]. Trình tự các cặp mồi được trình bày tại Bảng 2.3.

Bảng 2.3. Trình tự 02 cặp mồi sử dụng

Gene	Tên mồi	Trình tự mồi (5'-3')	Kích thước (bp)
<i>pirA^{vp}</i>	VpPirA-284F	5'-TGACTATTCTCACGATTGGACTG-3'	284
	VpPirA-284R	5'-CACGACTAGCGCCATTGTTA-3'	
<i>pirB^{vp}</i>	VpPirB-392F	5'-TGATGAAGTGATGGGTGCTC-3'	392
	VpPirB-392R	5'-TGTAAGCGCCGTTTAACTCA-3'	

Thành phần phản ứng multiplex PCR được thiết lập sử dụng bộ kit HS Master Mix 2 $\times$ (Meridian Bioscience, Đức) với tổng thể tích 25 μ L, bao gồm 12,5 μ L My Taq Mix 2 $\times$, 0,6 μ L mỗi mồi (10 μ M), 2 μ L DNA khuôn (khoảng 100 ng) và 8,1 μ L nước khử ion. Chu trình khuếch đại gồm giai đoạn biến tính ban đầu ở 94°C trong 3 phút, tiếp theo là 35 chu kỳ gồm biến tính ở 94°C trong 30 giây, gắn mồi ở 60°C trong 30 giây và kéo dài ở 72°C trong 30 giây; phản ứng kết thúc bằng bước kéo dài cuối ở 72°C trong 7 phút. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5% sử dụng thang chuẩn DNA 50 bp (HyperLadder™ 50 bp - Bioline, Hoa Kỳ). Đối chứng âm là hỗn hợp phản ứng PCR không bổ sung DNA khuôn, đối chứng dương là chủng chuẩn *V. parahaemolyticus* mang đồng thời hai gen *pirA^{vp}* và *pirB^{vp}*.

2.2.2.2. Đánh giá hoạt tính một số enzyme độc lực (hemolysin, phospholipase và lipase) của các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Các chủng vi khuẩn xác định mang gene độc tố *pirA^{vp}*, *pirB^{vp}* được sử dụng để xét nghiệm hoạt tính phospholipase, lipase và hemolysin. Hoạt tính của các enzyme được xác định theo phương pháp của Liu và cộng sự (1996) [93], Zhang và Austin (2000) [190], Austin và cộng sự (2005) [12] với một số sửa đổi. Vi khuẩn được nuôi cấy tăng sinh trong 24 giờ với mật độ tế bào đạt 10^6 CFU/ml để sử dụng cho các xét nghiệm, mỗi xét nghiệm được thực hiện ít nhất 3 lần. Hoạt tính của các enzyme được đánh giá dựa trên đường kính vòng tan huyết hoặc vòng thủy phân (mm), cụ thể:

Hoạt tính hemolysin được xác định bằng cách nhỏ 10 μ l huyền phù vi khuẩn vào giữa đĩa thạch chứa môi trường Tryptone casein Soy Agar -TSA, có bổ sung 5% máu cừu. Đọc kết quả đường kính vòng tan huyết (mm) sau 2 ngày ở 28 °C.

Hoạt tính phospholipase được xác định bằng cách nhỏ 10 μ l huyền phù vi khuẩn vào giữa đĩa thạch chứa môi trường TSA bổ sung 1% Egg yolk emulsion (Himedia, Ấn Độ). Đọc kết quả đường kính vòng thủy phân (mm) sau 2-4 ngày ở 28 °C.

Hoạt tính của lipase được xác định bằng cách nhỏ 10 μ l huyền phù vi khuẩn vào giữa đĩa thạch chứa môi trường TSA có bổ sung 1% Tween 80. Đọc kết quả đường kính vòng thủy phân (mm) sau 2-4 ngày ở 28 °C.

2.2.2.3. Xác định giá trị LD_{50} của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm thẻ chân trắng

Vi khuẩn được lựa chọn là chủng *V. parahaemolyticus* CED12020 mang gene độc tố (*pirA^{vp}*, *pirB^{vp}*) và có hoạt độ cao của các enzyme độc lực. Chủng này trước đây đã được xác nhận là tác nhân gây bệnh AHPND trên tôm ở Việt Nam [2, 115]. Vi khuẩn được nuôi cấy tăng sinh trong 24 giờ ở 28°C trong 3 L môi trường Nutrient broth (Merck, Đức) có bổ sung 2% NaCl. Mật độ tế bào vi khuẩn ($2,2 \times 10^8$ CFU/ml) đã được xác định bằng máy so màu ở bước sóng OD 610 nm và kết hợp với đếm khuẩn lạc trên đĩa thạch.

Thí nghiệm điều tra độc lực vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trên tôm thẻ chân trắng (cỡ 5-6 g/con, trung bình $5,32 \pm 0,02$ g/con) được thực hiện với 4 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần về mật độ tế bào vi khuẩn ($2,2 \times 10^7$; $2,2 \times 10^6$; $2,2 \times 10^5$ và $2,2 \times 10^4$ CFU/ml) và 01 nghiệm thức đối chứng (không bị gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*). Thí nghiệm được thực hiện ngẫu nhiên hoàn toàn trong 15 bể có thể tích 200 L, mỗi nghiệm thức được thực hiện trong 3 bể tương ứng với 3 lần lặp.

Tôm bị gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* bằng phương pháp ngâm của Loc và cộng sự (2013) [94]. Cho 1 L huyền phù vi khuẩn ($2,2 \times 10^8$ CFU/ml) vào xô nhựa chứa 9 L nước (độ mặn 18 ‰) để đạt được nồng độ vi khuẩn là $2,2 \times 10^7$ CFU/ml. Sau đó lấy 1 L nước từ xô này cho vào xô thứ 2 chứa 9 L nước để đạt nồng độ vi khuẩn $2,2 \times 10^6$ CFU/ml. Tiếp tục làm như vậy cho xô thứ 3 và thứ 4 để đạt được nồng độ vi khuẩn $2,2 \times 10^5$ CFU/ml và $2,2 \times 10^4$ CFU/ml. Mỗi nồng độ vi khuẩn được thực hiện trong 3 xô, tương ứng với 3 lần lặp. Sau đó tôm được thả vào từng xô, mỗi xô thả 40 con, ngâm trong 2 giờ có sục khí. Tôm trong các xô đối chứng được ngâm trong 10 L nước có độ mặn 18 ‰. Sau 2 giờ ngâm trong huyền phù vi khuẩn ở các mật độ khác nhau, tôm được rửa qua nước sạch có độ mặn 18 ‰ và được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên vào các bể thí nghiệm có thể tích 200 L/bể. Thí nghiệm được theo dõi trong 15 ngày, ghi nhận các dấu hiệu bệnh lý và tỉ lệ chết tích lũy. Tôm có biểu hiện bệnh lý được thu mẫu 3 con/bể để phân lập và tái định danh vi khuẩn *V. parahaemolyticus* bằng phản ứng sinh hóa kit API 20E (bioMérieux, Pháp) và PCR dựa trên cặp mồi VpPirB-392 [47].

Giá trị LD_{50} được tính toán theo công thức của Reed và Muench (1938) [128], cụ thể:

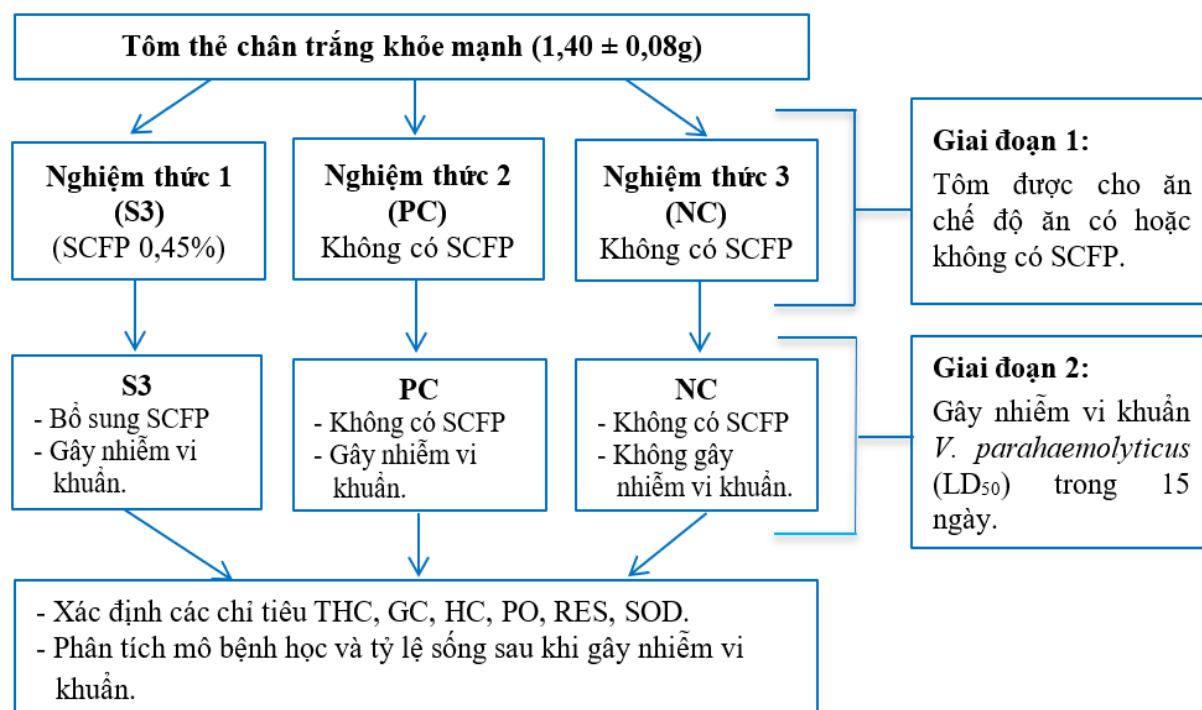
$$y = \log LD_{50} = \log (\text{nồng độ thấp nhất gây chết} > 50\%) - (\log 10 \times pd).$$

$$pd = (\text{tỷ lệ chết thấp nhất} > 50\% - 50) / (\text{tỷ lệ chết thấp nhất} > 50\% - \text{tỷ lệ chết cao nhất} < 50\%).$$

$$LD_{50} = (\text{hệ số của nồng độ vi khuẩn trong huyền phù ban đầu}) \times 10^y.$$

2.2.3. Nghiên cứu ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng của tôm thẻ chân trắng đối với vi khuẩn gây bệnh *V. parahaemolyticus*.

2.2.3.1. Bố trí thí nghiệm



Hình 2.5. Sơ đồ bố trí thí nghiệm đánh giá đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng của tôm thẻ chân trắng với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Thiết kế thí nghiệm được mô tả trong Hình 2.5. Thí nghiệm được thực hiện với 03 nghiệm thức, bao gồm:

+ Nghiệm thức 1 (S3): Tôm được cho ăn chế độ ăn bổ sung 0,45% SCFP (dựa trên kết quả nội dung 1) trong 45 ngày và sau đó gây nhiễm với vi khuẩn gây bệnh *V. parahaemolyticus*.

+ Nghiệm thức 2 (PC): Tôm được cho ăn chế độ ăn cơ bản không có SCFP trong 45 ngày và sau đó gây nhiễm với vi khuẩn gây bệnh *V. parahaemolyticus*;

+ Nghiệm thức 3 (NC): Tôm được cho ăn chế độ ăn cơ bản không có SCFP và không gây nhiễm với vi khuẩn gây bệnh *V. parahaemolyticus*.

Giai đoạn 1 (thử nghiệm cho ăn): Các nghiệm thức được bố trí ngẫu nhiên trong 18 bể composite, mỗi bể có thể tích bể là 200 lít (đổ 150 L nước có độ mặn 16-18 ‰) trong hệ thống mở tại phòng thí nghiệm ươm của VAFIS. Mỗi nghiệm thức được thực hiện trong 6 bể, mỗi bể được thả với mật độ 40 con tôm. Tôm được cho ăn 4 lần một ngày (06-07:00, 10-11:00, 14-15:00 và 17-18:00) với chế độ ăn ở từng nghiệm thức theo tỷ lệ 6% trọng lượng cơ thể. Thức ăn cho tôm là thức ăn thương mại Deheus (mã 9802, 9803). Thời gian thử nghiệm cho ăn là 45 ngày.

Giai đoạn 2 (gây nhiễm vi khuẩn): Tổng số tôm trong từng bể được ghi lại sau 45 ngày cho ăn chế độ ăn thử nghiệm, sau đó tôm ở các nghiệm thức S3 và PC bị gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* CED12020 theo phương pháp ngâm của Loc và cộng sự (2013) [94] với mật độ tế bào xấp xỉ giá trị LD₅₀ là $3,3 \times 10^5$ CFU/ml. Cho 1,5 L huyền phù vi khuẩn ban đầu ($3,3 \times 10^7$ CFU/ml) vào xô chứa 13,5 L nước (độ mặn 18 ‰) để có được 15 L huyền phù vi khuẩn mật độ $3,3 \times 10^6$ CFU/ml. Sau đó lấy 1 L huyền phù vi khuẩn mật độ $3,3 \times 10^6$ CFU/ml cho vào xô chứa 9 L nước (độ mặn 18 ‰) để có 10L huyền phù vi khuẩn mật độ $3,3 \times 10^5$ CFU/ml. Mỗi nghiệm thức được thực hiện trong 6 xô. Sau đó tôm được thả vào từng xô, ngâm trong 2 giờ có sục khí, số lượng tôm thả trong mỗi xô tương ứng với số lượng tôm trong các bể sau 45 ngày thử nghiệm cho ăn (Bảng 2.4). Tôm trong các bể ở nghiệm thức NC được ngâm trong 10 L nước có độ mặn 18 ‰. Sau 2 giờ ngâm trong huyền phù vi khuẩn, tôm được rửa qua nước sạch và được chuyển trở lại các bể chứa 150 L nước sạch độ mặn 18 ‰, trong đó có 9 bể được sử dụng để theo dõi phản ứng miễn dịch và 9 bể được sử dụng để theo dõi khả năng kháng vi khuẩn. Tôm tiếp tục được cho ăn sau 1 ngày gây nhiễm vi khuẩn. Các dấu hiệu bệnh lý và tỷ lệ tử vong tích lũy được ghi nhận trong thời gian thử nghiệm. Thời gian gây nhiễm vi khuẩn là 15 ngày.

Trong suốt thời gian thí nghiệm, các thông số chất lượng nước được theo dõi hàng ngày và duy trì trong phạm vi thích hợp cho sự sinh trưởng của tôm, phù hợp với QCVN 02-19:2014/BNNPTNT. Nhiệt độ, oxy hòa tan (DO), pH và độ mặn được đo hai lần mỗi ngày và được giữ ổn định, với nhiệt độ dao động trong khoảng 26-

30°C, DO duy trì xấp xỉ 6 mg/L, pH trong khoảng 7,5-8,0 và độ mặn khoảng 18‰. Nồng độ NH₃ được xác định ba ngày một lần, ghi nhận trong khoảng 0-0,05 mg/L. Để đảm bảo duy trì điều kiện môi trường thích hợp, bể nuôi được xi phông đáy hằng ngày nhằm loại bỏ chất thải và khoảng 20% lượng nước được thay mới.

Bảng 2.4. Số tôm trong từng bể ở mỗi nghiệm thức sau 45 ngày thử nghiệm cho ăn

Lần lặp	Nghiệm thức			Ghi chú
	S3	PC	NC	
1	37	38	37	
2	38	37	37	Theo dõi sức đề kháng với vi khuẩn
3	37	36	38	
4	37	38	37	
5	38	37	36	Theo dõi đáp ứng miễn dịch
6	37	37	38	

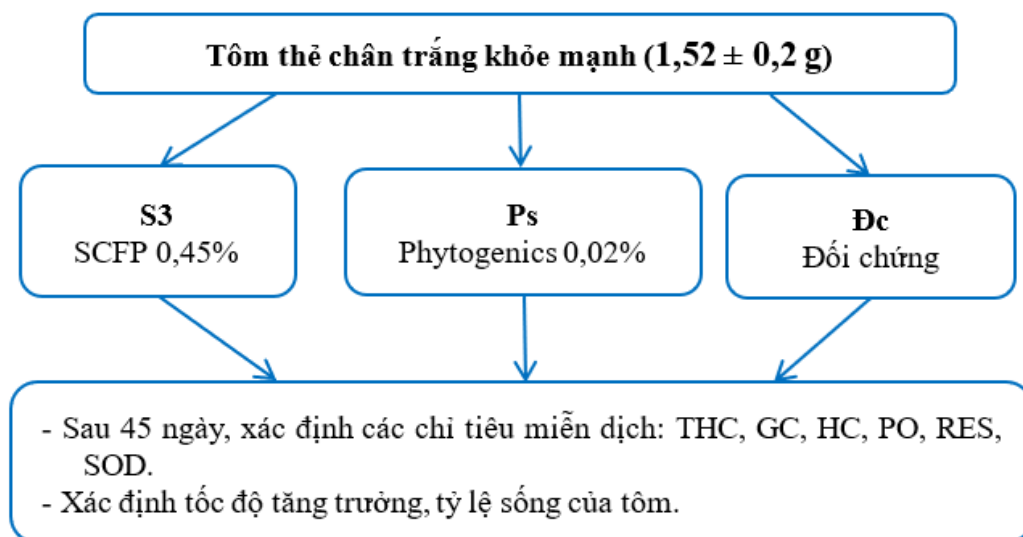
2.2.3.2. Thu mẫu

Các mẫu huyết tương được thu thập vào thời điểm 0 giờ, 12 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 96 giờ, 7 ngày và 14 ngày sau khi gây nhiễm vi khuẩn để đánh giá phản ứng miễn dịch của tôm. Tại mỗi thời điểm, huyết tương được thu thập ngẫu nhiên từ 5 cá thể tôm trên mỗi bể. Các thông số miễn dịch được phân tích bao gồm THC, GC, HC, PO, RES và SOD.

Tỷ lệ tử vong hàng ngày của tôm sau khi gây nhiễm vi khuẩn và tổng số cá thể sống sót vào cuối thí nghiệm đã được ghi lại để xác định tỷ lệ tử vong tích lũy và tỷ lệ sống sót. Tôm biểu hiện các dấu hiệu lâm sàng của bệnh được lấy mẫu với số lượng là 3 cá thể trên mỗi bể để kiểm tra mô bệnh học và xác nhận sự hiện diện của vi khuẩn gây bệnh *V. parahaemolyticus*.

2.2.4. Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng ở quy mô pilot.

2.2.4.1. Bố trí thí nghiệm



Hình 2.6. Sơ đồ bố trí thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của SCFP lên tăng trưởng và đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng ở quy mô pilot

Thí nghiệm được tiến hành với 03 nghiệm thức (Hình 2.6), mỗi nghiệm thức được lập lại 3 lần, bao gồm:

- + Nghiệm thức S3: Tôm được cho ăn chế độ ăn bổ sung 0,45% SCFP (dựa trên kết quả nội dung 1).
- + Nghiệm thức Ps: Tôm được cho ăn chế độ ăn bổ sung 0,02% phytogenics (hàm lượng theo hướng dẫn của nhà sản xuất).
- + Nghiệm thức đối chứng Đc: Tôm được cho ăn chế độ ăn cơ bản, không bổ sung SCFP và phytogenics.

Bổ sung SCFP và phytogenics vào thức ăn tôm theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Hòa tan hoàn toàn SCFP và chất kết dính vào nước (15% w/w), sau đó trộn đều với thức ăn. Bổ sung phytogenics vào thức ăn tôm được chuẩn bị tương tự. Các chế

độ ẩm được sấy khô ở nhiệt độ 50°C trong 10 giờ để đạt độ ẩm 11%. Thành phần dinh dưỡng của các chế độ cho ăn thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 2.5.

Bảng 2.5. Thành phần dinh dưỡng gần đúng của các nghiệm thức ở qui mô pilot

Thành phần	Đc	S3	Ph
Bổ sung SCFP (%)	0	0,45	0
Bổ sung Phytogenics (%)	0	0	0,02
Thành phần dinh dưỡng của các chế độ ăn thử nghiệm (%/vật chất khô)			
Protein thô (%)	40,00	40,09	40,00
Lipid thô (%)	4,00	4,02	4,01
Xơ thô (%)	4,00	4,08	4,00
Tro tổng số (%)	15,00	15,04	15,00
Độ ẩm (%)	11,00	11,00	11,00

Các nghiệm thức thí nghiệm được phân bổ ngẫu nhiên vào 9 bể composite, mỗi bể có thể tích 4 m³. Các bể được vệ sinh và khử trùng bằng dung dịch chlorine 50 ppm, sau đó rửa sạch và để khô trong 3-5 ngày trước khi đầu nối vào nguồn cung cấp nước. Mỗi bể được trang bị hệ thống sục khí nhằm bảo đảm cung cấp đầy đủ oxy hòa tan trong suốt quá trình thí nghiệm. Mỗi nghiệm thức được thực hiện trong 3 bể, tương ứng với 3 lần lặp. Mỗi bể được thả tôm với mật độ 200 con/m³.

Tôm được cho ăn 4 lần/ngày vào các thời điểm 6-7 giờ, 10-11 giờ, 14-15 giờ và 17-18 giờ, với khối lượng thức ăn trong ngày bằng 6% khối lượng tôm. Thức ăn cho tôm là thức ăn thương mại De heus (mã 9802, 9803). Thử nghiệm cho ăn kéo dài 45 ngày.

Trong suốt thời gian thí nghiệm, chất lượng nước được theo dõi và duy trì trong giới hạn phù hợp với tôm theo quy định của QCVN 02-19: 2014/BNNT. Các thông số chất lượng nước (nhiệt độ, DO, pH và độ mặn) được đo hai lần mỗi ngày.

Các thông số này được duy trì trong khoảng sau: nhiệt độ 23-29 °C, DO $\geq$ 6 mg/L, pH 7,0-8,0 và độ mặn 23-24 ‰. Độ kiềm và NH₃ được đo 3 ngày một lần, với các giá trị duy trì trong khoảng 161-179 mg/L và 0-0,03 mg/L. Các bể được xi phông đáy hàng ngày để loại bỏ chất thải và khoảng 10% thể tích nước được thay thế mỗi ngày để duy trì điều kiện môi trường nuôi thích hợp.

2.2.4.2. Thu mẫu

Sau 45 ngày thử nghiệm cho ăn, tổng số tôm sống sót và trọng lượng cơ thể của 30 cá thể mỗi bể được ghi lại để xác định tỷ lệ sống (SR), tăng trọng (Wg), tăng trọng trung bình hàng ngày (ADG) và tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR). Đồng thời, 10 con tôm được chọn ngẫu nhiên từ mỗi bể để thu mẫu máu phân tích chỉ tiêu miễn dịch, bao gồm THC, GC, HC, PO, RES và SOD.

2.2.5. Phương pháp phân tích mẫu

2.2.5.1. Phân tích chỉ số tế bào máu

Máu tôm (hệ số pha loãng 2) được thu bằng ống tiêm vô trùng 1 mL, có chứa sẵn 100 μ L dung dịch chống đông (Trisodium citrate 30 mM, NaCl 338 mM, glucose 115 mM và EDTA 10 mM, pH 7). Một lượng 100 μ L máu được lấy từ xoang trung tâm, nằm giữa chân bò và chân bơi của tôm (Hình 2.7a), sau đó được bảo quản lạnh ở 4 °C để tiến hành phân tích các chỉ tiêu miễn dịch.

THC, GC và HC được xác định theo phương pháp của Le Moullac và cộng sự (1997) [74], Hou & Chen (2005) [54], Wang & Chen (2006) [171], với một số hiệu chỉnh. Cụ thể, 10 μ L máu tôm đã được thu ở hệ số pha loãng 2 tiếp tục được pha loãng thành hệ số 6 bằng cách bổ sung thêm 20 μ L dung dịch chống đông. Mẫu máu đã pha loãng (30 μ L) được nhuộm với 1 μ L dung dịch Rose Bengal 1,2% ở nhiệt độ phòng trong 20 phút, sau đó được nạp vào buồng đếm hồng cầu (thể tích mỗi ô đếm 10⁻⁴ mL) và quan sát dưới kính hiển vi quang học (40X) để xác định tổng số tế bào máu (THC) cũng như số lượng từng loại bạch cầu (GC, HC) (Hình 2.7b).

$\text{THC (tế bào/mL)} = (\text{số tế bào trung bình đếm được trong 5 ô}) \times \text{dfc} \times 10^4$.

Số lượng từng loại bạch cầu (tế bào/mL) = (số lượng trung bình từng loại tế bào đếm trong 5 ô) $\times \text{dfc} \times 10^4$.

Trong đó, dfc là hệ số pha loãng (dfc = 6).



Hình 2.7. Phân tích chi số tế bào máu. Thu mẫu máu (a); Tế bào máu (b)

2.2.5.2. Phân tích hoạt động của enzyme miễn dịch

Hoạt động phenoloxidase (PO) được xác định theo phương pháp của Hernández-López và cộng sự (1996) [52], với một số hiệu chỉnh. Cụ thể, 40 μL máu tôm (hệ số pha loãng 2) được pha loãng thành hệ số 10 bằng cách bổ sung 160 μL dung dịch chống đông. Mẫu máu pha loãng (200 μL) được ly tâm ở 5000 vòng/phút, 4°C trong 10 phút; phần dịch nổi được loại bỏ và giữ lại phần kết tủa. Kết tủa này được hòa tan trong 1000 μL dung dịch cacodylate-citrate buffer (pH 7,0), sau đó tiếp tục ly tâm ở 5000 vòng/phút, 4 °C trong 4 phút. Phần dịch nổi tiếp tục bị loại bỏ và phần kết tủa được hòa tan trong 200 μL dung dịch cacodylate buffer (pH 7,0). Để hoạt hóa PO, 100 μL dịch mẫu được ủ với 50 μL trypsin 0,1% ở 26°C trong 10 phút, tiếp đó bổ sung 50 μL L-DOPA 0,3% và ủ ở nhiệt độ phòng trong 5 phút, rồi thêm 800 μL cacodylate buffer. Hoạt tính PO được đo bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 490 nm.

Hoạt động Respiratory burst (RES) được xác định theo phương pháp của Song và Hsieh (1994) [153], với một số hiệu chỉnh. Cụ thể, 20 μL máu tôm (hệ số pha loãng 2) được pha loãng xuống hệ số 10 bằng cách bổ sung 80 μL dung dịch chống đông. Sau đó, 100 μL máu pha loãng được ủ với 100 μL dung dịch poly-L-lysine 0,2% nhằm tăng khả năng bám dính của tế bào, rồi ly tâm ở 5000 vòng/phút, 4°C trong 15 phút và loại bỏ huyết tương. Tiếp theo, 100 μL zymosan 0,1% được bổ sung và ủ ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. Sau khi loại bỏ phần dịch nổi, phần kết tủa được rửa ba lần bằng 100 μL dung dịch Hanks. Mẫu được nhuộm với 100 μL dung dịch NBT 0,3% ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó loại bỏ dịch nổi và tiếp tục rửa ba lần bằng 100 μL methanol 70%. Các mẫu được để khô ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, rồi hòa tan kết tủa trong 120 μL KOH 2 M và 140 μL dimethyl sulfoxide (DMSO). Hoạt tính RES được đo bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 630 nm.

Hoạt động superoxide dismutase (SOD) được xác định theo phương pháp của Beauchamp và Fridovich (1971) [17] với một số hiệu chỉnh. Cụ thể, 100 μL máu tôm (hệ số pha loãng 2) được cho vào ống Eppendorf chứa 500 μL dung dịch PBS, lắc đều và ly tâm ở 5000 vòng/phút, 4°C trong 5 phút. Phần dịch nổi (500 μL) được thu và ủ ở 65°C trong 5 phút, sau đó tiếp tục ly tâm ở 5000 vòng/phút, 4°C trong 5 phút. Phần dịch nổi cuối cùng được thu để làm dịch chiết thô chứa SOD. Để xác định hoạt tính enzyme, 100 μL dịch chiết thô được trộn với 500 μL hỗn hợp phản ứng gồm: EDTA 0,1 mM, methionine 13 μM , NBT 0,75 mM và riboflavin 20 μM trong đệm phosphate 50 mM (pH 7,8). Hoạt tính SOD được đo bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 560 nm.

2.2.5.3. Phương pháp phân tích mô học

Tôm có dấu hiệu lâm sàng của bệnh được cố định trong dung dịch Davidson's AFA trong 24 giờ, sau đó chuyển mẫu sang ethanol 70% để bảo quản. Mô sau đó được khử nước bằng một loạt ethanol, nhúng trong parafin, cắt lát dày 5 μm và nhuộm bằng hematoxylin và eosin (H&E) theo các quy trình mô học tiêu chuẩn [86]. Kiểm tra mô bệnh học được thực hiện trên mô gan tụy, mang và ruột để đánh giá các thay

đôi cấu trúc và tổn thương bệnh lý.

2.2.5.4. *Xác định tăng trưởng*

Trọng lượng tôm được xác định bằng cân phân tích điện tử với sai số 0,01 g. Các thông số tăng trưởng được tính như sau:

$$\text{Tăng trọng (Wg, g)} = (Wf, g) - (Wi, g).$$

$$\text{Tăng trọng trung bình hàng ngày (ADG, g/ngày)} = (Wf - Wi) / 45 \text{ ngày}.$$

$$\text{Tốc độ tăng trưởng đặc trưng SGR (\% /ngày)} = 100 \times (\ln Wf - \ln Wi) / 45 \text{ ngày}.$$

Trong đó, trọng lượng ban đầu (W_i , g) được xác định trước thí nghiệm và trọng lượng cuối cùng (W_f , g) được xác định sau thí nghiệm 45 ngày.

2.2.5.5. *Xác định tỷ lệ chết tích lũy và tỷ lệ sống của tôm*

$$\text{Tỷ lệ chết tích lũy (\%)} = (\text{Tổng số tôm chết trong khoảng thời gian} / \text{Tổng số tôm thí nghiệm}) \times 100.$$

$$\text{Tỷ lệ sống (SR, \%)} = (\text{Tổng số tôm còn sống} / \text{Tổng số tôm thí nghiệm}) \times 100$$

2.2.6. *Xử lý số liệu*

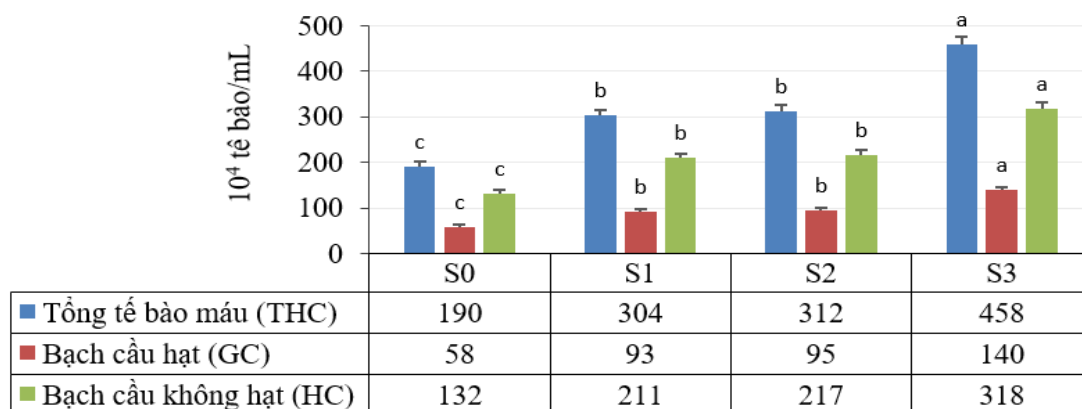
Minitab 16 được sử dụng để thực hiện phân tích thống kê trên dữ liệu. Phân tích phương sai một chiều (One-way ANOVA) và kiểm định phạm vi đa dạng của Tukey được sử dụng để so sánh các giá trị trung bình giữa các nghiệm thức. Sự khác biệt giữa các nghiệm thức được coi là có ý nghĩa ở giá trị $p < 0,05$. Kết quả được thể hiện dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn.

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Ảnh hưởng của hàm lượng SCFP lên đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng

3.1.1. Chỉ số tế bào máu của tôm được cho ăn bổ sung SCFP

Kết quả thí nghiệm cho thấy, có sự khác nhau có ý nghĩa về chỉ số tế bào máu của tôm giữa các nghiệm thức thí nghiệm sau 45 ngày thử nghiệm cho ăn ($p < 0,05$). Tổng số tế bào máu (THC), bạch cầu hạt (GC) và bạch cầu không hạt (HC) tương ứng trong các nghiệm thức S1 ($303,84 \times 10^4$; $92,64 \times 10^4$; $211,20 \times 10^4$ tế bào/mL), S2 ($312,32 \times 10^4$; $95,40 \times 10^4$; $216,92 \times 10^4$ tế bào/mL) và S3 ($458,16 \times 10^4$; $140,24 \times 10^4$; $317,92 \times 10^4$ tế bào/mL) đều cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng S0 ($190,08 \times 10^4$; $58,16 \times 10^4$; $131,92 \times 10^4$ tế bào/mL) (Hình 3.1). Trong số các nghiệm thức bổ sung SCFP, THC, GC và HC ở nghiệm thức S3 (0,45% SCFP) cao hơn đáng kể so với nghiệm thức S2 (0,35% SCFP) và S1 (0,25% SCFP). Không có sự khác nhau về chỉ số tế bào máu của tôm giữa nghiệm thức S1 và S2 ($p > 0,05$).



Hình 3.1. Mật độ THC, GC và HC ở tôm thẻ chân trắng được cho ăn bổ sung SCFP với các mức khác nhau trong 45 ngày.

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Ở động vật không xương sống như tôm, hệ miễn dịch chỉ bao gồm miễn dịch bẩm sinh, trong đó tế bào máu đóng vai trò trung tâm. Tế bào máu tham gia trực tiếp

vào các cơ chế bảo vệ quan trọng như thực bào, bao vây, hình thành nốt sần, kích hoạt hệ thống prophenoloxidase (proPO) và tạo sắc tố melanin để tiêu diệt mầm bệnh [63, 126]. Do đó, sự gia tăng đáng kể THC, GC và HC ở các nghiệm thức bổ sung SCFP cho thấy sự cải thiện rõ rệt về đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào của tôm thẻ chân trắng.

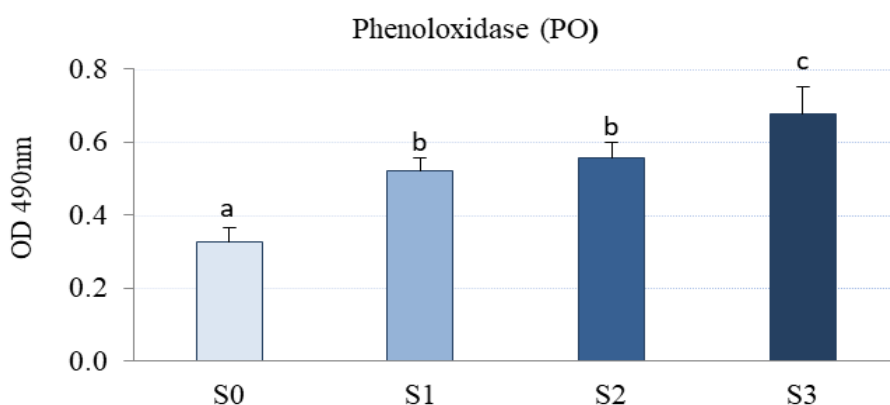
Trong số các nghiệm thức bổ sung SCFP, S3 (0,45% SCFP) thể hiện hiệu quả vượt trội khi các chỉ số THC, GC và HC đều cao hơn có ý nghĩa so với S1 và S2 ($p < 0,05$). Điều này chứng minh tác động kích thích miễn dịch của SCFP có xu hướng phụ thuộc vào liều lượng. Khi nồng độ SCFP trong khẩu phần tăng lên đến 0,45%, các thành phần hoạt tính sinh học trong SCFP nhiều khả năng đã được nhận diện mạnh mẽ hơn bởi các thụ thể nhận diện mẫu (PRRs) trên bề mặt tế bào máu của tôm. Sự nhận diện này đóng vai trò như tín hiệu báo động sinh học, kích hoạt chuỗi phản ứng miễn dịch, thúc đẩy sự tăng sinh và biệt hóa tế bào máu, đồng thời làm gia tăng hoạt động chức năng của các tế bào này.

Việc gia tăng mạnh số lượng tế bào bạch cầu hạt (GC) ở các nghiệm thức bổ sung SCFP, nhất là nghiệm thức S3 đặc biệt có ý nghĩa về mặt sinh lý miễn dịch. GC là nhóm tế bào đóng vai trò chủ đạo trong cơ chế thực bào và giải phóng các enzyme thủy phân, các hợp chất kháng khuẩn và các gốc oxy hóa nhằm tiêu diệt tác nhân gây bệnh. Đồng thời, chúng cũng tham gia tích cực vào hoạt hóa hệ thống proPO, một trong những hệ thống bảo vệ quan trọng giúp hình thành melanin để cô lập và tiêu diệt mầm bệnh [132]. Vì vậy, sự gia tăng GC ở nghiệm thức S3 cho thấy tôm có khả năng phản ứng nhanh và hiệu quả hơn khi phải đối diện với các tác nhân xâm nhập từ môi trường, đặc biệt là vi khuẩn, nấm và virus gây bệnh thường gặp trong điều kiện nuôi thâm canh. Bên cạnh đó, bạch cầu không hạt (HC) cũng tăng đáng kể ở các nghiệm thức bổ sung SCFP, đặc biệt là nghiệm thức S3. Đây là nhóm tế bào có vai trò hỗ trợ trong quá trình đông máu, sửa chữa mô và điều hòa các phản ứng miễn dịch [132]. Sự gia tăng đồng thời cả GC và HC cho thấy SCFP không chỉ tác động riêng lẻ lên một loại tế bào mà còn kích thích toàn diện hệ thống tế bào máu, góp phần củng cố hàng rào miễn dịch nội tại của cơ thể tôm.

Những kết quả này hoàn toàn phù hợp với các công bố trước đây về tác động kích thích miễn dịch của các sản phẩm có nguồn gốc từ *S. cerevisiae*. Việc bổ sung beta-glucan, MOS và nucleotides có nguồn gốc từ *S. cerevisiae* trong khẩu phần ăn giúp làm tăng mật độ tế bào máu, nâng cao hoạt tính thực bào, quá trình bao bọc, hoạt hóa hệ proPO và tạo sắc tố ở nhiều loài giáp xác như tôm sú, tôm thẻ chân trắng và tôm càng xanh [13, 23, 146]. Ngoài ra, một số nghiên cứu khác cũng chỉ ra rằng các thành phần của thành tế bào nấm men có khả năng gắn kết với các phân tử gây bệnh như lipopolysaccharide (LPS), từ đó làm giảm áp lực mầm bệnh và gián tiếp thúc đẩy hệ miễn dịch hoạt động hiệu quả hơn [23, 62].

3.1.2. Hoạt động của một số enzyme miễn dịch ở tôm được cho ăn bổ sung SCFP

Hoạt động PO của tôm trong các nghiệm thức S1 ($0,52 \pm 0,03$), S2 ($0,55 \pm 0,04$) và S3 ($0,68 \pm 0,08$) đều cao hơn đáng kể so với nghiệm thức S0 ($0,33 \pm 0,04$) ($p < 0,05$). Trong đó, hoạt động PO cao hơn được tìm thấy ở nghiệm thức S3 (0,45% SCFP) so với nghiệm thức S2 (0,35% SCFP) và S1 (0,25% SCFP) ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt về hoạt động PO giữa các nghiệm thức S1 và S2 ($p > 0,05$) (Hình 3.2).

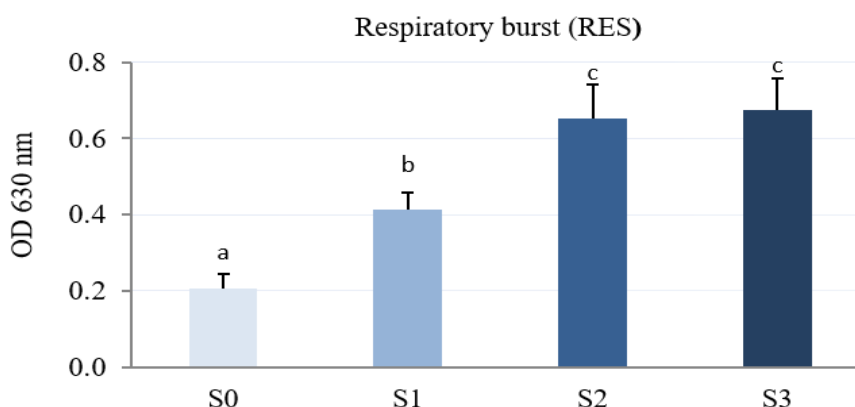


Hình 3.2. Hoạt động PO ở tôm thẻ chân trắng được cho ăn chế độ ăn bổ sung SCFP với các mức khác nhau trong 45 ngày.

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Có sự sai khác có ý nghĩa giữa các nghiệm thức về hoạt động RES của tôm thẻ chân trắng ($p < 0,05$). Hoạt động RES cao nhất được quan sát thấy ở nghiệm thức S3

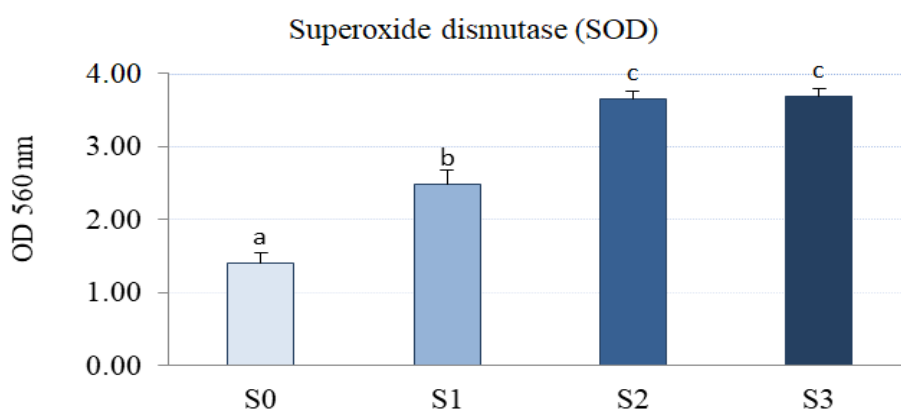
($0,67 \pm 0,08$) và S2 ($0,56 \pm 0,09$), tiếp theo là S1 ($0,41 \pm 0,05$), giá trị RES thấp nhất là ở nghiệm thức S0 ($0,21 \pm 0,04$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về hoạt động RES của tôm giữa nghiệm thức S2 và S3 ($p > 0,05$) (Hình 3.3).



Hình 3.3. Hoạt động RES ở tôm thẻ chân trắng được cho ăn chế độ ăn bổ sung SCFP với các mức khác nhau trong 45 ngày.

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Đối với hoạt động SOD, chế độ ăn của tôm bổ sung SCFP (0,25%, 0,35% và 0,45%) trong 45 ngày có hoạt động SOD cao hơn đáng kể về mặt thống kê so với đối chứng. Hoạt động SOD cao hơn ở nghiệm thức S3 ($3,69 \pm 0,10$) và nghiệm thức S2 ($3,65 \pm 0,11$) so với nghiệm thức S1 ($2,48 \pm 0,19$) ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt đáng kể nào được quan sát thấy giữa nghiệm thức S2 và S3 ($p > 0,05$) (Hình 3.4).



Hình 3.4. Hoạt động SOD ở tôm thẻ chân trắng được cho ăn chế độ ăn bổ sung SCFP với các mức khác nhau trong 45 ngày.

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Hệ miễn dịch của tôm thẻ chân trắng là hệ miễn dịch bẩm sinh, không có miễn dịch đặc hiệu hoặc rất yếu và không tạo kháng thể như ở động vật có xương sống. Vì vậy, khả năng chống chịu với mầm bệnh của tôm phụ thuộc chặt chẽ vào các cơ chế miễn dịch tự nhiên, bao gồm các đáp ứng tế bào và đáp ứng dịch thể, trong đó hoạt động của các enzyme miễn dịch đóng vai trò then chốt. Các chỉ tiêu như phenoloxidase (PO), bùng nổ hô hấp (RES) và enzyme chống oxy hóa superoxide dismutase (SOD) thường được sử dụng làm chỉ thị sinh học phản ánh mức độ hoạt hóa và hiệu quả của hệ miễn dịch ở tôm [109]. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung SCFP ở các mức 0,25% (S1), 0,35% (S2) và 0,45% (S3) trong 45 ngày đã làm gia tăng rõ rệt hoạt động của các enzyme miễn dịch so với nghiệm thức đối chứng (S0). Điều này khẳng định vai trò của SCFP như một chất kích thích miễn dịch sinh học tiềm năng, giúp tăng cường sức đề kháng của tôm trước các tác nhân gây bệnh trong điều kiện nuôi thâm canh.

Hệ thống prophenoloxidase (proPO) là tuyến phòng thủ quan trọng bậc nhất trong miễn dịch không đặc hiệu của tôm [156]. Khi cơ thể tôm nhận diện vật thể lạ (vi khuẩn, nấm, virus, kí sinh trùng hoặc các phân tử gây hại), các PRRs sẽ gắn với các cấu trúc đặc trưng trên bề mặt mầm bệnh như lipopolysaccharide (LPS) của vi khuẩn hoặc beta-glucan của nấm, từ đó kích hoạt chuỗi phản ứng enzyme dẫn đến chuyển proPO thành phenoloxidase (PO) hoạt động. PO xúc tác quá trình oxy hóa các hợp chất phenolic, tạo thành melanin giúp bao vây, cô lập và tiêu diệt tác nhân xâm nhập [156]. Trong nghiên cứu này, hoạt độ PO của tôm ở các nghiệm thức bổ sung SCFP (S1, S2, S3) đều cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức đối chứng. Ở nghiệm thức S3 (0,45% SCFP) cho giá trị PO cao nhất và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với S1 và S2 ($p < 0,05$). Điều này cho thấy SCFP có tác động kích hoạt hệ thống proPO và hiệu quả kích thích này tăng theo liều lượng, thể hiện rõ nhất ở mức 0,45%. Điều này có thể được giải thích bởi các thành phần đặc trưng của SCFP, rất giàu beta-glucan, mannan-oligosaccharide (MOS), nucleotide và các mảnh thành tế bào nấm men. Các thành phần này đóng vai trò như các tín hiệu giả mầm bệnh, được PRRs của tôm nhận diện và kích hoạt phản ứng miễn dịch mà không gây bệnh. Do đó, dù

không có sự xâm nhập thực sự của mầm bệnh, hệ miễn dịch của tôm vẫn ở trạng thái sẵn sàng phản ứng nhanh và mạnh hơn khi tác nhân gây bệnh thực sự xuất hiện. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đó về tác động của các sản phẩm từ nấm men *S. cerevisia* lên miễn dịch của tôm. Jin và cộng sự (2018) [62], Sang và Foteda (2010a) [139], Sang và cộng sự (2011a, b) [142, 143] đều ghi nhận hoạt độ PO tăng đáng kể khi khẩu phần ăn của tôm được bổ sung các thành phần hoặc chế phẩm từ *S. cerevisia*.

Sự gia tăng của hoạt động RES là kết quả của sự gia tăng tổng tế bào máu, bao gồm tế bào không hạt và tế bào hạt [173]. Kết quả này phù hợp khi tổng số tế bào máu (THC), tế bào hạt (GC), tế bào không hạt (HC) ở các nghiệm thức bổ sung SCFP đều cao hơn so với đối chứng. Khi số lượng THC tăng lên, đặc biệt tế bào GC, nhóm tế bào chủ lực tạo ra ROIs, thì cường độ bùng phát hô hấp của tôm cũng tăng theo. Điều này lý giải tại sao các nghiệm thức S2 và S3, với mật độ tế bào máu cao hơn, lại có hoạt độ RES vượt trội so với đối chứng. Tuy nhiên, mặc dù nghiệm thức S3 có THC, GC và HC cao hơn có ý nghĩa so với S2, nhưng hoạt độ RES giữa hai nghiệm thức này lại không khác biệt có ý nghĩa thống kê. Điều này gợi ý rằng từ ngưỡng 0,35% SCFP, hệ thống miễn dịch của tôm có thể đã đạt trạng thái “bão hòa chức năng” đối với phản ứng RES. Việc tăng thêm hàm lượng SCFP lên 0,45% không làm tăng RES tương ứng, mà chỉ duy trì ở mức cao ổn định. Một giả thuyết khác cũng có thể được đặt ra là nếu bổ sung SCFP vượt quá ngưỡng tối ưu, cơ thể tôm sẽ đối mặt với hiện tượng stress sinh lý hoặc mất cân bằng oxy hóa-khử, dẫn đến cơ chế điều hòa ngược làm giảm sản xuất ROIs, từ đó không làm tăng thêm hoạt độ RES. Vì vậy, kết quả này cho thấy mức 0,35-0,45% SCFP là khoảng phù hợp cho việc tăng cường phản ứng bùng nổ hô hấp ở tôm thẻ chân trắng.

Trong quá trình thực bào và bùng phát hô hấp, lượng lớn các gốc oxy hóa được tạo ra nhằm tiêu diệt mầm bệnh. Tuy nhiên, nếu các gốc oxy hóa này không được kiểm soát, chúng sẽ gây tổn thương cho chính tế bào vật chủ, dẫn đến stress oxy hóa, phá hủy màng tế bào, protein và DNA. Do đó, các enzyme chống oxy hóa như

superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) và glutathione peroxidase (GPx) có vai trò vô cùng quan trọng trong việc bảo vệ tế bào khỏi tác hại của các gốc tự do. SOD là enzyme đầu tiên trong chuỗi phòng vệ chống oxy hóa, có nhiệm vụ chuyển hóa anion superoxide (O_2^-) thành hydrogen peroxide (H_2O_2), một dạng ít độc hơn và sẽ tiếp tục được phân hủy bởi các enzyme khác [20]. Sự gia tăng hoạt độ SOD thường được xem là một chỉ thị cho thấy hệ thống chống oxy hóa của cơ thể đang được tăng cường [36]. Kết quả thí nghiệm cho thấy, tôm ở các nghiệm thức bổ sung SCFP có hoạt độ SOD cao hơn đáng kể so với đối chứng, đặc biệt là ở các nghiệm thức S2 (0,35%) và S3 (0,45%). Không có sự khác biệt có ý nghĩa giữa S2 và S3, cho thấy tác dụng tối ưu của SCFP lên hệ thống chống oxy hóa đạt được từ mức 0,35-0,45%, điều này có ý nghĩa sinh lý rất quan trọng. Khi PO và RES được kích hoạt mạnh mẽ để chống lại tác nhân gây bệnh, lượng gốc oxy hóa tạo ra cũng tăng lên. Sự gia tăng đồng thời của SOD đóng vai trò cân bằng quá trình này, giúp kiểm soát stress oxy hóa và bảo vệ tế bào máu khỏi tổn thương. Có thể thấy, SCFP không chỉ kích thích miễn dịch mà còn giúp điều hòa phản ứng miễn dịch, tránh hiện tượng tự phá hủy do quá trình oxy hóa quá mức. Theo Campa và cộng sự (2002) [20], Downs và cộng sự (2001) [36], sự gia tăng hoạt độ SOD thường đi kèm với sự tăng cường của các chức năng miễn dịch khác như thực bào, bao bọc và sản xuất các chất kháng khuẩn. Điều này hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu hiện tại, khi nghiệm thức có SOD cao cũng là nghiệm thức có PO và RES cao hơn so với đối chứng.

Nhìn chung, kết quả nghiên cứu cho thấy việc bổ sung SCFP vào khẩu phần ăn đã đồng thời kích hoạt nhiều cơ chế miễn dịch quan trọng ở tôm thẻ chân trắng. Cụ thể, SCFP làm tăng mật độ tế bào máu và hoạt độ enzyme phenoloxidase, từ đó thúc đẩy quá trình tạo melanin và nâng cao khả năng tiêu diệt mầm bệnh. Bên cạnh đó, sự gia tăng hoạt động RES góp phần tăng cường khả năng tiêu diệt vi sinh vật thông qua các chất oxy hóa phản ứng (ROIs), trong khi hoạt độ enzyme SOD tăng cao giúp nâng cao khả năng chống stress oxy hóa và bảo vệ tế bào khỏi tổn thương. Sự phối hợp của các cơ chế này tạo ra một trạng thái miễn dịch tăng cường nhưng cân bằng, nghĩa là tôm không chỉ có khả năng kháng bệnh tốt hơn mà còn hạn chế được các tác động

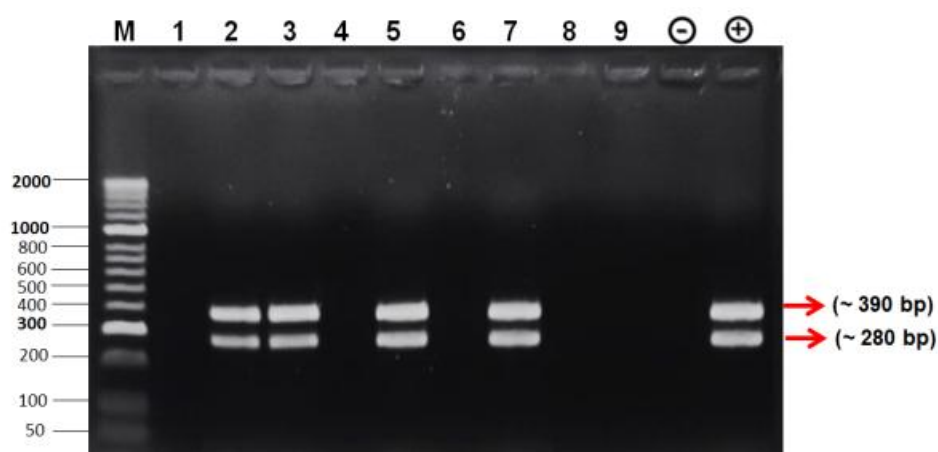
bất lợi do tình trạng kích hoạt miễn dịch quá mức hoặc kéo dài. Đây là một ưu điểm nổi bật của các chất kích thích miễn dịch có nguồn gốc tự nhiên như SCFP so với kháng sinh hoặc các hóa chất tổng hợp. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy hàm lượng SCFP trong khoảng 0,35–0,45% là phù hợp để thúc đẩy sự gia tăng hoạt động của các enzyme miễn dịch RES và SOD, cho thấy hệ thống miễn dịch của tôm đạt trạng thái bão hòa chức năng. Việc bổ sung SCFP ở hàm lượng cao hơn có thể gây ra căng thẳng sinh học, dẫn đến giảm sản sinh ROI và suy giảm hoạt động thực bào, qua đó làm suy yếu đáp ứng miễn dịch của tôm.

Tóm lại, kết quả nghiên cứu đã cho thấy việc bổ sung SCFP vào khẩu phần ăn của tôm thẻ chân trắng ở các mức từ 0,25 - 0,45% đều góp phần tăng cường đáp ứng miễn dịch so với đối chứng. Trong đó, nghiệm thức S3 (0,45% SCFP) thể hiện kết quả nổi trội hơn khi cho giá trị cao nhất đối với tổng số tế bào máu (THC), bạch cầu hạt (GC), bạch cầu không hạt (HC) và hoạt động PO, đồng thời duy trì hoạt động RES và SOD ở mức cao, tương đương nghiệm thức S2 (0,35% SCFP). Mặc dù RES và SOD không tăng thêm có ý nghĩa thống kê khi nâng hàm lượng SCFP từ 0,35% lên 0,45%, nhưng mức bổ sung 0,45% vẫn tạo ra đáp ứng miễn dịch toàn diện hơn nhờ sự gia tăng rõ rệt của các chỉ tiêu tế bào máu và hoạt động PO. Do đó, nghiệm thức S3 (0,45% SCFP) được lựa chọn cho các thí nghiệm tiếp theo nhằm bảo đảm phát huy tối đa hiệu quả tăng cường đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng.

3.2. Độc lực chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh AHPND trên tôm

3.2.1. Sàng lọc các chủng *V. parahaemolyticus* mang gene độc tố *pirA^{vp}*, *pirB^{vp}*

Sự có mặt của các gene mã hóa protein độc tính *pirA^{vp}*, *pirB^{vp}* dựa trên các cặp môi đặc hiệu cho đoạn chỉ thị của các gene *pirA^{vp}* (284 bp) và *pirB^{vp}* (392 bp) [19] đã xác định được 4/9 chủng *V. parahaemolyticus* chứa gene độc tố *pirA^{vp}*, *pirB^{vp}* trên plasmid, bao gồm các chủng CAB16002, CAB19003, CAB25001 và CED12020 (Hình 3.5, Bảng 3.1).



Hình 3.5. Kết quả điện di sản phẩm PCR mẫu vi khuẩn

Ghi chú: Giếng M: Ladder 50bp (Hyper Ladder™ 50 bp-Bioline, Mỹ); Giếng 1-9: Mẫu DNA vi khuẩn *V. parahaemolyticus* phân tích theo thứ tự: CAB20002, CAB16002, CAB19003, CAB21001, CAB25001, CAB22001, CED12020, CAB28002, CAB30002; Giếng (-): Đối chứng âm; Giếng (+): Đối chứng dương.

Bảng 3.1. Kết quả phân tích gene độc lực các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

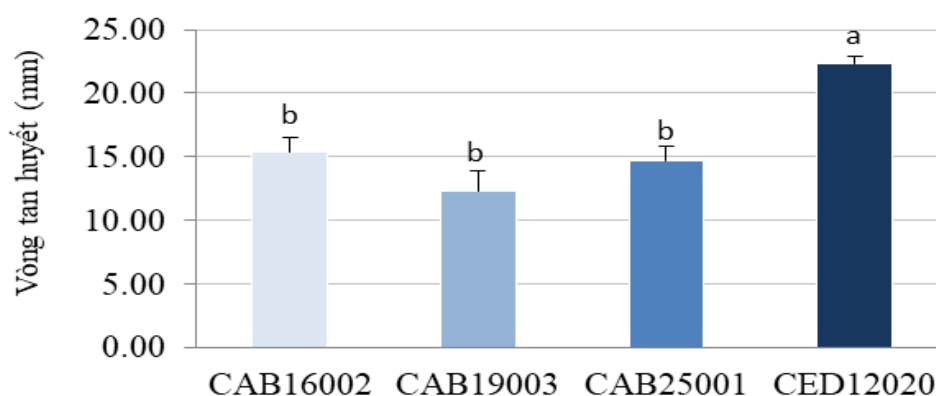
Chủng vi khuẩn	Kết quả tách chiết DNA			Gene độc lực	
	Nồng độ (ng/μl)	OD 260/280	OD 260/230	PirA	PirB
CAB20002	545,2	1,85	2,14	(-)	(-)
CAB16002	47,8	1,92	2,10	(+)	(+)
CAB19003	463,5	2,03	2,05	(+)	(+)
CAB21001	323,1	1,94	2,02	(-)	(-)
CAB25001	621,4	1,99	2,04	(+)	(+)
CAB22001	333,6	1,98	2,08	(-)	(-)
CED12020	182,1	1,92	2,02	(+)	(+)
CAB28002	505,2	1,84	1,99	(-)	(-)
CAB30002	636,5	1,92	1,98	(-)	(-)

Độc tố PirA, PirB là hai protein từ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* đã được xác định là tương tự với các độc tố diệt côn trùng nhị phân đã biết là protein liên quan đến côn trùng A và B của *Photobacterium* [12]. Độc tố PirA, PirB tiết ra bởi vi khuẩn *V. parahaemolyticus* chính là thủ phạm gây ra bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm [12, 89, 151, 188]. Các gene tương ứng của chúng là *pirA^{vp}* và *pirB^{vp}* nằm trên một plasmid có kích thước lớn (69-73 kb). Trên plasmid, gene *pirA^{vp}* và *pirB^{vp}* nằm trên vùng

nucleotide với kích thước khoảng 3,5kb với hai lần lặp đảo ngược của chuỗi mã hóa transposase 1kb [19]. Gene *pirA^{vp}* và *pirB^{vp}* mã hóa cho protein có kích thước khoảng 13 và 50 kDa [19]. 04 chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (CAB16002, CAB19003, CAB25001, CED12020) được xác định mang cả 2 gene mã hóa protein PirA và PirB, chứng tỏ 4 chủng vi khuẩn này có độc tố, có khả năng gây bệnh trên tôm. Do vậy, 04 chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (CAB16002, CAB19003, CAB25001, CED12020) được lựa chọn để khảo sát hoạt tính của một số enzyme độc lực.

3.2.2. Hoạt tính hemolysin, phospholipase và lipase của các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* mang gene độc tố *pirA^{vp}* và *pirB^{vp}*

Hoạt tính hemolysin: Kết quả xác định vùng hoạt động của hemolysin cho thấy, có sự khác nhau có ý nghĩa về hoạt độ hemolysin của các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* mang gene độc tố *pirA^{vp}* và *pirB^{vp}* ($p < 0,05$). Chủng CED12020 có hoạt động hemolysin cao nhất, đường kính vòng tan huyết đạt $22,33 \pm 0,58$ mm. Không có sự sai khác về hoạt động hemolysin đối với các chủng CAB16002 ($15,33 \pm 1,15$ mm), CAB19003 ($12,33 \pm 1,53$ mm) và CAB25001 ($14,67 \pm 1,15$ mm) (Hình 3.6).



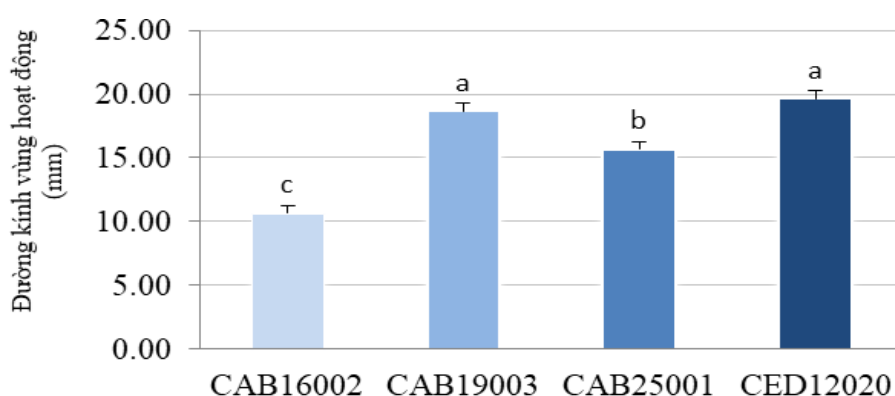
Hình 3.6. Hoạt tính hemolysin của các chủng *V. parahaemolyticus*

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Kết quả này tương đồng với các kết quả của Broberg và cộng sự (2011) [19], Lia và cộng sự (2019) [85], Vandeputte và cộng sự (2023) [169], hemolysin là loại độc tố phổ biến nhất ở các loài *Vibrio* gây bệnh. Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* có thể sản

xuất 3 loại hemolysin tan máu trực tiếp chịu nhiệt (TDH), tan máu liên quan đến TDH (TRH) và tan máu không bền nhiệt (TLH) được mã hóa lần lượt bởi các gene *tdh*, *trh* và *tlh*. Hemolysin tan máu chịu nhiệt được coi là các yếu tố gây bệnh chính. Hemolysin tác động trực tiếp lên các tế bào hồng cầu và có hoạt tính tan máu, hoạt tính độc tố ruột, độc tính tim và độc tính tế bào [85]. Quá trình tan máu của hemolysin được trung gian bởi các thụ thể. Hemolysin liên kết chặt chẽ với màng tế bào hồng cầu, phá hủy màng tế bào và màng lysosome theo cách phụ thuộc vào nhiệt độ [85].

Hoạt tính phospholipase: Hoạt độ phospholipase khác nhau có ý nghĩa giữa các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* thử nghiệm ($p < 0,05$). Phospholipase được quan sát thấy cao nhất ở chủng CED12020 ($19,67 \pm 0,58$ mm) và CAB19003 ($18,67 \pm 0,58$ mm), thấp nhất ở chủng CAB16002 ($10,67 \pm 0,58$ mm) (Hình 3.7).



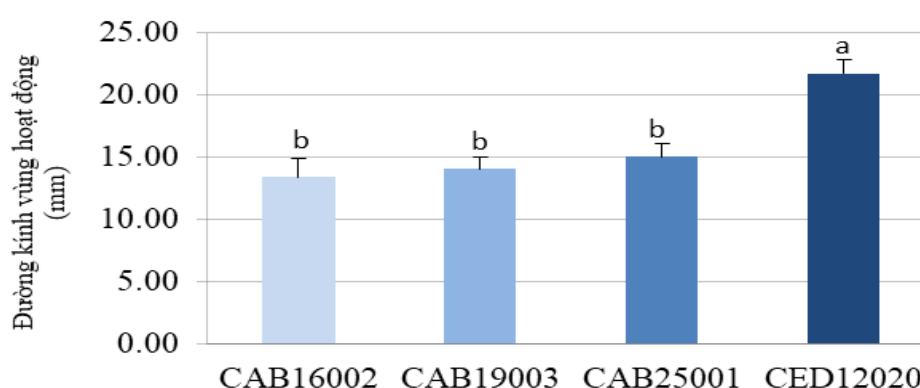
Hình 3.7. Hoạt tính phospholipase của các chủng *V. parahaemolyticus*

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Phospholipase là một trong số enzyme có trong màng ngoài của vi khuẩn Gram âm trong đó có vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, có khả năng tham gia vào các quá trình phá vỡ màng, xảy ra trong quá trình xâm nhập tế bào vật chủ và sinh bệnh của vi khuẩn [60]. Phospholipase tạo thành một phân nhóm đa dạng của các enzyme lipolytic có khả năng thủy phân một hoặc nhiều liên kết ester của phospholipid với phosphodiesterase. Phospholipid là đại diện cho các thành phần hóa học chính của lớp vỏ tế bào vật chủ [60]. Do đó, hoạt độ phospholipase cao hơn ở chủng CED12020 và CAB190003 cho thấy khả năng có thể phá hủy phospholipid của lớp vỏ tế bào và

xâm nhập vào tế bào vật chủ mạnh hơn so với 02 chủng *V. parahaemolyticus* còn lại.

Hoạt tính lipase: Cả 4 chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* thử nghiệm đều có hoạt tính lipase, kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Costa và cộng sự (2013) cho rằng lipase là một yếu tố độc lực phổ biến của *V. parahaemolyticus* [25]. Trong 4 chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* thử nghiệm, hoạt động lipase cao nhất được tìm thấy ở chủng CED12020 ($21,67 \pm 1,15$ mm) ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt đáng kể nào ($p > 0,05$) về hoạt động lipase giữa các chủng CAB16002 ($13,33 \pm 1,53$ mm), CAB19003 ($14,00 \pm 1,00$ mm) và CAB25001 ($15,00 \pm 1,00$ mm) (Hình 3.8). Enzyme ngoại bào này đóng vai trò quan trọng trong việc gây tổn thương mô vật chủ, tạo điều kiện cho mầm bệnh tiếp nhận chất dinh dưỡng và xâm nhập mô. Việc giảm hoạt động của lipase có khả năng làm giảm độc lực của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* [169].



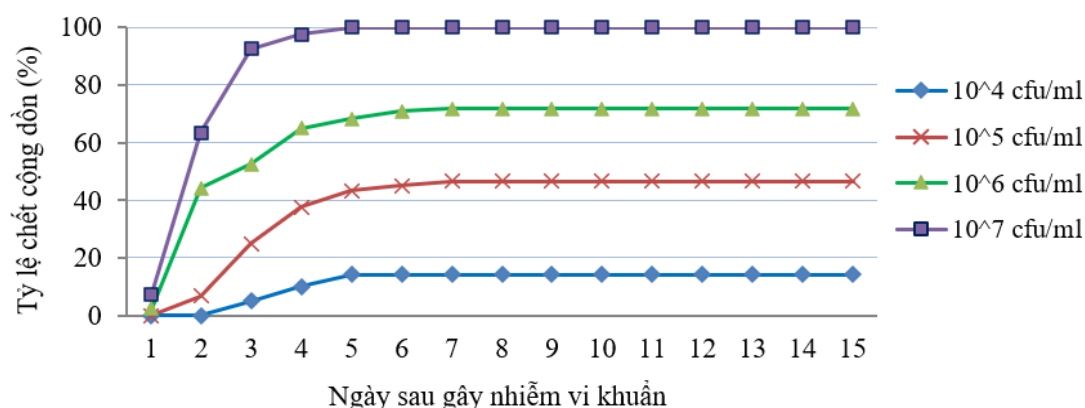
Hình 3.8. Hoạt tính lipase của các chủng *V. parahaemolyticus*

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

3.2.3. Giá trị LD_{50} của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh AHPND trên tôm thẻ chân trắng

Trong số 9 chủng *V. parahaemolyticus* được khảo sát, chủng CED12020 được xác định có độc lực nhất thông qua các thí nghiệm *in vitro*, do đó được lựa chọn để thực hiện thí nghiệm gây nhiễm thực nghiệm trên tôm thẻ chân trắng trong điều kiện *in vivo*. Kết quả sau 15 ngày thí nghiệm cho thấy, mật độ tế bào vi khuẩn gây nhiễm

ảnh hưởng đến tỷ lệ chết của tôm ($p < 0,05$). Mật độ tế bào vi khuẩn ở 10^7 CFU/ml gây chết tôm lớn nhất với tỷ lệ 100%, tỷ lệ tôm chết thấp nhất ở mật độ tế bào 10^4 CFU/ml với tỷ lệ 14,17% (Hình 3.9). Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng tỷ lệ chết của tôm phụ thuộc vào mật độ tế bào vi khuẩn gây nhiễm [3, 4, 69].

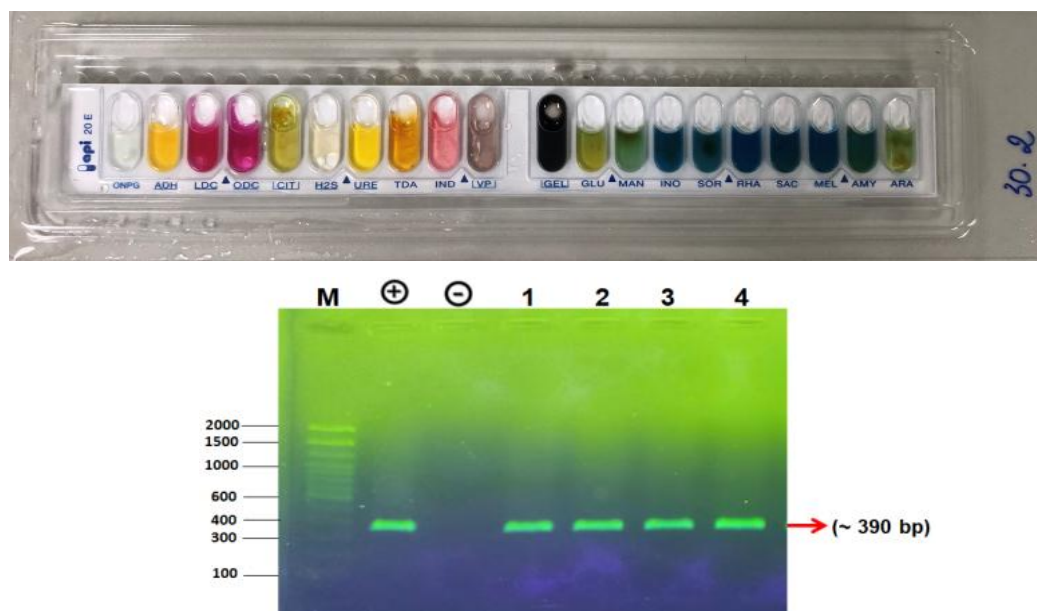


Hình 3.9. Tỷ lệ chết tích lũy của tôm thẻ chân trắng bị gây nhiễm bởi *V. parahaemolyticus*

Sau 1 ngày gây nhiễm vi khuẩn, tôm xuất hiện các triệu chứng bơi lơ dờ, phản xạ chậm, bỏ ăn và bắt đầu có hiện tượng chết ở mật độ 10^7 CFU/ml. Tôm chết nhiều nhất vào ngày thứ 2 ở tất cả các mật độ vi khuẩn gây nhiễm, các ngày tiếp theo tôm chết rải rác và dừng chết ở ngày thứ 7. Trong khi đó, ở nghiệm thức đối chứng, không có hiện tượng tôm bị chết, tôm khỏe mạnh và hoạt động bình thường cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Đối với tôm có biểu hiện bệnh ở các nghiệm thức gây nhiễm vi khuẩn, phần gan tụy tôm sưng và dễ tổn thương khi ấn nhẹ.

Kết quả phân lập vi khuẩn từ các mẫu tôm bị bệnh cho thấy các chủng phân lập hình thành khuẩn lạc màu xanh trên môi trường TCBS. Kết quả định danh bằng bộ kit API 20E, được phân tích trên phần mềm Apiweb™ - API 20E, kết hợp với kiểm chứng bằng kỹ thuật PCR đã xác định các chủng vi khuẩn phân lập có đặc điểm phù hợp với loài *V. parahaemolyticus* (Hình 3.10; Phụ lục 2.3). Điều này cho thấy, trong quá trình thí nghiệm, tôm không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố khác, tôm chết là do bị gây nhiễm bằng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Vi khuẩn *V. parahaemolyticus* khi tiếp xúc với tôm thẻ chân trắng đã lây lan rất nhanh đến gan tụy và ruột tôm, chúng

lây lan nhanh chóng bằng cách sử dụng gan tụy tôm làm mô đích, sự lan rộng mạnh nhất của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* được tìm thấy sau 6-12 giờ tiếp xúc, sau đó độc tố của chúng gây tổn thương và làm chết tôm ở các thời điểm tiếp theo [69].



Hình 3.10. Đại diện phản ứng sinh hóa kit API 20E và điện di sản phẩm PCR vi khuẩn phân lập từ tôm biểu hiện bệnh sau khi gây nhiễm *V. parahaemolyticus* CED12020.

Ghi chú: Giếng M: Ladder 100bp, Giếng (+): Đối chứng dương, Giếng (-): Đối chứng âm, Giếng 1, 2, 3, 4: mẫu DNA của vi khuẩn phân lập trên tôm biểu hiện bệnh ở các nghiệm thức theo thứ tự 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 CFU/ml.

Từ kết quả thu được về tỷ lệ tôm chết ở các mật độ vi khuẩn gây nhiễm, tính toán theo công thức của Reed và Muench (1983) [130], xác định giá trị LD_{50} của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* CED12020 trên tôm thẻ chân trắng cỡ $5,32 \pm 0,02$ g/con là $3,0 \times 10^5$ CFU/ml (Bảng 3.2).

Bảng 3.2. Xác định giá trị LD_{50} của *V. parahaemolyticus* trên tôm thẻ chân trắng

Thông số	Mật độ tế bào <i>V. parahaemolyticus</i> gây nhiễm (CFU/ml)			
	$2,2 \times 10^4$	$2,2 \times 10^5$	$2,2 \times 10^6$	$2,2 \times 10^7$
Tỷ lệ chết (%)	$14,17 \pm 1,44^d$	$46,67 \pm 1,44^c$	$71,67 \pm 3,82^b$	$100 \pm 0,00^a$
pd	$(71,67 - 50) / (71,67 - 46,67) = 0,87$			
y	$\log 10^6 - (\log 10 \times \text{pd}) = 5,13$			
LD_{50}	$2,2 \times 10^{5,13} = 3,0 \times 10^5$			

Theo nhiều nghiên cứu, mật độ vi khuẩn *V. parahaemolyticus* cần thiết để gây nhiễm trùng ở tôm thẻ chân trắng từ 10^3 đến 10^8 CFU/ml. Giá trị LD₅₀ của chúng trên tôm thẻ chân trắng cũng thay đổi tùy theo độc lực của chủng vi khuẩn, đường lây nhiễm, thời gian lây nhiễm, kích cỡ tôm, mức độ căng thẳng và đáp ứng miễn dịch của tôm [71, 76, 112]. Giá trị LD₅₀ càng thấp thể hiện độc lực của chủng vi khuẩn càng cao. Nghiên cứu của Lopez và cộng sự (2016) xác định giá trị LD₅₀ của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh gan tụy cấp trên tôm thẻ chân trắng cỡ 0,1-0,5 g/con bằng phương pháp ngâm trong 72 giờ là $6,0 \times 10^4$ - $3,0 \times 10^5$ CFU/ml. Một nghiên cứu khác của Võ Văn Tuấn và cộng sự (2018), xác định giá trị LD₅₀ của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trên tôm thẻ chân trắng cỡ 2-3 g/con, bằng phương pháp ngâm trong 2 giờ là $4,7 \times 10^6$ CFU/ml [4]. Nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Phước và cộng sự (2020) cho thấy, giá trị LD₅₀ của vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây nhiễm bằng ngâm tôm thẻ chân trắng cỡ 2-2,5 g/con trong 60 phút là 10^5 CFU/ml. Tác giả cho rằng khả năng đề kháng của tôm cỡ nhỏ đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* kém hơn so với tôm cỡ lớn [3]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, kích thước tôm thí nghiệm có cỡ lớn hơn (5-6 g/con) nhưng giá trị LD₅₀ của chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* CED12020 vẫn đạt $3,0 \times 10^5$ CFU/ml. Sự khác biệt này có thể do thời gian gây nhiễm và độc tính của chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus* thử nghiệm.

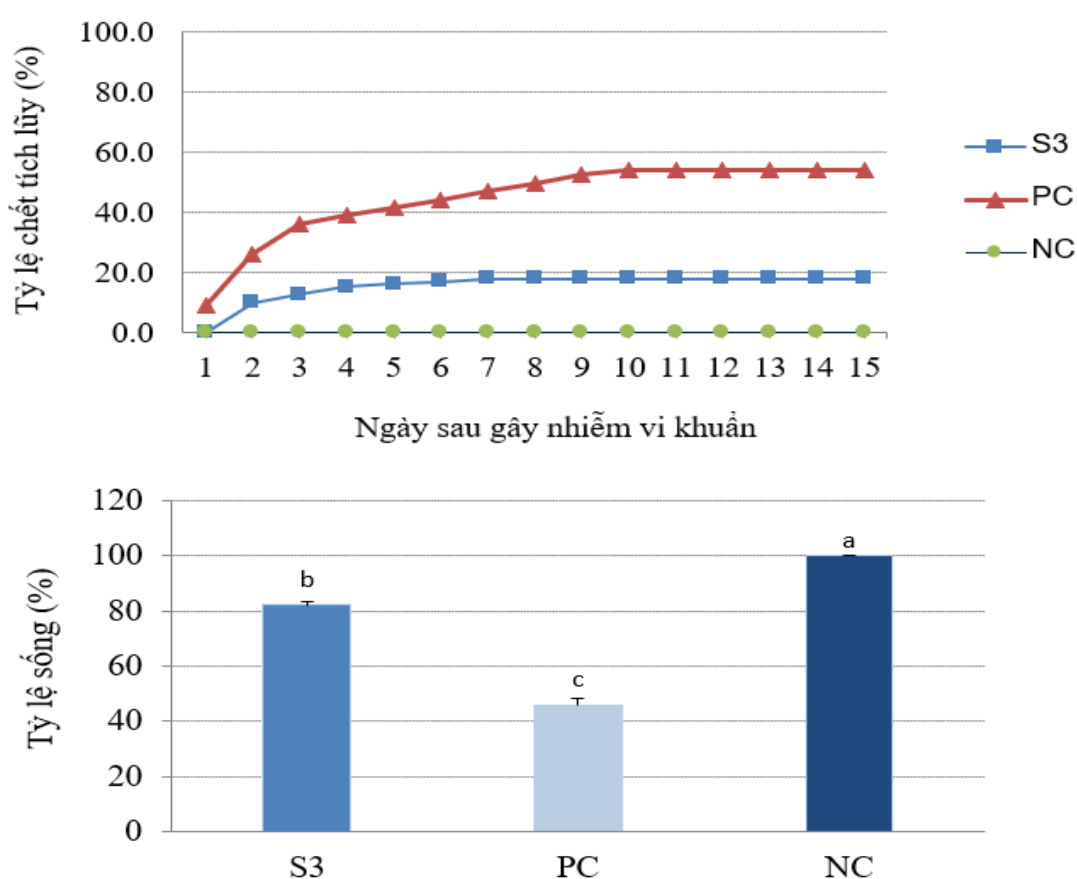
3.3. Ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng của tôm thẻ chân trắng đối với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* CED12020

3.3.1. Tỷ lệ sống và chết tích lũy của tôm sau khi gây nhiễm bằng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Kết quả gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* CED12020 trên tôm sau 45 ngày cho ăn chế độ có bổ sung SCFP đã cho thấy sự khác biệt rõ rệt về diễn biến tử vong và tỷ lệ sống sót của tôm giữa các nghiệm thức. Ngay trong 24 giờ đầu sau khi gây nhiễm ở nồng độ xấp xỉ LD₅₀ ($3,3 \times 10^5$ CFU/ml), tôm ở nghiệm thức PC đã bắt đầu xuất hiện những biểu hiện lâm sàng điển hình của nhiễm khuẩn *Vibrio* như sự suy giảm hoạt động, bơi lội yếu, giảm phản xạ với các tác động bên ngoài và chết rải

rác. Điều này phản ánh mức độ xâm nhập và phát triển nhanh chóng của vi khuẩn trong cơ thể tôm khi không có biện pháp tăng cường miễn dịch từ khẩu phần ăn.

Đến ngày thứ 15 sau khi gây nhiễm vi khuẩn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) về tỷ lệ chết tích lũy giữa các nghiệm thức đã được xác nhận rõ ràng, với nghiệm thức PC đạt 54,06% trong khi nghiệm thức S3 chỉ là 17,85%. Tương ứng, tỷ lệ sống sót của tôm ở nghiệm thức S3 đạt 82,15%, cao hơn gần gấp đôi so với nghiệm thức PC (45,94%) (Hình 3.11). Trong khi đó, nghiệm thức NC không tiếp xúc với vi khuẩn, duy trì tỷ lệ sống 100% và không ghi nhận bất kỳ biểu hiện lâm sàng bất thường nào, qua đó xác nhận rằng sự giảm tỷ lệ sống của tôm ở các nghiệm thức S3 và PC là do tác động trực tiếp của vi khuẩn *V. parahaemolyticus*.



Hình 3.11. Tỷ lệ chết tích lũy và tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng sau khi gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* ở các nghiệm thức khác nhau.

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Hiệu quả cải thiện tỷ lệ sống ở nghiệm thức S3 có thể được giải thích bởi sự kết hợp của nhiều cơ chế sinh học đồng thời. Trước hết, MOS một thành phần quan trọng trong SCFP đã được chứng minh có khả năng ức chế sự bám dính của vi khuẩn gây bệnh lên niêm mạc ruột của vật chủ [40]. MOS hoạt động như những thụ thể giả bắt giữ các lectin trên bề mặt vi khuẩn, ngăn cản quá trình nhận diện với carbohydrate trên tế bào biểu mô ruột, từ đó làm giảm khả năng bám dính, xâm nhập và nhân lên của vi khuẩn [40 - 42]. Việc giảm áp lực mầm bệnh ngay từ giai đoạn đầu đóng vai trò then chốt trong việc làm chậm quá trình gây nhiễm và cho phép hệ miễn dịch của tôm có thêm thời gian để khởi động các cơ chế phòng vệ hiệu quả. Bên cạnh đó, beta-glucan một polysaccharide đặc trưng của thành tế bào nấm men có khả năng kích hoạt mạnh hệ miễn dịch bẩm sinh thông qua PRRs trên bề mặt tế bào máu. Khi được nhận diện, beta-glucan khởi động một chuỗi tín hiệu nội bào dẫn đến sự gia tăng hoạt động thực bào, sản sinh các enzyme tiêu diệt mầm bệnh. Ngoài ra, nucleotides và các dẫn xuất sinh học khác trong SCFP còn có thể góp phần đẩy nhanh quá trình tái tạo mô, phục hồi tổn thương tế bào và duy trì trạng thái sinh lý ổn định cho vật chủ trong điều kiện stress do nhiễm bệnh [22, 77].

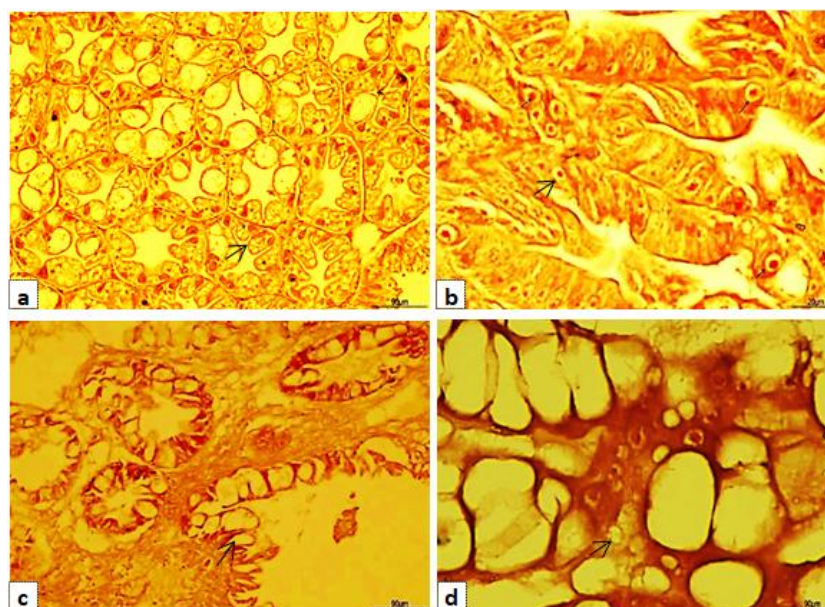
Ngoài ra, nấm men *S. cerevisiae* có khả năng giải phóng nhiều peptide hoạt tính sinh học trong quá trình sinh trưởng và lên men. Các peptide này có vai trò quan trọng trong việc tăng cường miễn dịch bẩm sinh và hỗ trợ khả năng kháng khuẩn của vật chủ [97]. Một số peptide trong SCFP có khả năng hoạt động tương tự AMPs, tương tác trực tiếp với màng tế bào vi khuẩn thông qua lực hút tĩnh điện giữa peptide mang điện tích dương và lớp phospholipid mang điện tích âm trên bề mặt vi khuẩn. Sự tương tác này làm thay đổi tính thấm của màng, gây rò rỉ các thành phần nội bào và cuối cùng dẫn đến bất hoạt hoặc tiêu diệt vi khuẩn. Cơ chế này đặc biệt có ý nghĩa đối với các vi khuẩn Gram âm như *V. parahaemolyticus* [97]. Bên cạnh tác động kháng khuẩn trực tiếp, các peptide trong SCFP còn có thể tham gia điều hòa đáp ứng miễn dịch bẩm sinh thông qua việc kích thích hoạt động của tế bào máu và tăng cường biểu hiện các yếu tố miễn dịch liên quan đến quá trình thực bào, hệ thống ProPO và cơ chế chống oxy hóa. Một số peptide sinh học từ nấm men còn được ghi nhận có

khả năng hoạt động như các phân tử tín hiệu miễn dịch, giúp tăng cường khả năng nhận diện mầm bệnh của các PRRs và thúc đẩy quá trình truyền tín hiệu nội bào liên quan đến đáp ứng viêm và tiêu diệt vi khuẩn. Đồng thời, các hợp chất có nguồn gốc nấm men như beta-glucan còn có thể tạo tác động hiệp đồng với peptide trong việc hoạt hóa miễn dịch, tăng khả năng kháng bệnh và chống chịu stress ở động vật thủy sản [106]. Sự hiện diện đồng thời của các peptide kháng khuẩn, MOS, beta-glucan và nucleotide trong SCFP có thể đã tạo ra tác động hiệp đồng lên cả hàng rào miễn dịch và hệ vi sinh vật đường ruột của tôm. Điều này không chỉ góp phần làm giảm mật độ vi khuẩn gây bệnh mà còn hỗ trợ duy trì trạng thái cân bằng sinh lý và tăng khả năng chống chịu của vật chủ trong suốt quá trình gây nhiễm với vi khuẩn [40]. Vì vậy, tỷ lệ sống cao hơn ở nghiệm thức S3 có thể là kết quả tổng hợp của nhiều cơ chế bảo vệ diễn ra đồng thời thay vì chỉ do một tác động riêng lẻ của từng thành phần trong SCFP.

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy sự tương đồng với nhiều công bố trước đây trên tôm và các loài giáp xác khác về vai trò tăng cường sức đề kháng của các sản phẩm có nguồn gốc từ nấm men *S. cerevisiae*. Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận rằng việc bổ sung beta-glucan và mannan oligosaccharides (MOS) chiết xuất từ *S. cerevisiae* vào khẩu phần ăn có khả năng cải thiện đáng kể tỷ lệ sống của vật nuôi sau khi gây nhiễm với các chủng vi khuẩn gây bệnh [139, 144]. Hiệu quả này được cho là liên quan đến khả năng kích thích hệ miễn dịch bẩm sinh, tăng cường hoạt động thực bào, hoạt hóa hệ thống prophenoloxidase, cũng như nâng cao khả năng chống oxy hóa và duy trì trạng thái cân bằng sinh lý của cơ thể trong điều kiện stress do nhiễm khuẩn. Bên cạnh đó, một số nghiên cứu khác cũng cho thấy tỷ lệ sống của tôm có thể tăng từ 20–40% khi khẩu phần được bổ sung các chế phẩm có nguồn gốc từ *S. cerevisiae* so với nhóm đối chứng không sử dụng [14, 35, 122]. Mức cải thiện này phản ánh vai trò quan trọng của các thành phần hoạt tính sinh học trong sản phẩm nấm men, bao gồm beta-glucan, MOS, nucleotide, peptide sinh học và các hợp chất chuyển hóa sau lên men, trong việc tăng cường hàng rào miễn dịch không đặc hiệu và cải thiện khả năng thích nghi của tôm trước sự xâm nhập của tác nhân gây bệnh.

3.3.2. Biến đổi mô bệnh tôm sau gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Ở các nghiệm thức S3 và PC, tôm xuất hiện rõ các biểu hiện bệnh lý, trong đó gan tụy có dấu hiệu sưng to và dễ bị tổn thương khi tác động lực nhẹ. Sau 48 giờ tiến hành gây nhiễm bằng vi khuẩn, kết quả quan sát mô bệnh học cho thấy các cơ quan quan trọng của tôm ở hai nghiệm thức này đều có sự biến đổi cấu trúc so với nghiệm thức đối chứng âm (NC) không gây nhiễm. Cụ thể, mô gan tụy bị rối loạn cấu trúc (Hình 3.12), mô mang xuất hiện các dấu hiệu tổn thương và thoái hóa (Hình 3.13), trong khi mô ruột có sự biến đổi rõ rệt về hình thái mô (Hình 3.14). Ngược lại, ở nghiệm thức NC, cấu trúc các mô quan sát được không ghi nhận dấu hiệu tổn thương hay biến đổi bất thường. Bên cạnh đó, kết quả phân lập vi khuẩn từ các mẫu tôm có biểu hiện bệnh cho thấy các chủng phân lập hình thành khuẩn lạc màu xanh trên môi trường TCBS. Kết quả định danh bằng bộ kit API 20E, được phân tích trên phần mềm Apiweb™ - API 20E, kết hợp với kiểm chứng bằng kỹ thuật PCR đã xác định các chủng vi khuẩn có đặc điểm phù hợp với loài *Vibrio parahaemolyticus* (Phụ lục 3.4).

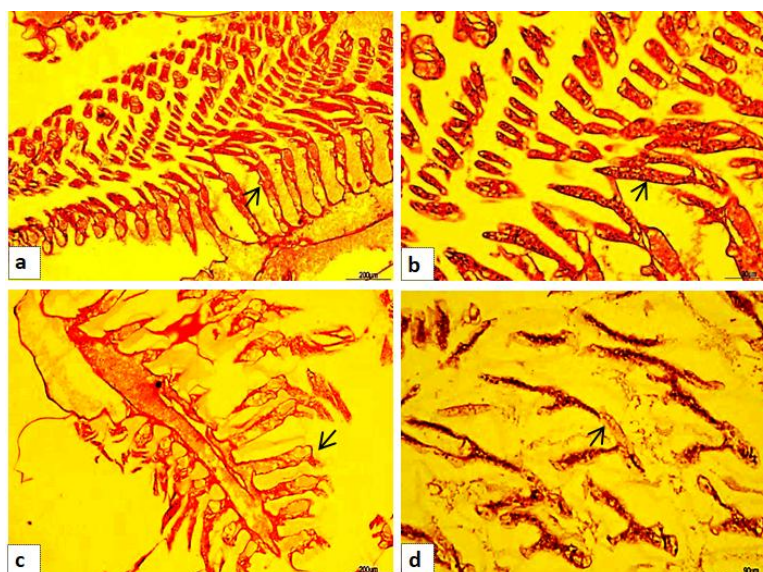


Hình 3.12. Các lát cắt mô học của mô gan tụy tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*).

(a, b): Mô gan tụy từ tôm trong nhóm NC, thể hiện cấu trúc mô học bình thường với các tế bào nguyên vẹn và nhân rõ ràng.

(c): Mô gan tụy từ nhóm PC, có dấu hiệu teo ống, hoại tử tế bào lan rộng và không có nhân.

(d): Mô gan tụy từ nhóm S3, biểu hiện hoại tử tế bào một phần và mất tính toàn vẹn của nhân ở một số tế bào.

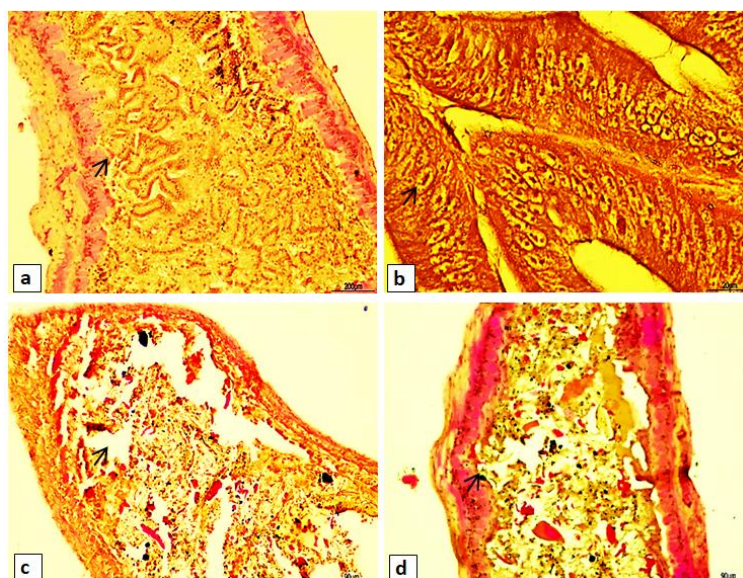


Hình 3.13. Các lát cắt mô học của mô mang tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*).

(a, b): Mô mang tôm ở nhóm NC, biểu hiện hình thái bình thường với cấu trúc sợi mang nguyên vẹn và nhân tế bào biểu mô rõ ràng.

(c): Mô mang ở nhóm PC, biểu hiện biến dạng cấu trúc nghiêm trọng của sợi mang, các phiến mang bị phân mảnh, tan rã, và mất tính toàn vẹn của nhân trên diện rộng.

(d): Mô mang ở nhóm S3, biểu hiện biến dạng vừa phải của cấu trúc sợi mang, một số tế bào không có nhân.



Hình 3.14. Các lát cắt mô học của mô ruột tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*).

(a, b): Mô ruột tôm trong nhóm NC, biểu hiện các đặc điểm mô học bình thường với các tế bào biểu mô nguyên vẹn và nhân rõ ràng.

(c): Mô ruột từ nhóm PC, cho thấy sự biến dạng rõ rệt của các tế bào biểu mô ruột và bằng chứng thâm nhiễm tế bào viêm bên trong lớp niêm mạc.

(d): Mô ruột từ nhóm S3, biểu hiện các thay đổi nhẹ về cấu trúc, với một số tế bào biểu mô mất hình dạng bình thường.

Phân tích mô bệnh học là một công cụ có giá trị để đánh giá và so sánh tác động của nhiễm trùng do vi khuẩn lên tế bào trong các phương pháp xử lý thử nghiệm. Các tác nhân gây bệnh khác nhau gây ra những thay đổi cấu trúc riêng biệt ở nhiều cơ quan khác nhau của tôm. Hơn nữa, những biến đổi về cấu trúc này thay đổi theo quá trình nhiễm trùng, đặc biệt là ở các cơ quan đích như gan tụy, mang, ruột và cơ [87]. Ở mô khỏe mạnh, các tế bào biểu hiện cấu trúc đặc trưng và dễ nhận biết. Tuy nhiên, sự xâm nhập của tác nhân gây bệnh (vi khuẩn, virus, v.v.) phá vỡ các cấu trúc này, dẫn đến mất chức năng bình thường của chúng. Trong nghiên cứu hiện tại, các xét nghiệm mô học về gan tụy, mang và mô ruột của tôm thẻ chân trắng đã được tiến hành để đánh giá sự lây nhiễm của *V. parahaemolyticus*.

Phân tích mô bệnh học của các mẫu mô tôm cho thấy những biến đổi cấu trúc rõ rệt ở gan tụy, mang và ruột giữa các nghiệm thức thí nghiệm. Ở nghiệm thức NC, mô gan tụy vẫn còn nguyên vẹn, biểu hiện cấu trúc hình sao điển hình với các tế bào được bảo quản tốt và nhân được xác định rõ ràng (Hình 3.12a, b). Ngược lại, tôm bị gây nhiễm với *V. parahaemolyticus* trong nghiệm thức S3 và PC cho thấy tổn thương mô đáng kể, đặc biệt là ở nghiệm thức PC, trong đó các ống gan tụy biểu hiện teo, các tế bào hoại tử thiếu nhân và cấu trúc tế bào bị phá vỡ (Hình 3.12c, d). Những phát hiện này phù hợp với những phát hiện được báo cáo bởi Lightner và cộng sự (2012), đã mô tả gan tụy tôm thẻ chân trắng bị nhiễm bệnh là biểu hiện không có hoạt động nguyên phân ở tế bào E, rối loạn chức năng của các tế bào B, F và R trung tâm, hoại tử rộng rãi các tế bào biểu mô ống và tăng tế bào máu giữa các ống, chỉ ra nhiễm trùng do vi khuẩn thứ cấp [87]. Tương tự như vậy, Khimmakthong và cộng sự (2017) đã ghi nhận tình trạng bong tróc và không có tế bào B, F và R trong biểu mô ống gan tụy tôm sau 48 giờ sau khi tiếp xúc với *V. parahaemolyticus* [69]. Đối với mô mang, nghiệm thức NC duy trì các sợi mang nguyên vẹn với hình thái tế bào bình thường và nhân riêng biệt (Hình 3.13a, b), trong khi gây nhiễm vi khuẩn dẫn đến các sợi mang bị đứt và cấu trúc tế bào bị biến dạng ở cả nghiệm thức S3 và PC (Hình 3.13c, d). Các tổn thương bệnh lý cũng được quan sát thấy ở niêm mạc ruột của tôm bị nhiễm bệnh, trong đó nghiệm thức PC biểu hiện tổn thương rõ rệt nhất. Các tế bào biểu mô

ruột mất hình dạng điển hình, kèm theo thâm nhiễm viêm bên trong niêm mạc (Hình 3.14c, d). Những quan sát này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, chẳng hạn như Tinwongger và cộng sự (2016) đã báo cáo tổn thương đường ruột về mặt mô bệnh học, bao gồm thâm nhiễm tế bào viêm ở lớp dưới niêm mạc và bong tróc niêm mạc ở tôm tiếp xúc với vi khuẩn *V. parahaemolyticus* [163]. Khimmakthong và cộng sự (2017) cũng ghi nhận sự thâm nhiễm tế bào viêm trong niêm mạc ruột sau 48 giờ tiếp xúc với vi khuẩn [69]. Nhìn chung, kết quả của nghiên cứu này chứng minh rằng *V. parahaemolyticus* xâm nhập và gây ra những thay đổi cấu trúc đáng kể ở gan tụy, mang và mô ruột của tôm trong cả nghiệm thức S3 và PC.

Các phát hiện về mô bệnh học và phân lập lại vi khuẩn đã chứng minh rõ ràng rằng *V. parahaemolyticus* là nguyên nhân gây tử vong được quan sát thấy ở nghiệm thức S3 và PC. Tuy nhiên, tỷ lệ sống sót cao hơn đáng kể ở nghiệm thức S3 làm nổi bật tiềm năng của SCFP như một chất phụ gia thức ăn hiệu quả để tăng cường khả năng kháng bệnh ở tôm thẻ chân trắng. Đồng thời, theo quan điểm về mô bệnh học, tôm ở nghiệm thức S3 biểu hiện tổn thương mô ít nghiêm trọng hơn ở gan tụy, mang và ruột so với tôm ở nghiệm thức PC. Quan sát này ủng hộ giả thuyết rằng SCFP không chỉ tăng cường khả năng phòng vệ miễn dịch toàn thân mà còn giúp duy trì tính toàn vẹn của mô dưới tác động của stress gây bệnh.

3.3.3. Đáp ứng miễn dịch của tôm sau gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

3.3.3.1. Kết quả chỉ số tế bào máu

Kết quả xác định các chỉ tiêu miễn dịch tế bào bao gồm tổng số tế bào máu (THC), bạch cầu hạt (GC) và bạch cầu không hạt (HC) của tôm tại các thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm vi khuẩn (0 giờ, 12 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 96 giờ, 7 ngày và 14 ngày) được trình bày chi tiết trong Bảng 3.3. Phân tích thống kê cho thấy, tại tất cả các thời điểm theo dõi, các giá trị THC, GC và HC có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức thử nghiệm ($p < 0,05$), phản ánh sự khác nhau rõ rệt về đáp ứng miễn dịch của tôm trước tác động của vi khuẩn gây bệnh. Cụ thể, nghiệm thức

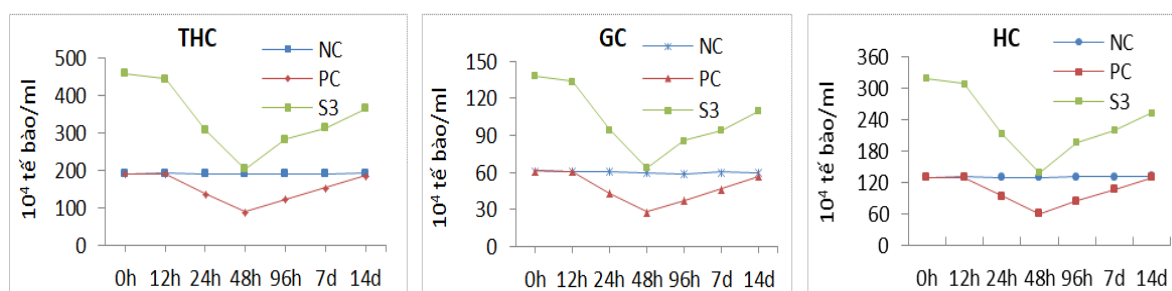
S3 luôn ghi nhận giá trị THC, GC và HC cao nhất trong suốt quá trình theo dõi. Ngược lại, nghiệm thức PC có các giá trị THC, GC và HC thấp nhất tại hầu hết các thời điểm (Bảng 3.3).

Bảng 3.3. THC, GC và HC của tôm chân trắng sau gây nhiễm với *V. parahaemolyticus*

Chỉ số tế bào máu	Sau gây nhiễm	Nghiệm thức thí nghiệm		
		NC	PC	S3
THC (10^4 tế bào/ ml)	0 giờ	190,56 $\pm$ 4,74 ^b	190,24 $\pm$ 5,61 ^b	457,44 $\pm$ 7,41 ^a
	12 giờ	191,52 $\pm$ 4,13 ^b	189,20 $\pm$ 4,81 ^b	443,04 $\pm$ 7,36 ^a
	24 giờ	190,24 $\pm$ 3,33 ^b	136,48 $\pm$ 4,77 ^c	307,76 $\pm$ 9,06 ^a
	48 giờ	189,60 $\pm$ 4,80 ^b	88,32 $\pm$ 4,15 ^c	202,00 $\pm$ 4,90 ^a
	96 giờ	190,00 $\pm$ 4,84 ^b	121,44 $\pm$ 4,72 ^c	282,48 $\pm$ 7,56 ^a
	7 ngày	190,72 $\pm$ 4,14 ^b	153,44 $\pm$ 6,66 ^c	313,36 $\pm$ 6,60 ^a
	14 ngày	191,68 $\pm$ 5,32 ^b	185,60 $\pm$ 4,77 ^b	363,52 $\pm$ 8,49 ^a
GC (10^4 tế bào/ ml)	0 giờ	61,20 $\pm$ 2,22 ^b	61,12 $\pm$ 3,35 ^b	138,00 $\pm$ 3,24 ^a
	12 giờ	60,64 $\pm$ 2,83 ^b	60,80 $\pm$ 1,80 ^b	133,92 $\pm$ 1,97 ^a
	24 giờ	60,80 $\pm$ 2,34 ^b	42,96 $\pm$ 1,38 ^c	94,64 $\pm$ 2,75 ^a
	48 giờ	59,60 $\pm$ 2,34 ^a	27,68 $\pm$ 1,54 ^b	63,52 $\pm$ 2,20 ^a
	96 giờ	59,04 $\pm$ 2,09 ^b	37,04 $\pm$ 1,69 ^c	85,60 $\pm$ 2,30 ^a
	7 ngày	60,08 $\pm$ 1,90 ^b	46,51 $\pm$ 3,19 ^c	94,24 $\pm$ 2,07 ^a
	14 ngày	59,68 $\pm$ 1,78 ^b	56,56 $\pm$ 1,27 ^b	110,08 $\pm$ 2,74 ^a
HC (10^4 tế bào/ ml)	0 giờ	129,36 $\pm$ 3,46 ^b	129,20 $\pm$ 3,00 ^b	319,52 $\pm$ 4,75 ^a
	12 giờ	130,88 $\pm$ 2,29 ^b	129,36 $\pm$ 3,63 ^b	309,12 $\pm$ 6,27 ^a
	24 giờ	129,44 $\pm$ 2,83 ^b	93,52 $\pm$ 4,22 ^c	212,80 $\pm$ 6,87 ^a
	48 giờ	130,00 $\pm$ 3,00 ^b	60,64 $\pm$ 3,23 ^c	138,48 $\pm$ 3,14 ^a
	96h	130,96 $\pm$ 3,33 ^b	84,40 $\pm$ 3,59 ^c	196,88 $\pm$ 5,51 ^a
	7 ngày	130,64 $\pm$ 3,20 ^b	106,40 $\pm$ 4,51 ^c	219,12 $\pm$ 5,15 ^a
	14 ngày	132,00 $\pm$ 4,06 ^b	129,04 $\pm$ 3,79 ^b	253,28 $\pm$ 6,31 ^a

Giá trị là giá trị trung bình của ba lần lặp $\pm$ độ lệch chuẩn. Các chữ cái mũ khác nhau trên cùng một hàng biểu thị kết quả khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Trước khi gây nhiễm vi khuẩn, THC, GC và HC trong nghiệm thức S3 (lần lượt là $457,44 \times 10^4$, $138,00 \times 10^4$ và $319,52 \times 10^4$ tế bào/ml) cao hơn khoảng 2,4, 2,2 và 2,4 lần so với những giá trị được quan sát thấy ở cả nghiệm thức PC ($190,24 \times 10^4$, $61,12 \times 10^4$ và $129,20 \times 10^4$ tế bào/ml) và nghiệm thức NC ($190,56 \times 10^4$, $61,20 \times 10^4$ và $129,36 \times 10^4$ tế bào/ml). Sau khi gây nhiễm vi khuẩn, mật độ tế bào máu của tôm ở nghiệm thức S3 vẫn luôn cao hơn ở nghiệm thức PC và NC tại mọi thời điểm. THC, GC và HC của tôm bắt đầu giảm sau 24 giờ gây nhiễm và giảm xuống thấp nhất trong vòng 48 giờ ở cả nghiệm thức S3 (lần lượt là 202×10^4 , $63,52 \times 10^4$ và $138,48 \times 10^4$ tế bào/ml) và nghiệm thức PC (lần lượt là $88,32 \times 10^4$, $27,68 \times 10^4$ và $60,64 \times 10^4$ tế bào/ml). Sau thời điểm này, mật độ tế bào máu dần phục hồi cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Trong khi đó, số lượng tế bào máu (THC, GC và HC) ở nghiệm thức NC vẫn tương đối ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm (Hình 3.15).



Hình 3.15. Biến động THC, GC và HC của tôm thẻ chân trắng tại các thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*.

Kết quả của nghiên cứu đã cho thấy, khi bổ sung SCFP với hàm lượng 0,45% vào chế độ ăn của tôm thẻ chân trắng đã ảnh hưởng tích cực đến đáp ứng miễn dịch tự nhiên của tôm cả trước và sau khi gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, bằng chứng là chỉ số tế bào máu (THC, GC, HC) của tôm tại thời điểm trước và sau gây nhiễm vi khuẩn ở nghiệm thức S3 cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức PC và NC. Hiệu quả đáp ứng miễn dịch được quan sát thấy trong nghiệm thức S3 có thể là do các thành phần của SCFP như beta-glucan tiếp xúc với các tế bào miễn dịch thông qua các mô típ liên kết polysaccharide và các mô típ liên kết integrin [91]. Beta-glucans được nhận biết và liên kết bởi PRPs, kích hoạt các quá trình tạo sắc tố và thực

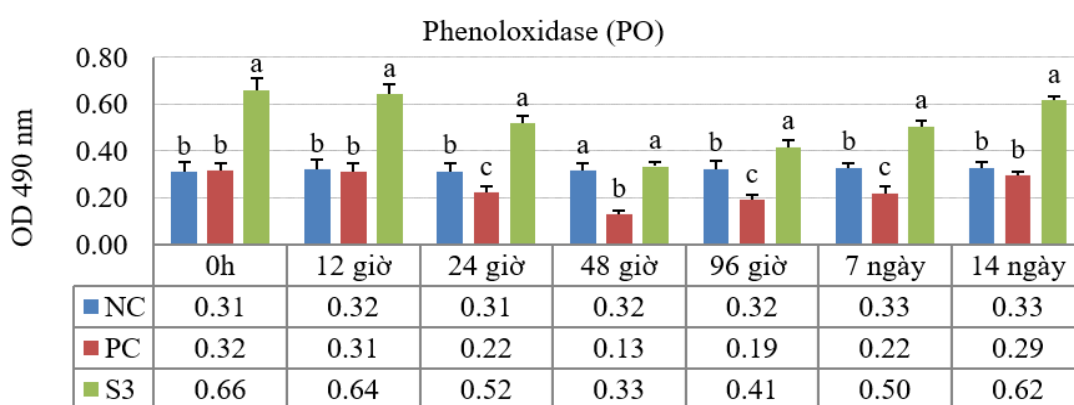
bào trong quá trình kích hoạt miễn dịch [77, 183]. Điều này có phần vào khả năng tăng cường sức đề kháng của tôm với nhiễm trùng do vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây ra.

Chỉ số tế bào máu (THC, GC và HC) trong các nghiệm thức S3 và PC giảm sau 24-48 giờ tiếp xúc với vi khuẩn. Mặc dù có sự suy giảm này, mật độ THC, GC và HC trong nghiệm thức S3 vẫn cao hơn so với mật độ quan sát được trong các nghiệm thức PC và NC. Trong khi đó, ở nhóm NC không tiếp xúc với vi khuẩn, chỉ số tế bào máu (THC, GC và HC) vẫn tương đối ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm. Những kết quả này cho thấy *V. parahaemolyticus* là nguyên nhân chính gây ra sự suy giảm THC, GC và HC ở tôm. Khi tiếp xúc với tôm thẻ chân trắng, *V. parahaemolyticus* phát tán nhanh chóng, với mức lây lan cao nhất xảy ra khoảng 6 giờ sau khi tiếp xúc, sau đó gây tổn thương mô [69]. Do đó, hệ thống miễn dịch của tôm phải huy động để chống lại nhiễm trùng. Các tế bào máu lưu thông trong hệ thống tuần hoàn của tôm di chuyển đến các mô có nồng độ tế bào bị nhiễm cao [80], dẫn đến sự suy giảm các tế bào máu lưu thông trong giai đoạn nhiễm trùng sớm, sau đó là sự phục hồi dần dần và làm suy yếu phản ứng miễn dịch tại các vị trí di chuyển [55, 173]. Trong nghiên cứu này, các chỉ số tế bào máu (THC, GC và HC) bắt đầu giảm sau 24 giờ tiếp xúc với vi khuẩn, có khả năng đánh dấu giai đoạn đầu của nhiễm trùng. Sau 48 giờ, các chỉ số này có xu hướng tăng lên, cho thấy hệ thống miễn dịch của tôm đã bắt đầu phục hồi. Sự biến động này phản ánh cơ chế đáp ứng miễn dịch tự nhiên ở tôm.

3.3.3.2. Hoạt động của một số enzyme miễn dịch

Hoạt động PO của tôm được xác định tại các thời điểm trước và sau khi gây nhiễm vi khuẩn, bao gồm 0 giờ, 12 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 96 giờ, 7 ngày và 14 ngày, với kết quả được thể hiện trong Hình 3.16. Trước khi gây nhiễm, nghiệm thức S3 ghi nhận hoạt động PO (0,66) cao hơn so với nghiệm thức PC (0,32) và nghiệm thức đối chứng âm NC (0,31). Sau khi gây nhiễm vi khuẩn, tại tất cả các thời điểm theo dõi, hoạt động PO ở nghiệm thức S3 đều cao hơn so với hai nghiệm thức còn lại, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Trong 12 giờ đầu sau khi gây nhiễm, hoạt động PO ở nghiệm thức S3 dao động nhẹ trong khoảng từ 0,66 đến 0,64, trong khi ở nghiệm thức PC ghi nhận giá trị từ 0,32 đến 0,31. Từ thời điểm 24 giờ sau khi gây nhiễm, hoạt động PO ở cả hai nghiệm thức S3 và PC bắt đầu giảm rõ rệt và giảm xuống thấp nhất tại thời điểm 48 giờ. Cụ thể, hoạt động PO ở nghiệm thức S3 giảm từ 0,66 xuống còn 0,33, trong khi ở nghiệm thức PC giảm từ 0,32 xuống còn 0,13. Sau giai đoạn này, hoạt động PO ở hai nghiệm thức tăng dần trở lại tại các thời điểm 96 giờ, 7 ngày và 14 ngày sau khi gây nhiễm. Ngược lại, hoạt động PO ở nghiệm thức NC duy trì tương đối ổn định trong suốt thời gian thí nghiệm, với giá trị dao động trong khoảng từ 0,31 đến 0,33 tại tất cả các thời điểm lấy mẫu. Các kết quả này phản ánh sự biến động của hoạt động PO theo thời gian và sự khác biệt về giá trị PO giữa các nghiệm thức trong suốt quá trình theo dõi sau khi gây nhiễm vi khuẩn.

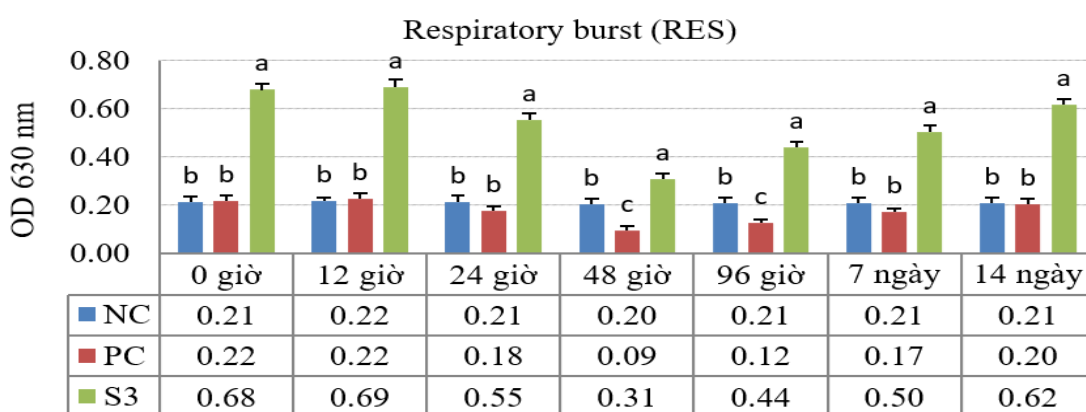


Hình 3.16. Hoạt động PO của tôm thẻ chân trắng tại các thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*.

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Hoạt động RES của tôm được xác định tại các thời điểm trước và sau khi gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* trong suốt 14 ngày thí nghiệm, với kết quả được trình bày ở Hình 3.17. Phân tích số liệu cho thấy hoạt động RES có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức tại tất cả các thời điểm theo dõi, bao gồm cả trước và sau khi gây nhiễm vi khuẩn ($p < 0,05$). Trước khi bị gây nhiễm vi khuẩn, nghiệm thức S3 ghi nhận hoạt động RES đạt 0,68, cao hơn so với nghiệm thức PC

(0,22) và nghiệm thức NC (0,21). Sau khi gây nhiễm vi khuẩn, trong toàn bộ thời gian theo dõi, nghiệm thức S3 luôn duy trì giá trị RES cao nhất so với các nghiệm thức còn lại. Ngược lại, các giá trị RES thấp nhất được ghi nhận ở nghiệm thức PC, đặc biệt trong khoảng thời gian từ 48 đến 96 giờ sau khi bị gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Hoạt động RES ở cả nghiệm thức S3 và PC đều giảm rõ rệt sau khi gây nhiễm vi khuẩn và đạt mức thấp nhất tại thời điểm 48 giờ. Cụ thể, giá trị RES ở nghiệm thức S3 giảm từ 0,68 xuống còn 0,31, trong khi ở nghiệm thức PC giảm từ 0,22 xuống còn 0,09. Sau thời điểm này, hoạt động RES ở hai nghiệm thức tăng dần trở lại tại các thời điểm tiếp theo và tiếp tục tăng cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Trong khi đó, hoạt động RES ở nghiệm thức NC dao động trong khoảng từ 0,21 đến 0,22 và duy trì tương đối ổn định tại tất cả các thời điểm lấy mẫu.

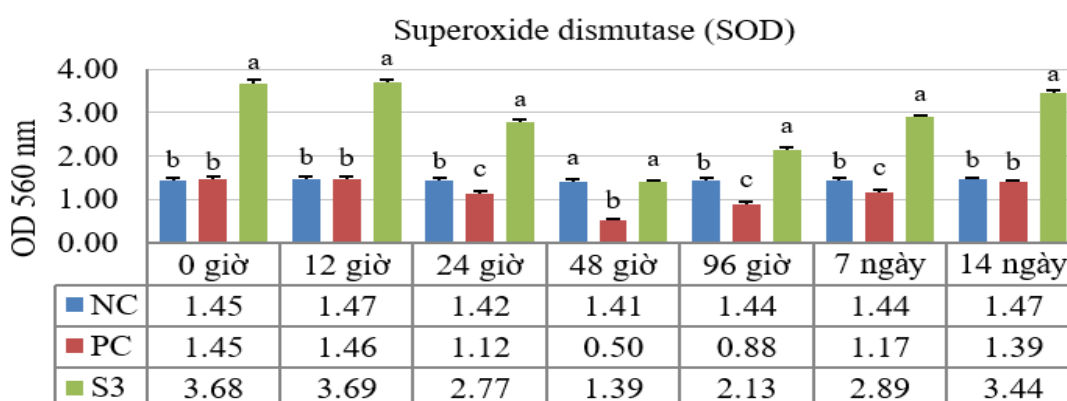


Hình 3.17. Hoạt động RES của tôm thẻ chân trắng tại các thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*.

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Hoạt động SOD của tôm có sự sai khác giữa các nghiệm thức thí nghiệm ở mọi thời điểm trước và sau khi gây nhiễm với vi khuẩn ($p < 0,05$). SOD tại thời điểm 0h ở nghiệm thức S3 (3,68) cao hơn đáng kể so với nghiệm thức PC (1,45) và NC (1,45). Giá trị SOD của tôm vẫn được quan sát thấy cao hơn ở nghiệm thức S3 tại các thời điểm sau 12 giờ, 24 giờ, 48 giờ, 96 giờ, 7 ngày và 14 ngày gây nhiễm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Các giá trị SOD thấp nhất là ở nghiệm thức PC trong khoảng

thời gian từ 24 giờ đến 7 ngày gây nhiễm với vi khuẩn. Hoạt động SOD bắt đầu giảm sau 24 giờ và giảm xuống mức thấp nhất sau 48 giờ gây nhiễm với vi khuẩn ở cả nghiệm thức S3 (từ 3,68 giảm xuống 1,39) và PC (từ 1,45 giảm xuống 0,50), sau đó SOD tăng dần trở lại cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Hoạt động SOD ở nghiệm thức NC (1,45-1,47) tương đối ổn định từ đầu đến khi kết thúc thí nghiệm (Hình 3.18).



Hình 3.18. Hoạt động SOD của tôm thẻ chân trắng tại các thời điểm khác nhau sau khi gây nhiễm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*.

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Kết quả nghiên cứu cho thấy, hoạt động PO, RES và SOD đều có sự biến động rõ rệt theo thời gian sau khi gây nhiễm với vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Cả ba chỉ tiêu PO, RES và SOD đều có xu hướng giảm mạnh trong giai đoạn từ 24 đến 48 giờ sau gây nhiễm và đạt giá trị thấp nhất tại thời điểm 48 giờ, trước khi tăng dần trở lại từ 96 giờ cho đến khi kết thúc thí nghiệm. Đây là một quy luật đáp ứng miễn dịch thường gặp ở động vật thủy sản khi đối mặt với tác nhân gây bệnh [109], kết quả nghiên cứu phản ánh đúng bản chất động của phản ứng miễn dịch bẩm sinh của tôm đối với nhiễm trùng do vi khuẩn. Khi tác nhân gây bệnh xâm nhập, hệ thống miễn dịch bẩm sinh được hoạt hóa mạnh, kéo theo sự huy động nhanh chóng của hệ prophenoloxidase, quá trình thực bào và sự gia tăng sản sinh ROIs nhằm tiêu diệt vi khuẩn [167]. Trong giai đoạn này, PO được sử dụng liên tục cho quá trình melanin, các tế bào thực bào bị tiêu hao hoặc suy giảm chức năng do cường độ hoạt động cao, đồng thời SOD được huy động mạnh để trung hòa lượng ROIs gia tăng đột ngột. Việc

các cơ chế bảo vệ được kích hoạt với cường độ cao trong thời gian ngắn dẫn đến hiện tượng tiêu hao chức năng tạm thời, làm cho hoạt tính PO, RES và SOD giảm rõ rệt. Bên cạnh đó, độc lực của vi khuẩn cùng với stress sinh học và tổn thương tế bào máu trong giai đoạn nhiễm khuẩn cấp tính cũng góp phần làm suy giảm khả năng duy trì hoạt động của các hệ thống này [57, 173].

Từ thời điểm 96 giờ trở đi, hoạt động PO, RES và SOD ở các nghiệm thức có xu hướng tăng dần trở lại và tiếp tục phục hồi cho đến cuối thí nghiệm. Diễn biến này cho thấy cơ thể tôm bắt đầu chuyển từ pha đáp ứng cấp tính sang pha thích nghi và phục hồi sinh lý. Ở giai đoạn này, áp lực từ tác nhân gây bệnh giảm dần, đồng thời diễn ra quá trình tái tổng hợp enzyme, tái tạo tế bào máu và phục hồi chức năng của hệ miễn dịch. Sự phục hồi của SOD còn phản ánh việc tái lập trạng thái cân bằng oxy hóa khử nội bào sau giai đoạn stress oxy hóa mạnh. Việc các chỉ tiêu tăng dần trở lại chứng tỏ hệ miễn dịch của tôm có khả năng điều hòa động, trong đó các cơ chế phòng vệ ban đầu tuy bị suy giảm tạm thời do tiêu hao chức năng nhưng sau đó được phục hồi khi cơ thể từng bước kiểm soát được tác nhân gây bệnh.

Những phát hiện của nghiên cứu này phù hợp với các báo cáo trước đây cho thấy hệ thống miễn dịch của tôm bị suy yếu sau khi nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*. Sự ức chế miễn dịch này được chứng minh bằng sự suy giảm ban đầu, sau đó là phục hồi và ổn định, trong các thông số miễn dịch như THC, hoạt động PO, RES và SOD. Muharrama và cộng sự (2021) đã báo cáo rằng ở tôm thẻ chân trắng (trọng lượng trung bình $10,81 \pm 1,40$ g) được tiêm *V. parahaemolyticus* ở nồng độ $6,7 \times 10^6$ CFU/ml (100 μ L/cá thể), sự giảm THC, hoạt động PO và hoạt động RES đã được quan sát thấy bắt đầu từ 6 giờ sau khi nhiễm trùng [109]. Tương tự như vậy, Yildirim và cộng sự (2022) đã quan sát thấy sự giảm đáng kể THC ở tôm thẻ chân trắng (trọng lượng trung bình 12 g) trong vòng 6-24 giờ sau khi tiêm *V. parahaemolyticus* với liều lượng 10^2 - 10^3 CFU / cá thể [186]. Trong một nghiên cứu khác, Harlina và cộng sự (2024) đã chứng minh rằng tôm thẻ chân trắng (trọng lượng trung bình 7,0 g) được tiêm vi khuẩn *V. parahaemolyticus* (10^4 CFU/ml, 0,1 ml / cá thể) biểu hiện sự giảm THC vào ngày thứ 2 sau khi nhiễm trùng, tăng dần vào ngày

thứ 4. Hoạt động PO cũng giảm tương tự vào ngày thứ 2, đạt mức tối thiểu vào ngày thứ 4, sau đó tăng mạnh vào ngày thứ 8, duy trì tương đối ổn định cho đến ngày thứ 14 [48]. Trong nghiên cứu hiện tại, xu hướng tương tự về sự ức chế ban đầu, sau đó là phục hồi một phần đã được quan sát thấy ở THC, GC, HC, PO, RES và SOD của tôm trong cả nghiệm thức S3 và PC sau khi gây nhiễm với *V. parahaemolyticus*.

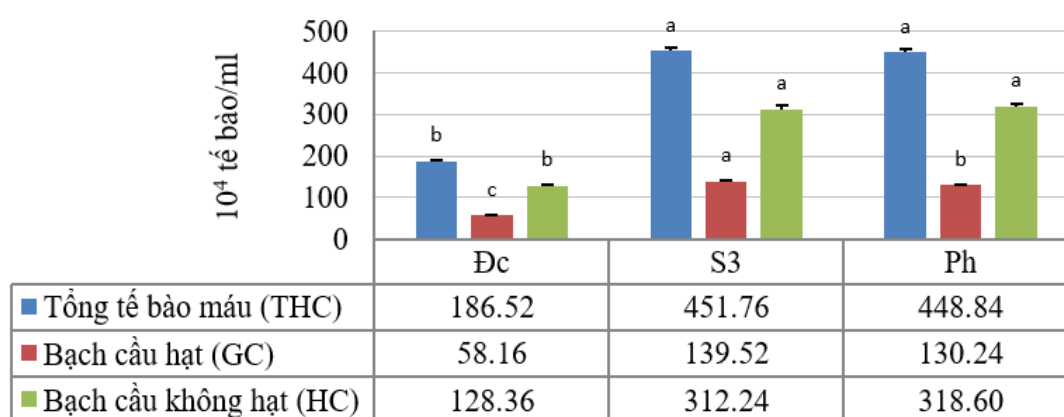
Mặc dù THC, GC, HC, PO, RES và SOD của tôm bị suy giảm sau khi tiếp xúc với *V. parahaemolyticus*, nhưng các chỉ tiêu miễn dịch này ở nghiệm thức S3 vẫn duy trì cao hơn đáng kể so với nhóm PC và NC trong suốt quá trình thí nghiệm. Điều này cho thấy khả năng phục hồi được cải thiện và chức năng miễn dịch phục hồi nhanh hơn, tác dụng kích thích miễn dịch, sự điều chỉnh hiệu quả các phản ứng oxy hóa, có thể bảo vệ tôm khỏi tổn thương oxy hóa trong quá trình phản ứng miễn dịch, góp phần vào sức khỏe tổng thể và khả năng đề kháng với vi khuẩn gây bệnh. Ngược lại, nhóm PC và NC cho thấy các thông số miễn dịch thấp hơn liên tục và phục hồi chậm, nhấn mạnh khả năng dễ bị tổn thương của tôm chưa được xử lý đối với nhiễm trùng *V. parahaemolyticus*. Hoạt động miễn dịch tương đối ổn định nhưng thấp của nhóm NC cho thấy kích thích miễn dịch hạn chế khi không có gây nhiễm vi khuẩn hoặc tác động của SCFP. Nhìn chung, những phát hiện này ủng hộ vai trò của SCFP trong việc điều chỉnh phản ứng miễn dịch và tăng cường khả năng kháng bệnh ở tôm thẻ chân trắng *P. vannamei*. Các tác dụng kích thích miễn dịch được quan sát thấy có thể là kết quả của quá trình điều chỉnh tăng sinh tế bào máu do SCFP làm trung gian, kích hoạt các enzyme miễn dịch chính và cơ chế bảo vệ chống oxy hóa.

3.4. Ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng ở quy mô pilot

3.4.1. Kết quả chỉ số tế bào máu của tôm

Mật độ THC, GC và HC lần lượt ở nghiệm thức S3 ($451,76 \times 10^4$ tế bào/ml, $139,52 \times 10^4$ tế bào/ml, $312,24 \times 10^4$ tế bào/ml) và nghiệm thức Ph ($448,84 \times 10^4$ tế bào/ml, $130,24 \times 10^4$ tế bào/ml, $318,60 \times 10^4$ tế bào/ml) đều cao hơn so với nghiệm thức Đc ($186,52 \times 10^4$ tế bào/ml, $58,16 \times 10^4$ tế bào/ml, $128,36 \times 10^4$ tế bào/ml) ($p < 0,05$).

Giữa nghiệm thức S3 và Ph, không có sự khác biệt về mật độ THC và HC nhưng lại có sự sai khác về mật độ GC. Mật độ GC ở nghiệm thức S3 cao hơn có ý nghĩa so với nghiệm thức Ph ($p < 0,05$) (Hình 3.19).



Hình 3.19. THC, GC và HC của tôm thẻ chân trắng sau 45 ngày ở quy mô pilot

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Tổng số tế bào máu (THC), bao gồm bạch cầu hạt (GC) và bạch cầu không hạt (HC) đại diện cho các thành phần tế bào chính trong huyết tương tôm, tham gia vào các quá trình liên quan đến miễn dịch quan trọng, bao gồm đông tụ, bao bọc, hình thành nốt sần, thực bào và kích hoạt hệ thống prophenoloxidase (proPO) [13, 21]. Sự gia tăng đáng kể các chỉ số tế bào máu (THC, GC, HC) trong các nghiệm thức S3 và Ph so với nghiệm thức đối chứng cho thấy phản ứng miễn dịch bẩm sinh được tăng cường ở tôm thẻ chân trắng khi được bổ sung SCFP và phytogenics.

Những kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây. Bai và cộng sự (2010) đã báo cáo số lượng THC và GC tăng lên ở tôm thẻ chân trắng được cho ăn chế độ ăn bổ sung beta-glucan từ *S. cerevisiae* [14]. Tương tự, Deng và cộng sự (2013) cũng quan sát thấy sự gia tăng đáng kể THC ở tôm thẻ chân trắng sau khi bổ sung *S. cerevisiae* [32]. Rivera và cộng sự (2019) cũng báo cáo mức THC cao hơn ở tôm được cho ăn chế độ ăn bổ sung hỗn hợp fructo-oligosaccharides (FOS) kết hợp *S. cerevisiae* so với nhóm đối chứng [131]. Hơn nữa, Kesselring và cộng sự (2020) đã chứng minh rằng việc bổ sung 0,02-0,04% phytogenics vào chế độ ăn làm tăng đáng

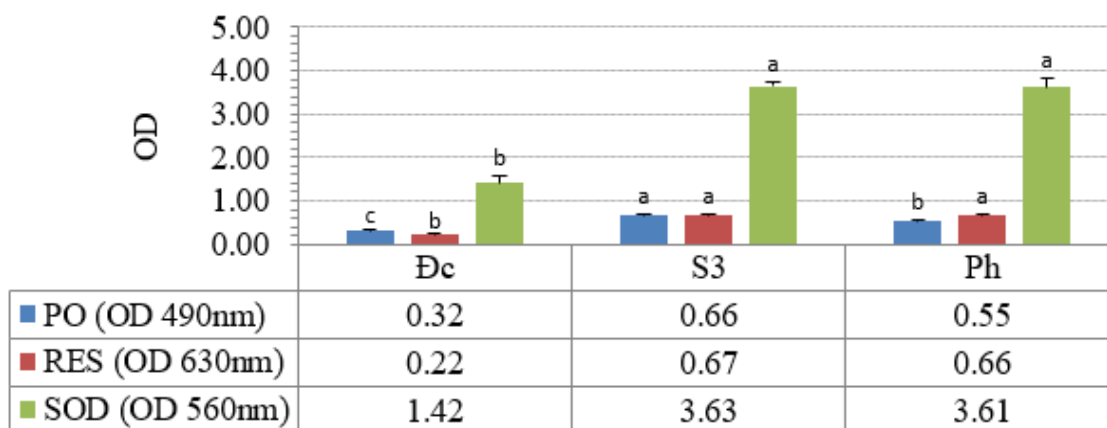
kể THC ở tôm thẻ chân trắng sau 63 ngày cho ăn [67]. Những nghiên cứu này đã cho thấy rằng việc bổ sung các chất sinh học tự nhiên vào khẩu phần ăn của tôm không chỉ cải thiện chỉ số miễn dịch mà còn có thể làm giảm tỷ lệ bệnh tật và tăng năng suất nuôi. Ngoài ra, việc tăng cường hệ miễn dịch bẩm sinh còn giúp tôm đối phó hiệu quả hơn với các yếu tố stress môi trường như biến động nhiệt độ, ô nhiễm và mật độ nuôi cao, các yếu tố thường gây suy giảm sức khỏe và làm tăng nguy cơ bùng phát dịch bệnh.

Mặc dù THC và HC không khác nhau giữa các nghiệm thức S3 và Ph, nhưng GC trong nghiệm thức S3 lại cao hơn đáng kể so với nghiệm thức Ph. GC đóng vai trò thiết yếu trong các phản ứng miễn dịch không đặc hiệu, đặc biệt là trong các cơ chế thực bào và kích hoạt hệ thống prophenoloxidase, các yếu tố quan trọng trong việc bảo vệ tôm khỏi các tác nhân gây bệnh [37, 63]. Số lượng GC tăng cao ở nhóm S3 phản ánh khả năng miễn dịch được cải thiện, có thể là do tác dụng điều hòa miễn dịch của SCFP, được biết là chứa beta-glucan, mannan oligosaccharide và enzyme tiêu hóa. Các hợp chất này có thể kích thích hoạt động của tế bào máu, tăng cường sức khỏe đường ruột, tăng khả năng hấp thụ chất dinh dưỡng và sức đề kháng của vật chủ. Phytogenics cũng cho thấy tác động tích cực lên các thông số tế bào máu, mặc dù mật độ GC thấp hơn so với SCFP. Điều này có thể do cơ chế tác động khác nhau của các hợp chất thực vật, chủ yếu là thông qua các hoạt chất phenolic, flavonoid có tác dụng chống oxy hóa và chống viêm, giúp giảm stress và cải thiện trạng thái miễn dịch tổng thể [67]. Tuy nhiên, tác dụng kích thích miễn dịch trực tiếp của chúng lên GC có thể kém rõ rệt hơn so với SCFP.

3.4.2. Kết quả hoạt động một số enzyme miễn dịch

Hoạt động của các enzyme liên quan đến miễn dịch, bao gồm phenoloxidase (PO), respiratory burst (RES) và superoxide dismutase (SOD), cao hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở cả nghiệm thức SCFP (S3) và phytogenics (Ph) so với nghiệm thức đối chứng. Trong số này, hoạt động PO ở nghiệm thức S3 (0,66) cao hơn đáng kể so với nghiệm thức Ph (0,55). Tuy nhiên, không có sự sai khác có ý nghĩa về hoạt

động RES và SOD giữa nghiệm thức S3 (0,67; 3,63) và nghiệm thức Ph (0,66; 3,61) ($p > 0,05$) (Hình 3.20).



Hình 3.20. Hoạt động PO, RES, SOD của tôm thẻ chân trắng sau 45 ngày ở quy mô pilot

Ghi chú: Thanh sai số biểu thị độ lệch chuẩn. Các cột được đánh dấu bằng các chữ cái khác nhau biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức ($p < 0,05$).

Ở giáp xác, miễn dịch bẩm sinh cấu thành cơ chế phòng vệ chính và nhiều dấu ấn sinh học như tổng protein huyết tương, glucose, hoạt động phosphatase kiềm, thời gian đông máu, hoạt động prophenoloxidase (proPO), tạo ra các dạng oxy phản ứng (reactive oxygen species, ROS) và peptide kháng khuẩn đã được sử dụng làm chỉ số đáng tin cậy về khả năng miễn dịch sau khi tiếp xúc với chất kích thích miễn dịch hoặc các mô hình phân tử liên quan đến mầm bệnh (PAMP) [11]. Trong số này, hoạt động PO đóng vai trò là thành phần trung tâm của phản ứng miễn dịch bẩm sinh, hoạt động như một sản phẩm hạ nguồn của hệ thống proPO. Việc kích hoạt chuỗi phản ứng này không chỉ gây ra sự hình thành sắc tố mà còn làm trung gian cho một số phản ứng gây độc tế bào, bao gồm việc tạo ra các chất trung gian phản ứng, thực bào và hình thành nốt sần, các quá trình cần thiết cho việc nhận diện, bao bọc và trung hòa các mầm bệnh [11]. Hoạt động PO cao hơn được quan sát thấy ở nhóm S3 tương ứng với số lượng GC tăng đáng kể, xác nhận thêm vai trò quan trọng của các tế bào hạt trong việc trung gian các chức năng miễn dịch liên quan đến PO. GC được biết là lưu trữ và giải phóng proPO và các phân tử hiệu ứng khác khi được kích thích miễn dịch [11]. Do đó, mức GC tăng cường ở tôm được cho ăn chế độ ăn bổ sung SCFP có thể

giải thích phản ứng PO mạnh mẽ hơn, cho thấy khả năng chuẩn bị tốt hơn của hệ thống miễn dịch của tôm chống lại sự tấn công của mầm bệnh tiềm ẩn.

SCFP chứa các thành phần có hoạt tính sinh học như beta-glucan, mannan oligosaccharide và các chất chuyển hóa lên men. Các thành phần này được báo cáo là kích thích hoạt động của tế bào máu, tăng cường sức khỏe đường ruột và thúc đẩy khả năng miễn dịch toàn thân. Các hợp chất này có thể liên kết với các thụ thể nhận dạng mẫu trên các tế bào miễn dịch, kích hoạt các con đường truyền tín hiệu liên quan đến quá trình chuyển đổi proPO và tuyển dụng tế bào miễn dịch [22, 91]. Ngược lại, phytogenics, mặc dù có lợi thông qua tác dụng chống oxy hóa và chống viêm, có thể hoạt động thông qua các cơ chế khác nhau và dường như tạo ra tác dụng kích thích miễn dịch nhẹ hơn đối với hoạt động của GC và PO.

Kết quả của nghiên cứu này cho thấy rằng việc bổ sung postbiotics từ *S. cerevisiae* có thể hiệu quả hơn phytogenics từ thực vật trong việc tăng cường các phản ứng miễn dịch bẩm sinh ở tôm, đặc biệt là những phản ứng liên quan đến thành phần tế bào máu như GC và enzyme miễn dịch như PO. Những kết quả này nhấn mạnh tiềm năng ứng dụng của SCFP như một loại phụ gia thức ăn chức năng để kích thích đáp ứng miễn dịch và quản lý sức khỏe trong nuôi trồng thủy sản, đặc biệt là nuôi tôm.

3.4.3. Kết quả tăng trưởng, tỷ lệ sống của tôm

Kết quả đánh giá hiệu suất tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm sau 45 ngày thí nghiệm cho thấy, không có sự khác biệt đáng kể giữa các nghiệm thức thí nghiệm về trọng lượng cơ thể cuối cùng (Wf), tăng trọng (Wg), tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR), tốc độ tăng trưởng trung bình hàng ngày (ADG) và tỷ lệ sống (SR). Các giá trị ghi nhận dao động từ 5,02 đến 5,04g đối với Wf, 3,50 đến 3,51g đối với Wg, 2,65 đến 2,66 %/ngày đối với SGR, 0,077 đến 0,078 g/ngày đối với ADG và 91,17 đến 91,33% đối với SR (Bảng 3.4).

Bảng 3.4. Các thông số tăng trưởng và tỷ lệ sống của tôm thẻ chân trắng sau 45 ngày thí nghiệm nuôi ở quy mô pilot

Các thông số	Thí nghiệm thức thí nghiệm		
	Đc	S3	Ph
Wi (g)	1,52 ± 0,20 ^a	1,52 ± 0,20 ^a	1,52 ± 0,20 ^a
Wf (g)	5,02 ± 0,13 ^a	5,04 ± 0,10 ^a	5,03 ± 0,13 ^a
Wg (g)	3,50 ± 0,13 ^a	3,52 ± 0,10 ^a	3,51 ± 0,13 ^a
ADG (g/day)	0,077 ± 0,003 ^a	0,078 ± 0,002 ^a	0,078 ± 0,003 ^a
SGR _w (%/day)	2,65 ± 0,06 ^a	2,66 ± 0,06 ^a	2,66 ± 0,05 ^a
SR (%)	91,29 ± 0,59 ^a	91,17 ± 0,76 ^a	91,33 ± 0,40 ^a

Giá trị là giá trị trung bình của ba lần lặp ± độ lệch chuẩn. Các chữ cái mũ khác nhau trên cùng một hàng biểu thị kết quả khác biệt đáng kể giữa các thí nghiệm thức ($p < 0,05$).

Những nghiên cứu ứng dụng postbiotics từ *S. cerevisiae* trong nuôi trồng thủy sản hiện nay vẫn còn rất hạn chế [31]. Tuy nhiên, *S. cerevisiae* và chiết xuất của chúng như beta-glucan, mannan oligosaccharides và nucleotide đã được chứng minh là nâng cao hiệu suất tăng trưởng, cải thiện tăng cân, tốc độ tăng trưởng cụ thể, tỷ lệ chuyển đổi thức ăn và khả năng sống sót của tôm. Zhang và cộng sự (2012) đã nghiên cứu tác động của mannan oligosaccharide (MOS) có nguồn gốc từ thành tế bào của *S. cerevisiae* đến hiệu suất tăng trưởng của tôm thẻ chân trắng. Sau thử nghiệm cho ăn 8 tuần, tăng trọng (Wg) và tốc độ tăng trưởng đặc trưng (SGR) cao hơn đáng kể ($p < 0,05$) ở tôm được cho ăn chế độ ăn bổ sung MOS 2,0 g/kg so với tôm được cho ăn chế độ ăn đối chứng [189]. Tỷ lệ sống sót (SR) của tôm tương tự nhau trong tất cả các nhóm thử nghiệm. Một nghiên cứu khác của Deng và cộng sự (2013) cho thấy, khi bổ sung *S. cerevisiae* từ 1,0 -1,5 g/kg vào chế độ ăn của tôm thẻ chân trắng trong thời gian 60 ngày đã nâng cao được sản lượng cuối cùng và tỷ lệ chuyển đổi thức ăn của tôm tốt hơn so với đối chứng [32]. Nghiên cứu tương tự của Jin và cộng sự (2018), bổ sung của 1% *S.cerevisiae* trong chế độ ăn của tôm trong 8 tuần đã cải thiện đáng

kể về trọng lượng cuối cùng, tỷ lệ tăng trọng, tỷ lệ tăng trưởng riêng, tỷ lệ sống sót và tỷ lệ chuyển đổi thức ăn của tôm so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$) [62].

Gần đây nhất là nghiên cứu của Prabhu và cộng sự (2025), thí nghiệm cho ăn kéo dài 60 ngày đã được thực hiện để đánh giá tác động của SCFP với hàm lượng 0,25; 0,35; 0,45% bổ sung trong khẩu phần ăn đối với hiệu suất tăng trưởng, khả năng sử dụng chất dinh dưỡng, hoạt động của enzyme tiêu hóa và khả năng kháng bệnh chống lại *V. parahaemolyticus* ở tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*), kết quả cho thấy tôm được cho ăn chế độ ăn SCFP 0,35% có mức tăng trọng, tốc độ tăng trưởng trung bình hàng ngày, tốc độ tăng trưởng cụ thể, tỷ lệ hiệu quả protein và tỷ lệ hiệu quả lipid cao hơn đáng kể ($p < 0,05$) so với tôm được cho ăn các chế độ ăn thử nghiệm khác. Thành phần dinh dưỡng toàn thân của tôm *P. vannamei* không bị ảnh hưởng đáng kể bởi việc bổ sung SCFP trong khẩu phần ăn. Hoạt tính protease tăng đáng kể ở ruột, trong khi hoạt tính amylase và protease tăng đáng kể ở gan tụy của tôm được cho ăn chế độ ăn SCFP 0,35 so với nhóm đối chứng. Hơn nữa, tôm được cho ăn các khẩu phần có chứa các mức SCFP khác nhau đã tăng cường khả năng kháng bệnh chống lại *V. parahaemolyticus*. Tỷ lệ tử vong tích lũy thấp hơn đáng kể trong thử nghiệm gây bệnh cho tôm bằng *V. parahaemolyticus* đã được quan sát thấy ở tôm được cho ăn khẩu phần SCFP 0,35% và SCFP 0,45% so với khẩu phần đối chứng [122]. Tương tự như vậy, chất phụ gia phytogenics được sử dụng trong nghiên cứu hiện tại, Biomin® P.E.P. MGE 150, một hỗn hợp thương mại của các loại tinh dầu thực vật trước đây đã được chứng minh là thúc đẩy tăng trưởng, phát huy tác dụng kháng khuẩn và tăng cường chức năng miễn dịch ở tôm [66, 67].

Trong nghiên cứu này, không quan sát thấy sự khác biệt đáng kể về hiệu suất tăng trưởng, bao gồm trọng lượng cuối (Wf), tăng trọng (Wg), tốc độ tăng trưởng cụ thể (SGR) và trọng lượng trung bình hàng ngày (ADG), cũng như tỷ lệ sống (SR) giữa tôm được cho ăn chế độ ăn bổ sung SCFP (S3) hoặc phytogenics (Ph) so với nhóm đối chứng ($p > 0,05$). Các nghiên cứu trước đây báo cáo về sự cải thiện các chỉ số tăng trưởng sau khi bổ sung các sản phẩm có nguồn gốc từ *S. cerevisiae* hoặc các

hợp chất phytogetic thường thử nghiệm thời gian cho ăn dài hơn, từ 56 đến 60 ngày [31, 32, 62, 66, 67, 122 189], trong khi thử nghiệm hiện tại chỉ kéo dài 45 ngày. Khoảng thời gian thí nghiệm của chúng tôi có thể chưa đủ để phát hiện các khác biệt có thể đo lường được hoặc có ý nghĩa thống kê về tăng trưởng. Hơn nữa, hiệu quả tăng trưởng của tôm còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố, bao gồm tuổi tôm, điều kiện môi trường và mật độ nuôi, do đó sự cải thiện tăng trưởng có thể không được thể hiện rõ trong một khoảng thời gian ngắn. Trên cơ sở kết quả này, có thể thấy việc bổ sung SCFP (S3) và phytogenics (Ph) vào chế độ ăn trong 45 ngày chưa dẫn đến cải thiện tốc độ tăng trưởng của tôm thể chân trắng với trọng lượng cơ thể trung bình ban đầu là 1,52 g/con. Do đó, đối với những thí nghiệm đánh giá tăng trưởng, cần thiết tiến hành với khoảng thời gian theo dõi dài hơn để thấy rõ được bức tranh ảnh hưởng lên hiệu quả tăng trưởng của tôm.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. Kết luận

1. Bổ sung postbiotics, sản phẩm lên men từ *Saccharomyces cerevisiae* (SCFP), vào chế độ ăn của tôm ở mức 0,35-0,45% có hiệu quả trong việc tăng cường đáp ứng miễn dịch bẩm sinh ở tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*), đồng thời không ảnh hưởng đến hiệu suất tăng trưởng. SCFP cải thiện đáng kể các chỉ số tế bào máu (THC, GC, HC) và hoạt động của các enzyme miễn dịch PO, RES và SOD.

2. Chủng vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* CED12020 là chủng có độc lực mạnh nhất trong số chín chủng được khảo sát, mang cả hai gene độc tố *pirA^{vp}*, *pirB^{vp}* và biểu hiện hoạt tính cao của các enzyme ngoại độc tố hemolysin, phospholipase và lipase. Chủng CED12020 gây bệnh và tỷ lệ tử vong cao ở tôm thẻ chân trắng cỡ 5-6 g/con, với LD₅₀ được xác định là $3,0 \times 10^5$ CFU/ml.

3. Bổ sung 0,45% SCFP trong chế độ ăn đã tăng cường đáng kể khả năng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng chống lại vi khuẩn *V. parahaemolyticus* CED12020. Tỷ lệ sống sót sau 15 ngày gây nhiễm vi khuẩn của nhóm SCFP đạt 82,15%, cao hơn đáng kể so với nhóm đối chứng dương (45,94%) và các tổn thương mô gan tụy, mang và ruột ở nhóm SCFP ít nghiêm trọng hơn. Tôm trong nhóm SCFP duy trì số lượng THC, GC, HC cao cùng với hoạt động PO, RES và SOD vượt trội so với đối chứng. SCFP thúc đẩy phản ứng miễn dịch bẩm sinh mạnh mẽ, nhanh chóng và hỗ trợ hiệu quả cả giai đoạn phòng ngừa trước khi nhiễm trùng và phục hồi sau khi nhiễm trùng.

4. Bổ sung postbiotics (0,45% SCFP) hoặc phytogenics (0,02% tinh dầu thực vật) vào chế độ ăn của tôm thẻ chân trắng trong thời gian thử nghiệm 45 ngày không cải thiện hiệu suất tăng trưởng của tôm. Tuy nhiên, cả hai chế độ bổ sung đều cải thiện đáng kể các chỉ số miễn dịch (THC, GC, HC, PO, RES, SOD) so với nhóm đối chứng, trong đó SCFP cho thấy hiệu quả kích thích miễn dịch vượt trội, đặc biệt là về số lượng GC và hoạt động PO.

2. Kiến nghị

1. Trên cơ sở các kết quả thu được, SCFP một sản phẩm postbiotics có nguồn gốc từ quá trình lên men *Saccharomyces cerevisiae*, có thể được xem xét như một chất phụ gia thức ăn tiềm năng nhằm tăng cường khả năng miễn dịch ở tôm thẻ chân trắng. Trong bối cảnh nuôi trồng thủy sản thâm canh ngày càng chịu nhiều tác động từ các yếu tố stress môi trường và nguy cơ bùng phát dịch bệnh, việc bổ sung SCFP vào khẩu phần ăn của tôm được đề xuất như một chiến lược quản lý bền vững và hiệu quả, góp phần cải thiện quản lý sức khỏe tôm và giảm sự phụ thuộc vào kháng sinh trong quá trình sản xuất.

2. Nghiên cứu cần tiếp tục thực hiện, tập trung nghiên cứu về biến đổi mô bệnh học của tôm trước và sau khi gây nhiễm với vi khuẩn ở từng thời điểm, để làm sáng tỏ tác dụng của SCFP đối với việc duy trì tính toàn vẹn của mô dưới tác động căng thẳng gây bệnh. Bên cạnh đó, cần có thêm những nghiên cứu sâu hơn về các cơ chế miễn dịch, liên quan đến biểu hiện gene được kích hoạt bởi SCFP ở tôm. Đồng thời, cần tiến hành các thí nghiệm với thời gian nuôi kéo dài hơn 45 ngày để đánh giá đầy đủ ảnh hưởng của SCFP đến hiệu quả tăng trưởng của tôm, cũng như đánh giá tác động lâu dài của việc bổ sung SCFP trong nuôi tôm thẻ chân trắng ở điều kiện sản xuất, để cung cấp một giải pháp thay thế bền vững cho kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH KHOA HỌC CỦA TÁC GIẢ
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

- 1. Nguyen Thi Bien Thuy**, Victor Nsereko, Jarin Sawanboonchun, Nguyen Thi Nguyen, Tran Van Tuan, Dang Thi Lua (2025), “Immune response and resistance against *Vibrio parahaemolyticus* in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) by dietary supplementation of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation-derived postbiotics (SCFP)”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 165, 110484. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2025.110484>. Tạp chí WoS/Scopus, Q1 (IF 4.2).
- 2. Nguyen Thi Bien Thuy**, Tran Van Tuan, Do Xuan Hai, Victor Nsereko, Dang Thi Lua (2025), “Effects of dietary supplementation with a postbiotics and phytochemicals formulation on growth performance and immune responses of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*)”, *Comparative Immunology Reports*, Vol. 9, 200242. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cirep.2025.200242>. Tạp chí WoS/Scopus, Q2 (IF 2.4).
- 3. Nguyễn Thị Biên Thùy**, Nguyễn Thị Hạnh, Lê Thị Mỹ, Trần Văn Tuấn, Đặng Thị Lua (2025), “Điều tra độc lực vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm thẻ chân trắng”, *Khoa học và Công nghệ - TNU Journal of Science and Technology*, Số 230 (10), tr: 71-78. Doi: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.11819>.
- 4. Nguyễn Thị Biên Thùy**, Trần Văn Tuấn, Lê Văn Khôi, Đặng Thị Lua (2026), “Ảnh hưởng của postbiotics có nguồn gốc từ *Saccharomyces cerevisiae* đến chỉ số tế bào máu và một số enzyme miễn dịch của tôm thẻ chân trắng”, *Khoa học và Công nghệ - TNU Journal of Science and Technology, Chuyên san khoa học Nông nghiệp - Lâm nghiệp - Y dược*, Số 231 (5), tr: 153-160. Doi: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.13561>.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tiếng Việt

1. Đặng Thị Lua, Kim Văn Vạn, Nguyễn Thị Hạnh (2025), *Bệnh hoại tử gan tụy cấp tính trên tôm nuôi nước lợ*, NXB Học Viện Nông nghiệp, 107 trang.
2. Đặng Thị Lua, Nguyễn Viết Khuê, Phan Thị Vân (2016), “Non-Vibrio parahaemolyticus gây bệnh hoại tử gan tụy cấp (AHPND) trên tôm nuôi”, *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, Tập 11 (1), tr. 96-100.
3. Nguyễn Ngọc Phước, Nguyễn Thị Xuân Hồng, Nguyễn Công Chung (2020), “Nghiên cứu các yếu tố độc lực của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) trên tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vanamei*) nuôi tại tỉnh Thừa Thiên Huế”. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, Tập 18 (3), tr. 202-211.
4. Võ Văn Tuấn, Nguyễn Thị Thanh Trúc, Võ Thị Thanh Bình (2018), “Đáp ứng miễn dịch bẩm sinh của tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) gây bệnh hoại tử gan tụy cấp tính do vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây ra trên tôm sú thực nghiệm”, *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển*, Tập 18, tr. 80-88
5. Phan Thị Vân và ctv (2017). *Báo cáo tổng kết đề tài nghiên cứu cấp bộ “Nghiên cứu vật mang virus đốm trắng gây bệnh trên tôm nuôi nước lợ và đề xuất giải pháp kiểm soát”*. Viện nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản I.

Tiếng Anh

6. Abass, D., Obirikorang, K., Champion, B., Edziyie, R., & Skov, P. (2018), “Dietary supplementation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) improves growth, stress tolerance, and disease resistance in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)”, *Journal of the European Aquaculture Society*, Vol. 26, pp. 843–855.
7. Abbasi, A., Rad, A. H., Ghasempour, Z., Sabahi, S., Kafil, H. S., Hasannezhad, P., Rahbar Saadat, Y., & Shahbazi, N. (2022), “The biological activities of postbiotics in gastrointestinal disorders”, *Critical Reviews in Food Science and*

Nutrition, Vol. 62 (22), pp. 5983–6004.

8. Abdel-Latif, H. M., Yilmaz, E., Dawood, M. A., Ringø, E., Ahmadifar, E., & Yilmaz, S. (2022). Shrimp vibriosis and possible control measures using probiotics, postbiotics, prebiotics, and synbiotics: A review. *Aquaculture*, Vol. 551, 737951.
9. Agboola, J. O., Øverland, M., Skrede, A., & Hansen, J. Ø. (2020), “Yeast as major protein-rich ingredient in aquafeeds: A review of the implications for aquaculture production”, *Reviews in Aquaculture*, Vol. 13 (2), pp. 949–970.
10. Ai, Y., Cai, X., Liu, L., Li, J., Long, H., Ren, W., Huang, A., Zhang, X., & Xie, Z. Y. (2022), “Effects of different dietary preparations of *Enterococcus faecalis* F7 on the growth and intestinal microbiota of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*)”, *Aquaculture Research*, Vol. 53 (8), pp. 3238–3247.
11. Amparyup, P., Charoensapsri, W., & Tassanakajon, A. (2013), “Prophenoloxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 34 (4), pp. 990–1001.
12. Austin, B., Austin, D., Sutherland, R., Thompson, F., & Swings, J. (2005), “Pathogenicity of vibrios to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) and *Artemia nauplii*”, *Environmental Microbiology*, Vol. 7, 1488–1495.
13. Bai, N., Gu, M., Zhang, W., Xu, W., & Mai, K. (2014), “Effects of β -glucan derivatives on the immunity of white shrimp *Penaeus vannamei* and its resistance against white spot syndrome virus infection”, *Aquaculture*, Vol. 426–427, pp. 66–73.
14. Bai, N., Zhang, W., Mai, K., Wang, X., Xu, W., & Ma, H. (2010), “Effects of discontinuous administration of β -glucan and glycyrrhizin on the growth and immunity of white shrimp, *Penaeus vannamei*”, *Aquaculture*, Vol 306 (1-4), pp. 218–224.
15. Ballantyne, R., Lee, J.-W., Wang, S.-T., Lin, J.-S., Tseng, D.-Y., Liao, Y.-C., Chang, H.-T., Lee, T.-Y., & Liu, C.-H. (2023), “Dietary administration of a postbiotics, heat-killed *Pediococcus pentosaceus* PP4012 enhances growth

- performance, immune response and modulates intestinal microbiota of white shrimp, *Penaeus vannamei*”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 139, 108882.
16. Barman, D., & Nen, P. (2013), “Immunostimulants for aquaculture health management”, *Journal of Marine Science & Research Development*, Vol. 3 (3), 100013.
 17. Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971), “Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels”, *Analytical Biochemistry*, Vol. 44, pp. 276-286.
 18. Biswas, G., Korenaga, H., Nagamine, R., Kono, T., Shimokawa, H., Itami, T., & Sakai, M. (2012), “Immune stimulant effects of a nucleotide-rich baker’s yeast extract in the kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*”, *Aquaculture*, Vol. 366-367, pp. 40-45.
 19. Broberg, C. A., Calder, T. J., & Orth, K. (2011), “*Vibrio parahaemolyticus* cell biology and pathogenicity determinants”, *Microbes and Infection*, Vol. 13, pp. 992–1001.
 20. Campa-Córdova, A. I., Hernández-Saavedra, N. Y., & Ascencio, F. (2002), “Superoxide dismutase as modulator of immune function in American white shrimp (*Penaeus vannamei*)” *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, Vol. 133, pp. 557–565.
 21. Castex, M., Lemaire, P., Wabete, N., & Chim, L. (2010), “Effect of probiotics *Pediococcus axitilactici* on antioxidant defenses and oxidative stress of *Penaeus stylirostris* under *Vibrio nigripulchritudo* challenge”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 28 (4), pp. 622–631.
 22. Cerenius, L., & Söderhäll, K. (2004), “The prophenoloxidase-activating system in invertebrates”, *Immunological Reviews*, Vol. 198, pp. 116–126.
 23. Cesena, C. E., Vega-Villasante, F., Aguirre-Guzman, G., Luna-Gonzalez, A., & Campa-Cordova, A. (2021), “Update on the use of yeast in shrimp aquaculture: A minireview”, *International Aquatic Research*, Vol. 13(1), pp. 1–16.
 24. Chen, L. H., Lin, S. W., Liu, K. F., Chang, C. I., Hseu, J. R., & Tsai, J. M.

- (2016a), “Comparative proteomic analysis of *Penaeus vannamei* gills after vaccination with two WSSV structural proteins”, *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 49, pp. 306–314.
25. Costa, R. A., Amorim, L. M. C., Araujo, R. L., et al. (2013), “Multiple enzymatic profiles of *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from oysters”, *Revista Argentina de Microbiología*, Vol. 45 (4), pp. 267–270.
 26. Dadi, N. C. T., Yatip, P., Krataitong, K., Unagul, P., Suetrong, S., Preedanon, S., Klaysuban, A., Sangtiew, T., Sakayaroj, J., & Soowannayan, C. (2022). Culture medium from a marine endophytic fungus protects shrimp against acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Aquaculture*, Vol. 547, 737528.
 27. Dash, G., Raman, R. P., Pani Prasad, K., Makesh, M., Pradeep, M. A., & Sen, S. (2015), “Evaluation of paraprobiotics applicability of *Lactobacillus plantarum* in improving the immune response and disease protection in giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879)”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 43, pp. 60–67.
 28. Dawood, M. A. O., Magouz, F. I., Salem, M. F. I., Elbialy, Z. I., & Abdel-Daim, H. A. (2020), “Synergetic effects of *Lactobacillus plantarum* and β -glucan on digestive enzyme activity, intestinal morphology, growth, fatty acid, and glucose-related gene expression of genetically improved farmed tilapia”, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, Vol. 12 (2), pp. 389–399.
 29. De Gregorio, E., Spellman, P. T., Tzou, P., Rubin, G. M., & Lemaitre, B. (2002), “The Toll and Imd pathways are the major regulators of the immune response in *Drosophila*”, *The EMBO Journal*, Vol. 21, pp. 2568–2579.
 30. De Los Santos, M. V., Vibanco Pérez, N., Soto Rodríguez, S., Pereyra, A., Zenteno, E., & Cano Sánchez, P. (2020), “The B subunit of PirAB^{VP} toxin secreted from *Vibrio parahaemolyticus* causing AHPND is an amino sugar specific lectin”, *Pathogens*, Vol. 9 (3), 182.
 31. Del Valle, J. C., Bonadero, M. C., & Fernández-Gimenez, A. V. (2023), “*Saccharomyces cerevisiae* as probiotics, prebiotics, synbiotics, postbiotics and

- parabiotics in aquaculture: An overview”, *Aquaculture*, Vol. 569, 739342.
32. Deng, D., Mei, C., Mai, K., Tan, B. P., Ai, Q., & Ma, H. (2013), “Effects of a yeast-based additive on growth and immune responses of white shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone, 1931) and aquaculture environment”, *Aquaculture Research*, Vol. 44 (9), pp. 1348–1357.
 33. Dianawati, D., Mishra, V., & Shah, N. P. (2016), “Survival of microencapsulated probiotics bacteria after processing and during storage: A review”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 56, pp. 1685–1716.
 34. Dittoe, D. K., Ricke, S. C., & Kiess, A. S. (2018), “Organic acids and potential for modifying the avian gastrointestinal tract and reducing pathogens and disease”, *Frontiers in Veterinary Science*, Vol. 5, 216.
 35. Do Huu, H., & Jones, C. M. (2014), “Effects of dietary mannan oligosaccharide supplementation on juvenile spiny lobster *Panulirus homarus* (Palinuridae)”, *Aquaculture*, Vol. 432, pp. 258–264.
 36. Downs, C., Fauth, J. E., & Woodley, C. M. (2001), “Assessing the health of grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) exposed to natural and anthropogenic stressors: A molecular biomarker system”, *Marine Biotechnology*, Vol. 3, pp. 380–397.
 37. Fan, X., & Zhang, X. (2023), “Hallmarks of crustacean immune hemocytes at single-cell resolution”, *Frontiers in Immunology*, Vol. 14, 1121528.
 38. FAO (2023). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2023*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
 39. FAO (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
 40. Gainza, O., & Romero, J. (2020), “Effect of mannan oligosaccharides on the microbiota and productivity parameters of *Penaeus vannamei* shrimp under intensive cultivation in Ecuador”. *Scientific Reports*, Vol. 10 (1), pp. 1–12.
 41. Gamboa-Delgado, J., Fernández-Díaz, B., Nieto-López, M., & Cruz-Suárez, L. E. (2016), “Nutritional contribution of torula yeast and fishmeal to the growth of shrimp *Penaeus vannamei* as indicated by natural nitrogen stable isotopes”,

Aquaculture, Vol. 453 (20), pp. 116–121.

42. Giri, S. S., Jun, J. W., Yun, S., Kim, H. J., Kim, S. G., Kim, S. W., Woo, K. J., Han, S. J., Oh, W. T., Kwon, J., Sukumaran, V., & Park, S. C. (2020), “Effects of dietary heat-killed *Pseudomonas aeruginosa* strain VSG2 on immune functions, antioxidant efficacy, and disease resistance in *Cyprinus carpio*”, *Aquaculture*, Vol. 514, 734489.
43. Goh, J. X. H., Tan, T. H. L., Law, W. F. J., Ser, H. L., Khaw, K. Y., Letchumanan, V., Lee, L. H., & Goh, B. H. (2022), “Harnessing the potentialities of probiotics, prebiotics, synbiotics, paraprobiotics, and postbiotics for shrimp farming”, *Reviews in Aquaculture*, Vol. 14, pp. 1478–1557.
44. Guanzon, D. A. V., & Maningas, M. B. B. (2018), “Functional elucidation of LvToll 3 receptor from *Penaeus vannamei* through RNA interference and its potential role in the shrimp antiviral response”, *Developmental and Comparative Immunology*, Vol. 84, pp. 172–180.
45. Gupta, A. P. (2010), “Immunology of invertebrates: Humoral”, *In Encyclopedia of Life Sciences*. Chichester: Wiley.
46. Han, J. E., Choi, S. K., Han, S. H., Lee, S. C., Jeon, H. J., Lee, C., Kim, K. Y., Lee, Y. S., Park, S. C., Rhee, G., et al. (2020), “Genomic and histopathological characteristics of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from an acute hepatopancreatic necrosis disease outbreak in Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) cultured in Korea”, *Aquaculture*, Vol. 524, 735284.
47. Han, J. E., Tang, K. F. J., Tran, L. H., & Lightner, D. V. (2015), “*Photorhabdus* insect-related (Pir) toxin-like genes in a plasmid of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of shrimp”, *Diseases of Aquatic Organisms*, Vol. 113 (1), pp. 33–40.
48. Harlina, H., Rosmiati, R., Hamdillah, A., Syahrul, S., & Andriani, Y. (2024), “Growth performance, non-specific immune activity, and resistance against *Vibrio parahaemolyticus* of whiteleg shrimp fed dietary *Chromolaena odorata* leaf flour components”, *Fish & Aquatic Sciences*, Vol. 27 (7), pp. 434–446.

49. He, S., Zhou, Z., Liu, Y., Shi, P., Yao, B., Ring, E., & Yoon, I. (2009), “Effects of dietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product (DVAQUA) on growth performance, intestinal autochthonous bacterial community and non-specific immunity of hybrid tilapia cultured in cages”, *Aquaculture*, Vol. 294 (1-2), pp. 99–107.
50. Hernández-Cabanyero, C., Carrascosa, E., Jiménez, S., & Fouz, B. (2023), “Exploring the effect of functional diets containing phytobiotic compounds on whiteleg shrimp health: Resistance to acute hepatopancreatic necrotic disease caused by *Vibrio parahaemolyticus*”, *Animals*, Vol. 13 (8), 1354.
51. Hernandez-Granados, M. J., & Franco-Robles, E. (2020), “Postbiotics in human health: Possible new functional ingredients”, *Food Research International*, Vol. 137, 109660.
52. Hernández-López, T., Gollas-Galván, S., & Vargas-Albores, F. (1996), “Activation of the prophenoloxidase system of the brown shrimp (*Penaeus californensis* Holmes)”, *Comparative Biochemistry and Physiology*, Vol. 113 (1), pp. 61–66.
53. Hou, F., Liu, T., Wang, Q., Liu, Y., Sun, C., & Liu, X. (2017). Identification and characterization of two Croquemort homologues in penaeid shrimp *Penaeus vannamei*”, *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 60, pp. 1–5.
54. Hou, W. Y., & Chen, C. J. (2005), “The immunostimulatory effect of hot-water extract of *Gracilaria tenuistipitata* on the white shrimp *Penaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 19, pp. 127–138.
55. Huang, H. H., Liu, X. L., Xiang, J. H., & Wang, P. (2013), “Immune response of *Penaeus vannamei* after infection with *Vibrio harveyi*”, *Aquaculture*, Vol. 406-407, pp. 115–120.
56. Huang, Q., Zhu, Y., Yu, J., Fang, L., Li, Y., Wang, M., Liu, J., Yan, P., Xia, J., Liu, G., Yang, X., Zeng, J., & Ruan, G. (2022), “Effects of sulfated β -glucan from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, antioxidant ability,

- nonspecific immunity, and intestinal flora of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*)”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 127, pp. 891–900.
57. Huynh, T. G., Chiu, K. H., Chi, C. C., Cheng, C. C., & Liu, C. H. (2018a), “A synbiotics improves the immunity of white shrimp (*Penaeus vannamei*): Metabolomic analyses reveal compelling evidence”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 79, pp. 284–293.
 58. Huynh, T. G., Shiu, Y. L., Nguyen, T. P., Hien, T. T. T., & Liu, C. H. (2018b), “Effect of synbiotics containing *Lactobacillus plantarum* 7-40 and galactooligosaccharide on the growth performance of whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*)”, *Aquaculture Research*, Vol. 49, pp. 416–428.
 59. Islam, S. M. M., Siddik, M. A. B., Sørensen, M., Brinchmann, M. F., Thompson, K. D., Francis, D. S., & Vatsos, I. N. (2024), “Insect meal in aquafeeds: A sustainable path to enhanced mucosal immunity in fish”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 150, 109625.
 60. Istivan, T. S., & Coloe, P. J. (2006), “Phospholipase A in Gram-negative bacteria and its role in pathogenesis”, *Microbiology*, Vol. 152 (5), pp. 1263–1274.
 61. Jia, T., Liu, S., Yu, X., Xu, T., Xia, J., Zhao, W., Wang, W., Kong, J., & Zhang, Q. (2024), “Prevalence investigation of translucent post-larvae disease (TPD) in China”, *Aquaculture*, Vol. 583, 740583.
 62. Jin, M., Xiong, J., Zhou, Q., Yuan, Y., Wang, X., & Sun, P. (2018), “Dietary yeast hydrolysate and brewer’s yeast supplementation could enhance growth performance, innate immunity capacity and ammonia nitrogen stress resistance ability of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*)”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 82, pp. 121–129.
 63. Jiravanichpaisal, P., Lee, B. L., & Söderhäll, K. (2006), “Cell-mediated immunity in arthropods: Hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization”, *Immunobiology*, Vol. 211 (4), pp. 213–236.
 64. Jitvaropas, R., Amparyup, P., Gross, P. S., & Tassanakajon, A. (2009), “Functional characterization of a masquerade-like serine proteinase homologue

- from the black tiger shrimp *Penaeus monodon*”, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 153, pp. 236–243.
65. Jory, D. (2023), “Annual farmed shrimp production survey: A slight decrease in production reduction in 2023 with hopes for renewed growth in 2024”, *Global Seafood Alliance*. <https://www.globalseafood.org>.
 66. Kazempoor, R., Alavinezhad, S. S., Pargari, M. M., Shakeri, Y. S., & Haghighi, M. M. (2022), “A review on the application of phytogenics as feed additives for aquatic animals”, *International Journal of Aquatic Research and Environmental Studies*, Vol. 2 (2), pp. 46–78.
 67. Kesselring, J., Gruber, C., Standen, B., & Wein, S. (2020), “Effect of a phytogenics feed additive on the growth performance and immunity of Pacific whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) fed a low-fishmeal diet”, *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol. 52 (2), pp. 303–315.
 68. Khanjani, M. H., Mozanzadeh, M. T., Gisbert, E., & Hoseinifar, S. H. (2024), “Probiotics, prebiotics, and synbiotics in shrimp aquaculture: Their effects on growth performance, immune responses, and gut microbiome”, *Aquaculture Reports*, Vol. 38, 102362.
 69. Khimmakthong, U., & Sukkarun, P. (2017), “The spread of *Vibrio parahaemolyticus* in tissues of the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* analyzed by PCR and histopathology”, *Microbial Pathogenesis*, Vol. 113, pp. 107–112.
 70. Kumar R., Ng T.H., Wang H.C. (2020), “Acute hepatopancreatic necrosis disease in penaeid shrimp”, *Reviews in Aquaculture*, Vol. 12, pp.1867–1880.
 71. Kumar, V., Roy, S., Behera, B. K., Bossier, P., & Das, B. K. (2021), “Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): Virulence, pathogenesis and mitigation strategies in shrimp aquaculture”, *Toxins*, Vol. 13 (8), pp. 1–18.
 72. Lall, S. P., & Kaushik, S. J. (2021), “Nutrition and metabolism of minerals in fish”, *Animals*, Vol. 11 (9), 2711.
 73. Lauzon, H. L., Dimitroglou, A., Merrifield, D. L., Ringø, E., & Davies, S. J.

- (2014), “Probiotics and prebiotics: Concepts, definitions and history”, In *Aquaculture nutrition: Gut health, probiotics and prebiotics*, pp. 169–184.
74. Le Moullac, G., Le Groumellec, M., Ansquer, D., Froissard, S., & Aquacop, P. L. (1997), “Haematological and phenoloxidase activity changes in the shrimp *Penaeus stylirostris* in relation to the moult cycle: Protection against vibriosis”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 7, pp. 227–234.
 75. Le, N. T. T., Armstrong, C. W., Brækkan, E. H., & Eide, A. (2024), “Climatic events and disease occurrence in intensive *Penaeus vannamei* shrimp farming in the Mekong area of Vietnam” *Aquaculture*, Vol. 587, 740867.
 76. Lee, C. T., Chen, I. T., Yang, Y. T., et al. (2015), “The opportunistic marine pathogen *Vibrio parahaemolyticus* becomes virulent by acquiring a plasmid that expresses a deadly toxin”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 112 (34), 10798–10803.
 77. Lee, S. Y., & Söderhäll, K. (2002), “Early events in crustacean innate immunity”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 12 (5), pp. 421–437.
 78. Letchumanan, V., Chan, K.-G., & Lee, L.-H. (2014), “*Vibrio parahaemolyticus*: A review on the pathogenesis, prevalence, and advanced molecular identification techniques”, *Frontiers in Microbiology*, Vol. 5, 705.
 79. Li C, Wang S, He J (2019b), “The two NF- κ B pathways regulating bacterial and WSSV infection of shrimp”, *Frontiers in immunology*, Vol. 10, 1785.
 80. Li, C. C., Yeh, S. T., & Chen, J. C. (2008), “The immune response of white shrimp *Penaeus vannamei* following *Vibrio alginolyticus* injection”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 25 (6), pp. 853–860.
 81. Li, H., Chen, Y., Li, M., Wang, S., Zuo, H., Xu, X., et al. (2015b), “A C-type lectin (LvCTL4) from *Penaeus vannamei* is a downstream molecule of the NF- κ B signaling pathway and participates in antibacterial immune response”, *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 43, pp. 257–263.
 82. Li, H., Yin, B., Wang, S., Fu, Q., Xiao, B., Lǔ, K., et al. (2018a), “RNAi screening identifies a new Toll from shrimp *Penaeus vannamei* that restricts

- WSSV infection through activating Dorsal to induce antimicrobial peptides”, *PLoS Pathogens*, Vol. 14 (9), 1007109.
83. Li, X. J., Yang, L., Li, D., Zhu, Y. T., Wang, Q., & Li, W. W. (2018b), “Pathogen-specific binding soluble Down syndrome cell adhesion molecule (Dscam) regulates phagocytosis via membrane-bound Dscam in crab”, *Frontiers in Immunology*, Vol. 9, 801.
 84. Li, Y., Liu, H., Dai, X., Li, J., & Ding, F. (2018), “Effects of dietary inulin and mannan oligosaccharide on immune related genes expression and disease resistance of Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 76, pp. 78–92.
 85. Lia, L., Meng, H., Gu, D., Li, Y., & Jia, M. (2019), “Molecular mechanisms of *Vibrio parahaemolyticus* pathogenesis”, *Microbiological Research*, Vol. 222, pp. 43–51.
 86. Lightner, D. V. (1996), *A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp*, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana.
 87. Lightner, D. V. (2012), *Final report: Asia Pacific emergency regional consultation on the emerging shrimp disease Early Mortality Syndrome (EMS)/Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPND)*. Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific (NACA), Bangkok, Thailand.
 88. Lin, F. Y., Gao, Y., Wang, H., Zhang, Q. X., Zeng, C. L., & Liu, H. P. (2016), “Identification of an anti-lipopolysaccharide factor possessing both antiviral and antibacterial activity from the red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*”, *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 57, pp. 213–221.
 89. Lin, S.-J., Huang, J.-Y., Le, P.-T., Lee, C.-T., Chang, C.-C., Yang, Y.-Y., Su, E. C.-Y., Lo, C.-F., & Wang, H.-C. (2022), “Expression of the AHPND toxins PirA^{vp} and PirB^{vp} is regulated by components of the *Vibrio parahaemolyticus* quorum sensing (QS) system”, *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 23 (5), 2889.

90. Lin, X., & Söderhäll, I. (2011), “Crustacean hematopoiesis and the astakine cytokines”, *Blood*, Vol. 117, pp. 6417–6424.
91. Lin, Y. C., Vaseeharan, B., & Chen, J. C. (2008), “Identification and phylogenetic analysis on lipopolysaccharide and β -1,3-glucan binding protein (LGBP) of kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*”, *Developmental & Comparative Immunology*, Vol. 32 (11), pp. 1260–1269.
92. Liu, L., Li, J., Cai, X., Ai, Y., Long, H., Ren, W., Huang, A., Zhang, X., & Xie, Z. (2022), “Dietary supplementation of astaxanthin is superior to its combination with *Lactococcus lactis* in improving the growth performance, antioxidant capacity, immunity, and disease resistance of white shrimp (*Penaeus vannamei*)”, *Aquaculture Reports*, Vol. 24, 101124.
93. Liu, P. C., Lee, K. K., & Chen, S. N. (1996), “Pathogenicity of different isolates of *Vibrio harveyi* in tiger prawn *Penaeus monodon*”, *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 22, pp. 413–416.
94. Loc, T., Nunan, L., Redman, R. M., et al. (2013), “Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp”, *Diseases of Aquatic Organisms*, Vol. 105 (1), pp. 45–55.
95. Luo, K., Tian, X., Wang, B., Wei, C., Wang, L., Zhang, S., Liu, Y., Li, T., & Dong, S. (2021), “Evaluation of paraprobiotics applicability of *Clostridium butyricum* CBG01 in improving the growth performance, immune responses and disease resistance in Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*)”, *Aquaculture*, Vol. 544, 737041.
96. Ma, J., Piao, X., Mahfuz, S., Long, S., & Wang, J. (2022), “The interaction among gut microbes, the intestinal barrier and short chain fatty acids”, *Animal Nutrition*. Vol. 9, pp. 159–174.
97. Mahdy, M. A., Jamal, M. T., Al-Harb, M., Al-Mur, B. A., & Haque, M. F. (2022), “Use of yeasts in aquaculture nutrition and immunostimulation: A review” *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, Vol. 10 (5), pp. 59–65.
98. Mandal, A., & Singh, P. (2025), “Global scenario of shrimp industry: Present

- status and future prospects”, In *Shrimp Culture Technology* (Chapter 1, pp. 1–23).
99. Marques, M. R. F., & Barracco, M. A. (2000), “Lectins, as non-self-recognition factors, in crustaceans”, *Aquaculture*, Vol. 191, pp. 23–44.
 100. Matsuda, S., Okada, R., Tandhavanant, S., Hiyoshi, H., Gotoh, K., Iida, T., & Kodama, T. (2019), “Export of a *Vibrio parahaemolyticus* toxin by the Sec and type III secretion machineries in tandem, *Nature Microbiology*, Vol. 4, pp. 781–788.
 101. Matsuura, Y., Takasaki, M., Miyazawa, R., & Nakanishi, T. (2017), “Stimulatory effects of heat-killed *Enterococcus faecalis* on cell-mediated immunity in fish”, *Developmental and Comparative Immunology*, Vol. 74, pp. 1–9.
 102. Medzhitov, R. (2007), “Recognition of microorganisms and activation of the immune response”, *Nature*, Vol. 449, pp. 819–826.
 103. Medzhitov, R., & Janeway, C. J. (2000), “Innate immunity”, *The New England Journal of Medicine*, Vol. 343, pp. 338–344.
 104. Methatham, T., Boonchuen, P., Jaree, P., Tassanakajon, A., & Somboonwiwat, K. (2017), “Antiviral action of the antimicrobial peptide ALFPm3 from *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus”, *Developmental and Comparative Immunology*, Vol. 69, pp. 23–32.
 105. Miller, R. A., & Harbottle, H. (2018), “Antimicrobial drug resistance in fish pathogens”, *Microbiology Spectrum*, Vol. 6 (1), 101128.
 106. Mirzaei, M., Shavandi, A., Mirdamadi, S., Soleymanzadeh, N., Motahari, P., Mirdamadi, N., Moser, M., Subra, G., Alimoradi, H., & Goriely, S. (2021), “Bioactive peptides from yeast: A comparative review on production methods, bioactivity, structure–function relationship, and stability”, *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 118 (Part A), pp. 297–315.
 107. Mohammed, H. H., Brown, T. L., Beck, B. H., Yildirim-Aksoy, M., Eljack, R. M., & Peatman, E. (2018), “The effects of dietary inclusion of a *Saccharomyces*

- cerevisiae* fermentation product in a commercial catfish ration on growth, immune readiness, and columnaris disease susceptibility”, *Journal of Applied Aquaculture*, Vol. 31 (3), pp. 193–209.
108. Moradi, M., Molaei, R., & Guimarães, J. T. (2021), “A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria” *Enzyme and Microbial Technology*, Vol. 143, 109722.
 109. Muharrama, A. R. W., Widanarni, W., Alimuddin, A., & Yuhana, M. (2021), “Gene expression and immune response of Pacific white shrimp given *Bacillus* NP5 probiotics and honey prebiotics after *Vibrio parahaemolyticus* infection”, *Journal of Applied Aquaculture*, Vol. 34 (3), pp. 625–641.
 110. Murphy, J. E., Tedbury, P. R., Homer-Vanniasinkam, S., Walker, J. H., & Ponnambalam, S. (2005), “Biochemistry and cell biology of mammalian scavenger receptors”, *Atherosclerosis*, Vol. 182, pp. 1–15.
 111. Nathan, C., & Shiloh, M. U. (2000), “Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 97, 8841–8848.
 112. Navaneeth, K. A., Bhuvaneswari, T., Rajan, J. J. S., Alavandi, S. V., Vijayan, K. K., & Otta, S. K. (2020), “Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* isolates from shrimp farms of the southeast coast of India with special reference to acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) status”, *Aquaculture*, Vol. 518, 734781.
 113. Nawaz, A., Irshad, S., Hoseinifar, S. H., & Xiong, H. (2018), “The functionality of prebiotics as immunostimulant: Evidences from trials on terrestrial and aquatic animals”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 76, pp. 272–278.
 114. Newaj-Fyzul, A., Al-Harbi, A. H., & Austin, B. (2014), “Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture”, *Aquaculture*, Vol. 431, pp. 1–11.
 115. Nguyen Hai, T., Dang, L. T., Nguyen, H. T., Hoang, H. H., Lai, H. T. N., &

- Nguyen, H. T. T. (2018), “Screening antibacterial effects of Vietnamese plant extracts against pathogens causing acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp”, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, Vol. 11 (5), pp. 77–83.
116. Nigro, G., Rossi, R., Commere, P. H., Jay, P., & Sansonetti, P. J. (2014), “The cytosolic bacterial peptidoglycan sensor NOD2 affords stem cell protection and links microbes to gut epithelial regeneration”, *Cell Host & Microbe*, Vol. 15 (6), pp. 792–798.
 117. Okon, E., Iyobhebhe, M., Olatunji, P., Adeleke, M., Matekwe, N., & Okocha, R. (2025), “Feed additives in aquaculture: Benefits, risks, and the need for robust regulatory frameworks”, *Fishes*, Vol. 10 (9), 471.
 118. Onomu, A. J., & Okuthe, G. E. (2024), “The role of functional feed additives in enhancing aquaculture sustainability”, *Fishes*, Vol. 9 (5), 167.
 119. Patel, S., Majumder, A., & Goyal, A. (2012), “Potentials of exopolysaccharides from lactic acid bacteria”, *Indian Journal of Microbiology*, Vol. 52 (1), pp. 3–12.
 120. Peterson, B. C., Bosworth, B. G., Li, M. H., Beltran, R., Jr., & Santos, G. A. (2014), “Assessment of a phytogenics feed additive (Digestaron P.E.P. MGE) on growth performance, processing yield, fillet composition, and survival of channel catfish”, *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol. 45 (2), 12103.
 121. Peterson, B. C., Peatman, E., Ourth, D. D., & Waldbieser, G. C. (2015), “Effects of a phytogenics feed additive on growth performance, susceptibility of channel catfish to *Edwardsiella ictaluri* and levels of mannose binding lectin”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 44, pp. 21–25.
 122. Prabu, E., Felix, N., Nsereko, V. L., Sawanboonchun, J., Uma, A., Sathishkumar, G., Chidambaram, P., Thiruvassagam, T., & Ravaneswaran, K. (2025), “Impacts of dietary *Saccharomyces cerevisiae* fermentation derived postbiotic on growth performance and health status of Pacific white shrimp”, *Scientific Reports*, Vol. 15, 20862.
 123. Qiu, X., & Davis, D. A. (2017), “Evaluation of flash dried yeast as a nutritional

- supplement in plant-based practical diets for Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*”, *Aquaculture Nutrition*, Vol. 23 (6), pp. 1244–1253.
124. Qiu, X., Nguyen, L., & Davis, D. A. (2018), “Apparent digestibility of animal, plant and microbial ingredients for Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*)” *Aquaculture Nutrition*, Vol. 24 (3), pp. 930–939.
 125. Rafique, N., Jan, S. Y., Dar, A. H., Dash, K. K., Sarkar, A., Shams, R., Pandey, V. K., Khan, S. A., Amin, Q. A., & Hussain, S. Z. (2023), “Promising bioactivities of postbiotics: A comprehensive review”, *Journal of Agricultural and Food Research*, Vol. 14, 100708.
 126. Rajendran, K. V., Sreedharan, K., Deepika, A., & Kulkarni, A. (2022), “Shrimp immune system and immune responses”, In *Fish immune system and vaccines* (Chapter, June 2022). Springer.
 127. Rawling, M., Schiavone, M., Mugnier, A., Leclercq, E., Merrifield, D., Foey, A., & Apper, E. (2023), “Modulation of zebrafish (*Danio rerio*) intestinal mucosal barrier function fed different postbiotics and a probiotics from lactobacilli”, *Microorganisms*, Vol. 11 (12), 2900.
 128. Reed, L. J., & Muench, H. (1938), “A simple method of estimating fifty percent endpoints”, *American Journal of Epidemiology*, Vol. 27 (3), pp. 493–497.
 129. Ringø, E., Olsen, R. E., Gifstad, T. Ø., Dalmo, R. A., Amlund, H., Hemre, G. I., & Bakke, A. M. (2010), “Prebiotics in aquaculture: A review”, *Aquaculture Nutrition*, Vol. 16 (2), pp. 117–136.
 130. Ringø, E., Olsen, R. E., González, J. L., Wadsworth, S., & Song, S. K. (2012), “Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture: A review”, *Journal of Marine Science: Research & Development*, Vol. 2 (1), pp. 1–23.
 131. Rivera, L. M., Trujillo, L. E., Pais-Chanfrau, L. E., Núñez, J., Pineda, J., Romero, H., Tinoco, O., Cabrera, C., & Dimitrov, V. (2019), “Functional foods as stimulators of the immune system of *Penaeus vannamei* cultivated in Machala, province of El Oro, Ecuador”, *Italian Journal of Food Science*, Vol. 31 (3), pp. 227–232.

132. Rowley, A. F. (2016), “The immune system of crustaceans”, *Encyclopedia of immunobiology* , pp. 437–439.
133. Runsaeng, P., Kwankaew, P., & Utarabhand, P. (2018), “FmLC6: An ultimate dual-CRD C-type lectin from *Fenneropenaeus merguensis* mediates its roles in shrimp defense immunity towards bacteria and virus”, *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 80, pp. 200–213.
134. Runsaeng, P., Puengyam, P., & Utarabhand, P. (2017), “A mannose-specific C-type lectin from *Fenneropenaeus merguensis* exhibited antimicrobial activity to mediate shrimp innate immunity” *Molecular Immunology*, Vol. 92, pp. 87–98.
135. Sabry Neto, H., & Nunes, A. J. P. (2015), “Performance and immunological resistance of *Penaeus vannamei* fed a β -1,3/1,6-glucan-supplemented diet after *per os* challenge with the infectious myonecrosis virus (IMNV)”, *Revista Brasileira de Zootecnia*, Vol. 44, pp. 165–173.
136. Sagada, G., Wang, L., Xu, B., Chen, Y., Chen, K., Sun, Y., Volatiana, J. A., & Shao, Q. (2021b), “Effect of dietary inactivated *Lactobacillus plantarum* and selenomethionine supplementation on growth performance and health-related indices of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) fingerlings”, *Aquaculture Nutrition*, Vol. 27 (5), pp. 1529–1543.
137. Sagada, G., Wang, L., Xu, B., Tegomo, F. A., Chen, K., Zheng, L., Sun, Y., Liu, Y., Yang, Y., Ullah, S., & Shao, Q. (2022), “Synergistic effect of dietary inactivated *Lactobacillus plantarum* and berberine supplementation on growth performance, antioxidant capacity, and immune function of juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*)”, *Aquaculture Nutrition*, Vol. 10, pp. 1–12.
138. Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M. M., Sanders, M. E., Shamir, R., Swann, J. R., Szajewska, H., & Vinderola, G. (2021), “The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics”, *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, Vol. 18 (9), pp. 649–667.
139. Sang, H. M., & Fotedar, R. (2010a), “Effects of dietary β -1,3-glucan on the

- growth, survival, physiological and immune response of marron (*Cherax tenuimanus*)”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 28 (5–6), pp. 957–960.
140. Sang, H. M., & Fotedar, R. (2010b), “Effects of mannan oligosaccharide dietary supplementation on performances of juvenile tropical spiny lobster (*Panulirus ornatus*)”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 28 (3), pp. 483–489.
 141. Sang, H. M., & Thuy, N. T. T. (2014), “Effects of mannan oligosaccharide (MOS) on the survival, physiological, and immunological response of the black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798) when challenged with two different stressors”, *Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh*.
 142. Sang, H. M., Fotedar, R., & Filer, K. (2011a), “Effects of dietary mannan oligosaccharide on survival, growth, immunity and digestive enzyme activity of freshwater crayfish, *Cherax destructor* (Clark, 1936)”, *Aquaculture Nutrition*, Vol. 17 (2), pp. 629–635.
 143. Sang, H. M., Fotedar, R., & Filer, K. (2011b), “Effects of dietary mannan oligosaccharide on survival, growth, physiological condition and immunological responses of marron, *Cherax tenuimanus* (Smith, 1912)”, *Journal of the World Aquaculture Society*, Vol. 42 (2), pp. 230–241.
 144. Sang, H. M., Kien, N. T., & Thanh, N. T. (2014), “Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, survival, physiological, immunological and gut morphological conditions of black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius 1798)”, *Aquaculture Nutrition*, Vol. 20 (3), pp. 341–348.
 145. Schar, D., Klein, E. Y., Laxminarayan, R., Gilbert, M., & Van Boeck, T. P. (2020), “Global trends in antimicrobial use in aquaculture”, *Scientific Reports*, Vol. 10, 21878.
 146. Sharawy, Z., Goda, A. M. A. S., & Hassaan, M. S. (2016), “Partial or total replacement of fishmeal by solid state fermented soybean meal with *Saccharomyces cerevisiae* in diets for Indian prawn shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) postlarvae”, *Animal Feed Science and Technology*, Vol. 212, pp. 90–99.
 147. Shawky, A., Abd El-Razek, I. M., El-Halawany, R. S., Zaineldin, A. I., Amer,

- A. A., Gewaily, M. S., & Dawood, M. A. O. (2023), “Dietary effect of heat-inactivated *Bacillus subtilis* on the growth performance, blood biochemistry, immunity, and antioxidative response of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*)”, *Aquaculture*, Vol. 575, 739751.
148. Sheikhzadeh, N., Tahapour, K., Nofouzi, K., Tukmechi, A., Shabanzadeh, S., Khani Oushani, A., Stanford, J., McIntyre, G., & Mardani, K. (2017), “Can heat-killed *Gordonia bronchialis* enhance growth and immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Aquaculture Nutrition*, Vol. 23 (4), pp. 788–795.
149. Sheppard, D. C., & Howell, P. L. (2016), “Biofilm exopolysaccharides of pathogenic fungi: Lessons from bacteria”, *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 291 (24), pp. 12529–12537.
150. Siddik, M. A. B., Howieson, J., Islam, S. M. M., & Fotedar, R. (2022), “Synbiotics feed supplementation improves antioxidant response and innate immunity of juvenile barramundi, *Lates calcarifer* subjected to bacterial infection”, *Aquaculture*, Vol. 552, 737965.
151. Sirikharin, R., Taengchaiyaphum, S., Sanguanrut, P., Chi, T. D., Mavichak, R., Proespraiwong, P., Nuangsaeng, B., Thitamadee, S., Flegel, T. W., & Sritunyaluksana, K. (2015), “Characterization and PCR detection of binary, Pir-like toxins from *Vibrio parahaemolyticus* isolates that cause acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in shrimp”, *PLoS ONE*, Vol. 10, 0126987.
152. Smith, V. J. (2016), “Immunology of invertebrates: Cellular”, In *Encyclopedia of Life Sciences*. Chichester: Wiley.
153. Song, Y. L., & Hsieh, Y. T. (1994), “Immunostimulation of tiger shrimp (*Penaeus monodon*) hemocytes for generation of microbicidal substances: Analysis of reactive oxygen species”, *Developmental and Comparative Immunology*, Vol. 18, pp. 201–209.
154. Soponpong, S., Amparyup, P., Kawai, T., & Tassanakajon, A. (2019), “A cytosolic sensor, PmDDX41, binds double-stranded DNA and triggers the

- activation of an innate antiviral response in the shrimp *Penaeus monodon* via the STING-dependent signaling pathway”, *Frontiers in Immunology*, Vol. 10, 2069.
155. Sritunyalucksana, K., & Söderhäll, K. (2000), “The proPO and clotting system in crustaceans”, *Aquaculture*, Vol. 191, pp. 53-69.
 156. Sukonthamarn, P., Wongvises, P., Sangklai, N., Jaroenlak, P., & Tassanakajon, A. (2024), “Prophenoloxidase-activating system plays a crucial role in innate immune responses to *Enterocytozoon hepatopenaei* infection in *Penaeus vannamei*”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 154, 108724.
 157. Suraprasit, S., Methatham, T., Jaree, P., Phiwsaiya, K., Senapin, S., Hirono, I., et al. (2014), “Anti-lipopolysaccharide factor isoform 3 from *Penaeus monodon* (ALFPM3) exhibits antiviral activity by interacting with WSSV structural proteins”, *Antiviral Research*, Vol. 110, pp. 142–150.
 158. Tang, K. F. J., Bondad-Reantaso, M. G., Arthur, J. R., MacKinnon, B., Hao, B., & Alday-Sanz, V. (2020). *Shrimp acute hepatopancreatic necrosis disease strategy manual* (FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1190). Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
 159. Tao, B., Zhang, C., Li, X., Li, X., Lu, K., Song, K., & Wang, L. (2023), “Postbiotics of *Bacillus subtilis* LCBS1 have beneficial effects on bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*)”, *Aquaculture*, Vol. 574, 739699.
 160. Tao, L., Lu, H., Xiong, J., Zhang, L., Sun, W., & Shan, X. (2024), “The application and potential of postbiotics as sustainable feed additives in aquaculture” *Aquaculture*, Vol. 592, 741237.
 161. Teame, T., Wang, A., Xie, M., Zhang, Z., Yang, Y., Ding, Q., Gao, C., Olsen, R. E., Ran, C., & Zhou, Z. (2020), “Paraprobiotics and postbiotics of probiotics lactobacilli, their positive effects on the host and action mechanisms: A review”, *Frontiers in Nutrition*, Vol. 7, 570344.
 162. Thornber, K., Verner-Jeffreys, D., Hinchliffe, S., Rahman, M. M., Bass, D., & Tyler, C. R. (2019), “Evaluating antimicrobial resistance in the global shrimp industry”, *Reviews in Aquaculture*, Vol. 12 (2), pp. 966–986.

163. Tinwongger, S., Nochiri, Y., Thawonsuwan, J., Nozaki, R., Kondo, H., Awasthi, S. P., Hinenoya, A., Yamasaki, S., & Hirono, I. (2016), “Virulence of acute hepatopancreatic necrosis disease PirAB-like relies on secreted proteins not on gene copy number”, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 121 (6), 1755–1765.
164. Tipsemongkol, C., Puri, W., Chuchird, N., & Limsuwan, C. (2009), “Effects of DVAQUA on the growth, survival and immune characteristics of Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*)”, *Journal of Fisheries and Environment*, Vol. 33 (1), pp. 15–27.
165. Tran, T. T. H., Chau, T. T., Tran, T. T. H., Truong, G. H., Tran, L. C. T., Tran, N. H., Dinh, H. N., Kim, S. H., Song, J. W., Hua, T. N., & Pham, M. D. (2022), “Effects of dietary supplementation with Pro-A on growth performance, feed utilization, immune responses, and intestinal microbiota of whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*)”, *Aquaculture Reports*, Vol. 24, pp. 101–125.
166. Tsilingiri, K., Barbosa, T., Penna, G., Caprioli, F., Sonzogni, A., Viale, G., & Rescigno, M. (2012), “Probiotics and postbiotics activity in health and disease: Comparison on a novel polarised ex-vivo organ culture model”, *Gut*, Vol. 61 (4), 10041015.
167. Underhill, D. M., & Goodridge, H. S. (2012), “Information processing during phagocytosis”, *Nature Reviews Immunology*, Vol. 12, pp. 492–502.
168. Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP. (2015), “Global trends in antimicrobial use in food animals”, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 112_(18), pp. 5649–5654.
169. Vandeputte, M., Verhaeghe, M., Willocx, L., Bossier, P., & Vanrompay, D. (2023), “Bovine lactoferrin and hen ovotransferrin affect virulence factors of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND)-inducing *Vibrio parahaemolyticus* strains”, *Microorganisms*, Vol. 11, pp. 1–17.
170. Wang XW, Vasta GR, Wang JX (2020b), “The functional relevance of shrimp

- C-type lectins in host-pathogen interactions”, *Developmental and Comparative Immunology*, Vol. 109, 103708.
171. Wang, F. I., & Chen, J. C. (2006), “Effect of salinity on the immune response of tiger shrimp *Penaeus monodon* and its susceptibility to *Photobacterium damsela* subsp. *Damsela*”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 20 (5), pp. 71–81.
 172. Wang, J., Feng, J., Liu, S., Cai, Z., Song, D., Yang, L., & Nie, G. (2021a), “The probiotic properties of different preparations using *Lactococcus lactis* Z-2 on intestinal tract, blood and hepatopancreas in *Cyprinus carpio*”, *Aquaculture*, Vol. 543, 736911.
 173. Wang, L. U., & Chen, J. C. (2005), “The immune response of white shrimp *Penaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* at different salinity levels”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 18 (4), pp. 269–278.
 174. Wang, P. H., Huang, T., Zhang, X., & He, J. G. (2014), “Antiviral defense in shrimp: From innate immunity to viral infection”, *Antiviral Research*, Vol. 108, pp. 129–141.
 175. Wang, R., Zhong, Y., Gu, X., Yuan, J., Saeed, A. F., & Wang, S. (2015), “The pathogenesis, detection, and prevention of *Vibrio parahaemolyticus*”, *Frontiers in Microbiology*, Vol. 6, 144.
 176. Wang, W., Sun, J., Liu, C., & Xue, Z. (2016), “Application of immunostimulants in aquaculture: Current knowledge and future perspectives”, *Aquaculture Research*, pp. 1–23.
 177. Wang, X. W., & Wang, J. X. (2013b), “Diversity and multiple functions of lectins in shrimp immunity”, *Developmental and Comparative Immunology*, Vol. 39, pp. 27–38.
 178. Wilkins, C., & Gale, M., Jr. (2010), “Recognition of virus by cytoplasmic sensors”, *Current Opinion in Immunology*, Vol. 22, pp. 41–47.
 179. World Organisation for Animal Health. (2019), *Acute hepatopancreatic necrosis disease. In Manual of diagnostic tests for aquatic animals* (pp. 1–12).

Paris, France.

180. Wu, L., Wang, L., Cui, S., Peng, Z., Liu, Z., Li, M., Han, Y., & Ren, T. (2023), Effects of dietary compound probiotics and heat-killed compound probiotics on antioxidative capacity, plasma biochemical parameters, intestinal morphology, and microbiota of *Cyprinus carpio haematopterus*”, *Aquaculture International*, Vol. 31, 21992219.
181. Xiao, B., Fu, Q., Niu, S., Zhu, P., He, J., & Li, C. (2020), “Penaeidins restrict white spot syndrome virus infection by antagonizing the envelope proteins to block viral entry”, *Emerging Microbes & Infections*, Vol. 9 (1), pp. 390–412.
182. Yang, C., Chowdhury, M. A. K., Hou, Y., & Gong, J. (2015), “Phytogenics compounds as alternatives to in-feed antibiotics: Potentials and challenges in application”, *Pathogens*, Vol. 4 (1), pp. 137–156.
183. Yang, G., Jiang, A., Cai, H., You, F., Wu, S., Zhang, Y., Zhang, X., Shen, Y., Chang, X., Hu, W., Li, K., & Meng, X. (2023), “Supplementation with *Akkermansia muciniphila* improved glucose metabolism disorder in common carp (*Cyprinus carpio*)” *Aquaculture*, Vol. 572, 739465.
184. Yang, M. C., Yang, H. T., Li, J., Sun, J. J., Bi, W. J., Niu, G. J., et al. (2017), “Scavenger receptor C promotes bacterial clearance in kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus* by enhancing hemocyte phagocytosis and AMP expression”, *Fish and Shellfish Immunology*, Vol. 67, pp. 254–262.
185. Yeh, S. P., Chen, Y. N., Hsieh, S. L., Cheng, W., & Li, C. H. (2009), “Immune response of white shrimp *Penaeus vannamei* after a concurrent infection with white spot syndrome virus and infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 26 (4), pp. 582–588.
186. Yildirim-Aksoy, M., Eljack, R., Peatman, E., & Beck, B. H. (2022), “Immunological and biochemical changes in Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, challenged with *Vibrio parahaemolyticus*”, *Microbial Pathogenesis*, Vol. 172, 105787.
187. Yu, Z., Hao, Q., Liu, S. B., Zhang, Q. S., Chen, X. Y., Li, S. H., Ran, C., Yang,

- Y. L., Teame, T., Zhang, Z., & Zhou, Z. G. (2023), “The positive effects of postbiotics (SWF concentration®) supplemented diet on skin mucus, liver, gut health, the structure and function of gut microbiota of common carp (*Cyprinus carpio*) fed with high-fat diet”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 135, 108681.
188. Zhang, D., Bader, T. J., Lange, M. D., Shoemaker, C. A., & Beck, B. H. (2021), “Toxicity of recombinant PirA and PirB derived from *Vibrio parahaemolyticus* in shrimp”, *Microbial Pathogenesis*, Vol. 155, 104873.
189. Zhang, J., Liu, Y., Tian, L., Yang, H., Liang, G., & Xu, D. (2012), “Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth performance, gut morphology and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*”, *Fish & Shellfish Immunology*, Vol. 33 (4), pp. 1027–1032.
190. Zhang, X. H., & Austin, B. (2000), “Pathogenicity of *Vibrio harveyi* to salmonids”, *Journal of Fish Diseases*, Vol. 23, pp. 93–102.
191. Zimina, M., Babich, O., Prosekov, A., Sukhikh, S., Ivanova, S., Shevchenko, M., & Noskova, S. (2020), “Overview of global trends in classification, methods of preparation and application of bacteriocins”, *Antibiotics*, Vol. 9 (9), 553.

Website

192. <https://thuysanvietnam.com.vn/benh-hoi-tu-gan-tuy-cap-tren-tom-the-chan-trang>. (2025).
193. <http://vasep.com.vn/1192/OneContent/tong-quan-nganh.htm>. (2025).
194. <https://vietshrimp.net/vietnams-shrimp-industry-fast-growth-and-strong-global-position>. (2025).

PHỤ LỤC

Phụ lục 1. Hàm lượng SCFP lên đáp ứng miễn dịch của tôm

1.1. Số lượng tế bào máu sau 45 ngày thí nghiệm cho ăn

1. THC (10^4 tế bào/ml)												
STT	S0 (0% SCFP)			S1 (0.25% SCFP)			S2 (0.35% SCFP)			S3 (0.45% SCFP)		
	Bể 4	Bể 9	Bể 12	Bể 1	Bể 6	Bể 8	Bể 2	Bể 3	Bể 7	Bể 5	Bể 10	Bể 11
1	189.6	193.2	180.0	314.4	315.6	303.6	321.6	304.8	330.0	486.0	478.8	451.2
2	169.2	182.4	174.0	327.6	308.4	290.4	302.4	318.0	319.2	475.2	468.0	480.0
3	177.6	200.4	192.0	292.8	326.4	306.0	318.0	315.6	308.4	433.2	450.0	445.2
4	192.0	172.8	195.6	303.6	296.4	314.4	295.2	322.8	294.0	462.0	439.2	469.2
5	198.0	201.6	200.4	302.4	307.2	301.2	304.8	324.0	325.2	470.4	459.6	474.0
6	195.6	188.4	202.8	301.2	291.6	297.6	315.6	277.2	304.8	436.8	446.4	481.2
7	202.8	192.0	198.0	283.2	300.0	308.4	318.0	316.8	326.4	457.2	435.6	482.4
8	176.4	195.6	190.8	332.4	294.0	291.6	325.2	284.4	318.0	462.0	447.6	430.8
9	196.8	184.8	170.4	312.0	303.6	292.8	296.4	325.2	308.4	459.6	442.8	424.8
10	181.2	199.2	208.8	295.2	291.6	309.6	298.8	332.4	318.0	441.6	478.8	475.2
Mean	190.08			303.84			312.32			458.16		
SD	10.80			11.75			13.61			17.92		

2. HC (10^4 tế bào/ml)												
STT	S0 (0% SCFP)			S1 (0.25% SCFP)			S2 (0.35% SCFP)			S3 (0.45% SCFP)		
	Bể 4	Bể 9	Bể 12	Bể 1	Bể 6	Bể 8	Bể 2	Bể 3	Bể 7	Bể 5	Bể 10	Bể 11
1	129.6	133.2	127.2	224.4	218.4	210.0	223.2	213.6	229.2	340.8	326.4	310.8
2	117.6	127.2	122.4	229.2	214.8	205.2	223.2	219.6	220.8	332.4	330.0	332.4
3	121.2	139.2	141.6	202.8	225.6	211.2	222.0	217.2	216.0	301.2	312.0	306.0
4	130.8	118.8	144.0	210.0	204.0	220.8	205.2	226.8	200.4	319.2	302.4	321.6
5	136.8	139.2	139.2	211.2	212.4	211.2	213.6	225.6	223.2	327.6	321.6	327.6
6	138.0	128.4	140.4	213.6	200.4	205.2	220.8	194.4	208.8	304.8	308.4	334.8
7	138.0	133.2	138.0	196.8	208.8	211.2	219.6	219.6	224.4	318.0	302.4	337.2
8	120.0	134.4	132.0	232.8	200.4	200.4	223.2	195.6	218.4	318.0	309.6	298.8
9	133.2	127.2	117.6	217.2	210.0	205.2	204.0	225.6	213.6	318.0	312.0	295.2
10	124.8	139.2	145.2	206.4	201.6	214.8	208.8	231.6	219.6	303.6	334.8	330.0
Mean	131.92			211.20			216.92			317.92		
SD	8.12			8.90			9.50			13.01		

3. GC (10^4 tế bào/ml)												
STT	S0 (0% SCFP)			S1 (0.25% SCFP)			S2 (0.35% SCFP)			S3 (0.45% SCFP)		
	Bể 4	Bể 9	Bể 12	Bể 1	Bể 6	Bể 8	Bể 2	Bể 3	Bể 7	Bể 5	Bể 10	Bể 11
1	60.0	60.0	52.8	90.0	97.2	93.6	98.4	91.2	100.8	145.2	152.4	140.4
2	51.6	55.2	51.6	98.4	93.6	85.2	79.2	98.4	98.4	142.8	138.0	147.6
3	56.4	61.2	50.4	90.0	100.8	94.8	96.0	98.4	92.4	132.0	138.0	139.2
4	61.2	54.0	51.6	93.6	92.4	93.6	90.0	96.0	93.6	142.8	136.8	147.6
5	61.2	62.4	61.2	91.2	94.8	90.0	91.2	98.4	102.0	142.8	138.0	146.4
6	57.6	60.0	62.4	87.6	91.2	92.4	94.8	82.8	96.0	132.0	138.0	146.4
7	64.8	58.8	60.0	86.4	91.2	97.2	98.4	97.2	102.0	139.2	133.2	145.2
8	56.4	61.2	58.8	99.6	93.60	91.2	102.0	88.8	99.6	144.0	138.0	132.0
9	63.6	57.6	52.8	94.8	93.6	87.6	92.4	99.6	94.8	141.6	130.8	129.6
10	56.4	60.0	63.6	88.8	90.0	94.8	90.0	100.8	98.4	138.0	144.0	145.2
Mean	58.16			92.64			95.40			140.24		
SD	4.09			3.76			5.48			5.74		

1.2. Hoạt động enzyme miễn dịch sau 45 ngày thí nghiệm cho ăn

STT	4. PO (OD 490 nm)											
	S0 (0% SCFP)			S1 (0.25% SCFP)			S2 (0.35% SCFP)			S3 (0.45% SCFP)		
	Bể 4	Bể 9	Bể 12	Bể 1	Bể 6	Bể 8	Bể 2	Bể 3	Bể 7	Bể 5	Bể 10	Bể 11
1	0.26	0.32	0.34	0.58	0.51	0.54	0.56	0.52	0.57	0.80	0.73	0.73
2	0.33	0.26	0.31	0.54	0.54	0.52	0.50	0.57	0.56	0.55	0.71	0.74
3	0.32	0.27	0.27	0.53	0.50	0.57	0.57	0.51	0.60	0.54	0.66	0.79
4	0.30	0.35	0.38	0.56	0.49	0.49	0.51	0.58	0.62	0.53	0.67	0.61
5	0.27	0.38	0.32	0.49	0.57	0.51	0.52	0.54	0.52	0.77	0.66	0.63
6	0.28	0.33	0.29	0.54	0.48	0.48	0.60	0.59	0.63	0.76	0.60	0.75
7	0.35	0.39	0.38	0.52	0.49	0.50	0.59	0.51	0.56	0.75	0.63	0.70
8	0.34	0.38	0.36	0.48	0.55	0.48	0.54	0.55	0.51	0.71	0.57	0.67
9	0.31	0.29	0.37	0.58	0.53	0.48	0.53	0.53	0.54	0.67	0.74	0.65
10	0.29	0.37	0.35	0.56	0.50	0.54	0.54	0.49	0.68	0.72	0.62	0.61
Mean	0.33			0.52			0.55			0.68		
SD	0.04			0.03			0.04			0.08		

STT	5. RES (OD 630 nm)											
	S0 (0% SCFP)			S1 (0.25% SCFP)			S2 (0.35% SCFP)			S3 (0.45% SCFP)		
	Bể 4	Bể 9	Bể 12	Bể 1	Bể 6	Bể 8	Bể 2	Bể 3	Bể 7	Bể 5	Bể 10	Bể 11
1	0.16	0.19	0.14	0.38	0.47	0.34	0.81	0.62	0.80	0.80	0.73	0.73
2	0.23	0.16	0.22	0.44	0.44	0.42	0.80	0.57	0.56	0.55	0.71	0.84
3	0.22	0.27	0.27	0.33	0.34	0.37	0.57	0.61	0.66	0.54	0.66	0.79
4	0.21	0.25	0.18	0.36	0.40	0.46	0.61	0.60	0.62	0.53	0.67	0.61
5	0.27	0.15	0.23	0.46	0.37	0.31	0.62	0.84	0.57	0.77	0.66	0.63
6	0.18	0.23	0.19	0.44	0.38	0.41	0.60	0.64	0.73	0.76	0.60	0.75
7	0.15	0.23	0.18	0.42	0.44	0.40	0.59	0.71	0.76	0.75	0.63	0.54
8	0.24	0.19	0.23	0.45	0.45	0.48	0.74	0.67	0.56	0.71	0.57	0.67
9	0.25	0.15	0.17	0.48	0.43	0.38	0.73	0.59	0.54	0.67	0.74	0.65
10	0.19	0.17	0.25	0.46	0.41	0.44	0.64	0.55	0.68	0.72	0.62	0.61
Mean	0.21			0.41			0.65			0.67		
SD	0.04			0.05			0.09			0.08		

STT	6. SOD (OD 560nm)											
	S0 (0% SCFP)			S1 (0.25% SCFP)			S2 (0.35% SCFP)			S3 (0.45% SCFP)		
	Bể 4	Bể 9	Bể 12	Bể 1	Bể 6	Bể 8	Bể 2	Bể 3	Bể 7	Bể 5	Bể 10	Bể 11
1	1.37	1.45	1.44	2.41	2.34	2.54	3.81	3.83	3.67	3.47	3.71	3.81
2	1.46	1.32	1.58	2.35	2.38	2.61	3.56	3.78	3.55	3.65	3.74	3.76
3	1.26	1.37	1.62	2.49	2.36	2.39	3.49	3.62	3.61	3.67	3.69	3.68
4	1.31	1.54	1.32	2.43	3.42	2.43	3.55	3.75	3.59	3.77	3.63	3.85
5	1.60	1.36	1.35	2.31	2.41	2.47	3.52	3.59	3.69	3.49	3.81	3.75
6	1.23	1.15	1.57	2.39	2.47	2.56	3.47	3.66	3.66	3.50	3.70	3.64
7	1.30	1.71	1.55	2.44	2.48	2.44	3.77	3.74	3.49	3.51	3.84	3.79
8	1.27	1.31	1.61	2.55	2.39	2.48	3.76	3.63	3.59	3.70	3.68	3.63
9	1.35	1.32	1.37	2.43	2.45	2.59	3.62	3.76	3.56	3.62	3.84	3.76
10	1.30	1.46	1.33	2.45	2.51	2.41	3.83	3.81	3.52	3.64	3.71	3.76
Mean	1.41			2.48			3.65			3.69		
SD	0.14			0.19			0.11			0.10		

1.3. Phân tích thống kê

1. THC (10^4 tế bào/ml)

Descriptive Statistics: THC

Variable	Treatments	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Median	Maximum
THC	0% - Tank 12	191.28	4.01	12.69	170.40	193.80	208.80
	0% - Tank 4	187.92	3.52	11.13	169.20	190.80	202.80
	0% - Tank 9	191.04	2.88	9.10	172.80	192.60	201.60
	0.25% - Tank 1	306.48	4.85	15.35	283.20	303.00	332.40
	0.25% - Tank 6	303.48	3.57	11.28	291.60	301.80	326.40
	0.25% - Tank 8	301.56	2.62	8.28	290.40	302.40	314.40
	0.35% - Tank 2	309.60	3.56	11.24	295.20	310.20	325.20
	0.35% - Tank 3	312.12	5.72	18.10	277.20	317.40	332.40
	0.35% - Tank 7	315.24	3.54	11.19	294.00	318.00	330.00
	0.45% - Tank 10	454.68	5.00	15.81	435.60	448.80	478.80
	0.45% - Tank 11	461.40	6.86	21.68	424.80	471.60	482.40
	0.45% - Tank 5	458.28	5.37	16.97	433.20	460.20	486.00

General Linear Model: THC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	12	0% - Tank 12, 0% - Tank 4, 0% - Tank 9, 0.25% - Tank 1, 0.25% - Tank 6, 0.25% - Tank 8, 0.35% - Tank 2, 0.35% - Tank 3, 0.35% - Tank 7, 0.45% - Tank 10, 0.45% - Tank 11, 0.45% - Tank 5

Analysis of Variance for THC, using Adjusted SS for Tests						
Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	11	1087039	1087039	98822	496.92	0.000
Error	108	21478	21478	199		
Total	119	1108516				

S = 14.1021 R-Sq = 98.06% R-Sq(adj) = 97.87%

Unusual Observations for THC

Obs	THC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
76	277.200	312.120	4.459	-34.920	-2.61 R
78	284.400	312.120	4.459	-27.720	-2.07 R
91	486.000	458.280	4.459	27.720	2.07 R
118	430.800	461.400	4.459	-30.600	-2.29 R
119	424.800	461.400	4.459	-36.600	-2.74 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
0.45% - Tank 11	10	461.4	A
0.45% - Tank 5	10	458.3	A
0.45% - Tank 10	10	454.7	A
0.35% - Tank 7	10	315.2	B
0.35% - Tank 3	10	312.1	B
0.35% - Tank 2	10	309.6	B
0.25% - Tank 1	10	306.5	B
0.25% - Tank 6	10	303.5	B
0.25% - Tank 8	10	301.6	B
0% - Tank 12	10	191.3	C
0% - Tank 9	10	191.0	C
0% - Tank 4	10	187.9	C

Means that do not share a letter are significantly different.

2. HC (10⁴ tế bào/ml)

Descriptive Statistics: HC

Variable	Treatments	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Median	Maximum
HC	0% - Tank 12	134.76	3.01	9.52	117.60	138.60	145.20
	0% - Tank 4	129.00	2.43	7.70	117.60	130.20	138.00
	0% - Tank 9	132.00	2.10	6.65	118.80	133.20	139.20
	0.25% - Tank 1	214.44	3.66	11.57	196.80	212.40	232.80
	0.25% - Tank 6	211.32	2.53	8.01	200.40	211.20	225.60
	0.25% - Tank 8	209.52	2.72	8.60	194.40	210.60	222.00
	0.35% - Tank 2	216.36	2.46	7.78	204.00	220.20	223.20
	0.35% - Tank 3	216.96	4.02	12.70	194.40	219.60	231.60
	0.35% - Tank 7	217.44	2.62	8.29	200.40	219.00	229.20
	0.45% - Tank 10	312.96	4.10	12.97	285.60	312.00	330.00
	0.45% - Tank 11	319.44	4.91	15.53	295.20	324.60	337.20
	0.45% - Tank 5	318.36	4.06	12.84	301.20	318.00	340.80

Geneeral Linear Model: HC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	12	0% - Tank 12, 0% - Tank 4, 0% - Tank 9, 0.25% - Tank 1, 0.25% - Tank 6, 0.25% - Tank 8, 0.35% - Tank 2, 0.35% - Tank 3, 0.35% - Tank 7, 0.45% - Tank 10, 0.45% - Tank 11, 0.45% - Tank 5

Analysis of Variance for HC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	11	517359	517359	47033	424.15	0.000
Error	108	11976	11976	111		
Total	119	529335				

S = 10.5303 R-Sq = 97.74% R-Sq(adj) = 97.51%

Unusual Observations for HC

Obs	HC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
76	194.400	216.960	3.330	-22.560	-2.26 R
78	195.600	216.960	3.330	-21.360	-2.14 R
91	340.800	318.360	3.330	22.440	2.25 R
104	285.600	312.960	3.330	-27.360	-2.74 R
118	298.800	319.440	3.330	-20.640	-2.07 R
119	295.200	319.440	3.330	-24.240	-2.43 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
0.45% - Tank 11	10	319.4	A
0.45% - Tank 5	10	318.4	A
0.45% - Tank 10	10	313.0	A
0.35% - Tank 7	10	217.4	B
0.35% - Tank 3	10	217.0	B
0.35% - Tank 2	10	216.4	B
0.25% - Tank 1	10	214.4	B
0.25% - Tank 6	10	211.3	B
0.25% - Tank 8	10	209.5	B
0% - Tank 12	10	134.8	C
0% - Tank 9	10	132.0	C
0% - Tank 4	10	129.0	C

Means that do not share a letter are significantly different.

3. GC (10⁴ tế bào/ml)

Descriptive Statistics: GC

Variable	Treatments	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Median	Maximum
GC	0% - Tank 12	56.52	1.62	5.14	50.40	55.80	63.60
	0% - Tank 4	58.92	1.26	3.98	51.60	58.80	64.80
	0% - Tank 9	59.040	0.854	2.701	54.000	60.000	62.400
	0.25% - Tank 1	92.04	1.41	4.46	86.40	90.60	99.60
	0.25% - Tank 6	93.84	1.01	3.19	90.00	93.60	100.80
	0.25% - Tank 8	92.04	1.15	3.62	85.20	93.00	97.20
	0.35% - Tank 2	93.24	2.01	6.35	79.20	93.60	102.00
	0.35% - Tank 3	95.16	1.82	5.74	82.80	97.80	100.80
	0.35% - Tank 7	97.56	1.03	3.25	92.40	98.40	102.00
	0.45% - Tank 10	138.00	2.08	6.57	129.60	138.00	152.40
	0.45% - Tank 11	141.96	2.07	6.55	129.60	145.20	147.60
	0.45% - Tank 5	140.04	1.50	4.73	132.00	142.20	145.20

General Linear Model: GC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	12	0% - Tank 12, 0% - Tank 4, 0% - Tank 9, 2.5% - Tank 1, 0.25% - Tank 6, 0.25% - Tank 8, 0.35% - Tank 2, 0.35% - Tank 3, 0.35% - Tank 7, 0.45% - Tank 10, 0.45% - Tank 11, 0.45% - Tank 5

Analysis of Variance for GC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	11	101589.0	101589.0	9235.4	388.76	0.000
Error	108	2565.6	2565.6	23.8		
Total	119	104154.6				

S = 4.87401 R-Sq = 97.54% R-Sq(adj) = 97.29%

Unusual Observations for GC

Obs	GC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
62	79.200	93.240	1.541	-14.040	-3.04 R
77	82.800	95.160	1.541	-12.360	-2.67 R
101	152.400	138.000	1.541	14.400	3.11 R
118	132.000	141.960	1.541	-9.960	-2.15 R
119	129.600	141.960	1.541	-12.360	-2.67 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
0.45% - Tank 11	10	141.96	A
0.45% - Tank 5	10	140.04	A
0.45% - Tank 10	10	138.00	A
0.35% - Tank 7	10	97.56	B
0.35% - Tank 3	10	95.16	B
0.25% - Tank 6	10	93.84	B
0.35% - Tank 2	10	93.24	B
0.25% - Tank 1	10	92.04	B
0.25% - Tank 8	10	92.04	B
0% - Tank 9	10	59.04	C
0% - Tank 4	10	58.92	C
0% - Tank 12	10	56.52	C

Means that do not share a letter are significantly different.

4. PO (OD 490 nm)

Descriptive Statistics: PO (OD 490 nm)

Variable	Treatments	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Median
PO (OD 490)	0% - Tank 12	0.3370	0.0121	0.0383	0.2700	0.3450
	0% - Tank 4	0.30500	0.00957	0.03028	0.26000	0.30500
	0% - Tank 9	0.3340	0.0151	0.0479	0.2600	0.3400
	0.25% - Tank 1	0.5380	0.0108	0.0343	0.4800	0.5400
	0.25% - Tank 6	0.51600	0.00945	0.02989	0.48000	0.50500
	0.25% - Tank 8	0.51100	0.00983	0.03107	0.48000	0.50500
	0.35% - Tank 2	0.5460	0.0106	0.0334	0.5000	0.5400
	0.35% - Tank 3	0.5390	0.0105	0.0331	0.4900	0.5350
	0.35% - Tank 7	0.5790	0.0168	0.0532	0.5100	0.5650
	0.45% - Tank 10	0.6590	0.0177	0.0559	0.5700	0.6600
	0.45% - Tank 11	0.6880	0.0200	0.0634	0.6100	0.6850
	0.45% - Tank 5	0.6800	0.0326	0.1030	0.5300	0.7150

General Linear Model: PO (OD 490) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	12	0% - Tank 12, 0% - Tank 4, 0% - Tank 9, 0.25% - Tank 1, 0.25% - Tank 6, 0.25% - Tank 8, 0.35% - Tank 2, 0.35% - Tank 3, 0.35% - Tank 7, 0.45% - Tank 10, 0.45% - Tank 11, 0.45% - Tank 5

Analysis of Variance for PO (OD 490), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	11	1.92389	1.92389	0.17490	68.82	0.000
Error	108	0.27446	0.27446	0.00254		
Total	119	2.19835				

S = 0.0504113 R-Sq = 87.52% R-Sq(adj) = 86.24%

Unusual Observations for PO (OD 490)

Obs	PO (OD 490)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
90	0.680000	0.579000	0.015941	0.101000	2.11 R
91	0.800000	0.680000	0.015941	0.120000	2.51 R
92	0.550000	0.680000	0.015941	-0.130000	-2.72 R
93	0.540000	0.680000	0.015941	-0.140000	-2.93 R
94	0.530000	0.680000	0.015941	-0.150000	-3.14 R
113	0.790000	0.688000	0.015941	0.102000	2.13 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
0.45% - Tank 11	10	0.6880	A
0.45% - Tank 5	10	0.6800	A
0.45% - Tank 10	10	0.6590	A
0.35% - Tank 7	10	0.5790	B
0.35% - Tank 2	10	0.5460	B
0.35% - Tank 3	10	0.5390	B
0.25% - Tank 1	10	0.5380	B
0.25% - Tank 6	10	0.5160	B
0.25% - Tank 8	10	0.5110	B
0% - Tank 12	10	0.3370	C
0% - Tank 9	10	0.3340	C
0% - Tank 4	10	0.3050	C

Means that do not share a letter are significantly different.

5. RES (OD 630 nm)

Descriptive Statistics: RES (OD 630)

Variable	Treatments	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Median	Maximum
RES (OD 630)	0% - Tank 12	0.2060	0.0128	0.0403	0.1400	0.2050	0.2700
	0% - Tank 4	0.2100	0.0125	0.0394	0.1500	0.2150	0.2700
	0% - Tank 9	0.1990	0.0137	0.0433	0.1500	0.1900	0.2700
	0.25% - Tank 1	0.4220	0.0155	0.0492	0.3300	0.4400	0.4800
	0.25% - Tank 6	0.4130	0.0128	0.0406	0.3400	0.4200	0.4700
	0.25% - Tank 8	0.4010	0.0167	0.0528	0.3100	0.4050	0.4800
	0.35% - Tank 2	0.6710	0.0285	0.0902	0.5700	0.6300	0.8100
	0.35% - Tank 3	0.6400	0.0267	0.0845	0.5500	0.6150	0.8400
	0.35% - Tank 7	0.6480	0.0294	0.0928	0.5400	0.6400	0.8000
	0.45% - Tank 10	0.6590	0.0177	0.0559	0.5700	0.6600	0.7400
	0.45% - Tank 11	0.6820	0.0294	0.0931	0.5400	0.6600	0.8400
	0.45% - Tank 5	0.6800	0.0326	0.1030	0.5300	0.7150	0.8000

General Linear Model: RES (OD 630) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	12	0% - Tank 12, 0% - Tank 4, 0% - Tank 9, 0.25% - Tank 1, 0.25% - Tank 6, 0.25% - Tank 8, 0.35% - Tank 2, 0.35% - Tank 3, 0.35% - Tank 7, 0.45% - Tank 10, 0.45% - Tank 11, 0.45% - Tank 5

Analysis of Variance for RES (OD 630), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	11	4.43761	4.43761	0.40342	83.20	0.000
Error	108	0.52369	0.52369	0.00485		
Total	119	4.96130				

S = 0.0696346 R-Sq = 89.44% R-Sq(adj) = 88.37%

Unusual Observations for RES (OD 630)

Obs	RES (OD 630)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
61	0.810000	0.671000	0.022020	0.139000	2.10 R
75	0.840000	0.640000	0.022020	0.200000	3.03 R
81	0.800000	0.648000	0.022020	0.152000	2.30 R
93	0.540000	0.680000	0.022020	-0.140000	-2.12 R
94	0.530000	0.680000	0.022020	-0.150000	-2.27 R
112	0.840000	0.682000	0.022020	0.158000	2.39 R
117	0.540000	0.682000	0.022020	-0.142000	-2.15 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
0.45% - Tank 11	10	0.6820	A
0.45% - Tank 5	10	0.6800	A
0.35% - Tank 2	10	0.6710	A
0.45% - Tank 10	10	0.6590	A
0.35% - Tank 7	10	0.6480	A
0.35% - Tank 3	10	0.6400	A
0.25% - Tank 1	10	0.4220	B
0.25% - Tank 6	10	0.4130	B
0.25% - Tank 8	10	0.4010	B
0% - Tank 4	10	0.2100	C
0% - Tank 12	10	0.2060	C
0% - Tank 9	10	0.1990	C

Means that do not share a letter are significantly different.

6. SOD (OD 560 nm)

Descriptive Statistics: SOD (OD 560)

Variable	Treatments	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Median	Maximum
SOD (OD 560)	0% - Tank 12	1.4740	0.0391	0.1238	1.3200	1.4950	1.6200
	0% - Tank 4	1.3450	0.0350	0.1107	1.2300	1.3050	1.6000
	0% - Tank 9	1.3990	0.0480	0.1519	1.1500	1.3650	1.7100
	0.25% - Tank 1	2.4250	0.0214	0.0675	2.3100	2.4300	2.5500
	0.25% - Tank 6	2.521	0.101	0.321	2.340	2.430	3.420
	0.25% - Tank 8	2.4920	0.0247	0.0780	2.3900	2.4750	2.6100
	0.35% - Tank 2	3.6380	0.0443	0.1402	3.4700	3.5900	3.8300
	0.35% - Tank 3	3.7170	0.0269	0.0851	3.5900	3.7450	3.8300
	0.35% - Tank 7	3.5930	0.0208	0.0658	3.4900	3.5900	3.6900
	0.45% - Tank 10	3.7350	0.0227	0.0717	3.6300	3.7100	3.8400
	0.45% - Tank 11	3.7430	0.0227	0.0718	3.6300	3.7600	3.8500
	0.45% - Tank 5	3.6020	0.0326	0.1029	3.4700	3.6300	3.7700

General Linear Model: SOD (OD 560) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	12	0% - Tank 12, 0% - Tank 4, 0% - Tank 9, 0.25% - Tank 1, 0.25% - Tank 6, 0.25% - Tank 8, 0.35% - Tank 2, 0.35% - Tank 3, 0.35% - Tank 7, 0.45% - Tank 10, 0.45% - Tank 11, 0.45% - Tank 5

Analysis of Variance for SOD (OD 560), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	11	107.2950	107.2950	9.7541	541.20	0.000
Error	108	1.9465	1.9465	0.0180		
Total	119	109.2415				

S = 0.134250 R-Sq = 98.22% R-Sq(adj) = 98.04%

Unusual Observations for SOD (OD 560)

Obs	SOD (OD 560)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
5	1.60000	1.34500	0.04245	0.25500	2.00 R
17	1.71000	1.39900	0.04245	0.31100	2.44 R
44	3.42000	2.52100	0.04245	0.89900	7.06 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
0.45% - Tank 11	10	3.743	A
0.45% - Tank 10	10	3.735	A
0.35% - Tank 3	10	3.717	A
0.35% - Tank 2	10	3.638	A
0.45% - Tank 5	10	3.602	A
0.35% - Tank 7	10	3.593	A
0.25% - Tank 6	10	2.521	B
0.25% - Tank 8	10	2.492	B
0.25% - Tank 1	10	2.425	B
0% - Tank 12	10	1.474	C
0% - Tank 9	10	1.399	C
0% - Tank 4	10	1.345	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Phụ lục 2. Khảo sát độc lực vi khuẩn *V. parahaemolyticus* gây bệnh trên tôm.

2.1. Enzyme ngoại bào độc lực của các chủng vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

1. Hoạt tính phospholipase (mm)

Lần lặp	CAB16002	CAB19003	CAB25001	CED12020
1	10	18	15	20
2	11	19	16	19
3	11	19	16	20
Mean	10.67	18.67	15.67	19.67
SD	0.58	0.58	0.58	0.58

2. Hoạt tính lipase (mm)

Lần lặp	CAB16002	CAB19003	CAB25001	CED12020
1	12	15	16	21
2	15	13	15	23
3	13	14	14	21
Mean	13.33	14.00	15.00	21.67
SD	1.53	1.00	1.00	1.15

3. Hoạt tính hemolysin (mm)

Lần lặp	CAB16002	CAB19003	CAB25001	CED12020
1	14	12	14	22
2	16	14	16	23
3	16	11	14	22
Mean	15.33	12.33	14.67	22.33
SD	1.15	1.53	1.15	0.58

2.2. Tỷ lệ chết tích lũy tôm sau gây nhiễm

Ngày sau cảm nhiễm	2.2 x 10 ⁴		2.2 x 10 ⁵		2.2 x 10 ⁶		2.2 x 10 ⁷	
	Số tôm chết	Tôm chết cộng dồn	Số tôm chết	Tôm chết cộng dồn	Số tôm chết	Tôm chết cộng dồn	Số tôm chết	Tôm chết cộng dồn
1	0	0	0	0	3	3/120	9	9/120
2	0	0	8	8/120	50	53/120	67	76/120
3	6	6/120	22	30/120	13	63/120	35	111/120
4	6	12/120	15	45/120	12	78/120	6	117/120
5	5	17/120	7	52/120	4	82/120	3	120/120
6	0	17/120	2	54/120	3	85/120	0	120/120
7	0	17/120	2	56/120	1	86/120	0	120/120
8	0	17/120	0	56/120	0	86/120	0	120/120
9	0	17/120	0	56/120	0	86/120	0	120/120
10	0	17/120	0	56/120	0	86/120	0	120/120
11	0	17/120	0	56/120	0	86/120	0	120/120
12	0	17/120	0	56/120	0	86/120	0	120/120
13	0	17/120	0	56/120	0	86/120	0	120/120
14	0	17/120	0	56/120	0	86/120	0	120/120
15	0	17/120	0	56/120	0	86/120	0	120/120
Cộng	17		56		86		120	

2.3. Kết quả phản ứng sinh hóa kit API 20E các chủng vi khuẩn phân lập được trên tôm sau khi gây nhiễm vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* (Thí nghiệm LD₅₀)

Thí nghiệm thức		VK	Phản ứng sinh hóa API 20E																			
			ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
10 ⁴ CFU /ml	Bể 17	17.1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		17.2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		17.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
	Bể 18	18.1	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		18.2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		18.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
	Bể 24	24.1	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		24.2	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		24.3	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
10 ⁵ CFU /ml	Bể 19	19.1	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		19.2	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		19.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
	Bể 22	22.1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		22.2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		22.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
	Bể 28	28.1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		28.2	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		28.3	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
10 ⁶ CFU /ml	Bể 20	20.1	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		20.2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		20.3	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
	Bể 29	29.1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		29.2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		29.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
	Bể 30	30.1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		30.2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		30.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
10 ⁷ CFU /ml	Bể 16	16.1	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		16.2	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		16.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
	Bể 21	21.1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		21.2	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		21.3	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
	Bể 25	25.1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		25.2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		25.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+

Tổng hợp kết quả định danh vi khuẩn trên Apiweb™ - API 20E

STT	Chủng vi khuẩn	Code phản ứng sinh hóa	Kết quả định danh	ID (%)
1	17.1	4046107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	98,8
2	17.2	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
3	17.3	4146107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
4	18.1	0146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
5	18.2	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
6	18.3	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
7	24.1	0146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
8	24.2	0146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
9	24.3	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
10	19.1	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
11	19.2	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
12	19.3	0146107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,8
13	22.1	4046107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	98,8
14	22.2	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
15	22.3	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
16	28.1	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
17	28.2	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
18	28.3	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
19	20.1	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
20	20.2	4146107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
21	20.3	0146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
22	29.1	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
23	29.2	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
24	29.3	4146107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
25	30.1	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
26	30.2	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
27	30.3	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
28	16.1	0146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
29	16.2	0146107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,8
30	16.3	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
31	21.1	4046107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	98,9
32	21.2	0146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
33	21.3	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
34	25.1	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
35	25.2	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
36	25.3	4146107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9

Kết quả định danh vi khuẩn trên phần mềm Apiweb™ - API 20E

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
17.1	8/12/24
COMMENT	

GOOD IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4046107						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	98.8	0.64	ODC	99%			
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 1	0.8	0.28	ONPG	98%	ADH	90%	LDC 25% SAC 97%

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
17.2	8/12/24
COMMENT	

EXCELLENT IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4146106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0					
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC	99%	ARA	1%	

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
17.3	8/12/24
COMMENT	

EXCELLENT IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4146107						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	0.92					
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio vulnificus	0.1	0.22	ONPG	99%	ARA	0%	

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
18.1	8/12/24
COMMENT	

VERY GOOD IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	0146106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	0.72	LDC	99%			
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.1	0.11	LDC	98%	SAC	99%	ARA 1%

REFERENCE

18.2

DATE

8/12/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4146106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0					
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC 99%	ARA 1%			

REFERENCE

18.3

DATE

8/12/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4146106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0					
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC 99%	ARA 1%			

REFERENCE

24.1

DATE

8/12/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	0146106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	0.72	LDC 99%				
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.1	0.11	LDC 98%	SAC 99%	ARA 1%		

REFERENCE

24.2

DATE

8/12/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	0146106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	0.72	LDC 99%				
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.1	0.11	LDC 98%	SAC 99%	ARA 1%		

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

24.3

DATE

8/12/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4046106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.3	0.72	ODC	99%		

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.5	0.28	ODC	75%	SAC	99%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

19.1

DATE

8/12/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4146106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0				

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC	99%	ARA	1%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

19.2

DATE

8/12/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4046106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.3	0.72	ODC	99%		

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.5	0.28	ODC	75%	SAC	99%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

19.3

DATE

8/13/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	0146107
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.8	0.64	LDC	99%		

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio vulnificus	0.1	0.06	ONPG	99%	LDC	91%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

22.1

DATE

8/12/24

COMMENT

GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4046107
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	98.8	0.64	ODC	99%		

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 1	0.8	0.28	ONPG	98%	ADH	90%
			LDC	25%	SAC	97%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

22.2

DATE

8/13/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4146106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0				

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC	99%	ARA	1%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

22.3

DATE

8/13/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4146106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0				

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC	99%	ARA	1%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

28.1

DATE

8/13/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4046106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.3	0.72	ODC	99%		

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.5	0.28	ODC	75%	SAC	99%
			ARA	1%		

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

28.2

DATE

8/14/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4046106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.3	0.72	ODC	99%		

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.5	0.28	ODC	75%	SAC 99%	ARA 1%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

28.3

DATE

8/14/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4046106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.3	0.72	ODC	99%		

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.5	0.28	ODC	75%	SAC 99%	ARA 1%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

20.1

DATE

8/13/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4146106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0				

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC	99%	ARA	1%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

20.2

DATE

8/13/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4146107
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.9	0.92				

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio vulnificus	0.1	0.22	ONPG	99%	ARA	0%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

20.3

DATE

8/13/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	0146106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.9	0.72	LDC	99%		

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.1	0.11	LDC	98%	SAC	99% ARA 1%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

29.1

DATE

8/14/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4046106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.3	0.72	ODC	99%		

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.5	0.28	ODC	75%	SAC	99% ARA 1%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

29.2

DATE

8/14/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4146106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0				

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC	99%	ARA	1%

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

29.3

DATE

8/14/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4146107
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.9	0.92				

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio vulnificus	0.1	0.22	ONPG	99%	ARA	0%

2.4. Phân tích thống kê

Descriptive Statistics: Phospholipase

Variable	Treatment	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1
Phospholipase	CAB16002	3	0	10.667	0.333	0.577	10.000	10.000
	CAB19003	3	0	18.667	0.333	0.577	18.000	18.000
	CAB25001	3	0	15.667	0.333	0.577	15.000	15.000
	CED12020	3	0	19.667	0.333	0.577	19.000	19.000

Variable	Treatment	Median	Q3	Maximum
Phospholipase	CAB16002	11.000	11.000	11.000
	CAB19003	19.000	19.000	19.000
	CAB25001	16.000	16.000	16.000
	CED12020	20.000	20.000	20.000

Geneeral Linear Model: Phospholipase versus Treatment

Factor	Type	Levels	Values
Treatment	fixed	4	CAB16002, CAB19003, CAB25001, CED12020

Analysis of Variance for Phospholipase, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatment	3	147.000	147.000	49.000	147.00	0.000
Error	8	2.667	2.667	0.333		
Total	11	149.667				

S = 0.577350 R-Sq = 98.22% R-Sq(adj) = 97.55%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatment	N	Mean	Grouping
CED12020	3	19.67	A
CAB19003	3	18.67	A
CAB25001	3	15.67	B
CAB16002	3	10.67	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Descriptive Statistics: Lipase

Variable	Treatment	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Lipase	CAB16002	3	0	13.333	0.882	1.528	12.000	12.000	13.000
	CAB19003	3	0	14.000	0.577	1.000	13.000	13.000	14.000
	CAB25001	3	0	15.000	0.577	1.000	14.000	14.000	15.000
	CED12020	3	0	21.667	0.667	1.155	21.000	21.000	21.000

Variable	Treatment	Q3	Maximum
Lipase	CAB16002	15.000	15.000
	CAB19003	15.000	15.000
	CAB25001	16.000	16.000
	CED12020	23.000	23.000

Geneeral Linear Model: Lipase versus Treatment

Factor	Type	Levels	Values
Treatment	fixed	4	CAB16002, CAB19003, CAB25001, CED12020

Analysis of Variance for Lipase, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
--------	----	--------	--------	--------	---	---

Treatment	3	132.667	132.667	44.222	31.22	0.000
Error	8	11.333	11.333	1.417		
Total	11	144.000				

S = 1.19024 R-Sq = 92.13% R-Sq(adj) = 89.18%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatment	N	Mean	Grouping
CED12020	3	21.67	A
CAB25001	3	15.00	B
CAB19003	3	14.00	B
CAB16002	3	13.33	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Descriptive Statistics: Hemolysin

Variable	Treatment	N	N*	Mean	SE Mean	StDev	Minimum	Q1	Median
Hemolysin	CAB16002	3	0	15.333	0.667	1.155	14.000	14.000	16.000
	CAB19003	3	0	12.333	0.882	1.528	11.000	11.000	12.000
	CAB25001	3	0	14.667	0.667	1.155	14.000	14.000	14.000
	CED12020	3	0	22.333	0.333	0.577	22.000	22.000	22.000

Variable	Treatment	Q3	Maximum
Hemolysin	CAB16002	16.000	16.000
	CAB19003	14.000	14.000
	CAB25001	16.000	16.000
	CED12020	23.000	23.000

General Linear Model: Hemolysin versus Treatment

Factor	Type	Levels	Values
Treatment	fixed	4	CAB16002, CAB19003, CAB25001, CED12020

Analysis of Variance for Hemolysin, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatment	3	167.000	167.000	55.667	41.75	0.000
Error	8	10.667	10.667	1.333		
Total	11	177.667				

S = 1.15470 R-Sq = 94.00% R-Sq(adj) = 91.74%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatment	N	Mean	Grouping
CED12020	3	22.33	A
CAB16002	3	15.33	B
CAB25001	3	14.67	B
CAB19003	3	12.33	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Phụ lục 3. Ảnh hưởng của SCFP lên đáp ứng miễn dịch và sức đề kháng của tôm đối với *V. parahaemolyticus*.

3.1. Mật độ tế bào máu tại các thời điểm thu mẫu

1. THC (10^4 tế bào/ml)

Thời điểm thu	STT	NC			PC			0,45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
Trước gây nhiễm vi khuẩn	0	192.00	187.20	195.60	190.80	194.40	190.80	464.40	454.80	448.80
	0	196.80	193.20	198.00	187.20	189.60	199.20	456.00	450.00	451.20
	0	190.80	194.40	188.40	195.60	182.40	183.60	453.60	465.60	458.40
	0	186.00	190.80	192.00	188.40	199.20	180.00	459.60	466.80	452.40
	0	181.20	187.20	184.80	189.60	189.60	193.20	446.40	471.60	462.00
	Mean	190.56			190.24			457.44		
	SD	4.74			5.61			7.41		
12h sau gây nhiễm vi khuẩn	1	190.80	192.00	198.00	184.80	184.80	183.60	441.60	451.20	430.80
	2	193.20	194.40	189.60	189.60	186.00	186.00	450.00	445.20	453.60
	3	195.60	186.00	194.40	195.60	187.20	198.00	448.80	442.80	430.80
	4	189.60	187.20	183.60	188.40	194.40	182.40	452.40	444.00	440.40
	5	188.40	196.80	193.20	192.00	190.80	194.40	440.40	434.40	439.20
	Mean	191.52			189.20			443.04		
	SD	4.13			4.81			7.36		
24h sau gây nhiễm vi khuẩn	6	186.00	190.80	193.20	141.60	138.00	133.20	324.00	300.00	315.60
	7	189.60	188.40	196.80	128.40	144.00	142.80	310.80	292.80	310.80
	8	192.00	194.40	187.20	134.40	134.40	139.20	300.00	313.20	308.40
	9	187.20	190.80	184.80	138.00	141.60	134.40	318.00	307.20	298.80
	10	193.20	188.40	190.80	135.60	129.60	132.00	298.80	318.00	300.00
	Mean	190.24			136.48			307.76		
	SD	3.33			4.77			9.06		
48h sau gây nhiễm vi khuẩn	11	194.40	189.60	184.80	85.20	87.60	85.20	204.00	198.00	202.80
	12	188.40	193.20	190.80	93.60	90.00	91.20	200.40	199.20	210.00
	13	199.20	194.40	193.20	84.00	86.40	84.00	205.20	195.60	199.20
	14	186.00	186.00	192.00	88.80	88.80	86.40	201.60	206.40	201.60
	15	182.40	186.00	183.60	85.20	88.80	99.60	196.80	212.40	196.80
	Mean	189.60			88.32			202.00		
	SD	4.80			4.15			4.90		

Thời điểm thu	STT	NC			PC			0,45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
96h sau gây nhiễm vi khuẩn	16	189.60	183.60	187.20	122.40	123.60	122.40	285.60	272.40	282.00
	17	195.60	194.40	196.80	115.20	128.40	124.80	277.20	291.60	291.60
	18	182.40	184.80	187.20	122.40	126.00	123.60	280.80	266.40	284.40
	19	192.00	198.00	193.20	114.00	120.00	117.60	278.40	286.80	294.00
	20	187.20	189.60	188.40	127.20	112.80	121.20	286.80	283.20	276.00
	Mean	190.00			121.44			282.48		
	SD	4.84			4.72			7.56		
7 ngày sau gây nhiễm vi khuẩn	21	195.60	187.20	195.60	146.40	145.20	156.00	314.40	307.20	310.80
	22	192.00	195.60	190.80	148.80	148.80	154.80	322.80	313.20	316.80
	23	186.00	192.00	186.00	159.60	154.80	144.00	318.00	308.40	309.60
	24	194.40	182.40	194.40	168.00	157.20	147.60	302.40	315.60	303.60
	25	192.00	188.40	188.40	152.40	158.40	159.60	324.00	312.00	321.60
	Mean	190.72			153.44			313.36		
	SD	4.14			6.66			6.60		
14 ngày sau gây nhiễm vi khuẩn	26	190.80	190.80	198.00	182.40	194.40	190.80	375.60	362.40	366.00
	27	188.40	199.20	195.60	186.00	181.20	188.40	361.20	360.00	367.20
	28	183.60	195.60	187.20	178.80	184.80	181.20	354.00	351.60	358.80
	29	187.20	184.80	190.80	189.60	187.20	189.60	376.80	378.00	368.40
	30	201.60	192.00	189.60	188.40	177.60	183.60	355.20	354.00	363.60
	Mean	191.68			185.60			363.52		
	SD	5.32			4.77			8.49		

2. GC (10⁴ tế bào/ml)

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
Trước gây nhiễm vi khuẩn	0	60.00	58.80	64.80	61.20	62.40	63.60	142.80	133.20	136.80
	0	63.60	62.40	62.40	63.60	61.20	64.80	136.80	135.60	135.60
	0	62.40	61.20	58.80	62.40	57.60	55.20	135.60	140.40	138.00
	0	60.00	61.20	63.60	60.00	67.20	55.20	138.00	142.80	136.80
	0	56.40	60.00	62.40	58.80	62.40	61.20	134.40	144.00	139.20
	Mean	61.20			61.12			138.00		
	SD	2.22			3.35			3.24		

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
12h sau gây nhiễm vi khuẩn	1	61.20	61.20	64.80	60.00	60.00	58.80	132.00	135.60	132.00
	2	63.60	60.00	60.00	58.80	58.80	60.00	133.20	136.80	138.00
	3	62.40	57.60	61.20	62.40	62.40	64.80	134.40	130.80	132.00
	4	60.00	58.80	52.80	58.80	62.40	61.20	135.60	133.20	134.40
	5	61.20	62.40	62.40	60.00	61.20	62.40	133.20	133.20	134.40
	Mean	60.64			60.80			133.92		
	SD	2.83			1.80			1.97		
24h sau gây nhiễm vi khuẩn	6	60.00	63.60	60.00	44.40	43.20	40.80	100.80	91.20	96.00
	7	61.20	62.40	61.20	42.00	44.40	43.20	97.20	90.00	94.80
	8	62.40	61.20	56.40	43.20	42.00	44.40	96.00	94.80	92.40
	9	58.80	60.00	57.60	40.80	43.20	44.40	96.00	94.80	92.40
	10	66.00	60.00	61.20	44.40	40.80	43.20	92.40	97.20	93.60
	Mean	60.80			42.96			94.64		
	SD	2.34			1.38			2.75		
48h sau gây nhiễm vi khuẩn	11	61.20	60.00	57.60	27.60	28.80	26.40	64.80	60.00	63.60
	12	58.80	62.40	58.80	30.00	27.60	28.80	63.60	63.60	66.00
	13	62.40	60.00	63.60	25.20	26.40	27.60	63.60	61.20	62.40
	14	57.60	57.60	62.40	26.40	27.60	28.80	64.80	66.00	64.80
	15	56.40	58.80	56.40	25.20	28.80	30.00	60.00	67.20	61.20
	Mean	59.60			27.68			63.52		
	SD	2.34			1.54			2.20		
96h sau gây nhiễm vi khuẩn	16	58.80	55.20	57.60	38.40	39.60	38.40	87.60	82.80	86.40
	17	60.00	63.60	60.00	34.80	38.40	37.20	85.20	87.60	88.80
	18	56.40	56.40	58.80	37.20	36.00	37.20	86.40	80.40	85.20
	19	60.00	61.20	60.00	36.00	36.00	36.00	84.00	86.40	87.60
	20	58.80	58.80	60.00	39.60	33.60	37.20	87.60	85.20	82.80
	Mean	59.04			37.04			85.60		
	SD	2.09			1.69			2.30		
7 sau gây nhiễm vi khuẩn	21	58.80	61.20	60.00	45.60	42.00	49.20	96.00	91.20	92.40
	22	60.00	62.40	61.20	45.60	43.20	48.00	97.20	93.60	93.60
	23	57.60	61.20	56.40	49.20	48.00	43.20	97.20	93.60	93.60
	24	62.40	57.60	62.40	50.40	40.00	46.80	90.00	96.00	93.60
	25	61.20	58.80	60.00	46.80	50.40	49.20	96.00	94.80	94.80
	Mean	60.08			46.51			94.24		
	SD	1.90			3.19			2.07		

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
14 sau gây nhiễm vi khuẩn	26	58.80	57.60	61.20	56.40	58.80	57.60	112.80	111.60	111.60
	27	57.60	61.20	62.40	57.60	55.20	56.40	109.20	109.20	110.40
	28	58.80	60.00	57.60	55.20	57.60	54.00	109.20	104.40	109.20
	29	60.00	58.80	58.80	57.60	56.40	57.60	114.00	115.20	110.40
	30	63.60	60.00	58.80	56.40	55.20	56.40	106.80	108.00	109.20
	Mean	59.68			56.56			110.08		
	SD	1.78			1.27			2.74		

3. HC (10^4 tế bào/ml)

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
Trước gây nhiễm vi khuẩn	0	132.00	128.40	130.80	129.60	132.00	127.20	321.60	321.60	312.00
	0	133.20	130.80	135.60	123.60	128.40	134.40	320.40	314.40	315.60
	0	128.40	133.20	129.60	132.00	127.20	128.40	318.00	325.20	320.40
	0	126.00	129.60	128.40	128.40	132.00	124.80	321.60	324.00	315.60
	0	124.80	127.20	122.40	130.80	127.20	132.00	312.00	327.60	322.80
	Mean	129.36			129.20			319.52		
	SD	3.46			3.00			4.75		
12h sau gây nhiễm vi khuẩn	1	129.60	130.80	133.20	124.80	124.80	124.80	309.60	315.60	298.80
	2	129.60	134.40	129.60	130.80	127.20	126.00	316.80	308.40	315.60
	3	133.20	128.40	133.20	133.20	124.80	133.20	314.40	312.00	298.80
	4	129.60	128.40	130.80	129.60	134.40	133.20	316.80	310.80	306.00
	5	127.20	134.40	130.80	132.00	129.60	132.00	307.20	301.20	304.80
	Mean	130.88			129.36			309.12		
	SD	2.29			3.63			6.27		
24h sau gây nhiễm vi khuẩn	6	126.00	127.20	133.20	97.20	94.80	92.40	223.20	208.80	219.60
	7	128.40	126.00	135.60	86.40	99.60	99.60	213.60	202.80	216.00
	8	129.60	133.20	130.80	91.20	92.40	94.80	204.00	214.80	216.00
	9	128.40	130.80	127.20	97.20	98.40	90.00	222.00	212.40	206.40
	10	127.20	128.40	129.60	91.20	88.80	88.80	206.40	220.80	205.20
	Mean	129.44			93.52			212.80		
	SD	2.83			4.22			6.87		

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
48h sau gây nhiễm vi khuẩn	11	133.20	129.60	127.20	57.60	58.80	58.80	139.20	138.00	139.20
	12	129.60	130.80	132.00	63.60	62.40	62.40	136.80	135.60	144.00
	13	136.80	134.40	129.60	58.80	60.00	56.40	141.60	134.40	136.80
	14	128.40	128.40	129.60	62.40	61.20	57.60	136.80	140.40	136.80
	15	126.00	127.20	127.20	60.00	60.00	69.60	136.80	145.20	135.60
	Mean	130.00			60.64			138.48		
	SD	3.00			3.23			3.14		
96h sau gây nhiễm vi khuẩn	16	130.80	128.40	129.60	84.00	84.00	84.00	198.00	189.60	195.60
	17	135.60	130.80	136.80	80.40	90.00	87.60	192.00	204.00	202.80
	18	126.00	128.40	128.40	85.20	90.00	86.40	194.40	186.00	199.20
	19	132.00	136.80	133.20	78.00	84.00	81.60	194.40	200.40	206.40
	20	128.40	130.80	128.40	87.60	79.20	84.00	199.20	198.00	193.20
	Mean	130.96			84.40			196.88		
	SD	3.33			3.59			5.51		
7 ngày sau gây nhiễm vi khuẩn	21	136.80	126.00	135.60	100.80	103.20	106.80	218.40	216.00	218.40
	22	132.00	133.20	129.60	103.20	105.60	106.80	225.60	219.60	223.20
	23	128.40	130.80	129.60	110.40	106.80	100.80	220.80	214.80	216.00
	24	132.00	124.80	132.00	117.60	109.20	100.80	212.40	219.60	210.00
	25	130.80	129.60	128.40	105.60	108.00	110.40	228.00	217.20	226.80
	Mean	130.64			106.40			219.12		
	SD	3.20			4.51			5.15		
14 ngày sau gây nhiễm vi khuẩn	26	132.00	133.20	136.80	126.00	135.60	133.20	262.80	250.80	254.40
	27	130.80	138.00	133.20	128.40	126.00	132.00	252.00	250.80	256.80
	28	124.80	135.60	129.60	123.60	127.20	127.20	244.80	244.80	249.60
	29	127.20	126.00	132.00	132.00	130.80	132.00	262.80	262.80	258.00
	30	138.00	132.00	130.80	132.00	122.40	127.20	248.40	246.00	254.40
	Mean	132.00			129.04			253.28		
	SD	4.06			3.79			6.31		

3.2. Hoạt động enzyme miễn dịch tại các thời điểm thu mẫu

1. PO (OD 490 nm)

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
Trước gây nhiễm vi khuẩn	0	0.30	0.25	0.36	0.32	0.25	0.36	0.58	0.65	0.66
	0	0.26	0.35	0.37	0.34	0.27	0.32	0.73	0.72	0.74
	0	0.31	0.33	0.34	0.29	0.35	0.34	0.68	0.59	0.62
	0	0.28	0.27	0.25	0.31	0.32	0.29	0.67	0.68	0.59
	0	0.36	0.34	0.28	0.33	0.36	0.28	0.63	0.71	0.64
	Mean	0.31			0.32			0.66		
	SD	0.04			0.03			0.05		
12h sau gây nhiễm vi khuẩn	1	0.27	0.34	0.36	0.25	0.33	0.27	0.64	0.71	0.59
	2	0.35	0.37	0.33	0.32	0.34	0.35	0.65	0.65	0.60
	3	0.25	0.36	0.24	0.28	0.26	0.37	0.59	0.62	0.63
	4	0.32	0.28	0.31	0.36	0.31	0.31	0.67	0.60	0.66
	5	0.36	0.29	0.34	0.29	0.30	0.30	0.63	0.72	0.69
	Mean	0.32			0.31			0.64		
	SD	0.04			0.04			0.04		
24h sau gây nhiễm vi khuẩn	6	0.24	0.34	0.33	0.24	0.26	0.18	0.52	0.48	0.49
	7	0.34	0.29	0.36	0.23	0.20	0.22	0.49	0.54	0.50
	8	0.27	0.27	0.28	0.26	0.22	0.19	0.53	0.56	0.48
	9	0.30	0.34	0.31	0.22	0.19	0.24	0.55	0.49	0.54
	10	0.33	0.32	0.34	0.21	0.24	0.23	0.52	0.56	0.53
	Mean	0.31			0.22			0.52		
	SD	0.03			0.02			0.03		
48h sau gây nhiễm vi khuẩn	11	0.30	0.28	0.34	0.12	0.11	0.15	0.32	0.32	0.30
	12	0.32	0.31	0.32	0.11	0.15	0.15	0.34	0.36	0.35
	13	0.34	0.35	0.25	0.14	0.13	0.11	0.35	0.31	0.31
	14	0.31	0.27	0.33	0.15	0.11	0.13	0.31	0.33	0.36
	15	0.33	0.34	0.34	0.12	0.10	0.14	0.36	0.34	0.34
	Mean	0.32			0.13			0.33		
	SD	0.03			0.02			0.02		
96h sau gây nhiễm vi khuẩn	16	0.25	0.33	0.31	0.18	0.20	0.19	0.41	0.42	0.39
	17	0.29	0.34	0.31	0.19	0.16	0.22	0.43	0.38	0.45
	18	0.32	0.42	0.34	0.21	0.18	0.21	0.37	0.39	0.42
	19	0.33	0.31	0.33	0.17	0.20	0.19	0.45	0.40	0.44
	20	0.35	0.30	0.30	0.15	0.21	0.17	0.44	0.45	0.38
	Mean	0.32			0.19			0.41		
	SD	0.04			0.02			0.03		

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
7 ngày sau gây nhiễm vi khuẩn	21	0.34	0.33	0.32	0.22	0.17	0.25	0.48	0.46	0.46
	22	0.31	0.30	0.36	0.24	0.20	0.23	0.46	0.53	0.48
	23	0.29	0.36	0.34	0.19	0.19	0.22	0.50	0.52	0.51
	24	0.34	0.31	0.33	0.23	0.24	0.18	0.45	0.48	0.49
	25	0.35	0.32	0.30	0.22	0.26	0.24	0.51	0.49	0.53
	Mean	0.33			0.22			0.49		
	SD	0.02			0.03			0.03		
14 ngày sau gây nhiễm vi khuẩn	26	0.33	0.32	0.35	0.30	0.28	0.29	0.59	0.61	0.56
	27	0.34	0.33	0.33	0.29	0.29	0.31	0.60	0.57	0.58
	28	0.29	0.36	0.27	0.31	0.31	0.33	0.58	0.58	0.61
	29	0.32	0.30	0.35	0.28	0.30	0.30	0.60	0.62	0.62
	30	0.35	0.32	0.34	0.27	0.26	0.27	0.61	0.59	0.60
	Mean	0.33			0.29			0.59		
	SD	0.02			0.02			0.02		

2. RES (OD 630 nm)

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
Trước gây nhiễm vi khuẩn	0	0.23	0.22	0.19	0.23	0.25	0.18	0.68	0.65	0.66
	0	0.20	0.24	0.19	0.17	0.20	0.19	0.72	0.68	0.68
	0	0.19	0.20	0.23	0.21	0.21	0.23	0.71	0.64	0.71
	0	0.18	0.17	0.22	0.24	0.23	0.24	0.67	0.70	0.65
	0	0.23	0.25	0.24	0.23	0.19	0.23	0.66	0.69	0.67
	Mean	0.21			0.22			0.68		
	SD	0.02			0.02			0.02		
12h sau gây nhiễm vi khuẩn	1	0.22	0.23	0.23	0.23	0.18	0.25	0.66	0.68	0.71
	2	0.19	0.20	0.20	0.24	0.19	0.23	0.72	0.67	0.73
	3	0.20	0.22	0.24	0.21	0.24	0.21	0.74	0.70	0.66
	4	0.23	0.19	0.23	0.17	0.25	0.23	0.68	0.73	0.69
	5	0.21	0.23	0.21	0.25	0.24	0.24	0.65	0.68	0.67
	Mean	0.22			0.22			0.69		
	SD	0.02			0.03			0.03		
24h sau gây nhiễm vi khuẩn	6	0.21	0.16	0.18	0.18	0.15	0.17	0.56	0.58	0.51
	7	0.23	0.23	0.23	0.16	0.18	0.16	0.54	0.52	0.56
	8	0.20	0.17	0.22	0.21	0.20	0.18	0.58	0.60	0.53
	9	0.22	0.24	0.19	0.20	0.16	0.20	0.55	0.53	0.57
	10	0.21	0.25	0.23	0.17	0.15	0.17	0.53	0.55	0.58
	Mean	0.21			0.18			0.55		
	SD	0.03			0.02			0.03		

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
48h sau gây nhiễm vi khuẩn	11	0.19	0.18	0.23	0.10	0.07	0.07	0.31	0.32	0.35
	12	0.20	0.22	0.18	0.09	0.08	0.09	0.28	0.27	0.31
	13	0.23	0.17	0.16	0.12	0.11	0.12	0.30	0.33	0.30
	14	0.21	0.19	0.24	0.08	0.12	0.10	0.27	0.28	0.29
	15	0.20	0.23	0.21	0.06	0.07	0.11	0.33	0.34	0.32
	Mean	0.20			0.09			0.31		
	SD	0.02			0.02			0.03		
96h sau gây nhiễm vi khuẩn	16	0.22	0.23	0.17	0.13	0.11	0.10	0.45	0.47	0.41
	17	0.24	0.18	0.23	0.14	0.13	0.15	0.46	0.43	0.40
	18	0.20	0.22	0.22	0.12	0.14	0.11	0.44	0.40	0.44
	19	0.23	0.19	0.20	0.10	0.14	0.13	0.43	0.46	0.48
	20	0.21	0.21	0.19	0.12	0.12	0.12	0.45	0.42	0.45
	Mean	0.21			0.12			0.44		
	SD	0.02			0.02			0.02		
7 ngày sau gây nhiễm vi khuẩn	21	0.19	0.17	0.23	0.17	0.18	0.18	0.51	0.46	0.52
	22	0.23	0.22	0.24	0.18	0.16	0.17	0.49	0.48	0.53
	23	0.21	0.25	0.21	0.16	0.17	0.16	0.50	0.53	0.52
	24	0.20	0.19	0.18	0.19	0.15	0.19	0.48	0.55	0.47
	25	0.21	0.22	0.19	0.15	0.18	0.17	0.53	0.49	0.49
	Mean	0.21			0.17			0.50		
	SD	0.02			0.01			0.03		
14 ngày sau gây nhiễm vi khuẩn	26	0.18	0.23	0.16	0.21	0.18	0.19	0.62	0.65	0.66
	27	0.19	0.24	0.19	0.24	0.17	0.19	0.64	0.63	0.63
	28	0.22	0.20	0.22	0.18	0.22	0.21	0.60	0.62	0.60
	29	0.24	0.17	0.23	0.17	0.21	0.24	0.57	0.58	0.60
	30	0.23	0.18	0.21	0.19	0.22	0.23	0.62	0.61	0.61
	Mean	0.21			0.20			0.62		
	SD	0.03			0.02			0.02		

3. SOD (OD 560 nm)

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
Trước gây nhiễm vi khuẩn	0	1.41	1.38	1.51	1.40	1.35	1.56	3.74	3.57	3.75
	0	1.56	1.42	1.47	1.36	1.39	1.54	3.65	3.74	3.72
	0	1.46	1.48	1.39	1.49	1.43	1.49	3.68	3.66	3.65
	0	1.49	1.37	1.52	1.53	1.45	1.37	3.54	3.68	3.55
	0	1.35	1.46	1.43	1.44	1.55	1.42	3.79	3.70	3.77
	Mean	1.45			1.45			3.68		

Thời điểm thu mẫu	STT	NC			PC			0.45% SCFP		
		Bể 22	Bể 24	Bể 25	Bể 19	Bể 20	Bể 21	Bể 16	Bể 17	Bể 18
12h sau gây nhiễm vi khuẩn	1	1.39	1.49	1.54	1.43	1.47	1.36	3.70	3.78	3.71
	2	1.37	1.43	1.55	1.51	1.50	1.33	3.71	3.66	3.77
	3	1.43	1.38	1.46	1.38	1.53	1.54	3.76	3.56	3.67
	4	1.48	1.55	1.39	1.37	1.45	1.55	3.65	3.72	3.65
	5	1.52	1.58	1.44	1.56	1.46	1.52	3.54	3.78	3.73
	Mean	1.47			1.46			3.69		
	SD	0.07			0.08			0.07		
24h sau gây nhiễm vi khuẩn	6	1.38	1.44	1.45	1.05	1.09	1.08	2.78	2.70	2.69
	7	1.34	1.54	1.46	1.13	1.07	1.12	2.80	2.75	2.73
	8	1.45	1.36	1.39	1.09	1.21	1.22	2.86	2.86	2.78
	9	1.44	1.50	1.30	1.23	1.05	1.05	2.69	2.66	2.83
	10	1.36	1.38	1.57	1.06	1.22	1.17	2.73	2.80	2.86
	Mean	1.42			1.12			2.77		
	SD	0.08			0.07			0.07		
48h sau gây nhiễm vi khuẩn	11	1.42	1.48	1.39	0.50	0.41	0.58	1.30	1.31	1.35
	12	1.36	1.45	1.34	0.54	0.46	0.54	1.42	1.38	1.34
	13	1.40	1.37	1.44	0.46	0.52	0.48	1.35	1.46	1.44
	14	1.44	1.36	1.42	0.40	0.54	0.47	1.33	1.48	1.42
	15	1.34	1.44	1.48	0.55	0.56	0.55	1.43	1.37	1.47
	Mean	1.41			0.50			1.39		
	SD	0.05			0.06			0.06		
96h sau gây nhiễm vi khuẩn	16	1.40	1.36	1.51	0.90	0.86	0.97	2.10	2.15	2.23
	17	1.47	1.47	1.46	0.87	0.79	0.89	2.12	2.21	2.17
	18	1.44	1.39	1.38	0.94	0.85	0.95	2.22	2.17	2.10
	19	1.45	1.44	1.42	0.76	0.89	0.88	2.09	2.06	2.08
	20	1.48	1.46	1.47	0.94	0.94	0.73	2.18	2.05	2.05
	Mean	1.44			0.88			2.13		
	SD	0.04			0.07			0.06		
7 ngày sau gây nhiễm vi khuẩn	21	1.41	1.35	1.53	1.15	1.08	1.11	2.93	2.88	2.86
	22	1.48	1.33	1.43	1.19	1.16	1.19	2.90	2.84	2.96
	23	1.52	1.45	1.41	1.13	1.24	1.16	2.97	2.94	2.89
	24	1.44	1.48	1.50	1.21	1.25	1.06	2.87	2.91	2.91
	25	1.37	1.44	1.46	1.17	1.23	1.24	2.86	2.77	2.85
	Mean	1.44			1.17			2.89		
	SD	0.06			0.06			0.05		
14 ngày sau gây nhiễm vi khuẩn	26	1.43	1.47	1.45	1.42	1.39	1.45	3.40	3.54	3.45
	27	1.46	1.45	1.54	1.36	1.36	1.49	3.44	3.49	3.36
	28	1.52	1.51	1.48	1.38	1.35	1.37	3.36	3.43	3.54
	29	1.49	1.46	1.39	1.43	1.44	1.35	3.48	3.37	3.39
	30	1.42	1.43	1.48	1.40	1.41	1.32	3.41	3.48	3.43
	Mean	1.47			1.39			3.44		

3.3. Tỷ lệ chết tích lũy của tôm sau khi gây nhiễm vi khuẩn

Số tôm còn sống sau 45 ngày thử nghiệm cho ăn ở giai đoạn 1

Lần lập	S3 (SCFP 0.45)	PC	NC	Ghi chú
1	37	38	37	Đánh giá sức đề kháng với vi khuẩn
2	38	37	37	
3	37	36	38	
Cộng	112	111	112	
4	37	38	37	Đánh giá đáp ứng miễn dịch
5	38	37	36	
6	37	37	38	

Gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*, mật độ 3.3×10^5 CFU/ml

Số tôm còn sống sau 15 ngày gây nhiễm với vi khuẩn ở giai đoạn 2

Lần lập	S3	PC	NC
1	31	17	37
2	31	18	37
3	30	16	38
Cộng	92	51	112

Số tôm chết cộng dồn sau 15 ngày gây nhiễm với khuẩn gây bệnh

Ngày sau cảm nhiễm	S3	PC	NC
1	0	10/111	0/112
2	11/112	29/111	0
3	14/112	40/111	0
4	17/112	43/111	0
5	18/112	46/111	0
6	19/112	49/111	0
7	20/112	52/111	0
8	20/112	55/111	0
9	20/112	58/111	0
10	20/112	60/111	0
11	20/112	60/111	0
12	20/112	60/111	0
13	20/112	60/111	0
14	20/112	60/111	0
15	20/112	60/111	0

3.4. Kết quả phản ứng sinh hóa kit API 20E các chủng vi khuẩn phân lập được trên tôm sau khi gây nhiễm vi khuẩn *V. parahaemolyticus*

Thí nghiệm		VK	Phản ứng sinh hóa API 20E																			
			ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H ₂ S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
PC	Bể 19	19.1	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		19.2	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		19.3	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
	Bể 20	20.1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		20.2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		20.3	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
	Bể 21	21.1	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		21.2	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		21.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
S3	Bể 16	16.1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		16.2	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		16.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
	Bể 17	17.1	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		17.2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
		17.3	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
	Bể 18	18.1	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
		18.2	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
		18.3	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+

Tổng hợp kết quả định danh vi khuẩn trên Apiweb™ - API 20E

STT	Chủng vi khuẩn	Code phản ứng sinh hóa	Kết quả định danh	ID (%)
1	19.1	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
2	19.2	0146107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,8
3	19.3	4046107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	98,8
4	20.1	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
5	20.2	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
6	20.3	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
7	21.1	4146107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
8	21.2	4046107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	98,8
9	21.3	0146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
10	16.1	4046107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	98,8
11	16.2	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
12	16.3	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
13	17.1	4146107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
14	17.2	4146104	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	89,7
15	17.3	0146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
16	18.1	4046106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,3
17	18.2	4146107	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9
18	18.3	4146106	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	99,9

Kết quả định danh vi khuẩn trên phần mềm Apiweb™ - API 20E

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
19.1	10/13/24
COMMENT	

EXCELLENT IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4146106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0					
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC 99%	ARA 1%			

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
19.2	10/13/24
COMMENT	

VERY GOOD IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	0146107						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.8	0.64	LDC 99%				
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio vulnificus	0.1	0.06	ONPG 99%	LDC 91%	ARA 0%		

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
19.3	10/13/24
COMMENT	

GOOD IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4046107						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	98.8	0.64	ODC 99%				
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 1	0.8	0.28	ONPG 98%	ADH 90%	LDC 25%	SAC 97%	

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
20.1	10/13/24
COMMENT	

VERY GOOD IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4046106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.3	0.72	ODC 99%				
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.5	0.28	ODC 75%	SAC 99%	ARA 1%		

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

20.2

DATE

10/13/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4146106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0				

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC 99%	ARA 1%		

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

20.3

DATE

10/13/24

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4046106
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.3	0.72	ODC 99%			

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio alginolyticus	0.5	0.28	ODC 75%	SAC 99%	ARA 1%	

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

21.1

DATE

10/13/24

COMMENT

EXCELLENT IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4146107
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	99.9	0.92				

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Vibrio vulnificus	0.1	0.22	ONPG 99%	ARA 0%		

API 20 E V5.0

[Printout](#)[Export](#)[New test](#)[Modify](#)

REFERENCE

21.2

DATE

10/13/24

COMMENT

GOOD IDENTIFICATION

Strip	API 20 E V5.0
Profile	4046107
Note	

Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Vibrio parahaemolyticus	98.8	0.64	ODC 99%			

Next taxon	% ID	T	Tests against			
Aeromonas hydrophila/caviae/sobria 1	0.8	0.28	ONPG 98%	ADH 90%	LDC 25%	SAC 97%

Modifv

10/13/24

Next taxon	% ID	T	Tests against					
<i>Vibrio alginolyticus</i>	0.1	0.11	LDC	98%	SAC	99%	ARA	1%

Modify

10/13/24

Next taxon	% ID	T	Tests against							
<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i> 1	0.8	0.28	ONPG	98%	ADH	90%	LDC	25%	SAC	97%

Modify

10/13/24

Next taxon	% ID	T	Tests against			
<i>Vibrio alginolyticus</i>	0.5	0.28	ODC 75%	SAC 99%	ARA 1%	

[Modify](#)

10/13/24

COMMENT:	
----------	--

Next taxon	% ID	T	Tests against					
<i>Vibrio alginolyticus</i>	0.1	0.36	SAC	99%	ARA	1%		

Modify

10/13/24

Next taxon	% ID	T	Tests against			
<i>Vibrio vulnificus</i>	0.1	0.22	ONPG 99%	ARA	0%	

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
17.2	10/13/24
COMMENT	

ACCEPTABLE IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4146104						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	89.7	1.0					
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio mimicus	6.9	0.72	ONPG 99%				

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
17.3	10/13/24
COMMENT	

VERY GOOD IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	0146106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	0.72	LDC 99%				
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.1	0.11	LDC 98%	SAC 99%	ARA 1%		

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
18.1	10/13/24
COMMENT	

VERY GOOD IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4046106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.3	0.72	ODC 99%				
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.5	0.28	ODC 75%	SAC 99%	ARA 1%		

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
18.2	10/13/24
COMMENT	

EXCELLENT IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4146107						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	0.92					
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio vulnificus	0.1	0.22	ONPG 99%	ARA 0%			

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE	DATE
18.3	10/13/24
COMMENT	

EXCELLENT IDENTIFICATION							
Strip	API 20 E V5.0						
Profile	4146106						
Note							
Significant taxa	% ID	T	Tests against				
Vibrio parahaemolyticus	99.9	1.0					
Next taxon	% ID	T	Tests against				
Vibrio alginolyticus	0.1	0.36	SAC 99%	ARA 1%			

3.5. Phân tích thống kê

Chỉ tiêu miễn dịch trước khi gây nhiễm vi khuẩn

1. THC - 0h

Geneeral Linear Model: THC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - 22.0, Negative control - 24.0, Negative control - 25.0, Positive control - 19.0, Positive control - 20.0, Positive control - 21.0, SCFP 0.45 - 16.0, SCFP 0.45 - 17.0, SVFP 0.45 - 18.0

Analysis of Variance for THC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	713271	713271	89159	2364.20	0.000
Error	36	1358	1358	38		
Total	44	714629				

S = 6.14101 R-Sq = 99.81% R-Sq(adj) = 99.77%

Unusual Observations for THC

Obs	THC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
37	450.000	461.760	2.746	-11.760	-2.14 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - 17.0	5	461.8	A
SCFP 0.45 - 16.0	5	456.0	A
SVFP 0.45 - 18.0	5	454.6	A
Negative control - 25.0	5	191.8	B
Positive control - 20.0	5	191.0	B
Negative control - 24.0	5	190.6	B
Positive control - 19.0	5	190.3	B
Negative control - 22.0	5	189.4	B
Positive control - 21.0	5	189.4	B

Means that do not share a letter are significantly different.

2. GC - 0h

Geneeral Linear Model: GC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - 22.0, Negative control - 24.0, Negative control - 25.0, Positive control - 19.0, Positive control - 20.0, Positive control - 21.0, SCFP 0.45 - 16.0, SCFP 0.45 - 17.0, SVFP 0.45 - 18.0

Analysis of Variance for GC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	59077.5	59077.5	7384.7	783.60	0.000
Error	36	339.3	339.3	9.4		
Total	44	59416.8				

S = 3.06985 R-Sq = 99.43% R-Sq(adj) = 99.30%

Unusual Observations for GC

Obs	GC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
36	133.200	139.200	1.373	-6.000	-2.19 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - 17.0	5	139.20	A
SCFP 0.45 - 16.0	5	137.52	A
SVFP 0.45 - 18.0	5	137.28	A
Negative control - 25.0	5	62.40	B
Positive control - 20.0	5	62.16	B
Positive control - 19.0	5	61.20	B
Negative control - 24.0	5	60.72	B
Negative control - 22.0	5	60.48	B
Positive control - 21.0	5	60.00	B

Means that do not share a letter are significantly different.

3. HC - 0h

Geneeral Linear Model: HC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - 22.0, Negative control - 24.0, Negative control - 25.0, Positive control - 19.0, Positive control - 20.0, Positive control - 21.0, SCFP 0.45 - 16.0, SCFP 0.45 - 17.0, SVFP 0.45 - 18.0

Analysis of Variance for HC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	361990	361990	45249	3067.30	0.000
Error	36	531	531	15		
Total	44	362521				

S = 3.84083 R-Sq = 99.85% R-Sq(adj) = 99.82%

Unusual Observations for HC

Obs	HC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
15	122.400	129.360	1.718	-6.960	-2.03 R
37	314.400	322.560	1.718	-8.160	-2.38 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - 17.0	5	322.6	A
SCFP 0.45 - 16.0	5	318.7	A
SVFP 0.45 - 18.0	5	317.3	A
Negative control - 24.0	5	129.8	B
Positive control - 20.0	5	129.4	B
Negative control - 25.0	5	129.4	B
Positive control - 21.0	5	129.4	B
Positive control - 19.0	5	128.9	B
Negative control - 22.0	5	128.9	B

Means that do not share a letter are significantly different.

4. PO - 0h

Geneeral Linear Model: PO (OD490) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - 22.0, Negative control - 24.0, Negative control - 25.0, Positive control - 19.0, Positive control - 20.0, Positive control - 21.0, SCFP 0.45 - 16.0, SCFP 0.45 - 17.0, SVFP 0.45 - 18.0

Analysis of Variance for PO (OD490), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	1.20406	1.20406	0.15051	70.73	0.000

Error	36	0.07660	0.07660	0.00213
Total	44	1.28066		

S = 0.0461278 R-Sq = 94.02% R-Sq(adj) = 92.69%

Unusual Observations for PO (OD490)

Obs	PO (OD490)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
42	0.740000	0.650000	0.020629	0.090000	2.18 R

R denotes an observation with a large standardized residual.
Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - 17.0	5	0.6700	A
SCFP 0.45 - 16.0	5	0.6580	A
SVFP 0.45 - 18.0	5	0.6500	A
Negative control - 25.0	5	0.3200	B
Positive control - 19.0	5	0.3180	B
Positive control - 21.0	5	0.3180	B
Positive control - 20.0	5	0.3100	B
Negative control - 24.0	5	0.3080	B
Negative control - 22.0	5	0.3020	B

Means that do not share a letter are significantly different.

5. RES - 0h

Geneeral Linear Model: RES (OD630) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - 22.0, Negative control - 24.0, Negative control - 25.0, Positive control - 19.0, Positive control - 20.0, Positive control - 21.0, SCFP 0.45 - 16.0, SCFP 0.45 - 17.0, SVFP 0.45 - 18.0

Analysis of Variance for RES (OD630), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	2.15719	2.15719	0.26965	401.13	0.000
Error	36	0.02420	0.02420	0.00067		
Total	44	2.18139				

S = 0.0259272 R-Sq = 98.89% R-Sq(adj) = 98.64%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - 16.0	5	0.6880	A
SVFP 0.45 - 18.0	5	0.6740	A
SCFP 0.45 - 17.0	5	0.6720	A
Positive control - 19.0	5	0.2160	B
Negative control - 24.0	5	0.2160	B
Positive control - 20.0	5	0.2160	B
Negative control - 25.0	5	0.2140	B
Positive control - 21.0	5	0.2140	B
Negative control - 22.0	5	0.2060	B

Means that do not share a letter are significantly different.

6. SOD - 0h

Geneeral Linear Model: SOD (OD560) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - 22.0, Negative control - 24.0, Negative control - 25.0, Positive control - 19.0, Positive control - 20.0, Positive control - 21.0, SCFP 0.45 - 16.0, SCFP 0.45 - 17.0, SVFP 0.45 - 18.0

Analysis of Variance for SOD (OD560), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	49.7545	49.7545	6.2193	1132.16	0.000

Error	36	0.1978	0.1978	0.0055
Total	44	49.9522		

S = 0.0741170 R-Sq = 99.60% R-Sq(adj) = 99.52%

Unusual Observations for SOD (OD560)

Obs	SOD (OD560)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
34	3.54000	3.68000	0.03315	-0.14000	-2.11 R
44	3.55000	3.68800	0.03315	-0.13800	-2.08 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SVFP 0.45 - 18.0	5	3.688	A
SCFP 0.45 - 16.0	5	3.680	A
SCFP 0.45 - 17.0	5	3.670	A
Positive control - 21.0	5	1.476	B
Negative control - 25.0	5	1.464	B
Negative control - 22.0	5	1.454	B
Positive control - 19.0	5	1.444	B
Positive control - 20.0	5	1.434	B
Negative control - 24.0	5	1.422	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Chỉ tiêu miễn dịch sau 12h gây nhiễm vi khuẩn

1. THC - 12h

Geneeral Linear Model: THC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.12, Negative control - tank 24.12, Negative control - tank 25.12, Positive control - tank 19.12, Positive control - tank 20.12, Positive control - tank 21.12, SCFP 0.45 - tank 16.12, SCFP 0.45 - tank 17.12, SCFP 0.45 - tank 18.12

Analysis of Variance for THC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	638668	638668	79833	2466.43	0.000
Error	36	1165	1165	32		
Total	44	639833				

S = 5.68929 R-Sq = 99.82% R-Sq(adj) = 99.78%

Unusual Observations for THC

Obs	THC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
42	453.600	438.960	2.544	14.640	2.88 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16.12	5	446.6	A
SCFP 0.45 - tank 17.12	5	443.5	A
SCFP 0.45 - tank 18.12	5	439.0	A
Negative control - tank 25.12	5	191.8	B
Negative control - tank 22.12	5	191.5	B
Negative control - tank 24.12	5	191.3	B
Positive control - tank 19.12	5	190.1	B
Positive control - tank 21.12	5	188.9	B
Positive control - tank 20.12	5	188.6	B

Means that do not share a letter are significantly different.

2. GC - 12h

Geneeral Linear Model: GC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.12, Negative control - tank 24.12, Negative control - tank 25.12, Positive control - tank 19.12, Positive control - tank 20.12, Positive control - tank 21.12, SCFP 0.45 - tank 16.12, SCFP 0.45 - tank 17.12, SCFP 0.45 - tank 18.12

Analysis of Variance for GC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	53596.8	53596.8	6699.6	1224.34	0.000
Error	36	197.0	197.0	5.5		
Total	44	53793.8				

S = 2.33923 R-Sq = 99.63% R-Sq(adj) = 99.55%

Unusual Observations for GC

Obs	GC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
11	64.800	60.240	1.046	4.560	2.18 R
14	52.800	60.240	1.046	-7.440	-3.56 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18.12	5	134.16	A
SCFP 0.45 - tank 17.12	5	133.92	A
SCFP 0.45 - tank 16.12	5	133.68	A
Negative control - tank 22.12	5	61.68	B
Positive control - tank 21.12	5	61.44	B
Positive control - tank 20.12	5	60.96	B
Negative control - tank 25.12	5	60.24	B
Positive control - tank 19.12	5	60.00	B
Negative control - tank 24.12	5	60.00	B

Means that do not share a letter are significantly different.

3. HC - 12h

Geneeral Linear Model: HC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.12, Negative control - tank 24.12, Negative control - tank 25.12, Positive control - tank 19.12, Positive control - tank 20.12, Positive control - tank 21.12, SCFP 0.45 - tank 16.12, SCFP 0.45 - tank 17.12, SCFP 0.45 - tank 18.12

Analysis of Variance for HC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	320615	320615	40077	2325.72	0.000
Error	36	620	620	17		
Total	44	321235				

S = 4.15114 R-Sq = 99.81% R-Sq(adj) = 99.76%

Unusual Observations for HC

Obs	HC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
40	301.200	309.600	1.856	-8.400	-2.26 R
42	315.600	304.800	1.856	10.800	2.91 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16.12	5	313.0	A
SCFP 0.45 - tank 17.12	5	309.6	A
SCFP 0.45 - tank 18.12	5	304.8	A
Negative control - tank 25.12	5	131.5	B
Negative control - tank 24.12	5	131.3	B
Positive control - tank 19.12	5	130.1	B
Negative control - tank 22.12	5	129.8	B
Positive control - tank 21.12	5	129.8	B
Positive control - tank 20.12	5	128.2	B

Means that do not share a letter are significantly different.

4. PO - 12h

Geneeral Linear Model: PO (OD 490) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.12, Negative control - tank 24.12, Negative control - tank 25.12, Positive control - tank 19.12, Positive control - tank 20.12, Positive control - tank 21.12, SCFP 0.45 - tank 16.12, SCFP 0.45 - tank 17.12, SCFP 0.45 - tank 18.12

Analysis of Variance for PO (OD 490), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	1.09131	1.09131	0.13641	77.07	0.000
Error	36	0.06372	0.06372	0.00177		
Total	44	1.15503				

S = 0.0420714 R-Sq = 94.48% R-Sq(adj) = 93.26%

Unusual Observations for PO (OD 490)

Obs	PO (OD 490)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
13	0.240000	0.316000	0.018815	-0.076000	-2.02 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 17.12	5	0.6600	A
SCFP 0.45 - tank 16.12	5	0.6360	A
SCFP 0.45 - tank 18.12	5	0.6340	A
Negative control - tank 24.12	5	0.3280	B
Positive control - tank 21.12	5	0.3200	B
Negative control - tank 25.12	5	0.3160	B
Negative control - tank 22.12	5	0.3100	B
Positive control - tank 20.12	5	0.3080	B
Positive control - tank 19.12	5	0.3000	B

Means that do not share a letter are significantly different.

5. RES - 12h

Geneeral Linear Model: RES (OD 630) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.12, Negative control - tank 24.12, Negative control - tank 25.12, Positive control - tank 19.12, Positive control - tank 20.12, Positive control - tank 21.12, SCFP 0.45 - tank 16.12, SCFP 0.45 - tank 17.12, SCFP 0.45 - tank 18.12

Analysis of Variance for RES (OD 630), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	2.22612	2.22612	0.27827	416.70	0.000
Error	36	0.02404	0.02404	0.00067		
Total	44	2.25016				

S = 0.0258414 R-Sq = 98.93% R-Sq(adj) = 98.69%

Unusual Observations for RES (OD 630)

Obs	RES (OD 630)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
19	0.170000	0.220000	0.011557	-0.050000	-2.16 R
33	0.740000	0.690000	0.011557	0.050000	2.16 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18.12	5	0.6920	A
SCFP 0.45 - tank 17.12	5	0.6920	A
SCFP 0.45 - tank 16.12	5	0.6900	A
Positive control - tank 21.12	5	0.2320	B
Negative control - tank 25.12	5	0.2220	B
Positive control - tank 20.12	5	0.2200	B
Positive control - tank 19.12	5	0.2200	B
Negative control - tank 24.12	5	0.2140	B
Negative control - tank 22.12	5	0.2100	B

Means that do not share a letter are significantly different.

6. SOD - 12h

General Linear Model: SOD (OD 560) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.12, Negative control - tank 24.12, Negative control - tank 25.12, Positive control - tank 19.12, Positive control - tank 20.12, Positive control - tank 21.12, SCFP 0.45 - tank 16.12, SCFP 0.45 - tank 17.12, SCFP 0.45 - tank 18.12

Analysis of Variance for SOD (OD 560), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	49.6226	49.6226	6.2028	1066.39	0.000
Error	36	0.2094	0.2094	0.0058		
Total	44	49.8320				

S = 0.0762671 R-Sq = 99.58% R-Sq(adj) = 99.49%

Unusual Observations for SOD (OD 560)

	SOD (ODObs 560)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
38	3.56000	3.70000	0.03411	-0.14000	-2.05 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18.12	5	3.706	A
SCFP 0.45 - tank 17.12	5	3.700	A
SCFP 0.45 - tank 16.12	5	3.672	A
Negative control - tank 24.12	5	1.486	B
Positive control - tank 20.12	5	1.482	B
Negative control - tank 25.12	5	1.476	B
Positive control - tank 21.12	5	1.460	B
Positive control - tank 19.12	5	1.450	B
Negative control - tank 22.12	5	1.438	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Chỉ tiêu miễn dịch sau 24h gây nhiễm vi khuẩn

1. THC - 24h

Geneeal Linear Model: THC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.24, Negative control - tank 24.24, Negative control - tank 25.24, Positive control - tank 19.24, Positive control - tank 20.24, Positive control - tank 21.24, SCFP 0.45 - tank 16.24, SCFP 0.45 - tank 17.24, SCFP 0.45 - tank 18.24

Analysis of Variance for THC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	230252	230252	28781	664.27	0.000
Error	36	1560	1560	43		
Total	44	231812				

S = 6.58240 R-Sq = 99.33% R-Sq(adj) = 99.18%

Unusual Observations for THC

Obs	THC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
31	324.000	310.320	2.944	13.680	2.32 R
37	292.800	306.240	2.944	-13.440	-2.28 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16.24	5	310.3	A
SCFP 0.45 - tank 18.24	5	306.7	A
SCFP 0.45 - tank 17.24	5	306.2	A
Negative control - tank 25.24	5	190.6	B
Negative control - tank 24.24	5	190.6	B
Negative control - tank 22.24	5	189.6	B
Positive control - tank 20.24	5	137.5	C
Positive control - tank 21.24	5	136.3	C
Positive control - tank 19.24	5	135.6	C

Means that do not share a letter are significantly different.

2. GC- 24h

Geneeal Linear Model: GC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.24, Negative control - tank 24.24, Negative control - tank 25.24, Positive control - tank 19.24, Positive control - tank 20.24, Positive control - tank 21.24, SCFP 0.45 - tank 16.24, SCFP 0.45 - tank 17.24, SCFP 0.45 - tank 18.24

Analysis of Variance for GC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	20714.8	20714.8	2589.3	561.92	0.000
Error	36	165.9	165.9	4.6		
Total	44	20880.6				

S = 2.14663 R-Sq = 99.21% R-Sq(adj) = 99.03%

Unusual Observations for GC

Obs	GC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
5	66.000	61.680	0.960	4.320	2.25 R
31	100.800	96.480	0.960	4.320	2.25 R
35	92.400	96.480	0.960	-4.080	-2.13 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16.24	5	96.48	A
SCFP 0.45 - tank 18.24	5	93.84	A
SCFP 0.45 - tank 17.24	5	93.60	A
Negative control - tank 22.24	5	61.68	B
Negative control - tank 24.24	5	61.44	B
Negative control - tank 25.24	5	59.28	B
Positive control - tank 21.24	5	43.20	C
Positive control - tank 19.24	5	42.96	C
Positive control - tank 20.24	5	42.72	C

Means that do not share a letter are significantly different.

3. HC - 24h

Geneeral Linear Model: HC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.24, Negative control - tank 24.24, Negative control - tank 25.24, Positive control - tank 19.24, Positive control - tank 20.24, Positive control - tank 21.24, SCFP 0.45 - tank 16.24, SCFP 0.45 - tank 17.24, SCFP 0.45 - tank 18.24

Analysis of Variance for HC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	112386	112386	14048	520.77	0.000
Error	36	971	971	27		
Total	44	113357				

S = 5.19384 R-Sq = 99.14% R-Sq(adj) = 98.95%

Unusual Observations for HC

Obs	HC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
31	223.200	213.840	2.323	9.360	2.01 R
33	204.000	213.840	2.323	-9.840	-2.12 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16.24	5	213.84	A
SCFP 0.45 - tank 18.24	5	212.64	A
SCFP 0.45 - tank 17.24	5	211.92	A
Negative control - tank 25.24	5	131.28	B
Negative control - tank 24.24	5	129.12	B
Negative control - tank 22.24	5	127.92	B
Positive control - tank 20.24	5	94.80	C
Positive control - tank 21.24	5	93.12	C
Positive control - tank 19.24	5	92.64	C

Means that do not share a letter are significantly different.

4. PO - 24h

Geneeral Linear Model: PO (OD 490) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.24, Negative control - tank 24.24, Negative control - tank 25.24, Positive control - tank 19.24, Positive control - tank 20.24, Positive control - tank 21.24, SCFP 0.45 - tank 16.24, SCFP 0.45 - tank 17.24, SCFP 0.45 - tank 18.24

Analysis of Variance for PO (OD 490), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	0.699551	0.699551	0.087444	97.04	0.000
Error	36	0.032440	0.032440	0.000901		
Total	44	0.731991				

S = 0.0300185 R-Sq = 95.57% R-Sq(adj) = 94.58%

Unusual Observations for PO (OD 490)

Obs	PO (OD 490)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	0.240000	0.296000	0.013425	-0.056000	-2.09 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 17.24	5	0.5260	A
SCFP 0.45 - tank 16.24	5	0.5220	A
SCFP 0.45 - tank 18.24	5	0.5080	A
Negative control - tank 25.24	5	0.3240	B
Negative control - tank 24.24	5	0.3120	B
Negative control - tank 22.24	5	0.2960	B
Positive control - tank 19.24	5	0.2320	C
Positive control - tank 20.24	5	0.2220	C
Positive control - tank 21.24	5	0.2120	C

Means that do not share a letter are significantly different.

5. RES - 24h

General Linear Model: RES (OD 630) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.24, Negative control - tank 24.24, Negative control - tank 25.24, Positive control - tank 19.24, Positive control - tank 20.24, Positive control - tank 21.24, SCFP 0.45 - tank 16.24, SCFP 0.45 - tank 17.24, SCFP 0.45 - tank 18.24

Analysis of Variance for RES (OD 630), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	1.29896	1.29896	0.16237	247.26	0.000
Error	36	0.02364	0.02364	0.00066		
Total	44	1.32260				

S = 0.0256255 R-Sq = 98.21% R-Sq(adj) = 97.82%

Unusual Observations for RES (OD 630)

Obs	RES (OD 630)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
6	0.160000	0.210000	0.011460	-0.050000	-2.18 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 17.24	5	0.5560	A
SCFP 0.45 - tank 16.24	5	0.5520	A
SCFP 0.45 - tank 18.24	5	0.5500	A
Negative control - tank 22.24	5	0.2140	B
Negative control - tank 25.24	5	0.2100	B
Negative control - tank 24.24	5	0.2100	B
Positive control - tank 19.24	5	0.1840	B
Positive control - tank 21.24	5	0.1760	B
Positive control - tank 20.24	5	0.1680	B

Means that do not share a letter are significantly different.

6. SOD - 24h

General Linear Model: SOD (OD 560) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.24, Negative control - tank 24.24, Negative control - tank 25.24, Positive control - tank 19.24, Positive control - tank 20.24, Positive control - tank 21.24, SCFP 0.45 - tank 16.24, SCFP 0.45 - tank 17.24, SCFP 0.45 - tank 18.24

Analysis of Variance for SOD (OD 560), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	23.0307	23.0307	2.8788	517.98	0.000
Error	36	0.2001	0.2001	0.0056		
Total	44	23.2308				

S = 0.0745505 R-Sq = 99.14% R-Sq(adj) = 98.95%
 Unusual Observations for SOD (OD 560)

	SOD (OD Obs	560)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
14	1.30000	1.43400	0.03334	-0.13400	-2.01	R
15	1.57000	1.43400	0.03334	0.13600	2.04	R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18.24	5	2.778	A
SCFP 0.45 - tank 16.24	5	2.772	A
SCFP 0.45 - tank 17.24	5	2.754	A
Negative control - tank 24.24	5	1.444	B
Negative control - tank 25.24	5	1.434	B
Negative control - tank 22.24	5	1.394	B
Positive control - tank 20.24	5	1.128	C
Positive control - tank 21.24	5	1.128	C
Positive control - tank 19.24	5	1.112	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Chỉ tiêu miễn dịch sau 48h gây nhiễm vi khuẩn

1. THC - 48h

Geneeral Linear Model: THC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.48, Negative control - tank 24.48, Negative control - tank 25.48, Positive control - tank 19.48, Positive control - tank 20.48, Positive control - tank 21.48, SCFP 0.45 - tank 16.48, SCFP 0.45 - tank 17.48, SCFP 0.45 - tank 18.48

Analysis of Variance for THC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	116687	116687	14586	593.12	0.000
Error	36	885	885	25		
Total	44	117573				

S = 4.95903 R-Sq = 99.25% R-Sq(adj) = 99.08%

Unusual Observations for THC

Obs	THC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	199.200	190.080	2.218	9.120	2.06
30	99.600	89.280	2.218	10.320	2.33
40	212.400	202.320	2.218	10.080	2.27

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 17.48	5	202.32	A
SCFP 0.45 - tank 18.48	5	202.08	A
SCFP 0.45 - tank 16.48	5	201.60	A
Negative control - tank 22.48	5	190.08	B
Negative control - tank 24.48	5	189.84	B
Negative control - tank 25.48	5	188.88	B
Positive control - tank 21.48	5	89.28	C
Positive control - tank 20.48	5	88.32	C
Positive control - tank 19.48	5	87.36	C

Means that do not share a letter are significantly different.

2. GC - 48h

Geneeeral Linear Model: GC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.48, Negative control - tank 24.48, Negative control - tank 25.48, Positive control - tank 19.48, Positive control - tank 20.48, Positive control - tank 21.48, SCFP 0.45 - tank 16.48, SCFP 0.45 - tank 17.48, SCFP 0.45 - tank 18.48

Analysis of Variance for GC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	11600.1	11600.1	1450.0	305.14	0.000
Error	36	171.1	171.1	4.8		
Total	44	11771.2				

S = 2.17991 R-Sq = 98.55% R-Sq(adj) = 98.22%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18.48	5	63.60	A
SCFP 0.45 - tank 17.48	5	63.60	A
SCFP 0.45 - tank 16.48	5	63.36	A
Negative control - tank 25.48	5	59.76	A
Negative control - tank 24.48	5	59.76	A
Negative control - tank 22.48	5	59.28	A
Positive control - tank 21.48	5	28.32	B
Positive control - tank 20.48	5	27.84	B
Positive control - tank 19.48	5	26.88	B

Means that do not share a letter are significantly different.

3. HC - 48h

Geneeeral Linear Model: HC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.48, Negative control - tank 24.48, Negative control - tank 25.48, Positive control - tank 19.48, Positive control - tank 20.48, Positive control - tank 21.48, SCFP 0.45 - tank 16.48, SCFP 0.45 - tank 17.48, SCFP 0.45 - tank 18.48

Analysis of Variance for HC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	54717.4	54717.4	6839.7	613.31	0.000
Error	36	401.5	401.5	11.2		
Total	44	55118.8				

S = 3.33946 R-Sq = 99.27% R-Sq(adj) = 99.11%

Unusual Observations for HC

Obs	HC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	136.800	130.800	1.493	6.000	2.01 R
30	69.600	60.960	1.493	8.640	2.89 R
40	145.200	138.720	1.493	6.480	2.17 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 17.48	5	138.72	A
SCFP 0.45 - tank 18.48	5	138.48	A
SCFP 0.45 - tank 16.48	5	138.24	A
Negative control - tank 22.48	5	130.80	B
Negative control - tank 24.48	5	130.08	B
Negative control - tank 25.48	5	129.12	B
Positive control - tank 21.48	5	60.96	C
Positive control - tank 20.48	5	60.48	C
Positive control - tank 19.48	5	60.48	C

Means that do not share a letter are significantly different.

4. PO - 48h

General Linear Model: PO (OD 490) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.48, Negative control - tank 24.48, Negative control - tank 25.48, Positive control - tank 19.48, Positive control - tank 20.48, Positive control - tank 21.48, SCFP 0.45 - tank 16.48, SCFP 0.45 - tank 17.48, SCFP 0.45 - tank 18.48

Analysis of Variance for PO (OD 490), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	0.388844	0.388844	0.048606	81.77	0.000
Error	36	0.021400	0.021400	0.000594		
Total	44	0.410244				

S = 0.0243812 R-Sq = 94.78% R-Sq(adj) = 93.62%

Unusual Observations for PO (OD 490)

Obs	PO (OD 490)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
13	0.250000	0.316000	0.010904	-0.066000	-3.03 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16.48	5	0.3360	A
SCFP 0.45 - tank 18.48	5	0.3320	A
SCFP 0.45 - tank 17.48	5	0.3320	A
Negative control - tank 22.48	5	0.3200	A
Negative control - tank 25.48	5	0.3160	A
Negative control - tank 24.48	5	0.3100	A
Positive control - tank 21.48	5	0.1360	B
Positive control - tank 19.48	5	0.1280	B
Positive control - tank 20.48	5	0.1200	B

Means that do not share a letter are significantly different.

5. RES - 48h

General Linear Model: RES (OD 630) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.48, Negative control - tank 24.48, Negative control - tank 25.48, Positive control - tank 19.48, Positive control - tank 20.48, Positive control - tank 21.48, SCFP 0.45 - tank 16.48, SCFP 0.45 - tank 17.48, SCFP 0.45 - tank 18.48

Analysis of Variance for RES (OD 630), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	0.344600	0.344600	0.043075	70.23	0.000
Error	36	0.022080	0.022080	0.000613		
Total	44	0.366680				

S = 0.0247656 R-Sq = 93.98% R-Sq(adj) = 92.64%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18.48	5	0.31400	A
SCFP 0.45 - tank 17.48	5	0.30800	A
SCFP 0.45 - tank 16.48	5	0.29800	A
Negative control - tank 22.48	5	0.20600	B
Negative control - tank 25.48	5	0.20400	B
Negative control - tank 24.48	5	0.19800	B
Positive control - tank 21.48	5	0.09800	C
Positive control - tank 19.48	5	0.09000	C
Positive control - tank 20.48	5	0.09000	C

Means that do not share a letter are significantly different.

6. SOD - 48h

Geneeral Linear Model: SOD (OD 560) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.48, Negative control - tank 24.48, Negative control - tank 25.48, Positive control - tank 19.48, Positive control - tank 20.48, Positive control - tank 21.48, SCFP 0.45 - tank 16.48, SCFP 0.45 - tank 17.48, SCFP 0.45 - tank 18.48

Analysis of Variance for SOD (OD 560), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	8.0285	8.0285	1.0036	317.92	0.000
Error	36	0.1136	0.1136	0.0032		
Total	44	8.1422				

S = 0.0561842 R-Sq = 98.60% R-Sq(adj) = 98.29%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
Negative control - tank 24.48	5	1.4200	A
Negative control - tank 25.48	5	1.4140	A
SCFP 0.45 - tank 18.48	5	1.4040	A
SCFP 0.45 - tank 17.48	5	1.4000	A
Negative control - tank 22.48	5	1.3920	A
SCFP 0.45 - tank 16.48	5	1.3660	A
Positive control - tank 21.48	5	0.5240	B
Positive control - tank 20.48	5	0.4980	B
Positive control - tank 19.48	5	0.4900	B

Means that do not share a letter are significantly different

Chỉ tiêu miễn dịch sau 96h gây nhiễm vi khuẩn

1. THC - 96h

Geneeral Linear Model: THC versus Treatment

Factor	Type	Levels	Values
Treatment	fixed	9	Negative control - tank 22.96, Negative control - tank 24.96, Negative control - tank 25.96, Positive control - tank 19.96, Positive control - tank 20.96, Positive control - tank 21.96, SCFP 0.45 - tank 16.96, SCFP 0.45 - tank 17.96, SCFP 0.45 - tank 18.96

Analysis of Variance for THC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatment	8	196029	196029	24504	656.16	0.000
Error	36	1344	1344	37		
Total	44	197374				

S = 6.11097 R-Sq = 99.32% R-Sq(adj) = 99.17%

Unusual Observations for THC

Obs	THC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
37	291.600	280.080	2.733	11.520	2.11 R
38	266.400	280.080	2.733	-13.680	-2.50 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatment	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18.96	5	285.6	A
SCFP 0.45 - tank 16.96	5	281.8	A
SCFP 0.45 - tank 17.96	5	280.1	A
Negative control - tank 25.96	5	190.6	B
Negative control - tank 24.96	5	190.1	B
Negative control - tank 22.96	5	189.4	B
Positive control - tank 20.96	5	122.2	C
Positive control - tank 21.96	5	121.9	C
Positive control - tank 19.96	5	120.2	C

Means that do not share a letter are significantly different.

2. GC - 96h

Geneeral Linear Model: GC versus Treatment

Factor	Type	Levels	Values
Treatment	fixed	9	Negative control - tank 22.96, Negative control - tank 24.96, Negative control - tank 25.96, Positive control - tank 19.96, Positive control - tank 20.96, Positive control - tank 21.96, SCFP 0.45 - tank 16.96, SCFP 0.45 - tank 17.96, SCFP 0.45 - tank 18.96

Analysis of Variance for GC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatment	8	17748.3	17748.3	2218.5	486.52	0.000
Error	36	164.2	164.2	4.6		
Total	44	17912.4				

S = 2.13542 R-Sq = 99.08% R-Sq(adj) = 98.88%

Unusual Observations for GC

Obs	GC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
6	55.2000	59.0400	0.9550	-3.8400	-2.01 R
7	63.6000	59.0400	0.9550	4.5600	2.39 R
38	80.4000	84.4800	0.9550	-4.0800	-2.14 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatment	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16.96	5	86.16	A
SCFP 0.45 - tank 18.96	5	86.16	A
SCFP 0.45 - tank 17.96	5	84.48	A
Negative control - tank 25.96	5	59.28	B
Negative control - tank 24.96	5	59.04	B
Negative control - tank 22.96	5	58.80	B
Positive control - tank 19.96	5	37.20	C
Positive control - tank 21.96	5	37.20	C
Positive control - tank 20.96	5	36.72	C

Means that do not share a letter are significantly different.

3. HC - 96h

Geneeral Linear Model: HC versus Treatment

Factor	Type	Levels	Values
Treatment	fixed	9	Negative control - tank 22.96, Negative control - tank 24.96, Negative control - tank 25.96, Positive control - tank 19.96, Positive control - tank 20.96, Positive control - tank 21.96, SCFP 0.45 - tank 16.96, SCFP 0.45 - tank 17.96, SCFP 0.45 - tank 18.96

Analysis of Variance for HC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatment	8	95891	95891	11986	621.18	0.000
Error	36	695	695	19		
Total	44	96585				

S = 4.39272 R-Sq = 99.28% R-Sq(adj) = 99.12%

Unusual Observations for HC

Obs	HC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
37	204.000	195.600	1.964	8.400	2.14 R
38	186.000	195.600	1.964	-9.600	-2.44 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatment	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18.96	5	199.44	A
SCFP 0.45 - tank 16.96	5	195.60	A
SCFP 0.45 - tank 17.96	5	195.60	A
Negative control - tank 25.96	5	131.28	B
Negative control - tank 24.96	5	131.04	B
Negative control - tank 22.96	5	130.56	B
Positive control - tank 20.96	5	85.44	C
Positive control - tank 21.96	5	84.72	C
Positive control - tank 19.96	5	83.04	C

Means that do not share a letter are significantly different.

4. PO - 96h

General Linear Model: PO (OD490) versus Treatment

Factor	Type	Levels	Values
Treatment	fixed	9	Negative control - tank 22.96, Negative control - tank 24.96, Negative control - tank 25.96, Positive control - tank 19.96, Positive control - tank 20.96, Positive control - tank 21.96, SCFP 0.45 - tank 16.96, SCFP 0.45 - tank 17.96, SCFP 0.45 - tank 18.96

Analysis of Variance for PO (OD490), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatment	8	0.390911	0.390911	0.048864	54.83	0.000
Error	36	0.032080	0.032080	0.000891		
Total	44	0.422991				

S = 0.0298515 R-Sq = 92.42% R-Sq(adj) = 90.73%

Unusual Observations for PO (OD490)

Obs	PO (OD490)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	0.250000	0.308000	0.013350	-0.058000	-2.17 R
8	0.420000	0.340000	0.013350	0.080000	3.00 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatment	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16.96	5	0.4200	A
SCFP 0.45 - tank 18.96	5	0.4160	A
SCFP 0.45 - tank 17.96	5	0.4080	A
Negative control - tank 24.96	5	0.3400	B
Negative control - tank 25.96	5	0.3180	B
Negative control - tank 22.96	5	0.3080	B
Positive control - tank 21.96	5	0.1960	C
Positive control - tank 20.96	5	0.1900	C
Positive control - tank 19.96	5	0.1800	C

Means that do not share a letter are significantly different.

5. RES - 96h

General Linear Model: RES (OD 630) versus Treatment

Factor	Type	Levels	Values
Treatment	fixed	9	Negative control - tank 22.96, Negative control - tank 24.96, Negative control - tank 25.96, Positive control - tank 19.96, Positive control - tank 20.96, Positive control - tank 21.96, SCFP 0.45 - tank 16.96, SCFP 0.45 - tank 17.96, SCFP 0.45 - tank 18.96

Analysis of Variance for RES (OD 630), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatment	8	0.799431	0.799431	0.099929	224.84	0.000
Error	36	0.016000	0.016000	0.000444		
Total	44	0.815431				

S = 0.0210819 R-Sq = 98.04% R-Sq(adj) = 97.60%

Unusual Observations for RES (OD 630)

Obs	RES (OD 630)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
44	0.480000	0.436000	0.009428	0.044000	2.33 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatment	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16.96	5	0.4460	A
SCFP 0.45 - tank 18.96	5	0.4360	A
SCFP 0.45 - tank 17.96	5	0.4360	A
Negative control - tank 22.96	5	0.2200	B
Negative control - tank 24.96	5	0.2060	B
Negative control - tank 25.96	5	0.2020	B
Positive control - tank 20.96	5	0.1280	C
Positive control - tank 19.96	5	0.1220	C
Positive control - tank 21.96	5	0.1220	C

Means that do not share a letter are significantly different.

6. SOD - 96h

Geneeral Linear Model: SOD (OD 560) versus Treatment

Factor	Type	Levels	Values
Treatment	fixed	9	Negative control - tank 22.96, Negative control - tank 24.96, Negative control - tank 25.96, Positive control - tank 19.96, Positive control - tank 20.96, Positive control - tank 21.96, SCFP 0.45 - tank 16.96, SCFP 0.45 - tank 17.96, SCFP 0.45 - tank 18.96

Analysis of Variance for SOD (OD 560), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatment	8	11.8519	11.8519	1.4815	365.60	0.000
Error	36	0.1459	0.1459	0.0041		
Total	44	11.9978				

S = 0.0636571 R-Sq = 98.78% R-Sq(adj) = 98.51%

Unusual Observations for SOD (OD 560)

	SOD (OD Obs	560)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
19	0.76000	0.88200	0.02847	-0.12200	-2.14	R
30	0.73000	0.88400	0.02847	-0.15400	-2.70	R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatment	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16.96	5	2.1420	A
SCFP 0.45 - tank 17.96	5	2.1280	A
SCFP 0.45 - tank 18.96	5	2.1260	A
Negative control - tank 25.96	5	1.4480	B
Negative control - tank 22.96	5	1.4480	B
Negative control - tank 24.96	5	1.4240	B
Positive control - tank 21.96	5	0.8840	C
Positive control - tank 19.96	5	0.8820	C
Positive control - tank 20.96	5	0.8660	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Chỉ số miễn dịch sau 7 ngày gây nhiễm vi khuẩn

1. THC - 7 days

Geneeral Linear Model: THC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.7days, Negative control - tank 24.7days, Negative control - tank 25.7days, Positive control - tank 19.7days, Positive control - tank 20. 7days, Positive control - tank 21. 7days, SCFP 0.45 - tank 16. 7days, SCFP 0.45 - tank 17. 7days, SCFP 0.45 - tank 18. 7days

Analysis of Variance for THC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	210134	210134	26267	694.45	0.000
Error	36	1362	1362	38		
Total	44	211496				

S = 6.15012 R-Sq = 99.36% R-Sq(adj) = 99.21%

Unusual Observations for THC

Obs	THC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
19	168.000	155.040	2.750	12.960	2.36 R
34	302.400	316.320	2.750	-13.920	-2.53 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16. 7days	5	316.3	A
SCFP 0.45 - tank 18. 7days	5	312.5	A
SCFP 0.45 - tank 17. 7days	5	311.3	A
Negative control - tank 22.7days	5	192.0	B
Negative control - tank 25.7days	5	191.0	B
Negative control - tank 24.7days	5	189.1	B
Positive control - tank 19.7days	5	155.0	C
Positive control - tank 20. 7days	5	152.9	C
Positive control - tank 21. 7days	5	152.4	C

Means that do not share a letter are significantly different.

2. GC - 7 days

General Linear Model: GC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.7days, Negative control - tank 24.7days, Negative control - tank 25.7days, Positive control - tank 19.7days, Positive control - tank 20. 7days, Positive control - tank 21. 7days, SCFP 0.45 - tank 16. 7days, SCFP 0.45 - tank 17. 7days, SCFP 0.45 - tank 18. 7days

Analysis of Variance for GC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	18180.6	18180.6	2272.6	370.64	0.000
Error	36	220.7	220.7	6.1		
Total	44	18401.3				

S = 2.47620 R-Sq = 98.80% R-Sq(adj) = 98.53%

Unusual Observations for GC

Obs	GC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
24	40.0000	44.7200	1.1074	-4.7200	-2.13 R
25	50.4000	44.7200	1.1074	5.6800	2.56 R
34	90.0000	95.2800	1.1074	-5.2800	-2.38 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16. 7days	5	95.28	A
SCFP 0.45 - tank 17. 7days	5	93.84	A
SCFP 0.45 - tank 18. 7days	5	93.60	A
Negative control - tank 24.7days	5	60.24	B
Negative control - tank 25.7days	5	60.00	B
Negative control - tank 22.7days	5	60.00	B
Positive control - tank 19.7days	5	47.52	C
Positive control - tank 21. 7days	5	47.28	C
Positive control - tank 20. 7days	5	44.72	C

Means that do not share a letter are significantly different.

3. HC - 7 days

General Linear Model: HC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.7days, Negative control - tank 24.7days, Negative control - tank 25.7days, Positive control - tank 19.7days, Positive control - tank 20. 7days, Positive control - tank 21. 7days, SCFP 0.45 - tank 16. 7days, SCFP 0.45 - tank 17. 7days, SCFP 0.45 - tank 18. 7days

Analysis of Variance for HC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	105683	105683	13210	655.28	0.000
Error	36	726	726	20		
Total	44	106409				

S = 4.48999 R-Sq = 99.32% R-Sq(adj) = 99.17%

Unusual Observations for HC

Obs	HC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
19	117.600	107.520	2.008	10.080	2.51 R
34	212.400	221.040	2.008	-8.640	-2.15 R
44	210.000	218.880	2.008	-8.880	-2.21 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16. 7days	5	221.0	A
SCFP 0.45 - tank 18. 7days	5	218.9	A
SCFP 0.45 - tank 17. 7days	5	217.4	A
Negative control - tank 22.7days	5	132.0	B
Negative control - tank 25.7days	5	131.0	B
Negative control - tank 24.7days	5	128.9	B
Positive control - tank 19.7days	5	107.5	C
Positive control - tank 20. 7days	5	106.6	C
Positive control - tank 21. 7days	5	105.1	C

Means that do not share a letter are significantly different.

4. PO - 7 days

General Linear Model: PO (OD 490) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.7days, Negative control - tank 24.7days, Negative control - tank 25.7days, Positive control - tank 19.7days, Positive control - tank 20. 7days, Positive control - tank 21. 7days, SCFP 0.45 - tank 16. 7days, SCFP 0.45 - tank 17. 7days, SCFP 0.45 - tank 18. 7days

Analysis of Variance for PO (OD 490), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	0.561044	0.561044	0.070131	99.87	0.000
Error	36	0.025280	0.025280	0.000702		
Total	44	0.586324				

S = 0.0264995 R-Sq = 95.69% R-Sq(adj) = 94.73%

Unusual Observations for PO (OD 490)

Obs	PO (OD 490)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
25	0.260000	0.212000	0.011851	0.048000	2.03 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 17. 7days	5	0.4960	A
SCFP 0.45 - tank 18. 7days	5	0.4940	A
SCFP 0.45 - tank 16. 7days	5	0.4800	A
Negative control - tank 25.7days	5	0.3300	B
Negative control - tank 22.7days	5	0.3260	B
Negative control - tank 24.7days	5	0.3240	B
Positive control - tank 21. 7days	5	0.2240	C
Positive control - tank 19.7days	5	0.2200	C
Positive control - tank 20. 7days	5	0.2120	C

Means that do not share a letter are significantly different.

5. RES - 7 days

General Linear Model: RES (OD 630) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.7days, Negative control - tank 24.7days, Negative control - tank 25.7days, Positive control - tank 19.7days, Positive control - tank 20. 7days, Positive control - tank 21. 7days, SCFP 0.45 - tank 16. 7days, SCFP 0.45 - tank 17. 7days, SCFP 0.45 - tank 18. 7days

Analysis of Variance for RES (OD 630), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	0.99315	0.99315	0.12414	235.72	0.000
Error	36	0.01896	0.01896	0.00053		
Total	44	1.01211				

S = 0.0229492 R-Sq = 98.13% R-Sq(adj) = 97.71%

Unusual Observations for RES (OD 630)

Obs	RES (OD 630)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
36	0.460000	0.502000	0.010263	-0.042000	-2.05 R
39	0.550000	0.502000	0.010263	0.048000	2.34 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18. 7days	5	0.5060	A
SCFP 0.45 - tank 16. 7days	5	0.5020	A
SCFP 0.45 - tank 17. 7days	5	0.5020	A
Negative control - tank 25.7days	5	0.2100	B
Negative control - tank 24.7days	5	0.2100	B
Negative control - tank 22.7days	5	0.2080	B
Positive control - tank 21. 7days	5	0.1740	B
Positive control - tank 19.7days	5	0.1700	B
Positive control - tank 20. 7days	5	0.1680	B

6. SOD - 7 days

Geneeeral Linear Model: RES (OD 630) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22.7days, Negative control - tank 24.7days, Negative control - tank 25.7days, Positive control - tank 19.7days, Positive control - tank 20. 7days, Positive control - tank 21. 7days, SCFP 0.45 - tank 16. 7days, SCFP 0.45 - tank 17. 7days, SCFP 0.45 - tank 18. 7days

Analysis of Variance for RES (OD 630), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	0.99315	0.99315	0.12414	235.72	0.000
Error	36	0.01896	0.01896	0.00053		
Total	44	1.01211				

S = 0.0229492 R-Sq = 98.13% R-Sq(adj) = 97.71%

Unusual Observations for RES (OD 630)

Obs	RES (OD 630)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
36	0.460000	0.502000	0.010263	-0.042000	-2.05 R
39	0.550000	0.502000	0.010263	0.048000	2.34 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18. 7days	5	0.5060	A
SCFP 0.45 - tank 16. 7days	5	0.5020	A
SCFP 0.45 - tank 17. 7days	5	0.5020	A
Negative control - tank 25.7days	5	0.2100	B
Negative control - tank 24.7days	5	0.2100	B
Negative control - tank 22.7days	5	0.2080	B
Positive control - tank 21. 7days	5	0.1740	B
Positive control - tank 19.7days	5	0.1700	B
Positive control - tank 20. 7days	5	0.1680	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Chỉ tiêu miễn dịch sau 14 ngày gây nhiễm vi khuẩn

1. THC - 14 days

Geneeeral Linear Model: THC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22. 14 days, Negative control - tank 24. 14 days, Negative control - tank 25. 14 days, Positive control - tank 19. 14 days, Positive control - tank 20 14 days, Positive control - tank 21.14 days, SCFP 0.45 - tank 16. 14 days, SCFP 0.45 - tank 17. 14 days, SCFP 0.45 - tank 18. 14 days

Analysis of Variance for THC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	306171	306171	38271	829.97	0.000
Error	36	1660	1660	46		
Total	44	307831				

S = 6.79058 R-Sq = 99.46% R-Sq(adj) = 99.34%

Unusual Observations for THC

Obs	THC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
34	376.800	364.560	3.037	12.240	2.02 R
39	378.000	361.200	3.037	16.800	2.77 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18. 14 days	5	364.8	A
SCFP 0.45 - tank 16. 14 days	5	364.6	A
SCFP 0.45 - tank 17. 14 days	5	361.2	A
Negative control - tank 24. 14 days	5	192.5	B
Negative control - tank 25. 14 days	5	192.2	B
Negative control - tank 22. 14 days	5	190.3	B
Positive control - tank 21.14 days	5	186.7	B
Positive control - tank 20 14 days	5	185.0	B
Positive control - tank 19. 14 days	5	185.0	B

Means that do not share a letter are significantly different.

2. GC - 14 days

Geneeral Linear Model: GC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22. 14 days, Negative control - tank 24. 14 days, Negative control - tank 25. 14 days, Positive control - tank 19. 14 days, Positive control - tank 20 14 days, Positive control - tank 21.14 days, SCFP 0.45 - tank 16. 14 days, SCFP 0.45 - tank 17. 14 days, SCFP 0.45 - tank 18. 14 days

Analysis of Variance for GC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	27073.2	27073.2	3384.1	714.56	0.000
Error	36	170.5	170.5	4.7		
Total	44	27243.6				

S = 2.17624 R-Sq = 99.37% R-Sq(adj) = 99.24%

Unusual Observations for GC

Obs	GC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
38	104.400	109.680	0.973	-5.280	-2.71 R
39	115.200	109.680	0.973	5.520	2.84 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16. 14 days	5	110.40	A
SCFP 0.45 - tank 18. 14 days	5	110.16	A
SCFP 0.45 - tank 17. 14 days	5	109.68	A
Negative control - tank 25. 14 days	5	59.76	B
Negative control - tank 22. 14 days	5	59.76	B
Negative control - tank 24. 14 days	5	59.52	B
Positive control - tank 19. 14 days	5	56.64	B
Positive control - tank 20 14 days	5	56.64	B
Positive control - tank 21.14 days	5	56.40	B

Means that do not share a letter are significantly different.

3. HC - 14 days

Geneeral Linear Model: HC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22. 14 days, Negative control - tank 24. 14 days, Negative control - tank 25. 14 days, Positive control - tank 19. 14 days, Positive control - tank 20 14 days, Positive control - tank 21.14 days, SCFP 0.45 - tank 16. 14 days, SCFP 0.45 - tank 17. 14 days, SCFP 0.45 - tank 18. 14 days

Analysis of Variance for HC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	150833	150833	18854	736.03	0.000
Error	36	922	922	26		
Total	44	151755				

S = 5.06123 R-Sq = 99.39% R-Sq(adj) = 99.26%

Unusual Observations for HC

Obs	HC	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
33	244.800	254.160	2.263	-9.360	-2.07 R
39	262.800	251.040	2.263	11.760	2.60 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18. 14 days	5	254.6	A
SCFP 0.45 - tank 16. 14 days	5	254.2	A
SCFP 0.45 - tank 17. 14 days	5	251.0	A
Negative control - tank 24. 14 days	5	133.0	B
Negative control - tank 25. 14 days	5	132.5	B
Negative control - tank 22. 14 days	5	130.6	B
Positive control - tank 21.14 days	5	130.3	B
Positive control - tank 20 14 days	5	128.4	B
Positive control - tank 19. 14 days	5	128.4	B

Means that do not share a letter are significantly different.

4. PO - 14 days

Geneeral Linear Model: PO (OD 490) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22. 14 days, Negative control - tank 24. 14 days, Negative control - tank 25. 14 days, Positive control - tank 19. 14 days, Positive control - tank 20 14 days, Positive control - tank 21.14 days, SCFP 0.45 - tank 16. 14 days, SCFP 0.45 - tank 17. 14 days, SCFP 0.45 - tank 18. 14 days

Analysis of Variance for PO (OD 490), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	0.82136	0.82136	0.10267	210.49	0.000
Error	36	0.01756	0.01756	0.00049		
Total	44	0.83892				

S = 0.0220857 R-Sq = 97.91% R-Sq(adj) = 97.44%

Unusual Observations for PO (OD 490)

Obs	PO (OD 490)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
13	0.270000	0.328000	0.009877	-0.058000	-2.94

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 16. 14 days	5	0.5960	A
SCFP 0.45 - tank 18. 14 days	5	0.5940	A
SCFP 0.45 - tank 17. 14 days	5	0.5940	A
Negative control - tank 25. 14 days	5	0.3280	B
Negative control - tank 22. 14 days	5	0.3260	B
Negative control - tank 24. 14 days	5	0.3260	B
Positive control - tank 21.14 days	5	0.3000	B
Positive control - tank 19. 14 days	5	0.2900	B
Positive control - tank 20 14 days	5	0.2880	B

Means that do not share a letter are significantly different.

5. RES - 14 days

Geneeral Linear Model: RES (OD 630) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22. 14 days, Negative control - tank 24. 14 days, Negative control - tank 25. 14 days, Positive control - tank 19. 14 days, Positive control - tank 20 14 days, Positive control - tank 21.14 days, SCFP 0.45 - tank 16. 14 days, SCFP 0.45 - tank 17. 14 days, SCFP 0.45 - tank 18. 14 days

Analysis of Variance for RES (OD 630), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	1.69314	1.69314	0.21164	305.74	0.000
Error	36	0.02492	0.02492	0.00069		
Total	44	1.71806				

S = 0.0263101 R-Sq = 98.55% R-Sq(adj) = 98.23%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 18. 14 days	5	0.6200	A
SCFP 0.45 - tank 17. 14 days	5	0.6180	A
SCFP 0.45 - tank 16. 14 days	5	0.6100	A
Negative control - tank 22. 14 days	5	0.2120	B
Positive control - tank 21.14 days	5	0.2120	B
Negative control - tank 24. 14 days	5	0.2040	B
Negative control - tank 25. 14 days	5	0.2020	B
Positive control - tank 20 14 days	5	0.2000	B
Positive control - tank 19. 14 days	5	0.1980	B

Means that do not share a letter are significantly different.

6. SOD - 14 days

General Linear Model: SOD (OD 560) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Negative control - tank 22. 14 days, Negative control - tank 24. 14 days, Negative control - tank 25. 14 days, Positive control - tank 19. 14 days, Positive control - tank 20 14 days, Positive control - tank 21.14 days, SCFP 0.45 - tank 16. 14 days, SCFP 0.45 - tank 17. 14 days, SCFP 0.45 - tank 18. 14 days

Analysis of Variance for SOD (OD 560), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	40.3633	40.3633	5.0454	1911.94	0.000
Error	36	0.0950	0.0950	0.0026		
Total	44	40.4583				

S = 0.0513701 R-Sq = 99.77% R-Sq(adj) = 99.71%

Unusual Observations for SOD (OD 560)

	SOD (OD	Obs	560)	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
27	1.49000	1.39600	0.02297	0.09400		2.05 R	
39	3.37000	3.46200	0.02297	-0.09200		-2.00 R	
43	3.54000	3.43400	0.02297	0.10600		2.31 R	

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP 0.45 - tank 17. 14 days	5	3.462	A
SCFP 0.45 - tank 18. 14 days	5	3.434	A
SCFP 0.45 - tank 16. 14 days	5	3.418	A
Negative control - tank 25. 14 days	5	1.468	B
Negative control - tank 24. 14 days	5	1.464	B
Negative control - tank 22. 14 days	5	1.464	B
Positive control - tank 19. 14 days	5	1.398	B
Positive control - tank 21.14 days	5	1.396	B
Positive control - tank 20 14 days	5	1.390	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Phụ lục 4. Ảnh hưởng của SCFP lên tăng trưởng và đáp ứng miễn dịch của tôm thẻ chân trắng ở quy mô pilot.

4.1. Tăng trưởng của tôm

STT	Wi (g)	Wf (g)								
STT		S3 (SCFP 0.45%)			Ph (Phytogenics 0.02%)			Đc		
		Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
1	1.8									
2	1.6									
3	1.2									
4	1.5									
5	1.90									
6	1.6									
7	1.5									
8	1.2									
9	1.1									
10	1.7									
11	1.5									
12	1.4									
13	1.8									
14	1.6									
15	1.6									
16	1.7									
17	1.4									
18	1.2									
19	1.4									
20	1.5									
21	1.6									
22	1.4									
23	1.2									
24	1.5									
25	1.7									
26	1.8									
27	1.6									
28	1.4									
29	1.5									
30	1.7									
Mean	1.52									
SD	0.20									
		5.04			5.03			5.02		
		0.10			0.13			0.13		

Wg (g)									
STT	S3			Ph			Đc		
	Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
1	3.36	3.56	3.59	3.63	3.39	3.44	3.42	3.46	3.39
2	3.57	3.61	3.42	3.37	3.65	3.40	3.38	3.59	3.36
3	3.51	3.39	3.55	3.43	3.34	3.61	3.40	3.35	3.45
4	3.45	3.60	3.34	3.34	3.57	3.56	3.61	3.39	3.40
5	3.62	3.74	3.74	3.47	3.41	3.46	3.44	3.71	3.49
6	3.65	3.45	3.44	3.49	3.60	3.53	3.67	3.31	3.37
7	3.48	3.48	3.39	3.41	3.36	3.65	3.35	3.45	3.61
8	3.57	3.41	3.59	3.64	3.42	3.37	3.40	3.54	3.38
9	3.60	3.49	3.56	3.34	3.34	3.70	3.63	3.38	3.34
10	3.43	3.67	3.60	3.44	3.65	3.64	3.46	3.36	3.50
11	3.64	3.65	3.49	3.50	3.39	3.32	3.66	3.57	3.39
12	3.62	3.43	3.65	3.43	3.43	3.41	3.54	3.23	3.71
13	3.34	3.68	3.42	3.65	3.38	3.38	3.30	3.29	3.43
14	3.57	3.50	3.50	3.36	3.34	3.40	3.33	3.40	3.35
15	3.61	3.36	3.41	3.41	3.61	3.35	3.41	3.38	3.62
16	3.54	3.59	3.61	3.42	3.46	3.40	3.39	3.33	3.70
17	3.55	3.54	3.59	3.71	3.76	3.47	3.60	3.57	3.59
18	3.46	3.62	3.54	3.46	3.52	3.51	3.43	3.47	3.40
19	3.60	3.38	3.71	3.51	3.45	3.43	3.45	3.43	3.41
20	3.64	3.51	3.69	3.76	3.49	3.64	3.61	3.61	3.66
21	3.35	3.36	3.57	3.54	3.48	3.43	3.64	3.61	3.72
22	3.60	3.53	3.42	3.66	3.34	3.63	3.56	3.64	3.45
23	3.57	3.34	3.61	3.40	3.62	3.74	3.39	3.59	3.59
24	3.44	3.44	3.38	3.30	3.40	3.67	3.51	3.67	3.64
25	3.55	3.56	3.59	3.64	3.73	3.49	3.35	3.64	3.40
26	3.52	3.49	3.45	3.68	3.36	3.32	3.73	3.41	3.51
27	3.42	3.47	3.51	3.70	3.59	3.63	3.45	3.65	3.72
28	3.59	3.38	3.44	3.44	3.79	3.51	3.66	3.69	3.44
29	3.37	3.60	3.55	3.72	3.70	3.44	3.36	3.44	3.53
30	3.43	3.44	3.35	3.69	3.44	3.70	3.60	3.70	3.65
Mean	3.52			3.51			3.50		
SD	0.10			0.13			0.13		

ADG (g/day)									
STT	S3			Ps			Đc		
	Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
1	0.075	0.079	0.080	0.081	0.075	0.076	0.076	0.077	0.075
2	0.079	0.080	0.076	0.075	0.081	0.076	0.075	0.080	0.075
3	0.078	0.075	0.079	0.076	0.074	0.080	0.076	0.074	0.077
4	0.077	0.080	0.074	0.074	0.079	0.079	0.080	0.075	0.076
5	0.080	0.083	0.083	0.077	0.076	0.077	0.076	0.082	0.078
6	0.081	0.077	0.076	0.078	0.080	0.078	0.082	0.074	0.075
7	0.077	0.077	0.075	0.076	0.075	0.081	0.074	0.077	0.080
8	0.079	0.076	0.080	0.081	0.076	0.075	0.076	0.079	0.075
9	0.080	0.078	0.079	0.074	0.074	0.082	0.081	0.075	0.074
10	0.076	0.082	0.080	0.076	0.081	0.081	0.077	0.075	0.078
11	0.081	0.081	0.078	0.078	0.075	0.074	0.081	0.079	0.075
12	0.080	0.076	0.081	0.076	0.076	0.076	0.079	0.072	0.082
13	0.074	0.082	0.076	0.081	0.075	0.075	0.073	0.073	0.076
14	0.079	0.078	0.078	0.075	0.074	0.076	0.074	0.076	0.074
15	0.080	0.075	0.076	0.076	0.080	0.074	0.076	0.075	0.080
16	0.079	0.080	0.080	0.076	0.077	0.076	0.075	0.074	0.082
17	0.079	0.079	0.080	0.082	0.084	0.077	0.080	0.079	0.080
18	0.077	0.080	0.079	0.077	0.078	0.078	0.076	0.077	0.076
19	0.080	0.075	0.082	0.078	0.077	0.076	0.077	0.076	0.076
20	0.081	0.078	0.082	0.084	0.078	0.081	0.080	0.080	0.081
21	0.074	0.075	0.079	0.079	0.077	0.076	0.081	0.080	0.083
22	0.080	0.078	0.076	0.081	0.074	0.081	0.079	0.081	0.077
23	0.079	0.074	0.080	0.076	0.080	0.083	0.075	0.080	0.080
24	0.076	0.076	0.075	0.073	0.076	0.082	0.078	0.082	0.081
25	0.079	0.079	0.080	0.081	0.083	0.078	0.074	0.081	0.076
26	0.078	0.078	0.077	0.082	0.075	0.074	0.083	0.076	0.078
27	0.076	0.077	0.078	0.082	0.080	0.081	0.077	0.081	0.083
28	0.080	0.075	0.076	0.076	0.084	0.078	0.081	0.082	0.076
29	0.075	0.080	0.079	0.083	0.082	0.076	0.075	0.076	0.078
30	0.076	0.076	0.074	0.082	0.076	0.082	0.080	0.082	0.081
Mean	0.0782			0.0780			0.0777		
SD	0.002			0.003			0.003		

SGR (%/day)									
SN	S3			Ph			Đc		
	Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
1	2.59	2.68	2.69	2.71	2.61	2.63	2.62	2.64	2.61
2	2.69	2.70	2.62	2.60	2.72	2.61	2.60	2.69	2.59
3	2.66	2.61	2.68	2.62	2.58	2.70	2.61	2.59	2.63
4	2.63	2.70	2.58	2.58	2.69	2.68	2.70	2.61	2.61
5	2.71	2.76	2.76	2.64	2.61	2.64	2.63	2.75	2.65
6	2.72	2.63	2.63	2.65	2.70	2.67	2.73	2.57	2.60
7	2.65	2.65	2.61	2.61	2.59	2.72	2.59	2.63	2.70
8	2.69	2.61	2.69	2.72	2.62	2.60	2.61	2.67	2.60
9	2.70	2.65	2.68	2.58	2.58	2.74	2.71	2.60	2.58
10	2.62	2.73	2.70	2.63	2.72	2.72	2.64	2.59	2.65
11	2.72	2.72	2.65	2.65	2.61	2.57	2.72	2.69	2.61
12	2.71	2.62	2.72	2.62	2.62	2.61	2.67	2.53	2.75
13	2.58	2.73	2.62	2.72	2.60	2.60	2.56	2.56	2.62
14	2.69	2.65	2.65	2.59	2.58	2.61	2.58	2.61	2.59
15	2.70	2.59	2.61	2.61	2.70	2.59	2.61	2.60	2.71
16	2.67	2.69	2.70	2.62	2.64	2.61	2.61	2.58	2.74
17	2.68	2.67	2.69	2.75	2.77	2.64	2.70	2.69	2.69
18	2.64	2.71	2.67	2.64	2.66	2.66	2.62	2.64	2.61
19	2.70	2.60	2.75	2.66	2.63	2.62	2.63	2.62	2.61
20	2.72	2.66	2.74	2.77	2.65	2.72	2.70	2.70	2.72
21	2.59	2.59	2.69	2.67	2.65	2.62	2.72	2.70	2.75
22	2.70	2.67	2.62	2.72	2.58	2.71	2.68	2.72	2.63
23	2.69	2.58	2.70	2.61	2.71	2.76	2.61	2.69	2.69
24	2.63	2.63	2.60	2.56	2.61	2.73	2.66	2.73	2.72
25	2.68	2.68	2.69	2.72	2.75	2.65	2.59	2.72	2.61
26	2.66	2.65	2.63	2.73	2.59	2.57	2.75	2.61	2.66
27	2.62	2.64	2.66	2.74	2.69	2.71	2.63	2.72	2.75
28	2.69	2.60	2.63	2.63	2.78	2.66	2.72	2.74	2.63
29	2.60	2.70	2.68	2.75	2.74	2.63	2.59	2.63	2.67
30	2.62	2.63	2.59	2.74	2.63	2.74	2.70	2.74	2.72
Mean	2.66			2.66			2.65		
SD	0.05			0.06			0.06		

SR(%)								
S3			Ph			Đc		
Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
91.00	90.50	92.00	90.88	91.63	91.50	90.63	91.50	91.75
91.17			91.33			91.29		
0.76			0.40			0.59		

4.2. Số lượng tế bào máu sau 45 ngày thí nghiệm cho ăn

1. THC (10^4 tế bào/ml)

STT	Đc			Ph			S3		
	Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
1	188.4	187.2	182.4	447.6	447.6	445.2	446.4	450.0	452.4
2	181.2	190.8	181.2	456.0	435.6	434.4	450.0	441.6	448.8
3	192.0	194.4	187.2	450.0	457.2	442.8	460.8	442.8	448.8
4	186.0	188.4	184.8	453.6	457.2	464.4	457.2	463.2	452.4
5	189.6	189.6	184.8	464.4	446.4	447.6	445.2	442.8	454.8
6	190.8	189.6	190.8	441.6	448.8	458.4	444.0	447.6	463.2
7	187.2	188.4	183.6	434.4	438.0	439.2	452.4	457.2	451.2
8	186.0	183.6	187.2	440.4	441.6	456.0	450.0	446.4	436.8
9	182.4	187.2	182.4	454.8	446.4	440.4	456.0	462.0	452.4
10	187.2	182.4	178.8	453.6	468.0	453.6	460.8	459.6	456.0
SD	3.70			9.11			6.92		
Mean	186.52			448.84			451.76		

2. HC (10^4 tế bào/ml)

STT	Đc			Ph			S3		
	Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
1	132.0	128.4	126.0	316.8	315.6	313.2	310.8	310.8	312.0
2	126.0	130.8	124.8	325.2	308.4	306.0	314.4	304.8	309.6
3	132.0	134.4	128.4	322.8	321.6	314.4	319.2	304.8	310.8
4	127.2	132.0	129.6	324.0	325.2	331.2	313.2	321.6	313.2
5	129.6	128.4	124.8	334.8	315.6	320.4	307.2	306.0	315.6
6	129.6	129.6	130.8	310.8	316.8	327.6	304.8	309.6	319.2
7	128.4	130.8	127.2	306.0	312.0	309.6	312.0	315.6	312.0
8	127.2	124.8	130.8	312.0	312.0	324.0	312.0	308.4	301.2
9	126.0	128.4	126.0	322.8	318.0	308.4	315.6	318.0	314.4
10	127.2	126.0	123.6	321.6	337.2	324.0	318.0	316.8	315.6
SD	2.63			8.20			4.97		
Mean	128.36			318.60			312.24		

3. GC (10^4 tế bào/ml)

STT	Đc			Ph			S3		
	Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
1	56.4	58.8	56.4	130.8	132.0	132.0	135.6	139.2	140.4
2	55.2	60.0	56.4	130.8	127.2	128.4	135.6	136.8	139.2
3	60.0	60.0	58.8	127.2	135.6	128.4	141.6	138.0	138.0
4	58.8	56.4	55.2	129.6	132.0	133.2	144.0	141.6	139.2
5	60.0	61.2	60.0	129.6	130.8	127.2	138.0	136.8	139.2
6	61.2	60.0	60.0	130.8	132.0	130.8	139.2	138.0	144.0
7	58.8	57.6	56.4	128.4	126.0	129.6	140.4	141.6	139.2
8	58.8	58.8	56.4	128.4	129.6	132.0	138.0	138.0	135.6
9	56.4	58.8	56.4	132.0	128.4	132.0	140.4	144.0	138.0
10	60.0	56.4	55.2	132.0	130.8	129.6	142.8	142.8	140.4
SD	1.88			2.11			2.46		
Mean	58.16			130.24			139.52		

4.3. Hoạt động enzyme miễn dịch sau 45 ngày thí nghiệm cho ăn

1. PO (OD 490 nm)

STT	Đc			Ph			S3		
	Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
1	0.302	0.309	0.326	0.534	0.552	0.536	0.641	0.648	0.644
2	0.314	0.305	0.325	0.541	0.538	0.542	0.652	0.657	0.648
3	0.325	0.322	0.318	0.532	0.541	0.557	0.663	0.653	0.657
4	0.326	0.314	0.316	0.553	0.563	0.553	0.672	0.649	0.669
5	0.331	0.331	0.322	0.552	0.561	0.536	0.654	0.647	0.675
6	0.330	0.326	0.309	0.548	0.558	0.548	0.663	0.656	0.681
7	0.318	0.319	0.332	0.535	0.544	0.560	0.671	0.673	0.670
8	0.325	0.312	0.318	0.536	0.537	0.551	0.685	0.682	0.659
9	0.327	0.321	0.325	0.544	0.543	0.547	0.670	0.658	0.665
10	0.315	0.307	0.327	0.556	0.564	0.532	0.649	0.673	0.641
SD	0.008			0.01			0.013		
Mean	0.32			0.55			0.66		

2. RES (OD 630 nm)

STT	Đc			Ph			S3		
	Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
1	0.213	0.214	0.231	0.643	0.671	0.652	0.659	0.666	0.676
2	0.215	0.226	0.233	0.651	0.678	0.669	0.667	0.657	0.682
3	0.231	0.221	0.215	0.656	0.662	0.677	0.682	0.675	0.651
4	0.224	0.234	0.217	0.663	0.659	0.661	0.661	0.671	0.653
5	0.218	0.218	0.225	0.672	0.644	0.658	0.675	0.664	0.671
6	0.217	0.211	0.228	0.653	0.645	0.649	0.687	0.659	0.675
7	0.226	0.225	0.219	0.648	0.648	0.673	0.652	0.678	0.681
8	0.223	0.223	0.220	0.646	0.659	0.666	0.669	0.651	0.659
9	0.210	0.217	0.225	0.657	0.674	0.675	0.655	0.682	0.667
10	0.216	0.212	0.227	0.670	0.641	0.654	0.681	0.685	0.660
SD	0.007			0.011			0.011		
Mean	0.22			0.66			0.67		

3. SOD (OD 560 nm)

STT	Đc			Ph			S3		
	Bể 2	Bể 6	Bể 9	Bể 5	Bể 7	Bể 8	Bể 1	Bể 3	Bể 4
1	1.240	1.452	1.705	3.687	3.672	3.458	3.422	3.562	3.670
2	1.345	1.242	1.417	3.602	3.561	4.583	3.667	3.551	3.532
3	1.521	1.456	1.643	3.467	3.783	3.560	3.563	3.674	3.449
4	1.262	1.578	1.612	3.512	3.533	3.781	3.671	3.677	3.721
5	1.374	1.603	1.211	3.461	3.569	3.720	3.712	3.541	3.693
6	1.462	1.204	1.458	3.670	3.626	3.318	3.668	3.547	3.561
7	1.671	1.315	1.340	3.541	3.628	3.482	3.756	3.643	3.467
8	1.510	1.522	1.225	3.679	3.419	3.511	3.631	3.711	3.683
9	1.251	1.456	1.234	3.728	3.511	3.412	3.690	3.685	3.665
10	1.546	1.303	1.367	3.682	3.679	3.415	3.679	3.792	3.698
SD	0.151			0.219			0.091		
Mean	1.42			3.61			3.63		

4.4. Phân tích thống kê

Số liệu tăng trưởng

Geneeral Linear Model: Wf versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	3	Control, Phytogenics, SCFP

Analysis of Variance for Wf, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	2	0.0004222	0.0004222	0.0002111	2.71	0.145
Error	6	0.0004667	0.0004667	0.0000778		
Total	8	0.0008889				

S = 0.00881917 R-Sq = 47.50% R-Sq(adj) = 30.00%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP	3	5.037	A
Phytogenics	3	5.030	A
Control	3	5.020	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Geneeral Linear Model: Wg versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	3	Control, Phytogenics, SCFP

Analysis of Variance for Wg, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	2	0.0002000	0.0002000	0.0001000	1.00	0.422
Error	6	0.0006000	0.0006000	0.0001000		
Total	8	0.0008000				

S = 0.01 R-Sq = 25.00% R-Sq(adj) = 0.00%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP	3	3.510	A
Phytogenics	3	3.510	A
Control	3	3.500	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Geneeral Linear Model: ADG versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	3	Control, Phytogenics, SCFP

Analysis of Variance for ADG, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	2	0.0000092	0.0000092	0.0000046	0.63	0.534
Error	267	0.0019572	0.0019572	0.0000073		
Total	269	0.0019664				

S = 0.00270745 R-Sq = 0.47% R-Sq(adj) = 0.00%

Unusual Observations for ADG

Obs	ADG	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
110	0.083556	0.077970	0.000285	0.005585	2.07 R
137	0.083556	0.077970	0.000285	0.005585	2.07 R
148	0.084222	0.077970	0.000285	0.006252	2.32 R
222	0.071778	0.077726	0.000285	-0.005948	-2.21 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP	90	0.07818	A
Phytogenics	90	0.07797	A
Control	90	0.07773	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Geneeral Linear Model: SGR versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	3	Control, Phytogenics, SCFP

Analysis of Variance for SGR, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	2	0.0001309	0.0001309	0.0000654	4.53	0.063
Error	6	0.0000867	0.0000867	0.0000144		
Total	8	0.0002176				

S = 0.00380058 R-Sq = 60.16% R-Sq(adj) = 46.88%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP	3	2.662	A
Phytogenics	3	2.658	A
Control	3	2.653	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Geneeral Linear Model: Survival rate (%) versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	3	Control, Phytogenics, SCFP

Analysis of Variance for Survival rate (%), using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	2	0.1808	0.1808	0.0904	0.19	0.835
Error	6	2.9142	2.9142	0.4857		
Total	8	3.0950				

S = 0.696922 R-Sq = 5.84% R-Sq(adj) = 0.00%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
Phytogenics	3	91.34	A
Control	3	91.29	A
SCFP	3	91.02	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Số liệu các chỉ tiêu miễn dịch

Geneeral Linear Model: THC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Control - tank 2, Control - tank 6, Control - tank 9, Phytogenics - tank 5, Phytogenics - tank 7, Phytogenics - tank 8, SCFP - tank 1, SCFP - tank 3, SCFP - tank 4

Analysis of Variance for THC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	1391820	1391820	173977	3437.87	0.000
Error	81	4099	4099	51		
Total	89	1395919				

S = 7.11381 R-Sq = 99.71% R-Sq(adj) = 99.68%

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP - tank 1	10	452.3	A
SCFP - tank 4	10	451.7	A
SCFP - tank 3	10	451.3	A
Phytogenics - tank 5	10	449.6	A
Phytogenics - tank 7	10	448.7	A
Phytogenics - tank 8	10	448.2	A
Control - tank 6	10	188.2	B
Control - tank 2	10	187.1	B
Control - tank 9	10	184.3	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Geneeral Linear Model: GC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Control - tank 2, Control - tank 6, Control - tank 9, Phytogenics - tank 5, Phytogenics - tank 7, Phytogenics - tank 8, SCFP - tank 1, SCFP - tank 3, SCFP - tank 4

Analysis of Variance for GC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	119029	119029	14879	3099.72	0.000
Error	81	389	389	5		
Total	89	119418				

S = 2.19089 R-Sq = 99.67% R-Sq(adj) = 99.64%

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP - tank 3	10	139.68	A
SCFP - tank 1	10	139.56	A
SCFP - tank 4	10	139.32	A
Phytogenics - tank 7	10	130.44	B
Phytogenics - tank 8	10	130.32	B
Phytogenics - tank 5	10	129.96	B
Control - tank 6	10	58.80	C
Control - tank 2	10	58.56	C
Control - tank 9	10	57.12	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Geneeral Linear Model: HC versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Control - tank 2, Control - tank 6, Control - tank 9, Phytogenics - tank 5, Phytogenics - tank 7, Phytogenics - tank 8, SCFP - tank 1, SCFP - tank 3, SCFP - tank 4

Analysis of Variance for HC, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	700484	700484	87560	2518.03	0.000
Error	81	2817	2817	35		
Total	89	703300				

S = 5.89689 R-Sq = 99.60% R-Sq(adj) = 99.56%

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
Phytogenics - tank 5	10	319.7	A
Phytogenics - tank 7	10	318.2	A
Phytogenics - tank 8	10	317.9	A
SCFP - tank 1	10	312.7	A
SCFP - tank 4	10	312.4	A
SCFP - tank 3	10	311.6	A
Control - tank 6	10	129.4	B
Control - tank 2	10	128.5	B
Control - tank 9	10	127.2	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Geneeral Linear Model: PO versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Control - tank 2, Control - tank 6, Control - tank 9, Phytogenics - tank 5, Phytogenics - tank 7, Phytogenics - tank 8, SCFP - tank 1, SCFP - tank 3, SCFP - tank 4

Analysis of Variance for PO, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	1.80692	1.80692	0.22586	2069.85	0.000
Error	81	0.00884	0.00884	0.00011		
Total	89	1.81576				

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP - tank 1	10	0.6620	A
SCFP - tank 4	10	0.6609	A
SCFP - tank 3	10	0.6596	A
Phytogenics - tank 7	10	0.5501	B
Phytogenics - tank 8	10	0.5462	B
Phytogenics - tank 5	10	0.5431	B
Control - tank 9	10	0.3218	C
Control - tank 2	10	0.3213	C
Control - tank 6	10	0.3166	C

Geneeral Linear Model: RES versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Control - tank 2, Control - tank 6, Control - tank 9, Phytogenics - tank 5, Phytogenics - tank 7, Phytogenics - tank 8, SCFP - tank 1, SCFP - tank 3, SCFP - tank 4

Analysis of Variance for RES, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	3.92002	3.92002	0.49000	4860.95	0.000
Error	81	0.00817	0.00817	0.00010		
Total	89	3.92819				

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP - tank 3	10	0.6688	A
SCFP - tank 1	10	0.6688	A
SCFP - tank 4	10	0.6675	A
Phytogenics - tank 8	10	0.6634	A
Phytogenics - tank 7	10	0.6581	A
Phytogenics - tank 5	10	0.6559	A
Control - tank 9	10	0.2240	B
Control - tank 6	10	0.2201	B
Control - tank 2	10	0.2193	B

Geneeral Linear Model: SOD versus Treatments

Factor	Type	Levels	Values
Treatments	fixed	9	Control - tank 2, Control - tank 6, Control - tank 9, Phytogenics - tank 5, Phytogenics - tank 7, Phytogenics - tank 8, SCFP - tank 1, SCFP - tank 3, SCFP - tank 4

Analysis of Variance for SOD, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Treatments	8	97.084	97.084	12.136	430.41	0.000
Error	81	2.284	2.284	0.028		
Total	89	99.368				

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

Treatments	N	Mean	Grouping
SCFP - tank 1	10	3.646	A
SCFP - tank 3	10	3.638	A
Phytogenics - tank 8	10	3.624	A
SCFP - tank 4	10	3.614	A
Phytogenics - tank 5	10	3.603	A
Phytogenics - tank 7	10	3.598	A
Control - tank 9	10	1.421	B
Control - tank 2	10	1.418	B
Control - tank 6	10	1.413	B

Means that do not share a letter are significantly different.

MỘT SỐ HÌNH ẢNH HOẠT ĐỘNG THỰC HIỆN LUẬN ÁN



Bố trí thí nghiệm xác định hàm lượng SCFP



Bố trí thí nghiệm xác định giá trị LD₅₀



Bố trí thí nghiệm đáp ứng miễn dịch và khả năng kháng bệnh của tôm



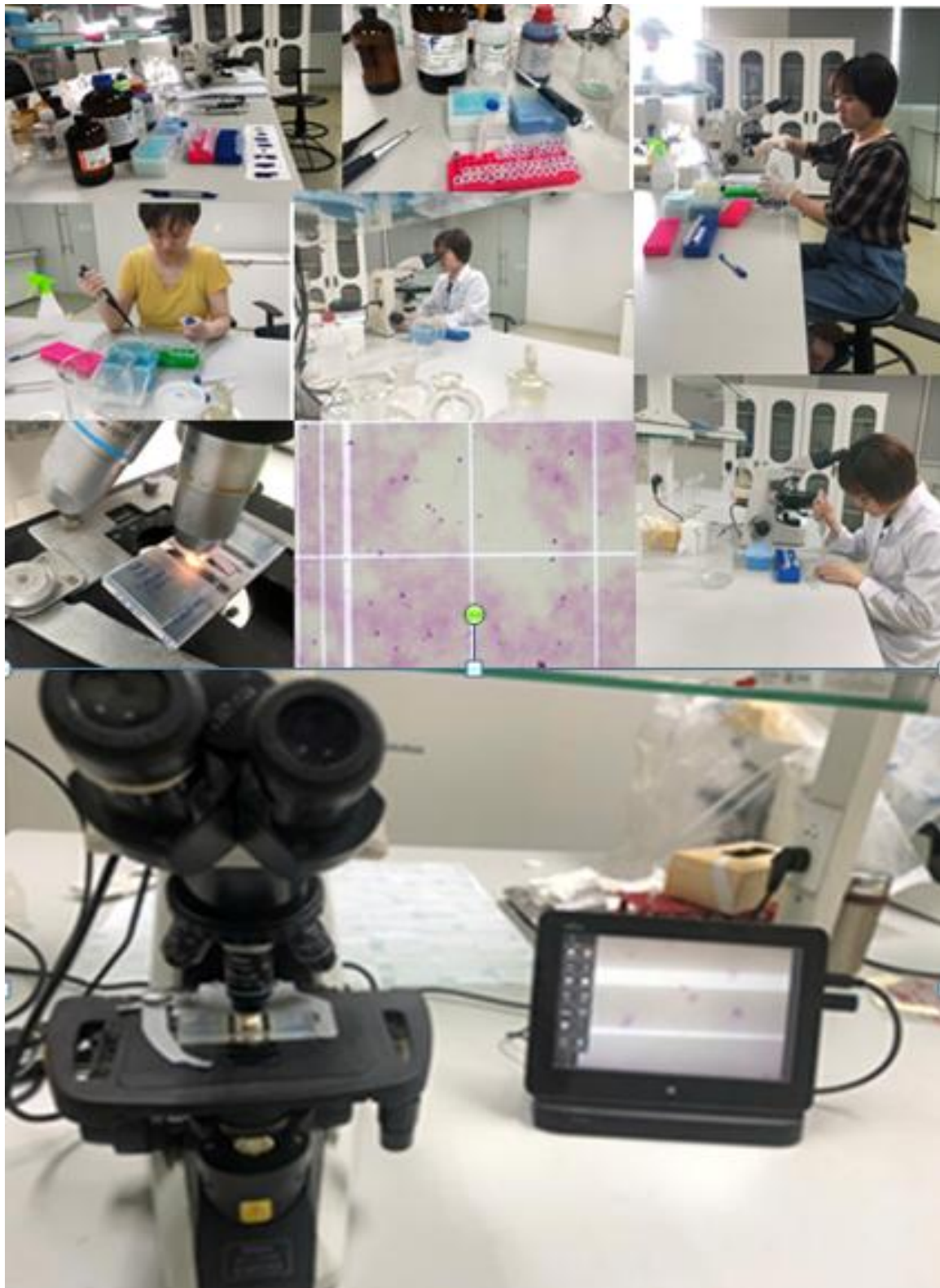
Bố trí thí nghiệm ở qui mô pilot



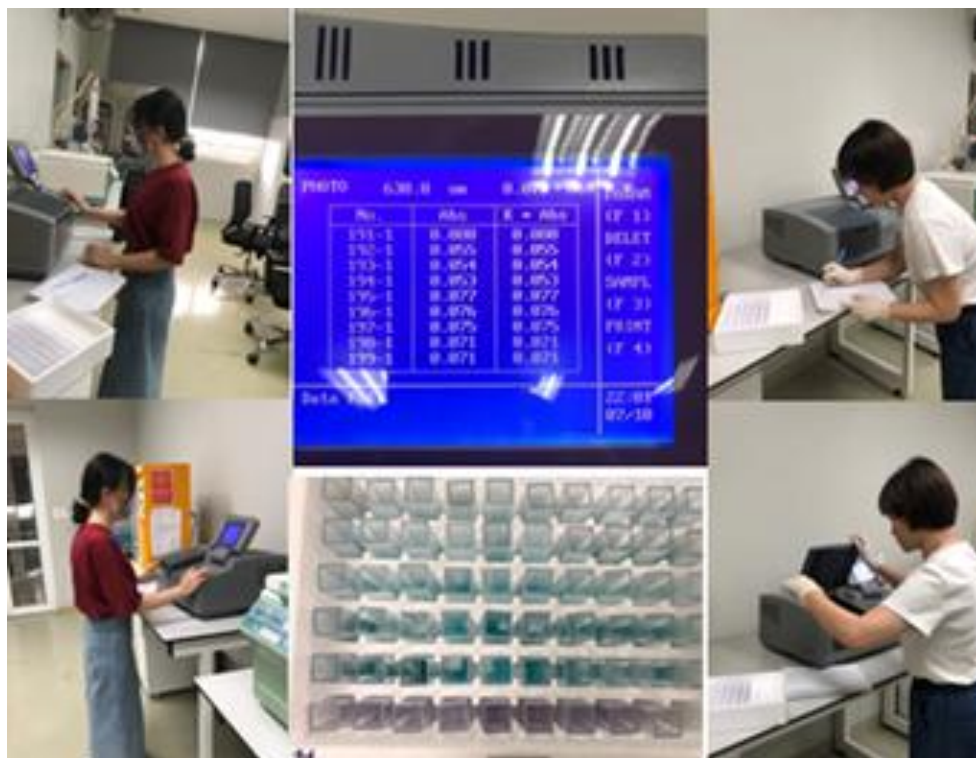
Bổ sung SCFP vào thức ăn tôm



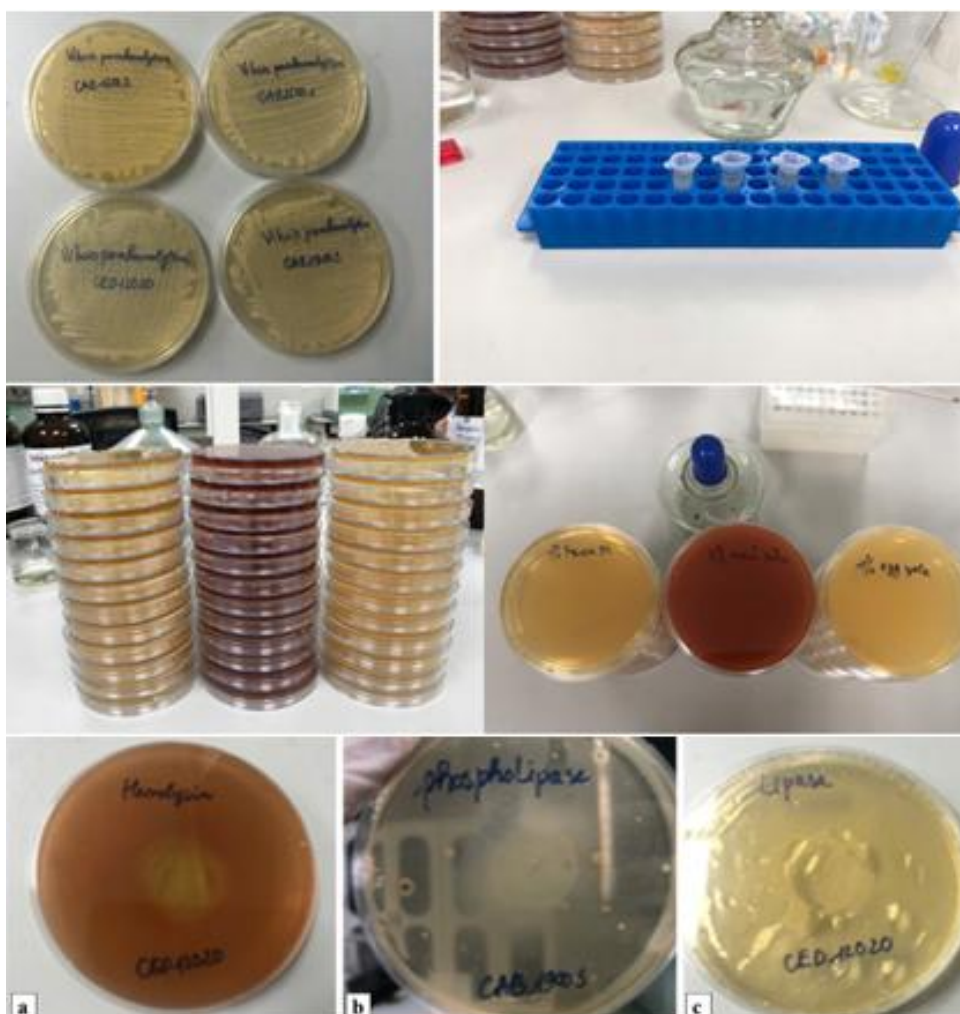
Thu mẫu máu tôm



Đếm tế bào máu



Đo hoạt độ enzyme miễn dịch



Thử hoạt tính sinh enzyme ngoại bào độc lực của các chủng *V. parahaemolyticus*

