

NGHIÊN CỨU HIỆU QUẢ VACCINE BẤT HOẠT *Vibrio alginolyticus* TRONG PHÒNG BỆNH XUẤT HUYẾT TRÊN CÁ HỒNG MỸ (*Sciaenops ocellatus*)

Nguyễn Nam Quang, Nguyễn Thị Huế Linh, Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Nguyễn Ngọc Phước*

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế, 102 Phùng Hưng, Huế, Việt Nam

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Ngọc Phước <nguyennngocphuoc@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 07-4-2026; Ngày chấp nhận đăng: 06-5-2026)

Tóm tắt. Nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá hiệu quả phòng bệnh xuất huyết trên cá Hồng Mỹ (*Sciaenops ocellatus*) của vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào vi khuẩn *Vibrio alginolyticus*. Chủng vi khuẩn *V. alginolyticus* (VA15) được chọn lọc từ 20 chủng phân lập từ cá Hồng mỹ nuôi lồng bị bệnh xuất huyết tại các vùng ven biển Thành phố Huế và được sử dụng để điều chế vaccine, và thử nghiệm cảm nhiễm trên cá Hồng mỹ. Vaccine được điều chế bằng phương pháp bất hoạt với formalin và được sử dụng bằng cách trộn vào thức ăn để đánh giá tính an toàn và hiệu quả bảo hộ trên cá thí nghiệm. Kết quả cho thấy vaccine không ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng, hệ số chuyển hóa thức ăn và hành vi của cá, không gây biến đổi mô học ở ruột và gan. Cá được cho ăn vaccine thể hiện đáp ứng miễn dịch tăng cường, với hiệu giá kháng thể cao hơn so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$). Tỷ lệ bảo hộ (RPS) của vaccine đạt 44,2% ở liều đơn và 53,5% ở liều nhắc lại khi sử dụng ở nồng độ 10^6 CFU eq/mL. Kết quả nghiên cứu cho thấy vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào vi khuẩn *V. alginolyticus* có tiềm năng ứng dụng trong phòng bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*).

Từ khóa: nuôi cá biển, *Sciaenops ocellatus*, vaccine an toàn, vaccine bất hoạt, Vibriosis.

Study on the efficacy of an inactivated *Vibrio alginolyticus* vaccine in preventing hemorrhagic disease in red drum (*Sciaenops ocellatus*)

Nguyen Nam Quang, Nguyen Thi Hue Linh, Nguyen Duc Quynh Anh, Nguyen Ngoc Phuoc*

University of Agriculture and Forestry, Hue University, 102 Phung Hung St., Hue, Vietnam

*Corresponding to: Nguyen Ngoc Phuoc <nguyennngocphuoc@hueuni.edu.vn>

(Received: 07 April 2026; Accepted: 06 May 2026)

Abstract. This study evaluated the efficacy of an inactivated whole-cell vaccine of *Vibrio alginolyticus* in preventing hemorrhagic disease in red drum (*Sciaenops ocellatus*). The *V. alginolyticus* strain (VA15) was selected from 20 isolates obtained from hemorrhagic diseased cage-cultured fish in coastal areas of Hue City, Vietnam, and was subsequently used for both vaccine preparation and challenge testing in red drum. The vaccine was prepared by formalin inactivation and administered via feed to assess its safety and protective efficacy in experimental fish. The results showed that the vaccine had no adverse effects on growth performance, feed conversion ratio, behavior, or the histological structure of the intestine and liver. Vaccinated fish exhibited enhanced immune responses, with significantly higher antibody titers than those of the control group. Following bacterial challenge, the relative percent survival (RPS) reached

44.2% in the single-dose group and increased to 53.5% in the booster group at a concentration of 10^6 CFU eq/mL. These findings indicate that the inactivated whole-cell *V. alginolyticus* vaccine has potential as a safe and effective strategy for preventing hemorrhagic disease in red drum aquaculture.

Keywords: inactivated vaccine, marine aquaculture, *Sciaenops ocellatus*, vaccine safety, vibriosis

1 Đặt vấn đề

Cá Hồng mỹ (*Sciaenops ocellatus*) thuộc đối tượng có giá trị kinh tế cao được nuôi phổ biến trên thế giới, đặc biệt là ở Trung Quốc (hơn 90% tổng sản lượng toàn cầu) [1, 2]. Tại Việt Nam, loài cá này đã được xác định là một trong những đối tượng nuôi biển chủ lực trong chiến lược phát triển ngành thủy sản đến năm 2030 và tầm nhìn đến năm 2045 [3].

Trong những năm gần đây, dưới tác động của biến đổi khí hậu toàn cầu và áp lực gia tăng về sản lượng, nghề nuôi cá biển nói chung và cá Hồng mỹ nói riêng đang phải đối mặt với nhiều thử thách, đặc biệt là dịch bệnh do vi khuẩn thuộc nhóm *Vibrio*, trong đó *V. alginolyticus* được xem là tác nhân quan trọng gây ra bệnh xuất huyết trên cá biển, làm giảm tỷ lệ sống của cá và gây thiệt hại đáng kể cho người nuôi [4, 5].

Để kiểm soát bệnh do vi khuẩn, việc lạm dụng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản đã và đang gây ra nhiều hệ lụy nghiêm trọng như: ô nhiễm môi trường nước, tồn dư trong sản phẩm thủy sản ảnh hưởng tới sức khỏe người tiêu dùng và đặc biệt là sự gia tăng nhanh chóng của các chủng vi khuẩn kháng kháng sinh, trở thành mối đe dọa với sức khỏe cộng đồng trên phạm vi toàn cầu [6, 7].

Trong bối cảnh đó, việc tìm kiếm và phát triển các giải pháp phòng bệnh thay thế thuốc kháng sinh theo hướng an toàn và bền vững là hết sức cần thiết, phù hợp với cách tiếp cận “Một sức khỏe” (One Health) [7]. Trong số các giải pháp được đề cập hiện nay, vaccine được xem là một trong những giải pháp hiệu quả nhằm kiểm soát dịch bệnh cho động vật thủy sản, nâng cao an toàn sinh

học, giảm phụ thuộc vào kháng sinh và hướng tới phát triển nuôi trồng thủy sản bền vững [8, 9].

Tuy nhiên, tại Việt Nam, các nghiên cứu về vaccine phòng bệnh trên cá Hồng mỹ còn hạn chế, đặc biệt là các nghiên cứu liên quan đến vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào vi khuẩn sử dụng qua đường cho ăn trong điều kiện nuôi thực nghiệm.

Do đó, nghiên cứu này được thực hiện nhằm điều chế vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào vi khuẩn *V. alginolyticus* và đánh giá tính an toàn cũng như hiệu quả bảo hộ của vaccine trên cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*). Qua đó góp phần phát triển giải pháp phòng bệnh hiệu quả và bền vững trong nuôi cá biển.

2 Vật liệu và phương pháp

2.1 Vật liệu nghiên cứu

Chủng vi khuẩn nghiên cứu

Chủng vi khuẩn *V. alginolyticus* (VA15) được phân lập từ cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) nuôi lồng bị bệnh xuất huyết tại vùng ven biển Thành phố Huế và được sử dụng để điều chế vaccine và thử nghiệm cảm nhiễm gây bệnh trên cá [10]. Chủng VA15 được lựa chọn từ 20 chủng vi khuẩn phân lập dựa trên kết quả sàng lọc độc lực, đặc điểm kiểu gene liên quan đến độc lực, kiểu hình và hồ sơ gene kháng kháng sinh theo phương pháp đã được mô tả trong nghiên cứu trước đây [11, 12].

Các chủng vi khuẩn được phân lập từ thận trước của cá có biểu hiện xuất huyết bằng phương pháp cấy trực tiếp trên các môi trường TSA+ (bổ sung 2% NaCl), TCBS và HiCrome™ *Vibrio* Agar, ủ ở 28°C trong 24 giờ. Các khuẩn lạc điển hình được cấy chuyển để thu dòng thuần và bảo quản trong glycerol 20% ở -20°C.

Vi khuẩn được định danh dựa trên đặc điểm hình thái, sinh hóa (API 20E), kết hợp với phân tích phổ protein bằng kỹ thuật MALDI-ToF MS và xác nhận bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu gene *gyrB*.

Thử nghiệm cảm nhiễm trên cá Hồng mỹ đã xác định giá trị LD_{50} của chủng VA15 là 4×10^4 CFU/mL, được sử dụng làm cơ sở thiết kế các thí nghiệm đánh giá hiệu quả vaccine.

Sinh khối vi khuẩn được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB⁺ (bổ sung 2% NaCl) ở 28°C, lắc 150 vòng/phút trong 24 giờ. Mật độ vi khuẩn được xác định thông qua giá trị OD_{600} , trong đó $OD_{600} = 1,0$ tương ứng khoảng 10^9 CFU/mL trước khi sử dụng cho các thí nghiệm. Đường chuẩn được xây dựng nhằm xác lập mối tương quan giữa giá trị OD_{600} và mật độ vi khuẩn sống (CFU/mL).

Cá thí nghiệm

Cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) đã kiểm dịch và không ghi nhận nhiễm *Vibrio*, có khối lượng trung bình 10 ± 3 g được thu mua từ trại giống AMT tại tỉnh Khánh Hoà. Cá được vận chuyển bằng xe lạnh về phòng thí nghiệm cảm nhiễm của Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế và được nuôi thích nghi trong bể composite (1000 L) chứa nước biển có độ mặn 20‰, nhiệt độ nước 28 ± 1 °C, pH 7,8 - 8,2 và hàm lượng oxy hòa tan > 6 mg/L. Nguồn nước được sục khí liên tục và thay 1/3 thể tích mỗi ngày. Cá được cho ăn thức ăn viên công nghiệp dành cho cá biển (Skretting, Thái Lan, hàm lượng protein $> 55\%$) hai lần mỗi ngày (08:00 và 14:00) với khẩu phần 2,5% khối lượng cá.

Cá được theo dõi sức khỏe hàng ngày, chỉ những cá thể khỏe mạnh, phản xạ bơi lội bình thường và không có dấu hiệu bệnh lý mới được chọn cho thí nghiệm. Trước khi bố trí thí nghiệm, kiểm tra ngẫu nhiên 5 cá thể để đảm bảo cá không nhiễm *Vibrio* spp. bằng cách lấy mẫu từ thận của cá cấy trên môi trường TCBS, ủ ở 28 °C trong 24 giờ để quan sát sự phát triển khuẩn lạc [13].

Tất cả quy trình nuôi dưỡng, bố trí thí nghiệm, thu mẫu và xử lý cá được thực hiện theo

đề cương nghiên cứu đã được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu động vật, Đại học Huế phê duyệt (mã số HUVN0054, 2024).

2.2 Phương pháp điều chế vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào vi khuẩn *V. alginolyticus*

Chủng *V. alginolyticus* (VA15) lưu trữ trong glycerol 20% ở -20 °C được phục hồi, nuôi tăng sinh và chuẩn hóa mật độ tại giá trị $OD_{600} = 1$, tương ứng với mật độ vi khuẩn 10^9 CFU/mL, tương tự như mô tả tại mục 2.1. Vi khuẩn được bất hoạt bằng cách bổ sung formalin 37% ở nồng độ cuối cùng 2% (v/v) và ủ trong 1 giờ ở 28 °C. Sau quá trình bất hoạt, 1mL hỗn hợp được cấy trên môi trường TSA⁺ (bổ sung 2% NaCl) và ủ ở 28 °C quan sát trong 3 ngày và 7 ngày để kiểm tra sự phát triển của khuẩn lạc nhằm xác định quá trình bất hoạt hoàn toàn [13, 14].

Hỗn hợp sau bất hoạt được ly tâm ở 10.000 vòng/phút trong 10 phút (Sigma Laborzentrifugen GmbH, Đức) để loại bỏ formalin dư. Sinh khối vi khuẩn được rửa 2 lần bằng dung dịch đệm Phosphate Buffered Saline 0,1M (PBS: 0,137 M NaCl, 0,05 M NaH_2PO_4 , pH 7,4). Sinh khối bất hoạt được huyền phù lại trong 10 mL PBS 0,1 M và khuấy đều ở tốc độ 800 vòng/phút trong 30 phút. Nồng độ vaccine được chuẩn hóa về $OD_{600} = 1$ (tương ứng mật độ 10^9 CFU eq/mL), sau đó pha loãng để đạt các nồng độ 10^5 , 10^6 và 10^7 CFU eq/mL. Vaccine được bảo quản ở 4 °C dưới điều kiện lắc nhẹ (150 vòng/phút) trước khi sử dụng cho các thí nghiệm [13, 14].

2.3 Phương pháp đánh giá tính an toàn và xác định nồng độ vaccine phù hợp

Chuẩn bị thức ăn bổ sung vaccine:

Vaccine ở các nồng độ thí nghiệm được trộn vào thức ăn viên công nghiệp dành cho cá biển (Skretting, Thái Lan, hàm lượng protein $> 55\%$) với tỷ lệ 1:10 (v/w) (tương đương 0,1 mL vaccine/1g thức ăn) [15]. Sau khi trộn, thức ăn được phủ đều mục nhằm tăng độ bám dính, để khô tự nhiên ở 28

°C và bảo quản ở 4°C cho đến khi sử dụng. Cá được cho ăn thức ăn bổ sung vaccine với liều đơn ở mức 5% khối lượng thân, một lần duy nhất vào ngày thí nghiệm thứ 2 của thí nghiệm [13].

Thiết kế thí nghiệm:

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với bốn nghiệm thức: NT1, NT2, NT3 và đối chứng (ĐC), mỗi nghiệm thức gồm 3 lần lặp (n = 3). Các nghiệm thức NT1, NT2 và NT3 tương ứng với các nồng độ vaccine là 10^5 , 10^6 và 10^7 CFU eq/mL; nghiệm thức đối chứng được cho ăn thức ăn không bổ sung vaccine (bổ sung dung dịch NaCl 0,85% vô trùng).

Cá được nuôi trong bể composite 120 L với mật độ 20 cá/bể. Điều kiện nuôi dưỡng và chăm sóc được duy trì tương tự như mô tả tại mục 2.1.

Hai nhóm thí nghiệm được thiết lập song song: (A) đánh giá tỷ lệ sống, tốc độ tăng trưởng, hệ số chuyển đổi thức ăn; (B): đánh giá ảnh hưởng của vaccine đến hành vi, mô bệnh học và đáp ứng miễn dịch.

Theo dõi và chỉ tiêu đánh giá: Thí nghiệm được thực hiện trong 28 ngày với các chỉ tiêu đánh giá bao gồm:

Tỷ lệ sống của cá (Survival Rate - SR) tính theo công thức: (1)

$$SR (\%) = \frac{\text{Số cá còn lại khi kết thúc thí nghiệm}}{\text{Số cá bắt đầu thí nghiệm}} \times 100$$

Tốc độ tăng trưởng đặc biệt (Specific Growth Rate - SGR) tính theo công thức: (2)

$$SGR (\% \text{ ngày}) = \frac{\ln(\text{khối lượng cá kết thúc thí nghiệm}) - \ln(\text{khối lượng cá bắt đầu thí nghiệm})}{\text{Thời gian thí nghiệm}} \times 100$$

Hệ số chuyển đổi thức ăn (Feed Conversion Ratio - FCR) tính theo công thức: (3)

$$FCR = \frac{\text{Khối lượng thức ăn sử dụng (kg)}}{\text{Khối lượng cá kết thúc thí nghiệm (kg)} - \text{Khối lượng cá bắt đầu thí nghiệm (kg)}}$$

Phân tích mô bệnh học: Mẫu ruột và gan được cố định trong formalin đậm 10% (tỷ lệ 1:10) trong 24–48 giờ, sau đó xử lý qua các bước khử nước, làm trong, đúc paraffin và cắt lát (4–5 μ m). Tiêu bản được nhuộm Hematoxylin–Eosin (H&E) và quan sát dưới kính hiển vi quang học theo mô tả của Bisai và cs. (2025) [16].

Đáp ứng miễn dịch: Hiệu giá kháng thể được xác định bằng phương pháp ngưng kết vi khuẩn theo Roberson (1990), mô tả bởi Erfanmanesh và cs. (2023) [17]. Cụ thể, cho 25 μ L huyết thanh vào các giếng đầu tiên của dãy giếng. Từ giếng thứ hai trở đi, tiến hành pha loãng hai lần liên tiếp (two-fold serial dilution) bằng dung dịch

nước muối sinh lý vô trùng với tỷ lệ pha loãng 1/2. Sau đó, bổ sung 25 μ L dung dịch vi khuẩn bất hoạt (kháng nguyên) vào mỗi giếng và trộn đều. Các đĩa được ủ ở nhiệt độ phòng trong 7–8 giờ, sau đó tiếp tục ủ và đọc kết quả trong vòng 24 giờ. Kết quả được xác định như sau:

- Phản ứng dương tính (+): đáy giếng tạo thành một lớp ngưng kết trải rộng.

- Phản ứng âm tính (-): đáy giếng chỉ xuất hiện một chấm tròn nhỏ màu trắng.

Hiệu giá kháng thể được xác định là độ pha loãng cao nhất của huyết thanh vẫn còn xuất hiện phản ứng ngưng kết dương tính và được biểu thị

dưới dạng $\log_2$ cho các phân tích thống kê tiếp theo.

Mẫu máu được thu trước khi cho ăn vaccine (ngày 0) và tại ngày thứ 7, ngày thứ 14, ngày thứ 28 sau khi sử dụng vaccine, với 3 cá thể được lấy mẫu cho mỗi nghiệm thức tại mỗi thời điểm.

2.4 Phương pháp xác định tỷ lệ bảo hộ (RPS) của vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào vi khuẩn *V.alginolyticus* trên cá Hồng mỹ (*S.ocellatus*)

Chủng vi khuẩn *V. alginolyticus* (VA15), cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) và vaccine bất hoạt được chuẩn bị như mô tả tại mục 2.1 và 2.2.

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với ba nghiệm thức NT1, NT2, và đối chứng (ĐC), mỗi nghiệm thức gồm 3 lần lặp lại ($n = 3$). Cá được nuôi trong bể thí nghiệm 120 L với mật độ thả 20 cá/bể.

Ở nghiệm thức NT1, cá được cho ăn thức ăn bổ sung vaccine với nồng độ 10^6 CFU eq/mL vào ngày đầu tiên của thí nghiệm. Ở nghiệm thức NT2 cá được xử lý tương tự như NT1 và được cho ăn

nhắc lại (booster) sau 14 ngày; Nghiệm thức đối chứng (ĐC) cá được cho ăn thức ăn không bổ sung vaccine. Điều kiện nuôi dưỡng, chế độ cho ăn được thực hiện như mô tả ở mục 2.1.

Cá được gây cảm nhiễm bằng phương pháp tiêm xoang bụng với 0,1 μ L huyền phù *V. alginolyticus* ở liều LD₅₀ (4×10^4 CFU/mL). Thời điểm gây cảm nhiễm được thực hiện sau 14 ngày kể từ lần cho ăn vaccine cuối cùng ở mỗi nghiệm thức (ngày 14 đối với NT1 và ngày 28 đối với NT2).

Sau khi gây cảm nhiễm, cá được theo dõi hàng ngày để ghi nhận số cá chết và tính tỷ lệ chết tích lũy. Các cá thể chết hoặc có triệu chứng bệnh lý điển hình được lấy mẫu thận để tái phân lập vi khuẩn trên môi trường HiCrome™ Vibrio Agar. Các khuẩn lạc nghi ngờ được kiểm tra đặc điểm hình thái, nhuộm Gram, oxidase và xác nhận là *V. alginolyticus* bằng PCR với cặp mồi đặc hiệu gene *gyrB*. Phân tích mô bệnh học thực hiện tương tự như mô tả ở mục 2.3.

Tỷ lệ bảo hộ hay tỷ lệ sống tương đối (RPS) được tính theo công thức của Ellis (1998), mô tả bởi Bashir và cs. (2023) [13]:

$$RPS = \frac{\text{Tỷ lệ chết ở lô thí nghiệm sử dụng vaccine}}{\text{Tỷ lệ chết ở lô thí nghiệm đối chứng}} \times 100$$

2.5 Phương pháp xử lý số liệu

Dữ liệu về tỷ lệ sống, tốc độ tăng trưởng đặc biệt (SGR), hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR), tỷ lệ chết tích lũy của cá và hiệu giá kháng thể (được chuyển đổi sang $\log_2$) được biểu thị bằng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (Mean $\pm$ SD).

Sự khác biệt giữa các nghiệm thức được phân tích bằng phương pháp phân tích phương sai một nhân tố (One-way ANOVA), sau đó sử dụng kiểm định Turkey ($p < 0,05$) để so sánh cặp với mức ý nghĩa $p < 0,05$. Phân tích tỷ lệ sống được thực hiện bằng phương pháp Kaplan-Meier kết hợp với kiểm định log-rank.

Tất cả các phân tích thống kê được thực hiện trên phần mềm IBM Statistics SPSS.20. Đặc điểm mô bệnh học của cá được mô tả định tính dựa trên hình ảnh tiêu bản quan sát dưới kính hiển vi quang học (40X).

3 Kết quả nghiên cứu và thảo luận

3.1 Tính an toàn của vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *V. alginolyticus* trên cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*)

Sau 28 ngày thí nghiệm, tỷ lệ sống của cá ở tất cả các nghiệm thức đều đạt 100% (Bảng 1). Cá duy trì trạng thái khỏe mạnh, không xuất hiện triệu chứng bệnh lý và các biểu hiện hành vi bất thường trong suốt thời gian thí nghiệm (Hình 1). Quan sát hình thái ngoài của cá (Hình 1) ghi nhận cá có

màu sắc tự nhiên, bề mặt da và vảy nguyên vẹn, vây phát triển bình thường, không ghi nhận các dấu hiệu bệnh lý thường thấy của bệnh xuất huyết như: cơ thể sẫm màu; vây bị tuột, mòn, xơ rách; hoại tử, xuất huyết [4, 5].

Các chỉ tiêu tăng trưởng, bao gồm tốc độ tăng trưởng đặc biệt (SGR), hệ số chuyển đổi thức ăn (FCR) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức sử dụng vaccine và nghiệm thức đối chứng ($p > 0,05$) (Bảng 1).

Bảng 1. Ảnh hưởng của vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *V. alginolyticus* đến tỷ lệ sống, tốc độ tăng trưởng, hệ số chuyển đổi thức ăn của cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) sau 28 ngày thí nghiệm

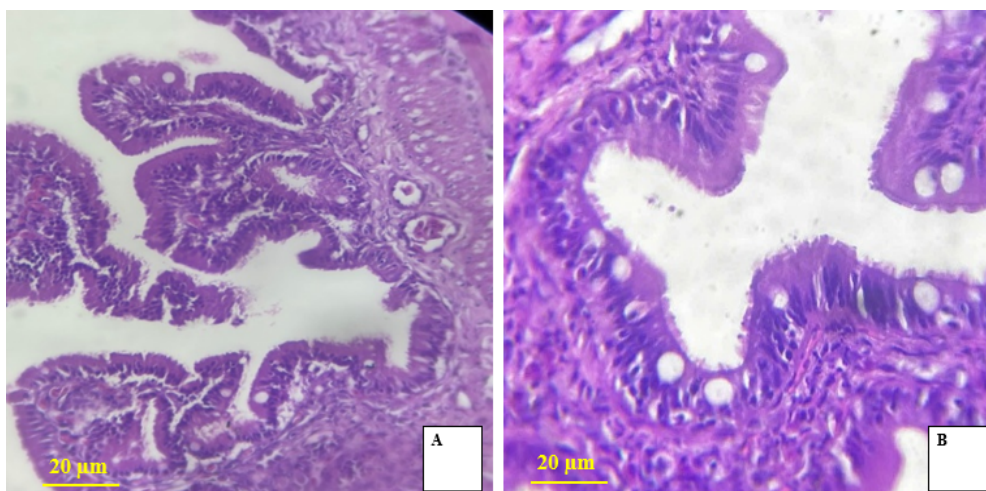
Nghiệm thức	Nồng độ vaccine (CFU-eq/mL)	SGR (%/ngày)	FCR (Mean ± SD)	Tỷ lệ sống (%)
NT1	10 ⁵	2,14 ± 0,12	1,33 ± 0,10	100
NT2	10 ⁶	2,26 ± 0,18	1,35 ± 0,12	100
NT3	10 ⁷	2,18 ± 0,15	1,40 ± 0,14	100
Đối chứng	0	2,16 ± 0,14	1,34 ± 0,11	100



Hình 1. Hình thái ngoài của cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) sau 28 ngày sử dụng vaccine

Quan sát mô bệnh học cho thấy cấu trúc mô ruột và gan của cá ở các nghiệm thức sử dụng vaccine tương tự như nhóm đối chứng (Hình 2, 3). Quan sát mô ruột ghi nhận cấu trúc niêm mạc được bảo tồn tốt với các nếp gấp rõ ràng, lớp

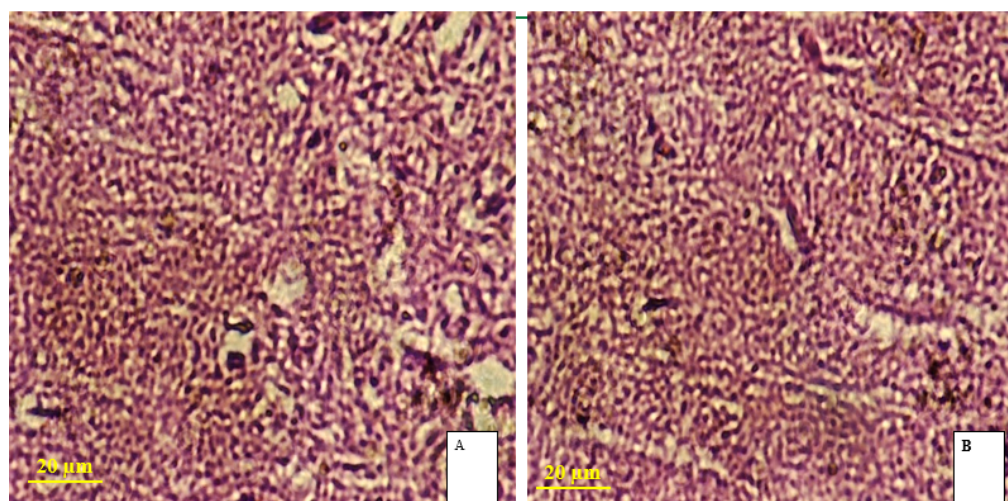
biểu mô liên tục và có sự hiện diện của các tế bào tiết nhầy. Không ghi nhận hiện tượng bong tróc biểu mô, hoại tử, xuất huyết hay sự thâm nhiễm của các tế bào viêm (Hình 2).



Hình 2. Mô bệnh học ruột của cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*), (H&E, 40X), (A: Đối chứng , B: cá sử dụng vaccine)

Tương tự, mô gan của cá ở tất cả các nghiệm thức cho thấy cấu trúc mô bình thường với các tế bào gan dạng đa giác, xếp thành bè đặc trưng, xen kẽ các xoang mạch, nhân tế bào tròn rõ và không

ghi nhận hiện tượng vỡ hay biến dạng nhân. Cấu trúc mô gan tương đối đồng nhất. Không quan sát thấy các dấu hiệu tổn thương điển hình như hoại tử hay thâm nhiễm tế bào viêm (Hình 3)



Hình 3. Mô bệnh học gan của cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*), (H&E, 40X), (A: Đối chứng, B: cá sử dụng vaccine)

Theo Rathor và Swain (2024) [9], Meng-Han (2024) [18], vaccine được xem là an toàn khi không gây ảnh hưởng đến tốc độ tăng trưởng, khả năng sử dụng thức ăn, hành vi và tỷ lệ sống của cá. Kết quả của nghiên cứu này phù hợp với các tiêu chí trên, cho thấy vaccine bất hoạt không gây tác động tiêu cực đến cá thí nghiệm.

Ngoài ra, Mokhtar và cs. (2023) [19], Hopo và cs. (2024) [20] đã chỉ ra rằng: ruột và gan là những cơ quan miễn dịch quan trọng của cá tham

gia vào quá trình nhận diện kháng nguyên và hình thành đáp ứng miễn dịch sau khi tiếp nhận vaccine. Việc không ghi nhận các biến đổi mô bệnh học tại hai cơ quan này cho thấy vaccine không gây tổn thương mô và có tính an toàn sinh học cao.

Những kết quả này cho thấy vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *V. alginolyticus* không gây ảnh hưởng bất lợi đến sinh trưởng, hành vi và cấu trúc mô của cá Hồng mỹ trong điều kiện thí nghiệm [9, 17-20].

3.2 Khả năng đáp ứng miễn dịch của vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *V. alginolyticus* trên cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*)

Hiệu giá kháng thể của cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) sau khi sử dụng vaccine có xu hướng tăng theo thời gian ở các nghiệm thức sử dụng vaccine

và được trình bày ở Bảng 2. Hiệu giá được xác định là độ pha loãng cao nhất của huyết thanh vẫn còn xuất hiện phản ứng ngưng kết dương tính và được biểu thị dưới dạng log₂ cho các phân tích thống kê.

Bảng 2. Hiệu giá kháng thể của cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) sau khi sử dụng vaccine bất hoạt *V. alginolyticus* ở các nồng độ khác nhau

Nghiệm thức	Nồng độ vaccine	Hiệu giá kháng thể (log ₂ , Mean ± SD)			
		Ngày 0	Ngày 7	Ngày 14	Ngày 28
Đối chứng	0 CFU-eq/mL	6,00 ± 0,00 ^a	5,67 ± 0,58 ^a	6,33 ± 0,58 ^a	7,00 ± 1,00 ^a
NT1	10 ⁵ CFU-eq/mL	6,33 ± 0,58 ^a	8,33 ± 0,58 ^b	8,67 ± 0,58 ^b	8,67 ± 0,58 ^b
NT2	10 ⁶ CFU-eq/mL	6,33 ± 0,58 ^a	9,00 ± 0,00 ^c	9,67 ± 0,33 ^c	10,33 ± 0,00 ^c
NT3	10 ⁷ CFU-eq/mL	5,76 ± 0,33 ^a	9,33 ± 0,58 ^c	9,33 ± 0,58 ^c	10,33 ± 0,00 ^c

Ghi chú: Các giá trị trong cùng một cột mang các chữ cái khác nhau (a, b, c) biểu thị sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,05)

Tại thời điểm ban đầu (ngày 0), không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nghiệm thức (p > 0,05). Sau khi sử dụng vaccine, hiệu giá kháng thể ở các nghiệm thức NT1, NT2 và NT3 tăng dần theo thời gian, trong khi nghiệm thức đối chứng không có sự thay đổi đáng kể trong suốt quá trình thí nghiệm.

Tại các thời điểm ngày 14 và 28, hiệu giá kháng thể ở nghiệm thức NT2 (10⁶ CFU eq/mL) và NT3 (10⁷ CFU eq/mL) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với NT1 và nhóm đối chứng (p < 0,05), tuy nhiên không có sự khác biệt giữa NT2 và NT3. Ngược lại, nghiệm thức NT1 (10⁵ CFU eq/mL) chỉ ghi nhận mức tăng nhẹ và thấp hơn đáng kể so với hai nghiệm thức còn lại.

Dựa trên kết quả này, nồng độ 10⁶ CFU eq/mL được lựa chọn là nồng độ tối ưu để sử dụng trong thí nghiệm xác định tỷ lệ bảo hộ (RPS), do đạt hiệu quả kích thích miễn dịch cao trong khi không cần tăng thêm lượng kháng nguyên.

Kết quả nghiên cứu cho thấy vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *V. alginolyticus* có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch dịch thể ở cá Hồng mỹ,

thể hiện qua sự gia tăng hiệu giá kháng thể sau khi sử dụng vaccine. Điều này phù hợp với các nghiên cứu trước đây cho thấy vaccine bất hoạt có thể kích thích cả miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch đặc hiệu ở cá [19, 21, 22].

Ở cá xương, các globulin miễn dịch chính bao gồm IgM, IgD, IgT/IgZ, trong đó IgT/IgZ đóng vai trò quan trọng trong miễn dịch niêm mạc, đặc biệt khi vaccine được sử dụng qua đường cho ăn [21, 22]. Biểu hiện tăng hiệu giá kháng thể trong nghiên cứu này cho thấy vaccine có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch tại bề mặt niêm mạc đường ruột.

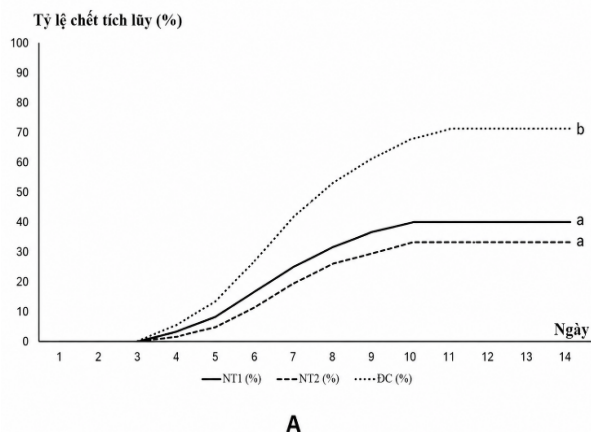
Mức độ đáp ứng miễn dịch dịch thể của cá liên quan đến lượng kháng nguyên được hấp thu và đạt cực đại ở mức nồng độ nhất định, phụ thuộc dạng kháng nguyên đưa vào [21, 22]. Điều này giải thích vì sao vaccine ở nồng độ 10⁶ CFU eq/mL cho mức độ đáp ứng miễn dịch cao hơn liều 10⁵ CFU eq/mL. Tuy nhiên, hiệu giá kháng thể ở nồng độ 10⁶ CFU eq/mL và 10⁷ CFU eq/mL không có sự khác biệt (p > 0,05) cho thấy tồn tại ngưỡng tối ưu về liều kháng nguyên. Do đó, nồng độ 10⁶ CFU eq/mL

được xem là phù hợp cho các thí nghiệm tiếp theo nhằm tối ưu hiệu quả và chi phí sử dụng vaccine.

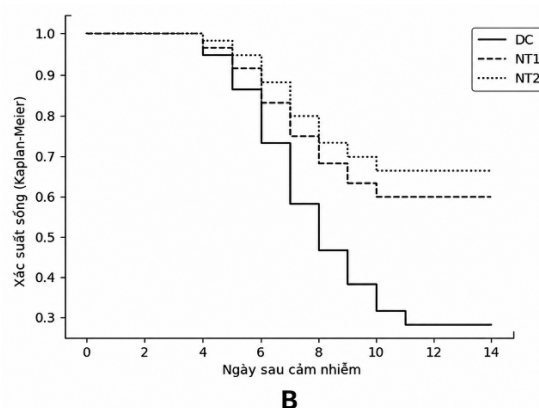
3.3 Hiệu quả bảo hộ của vaccine bất hoạt *V. alginolyticus* trên cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*)

Tỷ lệ sống và hiệu quả bảo hộ (RPS)

Kết quả thử nghiệm cảm nhiễm cho thấy tỷ lệ chết tích lũy của cá ở các nghiệm thức sử dụng



vaccine thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng ($p < 0,05$) (Hình 4). Tỷ lệ chết cao nhất được ghi nhận ở nhóm cá không sử dụng vaccine (71,67%), trong khi giảm xuống còn 40,00% ở nghiệm thức sử dụng vaccine đơn liều (NT1) và 33,33% ở nghiệm thức sử dụng liều nhắc lại (NT2).



Hình 4. Kết quả thử nghiệm khả năng phòng bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) của vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *V. alginolyticus* (A) Tỷ lệ chết tích lũy của cá; (B) Xác suất sống của cá theo mô hình Kaplan – Meier.

Ghi chú: Các chữ cái a, b thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

Tương ứng, tỷ lệ bảo hộ (RPS) của vaccine đạt 44,2% ở nghiệm thức đơn liều và tăng lên 53,5% khi áp dụng liều nhắc lại. Phân tích sống sót theo mô hình Kaplan–Meier cũng cho thấy xác suất sống của cá ở các nghiệm thức sử dụng vaccine cao hơn rõ rệt so với nhóm đối chứng (Hình 4B).

Kết quả này cho thấy vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào *V. alginolyticus* có khả năng giảm đáng kể tỷ lệ chết và cải thiện khả năng sống sót của cá sau khi cảm nhiễm vi khuẩn.

Hiệu quả bảo hộ của vaccine trong nghiên cứu này có thể liên quan đến khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch của vaccine bất hoạt, vốn chứa đầy đủ các thành phần kháng nguyên như lipopolysaccharide (LPS), các protein màng ngoài (Outer Membran Proteins – OMPs) và các thành phần độc lực khác có liên quan. Những thành phần này đóng vai trò quan trọng trong việc kích hoạt hệ

miễn dịch và thúc đẩy quá trình nhận diện, trung hòa và loại bỏ tác nhân gây bệnh [19, 21, 22].

Mặc dù hiệu giá kháng thể trong nghiên cứu này tăng rõ rệt sau khi sử dụng vaccine, tỷ lệ bảo hộ chỉ đạt mức trung bình (44,2–53,5%). Điều này có thể liên quan đến đặc điểm của vaccine sử dụng qua đường ăn, trong đó kháng nguyên có thể bị phân hủy một phần trong quá trình tiêu hóa và khả năng hấp thu qua niêm mạc ruột còn thấp. Đây là hạn chế phổ biến của vaccine đường uống đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu trước đây [18, 20, 21]. Tuy vậy, mức bảo hộ đạt được trong nghiên cứu này nằm trong khoảng thường ghi nhận đối với vaccine bất hoạt sử dụng qua đường ăn (41–66%) [9, 13, 14], đặc biệt khi áp dụng phác đồ có liều nhắc lại và là hướng tiếp cận tiềm năng nhằm giảm thiểu tỷ lệ chết cũng như góp phần hạn chế sử dụng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản.

Biểu hiện bệnh lý, tái phân lập vi khuẩn và mô bệnh học

Để xác nhận nguyên nhân gây chết và đặc điểm tổn thương do vi khuẩn gây ra, các biểu hiện bệnh lý, kết quả tái phân lập và biến đổi mô bệnh học của cá được tiếp tục phân tích

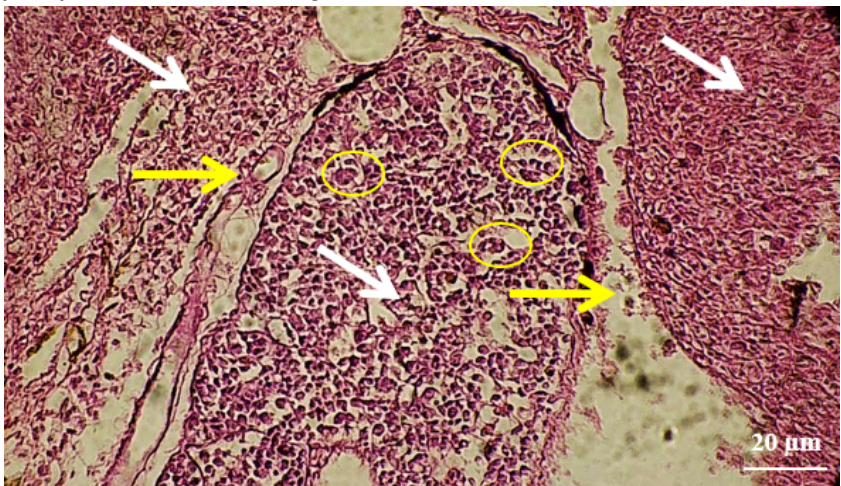
Kết quả tái phân lập vi khuẩn từ các mẫu bệnh phẩm của cá chết hoặc có biểu hiện bệnh lý ghi nhận tỷ lệ hiện diện của *V. alginolyticus* lên tới 90-95% trong tổng số mẫu bệnh phẩm. Kết quả này cho thấy mối liên hệ chặt chẽ giữa tác nhân gây bệnh được cảm nhiễm với các biểu hiện bệnh lý quan sát được.



Hình 5. Biểu hiện bệnh lý bên ngoài của cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) sau khi cảm nhiễm *V. alginolyticus* (VA15)
Ghi chú: Mũi tên màu xanh: cá bị tuột vây; Mũi tên màu vàng: vây mòn và xơ rách; Mũi tên đỏ: gan cá có biểu hiện sưng và xuất huyết

Quán sát hình thái ngoài (Hình 5), ghi nhận cá xuất hiện các dấu hiệu điển hình của bệnh xuất huyết như tuột vây, vây bị mòn và xơ rách, gan cá

có biểu hiện sưng và xuất huyết. Các biểu hiện này phù hợp với những mô tả trước đây về bệnh do vi khuẩn *Vibrio* trên cá biển [4, 5]

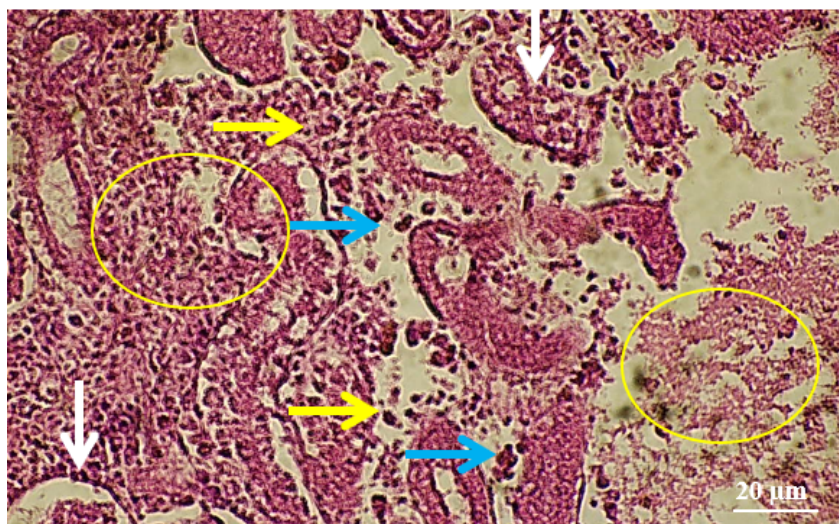


Hình 6. Mô bệnh học gan của cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) sau khi cảm nhiễm *V. alginolyticus* (VA15) (H&E, 40X)

Ghi chú: Mũi tên màu vàng: cấu trúc mô gan bị phá vỡ; mũi tên màu trắng: xuất hiện vùng hoại tử lan tỏa; vòng tròn màu vàng: ghi nhận sự xâm nhiễm của các tế bào viêm

Phân tích mô bệnh học ghi nhận các tổn thương nghiêm trọng ở gan và thận của cá sau khi cảm nhiễm. Ở gan (Hình 6): bề gan bị phá vỡ cấu trúc, xuất hiện hoại tử lan tỏa và sự thâm nhiễm các tế bào viêm một cách rõ rệt. Các tế bào gan mất

ranh giới, nhân bị thoái hóa hoặc tiêu biến, kèm theo hiện tượng giãn xoang mạch và sung huyết. Tổn thương tập trung mạnh tại một số vùng nhưng có xu hướng lan rộng, phản ánh mức độ nhiễm trùng nặng.



Hình 7. Mô bệnh học thận của cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) sau khi cảm nhiễm *V. alginolyticus* (VA15)

Ghi chú: Mũi tên màu trắng: biến dạng cầu thận; mũi tên màu vàng: giãn thoái hóa và bong tróc biểu mô ống thận; mũi tên màu xanh: xung huyết và sự xâm nhiễm tế bào viêm tại mô kẽ; vòng tròn màu vàng: hoại tử lan tỏa

Ở thận cũng ghi nhận những sự biến đổi rõ rệt (Hình 7). Các cầu thận có hiện tượng biến dạng, kích thước không đồng đều, một số cầu thận bị co rút hoặc phá vỡ cấu trúc. Các ống thận ghi nhận hiện tượng thoái hóa và tổn thương biểu mô, với biểu hiện tế bào biểu mô bong tróc vào lòng ống, mất cấu trúc viền rõ ràng. Một số ống thận bị giãn, lòng ống chứa nhiều mảnh vụn tế bào và chất hoại tử. Mô kẽ thận xuất hiện hiện tượng sung huyết và thâm nhiễm tế bào viêm với mật độ cao. Đồng thời, ghi nhận các vùng hoại tử cục bộ, đặc trưng bởi sự mất cấu trúc mô, tế bào bị vỡ và nhân tế bào mờ hoặc tiêu biến.

Các biến đổi mô học này không ghi nhận ở cá khỏe mạnh hoặc cá được sử dụng vaccine và tương đồng với những mô tả trong các nghiên cứu trước đây [4, 23, **Error! Reference source not found.**], qua đó cho thấy tổn thương mô có liên quan trực tiếp đến quá trình nhiễm vi khuẩn. Bên cạnh đó, vi khuẩn *V. alginolyticus* đã được tái phân

lập từ các mẫu cá chết trong thí nghiệm, củng cố thêm bằng chứng về vai trò gây bệnh của tác nhân này.

Kết quả tái phân lập vi khuẩn kết hợp với các dấu hiệu lâm sàng và tổn thương mô bệnh học đã xác nhận rằng: nguyên nhân gây chết của cá trong thí nghiệm chủ yếu do *V. alginolyticus*. Điều này khẳng định độ tin cậy của mô hình cảm nhiễm và là cơ sở quan trọng để đánh giá hiệu quả bảo hộ của vaccine.

Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu trước đây, trong đó vaccine bất hoạt, đặc biệt khi sử dụng phác đồ có liều nhắc lại, có thể cải thiện đáng kể khả năng sống sót của cá sau khi cảm nhiễm [9, 13, 14]. Mặc dù vaccine đường ăn có thể chịu ảnh hưởng bởi quá trình tiêu hóa và khả năng hấp thu kháng nguyên, nhưng vẫn cho thấy hiệu quả rõ rệt trong việc giảm tỷ lệ chết và hạn chế tổn thương do vi khuẩn gây ra [18, 20].

4 Kết luận

Vaccine bất hoạt toàn bộ tế bào vi khuẩn *V. alginolyticus* được chứng minh là an toàn và có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch đối với cá Hồng mỹ (*S. ocellatus*) trong điều kiện thử nghiệm. Khi sử dụng qua đường ăn, vaccine đạt hiệu quả bảo hộ ở mức trung bình, với tỷ lệ RPS đạt 44,2% ở liều đơn và tăng lên 53,5% ở liều nhắc lại.

Kết quả nghiên cứu cho thấy vaccine bất hoạt có tiềm năng ứng dụng trong phòng bệnh xuất huyết trên cá Hồng mỹ, góp phần giảm phụ thuộc vào kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản. Tuy nhiên, hiệu quả bảo hộ của vaccine đường ăn còn bị hạn chế, có thể do sự phân hủy kháng nguyên trong đường tiêu hóa và khả năng hấp thu chưa tối ưu.

Do đó, các nghiên cứu tiếp theo cần tập trung vào việc phát triển các hệ dẫn truyền và bảo vệ kháng nguyên, đặc biệt là ứng dụng công nghệ bao vi nang (encapsulation) nhằm tăng cường tính ổn định của vaccine trong đường tiêu hóa và nâng cao hiệu quả đáp ứng miễn dịch.

Thông tin tài trợ

Nghiên cứu được hỗ trợ tài chính từ Đề tài Nghiên cứu Khoa học của Bộ Giáo dục và Đào tạo Việt Nam, mã số B2024-DHH-07 và Chương trình Nhóm Nghiên cứu tiêu biểu của Đại học Huế, mã số NCTB.ĐHH.2025.08.

Tài liệu tham khảo

1. Ackerly KL, Roark KJ, Nielsen KM. Short-term salinity stress during early development impacts the growth and survival of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Estuar Coast*. 2023;46:541–550.
2. Xiao Y, Liu J, Wei J, Xiao Z, Li J, Aguilar-Perera A, Herrera-Ulloa A. Future climate change accelerates the invasive rhythm of alien marine species: new insights into the invasive potential of the world's aquaculture species red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Ecol Indic*. 2023;155:111069.
3. Chính phủ Việt Nam. Quyết định số 1644/QĐ-TTg ngày 04/10/2021 phê duyệt Đề án phát triển nuôi trồng thủy sản trên biển đến năm 2030, tầm nhìn đến năm 2045. Hà Nội: Chính phủ Việt Nam; 2021.
4. Shafiee NS, Mazlan N, Abd Rahman NN, Shapawi R, Shah MD. Vibriosis in aquaculture: pathogenic *Vibrio* species, affected animals, diagnosis and adverse effects. In: Mohd Faudzi N, Shah MD, Mazlan N, Muhamad Shaleh SR, editors. *Essentials of Aquaculture Practices*. Singapore: Springer Singapore; 2024. p. 113–138.
5. Yen PTH, Linh NQ, Tram NDQ. Identification and determination of toxin genes of *Vibrio* strains causing hemorrhagic disease in red drum (*Sciaenops ocellatus*) using PCR. *AMB Express*. 2021;11:4.
6. Yu Y, Li H, Wang Y, Zhang Z, Liao M, Rong X, Li B, Wang C, Ge J, Zhang X. Antibiotic resistance, virulence and genetic characteristics of *Vibrio alginolyticus* isolates from aquatic environment in coastal mariculture areas in China. *Mar Pollut Bull*. 2022;185:114219.
7. World Health Organization. *Antimicrobial resistance* [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2023 [cited 2026 Apr 7]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
8. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The state of world fisheries and aquaculture 2024: Blue transformation in action* [Internet]. Rome: FAO; 2024 [cited 2026 Apr 7]. Available from: <https://openknowledge.fao.org/items/8ab20ccf-1e9d-4ae6-836c-ca770d16da01>
9. Rathor GS, Swain B. Advancements in fish vaccination: current innovations and future

- horizons in aquaculture health management. Appl Sci. 2024;14(13):5672.
10. Quang NN, Linh NTH, Anh NDQ, Hồng NTX, Hoa TT, Phước NN. Nghiên cứu khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn *Vibrio* phân lập từ cá biển nuôi lồng bị bệnh xuất huyết tại vùng ven biển thành phố Huế. Tạp chí Khoa học Đại học Huế: Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn. 2025;134(3B):23–37.
 11. Quang NN, Anh NDQ, Linh NTH, Venturini C, Samsing F, Phuoc NN. Virulence traits and gene profiles of *Vibrio alginolyticus* from farmed red drum in Vietnam. Biodiversitas. 2026;27(1):11.
 12. Quang NN, Anh NDQ, Linh NTH, Venturini C, Samsing F, Phuoc NN. Antimicrobial resistance genes and salt-dependent antibiotic susceptibility in *Vibrio alginolyticus* isolated from diseased *Sciaenops ocellatus* (Linnaeus, 1766) in Vietnam. Aquac Cult Conserv Legis. 2026;19(2):526–538.
 13. Bashir S, Phuoc NN, Herath S. An oral pH-responsive *Streptococcus agalactiae* vaccine formulation provides protective immunity to pathogen challenge in tilapia: a proof-of-concept study. PLoS One. 2023;18(3):e0278277.
 14. Abu Nor N, Zamri-Saad M, Md Yasin IS, Salleh A, Mustaffa-Kamal F, Matori MF, Azmai MNA. Efficacy of whole cell inactivated *Vibrio harveyi* vaccine against vibriosis in a marine red hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*) model. Vaccines (Basel). 2020;8(4):734.
 15. Hardi EH, Nugroho RA, Isnansetyo A, Agriandini M, Kusuma IW, Sidik AS. Simultaneous administration of *Boesenbergia pandurata* extract and vaccination to stimulate immune response in tilapia, *Oreochromis niloticus*. Pak J Biol Sci. 2019;22(9):419–426.
 16. Bisai K, Roy A, Pati MK, Das BK. Histological techniques in fish disease diagnosis. In: Das BK, Kumar V, editors. *Laboratory Techniques for Fish Disease Diagnosis*. Singapore: Springer Singapore; 2025. p. 359–374.
 17. Erfanmanesh A, Beikzadeh B, Khanzadeh M. Efficacy of polyvalent vaccine on immune response and disease resistance against streptococcosis/lactococcosis and yersiniosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Vet Res Commun. 2023;47(3):1347–1355.
 18. Meng-Han C. Fish oral vaccine and mucosal immunity. Aquac Int. 2024;32(2):1335–1348.
 19. Mokhtar DM, Zaccane G, Alesci A, Kuciel M, Hussein MT, Sayed RKA. Main components of fish immunity: an overview of the fish immune system. Fishes. 2023;8(2):93.
 20. Hopo MG, Mabrok M, Abu-Elala N, Yu Y. Navigating fish immunity: focus on mucosal immunity and the evolving landscape of mucosal vaccines. Biology (Basel). 2024;13(12):980.
 21. Yu Y, Wang Q, Huang Z, Ding L, Xu Z. Immunoglobulins, mucosal immunity and vaccination in teleost fish. Front Immunol. 2020;11:567941.
 22. Salinas I, Fernández-Montero Á, Ding Y, Sunyer JO. Mucosal immunoglobulins of teleost fish: a decade of advances. Dev Comp Immunol. 2021;121:104079.
 23. Guo M, Sun R, Wu Z, Li A, Wang Q, Zhao Z, Liu H, Wang B, Xiao K, Shi Z, Ji W. A comparative study on the immune response in the head and trunk kidney of yellow catfish infected with *Edwardsiella ictaluri*. Fish Shellfish Immunol. 2024;154:109895.
 24. Abdelsalam M, Attia MM, Marzouk MS, Korany RMS, Elgendy MY, Soliman AW, Prince A, Hamada AH. Investigating dynamics, etiology, pathology, and therapeutic interventions of *Caligus clemensi* and *Vibrio alginolyticus* co-infection in farmed marine fish. Sci Rep. 2024;14(1):20704.