Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ
Số chuyên đề: Khoa học tự nhiên Đồng bằng sông Cửu Long
ISSN 1859-2333 | e-ISSN 2815-5599

DOI:10.22144/ctujos.2026.206

ĐẶC TÍNH ENZYME, KHÁNG KHÁNG SINH VÀ HÌNH THÀNH MÀNG SINH HỌC CỦA *Aeromonas* spp. PHÂN LẬP TỪ CÁ CHÉP (*Cyprinus* sp.) TẠI TRẠI GIỐNG

Võ Thu Hương[1], Huỳnh Anh[1], Trần Thị Ngọc Ánh[1], Phạm Yến Nhi[1], Huỳnh Ngọc Thanh Tâm[2] và Trần Hữu Hậu[2,*]

[1]*Sinh viên ngành Công nghệ Sinh học Khóa 49, Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ, Việt Nam*

[2]*Viện Công nghệ Sinh học và Thực phẩm, Đại học Cần Thơ, Việt Nam*

**Tác giả liên hệ (Corresponding author): thhau@ctu.edu.vn*

Thông tin chung (Article Information)

Nhận bài (Received): 09/06/2026
Sửa bài (Revised): 01/07/2026
Duyệt đăng (Accepted): 26/08/2026

Title: *Enzymatic characteristics, antibiotic resistance, and biofilm-forming ability of Aeromonas spp. isolated from common carp (Cyprinus sp.) in hatcheries*

Author(s): *Vo Thu Huong[1], Huynh Anh[1], Tran Thị Ngoc Anh[1], Pham Yen Nhi[1], Huynh Ngoc Thanh Tam[2] and Tran Huu Hau[2,*]*

Affiliation(s): *[1]Student in Biotechnology (Course 49), Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Viet Nam; [2]Institute of Food and Biotechnology, Can Tho University, Viet Nam*

TÓM TẮT

Vi khuẩn Aeromonas được biết đến là một trong những tác nhân gây bệnh phổ biến ở cá nước ngọt. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm phân lập các dòng Aeromonas và đánh giá một số đặc điểm liên quan đến độc lực, bao gồm khả năng sản xuất enzyme ngoại bào, hoạt tính tan huyết và mức độ nhạy cảm với kháng sinh. Kết quả nghiên cứu đã xác định được 5 dòng vi khuẩn thuộc chi Aeromonas. Tất cả các dòng đều có khả năng phân giải protein, gelatin và hình thành màng sinh học, 4/5 dòng có khả năng phân giải lipid và gây tan huyết. Các dòng vi khuẩn kháng ít nhất 4/16 loại kháng sinh khảo sát; trong đó, dòng CFH17db.2 có mức độ đa kháng cao nhất với 10/16 loại kháng sinh (MAR = 0,63). Các dòng vi khuẩn kháng lại hai nhóm kháng sinh aminoglycosides và carbapenems. Tỷ lệ kháng cao được ghi nhận đối với imipenem, meropenem, amikacin, gentamicin và piperacillin/tazobactam, trong khi đa số dòng vi khuẩn vẫn còn nhạy cảm với cefepime, cefotaxime, ceftazidime, tetracycline. Bên cạnh đó, kết quả nghiên cứu cho thấy các dòng Aeromonas phân lập từ cá chép bệnh mang nhiều đặc tính liên quan đến đa kháng kháng sinh, tiềm ẩn nguy cơ đối với nuôi trồng thủy sản.

Từ khóa: *Aeromonas, hình thành màng sinh học, kháng kháng sinh, tan huyết*

ABSTRACT

Aeromonas bacteria are recognized as one of the most common pathogens affecting freshwater fish. This study was conducted to isolate Aeromonas strains and evaluate several virulence-related characteristics, including extracellular enzyme production, hemolytic activity, and antibiotic susceptibility. Five Aeromonas strains were identified. All isolates exhibited proteolytic and gelatinolytic activities and biofilm formation, while 4/5 strains showed lipolytic and hemolytic activities. The isolates were resistant to at least 4 of the 16 antibiotics tested; notably, CFH17db.2 showed the highest multidrug resistance, being resistant to 10/16 antibiotics (MAR = 0.63). Resistance was observed against two antibiotic classes, aminoglycosides and carbapenems. High resistance rates were recorded for imipenem, meropenem, amikacin, gentamicin, and piperacillin/tazobactam, whereas most isolates remained susceptible to cefepime, cefotaxime, ceftazidime, and tetracycline. The findings indicate that Aeromonas strains isolated from diseased carp possess multidrug resistance, posing a potential risk to aquaculture.

Keywords: *Aeromonas, antibiotic resistance, biofilm formation, hemolysis*

1. GIỚI THIỆU

Việc sử dụng kháng sinh trong điều trị các bệnh do vi khuẩn gây ra hiện nay khá phổ biến và đã mang lại nhiều hiệu quả tích cực trong nuôi trồng thủy sản. Kháng sinh được xem là giải pháp nhanh chóng giúp kiểm soát sự lây lan của mầm bệnh, giảm tỷ lệ chết và duy trì năng suất nuôi. Một số loại kháng sinh như oxytetracycline đã được sử dụng hiệu quả trong điều trị bệnh do *Aeromonas* spp. trên cá nuôi (Roy et al., 2025). Nghiên cứu của Doan et al. (2018) cho thấy *Aeromonas schubertii* gây bệnh đốm trắng nội tạng trên cá lóc (*Channa striata*) vẫn còn nhạy cảm với một số kháng sinh, trong đó doxycycline cho hiệu quả cao nhất với tỷ lệ nhạy cảm 83,33%, tiếp theo là colistin (79,17%) và ceftazidime (58,33%). Điều này cho thấy các kháng sinh này có thể được sử dụng hiệu quả trong điều trị bệnh do *A. schubertii* gây ra. Tuy nhiên, việc sử dụng không hợp lý hoặc lạm dụng kháng sinh đã làm gia tăng đáng kể tình trạng kháng kháng sinh ở các vi khuẩn gây bệnh trên động vật thủy sản. Nghiên cứu của Quach et al. (2023) đã ghi nhận các dòng *A. hydrophila* gây bệnh xuất huyết trên cá tra nuôi thâm canh tại Đồng bằng sông Cửu Long có mức độ kháng cao đối với nhiều loại kháng sinh thông dụng, bao gồm ampicillin, cefalexin, tetracycline, florfenicol, amoxicillin, chloramphenicol, trimethoprim-sulfamethoxazole, neomycin và gentamicin. Tương tự, Tu et al. (2025) cho thấy các dòng *A. hydrophila* phân lập từ cá thát lát còm (*Chitala chitala*) tại Đồng bằng sông Cửu Long kháng mạnh với ampicillin (100%), cefazolin (85%), streptomycin (80%) và colistin (80%). Những kết quả này cho thấy tình trạng kháng đa kháng sinh đang ngày càng phổ biến và có thể làm giảm hiệu quả điều trị.

Cá chép (*Cyprinus* sp.) được nuôi phổ biến trong các hệ thống nuôi ao, ruộng lúa. Mặc dù có khả năng thích nghi tốt với nhiều điều kiện môi trường khác nhau nhưng cá chép vẫn thường xuyên đối mặt với các bệnh do vi khuẩn gây ra, trong đó có *Aeromonas* spp. Đặc biệt là *A. hydrophila*, được xem là tác nhân gây bệnh nhiễm khuẩn huyết và gây thiệt hại đáng kể cho nghề nuôi cá nước ngọt (Zhao et al., 2019; Abdella et al., 2024). Khả năng gây bệnh của *Aeromonas* liên quan chặt chẽ đến việc sản sinh các yếu tố độc lực, trong đó các enzyme ngoại bào như protease, gelatinase, lipase và hemolysin đóng vai trò quan trọng. Những enzyme này tham gia vào quá trình phân hủy mô vật chủ, thu nhận dinh dưỡng và hỗ trợ vi khuẩn xâm nhập, lan rộng trong cơ thể vật chủ (Assis et al., 2020; Mekasha & Linke, 2021). Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận enzyme ngoại bào là các yếu tố độc lực phổ biến ở *A. hydrophila* và có vai trò quan trọng trong cơ chế gây bệnh trên động vật thủy sản (Majeed et al., 2023; Semwal et al., 2023; Abdella et al., 2024). Bên cạnh đó, khả năng hình thành màng sinh học (biofilm) cũng được xem là một yếu tố quan trọng giúp *Aeromonas* tăng cường khả năng bám dính (Ormanci & Yucel, 2017; Dias et al., 2018). Màng sinh học giúp vi khuẩn bám dính trên các bề mặt sinh học và phi sinh học, tăng khả năng tồn tại trong điều kiện môi trường bất lợi, đồng thời làm giảm hiệu quả của các tác nhân kháng khuẩn và đáp ứng miễn dịch của vật chủ (Wang et al., 2023). Do đó, việc đánh giá đặc tính enzyme ngoại bào, khả năng kháng kháng sinh và hình thành màng sinh học của các dòng *Aeromonas* phân lập từ cá chép có ý nghĩa quan trọng trong việc xác định mức độ nguy hiểm của tác nhân gây bệnh và đề xuất các biện pháp kiểm soát phù hợp.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Thu mẫu

Mẫu cá chép có dấu hiệu bệnh hoặc chết, với các biểu hiện bên ngoài như đứt vây đuôi và tróc vảy (Hình 1), được thu tại các trại giống trên địa bàn Cần Thơ. Sau khi thu, mẫu được cho vào túi ni lông vô trùng, bảo quản trong thùng lạnh ở 2 – 8°C, vận chuyển về phòng thí nghiệm và xử lý trong vòng 24 giờ.



Hình 1. Mẫu cá chép tại trại giống

Ghi chú: (A) hiện tượng cá chết tại trại cá giống, (B,C) cá có biểu hiện bị đứt vây đuôi và tróc vảy.

2.2. Phân lập vi khuẩn

Cá chép được khử trùng bề mặt bằng cồn 70% (v/v). Tăm bông vô trùng được dùng để phết lên bề mặt vết loét trên da rồi cấy vào môi trường Trypticase Soy Agar (TSA, Himedia, Ấn Độ). Sau đó, panh và kéo vô trùng được sử dụng để mổ lấy mẫu gan và dịch ổ bụng. Mẫu gan được lấy bằng que cấy và cấy ria trực tiếp lên môi trường TSA. Mẫu dịch ổ bụng được hút bằng micropipette, nhỏ lên bề mặt môi trường TSA và trải đều bằng que trải. Đĩa sau khi cấy được ủ ở 28°C trong 24 giờ (Erickson et al., 2023).

2.3. Nhận diện vi khuẩn *Aeromonas*

Hình thái khuẩn lạc của các dòng vi khuẩn trên môi trường TSA sau 24 giờ nuôi cấy được quan sát dưới kính hiển vi soi nổi (A.KRÜSS Optronic GmbH, Đức).

Xác định các đặc điểm sinh hóa: Các dòng vi khuẩn phân lập được sàng lọc dựa trên các đặc điểm Gram âm, catalase dương tính và oxidase dương tính. Đây là những đặc điểm điển hình của *Aeromonas* spp. (Tu et al., 2019; Kerigano et al., 2023). Các dòng này tiếp tục được kiểm tra khả năng di động, sinh khí H_2S, phân giải gelatin, protein và lipid, hoạt tính tan huyết (haemolysis) và khả năng lên men glucose, sucrose và mannitol.

Nhận diện bằng kỹ thuật sinh học phân tử: Các dòng vi khuẩn có đặc điểm sinh hóa phù hợp với chi *Aeromonas* được xác định bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi đặc hiệu aerf (5'-CTACTTTTGCC GGCGAGCGG-3') và aerr (5'-TGATTCCCGAAG GCACTCCC-3'). Sản phẩm khuếch đại có kích thước 953 bp được xác định thuộc chi *Aeromonas* (Lee et al., 2002; Eid et al., 2022; Thaotumpitak et al., 2023).

2.4. Đánh giá mức độ nhạy cảm với kháng sinh

Mức độ nhạy cảm với kháng sinh của các dòng *Aeromonas* spp. được xác định bằng phương pháp khuếch tán qua đĩa giấy đối với 16 loại kháng sinh theo mô tả của Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2016). Các loại kháng sinh gồm piperacillin-tazobactam (Pt), cefepime (Cm), cefotaxime (Ct), cefoxitin (Cn), ceftazidime (Cz), ceftriaxone (Cx), ertapenem (En), imipenem (Im), meropenem (Me), amikacin (Ak), gentamicin (Ge), tetracycline (Te), ciprofloxacin (Ci), levofloxacin (Lv), sulfamethoxazole-trimethoprim (Bt) và chloramphenicol (Cl) (Nam Khoa, Việt Nam).

Các dòng vi khuẩn được nuôi tăng sinh trong môi trường Mueller–Hinton Broth (MHB, Himedia, Ấn Độ) đến giá trị OD_{600} = 0,5 và trải đều trên bề mặt môi trường Mueller–Hinton Agar (MHA, Himedia, Ấn Độ). Các đĩa kháng sinh được đặt lên bề mặt thạch và ủ ở 35°C trong 18 – 24 giờ. Sau thời gian ủ, đường kính vòng vô khuẩn được đo và kết quả được phân loại thành nhạy (S), trung gian (I) hoặc kháng (R) theo hướng dẫn của CLSI (2016). Chỉ số đa kháng kháng sinh (Multiple Antibiotic Resistance Index, MAR) được tính theo công thức MAR = A/B, trong đó A là số loại kháng sinh mà dòng vi khuẩn kháng và B là tổng số kháng sinh được khảo sát (Ahmat et al., 2024).

2.5. Đánh giá khả năng tạo màng sinh học

Khả năng hình thành màng sinh học của các dòng vi khuẩn được xác định bằng phương pháp nhuộm crystal violet theo mô tả của Nirmala et al. (2024) và Abdel-Fatah et al. (2024), được hiệu chỉnh phù hợp với điều kiện nghiên cứu. Vi khuẩn được tăng sinh trong môi trường TSB và được ủ lắc ở tốc độ 120 rpm trong 24 giờ. Sau đó, huyền phù vi khuẩn được điều chỉnh đến giá trị OD_{600} = 0,5. Tiếp theo, 100 µL huyền phù vi khuẩn được bổ sung vào ống Eppendorf chứa 1 mL môi trường TSB bổ sung 1% glucose và được ủ tĩnh trong 48 giờ để hình thành màng sinh học. Sau thời gian ủ, dịch nuôi cấy được loại bỏ và các ống được nhuộm bằng 1 mL dung dịch crystal violet 0,1% trong 20 phút ở nhiệt độ phòng. Loại bỏ thuốc nhuộm và rửa Eppendorf bằng nước RO cho đến khi nước rửa không còn màu thuốc nhuộm. Màng sinh học bám trên bề mặt Eppendorf được hòa tan bằng ethanol 95%.

Xác định mức độ hình thành màng sinh học theo mô tả của Stepanović et al. (2007). Giá trị OD ngưỡng (ODc) được xác định theo công thức: ODc = OD đối chứng âm + 3SD. Dựa trên giá trị OD thu được, các dòng vi khuẩn được phân loại thành bốn mức độ: không tạo màng sinh học (OD ≤ ODc), tạo màng sinh học yếu (ODc < OD ≤ 2×ODc), tạo màng sinh học trung bình (2×ODc < OD ≤ 4×ODc) và tạo màng sinh học mạnh (OD > 4×ODc).

2.6. Định danh dòng vi khuẩn kháng kháng sinh

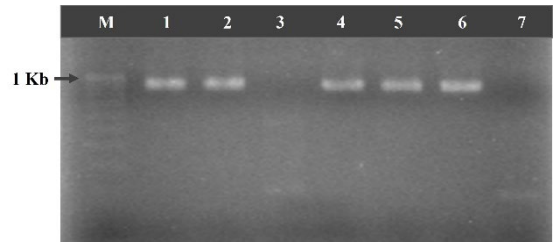
Dòng vi khuẩn kháng nhiều loại kháng sinh được lựa chọn để định danh đến mức độ loài bằng kỹ thuật sinh học phân tử. Vùng gen 16S rRNA được khuếch đại bằng phản ứng PCR sử dụng cặp mồi 27F (5′-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3′) và 1492R (5′-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3′) (Park et al., 2021). Sản phẩm PCR được giải trình tự và kiểm tra chất lượng bằng phần mềm BioEdit v7.2.5

(Hall, 1999). Trình tự được so sánh với các trình tự tương đồng trong cơ sở dữ liệu GenBank bằng công cụ BLASTn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập và nhận diện vi khuẩn *Aeromonas*

Mười mẫu cá chép thu tại các cơ sở sản xuất giống có hiện tượng cá chết với tỷ lệ trên 10% mỗi ngày. Sáu dòng vi khuẩn phân lập được có khuẩn lạc màu trắng kem, hình tròn, bìa nguyên và nhô cao. Đồng thời, các dòng này đều cho phản ứng Gram âm, oxidase dương tính và catalase dương tính (Bảng 1). Các đặc điểm này phù hợp với đặc trưng của vi khuẩn thuộc chi *Aeromonas* (Tu et al., 2019; Kerigano et al., 2023). Tuy nhiên, việc phân tích PCR với cặp mồi đặc hiệu chỉ ghi nhận 5/6 (CFH3db.1, CFH8db.2, CFH15db.4, CFH17db.2, CFH17db.3) dòng vi khuẩn thuộc chi *Aeromonas* với kích thước băng khoảng 953 bp (Hình 2). Một số loài vi khuẩn phân lập từ môi trường nước ngọt, như *Plesiomonas shigelloides* và *Chryseobacterium balustinum*, cũng có các đặc điểm hình thái và sinh hóa tương tự, bao gồm Gram âm, oxidase dương tính và catalase dương tính (Mallik et al., 2023; Qian et al., 2023). Vì vậy, việc định danh vi khuẩn cần được thực hiện trên cơ sở kết hợp dữ liệu sinh học phân tử với các đặc điểm hình thái và sinh hóa nhằm đảm bảo tính chính xác và độ tin cậy.



Hình 2. Kết quả xác định *Aeromonas* bằng PCR khuếch đại gen 16S rRNA

Ghi chú: (M) thang chuẩn DNA 100 bp (100 bp DNA Ladder, Bioline), (1) CFH3db.1, (2) CFH8db.2, (3) CFH14db.2, (4) CFH15db.4, (5) CFH17db.2, (6) CFH17db.3, (7) đối chứng âm (phản ứng PCR không bổ sung DNA khuôn).

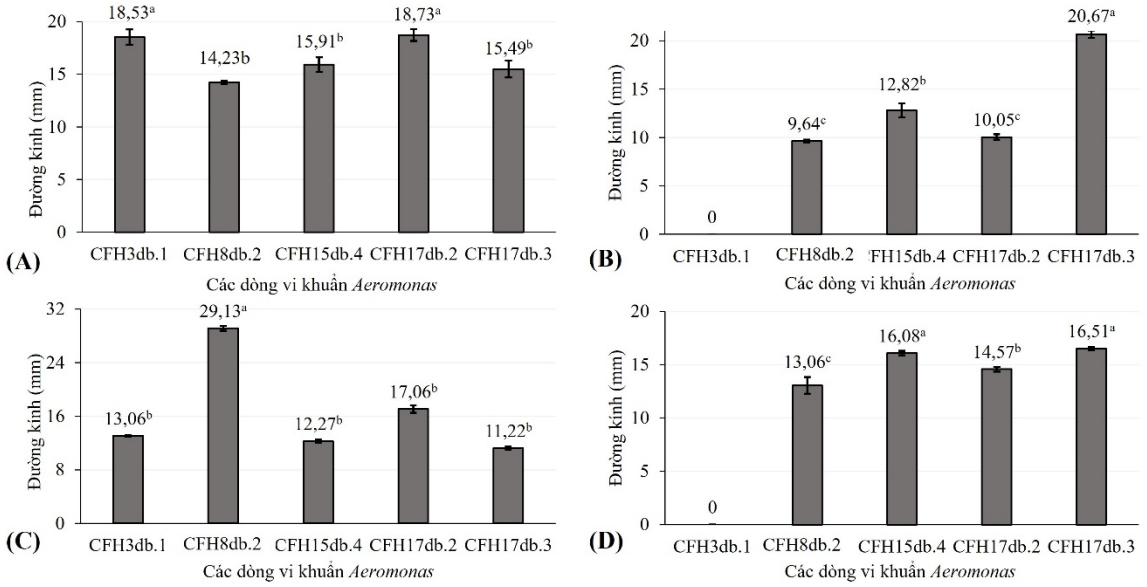
Bảng 1. Đặc điểm của các dòng vi khuẩn phân lập

Vi khuẩn	Khuẩn lạc*			Tế bào		Sinh hóa							
	Màu sắc	Hình dạng	Bìa	Độ nổi	Hình dạng	1	2	3	4	5	6	7	8
CFH3db.1	Trắng kem	Tròn	Gợn sóng	Nhô	Que ngắn	-	+	+	+	-	+	+	+
CFH8db.2	Trắng kem	Tròn	Đều	Nhô	Que ngắn	-	+	+	+	-	+	+	+
CFH14db.2	Trắng kem	Tròn	Đều	Nhô	Que ngắn	-	+	+	+	-	+	+	+
CFH15db.4	Trắng kem	Tròn	Đều	Nhô	Que ngắn	-	+	+	+	-	+	+	+
CFH17db.2	Trắng kem	Tròn	Đều	Nhô	Que ngắn	-	+	+	+	-	+	+	+
CFH17db.3	Trắng kem	Tròn	Đều	Nhô	Que ngắn	-	+	+	+	-	+	+	-

Ghi chú: (*) Hình thái khuẩn lạc được ghi nhận trên môi trường TSA sau 24 giờ nuôi cấy ở 37°C. Hình thái tế bào được quan sát dưới kính hiển vi quang học sau 24 giờ nuôi cấy trong môi trường TSB. (1) Gram, (2) khả năng di động, (3) oxidase, (4) catalase, (5) sinh khí H_2S, (6) lên men glucose, (7) sucrose, (8) mannitol, (+) dương tính, (-) âm tính.

3.2. Hoạt tính enzyme ngoại bào

Tất cả các dòng đều có khả năng phân giải protein và gelatin với đường kính vòng phân giải lần lượt dao động từ 14,23 đến 18,73 mm và từ 11,22 đến 29,13 mm. Bên cạnh đó, 4/5 dòng có khả năng phân giải lipid và có hoạt tính tan huyết. Đáng chú ý, dòng CFH17db.3 thể hiện hoạt tính phân giải lipid mạnh nhất (20,67 mm) và hoạt tính tan huyết cao nhất (16,51 mm), trong khi CFH8db.2 cho khả năng phân giải gelatin mạnh nhất (29,13 mm). Tuy nhiên, dòng vi khuẩn CFH3db.1 không thể hiện hoạt tính phân giải lipid và tan huyết. Đặc điểm này cũng đã được ghi nhận ở *A. caviae* và *A. media*, hai loài thường có hoạt tính lipase và khả năng tan huyết yếu hoặc không biểu hiện (Abbott et al., 2003; Janda & Abbott, 2010). Các đặc tính như sinh enzyme ngoại bào (protease, lipase, gelatinase) và hoạt tính tan huyết được xem là những yếu tố độc lực quan trọng, góp phần vào quá trình xâm nhiễm, phá hủy mô vật chủ và gây bệnh ở cá (Assis et al., 2020; Mekasha & Linke, 2021). Một số loài thuộc chi *Aeromonas* có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như hemolysin, protease và gelatin, góp phần phân giải mô, phá hủy tế bào máu và gây bệnh trên cá (Janda, 1985; Santos et al., 1988; Rodriguez et al., 1992). Ngoài ra, khả năng gây tan huyết và gen độc lực đã được ghi nhận ở các dòng *Aeromonas* gây bệnh trên thủy sản (Heuzenroeder et al., 1999).



Hình 3. Hoạt tính enzyme ngoại bào

Ghi chú: (A) protein, (B) lipid, (C) gelatin, (D) hemolysis. Các giá trị trong cùng một biểu đồ có cùng chữ cái phía sau không khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức p > 0,05.

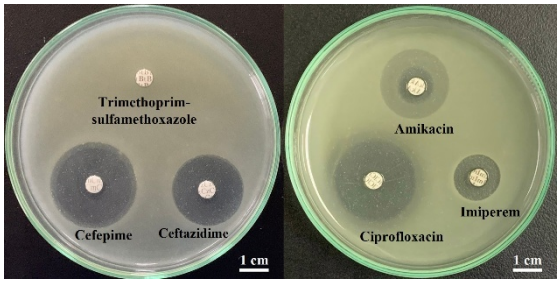
3.3. Mức độ nhạy cảm với kháng sinh

Tất cả các dòng vi khuẩn khảo sát đều có khả năng kháng kháng sinh thể hiện qua đường kính vòng vô khuẩn ở những mức độ khác nhau (Bảng 2, Hình 4). Trong đó, dòng vi khuẩn CFH17db.2 có khả năng kháng kháng sinh mạnh nhất với 10/16 loại kháng sinh (Pt, Cn, Cx, En, Im, Me, Ge, Ak, Ci, Cl). Trong khi đó, dòng CFH3db.1 và CFH8db.2 vẫn còn nhạy cảm với nhiều loại kháng sinh, chỉ có khả năng kháng 4/16 loại kháng sinh.

Kết quả phân tích theo nhóm kháng sinh (Hình 5) cho thấy các dòng vi khuẩn kháng hoàn toàn với nhóm aminoglycoside, đồng thời ghi nhận tỷ lệ kháng cao đối với nhóm penicillin, β-lactam/β-lactamase inhibitor combination và carbapenem (trên 70%). Trong khi đó, các kháng sinh thuộc nhóm cephem vẫn duy trì hiệu quả ức chế đối với phần lớn các dòng vi khuẩn khảo sát.

Chỉ số đa kháng kháng sinh (MAR) là chỉ tiêu đánh giá mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn. Giá trị MAR > 0,2 được xem là ngưỡng chỉ thị cho nguồn có nguy cơ ô nhiễm kháng sinh cao trong thực phẩm thủy sản (Hu et al., 2020; Nhinh et al., 2021; Nokhwal et al., 2025). Trong nghiên cứu này, chỉ số MAR của các dòng vi khuẩn phân lập dao động từ 0,25 đến 0,63, trong đó dòng CFH17db.2 có giá trị cao nhất (0,63). Kết quả này cho thấy các dòng vi khuẩn khảo sát đều có nguồn gốc từ môi trường chịu áp lực chọn lọc kháng sinh đáng kể.

Mặc dù việc sử dụng kháng sinh trong nuôi trồng thủy sản hiện nay đã được kiểm soát và hạn chế hơn trước nhưng tình trạng vi khuẩn kháng kháng sinh vẫn tiếp tục là một thách thức lớn đối với ngành. Kết quả nhiều nghiên cứu đã ghi nhận sự hiện diện phổ biến của các vi khuẩn đa kháng kháng sinh trong môi trường nuôi thủy sản tại thành phố Cần Thơ cũng như nhiều khu vực khác ở Việt Nam (Tran et al., 2026). Tương tự, kết quả nghiên cứu này đã phát hiện các dòng *Aeromonas* phân lập từ các trại cá giống có khả năng kháng nhiều loại kháng sinh khác nhau, trong đó có dòng kháng tới 10/16 loại kháng sinh được khảo sát theo tiêu chuẩn của CLSI. Kết quả này cho thấy nguy cơ lan truyền các dòng vi khuẩn đa kháng kháng sinh trong hệ thống sản xuất giống thủy sản và nhấn mạnh sự cần thiết của các giải pháp kiểm soát thay thế nhằm giảm sự phụ thuộc vào kháng sinh.

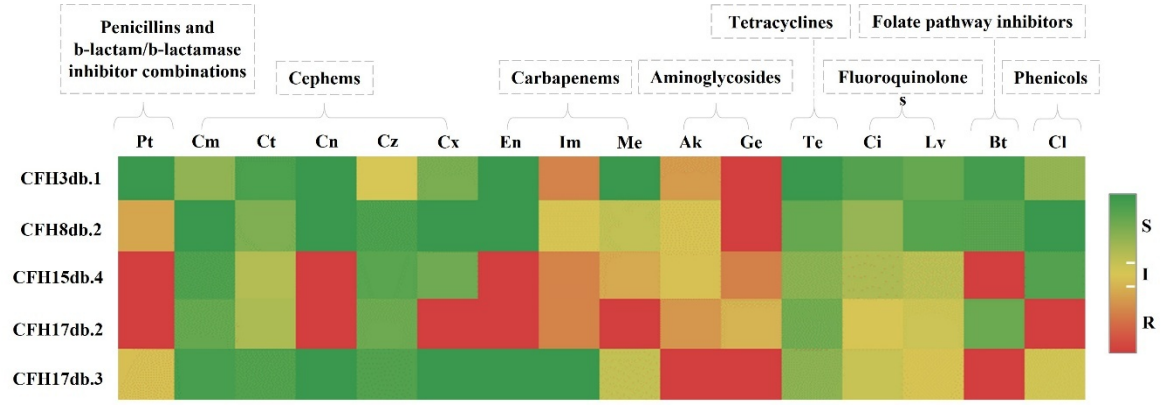


Hình 4. Đường kính vòng vô khuẩn của các kháng sinh

Bảng 2. Đường kính vòng vô khuẩn (mm) và chỉ số đa kháng kháng sinh (MAR)

Kháng sinh	CFH3db.1	CFH8db.2	CFH15db.4	CFH17db.2	CFH17db.3
Piperacillin/tazobactam 100/10 µg (Pt)	53,00±0,00^{S}	11,30±0,29^{R}	0,00±0,00^{R}	0,00±0,00^{R}	14,00±0,00^{R}
Cefepime 30 µg (Cm)	23,30±0,90^{I}	32,80±1,15^{S}	29,30±1,75^{S}	27,20±0,29^{S}	30,30±0,58^{S}
Cefotaxime 30 µg (Ct)	37,20±0,29^{S}	31,20±0,29^{S}	25,30±0,76^{I}	26,00±0,00^{S}	36,30±0,58^{S}
Cefoxitin 30 µg (Cn)	35,30±1,04^{S}	32,70±0,29^{S}	0,00±0,00^{R}	0,00±0,00^{R}	33,70±0,58^{S}
Ceftazidime 30 µg (Cz)	15,20±0,29^{R}	27,80±0,76^{S}	26,60±1,51^{S}	24,90±0,38^{S}	27,30±1,09^{S}
Ceftriaxone 30 µg (Cx)	27,00±0,00^{S}	41,30±0,29^{S}	28,00±0,00^{S}	0,00±0,00^{R}	43,00±0,50^{S}
Ertapenem 10 µg (En)	31,20±0,76^{S}	25,00±0,00^{S}	0,00±0,00^{R}	0,00±0,00^{R}	29,30±0,58^{S}
Imipenem 10 µg (Im)	9,00±0,00^{R}	16,80±0,29^{R}	9,00±0,00^{R}	8,80±0,29^{R}	23,50±0,50^{S}
Meropenem 10 µg (Me)	42,00±0,00^{S}	20,00±0,00^{I}	13,30±0,58^{R}	0,00±0,00^{R}	19,70±0,58^{I}
Amikacin 30 µg (Ak)	9,50±0,50^{R}	13,50±0,50^{R}	14,30±0,58^{I}	9,00±0,00^{R}	0,00±0,00^{R}
Gentamicin 10 µg (Ge)	0,00±0,00^{R}	0,00±0,00^{R}	12,00±0,00^{R}	10,20±0,29^{R}	0,00±0,00^{R}
Tetracycline 30 µg (Te)	18,70±0,58^{S}	15,30±0,29^{S}	13,40±0,52^{I}	14,70±0,58^{I}	13,30±0,58^{I}
Ciprofloxacin 5 µg (Ci)	23,50±0,50^{S}	18,50±5,29^{I}	16,80±0,66^{I}	12,90±0,38^{R}	14,60±0,14^{R}
Levofloxacin 5 µg (Lv)	22,10±0,52^{S}	23,30±1,26^{S}	15,80±1,04^{I}	14,20±0,76^{I}	12,70±0,58^{R}
Chloramphenicol 30 µg (Cl)	17,30±0,58^{I}	27,80±0,29^{S}	21,70±0,58^{S}	0,00±0,00^{R}	12,70±0,58^{I}
Sulfamethoxazole/ Trimethoprim 23,75/1,25 µg (Bt)	19,20±1,04^{S}	17,80±0,29^{S}	0,00±0,00^{R}	16,70±0,29^{S}	0,00±0,00^{R}
Chỉ số đa kháng kháng sinh (MAR)	0,25	0,25	0,44	0,63	0,44

Ghi chú: Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình của 3 lần lặp lại ± độ lệch chuẩn (mean ± SD). (S) nhạy cảm (Susceptible), (I) trung gian (Intermediate) và (R) kháng (Resistant). Giá trị bằng 0 cho thấy kháng sinh không tạo được vùng ức chế sự phát triển của vi khuẩn, phản ánh khả năng kháng hoàn toàn đối với kháng sinh đó.



Hình 5. Mức độ nhạy cảm với kháng sinh của các dòng vi khuẩn *Aeromonas*

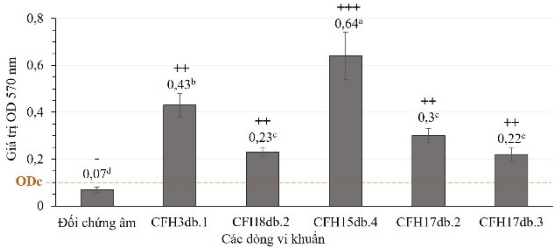
3.4. Khả năng hình thành màng sinh học

Khả năng hình thành màng sinh học của năm dòng vi khuẩn phân lập được đánh giá thông qua giá trị mật độ quang học tại bước sóng 600 nm (OD_{600}), dao động từ 0,22 đến 0,64 (Hình 6). Tất cả các giá trị OD_{600} đều cao hơn giá trị ODc, cho thấy cả năm dòng đều có khả năng hình thành màng sinh học. Trong đó, phần lớn các dòng được xếp vào nhóm có khả năng hình thành màng sinh học ở mức trung bình (++), gồm CFH3db.1, CFH8db.2, CFH17db.2 và CFH17db.3. Riêng dòng CFH15db.4 thể hiện khả năng hình thành màng sinh học mạnh (+++), với giá trị OD_{600} đạt 0,64, cao gấp khoảng sáu lần giá trị ODc.

Khi đối chiếu với chỉ số đa kháng kháng sinh (MAR), kết quả cho thấy khả năng hình thành màng sinh học có xu hướng liên quan đến mức độ kháng kháng sinh, tuy nhiên, mối quan hệ này không hoàn toàn tuyến tính. Cụ thể, dòng CFH15db.4 có khả năng hình thành màng sinh học mạnh nhất (OD_{600} = 0,64) và đồng thời có chỉ số MAR tương đối cao (0,44). Tương tự, dòng CFH17db.3 mặc dù chỉ hình thành màng sinh học ở mức trung bình (OD_{600} = 0,22) nhưng vẫn có chỉ số MAR khá cao (0,44). Đáng chú ý, dòng CFH17db.2 chỉ có khả năng hình thành màng sinh học ở mức trung bình (OD_{600} = 0,30) nhưng lại có chỉ số MAR cao nhất (0,63). Ngược lại, dòng CFH3db.1 có giá trị OD_{600} tương đối cao (0,43) nhưng chỉ số MAR chỉ đạt 0,25, tương

đương với CFH8db.2 (MAR = 0,25). Những kết quả này cho thấy khả năng hình thành màng sinh học có thể góp phần làm gia tăng tính kháng kháng sinh ở một số dòng vi khuẩn, nhưng không phải là yếu tố quyết định duy nhất.

Màng sinh học trong tự nhiên là một quần xã vi sinh vật với sự tương tác chặt chẽ góp phần tăng cường khả năng thích nghi và tồn tại trong môi trường (Sadiq et al., 2023). Cấu trúc ngoại bào của màng sinh học đóng vai trò như một hàng rào vật lý giúp hạn chế sự khuếch tán và thẩm thấu của kháng sinh vào tế bào vi khuẩn, từ đó làm giảm hiệu quả của quá trình điều trị (El-Hossary et al., 2023). Tuy nhiên, khả năng kháng kháng sinh của vi khuẩn không chỉ phụ thuộc vào sự hình thành màng sinh học mà còn liên quan đến nhiều cơ chế phân tử khác. Các cơ chế này bao gồm sự hiện diện của các gen mã hóa bơm tống kháng sinh (gen tetA, tetB, tetC, tetD, tetE và tetM) giúp giảm nồng độ kháng sinh nội bào (Carusi et al., 2024); các gen mã hóa enzyme bất hoạt kháng sinh (aac(6′)-Ib, aadA, aphA, strA và strB) làm mất hoạt tính của aminoglycoside (Piotrowska & Popowska, 2015; Neil et al., 2024). Một số gen như qnrA và qnrS, hoặc các đột biến trên gyrA và parC, có khả năng bảo vệ hoặc làm thay đổi đích tác động của fluoroquinolone, góp phần làm giảm tính nhạy cảm của vi khuẩn đối với nhóm kháng sinh này (Kim et al., 2024).



Hình 6. Khả năng hình thành màng sinh học

Ghi chú: Các giá trị có cùng chữ cái theo sau thể hiện không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p > 0,05). (-) không tạo màng sinh học, (+) yếu, (++) trung bình, (+++) mạnh.

3.5. Định danh vi khuẩn kháng kháng sinh

Dòng vi khuẩn CFH17db.2 thể hiện nhiều đặc tính liên quan đến khả năng gây bệnh. Khả năng tiết enzyme ngoại bào, tan huyết, kháng 10/16 loại kháng sinh với chỉ số MAR đạt 0,63 và hình thành màng sinh học. Việc phân tích trình tự gen 16S rRNA cho thấy dòng vi khuẩn này có độ tương đồng 99,90% với *Aeromonas dhankensis* và 99,70% với *A. hydrophila* (Bảng 3).

Những năm gần đây, kết quả nhiều nghiên cứu đã ghi nhận sự hiện diện và gây bệnh của *A. dhakensis* trong nuôi trồng thủy sản. Tại Việt Nam, loài vi khuẩn này đã được xác định là một trong những tác nhân chính gây bệnh trên cá tra nuôi (Bartie et al., 2023). Chúng còn chứa yếu tố độc lực và kháng nhiều loại kháng sinh và gây bệnh trên cá *Micropterus salmoides* (Yang et al., 2024). *A. dhakensis* phân lập từ cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) có độc lực rất cao, gây chết 100% cá thí nghiệm trong vòng 24 giờ và mang tới 60 gen liên quan đến kháng kháng sinh (Wang et al., 2025). Tương tự, *A. hydrophila* cũng là tác nhân gây bệnh quan trọng trên nhiều loài cá nước ngọt, thường gây bệnh nhiễm khuẩn huyết do *Aeromonas* di động (motile aeromonas septicemia, MAS), với các biểu hiện như xuất huyết, loét da, hoại tử mô và nhiễm khuẩn toàn thân, gây thiệt hại đáng kể cho ngành nuôi trồng thủy sản (Abdella et al., 2024; Jeamsripong et al., 2025). Bên cạnh *A. hydrophila*, *A. caviae* và *A. jandaei* cũng được ghi nhận là các tác nhân gây bệnh mới nổi trên thủy sản (Dien et al., 2022). Trong đó, *A. jandaei* có thể gây tỷ lệ chết lên đến 100% trên cá rô phi chỉ sau 12 giờ cảm nhiễm mà không xuất hiện biểu hiện lâm sàng rõ rệt (Assane et al., 2021); trong khi đó, *A. caviae* đã được ghi nhận gây bệnh trên cá trê trắng (*Clarias magur*) và mang nhiều yếu tố độc lực liên quan đến quá trình gây bệnh (Sharma et al., 2022).

Bảng 3. Độ tương đồng trình tự gen 16S của dòng CFH17db.2 với các trình tự trên GenBank

Loài	Độ phủ (%)	Độ tương đồng (%)	Mã gen
A. dhakensis	100	99,90	NR_042155.1
A. hydrophila	100	99,70	NR_119190.1
A. caviae	100	99,70	NR_029252.1
A. jandaei	100	99,70	NR_119040.1
A. enteropelogenes	100	99,60	NR_116026.1
A. sanarellii	100	99,41	NR_116584.1
A. rivipollensis	100	99,20	NR_144574.1

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã phân lập được 5 dòng vi khuẩn thuộc chi *Aeromonas* từ các mẫu cá chết thu tại trại sản xuất giống. Các dòng phân lập có khả năng tiết các enzyme ngoại bào như protease, lipase, gelatinase và thể hiện hoạt tính tan huyết, đồng thời có khả năng hình thành màng sinh học ở mức độ từ trung bình đến mạnh. Các dòng vi khuẩn đều kháng với nhiều loại kháng sinh được khảo sát, trong đó ghi nhận hiện tượng kháng hoàn toàn đối với 2 nhóm

kháng sinh thuộc nhóm aminoglycosides và tỷ lệ kháng cao đối với nhóm carbapenems. Chỉ số đa kháng kháng sinh (MAR) của các dòng vi khuẩn dao động từ 0,25 đến 0,63. Đáng chú ý, dòng CFH17db.2 có mức độ kháng cao nhất khi kháng 10/16 loại kháng sinh khảo sát và được định danh là *Aeromonas* sp. dựa trên phân tích trình tự gen 16S rRNA.

LỜI CẢM TẠ

Đề tài này được tài trợ bởi Đại học Cần Thơ, mã số: TSV2026-281.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Abbott, S. L., Cheung, W. K. W., & Janda, J. M. (2003). The Genus *Aeromonas*: biochemical characteristics, atypical reactions, and phenotypic identification schemes. *Journal of Clinical Microbiology*, *41*(6). https://doi.org/10.1128/jcm.41.6.2348-2357.2003

Abdel-Fatah, S. S., Mohammad, N. H., Elshimy, R., & Mosallam, F. M. (2024). Impeding microbial biofilm formation and *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes using biologically synthesized silver *Carthamus* nanoparticles. *Microbial Cell Factories*, *23,* 240. https://www.doi.org/10.1186/s12934-024-02508-9

Abdella, B., Shokrak, N. M., Abozahra, N. A., Elshamy, Y. M., Kadira, H. I., & Mohamed, R. A. (2024). Aquaculture and *Aeromonas hydrophila*: A complex interplay of environmental factors and virulence. *Aquaculture International*, *32*(6), 7671–7681. https://doi.org/10.1007/s10499-024-01535-y

Abdella, B., Shokrak, N. M., Abozahra, N. A., Elshamy, Y. M., Kadira, H. I., & Mohamed, R. A. (2024). Aquaculture and *Aeromonas hydrophila*: a complex interplay of environmental factors and virulence. *Aquaculture International*, *32*(6), 7671-7681. https://doi.org/10.1007/s10499-024-01535-y

Ahmat, A. M., Oumar, D. A., Abdoullahi, H. O., Hama, C., Yandai, F. H., Gamougam, K., Tidjani, A., Savadogo, A., & Ouchemi, C. (2024). Evaluation of multi-antibiotic resistance index (MAR) and molecular characterization of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in pathological products from Chad. *Microbiology Research Journal International*, *34*(11), 17-28. https://www.doi.org/10.9734/mrji/2024/v34i11124956

Assane, I. M., de Sousa, E. L., Valladão, G. M. R., Tamashiro, G. D., Criscoulo-Urbinati, E., Hashimoto, D. T., & Pilarski, F. (2021). Phenotypic and genotypic characterization of *Aeromonas jandaei* involved in mass mortalities of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) in Brazil. *Aquaculture*, *541*, 736848. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736848

Assis, G. B. A., Pereira, F. L., Zegarra, A. U., Tavares-Dias, M., & Leão, K. M. (2020). Molecular characterization and evaluation of virulence traits of *Aeromonas* spp. isolated from tambaqui fish (*Colossoma macropomum*). *Microbial Pathogenesis*, *147*, 104273. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104273

Bartie, K. L., Ngo, T. P. H., Bekaert, M., Dang, T. H. O., Hoare, R., Adams, A., & Desbois, A. P. (2023). *Aeromonas hydrophila* ST251 and *Aeromonas dhakensis* are major emerging pathogens of striped catfish in Vietnam. *Frontiers Microbiology*, *13*, 1067235. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1067235

Carusi, J., Kabuki, D. Y., Seixas, P. P. M., & Cabral, L. (20224). *Aeromonas* spp. in drinking water and food: Occurrence, virulence potential and antimicrobial resistance. *Food Research International*, *175*, 113710. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113710

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2016). Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria, 3rd Edition. CLSI guideline M45. Clinical and Laboratory Standards Institute. Available at: https://clsi.org/shop/standards/m45/

Dias, C., Borges, A., Saavedra, M. J., & Simões, M. (2018). Biofilm formation and multidrug-resistant *Aeromonas* spp. from wild animals. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *12*, 227–234. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.09.010

Dien, L. T., Ngo, T. P. H., Nguyen, T. V., Kayansamruaj, P., Salin, K. R., Mohan, C. V., Rodkhum, C., & Ha, T. D. (2023). Non-antibiotic approaches to combat motile *Aeromonas* infections in aquaculture: Current state of knowledge and future perspectives. *Review in Aquaculture*, *15*(1), 333-366. https://doi.org/10.1111/raq.12721

Doan, T. M. C., Luu, H. M., & Tu, T. D. (2018). Antimicrobial susceptibility of bacterial pathogen causing internal white spot disease in snakehead fish (*Channa striata*) in Tra Vinh province. *Can Tho University Journal of Science*, *54*(CĐ Thủy sản), 108-115 (*in Vietnamese*). https://doi.org/10.22144/ctu.jsi.2018.043

Eid, H. M., El-Mahallawy, H. S., Shalaby, A. M., Elsheshtawy, H. M., Shetewy, M. M., & Hussein, E. N. (2022). Emergence of extensively drug-resistant *Aeromonas hydrophila* complex

isolated from wild *Mugil cephalus* (striped mullet) and Mediterranean seawater. *Veterinary World*, *15*(1), 55-64. https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.55-64

El-Hossary, D., Mahdy, A., Elariny, E. Y., Askora, A., Merwad, A. M., Saber, T., & Ibrahim, R. A. (2023). Antibiotic resistance, virulence gene detection, and biofilm formation in *Aeromonas* spp. isolated from fish and humans in Egypt. *Biology*, *12*(3), 421. https://doi.org/10.3390/biology12030421

Erickson, V. I., Khoi, L. M., Hounmanou, Y. M. G., Dung, T. T., Phu, T. M., & Dalsgaard, A. (2023). Comparative genomic analysis of *Aeromonas dhakensis* and *Aeromonas hydrophila* from diseased striped catfish fingerlings cultured in Vietnam. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1254781.

Hall, T. A. (1999). BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, *41*, 95–98.

Heuzenroeder, M. W., Wong, C. Y., & Flower, R. L. (1999). Distribution of two hemolytic toxin genes in clinical and environmental isolates of *Aeromonas* spp.: correlation with virulence in a suckling mouse model. *FEMS Microbiology Letters*, *174*(1), 131–136. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1999.tb13559.x

Hu ,Y., Li, F., Zheng, Y., Jiao, X., & Guo, L. (2020). Isolation, molecular characterization and antibiotic susceptibility pattern of *Vibrio parahaemolyticus* from aquatic products in the southern Fujian coast, China. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *30*(6), 856-867. https://www.doi.org/10.4014/jmb.2001.01005

Janda, J. M. (1985). Biochemical and exoenzymatic properties of *Aeromonas* species. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *3*(3), 223–232. https://doi.org/10.1016/0732-8893(85)90034-3

Janda, J. M.,& Abbott, S. L. (2010). The Genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical Microbiology Reviews*, *23*(1). https://doi.org/10.1128/cmr.00039-09

Jeamsripong, S., Odoi, J. O., Shahi, M. K., Anuntawirun, S., Roongrojmongkhon, N., & Thiptara, A. (2025). Global spread and antimicrobial resistance of *Aeromonas hydrophila* in aquatic food animals: A systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, *15*, 28441. https://doi.org/10.1038/s41598-025-14498-8

Kerigano, N. K., Chibsa, T. R., Molla, Y. G., Mohammed, A. A., Tamiru, M., Bulto, A. O., Wodaj, T. K., Gebrew, D. S., & Abdi, A. L. (2023). Phenotypic, molecular detection and antibiogram analysis of *Aeromonas hydrophila* from *Oreochromis niloticus* (Nile Tilapia) and Ready-To- eat fish products in selected Rift Valley lakes of Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, *19*, 120. https://doi.org/10.1186/s12917-023-03684-3

Kim, S. G., Kim, B. E., Lee, J. H., & Kim, D. W. (2024). Novel qnr families as conserved and intrinsic quinolone resistance determinants in *Aeromonas* spp. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *34*(6), 1276-1286. https://doi.org/10.4014/jmb.2403.03043

Lee, C., Cho, J. C., Lee, S. H., Lee, D. G. & Kim, S. J. (2002). Distribution of *Aeromonas* spp. as identified by 16S rDNA restriction fragment length polymorphism analysis in a trout farm. *Journal of Applied Microbiology*, *93*(6), 976–985. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01879.x

Majeed, S., De Silva, L. A. D. S., Kumarage, P. M., & Heo, G. J. (2023). Occurrence of potential virulence determinants in *Aeromonas* spp. isolated from different aquatic environments. *Journal of Applied Microbiology*, *134*(3), lxad031. https://doi.org/10.1093/jambio/lxad031

Mallik, S. K., Pathak, R., Shahi, N., Kala, K., Chandra, S., Das, P., Singh, B., Singh, M., Giri, A. K., Tandel, R. S., Sarma, D., & Pandey, P. K. (2023). Pathological analysis and antimicrobial susceptibility of *Chryseobacterium balustinum* RTFCP 298 isolated from diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Scientific Reports*, *13*(1), 13268. https://doi.org/10.1038/s41598-023-40028-5

Mekasha, S., & Linke, D. (2021). Secretion systems in Gram-negative bacterial fish pathogens. *Frontiers Microbiology*, *12*, 782673. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.782673

Mohamed, M. S. M., Khalil, M. S., Tagrida, M. A., & Mawgoud, Y. A. (2017). Purification of gelatinase from the bacteria contaminating gelatin production process. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, *8*(4), 914–930. https://www.rjpbcs.com/pdf/2017_8(4)/[110].pdf

Montanhini, M. T. M., Montanhini, R. N., Pinto, J. P. N., & Bersot, L. S. (2013). Effect of temperature on the lipolytic and proteolytic activity of *Bacillus cereus* isolated from dairy products. *International Food Research Journal*, *20*(3), 1417-1420. https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v35i1.13752

Neil, B., Cheney, G. L., Rosenzweig, J. A., Sha, J., & Chopra, A. K. (2024). Antimicrobial

resistance in aeromonads and new therapies targeting quorum sensing. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *108*(1), 205. https://doi.org/10.1007/s00253-024-13055-z

Nirmala, B., Manhas, P. L., Jadli, M., Sharma, R., Manhas, H., & Omar, B. J. (2024). A novel dual-staining method for cost-effective visualization and differentiation of microbial biofilms. *Scientific Reports*, *14*(1), 29169. https://www.doi.org/10.1038/s41598-024-80644-3

Nokhwal, A., Vaid, R. K., Anand, T., Verma, R., & Gulati, R. (2025). *Aeromonas* species diversity, virulence characteristics, and antimicrobial susceptibility patterns in village freshwater aquaculture ponds in North India. *Antibiotics*, *14*(3), 294. https://doi.org/10.3390/antibiotics14030294

Nhinh, D. T., Le, D. V., Van, K. V., Huong Giang, N. T., Dang, L. T., & Hoai, T. D. (2021). Prevalence, virulence gene distribution and alarming the multidrug resistance of *Aeromonas hydrophila* associated with disease outbreaks in freshwater aquaculture. *Antibiotics*, *10*(5), 532. https://doi.org/10.3390/antibiotics10050532

Ormanci, S., & Yucel, N. (2017). Biofilm formation on polystyrene and glass surface by *Aeromonas* species isolated from different sources. *Journal of Food Processing and Preservation*, *41*, e13223. https://doi.org/10.1111/jfpp.13223

Park, C., Kim, S. B., Choi, S. H., & Kim, S. (2021). Comparison of 16S rRNA gene based microbial profiling using five next-generation sequencers and various primers. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 715500. https://www.doi.org/10.3389/fmicb.2021.715500

Piotrowska, M., & Popowska, M. (2015). Insight into the mobilome of *Aeromonas* strains. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 494. https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00494

Qian, Q., Chen, Z., Xu, J., Zhu, Y., Xu, W., Gao, X., Jiang, Q., & Zhang, X. (2023). Pathogenicity of *Plesiomonas shigelloides* causing mass mortalities of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) and its induced host immune response. *Fish Shellfish Immunology*, *132*, 108487. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.108487

Quach, V. C. T., Nguyen, B. C., & Tu, T. D. (2023). Antimicrobial resistance and the prevalence of integron in *Aeromonas hydrophila* from hemorrhagic diseased *Pangasius* catfish of the Mekong Delta. *Veterinary Integrative Sciences*, *21*(2), 333–347. https://doi.org/10.12982/VIS.2023.025

Rodriguez, L. A., Ellis, A. E., & Nieto, T. P. (1992). Purification and characterisation of an extracellular metalloprotease, serine protease and haemolysin of *Aeromonas hydrophila* strain B32: All are lethal for fish. *Microbial Pathogenesis*, *13*(1), 17–24. https://doi.org/10.1016/0882-4010(92)90028-M

Roy, L. A., & Kelly, A. M. (2025). *Antibiotic feeds for catfish farmers. Alabama A&M and Auburn University Extension*. https://aces.edu/blog/topics/aquaculture/antibiotic-feeds-for-catfish-farmers/

Sadiq, F. A., De Reu, K., Burmølle, M., Maes, S., & Heyndrickx, M. (2023). Synergistic interactions in multispecies biofilm combinations of bacterial isolates recovered from diverse food processing industries. *Frontiers Microbiology*, *14*, 1159434. https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1159434

Santos, Y., Toranzo, A. E., Barja, J. L., Nieto, T. P., & Villa, T. G. (1988). Virulence properties and enterotoxin production of *Aeromonas* strains isolated from fish. *Infection and Immunity*, *56*(12), 3285–3293. https://doi.org/10.1128/IAI.56.12.3285-3293.1988

Semwal, A., Kumar, A., & Kumar, N. (2023). A review on pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* and their mitigation through medicinal herbs in aquaculture. *Heliyon*, *9*(3), e14088. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14088

Sharma, A., Chanu, T. I., Nayak, S. K., Jahageerdar, S., & Krishna, G. (2022). Pathogenesis of *Aeromonas caviae* in *Clarias magur*. *Microbial Pathogenesis*, *169*, 105662. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105662

Sierra, G. (1957). A simple method for the detection of lipolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substrates. *Antonie van Leeuwenhoek*, *23*, 15–22. https://link.springer.com/article/10.1007/BF02545855

Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Di Bonaventura, G., Djukić, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, *115*(8), 891–899. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_630.x

Tu, T. D., Nguyen, B. C., & Luu, M. K. (2019). Isolation, identification and characterization of *Aeromonas schubertii* causing internal white spot on snakehead fish (*Channa striata*) in the Mekong Delta of Vietnam. *Can Tho University Journal of Science*, *55*(2), 69-78 (*in Vietnamsese*). https://doi.org/10.22144/ctu.jvn.2019.049

Tu, T. D., Quach, V. C. T., & Nguyen, B. T. (2025). Isolation, molecular identification, and pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* disease in clown knife fish (*Chitala chitala*) in the Mekong Delta, Vietnam. *Veterinary Integrative Sciences*, *23*(1), e2025010-1-17. https://doi.org/10.12982/VIS.2025.010

Thaotumpitak, V., Sripradite, J., Atwill, E. R., & Jeamsripong, S. (2023). Emergence of colistin resistance and characterization of antimicrobial resistance and virulence factors of *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella* spp., and *Vibrio cholerae* isolated from hybrid red tilapia cage culture. *PeerJ*, *11*, e14896. https://doi.org/10.7717/peerj.14896

Tran, H. H., Huynh, N. T., Tran, N. V. B., Le, T. U., & Huynh, T. N. T. (2026). Assessment of antibiotic susceptibility and biofilm formation in bacteria isolated from white-leg shrimp in traditional markets, Can Tho City, Vietnam. *World's Veterinary Journal*, *16*(1), 259-270. https://dx.doi.org/10.54203/scil.2026.wvj25

Wang, X., Liu, M., Yu, C., Li, J., & Zhou, X. (2023). Biofilm formation: Mechanistic insights and therapeutic targets. *Molecular Biomedicine*, *4*, 49. https://doi.org/10.1186/s43556-023-00164-w

Wang, Y., Feng, Z., Wu, W., Zhan, Z., Huang, J., Guo, C., & He, J. (2025). Emergence of highly virulent *Aeromonas dhakensis* in channel catfish aquaculture: Genomic insights into pathogenicity and antimicrobial resistance. *Virulence*, *16*(1), 2525933. https://doi.org/10.1080/21505594.2025.2525933

Yang, Q., Tu, Y. Y., Zhang, N., Miao, B., Zhang, Y. Z., Deng, X. T., He, T., Su, S. Q., Lin, L.Y., & Zhu, S. (2024). Co-infections of *Aeromonas dhakensis* and *Chryseobacterium indologenes* in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, *579*, 740259. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740259

Zhao, X. L., Jin, Z. H., DI, G. L., Li, L., & Kong, X. H. (2019). Molecular characteristics, pathogenicity and medication regimen of *Aeromonas hydrophila* isolated from common carp (*Cyprinus carpio* L.). *The Journal of Veterinary Medical Science*, *81*(12), 1769-1775. https://doi.org/10.1292/jvms.19-0025