

MỘT SỐ YẾU TỐ NGUY CƠ LIÊN QUAN ĐẾN BỆNH DO NHIỄM EHP, BỆNH PHÂN TRẮNG VÀ BỆNH CHẬM LỚN TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG (*Penaeus vannamei*) NUÔI Ở ĐỒNG BẰNG SÔNG CỬU LONG

Trương Hồng Việt^{1*}, Đỗ Thị Cẩm Hồng¹, Nguyễn Thị Thái Tuất²,
Phan Thị Hồng Nhi³, Đặng Ngọc Minh Thư³, Đặng Thị Hoàng Oanh⁴,
Nguyễn Thị Ngọc Tĩnh¹, Lê Hồng Phước¹

TÓM TẮT

Nuôi tôm đã trở thành ngành sản xuất có tiềm năng xuất khẩu lớn của Việt Nam trong nhiều năm qua. Mặc dù diện tích nuôi tôm đã tăng mạnh trong những năm qua, nhưng vẫn có một thách thức lớn là dịch bệnh ảnh hưởng đến sản lượng tôm, do xác định sai dịch bệnh và các yếu tố nguy cơ. Ở đồng bằng sông Cửu Long, *Enterocytozoon hepatopanaei* (EHP), bệnh phân trắng (White Feces Disease - WFD) và bệnh chậm lớn (Growth Retardation Disease - GRD) đang là những mối quan tâm lớn. Mục tiêu của nghiên cứu nhằm xác định các yếu tố nguy cơ gây nhiễm EHP, WFD và GRD, cũng như xác định mối liên hệ giữa ba bệnh này trên tôm thẻ chân trắng. Trong nghiên cứu này, đã sử dụng phương pháp tiếp cận dịch tễ học và xây dựng mô hình hồi quy logistic đa biến để xác định các yếu tố nguy cơ. Kết quả cho thấy, nhiễm EHP (34/102 ao, chiếm tỷ lệ 33,3%) có liên quan đến bệnh WFD (17/102 ao, chiếm tỷ lệ 16,7%). Trong khi đó, nhiễm EHP và WFD không liên quan đến GRD (46/102 ao, chiếm tỷ lệ 45,1%). Sự lây nhiễm EHP ở tôm có liên quan đến hai yếu tố nguy cơ bao gồm nước ao bị nhiễm EHP và nồng độ khí độc $N-NO_2$ trong ao $\geq 0,5$ ppm. Các yếu tố nguy cơ đối với WFD bao gồm bốn yếu tố: mực nước ao nuôi $\leq 1,2$ m, nuôi tôm trong mùa mưa, tôm bị nhiễm EHP và áp dụng kỹ thuật nuôi tôm truyền thống. Bệnh chậm lớn được phát hiện có 5 yếu tố nguy cơ bao gồm có sử dụng kháng sinh trong nuôi tôm, tuổi tôm ≥ 58 ngày, độ mặn nước ao < 15 ppt, nồng độ khí độc $N-NH_4^+$ trong ao ≥ 1 ppm và áp dụng kỹ thuật nuôi tôm truyền thống. Xác suất dự đoán bệnh do nhiễm EHP, WFD và GRD trên tôm nuôi lần lượt là 94, 98 và 95%.

Từ khóa: EHP, bệnh phân trắng, bệnh chậm lớn, nuôi tôm, mô hình hồi quy logistic đa biến.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) là vùng đi đầu trong cả nước về nuôi tôm nước lợ với tổng diện tích lên đến 687.246 ha, chiếm tỷ lệ 92,6% trong năm 2020 [1]. Một trong những ảnh hưởng lớn đến nghề nuôi tôm là dịch bệnh trên tôm nuôi.

Trong đó, các bệnh bao gồm bệnh do vi bào tử *Enterocytozoon hepatopanaei* (EHP), bệnh phân trắng – White feces disease (WFD) và bệnh chậm lớn - Growth retardation disease (GRD) được xem là các bệnh nghiêm trọng đối với tôm nuôi tại khu vực ĐBSCL [2].

WFD được tìm thấy do nhiều tác nhân làm tôm chậm lớn, phân đàn, giảm ăn và có trường hợp chết rải rác. Các dấu hiệu bên ngoài của tôm bị bệnh bao gồm ruột trắng hoặc nâu vàng và vỏ đầu mềm [3], [4], [5], [6], [7]. Nhiều nghiên cứu cũng đã xác định có mối quan hệ giữa WFD và bệnh do nhiễm EHP, *Gregarines* và *Vibrio* [3], [4], [5], [8]. Tuy nhiên, có nghiên cứu khác cho rằng không có

¹ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II

² Học viên cao học, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm thành phố Hồ Chí Minh

³ Sinh viên, Khoa Sinh học - Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh

⁴ Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

*Email: truonghongviet@yahoo.com

mối liên quan giữa EHP với WFD [9]. Theo NACA (2015), tôm bị nhiễm EHP không có dấu hiệu cụ thể nào để phân biệt. Sự nhiễm EHP được xác định dựa vào sự tăng trưởng chậm của tôm và kết quả xét nghiệm bằng phương pháp sinh học phân tử [10].

Nhiều nghiên cứu dịch tễ học về bệnh trên động vật thủy sản thường dùng cách tiếp cận nghiên cứu cắt ngang (cross-sectional) và xây dựng mô hình hồi quy logistic đa biến (Multivariable Logistic Regression Model) để xác định các yếu tố nguy cơ và dự báo xác suất xảy ra bệnh [11], [12], [13]. Mục tiêu của nghiên cứu này

nhằm xác định các yếu tố nguy cơ và dự báo xác suất xảy ra các bệnh bao gồm bệnh do nhiễm EHP, WFD và GRD trên tôm nuôi ở ĐBSCL.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thời gian, địa điểm nghiên cứu và đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu dịch tễ được thực hiện từ tháng 8/2021 đến tháng 2/2022 ở 5 tỉnh ĐBSCL, gồm: Kiên Giang, Cà Mau, Bạc Liêu, Sóc Trăng và Bến Tre với tổng số 102 ao (Bảng 1). Đối tượng nghiên cứu là tôm thẻ chân trắng.

Bảng 1. Thông tin về ao điều tra và kết hợp thu mẫu

STT	Địa điểm	Số ao điều tra	Số ao bị bệnh chậm lớn	Số ao bị bệnh phân trắng	Thời điểm thu mẫu
1	Bến Tre	20	9	6	Tháng 11-12/2021
2	Sóc Trăng	22	12	3	Tháng 02/2022
3	Bạc Liêu	20	9	2	Tháng 01/2022
4	Cà Mau	20	11	2	Tháng 8/2021 và 11/2021
5	Kiên Giang	20	5	4	Tháng 8/2021 và 11/2021
Tổng số		102	46	17	

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp điều tra và thu mẫu

Các ao tôm đang diễn ra vụ nuôi được chọn ngẫu nhiên để điều tra theo bảng câu hỏi được soạn sẵn và kết hợp thu 102 mẫu cho mỗi loại bao gồm tôm, nước cho phân tích vi sinh, nước cho phân tích tảo, nước cho phân tích lý hoá, giáp xác, thức ăn và chế phẩm. Đối với các mẫu phân tích tại phòng thí nghiệm được bảo quản lạnh trong thùng đá, chuyển về phòng thí nghiệm.

2.2.2. Phương pháp phân tích mẫu

Mẫu được gửi phân tích tại Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản Nam bộ - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II. Các chỉ tiêu phân tích cho từng loại mẫu và phương pháp phân tích được trình bày trong bảng 2. Các phương pháp được áp dụng đều được chuẩn hoá ở phòng thí nghiệm theo tiêu chuẩn ISO-17025.

Bảng 2. Các chỉ tiêu và phương pháp phân tích mẫu

Loại mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Phương pháp thực hiện
Tôm	Tổng số <i>Vibrio</i> sp. trong gan	SMEWW-9260H: 2017 (ISO-17025)
	Gregarin trong ruột	Phết lam, nhuộm Giemsa
	PCR phát hiện EHP trong gan	Tang và cs (2015) [14] (ISO-17025)
Giáp xác	PCR phát hiện EHP	Tang và cs (2015) [14] (ISO-17025)
Thức ăn		
Chế phẩm		
Nước ao	PCR phát hiện EHP	Tang và cs (2015) [14] (ISO-17025)
	Tổng số <i>Vibrio</i> sp.	SMEWW-9260H: 2017 (ISO-17025)

	Định lượng tảo Lam và tảo Giáp	SMEWW 10200F+10900E: 2017
	N-NO ₂ ⁻ , N-NH ₄ ⁺ và H ₂ S	SMEWW-4500 (ISO-17025)
	Độ mặn, pH và nhiệt độ	Máy quang phổ đa chỉ tiêu
	Độ kiềm	Máy đo độ kiềm

2.2.3. Phương pháp phân tích số liệu

- Số liệu được phân tích bằng phần mềm SPSS 25. Các biến liên tục được mã hoá thành biến phân loại theo chỉ số trung bình, trung gian hoặc theo tính chất của từng biến.

- Đối với biến yếu tố mùa vụ được chia làm 2 mùa: Mùa khô từ tháng 12 đến tháng 4, mùa mưa từ tháng 5 đến tháng 11.

- Đối với biến yếu tố kỹ thuật nuôi tôm được phân loại thành 2 nhóm: (1) kỹ thuật nuôi tôm truyền thống bao gồm các mô hình nuôi bán thâm canh và thâm canh không thay nước; (2) kỹ thuật nuôi công nghệ bao gồm các mô hình nuôi siêu thâm canh, nuôi 2 hoặc nhiều giai đoạn.

- Việc đánh giá yếu tố nguy cơ thông qua kết quả xử lý thống kê và dựa trên tỷ số chênh OR (hay tỷ số odd: odd ratio) và giá trị P<0,05. Tỷ số odd chỉ đánh giá mức độ chênh lệch theo nhóm bên trong yếu tố nguy cơ liên quan với biến bệnh. Cách đánh giá giá trị của OR căn cứ vào giá trị thực: OR<1: yếu tố nguy cơ có mối quan hệ nghịch, tức là mối quan hệ bảo vệ chống lại bệnh. OR=1, yếu tố nguy cơ không có liên quan đến bệnh, OR>1: yếu tố nguy cơ có liên quan đến bệnh. Hệ số OR được tính toán dựa vào hệ số hồi quy theo thống kê thống kê Wald [15]. Đối với các biến là yếu tố nguy cơ tiềm năng sẽ được trình bày hệ số OR và khoảng tin cậy 95% của cả 2 nhóm phân loại.

- Các biến được xem là yếu tố nguy cơ tiềm năng, khi kết quả phân tích hồi quy logistic đơn biến có giá trị P<0,20 [11], [12], [13].

- Xây dựng mô hình hồi quy logistic đa biến: chọn tất cả các biến nguy cơ tiềm năng để đưa vào mô hình đa biến. Dùng phương pháp loại từng biến để thu được mô hình đa biến cuối cùng khi các biến có giá trị P<0,10 [11], [12], [13].

- Để dự báo xác suất xuất hiện bệnh được dựa vào mô hình hồi quy logistic đa biến [11], [12], [13]. Xác suất (P) xảy ra bệnh được tính toán và dự báo theo công thức (1) của Wiley (2013) thông qua kết quả từ mô hình hồi quy đa biến cuối cùng được chọn [13], [16].

$$p = \frac{\exp(\beta_0 + \beta_1 x_{1j} + \beta_2 x_{2j} + \dots + \beta_k x_{kj})}{1 + \exp(\beta_0 + \beta_1 x_{1j} + \beta_2 x_{2j} + \dots + \beta_k x_{kj})} \quad (1)$$

Chú thích: $\exp\beta = OR$

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả điều tra và phân tích các biến bệnh

Kết quả điều tra và phân tích mẫu cho thấy, tỷ lệ tôm bị GRD, WFD và EHP xảy ra với tỷ lệ lần lượt là 45,1%; 16,7% và 33,3% trong tổng số 102 ao. Bệnh GRD chiếm tỷ lệ cao gần gấp 3 lần bệnh WFD. Điều này cho thấy, bệnh WFD có thể không phải là nguyên nhân chính gây ra bệnh GRD. Tương tự, bệnh do nhiễm EHP cao gần gấp đôi WFD. Điều này cũng cho thấy, tôm nhiễm EHP có thể cũng không phải là nguyên nhân gây WFD và GRD.



Hình 1. Dấu hiệu tôm bị WFD thu được từ các ao điều tra

Ghi chú: (A) Ruột tôm màu vàng và có sợi phân dính đuôi (mũi tên); (B) Ruột tôm bị trắng, không có thức ăn (mũi tên).

Kết quả phân tích mẫu thức ăn và mẫu chế phẩm của 102 nông hộ đều cho kết quả âm tính với EHP (Bảng 3). Tỷ lệ nhiễm EHP trong giáp xác và trong nước ao nuôi với tỷ lệ rất thấp lần lượt là 7,8 và 14,9%. Bên cạnh mầm bệnh EHP, *Gregarine*

nh nhiễm trên tôm ở các ao điều tra với tỷ lệ cũng khá cao 31,4% (Bảng 3). Nghiên cứu trước đây cũng cho rằng *Gregarine* cũng góp phần gây WFD trên tôm nuôi [4].

Bảng 3. Kết quả phân tích mầm bệnh EHP của các biến phân loại liên quan đến ao nuôi

STT	Các biến phân loại	Số ao nhiễm mầm bệnh	Số ao điều tra (n)	Tỷ lệ (%)
1	Nhiễm EHP trong thức ăn	0	102	0
2	Nhiễm EHP trong chế phẩm	0	102	0
3	Nhiễm EHP trong nước ao	8	102	7,8
4	Nhiễm EHP trong giáp xác	14	94	14,9
5	Nhiễm <i>Gregarine</i> trong ruột tôm	32	102	31,4

3.2. Phân tích yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh do nhiễm EHP

3.2.1. Xác định yếu tố nguy cơ tiềm năng liên quan đến bệnh nhiễm EHP trên tôm nuôi bằng phương pháp hồi quy logistic đơn biến

Kết quả xác định yếu tố nguy cơ tiềm năng bằng hồi quy logistic đơn biến giữa biến bệnh tôm do nhiễm EHP với 16 yếu tố liên quan khác cho thấy, có 4/16 yếu tố là nguy cơ tiềm năng ($P < 0,20$)

bao gồm áp dụng kỹ thuật nuôi tôm truyền thống ($P=0,163$), nước ao bị nhiễm EHP ($P=0,009$), nồng độ $\text{N-NO}_2^- \geq 0,5$ ppm ($P=0,007$) và nồng độ $\text{H}_2\text{S} \geq 0,013$ ppm ($P=0,162$) (Bảng 4). Như vậy các yếu tố được cho là có ảnh hưởng chính đến tôm nhiễm EHP là yếu tố mùa vụ và giáp xác đều không phải là yếu tố nguy cơ liên quan đến tôm bệnh do nhiễm EHP.

Bảng 4. Tương quan giữa biến nhiễm EHP trên tôm và các biến liên quan

		Bệnh do nhiễm EHP (bệnh/không bệnh)			
Các biến liên quan	Giải thích	N	Hệ số OR (khoảng tin cậy 95%)	Giá trị P	Nguy cơ tiềm năng
I. Các biến phi sinh học về quản lý ao nuôi					
Kỹ thuật nuôi	Truyền thống	102	1,817 (0,785; 4,208)	0,163	Có
	Công nghệ		0,550 (0,238; 1,274)		
Mật độ thả nuôi	>200 con/m ²	102	1,343 (0,587; 3,073)	0,484	Không
Loại ao nuôi	Ao đất	102	1,651 (0,708; 3,848)	0,246	Không
Mức nước ao nuôi	≤1,2 m	100	0,847 (0,362; 1,982)	0,701	Không
Tuổi tôm đang nuôi	≥58 ngày	101	1,159 (0,507; 2,649)	0,726	Không
Cỡ tôm đang nuôi	≥5,6 g/con	98	0,760 (0,328; 1,761)	0,522	Không
Mùa vụ	Mùa khô	102	1,126 (0,493; 2,572)	0,778	Không
	Mùa mưa		0,888 (0,389; 2,028)		

II. Các biến sinh học hiện diện trên tôm và trong nước ao nuôi					
Nhiễm EHP trong nước ao	Dương tính	102	17,37 (2,039; 147,99)	0,009	Có
	Âm tính		0,058 (0,007; 0,490)		
Nhiễm EHP trong giáp xác	Dương tính	94	2,007 (0,659; 6,542)	0,212	Không
III. Các biến phi sinh học hiện diện trong nước ao nuôi					
Độ kiềm (ppm)	<80 hoặc >120	102	0,626 (0,262; 1,497)	0,293	Không
Độ mặn (ppm)	<16 ppt	102	0,739 (0,319; 1,712)	0,480	Không
N-NO ₂ (ppm)	≥0,5 ppm	102	4,091 (1,476; 11,337)	0,007	Có
	<0,5 ppm		0,244 (0,088; 0,678)		
N-NH ₄ (ppm)	≥1 ppm	102	1,636 (0,671; 3,994)	0,279	Không
H ₂ S (ppm)	≥0,013 ppm	102	1,810 (0,788; 4,156)	0,162	Có
	<0,013 ppm		0,552 (0,241; 1,269)		
pH	<7,5 hoặc >8,5	102	1,690 (0,674; 4,237)	0,263	Không
Nhiệt độ (°C)	<29 hoặc >30	102	1,128 (0,491; 2,591)	0,777	Không

3.2.2. Xác định yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh do nhiễm EHP trên tôm nuôi bằng phương pháp hồi quy logistic đa biến

Trong số 4 yếu tố nguy cơ tiềm năng (có $P < 0,20$ và $OR > 1$) được đưa vào mô hình phân tích hồi quy logistic đa biến, có 2 yếu tố nguy cơ ($P < 0,10$) tương quan ý nghĩa đến bệnh do nhiễm EHP, bao gồm nước ao bị nhiễm EHP ($P = 0,026$) và nồng độ N-NO₂ ≥ 0,5 ppm ($P = 0,053$). Xác suất (P) dự đoán xảy ra bệnh do nhiễm EHP trên tôm nuôi khi có đủ 2 yếu tố nguy cơ ở trên là 94% (Bảng 5).

Kết quả mô hình đa biến có thể giải thích nguy cơ tôm bị nhiễm EHP như sau:

- Nước ao nuôi bị nhiễm EHP là yếu tố nguy cơ gây nhiễm EHP ở tôm với nguy cơ xảy ra cao gấp 12 lần (Bảng 5).

- Khi nồng độ N-NO₂ trong ao ≥ 0,5 ppm, nguy cơ tôm bị bệnh nhiễm EHP cao gấp 2,9 lần (Bảng 5). N-NO₂ là một trong những chất độc đối với tôm nuôi, nó được tạo ra trong nước do nhóm vi khuẩn *Nitrosomonas* chuyển hoá nitơ [17]. Tuy nhiên, N-NO₂ cũng dễ dàng bị chuyển hoá thành NO₃ cũng bởi nhóm vi khuẩn *Nitrobacter* và môi trường giàu oxi [17], [18]. Giới hạn cho phép là 0,05 ppm theo QCVN 08-MT: 2015/BTNMT [19]. Tuy nhiên, theo Whetstone (2000) nồng độ N-NO₂ trong các ao nuôi tôm < 0,23 ppm được xem là an toàn [20].

Bảng 5. Tương quan đa biến giữa bệnh do nhiễm EHP và các yếu tố nguy cơ

Các biến liên quan	Giải thích	Bệnh do nhiễm EHP (bệnh/không bệnh)			
		N	Hệ số OR (khoảng tin cậy 95%)	Giá trị P	Xác suất dự đoán
Nước ao nhiễm EHP	Dương tính	101	11,992 (1,339; 107,394)	0,026	94%
N-NO ₂ (ppm)	≥ 0,5 ppm		2,946 (0,984; 8,817)	0,053	
Hệ số hồi quy			0,330	0,000	

3.3. Phân tích yếu tố nguy cơ liên quan đến WFD

3.3.1. Xác định yếu tố nguy cơ tiềm năng

Trong số 22 yếu tố được phân tích hồi quy logistic đơn biến, có 7 yếu tố nguy cơ tiềm năng ($P < 0,20$) liên quan đến WFD trên tôm nuôi, bao gồm áp dụng kỹ thuật nuôi tôm truyền thống ($P = 0,034$), ao nuôi là ao đất ($P = 0,172$), độ sâu mực

nước ao $\leq 1,2$ m ($P = 0,164$), không dùng kháng sinh ($P = 0,138$), nuôi tôm trong mùa mưa ($P = 0,161$), tôm bị nhiễm EHP ($P = 0,005$) và nồng độ $H_2S \geq 0,013$ ppm ($P = 0,098$) (Bảng 6). Như vậy, các yếu tố sinh học khác bao gồm tổng *Vibrio* spp. trong tôm và trong nước ao, tảo lam, tảo giáp và ký sinh trùng 2 tế bào *Gregarine* đều không phải là yếu tố nguy cơ gây WFD trên tôm nuôi.

Bảng 6. Tương quan đơn biến giữa WFD và các yếu tố nguy cơ tiềm năng

		WFD (bệnh/không bệnh)			
Các biến liên quan	Giải thích	N	Hệ số OR (khoảng tin cậy 95%)	Giá trị P	Nguy cơ tiềm năng
I. Các biến phi sinh học về quản lý ao nuôi					
Kỹ thuật nuôi	Truyền thống	102	3,656 (1,102; 12,125)	0,034	Có
	Công nghệ		0,274 (0,082; 0,907)		
Mật độ thả nuôi	>200 con/m ²	102	1,967 (0,667; 5,805)	0,220	Không
Loại ao nuôi	Ao đất	102	1,283 (0,443; 3,717)	0,172	Có
	Ao bạt		0,779 (0,269; 2,257)		
Mức nước ao nuôi	≤1,2 m	100	2,362 (0,704; 7,926)	0,164	Có
	>1,2 m		0,423 (0,126; 1,420)		
Tuổi tôm đang nuôi	<58 ngày	101	1,180 (0,415; 3,352)	0,756	Không
Cỡ tôm đang nuôi	≥5,6 g/con	98	1,350 (0,459; 3,969)	0,585	Không
Dùng kháng sinh	Không	102	2,268 (0,768; 6,695)	0,138	Có
	Có		0,441 (0,149; 1,302)		
Dùng hoá chất diệt khuẩn nước	Không	102	1,716 (0,599; 4,918)	0,314	Không
Mùa vụ	Mùa mưa	102	2,236 (0,725; 6,900)	0,161	Có
	Mùa khô		0,447 (0,145; 1,379)		
II. Các biến sinh học hiện diện trên tôm và trong nước ao nuôi					
Tổng số <i>Vibrio</i> sp. trong gan tôm	≥10 ³ cfu/g	102	1,058 (0,338; 3,309)	0,923	Không
Tổng số <i>Vibrio</i> sp. trong nước ao	>10 ³ cfu/ml	102	0,685 (0,241; 1,947)	0,478	Không
Tổng số tảo lam	>3.000	102	1,152 (0,406; 3,268)	0,791	Không

trong nước (tế bào/lít)	tế bào/lít				
Tổng số tảo giáp trong nước (tế bào/lít)	≥ 2.500 tế bào/lít	101	1,111 (0,218; 5,667)	0,899	Không
Tôm nhiễm EHP	Dương tính	102	4,942 (1,639; 14,904)	0,005	Có
	Âm tính		0,202 (0,067; 0,610)		
Tôm nhiễm <i>Gregarine</i>	Dương tính	102	2,461 (0,519; 11,659)	0,257	Không
III. Các biến phi sinh học hiện diện trong nước ao nuôi					
Độ kiềm (ppm)	<80 hoặc >120	102	0,808 (0,270; 2,419)	0,703	Không
Độ mặn (ppt)	<16 ppt	102	1,210 (0,425; 3,440)	0,721	Không
N-NO ₂ (ppm)	$\geq 0,5$ ppm	102	0,857 (0,221; 3,325)	0,824	Không
N-NH ₄ (ppm)	≥ 1 ppm	102	1,059 (0,337; 3,329)	0,922	Không
H ₂ S (ppm)	$\geq 0,013$ ppm	102	2,495 (0,844; 7,376)	0,098	Có
	$<0,013$ ppm		0,401 (0,136; 1,185)		
pH	$<7,5$ hoặc $>8,5$	102	1,270 (0,401; 4,026)	0,685	Không
Nhiệt độ (°C)	≥ 29	102	1,962 (0,589; 6,538)	0,272	Không

3.3.2. Xác định yếu tố nguy cơ liên quan đến WFD trên tôm nuôi bằng phương pháp hồi quy logistic đa biến

Từ 7 yếu tố nguy cơ tiềm năng ($P < 0,20$ và $OR > 1$) gây WFD được đưa vào mô hình phân tích logistic đa biến để tìm yếu tố nguy cơ gây bệnh. Kết quả cho thấy có 4 yếu tố nguy cơ thu được

trong mô hình đa biến cuối cùng bao gồm mực nước ao nuôi $\leq 1,2$ m ($P=0,003$), nuôi tôm trong mùa mưa ($P=0,002$), tôm bị nhiễm EHP ($P=0,002$) và áp dụng kỹ thuật nuôi truyền thống ($P=0,008$). Xác suất (P) dự đoán cho WFD trên tôm nuôi khi có đủ 4 yếu tố nguy cơ ở trên là 98% (Bảng 7).

Bảng 7. Tương quan đa biến giữa WFD và các yếu tố nguy cơ

Các biến liên quan	Mã hoá biến	WFD (bệnh/không bệnh)			
		N	Hệ số OR (khoảng tin cậy 95%)	Giá trị P	Xác suất dự đoán
Mực nước ao nuôi	$\leq 1,2$ m	100	16,215 (2,528; 103,981)	0,003	98%
Mùa vụ xuất hiện bệnh	Mùa mưa		13,178 (2,503; 69,390)	0,002	
Tôm nhiễm EHP	Dương tính		9,355 (2,204; 39,703)	0,002	
Kỹ thuật nuôi	Truyền thống		8,931 (1,783; 44,732)	0,008	
Hệ số hồi quy			0,001	0,000	

Kết quả mô hình đa biến có thể giải thích nguy cơ tôm bị bệnh phân trắng như sau:

- Mức nước ao nuôi $\leq 1,2$ m là yếu tố nguy cơ gây ra WFD ở tôm với nguy cơ xảy ra cao gấp 16 lần (OR=16,215) (Bảng 7).

- Mùa mưa chính là yếu tố nguy cơ gây ra WFD ở tôm với nguy cơ xảy ra cao gấp 13 lần (OR=13,178) (Bảng 7). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu trước đây, ở ĐBSCL, WFD thường xuất hiện sau 2 tháng thả nuôi và tập trung cao vào các tháng mùa mưa 6, 7 và 8 [21].

- Tôm bị nhiễm EHP là yếu tố nguy cơ gây ra WFD ở tôm với nguy cơ xảy ra cao gấp 9 lần (OR=9,355) (Bảng 7).

- Nuôi tôm bằng kỹ thuật nuôi tôm truyền thống là yếu tố nguy cơ gây ra WFD ở tôm với nguy cơ xảy ra cao gấp 9 lần (OR=8,931) (Bảng 7).

3.4. Phân tích yếu tố nguy cơ liên quan đến GRD

3.4.1. Xác định yếu tố nguy cơ tiềm năng

Kết quả phân tích hồi quy logistic đơn biến cho thấy, có 17/26 biến nguy cơ tiềm năng có giá trị $P \leq 0,20$ và $OR > 1$ (Bảng 8). Có 9 biến không phải là yếu tố nguy cơ ($P > 0,05$) gây GRD trên tôm nuôi bao gồm độ sâu mực nước ao nuôi, cỡ tôm, sử dụng hoá chất diệt khuẩn nước, tảo lam, tảo giáp, tôm nhiễm EHP, độ kiềm, H_2S và pH (Bảng 8). Như vậy, mầm bệnh EHP nhiễm trên tôm không phải là yếu tố nguy cơ gây GRD.

Bảng 8. Tương quan đơn biến giữa GRD và các yếu tố nguy cơ tiềm năng

		GRD (bệnh/không bệnh)			
Các biến liên quan	Mã hoá biến	N	Hệ số OR (khoảng tin cậy 95%)	Giá trị P	Nguy cơ tiềm năng
I. Các biến phi sinh học về quản lý ao nuôi					
Kỹ thuật nuôi	Truyền thống	102	3,194 (1,411; 7,231)	0,005	Có
	Công nghệ		0,313 (0,138; 0,709)		
Mật độ thả nuôi	>200 con/m ²	102	1,762 (0,801; 3,878)	0,159	Có
	<200 con/m ²		0,568 (0,258; 1,248)		
Loại ao nuôi	Ao đất	102	1,765 (0,781; 3,987)	0,172	Có
	Ao bạt		0,567 (0,251; 1,280)		
Mức nước ao nuôi	≤1,2 m	100	0,851 (0,382; 1,899)	0,694	Không
Tuổi tôm đang nuôi	≥58 ngày tuổi	101	4,331 (1,872; 10,018)	0,001	Có
	<58 ngày tuổi		0,231 (0,100; 0,534)		
Cỡ tôm đang nuôi	≥5,6 g/con	98	1,639 (0,737; 3,646)	0,226	Không
Dùng kháng sinh	Có	102	3,194 (1,411; 7,231)	0,005	Có
	Không		0,313 (0,138; 0,709)		
Dùng hoá chất diệt khuẩn nước	Có	102	1,125 (0,499; 2,536)	0,776	Không
Mùa vụ	Mùa khô	102	1,686 (0,766; 3,711)	0,194	Không
	Mùa mưa		0,593 (0,269; 1,305)		
II. Các biến sinh học hiện diện trên tôm và trong nước ao nuôi					
Tổng số <i>Vibrio</i> sp.	<10 ³ cfu/g	102	2,580 (1,084; 6,141)	0,032	Có

trong gan tôm	≥10 ³ cfu/g		0,388 (0,163; 0,923)		
Tổng số <i>Vibrio</i> sp. trong nước ao	≤10 ³ cfu/ml	102	2,340 (1,052; 5,203)	0,037	Có
	>10 ³ cfu/ml		0,427 (0,192; 0,951)		
Tổng số tảo lam trong nước	>3.000 tế bào/lít	102	1,172 (0,537; 2,558)	0,691	Không
Tổng số tảo giáp trong nước	≥2.500 tế bào/lít	101	1,500 (0,427; 5,275)	0,527	Không
Tôm nhiễm EHP	Dương tính	102	1,345 (0,589; 3,073)	0,482	Không
Tôm nhiễm <i>Gregarine</i>	Dương tính	102	0,524 (0,220; 1,247)	0,144	Có
	Âm tính		1,908 (0,802; 1,698)		
WFD	Bệnh	102	0,447 (0,145; 1,380)	0,161	Có
	Không bệnh		2,237 (0,725; 6,897)		
III. Các biến phi sinh học hiện diện trong nước ao nuôi					
Độ kiềm (ppm)	<80 hoặc >120	102	1,083 (0,466; 2,513)	0,853	Không
Độ mặn (ppt)	<15 ppt	102	3,864 (1,576; 9,473)	0,003	Có
	≥15 ppt		0,259 (0,106; 0,635)		
N-NO ₂ (ppm)	≥0,5 ppm	102	2,118 (0,782; 5,737)	0,140	Có
	<0,5 ppm		0,472 (0,174; 1,279)		
N-NH ₄ (ppm)	≥1 ppm	102	1,764 (0,741; 4,201)	0,200	Có
	<1 ppm		0,567 (0,238; 1,350)		
H ₂ S (ppm)	≥0,013 ppm	102	1,333 (0,609; 2,919)	0,472	Không
pH	<7,5 hoặc >8,5	102	0,558 (0,221; 1,407)	0,216	Không
Nhiệt độ (°C)	<29 hoặc >30	102	1,800 (0,812; 3,988)	0,148	Có
	29 - 30		0,556 (0,251; 1,232)		

3.4.2. Xác định yếu tố nguy cơ bằng phân tích hồi quy logistic đa biến

Từ 17 biến tiềm năng ($P \leq 0,20$ và $OR > 1$) từ phân tích hồi quy logistic đơn biến được đưa tất cả vào xây dựng mô hình hồi quy logistic đa biến. Kết quả cho thấy, GRD trên tôm nuôi chỉ có 5 yếu tố nguy cơ ($P < 0,10$) bao gồm có sử dụng kháng sinh cho tôm ăn trong quá trình nuôi, tuổi tôm ≥ 58 ngày, độ mặn < 15 ppt, nồng độ N-NH₄ ≥ 1 ppm và áp dụng kỹ thuật nuôi tôm truyền thống. Xác suất (P) dự đoán cho GRD trên tôm nuôi khi có đủ 5 yếu tố nguy cơ ở trên là 95% (Bảng 9).

Kết quả mô hình đa biến giải thích nguy cơ tôm bị GRD như sau:

- Những ao nuôi có sử dụng kháng sinh cho tôm ăn là nguyên nhân gây GRD và nguy cơ xảy ra bệnh cao gấp 4,1 lần ($OR = 4,104$) ao không cho tôm ăn kháng sinh (Bảng 9).

- GRD thường xảy ra ở tuổi tôm ≥ 58 ngày và nguy cơ xảy ra bệnh cao gấp 3,8 lần ($OR = 3,770$) (Bảng 9). Điều này cũng phù hợp với thực tế, theo kết quả điều tra thông tin từ người nuôi trong nghiên cứu này thì tôm thẻ chân trắng khi nuôi được trên 1,5 tháng (> 45 ngày) thì mới phát hiện

và đánh giá tôm bị chậm lớn rõ ràng và chính xác nhất.

- Khi nuôi tôm ở độ mặn <15 ppt, nguy cơ tôm bị chậm lớn cao gấp 3,8 lần (OR=3,769) (Bảng 9). Giới hạn tăng trưởng và phát triển của tôm thẻ chân trắng là 5-35 ppt (QCVN02-19: 2014/BNNPTNT) [22]. Tuy nhiên, độ mặn trong nước là một trong những yếu tố có ảnh hưởng đến sinh lý và sự tăng trưởng của tôm nuôi [23]. Theo ý kiến đa số hộ nông dân trong quá trình điều tra cho rằng khi nuôi tôm trong mùa mưa với độ mặn nước thấp, tôm thường bị GRD.

- Khi nồng độ N-NH₄ trong ao ≥1 ppm, nguy cơ tôm bị GRD cao gấp 3,7 lần (OR=3,698) (Bảng 9). N-NH₄ trong nước ao cũng là một trong những yếu tố có ảnh hưởng đến sự sinh trưởng và phát triển của tôm nuôi. Ở hàm lượng 0,45 ppm có thể làm giảm 50% sự sinh trưởng của các loài tôm he [23], [24]. Giới hạn cho phép của NH₃ trong ao nuôi phải <0,3 ppm (QCVN02-19: 2014/BNNPTNT) [22].

- GRD xảy ra ở quy trình nuôi tôm truyền thống cao gấp 2,6 lần (OR=2,560) so với quy trình nuôi tôm công nghệ (Bảng 9).

Bảng 9. Tương quan đa biến giữa GRD và các yếu tố nguy cơ

Các biến liên quan	Giải thích	GRD (bệnh/không bệnh)			
		N	Hệ số OR (khoảng tin cậy 95%)	Giá trị P	Xác suất dự đoán
Sử dụng kháng sinh	Có	101	4,104 (1,498; 11,244)	0,006	95%
Tuổi tôm	≥58 ngày		3,770 (1,366; 10,405)	0,010	
Độ mặn	<15 ppt		3,769 (1,202; 11,815)	0,023	
N-NH ₄	≥1 ppm		3,698 (1,153; 11,858)	0,028	
Kỹ thuật nuôi	Truyền thống		2,560 (0,980; 6,684)	0,055	
Hệ số hồi quy			0,056	0,000	

Như vậy, yếu tố mùa vụ chỉ là yếu tố nguy cơ tiềm năng đối với GRD, mặc dù nguy cơ xảy ra bệnh trong mùa khô cao gấp khoảng 1,7 lần (OR=1,686 và P=0,194) so với mùa mưa (Bảng 8) và không phải là yếu tố nguy cơ khi phân tích hồi quy logistic đa biến (Bảng 9). Thực tế cho thấy rằng GRD xảy ra quanh năm.

Việc sử dụng kháng sinh trong quá trình nuôi tôm có thể giúp làm giảm mật độ vi khuẩn *Vibrio* spp. nhiễm trên tôm và trong nước ao. Đây có thể là lý do các ao tôm bị GRD có mật độ tổng *Vibrio* spp. nhiễm trên tôm và nước ao đều lần lượt <10³ cfu/g và ≤10³ cfu/ml. Tuy nhiên, việc sử dụng kháng sinh trong nuôi tôm là yếu tố chính gây cho tôm bị GRD.

4. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

4.1. Kết luận

Nghiên cứu dịch tễ học cho các bệnh do nhiễm EHP, WFD và GRD trên tôm với các yếu tố liên quan bao gồm sinh học và phi sinh học cho thấy bệnh do nhiễm EHP có liên quan đến WFD. Trong khi, cả 2 bệnh do nhiễm EHP và WFD không liên quan với GRD. Vì thế, người nuôi tôm cũng cần quan tâm quản lý chặt chẽ nguồn lây nhiễm EHP từ khâu đầu vào, bao gồm nguồn nước và con giống để góp phần trong phòng WFD trên tôm nuôi.

Bệnh do nhiễm EHP được tìm thấy 2 yếu tố nguy cơ là nguồn nước ao bị nhiễm EHP và nồng

độ khí độc N-NO_2 trong ao cao. Xác suất dự đoán xảy ra bệnh là 94%.

WFD được tìm thấy 4 yếu tố nguy cơ là độ sâu mực nước ao nuôi thấp, nuôi tôm trong mùa mưa, tôm bị bệnh do nhiễm EHP và áp dụng kỹ thuật nuôi truyền thống. Xác suất dự đoán xảy ra bệnh là 98%.

GRD được tìm thấy 5 yếu tố nguy cơ là nuôi tôm có sử dụng kháng sinh, tuổi tôm gần 2 tháng, độ mặn nước ao thấp, nồng độ khí độc N-NH_4 trong ao cao và áp dụng kỹ thuật nuôi tôm theo truyền thống. Xác suất dự đoán xảy ra bệnh là 95%.

4.2. Kiến nghị

Cần triển khai thêm những nghiên cứu sâu hơn để khẳng định hoặc mở rộng các yếu tố/điều kiện có tương quan giữa bệnh EHP và WFD.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này là một phần nội dung của đề tài “Nghiên cứu giải pháp kiểm soát bệnh do vi bào tử trùng EHP và bệnh phân trắng gây ra trên tôm nuôi nước lợ”, với nguồn kinh phí được cấp từ Bộ Nông nghiệp và PTNT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tổng cục Thủy sản (2021). <https://tongcucthuysan.gov.vn/2021-07-12/tai-lieu-hoi-nghi-truc-tuyen-giai-phap-phat-trien-nganh-tom-nam-2021>. Ngày truy cập: 23/10/2022.

2. Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Sóc Trăng (2019). <https://sokhcn.soctrang.gov.vn/Default.aspx?sname=sokhcn&sid=1285&pageid=31788&catid=59004&id=296384&catname=Tin-Khoa-hoc-va-Cong-nghe&title=Giai-phap-phat-trien-nuoi-tom-nuoc-lo-hieu-qua-ben-vung>. Ngày truy cập: 23/10/2022.

3. Somboon, M., Purivirojkul, W., Limsuwan, C., Chuchird, N. (2012). Effect of *Vibrio* spp. in

white feces infected shrimp in Chantaburi, Thailand. *Kasetsart Uni. Fish. Res.* 36, 7–15.%

4. Sriurairatana S, Boonyawiwat V, Gangnonngiw W, Laosutthipong C, Hiranchan J, Flegel TW. (2014). White feces syndrome of shrimp arises from transformation, sloughing and aggregation of hepatopancreatic microvilli into vermiform bodies superficially resembling Gregarines. *PLoS One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099170> PMID: 24911022

5. Tang, K., Han, J., Aranguren, L., White-Noble, B., Schmidt, M., Piamsomboon, P., Risdiana, E., Hanggono, B. (2016). Dense populations of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in feces of *Penaeus vannamei* exhibiting white feces syndrome and pathways of their transmission to healthy shrimp. *J. Invertebr. Pathol.* 140, 1–7.

6. Hou, D., Huang, Z., Zeng, S., Liu, J., Wei, D., Deng, X., Weng, S., Yan, Q., He, J. (2018). Intestinal bacterial signatures of white feces syndrome in shrimp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 102, 3701–3709.

7. Kumar, T. S., Makesh, M., Alavandi, S. V., Vijayan, KK. (2022). Clinical manifestations of White feces syndrome (WFS), and its association with *Enterocytozoon hepatopenaei* in *Penaeus vannamei* grow-out farms: A pathobiological investigation. *Aquaculture*, volume 547, 737463, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737463>.

8. Supono, Wardiyanto, Harpeni, E., Khotimah, A. H., Ningtyas, A. (2019). Identification of *Vibrio* sp. as cause of white feces diseases in white shrimp *Penaeus vannamei* and handling with herbal ingredients in East Lampung Regency, Indonesia. *AACL Bioflux* 12, 417–425.

9. Tangprasittipap, A., Srisala, J., Chouwdee, S., Somboon, M., Chuchird, N., Limsuwan, C., Srisuvan, T., Flegel, T. W., Sritunyalucksana, K. (2013). The microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* is not the cause of white feces syndrome in whiteleg shrimp *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. *BMC Vet. Res.* 9, 139. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-139>.
10. NACA (2015). 1489731628_enterocytozoon-hepatopenaei-disease-card-2015.pdf
11. Yang S., Wu S., Li N., Shi C., Deng G., Wang Q., Zeng W., Lin Q. (2013). A cross-sectional study of the association between risk factors and hemorrhagic disease of grass carp in ponds in Southern China. *J Aquat Anim Health* 25 (4): 265 - 73. doi: 10.1080/08997659.2013.830996. PMID: 24341768.
12. Boonyawiwat V., Patanasatienkulb T., Kasornchandrach J., Poolkheta C., Yaemkasemd S., Hammell L., Davidson J. (2016). Impact of farm management on expression of early mortality syndrome-acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) on penaeid shrimp farms in Thailand. *J Fish Dis.*, 40, pp. 649-659, 10.1111/jfd.12545.
13. Nguyễn Ngọc Du, Tăng Quốc Hồng Sơn, Mã Tú Lan, Trương Hồng Việt (2022). Một số yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh trắng đuôi, thối đuôi trên cá tra giống (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*. Kỳ 1 – tháng 4/2022. Trang 86-93.
14. Tang, K., Pantoja, C. R., Redman, R. M., Han, J. E., Tran, L. H., Lightner, D. V. (2015). Development of in situ hybridization and PCR assays for the detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), a microsporidian parasite infecting penaeid shrimp. *J Invertebr Pathol.* 130, 37-41.
15. East, I., Kite, V., Daniels, P. and Garner, G. (2006). A cross-sectional survey of Australian chicken farms to identify risk factors associated with seropositivity to Newcastle disease virus. *Preventive Veterinary Medicine* 77:199– 214.
16. Daniel W. W. and Cross C. L. (2013). *Biostatistics a foundation for analysis in the health sciences*. Wiley Series in Probability and Statistics (Book). 10th edition. <https://doi.org/10.1002/9781118548387.scard>.
17. Boyd, C. E. (1990). *Water quality in pond for aquaculture*, Birmingham Publishing Co, Birmingham, USA, 482 p.
18. Vũ Thế Trụ (2000). *Cải tiến kỹ thuật nuôi tôm tại Việt Nam*. Nxb Nông nghiệp.
19. QCVN 08-MT: 2015/BTNMT. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về chất lượng nước mặt.
20. Whetstone, J. M., Treece, G. D., Browdy, C. L., Stokes, A. D. (2000). Opportunities and constraints in marine shrimp farming. Southern Regional Aquaculture Center.
21. Đặng Thị Hoàng Oanh, Phạm Trần Nguyên Thảo và Nguyễn Thanh Phương (2008). Đặc điểm mô bệnh học tôm sú (*Penaeus monodon*) có dấu hiệu bệnh phân trắng nuôi ở một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ* 2008 (1): 181-186.
22. QCVN02-19: 2014/BNNPTNT. Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về Cơ sở nuôi tôm nước lợ - Điều kiện bảo đảm vệ sinh thú y, bảo vệ môi trường và an toàn thực phẩm.
23. Chanratchakool, P. (2003). Problem in *Penaeus monodon* culture in low salinity areas, *Aquaculture Asia* VIII, 54-55.
24. Boyd, C. E. and Tucker, C. S. (1998). *Pond Aquaculture Water Quality Management*, Kluwer Academic Publishers, Norwell, Massachusetts.

SOME RISK FACTORS RELATED TO EHP INFECTIOUS DISEASE, WHITE FECES DISEASES AND GROWTH RETARDATION DISEASE IN WHITE LEG SHRIMP CULTURED IN MEKONG DELTA

Truong Hong Viet^{1,*}, Do Thi Cam Hong¹, Nguyen Thi Thai Tuat²,
Phan Thi Hong Nhi³, Dang Ngoc Minh Thu³, Dang Thi Hoang Oanh⁴,
Nguyen Thi Ngoc Tinh¹, Le Hong Phuoc¹

¹*Research Institute for Aquaculture No.II*

²*Graduate student, Faculty of Fisheries, Nong Lam University, Ho Chi Minh city*

³*Student, Faculty of Biology and Biotechnology, University of Science, Vietnam National University Ho Chi Minh city*

⁴*Faculty of Fisheries, Can Tho University*

**Email: truonghongviet@yahoo.com*

Summary

Shrimp farming has become the production industry of Vietnam with great export potential for many years. Even though the shrimp farming area has remarkably increased in recent years, there is a big challenge of diseases affecting shrimp production, which is intensified by disease misidentification and risk factors. In the Mekong Delta, *Enterocytozoon hepatopanaei* (EHP), white feces disease (WFD) and growth retardation disease (GRD) are the major concerns. The present study aimed to identify the risk factors causing EHP infection, WFD and GRD, as well as to determine a potential relationship between the three diseases in white leg shrimp. In this study, we used epidemiological approaches and multivariable logistic regression models to identify the risk factors. The results showed that EHP infection (34/102 ponds, accounted for 33,3%) was associated with WFD (17/102 ponds, accounted for 16,7%). Meanwhile, EHP infection and WFD were not associated with GRD (46/102 ponds, accounted for 45,1%). The infection of EHP in shrimp was associated with two risk factors of pond water being contaminated with EHP and concentration of toxic gas N-NO₂ in the pond ≥ 0.5 ppm. Risk factors for WFD were four: pond water level ≤ 1.2 m, shrimp farming in the rainy season, shrimp infected with EHP and applying traditional farming techniques. Growth retardation disease was found to have five risk factors: antibiotic use in shrimp culture, shrimp age ≥ 58 days, pond water salinity < 15 ppt, concentration of the toxic gas N-NH₄ in pond ≥ 1 ppm and applying traditional shrimp farming techniques. The predicted probability of disease due to EHP infection, WFD and GRD in cultured shrimp was 94, 98 and 95%, respectively.

Keywords: *EHP, WFD, GRD, shrimp farming, multivariable logistic regression model.*

Người phản biện: TS. Lý Thị Thanh Loan

Ngày nhận bài: 01/12/2022

Ngày thông qua phản biện: 20/12/2022

Ngày duyệt đăng: 6/3/2023