

## NGHIÊN CỨU BỆNH VI BÀO TỬ TRÙNG *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) TRÊN TÔM THẺ CHÂN TRẮNG NUÔI TẠI QUẢNG NINH VÀ NAM ĐỊNH

Trương Đình Hoài<sup>1\*</sup>, Đặng Thị Hóa<sup>1</sup>, Xa Đức Bình<sup>1</sup>, Mai Văn Thương<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Thúy Hồng<sup>1</sup>, Hoàng Thị Thùy Linh<sup>1</sup>, Trần Thị Diễm Quỳnh<sup>1</sup>,  
Trần Thị Trinh<sup>1</sup>, Đoàn Thị Ninh<sup>1</sup>, Lê Việt Dũng<sup>1</sup>, Kim Văn Vạn<sup>1</sup>, Trương Hồng Việt<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II

\*Tác giả liên hệ: tdhoai@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 12.06.2023

Ngày chấp nhận đăng: 20.11.2023

### TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm xác định tình hình dịch bệnh và đặc điểm bệnh do vi bào tử trùng (EHP) gây ra trên tôm thẻ chân trắng tại các vùng nuôi tập trung ở phía Bắc. Mẫu tôm từ 85 hộ nuôi ở 2 tỉnh Nam Định và Quảng Ninh được thu để thực hiện nghiên cứu. Kết quả xét nghiệm bằng kỹ thuật PCR đã xác định mẫu tôm từ 33 hộ (38,8%) dương tính với EHP. Kết quả tổng hợp dấu hiệu tôm mắc bệnh (n = 215) cho thấy tôm nhiễm bệnh do vi bào tử trùng phân đàn, chậm lớn (81,8%), đục cơ, óp thân, xuất hiện "hạt gạo" kích thước lớn hơn bình thường ở đốt đuôi (85,1%). Tôm bệnh còn xuất hiện một số dấu hiệu ruột xoắn, ruột không lấp đầy thức ăn. Kết quả nhuộm Giemsa từ mẫu tôm bệnh cho thấy vi bào tử EHP tập trung trong các cơ quan gan tụy, phần cơ đục và "hạt gạo" ở đốt đuôi của tôm. Tôm nhiễm bệnh xuất hiện chủ yếu vào các giai đoạn nuôi từ 30-60 ngày sau khi thả, chiếm tỷ lệ 78,7%. Kết quả nghiên cứu này góp phần hỗ trợ công tác chẩn đoán và cung cấp thông tin để đề ra biện pháp phòng ngừa hiệu quả bệnh EHP trên tôm.

Từ khóa: Vi bào tử trùng, tôm thẻ chân trắng, tỷ lệ nhiễm, dấu hiệu bệnh lý, miền Bắc Việt Nam.

### Study on *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) Diseases in White-leg Shrimps in Quang Ninh and Nam Dinh Provinces

### ABSTRACT

This study aimed to determine the disease situation and disease characteristics caused by microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in white-leg shrimps in farming areas in Northern Vietnam. Shrimp samples from 85 shrimp farms in Nam Dinh and Quang Ninh provinces were collected to conduct research. The detection results using the PCR assays determined that shrimp samples from 33 farms (38.8%) were positive for EHP. The analysis of diseased shrimps (n = 215) showed that the infected shrimps with EHP exhibited growth retardation (81.8%), muscle opacity, body shelling, and the appearance of larger "rice grains" in the caudal vertebra (85.1%). Diseased shrimps also showed signs of twisted intestines and intermittent food. Giemsa staining results from infected shrimp samples showed that EHP microspores were concentrated in the hepatopancreas organs the opaque muscle and "rice grains" of affected shrimps. Infected shrimps appeared mainly in the culture period from 30 to 60 days after stocking, accounting for 78.7%. The results of this study provide helpful information for the diagnosis and effective prevention measures for EHP in shrimps.

Keywords: *Enterocytozoon hepatopenaei*, whiteleg shrimp, prevalence, pathology, Northern Viet Nam.

### 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thủy sản là một ngành nghề kinh tế mũi nhọn, đóng một vai trò quan trọng trong nền kinh tế quốc gia (Nguyễn Thanh Long &

Huỳnh Văn Hiến, 2015). Ở Việt Nam, nuôi tôm thẻ chân trắng đang là một ngành sản xuất mũi nhọn với tiềm năng xuất khẩu lớn (Nguyễn & Nguyễn, 2019). Theo báo cáo của Tổng cục Thủy sản, năm 2022, tổng diện tích

nuôi tôm nước lợ tại Việt Nam đạt 737.000ha, diện tích nuôi tôm thẻ chân trắng ước đạt 115.000ha. Sản lượng tôm thẻ chân trắng đạt 474.000 tấn (Tổng cục Thủy sản, 2022). Tuy nhiên, gần đây hoạt động nuôi tôm thẻ chân trắng đang đối mặt với rất nhiều khó khăn, đặc biệt là hình thức nuôi thâm canh, mật độ nuôi cao đang mở rộng ở hầu hết các vùng nuôi nhằm tăng năng suất và hiệu quả sản xuất; Kèm theo đó thì tình hình dịch bệnh ngày càng trở nên phức tạp hơn, nhiều vùng xuất hiện các bệnh nguy hiểm trên tôm như bệnh đốm trắng do virus (WSSV), bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (EMS/AHPND), bệnh phân trắng (WFD), bệnh do vi bào tử trùng (EHP). Trong đó, bệnh do EHP là một mầm bệnh mới nổi, gây thiệt hại kinh tế nghiêm trọng đối với tôm nuôi ở nhiều quốc gia trên thế giới, trong đó có Việt Nam (Rajendran & cs., 2016).

Vi bào tử *Enterocytozoon hepatopenaei* là tác nhân chính của bệnh (Thitamadee & cs., 2016). EHP được phát hiện trên tôm sú chậm lớn ở các trang trại nuôi tôm ở Thái Lan vào năm 2009 (Tourtip & cs., 2009), Ấn Độ năm 2016 (Rajendran & cs., 2016) và Venezuela năm 2017 (Tang & cs., 2017). EHP thường được tìm thấy trong gan tụy của tôm và được báo cáo nhiễm ở tôm he Nhật Bản *Penaeus japonicus* tại Úc vào năm 2001 (Chayaburakul & cs., 2004). Cỡ tôm bị bệnh thường có trọng lượng 7-12 g/con hoặc 50-70 ngày tuổi, xảy ra ở nhiều loại độ mặn khác nhau của nước nuôi tôm (Somboon & cs., 2012). Vị trí nhiễm của EHP được tìm thấy ở gan tụy tôm và có ảnh hưởng đến các loại tế bào biểu mô của ống gan gồm tế bào R, tế bào B và tế bào E (Tourtip & cs., 2009). Các nghiên cứu sâu hơn cho thấy EHP có khả năng lây truyền ngang thông qua ăn thịt đồng loại và sống chung (Tang & cs., 2016; Tangprasittipap & cs., 2013). Điều này làm cho sự lây lan của bệnh EHP khó kiểm soát trong các ao bị nhiễm bệnh. Tuy chưa tính đến thiệt hại kinh tế, nhưng chi phí sản xuất tăng cao do hệ số chuyển hoá thức ăn tăng cao, sản lượng thu hoạch thấp và thời gian nuôi kéo dài hơn.

Mặc dù thông tin về bệnh EHP đã được ghi nhận ở nhiều vùng nuôi, tuy nhiên các nghiên

cứu về bệnh EHP ở Việt Nam còn nhiều hạn chế. Theo thống kê của Cục Thủy sản (2022), Quảng Ninh và Nam Định là hai tỉnh có diện tích nuôi tôm thẻ chân trắng lớn nhất miền Bắc, với lần lượt 3,465ha và 1.070ha, quy mô và mật độ nuôi khá cao nên rất dễ ảnh hưởng bởi dịch bệnh.

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát tình hình bệnh EHP ở các vùng nuôi tập trung ở Nam Định và Quảng Ninh, đồng thời xác định đặc điểm bệnh học của bệnh để cung cấp thông tin giúp phát hiện sớm dịch bệnh và đề xuất các giải pháp phòng trị bệnh trong tương lai.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu

Nghiên cứu được thực hiện trên mẫu tôm nhiễm bệnh EHP thu tại 2 tỉnh Quảng Ninh và Nam Định từ tháng 10/2021 đến tháng 10/2022.

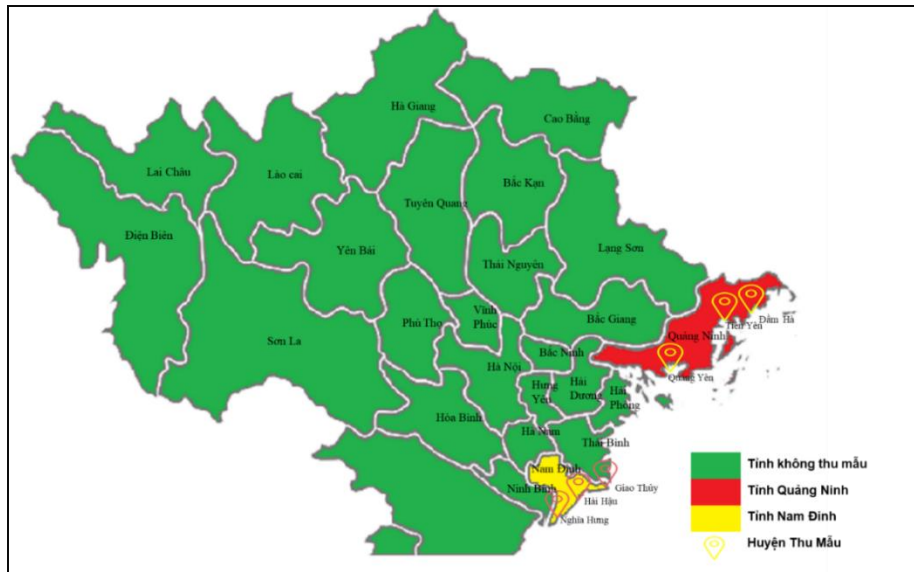
Các trang thiết bị, dụng cụ, hóa chất phục vụ cho quá trình kiểm tra, phân tích mẫu, đánh giá lâm sàng và xác định hình thái tác nhân, tách chiết DNA và giám định PCR được thực hiện tại Phòng Thí nghiệm Bệnh Thủy sản, Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam.

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Phương pháp thu mẫu

Để tiến hành nghiên cứu này, mẫu tôm từ 85 hộ nuôi được thu ngẫu nhiên từ tháng 10/2021 đến tháng 10/2022 để phân tích. Địa điểm thu mẫu là: 3 huyện Nghĩa Hưng (n = 17 hộ), Giao Thủy (n = 11 hộ), Hải Hậu (n = 13 hộ) của tỉnh Nam Định và 3 huyện Đầm Hà (n = 15 hộ), Tiên Yên (n = 16 hộ), Quảng Yên (n = 13 hộ) tỉnh Quảng Ninh. Tại mỗi hộ thu ngẫu nhiên từ 7-10 mẫu tôm/hộ. Các thông tin về kích cỡ, thời gian thả giống và tình hình sức khỏe được ghi chép và tổng hợp. Tôm sau khi thu được vận chuyển vận chuyển kín (đóng oxy) hoặc vận chuyển lạnh 2-8°C tùy vào điều kiện và thời gian vận chuyển mẫu về phòng thí nghiệm để phân tích.

Nghiên cứu bệnh vi bào tử trùng *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) trên tôm thẻ chân trắng nuôi tại Quảng Ninh và Nam Định



Hình 1. Bản đồ địa điểm thu mẫu tôm nhiễm bệnh do vi bào tử trùng (EHP)

### 2.2.2. Quan sát lâm sàng

Các dấu hiệu của tôm bệnh như tập tính, tăng trưởng, màu sắc phân, hiện tượng tôm chết được quan sát thực địa, ghi chép thông tin và kết hợp quan sát sau khi đưa về phòng thí nghiệm. Tại phòng thí nghiệm, thông tin, nguồn gốc, thời gian thu mẫu được ghi chép. Các dấu hiệu lâm sàng của tôm mắc bệnh ở gan tụy, ruột và cơ tôm được tổng hợp và phân tích theo phương pháp của Tang & cs. (2016).

### 2.2.3. Giám định bằng PCR

Một phần mẫu gan tụy, phân của tất cả mẫu tôm ở mỗi hộ được thu thành mẫu gộp, nghiền nhỏ và lấy 0,5ml huyền dịch để tách chiết DNA theo phương pháp của Tang & cs. (2015), phần mẫu còn lại được bảo quản trong điều kiện 4°C để phân tích bằng phương pháp nhuộm Giemsa. Các mẫu DNA sau tách được lưu ở điều kiện -20°C để sử dụng trong quá trình giám định bằng sinh học phân tử. Để giám định EHP, cặp mỗi đặc hiệu EHP-510F (Forward): 5'GCCTGAGAGATGGCTCCCACG-3' và EHP-510R (Reverse): 5'-GCGTACTATCCCCAGAGCCCG-3' được sử dụng (Tang & cs., 2015). Phản ứng khuếch đại được thực hiện trong máy PCR, dung dịch phản ứng bao gồm 200µm of each dNTP; 0,2µm of each primer; 10mm Tris-HCl; 50mm KCl; 1,5mm MgCl<sub>2</sub>;

2,5U Taq DNA polymerase và 5µl DNA (20 ng/µl). Mẫu đối chứng dương sử dụng trong phản ứng PCR là mẫu DNA dương tính của Viện Nuôi trồng Thủy sản II cung cấp, đối chứng âm là hỗn hợp phản ứng không chứa DNA và thay bằng PBS. Phản ứng khuếch đại sử dụng chu trình nhiệt được thực hiện đối với đoạn mỗi xác định loại vi bào tử trùng bao gồm: tiền biến tính ở 95°C trong 3 phút; chu kỳ lặp lại 35 lần: biến tính ở 95°C trong 30 giây, gắn mỗi ở 60°C trong 30 giây, tổng hợp kéo dài ở 72°C trong 30 giây; hoàn thành ở 72°C trong 15 phút (Tang & cs., 2015). Sản phẩm PCR được điện di trên gel 1,3% (TBE 1X) với thang DNA chuẩn 100bp (marker). Sử dụng nguồn điện di ở hiệu điện thế 100V cường độ 100mA, thời gian chạy điện di trong 30 phút. Sản phẩm PCR nếu dương tính sẽ cho vạch sáng ở vị trí 510bp.

### 2.2.4. Phương pháp nhuộm nhanh bằng Giemsa phát hiện vi bào tử trùng

Sau khi giám định PCR, mẫu gan tụy, phân lấy từ ruột tôm và cơ của những mẫu tôm nhiễm bệnh được sử dụng để nhuộm Giemsa (Merck, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Mẫu được phết lên lam kính để khô tự nhiên, sau đó cố định bằng methanol 15 phút trong 10 phút, để khô tự nhiên sau đó nhuộm giemsa 5% trong 20 phút, rửa sạch bằng nước và để khô tự nhiên

trước khi kiểm tra. Mẫu sau nhuộm được soi dưới kính hiển vi (100x) để xác định sự có mặt và mức độ tập trung của vi bào tử EHP trên các cơ quan của tôm nghi nhiễm bệnh theo các mức nhiễm nặng (phân bố dày), nhiễm vừa (phân bố thưa), nhiễm nhẹ (phân bố rải rác).

### 2.2.5. Xử lý số liệu

Dấu hiệu lâm sàng của bệnh được tổng hợp và phân tích sau khi có kết quả giám định bằng phương pháp PCR. Số liệu về tỷ lệ hộ nhiễm bệnh, tôm nhiễm bệnh được phân tích thống kê mô tả trên phần mềm Excel 2016.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tỷ lệ nhiễm bệnh vi bào tử trùng trên tôm thẻ chân trắng tại vùng nghiên cứu

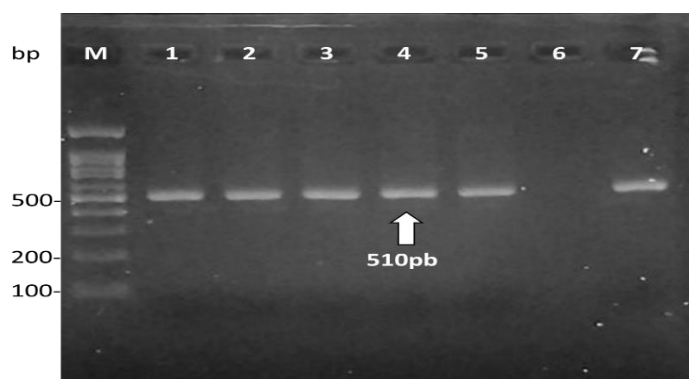
Trong tổng số 85 hộ nuôi tôm được thu mẫu, đã xác định được 33/85 hộ (38,8%) có mẫu tôm nhiễm bệnh vi bào tử trùng gây ra bằng phương pháp PCR (Hình 2). Tỷ lệ dương tính tại các huyện dao động ở mức 36,4-41,2% tại thời điểm thu mẫu. Tại Nam Định, tỷ lệ hộ nuôi tại Nghĩa Hưng chiếm tỷ lệ nhiễm cao nhất với 7/17 hộ dương tính, chiếm 41,2%. Huyện Nghĩa Hưng là vùng nuôi lớn, tập trung và tỷ lệ nuôi thâm canh cao, đây cũng có thể là một trong những nguyên nhân khiến dịch bệnh xảy ra nhiều hơn. Các huyện Hải Hậu, Giao Thủy có tỷ lệ tôm nhiễm bệnh ở mức tương đương nhau lần lượt là 36,4%; 38,5%. Tại tỉnh Quảng Ninh, Huyện Đầm Hà có tỷ lệ tôm nhiễm bệnh cao nhất 6/15 (40,0%), đây

cũng là huyện được đánh giá là những vùng nuôi tôm trọng điểm của tỉnh Quảng Ninh. Tại các huyện Tiên Yên, Quảng Yên tỷ lệ nhiễm thấp hơn huyện Đầm Hà, dao động trong khoảng 37,5-38,5% tại thời điểm thu mẫu (Bảng 1).

### 3.2. Kết kiểm tra lâm sàng và tổng hợp các đặc điểm bệnh lý đặc trưng

#### 3.2.1. Tổng hợp dấu hiện bệnh lý của tôm nhiễm bệnh

Tổng số 215 mẫu tôm từ 33 hộ nuôi tôm nhiễm bệnh EHP đã giám định bằng PCR được tổng hợp và đánh giá về các đặc điểm bệnh. Kết quả cho thấy tôm bệnh có triệu chứng tách đàn, bơi trên mặt nước, dạt vào rìa bờ, phản xạ kém chiếm tỉ lệ 42,4% số ao bệnh được quan sát (Bảng 2). Các dấu hiệu như bỏ ăn hoàn toàn, kém ăn cũng được ghi nhận tuy nhiên tỷ lệ chiếm không cao với tỷ lệ lần lượt là 18,2%; 30,3% số ao bệnh được kiểm tra, hơn 50% số ao tôm nhiễm bệnh tôm vẫn ăn bình thường. Các dấu hiệu về tăng trưởng chậm, tôm còi và phân đàn trong tôm nuôi được biểu hiện khá rõ ràng với 27/33, chiếm 81,8% (Bảng 2, Hình 4). Các biểu hiện ở tôm thẻ chân trắng khi nhiễm bệnh EHP như chậm lớn, giảm hoặc bỏ ăn trong nghiên cứu này tương đồng với kết quả mô tả của nghiên cứu trước đó (Newman, 2015). Tôm thẻ chân trắng nhiễm bệnh EHP tăng trưởng chậm trên tôm cũng được ghi nhận tại Ấn Độ (Biju & cs., 2016), trên cả tôm thẻ chân trắng và tôm sú từ Thái Lan (Rajendran & cs., 2016).



Ghi chú: M: Marker; Giếng 1-5: Mẫu tôm đại diện từ các hộ nuôi nhiễm bệnh; Giếng 6: Đối chứng âm; Giếng 7: Đối chứng dương; EHP DNA cung cấp từ Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II.

Hình 2. Kết quả giám định PCR từ mẫu tôm nhiễm EHP

**Bảng 1. Kết quả đánh giá tỷ lệ hộ có ao nuôi nhiễm bệnh EHP**

Tên tỉnh thu mẫu	Tên huyện thu mẫu	Số hộ thu mẫu	Số hộ có tôm nhiễm bệnh	Tỷ lệ hộ có tôm nhiễm bệnh (%)
Nam Định	Nghĩa Hưng	17	7	41,2
	Hải Hậu	11	4	36,4
	Giao Thủy	13	5	38,5
Quảng Ninh	Đầm Hà	15	6	40,0
	Tiên Yên	16	6	37,5
	Quảng Yên	13	5	38,5
Tổng/TB		85	33	38,8

**Bảng 2. Một số biểu hiện lâm sàng của tôm nhiễm bệnh EHP (n = 33)**

Triệu chứng	Biểu hiện	Số hộ có tôm xuất hiện bệnh (n = 33)	Tỷ lệ (%)
Hoạt động bơi lội	Tôm yếu, bơi lờ đờ, dạt bờ	14	42,4
	Bình thường	19	57,6
Hoạt động bắt mồi	Bỏ ăn hoàn toàn	6	18,2
	Kém, ăn ít	10	30,3
	Bình thường	17	51,5
Tăng trưởng	Chậm lớn, phân đàn	27	81,8
	Bình thường	6	18,2
Phân tôm	Có màu trắng, xốp	14	42,4
	Màu phụ thuộc thức ăn	19	57,6
Màu sắc cơ thể	Nhợt nhạt, hoặc sẫm màu	15	45,5
	Bình thường	18	54,5
Hiện tượng chết	Chết rải rác	6	18,2
	Không chết	27	81,8

Ngoài ra, một trong những dấu hiệu khá phổ biến trong ao nuôi tôm nghi nhiễm EHP với ao nuôi nhiễm nặng, phân tôm có thể có màu trắng, xốp, xuất hiện các dải phân nhỏ màu trắng trong sàng ăn hoặc trên mặt nước chiếm tỷ lệ 42,4%. Các dấu hiệu này cũng được ghi nhận trên tôm nhiễm EHP quan sát được trong nghiên cứu của (Tang & cs., 2016), nhóm tác giả nhận định rằng vi bào tử trùng EHP nhân lên rất nhanh trong tế bào biểu bì ống gan tụy, sau đó các lớp tế bào này bị hoại tử và một lượng lớn vi bào tử EHP được thải ra trong phân tôm, tôm dễ nhiễm vi khuẩn làm phân xốp và một số tôm nhiễm bệnh phân chuyển sang màu trắng. Các đặc điểm về màu sắc cơ thể tôm thường bị biến

đổi, màu sắc nhợt nhạt, cơ thịt có màu trắng đục hoặc có màu tối sẫm do cơ thể yếu được ghi nhận trong nghiên cứu này và chiếm ở mức trung bình 45,5%.

Ao tôm xuất hiện hiện tượng tôm chết rải rác chiếm tỷ lệ khá thấp (18,2%). Hiện tượng tỷ lệ chết thấp trên ao nuôi tôm bị nhiễm EHP cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Biju & cs. (2016). Trong thực tế, tôm nhiễm bệnh thường chết do sự phân cỡ, tôm lớn và nhiễm nhẹ ăn những con tôm yếu, còi và nhiễm nặng trong đàn. Trong ao nuôi EHP có thể lan truyền rất nhanh giữa các cá thể cùng ao, bể nuôi hoặc thông qua tôm khỏe ăn xác tôm nhiễm bệnh (Tang & cs., 2016; Tangprasittipap & cs., 2013).

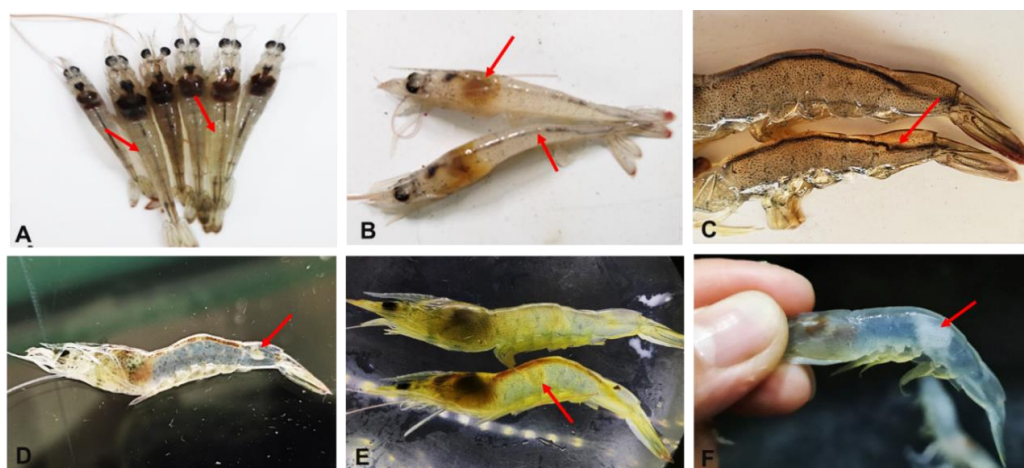


Ghi chú: A: Tôm bơi lơ đờ; B, C: Tôm còi, chậm lớn và kích cỡ không đồng đều.

**Hình 4. Dấu hiệu lâm sàng tôm nhiễm bệnh**

**Bảng 3. Bệnh tích của tôm nhiễm bệnh EHP (n = 215)**

Cơ quan phân tích	Dấu hiệu bệnh lý	Số lượng tôm xuất hiện	Tỷ lệ (%)
Gan tụy	Sưng, nhũn, màu nhạt	111	51,6
	Teo nhỏ, chai cứng	86	40
	Bình thường	18	8,4
Ruột	Ruột đứt đoạn	165	76,7
	Ruột xoắn	32	14,9
	Bình thường	18	8,4
Cơ	Đục cơ, ộp, xuất hiện hạt gạo kích thước lớn hơn bình thường	183	85,1
	Chắc, bình thường	32	14,9



Ghi chú: A, B: Gan tụy nhũn, nhạt màu, ruột trống, ruột đứt đoạn; C: Ruột xoắn; D: Xuất hiện hạt gạo kích thước lớn đục cơ; E, F: Xuất hiện hiện tượng đục cơ đám mây.

**Hình 5. Dấu hiệu lâm sàng tôm nhiễm bệnh**

### 3.2.2. Dấu hiệu bệnh tích của tôm nhiễm bệnh

Tổng số 215 mẫu tôm được tổng hợp từ 33 hộ nuôi nhiễm bệnh do vi bào tử trùng sau giải

phẫu, quan sát các đặc điểm bệnh tích có các dấu hiệu đặc trưng như: Tôm nhiễm EHP ghi nhận có biểu hiện gan tụy nhũn và màu sắc nhạt hơn bình thường chiếm 51,6%, gan tụy teo

nhỏ, chai cứng chiếm 40%. Ngoài ra, biểu hiện ruột đứt đoạn được ghi nhận có tỷ lệ khá cao chiếm 76,7% (Hình 5A, B), biểu hiện ruột xoắn khi nhiễm bệnh có được ghi nhận tuy nhiên chiếm tỷ lệ tương đối thấp 14,9% (Hình 5C). Các dấu hiệu tôm bị đục cơ dạng đám mây, thịt ộp và xuất hiện nốt đục dạng hạt gạo ở đoạn ruột sau tại đốt bụng số 6 với tần suất bắt gặp cao 183/215 số mẫu nghi nhiễm chiếm 85,1% (Bảng 3 và Hình 5D, E, F). Các dấu hiệu của bệnh do vi bào tử trùng gây trong nghiên cứu này cũng tương đồng với các kết quả đã được báo cáo trước đó (Babu & cs., 2021; Han & cs., 2016). EHP nhân lên trong cytoplasmic của tế bào biểu bì ống trong gan tụy tôm có thể làm cho gan tụy tôm thay đổi màu sắc và hình dạng (Tang & cs., 2015; Tangprasittipap & cs., 2013; Tourtip & cs., 2009). Phần cơ đục được coi là nơi tập trung vi bào tử EHP ở giai đoạn nặng và có thể quan sát được EHP ở giai đoạn trưởng thành trong mẫu mô cơ (Han & cs., 2016). Giai đoạn tôm nhiễm nặng, nhiều bộ phận trên cơ tôm chuyển màu trắng đục do vi bào tử trùng ký sinh trong các tổ chức, bám vào cơ vân làm cơ mờ và đục dần (Hình 5E, F).

### 3.3. Kết quả phát hiện vi bào tử trùng bằng nhuộm nhanh Giemsa

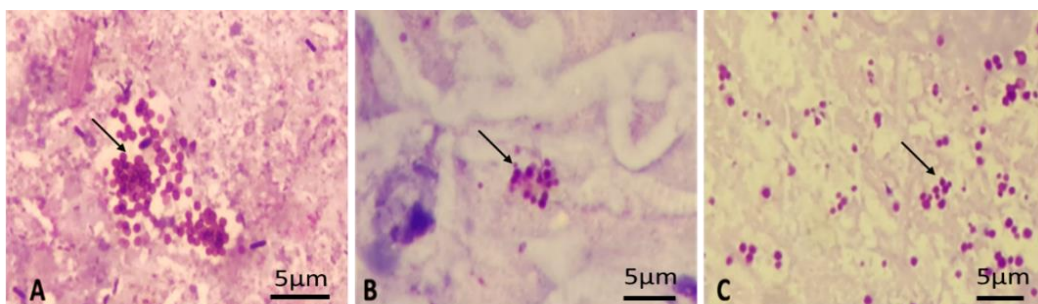
Mẫu tôm dương tính được tiến hành nhuộm Giemsa trên các cơ quan như gan tụy, phân tách từ ruột tôm, phần cơ đục để phát hiện vi bào tử trùng. Kết quả kiểm tra cho thấy có xuất hiện bào tử EHP tập trung dày, thưa hoặc rải rác trong các cơ quan này (Hình 3). Tổng số 215 mẫu tôm đều được kiểm tra và cho kết quả

tương đồng với kết quả giám định bằng PCR. Những tôm có biểu hiện còi, chậm lớn rõ, có hiện tượng xuất hiện hạt gạo lớn và đục cơ thì mật độ vi bào tử trùng thường dày hơn so với những tôm có kích lớn trong cùng ao thu mẫu, tương tự như vậy những ao tôm có dấu hiệu bệnh nặng thì mật độ vi bào tử trùng khi nhuộm Giemsa cao hơn những ao có dấu hiệu nhiễm nhẹ. Như vậy có thể nói khi tôm nhiễm bệnh, tốc độ lây lan của EHP rất nhanh, lây cho cả đàn tôm và có thể sử dụng phương pháp nhuộm nhanh mẫu tươi bằng Giemsa để chẩn đoán sơ bộ sự có mặt của vi bào tử trùng EHP trong mẫu tôm tại thực địa.

### 3.4. Tần suất xuất hiện bệnh vi bào tử trùng trên tôm theo ngày nuôi

Trong 33 hộ nuôi tôm nhiễm bệnh do vi bào tử trùng (EHP), tôm nhiễm bệnh xuất hiện nhiều vào các giai đoạn nuôi từ 30-60 ngày tuổi, trong đó cao nhất là giai đoạn 45-60 ngày tuổi (Bảng 4). Trong khi đó, tôm bệnh từ giai đoạn 15-30 ngày nuôi và 60-90 ngày nuôi chiếm tỷ lệ thấp, lần lượt là 6% và 15,3%.

Theo nghiên cứu của Somboon & cs. (2012), cỡ tôm bị bệnh thường có trọng lượng 7-12 g/con hoặc 50-70 ngày tuổi. Điều này khá tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi tại giai đoạn tôm xảy ra dịch bệnh vào 45-60 ngày tuổi. Tương tự như vậy, Salachan & cs. (2016) khi gây bệnh thực nghiệm bằng cách ghép tôm bệnh và tôm khỏe cũng cho rằng 60% số tôm có biểu hiện nhiễm bệnh sau 14 ngày, nhưng những biểu hiện rõ về tình trạng chậm lớn sau thời gian 2-3 tháng thực nghiệm.



Ghi chú: A - Gan tụy; B- cơ và C - phân tôm.

Hình 3. Kết quả nhuộm Giemsa mẫu tôm nhiễm vi bào tử trùng EHP

**Bảng 4. Phân bố bệnh vi bào tử trùng theo ngày nuôi (n = 33)**

Giai đoạn (ngày nuôi)	Số hộ nhiễm	Tỷ lệ nhiễm (%)
15 - 30	2	6
30 - 45	12	36,3
45 - 60	14	42,4
60 - 90	5	15,3

#### 4. KẾT LUẬN

Kết quả lấy mẫu xét nghiệm trong thời gian thu mẫu từ 10/2021 đến 10/2022 ở 85 hộ tại Quảng Ninh và Nam Định cho thấy tỷ lệ hộ nuôi nhiễm bệnh EHP là khá cao, chiếm 38,8%. Tôm nhiễm bệnh xuất hiện chủ yếu vào các giai đoạn nuôi từ 30-60 ngày. Tôm nhiễm bệnh do vi bào tử trùng (EHP) có dấu hiệu đặc trưng như tôm còi, chậm lớn, đục cơ, xuất hiện đục cơ dạng hạt gạo có kích thước lớn ở đốt bụng số 6. Ngoài ra, tôm xuất hiện một số dấu hiệu điển hình như màu sắc tôm thay đổi, ruột xoắn, đứt đoạn, không có thức ăn. Kết quả nhuộm tươi từ mẫu tôm nhiễm bệnh cho thấy có thể sử dụng phương pháp nhuộm mẫu tươi bằng Giemsa để phát hiện sự có mặt của mầm bệnh nhằm phát hiện sớm dịch bệnh.

#### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ của các hộ nuôi tôm tại các tỉnh Nam Định và Quảng Ninh đã tạo điều kiện thu mẫu để hoàn thành nghiên cứu này. Nghiên cứu này được thực hiện dưới sự hỗ trợ một phần từ Học viện Nông nghiệp Việt Nam dành cho nhóm SVNCKH (Mã số SV2022-13-61) và một phần kinh phí từ đề tài cấp bộ về nghiên cứu giải pháp kiểm soát bệnh do vi bào tử trùng EHP và bệnh phân trắng gây ra trên tôm nuôi nước lợ.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Argue B.J., Arce S.M., Lotz J.M. & Moss S.M. (2002). Selective breeding of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) for growth and resistance to *Taura Syndrome Virus*. *Aquaculture*. 204: 447-460.

Babu B., Sathiyaraj G., Mandal A., Kandan S., Biju N., Palanisamy S., You S., Nisha R.G. & Prabhu N.M.

(2021). Surveillance of disease incidence in shrimp farms located in the east coastal region of India and *in vitro* antibacterial efficacy of probiotics against *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of invertebrate pathology*. 179: 107536.

Biju N., Sathiyaraj G., Raj M., Shanmugam V., Baskaran B., Govindan U., Kumaresan G., Kasthuriraju K.K. & Chellamma T.S.R.Y. (2016). High prevalence of *Enterocytozoon hepatopenaei* in shrimps *Penaeus monodon* and *Litopenaeus vannamei* sampled from slow growth ponds in India. *Diseases of aquatic organisms*. 120: 225-230.

Chayaburakul K., Nash G., Pratanpipat P., Sriurairatana S. & Withyachumnarnkul B. (2004). Multiple pathogens found in growth-retarded black tiger shrimp *Penaeus monodon* cultivated in Thailand. *Diseases of aquatic organisms*. 60: 89-96.

Han J.E., Tang K.F., Pantoja C.R., Lightner D.V., Redman R.M. & Le Groumellec M. (2016). Detection of a new microsporidium *Perezia* sp. in shrimps *Penaeus monodon* and *P. indicus* by histopathology, in situ hybridization and PCR. *Diseases of aquatic organisms*. 120(2): 165-171.

Newman S.G. (2015). Microsporidian Impacts Shrimp Production. *Glob. Aquac.* pp. 33-35.

Nguyen B.T. & Nguyen T.Q. (2019). Some results of the application of rare earth elements in management and treatment of pond water for white spot cardinal shrimp farming. *inis.iaea.org*. pp. 1-8.

Nguyễn Thanh Long & Huỳnh Văn Hiền (2015). Phân tích hiệu quả kỹ thuật và tài chính của mô hình nuôi tôm thẻ chân trắng ở tỉnh Cà Mau. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*. tr. 105-111.

Rajendran K., Shivam S., Praveena P.E., Rajan J.J.S., Kumar T.S., Avunje S., Jagadeesan V., Babu S.P., Pande A., Krishnan A.N. (2016). Emergence of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in farmed *Penaeus vannamei* (*Litopenaeus*) in India. *Aquaculture*. 454: 272-280.

Rico A., Phu T.M., Satapornvanit K., Min J., Shahabuddin A., Henriksson P.J., Murray F.J., Little D.C., Dalsgaard A. & Van den Brink P.J. (2013). Use of veterinary medicines, feed additives and probiotics in four major internationally traded aquaculture species farmed in Asia. *Aquaculture*. 412: 231-243.



- Somboon M., Purivirojkul W., Limsuwan C. & Chuchird N. (2012). Effect of *Vibrio* spp. in white feces infected shrimp in Chanthaburi, Thailand. *Journal of Fisheries and Environment*. 36: 7-15.
- Tang F.J.K., Pantoja R.C., Redman M.R., Han Eun J., Tran H.L. & Lightner V.D. (2015). Development of in situ hybridization and PCR assays for the detection of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP), a microsporidian parasite infecting penaeid shrimp. *Journal of invertebrate pathology*. 130: 37-41.
- Tang K.F., Aranguren L.F., Piamsomboon P., Han J.E., Maskaykina I.Y. & Schmidt M.M. (2017). Detection of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) and Taura syndrome virus in *Penaeus vannamei* cultured in Venezuela. *Aquaculture*. 480: 17-21.
- Tang K.F., Han J.E., Aranguren L.F., White-Noble B., Schmidt M.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. *Journal of invertebrate pathology*. 140: 1-7.
- 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 vannamei* (*Litopenaeus*). *BMC veterinary research*. 9:1-10.
- Tourtip S., Wongtripop S., Stentiford G.D., Bateman K.S., Sriurairatana S., Chavadej J., Sritunyalucksana K. & Withyachumnarnkul B. (2009). *Enterocytozoon hepatopenaei* sp. nov. (Microsporidia: Enterocytozoonidae), a parasite of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Decapoda: Penaeidae): Fine structure and phylogenetic relationships. *Journal of invertebrate pathology*. 102:21-29.
- Tổng Cục Thủy Sản (2020). Sản xuất thủy sản năm 2020 tiếp tục duy trì được đà tăng trưởng. <https://tongcucthuysan.gov.vn/vi-vn/Tin-t%E1%BB%A9c/-Tin-v%E1%BA%AFn/doc-tin/015515/2020-12-30/san-xuat-thuy-san-nam-2020-tiep-tuc-duy-tri-duoc-da-tang-truong> Truy cập ngày 07 tháng 3 năm 2021.
- Tổng cục Thủy sản (2022). Diện tích và sản lượng tôm nước lợ năm 2022. <http://nguoinuotom.vn/nganh-tom-viet-nam-2023-san-sang-vuot-kho/> Truy cập ngày 22/4/2023.
- Thitamadee S., Prachumwat A., Srisala J., Jaroenlak P., Salachan P.V., Sritunyalucksana K., Flegel T.W. & Itsathitphisarn O. (2016). Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. *Aquaculture*. 452:69-87.
- Wang J., Huang Y., Xu K., Zhang X., Sun H., Fan L. & Yan M. (2019). White spot syndrome virus (WSSV) infection impacts intestinal microbiota composition and function in *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*. 84: 130-137.