

XÁC ĐỊNH TÁC NHÂN GÂY BỆNH XUẤT HUYẾT TRÊN CÁ LĂNG (*Ictalurus punctatus*) TẠI MỘT SỐ TỈNH PHÍA BẮC VIỆT NAM

Trịnh Thị Trang^{1*}, Nguyễn Thị Dung, Trương Đình Hoài

Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

Email^{}: tttrang@vnua.edu.vn*

Ngày gửi bài: 28.02.2017

Ngày chấp nhận: 24.04.2017

TÓM TẮT

Cá lăng (*Ictalurus punctatus*) là đối tượng đang được chọn nuôi nhiều ở các tỉnh phía Bắc Việt Nam nhưng các bệnh xảy ra trên loài cá này chưa được nghiên cứu nhiều và cũng chưa có công bố khoa học nào đề cập tới bệnh xuất huyết ở đối tượng cá này. Vì vậy, xác định triệu chứng, nguyên nhân gây bệnh xuất huyết trên cá lăng và chọn loại kháng sinh điều trị được bệnh này là mục đích nghiên cứu của chúng tôi. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cá bệnh có biểu hiện bên ngoài là da thường chuyển màu tối, không có ánh bạc, cá mất nhớt, khô ráp, xuất hiện các đốm xuất huyết đỏ trên thân, vùng đầu, quanh miệng, các gốc vây. Biểu hiện bên trong của cá bệnh thể hiện nội quan xuất huyết, thận nhũn, tích nhiều dịch máu. Phân lập được 13 chủng vi khuẩn hình que ngắn, gram âm và mọc trên môi trường chọn lọc R-S. Kết quả định danh cho thấy cả 13 chủng vi khuẩn là *Aeromonas hydrophila*. Kết quả mô bệnh học cho thấy cá lăng bệnh bị biến đổi cấu trúc các mô trong cơ thể, mô cơ bị tổn thương và mô mang tăng sinh. Cấu trúc gan, thận bị biến đổi với các ống thận không còn giữ nguyên hình, màng ống thận bị phá vỡ, các tế bào lách hoại tử. Sau 2 ngày cảm nhiễm 4 chủng vi khuẩn CL18, CL20, CL24 và CL26 ở mật độ 10^8 CFU/cá, cá lăng bắt đầu có dấu hiệu bệnh xuất huyết tương tự các cá thể bị bệnh ngoài thực địa. Phản ứng với kháng sinh đồ của 13 chủng vi khuẩn *A. hydrophila* với các loại 7 loại kháng sinh đang dùng phổ biến hiện nay cho thấy hầu hết các chủng vi khuẩn có tính nhạy cao đối với kháng sinh Doxycyclin. Vì vậy, khi sử dụng kháng sinh Doxycyclin để điều trị bệnh xuất huyết trên cá lăng sẽ cho hiệu quả cao.

Từ khóa: Phân lập, xuất huyết, cá lăng, kháng sinh.

Isolation of Bacteria Caused Hemorrhagic Disease for Catfish (*Ictalurus punctatus*) in The Northern Parts of Vietnam

ABSTRACT

Cat fish, *Ictalurus punctatus* is increasingly cultured in the Northern part of Vietnam. However, the diseases on the fish have not yet studied extensively with limited literature. The study was implemented to isolate pathogenic bacteria causing hemorrhagic disease in catfish and to find out highly effective antibiotics for disease treatment. The result showed that the external signs of the diseases are black skin with lossing mucus and haemorrhagic spots in the head part, fins, and abdomen. The internal signs showed damaged kidney and liquid accumulated abdomen. Thirteen rod shape, gram negative bacterial strains that grew in selected R-S medium were isolated from diseased fish. These strains were identified as *Aeromonas hydrophila*. Histopathological analysis of hemorrhagic diseased catfish revealed structural changes with slight necroses in muscle and gill filaments. There were many necrotic areas and granulomatous lesions on the liver, kidney and spleen, hydrophytic kidney and spleen tissues. After 2 day period of infection, bacterial strains CL18, CL20, CL24 and CL26 at 10^8 CFU/fish caused hemorrhagic septicemia in healthy catfish similarly to those in natural infection. Among 7 types of antibiotics, Doxycyclin most sensitive with 13 tested isolates. Therefore, the use of Doxycyclin on catfish haemorrhagic disease treatment is highly effective.

Keywords: Isolation, haemorrhagic, catfish, antibiotic

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá lăng (*Ictalurus punctatus*) là đối tượng thủy sản đã và đang được quan tâm ở các tỉnh phía Bắc và một số vùng ở khu vực miền Nam. Với ưu điểm là lớn nhanh, thịt thơm ngon và mang lại lợi nhuận cao nên loại cá này được nuôi nhiều trong các mô hình nuôi ao đất, nuôi lồng. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, do mức độ thâm canh hóa ngày càng cao và vấn đề quản lý môi trường ao nuôi chưa được kiểm soát chặt chẽ cùng với nguồn con giống không đảm bảo chất lượng nên dịch bệnh trên cá lăng xảy ra nhiều trên diện rộng. Bệnh xuất hiện quanh năm nhưng thường gặp nhất là vào mùa xuân, mùa thu ở miền Bắc và mùa mưa ở miền Nam (Kim Văn Vạn, 2001).

Hiện nay các bệnh trên cá da trơn được nghiên cứu nhiều như bệnh gan thận mủ, bệnh trắng đuôi gây thiệt hại rất lớn cho nghề nuôi cá tra thâm canh. Tuy nhiên, các bệnh xảy ra trên cá lăng chưa được nghiên cứu nhiều, đặc biệt là bệnh xuất huyết. Do còn thiếu các cơ sở khoa học và quy trình điều trị bệnh hiệu quả nên việc phòng và chữa bệnh còn nhiều lúng túng và gặp khó khăn, bệnh đã lây lan và gây thiệt hại lớn về kinh tế cho nhiều hộ nuôi. Theo Cabello (2006), việc sử dụng các loại thuốc kháng sinh tràn lan, không đúng phác đồ và liệu trình điều trị trong công tác phòng và trị bệnh sẽ mang lại hiệu quả thấp, gây hiện tượng kháng thuốc và gây ra nhiều tác động xấu tới môi trường. Chính vì vậy, việc tìm ra nguyên nhân gây bệnh xuất huyết trên cá lăng và biện pháp phòng trị bệnh hiệu quả là vô cùng cấp thiết.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu, thời gian và địa điểm

Cá lăng với các biểu hiện xuất huyết được dùng để phân lập vi khuẩn gây bệnh. Cá lăng khỏe để làm mẫu mô bệnh học so sánh với mẫu cá bệnh, dùng cho thí nghiệm cảm nhiễm vi khuẩn.

Môi trường NA (Nutrient agar), NB (Nutrient broth), MacConkey và O-F (Oxidative-fermentative) R-S (Rimmler-Short Medium Base) được sử dụng để phân lập và

nuôi cấy vi khuẩn và định danh vi khuẩn. Các hóa chất như bộ nhuộm gram, thuốc thử TMPD (0,1%), thuốc thử H_2O_2 (3%), test sinh hóa API 20E được sử dụng để định danh vi khuẩn. Ngoài ra còn có các bộ hóa chất, các dụng cụ và thiết bị phục vụ phân tích mẫu mô bệnh học, cảm nhiễm vi khuẩn và thử kháng sinh đồ.

Mẫu cá lăng bệnh được thu từ các ao, đầm, lồng nuôi nước ngọt tại các tỉnh Hải Dương, Vĩnh Phúc, Hải Phòng, Hưng Yên. Mẫu cá được vận chuyển sống hoặc bảo quản lạnh về Bộ môn Môi trường và Bệnh thủy sản - Khoa Thủy sản - Học viện Nông nghiệp Việt Nam để phân tích.

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 1/2016 đến tháng 11/2016.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phân lập vi khuẩn

Mẫu cá lăng có dấu hiệu bệnh lý như bơi lờ đờ, mất định hướng, xuất huyết, lồi mắt, trướng bụng được thu thập để phân tích. Trước khi phân lập vi khuẩn, khử trùng bằng cồn 70°C và lau sạch bề mặt ngoài cơ thể của cá. Sau đó, dùng dao mổ và kéo tiết trùng rạch một đường trên gan và thận. Dùng que cấy đã vô trùng đặt nhẹ vào vị trí vừa rạch và cấy lên môi trường thạch NA có bổ sung 1,5% NaCl. Đặt cấy vi khuẩn được ủ ở nhiệt độ 28°C. Sau khoảng thời gian 24 - 48h, chọn các khuẩn lạc rời cấy chuyển sang môi trường NA mới để thu các dòng vi khuẩn thuần.

2.2.2. Định danh vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn thuần phát triển trên môi trường NA được quan sát, ghi lại đặc điểm hình thái, màu sắc, kích thước. Sau đó các chỉ tiêu sinh hóa được kiểm tra như nhuộm gram; tính khả năng mọc trên môi trường chọn lọc R-S, môi trường MacConkey, test catalase, oxydase. Định danh vi khuẩn được dựa trên các chỉ tiêu hình thái, sinh lý, sinh hóa theo cẩm nang của Buller (2004) và sử dụng bộ kit API20 20E.

2.2.3. Cảm nhiễm cá

Thí nghiệm cảm nhiễm được thực hiện tại Trại cá, Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp

Việt Nam. Cá thí nghiệm có kích cỡ 40 - 50 g/con, khỏe mạnh, màu sắc tươi sáng, vận động linh hoạt. Trước khi tiêm cảm nhiễm, cá được thuần dưỡng trong điều kiện thí nghiệm 1 tuần với mật độ 10 con/bể. Hệ thống bể (thể tích 60L) với sục khí được sử dụng để bố trí 2 nghiệm thức (NT): NT1 cá được tiêm cảm nhiễm vi khuẩn ở nồng độ 10^8 CFU/cá; NT2 đối chứng được tiêm dung dịch PBS. Mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Thí nghiệm được thực hiện trong 14 ngày. Các biểu hiện trên cá thí nghiệm, số lượng cá chết được ghi lại vào thời điểm 14 giờ chiều hàng ngày. Gan, thận cá có dấu hiệu bệnh ở trạng thái gần chết hoặc mới chết được thu để phân lập và định danh lại. So sánh kết quả giữa cá bệnh thu ngoài thực địa với cá cảm nhiễm trong phòng thí nghiệm.

2.2.4. Phương pháp mô bệnh học

Kiểm tra sự biến đổi mô của mẫu cá lăng khỏe mạnh và mẫu có biểu hiện xuất huyết đặc trưng được thu về phòng thí nghiệm để tiến hành làm mẫu mô bệnh học. Các mẫu mô mang, gan, lách, thận và cơ được cố định trong dịch đệm buffer formalin 10%, xử lý mẫu, đúc parafin, cắt mô và nhuộm bằng thuốc nhuộm Mayer Hematoxyline và Eosin (HE) theo quy trình và phương pháp của Mumford *et al.* (2007) tại Trung tâm Quan trắc Cảnh báo môi trường và Phòng ngừa dịch bệnh thủy sản miền Bắc - Viện Nghiên cứu Nuôi trồng thủy sản 1. Các mẫu mô được phân tích ở độ phóng đại 40X và 100X để phát hiện và so sánh biến đổi mô học của cá nuôi thử nghiệm ở các độ mặn khác nhau.

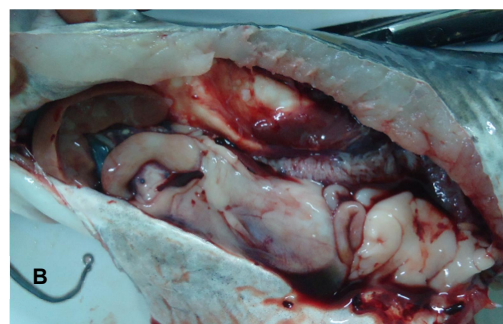
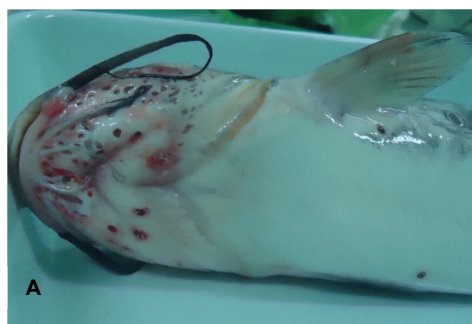
2.2.5. Kiểm tra khả năng miễn cảm với kháng sinh

Bảy loại kháng sinh (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) được chọn bao gồm Tetracycline (TE/30 μ g), Florphenicol (FFC/5 μ g), Doxycyclin (DOX/20 μ g), Rifampicin (RA/30 μ g), Amoxycilin (AMO/30 μ g), Ampicillin (AM/30 μ g), Cefazoline (CF/30 μ g) để thử nghiệm tính kháng kháng sinh trên các chủng vi khuẩn phân lập từ cá lăng bị bệnh xuất huyết. Thí nghiệm thực hiện theo phương pháp Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966), sử dụng môi trường Nutrient agar (NA) (Merck, Darmstadt, Germany). Đo đường kính vòng vô trùng (mm): Dựa vào chuẩn đường kính của vòng vô trùng theo tài liệu "The Clinical and Laboratory Standards Institute" (CLSI (former NCCLS M31-A2, 2008)) nhằm xác định loại kháng sinh nhạy (≥ 20 mm), nhạy trung bình (15 - 19 mm), kháng (≤ 14 mm).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Dấu hiệu bệnh lý

Kết quả quan sát cá bệnh cho thấy cá yếu, bỏ ăn, bơi lơ đãng tăng mật và đen toàn thân hoặc từng vùng. Cá lăng bệnh có biểu hiện chung là da thường chuyển màu tối, không có ánh bạc, cá mất nhớt, khô ráp, xuất hiện các đốm xuất huyết đỏ trên thân, các gốc vây, quanh miệng, xuất huyết hậu môn, mang bị tăng sinh mạnh (Hình 1). Giải phẫu nội tạng thấy ruột không có thức ăn, ổ bụng tích nhiều dịch máu, gan xung huyết và thận



Hình 1. A. Biểu hiện bên ngoài của cá lăng bệnh;
B. Biểu hiện bên trong nội quan của cá lăng bệnh

bị thoái hóa, phù thũng. Các đốm trắng không thấy xuất hiện trên nội tạng của cá lăng bệnh, biểu hiện khác rõ rệt với bệnh gan thận mủ trên cá tra và cá basa (Dung *et al.*, 2008).

3.2. Phân lập và định danh vi khuẩn

Từ các mẫu cá lăng bệnh phân lập được 13 chủng vi khuẩn (Bảng 1). Vi khuẩn phân lập từ gan và thận được nuôi trong môi trường NA sau

24 giờ ở 28°C phát triển thành các khuẩn lạc có hình tròn, lồi, màu trắng sữa (Hình 3). Các chủng vi khuẩn này mọc tốt trên môi trường MacConkey, cho khuẩn lạc màu hồng nhỏ (Hình 4) và môi trường chọn lọc R-S, cho màu xanh đặc trưng (Hình 5). Quan sát vi khuẩn dưới kính hiển vi cho thấy vi khuẩn hình que ngắn, rời, bắt màu hồng đặc trưng của vi khuẩn gram âm (Hình 6).

Bảng 1. Kết quả định danh các chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá lăng

Chỉ tiêu	Các chủng khảo sát												
	CL3	CL6	CLT8	CL10	CL12	CL16	CL18	CL20	CL24	CL25	CL26	CL27	CL28
Hình dạng vi khuẩn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn	Que ngắn
Tính di động	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phản ứng Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phản ứng Oxydase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ONPG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ADH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LDC	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ODC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CIT	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
URE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TDA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IND	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GEL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
GLU	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAN	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
INO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SOR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
RHA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SAC	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MEL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AMY	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ARA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phản ứng yếm khí	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phản ứng lên men	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Ghi chú: ONPG: Ortho-nitrophenyl galactosidase; ADH: arginine dihydrolase; LDC: lysine decarboxylase; ODC: ornithine decarboxylase; CIT: citrate; H₂S: sinh H₂S; URE: urea; TDA: tryptophane deaminase; IND: indole; VP: phản ứng Voges - Proskauer; GEL: gelatin; GLU: glucose; MAN: mannitol; INO: inositol; SOR: sorbitol; RHA: rhamnose; SAC: sucrose; MEL: melibiose; AMY: amygdaline; ARA: arabinose.



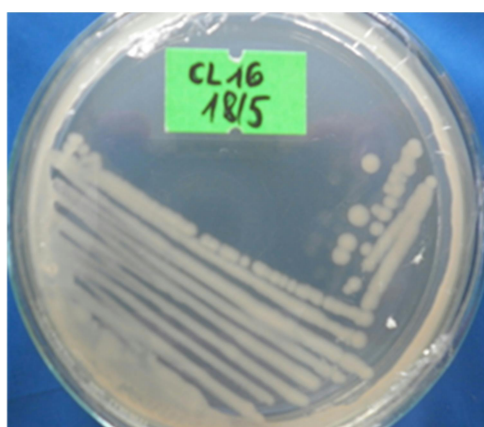
Hình 2. Kết quả bộ thử API 20E đối với chủng vi khuẩn CL20 gây bệnh trên cá lăng

Kết quả quan sát và phân tích các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập từ cá lăng bệnh được trình bày ở bảng 1. Chúng là vi khuẩn gram âm, hình que, có khả năng di động, phản ứng dương tính với oxidase, catalase, có khả năng lên men trong cả hai điều kiện hiếu khí và kỵ khí. Tất cả các chủng đều cho phản ứng dihydrolase dương tính với arginine, phản ứng decarboxylase dương tính với lysine nhưng âm tính với ornithine. Chúng không sinh urease nhưng sinh gelatinase và indol. Tất cả đều có khả năng sử dụng đường glucose và manitol, không sử dụng đường inositol, sorbitol, rhamnose và arabinose; kháng với hợp chất 2,4-diamino-6,7diisopropyl pteridine (O/129). Đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hoá của các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu này giống với chủng chuẩn *A. hydrophila* (Popoff, 1984; West *et al.*, 1986). Các kết quả nghiên cứu về các đặc điểm hình thái,

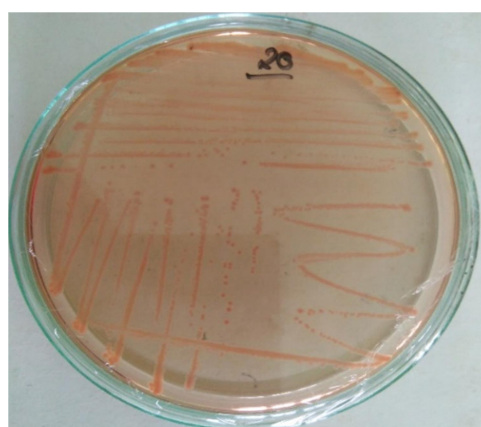
đặc tính sinh lý, sinh hóa của các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu này xác nhận rằng vi khuẩn gây bệnh xuất huyết trên cá lăng là *Aeromonas hydrophila*.

3.3. Kết quả cảm nhiễm cá

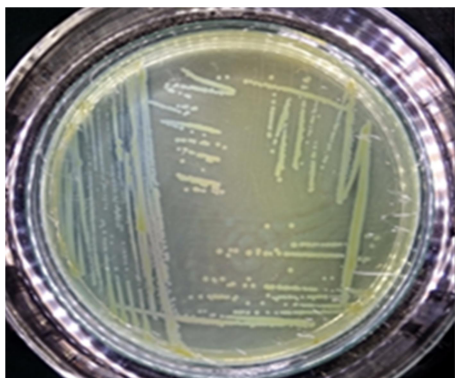
Khả năng gây bệnh xuất huyết của các chủng vi khuẩn *A. hydrophila* phân lập từ cá lăng bệnh được xác định qua thí nghiệm cảm nhiễm bằng phương pháp tiêm dung dịch vi khuẩn ở mật độ 10^8 CFU/cá. Từ 13 chủng *A. hydrophila* được phân lập từ cá lăng bệnh, 4 chủng vi khuẩn được chọn ra để thực hiện cảm nhiễm là CL18, CL20, CL24, CL26. Sau 48 giờ cảm nhiễm, cá lăng ở các nghiệm thức tiêm vi khuẩn có dấu hiệu bệnh lý giống nhau là hoạt động kém linh hoạt, xuất hiện vết loét và bị xuất huyết khắp cơ thể. Dấu hiệu bệnh lý của cá lăng ở thí nghiệm cảm nhiễm tương tự như dấu hiệu bệnh lý của cá lăng bệnh thu ngoài thực



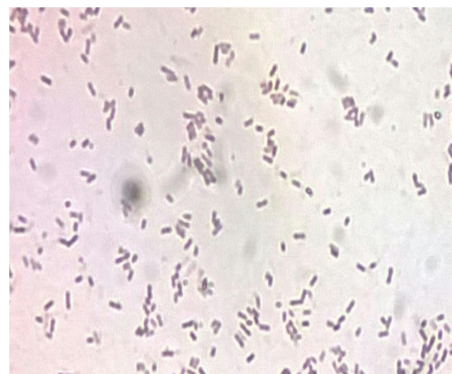
Hình 3. Vi khuẩn CL20 mọc trên môi trường NA



Hình 4. Vi khuẩn CL20 trên môi trường MacConkey



**Hình 5. Vi khuẩn CL20
trên môi trường R-S**



Hình 6. Hình thái vi khuẩn CL20

địa. Những con cá lăng gần chết sau khi gây cảm nhiễm được giải phẫu và tái phân lập vi khuẩn ở thận và nuôi cấy ở điều kiện 28°C, 24 giờ. Kết quả tái phân lập cho thấy khuẩn lạc ở các đĩa NA có màu sắc và hình dạng khuẩn lạc tương tự nhau màu trắng sữa, hình tròn, lồi giống với khuẩn lạc của vi khuẩn phân lập từ mẫu cá lăng bệnh ngoài thực địa.

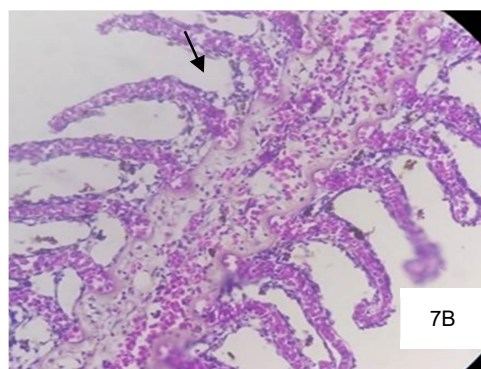
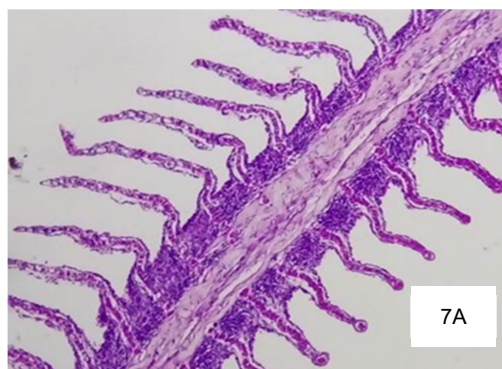
3.4. Kết quả mô bệnh học

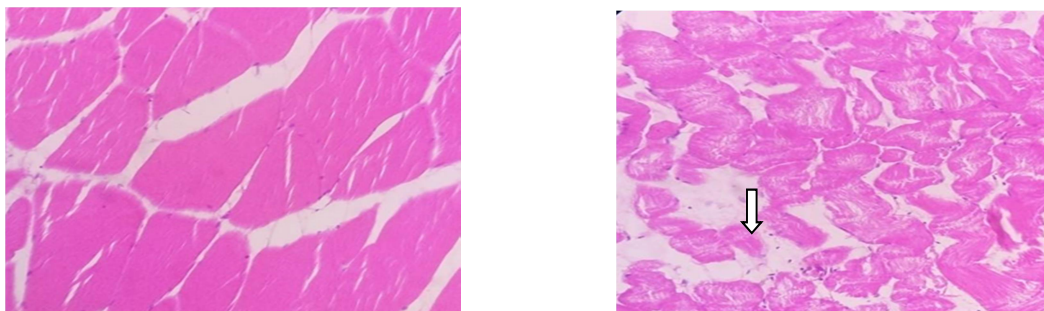
Kết quả phân tích mô bệnh học ở mang cho thấy, mang cá tăng sinh mạnh, tiết nhầy và tích nước, vì vậy các lá mang bị ép chặt vào nhau làm giảm diện tích trao đổi oxy. Hiện tượng các sợi mang thứ cấp dính lại là do quá trình thực bào của bạch cầu khi có vi khuẩn xâm nhập, chúng tiết ra nhiều enzyme làm cho các tế bào giữa các sợi thứ cấp sưng lên dẫn đến tiếp xúc nhau, đồng thời mang tiết dịch nhầy do phản ứng tự vệ. Nếu xảy ra tổn thương nặng có thể mất cấu trúc cả phiến mang, giảm diện tích tiếp

xúc của mang với môi trường (Nguyễn Thị Ngọc Huyền và Đặng Thị Hoàng Oanh, 2015).

Các sợi cơ cá khỏe được cấu tạo từ các tế bào có dạng hình trụ và chứa nhiều nhân. Khi quan sát mô cơ cá bệnh, các sợi cơ có hiện tượng bị đứt gãy, mất liên kết. Cấu trúc các thớ cơ lỏng lẻo, có phần hoại tử cơ.

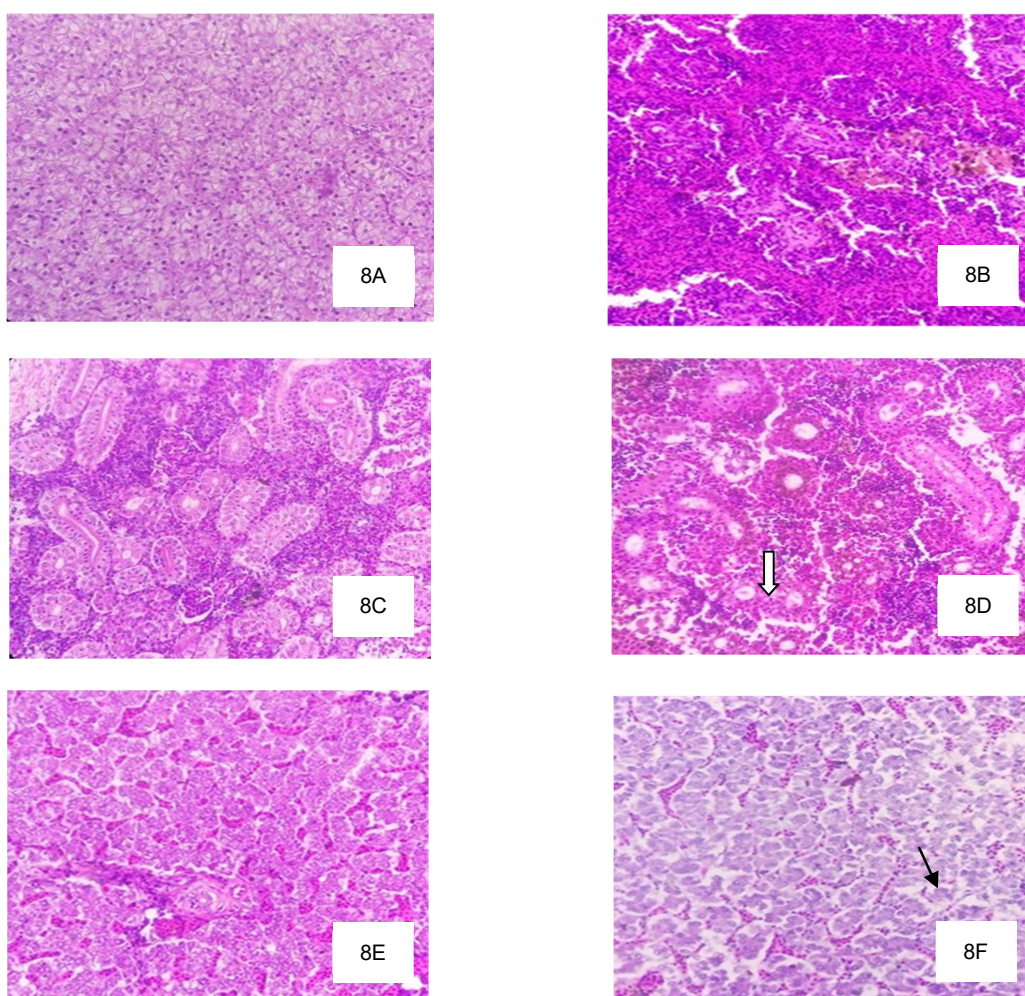
Gan cá bình thường có chức năng tiết ra mật, dự trữ năng lượng, giải độc, là nơi tập trung nhiều mạch máu. Ở cá lăng bệnh, gan có màu sẫm do các mạch máu bị vỡ, hoại tử ở nhiều điểm và có các đốm trắng nằm rải rác. Ở mô gan, sự sung huyết trong hệ thống mao mạch giữa các tế bào gan kéo dài làm vỡ mạch máu, giải thoát nhiều enzyme tiêu hóa làm cho các tế bào vùng viêm bị hủy hoại dẫn đến hoại tử nhiều vùng trên gan, làm cho gan mất chức năng khử độc, lọc máu... các chất độc không được loại bỏ sẽ tích lũy trong cơ thể, kết hợp với các yếu tố khác làm chết cá (Đặng Thụy Mai Thy và cs., 2012).





Hình 7. Hình ảnh mô bệnh học của mô mang và mô cơ của cá lăng khỏe mạnh và bệnh

Ghi chú: 7A, 5C: mô mang, cơ bình thường. 7B: tế bào tăng sinh làm cho mang, tia mang và tơ mang phình to (mũi tên đen); 7D: Cấu trúc các thớ cơ lỏng lẻo (mũi tên trắng), có phần hoại tử cơ



Hình 8. Hình ảnh mô bệnh học của gan, thận, lách

Ghi chú: 8A, 8C, 8E: Gan, Thận, Lách bình thường. 8B: Gan cá bệnh, không còn cấu trúc của tế bào, nhân tế bào kết đặc lại, không còn nguyên sinh chất. 8D: Thận cá bệnh, các ống thận không còn giữ nguyên hình dạng (mũi tên trắng), màng ống thận bị phá vỡ, các cấu trúc tế bào không còn rõ nhân cũng như nguyên sinh chất. 8F: Các tế bào lách hoại tử (mũi tên), cấu trúc giữa các tế bào lỏng lẻo, có thể mất nhân

Bảng 2. Kết quả thử kháng sinh đồ của các chủng vi khuẩn gây bệnh trên cá lăng

Kháng sinh	Hàm lượng	Số chủng	Nhạy (%)	Nhạy TB (%)	Kháng (%)
Tetracycline	(30µg)	13	61,5	15,4	23,1
Amoxycylin	(25 µg)	13	38,5	30,8	30,8
Florphenicol	(5 µg)	13	69,2	30,8	0,0
Doxycylin	(30 µg)	13	84,6	15,4	0,0
Ampicillin	(25 µg)	13	53,8	38,5	7,7
Cefazoline	(30 µg)	13	76,9	23,1	0,0
Rifamycin	(40 µg)	13	46,2	30,8	23,1

Thận cá có chức năng tạo máu và bài tiết, các ống thận chứa hồng cầu, các trung tâm đại thực bào. Ở cá bệnh, các ống thận vỡ ra gây hiện tượng xuất huyết làm thận cá có màu sẫm lại, có các đốm trắng trên thận. Lách cá gồm tủy đỏ, tủy trắng, trung tâm đại thực bào có chức năng quan trọng trong hệ thống miễn dịch. Ở cá bệnh, lách bị xuất huyết làm lách sẫm màu lại, hoại tử. Mô thận và mô lách có hiện tượng sung huyết, xuất huyết, nhiều vùng bị hoại tử và nhiều u hạt được tạo thành. Hoại tử sẽ làm mất cấu trúc của các cơ quan, làm giảm chức năng của các cơ quan này, lâu dần sẽ làm cá chết. Viêm dạng u hạt là biểu hiện mô học thường gặp do viêm nhiễm mãn tính ở cá cũng như các động vật khác với biểu hiện bên ngoài là sự xuất hiện của các u hạt trắng đục (đốm trắng) trên nội quan. Các u hạt này là hỗn hợp của các đại thực bào, tế bào lympho và bạch cầu trung tính ở các khu vực bị tổn thương. Ngoài ra, một số lượng lớn các trung tâm đại thực bào sắc tố còn xuất hiện trên thận (Đặng Thụy Mai Thy và cs., 2012).

3.5. Kết quả thử kháng sinh đồ

Kết quả thử kháng sinh đồ của 13 chủng vi khuẩn đối với 7 loại kháng sinh đang được sử dụng trong nuôi trồng thủy sản hiện nay cho thấy phần lớn các chủng vi khuẩn nhạy đối với dòng kháng sinh Docycylin (84,6%). Trong khi đó dòng kháng sinh Amoxycylin có tỉ lệ kháng nhiều nhất đối với tổng số chủng thử nghiệm (Bảng 2).

Theo Samira *et al.* (2007), các dòng vi khuẩn gram âm phân lập từ catfish đã kháng

với Ampiciline, Tetracycline. Kết quả của nghiên cứu trùng khớp với kết quả của Mohamed *et al.* (2006), 25% chủng vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* phân lập từ cá kháng với Tetracycline. Còn theo Depaola *et al.* (1998), 7,1% chủng *Aeromonas hydrophila* kháng với Cefazoline, trong khi đó kết quả của thí nghiệm lại cho thấy Cefazoline trị được tất cả các vi khuẩn gây bệnh. Từ những kết quả trên cho thấy các phân chủng vi khuẩn *A. hydrophila* khác nhau có mức độ phản ứng khác nhau với kháng sinh. Vậy nên trong quá trình điều trị bệnh cho cá cần lựa chọn kháng sinh sao cho phù hợp.

4. KẾT LUẬN

Cá bệnh có biểu hiện bên ngoài là da thường chuyển màu tối, không có ánh bạc, cá mất nhớt, khô ráp, xuất hiện các đốm xuất huyết đỏ trên thân, vùng đầu, quanh miệng, các gốc vây, biểu hiện bên trong của cá bệnh thể hiện nội quan xuất huyết, thận nhũn, tích nhiều dịch máu.

Tác nhân gây bệnh xuất huyết trên cá lăng là vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*. Chúng là vi khuẩn gram âm, hình que, có khả năng di động, phản ứng dương tính với oxidase, catalase, có khả năng lên men trong cả hai điều kiện hiếu khí và kỵ khí. Tất cả các chủng đều cho phản ứng dihydrolase dương tính với arginine, phản ứng decarboxylase dương tính với lysine nhưng âm tính với ornithine.

Kết quả mô bệnh học cho thấy cá lăng bệnh bị biến đổi cấu trúc các mô trong cơ thể, mô cơ bị

tổn thương và mô mang tăng sinh; cấu trúc gan, thận bị biến đổi với các ống thận không còn giữ nguyên hình, màng ống thận bị phá vỡ, các tế bào lách hoại tử.

Vi khuẩn gây bệnh phản ứng nhạy cảm đối với Doxycylin nhưng kháng với Amoxycylin, Tetracycline, Ryfamycin. Vì vậy, sử dụng kháng sinh Doxycylin để điều trị bệnh xuất huyết trên cá lăng sẽ cho hiệu quả cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bauer, R.W., Kirby, M.D.K., Sherris, J.C. and Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standard single disc diffusion method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45: 493-496.
- Buller, N.B. (2004). Bacteria from fish and other aquatic animal - A practical identification manual. CABI publishing.
- Cabello, F.C. (2006) Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environ. Microbiol.*, 8: 1137-1144.
- Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Đức Hiền (2012). Phân lập và xác định khả năng gây bệnh xuất huyết trên lươn đồng (*Monopterus albus*) của vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*. *Tạp chí Khoa học, Trường đại học Cần thơ*, 22: 173-182.
- Đặng Thụy Mai Thy, Trần Thị Thủy Cúc, Nguyễn Châu Phương Lam, Nguyễn Đức Hiền và Đặng Thị Hoàng Oanh (2012). Đặc điểm mô bệnh học cá rô (*Anaba stestudineus*) vi khuẩn *Aeromonas Hydrophyla* và *Streptococcus* sp. trong điều kiện thực nghiệm. *Tạp chí Khoa học*, 22: 183-193.
- Depaola, A., Pauline A. Flynn, R. Merrill McPhearson and Stuart B. Levy (1988). Phenotypic and Genotypic Characterization of Tetracycline and Oxytetracycline Resistance *Aeromonas hydrophila* from Cultured Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) and their Environments (1988). *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 1861-1863.
- Dung, T.T., Haesebrouck, F., Tuan, N.A., Sorgeloos, P., Baelem M. and Decostere, A. (2008). Antimicrobial susceptibility pattern of *Edwardsiella ictaluri* isolate from natural outbreaks of bacillary necrosis of *Pangasianodon hypophthalmus* in Vietnam. *Microbial Drug Resistance*, 14(4): 311-316.
- Kim Văn Vạn (2001). Bệnh của cá trắm cỏ nuôi lồng. *Tạp chí Khuyến ngư Việt nam*, 5: 30-31.
- Mohamed N., Kindon Sung, Saeed A. Khan, Ashraf A. Khan, and Roger Steele (2006). Biochemical and Molecular Characterization of Tetracycline-Resistance *Aeromonas veronii* Isolates from Catfish. *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 6461-6466.
- Nguyễn Thị Ngọc Huyền và Đặng Thị Hoàng Oanh (2015). Đặc điểm mô bệnh học của cá lóc (*Channa striata*) bệnh xuất huyết và bệnh gan thận mủ. *Tạp chí Khoa học Trường đại học Cần Thơ*, 45b: 93-100.
- Popoff, M. (1984). Genus III *Aeromonas*. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, N.R. and Holt, J.G., 1: 545-548.
- Samira Sarter, Hoang Nam Kha Nguyen, Le Thanh Hung, Jérôme Lazard, and Didier montet (2007). Antibiotic Resistace in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food Control*, 18: 1391-1396.
- West, P.A., P.R. Brayton, T.N. Bryant and R.R. Colwell (1986). Numerical taxonomy of *Vibrios* isolated from aquatic environments. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 36(4): 531-543.