

Tác nhân gây bệnh xuất huyết ở cá Chiên (*Bagarius yarrelli*) nuôi lồng tại Tuyên Quang và đề xuất biện pháp phòng trị

Trương Thị Mỹ Hạnh^{1*}, Nguyễn Thị Hạnh¹, Phạm Thị Yên¹, Lê Thị Mây¹,
Nguyễn Quang Nghĩa², Phan Thị Vân¹, Phạm Thị Thanh¹

¹Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I

²Trung tâm Thủy sản Tuyên Quang

Ngày nhận bài 23/4/2019; ngày chuyển phản biện 29/4/2019; ngày nhận phản biện 17/6/2019; ngày chấp nhận đăng 5/7/2019

Tóm tắt:

Cá Chiên (*Bagarius yarrelli*) là 1 trong số 5 loài cá quý (Chiên, Lăng, Rằm xanh, Anh vũ và Bống), có giá trị kinh tế cao, đồng thời là đối tượng nuôi lồng chủ lực tại Tuyên Quang nói riêng, một số tỉnh phía Bắc nói chung. Tuyên Quang có lợi thế về mặt nước nuôi thủy sản, chủ động con giống, công nghệ, kỹ thuật nuôi, song còn hạn chế thông tin về bệnh ở cá Chiên. Mục đích của nghiên cứu này nhằm xác định tác nhân gây bệnh xuất hiện phổ biến ở cá Chiên nuôi lồng tại địa phương. Phương pháp nuôi cấy, phân lập và gây nhiễm nhân tạo đã được áp dụng trong nghiên cứu. Kết quả cho thấy, *Aeromonas hydrophila* là tác nhân gây bệnh ở cá Chiên với biểu hiện bệnh lý như: đốm đỏ, loét, xuất huyết ở thân, ruột không có thức ăn, gan sưng huyết, ổ bụng chứa nhiều dịch. *A. hydrophila* có độc lực cao, gây chết cá 100% trong 3 ngày ở nồng độ gây nhiễm 10^4 - 10^6 cfu/ml. Ở nồng độ 10^3 cfu/ml, *A. hydrophila* gây chết cá thí nghiệm với biểu hiện loét phần bụng và gan thận sưng huyết, tỷ lệ chết cộng dồn tăng dần theo thời gian từ 47,6% ở ngày thứ 2, tăng lên 90,5% ở ngày thứ 4 và 100% ngày thứ 5.

Từ khóa: *Aeromonas hydrophila*, cá Chiên (*Bagarius yarrelli*), Tuyên Quang.

Chỉ số phân loại: 4.5

Đặt vấn đề

Tuyên Quang là tỉnh miền núi phía Bắc có lợi thế mạnh về nuôi thủy sản với diện tích mặt nước trên 12.000 ha, trong đó có trên 8.400 ha diện tích mặt nước hồ thủy điện, số còn lại là diện tích mặt nước hồ thủy lợi và mặt sông có khả năng nuôi trồng thủy sản. Với lợi thế này, tỉnh Tuyên Quang đã thông qua Nghị quyết về quy hoạch phát triển thủy sản giai đoạn 2016-2025, định hướng 2035 với mục đích phát triển thủy sản theo hướng sản xuất hàng hóa, tạo ra sản phẩm có năng suất, chất lượng, khả năng cạnh tranh cao, đáp ứng nhu cầu tiêu dùng trong và ngoài tỉnh, đồng thời tiến tới xuất khẩu.

Cá Chiên là một trong số loài cá thuộc nhóm “ngũ quý” (cá Chiên, cá Lăng, cá Rằm xanh, cá Anh vũ và cá Bống), đây là loài có giá trị kinh tế cao, và tỉnh Tuyên Quang đã chủ động được nguồn giống cá này bằng sinh sản nhân tạo. Năm 2018, Trung tâm Thủy sản Tuyên Quang đã sản xuất được 17.800 con cá Chiên giống, tăng gần 9.000 con so với 2017 và tăng 17.560 con so với 2015. Tuyên Quang có lợi thế về mặt nước nuôi thủy sản, chủ động được con giống, chủ động công nghệ, kỹ thuật nuôi, song còn hạn chế thông tin về bệnh cũng như quản lý phòng, trị bệnh ở cá Chiên trong suốt vụ nuôi. Một số loài cá như cá Tra, Basa, Lăng đã được nghiên cứu xác định nguyên nhân gây ra bệnh gan thận mù, trắng

đuôi và xuất huyết, lở loét [1], trong khi đó còn thiếu các nghiên cứu về bệnh của cá Chiên. Do đó, cán bộ địa phương cũng như hộ nuôi còn lúng túng và gặp nhiều khó khăn trong phòng trị bệnh, điều này ảnh hưởng đến năng suất thu hoạch và gây thiệt hại kinh tế cho hộ nuôi. Chính vì vậy, mục tiêu của nghiên cứu này nhằm xác định tác nhân gây bệnh cho cá Chiên nuôi lồng có biểu hiện bệnh lý xuất huyết, lở loét ở thân, làm cơ sở khoa học để tiếp tục nghiên cứu các giải pháp giảm thiểu thiệt hại do bệnh gây ra.

Địa điểm, thời gian và phương pháp nghiên cứu

Địa điểm và thời gian

Cá Chiên thu tại lồng nuôi ở 2 huyện Na Hang, Hàm Yên và TP Tuyên Quang, tỉnh Tuyên Quang. Mẫu cá được phân tích tại Trung tâm Quan trắc môi trường và bệnh thủy sản miền Bắc (CEDMA) thuộc Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I. Thời gian thực hiện từ tháng 7-12 năm 2018.

Thí nghiệm gây nhiễm vi khuẩn lên cá Chiên được bố trí triển khai tại Phòng thí nghiệm ươm thuộc CEDMA.

Mẫu cấy kính hiển vi điện tử thực hiện tại Phòng thí nghiệm siêu cấu trúc - Trung tâm Nghiên cứu y sinh, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

*Tác giả liên hệ: Email: truongmyhanh@gmail.com

The causative agent of hemorrhagic disease in giant devil catfish (*Bagarius yarrelli*) in cage culture at Tuyen Quang province and proposing preventive and treatment measures

Thi My Hanh Truong^{1*}, Thi Hanh Nguyen¹,
Thi Yen Pham¹, Thi May Le¹, Quang Nghia Nguyen²,
Thi Van Phan¹, Thi Thanh Pham¹

¹Research Institute for Aquaculture No 1

²Tuyen Quang Seafood Center

Received 23 April 2019; accepted 5 July 2019

Abstract:

Giant devil catfish (*Bagarius yarrelli*) is one of the five precious fish species which bring high economic values and are popularly cultured in cage in the northern mountainous provinces as well. Tuyen Quang province has the advantages of water sources for aquaculture breed availability, technology, and farming techniques, but has limited information of pathogens in giant devil catfish. Therefore, this study aims to determine common pathogens in giant devil catfish during cage culture in this province. Bacterial culture, isolation, identification, and infection experiment were applied for this study. The results showed that *Aeromonas hydrophila* was the causative agent of hemorrhagic disease in giant devil catfish with such clinical signs as red spots, ulcers, hemorrhage in skin and liver, empty stomach, and abdomen containing fluids. *A. hydrophila* had high virulence, causing mortality upto 100% in 3 days at the dose of 10^4 - 10^6 cfu/ml. At the concentration of 10^3 cfu/ml, *A. hydrophila* can cause the death of experimental fish with signs of abdominal ulcer, liver and kidney hemorrhage. The mortality increases gradually over time from 47.6% at day 2 to 90.5% at day 4 and reached 100% at day 5 post challenge.

Keywords: *Aeromonas hydrophila*, giant devil catfish (*Bagarius yarrelli*), Tuyen Quang province.

Classification number: 4.5

Phương pháp thu và phân tích mẫu

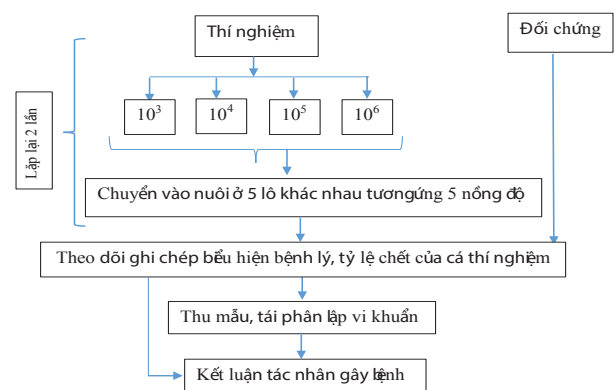
Phương pháp thu mẫu: mẫu cá Chiên nuôi lồng có biểu hiện xuất huyết, lở loét được thu để phân tích. Cá thu và phân tích ở giai đoạn nuôi thương phẩm có kích thước dao động từ 0,05-1,5 kg, phụ thuộc vào thời điểm thả cá và chế độ chăm sóc cá của chủ lồng nuôi. Giải phẫu cá tại điểm thu và cấy mẫu gan, thận, lách lên môi trường nuôi cấy cơ bản Tryptic Soy Agar (TSA) và môi trường chọn lọc Rimler Shotts agar (RS).

Phương pháp phân tích vi khuẩn: đĩa môi trường nuôi cấy vi khuẩn từ mô gan, thận và lách của cá Chiên được chuyển về phòng thí nghiệm và ủ trong điều kiện nhiệt độ 28-29°C trong 24-36h. Vi khuẩn được phân lập định danh loài thông qua kết quả nhuộm gram, dãy phản ứng sinh hóa của bộ kit API 20E, kết quả được tra trên phần mềm Apiweb TM-API 20E (<https://apiweb.biomerieux.com/servlet/Authenticate?action=prepareLogin>).

Phương pháp thử khả năng kháng khuẩn: kháng sinh đồ được lập đối với vi khuẩn thu được từ mẫu cá Chiên bằng phương pháp kháng sinh đồ khuếch tán trên đĩa thạch của Kirby-Bauer. Đo đường kính vòng vô khuẩn (mm): dựa vào chuẩn đường kính của vòng vô khuẩn theo tài liệu “The Clinical and Laboratory Standards Institute” [CLSI (former NCCLS M31-A2)] của Anonymous (2006) nhằm xác định loại kháng sinh nhạy, nhạy trung bình và kháng. Trong đó đường kính vòng vô khuẩn ≥ 16 mm là nhạy: S (sensitive), 12-15 mm là nhạy trung bình: M (medium) và ≤ 11 mm là kháng: R (resistant).

Phương pháp kính hiển vi điện tử: mẫu cắt kính hiển vi điện tử được cố định trong dung dịch glutanum-andehyt 2,5%, pha trong dung dịch đệm cacodylat 0,1 M (pH=7,2-7,4) và bảo quản lạnh ở 4°C trước khi chuyển đến phân tích tại Phòng thí nghiệm siêu cấu trúc, Trung tâm Nghiên cứu y sinh, Viện Vệ sinh Dịch tễ Trung ương.

Để khẳng định vi khuẩn thu được từ mẫu cá Chiên bị bệnh là tác nhân gây bệnh, tiến hành gây nhiễm vi khuẩn thu được từ cá bệnh lên cá khỏe, sau đó tái phân lập lại vi khuẩn ở cá gây nhiễm từ các lô thí nghiệm. Các bước gây nhiễm được mô tả ở hình 1.



Hình 1. Sơ đồ các bước gây nhiễm vi khuẩn lên cá Chiên.

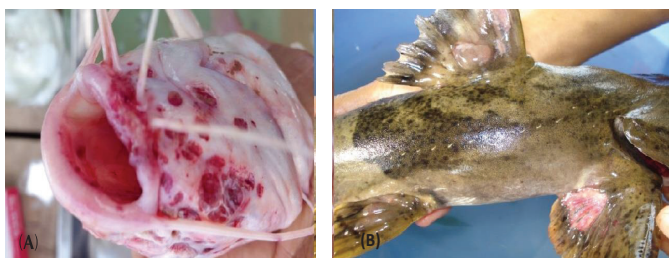
Cá trong mô hình thí nghiệm được nuôi thuần 7 ngày trước khi tiến hành gây nhiễm. Ở lô đối chứng, cá nuôi bình thường không có tác động nào của vi khuẩn. Ở lô thí nghiệm, sau 7 ngày nuôi thuần, cá được ngâm 2h trong các bể có mật độ vi khuẩn *A. hydrophila* khác nhau lần lượt từ 10^3 - 10^6 , mỗi nồng độ chứa 7 cá thể. Sau 2h, chúng được chuyển vào bể thí nghiệm nuôi theo dõi bình thường. Thí nghiệm được bố trí trong điều kiện nhiệt độ 25-27°C, pH=7,3-7,5, có sục khí và nước luôn chảy tràn liên tục để tạo dòng chảy, không để xảy ra hiện tượng nước đứng trong quá trình thí nghiệm.

Theo dõi, ghi lại số cá có biểu hiện bất thường, chết ở các lô thí nghiệm. Song song với đó tiến hành thu mẫu cá tái phân lập vi khuẩn để xác định có hay không vi khuẩn thu được trùng với vi khuẩn đã pha vào nước ngâm cá; kiểm tra trên kính hiển vi điện tử mẫu gan cá để xác định có hay không sự hiện diện của vi khuẩn.

Kết quả nghiên cứu và thảo luận

Đặc điểm bệnh lý của cá nhiễm khuẩn *A. hydrophila*

Kết quả quan sát dấu hiệu bệnh lý cá bệnh cho thấy: cá giảm ăn, yếu, bơi lơ dờ tầng mặt. Ở những mẫu cá nhiễm bệnh nặng trên thân xuất hiện các tổn thương như xuất huyết, loét đỏ với các đốm to nhỏ khác nhau. Tổn thương chủ yếu tập trung ở vùng miệng, đầu và các gốc vây (hình 2). Biểu hiện nội tạng khi giải phẫu nhận thấy ruột không có thức ăn, gan sũng huyết, ổ bụng chứa nhiều dịch. Ghi nhận của cá bệnh trong nghiên cứu này trùng hợp với kết quả nghiên cứu biểu hiện bệnh lý của một số loài cá da trơn nhiễm *A. hydrophila* như cá Lăng (*Ictalurus punctatus*) [1-3], cá Tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) [4], Lươn [5].



Hình 2. Dấu hiệu bệnh lý của cá Chiên nhiễm khuẩn (*A. hydrophila*). (A) xuất hiện tổn thương xuất huyết, loét ở vùng đầu, miệng; (B) xuất huyết, loét ở gốc vây.

Phân lập và định danh vi khuẩn ở mẫu cá Chiên bị bệnh

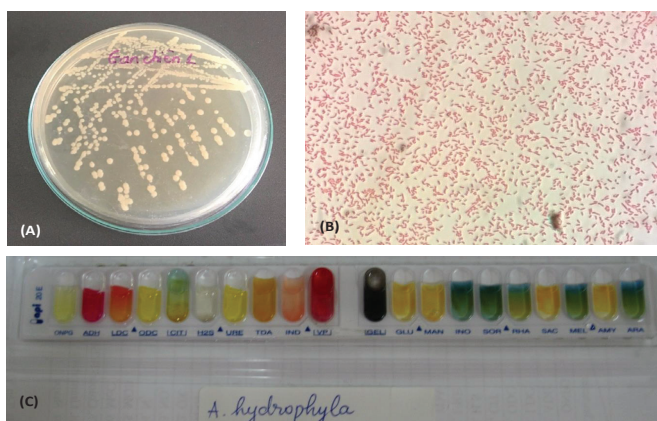
Tổng số 84 mẫu cá Chiên được thu vào tháng 7, 8, 9, 11 và 12, trong đó có 48 mẫu cá có biểu hiện bất thường với dấu hiệu như ruột không có thức ăn, xuất huyết, loét đốm đỏ... và 36 mẫu cá Chiên không có biểu hiện bất thường (bảng 1).

Bảng 1. Số mẫu và biểu hiện bệnh lý điển hình mẫu phân tích trong nghiên cứu.

TT	Dấu hiệu bệnh lý của mẫu thu phân tích	Số mẫu thu	Kết quả phân lập
1	Ruột không có thức ăn, gốc vây xuất huyết	8	<i>Aeromonas hydrophila</i>
2	Ruột không có thức ăn, trên thân xuất hiện các điểm xuất huyết, loét đốm đỏ ở thân, vùng đầu miệng	19	<i>Aeromonas hydrophila</i>
3	Ruột không có thức ăn, khoang bụng chứa nhiều dịch, gan sũng huyết	9	<i>Aeromonas hydrophila</i>
4	Ruột không có thức ăn, màu sắc gan không đồng đều, vùng sũng huyết đỏ, vùng nhợt nhạt	12	<i>Aeromonas hydrophila</i>
5	Cá không có biểu hiện bất thường	36	-
Tổng số mẫu thu phân tích		84	

Ghi chú: “-” mẫu có kết quả âm tính với chỉ tiêu phân tích vi khuẩn.

Kết quả nuôi cấy, phân lập vi khuẩn ở gan và thận của mẫu cá có biểu hiện mô tả tại bảng 1 cho thấy, đối với mẫu cá có dấu hiệu bất thường như ruột không có thức ăn, gốc vây xuất huyết, xuất hiện đốm loét đỏ hay xuất huyết ở thân, vùng đầu miệng, khoang bụng chứa nhiều dịch, gan sũng huyết hay màu sắc gan không đồng đều, đã phân lập được cùng 1 loài vi khuẩn trùng khớp đến 99,9% với *A. hydrophila* khi tra đặc điểm sinh hóa từ kit API 20E trên phần mềm Apiweb TM-API 20E. Trong khi đó, các mẫu không có dấu hiệu bất thường đều cho kết quả âm tính với vi khuẩn. *A. hydrophila* là loài vi khuẩn xuất hiện phổ biến, thường trực trong môi trường nước ngọt nuôi thủy sản và có thể gây ra tổn thất lớn khi là tác nhân gây bệnh cho cá [6]. Cá nuôi bị bệnh do *A. hydrophila* gây ra được ghi nhận có 2 dạng phổ biến: xuất huyết cấp tính đặc trưng bởi phù nề toàn thân, xuất huyết, hoại tử có chiều hướng lan rộng bắt đầu từ 1 điểm nhỏ ban đầu và xuất huyết nội tạng (gan, lách, thận); và hội chứng loét mãn tính được đánh dấu bằng sự hình thành của loét ăn sâu từ da xuống cơ cá [7, 8].



Hình 3. Vi khuẩn *A. hydrophila* phân lập từ cá Chiên bị bệnh. (A) hình thái khuẩn lạc mọc trên TSA; (B) hình thái vi khuẩn nhuộm gram; (C) đặc điểm sinh hóa của vi khuẩn.

Trong nghiên cứu này, *A. hydrophila* thu được ở gan, thận cá Chiên bệnh có đặc điểm chính sau: khuẩn lạc mọc trên môi trường TSA sau 24h ủ ở nhiệt độ 28-29°C với sự xuất hiện của khuẩn lạc tròn lồi, rìa nhẵn và màu trắng sữa (hình 3A), trong khi đó ở môi trường RS khuẩn lạc có hình dạng tròn, lồi, màu vàng. Kết quả này trùng hợp với các nghiên cứu trước đây khi chỉ ra khuẩn lạc của *A. hydrophila* có dạng hình tròn, màu trắng sữa trên môi trường dinh dưỡng TSA [9] và có màu vàng trên môi trường RS do chúng có khả năng lên men 2 loại đường sacrose và mantol [10]. Rõ ràng *A. hydrophila* phân lập được trong nghiên cứu này có tính chất lên men 2 loại đường sacrose và mantol với kết quả phản ứng màu vàng ở thanh kít API 20E (hình 3C). Bên cạnh đó, kỹ thuật nhuộm gram cho thấy hình thái vi khuẩn *A. hydrophila* có dạng trực khuẩn, thuộc nhóm vi khuẩn gram âm, với khả năng bắt màu hồng của thuốc nhuộm safranin (hình 3B), kết quả trùng khớp với nghiên cứu của Nicky B. Buller (2004) khi chỉ ra *A. hydrophila* có dạng hình que ngắn, thẳng, bắt màu hồng sau khi nhuộm gram với bộ 4 loại thuốc lần lượt là 1-Crystal Violet, 2-Lugol, 3-Aceton và 4-Safranin [11].

Khi cá nuôi nhiễm tác nhân gây bệnh là vi khuẩn, biện pháp trị bệnh thường áp dụng là kháng sinh, tuy nhiên để đưa ra loại thuốc nào có hiệu quả diệt khuẩn cao, cần áp dụng phương pháp lập kháng sinh đồ, tránh trường hợp sử dụng thuốc theo cảm tính, kinh nghiệm. Vấn đề này đã được khắc phục và thực hiện trong nghiên cứu này. Kết quả cho thấy, 7/8 loại kháng sinh thử đều không có khả năng kháng khuẩn hoặc có nhưng ở mức trung bình và yếu, chỉ có duy nhất kháng sinh Doxycycline có hiệu quả diệt khuẩn cao đối với vi khuẩn *A. hydrophila* thu được với đường kính vòng kháng khuẩn trung bình đạt 26,5±1,1 mm (bảng 2).

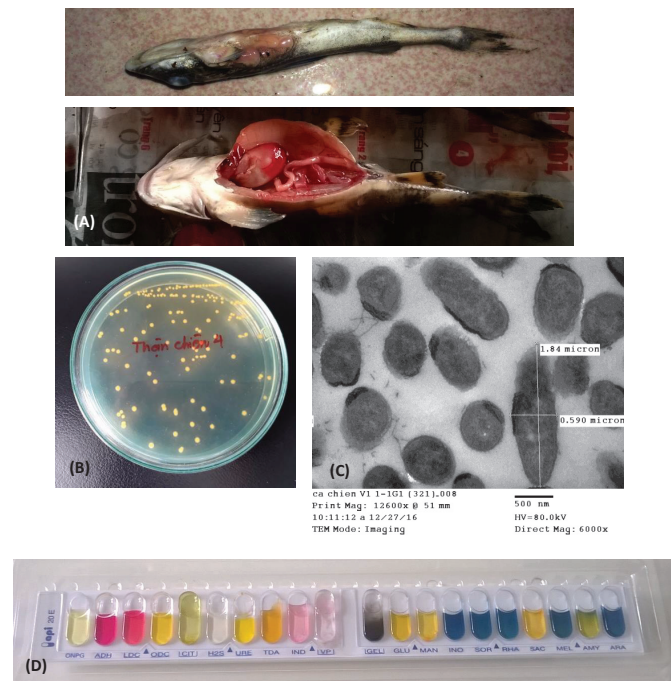
Bảng 2. Khả năng kháng khuẩn của kháng sinh đối với vi khuẩn *A. hydrophila*.

TT	Tên thuốc kháng sinh	Đường kính vòng kháng khuẩn (mm)	Khả năng kháng khuẩn
1	Tetracyclin	12,6±2,9	M
2	Ornithin	0	R
3	Ampicycline	0	R
4	Novobiocin	5,5±1,8	R
5	Trimethoprin - sulfamethoxazol	15,6±1,4	M
6	Doxycycline	26,5±1,1	S
7	Neomycin	7,5±1,7	R
8	Erythromycin	10,2±2,9	R

Gây nhiễm *A. hydrophila* lên cá Chiên

Kết quả nghiên cứu chỉ rõ, *A. hydrophila* có độc lực cao đối với cá Chiên. Ở cả 3 nồng độ gây nhiễm 10⁴, 10⁵ và 10⁶ cfu/ml cá có tỷ lệ chết 100% ở ngày thứ 3 sau khi gây nhiễm, đặc biệt ở nồng độ 10⁶ cfu/ml cá chết 100% ngay ở ngày thứ 2. Ở nồng độ thấp hơn (10³ cfu/ml) tỷ lệ chết kéo dài theo

thời gian từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 5 sau khi gây nhiễm (47,6-100%). Biểu hiện bệnh lý đã không được ghi nhận ở lô gây nhiễm 10⁴-10⁶ cfu/ml, điều này được lý giải do vi khuẩn có độc lực mạnh, cá chết nhanh khi chưa kịp có biểu hiện bệnh lý, nhận định này trùng hợp với nghiên cứu của Sarker và cs (2016) [12]. Tuy nhiên, ở lô thí nghiệm 10³ cfu/ml cá có biểu hiện loét phân bụng và gan thận sưng huyết (hình 4A), đồng thời kết quả tái phân lập *A. hydrophila* ở các lô gây nhiễm đều cho kết quả 100% là *A. hydrophila*. Trong khi đó, lô đối chứng âm (không gây nhiễm vi khuẩn) cá phát triển bình thường, phản xạ nhanh khi có tiếng động trong suốt 8 ngày thí nghiệm, kết quả phân lập vi khuẩn (bao gồm *A. hydrophila*) ở các ngày 3, 5 và 7 đều âm tính (bảng 3).



Hình 4. Kết quả gây nhiễm *A. hydrophila* lên cá Chiên. (A) biểu hiện lở loét vùng thân, gan sưng huyết của cá gây nhiễm; **(B)** hình thái khuẩn lạc trên Rimler Shotts agar; **(C)** hình ảnh vi khuẩn dưới kính hiển vi điện tử; **(D)** đặc điểm sinh hóa của vi khuẩn.

Bảng 3. Tỷ lệ (%) mẫu tái phân lập *A. hydrophila* trong quá trình thí nghiệm.

TT	Ngày thí nghiệm	Tỷ lệ <i>A. hydrophila</i> tái phân lập từ thí nghiệm gây nhiễm (%) - Mật độ vi khuẩn gây nhiễm (cfu/ml)				Đối chứng	
		10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³		
1	2	100	100	#	#	#	
2	3	#	#	100	100	0	
3	5	#	#	#	100 ⁽¹⁾	0	
4	7	Kết thúc thí nghiệm ngày thứ 3				#	0

Ghi chú: #: không thu mẫu phân tích, số mẫu mỗi lần phân tích n=3; ⁽¹⁾: thu mẫu cất kính hiển vi điện tử.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã lựa chọn hình thức gây nhiễm là ngâm - phương pháp được xem là mô tả một cách hiệu quả và gần nhất với con đường lây nhiễm tự nhiên của vi khuẩn nói chung và *A. hydrophila* nói riêng lên cá Chiền nuôi, đây là phương pháp được nhiều tác giả ứng dụng [12, 13]. Kết quả thí nghiệm gây nhiễm cho thấy, tổn thương quan sát được ở cá Chiền trong thí nghiệm ngâm trong nước chứa *A. hydrophila* tương tự như biểu hiện bệnh lý đã ghi nhận được ở cá Chiền bị bệnh nuôi tại vùng nghiên cứu (tổn thương loét ở thân, sưng huyết gan thận) (hình 4A), bên cạnh đó cá có biểu hiện bất thường trong thí nghiệm được thu tái phân lập vi khuẩn cho kết quả 100% mẫu là *A. hydrophila* thông qua hình ảnh khuẩn lạc mọc trên RS, hình thái vi khuẩn nhuộm gram và phản ứng sinh hóa trong kit API 20E (bảng 3 và hình 4B, D).

A. hydrophila được biết đến là chủng vi khuẩn có độc lực cao đối với cá nuôi nước ngọt, đặc biệt cá da trơn. Các thí nghiệm gây nhiễm đã chỉ ra *A. hydrophila* có độc lực gây chết cá Lăng với tỷ lệ cao (>90%) ở nồng độ gây nhiễm 2×10^7 cfu/ml trong thời gian 48h ở điều kiện nhiệt độ $27 \pm 1^\circ\text{C}$, với tổn thương ở vùng thân dễ nhận thấy như xuất huyết, đỏ ở da, các gốc vây. Hơn nữa, thí nghiệm đã ghi nhận có tỷ lệ cá chết khác nhau ($p < 0,05$) khi thời gian ngâm cá trong môi trường nước chứa vi khuẩn khác nhau (15 và 60 phút) [13]. Một nghiên cứu khác đã chỉ ra, *A. hydrophila* gây chết 100% cá Nheo trong suốt 7 ngày gây nhiễm, trong khi đó các chủng vi khuẩn khác gây chết với tỷ lệ thấp, lần lượt *A. sobria* (0%), *Plesiomonas shigelloides* (20%) [14].

Ở ngày thứ 5, mẫu cá Chiền thí nghiệm có biểu hiện bệnh lý ở lỗ gây nhiễm 10^3 cfu/ml được thu tái phân lập *A. hydrophila*, đồng thời cắt kính hiển vi điện tử. Kết quả thu được hình ảnh vi khuẩn có kích thước dài 1,84 và rộng 0,59 μm (hình 4C), đây là kích thước phù hợp nằm trong khoảng kích thước của *A. hydrophila* (0,3-1,0 μm rộng và 1,0-3,5 μm dài) được nhiều nghiên cứu chỉ ra [11, 15].

Kết luận

Vi khuẩn *A. hydrophila* là tác nhân gây bệnh ở cá Chiền với biểu hiện bệnh lý ngoài điển hình như: đốm đỏ, loét, xuất huyết ở thân (đặc biệt vùng đầu, miệng, gốc vây) và biểu hiện trong nội tạng khi giải phẫu là ruột không có thức ăn, gan sưng huyết, ổ bụng chứa nhiều dịch.

A. hydrophila có độc lực cao, ở nồng độ 10^4 - 10^6 cfu/ml gây chết cá cấp tính, không có dấu hiệu bệnh lý trong 3 ngày. Ở nồng độ 10^3 cfu/ml, *A. hydrophila* gây chết cá thí nghiệm với biểu hiện loét phần bụng và gan thận sưng huyết, tỷ lệ chết cộng dồn tăng dần theo thời gian từ 47,6% ở ngày thứ 2, tăng lên 90,5% ở ngày thứ 4 và 100% ngày thứ 5.

Kháng sinh Doxycycline có tác dụng diệt khuẩn cao đối với chủng *A. hydrophila* phân lập được ở cá Chiền thu tại lồng nuôi ở các huyện Na Hang, Hàm Yên và TP Tuyên Quang, tỉnh Tuyên Quang.

Kiến nghị cần tiếp tục nghiên cứu sử dụng các hợp chất hoạt tính sinh học tự nhiên có tác dụng diệt khuẩn nhằm đánh giá khả năng phòng bệnh, làm cơ sở khoa học cho việc xây dựng biện pháp phòng trị bệnh cho cá Chiền nuôi theo hướng thân thiện với môi trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Trịnh Thị Trang, Nguyễn Thị Dung, Trương Đình Hoài (2017), "Xác định tác nhân gây bệnh xuất huyết trên cá Lăng (*Ictalurus punctatus*) tại một số tỉnh phía Bắc Việt Nam", *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, **15(14)**, tr.446-455.
- [2] T. Majumdar, et al. (2007), "Role of virulence plasmid of *Aeromonas hydrophila* in the pathogenesis of ulcerative disease syndrome in *Clarias batrachus*", *Indian J. Biochem. Biophys.*, **44**, pp.401-406.
- [3] A.J. Ullal, R.W. Litaker, E.J. Noga (2008), "Antimicrobial peptides derived from hemoglobin are expressed in epithelium of channel catfish (*Ictalurus punctatus*)", *Dev. Comp. Immunol.*, **32**, pp.1301-1312.
- [4] Tu Thanh Dung, et al. (2008), *Common diseases of Pangasius Catfish farmed in Vietnam*, Global Aquaculture Advocate.
- [5] C. Esteve, et al. (1994), "O-serogrouping and surface components of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas jandaei* pathogenic for eels", *FEMS Microbiol. Lett.*, **117**, pp.85-90.
- [6] J.A. Plumb, L.A. Hanson (2010), *Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes*, Wiley Blackwell.
- [7] R.C. Cipriano, et al. (1984), *Aeromonas hydrophila and Motile Aeromonad Septicemias of Fish*, United States Fish and Wildlife Service.
- [8] H.W. Huizinga, et al. (1979), "Histopathology of red-sore disease (*Aeromonas hydrophila*) in naturally and experimentally infected largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede)", *J. Fish Dis.*, **2**, pp.263-277.
- [9] Emanuel Goldman, Lorrence H. Green (2009), *Practical Handbook of Microbiology*, CRC Press. Taylor & Francis Group.
- [10] Subhi H. Khalaf, et al. (2005), "The Use of Modified Rimler-Shotts Agar as a Selective Medium for the Isolation of *Aeromonas* Species from Children Diarrhea in Mosul-Iraq", *Raf. Jour. Sci.*, **16(7)**, pp.5-14.
- [11] Nicky B. Buller (2004), *Bacteria from fish and other aquatic animals. A practical Identification Manual*, CABI publishing, Aquatic animals - Microbiology.
- [12] J. Sarker, M.A.R. Faruk (2016), "Experimental infection of *Aeromonas hydrophila* in pangasius", *Agriculture*, **27(3)**, pp.392-399.
- [13] Zhang, Dunhua, et al. (2016), "Experimental induction of motile *Aeromonas* septicemia in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) by waterborne challenge with virulent *Aeromonas hydrophila*", *Aquaculture*, **3**, pp.18-23.
- [14] Toshihiro Kuge, et al. (1992), "*Aeromonas hydrophila*, a Causative Agent of Mass Mortality in Cultured Japanese Catfish Larvae (*Silurus asotus*)", *Gyobyo Kenkyu*, **27(2)**, pp.57-62.
- [15] A.J. Horneman, A. Ali, S.L. Abbott (2007), *Manual of Clinical Microbiology*, Washington D.C.: ASM Press.