

MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ, BỆNH LÝ VÀ CHẨN ĐOÁN BỆNH KOI HERPES VIRUS (KHV) TRÊN CÁ CHÉP NUÔI TẠI MIỀN BẮC VIỆT NAM

Trương Đình Hoài^{1*}, Đào Lê Anh², Nguyễn Thị Lan², Kim Văn Vạn¹

¹*Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

²*Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam*

*Tác giả liên hệ: tdhoai@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 12.11.2019

Ngày chấp nhận đăng: 22.03.2020

TÓM TẮT

Mục đích của nghiên cứu này là tìm ra một số đặc điểm dịch tễ, bệnh lý và phương pháp chẩn đoán bệnh KHV trên cá chép nuôi ở Việt Nam. Tiến hành điều tra 207 hộ nuôi cá với 294 ao nuôi tại 5 tỉnh phía Bắc và tiến hành thu mẫu cá bệnh để theo dõi đặc điểm triệu chứng, bệnh tích và xác định tác nhân gây bệnh bằng phương pháp PCR. Kết quả nghiên cứu cho thấy hình thức nuôi ghép là hình thức nuôi chính (chiếm 89,6%), với tỷ lệ ghép của cá chép là 31%. Cá thường xuất hiện bệnh ở các tháng trước và sau tết âm lịch và có các biểu hiện hô hấp khó khăn, bơi lờ đờ, mang nhiều nhớt và bị hoại tử, tuột vảy, xuất huyết, gan thận sưng và nội tạng dính vào xoang bụng. Tỷ lệ ao nuôi cá chép bị bệnh do virus KHV chiếm 37,1%, với 70 mẫu cá thu từ các ao bị bệnh đều nhiễm KHV sau khi giám định bằng PCR.

Từ khóa: Koi herpes virus, dịch tễ, bệnh lý, cá chép, Việt Nam.

Epidemiological, Pathological Characteristics and Diagnosis Koi Herpes Virus Infecting Common Carp Culture in Northern Vietnam

ABSTRACT

This study aimed to investigate the epidemiological, pathological characteristics and diagnostic methods affected fish. The survey from 207 fish raising farmers with 294 ponds in 5 Northern provinces, accompany with sampling the affected fish were conducted for analysis the clinical, pathological features and PCR assay. The results showed that polyculture was predominant culture type (89.6%), and grafted average ratio of 31% common carp in ponds. Affected fish appeared in the months surrounding the Lunar New Year, with clinical signs of respiratory distress, lethargic swimming, separate from the shoal, excess mucus and necrotic in the gills, loss of epidermis and fin erosion, reddening of the skin. Gross lesion includes the kidney or liver may be enlarged and adhesions in the abdominal cavity of internal organs. The proportion of ponds existed KHV infected fish was accounted for 37.1%, with 70 fish samples from contaminated ponds were positive with KHV in PCR assay.

Keywords: Koi herpes virus, epidemiology, pathology, common carp, Vietnam.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá chép là một trong những loài cá nước ngọt truyền thống, được nuôi phổ biến ở khu vực phía Bắc Việt Nam do cá có chất lượng thịt thơm ngon, bổ dưỡng được người tiêu dùng ưa chuộng, cá có khả năng chịu lạnh tốt và có thể nuôi được trong nhiều loại hình thủy vực như ruộng, ao, trên sông hay hồ chứa và trong nhiều hệ thống nuôi như quảng canh, bán thâm canh

hay thâm canh (Kim Văn Vạn & Nguyễn Văn Thọ, 2012; Kim Văn Vạn & cs., 2013). Trước đây, khi nuôi cá chép thương phẩm, chủ yếu là nuôi ghép với tỷ lệ thả thấp, dưới 10% tổng số cá thả (Kim Văn Vạn & Trần Thị Loan, 2010) và ít thấy dịch bệnh xuất hiện trên cá chép nuôi. Nhưng ngày nay, cá chép đã trở thành đối tượng nuôi chính với tỷ lệ ghép cao, khi đó lại thấy xuất hiện nhiều bệnh như bệnh kênh mang do ấu trùng sán lá ruột (*Centrocestus formosanus*)

gây ra (Kim Văn Vạn & cs., 2012), bệnh u nang bã đậu trong ruột cá chép (Kim Văn Vạn & Phạm Thị Thắm, 2018).

KHV là virus gây bệnh cho cá chép cảnh và cá chép thường, bệnh xuất hiện lần đầu tiên ở Hồng Kông năm 2001, Indonesia năm 2002, từ đó lan truyền ra nhiều nước trên toàn thế giới (Haenen & Engelsma, 2004), cho đến nay, nhiều nước đã bị thiệt hại lớn từ các vụ dịch KHV như Nhật Bản, Ba Lan, Đức, Cộng hòa Séc, Hoa Kỳ, Canada, Thái Lan, Indonesia (Garver & cs., 2010; Grimmett & cs., 2006; Pikulkaew & cs., 2009; Sano & cs., 2004). Bệnh thường xảy ra ở điều kiện nhiệt độ thấp từ 16-25°C, khi cá bị bệnh thường có biểu hiện tăng tiết dịch nhầy, hoại tử mang, hô hấp khó khăn, bơi lơ dờ dựa thành bể hoặc bờ ao, trên thân có hiện tượng xuất huyết, tuột vảy (Bergmann & cs., 2006; Kempter & cs., 2012).

Trong 3-4 năm gần đây, cá chép nuôi ở khu vực phía Bắc có hiện tượng chết nhiều, có nhiều biểu hiện của bệnh rất giống với bệnh KHV (*Koi Herpesvirus*), và lây lan mạnh quanh thời điểm trước và sau tết âm lịch tại các vùng nuôi cá nước ngọt tập trung, gây thiệt hại rất lớn cho người nuôi. Tuy nhiên cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu về tình hình dịch bệnh và thông tin liên quan đến đặc điểm bệnh và phương pháp chẩn đoán bệnh để làm cơ sở đề ra phương pháp quản lý và phòng bệnh trong những năm tới. Chính vì vậy, trong khuôn khổ bài báo này, chúng tôi trình bày một số kết quả nghiên cứu về dịch tễ, đặc điểm bệnh lý và phương pháp chẩn đoán bệnh KHV trên cá chép nuôi ở khu vực phía Bắc Việt Nam.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Phiếu điều tra thông tin của 207 hộ nuôi cá chép giống và cá chép thương phẩm tại 5 huyện thuộc 5 tỉnh đại diện ở khu vực phía Bắc: huyện Ứng Hòa (Hà Nội), huyện Ninh Giang (Hải Dương), Yên Phong (Bắc Ninh), Khoái Châu (Hưng Yên) và Lý Nhân (Hà Nam).

Mẫu cá chép bệnh được thu từ các ao cá bị bệnh trong vùng để mổ khám nhằm thu thập,

tổng hợp dấu hiệu triệu chứng, bệnh tích, thu mẫu phục vụ cho xét nghiệm xác định tác nhân gây bệnh bằng phương pháp PCR.

Dụng cụ, thiết bị và hóa chất tại Phòng thí nghiệm Bệnh thủy sản, Khoa Thủy sản và Bệnh viện Thú y, Học Viện Nông nghiệp Việt Nam.

Nghiên cứu được thực hiện trong thời gian từ tháng 9 năm 2017 đến tháng 5 năm 2019.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Điều tra dịch tễ

Thu thập thông tin: Nghiên cứu được tiến hành trên cơ sở tổng hợp thông tin (kế thừa từ sách, báo, tạp chí, báo cáo của chính quyền địa phương và báo cáo đề tài nghiên cứu) và theo phương pháp điều tra trực tiếp hộ dân nuôi cá giống/thương phẩm và nuôi cá chép cảnh.

Phương pháp điều tra: Sử dụng phương pháp phỏng vấn trực tiếp theo bộ câu hỏi điều tra đã được chuẩn bị sẵn đối với toàn bộ 207 hộ gia đình nuôi cá ao. Phương pháp phỏng vấn và bộ câu hỏi được xây dựng trên cơ sở tham khảo bộ câu hỏi điều tra ngang trong nghiên cứu dịch tễ học mô tả các hộ nuôi cá (Phan & cs., 2010; Kim Văn Vạn & Phạm Thị Thắm, 2018). Nội dung chứa đựng các thông tin như số ao, diện tích ao nuôi của mỗi hộ, loài nuôi, tỷ lệ ghép, tỷ lệ cá chép, thời điểm mắc bệnh, triệu chứng, bệnh tích của bệnh, tỷ lệ chết. Bộ câu hỏi được xây dựng sau khi điều tra thử đối với 5 hộ, sau đó điều chỉnh sửa đổi cho phù hợp để chính thức điều tra phỏng vấn 207 hộ nuôi cá.

2.2.2. Thu mẫu, quan sát triệu chứng và bệnh tích

Phương pháp thu mẫu cá được thực hiện theo phương pháp thu mẫu cá, kiểm tra bệnh của Hoai & cs., (2019). Sau khi quan sát biểu hiện và triệu chứng của cá bị bệnh tại hiện trường. Tổng số 70 mẫu cá (kích cỡ 0,5-1,2 kg) được thu và chuyển về phòng thí nghiệm theo phương pháp vận chuyển kín. Sau khi đưa về phòng thí nghiệm, tiếp tục theo dõi, ghi chép triệu chứng lâm sàng, giải phẫu cá, thu thập bệnh tích đại thể và thu các mẫu mô cho các phân tích tiếp theo.

2.2.3. Thu mẫu tách chiết DNA

Theo Gilad & cs., (2004), khi cá bị bệnh KHV mang, thận và lách là những cơ quan mà virus tập trung nhiều nhất. Do vậy, chúng tôi tiến hành thu mẫu mang, lách, thận và trộn các mẫu này với nhau để tách chiết DNA nhằm tăng khả năng phát hiện bệnh. Các mẫu chưa được tách chiết DNA được bảo quản ở nhiệt độ âm sâu (-80°C). DNA từ mẫu cá được tách chiết theo kit tách chiết DNA (Invitrogen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.2.4. Giám định KHV bằng kỹ thuật PCR

Mẫu DNA sau khi tách chiết sẽ được sử dụng để giám định bằng phương pháp PCR. Cặp mồi được sử dụng để giám định là cặp mồi KHV Sph I-5 của Yuasa & cs. (2005) với độ dài sản phẩm là 292 bp. Trình tự cặp mồi cụ thể như sau:

Cặp mồi	Trình tự nucleotid
Sph I-5-F:	5-GACACCACATCTGCAAGGAG-3
Sph I-5-R:	5-GACACATGTTACAATGGTTCG-3

Mỗi mẫu dùng cho phản ứng PCR gồm:

Thành phần phản ứng	Thể tích cần lấy (μL)
Nước	3
2X Reaction buffer	10
Mẫu DNA	5
Primer Forwad	1
Primer Reverse	1
Tổng thể tích	20

Chu kỳ nhiệt cho phản ứng PCR: 94°C - 30 giây ; 40 chu kỳ (94°C - 30 giây, 63°C - 30 giây, 72°C - 30 giây) ; 72°C - 7 phút, 4°C. Sản phẩm PCR sau đó sẽ được điện di trên Agrose 1% và chụp ảnh.

2.2.5. Kiểm tra các tác nhân bội nhiễm

Cá được thu còn được kiểm tra kỹ các tác nhân khác như phương pháp kiểm tra ký sinh trùng theo phương pháp của Hà Ký & Bùi Quang Tê (2007); Phương pháp nuôi cấy phân lập vi khuẩn gây bệnh của Hoai & cs., (2019); Phương pháp phân lập và nhận dạng nấm gây bệnh của (Hatai, 1980).

2.2.6. Phân tích và xử lý số liệu

Tỷ lệ nuôi cá chép ở các mô hình nuôi tại địa bàn điều tra, tỷ lệ cá chép trong các ao nuôi ghép, tỷ lệ ao bị bệnh, thời gian bị bệnh trong năm, tỷ lệ xuất hiện các triệu chứng và bệnh tích được thu thập và xử lý trên phần mềm Excel 2010.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tình hình nuôi và bệnh cá chép có biểu hiện bệnh KHV khu vực phía Bắc

3.1.1. Tình hình nuôi cá chép khu vực phía Bắc

Kết quả điều tra phỏng vấn 207 hộ nuôi cá với 294 ao thuộc 5 huyện trong 5 tỉnh nuôi cá nước ngọt khu vực phía Bắc cho kết quả được tổng hợp ở bảng 1.

Ao nuôi cá tại các vùng điều tra có diện tích trung bình 2.405,8m², diện tích nhỏ nhất là 380m², lớn nhất 8.200m². Nhìn chung diện tích ao nuôi này là phù hợp với diện tích ao nuôi bán thâm canh và thâm canh khu vực phía Bắc (Kim Văn Vạn & Trần Thị Loan, 2010; Kim Văn Vạn & Phạm Thị Thắm, 2018). Qua điều tra cho thấy hầu hết các ao nuôi cá tại 5 tỉnh là ao nuôi ghép chiếm đến 89,5% số ao điều tra, nếu xét riêng ao nuôi cá thương phẩm thì số ao nuôi ghép đến gần 100%, các ao nuôi đơn chủ yếu là ao nuôi cá chép giống và một vài sông trong ao nuôi riêng cá chép thương phẩm. Tỷ lệ và đối tượng nuôi ghép được thể hiện ở bảng 2.

Kết quả thu thập về tỷ lệ ghép các loài cá trong ao ở vùng điều tra cho thấy cá chép đã được thả ở mức 27,8-34,4% trong các ao nuôi cá thương phẩm (Bảng 2), tỷ lệ này đã tăng so với số liệu điều tra các năm trước. Theo báo cáo của Kim Văn Vạn & Trần Thị Loan (2010), tỷ lệ cá chép thả ở khu vực Hải Dương trong các ao nuôi ghép chiếm 7-10%. Sở dĩ những năm gần đây người nuôi có xu hướng tăng tỷ lệ cá chép trong mô hình nuôi ghép do loài cá này có khả năng thích nghi với nuôi công nghiệp, giá bán hợp lý, mang lại hiệu quả kinh tế cho người dân. Tuy nhiên, việc tăng tỷ lệ cá chép nuôi cũng kéo theo nhiều mặt trái trong đó có hiện tượng dịch bệnh diễn biến ngày càng phức tạp và gây thiệt hại cho đối tượng nuôi này.

Bảng 1. Tình hình nuôi cá chép trong ao tại các địa phương điều tra

Địa danh	Số hộ điều tra	Số ao điều tra	Diện tích trung bình của ao (m ²)	Nuôi đơn		Nuôi ghép	
				Số ao	Tỷ lệ (%)	Số ao	Tỷ lệ (%)
Ứng Hòa (Hà Nội)	63	96	2414,6 ± 1360,1	9	9,4	87	90,6
Ninh Giang (Hải Dương)	47	72	2756,9 ± 831,5	8	11,1	64	88,9
Yên Phong (Bắc Ninh)	39	57	2806,3 ± 1309,2	8	14,0	49	86,0
Khoái Châu (Hưng Yên)	34	38	2178,4 ± 698,3	3	7,9	35	92,1
Lý Nhân (Hà Nam)	24	31	1872,8 ± 416,4	3	9,7	28	90,3
Tổng số	207	294	2405,8 ± 923,1	31	10,5	263	89,5

Bảng 2. Tỷ lệ ghép các loài cá trong ao ở vùng điều tra

Địa điểm	Tỷ lệ nuôi ghép (%)					
	Cá trôi	Cá mè	Cá trắm	Cá chép	Cá rô phi	Cá khác
Ứng Hòa (Hà Nội)	7,6	3,2	30,2	32,1	24,6	2,3
Ninh Giang (Hải Dương)	8,9	3,8	42,1	27,8	16,3	1,1
Yên Phong (Bắc Ninh)	9,8	2,3	37,5	28,6	20,6	1,2
Khoái Châu (Hưng Yên)	7,6	3,2	30,2	32,1	24,6	2,3
Lý Nhân (Hà Nam)	7,1	4,4	32,6	34,4	18,4	3,1
Trung bình	8,2	3,4	34,5	31	20,9	2,0

Bảng 3. Tình hình dịch bệnh cá chép nuôi có biểu hiện bệnh KHV ở khu vực điều tra

Địa danh	Số ao điều tra	Số ao bị bệnh	Tỷ lệ ao bị bệnh (%)
Ứng Hòa - Hà Nội	96	39	40,6
Ninh Giang - Hải Dương	72	23	31,9
Yên Phong - Bắc Ninh	57	24	42,1
Khoái Châu - Hưng Yên	38	12	31,6
Lý nhân - Hà Nam	31	11	35,5
Tổng số	294	109	37,1

3.1.2. Tình hình bệnh của cá chép nuôi khu vực điều tra

Kết quả điều tra 294 ao nuôi của 207 hộ nuôi cá chép tại khu vực phía Bắc với cho thấy tình hình bệnh cá chép nuôi có biểu hiện giống với bệnh KHV là khá nghiêm trọng. Kết quả điều tra về số ao bị bệnh được tổng hợp ở bảng 3.

Kết quả điều tra ghi nhận 109/294 ao điều tra (37,1%) có cá chép từng hoặc đang bị bệnh có biểu hiện bệnh KHV, bệnh chủ yếu xảy ra trước và sau tết âm lịch. Nhiều khu vực ở huyện Yên Phong (Bắc Ninh) trong vụ nuôi 2018-2019 cả khu cá nuôi bị bệnh, cá bệnh

thường có biểu hiện bơi lơ dờ, đen thân, tuột vảy, xuất huyết, hô hấp khó khăn, nhiều nhớt, thối và hoại tử mang nghiêm trọng. Trong các ao nuôi ghép chỉ thấy bệnh xảy ra trên cá chép mà không thấy xuất hiện ở cá khác. Kết quả theo dõi thời điểm xuất hiện bệnh được tổng hợp và thể hiện ở hình 1.

Kết quả phân tích về thời gian cá chép xuất hiện các dấu hiệu bệnh lý nghi nhiễm KHV cho thấy bệnh này chủ yếu xuất hiện vào các tháng mùa đông (xung quanh tết âm lịch), không xuất hiện vào các tháng mùa hè và không thấy xuất hiện trên các đối tượng cá khác. Đặc điểm này

phù hợp với đặc điểm dịch tễ của bệnh KHV bởi bệnh này chỉ xuất hiện trên cá chép nuôi, cá chép cảnh và không xuất hiện bệnh trên các loài cá khác. Theo Haramoto & cs., (2007) virus KHV có thể tồn tại ở nhiệt độ thấp (9-11°C) trong nước ít nhất 4 tháng. Theo báo cáo từ một số nước xảy ra dịch bệnh KHV, bệnh thường xuất hiện khi nhiệt độ nước từ 16-25°C (Haenen & Engelsma 2004; Hedrick & cs., 2000; Sano & cs., 2004), đây cũng là đặc điểm để phân biệt với bệnh do virus mùa xuân ở cá chép (bệnh xuất hiện ở nhiệt độ nước dưới 16°C và xuất hiện ở nhiều loài thuộc họ cá chép).

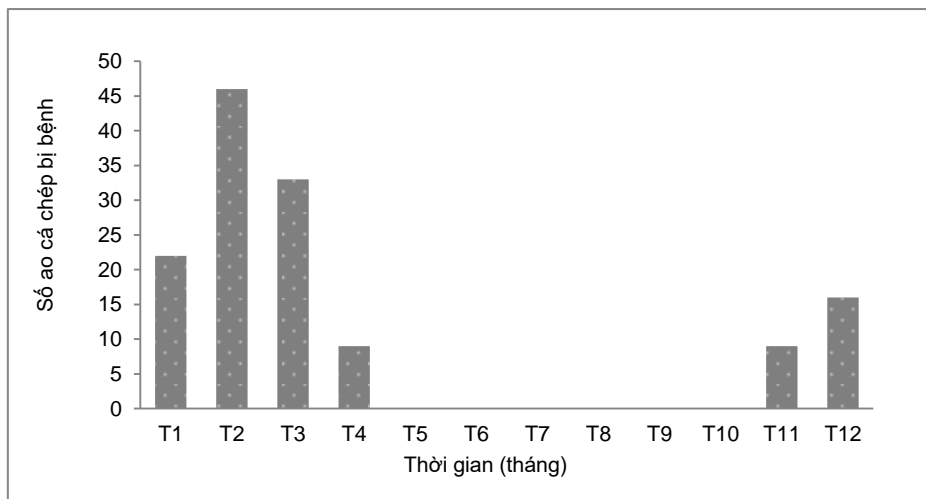
3.2. Triệu chứng và bệnh tích cá chép bị bệnh

3.2.1. Triệu chứng cá chép bị bệnh

Trong quá trình điều tra tình hình bệnh cá chép ở khu vực phía Bắc, chúng tôi đã tiến hành quan sát, theo dõi cá bị bệnh từ các ao nuôi cá

thương phẩm ở 5 huyện đang bị bệnh để thu thập triệu chứng và thu 70 mẫu cá chép để thu thập các dấu hiệu bệnh lý, phân tích tác nhân gây bệnh. Kết quả quan sát cho thấy, cá bị bệnh có các biểu hiện bất thường như thân chuyển màu đen hơn bình thường, nổi mặt ao, bơi lơ đãng, tách đàn và dạt bờ (Hình 2). Sau khi quan sát nhanh các mẫu cá được thu, cá được chuyển về phòng thí nghiệm để phân tích.

Tiến hành kiểm tra triệu chứng lâm sàng của cá bệnh cho thấy cá bị bệnh thường có các biểu hiện bong vảy, xuất huyết và thỉnh thoảng bất gặp hoại tử da. Kết quả kiểm tra mang cá cho thấy mang rất nhiều nhớt, dịch nhớt có tính nhầy cao, dễ bám dính vào xương nắp mang. Kiểm tra dấu hiệu bệnh lý ở mang cho thấy có đến 62/70 cá có triệu chứng hoại tử trắng đỏ, kèm theo thối mang. Đây là lý do làm cá hô hấp khó khăn. Triệu chứng và tỷ lệ thể hiện các triệu chứng được tổng hợp ở bảng 4 và hình 3.



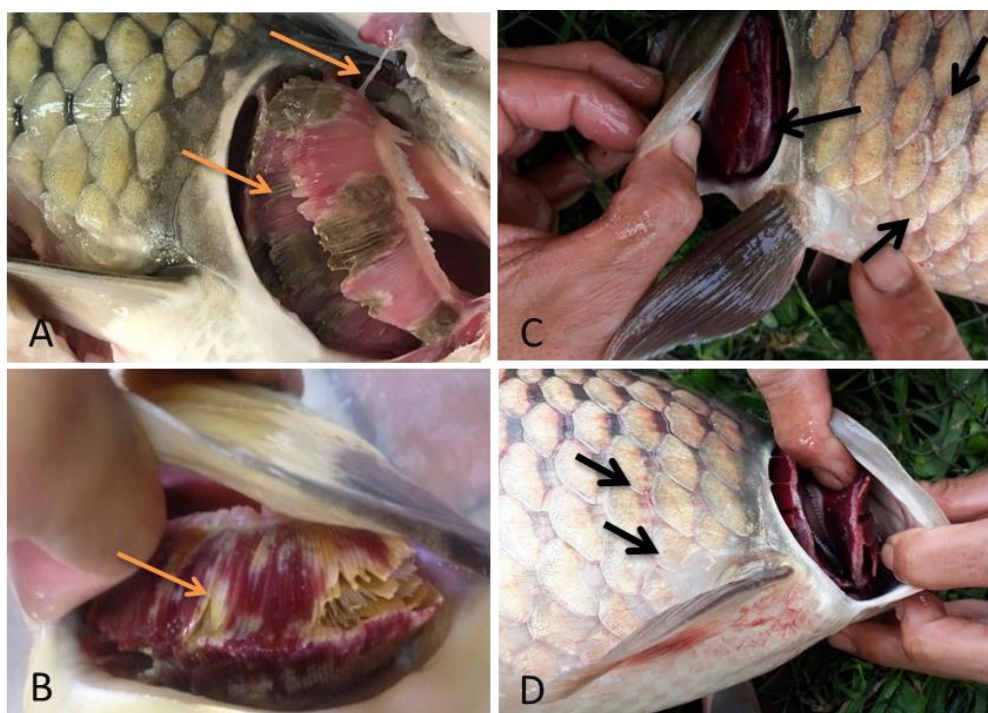
Hình 1. Thời điểm xuất hiện bệnh cá chép nghi nhiễm KHV



Hình 2. Cá bị bệnh bơi tách đàn, hô hấp khó khăn được thu mẫu kiểm tra

Bảng 4. Các triệu chứng của cá chép bị bệnh (n = 70)

Triệu chứng của cá chép bệnh	Số cá có triệu chứng (con)	Tỉ lệ (%)
Cá thân đen, nổi mặt ao, lơ dờ, dạt bờ	70	100
Bong vảy, xuất huyết, hoặc hoại tử da	46	65,7
Mang nhiều nhớt	70	100
Cá bị thối mang, hoại tử	62	88,6



Ghi chú: A và B - Mang cá bị hoại tử, tia mang rách nát, nhiều nhớt; C và D - Mang cá nhiều nhớt, lõm đốm hoại tử, xuất huyết thành tia trên vảy.

Hình 3. Các triệu chứng lâm sàng điển hình của cá bị bệnh KHV

Kết quả này hoàn toàn phù hợp với mô tả của Bergmann Lutze & cs. (2010) khi nghiên cứu dấu hiệu bệnh KHV ở cá koi, cá bị bệnh thường có rất nhiều nhớt ở mang và bị hoại tử mang, da bị xuất huyết. Các nghiên cứu chỉ ra rằng, mang cá là nơi virus KHV xâm nhập và gây hại nhiều nhất (Gilad & cs., 2004; Pikarsky & cs., 2004). Ngoài ra, Costes & cs. (2009) đã chứng minh virus KHV có thể xâm nhập qua da và vây cá và đi vào trong gan, thận, lách, ruột và mang cá. Virus sau đó phát tán nhanh trong môi trường nước qua nhớt da, mang, phân cá và phát tán ra môi trường xung quanh, tồn tại trong môi trường nước trong thời gian dài và gây bệnh nếu gặp vật chủ phù hợp (Dishon &

cs., 2005; Gilad & cs., 2004). Một số nghiên cứu ở Nhật Bản cho thấy trước và sau dịch bệnh, nước sông cung cấp cho các ao nuôi cá có sự tồn tại của virus KHV (Minamoto & cs., 2009; Minamoto & cs., 2012). Với khả năng tồn tại lâu và phát tán rộng của virus KHV, cộng với việc biện pháp kiểm soát nước ra vào của các hộ nuôi có cá bị bệnh chưa tốt có thể là lý do làm cho bệnh KHV lây lan nhanh chóng và gây bệnh trên diện rộng bởi ở miền Bắc Việt Nam. Ngoài phát tán theo dòng nước, có một vài ký chủ trung gian truyền bệnh có thể mang mầm bệnh KHV (các loài cá khác, ký sinh trùng, chim và động vật trên cạn) làm cho mầm bệnh lưu cữu và phát tán xa hơn (Kempter & cs., 2012). Cá

Một số đặc điểm dịch tễ, bệnh lý và chẩn đoán bệnh Koi Herpes Virus (KHV) trên cá chép nuôi tại miền Bắc Việt Nam

trắm cỏ và các loài cá cảnh không thuộc họ cá chép đã được chứng minh mang mầm bệnh KHV (Bergmann & cs., 2009). Ngoài ra cá tầm, các loài tôm nước ngọt và một số loài giáp xác cũng đã được chứng minh là mang mầm bệnh KHV và gây ra các vụ dịch KHV trên cá chép ở nhiều nước (Kempter & cs., 2009; Kielpinski & cs., 2010). Thức ăn tươi sống như rorifer cũng có thể là vật mang KHV (Minamoto & cs., 2011).

3.2.2. Bệnh tích cá chép bị bệnh

Kết quả kiểm tra bệnh tích đại thể cho thấy có cá bị bệnh không biểu hiện bệnh tích đặc trưng, dấu hiệu thường gặp nhất là nội quan dính vào màng bụng, gan, thận sưng to, có thể

có xuất huyết và thay đổi màu sắc như nhợt nhạt hoặc chuyển màu đỏ đậm (Hình 4). Biểu hiện bệnh lý ở lách gần như không gặp. Đặc điểm này hoàn toàn trùng khớp với mô tả về bệnh KHV (OIE, 2018).

3.3. Kết quả giám định bằng PCR

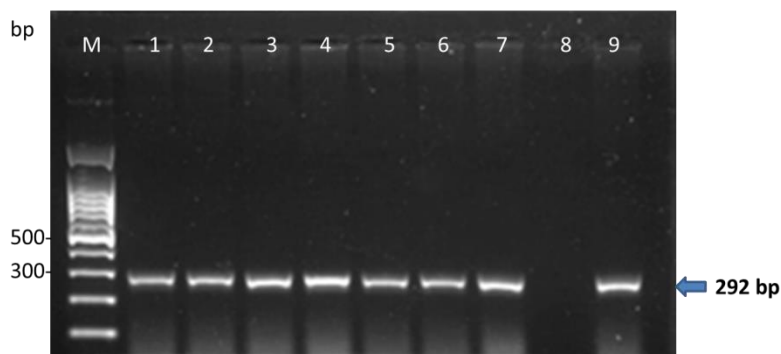
Kết quả giám định 70 mẫu cá nghi bị bệnh đều dương tính với KHV bằng phương pháp PCR (Bảng 5, Hình 5). Sở dĩ 100% cá bị bệnh đều dương tính với KHV có thể do một số nguyên nhân như mẫu cá được thu tại các ao đang bị bệnh, cá được thu bị bệnh nặng và có dấu hiệu bệnh lý rõ ràng nên kết quả giám định có tỷ lệ dương tính cao.



Hình 4. Đặc điểm bệnh lý đại thể của cá bị bệnh thể hiện thận sưng to, rơi vào xoang bụng, gan chuyển màu vàng hoặc đỏ đậm hơn bình thường

Bảng 5. Kết quả giám định cá chép bị KHV bằng phương pháp PCR (n = 70)

Địa điểm thu mẫu	Số mẫu chạy PCR	Kết quả PCR (+)	Tỷ lệ (%)
Ứng Hòa - Hà Nội	18	18	100
Ninh Giang - Hải Dương	12	12	100
Yên Phong - Bắc Ninh	16	16	100
Khoái Châu - Hưng Yên	12	12	100
Lý Nhân - Hà Nam	12	12	100
Tổng	70	70	100



Ghi chú: Giếng 1-7 các chủng KHV từ cá bệnh thu tại thực địa;
Giếng 8: Đối chứng âm; Giếng 9: DNA virus KHV dương tính.

Hình 5. Kết quả giám định bằng PCR các mẫu cá đại diện bị bệnh KHV

Trong quá trình theo dõi dịch bệnh xảy ra, chúng tôi nhận thấy tỷ lệ chết của cá rất cao, có những hộ, cá chết hàng loạt và gần như mất trắng. Theo Ito & cs. (2007), cá chép nhỏ có khả năng kháng với KHV nhưng cá trưởng thành lại rất mẫn cảm. Đây có thể là lý do cá thường bị bệnh ở những ao nuôi thương phẩm từ 0,5-1,2 kg, làm cho thiệt hại từ dịch bệnh này càng nặng nề hơn. Kết quả kiểm tra tỷ lệ cá nhiễm virus KHV trong quần đàn đang bị bệnh là rất cao, từ 54-93% (Uchii & cs., 2009; Taylor & cs., 2010). Theo báo cáo của một số quốc gia, khi đã phát hiện bệnh KHV thì dịch bệnh thường phát tán xa và vùng bị bệnh thường rất rộng lớn, gây thiệt hại nghiêm trọng. Indonesia và Nhật Bản là hai nước có thiệt hại về kinh tế nặng nề nhất. Indonesia thiệt hại hơn 15 triệu USD trong 3 tháng xảy ra dịch KHV vào năm 2003, trong khi đó, năm đầu tiên xảy ra dịch KHV, Nhật Bản đã thiệt hại hơn 2,5 triệu USD.

Những ao cá bị bệnh, cá có biểu hiện bệnh như bơi lơ đãng, bỏ ăn chiếm 100%, tỷ lệ chết ban đầu là 70-80%, nhưng sau đó có thể lên đến 100% do cá bệnh bị bội nhiễm vi khuẩn, ký sinh trùng, nấm (Bergmann Sadowski & cs., 2010; Haenen & Engelsma 2004). Trong quá trình nghiên cứu, chúng tôi cũng tiến hành phân lập các tác nhân bội nhiễm khi cá bị bệnh KHV, tuy nhiên chủ yếu gặp hiện tượng bội nhiễm vi khuẩn. Nguyên nhân khi cá có dấu hiệu bệnh, người dân thường khử trùng ao và cho ăn kháng sinh nên cơ hội gặp ký sinh trùng và nấm

thường rất ít. Kết quả xử lý dịch bệnh thường không cao, người dân dùng dùng thuốc và sau đó cá tiếp tục bội nhiễm vi khuẩn. Sau khi kiểm tra hình thái và giám định phát hiện các chủng vi khuẩn là *Aeromonas* sp. Đây là chủng vi khuẩn cơ hội trong nước, khi cá bị bệnh tổn thương, chúng thường xâm nhập và phát triển mạnh.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Kết quả điều tra dịch tễ 207 hộ nuôi cá chép với 294 ao nuôi ở 5 huyện thuộc 5 tỉnh có nuôi cá nước ngọt nhiều ở khu vực phía Bắc cùng với việc thu 70 mẫu cá bệnh cho phân tích tác nhân gây bệnh bằng PCR đã khẳng định cá chép nuôi ở khu vực phía Bắc bị bệnh do virus KHV gây ra với tỷ lệ số ao bị bệnh lên tới 37,1%, bệnh thường xảy ra nhiều vào các tháng mùa đông (xung quanh tết âm lịch), cá bị bệnh có biểu hiện đặc trưng là tăng tiết dịch, mang bị hoại tử trắng đỏ, cá khó hô hấp. Các bệnh tích trên cá bệnh không rõ ràng, thường gặp nhất là nội quan bị dính vào xoang bụng, gan thận sưng và biến đổi màu sắc. Để hạn chế dịch bệnh cho các ao nuôi trong những năm tới, chúng tôi khuyến cáo người nuôi cần hạn chế thả giống, vận chuyển con giống không rõ nguồn gốc trong thời điểm nhạy cảm hay xảy ra dịch bệnh, định kỳ khử trùng nước ao nuôi, cho cá ăn bổ sung vitamin C nhằm tăng cường sức đề kháng, hạn chế lấy và thay nước không kiểm soát nhằm hạn chế lây lan dịch bệnh.

LỜI CẢM ƠN

Để thực hiện nghiên cứu này, các tác giả nhận được kính phí từ đề tài trọng điểm (T2018-03-12TĐ) do Học viện Nông nghiệp Việt Nam đã tài trợ. Các tác giả xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ của các em sinh viên Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và chủ trang trại nuôi cá ở Hà Nội, Hải Dương, Hưng Yên, Bắc Ninh và Hà Nam đã giúp đỡ và tạo điều kiện trong quá trình điều tra, thu mẫu để hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bergmann S., Kempter J., Sadowski J. & Fichtner D. (2006). First detection, confirmation and isolation of koi herpesvirus (KHV) in cultured common carp (*Cyprinus carpio* L.) in Poland. Bulletin-european Association of Fish Pathologists. 26: 97.
- Bergmann S., Lutze P., Schütze H., Fischer U., Dauber M., Fichtner D. & Kempter J. (2010). Goldfish (*Carassius auratus*) is a susceptible species for koi herpesvirus (KHV) but not for KHV disease (KHVD). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. 30: 74-84.
- Bergmann S.M., Sadowski J., Kiełpiński M., Bartłomiejczyk M., Fichtner D., Riebe R., Lenk M. & Kempter J. (2010) Susceptibility of koi × crucian carp and koi × goldfish hybrids to koi herpesvirus (KHV) and the development of KHV disease (KHVD). Journal of Fish Diseases. 33: 267-272.
- Bergmann S., Schütze H., Fischer U., Fichtner D., Riechardt M., Meyer K., Schrudde D. & Kempter J. (2009). Detection of koi herpes virus (KHV) genome in apparently healthy fish. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists. 29: 145-152.
- Garver K.A. Al-Hussiney L., Hawley L.M., Schroeder T., Edes S., LePage V., Contador E., Russell S., Lord S. & Stevenson R.M. (2010). Mass mortality associated with koi herpesvirus in wild common carp in Canada. Journal of Wildlife Diseases. 46: 1242-1251.
- Gilad O., Yun S., Zagmutt-Vergara F.J., Leutenegger C.M., Bercovier H. & Hedrick R.P. (2004). Concentrations of a Koi herpesvirus (KHV) in tissues of experimentally-infected *Cyprinus carpio* koi as assessed by real-time TaqMan PCR. Diseases of aquatic organisms. 60: 179-187.
- Grimmett S.G., Warg J.V. Getchell R.G., Johnson D.J. & Bowser P.R. (2006). An unusual koi herpesvirus associated with a mortality event of common carp *Cyprinus carpio* in New York State, USA. Journal of wildlife diseases. 42: 658-662.
- Hà Ký & Bùi Quang Tề (2007). Ký sinh trùng cá nước ngọt Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. tr. 10-16.
- Haenen O. & Engelsma M. (2004). Global distribution of KHV with particular reference to Europe. Paper presented at the International Workshop on Koi Herpesvirus, London.
- Haramoto E., Kitajima M., Katayama H. & Ohgaki S. (2007) Detection of koi herpesvirus DNA in river water in Japan. Journal of fish diseases. 30: 59-61.
- Hatai K. (1980) Studies on pathogenic agents of saprolegniasis in fresh water fishes. Spec. Rep. Nagasaki Pref. Inst. Fish. 8: 1-95.
- Hedrick R., Gilad O., Yun S., Spangenberg J., Marty G., Nordhausen R., Kebus M., Bercovier H. & Eldar A. (2000). A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. Journal of Aquatic Animal Health. 12: 44-57.
- Hoai T.D., Trang T.T., Van Tuyen N., Giang N.T.H. & Van Van K. (2019) *Aeromonas veronii* caused disease and mortality in channel catfish in Vietnam. Aquaculture. 513: 734425.
- Ito T., Sano M., Kurita J., Yuasa K. & Iida T. (2007) Carp larvae are not susceptible to koi herpesvirus. Fish Pathology. 42: 107-109.
- Kempter J., Kiełpinski M., Panicz R., Sadowski J., Mysłowski B. & Bergmann S. (2012). Horizontal transmission of koi herpes virus (KHV) from potential vector species to common carp. Bull Eur Assoc Fish Pathol. 32: 212-219.
- Kempter J., Sadowski J., Schütze H., Fischer U., Dauber M., Fichtner D., Panicz R. & Bergmann S.M. (2009) Koi herpes virus: do acipenserid restitution programs pose a threat to carp farms in the disease-free zones? Acta Ichthyologica et Piscatoria. 39.
- Kiełpinski M., Kempter J., Panicz R., Sadowski J., Schütze H., Ohlemeyer S. & Bergmann S.M. (2010). Detection of KHV in freshwater mussels and crustaceans from ponds with KHV history in common carp (*Cyprinus carpio*). The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgheh. 62(1): 28-37.
- Kim Văn Vạn & Nguyễn Văn Thọ (2012). Nghiên cứu dịch tễ ấu trùng sán lá truyền lây qua cá Chép giống (*Cyprinus carpio*) trong các hệ thống nuôi. Tạp chí Khoa học và Phát triển - Trường ĐH Nông nghiệp Hà Nội. ISSN 1859-0004. 10(6): 933-939.
- Kim Văn Vạn & Phạm Thị Thắm (2018). Nghiên cứu một số đặc điểm bệnh u nang bã đậu trong ruột cá chép do bào tử sợi gây ra tại Hải Dương. Tạp chí Khoa học và Kỹ thuật Thú Y. 25(6):76-82.

- Kim Văn Vạn & Trần Thị Loan (2010). Xây dựng mô hình nuôi ghép cá Trắm đen trong ao tại Hải Dương. Tạp chí Khoa học, Công nghệ & Môi trường. Sở KH & CN tỉnh Hải Dương. 3: 19-21.
- Kim Văn Vạn, Phan Trọng Bình & Nguyễn Thị Lan (2013). Nghiên cứu dịch tễ ấu trùng sán lá truyền lây qua cá chép thương phẩm (*Cyprinus carpio*). Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y ISSN 1859-4751. 20(3): 69-73.
- Minamoto T., Honjo M., N., Uchii K., Yamanaka H., Suzuki A., A., Kohmatsu Y., Iida T. and Kawabata Z. i. (2009). Detection of *cyprinid herpesvirus 3* DNA in river water during and after an outbreak. Veterinary microbiology. 135: 261-266.
- Minamoto T., Honjo M., N., Yamanaka H., Tanaka N., Itayama T. & Kawabata Z. (2011). Detection of cyprinid herpesvirus-3 DNA in lake plankton. Research in veterinary science. 90: 530-532.
- Minamoto T., Honjo M., Yamanaka N.H., Uchii K. & Kawabata Z.i. (2012). Nationwide Cyprinid herpesvirus 3 contamination in natural rivers of Japan. Research in veterinary science. 93: 508-514.
- OIE (2018) Principles and methods of validation of diagnostic assays for infectious diseases. Manual of diagnostic tests for aquatic animals. 366p.
- Phan V.T., Ersboell A.K., Thanh N.T., Khue V.N., Ha T.N. & Murrell K.D. (2010). Freshwater aquaculture nurseries and infection of fish with zoonotic trematodes, Vietnam, Emerg Infect Dis. 16: 1905-9.
- Pikarsky E., Ronen A., Abramowitz J., Levavi-Sivan B., Hutoran M., Shapira Y., Steinitz M., Perelberg A., Soffer D. & Kotler M. (2004) Pathogenesis of acute viral disease induced in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. Journal of virology. 78: 9544-9551.
- Pikulkaew S., Meeyam T. & Banlunara W. (2009). The outbreak of koi herpesvirus (KHV) in koi (*Cyprinus carpio koi*) from Chiang Mai Province, Thailand. The Thai Journal of Veterinary Medicine. 39: 53-58.
- Sano M., Ito T., Kurita J., Yanai T., Watanabe N., Miwa S. & Iida T. (2004). First detection of koi herpesvirus in cultured common carp *Cyprinus carpio* in Japan. Fish Pathology. 39: 165-167.
- Van K.V., Hoai T.D., Buchmann K., Dalgaard A. & Tho N.V. (2012). Efficacy of praziquantel against *Centrocestus formosanus* metacercariae infections in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus). J Southern Agric. 43: 520-523.
- Yuasa K., Sano M., Kurita J., Ito T. & Iida T. (2005). Improvement of a PCR method with the Sph I-5 primer set for the detection of koi herpesvirus (KHV). Fish Pathology. 40: 37-39.