

NGHIÊN CỨU VỀ HUYẾT HỌC CÁ TRA (*PANGASIANODON HYPOPHthalmus*) BỆNH TRẮNG GAN TRẮNG MANG

Tìr Thanh Dung¹

ABSTRACT

Whitish gill and liver disease in fingerlings Pangasianodon catfish caused huge economic losses in commercial catfish in the Mekong Delta. The purpose of the study to determine haematological characteristics of 164 diseased fish obtained from 17 Pangasianodon farms. Bacteriological and parasitological characteristics were also checked. The result of haematological examination showed that there was significant decrease in the number of mature erythrocytes of diseased fish reduced extremely which constituted approximately 4,57% compared with healthy fish. Extraordinary forms of red blood cells, including the increase in the number of immature erythrocytes, cells without nucleus or two-nucleus were found. Moreover, leukocytes cells in diseased fish also decreased significantly. Generally, leukocytes in diseased fish was seen significantly lower ($P < 0,05$) when compared with healthy fish. No bacterial or parasitic pathogens could be identified as aetiological agents of this disease.

Keywords: haematology, whitish gill and liver disease, *Pangasianodon hypophthalmus*

Title: Study on haematological characteristics of whitish gill and liver disease on *Pangasianodon hypophthalmus*

TÓM TẮT

Bệnh trắng gan trắng mang (TGTM) trên cá tra giống đã gây thiệt hại rất lớn cho người nuôi cá ở Đồng Bằng Sông Cửu Long. Mục tiêu đề tài nhằm xác định các chỉ tiêu huyết học như hồng cầu và bạch cầu, mầm bệnh vi khuẩn và kí sinh trùng của 164 mẫu cá bệnh TGTM trong 17 ao cá tra. Kết quả phân tích cho thấy số lượng hồng cầu ở cá bị TGTM giảm trầm trọng, chỉ còn 4,57% so với cá khỏe. Xuất hiện nhiều dạng bất thường của hồng cầu như sự gia tăng tế bào tiền trưởng thành hoặc sự hiện diện của tế bào mất nhân, hồng cầu hai nhân cũng thường thấy trong máu cá TGTM. Bên cạnh đó, tế bào bạch cầu ở cá bệnh cũng giảm nghiêm trọng. Bạch cầu của cá bị TGTM giảm thấp khác biệt một cách có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với cá khỏe. Kiểm tra vi khuẩn và kí sinh trùng cho thấy hai tác nhân này không phải là nguyên nhân gây ra bệnh TGTM.

Từ khóa: Huyết học, bệnh trắng gan trắng mang, cá tra *Pangasianodon hypophthalmus*

1 GIỚI THIỆU

Thủy sản đã và đang là một trong những ngành kinh tế mũi nhọn của Việt Nam. Nhờ sự hội tụ của điều kiện tự nhiên thuận lợi, ngành thủy sản nước ta phát triển trên cả lĩnh vực khai thác và nuôi trồng. Tuy nhiên, trong những năm gần đây, do sự khai thác quá mức và nguồn thủy sản tự nhiên có giới hạn nên sản lượng của khai thác thủy sản tăng không đáng kể. Trong khi đó, nhu cầu về nguồn thực phẩm

¹ Bộ môn Sinh học và Bệnh thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

từ thủy sản ngày càng tăng nên vai trò của ngành nuôi trồng thủy sản càng được khẳng định. Một trong những đối tượng đóng vai trò chủ chốt của thủy sản Việt Nam là cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*).

Trong những năm qua, nghề nuôi cá tra ở đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) phát triển ngày càng rầm rộ với mật độ nuôi và mức độ thâm canh hóa ngày càng cao. Điều này dẫn đến một số bệnh nguy hiểm thường xuyên xảy ra mà nổi bật là bệnh gan thận mũ do *E. ictaluri* gây ra. Đây là bệnh nguy hiểm gây chết đến 70-90% số cá nuôi. Bệnh này được ghi nhận xuất hiện đầu tiên trên cá tra nuôi ở ĐBSCL vào cuối năm 1998 (Ferguson *et al.*, 2001; Crumlish *et al.*, 2002). Ngoài ra, một số bệnh khác như bệnh phù đầu, lồi mắt, xuất huyết dưới da (do *Aeromonas* spp. gây ra) hay hội chứng vàng da cũng gây thiệt hại lớn. Gần đây, xuất hiện “bệnh trắng gan trắng mang” (TGTM), người nuôi gọi là bệnh “thiếu máu” gây thất thoát không nhỏ. Bệnh này ghi nhận xuất hiện thường xuyên trên cá giống và cá 1 tháng tuổi với đặc điểm bệnh lý là màu sắc bên ngoài cơ thể cá thay đổi như da và vi cá trắng nhạt; chất nhầy trên da, mang rất ít và có nhiều bần đen bám vào các tia mang. Mang cá chuyển từ màu đỏ tươi sang hồng nhạt (cá TGTM nhẹ), nặng hơn là màu trắng nhạt. Nội quan chứa dịch, những cơ quan khác của cá như tim, thận, tỳ tạng thường sưng to và trở nên nhạt màu. Cá bệnh nặng, tỳ tạng cá bị TGTM nặng teo nhỏ.

Nhiều tác giả đã đề cập đến những nguyên nhân khác nhau có thể gây ra bệnh thiếu máu ở cá. Olaiya *et al.* (2004) cho biết thiếu máu là kết quả của hiện tượng nồng độ đồng cao hơn 3,2 mg/L gây ngộ độc ở cá trê phi. Johnson (1993) thì cho rằng thiếu máu ở cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) có thể liên quan đến vitamin B12 và sự kém hấp thu acid folic hoặc do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri*. Tuy nhiên, các thông tin khoa học cụ thể về bệnh thiếu máu gây TGTM trên đối tượng cá tra ở Việt Nam hầu như chưa có. Do vậy mục tiêu của nghiên cứu nhằm tìm hiểu về đặc điểm huyết học trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) bệnh trắng gan trắng mang qua đó làm cơ sở tìm ra nguyên nhân gây bệnh cũng như góp phần tìm biện pháp phòng bệnh tích cực hơn.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thu 164 mẫu cá tra bệnh TGTM và 38 cá khỏe có trọng lượng 87 ± 85 g và chiều dài 16 ± 6 cm tại Cần Thơ, Vĩnh Long, Đồng Tháp, Hậu Giang và Sóc Trăng. Tiến hành lấy mẫu cá để kiểm tra các yếu tố huyết học.

Máu cá được thu và làm tiêu bản dựa theo phương pháp Hrubec *et al.* (2000), cá được gây mê bằng dung dịch MS222 (Sigma chemical) và lấy máu cá từ động mạch chủ ở đuôi cá bằng kim tiêm tiệt trùng đã được tráng qua dung dịch chống đông heparin cho vào ống eppendoff sạch. Pha loãng máu cá với dung dịch nhuộm hồng cầu theo tỷ lệ 10 μ l máu cá và 990 μ l dung dịch Natt-Herrick (độ pha loãng 100 lần) đối với cá khỏe, với tỷ lệ 10 máu và 190 μ l dung dịch Natt-Herrick (độ pha loãng 20 lần) ở cá có biểu hiện TGTM.

Định lượng hồng cầu bằng buồng đếm Neubauer ở vật kính hiển vi 40X (Natt and Herrick, 1952) và tổng bạch cầu ở vật kính 100X (Humason, 1979). Tiêu bản máu để khô tự nhiên rồi ngâm trong dung dịch methanol 100% trong 1-2 phút. Lame

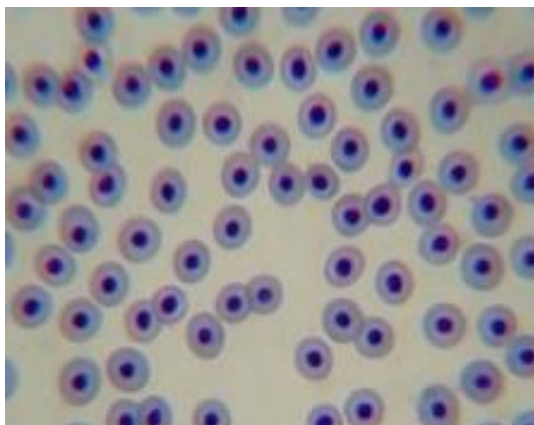
mẫu được chuyển về phòng thí nghiệm để nhuộm bạch cầu bằng dung dịch Wright (3-5 phút), dung dịch pH 6,2-6,8 (5-6 phút), dung dịch Giemsa (20-30 phút) và dung dịch pH 6,2 (5-30 phút) (Humason, 1979). Sau đó quan sát lame máu ở vật kính 40X.

Lấy mẫu vi sinh trên gan, thận, tỳ tạng cấy trên môi trường Tryptone soy agar (TSA). Vi khuẩn được định danh theo phương pháp Frerichs and Millar (1993). Kiểm tra một số chỉ tiêu cơ bản như nhuộm Gram, hình dạng, tính di động, oxydase và sử dụng bộ kit API 20E (Microbank™, PRO-LAB, Diagnostics,UK). Đồng thời, kiểm tra kí sinh trùng trên da, mang, ruột của cá.

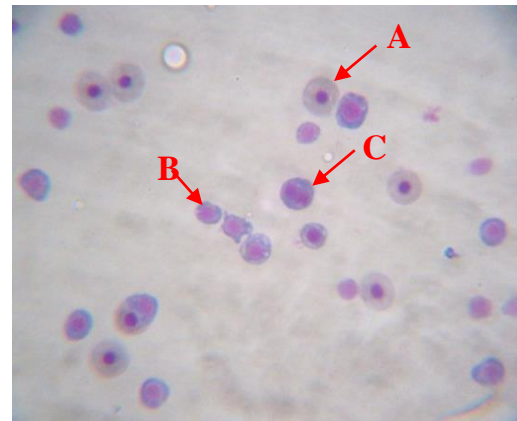
3 KẾT QUẢ

3.1 Kết quả phân tích hồng cầu

Đối với cá tra bị TGTM, hồng cầu có sự thay đổi rõ rệt về hình thái và số lượng so với cá tra khỏe (Hình 1). Sự hiện diện của các dạng hồng cầu không bình thường như hồng cầu có nhân trực phân, hồng cầu bị mất nhân, bị tan nhân và điểm chú ý là có sự gia tăng của hồng cầu tiền trưởng thành - hồng cầu có nhân to, bắt màu nhạt hơn hồng cầu trưởng thành, tế bào chất có vẻ mỏng manh, màu hồng hoặc xanh sáng và phân cách nhân - tế bào chất không rõ (Hình 2).



Hình 1: Hồng cầu cá tra khỏe (100X)



Hình 2 : Hồng cầu cá TGTM (100X)

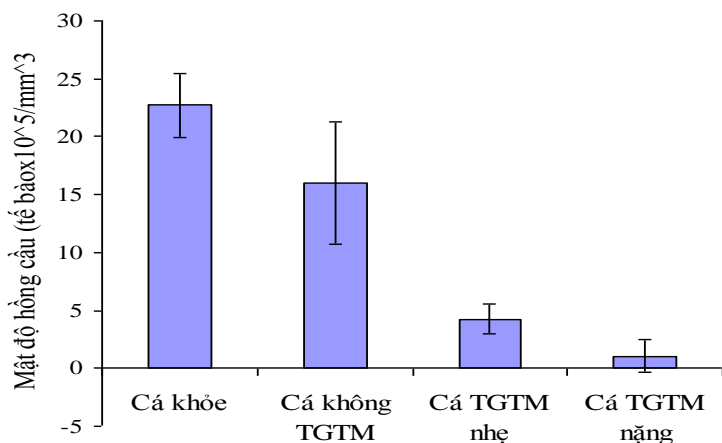
A: Hồng cầu trưởng thành, B: Hồng cầu tiền trưởng thành, C: Hồng cầu có 2 nhân

Mật độ hồng cầu của cá tra khỏe xác định được là $2,27 \times 10^6$ tb/mm³. Kết quả thống kê cho thấy mật độ hồng cầu cá bệnh giảm nghiêm trọng. Mật độ hồng cầu giảm dần từ cá không có biểu hiện TGTM đến cá TGTM nhẹ và thấp nhất ở cá bị TGTM nặng (Hình 3). So với cá khỏe, cá không có biểu hiện TGTM trong ao TGTM mật độ hồng cầu đã giảm khoảng 30%, cá TGTM nhẹ hồng cầu cá giảm chỉ còn 18,7% và 4,57% ở cá bị TGTM nặng. Mật độ hồng cầu ở 4 nhóm cá đều khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) (Bảng 1).

Bảng 1: Mật độ hồng cầu của cá tra khỏe và cá trong ao TGTM

Tình trạng cá	Số mẫu	Mật độ hồng cầu (tế bào x 10 ⁵ /mm ³)
Cá khỏe	38	22,7 ± 2,71 ^a
Cá không có biểu hiện TGTM	65	16,0 ± 5,24 ^b
Cá TGTM nhẹ	36	4,25 ± 1,30 ^c
Cá TGTM nặng	63	1,04 ± 1,39 ^d

Ghi chú: Những chữ cái giống nhau trong cùng một cột cho biết sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Những chữ cái khác nhau cho biết sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05)



Hình 3: Mật độ hồng cầu của cá tra khỏe và cá trong ao TGTM

3.2 Kết quả phân tích bạch cầu

3.2.1 Kết quả phân tích tổng bạch cầu

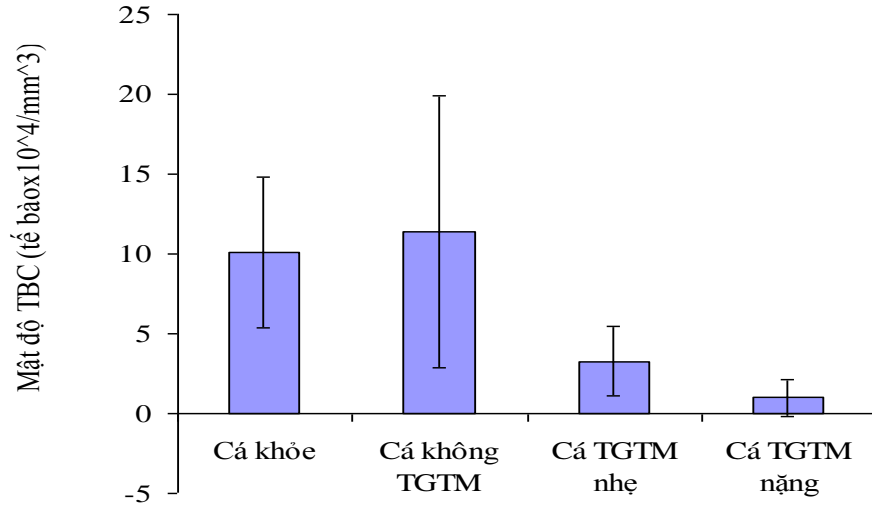
Biến động tổng bạch cầu của cá tra khỏe và cá trong ao TGTM được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2: Mật độ tổng bạch cầu của từng nhóm cá

Nhóm cá	Số mẫu	Mật độ tổng bạch cầu (tế bào x 10 ⁴ /mm ³)
Cá khỏe	38	10,1±4,71 ^a
Cá không có biểu hiện TGTM	65	11,4±8,54 ^a
Cá TGTM nhẹ	36	3,27±2,15 ^b
Cá TGTM nặng	63	0,99±1,13 ^c

Ghi chú: Những chữ cái giống nhau trong cùng một cột cho biết sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (p>0,05). Những chữ cái khác nhau cho biết sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05)

Mật độ tổng bạch cầu của cá có sự thay đổi rõ rệt giữa các nhóm cá (Hình 4). Bạch cầu cá không có biểu hiện TGTM trong ao bệnh (11,4x10⁴ tế bào/mm³) tăng 1,12% so với cá khỏe (10,1x10⁴ tế bào/mm³). Nhưng đối với cá TGTM, bạch cầu của cá giảm rõ rệt, đặc biệt khi cá bị TGTM nặng (Bảng 2).



Hình 4: Mật độ tổng bạch cầu của cá tra khỏe và cá trong ao TGTM

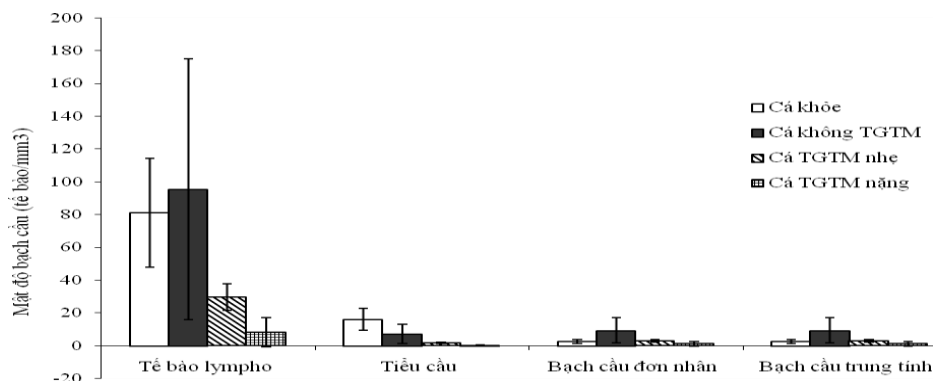
3.2.2 Kết quả phân tích chỉ tiêu về bạch cầu

Trên tiêu bản quan sát được 4 loại tế bào bạch cầu ở cá tra: tế bào lympho, bạch cầu đơn nhân, bạch cầu trung tính và tiểu cầu (Hình 6). Ngoài ra còn có sự xuất hiện của bạch cầu ưa bazơ và đại thực bào. Tuy nhiên, tần số xuất hiện hai loại tế bào này rất thấp nên không tính được mật độ bạch cầu ưa bazơ và đại thực bào.

Bảng 3: Chỉ tiêu bạch cầu trên cá tra khỏe và cá trong ao TGTM

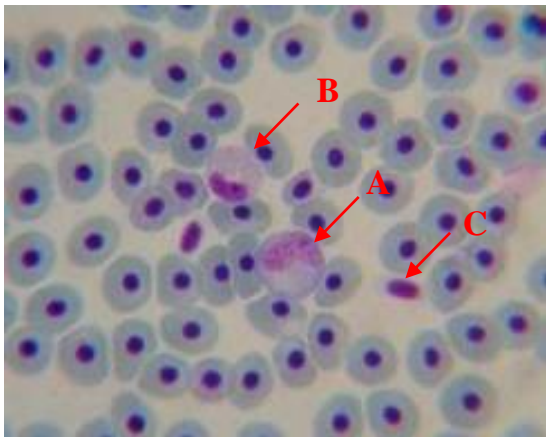
Nhóm cá	Tế bào lympho (tbx $10^3/\text{mm}^3$)	Tiểu cầu (tbx $10^3/\text{mm}^3$)	Bạch cầu đơn nhân (tbx $10^3/\text{mm}^3$)	Bạch cầu trung tính (tbx $10^3/\text{mm}^3$)
Cá khỏe	81,0 \pm 41 ^a	16,1 \pm 9,33 ^a	2,59 \pm 2.61 ^a	2,59 \pm 1,42 ^a
Cá không TGTM	95,3 \pm 83,43 ^a	7,15 \pm 9,81 ^b	9,25 \pm 7.07 ^b	9,25 \pm 3,13 ^a
Cá TGTM nhẹ	29,7 \pm 22,75 ^b	1,74 \pm 2,96 ^c	2,88 \pm 2.71 ^a	2,88 \pm 0,542 ^b
Cá TGTM nặng	8,07 \pm 10,05 ^c	0,25 \pm 0,45 ^d	1,24 \pm 1.53 ^c	1,24 \pm 0,551 ^b

Ghi chú: Những chữ cái giống nhau trong cùng một cột cho biết sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Những chữ cái khác nhau cho biết sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$)

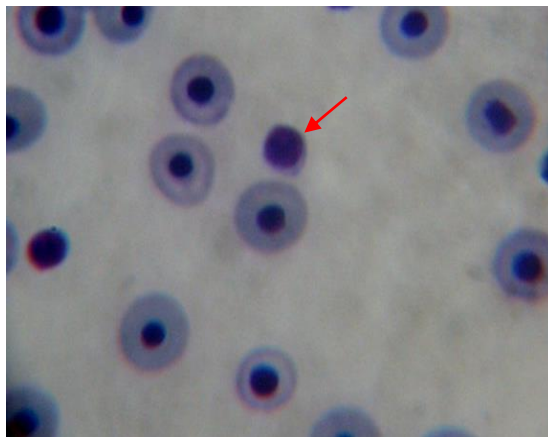


Hình 5: Biến động chỉ tiêu bạch cầu của cá TGTM so với cá khỏe

Theo số liệu thống kê chỉ có sự gia tăng mật độ bạch cầu đơn nhân ở cá không có biểu hiện TGTM trong ao bệnh là có ý nghĩa ($p < 0,05$) (Bảng 3). Cá bị TGTM nặng, mật độ bạch cầu đơn nhân có giá trị thấp nhất ($p < 0,05$). Bạch cầu trung tính cũng gia tăng mật số ở nhóm cá không có bệnh trong ao bệnh TGTM nhưng không đáng kể ($p > 0,05$). Ở cá TGTM, mật độ bạch cầu trung tính giảm nhưng sự khác biệt giữa cá TGTM nhẹ và cá TGTM nặng là không có ý nghĩa ($p > 0,05$). Song song đó, sự khác biệt về số lượng tế bào lympho (Hình 7) giữa cá khỏe và cá bệnh trắng gan trắng mang cũng được ghi nhận. So với cá khỏe, mật độ tế bào tăng lên ở nhóm cá không bệnh trong ao cá bệnh TGTM nhưng lại giảm ở cá bệnh TGTM và giảm mức thấp nhất ở cá bệnh nặng. Kết quả phân tích tiểu cầu cũng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) giữa nhóm cá khỏe và cá bệnh (Bảng 3). Tiểu cầu của cá trong ao TGTM giảm dần từ cá không có biểu hiện TGTM trong ao bệnh đến cá TGTM nhẹ và thấp nhất ở cá TGTM nặng.



Hình 6: Bạch cầu đơn nhân (A), bạch cầu trung tính (B) và tiểu cầu (C) (100X)



Hình 7: Tế bào lympho (100X) (mũi tên)

3.3 Kết quả phân tích vi khuẩn và kí sinh trùng

Cá bị bệnh TGTM nặng, phân lập được vi khuẩn *E. ictaluri* trên 19% tổng số mẫu kiểm tra. Phân tích kí sinh trùng cũng ghi nhận sự hiện diện của các nhóm kí sinh như *Dactylogyrus*, *Myxobolus* và *Ichthyonyctus*. Kết quả này không có sự khác biệt so với khảo sát về kí sinh trùng trên cá tra của Đỗ Thị Hòa *et al.*, (2004). Tuy nhiên, ở cá TGTM nặng có tỷ lệ cảm nhiễm cao hơn và có thành phần ký sinh trùng nhiều hơn so với những nhóm cá khỏe.

4 THẢO LUẬN

Trong những năm gần đây, bệnh trắng gan trắng mang xuất hiện trên ao nuôi cá giống và thịt giai đoạn 1 tháng tuổi. Mức độ hao hụt có thể lên đến vài nghìn con/ngày, kéo dài trong 3-15 ngày. Khi cá có biểu hiện bệnh, màu sắc bên ngoài cơ thể cá thay đổi như da và vi cá trắng nhạt, chất nhầy trên da, mang rất ít. Mang cá chuyển từ màu đỏ tươi sang hồng nhạt và màu trắng nhạt. Theo Branson (1993) mang có một hệ thống động mạch và mao mạch máu dày đặc phân bố giữ vai trò mang máu từ tim đến mang để trao đổi khí với môi trường nước rồi dẫn máu giàu oxy trở về tim đến các cơ quan. Do đó, bên trong các sợi mang luôn chứa rất nhiều

tế bào hồng cầu, tạo nên màu đỏ tươi thường thấy ở mang. Khi lượng máu đến mang giảm sẽ làm cho mang nhợt nhạt, có thể dẫn tới hiện tượng phù nề, hô hấp kém (Đỗ Thị Hòa *et al.*, 2004). Bên trong nội quan cá biến đổi, cá bệnh nhẹ tim, thận, tỳ tạng thường sưng to và trở nên nhạt màu. Cá bệnh nặng xoang bụng và tất cả nội quan đều có một màu vàng rơm hoặc cam, túi mật sưng to, đen sẫm hoặc đầy dịch trong, màu vàng nhạt. Tỳ tạng cá bị TGTM nặng teo nhỏ, có khi chỉ là một mảng rất nhỏ so với tỳ tạng cá tra bình thường. Thận trước và tỳ tạng của cá là cơ quan tạo máu quan trọng của cá, là ngân hàng dự trữ máu tạm thời trước khi tế bào máu trưởng thành tham gia vào vòng tuần hoàn máu (Anderson, 1974; Branson, 1993; Hibiya, 1982). Hiện tượng tỳ tạng của cá bệnh TGTM sưng to hoặc teo nhỏ so với bình thường được giải thích là do lượng hồng cầu trong tỳ tạng giảm làm thoái hóa cơ quan này.

Mặt khác, ở cá bệnh TGTM là máu nhạt dần, bệnh nặng máu chỉ còn màu trắng kem. Máu của động vật có xương sống đặc trưng bởi màu đỏ do có chứa hemoglobin và độ nhớt (Trần Kim Cúc, 2007). Khi số lượng hồng cầu trong máu giảm sẽ làm cho máu giảm màu đỏ và ít nhớt. Kết quả phân tích hồng cầu cá bệnh cho thấy, ở nhóm cá không bệnh trong ao TGTM, mật độ hồng cầu đã giảm khoảng 30% so với cá khỏe, cá bệnh nhẹ hồng cầu cá giảm 81,3% và giảm nhiều nhất ở cá bệnh nặng 95,4%. Hiện tượng giảm hồng cầu ở cá được nhiều tác giả lý giải. Olaiifa *et al.* (2004) chỉ ra rằng thiếu máu ở cá trê phi ngộ độc đồng là do sự sưng phồng và hủy hoại của hồng cầu. Một số nghiên cứu cho rằng cơ chế thiếu máu ở cá có thể do hồng cầu vỡ, chu kỳ sống của hồng cầu bị rút ngắn hay quá trình chuyển hóa chất sắt để tạo hồng cầu bị hạn chế. Quá trình tạo hồng cầu bị gián đoạn, có thể tạo ra những dạng hồng cầu không hoàn chỉnh. Thật vậy, máu cá bệnh TGTM có sự hiện diện của các loại tế bào không bình thường như tế bào hai nhân, tế bào mất nhân và đặc biệt là sự gia tăng của tế bào tiền trưởng thành - một dạng tế bào có ở thận trước và tỳ tạng, hiếm khi gặp trong máu tuần hoàn khi cá ở trạng thái bình thường (Chinabut *et al.*, 1991; Grizzle & Rogers, 1976).

Theo kết quả của nghiên cứu về bệnh thiếu máu ở cá hồi hay sự ngộ độc kim loại nặng của cá trong thời gian dài (Vosyliene & Svecevičius 1997) đều cho thấy sự gia tăng đột ngột của hồng cầu tiền trưởng thành trong máu ngoại vi. Như vậy, sự gia tăng của hồng cầu tiền trưởng thành trong máu tuần hoàn là một dạng biểu hiện bệnh lý cho tình trạng bất thường của cơ thể. Ở cá TGTM, hồng cầu chưa trưởng thành nhưng đã tham gia vào vòng tuần hoàn máu là bằng chứng cho sự rút ngắn vòng đời hồng cầu cũng như cho thấy sai sót trong quá trình tạo máu. Theo Hibiya (1982) và Chinabut *et al.* (1991), ở hồng cầu tiền trưởng thành lượng hemoglobin giảm, do đó hồng cầu tiền trưởng thành và hồng cầu dị dạng không đảm bảo được chức năng của hồng cầu.

Bên cạnh sự suy giảm và thay đổi của tế bào hồng cầu, kết quả về sự thay đổi về số lượng của nhóm tế bào bạch cầu trong mẫu cá bệnh TGTM cũng được ghi nhận. Số lượng tổng bạch cầu giảm mạnh và khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với cá khỏe. Bên cạnh đó số lượng của mỗi loại bạch cầu như bạch cầu đơn nhân, bạch cầu trung tính, tế bào lympho và tiểu cầu cũng biến động.

Theo Houston (1990), bạch cầu có vai trò thực bào và đáp ứng miễn dịch chống lại mầm bệnh xâm nhập và các nhân tố bất lợi khác. Mỗi loại chiếm một số lượng và

giữ một vai trò nhất định trong hệ thống miễn dịch của cá. Điển hình như ở cá, tế bào lympho là dạng bạch cầu thường thấy nhất trong máu tuần hoàn chiếm 70-90% tổng bạch cầu của cá (Hibiya, 1982). Những tế bào lympho đảm nhiệm chức năng bảo vệ cơ thể bằng miễn dịch tế bào và miễn dịch dịch thể (Lê Thị Hoàng Mỹ, 2007). Ở cá tra, tế bào lympho có nhân tròn, bắt màu xanh tối, đôi khi thấy nhân hơi lõm vào. Tế bào chất của tế bào lympho rất ít, chỉ là một lớp mỏng bao quanh nhân (Hình 7). Như vậy, tế bào lympho của cá tăng ở nhóm cá không có biểu hiện TGTM trong ao TGTM so với cá khỏe nhưng mức độ tăng không có ý nghĩa thống kê. Khi cá chuyển sang TGTM thì mật độ tế bào lympho giảm dần ($p < 0,05$), thấp nhất ở cá TGTM nặng. Tương tự như ở tế bào lympho, sự suy giảm về số lượng tế bào bạch cầu đơn nhân và tế bào trung tính ở cá bệnh TGTM cũng được tìm thấy. Ellis (1977) cho biết bạch cầu đơn nhân được hình thành trong thận và là tiền thân của đại thực bào (trích dẫn bởi Houston, 1990). Ở người, bạch cầu đơn nhân chỉ tồn tại trong máu vài giờ rồi đi vào mô, nhanh chóng trở thành đại thực bào có kích thước lớn, bào chất chứa lysosom, ty lạp thể và những không bào lớn, có khả năng thực bào (Lê Thị Hoàng Mỹ, 2007). Còn đối với bạch cầu trung tính, cũng theo tác giả loại tế bào này trên người giữ vai trò quan trọng trong kháng viêm, thực bào trước khi một lượng lớn đại thực bào được huy động đến nơi tổn thương. Ở cá, khả năng thực bào của bạch cầu trung tính vẫn còn là vấn đề được tranh luận (trích dẫn bởi Chinabut *et al.*, 1991 và Houston, 1990). Tuy nhiên, có nhiều tác giả báo cáo về sự di chuyển bạch cầu trung tính của cá đến khu vực nhiễm khuẩn, nhiễm ký sinh trùng hay bị tổn thương cơ học như (Thorpe & Roberts, 1972; Roberts *et al.*, 1973; Jay & Jones, 1973; Lester & Danials, 1976 (trích dẫn bởi Houston, 1990). Một điểm đặc biệt là tế bào lympho và bạch cầu đơn nhân đều gia tăng mật số ở cá không có biểu hiện TGTM trong ao bệnh và cá TGTM nhẹ. Đây có thể là phản ứng miễn dịch của cá chống lại những tác nhân xâm nhập. Tuy nhiên, ở cá TGTM nặng, hệ miễn dịch suy giảm trầm trọng nên mật độ bạch cầu đơn nhân của cá giảm. Điều này cho thấy khả năng miễn dịch của cá giảm dần theo mức độ TGTM. Ngoài ra 3 loại tế bào trên, số lượng tiểu cầu của cá bệnh giảm dần và thấp nhất ở cá TGTM nặng. Tế bào tiểu cầu cá tra thường có dạng dài, nhân xanh đen chiếm hầu hết tế bào, tế bào chất chỉ là viền mỏng quanh nhân (Hình 6). Tiểu cầu hình thoi hoặc hình cầu thỉnh thoảng xuất hiện trong mẫu nhuộm nhưng rất hiếm. Cũng giống như những động vật có xương sống khác, tiểu cầu đảm nhiệm vai trò quan trọng trong quá trình đông máu (Chinabut *et al.*, 1991; Anderson, 1974; Houston, 1990).

Qua phân tích huyết học cá bệnh TGTM cho thấy số lượng của hồng cầu và các loại bạch cầu giảm rất thấp ở cá bệnh và có sự hiện diện hồng cầu hư tổn, hồng cầu biến dạng. Điều này chỉ ra rằng có sự rối loạn ở hệ thống tạo máu và sự suy giảm hệ thống miễn dịch (Vosyliene, 1999). Kết quả là làm thay đổi hoạt động sinh lý và chức năng của cá như giảm khả năng lấy oxy, cá lơ lờ mặt nước, có thể tạo điều kiện cho mầm bệnh xâm nhập. Bằng chứng rõ nhất là ở cá bệnh TGTM nặng tỷ lệ cảm nhiễm và thành phần ký sinh trùng kí sinh trên các cơ quan cao hơn so cá khỏe.

Một điểm đáng chú ý trong nghiên cứu này là sự hiện diện của bệnh gan thận mũ trong ao cá bệnh TGTM. Theo ghi nhận, ở các ao thu mẫu, bệnh mũ gan có thể

xuất hiện ngay trước hoặc sau giai đoạn cá có biểu hiện TGTM. Ngoài ra, 2/3 số ao thu mẫu, bệnh mù gan vẫn còn rải rác. Kết quả nghiên cứu cũng phân lập chủng vi khuẩn *E. ictaluri* trên mẫu cá bệnh trắng gan trắng mang xảy ra cùng với bệnh gan thận mù. Tuy nhiên, ở những ao không có TGTM và mù gan xảy ra cùng lúc thì không phân lập được vi khuẩn dù biểu hiện TGTM rất rõ. Phân tích huyết học quan sát trên tiêu bản máu cá tra bệnh TGTM cũng có sự hiện diện của “vi khuẩn” hình que tấn công trong tế bào máu, tương tự vi khuẩn *E. ictaluri* phân lập từ ao cá bệnh mù gan ở ĐBSCL. Khả năng gây nhiễm trùng máu của *E. ictaluri* ở giai đoạn cấp tính trên cá nheo Mỹ đã được nhiều tác giả ghi nhận (Myaizaki & Plum, 2001; Shotts *et al.*, 1986). Branson (1993) cũng từng đề cập đến khả năng vi khuẩn *E. ictaluri* liên quan đến chứng thiếu máu làm gan, mang và toàn thân cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) nhợt nhạt. Tuy nhiên, William & Lawrence (2005) đã chứng minh được hoại máu không phải là bản chất gây độc thiết yếu của *E. ictaluri*. Từ đó cho thấy *E. ictaluri* có thể liên quan đến TGTM nhưng để khẳng định *E. ictaluri* có liên quan đến trắng gan trắng mang hay không thì cần phải được nghiên cứu sâu hơn.

5 KẾT LUẬN VÀ ĐỀ XUẤT

Ở cá bệnh TGTM, có sự suy giảm nghiêm trọng về mật độ tế bào hồng cầu ở cá bệnh nặng chỉ còn 4,57% so với cá khỏe, nhiều dạng tế bào không bình thường như tế bào chưa trưởng thành, tế bào mất nhân hoặc phân nhân. Bên cạnh đó, mật độ tế bào bạch cầu cũng giảm, thấp nhất ở cá bệnh nặng. Cần phải có những nghiên cứu sâu hơn để tìm ra tác nhân gây bệnh cũng như tìm hiểu mối liên quan giữa bệnh TGTM với các bệnh vi khuẩn khác như bệnh TGTM. Từ đó tìm ra biện pháp phòng ngừa bệnh này chủ động và tích cực hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Branson, E. 1993. Basic anatomy and physiology. In: Lydia Brown (editor). Aquaculture for veterinarians, Fish husbandry and medicine. Abbott Laboratories, North Chicago, USA. 447pp.
- Chinabut, S., C. Limsuwan and P. Kitsawat. 1991. Histology of the walking catfish (*Clarias batrachus*). International development research centre, Canada. 96pp.
- Crumlish, M., Dung T.T., Turnbull, J.F., Ngoc, N.T.N., and Ferguson, H.W. 2002. Identification of *E. ictaluri* from diseased freshwater catfish (*Pangasius hypophthalmus*) cultured in the Mekong delta Vietnam, Journal of Fish Diseases, 25: 733 – 736.
- Đỗ Thị Hòa, Bùi Quang Tề, Nguyễn Hữu Dũng và Nguyễn Thị Mùi. 2004. Giáo trình bệnh học thủy sản. Đại học Nha Trang. 346 trang.
- Ferguson H.W., Turnbull J.F., Shinn A., Thompson K., Dung T.T. and Crumlish M. 2001. Bacillary necrosis in farmed *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage) from the Mekong Delta, Vietnam. J. Fish Dis. 24: 509-513.
- Ferichs, G.N., and Millar, S.D., 1993. Manual for the Isolation and identification of fish bacterial pathogens. pp58 Pisces Press, Stirling.
- Grizzle J.M. and Rogers W.A. 1976. Circulatory system. In: J.M. Grizzle and W.A. Rogers, Anatomy & histology of the channel catfish. Auburn university, Auburn, pp. 5-18.
- Hibiya, T. 1982. An atlas of fish histology, normal and pathological features. Tokyo. 14pp.

- Houston, H.A. 1990. Blood and circulation. In: C.B. Schreck and P.B. Moyle, Method for biology. American Fish society Bethesda, Maryland, USA. 665: 273-322
- Hrubec, C.T., Cardinale J.L., and Smith, S.A. 2000. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). Veterinary Clinical Pathology. 29 / No. 1 / 2000.
- Humason, G.L. 1979. Animal tissue techniques, ed 2. San Francisco, W.H. Freeman and Company. pp. 34-37.
- Johnson, M. 1993. The veterinary approach to channel catfish. In: Lydia Brown (editor). Aquaculture for veterinarians, Fish husbandry and medicine. Abbott Laboratories, North Chicago, USA. 447 pp
- Lê Thị Hoàng Mỹ, 2007. Tạo máu và sinh lý hồng cầu. Giáo trình huyết học và miễn dịch Trường Đại Học Y Dược Cần Thơ. 255 trang.
- Mohamed, J.S., Ibrahim, A. 2001. Quantifying the dietary niacin requirement of the Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), fingerlings. Aquaculture Research, 32: 157-162.
- Myaizaki, T., and Plum, J.A. 1985. Histopathology of *Edwardsiella ictaluri* in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). Journal of fish diseases. 8: 389-392.
- Natt., M.P. and Herrick, C.A. 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of chicken. Poultry of Science. 31: 754-738.
- Olaifa, F.E., Olaifa A.K. and Onwude, T.E. 2004. Lethal and sub-lethal effects of copper to the African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles. African Journal of Biomedical Research. 7: 65 -70.
- Shotts, E B., Blazer, V S., and Waltman, W.D. 1986. Pathogenesis of experimental *Edwardsiella ictaluri* infections in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 43: 36-42.
- Trần Kim Cúc, 2007. Hóa học porphyrin và hemoglobin. Hóa sinh máu. Giáo trình huyết học và miễn dịch Trường Đại Học Y Dược Cần Thơ. 255 trang.
- Ueda, K.I., M.I. Egami, W.d. Silva Sasso, E.R. Matushima. 2001. Cytochemical aspects of the peripheral blood cells of *Oreochromis (Tilapia) niloticus*. (Linnaeus, 1758) Part II. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. 10: S1413.
- Vosyliene, Z.M. 1999. The effect of heavy metals on haematological indices of fish. Acta Zoologica Lituanica. Hydrobiologia. 19: 1392-1657.
- Williams, M.L., Lawrence, M.L. 2005. Identification and characterization of a two-component hemolysin from *Edwardsiella ictaluri*. Veterinary of Microbiology. 108: 281-289.