

# NGHIÊN CỨU TÁC NHÂN GÂY BỆNH TRẮNG ĐUÔI TRÊN CÁ TRA (*PANGASIANODON HYPOPHTHALMUS*) VÀ GIẢI PHÁP ĐIỀU TRỊ

Tì Thanh Dung<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Tiên<sup>2</sup> và Nguyễn Anh Tuấn<sup>2</sup>

## ABSTRACT

*Bacterium Flavobacterium columnare* was recovered and identified as the aetiological agent causing white patch disease in farmed catfish *Pangasianodon hypophthalmus* fingerlings, suffering from high mortality rates within commercial hatchery and ponds in the Mekong Delta. White patch disease on freshwater catfish show clinical signs such as: decreasing mucus, white patch on the sadblack, eroded fins and greyish white gills. Observing wet samples under microscope, this bacterium was gliding motility. The bacteria were isolated on Cytophaga agar. Isolates on the agar produced yellow-pale colonies, flat that rhizoid edges after 48h at 28°C. Biochemical characterization with its absorption of Congo red dye, production of flexirubin-type pigments long filamentous, negative Gram, gelatin hydrolysis, reducing nitrate, no product acid from carboxylases, negative with urea. An experimental immersion challenge study was performed and fulfilled Kochs postulates with LD<sub>50</sub> values of 1.7 x 10<sup>5</sup> cfu per ml and 3.2 x 10<sup>6</sup> cfu per ml for isolates FC-HN and FC-CT, respectively. Histological examination with two Haematococlin & Eosin and Giemsa staining, were found numerous long filamentous bacteria on/in skin-muscular, gills and liver tissues. Using seven antibiotics for susceptibility testing on thrity isolates that was included in the study. To the best of our knowledge this is the first report of freshwater columnaris infection in *P. hypophthalmus*.

**Keywords:** *Pangasianodon hypophthalmus*, *Flavobacterium columnare* and treatment

**Title:** Study the aetiological agent causing white patch disease in catfish farm (*Pangasianodon hypophthalmus*) and therapy solution

## TÓM TẮT

Vi khuẩn *Flavobacterium columnare* được xác định là tác nhân gây bệnh trắng đuôi trên cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*). Khi bệnh này xuất hiện gây hao hụt rất cao trong ao ương nuôi cá tra thâm canh ở đồng bằng sông Cửu Long. Cá tra bệnh trắng đuôi có biểu hiện đặc trưng như: cá mất nhớt, có vệt trắng trên thân, đuôi bị ăn mòn, mang xám nhạt. Quan sát mẫu tươi dưới kính hiển vi thấy vi khuẩn này di động dạng trượt. Các chủng vi khuẩn được phân lập trên môi trường Cytophaga agar cho khuẩn lạc có sắc tố vàng, dạng rễ sau 48 giờ ở 28°C. Vi khuẩn có dạng hình que mảnh, dài, thuộc vi khuẩn Gram âm. Vi khuẩn này có khả năng hấp thu congo red, tạo sắc tố vàng nâu từ phản ứng flexirubin, thủy phân gelatin, tạo nitrite từ nitrate nhưng không có khả năng tạo axit từ các loại đường, âm tính với urê. Kết quả cảm nhiễm 2 chủng vi khuẩn (FC-HN2) và (FC-CT2) trên cá tra giống khỏe đã thỏa mãn định đề Kochs, với giá trị LD<sub>50</sub> trên 2 chủng vi khuẩn *F. columnare* (FC-HN2) và (FC-CT2) lần lượt là 1,7x10<sup>5</sup> và 3,2x10<sup>6</sup> cfu/ml. Quan sát mô học với 2 phương pháp nhuộm là Haematococlin & Eosin và Giemsa đã tìm thấy từng đám vi khuẩn dạng sợi mảnh ở mô da, cơ, mang và tỳ tạng. Kiểm tra kháng sinh đồ trên 30 chủng vi khuẩn *F. columnare* với 7 loại thuốc kháng sinh được

<sup>1</sup>Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

<sup>2</sup>Trường Cao đẳng Cộng đồng Cà Mau

thực hiện trong nghiên cứu này. Vi khuẩn gây bệnh trắng đuôi được nghiên cứu đầu tiên trên cá tra.

**Từ khóa:** Cá tra, *Pangasianodon hypophthalmus*, *Flavobacterium columnare*, điều trị

## 1 GIỚI THIỆU

Cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) là một trong những đối tượng xuất khẩu chủ lực và mang lại nhiều lợi nhuận cho khu vực đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) nói riêng và cả nước nói chung. 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 nên dịch bệnh cá tra trở nên phức tạp hơn. Trong đó, ngoài bệnh gan thận mũ gây thiệt hại rất lớn cho nghề nuôi cá tra thâm canh thì bệnh trắng đuôi cũng đã xảy ra và gây tổn thất lớn cho nghề ương nuôi cá tra hiện nay. Vi khuẩn *Flavobacterium columnare* được xác định là tác nhân gây bệnh phổ biến trên các loài cá nước ngọt bao gồm cá không vây và cá có vây ở nhiều nước trên thế giới, đặc biệt là nhóm cá da trơn. Theo USDA (2003) và Holt *et al.* (1975), ở Mỹ, *F. columnare* gây thiệt hại hơn 70% trại ương nuôi cá nheo. Bệnh do vi khuẩn này gây ra ảnh hưởng nhiều nhất vào giai đoạn cá nhỏ. Đặc biệt, sau khi cá hương, cá giống, cá bị sốc do vận chuyển hay nhiệt độ môi trường cao (Bader, 2006, Kunttu *et al.*, 2009). Tuy nhiên, cho đến nay những thông tin nghiên cứu về sự phân lập tác nhân gây bệnh trắng đuôi trên cá tra chưa có công trình khoa học nào công bố. Chính vì thế, mục tiêu nghiên cứu này là xác định tác nhân gây trên cá tra bệnh trắng đuôi và các đặc điểm bệnh học nhằm làm cơ sở khoa học để tìm giải pháp khắc phục bệnh này hữu hiệu hơn.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phân lập vi khuẩn

Tổng số gồm 122 cá tra, bao gồm 83 cá bệnh trắng đuôi và 39 cá khỏe (3-20 g), 13 đợt thu mẫu ở tỉnh Đồng Tháp, An Giang và Cần Thơ. Mẫu từ vùng da có vết trắng hay vị trí hoại tử trên thân, nhót mang, gan, thận tỳ tạng, cấy lên môi trường Cytophaga agar (CA) và môi trường Tryptone soya agar (TSA). Đĩa cấy mẫu cá bệnh được ủ ở 28°C trong 36-48h. Đồng thời, soi mẫu tươi (nhót của da và mang) dưới kính hiển vi (X100) (Frerichs và Millar 1993).

### 2.2 Đặc điểm vi khuẩn

Các chủng vi khuẩn dạng sợi trong nghiên cứu này được kiểm tra các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa dựa theo tài liệu Cowan & Steel (1993), các phản ứng như Congo red (0,006%) và phản ứng tạo sắc tố Flexirubin (Buller, 2004). Các chủng vi khuẩn phân lập và chủng chuẩn *F. columnare* MCIMB 2248 được kiểm tra đồng thời.

### 2.3 Gây cảm nhiễm LD50

Thí nghiệm được thực hiện ở phòng thí nghiệm cảm nhiễm của Bộ môn Sinh học và bệnh Thủy sản Khoa Thủy sản Đại học Cần Thơ.

**Bố trí thí nghiệm:** Tổng số 210 cá tra khỏe (3-6g) được thuần hóa trong bể. Kiểm tra ngẫu nhiên 10 con cá kiểm tra mầm bệnh vi khuẩn, ký sinh trùng trước khi bố trí 15 cá vào mỗi nghiệm thức. Hai chủng vi khuẩn (FC-HN2 và FC-CT2) được

nuôi trong môi trường lỏng CA ở 28°C, 36-48h. Thí nghiệm cảm nhiễm theo phương pháp ngâm với 4 lô (3 lô tương ứng 3 mật độ vi khuẩn 10<sup>5</sup> cfu/ml, 10<sup>6</sup> cfu/ml, 10<sup>7</sup> cfu/ml và 1 lô đối chứng) trong suốt 14 ngày. Mỗi nghiệm thức lặp lại 2 lần. Hệ thống thí nghiệm được sục khí và cho cá ăn trong thời gian gây cảm nhiễm. Cá có biểu hiện bệnh trắng đuôi được kiểm tra, tái định danh vi khuẩn và phân tích mẫu mô học.

#### 2.4 Đặc điểm mô học

Mẫu da-cơ, mang, gan, thận và tỳ tạng của cá được cố định trong dung dịch neutral buffer formalin và được xử lý qua các dung dịch cồn, xylene, hỗn hợp paraffin: xylene, paraffin: sáp ong. Mẫu mô được cắt bằng máy microtome, lát cắt có độ dày là 4µm. Mẫu được đọc dưới kính hiển vi với phương pháp nhuộm Haematoxyline and Eosin (H&E) và Giemsa (Robert, 1989 và Ferguson, 2006).

#### 2.5 Phương pháp lập kháng sinh đồ

Chọn 7 loại kháng sinh (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) bao gồm: ampicillin (AM/10µg), chloramphenicol (CHL/ 30µg), ciprofloxacin (CIP/5µg), enrofloxacin (ENR/5µg), rifampicin (RA/30 µg), tetracycline (TE/30µg), trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT/1,25/23,75µg) thực hiện kháng sinh đồ trên 30 chủng vi khuẩn *F. columnare* phân lập trên cá tra bệnh trắng đuôi. Thí nghiệm thực hiện theo phương pháp Kirby-Bauer, sử dụng môi trường Mueller-Hinton Agar (MHA, 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, trung bình và kháng.

### 3 KẾT QUẢ

#### 3.1 Kết quả phân lập

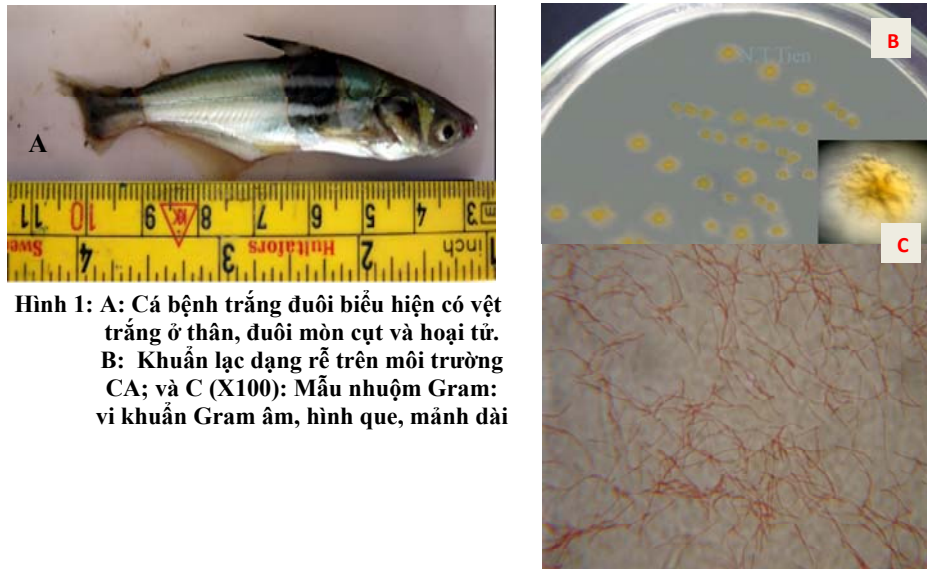
Bệnh trắng đuôi có dấu hiệu bệnh lý đặc trưng: vệt trắng hay vùng hoại tử trên thân, đuôi mòn cụt và mang có màu xám nhạt hoặc hoại tử (Hình 1 A). Vi khuẩn phân lập hầu hết ở da cá bệnh, khả năng phân lập được vi khuẩn *F. columnare* ở mang thấp hơn. Riêng với cơ quan nội quan chỉ phân lập được khi cá bệnh nặng hoặc mãn tính. Kết quả quan sát dưới kính hiển vi cho thấy rằng, có sự hiện diện dày đặc của vi khuẩn hình que dài mảnh và thường tập trung thành từng cụm trong lớp nhớt ở da và mang.

#### 3.2 Kết quả định danh vi khuẩn

Nghiên cứu này phân lập được 83 chủng vi khuẩn từ các mẫu cá tra bệnh trắng đuôi và được định danh là *Flavobacterium columnare*. Vi khuẩn này luôn tìm thấy ở lớp nhớt của da và mang cá bệnh và phân lập được hầu hết ở da và mang nhưng rất hiếm xảy ra với cơ quan nội quan.

Trên môi trường CA, vi khuẩn có hình dạng khuẩn lạc đặc trưng như: sắc tố vàng, dạng rễ, trượt và bám sâu vào mặt thạch (Hình 1B). Vi khuẩn Gram âm, hình que, dài mảnh (Hình 1C), di động trượt, phát triển 0.5% NaCl, tồn tại ở 36<sup>0</sup>C, tạo sắc tố flexirubin và congo red. Cho phản ứng dương tính với catalase, oxidase, O/F, gelatin, nitrate và âm tính với ure, indole, tinh bột và đường (glucose, glycerol,

minitol). Kết quả kiểm tra đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa của 83 chủng *F. columnare* và chủng chuẩn NCIMB 2248 được trình bày ở bảng 1.



Hình 1: A: Cá bệnh trắng đuôi biểu hiện có vết trắng ở thân, đuôi mòn cụt và hoại tử. B: Khuẩn lạc dạng rỗ trên môi trường CA; và C (X100): Mẫu nhuộm Gram: vi khuẩn Gram âm, hình que, mảnh dài

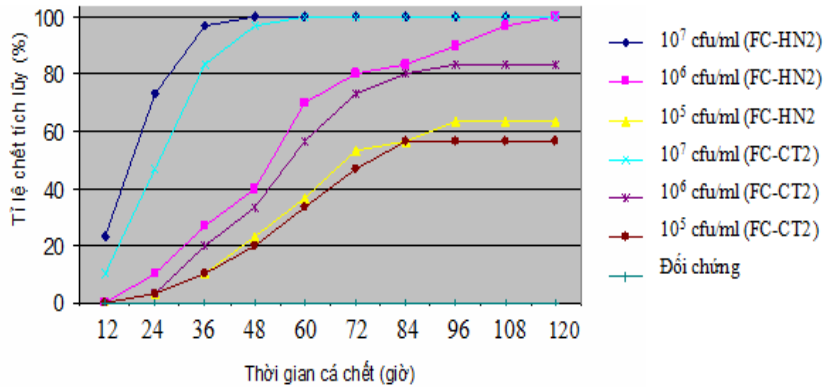
Bảng 1: Kết quả kiểm tra đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa của *F. columnare* phân lập được trên cá tra bệnh trắng đuôi

Chỉ tiêu hình thái, sinh lý	<i>F. columnare</i> NCIMB-2248	<i>F. columnare</i> phân lập	Chỉ tiêu sinh hóa	<i>F. columnare</i> NCIMB-2248	<i>F. columnare</i> phân lập
Gram	-	-	Congo red	+	+
Hình dạng	Dài, mảnh	Dài mảnh	Flexirubin	+	+
Di động trượt	+	+	Citrate	-	-
Oxidase	+	+	Indole	-	-
Catalase	+	+	Gelatin	+	+
O/F	+	+	Starch	-	-
Môi trường TSA	-	-	Glucose	-	-
Nhiệt độ 13°C	-	-	Glycerol	-	-
15°C	+	+	Mannitol	-	-
36°C	+	+	H <sub>2</sub> S	-	-
NaCl					
0%	+	+	Urea	-	-
0,5%	+	+			
1%	-	-			

### 3.3 Kết quả thí nghiệm cảm nhiễm LD50

Trong quá trình thí nghiệm cá có biểu hiện bệnh lý tương tự cá bệnh trắng đuôi thu ngoài ao nuôi. Tỷ lệ chết của cá trong các nghiệm thức tương ứng của hai chủng cảm nhiễm khác biệt không có ý nghĩa nhưng với chủng FC-HN2 thì cá luôn chết

sớm và tỉ lệ cao hơn chủng FC-CT2. Giá trị LD<sub>50</sub> trong 60 giờ ở chủng FC-CT2 là 1,66 x 10<sup>6</sup> cfu/ml thấp hơn một cách có ý nghĩa so với chủng FC-HN2 (4,27 x 10<sup>5</sup> cfu/ml) (Hình 2).

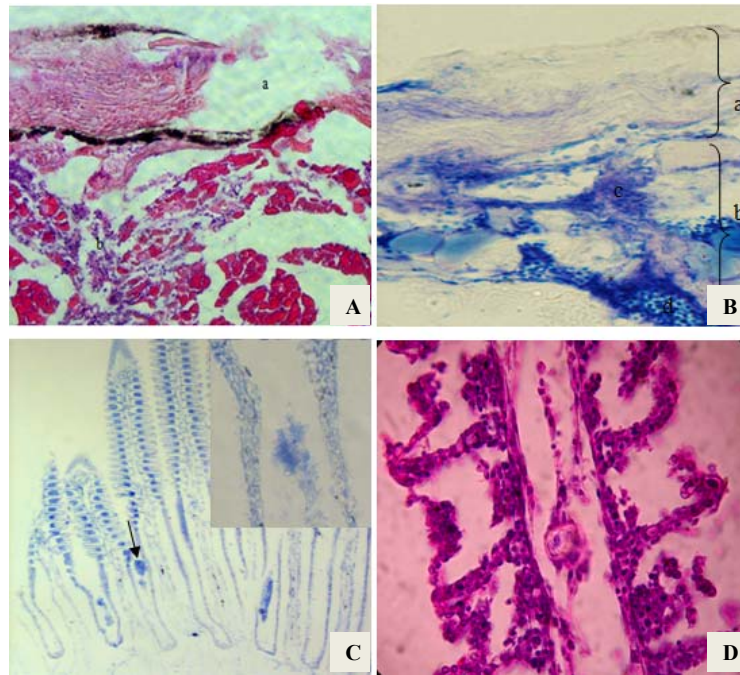


Hình 2: Tỉ lệ chết cá tra cảm nhiễm 2 chủng vi khuẩn FC-HN2 và FC-CT2

### 3.4 Kết quả mô học

Quan sát mô học, mẫu da - cơ và mang biểu hiện tổn thương nhiều nhất khi cá bệnh trắng đuôi (Hình 3A, B). Mẫu nhuộm Giemsa, quan sát thấy vi khuẩn dạng sợi mảnh xuất hiện từng cụm hoặc rải rác trên da-cơ, mang (Hình 3B, C) và tỳ tạng. Đặc biệt, quan sát được vùng phản ứng giữa bạch cầu và vi khuẩn ở vùng cơ (Hình 3B). Đối với cá bệnh nặng, cơ cá biểu hiện sự sưng viêm và hoại tử. Đồng thời ở mang, sự tăng lên của các tế bào biểu mô làm các sợi mang thứ cấp dính lại phồng lên, tổn thương ở sợi mang (Hình 4D) và mất chức năng mang hoàn toàn.

Kết quả kháng sinh đồ không tìm thấy sự kháng thuốc của vi khuẩn với thuốc kháng sinh rifampin và trên 85% vi khuẩn vẫn còn nhạy với ampicillin và tetracyclin và 30% số chủng vi khuẩn *F. columnare* còn nhạy với Trimethoprim + Sulfamethoxazol. Trên 60% các chủng vi khuẩn *F. columnare* đã kháng với enrofloxacin và chloramphenicol.



**Hình 3: A (100X-H&E):** Mô da cá bệnh, a-sợi collagen tách rời từng mảnh, b-sung viêm tế bào biểu mô, c-cấu trúc lớp da liên kết lỏng lẻo, d-tách rời giữa da và cơ. **B(100X-Giems):** a-vùng da hoại tử: vi khuẩn đan xen với collagen bị phá vỡ, b-vùng cơ hoại tử. **C(10X-Giems):** mang: mũi tên-cụm vi khuẩn. **D(100X-H&E),** mẫu mang: a- sợi mang thứ cấp dính lại và hoại tử, b-biểu mô mang thứ cấp phình to

#### 4 THẢO LUẬN

Bệnh trắng đuôi là một trong những bệnh xuất hiện rất phổ biến trong quá trình ương nuôi cá tra. Bệnh xảy ra chủ yếu trên cá tra ở giai đoạn nhỏ và tỉ lệ chết rất cao trong vài ngày nhiễm bệnh đặc biệt sau khi vận chuyển cá về thả nuôi. Bệnh diễn ra thường xuyên trong năm nhưng mạnh nhất vào thời điểm nhiệt độ tăng cao. Trong nghiên cứu này tìm thấy vi khuẩn *F. columnare* là tác nhân gây bệnh trắng đuôi trên cá tra vùng ĐBSCL.

Khả năng gây bệnh của vi khuẩn *F. columnare* trên các cơ quan bên ngoài của cá được nhiều nhà khoa học quan tâm nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, vi khuẩn dạng sợi *F. columnare* tìm thấy ở lớp nhớt của da, cơ, mang tập trung thành từng cụm. Theo mô tả của Tripathi *et al.* (2005), Bader *et al.*(2006), Pilarski *et al.* (2008), vi khuẩn *F. columnare* phân lập chủ yếu ở da. Trong khi đó, Decostere *et al.* (1999), Plumb (1999) và Morris *et al.* (2006) cho rằng hầu hết vi khuẩn này được phân lập từ mang. Trong kết quả nghiên cứu này, đa phần vi khuẩn *F. columnare* phân lập nhiều nhất là trên da, chỉ phân lập được vi khuẩn ở mang khi cá mới nhiễm bệnh và cơ quan này trước khi chuyển sang xám nhạt. Một số nghiên cứu cho rằng không phân lập được vi khuẩn *F. columnare* khi mang biểu hiện màu xám nhạt hay hoại tử (Craig *et al.*, 2004 ; Decostere, 1999).

Vi khuẩn *F. columnare* rất dễ nhận dạng do có đặc điểm rất đặc trưng như: Khuẩn lạc tạo sắc tố vàng, dạng rễ và bám chặt lên trên môi trường agar, tạo sắc tố

flexirubin, phản ứng với congo red và có khả năng thủy phân gelatin. Nhiều nhà nghiên cứu cho rằng đặc điểm dạng rẽ của vi khuẩn thể hiện độc lực và khả năng gây bệnh của loài vi khuẩn này (Pacha & Porter, 1968; Decostere, 1999 và Soumalainen, 2005). Vi khuẩn này, di động trượt giúp cho vi khuẩn *F. columnare* di chuyển nhanh trong môi trường lỏng. Theo Salyers & Whitt (1996) vi khuẩn *F. columnare* có khả năng di chuyển trực tiếp trên lớp nhớt và đó là cơ hội tốt cho sự tấn công trên mặt da và mang cá. Ngoài ra, khả năng phân hủy gelatin là đặc điểm rất quan trọng của vi khuẩn *F. columnare* có liên quan đến khả năng phá hủy các sợi collagen trong biểu mô liên kết của da và sự hình thành vết loét trên da cá.

Thí nghiệm gây cảm nhiễm trên 2 chủng vi khuẩn *F. columnare* (FC-HN2) và (FC-CT2) gây cá tra giống nhiễm bệnh và chết với dấu hiệu lâm sàng giống bệnh trắng đuôi ngoài ao nuôi. Kết quả tái định danh vi khuẩn *F. columnare* gây bệnh trắng đuôi trên cá tra đã thỏa mãn định đề Kochs. Trong khi nghiệm thức đối chứng cá vẫn khỏe bình thường. Giá trị LD<sub>50</sub> trên 2 chủng vi khuẩn *F. columnare* (FC-HN2) và (FC-CT2) lần lượt là  $1,7 \times 10^5$  và  $3,2 \times 10^6$  cfu/ml. Thời điểm xuất hiện cá chết đầu tiên sau 6 giờ cảm nhiễm thuộc chủng FC-HN2, và sau 8 giờ đối với chủng FC-CT2 đối với nồng độ  $10^7$  cfu/ml. Trong cùng một mật độ  $10^7$  cfu/ml, thời gian cá tra chết trong nghiên cứu này ngắn hơn so với cá cảnh (*Poecilia sphenops*) sau 8 giờ cảm nhiễm trong kết quả của Decostere *et al.* (1999). Theo Soltani *et al.* (1996) gây cảm nhiễm vi khuẩn *F. columnare* mật độ  $1,7 \times 10^7$  cfu/ml trên cá *Barramundi* (2-6g) gây chết trong vòng 8 giờ. Sự khác nhau thời gian cá chết có thể tùy thuộc vào loài cá, khả năng độc lực của vi khuẩn và điều kiện môi trường sống của cá. Trong nghiên cứu này thì chủng vi khuẩn FC-HN2 ( $4,27 \times 10^5$  cfu/ml) trên cá tra mạnh hơn có ý nghĩa so với FC-CT2 ( $1,66 \times 10^6$  cfu/ml). Sự khác nhau về độc lực giữa các chủng vi khuẩn này cũng tìm thấy trên nhiều loài cá khác như kết quả nghiên cứu của Sarker *et al.* (2002) và Decostere (1999).

Phương pháp nhuộm Giemsa là công cụ rất hữu ích cho việc phát hiện vi khuẩn trong mẫu mô bệnh học. Qua mẫu nhuộm Giemsa, vi khuẩn đã được tìm thấy trong tất cả các mẫu mô cá tra bệnh trắng đuôi. Theo Decostere (1999) và Ferguson (2006) cũng đã tìm thấy vi khuẩn *F. columnare* trên mang cá hồi và cá cảnh nhiễm bệnh. Mẫu nhiễm nhẹ, vi khuẩn dạng sợi mảnh ở lớp da nhưng với mẫu nhiễm nặng vi khuẩn tìm thấy ở lớp da ít hơn ở cơ và vị trí vùng cơ hoại tử xảy ra sự đáp ứng giữa vi khuẩn và bạch cầu. Theo Hilger *et al.* (1991) và Decostere (1999), bạch cầu đóng vai trò rất quan trọng trong đáp ứng miễn dịch của cơ thể, sự hiện diện của bạch cầu xuất hiện cùng với sự hiện diện của vi khuẩn trong cơ thể nhằm thực hiện chức năng thực bào tiêu diệt vi khuẩn gây bệnh. Hoạt động của bạch cầu tăng lên khi có sự hoạt động của vi khuẩn (Hibiya, 1982; Ellis, 1999 và Dash *et al.*, 2009), các bạch cầu có thể là bạch cầu trung tính và tế bào lympho từ mô liên kết sợi cơ. Tuy nhiên, để xác định chính xác bạch cầu thì cần những nghiên cứu chuyên sâu hơn. Mặc dù, trong mẫu nhuộm H&E tìm thấy có tổn thương do vi khuẩn *F. columnare* gây ra trên gan, thận và tùy tạng, trong nghiên cứu này chỉ tìm thấy cụm vi khuẩn dạng sợi mảnh ở vùng hoại tử mô tùy tạng. Trong khi nghiên cứu của Floyd (1998), tìm thấy vi khuẩn *F. columnare* ở thận.

Cho đến nay, thuốc kháng sinh vẫn còn sử dụng một cách phổ biến để phòng trị bệnh do vi khuẩn trong nuôi thủy sản ở Việt Nam và nhiều nước khác trên thế giới. Do đó, nhiều nhà khoa học đã nghiên cứu và tìm thấy sự kháng thuốc kháng sinh

trên nhiều loại vi khuẩn gây bệnh trên cá, tôm và trong môi trường nuôi thủy sản (Phuong *et al.*, 2005 ; Sarter *et al.*, 2007, Dung *et al.*, 2008). Trong nghiên cứu này, đã tìm thấy trên 60% các chủng vi khuẩn *F. columnare* gây bệnh trên cá tra đã kháng với enrofloxacin và chloramphenicol. Ở Việt Nam, 2 loại thuốc kháng sinh enrofloxacin và chloramphenicol hiện đang bị nghiêm cấm sử dụng trong nuôi trồng thủy sản. Ngoài ra, kết quả trong nghiên cứu này cho thấy đa số vi khuẩn *F. columnare* gây bệnh trắng đuôi trên cá tra nhạy với thuốc kháng sinh rifampin và trên 85% vi khuẩn vẫn còn nhạy với ampicillin và tetracyclin. Theo một số nghiên cứu cho rằng, trường hợp bệnh nặng có vết thương hoặc hoại tử trên thân cá, có thể dùng oxytetracyclin (20 ppm) tắm cá (Anonymous, 1986; Hawke & Thune, 1992 và Decostere, 1999). Ngoài ra, nghiên cứu này cho tìm thấy 30% số chủng vi khuẩn *F. columnare* gây bệnh trên cá tra còn nhạy với Trimethoprim + Sulfamethoxazol. Ngược lại, theo Jinu và Goodwin (2004) cho rằng 90% vi khuẩn *F. columnare* gây bệnh trên cá nheo Mỹ nhạy với sulfamethoxazole trimethoprim, hơn 80% nhạy với oxytetracyclin. Tuy nhiên, một nghiên cứu cho rằng khi sử dụng nhóm tetracyclines để điều trị thì không nên kết hợp với ampicillin, erythromycin, colistin... vì như thế sẽ gây ra tác dụng đối kháng làm giảm tác dụng của nhóm kháng sinh này.

## 5 KẾT LUẬN

Vi khuẩn Gram âm dạng sợi mảnh, di động trượt phân lập trên cá tra bệnh trắng đuôi là vi khuẩn *Flavobacterium columnare*. Vi khuẩn này, thường được tìm thấy ở lớp nhớt của da và mang đồng thời ở mô da-cơ, mang trên các mẫu cá tra bệnh trắng đuôi qua phương pháp nhuộm Giemsa. Trên 60% các chủng vi khuẩn *F. columnare* đã kháng với enrofloxacin và chloramphenicol và chỉ 30% số chủng vi khuẩn *F. columnare* còn nhạy với Trimethoprim + Sulfamethoxazol. Đa số vi khuẩn *F. columnare* nhạy với thuốc kháng sinh rifampin và trên 85% vi khuẩn vẫn còn nhạy với ampicillin và tetracyclin.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Anonymous. 1986 . Treatment of columnaris disease. For Fish Farmers No. 86-1. Mississippi Cooperative Extension Service, Mississippi State University, p. 1-2.
- Bader, J.A., S.A. Moore and K.E. Nusbaum, 2006. The effect of cutaneous injury on a reproducible immersion challenge model for *Flavobacterium columnare* infection in channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). Aquaculture 253: 1-9.
- Buller, N.B. (Editor), 2004. Bacteria from fish và other aquatic animal: A practical identify Cytophaga agar manual. 361pp.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). 2008. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard, third edition, M31-A3, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, USA.
- Craig, S.T., J.A. Hargreaves, 2004. Biology and culture of chanel catfish. Science. 676pp.
- Dash, S.S., B.K. Das, P. Pattnaik, S.K. Samal, S. Sahu and S. Ghosh, 2009. Biochemical và serological characterization of *Flavobacterium columnare* from freshwater fishes of Eastern India. Journal of the World Aquaculture Society. 40: 236 – 247.
- Decostere A, 1998. Characterization of four *Flavobacterium columnare* (Flexibacter columnaris) strains isolated from tropical fish. Veterinary Microbiology 62: 35-45.



- Decostere, A., F Haesebrouck, J. F. Turnbull and G. Charlier, 1999. Influence of water quality and temperature on adhesion of high và low virulence *Flavobacterium columnare* strains to isolated gill arches. *Journal of Fish Disease*. 22: 1-11.
- Decostere, A. 1999 *Flavobacterium columnare* infection in fish: The agent và its adhesion to the gill tissue. Ph.D thesis. Universiteit Ghent. 152pp.
- Dung T. T., Haesebrouck F., Tuan N. A., Sorgeloos P., Baele M. and Decostere A. 2008. Antimicrobial susceptibility pattern of *Edwardsiella ictaluri* isolates from natural outbreaks of bacillary necrosis of *Pangasianodon hypophthalmus* in Vietnam. *Microbial Drug Resistance*. 14: 311-316.
- Ellis, A.E., 1999. Immunity to bacteria in fish. *Fish & Shellfish Immunology* 9 (4): 291-308.
- Ferguson, H.W. (editor) 2006. *Systemic pathology of fish: A text và atlas of normal tissues in teleosts và their responses in disease*. Scotian press. 367 pp.
- Frerichs, G.N. and S.D. Millar, 1993. *Manual for the isolate and identification of fish bacterial pathogen*. Institute of aquaculture, University of Stirling, Scotland. 107pp.
- Hawke JP & RL Thune, 1992. Systemic isolation and antimicrobial susceptibility of *Cytophaga columnaris* from commercially reared channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 4: 109-113.
- Hibiya, T., 1982. *An atlas of fish histology: normal and pathological features*. 147pp.
- Hilger I., S. Ullrich, K. Vørs, 1991. A new ulcerative Flexibacteriosis – like disease (yellow pest) affecting young atlantic cod *Gadus morhua* from the German wadden sea. *Disease Aquatic Organisms*. 11: 19-28.
- Holt, R.A., J.E. Svørs, J.L. Fryer và K.S. Pilcher, 1975. Relation of water temperature to *Flexibacter columnaris* infection in steelhead trout (*Salmo gairdneri*), coho (*Oncorhynchus kisutch*) and chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) salmon. *Fisheries Research Board of Canada*. 32: 1553-1555.
- Ibarrow, G., and R.K.A. Feltham (editor), 1993. *Cowan và Steel's manual for the identification of medical bacteria*. 262pp.
- Kunttu, H.M.T., L. Soumalainen, E.I. Jokinen and E.T. Valtonen, 2009. *Flavobacterium columnare* colony types: Connection to adhesion và virulence. *Microbial Pathogenesis*. 46: 21-27.
- Morris, J.M., E. Snyder-conn, J.S. Foott, R.A. Holt, M.J. Suedkamp, H.M. Lease, S.J. Clearwater, J.S. Meyer, 2006. Survival of lost River Suckers (*Deltistes luxatus*) challenged with *Flavobacterium columnare* during exposure to sublethal ammonia concentration at pH 9.5. *Environment Contam. Toxicol.* 50: 256-263
- Pacha, R.E. and S. Porter, 1968. Characteristics of myxobacteria isolate from the surface of freshwater fish. *Microbiology*. 16: 1901-1906.
- Phuong, N.T., D.T.H. Oanh, T.T. Dung, and L.X. Sinh. 2005. Bacterial resistance to antimicrobials use in shrimps and fish farms in the Mekong Delta, Vietnam. In *Proceedings of the International Workshop on antibiotic resistance in Asian Aquaculture Environments*. Chiang Mai, Thailand. ISBN 88-901344-3-7
- Pilarski, F., A.J. Rossini and P.S. Ceccarelli, 2008. Isolation và characterization of *Flavobacterium columnare* (Bernardet et al., 2002) from four tropical fish species in Brazil. *Journal of Biology*. 68: 409-414.
- Plumb, J.A., 1999. Health maintenance và principal microbial disease of culture fishes.
- Roberts, R. (1989) (edition). *Fish pathology*. 465pp.
- Salyers, A.A. and D.D. Whitt, 1996. *Bacterial pathogenesis: A molecular approach*. 418pp.
- Sarker, M.G.A., M.A.R. Faruk, M.B.R. Chowdhury and M.N. Uddin, 2002. Virulence and drug sensitivity of *Flavobacterium columnare*, the causative agent of columnaris disease, the causative agent of columnaris disease. *Biological Science*. 5: 204-207.

- Sarter, S., Kha, N. H. N., Hung, L.T., Jérôme Lazard, J. & Montet, D. 2007 Antibiotic resistance in Gram-negative bacteria isolated from farmed catfish. *Food Control* 18: 1391-1396.
- Soltani, M., B.L. Munday, C.M. Burke, 1996. The relative susceptibility of fish to infection by *Flexibacter columnaris* và *Flexibacter maritimus*. *Aquaculture*. 140: 259-264.
- Soumalainen, L., 2005. *Flavobacterium columnare* in finfish farming characterisation và putative disease management strategies. Thesis Ph.D. 1456-9701. ISBN. 951-39-2147-6.
- Thomas-Jinu, S. and Goodwin, A.E., 2004. Morphological and genetic characteristics of *Flavobacterium columnare* isolates: correlations with virulence in fish. *Journal of Fish Disease*. 27: 29-35.
- Tripathi, N.K., K.S. Latimer, C.R. Gregory, B.W. Ritchie, R.E. Wooley and R.L. Walker, 2005. Development và evaluation of an experimental model of cutaneous columnaris disease in koi *Cyprinus cytophaga agarrpio*. *Veterinary Diagnosis Investment*. 17: 45-54.
- United States Department of Agriculture, 2003. Reference of 2002 U.S. Cytophaga agar fish health và production practices. Center for Epidemiology và Animal Health, Fort Collins, Colorado. 64-67.