

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH KHẢ NĂNG GÂY BỆNH XUẤT HUYẾT TRÊN LƯƠN ĐỒNG (*MONOPTERUS ALBUS*) CỦA VI KHUẨN *AEROMONAS HYDROPHILA*

Đặng Thị Hoàng Oanh¹ và Nguyễn Đức Hiền²

ABSTRACT

Six bacterial isolates from diseased rice eels (*Monopterus albus*) that displayed a symptom of hemorrhagic septicemia were identified as *Aeromonas hydrophila*. These bacterial isolates have round, convex, cream coloured and 2-3 mm diameter colonies on tryptic soya agar plate after 24 hours incubating at 28 °C. They are Gram negative, short rod, motile, oxidase and catalase positive, fermentation and oxidation of glucose. All isolates were positive arginine dihydrolase and lysine decarboxylase reactions but negative with ornithine decarboxylase. They produce gelatinase and indole but urease, utilize glucose and manitol but inositol, sorbitol, rhamnase and arabinose, all isolates resistant to O/129 compound. Experimental infection (10^7 CFU/eel) showed that studied strain can cause hemorrhagic septicemia in healthy rice eels as those in natural infection.

Keywords: Hemorrhagic septicemia disease, rice eel, *Aeromonas hydrophila*

Title: Isolation and pathogenicity of *Aeromonas hydrophila* on rice eel (*Monopterus albus*)

TÓM TẮT

Sáu chủng vi khuẩn phân lập từ lươn đồng (*Monopterus albus*) bệnh xuất huyết được định danh là *Aeromonas hydrophila*. Các chủng vi khuẩn mọc trên môi trường tryptone soya agar sau 24 giờ ở 28°C tạo khuẩn lạc tròn, lồi, màu kem, kích thước từ 2-3 mm và gây tan huyết. Chúng là vi khuẩn Gram âm, hình que ngắn, di động, oxidase và catalase dương tính, có khả năng lên men hiếu khí và kỵ khí. Tất cả đều cho phản ứng arginin dihydrolase và lysine decarboxylase dương tính nhưng ornithine decarboxylase âm tính. Chúng không sinh ureaza nhưng sinh gelatinaza và indol, sử dụng đường glucose và manitol nhưng không sử dụng đường inositol, sorbitol, rhamnase và arabinose, kháng với hợp chất O/129. Kết quả cảm nhiễm bằng phương pháp tiêm (mật độ 10^7 CFU/lươn) cho thấy vi khuẩn có khả năng gây bệnh xuất huyết ở lươn thí nghiệm như lươn nhiễm bệnh tự nhiên.

Từ khóa: Bệnh xuất huyết, lươn đồng, *Aeromonas hydrophila*

1 GIỚI THIỆU

Lươn đồng (*Monopterus albus*) là một trong những đối tượng nuôi thủy sản mới đang được nhiều người quan tâm do có thịt thơm ngon, bổ dưỡng và có giá trị kinh tế cao. Lươn đồng cũng là đối tượng có tiềm năng xuất khẩu sang các thị trường như Trung Quốc, Hồng Kông, Nhật. Lươn đồng hiện đang được nuôi khá phổ biến ở nhiều địa phương ở vùng đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL). Người dân nuôi lươn tận dụng đất trống xung quanh nhà xây bể thả nuôi cũng như tận dụng được nguồn thức ăn từ cua ốc, ít công chăm sóc nên chi phí thấp với lợi nhuận cao. Do đặc điểm của qui trình nuôi lươn là tận dụng nguồn thức ăn tự nhiên, sử dụng các

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

² Chi cục Thú Y Cần Thơ

vật liệu có sẵn để làm giá thể và phương thức quản lý khá đơn giản nên lươn nuôi rất dễ bị bệnh gây thiệt hại đến năng suất nuôi. Một số bệnh thường gặp ở lươn đồng tự nhiên và lươn nuôi ở vùng ĐBSCL thường được đặt tên và mô tả dựa vào dấu hiệu bệnh lý bên ngoài như: bệnh đỏ hầu/đỏ hậu môn, bệnh lở loét, bệnh sốt nóng, bệnh mất nhớt, bệnh đĩa bám... Tuy nhiên, hiện tại chưa có một nghiên cứu bài bản nào về bệnh ở lươn đồng ở ĐBSCL.

Các công trình nghiên cứu về bệnh ở lươn đồng ở nước ngoài cho thấy phần lớn tác nhân gây bệnh nguy hiểm ở lươn đồng là vi khuẩn và ký sinh trùng thuộc nhóm giun sán. Nielsen *et al.* (2001) phân lập và xác định được chủng vi khuẩn từ lươn đồng bị bệnh ở Tỉnh Zhejiang, Trung Quốc là *Aeromonas hydrophila*. Dấu hiệu bệnh lý ở lươn bệnh là lươn bỏ ăn, lờ mờ mắt, da bị đỏ do xuất huyết và bơi lội lờ đờ trên mặt nước. Bên trong xoang cơ thể, các nội quan có biểu hiện nhiễm trùng xuất huyết và dịch màu đỏ nhạt. Bin *et al.* (2010) cũng đã phân lập, định danh và xác định *A. hydrophila* là tác nhân chính gây nên bệnh xuất huyết ở lươn đồng nuôi ở tỉnh Sichuan, Trung Quốc. Nhóm tác giả đã định danh mầm bệnh dựa trên đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hóa và giải trình tự gen 16S rDNA của vi khuẩn phân lập được từ gan thận và tỳ tạng của lươn đồng có dấu hiệu bệnh lý là nhiễm trùng xuất huyết. Huaiqing (2011), đã phân lập và định danh vi khuẩn *A. hydrophila* từ lươn bị bệnh xuất huyết ở 10/13 vùng nuôi lươn được thu mẫu. Vi khuẩn cũng được gây cảm nhiễm và chứng minh có khả năng gây bệnh ở chuột. Bên cạnh *A. hydrophila*, vi khuẩn Gram dương *Micrococcus luteus* cũng được phân lập từ lươn bị xuất huyết. Tuy nhiên, kết quả cảm nhiễm cho thấy chủng vi khuẩn này không có khả năng gây bệnh ở lươn. Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập và xác định khả năng gây bệnh xuất huyết của vi khuẩn *A. hydrophila* phân lập từ mẫu lươn đồng mua ở chợ thuộc địa bàn thành phố Cần Thơ và thu ở các bể nuôi ở Vĩnh Thạnh, An Giang.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương pháp thu và phân lập vi khuẩn từ mẫu bệnh phẩm

Mẫu lươn bệnh được mua từ các chợ Hưng Lợi, chợ Tầm Vu thuộc địa bàn thành phố Cần Thơ và thu từ những hộ nuôi lươn ở xã Vĩnh Thạnh, huyện Châu Thành, An Giang. Mẫu được vận chuyển về phòng thí nghiệm Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Chỉ những mẫu bệnh phẩm còn sống mới được sử dụng để phân lập vi khuẩn.

Trước khi phân lập vi khuẩn, khử trùng mặt ngoài cơ thể lươn bằng cồn 70°C và lau sạch. Sau đó, Dùng kim tiêm lấy máu, nhỏ một giọt máu ở đầu lame rồi dùng một lame sạch khác đặt vào ngay giọt máu hợp một góc 45°C để máu lan ra sau đó kéo về phía cuối lame tạo phết kính máu. Tiếp đến, tiến hành mổ lươn bằng dao mổ, kéo tiết trùng rồi dùng nhíp tiết trùng lấy một ít cơ quan từ gan, thận, tỳ tạng phết đều lên lam sạch. Để làm khô ở nhiệt độ phòng, sau đó cố định trong methanol trong thời gian 1 phút và nhuộm mẫu theo phương pháp của Humason (1979) (trích dẫn bởi Rowley, 1990). Kế đến, dùng dao mổ tiết trùng rạch một đường trên thận hay vết thương. Đặt que cấy vào nơi vừa rạch, xoay nhẹ để lấy mẫu bệnh phẩm và cấy trên đĩa môi trường tryptone soya agar (TSA). Đĩa cấy được ủ 24 giờ ở 28°C. Các chủng vi khuẩn phân lập, sau khi tách rông được trữ ở -

80°C trong môi trường tryptone soya broth (TSB) có chứa 25% glycerol. Nguồn gốc các chủng vi khuẩn được chọn nghiên cứu được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1: Nguồn gốc các chủng vi khuẩn phân lập từ lươn

STT	Mã PTN	Nơi thu mẫu	Cơ quan phân lập	Năm thu mẫu
1	LT2T2(2)	Chợ Hưng Lợi	Thận	2012
2	LT2T(3)	Chợ Tâm vu	Thận	2012
3	LT4T(4)	Vĩnh Thạnh	Thận	2012
4	LT5T(4)	Vĩnh Thạnh	Thận	2012
5	LT6T(4)	Vĩnh Thạnh	Thận	2012
6	LG2T(4)	Vĩnh Thạnh	Gan	2012

2.2 Phương pháp định danh vi khuẩn

Các chỉ tiêu hình thái, sinh lý và sinh hóa được chọn để định danh vi *Aeromonas* được trình bày ở bảng 2. Hình dạng, kích thước và tính rỗng của vi khuẩn được xác định bằng phương pháp nhuộm Gram (Barrow và Feltham 1993). Tính di động của vi khuẩn được quan sát bằng cách nhỏ một giọt nước cất lên lam, trải đều lên lam một ít vi khuẩn, đậy bằng lammela và quan sát bằng kính hiển vi ở vật kính 100X. Các đặc điểm sinh lý sinh hóa được xác định dựa theo cẩm nang của Cowan và Steels (Barrow và Feltham, 1993).

2.3 Gây cảm nhiễm

Thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm cảm nhiễm Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ trên hệ thống bể nhựa (35L). Các bể được khử trùng bằng chlorine và xả phòng, rửa lại bằng nước sạch. Sau đó cho nước vào bể (4L), lắp hệ thống sục khí liên tục vài ngày để loại hết chlorine rồi đặt dây nylon làm giá thể Lươn được chọn cảm nhiễm có trọng lượng 18-25g/con, bên ngoài không trầy xước, màu sắc tươi sáng, phản ứng linh hoạt. Lươn được bố trí ngẫu nhiên 3 con/bể và thuần hoá vài ngày để quen dần với môi trường nước thí nghiệm. Thí nghiệm được bố trí gồm các bể như sau: (1) đối chứng, tiêm mỗi con 0.1 ml nước muối sinh lý; (2) tiêm chủng vi khuẩn LT2T2(2); (3) tiêm chủng vi khuẩn LT2T(3); (4) tiêm chủng vi khuẩn LT4T(4); (5) tiêm chủng vi khuẩn LT5T(4); (6) tiêm chủng vi khuẩn LT6T(4) và (7) tiêm chủng vi khuẩn LG2T(4).

Vi khuẩn gây cảm nhiễm được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB 24 giờ ở 28°C. Kế đến ly tâm 4000 vòng/phút trong 3 phút, rửa 2 lần bằng dung dịch 0,85% NaCl. Xác định mật độ vi khuẩn bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 590nm, kết hợp với phương pháp đếm số khuẩn lạc phát triển trên môi trường TSA (CFU/ml). Lươn được gây cảm nhiễm mật độ là 10^7 CFU/lươn, mỗi con lươn được tiêm 0,1 ml dung dịch vi khuẩn ở phần cơ lưng gần đầu, theo dõi liên tục biểu hiện của lươn trong 7 ngày. Những con lươn có dấu hiệu lơ dờ, bơi lội kém linh hoạt được thu để quan sát dấu hiệu bệnh lý, làm tiêu bản kính phết thận và tái phân lập vi khuẩn từ thận và tái định danh.

3 KẾT QUẢ

3.1 Dấu hiệu bệnh lý

Lươn bệnh hoạt động chậm chạp, kém linh hoạt, trên thân có những vết loét và đốm xuất huyết. Những con lươn bệnh nặng, vết loét lõm sâu tới xương, đốm xuất

huyết lan rộng khắp cơ thể (Hình 1). Xét nghiệm kính phết mẫu máu và thận của lươn bệnh bằng cách soi tươi và nhuộm Giem sa đều thấy rất nhiều vi khuẩn dạng hình que nằm rải rác trên vùng mô phết kính hoặc tập trung thành từng cụm. Ở số mẫu thận của lươn bệnh, vi khuẩn xâm nhập vào và phá hủy tế bào làm tế bào bị vỡ. Các mẫu ở thận cũng cho thấy đại thực bào vi khuẩn (Hình 2).

3.2 Phân lập vi khuẩn

Kết quả phân lập được 6 chủng vi khuẩn (LT2T2(2), LT2T(3), LT4T(4), LT5T(4), LT6T(4) và LG2T(4)) từ thận và máu lươn bệnh. Trên môi trường TSA sau 24 giờ ở 28°C vi khuẩn phát triển thành các khuẩn lạc có hình tròn, lồi, màu kem, kích thước từ 2-3 mm (Hình 3). Những khuẩn lạc này được cấy sang môi trường chọn lọc Aeromonas (Oxoid, Mỹ) có bổ sung ampicillin (theo hướng dẫn của nhà sản xuất). Kết quả ghi nhận được là các khuẩn lạc màu xanh, có cùng hình dạng và kích thước như khuẩn lạc mọc trên môi trường TSA (Hình 3).



Hình 1: Lươn bị xuất huyết và lở loét (phải); Lươn bị lở loét nặng (trái)

3.3 Đặc tính hình thái, sinh lý, sinh hoá của vi khuẩn phân lập từ lươn bệnh

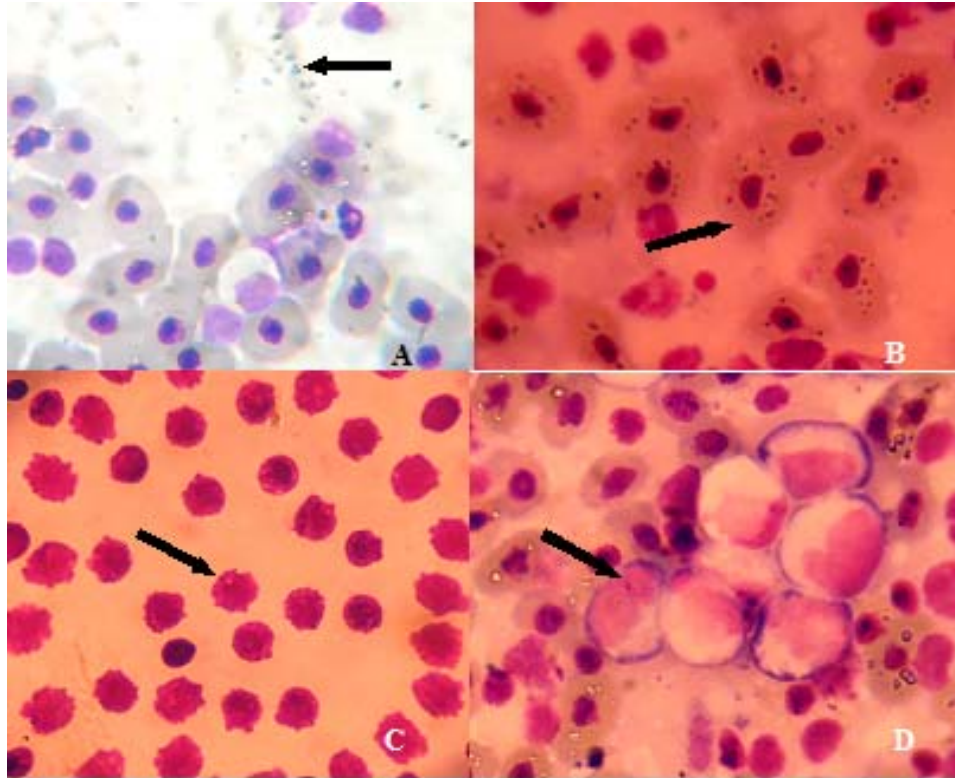
Sáu chủng vi khuẩn phân lập được từ lươn đồng bệnh xuất huyết. Kết quả quan sát và phân tích các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập từ lươn bệnh được trình bày ở bảng 2. Chúng là vi khuẩn Gram âm, hình que, có khả năng gây tan huyết (Hình 4), di động, phản ứng dương tính với oxidase, catalase, có khả năng lên men trong cả hai điều kiện hiếu khí và kỵ khí. Tất cả các chủng đều cho phản ứng dihydrolase dương tính với arginine, phản ứng decarboxylase dương tính với lysine nhưng âm tính với ornithine, có khả năng phát triển trên môi trường có chứa 5% máu cừu. Chúng không sinh ureaza nhưng sinh gelatinaza và indol. Tất cả đều mọc trên môi trường aeromonas có bổ sung ampicillin, sử dụng đường glucose và manitol, không sử dụng đường inositol, sorbitol, rhamnose và arabinose, kháng với hợp chất hợp chất 2,4-diamino-6,7-diisopropyl pteridine (O/129). Đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hoá của các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu này giống với chủng chuẩn *A. hydrophila* (Popoff, 1984 và West *et al.* 1986).

3.4 Khả năng gây bệnh xuất huyết của của vi khuẩn *A. hydrophila*

Khả năng gây bệnh xuất huyết của các chủng vi khuẩn *A. hydrophila* phân lập từ lươn bệnh được xác định qua thí nghiệm cảm nhiễm bằng phương pháp tiêm dung dịch vi khuẩn ở mật độ 10^7 CFU/lươn. Sau 24-48h cảm nhiễm, lươn ở các nghiệm thức tiêm vi khuẩn có dấu hiệu bệnh lý giống nhau là hoạt động kém linh hoạt, xuất hiện vết loét và bị xuất huyết khắp cơ thể (Hình 5A). Dấu hiệu bệnh lý của

lươn ở thí nghiệm cảm nhiễm giống như dấu hiệu bệnh lý của các mẫu được mua ở chợ và thu ở bể nuôi. Ở các bể đối chứng tiêm nước muối sinh lý, lươn ở trạng thái sinh lý bình thường trong suốt thời gian thí nghiệm.

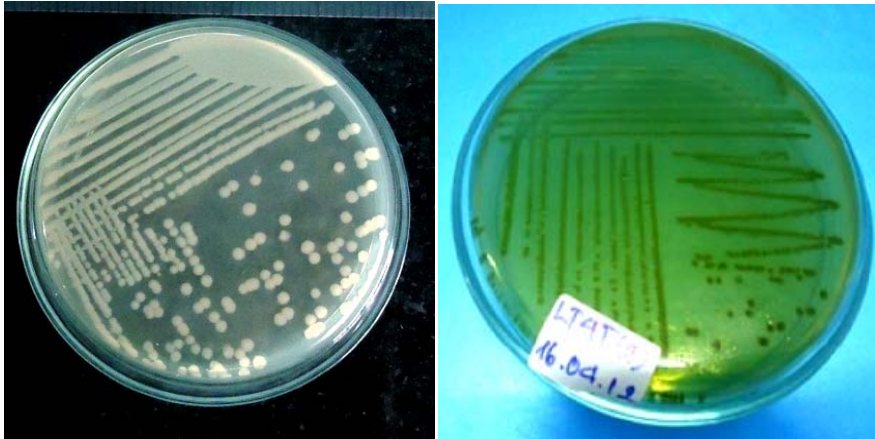
Nhuộm Giemsa mẫu kính phết 10 mẫu thận của lươn bệnh thu từ thí nghiệm và quan sát dưới kính hiển vi 40X thì thấy được có nhiều đại thực bào, sự hiện diện vi khuẩn bên trong tế bào hồng cầu, tế bào hồng cầu bị trương to và vỡ ra (Hình 5B, 5C và 5D), tỷ lệ mẫu nhiễm khuẩn là 100%.



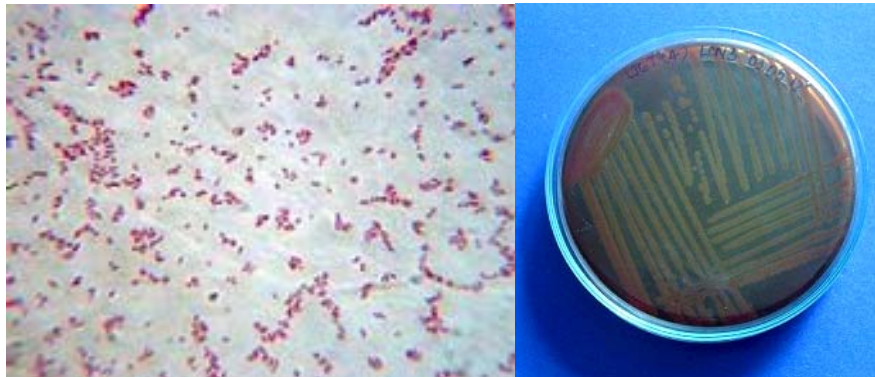
Hình 2: Vi khuẩn trong các cơ quan của lươn đồng (Giemsa). (A) Cụm vi khuẩn ở thận (mũi tên); (B) Vi khuẩn tấn công vào hồng cầu (mũi tên); (C) Vi khuẩn tấn công vào tế bào ở thận (mũi tên); (D) Đại thực bào ở thận (mũi tên)

Những con lươn gần chết sau khi gây cảm nhiễm được giải phẫu và tái phân lập vi khuẩn ở thận. Kết quả tái phân lập trên 10 mẫu lươn cảm nhiễm môi trường TSA sau 24 giờ ở nhiệt độ 28⁰C thì được 10 đĩa có khuẩn lạc phát triển. Khuẩn lạc ở các đĩa TSA có màu sắc và hình dạng khuẩn lạc tương tự nhau là: màu kem, hình tròn, lồi, kích thước 3 – 5 mm; giống với khuẩn lạc của vi khuẩn phân lập từ mẫu lươn bệnh xuất huyết lúc thu mẫu. Chọn 6 chủng vi khuẩn tái phân lập được từ những lươn bệnh trong khoảng 24 -48 giờ sau khi cảm nhiễm để xác định các chỉ tiêu hình thái, sinh lý và sinh hóa thì được kết quả như ở bảng 3. Các chủng vi khuẩn tái phân lập được có các chỉ tiêu về hình thái, sinh lý và sinh hóa giống như chủng gây cảm nhiễm ngoại trừ khả năng sử dụng citrate (chủng LT4T(4)-C1; LT4T(4)-C2; LT5T(4)-C1 cho kết quả dương tính trong khi các chủng LT6T(4)-C1; LT6T(4)-C2; LT6T(4)-C3 cho kết quả âm tính) và sử dụng đường Amygdaline (duy

nhất có chủng LT5T(4)-C1 cho kết quả dương tính, 5 chủng còn lại cho kết quả âm tính) (Bảng 3). Kết quả trên cho thấy các chủng vi khuẩn tái phân lập được từ lươn bệnh do cảm nhiễm là *A. hydrophila* (Popoff, 1984 và West *et al.* 1986).



Hình 3: Khuẩn lạc trên môi trường TSA (phải) và trên môi trường Aeromonas (trái)



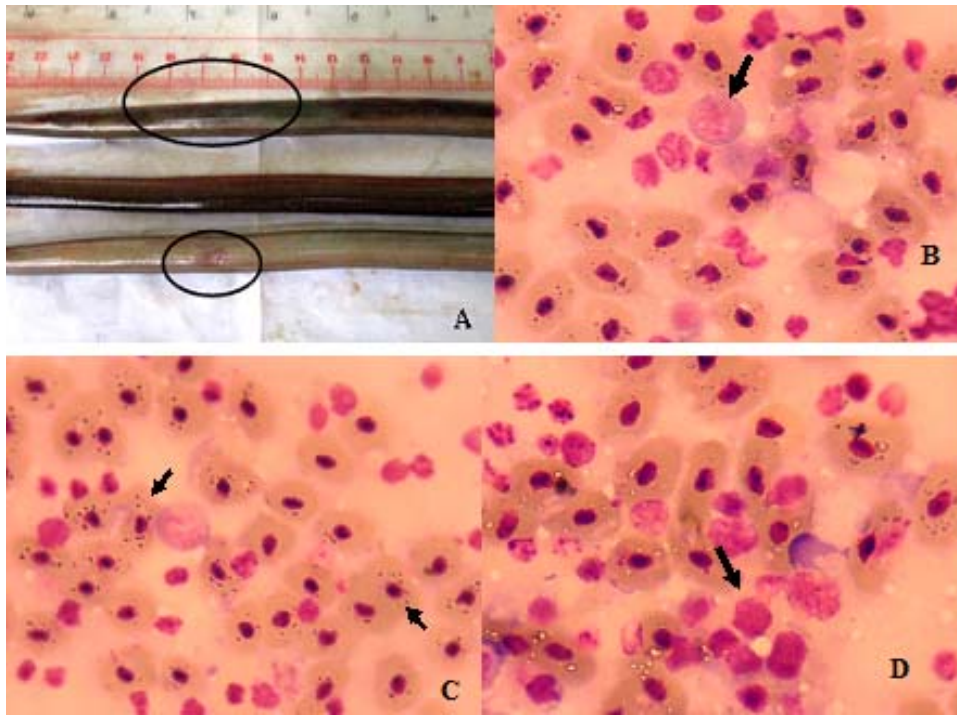
Hình 4: Vi khuẩn phân lập từ lươn bệnh có hình que, Gram âm (100X) (phải). Vi khuẩn mọc trên môi trường thạch máu và gây tan huyết (trái)

Kết quả quan sát lươn chết của các bể lươn gây cảm nhiễm và bể đối chứng, dấu hiệu bệnh lý bên ngoài, kính phết thận và kết quả tái phân lập và tái định danh cho thấy mẫu lươn gây cảm nhiễm bị bệnh xuất huyết là do vi khuẩn *A. hydrophila*. Kết quả này cũng tương tự như nghiên cứu trước đây khả năng gây bệnh xuất huyết của vi khuẩn *A. hydrophila* ở cá nước ngọt như cá nheo (*Ictalurus punctatus*) (Ventura and Grizzle, 1987), cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) (Loan *et al.*, 2009), và lươn đồng (Bin *et al.*, 2010; Huaiqing, 2011).

Bảng 2: Đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hoá của vi khuẩn phân lập từ lươn đồng bệnh

Chỉ tiêu	Chủng vi khuẩn						Popoff, 1984 và West <i>et al.</i> 1986
	1	2	3	4	5	6	
Nhuộm Gram	-	-	-	-	-	-	-
Hình dạng	que ngắn	que ngắn	que ngắn	que ngắn	que ngắn	que ngắn	que ngắn
Di động	+	+	+	+	+	+	+
Sinh catalaza	+	+	+	+	+	+	+
Sinh oxidaza	+	+	+	+	+	+	+
Phản ứng lên men yếm khí	+	+	+	+	+	+	+
Phản ứng lên men hiếu khí	+	+	+	+	+	+	+
Kháng với O/129	-	-	-	-	-	-	-
Mọc trên Aeromonas agar	+	+	+	+	+	+	+
Mọc trên môi trường máu	+	+	+	+	+	+	+
Gây tan huyết	β	β	β	β	β	β	+
Sinh Beta-galactosidaza	+	+	+	+	+	+	+
Arginine	+	+	+	+	+	+	+
Lysine	+	+	+	+	+	+	+
Ornithine	-	-	-	-	-	-	-
Sử dụng citrate	+	-	+	+	+	-	+
Sinh H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-
Sinh ureaza	-	-	-	-	-	-	-
Sinh tryptophane deaminaza	-	-	-	-	-	-	-
Sinh indole	+	+	+	+	+	+	+
Phản ứng Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+	+
Sinh gelatinaza	+	+	+	+	+	-	+
Sử dụng đường Glucose	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	+	-	+	+	+	+
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-
Amygdaline	+	+	-	+	-	+	-
Arabinnose	-	-	-	-	-	-	+

Ghi chú: (1) LT2T2(2); (2) LT2T(3); (3) LT4T(4); (4) LT5T(4); (5) LT6T(4); (7) LG2T(4); (+) dương tính; (-) âm tính



Hình 5: Dấu hiệu bệnh lý của lươn 48 giờ sau tiêm vi khuẩn. A: Vùng lở loét và xuất huyết. B: Đại thực bào (mũi tên). C: Nhiều vi khuẩn tấn công vào tế bào hồng cầu (mũi tên). D: Tế bào hồng cầu trương to và vỡ ra (mũi tên)

4 THẢO LUẬN

Sáu chủng vi khuẩn phân lập từ lươn đồng bệnh có những đặc tính chung của nhóm vi khuẩn *Aeromonas* là Gram âm, có hình que ngắn có thể di động trong môi trường lỏng (TSB), cho phản ứng oxidase và catalase dương tính, có khả năng lên men glucose trong cả hai điều kiện hiếu khí và kỵ khí, mọc trên môi trường thạch máu và gây tan huyết và kháng với hợp chất 2,4-diamino-6,7-diisopropyl pteridine (O/129, 150 µg) là hợp chất giúp phân biệt vi khuẩn *Vibrio* và *Aeromonas* (Popoff, 1984 và West *et al.* 1986). Thêm vào đó, chúng đều sinh indole và có khả năng sử dụng đường mannitol, sucrose và glucose. Những chỉ tiêu điển hình giúp phân biệt vi khuẩn *A. hydrophila* và vi khuẩn *A. sobria* và *A. caviae* là cho phản ứng dương tính với arginine và lysine nhưng âm tính với ornithine, cho phản ứng VP dương tính (Huy *et al.*, 1996; Sharon *et al.*, 2003). Cả 6 chủng được định danh là *A. hydrophila* đều có những đặc điểm này. Nielsen *et al.* (2001) phân lập và xác định được chủng vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* từ lươn đồng bị bệnh xuất huyết ở Tỉnh Zhejiang, Trung Quốc cũng có những đặc điểm phân loại giống như những chủng vi khuẩn *A. hydrophila* trong nghiên cứu này.

Bin *et al.* (2010) phân lập, định danh và xác định *Aeromonas hydrophila* là tác nhân chính gây nên bệnh xuất huyết ở lươn đồng nuôi ở Sichuan, Trung Quốc. Các chủng vi khuẩn cũng được cảm nhiễm và xác định là có khả năng gây bệnh ở *Misgurnus anguillicaudatus*, *Amiurus nebulosus* và chuột. Huaiqing (2011), phân lập và định danh vi khuẩn *A. hydrophila* từ lươn bị bệnh xuất huyết ở 10/13 vùng

nuôi lươn được thu mẫu. Vi khuẩn cũng được gây cảm nhiễm và chứng minh có khả năng gây bệnh ở *M. anguillicaudatus*, *Ictalurus nebulosus* và chuột.

Bảng 3: So sánh các chỉ tiêu sinh hóa 6 chủng vi khuẩn tái phân lập từ lươn thu ở thí nghiệm cảm nhiễm với chủng vi khuẩn cảm nhiễm

Chỉ tiêu	Chủng vi khuẩn					
	LT4T(2)- C1, C2 (TPL)	LT4T(4) (CN)	LT5T(4)- C1 (TPL)	LT5T(4) (CN)	LT6T(4)- C1, C2, C3 (TPL)	LT6T(4) (CN)
Nhuộm Gram	-	-	-	-	-	-
Hình dạng	que ngắn	que ngắn	que ngắn	que ngắn	que ngắn	que ngắn
Di động	+	+	+	+	+	+
Sinh catalaza	+	+	+	+	+	+
Sinh oxidaza	+	+	+	+	+	+
Phản ứng lên men yếm khí	+	+	+	+	+	+
Phản ứng lên men hiếu khí	+	+	+	+	+	+
Kháng với O/129	-	-	-	-	-	-
Mọc trên Aeromonas agar	+	+	+	+	+	+
Mọc trên môi trường máu	+	+	+	+	+	+
Gây tan huyết	β	β	β	β	β	β
Sinh Beta-galactosidaza	+	+	+	+	+	+
Arginine	+	+	+	+	+	+
Lysine	+	+	+	+	+	+
Ornithine	-	-	-	-	-	-
Sử dụng citrate	+	-	+	-	-	-
Sinh H ₂ S	-	-	-	-	-	-
Sinh ureaza	-	-	-	-	-	-
Sinh tryptophane deaminaza	-	-	-	-	-	-
Sinh indole	+	+	+	+	+	+
Phản ứng Voges-Proskauer	+	+	+	+	+	+
Sinh gelatinaza	+	+	+	+	+	+
Sử dụng đường						
Glucose	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+
Inositol	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-
Sucrose	+	+	+	+	+	+
Melibiose	-	-	-	-	-	-
Amygdaline	-	-	+	+	-	-
Arabinnose	-	-	-	-	-	-

Ghi chú: (+) dương tính; (-) âm tính; (TPL): tái phân lập; (CN): cảm nhiễm

5 KẾT LUẬN

Các chủng vi khuẩn phân lập từ các mẫu lươn đồng có dấu hiệu xuất huyết là *A. hydrophila*. Kết quả thí nghiệm cảm nhiễm xác định các chủng vi khuẩn này có khả năng gây xuất huyết lươn khỏe trong điều kiện cảm nhiễm trong phòng thí nghiệm giống như dấu hiệu bệnh ở lươn thu từ bể nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Barrow, G. I. and R. K. A. Feltham. 1993. Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria, 3rd edn. Cambridge University Press, Cambridge. 262
- Bin, P., Guang-you, Y., Xiao-li, C., Ai-si, Z. and Ming-li, H. E. 2010. Isolation and identification on pathogenic bacteria of hemorrhagic septicemia disease in rice field eels (*Monopterus albus*). *Freshwater Fisheries*. 2011-03
- Chen Huaqing. 2011. Study on Pathogen of Bacterial Hemorrhagic Septicemia of Rice Eel (*Monopterus albus*). *Chinese Journal of Zoonoses*. 1991-04
- Huys, G., Coopman, R., Janssen, P. and Kersters, K. (1996) Highresolution genotypic analysis of the genus *Aeromonas* by AFLP fingerprinting. *International Journal of Systematic Bacteriology* 46, 572–580.
- Loan Thi Thanh Ly, Du Ngoc Nguyen, Phuong Hong Vo, Cuong Van Doan. 2009. Hemorrhage Disease of Cultured Tra Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in Mekong Delta (Vietnam). *The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh* 61(3).
- Nielsen, M. E., L. Høi, A. S. Schmidt, D. Qian, T. Shimada, J. Y. Shen, J. L. Larsen. 2001. Is *Aeromonas hydrophila* the dominant motile *Aeromonas* species that causes disease outbreaks in aquaculture production in the Zhejiang Province of China? *Diseases of Aquatic Organisms*. 46: 23–29
- Popoff, M. (1984) Genus III *Aeromonas*. In *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Vol. 1. ed. Krieg, N.R. and Holt, J.G. pp. 545–548. Baltimore, USA: Williams & Wilkins.
- Sharon L. A., Wendy, K. W. C. and Janda, J. M. 2003. The Genus *Aeromonas*: Biochemical Characteristics, Atypical Reactions, and Phenotypic Identification Schemes. *Journal of Clinical Microbiology*. 41(6):2348-2357.
- West, P.A., P.R. Brayton, T.N. Bryant & R.R. Colwell. 1986. Numerical taxonomy of vibrios isolated from aquatic environments. *International Journal of Systematic Bacteriology* 36 (4): 531-543.
- Ventura M. T. and J. M. Grizzle. 1987. Evaluation of portals of entry of *Aeromonas hydrophila* in channel catfish. *Aquaculture*. 65: 205-214.