

TÌM HIỂU SỰ BIẾN ĐỘNG CỦA CÁC YẾU TỐ MIỄN DỊCH KHÔNG ĐẶC HIỆU TRÊN CÁ TRA (*PANGASIANODON HYPOPHTHALMUS*) NHIỄM VI KHUẨN *EDWARDSIELLA ICTALURI*

Nguyễn Thị Thúy Liễu¹, Bùi Thị Bích Hằng¹ và Đặng Thị Hoàng Oanh¹

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the difference in haematological parameters and ability to kill bacteria of serum from infected fish by *Edwardsiella ictaluri*. Diseased fish were collected from intensive ponds in Soc Trang, Hau Giang and Cantho provinces. There were 57 samples collected from 5 ponds, comprised of 31 diseased and 26 healthy samples. Twenty four bacterial isolates were obtained in which 23 isolates were identified as *Edwardsiella ictaluri* from 31 diseased specimens. Results from haematological analysis revealed a significant reduction ($p<0,05$) in total number of red blood cell and it was observed a number of multiple as well as no nucleic cells in diseased fish. The number of neutrophils increased but thrombocyte, monocytes and the total number of white blood cells decreased significantly ($p<0,05$) in infected fish. The ability to kill bacteria in serum of diseased fish was higher than in healthy fish.

Keywords: *Edwardsiella ictaluri*, *Pangasianodon hypophthalmus*, haematology, immune response

Title: Study on the changes in non-specific immune parameters from striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) infected by *Edwardsiella ictaluri*

TÓM TẮT

Đề tài được thực hiện với mục tiêu đánh giá sự biến động về huyết học và khả năng diệt khuẩn của huyết thanh trên cá tra nhiễm bệnh mù gan. Cá tra có dấu hiệu bệnh mù gan được thu tại các ao nuôi cá tra giống thâm canh thuộc các tỉnh Sóc Trăng, Hậu Giang, Cần Thơ. Có 57 mẫu được thu ở 5 ao, trong đó có 31 mẫu cá bệnh và 26 mẫu cá khỏe. Phân lập, định danh được 23/24 dòng là *E. ictaluri*. Kết quả phân tích các chỉ tiêu huyết học cho thấy số lượng hồng cầu giảm mạnh ở cá bị bệnh mù gan ($p<0,05$), đồng thời có sự xuất hiện của hồng cầu nhiều nhân và hồng cầu không nhân. Bạch cầu trung tính tăng trong khi tiểu cầu và tế bào lympho và tổng lượng bạch cầu lại giảm có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$) trên cá bệnh. Khả năng diệt khuẩn của huyết thanh cá bệnh cao hơn cá khỏe.

Từ khóa: *Edwardsiella ictaluri*, *Pangasianodon hypophthalmus*, huyết học, miễn dịch

1 GIỚI THIỆU

Nuôi trồng thủy sản đang từng bước trở thành ngành sản xuất hàng hóa chủ lực và có vị trí quan trọng trong nền kinh tế. Nuôi và chế biến xuất khẩu cá da trơn mà đặc biệt cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) là thế mạnh thứ hai của kinh tế thủy sản đồng bằng sông Cửu Long sau tôm sú. Thời gian qua nhờ thị trường xuất khẩu ngày càng rộng mở, kỹ thuật nuôi tiên tiến áp dụng vào qui trình sản xuất cá da trơn thâm canh qua hình thức nuôi ao đầm thay cho phương pháp nuôi lồng bè nên diện tích, sản lượng tăng nhanh. Thế nhưng, môi trường nuôi ngày càng biểu

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

hiện xấu kết hợp với việc nuôi cá tra phát triển nhanh không theo quy hoạch. Lượng chất hữu cơ thải trực tiếp ra môi trường là rất lớn so với nuôi các đối tượng thủy sản khác. Do đó bệnh trên cá tra nuôi hiện nay xảy ra ngày càng nhiều, diễn biến ngày càng phức tạp đang là vấn đề quan tâm hàng đầu của người nuôi cá và cả các nhà chuyên môn. Các bệnh thường gặp trên cá tra như: bệnh do ký sinh trùng, vi khuẩn, virút, bệnh do môi trường, dinh dưỡng...trong đó bệnh mù gan hay còn gọi là gan thận mù do vi khuẩn *Edwardsiella ictaluri* gây ra đang rất phổ biến, ảnh hưởng lớn đến giai đoạn cá hương, cá giống và cả cá nuôi thương phẩm với tỉ lệ chết cao có thể đến 90%, gây thiệt hại lớn cho người nuôi (Tư Thanh Dung *et al.*, 2004). Đã có rất nhiều tác giả nghiên cứu về đặc điểm sinh hóa, khả năng gây bệnh cũng như sự đề kháng thuốc của vi khuẩn *E. ictaluri* trên cá da trơn nói chung và cá tra nói riêng nhưng vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về sự biến đổi huyết học trên cá tra bị gan thận mù. Trong báo cáo này các yếu tố miễn dịch không đặc hiệu trên cá tra nuôi trong ao bị bệnh mù gan gồm sự biến động về huyết học và khả năng diệt khuẩn của huyết thanh được tìm hiểu nhằm cung cấp cơ sở khoa học cho các nghiên cứu phòng bệnh vi khuẩn ở cá tra.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Mẫu cá tra giống được thu từ tháng 01/2008 đến tháng 05/2008 tại các các điểm nuôi cá tra ở Sóc Trăng, Hậu Giang, Cần Thơ. Trước khi tiến hành thu mẫu, những thông tin tổng quan cơ bản về ao thu mẫu như giai đoạn của cá, mật độ nuôi, cách chăm sóc và quản lý ao nuôi được ghi nhận lại. Mỗi lần thu 10 con/ ao, trong đó có 5 cá khỏe và cá bệnh.

Mẫu máu cá được thu và phân lập vi khuẩn tại hiện trường. Mẫu được trải trên lame và cố định trong methanol. Sau đó nhuộm máu trong dung dịch Natt & Herrick (pha loãng máu 200 lần). Phần máu còn lại sẽ được cho vào ống eppendorf (đã tiệt trùng). Cá sau khi lấy mẫu máu được giải phẫu lấy mẫu bệnh phẩm trên thận cấy lên đĩa thạch TSA (Trypticase soy agar). Trước khi tiến hành, đo chiều dài cá, cân trọng lượng, ghi nhận các dấu hiệu bên ngoài. Sử dụng cồn 70° tiệt trùng bên ngoài cơ thể cá, lau sạch chất nhầy trên da cá, dùng kéo tiệt trùng để giải phẫu cá. Kiểm tra toàn bộ các cơ quan nội tạng, ghi nhận những dấu hiệu bất thường hoặc các dấu hiệu bệnh lý như màu sắc, hình dạng và những biến đổi trên gan, thận, ty tạng. Dùng dao mổ rạch một đường nhỏ trên thận. Đặt que cấy đã tiệt trùng vào nơi vừa rạch, xoay nhẹ để lấy mẫu bệnh phẩm và cấy lên mặt thạch TSA. Tất cả các mẫu sẽ được bảo quản trong thùng đá để chuyển về phòng thí nghiệm.

Sau 48 giờ ghi nhận hình dạng, màu sắc của khuẩn lạc trên đĩa TSA. Nếu đĩa cấy chưa thuần tiến hành tách ròng đến khi đạt được khuẩn lạc đồng dạng và rời. Vi khuẩn được định danh qua các chỉ tiêu: nhuộm gram, phản ứng oxidase, catalase, tính di động, phản ứng decarboxylase, khả năng lên men và oxi hóa đường glucose, khả năng sinh indole, khả năng sinh H_2S .

Định lượng hồng cầu (Natt & Herrick, 1952)

10 μ l máu được cho vào ống nghiệm nhựa có chứa 1990 μ l dung dịch Natt & Herrick. Lắc nhẹ cho đều ống nghiệm. Mật độ hồng cầu được xác định bằng buồng đếm hồng cầu thông qua sự quan sát dưới kính hiển vi quang học (40X). Đầu tiên xem ở vật kính 10X, định vị 5 vùng đếm (vùng ký hiệu chữ C), đưa vào giữa thị trường, chuyển sang vật kính 40X. Mật độ hồng cầu được tính theo công thức: $C \times 10 \times 5 \times 200$ (tb/mm³) với C là tổng số hồng cầu trên 5 vùng đếm.

Định lượng và định loại các tế bào bạch cầu

Mẫu máu đã được cố định trên lame được nhuộm bằng dung dịch nhuộm Wright & Giemsa (Chinabut *et al.*, 1991). Theo thứ tự như sau: (1) nhuộm với dung dịch Wright trong 3-5 phút; (2) ngâm trong dung dịch pH 6,2 – 6,8 trong 5 -6 phút; (3) nhuộm với dung dịch Giemsa trong 20 – 30 phút; (4) ngâm trong dung dịch pH 6,2 trong 15 – 30 phút; và (5) rửa sạch lại bằng nước cất, để mẫu khô tự nhiên và đọc mẫu. Quan sát dưới kính hiển vi ở vật kính X100. Định loại các tế bào máu theo Chinabut *et al.* (1991).

Tổng bạch cầu (TBC) (Hrubec *et al.*, 2000)

Đếm tổng số hồng cầu và bạch cầu trên 1.500 tế bào trên mẫu nhuộm. Tổng bạch cầu được xác định bằng công thức: TBC (tb/mm³) = (số bạch cầu x mật độ hồng cầu trên buồng đếm)/số hồng cầu trên mẫu

Từng loại bạch cầu (Hrubec *et al.*, 2000)

Đếm tổng số bạch cầu bằng 200 tế bào. Mật độ từng loại bạch cầu (tb/mm³) = (số lượng mỗi loại BC x mật độ TBC)/200

Phương pháp xác định khả năng diệt khuẩn của huyết thanh (Phuong *et al.*, 2007)

Lượng máu trừ trong eppendorf sau khi đem về phòng thí nghiệm tiến hành ly tâm với tốc độ 1.300 vòng trong 4 phút. Rút lấy phần huyết thanh (dịch trong) bên trên cho vào 1 eppendorf khác (đã thanh trùng) và trữ ở -80°C cho đến khi phân tích. Pha loãng huyết thanh 10 lần trong nước muối sinh lý khi sử dụng. Cho 100 μ l dung dịch huyết thanh vào các giếng trừ control và blank thì cho NB. Vi khuẩn được nuôi tăng sinh 48h trong nutrient broth (NB) ở 28°C và pha loãng đến mật độ 10⁴cfu/ml. 30 μ l vi khuẩn được cho vào các giếng trừ blank cho bằng NB (TSB). Ủ qua đêm ở 28°C. Sau đó cho 10 μ l MTT (5mg/ml nước cất) vào các giếng, lắc trong 15 giây thì đọc ở bước sóng 600nm bằng máy microplate reader. Phần trăm vi khuẩn sống sót được tính bằng công thức:

$$PSA = ((OD_{\text{sample}} - OD_{\text{blank}})/(OD_{\text{control}} - OD_{\text{blank}})) \times 100.$$

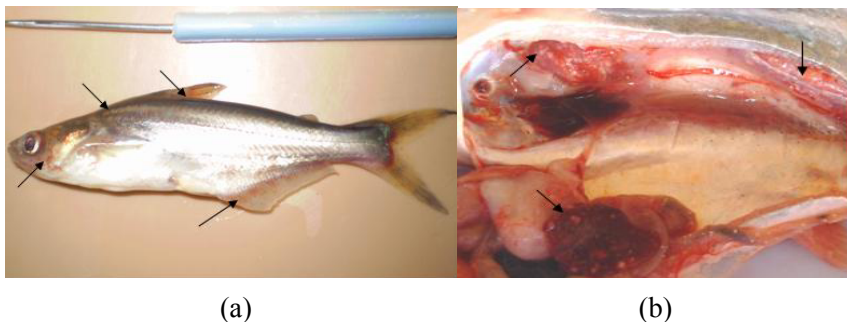
Tất cả các số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel với phép xử lý thống kê ANOVA 1 nhân tố ở mức ý nghĩa 0,05%.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Tổng số mẫu thu là 57 mẫu trong 5 ao (giảm so với phương pháp nghiên cứu 1 ao do điều kiện khách quan về thời gian thu mẫu). Trong đó có 26 mẫu cá khỏe và 31 mẫu cá có biểu hiện bệnh mụn gan.

3.1 Dấu hiệu bên ngoài

Cá bệnh nổi trên mặt nước, bơi lờ đờ cặp mé, màu sắc nhợt nhạt, giảm ăn. Trên cơ thể có những đốm xuất huyết ở mõm, các gốc vây, nắp mang, hậu môn, mang màu sắc nhạt, bụng chướng to, đôi khi có hiện tượng mất lồi (Hình 1a).



Hình 1: (a) Dấu hiệu bên ngoài cá tra bị bệnh gan thận mụn. Các đốm xuất huyết; (b) Xoang nội quan cá tra bị gan thận mụn

3.2 Dấu hiệu bên trong xoang nội quan

Cá bệnh dạ dày trương hơi, mạch máu trương to, gan màu sắc nhạt, thận sưng, có dịch lỏng hơi đỏ bên trong xoang nội quan. Trên gan, thận, tỷ tạng có những đốm nhỏ màu trắng đục kích cỡ không đều (đường kính khoảng 1-3 mm) (Hình 1b). Đôi khi có hiện tượng những thận ở cá bệnh nặng. Cá mới chớm bệnh chỉ thấy xuất hiện những đốm trắng trên thận.

3.3 Kết quả phân lập định danh vi khuẩn

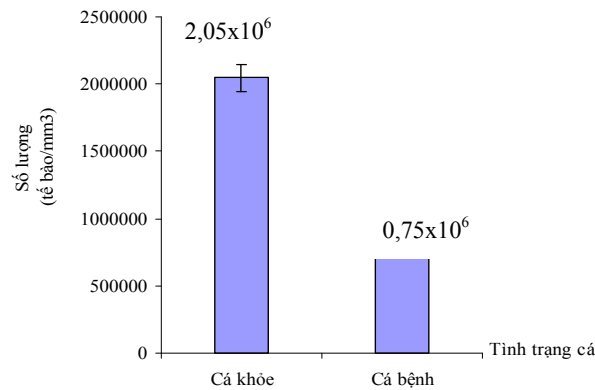
Phân lập được 24 dòng vi khuẩn từ 31 mẫu cá bệnh. Khuẩn lạc có dạng tròn, trắng đục, rìa có dạng không đồng nhất, hơi nhô và phát triển chậm trên môi trường TSA sau 48 giờ. Kết quả kiểm tra có 95,8% (23/24 dòng) dòng cho kết quả dương tính với catalase, ornithin, lysin, có khả năng lên men và oxy hóa đường glucose, không có khả năng sinh indol, H_2S , âm tính với oxidase, arginin và di động yếu. Vi khuẩn đều có dạng hình que và gram âm. Kết quả định danh xác định có 23 dòng thuộc là *E. ictaluri*, kết quả này tương tự với nghiên cứu của Hawke *et al.* (1998). Tác giả cũng định danh *E. ictaluri* dựa trên các phản ứng sinh hóa như trên. Ngoài ra, Inglis *et al.* (1994), Baxa *et al.* (1991), Plumb (1989) cũng cho kết quả tương tự với các chỉ tiêu đó khi định danh *E. ictaluri*.

3.4 Kết quả định loại và định lượng các tế bào máu

Hồng cầu

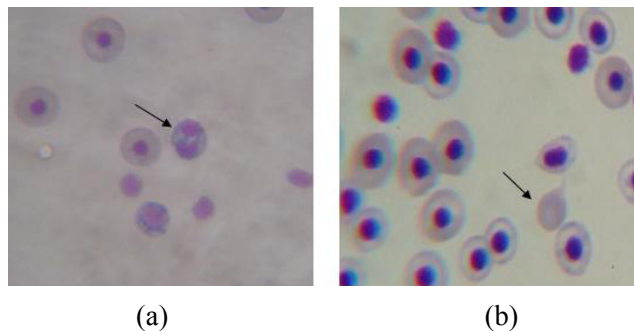
Kết quả định lượng cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) rõ rệt trong số lượng hồng cầu ở cá bệnh và cá khỏe. Trên cá khỏe số lượng hồng cầu trung bình vào khoảng $2,05 \times 10^6$ tế bào/mm³, nhưng ở cá bệnh chỉ còn $0,75 \times 10^6$ tế

bào/mm³, giảm đến 2,73 lần (63,4%) so với cá khỏe (Hình 2). Kết quả này tương tự với báo cáo của Phan Thị Hùng (2004), Phạm Thanh Hương (2006) trên cá tra bị bệnh vàng da, ngoài ra cũng giống với nghiên cứu của Benli & Yildiz (2004) trên cá rô phi *Oreochromis niloticus* nhiễm *E. tarda*.



Hình 2: Biểu đồ sự thay đổi số lượng hồng cầu ở cá khỏe và cá bệnh mỡ gan

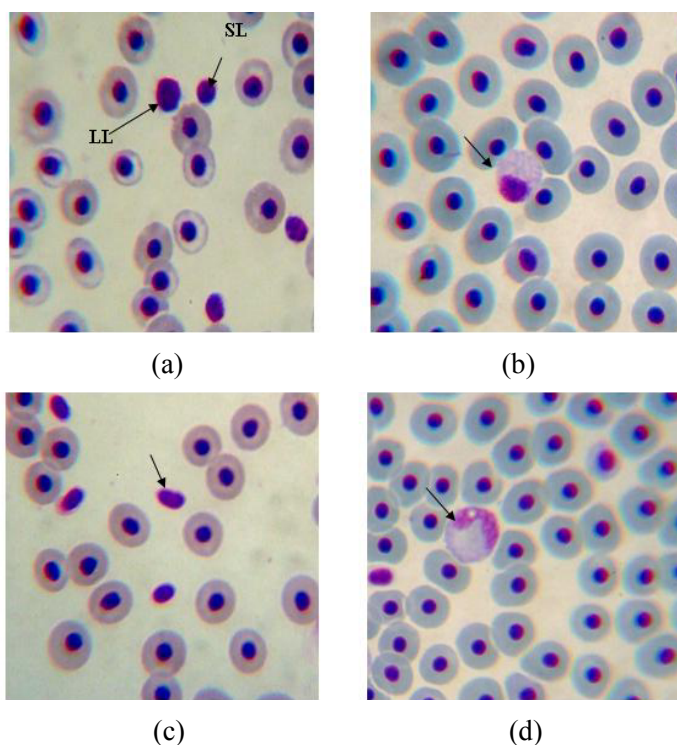
Bên cạnh những thay đổi về số lượng còn ghi nhận được những biến đổi bất thường về hình dạng hồng cầu ở cá bệnh là có sự xuất hiện của những hồng cầu không nhân và hồng cầu nhiều nhân (Hình 3a và 3b). Theo Hibiya (1982), dưới điều kiện sinh lý thay đổi xuất hiện những hồng cầu không nhân ở máu ngoại vi, nó bắt màu tương tự như hồng cầu trưởng thành, hình dạng khá tròn và kích cỡ khoảng $\frac{1}{2}$ hồng cầu trưởng thành, và đôi khi xuất hiện dị thường ở nhân hồng cầu trưởng thành dẫn đến sự phân chia nhân thành 2-3 phần. Smith (1968) & Kawatsu (1975) cũng đã ghi nhận hiện tượng này trên cá hồi (trích dẫn bởi Hibiya, 1982).



Hình 3: (a) Hồng cầu hai nhân; (b) Hồng cầu không nhân

Bạch cầu

Có 4 loại bạch cầu được quan sát gồm: lympho, bạch cầu trung tính, bạch cầu đơn nhân và tiểu cầu, không tìm thấy bạch cầu toan tính và bạch cầu kiềm tính. Hình dạng của các loại bạch cầu không có sự khác biệt giữa cá khỏe và cá bệnh (Hình 4).



Hình 4: (a) Lympho nhỏ (SL), lympho lớn (LL); (b): Bạch cầu trung tính; (c) Tiểu cầu; (d) Bạch cầu đơn nhân

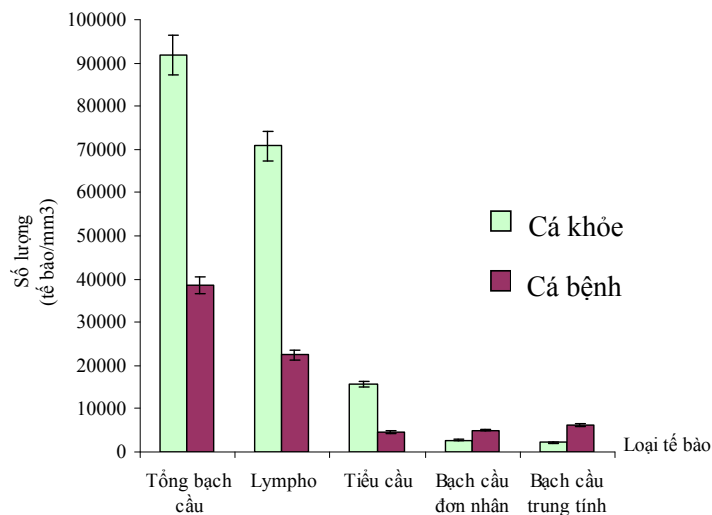
Kết quả định lượng tổng bạch cầu ở cá khỏe là $9,2 \times 10^4$ tế bào/mm³, còn ở cá bệnh là $3,9 \times 10^4$ tế bào/mm³ (giảm 2,37 lần), tế bào lympho giảm 3,15 lần, tiểu cầu giảm 3,47 lần. Tuy nhiên, số lượng bạch cầu đơn nhân và bạch cầu trung tính ở cá bệnh lại tăng. Qua xử lý thống kê thì các sự biến đổi này đều khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$). Chỉ riêng bạch cầu đơn nhân cho kết quả không có sự khác biệt thống kê nhưng ở cá bệnh số lượng vẫn cao hơn cá khỏe đến 1,84 lần (Bảng 1 và Hình 5).

Bảng 1: Sự biến đổi số lượng các loại bạch cầu ở cá khỏe và cá bệnh

Chỉ tiêu ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Cá khỏe	Cá bệnh
Tổng bạch cầu	$91,76^a \pm 51,7$	$38,68^b \pm 39,8$
Lympho	$70,78^a \pm 44,8$	$22,49^b \pm 27,5$
Bạch cầu trung tính	$2,19^a \pm 2,8$	$6,32^b \pm 4,3$
Bạch cầu đơn nhân	$2,72^a \pm 3,6$	$5,01^a \pm 4,1$
Tiểu cầu	$15,69^a \pm 15,4$	$4,52^b \pm 10,4$

Giá trị thể hiện trên bảng là giá trị trung bình và độ lệch chuẩn

Các giá trị trong cùng 1 hàng có các chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

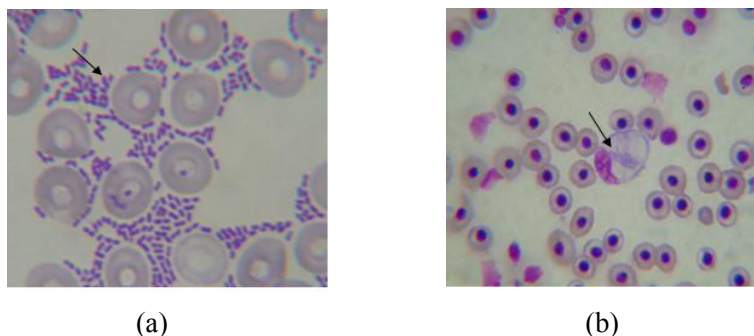


Hình 5: Sự biến đổi số lượng các loại bạch cầu ở cá khỏe và cá bệnh

Trong 31 mẫu cá bệnh thu được chỉ có khoảng 7 mẫu có lượng tổng bạch cầu tăng so với cá khỏe (chiếm 22,5%) nhưng tăng không đáng kể. Theo Hibiya (1982) máu rất dễ bị tổn thương bởi mầm bệnh trên cá và sự ảnh hưởng đó có thể thay đổi theo loài. Khi cá bệnh nặng, thận sưng đồng thời bị những do sung huyết một phần có thể do tích tụ nước trong thận mà không thể đào thải được do hệ thống tiểu cầu thận và ống thận bị hủy hoại. Kết quả thận bị hoại tử mất chức năng chủ yếu như là bài tiết chất thải trong quá trình trao đổi chất, quá trình trao đổi chất đặc biệt tăng mạnh khi cơ thể có sự viêm nhiễm do huy động các tổ chức nhằm đào thải các tác nhân gây bệnh như tăng cường sản sinh các loại bạch cầu và đại thực bào. Ngoài ra mô tạo máu nằm xen kẽ với các tế bào kẽ và các tế bào nội tiết của thận cũng bị hủy hoại làm cho máu trong cơ thể bị giảm sút. Tỳ tạng bị hoại tử dẫn đến mất khả năng tạo hồng cầu và phá hủy hồng cầu già cũng như không thể sản xuất các tế bào lympho và bạch cầu, mô tạo máu bị phá hủy làm mất chức năng cung cấp máu cho cơ thể (Nguyễn Quốc Thịnh, 2002). Đây chính là nguyên nhân làm cho số lượng hồng cầu và tổng bạch cầu đều giảm. Theo nghiên cứu của Ranzani-Paiva (2004), số lượng tiểu cầu cũng giảm nhanh khi có sự xuất hiện của vi khuẩn trong các tổ chức.

Ngoài ra cá cũng nhạy cảm với sự tác động do môi trường gây ra như các loại chất độc, chất thải công nghiệp, thuốc trừ sâu và các tác nhân khác. Trong máu và dịch gian bào, vi khuẩn gặp phải một hàng rào rất quan trọng trong cơ chế bảo vệ không đặc hiệu đó là các tế bào thực bào gồm có bạch cầu trung tính và các đại thực bào (Vũ Triệu An, 2003), do đó khi bị vi khuẩn tấn công, hệ miễn dịch không đặc hiệu của cá hoạt động làm cho số lượng các tế bào này tăng nhanh chóng. Ngoài ra, Omeregic (1998) cũng đã nhấn mạnh vai trò của thông số tế bào máu trong việc đánh giá tình trạng sức khỏe của cá, sự thay đổi của những thông số này sẽ biểu thị cho những biến đổi bất thường trên cá trước khi dẫn đến biểu hiện bên ngoài (trích dẫn bởi Gabriel *et al.*, 2004).

Bên cạnh sự thay đổi về số lượng bạch cầu, trên những lame nhuộm mẫu máu của cá bệnh còn xuất hiện những vùng tập trung rất nhiều vi khuẩn (hình 6). Tại những vị trí tập trung nhiều vi khuẩn các tế bào máu thường bắt màu không tốt và khó phân loại được. Đồng thời còn có sự xuất hiện của những đại thực bào chứa vi khuẩn. Myazaki & Plumb (1985) (trích dẫn bởi Inglis *et al.*, 1994) và Crumlish *et al.* (2000) cũng có báo cáo về sự hiện diện của vi khuẩn trong đại thực bào. Đây chính là phản ứng miễn dịch bảo vệ cơ thể của cá khi có mầm bệnh xâm nhập. Khả năng thực bào của đại thực bào lớn hơn rất nhiều so với bạch cầu trung tính, mỗi đại thực bào có khả năng thực bào 100 vi khuẩn, hồng cầu già, bạch cầu đã chết, ký sinh trùng và mô hoại tử (Trần Liên Minh, 2004, trích dẫn bởi Phạm Thanh Hương, 2006). Tuy nhiên, khi số lượng vi khuẩn tồn tại trong cơ thể quá lớn, hệ miễn dịch của cá sẽ bị tổn thương làm cá không thể chống chịu được với mầm bệnh (Crumlish *et al.*, 2000) đồng thời khả năng thực bào cũng sẽ giảm khi độc lực của vi khuẩn càng cao (Vũ Triệu An, 2003), kết quả dẫn đến sự nhiễm trùng máu, làm giảm sức đề kháng của cơ thể và gây chết cho cá.



Hình 6: (a) Vi khuẩn trong máu cá; (b) Đại thực bào chứa vi khuẩn

3.5 Khả năng diệt khuẩn của huyết thanh

Chọn ngẫu nhiên 4 mẫu huyết thanh của cá khỏe và 4 mẫu huyết thanh của cá bệnh để tiến hành đo khả năng diệt khuẩn của huyết thanh với 3 chủng vi khuẩn A1, S2, T4. Bố trí các mẫu vào đĩa 96 giếng.

Bảng 2: Phần trăm vi khuẩn sống sót sau khi tương tác với huyết thanh

Chủng	K ₁	K ₂	K ₃	K ₄	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄
A1	77,8	538,4	848,5	454,5	1123,2	408,1	160,6	191,9
S2	83,0	376,3	578,5	268,1	765,2	237,8	14,1	16,3
T4	513,6	802,3	1046,3	778,0	546,9	697,2	334,5	360,5

K₁: huyết thanh cá khỏe 1 B₁: huyết thanh cá bệnh 1 A1, S2, T4: Tên các chủng vi khuẩn

K₂: huyết thanh cá khỏe 2 B₂: huyết thanh cá bệnh 2

K₃: huyết thanh cá khỏe 3 B₃: huyết thanh cá bệnh 3

K₄: huyết thanh cá khỏe 4 B₄: huyết thanh cá bệnh 4

Kết quả có 77,8% vi khuẩn thuộc chủng A1 còn sống sót sau khi tương tác với huyết thanh của cá khỏe 1 (K₁), 83% vi khuẩn thuộc chủng S2 sống sót sau khi tương tác với huyết thanh cá khỏe (K₁) 14,1% vi khuẩn thuộc chủng S2 còn sống sót sau khi tương tác với huyết thanh của cá bệnh 3 (B₃) và 16,3% vi khuẩn thuộc chủng S2 còn sống sót sau khi tương tác với huyết thanh của cá bệnh 4 (B₄), và ở

các giếng còn lại vi khuẩn đều phát triển quá mức. Điều này có thể do huyết thanh ở các giếng đó đã hoạt động không mạnh trong việc tiêu diệt vi khuẩn vì huyết thanh đã được trữ khá lâu trong tủ -80°C, đồng thời độc lực của vi khuẩn lại cao. Kết quả diệt khuẩn của huyết thanh cá khỏe 1, cá bệnh 3 và cá bệnh 4 lần lượt đối với các chủng A1 và S2 cho thấy khả năng diệt khuẩn của cá bệnh cao hơn cá khỏe.

4 KẾT LUẬN

Phân lập được 24 dòng vi khuẩn từ thận của cá tra bị gan thận mủ trong đó có 23 dòng định danh là *E. ictaluri*. Có sự thay đổi rõ rệt về số lượng các tế bào máu giữa cá tra khỏe và cá tra bị mủ gan. Đặc biệt còn ghi nhận được sự xuất hiện của hồng cầu đa nhân và hồng cầu không nhân. Ngoài ra, sự sụt giảm của tổng bạch cầu ở cá bệnh cũng là một dấu hiệu đáng lưu ý, trong đó tế bào lympho của cá bệnh giảm 3,15 lần so với cá khỏe. Tuy tế bào bạch cầu trung tính và bạch cầu đơn nhân ở cá bệnh lại tăng lên có ý nghĩa. Sự thay đổi này biểu thị cho phản ứng bảo vệ không đặc hiệu của cá khi bị mầm bệnh tấn công. Thông qua phân trầm lắng sốt của vi khuẩn sau khi cho tương tác với huyết thanh nhận thấy huyết thanh của cá bệnh có khả năng diệt khuẩn cao hơn cá khỏe.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Baxa D. V., J. M. Groff, A. Wishkovsky, R.P. Hedrick, 1990. Susceptibility of experimental infection with *Edwardsiella ictaluri*.
- Benli, A. C. K. and H. Y. Yildiz, 2004. Blood parameters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) spontaneously infected with *Edwardsiella tarda*. Short communication. Aquaculture Research. 1388-1390.
- Chinabut, S., C. Limsuwan, P. Kitsawat, 1991. Histology of The Walking Catfish *Clarias Batrachus*. 96pp.
- Crumlish M, T.T. Dung, T. Somsiri, V. Inglis and K. D. Thompson, 2000. Development of a sampling method for the isolation of head kidney macrophages from fish at the pond-side. Short communication. Journal of fish diseases. Vol 23, 289-293.
- Gabriel U.U, G.N.O. Ezeri and O.O. Opabunmi, 2004. Influence of sex, source, health status and acclimation on the haematology of *Clarias gariepinus* (Burch, 1822). African Journal of Biotechnology Vol. 3 (9), 463-467 pp.
- Hawke, J.P, R.M Durborow, R.L Thune and A.C Camus, 1998. ESC – Enteric Septicemia of Catfish. SRAC Publication No.477.
- Hibiya, T. 1982. An atlas of fish histology. Normal and pathological features. Page 64-71.
- Hrubec T. C., J. L. Cardinale and S. A. Smith, 2000. Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured Tilapia (*Oreochromis hybrid*). Vet Clin Pathol. 29:7-12
- Inglis V, R. J. Roberts and N. R. Bromage, 1994. Bacterial Diseases of Fish. 312pp.
- Natt M. P., Herrick C. A., 1952. A new blood diluent for counting erythrocytes and leukocytes of the chicken. Poult Sci. 31:735-738.
- Nguyễn Quốc Thịnh, 2002. Bước đầu nghiên cứu mô bệnh học bệnh đốm trắng trong nội tạng cá tra (*Pangasius hypophthalmus*). Luận văn tốt nghiệp. Viện Khoa Học Thủy Sản. Khoa Nông Nghiệp. 40 trang.
- Phạm Thanh Hương, 2006. Xác định một số yếu tố huyết học trên cá tra bệnh vàng da ở tỉnh Cần Thơ. Luận văn tốt nghiệp. Khoa Thủy sản. 54 trang.

- Phan Thị Hùng, 2004. Nghiên cứu cấu trúc mô và sự biến động số lượng tế bào hồng cầu trên cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) bị bệnh vàng da. Luận văn tốt nghiệp. Khoa Thủy Sản. 26 trang.
- Phuong N. D., M. Effendy, A. Wahid và A. Munafi, 2007. Non-specific immune responses towards ascorbic acid supplementation in hybrid catfish (*Clarias gariepinus* x *C. Macrocephalus*) feed. Master thesis: Universiti Malaysia Terengganu, Malaysia.
- Plumb, J. A. and S. Vinhnantharai, 1989. Aquatic animal health. Page 51-56.
- Ranzani-Paiva, M. J. T, C. M. Ishikawa, A. C.Eiras and V. R. da Silveira, 2004. Effects of an experimental challenge with *Mycobacterium marinum* on the blood parameters of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). Brazilian archives of biology and technology. An international journal. ISSN 1516-8913. Printed in Brazil. Vol.47, n. 6 : pp. 945-953.
- Từ Thanh Dung, M. Crumlish, Nguyễn Thị Như Ngọc, Nguyễn Quốc Thịnh và Đặng Thụy Mai Thy, 2004. Xác định vi khuẩn gây bệnh trắng gan trên cá tra. Tạp chí khoa học Đại Học Cần Thơ chuyên ngành Thủy Sản. 137-143.
- Vũ Triệu An, 2003. Miễn Dịch Học. Nhà xuất bản y học Hà Nội, trường Đại Học Y Hà Nội. Bộ môn miễn dịch và sinh lý bệnh. 376 trang.