

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM MÔ BỆNH HỌC CỦA CÁ CHẼM (*LATES CALCARIFER*) CẢM NHIỄM *STREPTOCOCCUS INIAE* TRONG ĐIỀU KIỆN THỰC NGHIỆM

Trương Thị Hoa¹, Đặng Thị Hoàng Oanh²

¹Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế; ²Trường Đại học Cần Thơ.

Liên hệ email: truongthihoa@huaf.edu.vn

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định một số đặc điểm mô bệnh học của Cá Chẽm (*Lates calcarifer*) cảm nhiễm *Streptococcus iniae* trong điều kiện thực nghiệm. Cá Chẽm thí nghiệm ở giai đoạn giống, có khối lượng trung bình 7,2 g/con, số lượng cá thí nghiệm là 60 con. Thí nghiệm được bố trí với 2 nghiệm thức và 3 lần lặp lại. Nghiệm thức thí nghiệm với vi khuẩn *Streptococcus iniae* được tiêm 0,1 mL dịch huyền phù vi khuẩn với mật độ là $1,9 \times 10^5$ CFU/mL. Theo dõi thí nghiệm và xác định dấu hiệu bệnh lý trong 14 ngày. Kết quả cảm nhiễm vi khuẩn *Streptococcus iniae* trên Cá Chẽm cho thấy sau 02 ngày cảm nhiễm cá thể hiện các dấu hiệu bệnh lý như giảm ăn, bơi lờ đờ trên mặt nước, xuất huyết trên da và gốc vây, mắt lồi và xuất huyết. Vi khuẩn *Streptococcus iniae* đã được phân lập lại trên các mẫu cá bị bệnh. Quan sát kính phết mẫu tươi mô lách, thận nhuộm Wright và Giemsa phát hiện nhiều cầu khuẩn Gram dương. Kết quả nghiên cứu mô học Cá Chẽm cảm nhiễm *Streptococcus iniae* trong điều kiện thực nghiệm cho thấy vi khuẩn *Streptococcus iniae* gây biến đổi cấu trúc mô của gan, thận, lách và não cá. Gan bị xuất huyết và hoại tử, melanin hóa và không bào hóa trên gan; thận bị hoại tử, mất cấu trúc, melanin hóa và gia tăng trung tâm đại thực bào sắc tố trong thận; mô lách bị biến đổi cấu trúc, trung tâm đại thực bào sắc tố tập trung nhiều trên lách; mô não bị hoại tử, màng não dày lên và xuất huyết.

Từ khóa: Bệnh xuất huyết, Cá Chẽm, mô bệnh học, *Streptococcus iniae*.

Nhận bài: 29/08/2018

Hoàn thành phản biện: 18/09/2018

Chấp nhận bài: 25/09/2018

1. MỞ ĐẦU

Cá Chẽm (*Lates calcarifer* Bloch, 1790) là loài có giá trị kinh tế quan trọng ở vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới thuộc châu Á - Thái Bình Dương (Buendia, 1997). Tại Việt Nam, nghề nuôi Cá Chẽm thương phẩm phát triển mạnh ở một số tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long (Lý Văn Khánh và cs., 2016). Riêng tại tỉnh Thừa Thiên Huế, Cá Chẽm được nuôi khá phổ biến và mang lại hiệu quả kinh tế cao (Tôn Thất Chất và cs., 2010; Trần Thị Cẩm Tú và cs., 2017).

Bệnh do *Streptococcus iniae* được báo cáo lần đầu tiên vào năm 1999 tại Úc (Bromage và cs., 1999) và được báo cáo xuất hiện đầu tiên trên Cá Chẽm nuôi tại Khánh Hòa, Việt Nam vào năm 2013 (Tran Vi Hich và cs., 2013). Bệnh do *S. iniae* gây trên Cá Chẽm làm màu sắc thân cá chuyển sang tối, mắt cá bị lồi, mờ đục, những trường hợp nặng, cầu mắt của cá bị hủy hoại (Bromage và cs., 1999; Agnew và Barnes, 2007).

Phương pháp chẩn đoán bệnh do vi khuẩn gây ra ở cá theo nguyên tắc khi bệnh bùng nổ, cần nắm rõ lịch sử xuất hiện bệnh, nhận biết các dấu hiệu bệnh lý, dấu hiệu đặc trưng của bệnh và sự hiện diện của vi khuẩn gây bệnh. Vi khuẩn *S. iniae* thường được phân lập từ gan, lách, thận và não của cá bệnh (Rahmatullah và cs., 2017). Phương pháp mô bệnh học được thực hiện nhằm quan sát vi khuẩn trong các mẫu mô và biến đổi mô bệnh do *S. iniae* gây ra trên cá (Dewi và cs., 2015).

Do đó, nghiên cứu đặc điểm mô bệnh học của Cá Chêm cảm nhiễm *S. iniae* trong điều kiện thực nghiệm nhằm xác định những biến đổi mô bệnh của gan, thận, lách và não cá góp phần chẩn đoán bệnh do *S. iniae* gây ra trên Cá Chêm, làm cơ sở nghiên cứu các biện pháp phòng trị bệnh do *S. iniae* gây ra trên Cá chêm.

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cá Chêm thí nghiệm ở giai đoạn giống, có chiều dài trung bình là 6,6 cm/con, khối lượng trung bình 7,2 g/con được cung cấp từ trại sản xuất giống Vân Nam, xã Phú Thuận, huyện Phú Vang, tỉnh Thừa Thiên Huế. Số lượng cá thí nghiệm là 60 con.

Chủng vi khuẩn *Streptococcus iniae* HTA1 được cung cấp từ phòng thí nghiệm Bệnh thủy sản, khoa Thủy sản, trường Đại học Nông Lâm Huế, đây là chủng vi khuẩn được phân lập từ Cá Chêm bệnh xuất huyết (Trương Thị Hoa và cs., 2018)

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chuẩn bị vi khuẩn thí nghiệm

Lấy khuẩn lạc *S. iniae* trên môi trường Tryptone Soy Agar (TSA, Merck, Đức) có bổ sung thêm 1,5% NaCl cho vào ống falcon (50 mL) có chứa 20 mL môi trường Tryptone Soya Broth (TSB, Merck, Đức) bổ sung thêm 1,5% NaCl, nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C trong 24 giờ. Tiến hành ly tâm 4.000 vòng/phút trong 10 phút, loại bỏ phần dung dịch phía trên, sau đó bổ sung nước muối sinh lý tạo dung dịch huyền phù. Lấy 1 mL huyền phù vi khuẩn xác định mật độ quang (OD - Optical Density) bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 600 nm. Pha loãng cho đến giá trị OD của huyền phù đo được bằng 1. Lấy dịch huyền phù này tiến hành pha loãng từ 10^{-2} đến 10^{-4} và xác định mật độ vi khuẩn theo phương pháp đếm khuẩn lạc (Miles và cs., 1938). Mật độ vi khuẩn *S. iniae* để cảm nhiễm trên Cá Chêm là $1,9 \times 10^5$ CFU/mL - đây là nồng độ gây chết 50% (LD₅₀ của chủng vi khuẩn *S. iniae* HTA1 trên Cá Chêm giống). (Trương Thị Hoa và cs., 2018).

2.2.2. Bố trí thí nghiệm

Thí nghiệm được bố trí trong hệ thống bể nhựa có thể tích 80L chứa 50L nước biển sạch có sục khí. Thí nghiệm được bố trí với 2 nghiệm thức và 3 lần lặp lại, mỗi nghiệm thức bố trí 3 bể với 10 Cá Chêm giống/bể. Nghiệm thức thí nghiệm với vi khuẩn *S. iniae* được tiêm 0,1 mL dịch huyền phù vi khuẩn với mật độ là $1,9 \times 10^5$ CFU/mL vào xoang bụng cá nghiệm thức đối chứng tiêm 0,1 mL nước muối sinh lý.

Thí nghiệm được tiến hành trong 14 ngày, kiểm tra cá 4 lần/ngày để theo dõi tình trạng sức khỏe của cá và thu những cá có dấu hiệu bệnh lý để phân lập lại vi khuẩn và nghiên cứu mô bệnh học. Sau khi kết thúc thí nghiệm thu 50% số cá còn sống để phân lập lại vi khuẩn và phân tích mô bệnh học.

2.2.3. Phương pháp phân lập lại vi khuẩn

Theo dõi thí nghiệm và thu mẫu cá bị bệnh xuất, lấy mẫu ở gan, thận, lách và não nuôi cấy trên môi trường TSA bổ sung 1,5% NaCl, sau 24 – 48 giờ ở 28°C. Các khuẩn lạc rời, chiếm ưu thế và nằm trên đường cấy được chuyển sang môi trường TSA bổ sung 1,5% NaCl để thu chủng vi khuẩn thuần. Các chủng thuần được nuôi cấy trên môi trường TSA bổ sung 1,5% NaCl, sau 24 - 48 giờ ở 28°C, tiến hành quan sát hình dạng, màu sắc và kích thước của khuẩn lạc. Định danh các chủng vi khuẩn phân lập được bằng bộ kit API 20 Strep (BioMerieux, Pháp).

2.2.4. Phương pháp mô học

2.2.4.1. Phương pháp tiêu bản phết kính mẫu tươi

Mẫu mô lách, thận của cá được phết kính và nhuộm Wright và Giemsa theo phương pháp của Humason, 1979 (trích dẫn bởi Rowley, 1990). Kính phết mô lách, thận được thực hiện bằng cách lấy một ít mẫu lách, thận quét nhẹ và đều lên lame, để khô và cố định bằng cách ngâm trong dung dịch methanol trong 2 phút. Để mẫu khô tự nhiên và tiến hành nhuộm với thuốc nhuộm Wright và Giemsa. Các bước nhuộm như sau: nhuộm với dung dịch Wright trong 5 phút; ngâm trong dung dịch pH 6,2-6,8 trong 6 phút; nhuộm với dung dịch Giemsa trong 30 phút; ngâm trong dung dịch pH 6,2 trong 30 phút; rửa sạch lại bằng nước cất, để mẫu khô tự nhiên. Quan sát tiêu bản bằng kính hiển vi ở vật kính 100X.

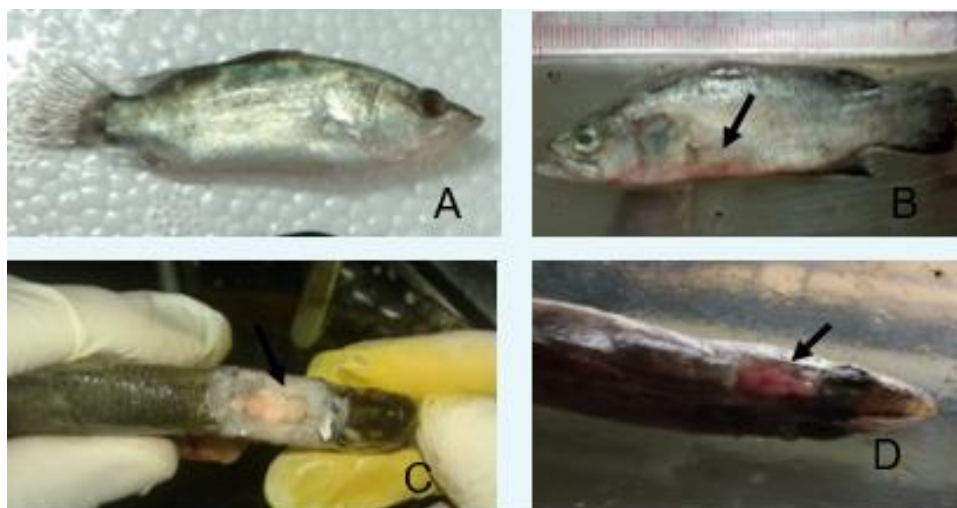
2.2.4.2. Phương pháp mô học truyền thống

Mẫu mô gan, lách, thận, não cá bệnh và cá khỏe được cố định trong dung dịch formalin 4%. Sau khi bảo quản mẫu sẽ được chuyển đến Trung tâm Ung Bướu - Bệnh viện Trung ương Huế để làm tiêu bản mô học truyền thống theo phương pháp của Mohamed (2009).

Nhuộm mẫu bằng Hematoxylin và Eosin (H&E) và gắn mẫu bằng nhựa Canada. Tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi và chụp hình tiêu bản đặc trưng. Quan sát tiêu bản và nhận dạng bệnh tích dưới kính hiển vi dựa vào một số thay đổi cấu trúc của mô, tế bào.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

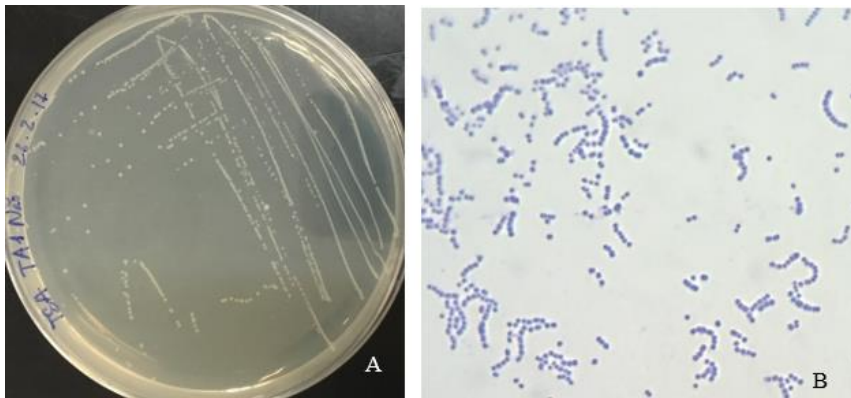
3.1. Kết quả cảm nhiễm vi khuẩn *S. iniae* trên Cá Chẽm



Hình 1. Kết quả cảm nhiễm vi khuẩn *S. iniae* trên Cá Chẽm (A- cá khỏe trước thí nghiệm; B- cá bị xuất huyết; C- não cá khỏe; D- não cá bị xuất huyết)

Kết quả cảm nhiễm vi khuẩn *S. iniae* trên Cá Chẽm cho thấy sau 02 ngày cá giảm ăn, bơi lơ đờ trên mặt nước, màu sắc da tối, xuất huyết trên thân và vây; mắt cá bị lồi, mờ đục và xuất huyết; xoang bụng có chứa dịch nhầy, nội tạng bị xuất huyết, thận sưng và não xuất huyết (Hình 1). Kết quả này tương tự với mô tả bệnh do *S. iniae* gây ra trên Cá Chẽm (Bromage và cs., 1999; Agnew và Barnes, 2007; Tran Vi Hich và cs., 2013). Theo Rahmatullah và cs. (2017), Cá rô phi bị bệnh xuất huyết do *S. iniae* cũng có các dấu hiệu như trên. Dấu hiệu xuất huyết và mắt lồi đục cũng được xem là dấu hiệu bệnh lý đặc trưng trên Cá rô phi nuôi tại Đồng bằng sông Cửu Long bị bệnh xuất huyết do *S. iniae* (Nguyễn Ngọc Phước và cs., 2015).

3.2. Kết quả phân lập lại vi khuẩn *S. iniae* trên Cá Chém



Hình 2. Hình dạng khuẩn lạc và vi khuẩn *S. iniae* (A- hình dạng khuẩn lạc của vi khuẩn *S. iniae* sau 24 giờ nuôi cấy trên môi trường TSA bổ sung 1,5% NaCl; A- hình dạng vi khuẩn *S. iniae* sau khi nhuộm Gram (100X)).

Quan sát dấu hiệu bệnh lý bên ngoài và bên trong của mẫu cá bị bệnh và tái phân lập vi khuẩn từ gan, thận, lách và não cá. Kết quả thu mẫu, phân lập và nuôi cấy vi khuẩn cho thấy trên môi trường TSA bổ sung 1,5% NaCl, sau 24 đến 48 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C, vi khuẩn phát triển thành những khuẩn lạc nhỏ có đường kính nhỏ hơn 1 mm, màu trắng đục, rìa đều, không sinh sắc tố. Kết quả nhuộm Gram xác định vi khuẩn Gram (+), có dạng hình cầu hoặc liên cầu (Hình 2).

Kết quả nghiên cứu các đặc điểm sinh hóa (Bảng 1) cho thấy các chủng vi khuẩn phân lập được đều không di động, phản ứng catalase và oxidase âm tính, phản ứng lysin decarboxylase âm tính; phản ứng dương tính với bile esculin, huyết tương khô đông khô; các chủng vi khuẩn này có khả năng thủy phân tinh bột, không phát triển trên môi trường TSB có bổ sung 6,5% NaCl và môi trường TSA không bổ sung NaCl. Trên môi trường BA, khuẩn lạc của vi khuẩn tạo vòng dung huyết β , vi khuẩn gây tan huyết hoàn toàn, làm xuất hiện vùng sáng trắng trên đường cấy. Kết quả định danh bằng kit API 20 Strep cho thấy các chủng này thủy phân esculin và không thủy phân hippurate, cho phản ứng pyrrolidonyl arylamidase, β -Glucuronidase, alkaline phosphatase, arginine dihydrolase và leucine arylamidase dương tính, phản ứng Voges-Proskauer, α -Galactosidase, β -Galactosidase âm tính (Hình 3; Bảng 1).



Hình 3. Kết quả định danh vi khuẩn *S. iniae* bằng kit API 20 Strep.

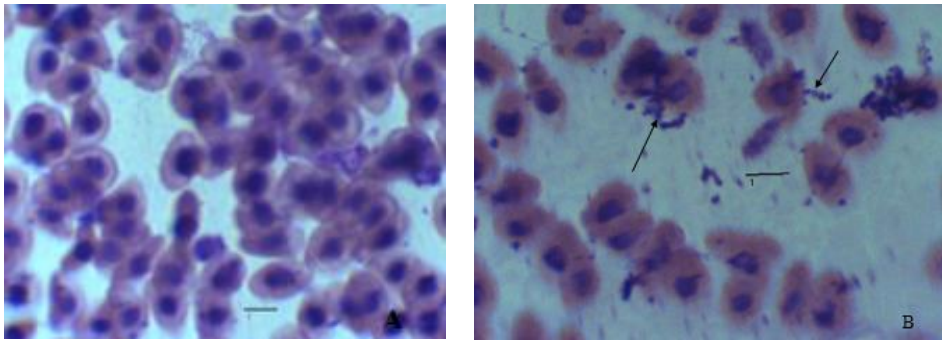
Bảng 1. Một số đặc điểm hình thái và sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập được từ Cá Chêm và so sánh với chủng *S. iniae* theo Bromage và cs. (1999) và chủng *S. iniae* của Rahmatullah và cs. (2017)

Chỉ tiêu	Tỷ lệ (%) chủng vi khuẩn phân lập (n = 10)		<i>S. iniae</i> (Bromage và cs., 1999)	<i>S. iniae</i> (Rahmatullah và cs., 2017)
	Dương tính	Âm tính		
Hình dạng vi khuẩn	Hình cầu		Hình cầu	Hình cầu
Gram	100		+	+
Oxidase		100	-	-
Catalase		100	-	-
Di động		100	-	-
Gây tan huyết dạng β	100		β	β
Huyết tương thô đông khô	100		ND	ND
Lysin decarboxylase		100	ND	ND
Bile esculin	100		ND	ND
Phát triển trong TSB có bổ sung 6,5% NaCl		100	-	-
Phát triển trong TSA 0% NaCl		100	-	-
Thủy phân tinh bột	100		+	+
Phản ứng Voges-Proskauer		100	-	-
Thủy phân Hippurate		100	-	-
Thủy phân Esculin	100		+	+
Pyrrolidonyl arylamidase	100		+	+
Sinh α -Galactosidase		100	-	+
Sinh β -Glucuronidase	100		+	+
Sinh β -Galactosidase		100	-	-
Alkaline phosphatase	100		+	+
Leucine arylamidase	100		+	+
Arginine dihydrolase	100		+	+
Sử dụng đường				
Ribose	90	10	+	+
Arabinose	20	80	-	-
Mannitol	100	-	+	+
Sorbitol	-	100	-	-
Lactose	10	90	-	-
Trehalose	80	20	+	+
Inulin	-	100	ND	-
Raffinose	-	100	-	-
Amygdalin	100	-	ND	+
Glycogen	90	10	ND	+

Ghi chú: "+": phản ứng dương tính; "-": phản ứng âm tính; ND: không thực hiện

3.3. Kết quả quan sát cấu trúc mô bằng phết kính tiêu bản tươi

Khi vi khuẩn gây bệnh xâm nhập vào cơ thể cá sẽ làm biến đổi các cấu trúc về mô của các cơ quan như gan, thận, lách và não cá. Do đó việc phân tích biến đổi mô bệnh là phương pháp chẩn đoán hiệu quả, góp phần kiểm soát mầm bệnh (Dilok, 2012). Kết quả quan sát tiêu bản phết kính mẫu tươi cho thấy có sự tồn tại của vi khuẩn hình cầu trong các mẫu mô Cá Chêm bị bệnh xuất huyết (Hình 4).



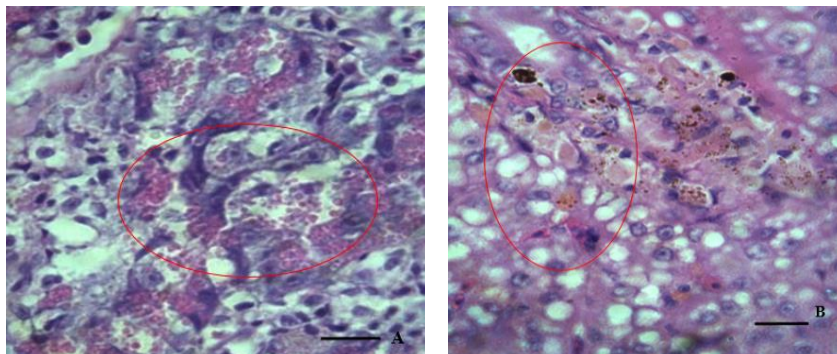
Hình 4. Mẫu mô lách trên tiêu bản phết kính mẫu tươi (A-mẫu mô cá khỏe; B-mẫu mô cá bệnh, vi khuẩn tồn tại trên các mẫu mô (mũi tên)), (thước đo 5 µm)

3.4. Biến đổi cấu trúc mô học ở các cơ quan

3.4.1. Biến đổi mô ở gan

Kết quả quan sát mô gan của Cá Chêm cảm nhiễm *S.iniae* cho thấy mô gan bị biến đổi cấu trúc ở nhiều vùng khác nhau. Gan bị xuất huyết và hoại tử, tụy bị biến đổi và xuất huyết. Tĩnh mạch gan bị giãn nở và hình thành huyết khối. Có hiện tượng melanin hóa và không bào hóa trên gan (Hình 5). Ngoài ra, trong mạch máu có hiện tượng hoại tử và tan huyết. Kết quả này tương tự như mô tả đặc điểm mô bệnh học ở gan Cá rô Phi nhiễm *S. iniae* (Hossain và cs., 2014) và gan cá hồng mỹ cảm nhiễm *S. iniae* (Shen và cs., 2005).

Theo Kotob và cs. (2016), gan bị hoại tử có thể do vi rút, nấm, vi khuẩn và ký sinh trùng gây ra rối loạn quá trình vận chuyển máu, ảnh hưởng đến việc cung cấp máu cho các mô khác và những rối loạn này có thể gây tổn thương tế bào. Theo Novoa và cs. (2010), gan có hiện tượng xuất huyết là do lượng hồng cầu thoát ra khỏi mạch máu, hồng cầu tập trung nhiều ở những vùng gan bị hoại tử nhằm ngăn chặn tác nhân gây hoại tử và phục hồi mô. Việc cảm nhiễm vi khuẩn gây ra hiện tượng tắc nghẽn và hoại tử, ảnh hưởng đến chức năng của gan làm giảm tốc độ tăng trưởng của cá và có thể làm cho cá chết (Iwanowicz, 2011)



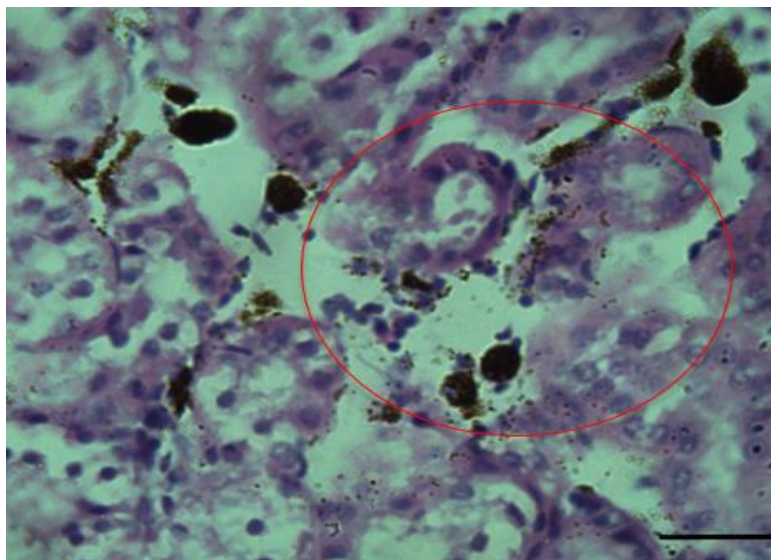
Hình 5. Mô bệnh gan Cá Chêm cảm nhiễm *S. iniae* (A - Gan bị xuất huyết và hoại tử; B - Melanin hóa và không bào hóa trên gan), (nhuộm H&E; thước đo 10 µm).

3.4.2. Biến đổi mô thận

Kết quả quan sát mô thận Cá Chêm cảm nhiễm *S.iniae* cho thấy có hiện tượng hoại tử tế bào biểu mô ống thận, quản cầu thận kéo dài, ống thận hoại tử, biến đổi cấu trúc, melanin hóa, hình thành nang trong thận, lớp tế bào đệm dày lên, gia tăng trung tâm đại thực bào sắc tố trong thận (Hình 6). Những mô tả về biến đổi mô bệnh Cá Chêm cảm nhiễm *S. iniae* tương

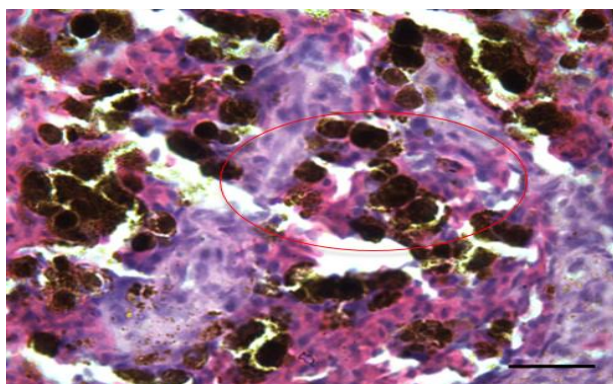
tự như những ghi nhận về biến đổi mô bệnh trên cá. Thận Cá rô Phi cảm nhiễm *S. iniae* bị hoại tử và gia tăng các trung tâm đại thực bào sắc tố (Chen và cs., 2007).

Khi thận bị tổn thương, chức năng điều hòa muối và nước trong cơ thể bị ảnh hưởng. Trong khi đó, quá trình trao đổi chất lại tăng mạnh do cơ thể huy động các tế bào hồng cầu, bạch cầu, lympho đến vùng bị biến đổi nhằm cung cấp oxy cho việc tái tạo lại cấu trúc và đào thải các tác nhân gây bệnh làm rối loạn chức năng sinh lý của cá (Sharon và Dina, 2012).



Hình 6. Biến đổi mô thận Cá Chêm cảm nhiễm *S. iniae* (ống thận hoại tử, mất cấu trúc, melanin hóa, gia tăng trung tâm đại thực bào sắc tố trong thận); (nhuộm H&E; thước đo 10 μm).

3.4.3. Biến đổi mô lách



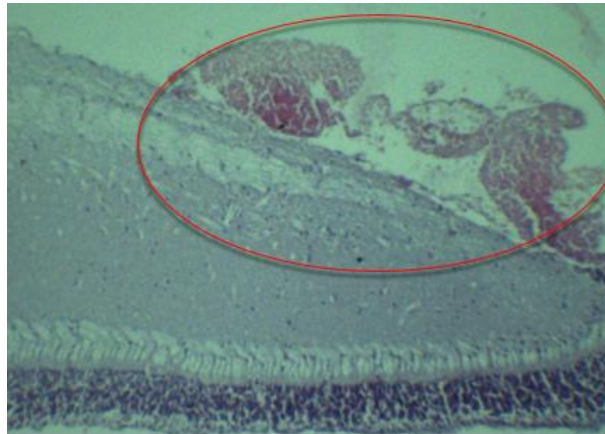
Hình 7. Biến đổi mô lách Cá Chêm cảm nhiễm *S. iniae* (Mô lách bị biến đổi cấu trúc, trung tâm đại thực bào sắc tố tập trung nhiều trên mô lách); (nhuộm H&E; thước đo 10 μm).

Kết quả phân tích mô học cho thấy lách cá bị bệnh có nhiều vùng bị hoại tử, có hiện tượng xung huyết gây tắc nghẽn mạch máu, hình thành nhiều trung tâm đại thực bào sắc tố (Hình 7). Trung tâm đại thực bào sắc tố là một tập hợp đại thực bào có chứa các hạt sắc tố và có liên quan mật thiết đến các nhánh của động mạch và tĩnh mạch của lách, vi khuẩn bị giữ lại ở các tế bào dạng bầu dục, sau đó được chuyển đến trung tâm đại thực bào sắc tố bởi các đại thực bào (Morris và cs., 2006). Theo Chinabut và cs., (1991) hiện tượng xung huyết kéo dài dẫn đến mất cấu trúc và hoại tử. Khi bị xuất huyết, dẫn đến những vùng hoại tử xuất hiện trên

diện rộng, làm cho lách mất chức năng tạo bạch cầu, chống lại tác nhân gây bệnh và mất khả năng tiêu hủy hồng cầu già cũng như tái tạo hồng cầu mới cung cấp cho cơ thể. Hiện tượng này kéo dài sẽ làm cơ thể cá bị thiếu máu, nặng hơn là tạo nên những vùng hoại tử làm mất cấu trúc và chức năng, quá trình này kéo dài cùng với độc tố do vi khuẩn tiết ra gây thoái hóa tế bào mô lách.

3.4.4. Biến đổi mô não

Mô não của Cá Chêm cảm nhiễm *S. iniae* bị hoại tử, xuất huyết, màng não dày lên và bong tróc (Hình 8). Dewi và cs. (2015), nghiên cứu mô não nhiễm *S. iniae* trên Cá rô Phi cũng ghi nhận những biến đổi tương tự. Các biểu hiện bệnh lý trong não cá bị bệnh tương quan với việc bơi bất thường của cá do sự hiện diện của vi khuẩn gây viêm màng não và gây ra hiện tượng bơi bất thường của cá (Filho và cs., 2009).



Hình 8. Biến đổi mô não Cá Chêm cảm nhiễm *S. iniae* (màng não dày lên, xuất huyết và bong tróc (100X)); (nhuộm H&E).

4. KẾT LUẬN

Cá Chêm cảm nhiễm *S. iniae* có dấu hiệu bệnh lý bên ngoài là xuất huyết trên da, vây, mắt lồi và xuất huyết, gan, thận sưng và xuất huyết. Vi khuẩn *S. iniae* gây biến đổi cấu trúc mô của gan, thận, lách và não cá. Gan bị xuất huyết và hoại tử, melanin hóa và không bào hóa trên gan; thận bị hoại tử, mất cấu trúc, melanin hóa và gia tăng trung tâm đại thực bào sắc tố trong thận; mô lách bị biến đổi cấu trúc, trung tâm đại thực bào sắc tố tập trung nhiều trên lách; mô não bị hoại tử, màng não dày lên và xuất huyết.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả trân trọng cảm ơn Trường Đại học Nông Lâm Huế và dự án VLIR - Network – Việt Nam đã tài trợ cho nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

Tôn Thất Chất, Lê Tất Uyên Châu, Nguyễn Thị Thúy Hằng và Nguyễn Tý. (2010). Kết quả điều tra tình hình nuôi cá vược ở vùng đầm phá tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Nghiên cứu và Phát triển*, 4(81), 105-110.

Lý Văn Khánh, Lê Việt Hà và Trần Ngọc Hải. (2016). Đánh giá tiềm năng phát triển mô hình nuôi Cá Chêm (*Latescalcarifer*) trong ao ở các tỉnh ven biển đồng bằng sông cửu long. *Tạp chí khoa học trường Đại học An Giang*, 11(3), 60 – 71.

Trương Thị Hoa, Nguyễn Ngọc Phước và Đặng Thị Hoàng Oanh. (2018). Nghiên cứu đặc điểm bệnh

học của vi khuẩn *Streptococcus iniae* trên Cá Chêm (*Lates calcarifer*). *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 54(3B), 156-163.

Nguyễn Ngọc Phước, Lưu Thị Ngọc Hạnh, Nguyễn Thị Sao, Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Trương Thị Hoa và Lê Văn Bảo Duy. (2015). *Streptococcus* sp. gây bệnh trên cá rô phi nuôi tại Đồng bằng sông Cửu Long, Việt Nam. *Tạp chí Khoa học Đại học Huế*, 104(05), 221-233.

Trần Thị Cẩm Tú, Nguyễn Thị Minh Hương và Nguyễn Hà Quỳnh Giao. (2017). Hiện trạng phát triển nuôi trồng thủy sản nước lợ ở xã Hải Dương, Hương Phong, Thị xã Hương Trà, tỉnh Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Khoa học và Giáo dục Trường Đại học Sư phạm Huế*, 3(43), 112-121.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

Agnew, W. and A.C. Barnes. (2007). *Streptococcus iniae*: an aquatic pathogen of global veterinary significance and a challenging candidate for reliable vaccination. *Veterinary Microbiology*, 122(1-2), 1-15.

Bromage, E.S., Thomas, A. & Owens, L. (1999). *Streptococcus iniae*, a bacterial infection in barramundi *Lates calcarifer*. *Diseases of Aquaculture Organisms*, 36(3), 177-181.

Buendia, R. (1997). Seabass grow-out and marketing: lessons from Australia, Malaysia and Thailand. *SEAFDEC Asian Aquaculture*, 19(4), 27-28.

Chinabut, S., C. Limsuwan and P. Kitsawat. (1991). Histology of The Walking Catfish *Clarias Batrachus*. *Aquatic Animal Health Research Institute*, 96pp.

Chen, C. Y., C. B. Chao and P. R. Bowser. (2007). Comparative histopathology of *Streptococcus iniae* and *Streptococcus agalactiae*-infected tilapia. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 27(1), 1-9.

Dilok, W. (2012). *Factor affecting experimental Streptococcus agalactiae infection in Tilapia Oreochromis niloticus*. Thesis of doctor philosophy. England: University of Stirling.

Dewi T. C., Kurniasih, S. Amanu and R. Widayati. (2015). Phylogeny and Histopathology of *Streptococcus iniae* from Indonesia. *Agricultural Science and Technology*, 5, 135-140.

Filho, C. I., E. E. Muller, L. G. P. Giordano and A. P. F. R. L. Bracarense. (2009). Histological findings of experimental *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*). *Brazilian Journal of Veterinary Pathology*, 2(1), 12-15.

Groman, D. B. (1982). Histology of the striped bass. *American Fisheries Society*, 116pp.

Hossain, M. M. M., A. Ehsan, M. A. Rahman, M. Haq and M.B.R. Chowdhury. (2014). Transmission and pathology of *Streptococcus iniae* in monosex Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in aquaculture of Bangladesh. *Journal of Fisheries*, 2(1), 90-99.

Iwanowicz, D. D. (2011). *Overview on the effects of parasites on fish health. Bridging America and Russia with shared perspectives on aquatic animal health*. In: Proceedings of the third bilateral conference between Russia and the United State, 3, 176-184.

Kotob, M. H., S. Menanteau-Ledouble, G. Kumar, M. Abdelzaher & M. El-Matbouli. (2016). The impact of co-infections on fish: a review. *Veterinary Research*, 47(1), 98.

Mohamed, F.A.S. (2009). Histopathological Studies on *Tilapia zillii* and *Solea vulgaris* from Lake Qarun, Egypt. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 1(1), 29-39.

Morris, J. M., E. Snyder-conn, J. S. Foott, R.A. Holt, M. J. Suedkamp, H. M. Lease, S. J. Clearwater and 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. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50(2), 256-263.

Miles, A., Misra, S. and Irwin, J., 1938. The estimation of the bactericidal power of the blood. *Journal of Hygiene*, 38(6), 732-749

Novoa, B., S. Mackenzie & A. Figueras. (2010). Inflammation and innate immune response against viral infections in marine fish. *Current Pharmaceutical Design*, 6(38), 4175-4184.

Rahmatullah, M., M. Ariff, M. Kahieshesfandiari, H. M. Daud, M. Zamri-Saad, M.Y. Sabri, M.N.A. Amal & M.Y. Ina-Salwany. (2017). Isolation and Pathogenicity of *Streptococcus iniae* in

- Cultured Red Hybrid Tilapia in Malaysia. *Journal of Aquatic Animal Health*, 29(4), 208-213
- Rowley, A. F. (1990). Collection, separation and identification of fish leucocytes. In: Techniques in Fish Immunology. 2nd Eds.: J.S. Stolen, 98 T.C. Fletcher, D.P. Anderson, B.S. Roberson, W.B. Van Muiswinkel, SOS Publication, 113-136.
- Schlenk D. and W. H. Benson. (2005). *Target organ toxicity in marine and freshwater teleosts: organs*. Taylor & Francis Group, 382pp.
- Shen, Z. H., D. Qian, W. J. Xiu, J. H. Gu and J. Z. Shao. (2005). Isolation, identification and pathogenicity of *Streptococcus iniae* isolated from red drum *Sciaenops ocellatus*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 29, 678-683.
- Tran Vi Hich, Vu Dang Ha Quyen, Nguyen Huu Dung and H. I. Wergeland. (2013). Experimental *Streptococcus iniae* infection in barramundi (*Lates calcarifer*) cultured in Vietnam. *International Journal of Aquatic Science*, 4(1), 3-12.

HISTOPATHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF BARRAMUNDI (*Lates calcarifer*) INFECTED WITH *Streptococcus iniae*

Truong Thi Hoa¹, Dang Thi Hoang Oanh²

¹Hue University – University of Agriculture and Forestry; ²Can Tho University

Contact email: truongthihoa@huaf.edu.vn

ABSTRACT

This study was carried out to identify the histopathological characteristics of barramundi (*Lates calcarifer*) infected *Streptococcus iniae*. Sixty fish (average weight 7.2 g) were set up with 2 treatments in triplicate. In treatments, fish were injected (i.p. - intraperitoneal injection) with 0.1 mL *Streptococcus iniae* at the dose of 1.9×10^5 CFU/mL/fish, in control treatment, fish were injected with 0.1 mL saline solution 0.87% NaCl. Experiment were done in 14 days. After 2 days, infected fish showed the clinical signs consisting of anorexia, haemorrhagic on the skin surface and fins, pop- and haemorrhagic-eyed. *Streptococcus iniae* was recovered and identified from all moribund or dead fish. Microscopic observation of fresh smear and stained with Wright and Giemsa of spleen, kidney from these specimens revealed small cocci, gram positive bacterial cells. Histopathological analysis of *Streptococcus iniae* infected barramundi revealed structural changed of tissues, haemorrhage and necrosis in liver, kidney, spleen and brain.

Key words: Barramundi, hemorrhagic disease, histopathology, *Streptococcus iniae*.

Received: 29th August 2018

Reviewed: 18th September 2018

Accepted: 25th September 2018