

THỬ NGHIỆM CÁC PHÁC ĐỒ ĐIỀU TRỊ BỆNH U NANG ĐƯỜNG RUỘT DO BÀO TỬ SỢI *Thelohanellus kitauei* TRÊN CÁ CHÉP (*Cyprinus carpio*)

Nguyễn Văn Tuyền^{1,2*}, Trần Thị Dịu¹, Phạm Thị Thắm¹,
Đoàn Thị Ninh¹, Kim Văn Vạn¹, Trương Đình Hoài¹

¹Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Faculty of Fisheries and Protection of Waters, University of South Bohemia, The Czech Republic

*Tác giả liên hệ: nvtuyen@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 19.05.2020

Ngày chấp nhận đăng: 04.09.2020

TÓM TẮT

Nghiên cứu này nhằm tìm phác đồ điều trị hiệu quả bệnh do *Thelohanellus kitauei* gây ra trên cá chép. Tổng số 60 mẫu cá chép từ 20 lồng nuôi nghi nhiễm bệnh được thu và chẩn đoán tác nhân gây bệnh. Sau khi xác định đúng tác nhân gây bệnh, bốn phác đồ sử dụng các thuốc trị ký sinh trùng gồm praziquantel, ivermectin, albendazole và triclabendazole được thử nghiệm điều trị trên 20 lồng cá chép đang nhiễm bệnh với liệu trình 3 ngày liên tục, sau đó cá được điều trị tổn thương trên đường ruột bằng kháng sinh doxycycline với liều 15 mg/kg cá/ngày trong 5 ngày tiếp theo cho cả 4 phác đồ điều trị. Kết quả nghiên cứu cho thấy cá chép nhiễm bệnh bơi lơ lờ, bụng chướng to, ruột có nhiều khối bào nang với kích thước 1,43 × 1,12cm. Kết quả điều trị thử nghiệm cho thấy phác đồ sử dụng praziquantel với liều 10 mg/kg cá/ngày có hiệu quả điều trị thấp, tỷ lệ cá khỏi bệnh chỉ đạt 24,92%. Các phác đồ sử dụng 0,6mg ivermectin/kg cá/ngày, 6mg triclabendazole + 6mg albendazole/kg cá/ngày, và 10mg albendazole + 10mg praziquantel/kg cá/ngày cho hiệu quả điều trị tốt với tỷ lệ khỏi bệnh cao lần lượt là 90,48%, 85,62% và 86,86%.

Từ khóa: Bào tử sợi, điều trị, ký sinh trùng cá chép, *Thelohanellus kitauei*.

Experimental treatment of intestinal giant cystic disease caused by *Thelohanellus kitauei* infecting Common carp (*Cyprinus carpio*)

ABSTRACT

This study was conducted to determine the effective treatment regimen to mitigate the impact of the disease caused by *Thelohanellus kitauei* for common carp. A total of 60 suspected common carp infected *T. kitauei* from 20 cages were collected to confirm the pathogens. Subsequently, the experimental treatments were conducted to treat for those infected fish using four different treatment regimens, including praziquantel, ivermectin, albendazole, and triclabendazole in 3 consecutive days, following with 5 consecutive days using antibiotic (doxycycline at dose of 15 mg/kg fish/day) to treat the lesions in fish intestine for all four treatment regimens. The results revealed that the fish in cages were infected *T. kitauei*. Infected fish exhibited the lost orientation, enlarged abdomen, and containing many giant cysts in the intestine with the average size is 1.43cm x 1.12cm. The experimental results indicated that the treatment regimen using a dose of 10mg praziquantel/kg fish/day was not effective with a low cure rate (24.92%). The treatment regimens with the dose 0.6mg ivermectin/kg fish/day or 6mg triclabendazole + 6mg albendazole/kg fish/day or 10mg albendazole + 10mg praziquantel/kg fish/day resulted to higher the cure rates, 90.48%, 85.62%, and 86.86%, respectively.

Keywords: Common carp, myxopores, *Thelohanellus kitauei*, treatment.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá Chép (*Cyprinus caprio*) là loài nuôi truyền thống và phổ biến tại nhiều vùng miền. Theo nghiên cứu gần đây, cá chép là loài nuôi

chiếm ưu thế với tỷ lệ 30,1% số lượng cá trong những ao nuôi ghép. Tuy nhiên, do người nuôi liên tục tăng mật độ nuôi cùng với việc nhập khẩu con giống chưa được kiểm soát chặt chẽ đã dẫn đến bệnh dịch liên tục xảy ra trên đối tượng

Thử nghiệm các phác đồ điều trị bệnh u nang đường ruột do bào tử sợi *Thelohanellus kitauei* trên cá chép (*Cyprinus carpio*)

nuôi này (Kim Văn Vạn & Nguyễn Văn Thọ, 2012). Trong số những bệnh thường xảy ra trên cá chép gần đây, bệnh u nang đường ruột do bào tử sợi *T. kitauei* là một bệnh mới xuất hiện tại Việt Nam, tỷ lệ chết cao vì chưa có thuốc điều trị đặc hiệu (Rhee & cs., 1990; 1993; Kim Văn Vạn & Phạm Thị Thắm, 2018). Theo báo cáo của Egusa & Nakajima (1981), bào tử sợi *T. kitauei* có thể lây nhiễm 40% số cá trong ao và gây chết 22,6% số cá bị nhiễm bệnh trong vòng 2-5 tháng kể từ khi cá mới khỏe mạnh được thả vào ao có bào tử sợi *T. kitauei* mà không tiến hành các biện pháp khử trùng ao nuôi sau khi thu hoạch cá bệnh.

Các thuốc kháng sinh (dapson, ketoconazole, sufamonomethoxin) và thuốc điều trị nấm fumagillin đã lần lượt được thử nghiệm điều trị bào tử sợi *T. kitauei* trong điều kiện *in vitro* và *in vivo*. Tuy nhiên, hiệu quả điều trị của các thuốc này với bào tử sợi *T. kitauei* không cao (Rhee & cs., 1990; 1993). Việc sử dụng thuốc kháng sinh và thuốc điều trị nấm để điều trị ký sinh trùng có thể là nguyên nhân dẫn đến hiệu quả điều trị thấp của các thuốc này. Mặt khác, khả năng chống chịu của bào tử sợi *T. kitauei* cao và tồn tại lâu trong môi trường tự nhiên cũng là một nguyên nhân khiến việc phòng và trị bệnh trên cá chép chưa đạt hiệu quả như mong muốn. Theo nghiên cứu của Rhee & cs. (1990), bào tử sợi *T. kitauei* có thể tồn tại 2 năm trong ao nuôi cá chép nhiễm bệnh sau khi ao nuôi được tát cạn, phơi đáy ao và khử trùng bằng vôi bột. Cho tới nay, chưa có phương pháp điều trị bào tử sợi *T. kitauei* hiệu quả nào được báo cáo. Biện pháp được khuyên dùng phổ biến hiện nay vẫn là tát cạn, phơi đáy ao và khử trùng ao nuôi bằng vôi bột (Rhee & cs., 1990).

Do những hiểu biết về bào tử sợi *T. kitauei* còn hạn chế dẫn đến việc chẩn đoán, điều trị bệnh do bào tử sợi *T. kitauei* trên cá chép chưa đạt hiệu quả. Điều này dẫn đến thiệt hại về kinh tế cho người nuôi trồng thủy sản, sử dụng thuốc và hóa chất bừa bãi trong điều trị bệnh làm ô nhiễm môi trường, tồn dư thuốc và hóa chất trong sản phẩm thủy sản. Nghiên cứu này

được tiến hành để thử nghiệm điều trị bệnh tại các lồng nuôi cá chép trong điều kiện thực tế sản xuất nhằm tìm ra phác đồ điều trị bệnh hiệu quả.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành trên 20 lồng nuôi cá chép nhiễm bào tử sợi *T. kitauei* tại Hải Dương. Các loại thuốc điều trị ký sinh trùng praziquantel, ivermectin albendazole và triclabendazole được sử dụng trong thử nghiệm điều trị. Các dụng cụ giải phẫu, kính hiển vi, máy xử lý mẫu mô, máy đúc mô, máy cắt mô, thuốc nhuộm được sử dụng trong quá trình thu mẫu bệnh, mổ khám và làm tiêu bản quan sát dưới kính hiển vi.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Chẩn đoán, xác định tác nhân gây bệnh u nang đường ruột trên cá chép

Mẫu cá chép (n = 60, cỡ 400-600g) có biểu hiện triệu chứng và bệnh tích điển hình của bệnh bào tử sợi *T. kitauei* theo mô tả trong các nghiên cứu trước đây của Egusa & Nakajima (1981); Lingtong & cs. (2017) và Kim Văn Vạn & Phạm Thị Thắm (2018) được thu ngẫu nhiên từ 20 lồng nuôi nghi nhiễm bệnh (mỗi lồng thu ngẫu nhiên 03 con) để chẩn đoán và xác định tác nhân gây bệnh trước khi thử nghiệm điều trị. Phương pháp thu mẫu, mô tả triệu chứng, bệnh tích và phân tích mẫu cá bệnh được thực hiện theo phương pháp nghiên cứu ký sinh trùng của Arthur & Bui Quang Te (2006) và Hà Ký & Bùi Quang Tê (2007). Kích thước của bào tử sợi *T. kitauei* được xác định trên kính hiển vi có gắn trục vi thị kính được chia khoảng, đánh số từ 0-10, mỗi khoảng chia gồm 10 vạch nhỏ, mỗi vạch nhỏ tương ứng 10 μ m, 2,5 μ m, và 1 μ m ở độ phóng đại tương ứng lần lượt là 100, 400 và 1.000 lần (David, 2012). Ảnh thu được trên kính hiển vi có trục vi thị kính được dùng để xác định kích thước của bào tử sợi bằng phần mềm đo kích thước vật trên ảnh Imagej (National Institutes of Health, 2019).

2.2.2. Thử nghiệm thuốc điều trị bào tử sợi *T. kitauei* trên cá chép

- Bố trí thí nghiệm thử nghiệm thuốc

Hai mươi lồng nuôi cá chép sau khi được chẩn đoán nhiễm bào tử sợi *T. kitauei* được sử dụng để thử nghiệm điều trị bằng 4 phác đồ, mỗi phác đồ được thử nghiệm lặp lại 5 lần. Lồng nuôi sử dụng trong thử nghiệm có thể tích 108m³, cá chép nhiễm bệnh có cỡ 400-600g, cá được nuôi bằng thức ăn viên nổi và vẫn ăn thức ăn, số lượng cá của các lồng thử nghiệm các phác đồ điều trị được trình bày trong bảng 1. Thuốc điều trị dùng trong thử nghiệm là các loại thuốc thường dùng điều trị ký sinh trùng trên động vật thủy sản có sẵn trên thị trường với thành phần là praziquantel, ivermectin, albendazole và triclabendazole. Vì hiện nay chưa

có nghiên cứu nào về cách dùng các thuốc này trong điều trị bào tử sợi *T. kitauei* trên cá được công bố, nên hàm lượng các loại thuốc dùng trong thử nghiệm được dùng theo hướng dẫn của nhà sản xuất cho điều trị các loại nội ký sinh trùng khác trên cá hoặc trên các động vật trên cạn, thành phần, liều dùng và thời gian sử dụng được thể hiện trong bảng 1. Thuốc được trộn vào thức ăn và cho cá ăn trong 3 ngày liên tục. Ngoài ra, do bào tử sợi *T. kitauei* ký sinh thường gây tổn thương ruột cá chép nhiễm bệnh (Egusa & Nakajima, 1981; Lingtong & cs., 2017) nên sau 3 ngày điều trị bằng thuốc trị ký sinh trùng, từ ngày thứ 4 dùng kháng sinh doxycycline với liều 15 mg/kg cá, thuốc được trộn vào thức ăn và cho cá ăn 5 ngày liên tục để điều trị các bệnh nhiễm trùng kế phát.

Bảng 1. Các phác đồ điều trị và số lượng cá chép trong các lồng nuôi thử nghiệm điều trị bào tử sợi *T. kitauei* trong nghiên cứu

Phác đồ điều trị (n = 5)	Loại thuốc*	Liều dùng (mg/kg cá/ngày)	Liệu trình (ngày)	Lồng điều trị	Số cá chép trong lồng (con)
1	Praziquantel	10	3	1.1	3.050
				1.2	2.850
				1.3	2.900
				1.4	2.650
				1.5	2.870
2	Ivermectin	0,6	3	2.1	2.530
				2.2	2.720
				2.3	2.680
				2.4	3.000
				2.5	2.800
3	Albendazole + Praziquantel	10 + 10	3	3.1	2.470
				3.2	2.850
				3.3	2.460
				3.4	2.900
				3.5	2.448
4	Triclabendazole + albendazole	6 + 6	3	4.1	2.840
				4.2	2.730
				4.3	2.570
				4.4	2.610
				4.5	3.200

Ghi chú: * Tiếp tục dùng kháng sinh doxycycline với liều 15 mg/kg cá/ngày trong 5 ngày để điều trị bội nhiễm vi khuẩn.

Thử nghiệm các phác đồ điều trị bệnh u nang đường ruột do bào tử sợi *Thelohanellus kitauei* trên cá chép (*Cyprinus carpio*)

- Xác định hiệu quả điều trị thử nghiệm thuốc

Trước khi tiến hành điều trị, thu ngẫu nhiên 20 con cá chép mỗi lồng bị bệnh để kiểm tra tỷ lệ mắc bệnh của cá trong lồng thông qua các biểu hiện về triệu chứng, bệnh tích của cá mắc bệnh. Tiến hành điều trị, quan sát, theo dõi số lượng cá chết, biểu hiện của cá trong và sau quá trình điều trị. Sau 4 ngày điều trị, bắt ngẫu nhiên mỗi lồng 5 con cá để kiểm tra các triệu chứng và sự thay đổi bệnh tích trên cá. Sau 8 ngày điều trị, thu mỗi lồng 20 con cá để kiểm tra lại tỷ lệ nhiễm dựa trên những dấu hiệu bệnh tích trong và ngoài cơ thể cá, từ đó xác định tỷ lệ cá khỏi bệnh sau 8 ngày điều trị. Các biểu hiện triệu chứng, bệnh tích trên cá trước và sau điều trị, tỷ lệ nhiễm bệnh trước và sau khi điều trị, tỷ lệ chết và tỷ lệ cá khỏi bệnh sau 8 ngày điều trị, và những biến đổi mô bệnh học của các bào nang thu từ cá trước và sau điều trị là những chỉ tiêu đánh giá hiệu quả điều trị bệnh của các phác đồ đã được thử nghiệm.

$$T = \frac{M}{K} \times 100$$

Trong đó:

T: Tỷ lệ nhiễm của cá trong lồng (%)

M: Số mẫu chép kiểm tra bị nhiễm bệnh (con)

K: Số cá chép thu mẫu kiểm tra (K= 20 con).

$$N_1 = \frac{(N_0 - K_1) \times T_1}{100}$$

Trong đó:

N_1 : Số cá chép bị nhiễm bệnh trong lồng trước khi điều trị (con)

N_0 : Số cá chép trong lồng trước khi thu mẫu lần 1 (con)

K_1 : Số cá chép thu mẫu kiểm tra lần 1 (trước khi điều trị) ($K_1 = 20$ con)

T_1 : Tỷ lệ nhiễm của cá trong lồng trước khi điều trị (%).

$$N_2 = \frac{(N_0 - K_1 - 5 - N_c) \times T_2}{100}$$

Trong đó:

N_2 : Số cá chép bị nhiễm bệnh trong lồng sau 8 ngày khi điều trị (con)

N_0 : Số cá chép trong lồng trước khi thu mẫu lần 1 (trước khi điều trị) (con)

K_1 : Số cá chép thu mẫu kiểm tra lần 1 (trước khi điều trị) ($K_1 = 20$ con)

N_c : Số cá chép bị chết sau 8 ngày điều trị (con)

T_2 : Tỷ lệ nhiễm của cá chép trong lồng sau 8 ngày điều trị (%)

5: Số cá chép lấy mẫu kiểm tra sau 4 ngày điều trị (con).

$$T_{KB} = \frac{N_1 - N_2}{N_1} \times 100$$

Trong đó:

T_{KB} : Tỷ lệ cá chép khỏi bệnh sau 8 ngày điều trị (%)

N_1 : Số cá chép bị nhiễm bệnh trong lồng trước khi điều trị (con)

N_2 : Số cá chép bị nhiễm bệnh trong lồng sau 8 ngày điều trị (con).

$$T_c = \frac{N_c}{(N_0 - K_1)} \times 100$$

Trong đó:

T_c : Tỷ lệ chết của cá chép sau điều trị 8 ngày (%)

N_c : Số cá chép bị chết sau 8 ngày điều trị (con)

N_0 : Số cá chép trong lồng trước khi thu mẫu lần 1 (trước khi điều trị) (con)

K_1 : Số cá chép thu mẫu kiểm tra lần 1 (trước khi điều trị) ($K_1 = 20$ con).

- Đánh giá hiệu quả điều trị qua biểu hiện mô bệnh học

Mẫu ruột cá chép có chứa bào nang bào tử sợi *T. kitauei* được thu tại các thời điểm trước điều trị, sau 4 ngày điều trị và sau 8 ngày điều trị để làm tiêu bản mô bệnh học nhằm đánh giá hiệu quả điều trị của các phác đồ. Phương pháp được thực hiện theo mô tả của (Cengiz, 2006; Trương Đình Hoài & cs., 2014). Mẫu ruột cá chép bị bệnh có chứa bào nang bào tử sợi *T. kitauei* được ngâm trong dung dịch formalin 10%, bảo quản ở 2-8°C. Sau đó, mẫu được cắt gọt, khử nước bằng cồn, đúc trong parafin, cắt lát 5-7µm, nhuộm hematoxylin và eosin và quan

sát trên kính hiển vi có độ phóng đại 100, 400 và 1.000 lần.

2.3. Xử lý số liệu

Phần mềm Microsoft Excel được dùng để tính các giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (SD). Giá trị trung bình của tỷ lệ nhiễm trước điều trị; tỷ lệ nhiễm, tỷ lệ chết và tỷ lệ khỏi bệnh sau 8 ngày điều trị được so sánh bằng phương pháp ANOVA với độ tin cậy $P \leq 0,05$.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Chẩn đoán, xác định tác nhân gây bệnh trước điều trị

3.1.1. Triệu chứng và bệnh tích của cá chép nhiễm bào tử sợi *T. kitauei*

Kết quả kiểm tra triệu chứng và bệnh tích đại thể của 60 cá thu ngẫu nhiên từ các lồng đang bị bệnh cho thấy cá chép nhiễm bào tử sợi *T. kitauei* hầu hết đều thể hiện triệu chứng bơi lơ dờ, thân đen, bụng chướng to, kiểm tra nội quan cho thấy các nội tạng (ruột, gan, thận) bị sưng hoặc xuất huyết, đặc biệt ruột cá có nhiều bào nang bào tử sợi (u bã đậu). Ngược lại, số lượng cá chép mắc bệnh bị bong vảy bụng, hậu môn sưng, có dịch màu trắng và vỡ ruột chiếm tỷ lệ thấp hơn lần lượt là 26,7%, 16,7% và 13,3%. Tỷ lệ các triệu chứng và bệnh tích đại thể của cá bệnh được thể hiện chi tiết ở bảng 2 và hình 1.

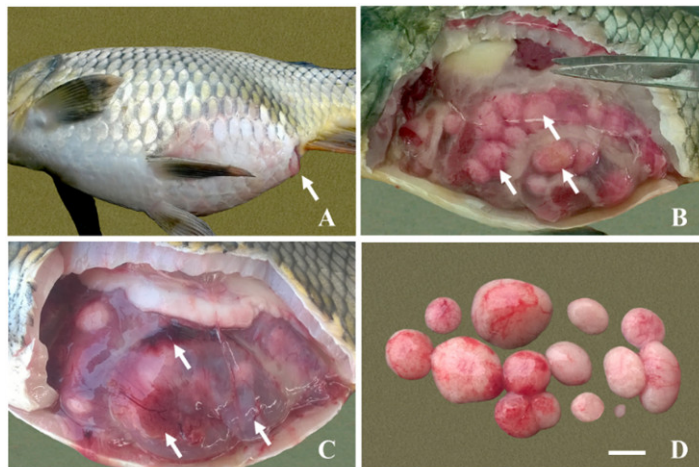
Các triệu chứng và bệnh tích đại thể của cá chép bị nhiễm bào tử sợi *T. kitauei* trong nghiên cứu này (Hình 1) giống với các triệu chứng và bệnh tích của cá chép bị bệnh bào tử sợi *T. kitauei* được mô tả trong nghiên cứu của (Egusa & Nakajima, 1981; Lingtong & cs., 2017; Kim Văn Vạn & Phạm Thị Thắm, 2018). Dịch màu trắng, vàng thoát ra ở hậu môn cá nhiễm bệnh bào tử sợi *T. kitauei* chính là các bào tử được giải phóng từ các bào nang đã chín đổ vào lòng ruột sau đó chảy ra môi trường, bào tử sợi *T. kitauei* thông qua đó mà tiếp tục lây nhiễm cho cá khác trong ao (Egusa & Nakajima, 1981; Rhee & cs., 1990).

Kết quả kiểm tra bào nang của cá chép bệnh cho thấy số lượng bào nang trong ruột cá chép bị nhiễm bệnh bào tử sợi *T. kitauei* dao động từ 7-35 bào nang, số lượng trung bình 16 bào nang/cá. Kích thước bào nang cũng biến động khá lớn, từ 0,4-3,6cm × 0,2-2,9cm, kích thước trung bình của bào nang là 1,43cm × 1,12cm. Theo nghiên cứu của Egusa & Nakajima (1981), kích thước bào nang của bào tử sợi *T. kitauei* phát triển tăng dần theo thời gian kể từ khi cá chép bị nhiễm bệnh, bào nang có cỡ lớn nhất trong nghiên cứu này có đường kính 4,2cm, bào nang nhỏ nhất có kích thước 1,1cm × 0,75cm. Bào nang thu được từ cá chép bị bệnh bào tử sợi *T. kitauei* trong nghiên cứu của chúng tôi có kích thước nhỏ hơn so với bào nang của bào tử sợi *T. kitauei* trong nghiên cứu của Kim Văn Vạn & Phạm Thị Thắm (2018).

Bảng 2. Tỷ lệ xuất hiện các triệu chứng và bệnh tích đại thể của cá chép nhiễm bào tử sợi *T. kitauei* (n = 60)

Triệu chứng/bệnh tích	Số cá có biểu hiện (con)	Tỷ lệ (%)
Cá bị đen thân, bơi vật vờ	60	100
Bụng cá chướng to	60	100
Quấy mạnh, nhảy lên khỏi mặt nước	52	86,7
Bong vảy bụng	16	26,7
Lổ hậu môn sưng, có dịch màu trắng	10	16,7
Khi chết cơ thể dựng như đang bơi	22	36,7
Có bào nang trong ruột	60	100
Thành ruột mỏng	60	100
Nội tạng sưng hoặc xuất huyết	60	100
Có dịch lỏng trong ruột	54	90
Vỡ ruột	8	13,3
Bào nang ở cơ quan khác ngoài ruột	0	0

Thử nghiệm các phác đồ điều trị bệnh u nang đường ruột do bào tử sợi *Thelohanellus kitauei* trên cá chép (*Cyprinus carpio*)



Ghi chú: A: cá chép nhiễm bệnh bị chướng bụng, hậu môn chảy dịch màu trắng, B: ruột cá mắc bệnh có chứa nhiều bào nang, C: nội tạng cá mắc bệnh bị sưng, xuất huyết, D: số lượng bào nang của 1 cá chép bị nhiễm bệnh (thanh tỉ lệ 1cm).

Hình 1. Dấu hiệu triệu chứng và bệnh tích trên cá chép bị nhiễm bào tử sợi *T. kitauei*

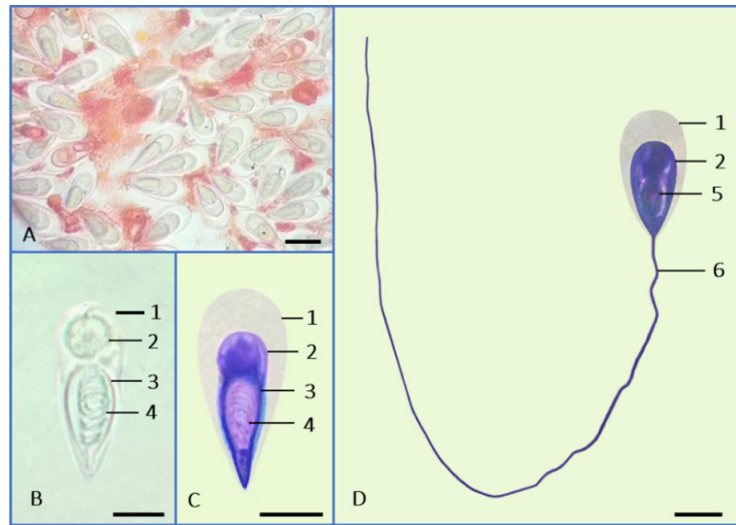
Bảng 3. Kích thước của bào tử sợi *T. kitauei* gây bệnh trên cá chép (TB ± SD (µm))

Loại bào tử sợi	<i>T. kitauei</i>	<i>T. kitauei</i>	<i>T. kitauei</i>
Nguồn	Kết quả thí nghiệm (n = 30)	(Lingtong & cs., 2017)	(Lingtong & cs., 2017)
Ký chủ	Cá chép	Cá chép	Cá chép
Cơ quan ký sinh	Ruột	Ruột	Ruột
Hình dạng bào tử sợi	Quả lê dài	Quả lê dài	Quả lê dài
Chiều dài bào tử	24,91 ± 1,61	25,98 ± 0,95	26,3 (23-29)
Chiều rộng bào tử	9,62 ± 0,57	8,72 ± 0,51	9,2 (8-11)
Chiều dài cực nang	16,86 ± 0,96	14,73 ± 0,92	16,8 (14-18)
Chiều rộng cực nang	7,29 ± 0,56	6,82 ± 0,45	7,4 (6-9)
Chiều dài vỏ	34,40 ± 1,63	38,41 ± 2,45	33,4 (31-35)
Chiều rộng vỏ	14,43 ± 1,21	13,30 ± 0,87	15,0 (12-17)
Số vòng xoắn của roi trong cực nang (vòng)	8-10	8-10	8-10
Chiều dài roi	187,60 ± 12,82	-	166,7 (120-197)

3.1.2. Đặc điểm hình thái của bào tử sợi *T. kitauei* gây bệnh trên cá chép

Bào tử sợi *T. kitauei* thu được từ cá chép bị nhiễm bệnh có hình quả lê dài. Bào tử của bào tử sợi có kích thước 24,91µm × 9,62µm, cực nang có kích thước 16,86µm × 7,29µm, cực nang chứa 1 roi mảnh xoắn lại từ 8-10 vòng, roi khi giải phóng khỏi cực nang có chiều dài 187,60µm. Bào tử và cực nang được bọc trong vỏ có kích thước 34,40µm × 14,43µm (Bảng 3, Hình 2).

Kết quả so sánh những đặc điểm của bào tử sợi thu từ cá chép bị bệnh u nang đường ruột trong nghiên cứu của chúng tôi và bào tử sợi *T. kitauei* trong những nghiên cứu trước đây của (Egusa & Nakajima, 1981; Lingtong & cs., 2017; Kim Văn Vạn & Phạm Thị Thắm, 2018) đều có những điểm giống nhau về hình thái ngoài, cấu trúc bên trong, ký chủ, cơ quan ký sinh, các triệu chứng và bệnh tích trong và ngoài cơ thể cá bệnh. Do đó, tác nhân gây bệnh cho cá chép trước khi tiến hành điều trị được xác định là bào tử sợi *Thelohanellus kitauei*.



Ghi chú: A: bào tử sợi chưa bung roi (400x) (thanh tỷ lệ 20 μ m); B, C: bào tử sợi chưa bung roi (1000x); D: bào tử sợi đã bung roi (1.000x) (thanh tỷ lệ 10 μ m); 1: vỏ bào tử sợi, 2: bào tử, 3: cực nang, 4: roi xoắn trong cực nang chưa bung, 5: cực nang sau khi bung roi. 6: roi bung ra.

Hình 2. Hình thái của bào tử sợi *T. kitauei* ký sinh trong ruột cá chép

Bảng 4. Triệu chứng và bệnh tích của cá chép sau quá trình điều trị bào tử sợi *T. kitauei* (n = 100)

Phác đồ điều trị	Tỷ lệ các triệu chứng và bệnh tích trước và sau điều trị (%)							
	Trước điều trị				Sau 8 ngày điều trị			
	Bơi lơ dờ, đen thân	Bụng chướng to	Nội tạng sưng hoặc xuất huyết	Có bào nang trong ruột	Bơi lơ dờ, đen thân	Bụng chướng to	Nội tạng sưng hoặc xuất huyết	Có bào nang trong ruột
1	33	43	37	43	22	23	17	34
2	37	50	40	50	0	0	2	5
3	35	41	37	41	0	0	3	6
4	39	45	36	45	0	0	2	6

3.2. Kết quả điều trị bào tử sợi *T. kitauei* trên cá chép

3.2.1. Triệu chứng và bệnh tích của cá chép sau quá trình điều trị bào tử sợi *T. kitauei*

Kết quả theo dõi cho thấy cá chép nhiễm bào tử sợi *T. kitauei* sau 8 ngày điều trị bằng phác đồ 1 (10mg praziquantel/kg cá/ngày), phác đồ 2 (0,6mg ivermectin/kg cá/ngày), phác đồ 3 (10mg albendazole + 10mg praziquantel/kg cá/ngày) và phác đồ 4 (6mg triclabendazole + 6mg albendazole/kg cá/ngày) có tỷ lệ biểu hiện các triệu chứng và bệnh tích giảm so với trước khi điều trị. Tuy nhiên, cá chép trong các lồng sau 8 ngày điều trị bằng phác đồ 1 tiếp tục chết

rải rác, cá vẫn còn các triệu chứng, bệnh tích bơi lơ dờ, đen thân, bụng chướng to. Ngược lại, các lồng nuôi cá chép sau 8 ngày điều trị bằng phác đồ 2, 3 và 4, cá dừng chết, hoạt động bình thường, bụng không chướng to (Bảng 4).

Giải phẫu các mẫu cá cho thấy 34% cá chép sau 8 ngày điều trị bằng phác đồ 1 còn bào nang trong ruột, ngược lại tỷ lệ này ở các phác đồ 2, 3 và 4 thấp hơn, dao động trong khoảng 5-6% (Bảng 4). Tỷ lệ cá chép có biểu hiện nội tạng sưng hoặc xuất huyết sau 8 ngày điều trị bằng phác đồ 2, 3 và 4 lần lượt là 2%, 3% và 2%, thấp hơn so với phác đồ 1 (17%) và thấp hơn so với trước khi điều trị lần lượt 40%, 37% và 36%. Kết quả giải phẫu cá chép sau điều trị bằng phác đồ

Thử nghiệm các phác đồ điều trị bệnh u nang đường ruột do bào tử sợi *Thelohanellus kitauei* trên cá chép (*Cyprinus carpio*)

2, 3 và 4 cho thấy mặc dù không thấy hoặc thấy rất ít bào nang bị nhăn nheo trong ruột cá, nhưng lại thấy ruột cá bị phình một số đoạn. Điều này có thể do bào tử sợi *T. kitauei* ký sinh trong ruột cá và hình thành các bào nang với kích thước lớn dẫn đến những đoạn ruột chứa bào nang bị phình. Sau khi cá được điều trị, bào tử sợi bị tiêu diệt, bào nang tiêu giảm và bị đào thải ra môi trường nên chỉ còn một vài bào nang bị nhăn nheo và các đoạn phình trên ruột cá.

3.2.2. Hiệu quả điều trị bào tử sợi *T. kitauei* của các phác đồ

Kết quả thử nghiệm cho thấy cá chép sau điều trị bằng phác đồ 1 có tỷ lệ nhiễm giảm nhưng vẫn còn cao so với trước điều trị (34% so với 43%). Trong khi tỷ lệ nhiễm của cá chép sau điều trị bằng phác đồ 2, 3 và 4 thấp hơn rất nhiều so với trước điều trị (lần lượt là 5%, 6% và 6% so với 50%, 41% và 45%). Tỷ lệ nhiễm sau điều trị của các phác đồ 2, 3 và 4 có sự khác biệt thống kê so với tỷ lệ nhiễm sau điều trị của phác đồ 1 ($P < 0,05$), nhưng không có sự khác biệt giữa các tỷ lệ nhiễm của các phác đồ này với nhau ($P > 0,05$). Tỷ lệ chết sau 8 ngày điều trị của phác đồ 1 (4,37%) cao hơn và có sự khác biệt thống kê ($P < 0,05$) so với tỷ lệ chết sau 8 ngày điều trị của phác đồ 2, 3 và 4 lần lượt là 1,78%, 1,74% và 1,76%. Hiệu quả điều trị của phác đồ 1 thấp nhất với tỷ lệ khỏi bệnh 24,92%, thấp hơn so với phác đồ điều trị 2, 3 và 4 với tỷ lệ khỏi bệnh lần lượt là 90,48%, 85,62% và 86,86%. Tỷ lệ khỏi bệnh của phác đồ 1 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với tỷ lệ khỏi bệnh của các phác đồ còn lại ($P < 0,05$). Trong khi đó, tỷ lệ khỏi bệnh của các phác đồ điều trị 2, 3 và 4 không có sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P > 0,05$) (Bảng 5).

3.2.3. Kết quả kiểm tra mô bệnh học trước và sau điều trị

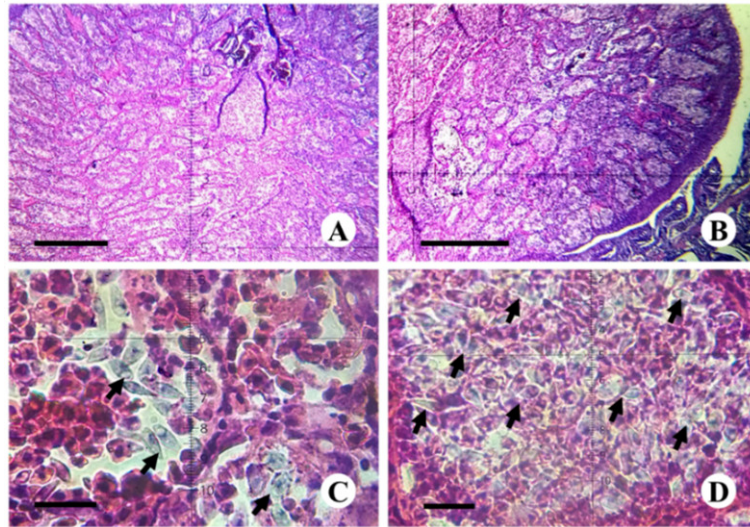
Hiệu quả điều trị không chỉ thể hiện qua tỷ lệ biểu hiện triệu chứng, bệnh tích đại thể, tỷ lệ nhiễm, tỷ lệ chết và tỷ lệ khỏi bệnh mà còn thể hiện qua sự biến đổi và khác biệt về mô bệnh học của các bào nang thu từ những cá chép được điều trị bằng các phác đồ 2, 3 và 4 so với các biểu hiện mô bệnh học của các bào nang thu từ cá chép được điều trị bằng phác đồ 1 và cá chép trước khi điều trị. Quan sát dưới kính hiển vi cho thấy mô ruột cá chép bị bệnh trước khi được điều trị đã bị bào tử sợi *T. kitauei* xâm lấn, phát triển và phá hủy (Hình 3). Hiện tượng bào tử sợi *T. kitauei* ký sinh và xâm lấn mô ruột, mô da của cá chép bệnh đã được báo cáo bởi các tác giả (Zhai & cs., 2016; Lingtong & cs., 2017).

Biểu hiện về mô bệnh học cho thấy các mô bào nang thu từ cá chép sau điều trị 4 ngày và 8 ngày có mật độ bào tử sợi *T. kitauei* thấp hơn so với mô bào nang thu từ cá chép trước điều trị. Mô bào nang thu từ cá chép sau 4 ngày điều trị bằng phác đồ 1 có mật độ bào tử sợi giảm so với trước điều trị nhưng vẫn còn nhiều. Ngược lại mật độ bào tử sợi ở mô bào nang thu từ cá chép sau 4 ngày điều trị bằng phác đồ 2, 3 và 4 đã giảm rõ rệt so với trước khi điều trị. Đặc biệt mô bào nang thu từ cá chép sau điều trị 8 ngày bằng phác đồ 2, 3 và 4 không thấy sự xuất hiện của bào tử sợi *T. kitauei*. Điều này chứng tỏ các thuốc điều trị ký sinh trùng dùng trong các phác đồ trên có tác dụng tiêu diệt bào tử sợi *T. kitauei* trong cơ thể cá chép bị nhiễm bệnh. Sự khác biệt về mô bệnh học của các bào nang thu từ cá chép trước và sau điều trị một lần nữa khẳng định phác đồ điều trị 2, 3 và 4 có hiệu quả điều trị cao hơn phác đồ 1 (Hình 4).

Bảng 5. Hiệu quả điều trị bào tử sợi *T. kitauei* của các phác đồ (TB \pm SD (%))

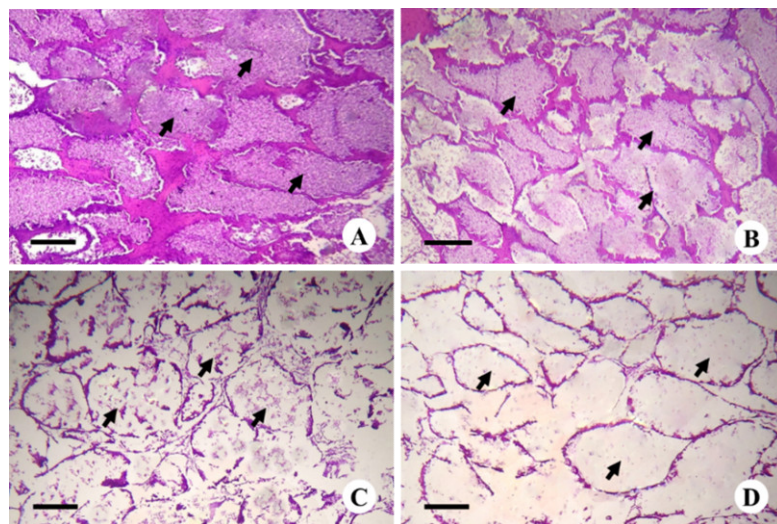
Phác đồ điều trị (n = 5)	Tỷ lệ nhiễm trước điều trị	Tỷ lệ nhiễm sau 8 ngày điều trị	Tỷ lệ chết sau 8 ngày điều trị	Tỷ lệ khỏi bệnh
1	43,00 ^a \pm 5,70	34,00 ^a \pm 7,42	4,37 ^a \pm 0,24	24,92 ^a \pm 9,43
2	50,00 ^a \pm 7,91	5,00 ^b \pm 3,54	1,78 ^b \pm 0,20	90,48 ^b \pm 7,01
3	41,00 ^a \pm 6,52	6,00 ^b \pm 2,24	1,74 ^b \pm 0,22	85,62 ^b \pm 4,49
4	45,00 ^a \pm 7,9	6,00 ^b \pm 2,24	1,76 ^b \pm 0,17	86,86 ^b \pm 4,07

Chú thích: Trong cùng một cột, những giá trị trung bình không mang cùng chữ cái thì sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).



Ghi chú: A, B: mô ruột cá bệnh bị tổn thương và lấp đầy bào tử sợi, thanh tỷ lệ 200 μ m; C: bào tử sợi bắt đầu xâm lấn mô ruột, thanh tỷ lệ 50 μ m; D: bào tử sợi xâm lấn, phát triển thay thế các tế bào mô ruột, thanh tỷ lệ 50 μ m.

Hình 3. Biến đổi của mô ruột cá chép nhiễm bào tử sợi *T. kitauei*



Ghi chú: A: Mô bào nang trước khi điều trị; B: Mô bào nang thu từ cá chép sau 4 ngày điều trị bằng phác đồ 1; C: Mô bào nang thu từ cá chép sau 4 ngày điều trị bằng phác đồ 3; D: Mô bào nang thu từ cá chép sau 8 ngày điều trị bằng phác đồ 2, thanh tỷ lệ 100 μ m.

Hình 4. Biến đổi mô của bào nang thu từ cá chép bị bệnh bào tử sợi *T. kitauei* trước và sau điều trị

Hiệu quả điều trị của phác đồ 1 thấp có thể do liều sử dụng praziquantel của phác đồ 1 (10 mg/kg cá/ngày) thấp nên chỉ có thể ức chế, tiêu diệt một phần bào tử sợi *T. kitauei* mà chưa thể tiêu diệt hoàn toàn bào tử sợi trong thời gian thử nghiệm. Theo nghiên cứu của Kim Van Van & cs. (2012), liều dùng praziquantel để điều trị ấu trùng sán lá (*Centrocestus formosanus*) gây

bệnh kênh mang trên cá chép là 50-75 mg/kg cá/ngày. Kết quả điều trị còn cho thấy, mặc dù ivermectin với liều dùng thấp hơn (0,6 mg/kg cá/ngày) lại có hiệu quả điều trị bào tử sợi *T. kitauei* cao hơn rất nhiều so với praziquantel với liều 10 mg/kg cá/ngày. Tuy nhiên, khi kết hợp praziquantel với albendazole và triclabendazole trong phác đồ 3 và 4 lại cho hiệu quả cao hơn.

Thử nghiệm các phác đồ điều trị bệnh u nang đường ruột do bào tử sợi *Thelohanellus kitauei* trên cá chép (*Cyprinus carpio*)

4. KẾT LUẬN

Cá chép mắc bệnh u nang đường ruột do bào tử sợi *T. kitauei* có các triệu chứng bệnh tích bơi lơ đờ, đen thân, bụng chướng to, các nội quan bị sưng, xuất huyết, ruột có nhiều khối bào nang. Bào tử sợi *T. kitauei* sau khi nhiễm vào cá chép, sẽ phát triển xâm lấn, dần thay thế và phá hủy mô ruột của cá bệnh, quá trình này sẽ hình thành các bào nang và làm xuất hiện các triệu chứng, bệnh tích điển hình trên cá nhiễm bệnh.

Các phác đồ sử dụng 0,6mg ivermectin/kg cá/ngày hoặc kết hợp 6mg triclabendazole + 6mg albendazole/kg cá/ngày hoặc 10mg albendazole + 10mg praziquantel/kg cá/ngày cho ăn 3 ngày liên tục, sau đó cho cá ăn kháng sinh doxycycline với liều 15 mg/kg cá/ngày trong 5 ngày tiếp theo để điều trị tổn thương ở ruột cá bệnh cho hiệu quả điều trị bệnh cao, với tỷ lệ điều trị cá khỏi bệnh lần lượt là 90,48%, 85,62% và 86,86%. Đây là 3 phác đồ có thể sử dụng trong thực tế sản xuất để trị bệnh do bào tử sợi *T. kitauei* gây ra trên cá chép.

LỜI CẢM ƠN

Các tác giả xin chân thành cảm ơn các cán bộ, sinh viên Khoa Thủy sản, Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam và các hộ nuôi cá tại Hải Dương đã giúp đỡ, tạo điều kiện trong thu thập thông tin, thu mẫu cá bệnh, bố trí và theo dõi thí nghiệm. Các tác giả xin cảm ơn dự án Việt-Bỉ đã tài trợ kinh phí thông qua đề tài mã số T2019 0211VB để chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Arthur J.R. & Bui Quang Te (2006). Checklist of the parasites of fishes of Vietnam. FAO Fisheries Technical Paper. 369(2): 133.

Cengiz E.I. (2006). Gill and kidney histopathology in the freshwater fish *Cyprinus carpio* after acute exposure to deltamethrin. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 22(2): 200-204.

David R.C. (2012). Measurement with the Light Microscope. Retrieved from <https://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/microscopy/measuring.html>, on April 10, 2019.

Egusa S. & Nakajima K. (1981). A New Myxozoa *Thelohanellus kitauei*, the Cause of Intestinal Giant Cystic Disease of Carp. 15: 213-218.

Hà Ký & Bùi Quang Tề (2007). Ký sinh trùng cá nước ngọt Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật. tr. 212-213.

Kim Văn Vạn & Nguyễn Văn Thọ (2012). Nghiên cứu dịch tễ ấu trùng sán lá lây truyền qua cá chép giống (*Cyprinus carpio*) trong các hệ thống nuôi. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 10(6): 933-939.

Kim Van Van, Truong Dinh Hoai, Buchmann K., Dalsgaard A. & Nguyen Van Tho (2012). Efficacy of praziquantel against *Centrocestus formosanus* metacercariae infection in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus). *Journal of Southern Agriculture*. 43(4): 520-523.

Kim Văn Vạn & Phạm Thị Thắm (2018). Nghiên cứu một số đặc điểm bệnh u nang bã đậu trong ruột cá chép do bào tử sợi gây ra tại Hải Dương. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*. 15(6): 76-82.

Lingtong Y., Mingmiao L., Keyan Q., Wenxiang L., Hong Z., Shangong W., Jiangyong W. & Guitang W. (2017). Intestinal disease of scattered mirror carp *Cyprinus carpio* caused by *Thelohanellus kitauei* and notes on the morphology and phylogeny of the myxosporean from Sichuan Province, southwest China. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 35(3): 587-596.

National Institutes of Health (2019). Emagej program. Retrieved from <https://imagej.nih.gov/ij/download.html>, on April 10, 2019.

Rhee J.K., Kim J.O., Kim P.G. & Park B.K. (1990). Prophylactic and therapeutic studies on intestinal giant-cystic disease of the Israel carp caused by *Thelohanellus kitauei*. I. Course of formation and vanishment of the cyst. *Kisaengch'unghak chapchi. The Korean journal of parasitology*. 28(3): 183-194.

Rhee J.K., Kim J.O. & Park B.K. (1990). Prophylactic and therapeutic studies on intestinal giant-cystic disease of the Israel carp caused by *Thelohanellus kitauei*. II. Effects of physical and chemical factors on *T. kitauei* spores *in vitro*. *The Korean journal of parasitology*. 28(4): 241-252.

Rhee J.K., Kim H.C. & Park B.K. (1993). Efficacy of fumagillin against *Thelohanellus kitauei* infection of Israel carp, *Cyprinus carpio* nudus. *Korean J Parasitol*. 31(31): 57-65.

Trương Đình Hoài, Nguyễn Vũ Sơn, Nguyễn Thị Mai Phương. & Nguyễn Thị Hậu (2014). Đặc điểm mô bệnh học của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) nhiễm *Streptococcus* sp. nuôi tại một số tỉnh miền bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*. 12(3): 360-371.

Zhai Y., Gu Z., Guo Q., Wu Z., Wang H. & Liu Y. (2016). New type of pathogenicity of *Thelohanellus kitauei* Egusa & Nakajima, 1981 infecting the skin of common carp *Cyprinus carpio* L. *Parasitology International*. 65(1): 78-82.