

BIẾN ĐỔI MÔ BỆNH HỌC Ở GAN TỤY TÔM SÚ NUÔI BỊ BỆNH PHÂN TRẮNG

Nguyễn Thị Thu Hà¹, Nguyễn Thị Hà¹, Đào Xuân Trường¹, Lê Văn Khoa²
TÓM TẮT

Bệnh phân trắng ở tôm sú (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798) là một bệnh rất phổ biến và gây thiệt hại lớn đối với nghề nuôi tôm hiện nay. Kết quả phân tích 115 mẫu tôm sú bị bệnh phân trắng cho thấy trên mẫu mô gan tụy có vi bào tử, vi khuẩn (*Vibrio*, cầu khuẩn, trực khuẩn) và virus (MBV và HPV). trong đó vi bào tử chiếm tỉ lệ cao nhất (51,11%), sau đó là nhóm vi khuẩn (40,51%), nhóm virus HPV 20,32% và MBV 12,29%. Biểu hiện biến đổi mô học ở tôm bị nhiễm vi bào tử là đặc trưng ở hầu hết các mẫu tôm sú bị bệnh phân trắng. Virus được phát hiện nhưng tỷ lệ thấp, cường độ nhẹ nên không liên quan chặt chẽ tới bệnh phân trắng ở tôm sú nuôi.

Từ khóa: Tôm sú, Bệnh phân trắng, Vi bào tử, Vi khuẩn, Biến đổi mô học.

HISTOPATHOLOGY CHANGES IN THE LIVER AND THE PANCREAS OF CULTURED BLACK TIGER SHRIMPS AFFECTED BY THE WHITE SCOUR

Nguyễn Thị Thu Hà, Nguyễn Thị Hà, Đào Xuân Trường, Lê Văn Khoa

Summary

The white scour in black tiger shrimps (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798) is currently a common and devastating disease. Results of aetiological analysis of 115 pathological liver and pancreas samples indicated that microporida, bacteria (*Vibrio* sp., *Coccus* sp. and *Bacillus* sp.) and viruses (MBV and HPV) were found present at the rate of 51.11% for Microporida, 40.51% for the bacteria, 20.32% for HPV and 12.29% for MBV. The histopathological changes in the liver and the pancreas of the affected shrimps were the most characteristic feature of the disease.

Key words: Shrimp, White scour, Microporida, Bacteria, Histopathology.

I. MỞ ĐẦU

Bệnh phân trắng trên tôm sú lần đầu tiên xuất hiện ở Việt Nam năm 1998 (Nguyễn Khắc Lâm, 2004), tuy nhiên vào thời điểm đó vẫn chưa gây thiệt hại lớn. Bắt đầu từ năm 2000 bệnh bùng phát và lây lan nhanh, tuy không làm chết tôm hàng loạt nhưng tôm khi mắc bệnh này thường bị óp, gây thiệt hại về kinh tế cho người nuôi. Bệnh diễn ra ở hầu hết các vùng nuôi tuy nhiên khu vực nuôi tôm trên cát là nơi xuất hiện với tỷ lệ cao nhất, chiếm 80% (Nguyễn Khắc Lâm, 2004). Hiện nay, các nghiên cứu về tác nhân gây bệnh phân trắng trên tôm sú vẫn còn nhiều tranh cãi. Những nhận định ban đầu về tác nhân gây bệnh này được cho là do trùng hai tế bào kí sinh trong ruột tôm (Bùi Quang Tề, 2003). Có nghiên cứu thì cho rằng tôm sú bị bệnh phân trắng là do tổng hợp ba nhóm tác nhân vi khuẩn, virus và tảo độc (Nguyễn Khắc Lâm, 2004; Nguyễn Khắc Lâm & Đỗ Thị Hòa, 2007). Một số nghiên cứu khác cho rằng trên các mẫu tôm sú bị bệnh phân trắng có sự hiện diện của nhóm kí sinh trùng, virus, vi khuẩn và không thấy sự xuất hiện của tảo độc (Đặng Thị Hoàng Oanh, 2008). Nghiên cứu này mô tả những biến đổi do vi bào tử nội kí sinh trong nguyên sinh chất của tế bào biểu mô gan tụy bằng phương pháp mô bệnh học trên mẫu tôm sú bị bệnh phân trắng nhằm góp phần chẩn đoán chính xác tác nhân gây bệnh này.

¹Viện Nghiên cứu nuôi trồng thủy sản I, ² Cục Thú y

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Vật liệu

115 mẫu tôm sú được thu ở các vùng nuôi tôm tập trung khác nhau của Việt Nam từ tháng 5 năm 2009 đến tháng 9 năm 2010, thuộc các vùng nuôi khác nhau, 30 mẫu thu ở phía Bắc (Hải Phòng), 35 mẫu ở bắc Trung Bộ (Nghệ An, Thừa Thiên Huế), và 50 mẫu ở phía Nam (Cà Mau, Bạc Liêu).

2.2 Phương pháp nghiên cứu

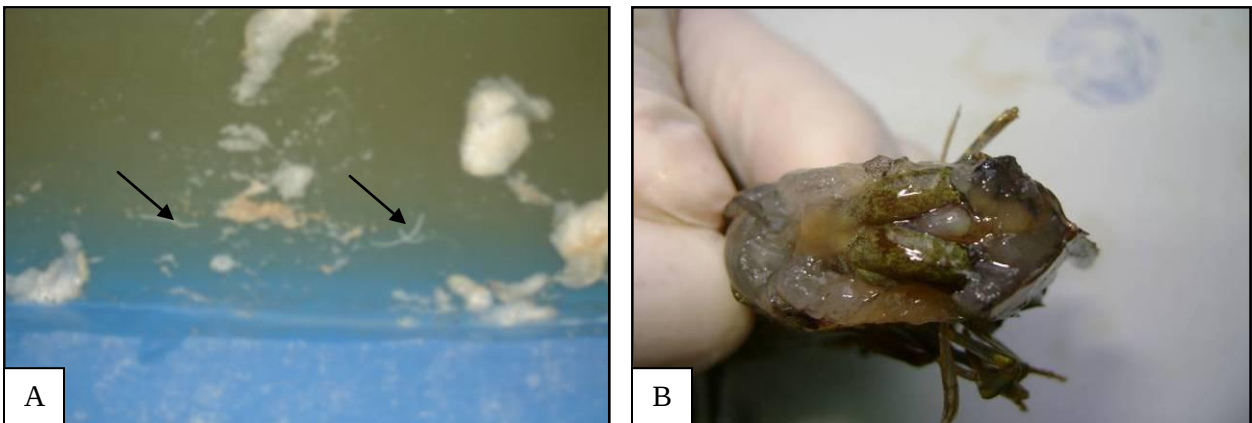
Toàn bộ mẫu được xử lý theo phương pháp mô bệnh học của Lightner, 1996. Gan tụy tôm được tách ra khỏi phần đầu ngực và cố định trong dung dịch Davidson (330 ml cồn Ethanol 95%, 220 ml 37% formaldehyde, 115 ml HCl 50%, 335 ml nước cất) trong 24-72 giờ, sau đó được bảo quản trong dung dịch cồn 70%. Mẫu được làm mất nước lần lượt qua các dung dịch cồn 95% và cồn tuyệt đối, mỗi nồng độ trong 4 giờ, làm trong và làm mềm bằng dung dịch methylsalicylate trong 12-24 giờ. Ngâm mẫu trong dung dịch paraffin nóng chảy ở nhiệt độ 65°C trong 6 giờ rồi đúc mẫu. Các mẫu sau khi đúc sẽ được cắt thành lát 5µm. Nhuộm mẫu bằng dung dịch Hematocytline và Eosin, và quan sát tiêu bản trên kính hiển vi quang học.

Phương pháp nhuộm Giemsa Wolbach: Các mẫu sau khi đúc, cắt, làm no nước sẽ được nhuộm với Giemsa 12 giờ, sau đó làm mất nước, dán tiêu bản và quan sát trên kính hiển vi quang học.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Dấu hiệu lâm sàng

Ao tôm bị bệnh phân trắng xuất hiện các đoạn phân màu trắng đục dài 0,3-1cm nổi trên mặt nước và trôi về cuối hướng gió (Hình 1A), buổi sáng nổi nhiều hơn buổi chiều. Gan tôm bệnh màu xanh rêu hoặc trắng sữa, một số bị chai cứng và teo có khi chỉ bằng 1/3 thể tích gan tôm bình thường (Hình 1B), ruột tôm thường rỗng và đứt quãng.

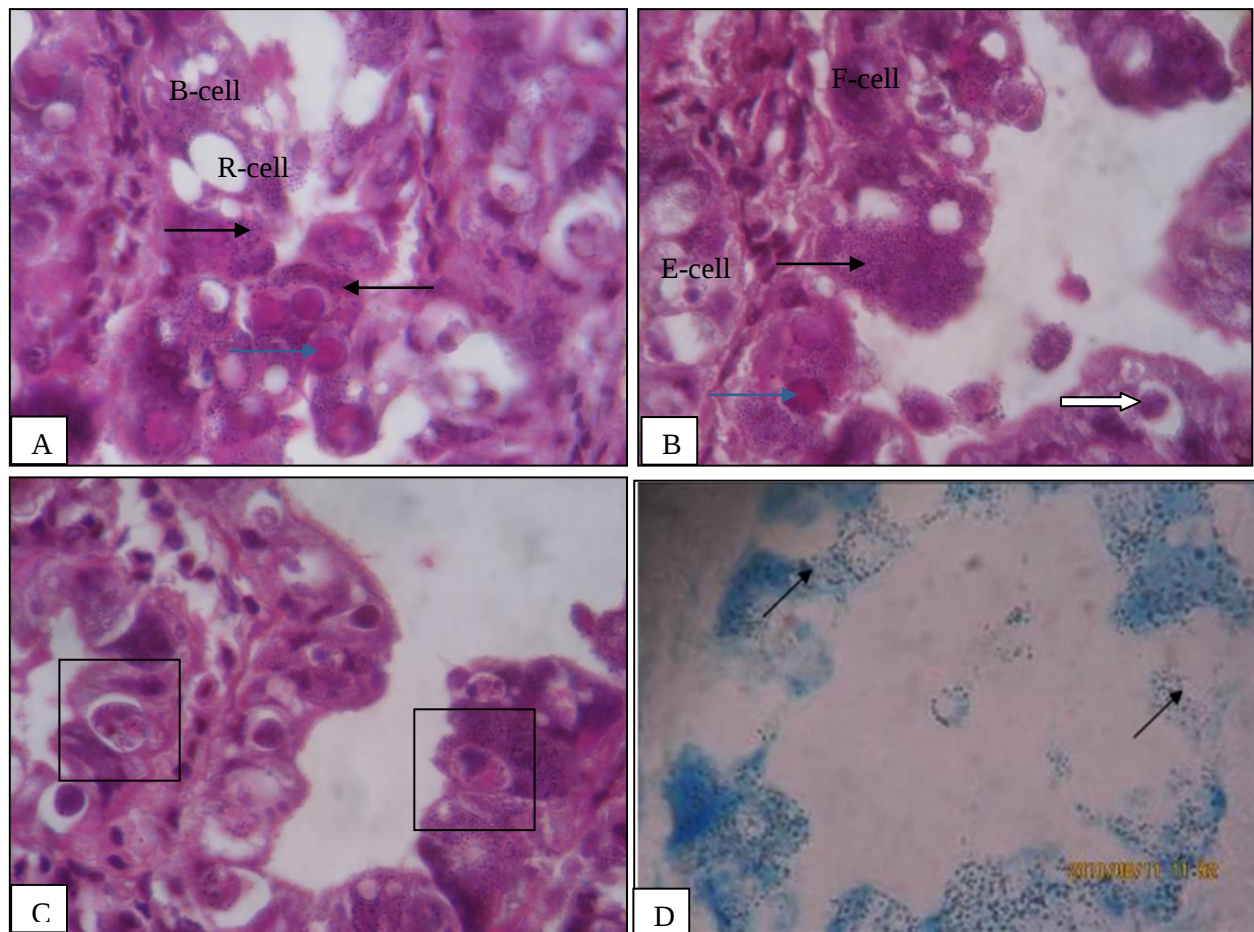


Hình 1: (A) Ao nuôi tôm sú bị bệnh phân trắng, các dải phân tôm màu trắng đục (mũi tên); (B) gan tụy tôm sú bị teo, có màu xanh rêu.

3.2. Đặc điểm bệnh lý

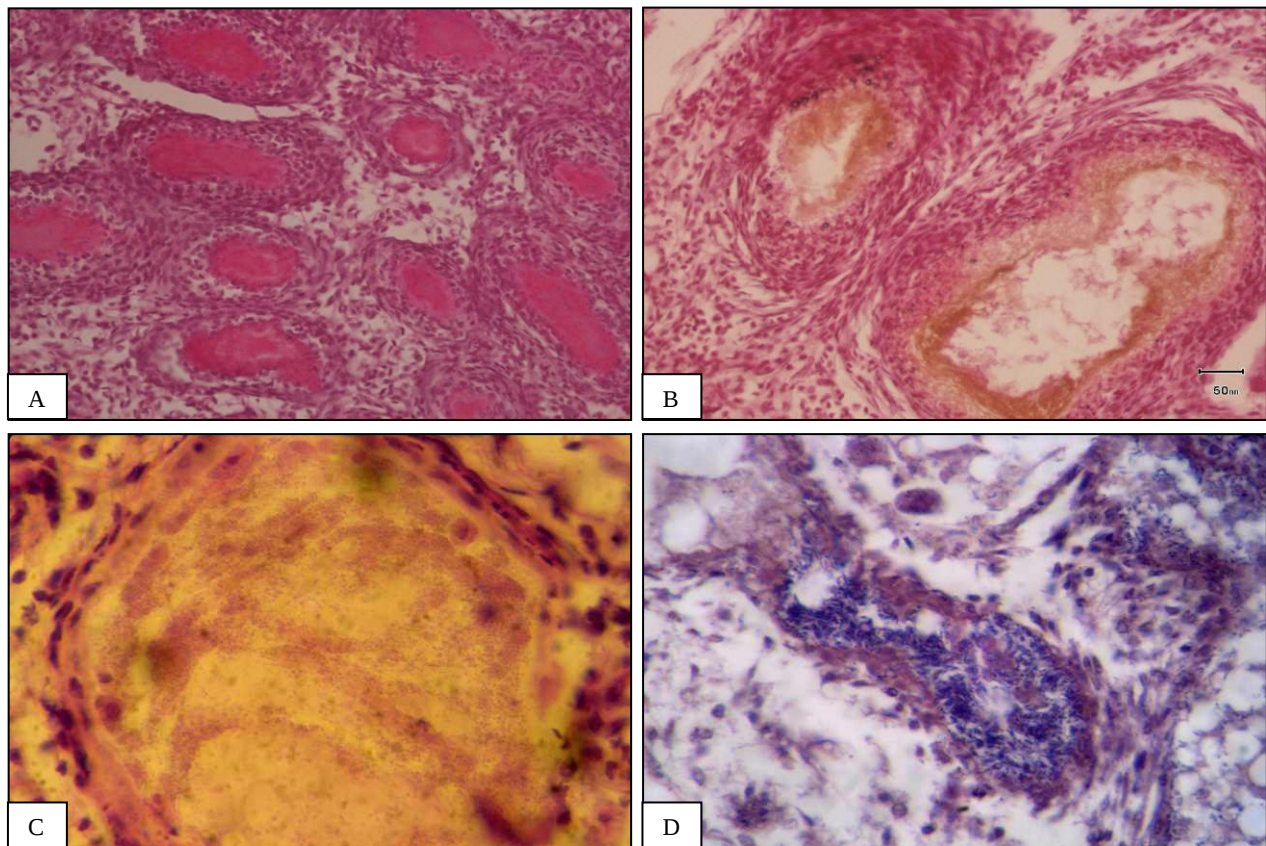
3.2.1. Biến đổi do vi bào tử:

Vi bào tử bắt màu đồng nhất với Hematocytline, kích thước khoảng $2,5 \times 2,0\mu\text{m}$ trông giống với thể vùi của virut. Vi bào tử cũng được quan sát thấy trong nguyên sinh chất của các tế bào B, E, R và không thấy trên tế bào F (Hình 2A, B). Gan tụy tôm khi bị nhiễm thường có biểu hiện nhân tế bào kết đặc, co cụm lại (Hình 2C) số lượng các tế bào B, R giảm hoặc nặng quá có thể làm các tế bào mà chúng kí sinh bị bong tróc ra khỏi lớp biểu mô ống gan tụy (Hình 2B). Đây là lần đầu tiên vi bào tử được mô tả ký sinh trên gan tụy tôm sú bị bệnh phân trắng.



Hình 2: (A) Gan tụy tôm sú bị nhiễm kép vi bào tử và MBV: vi bào tử kí sinh trong nguyên sinh chất của các tế bào biểu mô ống gan tụy (mũi tên đen), thể ẩn MBV kí sinh nằm trong nhân (mũi tên xanh) và; (B) Gan tụy tôm sú bị nhiễm vi bào tử (mũi tên đen), HPV (mũi tên trắng) và MBV (mũi tên xanh) và; (C) Nhân tế bào biểu mô gan tụy tôm sú bị vi bào tử: kết đặc (ô vuông); (D) Vi bào tử kí sinh trong nguyên sinh chất tế bào biểu mô gan tụy (nhuộm Giemsa Wolbach).

3.2.2. Biến đổi do vi khuẩn



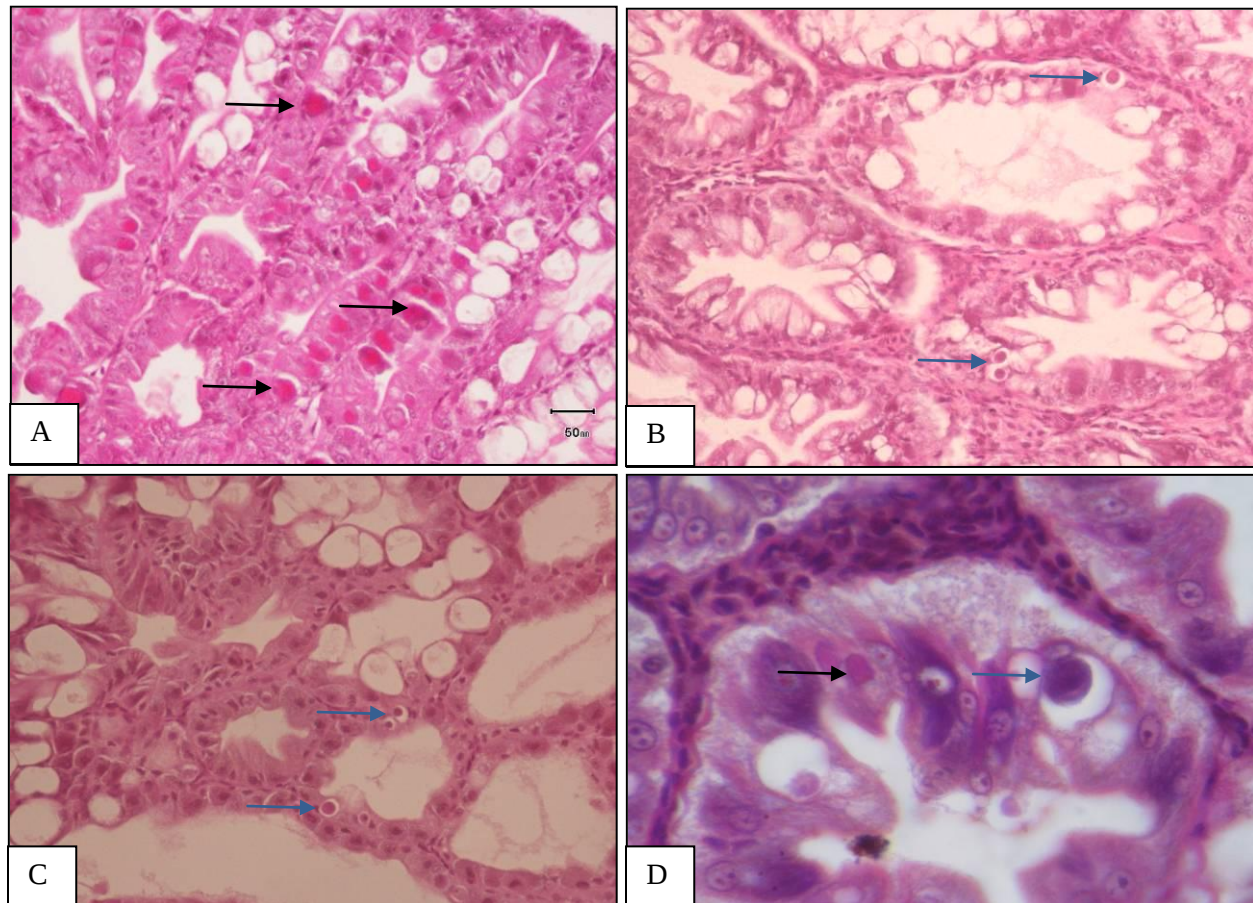
Hình 3: (A) Gan tụy tôm bị nhiễm vi khuẩn *Vibrio*, ống gan tụy hoại tử; (B) Hiện tượng Melanin hóa và các tế bào máu bao xung quanh ống gan tụy; (C) Cầu khuẩn trong ống gan tụy; (D) Trùng khuẩn trong mẫu gan tụy tôm bị bệnh phân trắng.

Những biến đổi do vi khuẩn thường đặc trưng bởi các đám khuẩn lạc bắt màu đồng nhất với thuốc nhuộm (Hình 3C, D), kèm theo đó là hiện tượng hoại tử, dẫn đến các ống gan tụy bị teo nhỏ lại (Hình 3A, B), đồng thời thấy sự bao vây của các tế bào máu xung quanh các ống gan tụy, hoặc xuất hiện những đám Melanin do sự đáp ứng miễn dịch của cơ thể khi có tác nhân lạ xâm nhập (Hình 3B). Ở những mẫu bị nhiễm khuẩn nặng, cấu trúc ống gan tụy gần như bị phá hủy hoàn toàn, không còn nhìn rõ các tế bào biểu mô gan tụy (Hình 3). Tuy nhiên, sự biến đổi do vi khuẩn trên cơ quan gan tụy của tôm sú bị bệnh phân trắng là không giống nhau ở các đợt thu mẫu khác nhau và các địa điểm thu khác nhau. Ở một số mẫu bắt gặp những biến đổi đặc trưng do nhóm vi khuẩn *Vibrio* sp. (Hình 3A) bắt màu thuốc nhuộm Eosin. Một số mẫu bắt gặp vi khuẩn hình cầu (Hình 3C), trong khi một số khác lại bắt gặp bọn vi khuẩn hình que (Hình 3D). Điều này cho chúng ta thấy vi khuẩn chỉ là tác nhân cơ hội xâm nhập vào gan tụy của tôm khi tôm bị yếu.

3.2.3. Biến đổi do virut:

Trên gan tụy của tôm sú bị bệnh phân trắng bắt gặp hai loại virut là MBV và HPV. MBV được đặc trưng bởi những thể ẩn hình cầu, bắt màu hồng với Eosin. Các thể ẩn này có thể xuất hiện đơn lẻ hoặc tập trung thành từng đám có nhiều thể ẩn trong nhân tế bào biểu mô ống gan tụy (hình 4A). HPV tạo thể vùi nội nhân bắt màu xanh tím với Hematocylene. Sự phát triển của virut trong nhân làm hạch nhân bị đẩy lệch về một phía, thể vùi của virut được bao quanh bởi một quang sáng (hình 4B,C). Ở một số mẫu thấy có sự nhiễm kép cả 2 loại virut HPV và MBV (hình

4D). 2 loại virus này tỷ lệ nhiễm thấp, cường độ nhẹ nên không liên quan chặt chẽ tới bệnh phân trắng ở tôm sú nuôi.



Hình 4: (A) Gan tụy tôm sú bị nhiễm MBV (mũi tên đen); (B, C) Gan tụy tôm sú bị nhiễm HPV (mũi tên xanh); (D) Gan tụy tôm sú nhiễm kép MBV và HPV

3.3 . Tỷ lệ nhiễm các loại tác nhân trên gan tụy tôm sú bị bệnh phân trắng

Kết quả phân tích mô bệnh học 115 cho thấy mẫu gan tụy tôm sú bị bệnh phân trắng nhiễm vi khuẩn và vi bào tử (VBT) cao, với tỉ lệ nhiễm lần lượt là 40,51% và 51,11% (Bảng 1). MBV và HPV chỉ chiếm 12,29% và 20,32%, tuy nhiên tỉ lệ nhiễm các tác nhân này ở các vùng khác nhau không giống nhau.

Bảng 1: Tỷ lệ nhiễm các loại tác nhân trên gan tụy tôm sú bị bệnh phân trắng

Địa điểm thu mẫu	Số mẫu (n)	Vi khuẩn (%)	MBV (%)	HPV (%)	Vi bào tử (%)
Hải Phòng	30	36,67	10,00	26,67	53,33
Nghệ An và Thừa Thiên Huế	35	42,86	2,86	14,29	60,00
Cà Mau và Bạc Liêu	50	42,00	24,00	20,00	40,00
Trung bình		40,51	12,29	20,32	51,11

III. THẢO LUẬN

Vi bào tử trước đây được thông báo gây bệnh đục thân hay bệnh tôm bông trên tôm he, tác nhân gây bệnh gồm 3 giống *Ameson*, *Pleistophora* và *Agmasoma* (Đỗ Thị Hòa và ctv., 2004). Tuy nhiên cơ quan đích của 3 giống vi bào tử này là cơ, không kí sinh trên cơ quan gan tụy như dạng vi bào tử bắt gặp trong mẫu tôm sú bị bệnh phân trắng. Một nghiên cứu về hội chứng còi (MSGs) trên tôm sú nuôi ở Thái Lan cũng thông báo về một loại vi bào tử có kích thước $1,48 \times 0,82 \mu\text{m}$ là một trong những tác nhân có mặt trên tôm mắc hội chứng này. Vi bào tử có mặt trong nguyên sinh chất của tế bào biểu mô ống gan tụy và gây hiện tượng giảm số lượng tế bào B, R (Chayaburakul và ctv., 2004). Do chúng kí sinh trong nguyên sinh chất của các tế bào B, E, R, đồng thời khi tôm bị bệnh nặng số lượng tế bào E, R giảm, nên có thể giả định cơ chế gây bệnh của loại tác nhân này là chúng kí sinh trong các tế bào dự trữ, nếu nặng có thể gây bong tróc các loại tế bào này (Hình 2B), qua đường tiêu hóa, các chất dự trữ được thải vào ruột, gây hiện tượng phân trắng. Các biến đổi do loại vi bào tử này cùng dạng với vi bào tử trên tôm sú bị bệnh phân trắng mà chúng tôi phân loại được. Chúng được định danh là *Enterocytozoon hepatopenaei* (Tourtip và ctv., 2009). Loài vi bào tử ký sinh trong gan tụy của tôm bị bệnh phân trắng là loài vi bào tử gây hội chứng còi tại Thái Lan.

Đặng Thị Hoàng Oanh và ctv., 2006 khi sưu tập và phân lập vi khuẩn từ mẫu thủy sản nuôi ở Đồng bằng Sông Cửu Long cho biết các loài vi khuẩn *Vibrio* (*V. navarrensis*, *V. hollisae*, *V. vulnificus*, *V. cholerae*) là những loài được phân lập từ mẫu tôm sú bị bệnh phân trắng. Trong nghiên cứu này tỉ lệ nhiễm vi khuẩn trên mẫu gan tụy tôm sú bị bệnh phân trắng là cao (40,87%), cũng thấy sự có mặt của *Vibrio*. Ngoài ra, một số vi khuẩn hình cầu cũng bắt gặp gây hoại tử vi, nhưng cũng có đợt thu mẫu lại phân lập được trực khuẩn ngắn, kiểu hoại tử cũng không giống nhau ở các đợt thu mẫu khác nhau và ở các vùng khác nhau. Do đó vi khuẩn có thể coi là nhóm tác nhân cơ hội, khi tôm bị bệnh cơ thể yếu sẽ xâm nhập và tấn công, gây đáp ứng miễn dịch.

Virus HPV và MBV là 2 loại virus gây hội chứng tôm còi, cơ quan đích của chúng là gan tụy. Tôm bị nhiễm 2 loại virus này cũng có đặc điểm gan tụy bị teo nhỏ và trắng như tôm bị bệnh phân trắng (Lightner, 2003). Nguyễn Khắc Lâm, 2004 và Đặng Thị Hoàng Oanh và ctv., 2008 khi nghiên cứu về hội chứng phân trắng teo gan cũng đã khẳng định sự có mặt của HPV và MBV trên cơ quan gan tụy nhưng với tỉ lệ nhiễm tương đối thấp 19,17% với HPV và 9,17% với MBV (Nguyễn Khắc Lâm, 2004); 25,41% với HPV và 12,7% với MBV. Trong nghiên cứu này tỉ lệ nhiễm HPV và MBV là 20% và 13,91% kết hợp với kết quả gây nhiễm nhân tạo và so với mẫu tôm thu không bị bệnh phân trắng thì 2 loài virus này không phải là tác nhân chính gây bệnh phân trắng.

Kết quả nghiên cứu này bước đầu xác định vi bào tử là tác nhân chính gây bệnh phân trắng ở tôm sú nuôi tại một số vùng đặc trưng cho cả 3 vùng miền ở Việt Nam. Việc nghiên cứu tiếp theo sẽ là nghiên cứu các phương pháp chẩn đoán nhanh tác nhân gây bệnh và các liệu pháp phòng trị.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Thị Hòa, Bùi Quang Tề, Nguyễn Hữu Dũng, Nguyễn Thị Muội, 2004. Bệnh học thủy sản. NXB Nông nghiệp TP Hồ Chí Minh, tr. 285-287.
2. Nguyễn Khắc Lâm, 2004. Kết quả nghiên cứu bước đầu về bệnh "phân trắng teo gan" trên tôm sú nuôi thương phẩm tại Ninh Thuận. *Tạp chí Khoa học-Kỹ Thuật-Kinh tế thủy sản số 11/2004*, tr 27-30.
3. Nguyễn Khắc Lâm, Đỗ Thị Hòa, 2007. Đặc điểm dịch tễ học của hội chứng teo gan trên tôm sú (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798) nuôi thương phẩm tại Ninh Thuận. *Tạp chí Khoa học công nghệ thủy sản số 2/2007*, tr. 3-7.

4. Nguyễn Khắc Lâm và Đỗ Thị Hòa, 2007. Ảnh hưởng của tảo độc trong ao nuôi và hàm lượng aflatoxin (B1) trong thức ăn tới hội chứng teo gan ở tôm sú nuôi tại Ninh Thuận. *Tạp chí Khoa học công nghệ thủy sản số 2/2007*, tr. 25-29.
5. Đặng Thị Hoàng Oanh, Nguyễn Thị Thu Hằng và Nguyễn Thanh Phương, 2006. Sự tập và phân lập vi khuẩn từ mẫu thủy sản nuôi ở Đồng bằng sông Cửu Long *Tạp chí Nghiên cứu khoa học 2006*, tr. 53 - 56.
6. Đặng Thị Hoàng Oanh, Trần Nguyên Thảo và Nguyễn Thanh Phương, 2008. Đặc điểm mô bệnh học tôm sú (*Penaeus monodon*) có dấu hiệu bệnh phân trắng nuôi ở một số tỉnh đồng bằng sông Cửu Long. *Tạp chí nghiên cứu khoa học số 1/2008*, tr. 181-186.
7. Kanokporn Chayaburakul, Gary Nash, Phusit Pratanpipat, Siriporn Sriurairatana, Boonsirm Withyachumnarkul, 2004. Multiple pathogens found in growth-retarded black tiger shrimp *Penaeus monodon* cultivated in Thai Lan. *Diseases of Aquatic Organisms Vol. 60*: p. 89-96.
8. Lightner, 1996. A hand book of shrimp pathology and diagnostic procedure for diseases of culture penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA 304p.
9. Somjintana Tourtip, Somjai Wongtripop, Grant D. Stentiford, Kelly S. Bateman, Siriporn Sirurairatana, Jittipan Chavadej, Kallaya Sritunyalucksana, Boonsinrm Withyachumnarnkul, 2009. *Enterocytozoon hepatopenaei* sp. Nov. (*Microsporidia Enterocytozoonidae*), a parasite of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* (*Decapoda: Penaeidae*): Fine structure and phylogenetic relationships. *Journal of Invertebrate Pathology* , .