

NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM MÔ BỆNH HỌC MANG CÁ TRẮM CỎ (*Ctenopharyngo donidella*) NHIỄM KÝ SINH TRÙNG

Trương Đình Hoài^{1*}, Hoàng Minh Tùng², Nguyễn Vũ Sơn³, Kim Văn Vạn¹

¹Khoa Chăn nuôi và NTTS, ³Khoa Thú y, Học viện Nông nghiệp Việt Nam,

²Trung tâm giống Thủy sản Hải Phòng

Email*: tdhoai@vnua.edu.vn

Ngày gửi bài: 12.08.2014

Ngày chấp nhận: 29.11.2014

TÓM TẮT

Mô bệnh học là một phương pháp phát hiện ảnh hưởng của những yếu tố bất lợi và mầm bệnh gây ra trên cơ quan ký chủ. Nó được ví như một chỉ thị để phát hiện các điều kiện bất lợi trong môi trường sống của động vật thủy sản. Nghiên cứu được tiến hành trên 58 mẫu mang cá trắm cỏ ở giai đoạn cá hương (*Ctenopharyngodon idella*) nhiễm ấu trùng sán lá song chủ (*Centrocestus formosanus*), sán lá đơn chủ (*Dactylogyrus* sp.) và trùng quả dưa (*Ichthyophthirius multifiliis*) nhằm xác định các biến đổi mô bệnh học do chúng gây ra. Các mẫu mang cá được kiểm tra triệu chứng lâm sàng, tỷ lệ và cường độ nhiễm ký sinh trùng, một phần mang được làm tiêu bản mô học để đánh giá và mô tả các biến đổi vi thể. Kết quả nghiên cứu cho thấy biến đổi mô ở mang cá do 3 loại ký sinh trùng có những đặc điểm chung là sự rối loạn tuần hoàn cục bộ và biến dạng cấu trúc mang. Tuy nhiên, mức độ tổn thương gây ra bởi các loại ký sinh trùng là khác nhau. Trong đó, mang cá nhiễm ấu trùng sán *C. formosanus* thể hiện nhiều tổn thương nặng nề. Các tế bào mang và tổ chức sụn tăng sinh lan tràn, tơ mang xơ cứng và thứ cấp biến dạng, mòn cụt, xuất hiện nhiều vùng xuất huyết, tụ huyết và viêm dính xung quanh tổ chức của bào nang sán. Mang cá nhiễm *Dactylogyrus* sp. chủ yếu thể hiện sự tăng sinh, viêm dính và đứt gãy tơ mang do tác động của móc bám và chất độc tiết ra. Sự tổn thương do trùng quả dưa ở mang như tăng sinh, xuất huyết đã được ghi nhận, tuy nhiên cần có những nghiên cứu tiếp để đánh giá sát thực biến đổi mô bệnh học, đặc biệt là giai đoạn trùng hình thành bào nang.

Từ khóa: Cá trắm cỏ, Mô bệnh học, Sán lá đơn chủ, Sán lá song chủ, Trùng quả dưa.

Histopathological Characteristics of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) Gills Infested with Parasites

ABSTRACT

Histopathology provides a diagnostic method to detect the effects of irritants and pathogens in different fish organs and it can be used as an indicator for abnormal conditions in aquatic environments. The present study used histopathology to examine lesions on Grass carp (*Ctenopharyngo donidella*) gills associated with three common parasites. Fifty-eight Grass carp fry infected with metacercaria of *Centrocestus formosanus*, *Dactylogyrus* sp. and *Ichthyophthirius multifiliis* r, were obtained from fish farm nurseries. Symptoms, prevalence and intensity were recorded and histopathological examination was performed on sectioned gill tissues stained with Haematoxylin-Eosin. Based on the results, the lesions in gill tissues caused by these three parasites exhibited similar characteristics as structural deformation and circulatory disturbances. However, each of them had its own distinctive characteristics. The infection by metacercaria of *C. formosanus* presented severe lesions associated with moderate to severe hyperplasia of cartilage of the primary lamellae, epithelial hyperplasia, gill hemorrhage, congestion, and disorganizing and inflammation around the metacercarial cyst. Gills infected with *Dactylogyrus* sp. mainly expressed epithelial hyperplasia, inflammation and lamellae damage due to the mechanical effects of hooks and toxic secretions. *I. multifiliis* causing hyperplasia and hemorrhage was noted with further study needed to clarify the histopathology at different stage of cyst formation.

Keywords: *Centrocestus formosanus*, *Dactylogyrus* sp., *Ichthyophthirius multifiliis*, Grass carp, histopathology.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá trắm cỏ (*Ctenopharyngodon idella*) là một trong những loài cá nuôi nước ngọt truyền thống của nước ta, đặc biệt là ở các tỉnh miền Bắc. Đây là loài cá có tốc độ lớn nhanh, chất lượng thịt thơm ngon, giàu dinh dưỡng nên được người dân rất ưa chuộng. Tuy vậy, cá trắm cỏ ở giai đoạn cá hương, cá giống rất mẫn cảm với các mầm bệnh, đặc biệt là bệnh ký sinh trùng, trong đó ấu trùng sán lá song chủ (ATSLSC) *Centrocestus formosanus*, sán lá đơn chủ (SLDC) *Dactylogyrus* sp. và trùng quả dưa (TQD) *Ichthyophthirius multifiliis* là 3 loài ký sinh trùng thường thấy và gây tổn thất lớn.

Sán lá song chủ *C. formosanus* trưởng thành ký sinh ở ruột chim, chó, mèo và người (Vélez-Hernández et al., 1998; Yamaguti, 1975; Yanohara et al., 1987). Ở giai đoạn Metacercaria, chúng ký sinh trong cơ của tơ mang hoặc các tổ chức sụn ở mang cá (Scholz and Salgado-Maldonado, 2000). Ấu trùng được bao bọc bởi lớp nang dày khoảng 2µm (Chen, 1942), các ấu trùng hoạt động mạnh và làm cản trở quá trình hô hấp (Alcaraz et al., 1999) và rất khó bị tiêu diệt vì lớp bào nang ít chịu sự tác động từ các hóa chất thông thường, nếu nhiễm cường độ cao có thể gây kênh mang (Kim Van Van et al., 2012). Bệnh này đã gây thiệt hại lớn cho cá hương, cá giống của cá trắm cỏ, cá mè, cá chép, cá trôi, cá mè Vinh, cá trê ở Việt Nam với tỷ lệ chết rất cao, thậm chí 100% (Đỗ Thị Hòa và cs., 2004). Bệnh không chỉ gây hại cho ngành thủy sản mà còn ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Đã có nhiều báo cáo về tình trạng người và động vật trên cạn như chó, mèo và chuột nhiễm sán lá song chủ *C. formosanus* do ăn gỏi cá, cá sống hoặc éch bị nhiễm bệnh. Sán lá đơn chủ *Dactylogyrus* sp. ký sinh ở da và mang cá nhưng chủ yếu ở mang (Đỗ Thị Hòa và cs., 2004). Sán có cơ quan sinh dục lưỡng tính, chúng đẻ trứng, trứng nở trong thời gian ngắn (4-5 ngày ở nhiệt độ 23°C) và ký sinh trở lại ký chủ của chúng làm cho cường độ nhiễm tăng lên theo thời gian (Trương Đình Hoài và cs., 2013). Loài sán này có 16 móc bám sắc nhọn bám vào tổ chức cơ thể ký chủ, tuyến đầu tiết ra men hialuronidaza phá hoại tế bào tổ chức, tăng tiết

dịch nhón làm ảnh hưởng đến hô hấp. Nếu bị nhiễm với cường độ cao, cá bơi lội bất thường, cá nổi đầu, bơi lội chậm chạp, gầy yếu, có thể gây chết từ rải rác tới hàng loạt cá hương, cá giống (Đỗ Thị Hòa và cs., 2004). Trong khi đó, trùng quả dưa *I. multifiliis* là loại ký sinh trùng nguy hiểm, gây chết hàng loạt, tỷ lệ chết có thể lên tới 100% (Đỗ Thị Hòa và cs., 2004; Khorramshahr, 2012). Hiện nay, việc xử lý bệnh do trùng quả dưa đang gặp nhiều khó khăn và chưa có biện pháp điều trị triệt để sau khi Xanh malachite đã bị cấm sử dụng.

Mặc dù đã có những nghiên cứu về hình thái và triệu chứng bệnh do các tác nhân này gây ra trên cá (Kim Van Van et al., 2012; Phạm Cu Thien et al., 2007; Trương Đình Hoài và cs., 2013), những thông tin chi tiết về biến đổi vi thể còn rất hạn chế, nghiên cứu này được thực hiện để làm rõ các đặc điểm mô bệnh học do 3 loài sán này gây ra trên mang cá trắm cỏ hương nhiễm bệnh tự nhiên thu từ các ao ương cá giống ở Bắc Ninh, Hải Dương và Hà Nội năm 2013, kết quả nghiên cứu sẽ góp phần giải thích cơ chế gây ra các triệu chứng bệnh một cách sâu sắc của ba loài ký sinh trùng này.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Cá trắm cỏ hương được phát hiện chỉ nhiễm duy nhất một loại ký sinh trùng trong các loài sau: ATSLSC *C. formosanus*, SLDC *Dactylogyrus* sp. và TQD *I. multifiliis* trong các trang trại sản xuất giống ở Bắc Ninh, Hà Nội và Hải Dương.

2.2. Thiết bị và hóa chất

Các dụng cụ và thiết bị phục vụ mổ khám, lấy mẫu và kiểm tra ký sinh trùng. Các máy móc thiết bị và hóa chất phục vụ làm tiêu bản mô học, phân tích kết quả và các dụng cụ cần thiết khác.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thu mẫu

Các mẫu cá trắm cỏ (n=52) ở giai đoạn cá hương bị bệnh bao gồm: 27 cá (cỡ 2,3-2,5 g/con)

nhiễm ATSLSC *C. formosanus* ở Thanh trì - Hà Nội; 19 con (cỡ 2,4-2,6 g/con) nhiễm SLDC *Dactylogyrus* sp. ở Từ Sơn - Bắc Ninh và 12 con còn lại (2,3-2,6 g/con) bị nhiễm bệnh TQD *I. multifiliis* tại Hải Dương được thu và đưa về phòng thí nghiệm Bộ môn Môi trường và Bệnh Thủy sản, Khoa Chăn nuôi & Nuôi trồng Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam bằng phương pháp vận chuyển kín. Cá được quan sát tổng thể, ghi lại các triệu chứng bên ngoài, rồi tiến hành đo kích cỡ, khối lượng, kiểm tra ký sinh trùng và thu mẫu phân tích mô bệnh học.

2.3.2. Kiểm tra ký sinh trùng

Cắt rời mang cá khỏi cơ thể, một bên mang được cố định vào buffer formalin 10% để làm tiêu bản mô học và bên còn lại được dùng để kiểm tra và đánh giá sơ bộ tỷ lệ và cường độ nhiễm ký sinh trùng. Phương pháp kiểm tra sán lá đơn chủ và trùng quả dưa được thực hiện theo phương pháp của Hà Ký và Bùi Quang Tế (2007), kiểm tra sán lá song chủ được thực hiện theo phương pháp của Kim Van Van (2012).

2.3.3. Tính tỷ lệ nhiễm và cường độ nhiễm ký sinh trùng

Phần mang cá dùng để kiểm tra tỷ lệ nhiễm (TLN) và cường độ nhiễm (CDN) được loại bỏ xương cung mang và thực hiện phương pháp soi tươi trên kính hiển vi với độ phóng đại vi trường 10x10 (VT 10x10). Mỗi mẫu mang được kiểm tra tối thiểu 5 vi trường. Tỷ lệ nhiễm và cường độ nhiễm từng loại ký sinh trùng được tính theo công thức:

$$TLN (\%) = (Số\ cá\ nhiễm\ KST / Số\ cá\ kiểm\ tra) \times 100$$

$$CDN\ (KST/vi\ trường) = \frac{Tổng\ số\ KST\ đếm\ được\ trên\ các\ vi\ trường}{Tổng\ số\ vi\ trường\ có\ nhiễm\ KST}$$

2.3.4. Làm tiêu bản mô học

Các mẫu mang được cố định trong dung dịch buffer formalin 10%, sau đó được xử lý, dúc paraffin, cắt mô và nhuộm bằng thuốc nhuộm Mayer Hematoxyline và Eosin (HE) theo quy trình và phương pháp của Mumford (2007). Các mẫu mô được phân tích ở độ phóng đại 2x10,

4x10, 10x10, 10x40 và 15x40 để đánh giá các biến đổi mô bệnh học.

2.3.5. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2010.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thông tin mẫu và tình hình nhiễm ký sinh trùng

Sau khi kiểm tra lâm sàng, đo kích thước và cân khối lượng, tiến hành kiểm tra tình hình nhiễm ký sinh trùng ở mang cá. Để xác định chính xác biến đổi mô học do từng loài ký sinh trùng gây ra, chỉ những lô cá nhiễm duy nhất một loài ký sinh trùng được lựa chọn. Sau quá trình sàng lọc và thu thập mẫu, chúng tôi đã lựa chọn 3 lô cá nhiễm riêng biệt từng loài ký sinh trùng gồm ATSLSC *C. formosanus*, SLDC *Dactylogyrus* sp. và TQD *I. multifiliis* cho nghiên cứu này. Thông tin mẫu cá, tỷ lệ và cường độ nhiễm từng loại ký sinh trùng của các mẫu mang cá dùng để phân tích biến đổi mô bệnh học được thể hiện ở bảng 1.

Kết quả quá trình quan sát triệu chứng và lấy mẫu mang cho biết hầu hết cá nhiễm ATSLSC (Hình 1, 2) đều có hiện tượng sưng hoặc kênh mang nhẹ, mang nhiều nhớt và cá thường nổi lên mặt nước mặc dù đã sục khí đầy đủ. Cá nhiễm SLDC *Dactylogyrus* sp. (Hình 3) và TQD *I. multifiliis* (Hình 4) thể hiện triệu chứng không rõ, khó phát hiện triệu chứng bằng mắt thường, chủ yếu quan sát thấy mang nhiều nhớt. Kết quả kiểm tra cường độ nhiễm từng loại ký sinh trùng ở các mẫu mang cho thấy cá mắc bệnh với tỷ lệ nhiễm và cường độ nhiễm cao, cường độ nhiễm nhiễm ATSLSC *C. formosanus*, SLDC *Dactylogyrus* sp. và TQD *I. multifiliis* lần lượt là $6,31 \pm 0,29$, $7,25 \pm 0,48$ và $6,54 \pm 0,13$ trùng/vi trường (Bảng 1).

ATSLSC *C. formosanus* là một trong những tác nhân gây bệnh cho nhiều loại cá, hơn 39 loài cá trên toàn thế giới đã được phát hiện nhiễm loài ấu trùng này. Trong số đó có nhiều loài cá phổ biến đang được nuôi ở Việt Nam như cá da

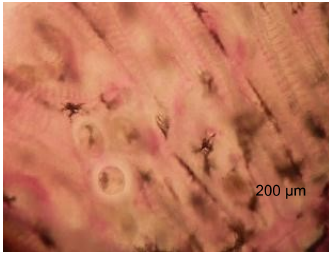
Bảng 1. Tỷ lệ và cường độ nhiễm KST trên mang cá trắm cỏ giai đoạn cá hương

Loài KST	Số lượng mẫu cá	Kích thước cá (cm)	Khối lượng cá (g/con)	TLN (%)	CĐN (KST/VT 10x10)
AT <i>C. formosanus</i>	27	6,13 ± 0,17	2,52 ± 0,12	100%	6,31 ± 0,29
<i>Dactylogyrus</i> sp.	19	5,94 ± 0,22	2,41 ± 0,19	100%	7,25 ± 0,48
<i>I. multifiliis</i>	12	6,21 ± 0,13	2,57 ± 0,15	100%	6,54 ± 0,13

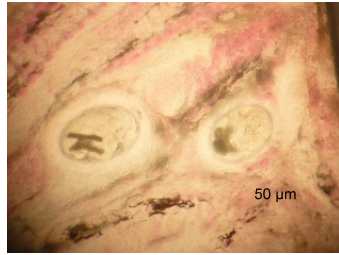
trơn, cá rô đầu vuông, cá chép, cá trắm đen, cá trắm cỏ (Pham Cu Thien et al., 2007; Scholz and Salgado-Maldonado, 2000; Vélez-Hernández et al., 1998). ATSLSC *C. formosanus* cũng gây ra hiện tượng chết hàng loạt lươn ở Nhật Bản và cá vàng ở Croatia (Gjur ević et al., 2007; Yanohara and Kagei, 1983). Hoạt động của ATSLSC thường gây cản trở quá trình hô hấp nên cá thường thiếu oxy (Alcaraz et al., 1999). Biểu hiện kênh mang nặng hay nhẹ khi bị nhiễm ATSLSC có thể phụ thuộc vào nhiều yếu tố như loài nhiễm, kích cỡ của cá và cường độ nhiễm. Nghiên cứu của Vélez-Hernández et al. (1998) cho thấy không hoặc khó phát hiện hiện tượng kênh mang khi cá chép nhiễm ấu trùng *C. formosanus*. Trong khi đó, nghiên cứu của Kim Van Van và cs. (2012) trên cùng loài cá chép cho thấy nếu bị nhiễm ATSLSC với cường độ cao có thể gây ra hiện tượng kênh mang. Ngoài ra, cá nhô thường nhạy cảm và dễ chết hơn với mầm bệnh này (McDonald et al., 2006). Ở mang cá trắm cỏ, ấu trùng *C. formosanus* ký sinh tập trung chủ yếu ở phần giữa của tơ mang sơ cấp (Hình 1). Đặc điểm này khá tương đồng với mô tả của Vélez-Hernández và cs. (1998) về đặc điểm ký sinh của ATSLSC *C. formosanus* trên mang cá chép, kết quả nhóm tác giả này chỉ ra rằng sự phân bố và số lượng AT *C. formosanus* ở hai bên mang cá là tương đương nhau, ấu trùng thường phân bố ở giữa và ngọn của tơ mang sơ cấp, trong đó khoảng 55% ấu trùng sán ký sinh ở 1/3 giữa của mang sơ cấp, 30% ở 1/3 ngọn và 15% còn lại ở 1/3 cuối cùng gần xương cung mang. Sự phân bố này có thể là kết quả thích ứng của các cercaria khi tìm kiếm chỗ ký sinh thích hợp để biến thái thành ấu trùng metacercaria, vì phần giữa và đầu mang sơ cấp là nơi gồm rất nhiều mao mạch (Madhavi, 1986), đặc biệt là xoang tĩnh mạch trung tâm (Yonkos et al., 2000).

Cá nhiễm SLĐC *Dactylogyrus* sp. với cường độ thấp thường không thể hiện rõ triệu chứng và rất khó nhận biết bằng mắt thường, tuy nhiên loài sán này dễ trứng với tốc độ nhanh nên dễ tái nhiễm trở lại với cường độ cao trong thời gian ngắn (Trương Đình Hoài và cs., 2013). Sán lá đơn chủ ngoài ký sinh ở mang còn ký sinh ở da, cường độ cao có thể gây mòn cụt vây và vây cá. Theo Dash và cộng sự (2014), hệ miễn dịch của cá ở giai đoạn nhỏ còn yếu nên dễ bị mắc bệnh, hơn nữa bản thân sán lá đơn chủ *Dactylogyrus* sp. còn có khả năng chống lại các tác động từ phản ứng miễn dịch của cơ thể cá. Trong môi trường nuôi có mầm bệnh này, ở giai đoạn cá hương cá trắm cỏ, cá chép, cá trôi sau khi nở khoảng 3-4 ngày hoặc kích cỡ cá khoảng 8mm đã bắt đầu nhiễm bệnh (Paperna, 1963). Mức độ ảnh hưởng của loài sán này trên cá cũng phụ thuộc rất nhiều vào cường độ nhiễm. Nghiên cứu của Thoney và Hargis (1991) chỉ ra rằng cá nhiễm SLĐC *Dactylogyrus* sp. thường phát triển chậm do cơ quan hô hấp bị tổn thương, trong trường hợp nhiễm cường độ cao >40 (sán/mang) thì có thể bắt đầu gây mòn mang, hoặc có thể bắt đầu gây chết cho cá có kích cỡ 3-4cm. Nhiều trường hợp cá mắc bệnh với cường độ nhiễm cao đã gây chết hàng loạt (Bauer, 1951).

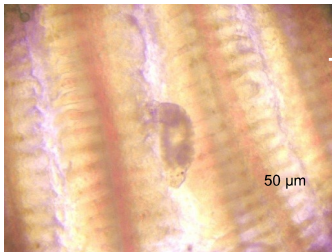
Trùng quả dưa *I. multifiliis* là một loài ngoại ký sinh trùng phổ biến và nguy hiểm đối với nhiều loài cá nước ngọt vì thiếu các phương pháp điều trị hiệu quả. Trùng quả dưa ký sinh ở mang và da, nhưng các triệu chứng trên da thường rõ rệt hơn, sau khi ký sinh chúng kích thích cơ thể tạo thành đốm mủ trắng. Lúc này, tỷ lệ chết của cá thường rất cao, có khi lên tới 100% (Noga, 2010). Trong nghiên cứu này, mang cá đã xuất hiện nhiều ấu trùng trophont



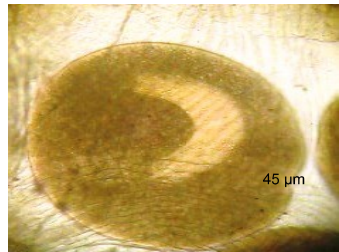
Hình 1. ATSLSC *C. formosanus* tập trung ký sinh ở vùng giữa tơ mang sơ cấp



Hình 2. Hình dạng ATSLSC *C. formosanus* trong mang cá



Hình 3. Sán lá đơn chủ ký sinh trên mang cá



Hình 4. Trùng quả dưa ký sinh ở mang cá

và trùng trưởng thành nhưng chưa phát hiện các đốm trắng trên da cá, điều này có thể là do sau khi bám lên cơ thể trùng mất ít nhất 40-72h để có thể bám chặt và tiến sâu vào tổ chức để gây ra kích thích miễn dịch từ cơ thể cá và hình thành thành đốm trắng (Ventura and Paperna, 1985).

3.2. Biến đổi mô bệnh học

Qua kiểm tra các mẫu mang cá bị bệnh, chúng tôi nhận thấy cả 3 loài ký sinh trùng đều gây ra các biến đổi mô bệnh học. Tuy nhiên, tỷ lệ bất gặp và mức độ thể hiện các biến đổi này cũng có sự khác biệt đáng kể (Bảng 2).

3.2.1. Biến đổi mô học ở mang cá nhiễm ATSLSC *C. formosanus*

Qua kiểm tra các tiêu bản mẫu mang bị bệnh do ATSLSC gây ra cho thấy các biến đổi mô bệnh học khá giống nhau ở cả 27 mẫu cá. Biến đổi mô

bệnh học đặc trưng do ấu trùng gây ra trên mang là các bọc ấu trùng sán ký sinh trong các tổ chức sụn và tơ mang làm biến dạng cấu trúc bình thường của mang (100%) và gây rối loạn tuần hoàn cục bộ như sung huyết (48,15%) và xuất huyết (51,58%). Với mang cá bình thường, các sợi mang sơ cấp có tổ chức sụn ở trung tâm, phân bố đều theo dọc tơ mang. Các sợi mang thứ cấp xếp theo hình răng lược đều và có khoảng cách để tăng diện tích tiếp xúc với môi trường nước và trao đổi oxy (Hình 5, 6 và 7). Ở mang cá bị bệnh, sự hiện diện của các bọc ấu trùng sán làm cho các tổ chức xung quanh tăng sinh mạnh gây biến dạng sợi mang sơ cấp và thứ cấp (Hình 8). Đặc biệt là sự tăng sinh mạnh mẽ của tổ chức sụn của tơ mang sơ cấp ở vị trí ký sinh và vùng lân cận phía sau vị trí ký sinh (Hình 9). Đồng thời các tế bào mang có những biến đổi bệnh lý rõ rệt như nở to và tăng sinh số lượng, sự tăng sinh này làm cho không

gian giữa các tơ mang thứ cấp và diện tích tiếp xúc với môi trường bị thu hẹp đáng kể (Hình 10), góp phần gây ra tình trạng thiếu oxy của cá bệnh. Sự xuất huyết và tụ máu xuất hiện nhiều ở các vùng lân cận và phần sau của tơ mang, nơi có ổ viêm nhiễm của các tế bào viêm và gây viêm dính giữa các tơ mang. Dần dần, chính sự tăng sinh và chèn ép này làm cho biểu mô mang dày lên, các sợi tơ mang thứ cấp mất dần hoặc mòn cụt do rối loạn tuần hoàn và thiếu dinh dưỡng (Hình 11).

3.2.2. Biến đổi mô học ở mang cá nhiễm sán lá đơn chủ *Dactylogyrus* sp.

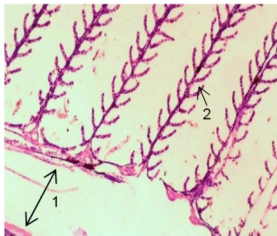
Kết quả kiểm tra biến đổi mô của 19 mẫu mang cá trầm cở ở giai đoạn cá hương nhiễm sán

lá đơn chủ *Dactylogyrus* sp. cho thấy biến đổi mô học chính ở mang cá bệnh là tơ mang không còn nguyên vẹn do đứt gãy các tơ mang thứ cấp (78,94%), tăng sinh biểu mô mang (63,15%) kèm theo xuất huyết (84,22%), không có biểu hiện của tăng sinh tổ chức sụn (Bảng 2). Sán lá đơn chủ *Dactylogyrus* sp. có 16 móc, trong đó đôi móc ở giữa rất chắc chắn, các móc này đâm sâu vào tổ chức của tơ mang và dần dần phá hủy các mô liên kết. Hoạt động của chúng làm cho các tơ mang bị đứt dần ở các vị trí chúng bám (Hình 12), đồng thời xuất hiện nhiều vị trí sung huyết hoặc xuất huyết, đặc biệt là các tơ mang có sán ký sinh (Hình 13). Sự tăng sinh, nở to và phù của các tế bào biểu mô mang làm không gian giữa các tơ mang thứ cấp giảm (Hình 12, 14).

Bảng 2. Tỷ lệ xuất hiện các tổn thương mô bệnh học do các loại ký sinh trùng gây ra (%)

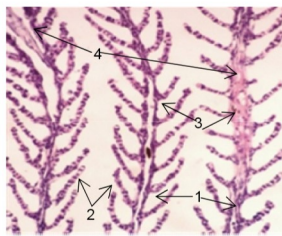
Tổn thương mô học	AT C. formosanus (n=27)	<i>Dactylogyrus</i> sp. (n=19)	<i>I. multifiliis</i> (n=12)
Tăng sinh biểu mô mang	100	63,15	58,33
Tăng sinh tổ chức sụn	100	5,26	-
Phù, nở to	92,59	57,89	-
Đứt gãy tơ mang	22,22	78,94	-
Xung huyết	48,15	15,78	33,33
Xuất huyết	51,85	84,22	66,67
Viêm dính tơ mang thứ cấp	62,97	10,52	-

Ghi chú: (-): không phát hiện



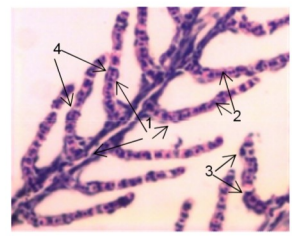
Hình 5. Cấu trúc mang cá khỏe (HE 4x10)

(1) Cung mang, (2) Tơ mang



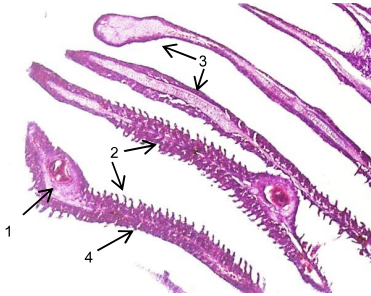
Hình 6. Sắp xếp sợi tơ mang sơ cấp, thứ cấp ở mang cá khỏe (HE 10x10)

(1) Tơ mang sơ cấp, (2) Tơ mang thứ cấp, (3) Xoang tĩnh mạch, (4) Tế bào sụn



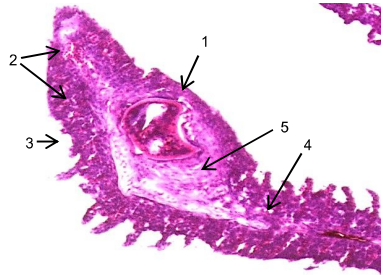
Hình 7. Các loại tế bào mang (HE 10x40)

(1) Tế bào hồng cầu, (2) Tế bào Chloride, (3) Tế bào Pilaster, (4) Tế bào biểu mô mang



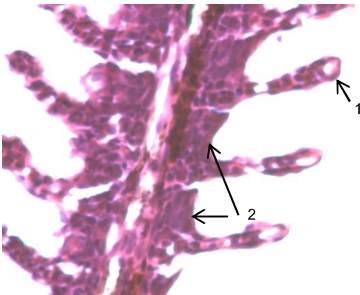
Hình 8. Sự biến dạng của mang cá trắm cỏ bị nhiễm ấu trùng sán lá song chủ (HE 10x10)

(1) Vị trí ấu trùng ký sinh; (2) Tầng sinh và xuất huyết các vùng lân cận bọc ấu trùng; (3) Mòn, đứt tơ mang thứ cấp; (4) Tầng sinh làm mất không gian giữa các tơ mang thứ cấp



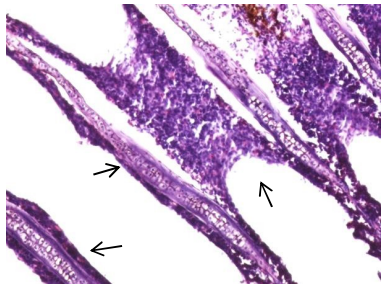
Hình 9. Tổn thương xung quanh vị trí bọc sán ký sinh (HE 15x40)

(1) Cấu trúc bọc ấu trùng sán; (2) Xuất huyết; (3) Tầng sinh tế bào mang và mòn đứt mang thứ cấp; (4) Phân bố bình thường của sụn trong tơ mang sơ cấp; (5) Tầng sinh tổ chức sụn xung quanh bọc ấu trùng sán.



Hình 10. Biến đổi cấu trúc tế bào vùng lân cận hoặc sau vị trí ký sinh trên tơ mang (HE 15x40)

(1) Tế bào mang nở to, tương phóng; (2) Vùng tế bào mang tầng sinh và thoái hóa.



Hình 11. Sự mòn đứt và viêm dính giữa các tơ mang (HE 10x40)

Các nghiên cứu trước đây về ảnh hưởng của *Dactylogyrus* sp. chỉ ra rằng tác động của các móc bám và men do ký sinh trùng tiết ra là hai nhân tố quan trọng nhất gây nên các tổn thương mang (Li and Yang, 2002). Ngoài ra, loài sán này có tập tính di động liên tục khi kiếm thức ăn và ngay cả khi sinh sản nên gây ra nhiều tổn thương trên diện rộng. Đặc tính thường xuyên di động giúp sán sinh sản

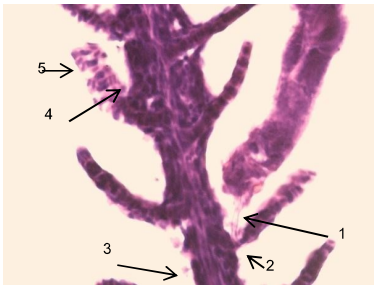
và phân phối trứng ở nhiều nơi trên mang để tăng số lượng và khả năng tái ký sinh cho sản con bởi vì loài này sinh sản liên tục sau khi thành thục (Roubal, 1986; Trương Đình Hoài và cs., 2013). Tác động của loài ký sinh trùng này thường gây nên rối loạn tuần hoàn cục bộ, nếu nặng còn gây ra hiện tượng hoại tử tại các vị trí đã ký sinh (Jalali and Barzegar, 2005; Wenkuan et al., 1994). Nghiên cứu của

Molnar (1972) cho thấy sự nhiễm bệnh cấp tính khi cho cá vào môi trường có sẵn mầm bệnh trong thời gian ngắn (1-2 ngày) chỉ gây ra tổn thương nhẹ và cục bộ ở vị trí sản ký sinh, tuy nhiên khi cá nhiễm bệnh trong thời gian dài, số lượng sản trưởng thành nhiều kèm theo các thể hệ con cháu được sinh ra sau đó sẽ gây ra tổn thương nặng nề trên diện rộng. Trong nghiên cứu này, cá đã nhiễm bệnh trong thời gian khá dài, nhiều sản trưởng thành và sản non, trong đó có những

sản đang trong quá trình đẻ trứng (Hình 15) nên những biến đổi mô học khá rõ ràng.

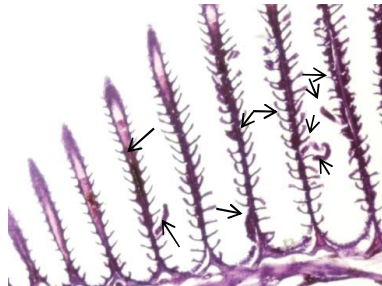
3.2.3. Biến đổi mô học ở mang cá nhiễm trùng quả dưa *I. multifiliis*

Trong số các mẫu mang cá nhiễm trùng quả dưa, hầu hết thể hiện sự sung huyết, xuất huyết và tăng sinh biểu mô mang. Ngoài ra, tổ chức sụn tăng sinh nhưng không đáng kể, không phát hiện hiện thấy tượng đứt gãy tơ mang (Hình 16, 17).

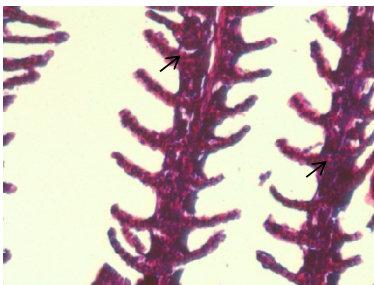


Hình 12. Mang cá nhiễm sản lá đơn chủ *Dactylogyrus* sp. (HE 15x40)

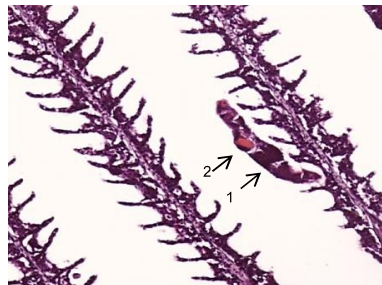
(1) Móc bám *Dactylogyrus* sp. trên tơ mang; (2) Vị trí bám mỏng sấp đứt; (3) Vị trí mang thứ cấp bị đứt; (4) tăng sinh biểu mô mang; (5) tế bào nở to, phù tế bào mang.



Hình 13. Sản lá đơn chủ *Dactylogyrus* sp. và các vị trí xuất huyết hoặc dung giải trên mang (HE 4x10)

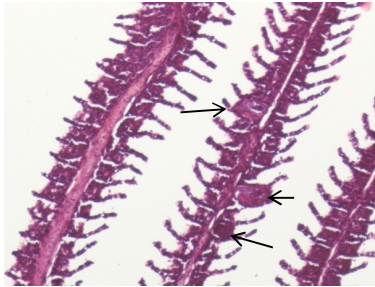


Hình 14. Tơ mang tăng sinh, xuất huyết (HE 15x40)

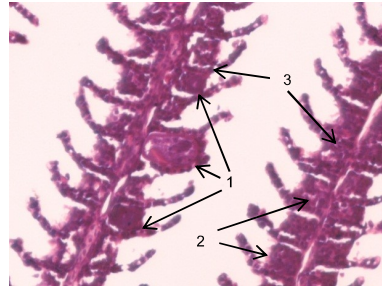


Hình 15. Sản trưởng thành ký sinh (HE 10x40)

(1) Sản ký sinh; (2) Trứng trong cơ thể sản trưởng thành



Hình 16. Mang cá nhiễm trùng quả dưa (HE 10x40)



Hình 17. Biến đổi mô học mang nhiễm trùng quả dưa (HE 15x40)

(1) Trùng quả dưa; (2) Tầng sinh tổ chức; (3) Sung huyết và xuất huyết.

Những biến đổi mô bệnh do trùng quả dưa ở nghiên cứu này có mức độ nhẹ hơn so với các nghiên cứu trước kia. Lý do dẫn đến sự khác biệt này liên quan đến thời gian thu mẫu. Theo Ventura và Paperna (1985), để đạt được các biến đổi mô học đặc trưng của bệnh này, các mẫu mang phải được thu sau khi trùng trưởng thành xuất hiện ít nhất là 3 ngày. Trong 3 ngày ngày đầu phát triển, trùng quả dưa chủ yếu di chuyển và bắt đầu tìm vị trí ký sinh trên mang, sau đó kích thích các biểu mô mang đẩy lên, tăng sinh và giữ chặt trùng. Dần dần, trùng chìm vào giữa các tơ mang thứ cấp và tiết dịch kích thích tổ chức xung quanh, đặc biệt các tế bào tiết dịch nhầy và tế bào chloride sẽ hoạt động mạnh, tăng sinh mạnh mẽ, dần dần các tơ mang sẽ hoại tử, dung giải và gắn chặt vào nhau và bao trùm trùng. Các ổ viêm hình thành và hoạt động thực bào hoạt động mạnh nên mang ngày càng bị tổn thương nặng nề. Khi trùng trưởng thành rời ký chủ, chúng để lại các hang, hốc trên mang, trên da, tạo điều kiện cho vi khuẩn, nấm bội nhiễm, thậm chí làm cho cá mất cân bằng điện giải dẫn đến chết cá. Do vậy, cần có những nghiên cứu tiếp theo để làm rõ biến đổi mô học do ký sinh trùng này gây ra theo thời gian để đánh giá xác thực mức độ gây tổn thương, đặc biệt là giai đoạn trùng quả dưa hình thành các đốm trắng trên da và mang cá.

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Biến đổi mô bệnh học trên mang cá trầm cỏ gây ra bởi 3 loại ký sinh trùng gồm ATSLSC *C. formosanus*, SLĐC *Dactylogyrus* sp. và TQD *I. multifiliis* là sự thay đổi cấu trúc bình thường của mang như tăng sinh, biến dạng, đứt gãy, nở to và gây rối loạn tuần hoàn cục bộ trên mang cá. ATSLSC *C. formosanus* thường gây ra những tổn thương và biến đổi mô học nặng nề và rõ ràng hơn so với hai loài ký sinh trùng còn lại.

4.2. Đề nghị

Tiếp tục nghiên cứu biến đổi mô học của cá nhiễm trùng quả dưa theo thời gian nhiễm để xác định đặc điểm bệnh lý của tổ chức khi trùng hình thành các đốm trắng.

Tiếp tục nghiên cứu các chỉ tiêu huyết học do các bệnh ký sinh trùng này gây ra để có các đánh giá sâu sắc về tác hại của ký sinh trùng đến toàn thân.

LỜI CẢM ƠN

Để thực hiện nghiên cứu này, tác giả xin cảm ơn sự hỗ trợ tài chính từ đề tài cấp Học viện (Mã số T2013-02-08) của Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Tác giả xin cảm ơn các trang trại sản

xuất giống thủy sản ở khu vực thu mẫu đã tạo điều kiện và hỗ trợ nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Alcaraz, Guillermina, León, Gerardo Pérez-Ponce de, Garcia P, Luis, León-Règagnon, Virginia and Vanegas, Cecilia. (1999). Respiratory responses of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Cyprinidae) to parasitic infection by *Centrocestus formosanus* (Digenea). The Southwestern Naturalist, 44(2): 222-226.
- Bauer, O.N. (1951). Concerning pathogenicity of *Dactylogyrus solidus* Achmerov. Doklady Akad. Nauk., USSR, 78: 825-827.
- Chen, HT. (1942). The metacercaria and adult of *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924), with notes on the natural infection of rats and cats with *C. armatus* (Tanabe, 1922). The Journal of Parasitology, 28(4): 285-298.
- Dash, Pujarini, Kar, Banya, Mishra, Arpita and Sahoo, PK. (2014). Effect of *Dactylogyrus catilais* (Jain 1961) infection in Labeo rohita (Hamilton 1822): innate immune responses and expression profile of some immune related genes. Indian Journal of Experimental Biology, 52: 267-280.
- Đỗ Thị Hòa, Bùi Quang Tề, Nguyễn Hữu Dũng và Đỗ Thị Muội (2004). Bệnh học thủy sản. Nhà Xuất bản Nông nghiệp, tr. 262-265.
- Gjurčević, Emil, Petrinc, Zdravko, Kozarić, Zvonimir, Kužir, Snježana, Kantura, V Gjurčević, Vučemilo, Marija and Džaja, Petar. (2007). Metacercariae of *Centrocestus formosanus* in goldfish (*Carassius auratus* L.) imported into Croatia. Helminthologia, 44(4): 214-216.
- Hà Kỳ và Bùi Quang Tề (2007). Ký sinh trùng cá nước ngọt Việt Nam. Nhà Xuất bản Khoa học và Kỹ Thuật, tr. 10-16.
- Jalali, B and Barzegar, M. (2005). Dactylogyrids (Dactylogyridae: Monogenea) on common Carp (*Cyprinus carpio* L.) in freshwaters of Iran and description of the pathogenicity of *D. sahuensis*. J. Agric. Sci., 7: 9-16.
- Kim Van Van, Trương Đình Hoài, Buchmann Kurt, Dalgaard Anders and Nguyen Van Tho. (2012). Efficacy of praziquantel against *Centrocestus formosanus* metacercariae infections in common car (*Cyprinus carpio* Linnaeus). Journal of Southern Agriculture, 43(4): 520-523.
- Khorramshahr, Iran. (2012). Histopathological study of parasitic infestation of skin and gill on Oscar (*Astronotus ocellatus*) and discus (Symphysodon discus). AACL Bioflux, 5(1): 88.
- Li, Li-wei and Yang, Wen-chuan (2002). Microhabitats and Histopathology of *Dactylogyrus inversus* (Monogenea: Dactylogyridae) Infection in Perch, *Lateolabrax japonicus*. Journal - Xiamen University Nature Science, 41(2): 234-237.
- Madhavi, R. (1986). Distribution of metacercariae of *Centrocestus formosanus* (Trematoda: Heterophyidae) on the gills of *Aplocheilichthys panchax*. Journal of fish biology, 29(6): 685-690.
- McDonald, Dusty L, Bonner, Timothy H, Brandt, Thomas M and Trevino, Guadalupe H. (2006). Size susceptibility to trematode-induced mortality in the endangered fountain darter (*Etheostoma fonticola*). Journal of Freshwater Ecology, 21(2): 293-299.
- Molnar, K. (1972). Studies on gill parasitosis of the grasscarp (*Ctenopharyngodon idella*) caused by *Dactylogyrus lamellatus* Achmerov (1952). IV. Histopathological changes. Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae, 22(1): 9-24.
- Mumford, S, Heidel, J, Smith, C, Morrison, J, Macconnell, B and Blazer, V. (2007). Fish histology and histopathology manual. US Fish & Wildlife Service, National Conservation Training Center (USFWS-NCTC), Processing Tissues For Histology (Chapter I), pp. 1-10.
- Noga, Edward J. (2010). Fish disease: diagnosis and treatment: John Wiley & Sons, pp. 130-137.
- Paperna, I. (1963). Dynamics of *Dactylogyrus vasta* for Nybelin (Monogenea) populations on the gills of carp fry in fish ponds. Bamidgheh, Israel. 15: 31-50.
- Pham Cu Thien, Anders, Dalsgaard, Bui Ngoc Thanh, Olsen Annette and Darwin, Murrell K. (2007). Prevalence of fishborne zoonotic parasites in important cultured fish species in the Mekong Delta, Vietnam. Parasitology research, 101(5): 1277-1284.
- Roubal, Frank R. (1986). Studies on monogeneans and copepods parasitizing the gills of a sparid (*Acanthopagrus australis* (Günther)) in northern New South Wales. Canadian journal of zoology, 64(4): 841-849.
- Scholz, Tomás and Salgado-Maldonado, Guillermo. (2000). The introduction and dispersal of *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924) (Digenea: Heterophyidae) in Mexico: a review. The American Midland Naturalist, 143(1): 185-200.
- Thoney, DA and Hargis, WJ. (1991). Monogenea (Platyhelminthes) as hazards for fish in confinement. Annual Review of Fish Diseases, 1: 133-153.

- Trương Đình Hoài, Nguyễn Thị Hậu và Kim Văn Vạn (2013). Đặc điểm sinh học sinh sản của sán lá đẻ trứng *Dactylogyrus* sp. ký sinh trên cá trắm cỏ. Tạp chí Khoa học và Phát triển, 11(7): 957-964.
- Vélez-Hernández, EM, Constantino-Casas, F, García-Márquez, LJ and Osorio-Sarabia, D. (1998). Short communication Gill lesions in common carp, *Cyprinus carpio* L., in Mexico due to the metacercariae of *Centrocestus formosanus*. Journal of fish diseases, 21(3): 229-232.
- Ventura, MT and Paperna, I. (1985). Histopathology of *Ichthyophthirium multifiliis* infections in fishes. Journal of Fish Biology, 27(2): 185-203.
- Wenkuan, Li, Xiang, Yu, Xiurong, Wen, Changlin, Ren, Lixing, Pei and Shixun, Fan. (1994). Studies on the gill histopathology of Silver carp, *Hypophthalmichthys Molitrix*, infected by Dactylogyriasis (*Dactylogyrus Vaginulatus* Zang et Niu, 1996) and its treatment. Journal of Fisheries of China, 18(4): 305-311.
- Yamaguti, Satyu. (1975). Synoptical review of life histories of digenetic trematodes of vertebrates with special reference to the morphology of their larval forms. (<http://agris.fao.org> US201300561589, 590 p).
- Yanohara, Y and Kagei, N. (1983). Studies on the metacercariae of *Centrocestus formosanus* (Nishigori, 1924)--I. Parasitism by metacercariae of the gills of young cultured eels, and abnormal deaths of the hosts. Fish Pathology, 17(4): 237-241.
- Yanohara, Y, Nojima, H and Sato, At. (1987). Incidence of *Centrocestus formosanus* infection in snails. The Journal of parasitology, 73(2): 434-436.
- Yonkos, LT, Fisher, DJ, Reimschuessel, R and Kane, AS. (2000). Atlas of fathead minnow normal histology. An online publication of the University of Maryland Aquatic Pathobiology Center (<http://aquaticpath.umd.edu/fhm>).