

NGHIÊN CỨU SỬ DỤNG AZAPERONE TRONG GÂY MÊ CÁ NHEO MỸ (*Ictalurus punctatus*)

Vũ Đức Mạnh¹, Kim Minh Anh¹, Đỗ Đình Hùng²,
Lê Xuân Chính³, Lê Việt Dũng¹, Phạm Thị Lam Hồng¹, Kim Văn Vạn^{1*}

¹Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

²Công ty TNHH Thú y Toàn Cầu

³Ban Khoa học và Công nghệ, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

*Tác giả liên hệ: kvvan@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.03.2025

Ngày chấp nhận đăng: 20.05.2025

TÓM TẮT

Cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) là loài có vây cứng, sắc nhọn nên dễ tổn thương trong quá trình đánh bắt, vận chuyển cũng như thực hiện thao tác nghiên cứu. Gây mê là một phương án tiềm năng để khắc phục vấn đề trên, đồng thời hướng tới an sinh động vật thủy sản. Azaperone là hợp chất có tác dụng an thần, giảm đau và gây mê cho động vật trong quá trình vận chuyển cũng như thao tác kỹ thuật và chưa có công bố thử nghiệm trên cá nheo Mỹ. Nghiên cứu thử nghiệm sử dụng Azaperone gây mê cá nheo Mỹ bằng phương pháp ngâm bao gồm 3 thí nghiệm: xác định độc tính cấp tính, khả năng và nồng độ gây mê. Kết quả xác định được giá trị LC_{50-96 giờ} là 1,731ppm (ở điều kiện nhiệt độ môi trường 26-28°C, pH = [7,5-7,9], DO > 5,0 mg/l). Hành vi bơi lội, khả năng thăng bằng và tốc độ hô hấp của cá thay đổi qua các giai đoạn của quá trình gây mê. Nồng độ 20ppm là phù hợp cho gây mê cá nheo Mỹ trong 20 phút với nhiều mục đích khác nhau, trong đó có giải phẫu và vận chuyển.

Từ khóa: Azaperone, gây mê, *Ictalurus punctatus*, LC_{50-96 giờ}.

Using Azaperone for anesthetizing Channel catfish (*Ictalurus punctatus*)

ABSTRACT

The Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) possesses rigid, sharp fins, making it prone to injury during capture, transportation and research procedures. Anesthesia is a potential solution to mitigate these issues while promoting aquatic animal welfare. Azaperone is a compound with sedative, analgesic, and anesthetic properties commonly used for animal capture and transport but has not yet tested on Channel catfish. This study explored the use of Azaperone as an anesthetic for Channel catfish through immersion comprising three experiments: acute toxicity level, anesthetic efficacy, and optimal concentration. The results indicated an LC_{50-96h} of 1.737ppm under environmental conditions of 26-28°C, pH [7.5-7.9] and DO > 5.0 mg/l. Swimming behavior, balance, and respiratory rate varied across the stages of anesthesia. A concentration of 20ppm was found to be suitable for anesthetizing Channel catfish for 20 minutes, making it appropriate for various purposes, including surgery and transportation.

Keywords: Anesthesia, Azaperone, *Ictalurus punctatus*, LC_{50-96h}.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) du nhập vào Việt Nam từ những năm 2010. Với ưu điểm về tốc độ tăng trưởng, khả năng thích nghi và giá trị kinh tế cao nên cá nheo Mỹ dần trở thành loài phổ biến ở khu vực phía Bắc và đang được nuôi thử nghiệm ở nhiều tỉnh thành trên

cả nước (Kim Văn Vạn, 2017; Trương Đình Hoà & cs., 2020; Vũ Đức Mạnh & cs., 2022). Từ năm 2022, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 1 đã hoàn thiện quy trình sản xuất giống cá nheo Mỹ và chuyển giao đến nhiều tỉnh thành, từ đó giúp làm giảm áp lực phụ thuộc vào nguồn giống nhập ngoại. Tuy nhiên, công nghệ vận chuyển vẫn chưa được quan tâm đúng mức. Các

phương pháp vận chuyển phổ biến hiện nay bao gồm vận chuyển bằng phương tiện thô sơ và vận chuyển bằng túi PE hay PVC bơm oxy (Vũ Đức Mạnh & cs., 2024). Bên cạnh đó, cá nheo Mỹ cũng là loài có vây cứng, sắc nhọn, dễ làm tổn thương cá thể cùng đàn khi đưa vào không gian hẹp. Các đặc điểm này gây ra nhiều rủi ro, ảnh hưởng đến tỉ lệ sống của cá khi vận chuyển bằng các phương pháp truyền thống. Ngoài ra, cá thí nghiệm thường hoảng sợ và có phản ứng mạnh gây khó khăn cho quá trình thực hiện thao tác nghiên cứu.

Hiện nay, nhiều nước trên thế giới đã phát triển ứng dụng gây mê trong đánh bắt và vận chuyển động vật thủy sản. Đây là một trong những phương pháp để giảm thiểu stress ở cá trong nuôi trồng thủy sản (Neiffer & Stamper, 2009). Việc sử dụng thuốc gây mê cá có thể ngăn ngừa tổn thương cơ thể và làm giảm quá trình trao đổi chất trong khi vận chuyển (giảm tiêu thụ oxy và chất bài tiết) (Burka & cs., 1997; Charoendat & cs., 2009). Đã có nhiều loại thuốc gây mê mang lại hiệu quả, an toàn và tỉ lệ chết thấp khi sử dụng trên cá nheo Mỹ như dầu đinh hương, MS-222 và propofol (Waterstrat, 1999; Small, 2003; Welker & cs., 2007; Priborsky & Velisek, 2018). Tại Việt Nam, cá nheo Mỹ thường được đánh bắt, vận chuyển bằng các thiết bị đơn sơ dẫn đến hao hụt nhiều trong quá trình vận chuyển ra ao hay lồng bè, do vậy cần có những biện pháp để kiểm soát. Trong khi đó, gây mê là một biện pháp hiệu quả nhưng chưa được sử dụng phổ biến. Ở một khía cạnh khác, gây mê cũng được ứng dụng nhiều trong quá trình giải phẫu động vật thủy sản nhằm hạn chế rủi ro tai nạn cho người thực hiện. Xa hơn nữa, gây mê động vật thủy sản trước khi thực hiện các thao tác kỹ thuật nhằm đảm bảo phúc lợi cho động vật (Zahl & cs., 2012). Do vậy, cần có thêm nghiên cứu về gây mê động vật thủy sản để ứng dụng vào thực tiễn.

Azaperone là một dẫn xuất butyrophenone, có tính chất α -adrenergic, cấu trúc hóa học là (1-(4-fluorophenyl)-4-[4-(2-pyridinyl)-1-piperazinyl]-1-butanone). Thuốc được sử dụng cho lợn để ngăn ngừa stress, sụt cân và chết trong quá trình vận chuyển (Sams & cs., 1996). Trên đối tượng thủy sản, Azaperone làm giảm phản ứng

kích động của cá mập nhám (*Squalus acanthias*) mà không gây suy giảm vận động thông qua cơ chế ngăn chặn các thụ thể Dopaminergic-Ing (Latas, 1987). Với cơ chế tương tự, Azaperone cũng có thể làm giảm kích động, hô hấp và vận động của động vật thủy sản khác trong quá trình vận chuyển. Tại Việt Nam, Azaperone có giá thành thấp và thường được sử dụng trên gia súc. Vũ Đức Mạnh & cs. (2024) đã thử nghiệm gây mê trên đối tượng cá có vẩy là rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*) bằng Azaperone và thu được kết quả khả quan. Tuy nhiên, hiện tại chưa có công bố chính thức về khả năng sử dụng Azaperone làm chất gây mê trên cá da trơn.

Nghiên cứu được thực hiện nhằm thăm dò độc tính và đánh giá khả năng gây mê của hoạt chất Azaperone trên cá nheo Mỹ giống, hướng đến ứng dụng trong quá trình đánh bắt, vận chuyển, thao tác và cải thiện phúc lợi động vật trong thực tiễn sản xuất.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Địa điểm và thời gian

Thí nghiệm được thực hiện từ tháng 02-10/2024 tại Phòng Thí nghiệm bộ môn Môi trường và Bệnh thủy sản, Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam. Hoạt động thí nghiệm trên động vật tuân thủ theo quy định của cơ sở và được phê duyệt thực hiện theo đề tài SV2024-11-67.

2.2. Vật liệu và phương pháp

2.2.1. Vật liệu

Cá thí nghiệm được chuẩn bị như hướng dẫn số 203 của OECD (2019): cá nheo Mỹ khỏe mạnh được thích nghi trong bể có thể tích 6m³ được sục khí liên tục và nuôi thuần trong 9 ngày. Để cá nhịn ăn 24 giờ trước khi làm thí nghiệm nhằm hạn chế tình trạng nôn (dẫn đến tắc nghẽn mang) và giảm sản sinh chất thải trong quá trình thử nghiệm (Harms & Bakal, 1995; Stetter, 2001). Sau 9 ngày thuần hóa và ổn định, cá được thu ngẫu nhiên để kiểm tra xác định không nhiễm bệnh nấm, ký sinh trùng, vi khuẩn thường gặp trước khi cân trọng lượng. Tổng cộng 254 cá

nheo Mỹ có khối lượng trung bình $20,1 \pm 0,90g$ được sử dụng trong nghiên cứu.

Thuốc Azaperone (SAN HEH, Đà Loan) được nhập khẩu và cung cấp tại thị trường Việt Nam, sản phẩm tinh chế dưới dạng dung dịch hàm lượng 4% (40 mg/1ml).

Thiết bị khác: Bình nhựa 15l, kim tiêm, đá lạnh, cân kỹ thuật hai chữ số, sục khí, bể composite 300l, thức ăn viên nổi hãng Cargill mã số 7434 có hàm lượng protein thô $\geq 35\%$, bút đo pH, nhiệt độ (Hanna, USA), DO, bộ test NO_2^- , NH_3/NH_4^+ (Serra, Đức).

2.2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên với sự đồng nhất về hóa chất, loại cá, môi trường nước và bể thí nghiệm. Sau khi thích nghi, cá được tiến hành cân, lọc kích cỡ trước khi thực hiện thí nghiệm. Trong cả quá trình thí nghiệm, điều kiện môi trường nước được duy trì ở mức nhiệt độ $26-28^\circ C$, pH 6,8-7,9, DO > 5 mg/l, $NH_3/NH_4^+ \leq 0,5$ mg/l và $NO_2^- \leq 0,5$ mg/l nhằm đảm bảo sự sống bình thường của cá nheo Mỹ (Boyd & Pillai, 1985; Nguyễn Anh Hiếu & Nguyễn Hữu Ninh, 2014). Thời gian diễn ra các

phản ứng cơ thể của cá được ghi lại bằng đồng hồ bấm giờ. Cá được coi là mất trạng thái cân bằng khi ở tư thế ngửa bụng trên 3 giây.

Thí nghiệm 1 (TN1): Xác định độc tính cấp tính LC_{50-96} giờ của Azaperone trên cá nheo Mỹ thực hiện theo phương pháp thử nghiệm môi trường tĩnh như hướng dẫn tại Test Guideline No. 203 (OECD, 2019). Cơ sở thử nghiệm các nồng độ tham khảo theo thông tin thử nghiệm trên cá rô phi của Vũ Đức Mạnh & cs. (2024). Mỗi nghiệm thức gồm 3 bể tương ứng với 3 lần lặp, mỗi bể chứa 250l có nồng độ Azaperone khác nhau (Bảng 2) được bố trí 10 cá (mật độ 0,8g cá/l). Sục khí cung cấp oxy liên tục trong suốt thí nghiệm. Sau đó tiến hành xác định tỷ lệ chết ở từng nghiệm thức trong vòng 96 giờ. Cá được coi là đã chết khi không có chuyển động nắp mang và không phản ứng khi bị kích thích trong vòng 10 phút sau khi đưa vào môi trường hồi phục. Toàn bộ cá chết từ khi bắt đầu đến khi kết thúc thí nghiệm được tiến hành đánh giá sơ bộ nguyên nhân. Kết quả thu được dùng để tính toán xác định nồng độ gây chết 50% cá thí nghiệm của Azaperone (LC_{50-96} giờ) và phân loại độc cấp tính (United Nations, 2011).

Bảng 1. Nhận diện các giai đoạn gây mê và hồi phục cá
(Iwama & cs., 1989; Burka & cs., 1997; Hill, 1999; Imanpoor & cs., 2010)

Giai đoạn		Mức độ	Dấu hiệu nhận biết				
			Trạng thái	Hoạt động	Cân bằng	Hô hấp	Phản ứng
Gây mê (GM)	GM1	An thần	Mất phương hướng	Giảm	Bình thường	Bình thường	Bình thường
	GM2	Kích thích	Kích động	Tăng	Khó khăn	Tăng	Tăng
	GM3	Mê nhẹ	Bị gây mê	Không có	Mất cân bằng	Giảm	Chỉ phản ứng với tác động mạnh
	GM4	Mê sâu	Bị gây mê	Không có	Mất trạng thái cân bằng	Giảm	Không có
	GM5	Quá liều	Gây chết	Không có	Mất trạng thái cân bằng	Không có	Không có
Hồi phục (HP)	HP1	Cơ thể bất động nhưng nắp mang bắt đầu hoạt động					
	HP2	Nắp mang hoạt động bình thường và toàn bộ cơ thể bắt đầu hoạt động nhẹ					
	HP3	Cá hoạt động bình thường như trước khi gây mê					

Bảng 2. Nồng độ thuốc sử dụng trong thí nghiệm

Thí nghiệm	Nồng độ Azaperone (ppm)
TN1	0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 và 0 (ĐC)
TN2	4; 8; 12; 16; 20; 24; 28 và 0 (ĐC)
TN3	12; 16; 20

Thí nghiệm xác định khả năng gây mê cá nheo Mỹ bằng Azaperone (TN2): trên cơ sở tham khảo nghiên cứu trên cá rô phi của Vũ Đức Mạnh & cs. (2024), các nồng độ thuốc tương ứng được bố trí để xác định khả năng gây mê với các dấu hiệu nhận diện như ở bảng 1. Chúng tôi tiến hành với các nồng độ khác nhau như mô tả TN2 ở bảng 2: đưa từng cá thể cá vào bình chứa 10l môi trường thí nghiệm và theo dõi sự thay đổi qua các giai đoạn của quá trình gây mê, mỗi nồng độ 4 cá thể tương ứng 4 lần lặp lại. Theo dõi số lần đóng mở nắp mang qua các giai đoạn để đánh giá thay đổi về trạng thái hô hấp của cá. Thời gian tồn tại của cá ở các nghiệm thức được chuyển đổi sang dạng logarit tự nhiên (ln) và tính toán phương trình hồi quy để đánh giá mối quan hệ giữa nồng độ thuốc và thời gian tồn tại.

Trên cơ sở các nồng độ Azaperone có khả năng gây mê xác định được ở TN2, chúng tôi tiến hành xác định nồng độ thích hợp nhất cho gây mê cá nheo Mỹ giống. Các nồng độ sử dụng được thể hiện ở TN3 (Bảng 2), gây mê được thực hiện theo quy trình gây mê và hồi mê ở bảng 1. Chúng tôi tiến hành đưa từng cá thể cá vào bình chứa 10l dung dịch có nồng độ khác nhau, 4 cá thể tương ứng với 4 lần lặp cho mỗi nghiệm thức. Sau khi bị gây mê ở giai đoạn gây mê 3 (GM3) thì cá được đưa vào bình nước sạch và đảm bảo đủ nồng độ oxy để hồi phục. Thông số môi trường được xác định ở thời điểm bắt đầu và kết thúc thí nghiệm; thời gian gây mê, hồi phục và tỉ lệ sống sau 24 giờ của cá được tổng hợp lại.

2.2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm Excel phiên bản 2016. Giá trị trung bình ($M \pm SD$), MIN, MAX, khoảng biến thiên ($x - y$), ln được tính toán và so sánh. Sử dụng phần mềm SPSS phiên bản 20 để tính LC_{50-96} thông qua mô hình hồi quy probit. Xử lý thống kê với công cụ phân tích phương sai một yếu tố (One-Way ANOVA) và trắc nghiệm Duncan ở mức ý nghĩa 95% để so sánh đánh giá sự khác biệt giữa giá trị trung bình (thời gian gây mê, hồi phục và số nhịp hô hấp) của các nghiệm thức.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả độc tính cấp tính LC_{50-96} giờ

Kết quả thí nghiệm (Hình 1A) trên cá nheo Mỹ cho thấy ở lô đối chứng và 0,5ppm không xuất hiện cá chết. Ở nồng độ 1ppm bắt đầu xuất hiện cá chết, đây là nồng độ thấp nhất làm cá chết. Ở nồng độ 3,0ppm quan sát được 10/10 cá thí nghiệm chết ở cả 3 lần lặp. Từ mô hình hồi quy probit xác định được LC_{50-96} giờ của Azaperone đối với cá nheo Mỹ cỡ 20g (ở điều kiện môi trường thí nghiệm 26-28°C, pH = [7,5-7,9], DO = 6,3 mg/l) là 1,731ppm. Hệ số xác định $R^2 = 0,9259$ cho thấy tỷ lệ cá chết và nồng độ Azaperone tương quan thuận rất chặt chẽ (Hình 1B). Tất cả các trường hợp cá chết ghi nhận được đều trong vòng 16 giờ tính từ thời điểm bắt đầu chứng tỏ Azaperone gây độc tính cấp tính. Qua kết quả trên có thể cho thấy khả năng chịu đựng của cá nheo Mỹ với Azaperone rất thấp, được phân loại độc cấp tính thuộc nhóm 1 (United Nations, 2011).

Một số nghiên cứu về gây mê cá nheo Mỹ sử dụng các hợp chất phổ biến có độc tính thấp như MS-222 và dầu đinh hương đều cho hiệu quả cao (Welker & cs., 2007). LD_{50-10} phút của dầu đinh hương trên cá nheo Mỹ giống cỡ dưới 20g là 300ppm (Waterstrat, 1999, Small, 2003). Ở nồng độ từ 50ppm MS-222 bắt đầu ghi nhận thấy cá nheo Mỹ chết sau 3 giờ tiếp xúc (Welker & cs., 2007). Ở điều kiện môi trường 29,2°C, pH = 7,5-7,9, DO = 6,3 mg/l, thông số LC_{50-96} giờ của thuốc có chứa 4% Azaperone trên cá rô phi cỡ 20 g/cá là 21,14ppm (Vũ Đức Mạnh & cs., 2024).

3.2. Khả năng gây mê cá nheo Mỹ bằng Azaperone

Thông thường, quá trình gây mê sẽ bao gồm 5 giai đoạn, tuy nhiên một số giai đoạn sẽ không xuất hiện tùy thuộc vào loài cá, loại thuốc, liều lượng và thời gian cảm ứng (Stetter, 2001). Dấu hiệu nhận biết về sự thay đổi trạng thái của cá qua các giai đoạn trong quá trình gây mê bao gồm: màu sắc, nhịp tim, tốc độ vận động (Burka & cs., 1997). Kết quả thu được cũng cho thấy các

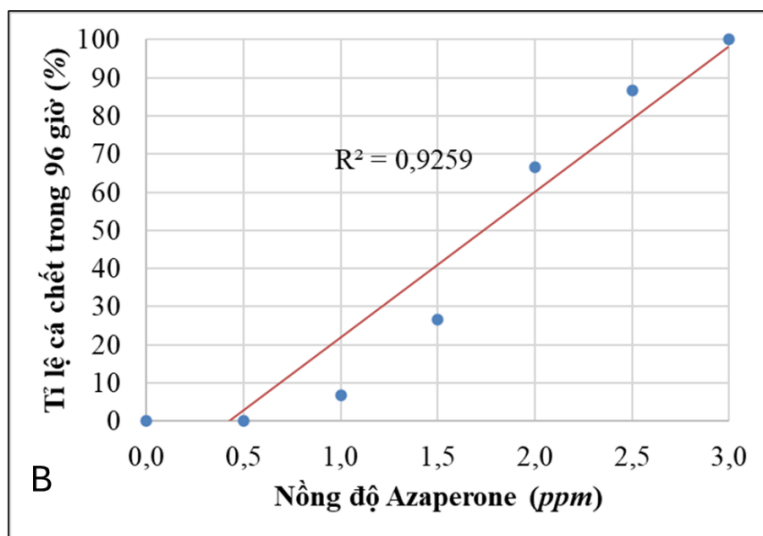
dấu hiệu thay đổi trạng thái vận động và khả năng thăng bằng (Hình 2A-D). Hô hấp của cá nheo Mỹ cũng thay đổi qua các giai đoạn của quá trình gây mê (Hình 2E). Ở giai đoạn đầu của quá trình gây mê, cá chìm đáy và vận động nhẹ nhàng. Đến giai đoạn 2 (GM2), cá có biểu hiện kích thích bơi liên tục và hô hấp tăng lên bất thường ($168 \pm 13,3$ nhịp/phút). Một số biểu hiện khác theo dõi được trong thí nghiệm bao gồm: vây ngực dựng; sắc tố thay đổi; cá chuyển động đột ngột, bơi xoay vòng; chìm đáy kèm theo trạng thái hôn mê. Nhìn chung, dấu hiệu nhận biết các giai đoạn của quá trình gây mê cá nheo Mỹ đều rõ ràng.

Sử dụng Azaperone gây mê cá rô phi vẫn cũng cho thấy các dấu hiệu tương tự (Vũ Đức Mạnh & cs., 2024). Một số phản ứng bất thường về chỉ tiêu miễn dịch và sinh lý khác của cá

cũng được ghi nhận trong quá trình gây mê như: giảm trao đổi chất, tăng nhịp tim tạm thời, tăng glucose, lactate, cortisol (Houston & cs., 1971; Iwama & cs., 1989; Wedermeyer, 1996; Burka & cs., 1997).

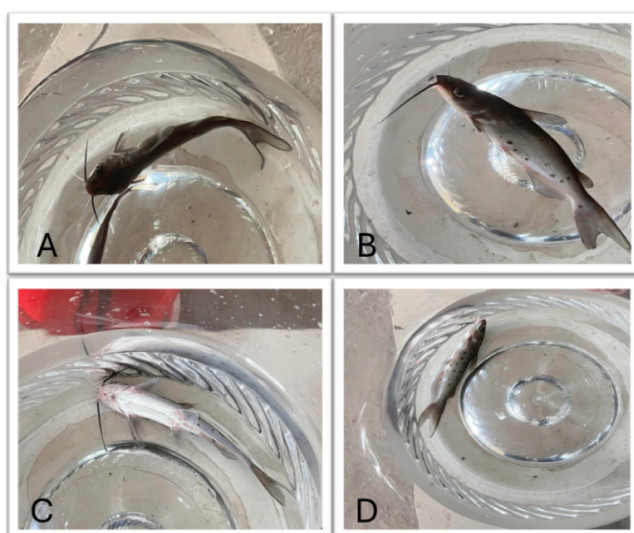
Trên thực tế, gây mê cho động vật thủy sản hướng đến giai đoạn GM3, GM4 phục vụ cho quá trình vận chuyển và giải phẫu (Burka & cs., 1997). Kết quả thu được ở bảng 3 cho thấy Azaperone có khả năng gây mê cá nheo Mỹ trong khoảng từ 12-24ppm. Trong khi đó, lô thí nghiệm có nồng độ 4ppm và 8ppm đều cho thấy cá có biểu hiện hôn mê sâu (GM4), suy hô hấp và chết (GM5) ngay sau khi đạt đến giai đoạn GM2. Các dấu hiệu của giai đoạn GM3 không rõ ràng. Đặc biệt trường hợp lô 28ppm, cá có dấu hiệu suy hô hấp và chết ngay sau khi đạt đến trạng thái kích thích.

Nồng độ Azaperone (ppm)	Số cá chết trong 96 giờ (n=10)		
	Lô 1	Lô 2	Lô 3
0	0	0	0
0,5	0	0	0
1	1	0	1
1,5	4	2	2
2	6	7	7
2,5	9	10	7
A 3	10	10	10



Ghi chú: (A): Số cá chết; B: Biểu đồ tương quan.

Hình 1. Mối quan hệ giữa nồng độ Azaperone và tỉ lệ chết cá nheo Mỹ



Giai đoạn		Tốc độ hô hấp (nhịp/phút)
Trước thí nghiệm		$116^c \pm 15,0$
Gây mê	GM1	$112^c \pm 8,2$
	GM2	$168^d \pm 13,3$
	GM3	$91^b \pm 10,5$
E	GM4	$80^a \pm 10,0$

Ghi chú: Giá trị trung bình được mô tả dưới dạng: $M \pm SD$; Trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($\alpha = 0,01$); (A): Chìm đáy, hô hấp giảm khi đạt đến giai đoạn GM1; (B): Kích động, lao mạnh không định hướng, bơi liên tục, nổi đầu ở giai đoạn GM2; (C): Mất cân bằng, không phản ứng khi bị kích thích, hô hấp nhẹ nhàng ở giai đoạn GM3, GM4; (D): Hô hấp khó khăn ở giai đoạn GM5 và chết do trúng độc; (E): Tốc độ hô hấp của cá nheo Mỹ ở các giai đoạn của quá trình gây mê.

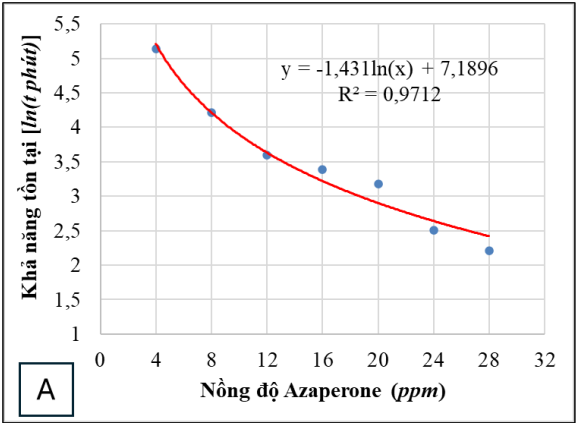
Hình 2. Các giai đoạn trong quá trình gây mê cá

Bảng 3. Kết quả thăm dò khả năng gây mê cá nheo Mỹ bằng các nồng độ Azaperone khác nhau

Nồng độ Azaperone (ppm)	Số cá đạt đến giai đoạn (n = 4)				
	GM1	GM2	GM3	GM4	GM5
0	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
4	4/4	4/4	0/4	0/4	4/4
8	4/4	4/4	0/4	4/4	4/4
12	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
16	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
20	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
24	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
28	4/4	4/4	0/4	4/4	4/4

Gây mê đến giai đoạn GM1 có ý nghĩa trong vận chuyển, cá vẫn cảm nhận được đau đớn và stress ở mức độ thấp hơn (Burka & cs., 1997). Ở giai đoạn GM2, cá có phản ứng mạnh, kích động do cơ chế ức chế thần kinh (Carmichael & Tomasso, 1988). Các quy trình và loại thuốc gây mê mới được phát triển nhằm làm giai đoạn này trôi qua nhanh chóng, giảm các tác động không mong muốn cho cá, đặc biệt là tình trạng suy hô hấp, ngạt thở (Iwama & cs., 1989; Burka & cs.,

1997). Trên thực tế, gây mê đến giai đoạn GM3 có tính ứng dụng cao nhất trong vận chuyển, cân đo hoặc lấy máu; chỉ một số ít trường hợp giải phẫu cần gây mê đến giai đoạn GM4 (Burka & cs., 1997). Trường hợp nồng độ thuốc quá cao có thể dẫn đến trúng độc, ngừng tim và chết (Tytler & Hawkins, 1981; Neiffer & Stamper, 2009). Như vậy, gây mê giai đoạn 1 có thể thực hiện trước và sau quá trình vận chuyển giúp giảm các tác động tiêu cực.



Nồng độ Azaperone	Thời gian tồn tại (phút)
28	9 ^a ± 2,5
24	12 ^a ± 0,6
20	24 ^{ab} ± 2,6
16	30 ^{ab} ± 4,6
12	37 ^b ± 3,2
8	68 ^c ± 9,2
4	171 ^d ± 32,0

Ghi chú: Giá trị trung bình được mô tả dưới dạng: $M \pm SD$; trong cùng 1 cột các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($\alpha = 0,01$); (A): Biểu đồ tương quan; (B): Bảng nồng độ Azaperone và thời gian tồn tại của cá nheo Mỹ.

Hình 3. Mối quan hệ giữa nồng độ Azaperone và khả năng tồn tại của cá nheo Mỹ

Bảng 4. Ảnh hưởng của nồng độ Azaperone đến gây mê và hồi phục trên cá nheo Mỹ

Giai đoạn		Số cá đạt đến giai đoạn			Thời gian phản ứng theo nồng độ Azaperone (giây)		
		12ppm	16ppm	20ppm	12ppm	16ppm	20ppm
Gây mê (GM)	GM1	4/4	4/4	4/4	127 ^b ± 20,3	125 ^b ± 18,6	56 ^a ± 5,1
	GM2	4/4	4/4	4/4	82 ^a ± 17,0	72 ^a ± 14,6	59 ^a ± 13,8
	GM3	4/4	4/4	4/4	314 ^b ± 44,6	59 ^a ± 9,3	52 ^a ± 9,4
	GM4	4/4	4/4	4/4	147 ^c ± 20,0	71 ^b ± 12,0	25 ^a ± 7,9
	Tổng	4/4	4/4	4/4	670 ^c ± 45,1	327 ^b ± 12,7	192 ^a ± 19,1
Hồi phục (HP)	HP1	4/4	4/4	4/4	44 ^a ± 7,6	46 ^a ± 9,4	42 ^a ± 7,0
	HP2	3/4	4/4	4/4	115 ^b ± 25,1	98 ^{ab} ± 31,9	65 ^a ± 13,5
	HP3	2/3	4/4	4/4	308 ^b ± 135,7	40 ^a ± 9,8	82 ^a ± 12,1
	Tổng	2/4	4/4	4/4	467 ^b ± 82,8	184 ^a ± 38,8	190 ^a ± 19,7

Ghi chú: Giá trị trung bình được mô tả dưới dạng: $M \pm SD$; Trong cùng 1 hàng các chữ cái khác nhau thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($\alpha = 0,01$).

Phương trình hồi quy thu được (Hình 3A) cho thấy mối tương quan nghịch rất chặt chẽ giữa nồng độ nồng độ Azaperone và thời gian tồn tại của cá nheo Mỹ, thể hiện ở hệ số xác định $R^2 = 0,9712$. Thời gian tồn tại của cá nheo Mỹ trong môi trường có các nồng độ Azaperone khác nhau cũng cho thấy khác biệt có ý nghĩa thống kê ở mức 0,05. Việc cá chỉ tồn tại 12 phút ở lô nồng độ 24ppm khiến cho khả năng ứng dụng của gây mê là không cao. Từ kết quả này có thể xác định được dung dịch có nồng độ nằm trong khoảng 12-20ppm là phù hợp để thử nghiệm gây mê vận chuyển hoặc giải phẫu.

3.3. Nồng độ Azaperone phù hợp cho gây mê cá nheo Mỹ

Trong vòng 2 phút sau khi cảm ứng, cá thí nghiệm chuyển sang trạng thái an thần GM1 với dấu hiệu vận động nhẹ nhàng và hô hấp giảm. Riêng ở lô nồng độ 20ppm, thời gian cảm ứng giai đoạn GM1 thấp hơn so với 2 lô còn lại, sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê ở mức 95%. Thời gian cảm ứng để chuyển từ trạng thái GM3 sang gây mê sâu GM4 phân hóa rõ rệt ở cả 3 nghiệm thức. Đặc biệt, cá có dấu hiệu trúng độc và ảnh hưởng sức khỏe khi thời gian cảm ứng

quá lâu. Cụ thể, nghiệm thức 12ppm ghi nhận 2/4 trường hợp chết sau 6 giờ thí nghiệm trong khi các nghiệm thức còn lại cá đều hồi phục.

Một số nghiên cứu cũng chỉ ra rằng nồng độ thuốc có ảnh hưởng trực tiếp đến hiệu quả gây mê. Nồng độ tối ưu cho thời gian gây mê đạt đến trạng thái mê sâu GM4 trong vòng 180-300 giây và hồi phục trong 600 giây (Gilderhus & Marking, 1987; Neiffer & Stamper, 2009). Nhịp hô hấp và nhịp tim thường giảm khi tăng thời gian gây mê (Neiffer & Stamper, 2009). Thời gian cảm ứng quá lâu, cá có thể suy hô hấp, trụy tim và không hồi phục được (Tytler & Hawkins, 1981; Neiffer & Stamper, 2009). Với tiêu chí trên, nồng độ 20ppm là lý tưởng nhất cho gây mê cá nheo Mỹ cỡ 20g với thời gian gây mê sâu (GM4) là $192 \pm 19,1$ giây và thời gian hồi phục là $190 \pm 19,7$ giây. Tuy nhiên, cần đánh giá chỉ tiêu sinh lý và miễn dịch để làm rõ tình trạng sức khỏe cá sau gây mê.

4. KẾT LUẬN

Ở điều kiện môi trường thí nghiệm 26-28°C, pH = [7,5-7,9], DO > 5,0 mg/l, LC_{50-96 giờ} của Azaperone đối với cá nheo Mỹ cỡ 20g là 1,731ppm và tỉ lệ chết tăng lên khi nồng độ thuốc tăng. Trung bình cá nheo Mỹ có thể sống gần 3 giờ trong môi trường có nồng độ 4ppm Azaperone và thời gian tồn tại giảm xuống khi tăng nồng độ từ 4-28ppm.

Sử dụng môi trường có nồng độ Azaperone từ 12-24ppm gây mê cá nheo Mỹ đạt đến 5 giai đoạn khác nhau của quá trình gây mê thông qua các biến đổi về hành vi bơi lội, phản ứng và tốc độ hô hấp. Nồng độ 20ppm là phù hợp cho gây mê cá nheo Mỹ trong 20 phút hướng tới nhiều mục đích khác nhau, trong đó có giải phẫu, đánh bắt và vận chuyển.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin được cảm ơn sinh viên Phạm Văn Chi, Phạm Tuấn Hải hỗ trợ chuẩn bị thí nghiệm, Công ty TNHH Thú y Toàn Cầu đã cung cấp vật liệu, Học viện Nông nghiệp Việt Nam đã hỗ trợ trang thiết bị cần thiết để thực hiện thí nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Boyd C.E. & Pillai V. (1985). Water quality management in aquaculture. CMFRI special Publication. 22: 1-44.
- Burka J.F., Hammell K.L., Horsberg T.E., Johnson G.R., Rainnie D.J. & Speare D.J. (1997). Drugs in salmonid aquaculture - a review. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 20(5): 333-349.
- Carmichael G.J. & Tomasso J.R. (1988). Communications: Survey of fish transportation equipment and techniques. The Progressive Fish-Culturist. 50(3): 155-159.
- Charoendat U., Areechon N., Srisapoom P. & Chantasart D. (2009). Efficacy of synthetic eugenol as an anesthetic for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). Agriculture and Natural Resources. 43(5): 132-140.
- Gilderhus P.A. & Marking L.L. (1987). Comparative efficacy of 16 anesthetic chemicals on rainbow trout. North American Journal of Fisheries Management. 7(2): 288-292.
- Harms C.A. & Bakal R.S. (1994). Techniques in fish anesthesia. In American Association of Zoo Veterinarians Annual Proceedings. pp. 202-210.
- Hill J.V. (1999). Cardiovascular and respiratory effects of three fish anaesthetics. PhD Thesis, University of Canterbury, New Zealand.
- Houston A.H., Madden J.A., Woods R.J. & Miles H.M. (1971). Some physiological effects of handling and tricaine methane-sulphonate anesthetization upon the brook trout, *Salvelinus fontinalis*. Journal of the Fisheries Board of Canada. 28(5): 625-633.
- Imanpoor M.R., Bagheri T. & Hedayati S.A.A. (2010). The anesthetic effects of clove essence in Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. World Journal of Fish and Marine Sciences. 2(1): 29-36.
- Iwama G.K., McGeer J.C. & Pawluk M.P. (1989). The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. Canadian Journal of Zoology. 67(8): 2065-2073.
- Kim Văn Vạn (2017). Xây dựng mô hình nuôi cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) trong ao tại Hưng Yên. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 15(6): 738-745.
- Latas P.J. (1987). The Use of Azaperone in the Spiny Dogfish (*Squalus acanthias*). IAAAM.
- Neiffer D.L. & Stamper M.A. (2009). Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. ILAR journal. 50(4): 343-360.
- Nguyễn Anh Hiếu & Nguyễn Hữu Ninh (2014). Nghiên cứu đặc điểm sinh học sinh sản của cá

- neho Mỹ (*Ictalurus punctatus*) nuôi tại miền Bắc Việt Nam. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. 19: 90-97.
- OECD (2019). Test Guideline No. 203: Fish, Acute Toxicity Testing - Section 2: Effects on Biotic Systems. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals.
- Priborsky J. & Velisek J. (2018). A review of three commonly used fish anesthetics. Reviews in Fisheries Science & Aquaculture. 26(4): 417-442.
- Sams R.A., Gerken D.F., Detra R.L., Stanley S.D., Wood W.E., Tobin T., Yang J., Tai H., Jegananthan A. & Watt D.S. (1996). Identification of Metabolites of Azaperone in Horse Urine. Journal of Pharmaceutical Sciences. 85(1): 79-84.
- Small B.C. (2003). Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. Aquaculture. 218(1-4): 177-185.
- Stetter M.D. (2001). Fish and amphibian anesthesia. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice. 4(1): 69-82.
- Tyler P. & Hawkins A.D. (1981). Vivisections, anaesthetics and minor surgery. In: Hawkins AD, ed. Aquarium Systems. London: Academic Press Inc., Harcourt Brace Jovanovich. pp. 248-278.
- Trương Đình Hoài, Kim Văn Vạn, Đào Lê Anh, Nguyễn Thị Huyền, Nguyễn Văn Tuyền, Vũ Đức Mạnh, Nguyễn Thị Hương Giang, Trương Quang Lâm & Nguyễn Thị Lan (2020). Đặc điểm bệnh lý và ứng dụng phương pháp PCR chẩn đoán bệnh gan thận mù trên cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*). Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam. 18(2): 94-104.
- United Nations (2011). Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (GHS). New York and Geneva.
- Vũ Đức Mạnh, Chu Đức Quý, Trương Đình Hoài & Kim Văn Vạn (2022). Hiện trạng nuôi cá nheo Mỹ (*Ictalurus punctatus*) trong lồng tại một số vùng nuôi trọng điểm miền Bắc. Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn. 18: 101-109.
- Vũ Đức Mạnh, Kim Minh Anh, Nguyễn Thị Thúy Hằng, Nguyễn Công Thiết, Trương Đình Hoài & Kim Văn Vạn (2024). Thăm dò độc tính và khả năng gây mê của Azaperone trên cá rô phi vằn (*Oreochromis niloticus*). Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y. 5: 65-73.
- Waterstrat P.R. (1999). Induction and recovery from anesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. Journal of the World Aquaculture Society. 30(2): 250-255.
- Wedemeyer G.A. (1996). Basic physiological functions. Physiology of Fish in Intensive Culture Systems. pp. 10-59.
- Welker T.L., Lim C., Yildirim-Aksoy M. & Klesius P.H. (2007). Effect of buffered and unbuffered tricaine methanesulfonate (MS-222) at different concentrations on the stress responses of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque. Journal of Applied Aquaculture. 19(3): 1-18.
- Zahl I.H., Samuelsen O. & Kiessling A. (2012). Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. Fish Physiology and Biochemistry. 38: 201-218.