



DOI:10.22144/ctu.jsi.2018.039

## NGHIÊN CỨU MỘT SỐ MÀM BỆNH TRÊN NGHÊU (*Meretrix lyrata* SOWERBY, 1851) Ở TỈNH BẾN TRE

Nguyễn Thanh Hà<sup>1\*</sup>, Ngô Thị Ngọc Thủy<sup>1</sup> và Từ Thanh Dung<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản 2

<sup>2</sup>Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

\*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Nguyễn Thanh Hà (email: thanhha.nghean@yahoo.com.vn)

### Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 17/05/2018

Ngày nhận bài sửa: 09/07/2018

Ngày duyệt đăng: 30/07/2018

### Title:

Study on pathogens in white clams (*Meretrix lyrata*) at Ben Tre province

### Từ khóa:

Ký sinh trùng, *Meretrix lyrata*, Nghêu Bến Tre, *Perkinsus*, *Vibrio*

### Keywords:

Bacteria, Ben Tre province, clam, *Meretrix lyrata*, Parasite, *Perkinsus*

### ABSTRACT

The study was carried out to examine the pathogens on white clams (*Meretrix lyrata*) in Ben Tre province from February to December 2016. The results showed that clam in mortality events revealed pale digestive gland, yellow meat and trapped sand in body cavity. The environmental parameters such as pH, NO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S showed no difference between the dry and rainy seasons, whereas, significant differences in temperature and salinities between these two seasons were recorded ( $p < 0.05$ ). The total viable *Vibrio* bacteria in water were in the range of 0.33 - 4.2x10<sup>3</sup> cfu/mL. They were identified as *Vibrio parahaemolyticus*, *V. alginolyticus*, *V. vulnificus* and *V. cholerae*. The results also indicated two groups of parasites and Barnacle with infection rates of 2.92% and 0.83%, respectively; The presence of *Perkinsus* sp. was detected in the clam tissue with the prevalence of 35% and the infection intensity of 1.62 - 1283.33 hypospores g<sup>-1</sup> clam tissue. Finally, histological analysis indicated necrosis of gill, digestive tubular and foot, some changes in clam muscles, and the presence of *Perkinsus* sp., rickettsia in the internal organs.

### TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm xác định sự biến đổi của một số yếu tố chất lượng nước và sự hiện diện của một số mầm bệnh trên nghêu *Meretrix lyrata* ở Bến Tre từ tháng 2 đến tháng 12 năm 2016. Kết quả quan sát những dấu hiệu bất thường của nghêu trong mùa dịch bệnh cho thấy chúng thường có vỏ bị tổn thương, thịt không đầy vỏ (nghêu gãy), ngậm cát trong xoang cơ thể, màng áo xuất hiện những đốm/mảng trắng và tuyến tiêu hóa chuyển màu vàng. Chất lượng nước tại bãi nuôi: pH, NO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S không có khác biệt giữa mùa mưa và mùa khô nhưng sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định ở yếu tố nhiệt độ và độ mặn ( $P < 0,05$ ). Mật độ vi khuẩn *Vibrio* tổng số trong nước dao động từ 0,33 - 4,2.10<sup>3</sup> cfu/mL trong đó 4 loài *Vibrio parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* và *V. cholerae* chiếm ưu thế. Sự hiện diện của Copepod bên trong xoang cơ thể và Barnacle (hà) bám bên ngoài vỏ nghêu cũng được phát hiện với tỉ lệ nhiễm thấp, lần lượt là 2,92% và 0,83%. Ngoài ra, nghiên cứu này đã xác định được ký sinh trùng nội ký sinh trên nghêu nuôi tại Bến Tre là *Perkinsus* sp. với tỉ lệ nhiễm 35% và cường độ nhiễm 1,62 - 1.283,22 bào tử/g. Biểu hiện mô học đặc trưng của nghêu bệnh là cấu trúc của mô mang, ống gan tụy và chân nghêu biến đổi có hiện diện của ký sinh trùng *Perkinsus* sp., và sinh vật giống *Rickettsia*.

Trích dẫn: Nguyễn Thanh Hà, Ngô Thị Ngọc Thủy và Từ Thanh Dung, 2018. Nghiên cứu một số mầm bệnh trên nghêu (*Meretrix lyrata* Sowerby, 1851) ở tỉnh Bến Tre. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 54(Số chuyên đề: Thủy sản)(2): 76-82.

## 1 GIỚI THIỆU

Nghêu (*Meretrix lyrata*) phân bố chủ yếu ở vùng biển ấm Tây Thái Bình Dương từ biển Đài Loan đến Việt Nam. Ở Việt Nam chúng phân bố ở khu vực Tây Nam Bộ như: Cần Giò (thành phố Hồ Chí Minh), Gò Công (Tiền Giang), Bình Đại, Ba Tri và Thạnh Phú (Bến Tre), Vĩnh Lợi (Bạc Liêu), Ngọc Hiển (Cà Mau), Vĩnh Châu (Sóc Trăng) và Cầu Ngang, Duyên Hải (Trà Vinh) (Nguyễn Chính, 1996). Nghêu *Meretrix rylata* được nuôi phổ biến ở khu vực ven biển các tỉnh Đồng bằng sông Cửu Long và là nguồn thực phẩm được ưa chuộng. Nghêu là loài hải sản có giá trị kinh tế cao, được tiêu thụ rộng rãi trong nước và có giá trị xuất khẩu. Bên cạnh đó, các tác nhân gây bệnh như vi khuẩn, ký sinh trùng, virus, rickettsia cũng được các nhà nghiên cứu đề cập đến và được xem là nguyên nhân gây chết cho nhuyễn thể trong một số trường hợp (Sindermann, 1990). Ký sinh trùng *Perkinsus* sp. (*P. marinus*, *P. olseni*, *P. honshuensis*, *P. chesapeakei*, *P. qugwadi*, *P. mediterraneus*) đã được tìm thấy và xác định là nguyên nhân gây chết cho nhiều đối tượng nhuyễn thể khác nhau trong đó có nghêu (OIE, 2009). Vi khuẩn nội bào Rickettsia là tác nhân gây bệnh đã được tìm thấy trên các loài nghêu nuôi khác như nghêu *Mercenaria mercenaria* (Fries and Grant, 1991) và nghêu *Meretrix lusoria* (Wen et al., 1994). Trên thế giới, nghiên cứu về các tác nhân gây bệnh đã được tiến hành trên nhiều đối tượng nhuyễn thể như nghêu *Tapes decussatus* (Villaba et al., 2004), hàu *Crassostrea virginica* (Chu et al., 1994). Ở nước ta, nghiên cứu về bệnh trên các đối tượng thân mềm chưa nhiều. Tuy nhiên, trong những năm gần đây đã có báo cáo của một số tác giả về tác nhân gây bệnh trên nghêu nuôi như đã phát hiện ký sinh trùng *Perkinsus* trên nghêu lụa (*Paphia undulata*) ở Kiên Giang và Bà Rịa - Vũng Tàu (Ngô Thị Thu Thảo, 2008). Ngô Thị Ngọc Thủy và ctv. (2011) đã tìm thấy *Perkinsus olseni* trên nghêu Bến Tre nuôi tại Cần Giò, thành phố Hồ Chí Minh và xác định đây là tác nhân gây chết nghêu trong điều kiện nhiệt độ, độ mặn môi trường cao. Vì vậy nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định một số tác nhân gây bệnh trên nghêu ở tỉnh Bến Tre, từ đó cung cấp thông tin khoa học phục vụ cho việc quy hoạch đối tượng nuôi và những biện pháp quản lý dịch bệnh một cách hiệu quả.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Phương pháp thu mẫu

Mẫu nghêu được thu tại hai hợp tác xã Tân Thủy và An Thủy, huyện Ba Tri, tỉnh Bến Tre từ tháng 2 đến tháng 12 năm 2016. Số lượng mẫu thu 30 - 40 con/mẫu, thu trong 6 đợt. Nghêu được vận chuyển

về phòng thí nghiệm. sau đó, tiến hành đo chiều dài và trọng lượng thịt của nghêu.

### 2.2 Phương pháp phân tích

**Phương pháp phân tích các yếu tố môi trường:** Các chỉ tiêu pH, nhiệt độ và độ mặn được đo trực tiếp tại hiện trường bằng máy đo đa chỉ tiêu YSI - Mỹ. Hàm lượng NO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> và H<sub>2</sub>S được kiểm tra bằng phương pháp chuẩn (APHA, 1995).

**Phương pháp xác độ mật độ vi khuẩn trong nước:** Chỉ tiêu vi sinh của môi trường đó là vibrio tổng số. Lấy 1ml mẫu nước cho vào ống nghiệm chứa 9ml nước muối sinh lý (0,85%) được tiệt trùng ở 121°C trong 20 phút, trộn đều được nồng độ pha loãng 10<sup>-1</sup>. Tiếp tục pha loãng để được nồng độ 10<sup>-2</sup>. Dùng Micropipete hút 100 µL dung dịch mẫu cho vào các đĩa chứa môi trường thạch Thiosulfate citrate bile salts sucrose agar (TCBS, Merk) rồi dùng que trải đều cho khô hoàn toàn. Các đĩa được đem ủ trong tủ 28°C trong 24 giờ, sau đó đem ra đọc kết quả. Số khuẩn lạc tổng cộng được đếm trên đĩa petri. Số lượng vi khuẩn được tính theo công thức:

Đơn vị hình thành khuẩn lạc (CFU/ml) = số khuẩn lạc x độ pha loãng x 10

**Phương pháp phân lập và định danh vi khuẩn trên nghêu:** Mẫu nghêu sau khi được tách đôi, dùng que cấy tiệt trùng lấy một ít mẫu cấy lên môi trường đặc trưng ChromeAgar (ChromeAgar, Merk) và Thiosulfate citrate bile salt agar (TCBS, Merk). Đĩa cấy được ủ 24 giờ ở 28°C. Các chủng vi khuẩn được tách thuần và giữ ở -80°C. Vi khuẩn sau khi được tách ròng tiến hành kiểm tra chỉ tiêu về hình thái, sinh lý và sinh hoá như catalase, oxidase, phản ứng lên men hiếu khí, yếm khí, sinh H<sub>2</sub>S, O/F. Hình dạng kích thước và tính ròng của vi khuẩn được xác định bằng phương pháp nhuộm Gram (Barrow and Feltham, 1993). Tính di động của vi khuẩn được quan sát bằng cách nhỏ một giọt nước cất lên lame, trải đều lên lame một ít vi khuẩn, đập bằng lamella và quan sát bằng kính hiển vi ở vật kính 40X. Vi khuẩn được định danh theo phương pháp của Barrow và Feltham (1993) kết hợp với sử dụng bộ kit API 20 NE (BioMérieux, Pháp).

**Phương pháp mô học:** Lấy toàn bộ phần thịt cố định trong dung dịch Davidson nhuộm thể (tỉ lệ formol:thịt nghêu là 10:1) trong 24 giờ. Mẫu được rửa và xử lý qua 3 giai đoạn (loại nước, làm trong và tẩm paraffin) và được đúc khối, cắt lát với độ dày từ 3 - 5 µm rồi nhuộm theo phương pháp Mayer's Haematoxylin & Eosin. Tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi lần lượt ở độ phóng đại 10X, 20X, 40X, 100X và chụp hình tiêu bản đặc trưng.

**Phương pháp nuôi cấy ký sinh trùng (Perkissus sp.):** Nghêu được nuôi cấy riêng biệt từng

cá thể trong môi trường Fluid Thioglycolate Medium (FTM). Mẫu nuôi cấy được giữ ở nhiệt độ phòng, trong điều kiện tối và trong thời gian từ 5-7 ngày (Almeida et al., 1999). Sau khi ly tâm tách bỏ FTM, dung dịch NaOH 2M được cho vào mẫu để tiêu hủy những chất hữu cơ còn sót lại. Bào tử ký sinh trùng được ly tâm, rửa sạch bằng nước cất và đếm bằng buồng đếm Improved Neubauer để xác định mức độ nhiễm. Mức độ cảm nhiễm Perkinsus được đánh giá thông qua chỉ số tỉ lệ cảm nhiễm (TLCN) và cường độ cảm nhiễm (CĐCN). TLCN là phần trăm số cá thể nhiễm Perkinsus/tổng số cá thể quan sát. CĐCN được đánh giá là số lượng bào tử /g mô thịt nghêu hoặc số bào tử nghi/cá thể vật chủ.

**2.3 Phương pháp xử lý số liệu**

Sử dụng phương pháp phân tích ANOVA một nhân tố trên SPSS 16.0 để so sánh thống kê các giá trị trung bình giữa các nghiệm thức ở mức tin cậy P < 0,05 và sử dụng phần mềm Microsoft Excel để tính các giá trị trung bình, độ lệch chuẩn.

**3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1 Yếu tố chất lượng nước**

Kết quả phân tích chất lượng cho thấy chất lượng nước tại bãi nuôi không có khác biệt giữa mùa mưa và mùa khô (Bảng 1). Tuy nhiên, thống kê theo từng yếu tố độ mặn và nhiệt độ thì có sự khác biệt có ý nghĩa giữa hai mùa (p<0,05). Theo Lee (2008), môi trường tốt nhất cho sự tăng trưởng của nghêu gồm: pH (7,5 - 8,5), nhiệt độ (25°C - 32°C), độ mặn (18‰ - 25‰), độ sâu của nước 45 cm và thành phần cơ giới của trầm tích có tỉ lệ cát từ 60% - 80%. Nhìn chung, các yếu tố chất lượng nước đều nằm trong giới hạn cho sự sinh trưởng và phát triển của nghêu.

**Bảng 1: Một số yếu tố thủy lý hóa ở bãi nghêu**

Chỉ tiêu	Mùa khô (n = 3)	Mùa mưa (n = 3)
Nhiệt độ (°C)	29,83±0,41 <sup>a</sup>	28,33±0,51 <sup>b</sup>
pH	8,04±0,15 <sup>a</sup>	8,08±0,08 <sup>a</sup>
Độ mặn (‰)	29,33±0,41 <sup>a</sup>	15,00±0,00 <sup>b</sup>
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N (mg/L)	0,03±0,01 <sup>a</sup>	0,03±0,00 <sup>a</sup>
NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> -N (mg/L)	0,05±0,01 <sup>a</sup>	0,03±0,00 <sup>b</sup>
H <sub>2</sub> S (mg/L)	0,02±0,01 <sup>a</sup>	0,03±0,00 <sup>b</sup>

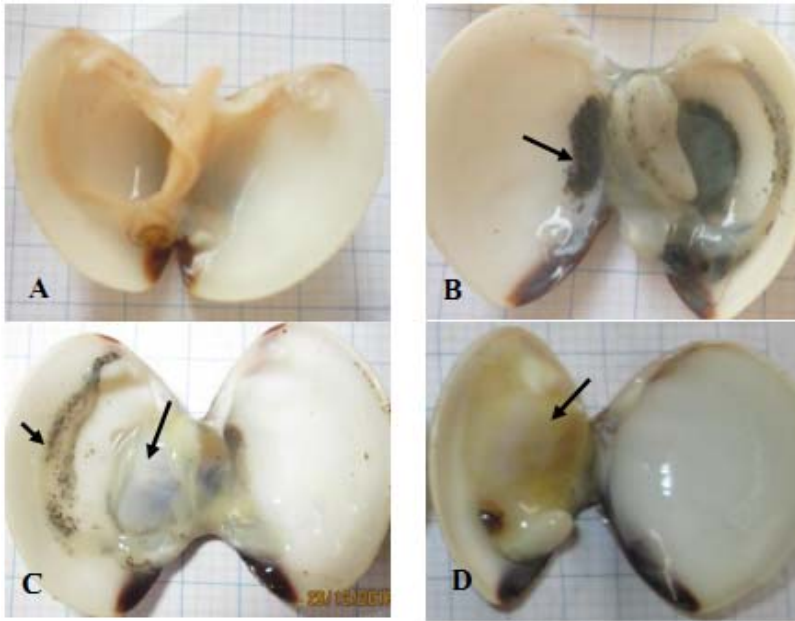
Ghi chú: Các giá trị trong cùng một hàng có cùng chữ cái khác nhau thì khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05). Các giá trị thể hiện là số trung bình ± độ lệch chuẩn.

**3.2 Vi khuẩn Vibrio tổng cộng trong nước**

Mật độ vi khuẩn *Vibrio* tổng trong nước tại khu vực bãi nuôi biến động trong khoảng 0,33 - 4,2x10<sup>3</sup> cfu/mL, mùa khô là 0,33 - 2,2x10<sup>3</sup> cfu/mL và mùa mưa là 0,93 - 4,2x10<sup>3</sup> cfu/mL. Sự biến động này theo mùa và chế độ thủy triều. Mật độ vi khuẩn *Vibrio* có hại ở mùa khô (khuẩn lạc màu xanh) là 170 - 1430 cfu/mL (chiếm 15,0 - 65,0% của tổng *Vibrio*) và ở mùa mưa là 60 - 3900 cfu/mL (chiếm 1,4 - 92,0% của tổng *Vibrio*). Theo Moriarty (1998) mật độ vi khuẩn *Vibrio* vượt quá 10<sup>3</sup> CFU/mL sẽ gây ảnh hưởng xấu đến các đối tượng thủy sản

**3.3 Các dấu hiệu bệnh lý của nghêu chết/bệnh**

Kết quả thu và phân tích trên 240 mẫu nghêu đã cho thấy nghêu nhiễm *Perkinsus* thường không thể hiện dấu hiệu bệnh lý điển hình, một số dấu hiệu sau: vỏ bị tổn thương (0,05%), nghêu gầy (0,03%), xuất hiện cát và bùn ở mang (0,05%) (Hình 1B), màng áo xuất hiện đốm trắng (0,12%) (Hình 1C) và tuyến tiêu hóa chuyển sang màu vàng (0,03%) (Hình 1D). Theo Choi and Park (2002), dấu hiệu bệnh lý điển hình của một *Perkinsus* trên bề mặt màng áo, tuyến tiêu hóa, chân và mang do phản ứng chống lại sự viêm nhiễm của cơ thể vật chủ.



**Hình 1: Biểu hiện bên trong của thịt nghêu *M. lyrata*. (A): Thịt nghêu bình thường, (B): Thịt nghêu cát, bùn (→), (C): Thịt nghêu màu trắng đục (→) và (D): Thịt nghêu màu vàng (→)**

### 3.4 Kết quả phân lập vi khuẩn ở nghêu

Kết quả nhuộm Gram cho thấy đa số các chủng vi khuẩn bắt màu Gram âm, có dạng hình que ngắn. Vi khuẩn cho phản ứng oxidase và catalase dương tính, có khả năng lên men trong cả hai điều kiện hiếu khí và yếm khí trong môi trường O/F và mẫn cảm với O/129. Dựa vào đặc điểm hình thái, các chỉ tiêu sinh lý, sinh hóa của chúng vi khuẩn được kiểm tra dựa theo cẩm nang của Cowan and Steels (Barrow and Feltham, 1993) đã xác định được 4 chủng vi khuẩn *Vibrio* sp., với tần suất và tỉ lệ nhiễm như sau: *V. parahaemolyticus* chiếm tỉ lệ 29%, *V. alginolyticus* 25%, *V. vulnificus* 35% và *V. cholera* 11%. Tất cả các chủng đều cho phản ứng âm tính với  $\beta$ -galactosidase, arginine và phản ứng Voges-Proskauer nhưng cho phản ứng dương tính với lysine, chúng không sinh ure,  $\text{NO}_3$  và  $\text{H}_2\text{S}$  nhưng sinh indole. Tất cả đều mọc trên môi trường TCBS, sử dụng đường glucose và manitol nhưng không sử dụng đường inositol, sorbitol, rhamnose và arabinose. Mặt khác, nghiên cứu của Bùi Ngọc Thanh và ctv, (2014) đã xác định được 13 chủng vi khuẩn khác nhau, trong đó, vi khuẩn *Vibrio* sp. chiếm ưu thế và có khả năng gây bệnh trên nghêu.

### 3.5 Kết quả kiểm tra ký sinh trùng

Các cá thể nghêu thu trong nghiên cứu này đều có kích cỡ thương phẩm có chiều dài trung bình  $39,75 \pm 5,92$  mm và khối lượng thịt trung bình là  $3,52 \pm 1,61$  g. Kết quả nghiên cứu của Villaba *et al.* (2004), *Perkinsus* gây bệnh trên hàu (*Crassostrea virginica*) trên 3 tuổi và đôi với nghêu (*Tapes*

*descussatus*) dưới một năm tuổi thường rất ít bị bệnh. Nguyễn Văn Hào và ctv (2011) cũng đã công bố mức độ cảm nhiễm *Perkinsus* có liên quan đến kích cỡ nghêu *Meretrix lyrata* tại vùng biển Cần Giờ (thành phố Hồ Chí Minh). Cỡ nghêu < 20 mm thu vào thời điểm nghêu chết (02/2010) và thời điểm không có hiện tượng nghêu chết (07/2010) đều có kết quả âm tính với *Perkinsus*. Tuy nhiên ở nhóm nghêu có kích cỡ > 30 mm, tỉ lệ cảm nhiễm 59,7%.

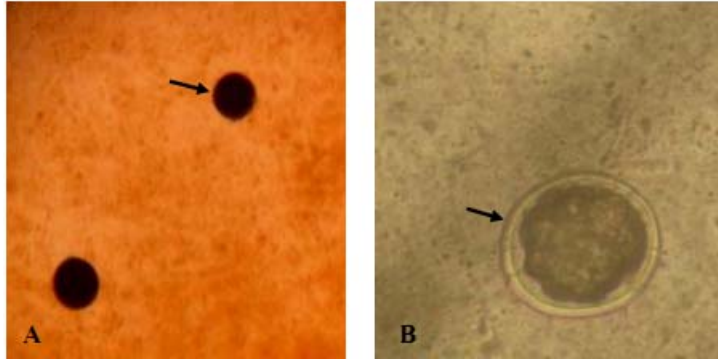
Kết quả khảo sát cho thấy tỉ lệ cảm nhiễm *Perkinsus* trung bình là 35% và cường độ cảm nhiễm dao động trong khoảng 1,62 - 1283,33 bào tử/g thịt nghêu và trung bình là  $66,57 \pm 153,09$  bào tử/g. Tỉ lệ nhiễm ký sinh trùng *Perkinsus* ở mùa khô là 50%, mùa mưa là 30% và cường độ cảm nhiễm dao động từ 1,62 - 302,5 bào tử/g và 2,2 - 1283,33 bào tử/g. Nghiên cứu của Chu *et al.* (1994) cho rằng nhiệt độ là yếu tố quan trọng nhất theo sau là độ mặn quyết định mức độ nhạy cảm của hàu *C. virginica* đối với *Perkinsus*. Theo Supanee *et al.* (2004), độ mặn giảm chính là nguyên nhân làm cho tỉ lệ nhiễm *Perkinsus* thấp vào tháng 9 (66,6%) khi so sánh với những tháng khác trong năm. Kết quả nghiên cứu của Nguyễn Văn Hào và ctv. (2011) cho thấy cường độ nhiễm *Perkinsus* hiện diện với tỉ lệ cảm nhiễm trung bình là 60,1%, cao nhất vào tháng 2 (98,7%) và thấp nhất vào tháng 8 (18,1%). Cường độ cảm nhiễm dao động từ 0 - 2.387.203 bào tử/g thịt nghêu, trung bình  $14.932 \pm 2.053$  bào tử/g, cao nhất vào tháng 3 ( $42.650 \pm 10.741$  bào tử/g) và thấp nhất vào tháng 8 ( $258 \pm 50$  bào tử/g). Như vậy, cường độ cảm nhiễm *Perkinsus* trong nghiên cứu này thấp có thể



là do trong thời gian thu mẫu không xảy ra hiện tượng nghêu chết.

Mẫu mô nghêu sau khi được ngâm trong môi trường FTM khoảng 4 - 5 ngày, ở điều kiện tối, bào tử *Perkinsus* tồn tại dạng thể nghỉ (hypnospore), có dạng hình tròn và oval bắt màu xanh đen đậm khi nhuộm lugol (Hình 2A). Các bào tử nghỉ được tách ra khỏi mô nuôi cấy bằng cách sử dụng NaOH có

dạng tròn, oval, tồn tại với dạng vỏ kép dày đặc trung của giống *Perkinsus* và có kích thước khoảng 30 – 90  $\mu\text{m}$  (Hình 2B). Bên trong bào tử nghỉ có nhiều hạt dinh dưỡng hoặc các bào tử động tùy theo từng giai đoạn phát triển của chúng. Theo nghiên cứu của Ngô Thị Thu Thảo (2008) trên nghêu lụi (*R. undulate*) cho thấy kích thước bào tử là 20 – 80  $\mu\text{m}$  (trung bình 35  $\mu\text{m}$ ) và Nguyễn Văn Hào và ctv. (2011) *Meretrix lyrata* là (30 - 80  $\mu\text{m}$ ).



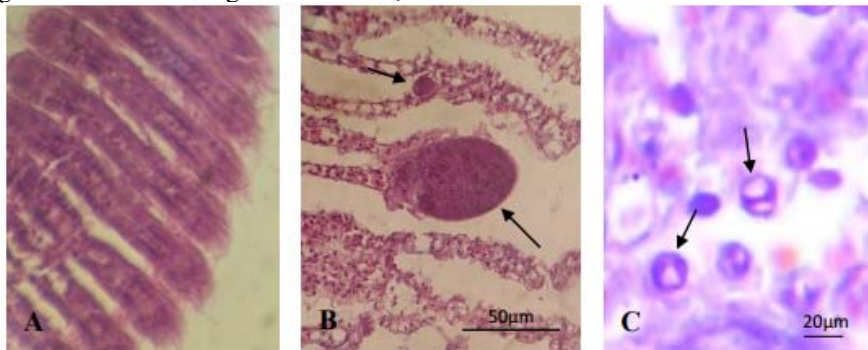
**Hình 2: Bào tử *Perkinsus* sau khi nuôi cấy trong môi trường FTM. (A): Bào tử *Perkinsus* nhuộm lugol (10X); (B) Bào tử *Perkinsus* giai đoạn vỏ kép (→) (40X)**

**3.6 Biến đổi cấu trúc mô học ở các cơ quan của nghêu**

**Mang**

Quan sát tiêu bản mô học cho thấy có sự hiện diện của sinh vật giống Rickettsia trên mang. Các vi sinh vật

này có hình khối tròn đến oval bắt màu xanh tím của thuốc nhuộm hematoxyline (Hình 3B). Sinh vật ký sinh làm tổn thương nghiêm trọng cho cấu trúc mang nghêu và xuất hiện nhiều tế bào máu, từ đó làm suy giảm chức năng hô hấp khi bệnh xảy ra và cấu trúc mang bị phá hủy nghiêm trọng.



**Hình 3: Một số biểu hiện mô học trên mang nghêu *M. lyrata* . (A): Mang nghêu bình thường, (B): Mang nhiễm sinh vật giống Rickettsia (→), (C): Bào tử *Perkinsus* trên mô liên kết mang (→)**

Quan sát tiêu bản mô mang nghêu bị tổn thương do khi có tác nhân gây bệnh ký sinh hoặc các yếu tố vật lý, hóa học kích thích gây nên một số hiện tượng như sợi mang dính lại với nhau, tương phình kèm theo hiện tượng tập trung nhiều tế bào máu và hoại tử. Hiện tượng tổn thương nặng có thể dẫn tới làm biến đổi mất cấu trúc cả phiến mang, giảm diện tích tiếp xúc của mang với môi trường ngăn cản quá trình hô hấp của nghêu. Kết quả ghi nhận sự biến đổi cấu trúc mô học của đề tài khá tương đồng với các kết quả nghiên cứu trước đây trên các loài nhuyễn thể

nhiễm Rickettsia (Fries and Grant, 1991; Wen *et al.*, 1994).

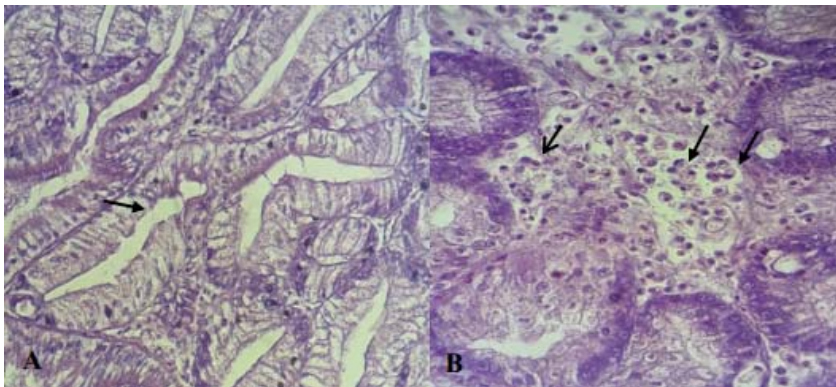
Tiêu bản mô học trên mang nghêu có sự hiện diện của ký sinh trùng *Perkinsus*. Khi các bào tử *Perkinsus* ký sinh trên mô liên kết mang, tuyến tiêu hóa và màng áo rất khó phát hiện trên tiêu bản mô học ở những cá thể bị nhiễm bệnh. *Perkinsus* tồn tại dưới dạng trophozoit trưởng thành và chưa trưởng thành. Ở giai đoạn trưởng thành (trophozoites) chúng có dạng hình vòng nhẫn nhân lệch cực và không bào lớn, đường kính trung bình 4 - 6  $\mu\text{m}$

(Hình 3C). Các trophozoites thường tập hợp thành từng cụm gồm 2 - 8 tế bào hay tạo thành bào nang, chúng tập trung chủ yếu trên mô liên kết mang và xuất hiện nhiều tế bào máu. Sự hiện diện của *Perkinsus* có thể phá vỡ cấu trúc bình thường của mô đích, làm chết tế bào vật chủ và làm tăng cường sự hiện diện của tế bào máu khi có sự hiện diện của ký sinh trùng. Kết quả nghiên cứu này tương tự như kết quả quan sát của nhiều tác giả; các bào tử *Perkinsus* thường có liên quan đến việc phá hủy, làm mất cấu trúc bình thường của tế bào và từ đó làm mất chức năng của mô nhiễm (OIE, 2009). Kết quả nghiên cứu này cũng tương tự với kết quả của Choi *et al.* (2002), *Perkinsus* thường tập trung trên mang nghêu Manila (*Ruditapes philippinarum*) khi bị nhiễm bệnh nhẹ. Biến đổi mô học ở mang cũng được

tim thấy trên nghêu lụa (*R. undulata*) (Ngô Thị Thu Thảo, 2008) và nghêu Bến Tre (Phạm Quốc Hùng và Hứa Thị Ngọc Dung, 2016).

**Tuyến tiêu hóa/gan tụy**

Kết quả phân tích mô gan tụy nghêu cho thấy bào tử nghỉ của ký sinh trùng *Perkinsus* xâm nhập vào mô liên kết tuyến tiêu hóa làm thay đổi cấu trúc của cơ quan này. *Perkinsus* xuất hiện nhiều tại mô liên kết gan tụy khiến cho cấu trúc ống gan bị thoái hóa, xung huyết tập trung nhiều tế bào máu xung quanh ổ bệnh (Hình 4B). Kết quả này tương tự với quan sát của các nhà nghiên cứu khác: các tế bào *Perkinsus* sp. thường có liên quan đến việc phá hủy, làm mất cấu trúc bình thường và từ đó làm mất chức năng của mô nhiễm (Bruce, 2000; OIE, 2009).

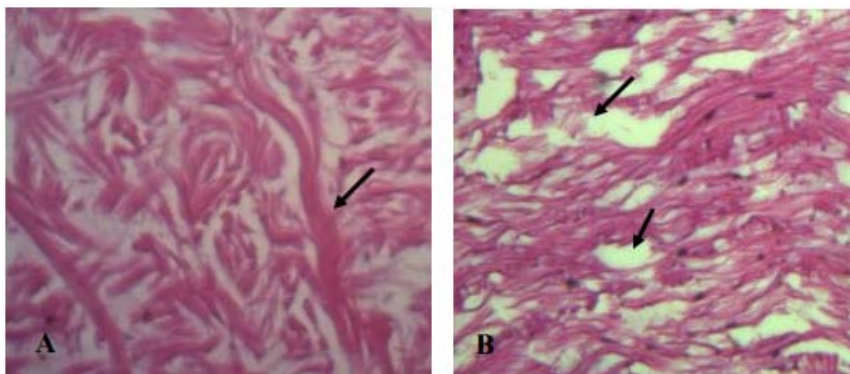


**Hình 4: Một số biểu hiện mô học ở gan tụy nghêu *M. lyrata* (40X) (A): Mô gan tụy bình thường ống gan mở (→), (B): Mô gan tụy ống biến dạng và nhiễm ký sinh trùng *Perkinsus* sp. (→)**

**Chân**

Cấu trúc mô học của chân nghêu gồm nhiều lớp: biểu bì, mô liên kết và mô cơ. Các sợi cơ tập trung tạo thành bó cơ (Hình 5A). Trên mô chân nghêu bệnh cũng có một số biến đổi như các bó cơ liên kết rời rạc, hoại tử, mất cấu trúc và sự xuất hiện của nhiều không bào (Hình 5B). Hiện tượng mô chân nghêu bị tổn thương có thể là do sự biến động thay

đổi về yếu tố độ mặn; khi độ mặn thay đổi hàm lượng ion trong tế bào sẽ thay đổi, chức năng enzyme bị phá hủy và dẫn đến tế bào biểu mô và lớp cơ chân nghêu bị thay đổi. Kết quả tương tự cũng được ghi nhận ở trên bào ngư (*Haliotis discus hannai*) khi tiến hành thí nghiệm với các độ mặn khác nhau (Park *et al.*, 2013). Chân bị tổn thương sẽ ảnh hưởng đến chức năng của chân, có thể dẫn tới hiện tượng nghêu chết hàng loạt.



**Hình 5: Một số biểu hiện mô học chân nghêu *M. lyrata* (100X). (A): Mô chân bình thường gồm các bó sợi cơ (→), (B): Mô chân tổn thương, bó cơ bị xơ (→) và xuất hiện các không bào (→)**

#### 4 KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được 4 loài vi khuẩn đều thuộc vi khuẩn *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* và *V. Cholerae*). Tỷ lệ nhiễm ký sinh trùng *Perkinsus* sp. là 35% và cường độ nhiễm 1,62 - 1283,33 bào tử/g thịt. Ngoài ra, tỷ lệ nhiễm *Copepod* xoang mang và *Barnacle* (hà) ngoài vỏ là 2,92% và 0,83%. Kết quả kiểm tra mô bệnh học của nghêu cho thấy *Perkinsus* sp. xuất hiện ở mang, tuyến tiêu hóa và có sự hiện diện sinh vật tương tự như *Rickettsia* trên mang.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

Almeida, M., Berthe, F., Thébault, A. and Dinis, M.T., 1999. Whole clam culture as a quantitative diagnostic procedure of *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa, Perkinsea) in clams *Ruditapes decussatus*. *Aquaculture*, 177(1-4): 325-332.

American Public Health Association, 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, Nineteenth Edition. APHA, Washington, D.C.

Barrow, G.I. and Feltham, R.K.A., 1993. Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria, Third Edition. Cambridge University press. Cambridge. 331 pages.

Bùi Ngọc Thanh, Nguyễn Thị Hạnh, Phạm Thị Yến và Phan Thị Vân, 2014. Thành phần loài vi khuẩn trên nghêu nuôi (*Meretrix lyrata*) qua các đợt dịch chết hàng loạt tại các tỉnh ven biển Việt Nam. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 21: 96-101.

Chu, F.L., Volety, A.K. and Constantine, G., 1994. Synergistic effects of temperature & salinity on the responses of oysters (*Crassostrea virginica*) to the pathogen, *Perkinsus marinus*. *Journal of Shellfish Research*. 13: 293.

Choi, K.S., Park, K.L., Lee, K.W. and Matsouka, K., 2002. Infection intensity, prevalence and histopathology of *Perkinsus* sp. in the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, in Isahaya bay, Japan. *Journal of Shellfish Research*. 21, pp. 119-125.

Choi, K.S., Park, K.I., 2010. Review on the protozoan parasite *Perkinsus olseni* (Lester and Davis 1981) infection in Asian waters. *Coastal Environmental and Ecosystem Issues of the East China Sea*. 227-237.

Fries, C.R and Grant, D.M., 1991. *Rickettsia* in gill epithelial cells of the hard clam, *Meretrix mercenaria*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 57: 166-171.

Lee, Y.C., 2008. The study on the accumulation of anaerobic end products in various tissues of hard clam. Master's thesis, Nat. Chiayi Univ., Taiwan.

Moriarty, D.J.W., 1998. Control of luminous *Vibrio* species in Penaeid aquaculture ponds. *Aquaculture* 164: 351-258.

Park, M.W., Kim, H., Kim, B.H., Son, M.H., Jeon, M.A. and Lee, J.S., 2013. Changes of survival rate, falling rate and foot histology of the Abalone, *Haliotis discus hannai* (Ino, 1952) with Water Temperature and Salinity. *Korean J. Malacol*. 29(4): 303-311.

Nguyễn Chính, 1996. Một số loài động vật nhuyễn thể (Mollusca) có giá trị kinh tế ở biển Việt Nam. NXB Khoa Học và Kỹ Thuật, Hà Nội, 132 trang.

Ngô Thị Thu Thảo, 2008. Một số đặc điểm của ký sinh trùng *Perkinsus* sp. lây nhiễm trên nghêu lụa *Paphia undulata* ở Kiên Giang và Bà Rịa – Vũng Tàu. *Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ*, 1: 222-230.

Nguyễn Văn Hào, Ngô Thị Ngọc Thủy, Tiêu Thanh Tươi, Hoàng Thị Hiền, Phạm Lâm Chính Văn và Nguyễn Vy Vân, 2011. Sự hiện diện của *Perkinsus* sp. trên nghêu (*Meretrix lyrata*) tại vùng biển Cần Giờ - thành phố Hồ Chí Minh. *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn* tháng 12/2011, 97-105.

Ngô Thị Ngọc Thủy, Nguyễn Văn Hào, Tiêu Thanh Tươi, Hoàng Thị Hiền và Nguyễn Vy Vân, 2011. *Perkinsus* sp. và hiện tượng nghêu *Meretrix lyrata* chết hàng loạt tại Cần Giờ, thành phố Hồ Chí Minh. *Tuyển tập nghề cá sông Cừ Long*, 2011a, 346-353.

Office International des Epizooties, 2009. *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals*.

Phạm Quốc Hùng và Hứa Thị Ngọc Dung, 2016. Nghiên cứu mức độ cảm nhiễm và đặc điểm mô bệnh học của bệnh ký sinh trùng *Perkinsus* sp. gây ra trên Tu hải (*Lutraria rhynchaena*) và nghêu Bến Tre (*Meretrix lyrata*). *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển nông thôn*, 5: 92-98.

Sinderman C.J, 1990. *Principle disease of marine fish and shellfish*. Second edition. Volume 2. Academic Press Limited. London NW17DX.

Supanee, L., Kashane, C.E., Upatham, S., Choi K.S., Sawangwong, P., and Kruatrachue, M., 2004. Occurrence of *Perkinsus* sp. in Undulated surf clams *Paphia undulata* from the Gulf of Thailand. *Disease of Aquaculture Organisms* 60: 165-171.

Villaba, A., Reece, K.S., Ordas, M.C., Casas, S.M., and Figueras, A., 2004. Perkinsosis in molluscs: A review. *Aquatic Living Resources* 17, pp. 411-432.

Wen, C.M., Kou, G.H. and Chen, S.N., 1994. *Rickettsiaceae*-like Microorganisms in the gill and digestive gland of the Hard Clam, *Meretrix lusoria* Röding. *Journal of Invertebrate Pathology*. 64 (2): 18-142.