Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản châu Á

ISSNO0428-9345

Tài liệu kỹ thuật thuỷ sản FAO

402/2

Biên soạn:

Melba G. Bondad-Reantaso
NACA, Bangkok, Thailand
(E-mail: Melba.Reantaso@enaca.org)

Sharon E. McGladdery
DFO-Canada, Moncton, New Brunswick
(E-mail: McGladderyS@dfo-mpo.gc.ca)

Iain East
AFFA, Canberra, Australia
(E-mail: Iain.East@affa.gov.au)

và

Rohana P. Subasinghe
FAO, Rome
(E-mail: Rohana.Subasinghe@fao.org)

Published by arrangement with the Food and Agriculture Organization of the United Nations by NAFIQAVED

Nhà xuất bản Nông nghiệp
Hà Nội - 2005

Mạng lưới các Trung tâm NTTS ở Châu Á Thái Bình Dương

Tổ chức Nông Lương Liên Hợp quốc

NAFIQAVED

Những địa danh và những tài liệu nêu trong cuốn sách này không ngụ ý diễn đạt bất kỳ quan điểm nào của một bộ phận nào thuộc Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên hợp quốc liên quan đến chế độ pháp lý của quốc gia, vùng lãnh thổ, thành phố hay khu vực nào hoặc các cơ quan thẩm quyền của những nơi này, hoặc liên quan đến sự phân định đường biên giới hay ranh giới nào.

Việc nêu rõ các nền kinh tế "đã phát triển và đang phát triển" là nhằm thuận lợi cho việc thống kê và không biểu thị sự đánh giá về một giai đoạn đã đạt được trong quá trình phát triển của quốc gia, vùng lãnh thổ hay khu vực cụ thể nào.

ISBN 92-5-104620-4

Tài liệu này đã được đăng ký bản quyền. Không một đoạn nào của tài liệu này được tái bản, lưu trữ hoặc được truyền ở bất kỳ hình thức nào, hoặc bằng bất kỳ phương tiện nào, điện tử, cơ học, sao chụp hay bất kỳ một hình thức nào khác mà không được sự cho phép trước của người giữ bản quyền. Đơn xin phép, trong đó phải nêu mục đích và phạm vi của việc tái bản, cần được gửi tới Điều phối viên Mạng lưới các Trung tâm Nuôi trồng thủy sản ở châu Á - Thái Bình Dương (NACA), tòa nhà Suraswadi, Cục Thủy sản, Kasetsanrt University Campus, Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900, Thái Lan, hoặc Giám đốc dịch vụ Xuất bản và Truyền thông, Phòng Thông tin, FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy hoặc gửi Email tới hộp thư copyright@fao.org.

Bên đồng xuất bản chịu trách nhiệm dịch thuật sang tiếng Việt và FAO không chịu trách nhiệm về tính chính xác của bản dịch.

© FAO và NACA bản tiếng Anh 2001
© NAFIQAVED bản tiếng Việt 2004

CHUẨN BỊ CHO TÀI LIỆU NÀY

Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản là một tài liệu hướng dẫn chẩn đoán bệnh toàn diện và được cập nhật nhằm hỗ trợ việc thực hiện **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật về quản lý sức khoẻ để di chuyển có trách nhiệm các động vật thủy sản sống** hoặc **"Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật**". Tài liệu này được xây dựng nhờ sự đóng góp về mặt chuyên môn của thành viên Nhóm công tác khu vực (RWG), cơ quan dịch vụ Hỗ trợ kỹ thuật (TTS) cùng các nhà khoa học khác trong lĩnh vực sức khoẻ động vật thủy sản trong và ngoài khu vực châu Á-Thái Bình Dương, là những người đã hỗ trợ Chương trình quản lý sức khoẻ động vật thủy sản khu vực châu Á-Thái Bình Dương. Cuốn Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản châu Á là cuốn thứ ba của bộ sách nhiều tập các tài liệu kỹ thuật thủy sản của FAO, đây là một phần của **Dự án Hợp tác kỹ thuật của FAO- Hỗ trợ cho việc di chuyển có trách nhiệm các động vật thủy sản sống** do NACA phối hợp với OIE và một số cơ quan, tổ chức quốc gia và khu vực khác thực hiện. Cuốn thứ nhất là cuốn **Hướng dẫn kỹ thuật và Chiến lược Đồng thuận và Hành động Bắc Kinh (BCIS).** Cuốn thứ hai là cuốn **Sổ tay các Quy trình thực hiện các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật của khu vực châu Á về Quản lý sức khoẻ để di chuyển có trách nhiệm các động vật thủy sản sống** hoặc **"Sổ tay các Quy trình"** cung cấp tư liệu chung và các quy trình kỹ thuật chi tiết nhằm hỗ trợ các quốc gia và các vùng lãnh thổ trong khu vực thực hiện các hướng dẫn kỹ thuật, đây là cuốn thứ hai của bộ sách nhiều tập (Tài liệu kỹ thuật thủy sản của FAO số 402, phần bổ sung 1). Cuốn Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản được soạn thảo trong ba năm (1998-2001) có sự tham vấn ở mức độ cao, trên cơ sở đồng thuận và nâng cao hiểu biết, tất cả các tài liệu kể trên đều phù hợp với **Bộ luật quốc tế của OIE về động vật thủy sản (xuất bản lần thứ ba)** và **Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (xuất bản lần thứ ba)**, Hiệp định SPS của WTO và sự hỗ trợ của các điều khoản thích ứng trong **Bộ quy tắc ứng xử nghề cá có trách nhiệm của FAO (CCRF).**

Địa chỉ phân phối

Cán bộ sức khoẻ động vật thủy sản
Các cán bộ thủy sản khu vực và tiểu khu vực của FAO
Vụ nghề cá của FAO
NACA

Trang bìa: Trình bày mối quan hệ giữa vật chủ, mầm bệnh và môi trường để phát sinh ra bệnh.

Bondad-Reantaso, G., McGladdery, S.E., East, I., và Subasinghe, R.P. (chủ biên)
Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản châu Á.
Tài liệu kỹ thuật thủy sản của FAO số. 402, Phần bổ sung 2. Rome, FAO, 2001. 240 trang.

TÓM TẮT

"Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản ở châu Á" hoặc **"Hướng dẫn chẩn đoán bệnh ở châu Á"** là một tài liệu hướng dẫn chẩn đoán toàn diện, cập nhật về các mầm bệnh và loại bệnh đã được liệt kê trong Hệ thống báo cáo hàng quí về bệnh động vật thủy sản của NACA/FAO/OIE, bao gồm cả một số bệnh khác ở khu vực châu Á. Tài liệu đã được xây dựng từ những đóng góp về kỹ thuật của các thành viên trong Nhóm Công tác khu vực (RWG), Cơ quan Dịch vụ Hỗ trợ kỹ thuật (TSS) và của các nhà khoa học khác về sức khỏe động vật thủy sản ở khu vực châu Á-Thái Bình Dương. Mục tiêu là có được một hướng dẫn chẩn đoán ở châu Á để chuyên dùng trong khu vực, cho cả việc chẩn đoán bệnh ở cả hai mức độ trại nuôi và phòng thí nghiệm, bổ sung cho Sổ tay các qui trình thực hiện "Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật của khu vực châu Á-Thái Bình Dương về Quản lý sức khỏe để Di chuyển có trách nhiệm các động vật sống". Sau đó cuốn Hướng dẫn chẩn đoán bệnh ở châu Á có thể dùng để mở rộng năng lực chẩn đoán sức khoẻ động vật thủy sản của quốc gia và khu vực, điều đó sẽ giúp đỡ các quốc gia nâng cấp các khả năng về kỹ thuật để đáp ứng các yêu cầu của Bộ luật quốc tế về động vật thủy sản của OIE (xuất bản lần thứ ba) và Hiệp định SPS của WTO, và có sự hỗ trợ của các điều khoản thích ứng trong Bộ quy tắc ứng xử nghề cá có trách nhiệm của FAO. Thông tin trong **Hướng dẫn chẩn đoán bệnh ở châu Á** được trình bày theo một mẫu từ những quan sát tổng thể tại ao hoặc trại nuôi (Mức độ I), đến hướng dẫn thông tin về mặt kỹ thuật các chẩn đoán phân tử hoặc siêu cấu trúc tiên tiến và các phân tích của phòng thí nghiệm (các mức độ II và III, và các tiêu chuẩn sức khoẻ động vật thủy sản của OIE), vì thế có quan tâm đến những sai khác trong lĩnh vực bệnh của quốc tế, khu vực và quốc gia, cũng như các mức độ sai khác của năng lực chẩn đoán bệnh giữa các quốc gia trong khu vực châu Á-Thái Bình Dương.

(Từ khoá: châu Á, Nuôi trồng thủy sản, Chẩn đoán bệnh, Quản lý sức khoẻ, Bệnh của động vật thủy sản, Hướng dẫn, Báo cáo về bệnh)

LỜI TỰA

Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp của Liên Hợp quốc (FAO) và Mạng lưới các Trung tâm nuôi trồng thủy sản ở châu Á-Thái Bình Dương (NACA) trân trọng giới thiệu cuốn sách **Hướng dẫn Chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản châu Á**. Cuốn sách này là cuốn thứ ba và là cuốn cuối cùng của bộ sách nhiều tập "Tài liệu kỹ thuật thủy sản của FAO", đã được xây dựng bởi các đại diện từ 21 Chính phủ châu Á, các nhà khoa học và chuyên gia về sức khoẻ động vật thủy sản, cũng như của các đại diện từ các cơ quan và tổ chức quốc gia, khu vực và quốc tế. **Cuốn Hướng dẫn chẩn đoán bệnh ở châu Á** cung cấp các hướng dẫn chẩn đoán bệnh có giá trị để thực hiện **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật ở khu vực châu Á về Quản lý sức khoẻ để di chuyển có trách nhiệm các động vật thủy sản sống** và kế hoạch thực hiện liên quan, **Chiến lược đồng thuận và hành động Bắc Kinh** (BCIS) (xem Tài liệu Kỹ thuật thủy sản số 402, phần bổ sung 1). Cuốn sách cũng bổ sung cho Sổ tay các quy trình để thực hiện **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật** (xem Tài liệu kỹ thuật thủy sản cá của FAO số 402, Phần bổ sung 1). Toàn bộ bộ sách nhằm mục đích hỗ trợ các quốc gia và khu vực trong nỗ lực giảm thiểu các rủi ro của bệnh do việc di chuyển qua biên giới (nhập nội và chuyển đổi). Việc thực hiện **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật** sẽ góp phần đảm bảo an toàn và tăng thu nhập cho những người nuôi trồng thủy sản ở châu Á nhờ giảm thiểu các rủi ro về bệnh có liên quan với việc di chuyển qua biên giới các mầm bệnh động vật thủy sản. Ở nhiều nước châu Á, nuôi trồng và đánh bắt thủy sản là chỗ dựa chính của an toàn thực phẩm và sinh kế ở vùng nông thôn, và hiệu quả thực hiện các hướng dẫn kỹ thuật sẽ góp phần cho các nỗ lực của khu vực để nâng cao sinh kế ở nông thôn, trong khuôn khổ rộng hơn của quản lý có trách nhiệm, bền vững môi trường và bảo vệ tính đa dạng sinh học của nước.

Chương trình Hợp tác Kỹ thuật (TCP) của FAO Dự án TCP/RAS 6714 (A) và 9065 (A) "Hỗ trợ cho việc di chuyển có trách nhiệm các động vật thủy sản sống" đã được NACA triển khai vào năm 1998, với sự tham gia của 21 nước trong toàn khu vực. Chương trình này đã được hỗ trợ nỗ lực của FAO trong việc giúp đỡ các quốc gia thành viên thực hiện các điều khoản thích ứng ở điều 9 (Phát triển nuôi trồng thủy sản) của **Bộ quy tắc ứng xử nghề cá có trách nhiệm** (CCRE), ở cả các mức độ quốc gia và khu vực.

Bộ các Nguyên tắc hướng dẫn, do một nhóm chuyên gia về sức khoẻ động vật thủy sản xây dựng tại Hội thảo khu vực tổ chức ở Bangkok năm 1996, đã tạo ra cơ sở cho một quá trình tư vấn mở rộng vào giai đoạn 1998 - 2000, với sự tham gia của các điều phối viên quốc gia do các chính phủ đề cử, NACA, FAO, OIE và các chuyên gia khu vực và quốc tế. Dựa trên các báo cáo từ những hội thảo này, cũng như các hoạt động giữa các phiên họp do FAO và NACA điều phối, Dự thảo của **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật** đã được trình bày và thảo luận tại Hội thảo của của Dự án về Quản lý sức khoẻ khu vực châu Á để di chuyển xuyên biên giới có trách nhiệm các động vật thủy sản sống, tổ chức ở Bắc Kinh, Trung Quốc, từ ngày 27 đến 30/6/2000.

Cuốn **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật** đã được xem xét lại và được các đại biểu dự họp thảo luận, bao gồm các điều phối viên quốc gia, FAO, NACA, OIE (các đại diện của Hội đồng Bệnh cá và Đại diện khu vực ở Tokyo) và nhiều chuyên gia quản lý sức khoẻ động vật thủy sản khu vực và quốc tế. Các điều phối viên quốc gia đều nhất trí tán thành về nguyên tắc **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật**, vì nó đã đưa ra hướng dẫn có giá trị cho các nỗ lực quốc gia và khu vực để giảm các rủi ro của bệnh do việc di chuyển xuyên biên giới các động vật thủy sản sống.

Thừa nhận tầm quan trọng to lớn của việc thực hiện **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật**, các đại biểu đã chuẩn bị một chiến lược thực hiện chi tiết gọi là **Chiến lược đồng thuận và hành động Bắc Kinh** (BCIS), tập trung vào các chiến lược quốc gia, có sự hỗ trợ thông qua hợp tác khu vực và quốc tế. Chiến lược thực hiện toàn diện này đã được các đại biểu hội thảo nhất trí chấp thuận.

Các quốc gia tham gia xây dựng **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật**, **BCIS**, **Sổ tay các quy trình và hướng dẫn chẩn**

LỜI TỰA

đoán bệnh ở châu Á là Ôxtrâylia, Bangladesh, Campuchia, CHND Trung Hoa, Hongkong Trung Quốc, Ấn Độ, Inđônexia, Iran, Nhật Bản, CHDCND Lào, Malaysia, Myanmar, Nepal, Pakistan, Philippin, Singapore, Sri Lanka, Thái Lan và Việt Nam.

FAO và NACA xin bày tỏ lời cảm ơn tới tất cả các chính phủ, cơ quan và tổ chức cũng như đến tất cả các cá nhân đã dành thời gian, nỗ lực và tài năng chuyên môn để biên soạn tài liệu này và các thông tin khác nảy sinh trong quá trình làm việc.

Ichiro Nomura

Trợ lý Tổng Giám đốc

Vụ Nghề cá

Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp của LHQ

Viale delle Terme di Caracalla 00100 Rome, Italia

Fax: + 39 06 570-53020

E-mail: ichiro.nomura@fao.org hoặc

fi-enquires@fao.org

Trang web: http://www.fao.org/fi/default.asp

Pedro Bueno

Điều phối viên

Mạng lưới các Trung tâm nuôi trồng thủy sản ở châu Á-Thái Bình Dương (NACA)

Vụ Nghề cá,

Kasetsart University Campus, Ladyao, Jatujak

Bangkok 10900, Thái Lan

Fax: (662) 561-1727

E-mail: Pedro.Bueno@enaca.org

Trang web: http://www.enaca.org

LỜI NÓI ĐẦU

Việc di chuyển động vật thủy sản sống là cần thiết để phát triển nuôi trồng thủy sản ở cả hai mức độ tự cung tự cấp và thương mại. Tuy nhiên, việc di chuyển như thế làm tăng khả năng di nhập các mầm bệnh mới, chúng có thể mang đến những hậu quả tai hại cho nghề nuôi trồng thủy sản, khai thác thủy sản và các nguồn lợi có liên quan, cũng như cả những nguồn sinh kế phụ thuộc vào các công việc này. Nhằm giảm thiểu hoặc tránh nguy cơ mầm bệnh lan truyền qua việc di chuyển động vật thủy sản, điều cần thiết là các cá nhân và tổ chức tham gia vào các hoạt động này nhận thức được và tham gia vào quá trình quản lý sức khỏe toàn diện.

Những tác động bất lợi tới kinh tế - xã hội và môi trường do việc di chuyển các động vật thủy sản và các sản phẩm của chúng một cách vô trách nhiệm hoặc thiếu cân nhắc đã dẫn đến sự thừa nhận của toàn cầu về việc cần thiết phải có những điều luật về quản lý sức khoẻ nhằm bảo vệ nghề nuôi trồng thủy sản, nguồn lợi thủy sản và môi trường nuôi trồng thủy sản. Trong nhiều trường hợp, các tác động này là hậu quả trực tiếp của việc không có các chiến lược quản lý sức khoẻ có hiệu quả của quốc gia và khu vực. Tuy nhiên, việc hình thành các biện pháp kiểm dịch, chứng nhận sức khỏe có hiệu quả và các nguyên tắc chỉ đạo thích hợp trên phạm vi quốc tế là rất phức tạp. Vì phải xem xét đến hoàn cảnh kinh tế - xã hội và môi trường trên phạm vi rộng lớn cùng với đó là hàng loạt động vật thủy sản có liên quan và các mầm bệnh, bệnh của chúng. Ngoài ra, những lý do khác nhau để di chuyển động vật thủy sản sống và các sản phẩm lại kéo theo một loạt thay đổi tiếp theo cho quá trình. Tuy nhiên, các tác động nghiêm trọng do không hạn chế việc di chuyển thủy sản sống trong khu vực và quốc tế đã được thừa nhận ở phạm vi toàn cầu - một yếu tố đã được phản ánh rõ ràng trong **Bộ luật quốc tế về sức khỏe động vật thủy sản** và **Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE**[1] (Cơ quan quốc tế về bệnh dịch động vật), trong đó đưa ra các nguyên tắc chỉ đạo và khuyến cáo để giảm nguy cơ của việc lan truyền các mầm bệnh đặc trưng có liên quan đến việc buôn bán các động vật thủy sản trên phạm vi quốc tế.

Do các qui định quốc tế hiện nay không phải lúc nào cũng giải quyết được các vấn đề về dịch bệnh trong việc sản xuất và buôn bán thực phẩm thủy sản, sự cần thiết phải có các qui định quản lý sức khoẻ có hiệu quả, trong đó tập trung vào các vấn đề về loài và bệnh ở khu vực này đã được thừa nhận từ nhiều năm nay. Cách tiếp cận cho cả khu vực, chứ không phải là từng quốc gia, được cho là thích hợp do nhiều quốc gia trong khu vực có cùng các đặc điểm xã hội, kinh tế, công nghiệp, môi trường, sinh học và địa lý. Nhiều quốc gia còn có các mặt nước chung với các quốc gia láng giềng và đường phân nước của một số con sông chính ở châu Á vượt qua các đường biên giới quốc gia. Một chương trình quản lý sức khỏe được cả khu vực chấp nhận sẽ tạo thuận lợi cho việc buôn bán, bảo vệ sản xuất thủy sản (tự cung tự cấp và thương mại) và môi trường khỏi bị bệnh tấn công.

Chương trình Khu vực của FAO/NACA hợp tác quản lý sức khỏe động vật thủy sản đã được triển khai để đánh giá sự cần thiết phải quản lý sức khỏe tốt hơn nhằm hỗ trợ việc di chuyển động vật thủy sản sống được an toàn và tính phù hợp của các bộ luật quốc tế hiện có về quản lý sức khoẻ động vật thủy sản, kiểm dịch và cấp chứng nhận sức khỏe, bao gồm các bộ luật của OIE, Ủy ban Tư vấn nghề cá nội địa của châu Âu (EIFAC) và Hội đồng Khai thác biển (ICES) theo các điều kiện của châu Á. Việc đánh giá này đã nhấn mạnh rằng các rủi ro về bệnh có liên quan đến việc lan truyền mầm bệnh trong khu vực châu Á chỉ có thể giảm đi nhờ cách tiếp cận về quản lý sức khỏe động vật thủy sản rộng hơn hiện nay như đã có trong các bộ qui tắc hành động chuyên về bệnh (ví dụ, Bộ qui tắc của OIE) hoặc trong các bộ qui tắc và nghị định thư dành riêng cho các quốc gia ở bắc bán cầu (ví dụ các Bộ qui tắc ICES và EIFAC).

[1] Xem OIE. 2000a. Bộ luật quốc tế về sức khỏe động vật thủy sản. Xuất bản lần thứ 3. OIE, Paris, 153 tr., và OIE. 2000b. Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản. Xuất bản lần thứ 3. OIE, Paris, 237 tr.

[2] Xem Humphrey, JD., JR. Arthur, R.P. Subasinghe và M.J.Phillips. 1997. Chứng chỉ sức khỏe và kiểm dịch động vật thủy sản ở châu Á. Tài liệu hội thảo khu vực về Các nguyên tắc về sức khỏe và kiểm dịch

để di chuyển động vật có trách nhiệm (Di nhập và luân chuyển động vật thủy sản), Bangkok, Thái Lan, 28/01/1996. Tài liệu kỹ thuật thủy sản của FAO số 373, 153 tr.

Ngoài ra, nó cũng nhấn mạnh sự cần thiết tham gia của người ở trước biên giới (xuất khẩu), ở biên giới và sau biên giới (nhập khẩu) vào chương trình để đảm bảo hợp tác quản lý sức khỏe của việc di chuyển động vật thủy sản. Với sự hỗ trợ của Chương trình Hợp tác Kỹ thuật của FAO (TCP) do NACA thực hiện, **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật của khu vực châu Á để di chuyển có trách nhiệm các động vật thủy sản sống** là một tài liệu do một nhóm các chuyên gia sức khoẻ động vật thủy sản ở trong và ngoài khu vực biên soạn để tham gia xây dựng các qui trình quản lý sức khoẻ có hiệu quả để vận chuyển an toàn các động vật thủy sản sống trong và giữa các quốc gia ở khu vực. Tài liệu thứ nhất của cùng một bộ, **Sổ tay các qui trình để thực hiện các Nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật của khu vực châu Á về quản lý sức khoẻ để di chuyển có trách nhiệm các động vật thủy sản sống**, cung cấp nguyên liệu cơ bản và các qui trình kỹ thuật chi tiết để giúp các quốc gia và lãnh thổ trong khu vực châu Á thực hiện **Các Nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật**. Tài liệu thứ hai của cùng một bộ là Hướng dẫn chẩn đoán bệnh ở châu Á, cung cấp hướng dẫn chẩn đoán để thực hiện **Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật** và cùng bổ sung cho **Sổ tay các qui trình**.

LỜI CẢM ƠN

Có nhiều người[3] mà chúng tôi phải chân thành cảm ơn vì sự đóng góp hào hiệp của họ vào việc biên soạn và cùng biên tập các phần khác nhau của cuốn Hướng dẫn Chẩn đoán bệnh ở châu Á mặc dù chỉ là ghi chú rất ngắn, cung cấp các góp ý và thông tin kỹ thuật có giá trị, và các ảnh chụp. Chúng tôi biết ơn các vị có tên sắp xếp theo vần chữ cái như sau:

- TS. Rob Adlard (Bảo tàng Queensland - Ôxtrâylia) về đánh giá phần 3 - Bệnh của nhuyễn thể.
- TS. Victoria Alday de Graindorge (CSA - Ecuador; e-mail: valday@espol.edu.ec) về đánh giá các phần C.2 - YHD, C.3 - IHHN, C.4 WSD, C.5 - BMN và C.8 - TS.
- TS. Eva-Maria Bernoth (AFFA - Ôxtrâylia) về những sơ thảo đầu tiên của Bản hướng dẫn và sự cố gắng bền bỉ để hoàn thành Bản hướng dẫn.
- TS. Supranee Chinabut (AAHRI - Thái Lan) và TS. Kamonporn Tonguthai (Phòng thí nghiệm tham vấn của OIE về EUS, AAHRI - Thái Lan) về đánh giá phần 2 - Bệnh cá và cung cấp thông tin cho phần F.2 - EUS.
- Ông Dan Fegan (Biotec - Thái Lan) và GS. Tim Flegel (Đại học Mahidol - Thái Lan) về sự đóng góp mở rộng phần 4 - Bệnh giáp xác, và các phần C.1 - Kỹ thuật chung, C.2 - YHD, C.3 - IHHN và C.4 - WSD.
- TS. Ken Hasson (Super Shrimp - Mỹ; e-mail:hasson@supershrimp.com) về đánh giá phần 4 - Bệnh giáp xác và các phần C.1 - Kỹ thuật chung, C.5 - BMN, C.8 -TS và C.10 - NH.
- TS. Mike Hine (MAF - New Zealand), TS. Susan Bower (DFO - Canada), Dr. Robert Adlard (Bảo tàng Queensland - Ôxtrâylia), TS. Mi - Seon Park và TS. Dong Lim Choi (NFRDI - Hàn Quốc), TS. Brian Jones (FWA - Ôxtrâylia), và cô Daisy Ladra (BFAR - Philippin) đã hào hiệp cung cấp các ảnh cho phần 3 - Bệnh của nhuyễn thể.
- GS. Don Lightner (Đại học Arizona - Mỹ; e-mail: dvl@u.arizona.edu) và TS. Pornlerd Chanratchakool (AAHRI - Thái Lan) đã hào hiệp cho phép in lại nhiều ảnh trong ấn phẩm của Lightner (1996) và Chanratchakool và cộng sự (1998); GS. Tim Flegel (Đại học Mahidol - Thái Lan) và TS. Victoria Alday de Graindorge (CSA - Ecuador) đã cung cấp ảnh chụp lấy từ CD-ROM về chẩn đoán bệnh tôm; GS. M. Shariff, Dr. Peter Walker và TS.Fernando Jimenez (SEMARNAP-Mexico e-mail: fhjimenez@hotmail.com) đã cung cấp ảnh cho phần 4 - Bệnh của giáp xác.
- TS. Leigh Owens (Đại học James Cook - Ôxtrâylia, e-mail: leigh.owens@jcu.edu.au) về đánh giá C.7 - SMVD.
- GS. Md. Shariff (UPM - Malaysia) đã cung cấp thông tin cho phần C.4a - BWSS.
- TS. Peter Walker (CSIRO - Ôxtrâylia) đã đánh giá và viết lại C.6 - GAV.
- GS. Mamori Yoshimizu (Đại học Hokkaido - Nhật Bản), GS. Kazuo Ogawa (Đại học tổng hợp Tokyo - Nhật Bản), GS. Kishio Hatai (ĐHTH về khoa học kiểm dịch và Động vật - Nhật Bản), TS. Hiroshi Yokoyama (ĐHTH Tokyo - Nhật Bản, e-mail: ayokoh@mail.ecc.utokyo.ac.jp), GS. Chau Shi Shi (ĐHQG Đài Loan;e-mail: shauchi@ccms.ntu.edu.tw);
- TS. J Richard Arthur (Canada), TS. Roger Chong (Cục Thuỷ sản và Bảo quản - Hongkong - Trung Quốc), TS. Richard B. Callinan (NSWF - Ôxtrâylia) và TS. Mark Crane (AAHL - Ôxtrâylia) đã hào hiệp cung cấp ảnh cho Phần 2 - Bệnh của cá.
- GS. Jiang Yulin (Phòng thanh tra và kiểm dịch xuất và nhập Shenzen - CHND Trung Hoa) đã cung cấp thông tin và góp ý có giá trị cho Phần 2 - Bệnh của cá và nhiều ảnh chụp.

[3] Địa chỉ và hộp thư điện tử của các đơn vị này đã được liệt kê trong "Hướng dẫn Chẩn đoán bệnh ở châu Á

LỜI CẢM ƠN

Các điều phối viên quốc gia, các thành viên của Nhóm Công tác khu vực và Cơ quan Dịch vụ Hỗ trợ kỹ thuật đã hỗ trợ hình thành tài liệu Hướng dẫn chẩn đoán bệnh ở châu Á. Hội các nhà bệnh cá châu Âu (EAFP) đã cho phép in lại nhiều ảnh chụp từ cuốn "Tôi nên làm gì?". Các chuyên gia được liệt kê trong các Phụ lục cũng đã đồng ý cung cấp thông tin và tư vấn về sức khoẻ thuộc lĩnh vực chuyên môn riêng của họ. Chúng tôi xin cảm ơn tất cả các vị.

Chúng tôi đặc biệt cảm ơn TS. Michael J.Phillips của NACA về tầm nhìn và động viên liên tục của ông; các điều phối viên của NACA, ông Hassanai Kongkeo (1996-2001) và ông Pedro Bueno (từ 2001 đến nay) về những hỗ trợ mạnh mẽ đến chương trình sức khoẻ động vật thủy sản khu vực châu Á; và nhóm Phương tiện truyền thông châu Á về các ý tưởng sáng tạo và hợp tác hữu nghị của họ và đáp ứng nhanh các yêu cầu đôi khi không đúng lúc để hoàn tất cuốn Hướng dẫn chẩn đoán bệnh ở châu Á.

Ban biên tập

MỤC LỤC

Trang bìa
Thông báo về bản quyền tác giả ii
Chuẩn bị cho tài liệu iii
Tóm tắt iv
Lời tựa v
Lời nói đầu vii
Lời cảm ơn ix
Mục lục 11
Từ điển thuật ngữ 15
Các từ viết tắt 31
Tên khoa học và tên thông dụng 33

PHẦN 1 - GIỚI THIỆU

I LỜI GIỚI THIỆU 37
I.1 Bối cảnh 38
I.2 Mục đích và phạm vi 38
I.3 Hướng dẫn cho người sử dụng 38
I.4 Sức khoẻ và động vật thủy sản 40
I.5 Vai trò của chẩn đoán bệnh trong sức khoẻ của động vật thủy sản 41
I.6 Các mức độ chẩn đoán 41
I.7 Tài liệu tham khảo 44
Cấu tạo giải phẫu của một cá xương điển hình 46

PHẦN 2 - CÁC BỆNH CỦA CÁ

F.1 **Kỹ thuật chung** 48
F.1.1 Các quan sát tổng quát 48
F.1.1.1 *Tập tính* 48
F.1.1.2 *Quan sát bề ngoài* 48
F.1.1.2.1 Da và vảy 48
F.1.1.2.2 Mang 49
F.1.1.2.3 Thân 50
F.1.1.3 *Quan sát bên trong* 50
F.1.1.3.1 Khoang bụng và Cơ 50
F.1.1.3.2 Các cơ quan 50
F.1.2 **Các chỉ tiêu môi trường** 51
F.1.3 **Quy trình chung** 51
F.1.3.1 *Chuẩn bị trước khi lấy mẫu* 51
F.1.3.2. *Thông tin chung* 52
F.1.3.3 *Lấy mẫu để kiểm tra sức khoẻ* 52
F.1.3.4 *Lấy mẫu để chẩn đoán bệnh* 52
F.1.3.5 *Lấy mẫu sống để vận chuyển* 53
F.1.3.6 *Lấy mẫu mô hoặc cá chết để chuyển đi* 53
F.1.3.7 *Bảo quản (cố định) các mẫu mô* 54
F.1.3.8 *Vận chuyển mẫu đã bảo quản* 54
F.1.4. **Ghi chép - Lưu giữ** 55
F.1.4.1. *Các quan sát tổng quát* 55
F.1.4.2 *Quan sát môi trường* 55
F.1.4.3 *Ghi chép về đàn cá nuôi thả* 55
F.1.5 **Tài liệu tham khảo** 55

MỤC LỤC

	CÁC BỆNH CỦA CÁ DO VIRUS	
F.2	**Dịch bệnh hoại tử cơ quan tạo máu**	57
F.3	**Bệnh hoại tử cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (IHN)**	60
F.4	**Virus cá hồi Nhật Bản *Oncorhynchus masou* (OMV)**	63
F.5	**Hoại tử nhiễm trùng tụy (IPN)**	66
F.6	**Bệnh viêm não và võng mạc do Virus (VER)**	70
F.7	**Bệnh nhiễm Virus vào mùa xuân ở cá chép (SVC)**	74
F.8	**Bệnh nhiễm trùng xuất huyết do Virus (VHS)**	77
F.9	**Bệnh u nang bạch huyết**	80
	BỆNH CỦA CÁ DO VI KHUẨN	
F.10	**Bệnh nhiễm khuẩn thận (BKD)**	84
	CÁC BỆNH CÓ LIÊN QUAN ĐẾN NẤM	
F.11	**Hội chứng dịch bệnh lở loét (EUS)**	88
	PHỤ LỤC	
F.AI.	**Các Phòng thí nghiệm tham vấn về bệnh cá của OIE**	93
F.AII.	**Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương**	96
F.AIII.	**Danh sách các sổ tay/hướng dẫn hữu dụng về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương**	103
	Cấu tạo giải phẫu con hầu	106

PHẦN 3 - CÁC BỆNH CỦA NHUYỄN THỂ

M.1	**KỸ THUẬT CHUNG**	108
M.1.1	**Các quan sát chung**	109
M.1.1.1	*Tập tính*	109
M.1.1.2	*Các quan sát mặt vỏ ngoài*	109
M.1.1.3	*Các quan sát mặt vỏ trong*	109
M.1.1.4	*Các bề mặt mô mềm*	109
M.1.2	**Các chỉ tiêu môi trường**	112
M.1.3	**Các quy trình chung**	114
M.1.3.1	*Chuẩn bị trước khi thu mẫu*	114
M.1.3.2	*Thông tin chung*	114
M.1.3.3	*Lấy mẫu để kiểm tra sức khoẻ*	114
M.1.3.4	*Lấy mẫu để chẩn đoán bệnh*	114
M.1.3.5	*Lấy mẫu sống để vận chuyển*	114
M.1.3.6	*Bảo quản các mẫu mô*	115
M.1.3.7	*Vận chuyển các mẫu đã bảo quản*	116
M.1.4	**Lưu giữ - ghi chép**	116
M.1.4.1	*Các quan sát tổng thể*	116
M.1.4.2	*Các quan sát môi trường*	117
M.1.4.3	*Ghi chép về nuôi thả*	117
M.1.5	**Tài liệu tham khảo**	117
	CÁC BỆNH CỦA NHUYỄN THỂ	
M.2	**Bệnh Bonamia (*Bonamia* sp., *B. ostreae*)**	119
M.3	**Bệnh Marteilia (*Marteilia refringens*, *M. sydneyi)***	123
M.4	**Bệnh Mikrocytos *(Mikrocytos mackini, M roughleyi*)**	127

MỤC LỤC

M.5	**Bệnh Perkinsus (*Perkinsus marinus, P. olseni*)**	131
M.6	**Bệnh Haplosporidium (*Haplosporidium costale, H. nelsoni*)**	136
M.7	**Bệnh Marteilioides (*Marteilioides chungmuensis, M. branchialis*)**	142
M.8	**Bệnh iridovirus (Bệnh màng áo ở hầu do Virus)**	145
	PHỤ LỤC	
M.AI.	**Phòng kiểm nghiệm tham vấn về bệnh nhuyễn thể của OIE**	147
M.AII.	**Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh nhuyễn thể ở châu Á Thái Bình Dương**	148
M.AIII.	**Danh sách các Sổ tay/hướng dẫn chẩn đoán hữu dụng về bệnh nhuyễn thể**	150
	Hình mô tả bên trong và bên ngoài con tôm	152
	PHẦN 4 - BỆNH CỦA GIÁP XÁC	
C.1	**KỸ THUẬT CHUNG**	155
C.1.1	**Các quan sát chung**	155
C.1.1.1	*Tập tính*	155
C.1.1.1.1	*Tổng quát*	155
C.1.1.1.2	*Tỷ lệ tử vong*	155
C.1.1.1.3	*Hoạt tính ăn*	156
C.1.1.2	*Các quan sát bề mặt*	156
C.1.1.2.1	*Hiện tượng sinh vật bám và ăn mòn*	156
C.1.1.2.2	*Mềm vỏ, đốm và tổn thương vỏ*	156
C.1.1.2.3	*Màu sắc*	156
C.1.1.2.4	*Các quan sát về môi trường*	158
C.1.1.3	*Các bề mặt mô mềm*	158
C.1.2	**Các chỉ tiêu môi trường**	158
C.1.3	**Các quy trình chung**	158
C.1.3.1	*Chuẩn bị trước khi thu mẫu*	158
C.1.3.2	*Thông tin chung*	160
C.1.3.3	*Lấy mẫu để kiểm tra sức khỏe*	160
C.1.3.4	*Lấy mẫu để chẩn đoán bệnh*	160
C.1.3.5	*Lấy mẫu sống để vận chuyển*	160
C.1.3.6	*Bảo quản các mẫu mô*	162
C.1.3.7	*Vận chuyển các mẫu đã được bảo quản*	163
C.1.4	**Ghi chép - Lưu giữ**	163
C.1.4.1	*Các quan sát chung*	163
C.1.4.2	*Các quan sát môi trường*	163
C.1.4.3	*Ghi chép về nuôi thả*	164
C.1.5	**Tài liệu tham khảo**	164
	CÁC BỆNH CỦA TÔM DO VIRUS	
C.2	**Bệnh đầu vàng (YHD)**	165
C.3	**Bệnh hoại tử vỏ dưới và cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (IHHN)**	171
C.4	**Bệnh đốm trắng (WSD)**	176
C.4a.	**Hội chứng đốm trắng do vi khuẩn (BWSS)**	181

MỤC LỤC

C.5.	**Bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa (BMN)**	184
C.6.	**Virus gây kết dính mang (GAV)**	187
C.7.	**Hội chứng gây tử vong tôm bố mẹ (SMVD)**	190
C.8.	**Hội chứng Taura (TS)**	192
C.9	**Bệnh còi do virus đa diện có nhân (NPD)**	199
	BỆNH CỦA TÔM DO VI KHUẨN	
C.10	**Bệnh hoại tử khối gan tụy (NHP)**	205
	BỆNH Ở TÔM DO NẤM	
C.11	**Bệnh nấm ở tôm càng đỏ**	209
	PHỤ LỤC	
C.A I	**Các phòng thí nghiệm tham vấn của OIE về các bệnh giáp xác**	214
C.AII.	**Danh sách chuyên gia khu vực về bệnh giáp xác ở châu Á - Thái Bình Dương**	214
C.A III	**Danh sách các sổ tay/hướng dẫn hữu dụng chẩn đoán bệnh giáp xác ở châu Á-Thái Bình Dương**	217
Danh sách các điều phối viên quốc gia (NCs)		219
Các thành viên của nhóm công tác khu vực (RWG) và các thành viên của ban dịch vụ hỗ trợ kỹ thuật (TSS)		223
Danh mục các hình minh hoạ		228

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ[1]

Áp xe	Hiện tượng tụ tập của các tế bào máu liên kết với các tế bào bị hoại tử của vật chủ. Áp xe có thể chứa hoặc không chứa cặn bã từ các sinh vật xâm nhập mà chúng đã bị phản ứng tự vệ của vật chủ tiêu diệt. Ở các áp xe sớm có hiện tượng giảm trong việc xác định tế bào (nhất là nhân) theo hướng trung tâm của tổn thương, so với các tế bào ở xung quanh vùng ngoại biên. Áp xe thường làm suy thoái các lớp đệm biểu mô và có thể bị thực bào bởi các tế bào bạch cầu hay tế bào máu liên kết.
Các yếu tố vi sinh	Các yếu tố vật chất có ảnh hưởng đến sự phát triển/tồn tại của một sinh vật.
Miễn dịch tiếp thu	Miễn dịch thu được sau khi khỏi bệnh (hoặc tiêm vacxin) đối với 1 tác nhân gây bệnh (hoặc một nhóm tác nhân)
Cấp tính	Nhiễm bệnh hoặc triệu chứng bệnh lý xảy ra trong một khoảng thời gian ngắn (xem "mãn tính").
Sự kết bám	(Giáp xác) Sự liên kết của các mô dưới lớp vỏ với lớp vỏ do sự phá huỷ lớp vỏ bởi vi khuẩn phân huỷ kitin hoặc nấm. Điều này cản trở quá trình lột vỏ.
Yếu tố bệnh nguyên học	Sinh vật đầu tiên gây ra những thay đổi ở vật chủ, dẫn đến bệnh.
Bệnh nguyên học	Khoa học nghiên cứu về nguyên nhân của bệnh, bao gồm các yếu tố thúc đẩy việc lan truyền và gây nhiễm của yếu tố bệnh nguyên học.
Cá bột	Cá của một số loài cá, đặc biệt là cá hồi, khi vẫn còn túi noãn hoàng.
Bệnh thiếu máu	(Động vật có xương sống) Sự thiếu hụt máu hoặc tế bào hồng cầu.
Chứng biếng ăn	Sự mất cảm giác thèm ăn.
Tuyến râu	(Giáp xác) Các lỗ bài tiết ở gốc râu (còn gọi là tuyến thận, cơ quan bài tiết và tuyến xanh lá cây).
Kháng thể	Một protein có khả năng liên kết chéo với một kháng nguyên.Ở động vật có xương sống, kháng thể được các tế bào bạch huyết sản xuất ra để đối phó với các kháng nguyên. Cơ chế tạo ra kháng thể ở trai, sò, tôm cua chưa rõ.
Kháng nguyên	Là một chất hoặc tế bào gây phản ứng miễn dịch. Một kháng nguyên có thể có một số phân tử bề mặt (epitop) để kháng thể gắn kết (xem "các kháng thể đơn dòng và đa dòng")
Động vật thủy sản	Cá, nhuyễn thể và giáp xác sống, bao gồm các sản phẩm sinh sản của chúng, trứng đã thụ tinh, phôi và các giai đoạn ấu niên, ở các khu vực nuôi trồng thủy sản hoặc ở tự nhiên.
Nuôi trồng thủy sản	Được gọi phổ biến là "nuôi cá", khái quát rộng hơn bao gồm cả việc ấp nở và nuôi thương mại động vật thủy sản và thực vật ở biển và nước ngọt
Bệnh báng, cổ trướng	Sự tích tụ dịch huyết thanh trong khoang bụng; chứng phù.
Vô trùng	Không bị nhiễm trùng; tiệt trùng

[1]Những định nghĩa của các từ có * được lấy từ Bộ quy tắc quốc tế về sức khoẻ động vật thủy sản của OIE. Xuất bản lần thứ 3 - 2000. Tất cả các định nghĩa khác đã được lấy từ các tài liệu tham khảo sau đây: FAO/NACA (2000); Từ điển y học có minh họa của Dorland (Xuất bản lần thứ 27); Từ điển thuật ngữ Virus bản quyền năm 1995 của Carlton Hogan và ĐHTH Minnestota (cho phép được sao chụp và sử dụng http://www.virology.net/ATVG;ossary.html); Từ điển y học trực tuyến ở http://www.graylab.ac.uk/omd/index.html

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ

Sự teo biến	Giảm về tổng số mô, hoặc kích thước của một cơ quan, sau khi đã đạt được sinh trưởng bình thường.
Sự tự phân giải	Sự phá vỡ màng tế bào do enzym, hoạt động như một chức năng bình thường quá trình đổi mới tế bào hoặc do nhiễm trùng.
Không độc	Một nhiễm trùng không gây ra bệnh lý (xem "độc").
Nuôi cấy thuần khiết	Nuôi cấy chỉ chứa các tế bào của một loài đơn (nuôi cấy vi khuẩn) hoặc dạng tế bào (nuôi cấy mô) (không bị nhiễm hoặc đã thuần khiết).
Vi khuẩn học	Khoa học tiến hành nghiên cứu về vi khuẩn
Thể thực khuẩn	(viết tắt - thực khuẩn) bất kể virus nào gây nhiễm cho vi khuẩn
Vi khuẩn	Các sinh vật hiển vi đơn bào không nhân (chất nhân không nằm trong một nhân) có thể sinh sôi bằng cách phân chia tế bào (phân cắt), có một vách tế bào điển hình; có thể là hiếu khí hoặc kỵ khí, di động hoặc bất động, sống tự do, hoại sinh hoặc gây bệnh.
Ưa kiềm	Các thành phần tế bào và mô có tính axit bắt màu với các thuốc nhuộm bazơ (như hematoxylin); chromatin và một số sản phẩm tiết trong các tế bào đã nhuộm có màu xanh da trời đến đỏ tía.
Phép thử sinh học	Một quy trình định lượng sử dụng đến những sinh vật mẫn cảm để thăm dò các chất độc hoặc các mầm bệnh.
Giống bố mẹ*	Cá, nhuyễn thể hoặc giáp xác đã thành thục về sinh dục.
Chứa canxi	Có liên quan đến hoặc có chứa đá vôi hoặc canxi.
Ăn thịt lẫn nhau	Hiện tượng một loài động vật ăn chính loài động vật đó.
Vật mang bệnh	Cá thể mang mầm bệnh nhưng không có triệu chứng rõ ràng và có khả năng lan truyền bệnh; trạng thái của 1 cá thể như vậy được gọi là trạng thái ủ bệnh.
Xêrôit	Hiện tượng trao đổi các sản phẩm phụ có ở nhiều nhuyễn thể hai mảnh vỏ. Hàm lượng cao không bình thường gây ra stress có thể do môi trường hoặc do mầm bệnh được kích thích về mặt sinh lý học.
Tác nhân chelat	Tác nhân hoá học dùng để khử carbonat canxi ở vỏ nhuyễn thể hoặc ngọc trai, ví dụ axit ethylenediaminetetracetic (EDTA).
Chemotherapeutant	Hoá chất dùng để điều trị một nhiễm trùng hoặc một rối loạn không gây nhiễm trùng
Kitin	Dải polysaccharide ở các bộ xương ngoài của những động vật chân khớp, vách tế bào của hầu hết nấm và vách nang của tiêm mao trùng.
Phân giải kitin	(Nấm học và vi khuẩn học) Các sinh vật phân giải kitin bằng các men có khả năng phá vỡ thành phần kitin của bộ xương ngoài ở động vật chân khớp.
Mãn tính	Nhiễm trùng kéo dài có hoặc không biểu hiện các dấu hiệu lâm sàng.
Lâm sàng	Gắn với hoặc căn cứ vào quan sát thực tế.
Chất nhiễm sắc	Tổ hợp nucleoprotein có chứa hệ gen DNA và RNA trong nhân của hầu hết các tế bào có nhân điển hình.

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ(1)

Các tế bào sắc tố	Các tế bào biểu bì có chứa sắc tố, di động, chịu trách nhiệm về màu.
Ciliostatic	Ngoại độc tố, độc tố do một số vi khuẩn tiết ra làm ức chế các chức năng của tiêm mao.
Dòng	Một quần đàn phát sinh từ một cá thể riêng lẻ.
Sự động tụ	Hiện tượng vón cục (sự dính bám của các tế bào máu)
Chất tạo mặt vỏ	Chất albumin có chứa đạm, màu nâu sẫm, tạo nên nền tảng hữu cơ của vỏ nhuyễn thể.
Kết vón	Các thể ẩn trong tiểu quản và các tế bào thận của điệp và trai ngọc được tạo ra trong chu trình tiêu hoá. Các thể ẩn tương tự cũng được tìm thấy trong biểu bì của các nhuyễn thể khác.
Truyền nhiễm	Bệnh lây lan thông thường qua tiếp xúc trực tiếp giúp cơ thể nhiễm bệnh và cơ thể không nhiễm bệnh.
Giáp xác*	Động vật thủy sản thuộc ngành Arthropoda, một lớp lớn các động vật sống trong nước có bộ xương ngoài bằng kitin và các phần phụ khớp, ví dụ cua, tôm hùm, tôm càng xanh, tôm nước lợ, tôm nước ngọt, bộ động vật chân đều, bộ có vỏ cứng Ostracoda, bộ có chân bò và chân bơi Amphipoda.
Vỏ cutin	Lớp vỏ của động vật chân khớp có bản chất protein, gồm 1 lớp màng ngoài, một lớp ngoại biểu bì rồi đến một lớp nội biểu bì (canxi hóa) và 1 lớp màng chưa bị canxi hóa. Kitin có mặt trong tất cả các lớp trừ lớp màng ngoài.
Nang	(a) Một trạng thái ngủ của một sinh vật sống tự do hoặc ký sinh, hoặc (b) Phản ứng của vật chủ bao quanh mình một kích thích hoặc nhiễm trùng mô.
Tế bào học	Khoa học nghiên cứu về tế bào, nguồn gốc, cấu trúc, chức năng và bệnh lý học của tế bào.
Hiệu ứng gây bệnh tế bào	Gắn liền với hoặc đặc trưng bởi những thay đổi bệnh lý trong tế bào
Sự khử canxi	Quá trình loại bỏ chất canxi.
Sự cắt đầu	Cắt bỏ phần đầu.
Deoxyribovirus	(virus DNA) virus có bộ gen axit deoxyribonucleic (xem "Ribovirus")
DFAT	Phép thử/kỹ thuật kháng thể huỳnh quang trực tiếp; một kỹ thuật của phép thử miễn dịch sử dụng kháng thể đánh dấu để xác định sự gắn kết với một kháng nguyên đặc hiệu.
Sự thoát mạch	Sự di chuyển của các tế bào máu qua lớp biểu mô để loại bỏ các sản phẩm phụ của trao đổi chất, các tế bào chết và nhiễm trùng vi sinh vật.
Bệnh	Sự rối loạn cấu trúc hoặc chức năng bình thường của bất kỳ bộ phận, cơ quan, hoặc hệ thống của cơ thể được biểu hiện bởi các triệu chứng, dấu hiệu đặc trưng mà bệnh lý học, tác nhân gây bệnh hoặc tiên lượng bệnh có thể được biết hoặc chưa được biết.
Tác nhân gây bệnh	Một sinh vật gây ra hoặc góp phần vào việc hình thành bệnh.
Chẩn đoán*	Xác định bản chất của một bệnh.
Khử trùng*	Việc áp dụng các quy trình làm sạch để tiêu diệt các tác nhân gây bệnh ở động vật thủy sản, thực hiện ở cơ sở nuôi trồng thủy sản (như trại giống, trại nuôi, đồ dùng có thể bị ô nhiễm trực tiếp hoặc gián tiếp).

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ

DNA (ssDNA, dsDNA)	Axit Nucleic cấu tạo bởi các deoxyribonucleotid chứa các bazơ adenin, guanin, cytosin và thymin. Một số virus có DNA mạch đơn (ở dạng vòng) còn ở tế bào Eukaryote và phần lớn virus, DNA có cấu trúc mạch kép.
Đoạn dò DNA	Các đoạn DNA đã được đánh dấu để giúp cho việc thăm dò các đoạn DNA tương ứng trong các mẫu mô hoặc các mẫu canh trường.
Chứng phù	Sự tích tụ dịch huyết thanh không bình thường trong các mô tế bào hoặc ở xoang trong cơ thể.
Tuyến lột xác	(Giáp xác) xem cơ quan Y.
Ngoại ký sinh trùng	Ký sinh trùng sống ở bề mặt cơ thể vật chủ.
ELISA	Kỹ thuật hấp thụ miễn dịch liên kết enzym dùng để phát hiện kháng nguyên (ELISA bắt kháng nguyên) hoặc kháng thể (ELISA bắt kháng thể).
Sự gầy mòn	Một trạng thái hao mòn của cơ thể.
Dịch địa phương	Xuất hiện hoặc thường lưu hành đều đặn trong một quần thể hoặc một khu vực địa lý.
Thuộc nội mô	Có liên quan đến hoặc cấu thành nội mô.
Nội mô	Lớp các tế bào nội bì lót mặt trong của xoang tim và của các mạch máu và bạch huyết, các xoang huyết thanh của cơ thể có nguồn gốc từ lớp trung bì.
Cộng sinh nội bào	Sự kết hợp giữa hai sinh vật (một sinh vật sống bên trong sinh vật khác) mà cả hai đều có lợi hoặc chịu hậu quả ngược không rõ ràng.
Lớp vỏ	(Virus học) màng lipoprotein cấu tạo từ các lipid của vật chủ và protein của virus (các virus không có vỏ được cấu tạo lỏng lẻo từ vỏ capsid và nhân nucleoprotein)
Dịch động vật địa phương	Xuất hiện trong quần đàn vào mọi thời điểm nhưng chỉ xảy ra với một số ít trường hợp.
Ưa Eosin	Các thành phần cơ bản của tế bào và mô bắt màu khi nhuộm bằng các thuốc nhuộm axit (Eosin); các tế bào đã nhuộm có màu hồng đến đỏ.
Sinh vật bám	Các sinh vật (vi khuẩn, nấm, tảo.vv...) sống trên bề mặt (xem hiện tượng bám bẩn) của các sinh vật sống khác.
Mấu bên	(Giáp xác) phần thêm bằng cuticun của gốc các chân bò (pereipod).
Epitope	Cấu trúc trên bề mặt kháng nguyên kích thích đáp ứng miễn dịch và làm giá gắn kháng thể.
Dịch bệnh	Gây ra cho nhiều động vật trong cùng một thời gian; phát tán rộng và lan truyền nhanh (đồng nghĩa với epidemic - dùng cho bệnh ở người).
Dịch tễ học	Khoa học nghiên cứu các yếu tố quyết định và gây ảnh hưởng đến tần suất và phân bố của bệnh hoặc các yếu tố khác có liên quan và các nguyên nhân của chúng trong một quần thể xác định nhằm mục đích thiết lập ra các chương trình phòng ngừa và kiểm soát sự phát triển và lây lan dịch bệnh.

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ[1]

Bệnh học về dịch động vật	Nghiên cứu các yếu tố gây ra bệnh bởi một tác nhân gây bệnh.
Biểu mô	Lớp các tế bào bao phủ bề mặt cơ thể và tất cả lớp màng lót dạ dày - ruột. Các biểu mô thường là một tế bào dầy và được một màng cơ bản hỗ trợ.
Sự ăn mòn	Hiện tượng phá huỷ bề mặt của một mô, nguyên liệu hoặc cấu trúc.
Sinh vật có nhân điển hình	Sinh vật có chứa các nhiễm sắc thể ở bên trong một nhân có màng liên kết bao ngoài (xem sinh vật không có nhân điển hình).
Enzym ngoại bào	Enzym ở bên ngoài tế bào được một tế bào hoặc một vi sinh vật phóng thích ra.
Lồi mắt	Sự nhô ra không bình thường của nhãn cầu.
Bộ xương ngoài	(Giáp xác) Lớp vỏ bao ngoài của giáp xác (và các động vật chân đốt khác) bằng kitin và canxi để bảo vệ các mô mềm ở bên trong.
Dịch rỉ	Là vật chất, như dịch, các tế bào hoặc cặn bã tế bào, đã thoát ra khỏi các mạch máu và đã lắng đọng trong các mô hoặc trên bề mặt mô, đây thường là kết quả của sự viêm tấy.
Chết êm ái	Chết dễ dàng và không đau đớn
Lọc	Cho chảy một chất lỏng qua một cái lọc nhờ lực hấp dẫn, nén hoặc hút chân không.
Cá*	Cá nước ngọt hoặc nước biển ở bất kỳ giai đoạn nào.
Cá bột	Ấu trùng cá vừa mới nở.
Cá giống	Cá nhỏ hoặc còn non.
Cố định mẫu	Bảo quản các mô trong một chất lỏng để ngăn cản protein và lipit bị phân huỷ và hoại tử; mẫu vật được tiếp tục xử lý; và nội chất của tế bào và cận tế bào được bảo quản gần giống với trạng thái sống.
Chất cố định	Một chất lỏng (ví dụ aldehyde hoặc dung dịch ethanol gốc) có khả năng ngăn ngừa sự biến tính và tự tiêu do liên kết chéo của các protein.
Các vật lạ	Bất kỳ sinh vật hoặc tiểu phần vô sinh nào không được tạo thành từ mô vật chủ.
Formalin	Dung dịch 37% của formaldehyde.
Hiện tượng bám bẩn	Hiện tượng các sinh vật sống tự do bám trên các giá thể cứng thành khối tập đoàn. Việc có quá nhiều sinh vật sống bám, ví dụ như ở nhuyễn thể hoặc tôm, có thể làm ngăn cản các chức năng bình thường của cơ thể, làm cho chúng bị yếu và chết.
Ngành Nấm	Mỗi thành viên của ngành này, bao gồm các cá thể đơn bào hoặc đa nhân, sống được nhờ phân huỷ và hấp thu vật chất hữu cơ.

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ

Há miệng vỏ	Các nhuyễn thể yếu không thể khép kín vỏ khi nhấc ra khỏi nước; việc này nhanh chóng làm cho các mô mềm bị khô hoặc bị ăn thịt. Điều này chứng tỏ nhuyễn thể đã sống trong điều kiện môi trường xấu (kể cả có khả năng nhiễm bệnh)
Nhuộm Gram	Cách nhuộm để phân hoá vi khuẩn có vách tế bào thấm được (Gram âm) và vách tế bào kém thấm (Gram dương).
U hạt	Bất kỳ hạt nhỏ nào hạn chế sự kết tụ của các tế bào máu dạng hạt, hoặc làm cải biến các đại thực bào giống như các tế bào biểu mô (các tế bào dạng biểu mô).
Sự tạo ra u hạt	Các virus thuộc họ Baculoviridae thuộc nhóm phụ (B), đặc trưng bởi một capsid nhân đơn ở trong bao. Các virus gây ra u hạt tạo thành các thể ẩn nội nhân hình ellip hoặc hình tròn (các hạt nhỏ hoặc các nang) có chứa một hoặc hai virion (dạng virus nghỉ ở ngoài tế bào chủ).
Các dấu hiệu thô	Các dấu hiệu của bệnh có thể thấy được bằng mắt thường.
Tạo máu	Có liên quan đến hoặc có ảnh hưởng đến sự hình thành các tế bào máu.
Mô tạo máu	(Bộ Mười chân) Một dải mô gồm nhiều thuỳ nhỏ được bao quanh bởi mô liên kết dạng sợi, chạy dài theo bề mặt lưng bên của phần phía sau dạ dày tim (Brachyura) hoặc bao quanh các mạch máu của động mạch bên, các chân hàm thứ cấp và các mô vùng thượng vị (Penaeidae và Nephropidae); (nhuyễn thể hai vỏ) chưa biết (Động vật có xương sống) lá lách.
Hồng cầu	Tế bào máu.
Huyết tương	Phần không có tế bào máu có chứa một dung dịch gồm protein và các phân tử bảo vệ phi protein.
Sự lắng đọng hồng cầu	Sự tích tụ hồng cầu xung quanh các mô bị tổn thương hoặc đã bị nhiễm trùng; khi kiểu của tế bào hồng cầu có trách nhiệm chung nhất cho thực bào là các bạch cầu hạt, sự lắng đọng tập trung thường được chuyển sang cho “u hạt”.
Sự tiêu huỷ hồng cầu	Sự phá huỷ có hệ thống các tế bào máu.
Sự xuất huyết	(Động vật có xương sống) hiện tượng máu thoát ra khỏi mạch máu; chảy máu. (Động vật không xương sống) sự mất mát không kiểm soát được của các tế bào máu do mô bị chấn thương, đứt gãy biểu mô, xuyên mạch của bạch cầu mãn tính.
Trại ương ấp*	Các cơ sở nuôi trồng thủy sản nuôi động vật thủy sản từ trứng đã thụ tinh.
Khối gan tụy	Cơ quan tiêu hoá bao gồm các ống phủ lông rung và các ống nhỏ cụt, chúng tiết ra các men tiêu hoá chảy qua biểu mô ống tiêu hoá; còn có nhiệm vụ thải ra các sản phẩm phụ của trao đổi chất và các chất thải phân tử hoặc vi sinh khác.
Mô học	Nghiên cứu cấu trúc rất nhỏ, thành phần và chức năng của các mô.
Sự phân huỷ mô	Sự suy thoái của mô do kết quả phân rã của các màng sinh chất.
Mô bệnh học	Những thay đổi về cấu trúc và chức năng trong mô và các cơ quan của cơ thể mà chúng gây ra hoặc do một bệnh gây ra có trong các mẫu chuẩn bị cho mô học.

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ[1]

Có dịch đồng nhất	Mô nằm trong một trạng thái lỏng trong đó toàn bộ cấu trúc tế bào là không hợp nhất.
Vật chủ	Một cá thể sinh vật bị một sinh vật khác gây bệnh.
Chăn nuôi	Quản lý các động vật bị nhốt giữ để nâng cao sinh sản, sinh trưởng và sức khoẻ.
Sự phát triển quá mức	Sự tăng không bình thường về kích cỡ của một mô hoặc cơ quan do tăng lên về số lượng tế bào.
Sự trương to	Sự mở rộng không bình thường của các tế bào do kích thích hoặc do một sinh vật nội bào gây bệnh.
Sợi nấm	(Nấm học) Các tế bào dạng ống của nấm sợi; có thể phân chia bằng cách ngăn vách thành sợi nấm đa bào, có thể phân nhánh. Các sợi nấm liên kết qua lại được gọi là thể sợi nấm (khuẩn ty thể).
Hình 12 mặt	Hình dạng của virus có 5-3-2 đối xứng và 20 mặt hình tam giác gần đều.
IFAT	Kỹ thuật/Phép thử kháng nguyên huỳnh quang gián tiếp; một kỹ thuật sử dụng kháng thể không đánh dấu và một kháng globulin miễn dịch có đánh dấu để tạo thành một “bánh kẹp giữa” với bất kỳ kháng thể bao lấy kháng nguyên.
Miễn dịch	Việc tự vệ chống lại bệnh nhiễm trùng do đáp ứng miễn dịch tạo ra nhờ gây miễn dịch hoặc do nhiễm bệnh trước đó hoặc do các yếu tố không phải là miễn dịch.
Gây miễn dịch	Việc bảo vệ chống lại bệnh do tạo ra các kháng nguyên một cách chủ tâm để hình thành nên việc nhận diện hệ thống bảo vệ và tăng cường các phản ứng tiếp theo để chống lại chính những kháng nguyên đó.
Xét nghiệm miễn dịch	Kỹ thuật sử dụng phản ứng kháng nguyên - kháng thể để phát hiện và định lượng các kháng nguyên, kháng thể hoặc các chất có liên quan (xem ELISA, IFAT, DFAT)
Suy thoái miễn dịch	Hiện tượng suy giảm khi tạo ra hệ thống miễn dịch cho các kháng nguyên do nhiễm bệnh (cùng hoặc khác tác nhân).
Huỳnh quang miễn dịch	Phương pháp hoá mô miễn dịch sử dụng kháng thể được đánh dấu bằng thuốc nhuộm huỳnh quang. Là trực tiếp - nếu một kháng thể hoặc huyết thanh miễn dịch đặc trưng có chất huỳnh quang và được dùng như một thuốc nhuộm đặc trưng có huỳnh quang. Là gián tiếp - nếu chất huỳnh quang được gắn với một chất kháng globulin, và một thành phần của mô được nhuộm khi dùng một kháng thể đặc trưng không đánh dấu và chất kháng globulin đã được đánh dấu sẽ ngăn trở kháng thể không đánh dấu.
Globulin miễn dịch	Tập hợp các protein cấu trúc tạo nên các chuỗi phân tử trọng lượng nặng hay nhẹ được liên kết bằng các liên kết disulphid; thường được tạo ra để đáp ứng với kích thích của kháng nguyên.
Hoá mô miễn dịch	Việc áp dụng các mối tương tác kháng nguyên - kháng thể vào kỹ thuật hoá học mô, giống như trong việc trong việc sử dụng huỳnh quang miễn dịch.

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ

Miễn dịch học	Một nhánh của khoa học y sinh học chuyên về các phản ứng của cơ thể với kích thích của kháng nguyên, việc thừa nhận do tự bản thân và không phải tự bản thân, và toàn bộ các phạm trù sinh học (trên cơ thể sống), huyết thanh học (trong ống nghiệm) và lý hoá học của các tình trạng miễn dịch.
Kích thích miễn dịch	Sự gia tăng các phản ứng tự vệ, ví dụ như tiêm vacxin.
Gây miễn dịch	Sự cảm ứng của miễn dịch.
Thể vùi/thể ẩn	Các thể rời rạc không đặc trưng có trong tế bào chất hoặc nhân của một tế bào. Thường có ở các tập đoàn virus (thể Cowdry, các thể vùi/thể bịt Polyhedrin), hoặc vi khuẩn.
Truyền nhiễm	Khả năng lan truyền hoặc gây ra nhiễm bệnh.
Nhiễm trùng, nhiễm khuẩn	Sự xâm nhập và gia tăng của một sinh vật truyền nhiễm trong các mô của một vật chủ. Có thể lành về mặt lâm sàng (cận lâm sàng hoặc "mang bệnh") hoặc gây ra tổn thương trong tế bào hoặc mô. Hiện tượng nhiễm trùng có thể chỉ định khu, cận lâm sàng và tạm thời nếu có các cơ chế tự vệ của vật chủ có hiệu quả hoặc nó có thể lan truyền thành bệnh cấp tính, bán cấp tính hoặc mãn tính.
Sự xâm nhiễm	(Động vật không xương sống) Sự di chuyển của tế bào máu đến nơi mà mô bị tổn thương hoặc nhiễm trùng do một cơ thể/sinh vật lạ ("sự viêm tấy"). Hiện tượng xâm nhiễm cũng có thể xảy ra để hấp thụ và vận chuyển các chất dinh dưỡng theo như thông lệ và loại bỏ các sản phẩm thải.
Sự viêm tấy	(Động vật có xương sống) Phản ứng ban đầu của tổn thương mô được đặc trưng bởi việc thải các amin gây ra giãn mạch, xâm nhiễm các tế bào máu, protein và gây ửng đỏ có thể có liên quan đến phát ra nhiệt. (Động vật không có xương sống) Hiện tượng xâm nhiễm phản ứng lại tổn thương của mô hoặc một cơ thể lạ. Xâm nhiễm có thể chỉ xảy ra từng vùng, lan tỏa hoặc toàn bộ hệ thống.
Miễn dịch bẩm sinh	Cơ chế tự vệ của vật chủ mà không cần đến tiếp xúc trước với mầm bệnh.
Cường độ nhiễm trùng	Một số tác nhân gây ra nhiễm trùng trong một cá thể sinh vật hoặc một loài; cường độ "trung bình" là số lượng trung bình các tác nhân gây ra nhiễm trùng có ở tất cả các cá thể bị nhiễm trong một mẫu.
Gian bào	Nằm ở hoặc xảy ra ở giữa các tế bào trong một mô.
Mô kẽ, mô liên bào	Mô hoặc các tế bào ở giữa các hệ thống cơ quan liên kết biểu mô; còn gọi là mô (tế bào) Leydig (nhuyễn thể) hoặc mô liên kết.
Nội bào	Nằm ở hoặc xảy ra trong một tế bào.
Trong áo	(Nhuyễn thể) Khoảng không ở giữa áo, mang và các mô mềm khác; khoảng không ở giữa lớp áo và vỏ trong là khoang ngoài áo.
Sự tan nhân	Một dạng của hoại tử mà tại đó các chất lọc nhiễm sắc khỏi nhân không làm đứt gẫy màng nhân, để lại một nhân như "rỗng".
Vỡ nhân, phân mảnh nhân	Sự đứt gẫy của nhân và màng nhân, để lại các hạt nhiễm sắc ở trong tế bào chất.
Tổn thương	Bất kỳ thay đổi về bệnh học hoặc tổn thương nào ở hình dáng hoặc chức năng của mô.

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ(1)

Trạng thái lờ đờ	Trạng thái ngủ lơ mơ không bình thường hoặc đờ đẫn (chỉ phản ứng với kích thích mạnh); một điều kiện của bệnh tâm thần.
Sự hoá lỏng	Sự chuyển hoá của một mô thành bán lỏng hay lỏng do bị hoại tử.
Phát sáng	Vi khuẩn biển hoặc ưa độ mặn rộng có chứa luciferase (chất có huỳnh quang enzym vi khuẩn), ví dụ như *Vibrio harveyi* và *V. splendidus*
Cơ quan bạch huyết	(Giáp xác) Cơ quan nằm giữa các ngăn của dạ dày trước và sau, liên kết động mạch dưới dạ dày với động mạch chủ trước, thông qua một loạt các ống nối nhỏ.
Cơ quan bạch huyết	Các khối tế bào hình cầu bao gồm các tế bào máu thể thực bào tuỳ tiện, các hình cầu cô lập virus hội chứng Taura (TVS) và quần tụ trong các khoảng giữa các ống của các cơ quan bạch huyết.
Đại thực bào	(Động vật có xương sống) Các tế bào máu dạng amíp cỡ lớn (10-20mm), có trách nhiệm thực bào, viêm nhiễm, sản sinh ra kháng thể và độc tố tế bào.
Cơ quan hàm	(Giáp xác) Một cơ quan lớn có tuyến ở gần lớp biểu bì bụng ở giữa các hàm; có liên quan với chu kỳ lột xác, mặc dù nó không sản sinh ra hoóc-môn kích thích lột xác.
Sự co rút lớp áo	Trong các giai đoạn nhuyễn thể ngừng sinh trưởng, lớp áo co lại khỏi mép vỏ. Việc co rút lớp áo kéo dài làm cho mép vỏ trong bị mở gây ra bị hao mòn và bẩn.
Sắc tố đen melanin	Sắc tố nâu - đen sẫm của indole quinone có các thuộc tính ức chế enzym. Nó góp phần tạo ra cơ chế tự vệ ban đầu chống lại tổn thương ở lớp cuticun và biểu bì ở nhiều loài giáp xác.
Sự hoá đen	Các chất cặn không bình thường của sắc tố đen ở các cơ quan và mô khác nhau.
Tế bào sắc tố đen	(Giáp xác) Các tế bào ở biểu bì có chứa melanin.
Sự biến mô	Sự thay đổi hình dáng của tế bào biểu mô, ví dụ từ dạng cột sang dạng hình khối hoặc hình vẩy (phẳng).
Vi tập đoàn	Các quần thể có màng liên kết của vi khuẩn Chlamydia hoặc các tập đoàn Rickettsiae liên kết không màng.
Sinh vật hiển vi	Chủ yếu là các virus, vi khuẩn và nấm (các loài hiển vi và các loài nhìn thấy được bằng mắt thường có liên quan về phân loại). Các động vật nguyên sinh và tảo hiển vi cũng được coi là các sinh vật hiển vi.
Các đoạn dò phân tử	Xem ở đoạn dò DNA.
Nhuyễn thể*	Thuỷ sinh vật thuộc ngành Nhuyễn thể trong giới Metazoa có đặc tính là cơ thể mềm không phân đốt. Phần lớn nằm trong lớp vỏ của đá vôi. Các giai đoạn phát triển khác nhau của nhuyễn thể được gọi tên là ấu trùng, hậu ấu trùng, giai đoạn còn non, ấu niên và trưởng thành.
Kháng thể đơn dòng	Các phân tử kháng thể đồng nhất được sinh sản vô tính của tế bào tạo ra kháng thể và chịu trách nhiệm về một epitop kháng nguyên đơn lẻ.
Sắp chết	Bị bệnh, gần chết.
Tử vong	Bị chết.

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ

Lột xác, lột vỏ	(Giáp xác) Sự lột bỏ bộ giáp ngoài để cho phép tăng trưởng (tăng về kích cỡ) các mô mềm ở bên trong.
Có dịch nhầy	Có liên quan đến hoặc tương tự như dịch nhầy.
Dịch nhầy	Chất nhầy tự do của màng nhầy, bao gồm chất tiết ra của các tuyến, cùng với các muối vô cơ khác nhau, các tế bào và bạch cầu bong ra.
Bệnh học đa nguyên	Bệnh có liên quan với nhiều tác nhân gây bệnh; có thể trực tiếp thuộc về một hoặc nhiều sinh vật bị nhiễm.
Các tập đoàn sợi nấm	(Vi khuẩn học) Tập đoàn tăng trưởng của vi khuẩn Gram dương Actinomycete với các sợi nấm hình cành có thể phân đốt thành các dạng que hoặc hình cầu.
Sợi nấm	(Nấm học) Mạng được tạo thành bởi các sợi nấm liên kết với nhau.
Nấm học	Khoa học nghiên cứu về nấm (Mycota).
Bệnh nấm	Bệnh do nấm gây nên.
Sự thoái hoá cơ	Sự suy thoái của các sợi cơ.
Ấu trùng mysis	(Giáp xác) Giai đoạn ấu trùng sống ngoài khơi giữa giai đoạn zoea và hậu ấu trùng.
Xà cừ	Lớp trong của vỏ nhuyễn thể; có thể có chất cơ bản như tinh thể ngũ sắc.
Ấu trùng Nauplius	(Giáp xác) Giai đoạn ấu trùng sớm nhất; có ba đôi phần phụ, râu 1 có một nhánh, râu 2 hai nhánh và các hàm.
Hoại tử	Tập hợp các thay đổi về hình thái học biểu thị của tế bào chết và do hoạt động suy thoái gia tăng và không đảo ngược được của các enzym gây ra; nó có thể tác động đến các nhóm tế bào hoặc một phần của cấu trúc hoặc một cơ quan; hoại tử có thể có các dạng khác nhau và có liên quan với việc tăng sinh các sinh vật hoại sinh (vi khuẩn, nấm hoặc động vật nguyên sinh).
Các bệnh phải khai báo*	Các bệnh phải khai báo với OIE có nghĩa là danh sách các bệnh phải báo cáo, chúng có tầm quan trọng với kinh tế xã hội và/hoặc sức khoẻ cộng đồng trong các quốc gia và chúng đáng được quan tâm trong thương mại quốc tế động vật thủy sản và các sản phẩm động vật thủy sản (xem OIE 1997; OIE 2000 a,b).
Virus đa diện có nhân	Các Baculovirus (Típ A) sản sinh ra protein đa diện ở bên trong nhân (xem các thể bịt/vùi đa diện).
Nucleocapsid, capsid nhân	Hỗn hợp axit protein-nucleic tạo thành lõi, vỏ protein capsid và/hoặc nucleoprotein xoắn của virion (dạng virus nghỉ ở ngoài tế bào chủ).
Bịt	(Mạch) Hiện tượng lấp đầy hoặc chẹn các xoang mạch bằng các tế bào máu; sự xâm nhiễm của các tế bào máu, một số tế bào chìm sâu trong các mô vây quanh các xoang mạch; lấp đầy hoặc chẹn các đường dẫn sinh dục, đường dẫn của thận, các ống hoặc đường dẫn tiêu hoá bằng các tế bào máu hoặc các cặn bã khác của tế bào.
Thể ẩn	(xem thể vùi/thể ẩn đa diện).

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ[1]

Chứng phù thũng	Sự có mặt của nhiều dịch lỏng không bình thường trong các khoảng gian bào của cơ thể.
Tính cơ hội	Sinh vật có thể gây ra bệnh khi sức đề kháng của vật chủ bị giảm sút do các yếu tố khác (một căn bệnh khác, các điều kiện đối nghịch cho sinh trưởng, thuốc v.v...)
Điều hoà áp suất thẩm thấu	Việc duy trì áp suất thẩm thấu của một sinh vật đơn giản hoặc tế bào của cơ thể cho phù hợp với môi trường xung quanh.
Những bệnh đáng quan tâm khác*	Những bệnh có tầm quan trọng hiện nay hoặc tiềm năng của quốc tế trong nghề nuôi trồng thủy sản, nhưng vẫn chưa được đưa vào danh sách các bệnh phải khai báo với OIE vì kém quan trọng hơn "các bệnh phải khai báo", hoặc do phân bố địa lý của chúng còn hạn chế, hoặc chưa được xác định đầy đủ, hoặc do căn nguyên của bệnh chưa được hiểu rõ đầy đủ hoặc chưa có các phương pháp chẩn đoán được công nhận (xem OIE 1997, OIE 2000 a,b).
Bùng phát	Sự phát triển đột ngột của bệnh trong các mức độ dịch bệnh.
Công khai	Để mọi người thấy rõ; không che dấu.
Ký sinh trùng	Một sinh vật sống nhờ hoặc trong một sinh vật sống khác (vật chủ) nhờ đó nó có được một số ưu thế, thường là về dinh dưỡng.
Ký sinh trùng học	Khoa học tiến hành nghiên cứu về ký sinh trùng.
Đường dẫn	(Virus học) Việc chuyển thành công một virus hoặc các tác nhân gây bệnh khác thông qua một loạt các con vật thực nghiệm, nuôi cấy mô hoặc môi trường tổng hợp có diễn ra sự sinh trưởng trong mỗi môi trường.
Nhiễm khuẩn rõ	Thời kỳ mà các dấu hiệu lâm sàng và/hoặc sinh vật bị bệnh có thể được phát hiện.
Mầm bệnh	Một tác nhân có khả năng gây bệnh.
Khả năng gây bệnh	Khả năng tạo ra những thay đổi về bệnh lý hoặc bệnh.
Triệu trứng đặc trưng của bệnh	Dấu hiệu hoặc triệu chứng khác biệt của một bệnh đặc trưng hoặc điều kiện gây bệnh.
Bệnh học	Nghiên cứu nguồn gốc tự nhiên của bệnh, nhất là những thay đổi về cấu trúc và chức năng trong các mô và cơ quan của cơ thể mà chúng gây ra hoặc do bệnh gây ra.
PCR	Phản ứng định chuỗi polymerase, một quá trình mà các trình tự axit nucleic có thể được lặp lại.
Chân bò	(Giáp xác) Các phần phụ ngực ("chân bò").
Lớp sừng ngoài	(Nhuyễn thể) Các lớp canxi của vỏ có chứa protein quinin.
Các thể thực khuẩn	(Xem Thể thực khuẩn).
Sự thực bào	Sự chấp nhận một vật chất từ môi trường bởi một tế bào nhờ sự lộn màng sinh chất của nó.

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ

Màng sinh chất	Màng bao phủ nguyên sinh chất và các bào quan của một tế bào.
Chân bơi	Các chân nhỏ của một số giáp xác.
Đa hình	Một sinh vật có nhiều dạng chuỗi cơ thể trong một chu kỳ sống (vòng đời).
RNA polyadenaltat	RNA thông tin có liên kết chuỗi polyadenylat ở mạch cuối thứ 3 của phân tử. Đây là dạng phổ biến ở hầu hết các RNA thông tin của sinh vật có nhân điển hình và cũng có ở một số ribovirus. Chức năng của phần thêm vào này hiện chưa rõ.
Các kháng thể đa loài (PAb)	(Chính xác hơn nhưng ít dùng là "huyết thanh miễn dịch đa dòng") Một huyết thanh miễn dịch được chuẩn bị từ một sinh vật đã được tiếp xúc với một kháng nguyên. PAb có chứa một số kháng thể khác nhau, mỗi kháng thể đặc trưng cho một epitop khác nhau của cùng một kháng nguyên (xem kháng thể đơn dòng).
Thể vùi đa diện/Thể ẩn đa diện (POB, PIB)	Một cấu trúc tinh thể có cơ sở là protein được làm từ polyhedrin (Baculovirus nhóm A - Các virus đa diện có nhân (NPV) hoặc granulin (Baculovirus nhóm B - các virus gây u nang hạt (GV). Baculovirus nhóm C không tạo thành các thể ẩn).
Đa hình	(a) Khả năng của các phân tử, như các enzym, có thể tồn tại ở một số dạng; (b) Khả năng mà nhân của một số tế bào (ví dụ, tế bào máu) có thể thay đổi hình dạng; và (c) khả năng của các vi sinh vật thay đổi hình dạng (ví dụ, ở một số loài hoặc mô của các vật chủ khác nhau).
Mắt lồi	Sự nhô ra không bình thường của mắt ra khỏi ổ mắt.
Hậu ấu trùng (PL)	Giai đoạn biến thái tiếp theo từ ấu trùng đến ấu niên trong vòng đời của giáp xác. Ở tôm he, thường được tính theo số ngày sau khi xuất hiện các đặc điểm hậu ấu trùng, nghĩa là, PL12 để chỉ một hậu ấu trùng đã sống được 12 ngày kể từ khi biến thái của nó từ giai đoạn zoea.
Địch hại	Một sinh vật tìm các yếu tố để tồn tại nhờ các sinh vật của các loài khác, bằng cách ăn hoặc phá huỷ chúng.
Mở đường, tạo khuynh hướng	Tạo ra mẫn cảm cho một bệnh có thể kích hoạt bởi một số điều kiện, ví dụ như bởi stress.
Tự làm vệ sinh	(Giáp xác) Làm sạch các mô bên ngoài hoặc trứng bị bám bẩn; một số giáp xác đã cải biên các phần phụ để tăng cường tự làm vệ sinh (ví dụ, những tấm lược ở mang của Brachyura).
Giai đoạn trước khi phát bệnh	Giai đoạn ở giữa nhiễm trùng và biểu hiện các dấu hiệu lâm sàng của bệnh.
Tần số thực tế	Tỷ lệ % của các cá thể trong một mẫu đã bị nhiễm bởi một bệnh đặc trưng, một ký sinh trùng hoặc một số sinh vật khác.
Sinh vật chưa có nhân điển hình	(Vi khuẩn) Tế bào vi sinh vật trong đó các nhiễm sắc thể không được bao bọc trong một nhân.
Phòng bệnh	Việc làm hoặc dùng hoá trị liệu tác động lên các vật nuôi khoẻ mạnh để phòng bệnh (xem Điều trị).
Mụn mủ	Một u dưới biểu bì có các chất cặn bã của tế bào bị hoại tử do viêm (sự lắng kết tế bào máu) để phản ứng lại một nhiễm trùng tập trung.

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ(1)

Giả định	Có nghĩa là mới nghĩ, phỏng đoán hoặc tin tưởng.
Sự thoái hoá tế bào	Sự rút ngắn của nội chất nhân thành một khối không đều nhuộm màu sẫm (ưa kiềm), dấu hiệu của tế bào chết.
Cách ly	Giữ hoặc nuôi các động vật thủy sản ở các điều kiện để phòng chúng phát tán và lan truyền các mầm bệnh mà chúng mang theo ra môi trường xung quanh. Việc này thường kèm theo tiệt trùng/khử trùng toàn bộ các vật liệu thải và cách ly. Các biện pháp cách ly là các biện pháp được xây dựng từ kết quả phân tích rủi ro nhằm không cho lan truyền các tác nhân gây bệnh do việc di chuyển các động vật thủy sản sống, với các quá trình quản lý sức khoẻ trước và sau biên giới, tuy nhiên các hoạt động này cũng được áp dụng như nhau cho cả việc di chuyển động vật thủy sản sống trong phạm vi quốc gia.
Sự sửa chữa	Quá trình khôi phục sự toàn vẹn về giải phẫu và chức năng của các mô sau khi bị tổn thương hoặc bị bệnh.
Nơi chứa nguồn bệnh	(Vật chủ hoặc nhiễm bệnh) một vật chủ trung gian hoặc thụ động hoặc vật mang bệnh có chứa các sinh vật là mầm bệnh, không tự gây ra tổn thương cho mình, và được coi như là một nguồn mà từ đó các cá thể khác có thể bị nhiễm bệnh.
Sức đề kháng	(Với bệnh) Khả năng của một sinh vật có thể kiểm tra được các ảnh hưởng về bệnh lý của một bệnh. Sức đề kháng không cần thiết phải huỷ diệt bệnh ("khúc xạ") và các mức độ chịu đựng khác nhau với bệnh có thể được bộc lộ. Các nhiễm bệnh cận lâm sàng nặng là biểu hiện của sức đề kháng.
Sức kháng	(Sức kháng "thuốc" hoặc chất kháng sinh) Khả năng của một vi khuẩn thoát khỏi bị tiêu huỷ bởi thuốc kháng sinh. Điều này có thể do những thay đổi trong các thuộc tính kháng nguyên của vi khuẩn. Những chủng kháng thuốc của mầm bệnh sẽ sống sót và sinh sôi để phát triển. Điều đó có thể tạo ra sức đề kháng với các chất kháng sinh có liên quan (đề kháng chéo) hoặc không có liên quan (đề kháng thuốc đa dạng).
Ribosom	Các hạt nội tế bào chất giàu RNA và có chức năng trong tổng hợp protein.
Ribovirus (RNA-virus)	Virus có một hệ gen axit ribonucleic (xem RNA,Deoxyribovirus)
Rủi ro	Xác suất của các tác động xấu đến sức khoẻ động vật thủy sản, tính đa dạng sinh học của môi trường và nơi ở và/hoặc các đầu tư kinh tế - xã hội.
RNA	Axit ribonucleic có chứa các ribonucleotid cấu tạo từ các bazơ (ssRNA, dsRNA) adenin, guanin, cytosin và uracil.
Các đoạn dò RNA	Các đoạn RNA đã được đánh dấu để xác định các đoạn tương ứng của RNA hoặc DNA trong mô hoặc các mẫu nuôi cấy.
rRNA	(RNA ribosom) Loại RNA cấu thành thể ribonucleoprotein và có trách nhiệm tổng hợp protein trong tế bào.
Sinh vật hoại sinh	Các sinh vật nhận được dinh dưỡng từ vật chất hữu cơ chết.
Thể nứt rời = thể liệt sinh	Giai đoạn hoặc dạng phát triển đa nhân trong quá trình liệt sinh.

Thứ cấp	Bị nhiễm bệnh do giảm sức đề kháng của vật chủ như là hệ quả của việc nhiễm bệnh sớm.
Nhiễm trùng huyết	Bệnh hệ thống có liên quan với sự có mặt và tồn lưu của các vi sinh vật gây bệnh hoặc các chất độc của chúng trong máu; nhiễm độc máu.
Huyết thanh học	Thuật ngữ hiện dùng để chỉ việc sử dụng các phản ứng dùng để đo các độ chuẩn của kháng thể huyết thanh trong bệnh nhiễm khuẩn (các phép thử huyết thanh), để chỉ các mối quan hệ tương tác về lâm sàng của độ chuẩn kháng thể ("huyết thanh học" của bệnh) và việc sử dụng các phản ứng huyết thanh để xác định các kháng nguyên.
Huyết thanh	Dịch có thành phần là huyết tương đông tụ.
Hàng được vận chuyển*	Một nhóm động vật thủy sản hoặc sản phẩm dự định vận chuyển.
Túi bào tử	(Nấm học) mấu lồi của sợi nấm có chứa các bào tử động hoặc bất động; việc giải phóng bào tử được phóng qua một lỗ hoặc phá vỡ vách của túi bào tử.
Túi bào tử	(Vi khuẩn học) Vách hoặc một phần của tế bào phát triển tiếp sau thành một bào tử nội sinh.
Bào tử	Giai đoạn lan truyền của một cơ thể mà nó thường chống chọi được với môi trường nhờ có một hoặc nhiều màng bảo vệ.
Sự hình thành bào tử	Sự tạo thành hoặc tái sản xuất ra bào tử.
Sự khử trùng	Bất kể quá trình nào (vật lý hoặc hóa học) diệt hoặc phá huỷ toàn bộ các sinh vật gây ô nhiễm, bất kể loại nào; môi trường đã khử trùng (lỏng hoặc rắn) là không còn một sinh vật sống nào.
Stress	Tổng cộng tất cả các phản ứng sinh học gây ra các kích thích bất lợi (vật lý, bên trong hoặc bên ngoài) gây xáo trộn trạng thái ổn định của sinh vật.
Cận lâm sàng	Nhiễm bệnh nhưng không có các triệu chứng rõ rệt hoặc dấu hiệu lâm sàng của bệnh, hoặc là giai đoạn nhiễm bệnh báo trước được sự ập tới của các dấu hiệu lâm sàng.
Giám sát*	Một loạt các điều tra có hệ thống trên một quần đàn động vật thủy sản để xác định sự xuất hiện của bệnh nhằm mục đích kiểm tra, và có thể có cả việc xét nghiệm các mẫu của một quần đàn.
Mẫn cảm	Một sinh vật không có miễn dịch hoặc đề kháng với bệnh từ một sinh vật khác.
Hội chứng	Một tập hợp các dấu hiệu lâm sàng mà khi chúng cùng biểu hiện ra sẽ chỉ thị cho một bệnh phân biệt hoặc tình trạng không bình thường.
Hợp lực	(Nhiễm bệnh) Bệnh tăng lên do hai hoặc nhiều bệnh do các tác nhân khác nhau, so với ảnh hưởng từ các tác động riêng lẻ.
Tính hệ thống	Có liên quan đến hoặc tác động đến cơ thể như là một tổng thể.
Nhiễm bệnh có tính hệ thống	Một căn bệnh gây ra trên toàn bộ cơ thể.
Thối đuôi	Sự tan rữa của mô đuôi và vây.
Đốt đuôi	(Giáp xác) Đốt tận cùng của phần bụng nối các chân đuôi.

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ[1]

Tomont	Giai đoạn phân chia, không ăn hoặc một dạng trong vòng đời của một số động vật nguyên sinh, mà điển hình là kết nang và sản sinh ra tomit nhờ phân cắt.
Lan truyền	Việc truyền một tác nhân gây bệnh từ một sinh vật này sang sinh vật khác. Phương nằm ngang - trực tiếp từ môi trường (ví dụ như qua ăn uống, da và mang). Phương thẳng đứng - lan truyền trước khi sinh (có nghĩa là truyền từ bố mẹ sang trứng); có thể cả ở bên trong trứng cũng như cả ở bề mặt ngoài tiếp xúc với các mầm bệnh từ thế hệ bố mẹ.
Vận chuyển	Di chuyển các đàn vật nuôi giữa các địa phương do ảnh hưởng của con người.
Chấn thương	Kết quả của va chạm vật lý hoặc tổn thương.
Trị bệnh	Tiến hành tiêu diệt bệnh.
Cá thể dinh dưỡng	Giai đoạn hoạt động, di động, dinh dưỡng của một động vật nguyên sinh, trái ngược với giai đoạn kết nang bất động.
Ung thư	Sự tăng trưởng không bình thường do phân chia tế bào vô tổ chức của một nhóm tế bào cục bộ.
Thường gặp	Tồn tại hoặc có ở bất cứ đâu.
Loét	Sự đào bới trên bề mặt của một cơ quan hoặc mô, có sự tham gia của mô viêm hoại tử.
Mấu đuôi= chân đuôi	(Giáp xác) Các phần phụ tận cùng liên kết đuôi làm thành "đuôi quạt".
Vắc xin	Một chế phẩm kháng nguyên từ toàn bộ hoặc một phần chiết từ một sinh vật nhiễm bệnh, được dùng để tăng cường phản ứng miễn dịch đặc trưng của một vật chủ mẫn cảm.
Không bào	Các khoảng trống hoặc hốc ở trong tế bào chất của một tế bào.
Veliger	(Nhuyễn thể) Giai đoạn ấu trùng có tiêm mao sống phù du.
Diềm màng	(Nhuyễn thể) Bề mặt có tiêm mao dùng để bắt mồi của ấu trùng veliger.
Sống được = dễ sống	Khả năng sống hoặc là nguyên nhân của một bệnh
Virion	Một tiểu phần virus cá thể có chứa axit nucleic (dạng nhân), DNA hoặc RNA (nhưng không có cả hai) và một lớp vỏ protein, gọi là capsid.
Cơ chất sinh virus	Nơi diễn ra sao chép virus hoặc quần tụ virus.
Sự sinh virus	Sự sản xuất ra các virion.
Virus học	Một nhánh của vi sinh vật học chuyên nghiên cứu về virus và các bệnh của virus.
Tính độc	Mức độ gây bệnh do một sinh vật có bệnh, là chỉ thị cho mức độ nghiêm trọng của bệnh tạo ra và khả năng của nó lấn chiếm các mô của vật chủ; khả năng gây ra các hiệu ứng về bệnh lý của bất kỳ tác nhân gây bệnh nào; tính độc được đo bằng thực nghiệm theo liều lượng gây chết trung bình (LD_{50}) hoặc liều lượng gây nhiễm bệnh trung bình (ID_{50}).

TỪ ĐIỂN THUẬT NGỮ

Virus	Một trong nhóm các tác nhân gây bệnh rất nhỏ, được đặc trưng bởi thiếu quá trình trao đổi chất độc lập và bởi khả năng chỉ sinh sản trong các tế bào sống của vật chủ.
Cơ quan Y	(Giáp xác) Tuyến có nhiệm vụ sản xuất ra hoocmôn ecdyson cho lột xác. Việc tạo ra hoocmôn lột xác được kiểm soát bởi một hoocmôn kìm hãm lột xác được tổng hợp trong cuống mắt.
Ấu trùng zoea	(Giáp xác) Giai đoạn biến thái tiếp sau của ấu trùng nauplius, có đặc trưng là 4 đôi phần phụ ngực; có thể được coi như là giai đoạn tiền zoea khi sự khác biệt giữa nauplius và mysis hoặc giai đoạn phát triển hậu ấu trùng gặp khó khăn.
Động bào tử	Các bào tử di động, có tiên mao và không phân tính đực cái.

CÁC TỪ VIẾT TẮT

BF-2	Cá vây mang xanh 2
BKD	Bệnh nhiễm khuẩn thận
BMN	Bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa
BMNV	Virus gây bệnh hoại tử tuyến ruột giữa
BP	*Baculovirus penaei*
BWSS	Hội chứng đốm trắng do vi khuẩn
CAIs	Các thể ẩn Cowdry típ A
CHSE-214	Phôi cá hồi trắng-214
CPE	Hiệu ứng gây bệnh tế bào
CSHV	Herpesvirus ở cá hồi bạc
CSTV	Virus gây ung thư cá hồi bạc
CTAB	Cetyltrimethylammonium bromide
DFAT	Phép thử kháng thể huỳnh quang trực tiếp
DNA	Axit deoxyribonucleic
dd	Chưng cất 2 lần ds
dsDNA	Chuỗi xoắn kép ADN
DTAB	Dodecyltrimethylammonium bromide
EHN	Dịch bệnh hoại tử cơ quan tạo máu
EHNV	Virus gây dịch bệnh hoại tử cơ quan tạo máu
ELISA	Xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym
EPC	*Epithelioma papulosum cyprinae*
ERA	*Aphanomyces* có liên quan đến EUS
EUS	Hội chứng dịch bệnh lở loét
FBS	Huyết thanh bò chửa
FEV	Virus gây viêm não cá
FHM	Cá giác
GAV	Virus gây kết dính mang
GP	Peptoneglucose
GPY	Men bia peptonesglucose
H&E	Haematoxylin & Eosin
HHNBV	Bệnh hoại tử vỏ dưới và cơ quan tạo máu do Baculovirus
1G4F	1% Glutaraldehyde: 4% Formaldehyde
ICTV	Ủy ban quốc tế về phân loại Virus
IFAT	Phép thử kháng thể huỳnh quang gián tiếp
IgG	Kháng thể sơ cấp
IHHN	Bệnh hoại tử vỏ dưới và cơ quan tạo máu do nhiễm trùng
IHHNV	Virus gây bệnh IHHN
IHN	Bệnh hoại tử cơ quan tạo máu do nhiễm trùng
IHNV	Virus gây bệnh IHN
IPN	Hoại tử nhiệm trùng tụy
IPNV	Virus gây bệnh IPN
ISH	Lai tại chỗ
kDa	Kilodalton
KDM2	Môi trường bệnh thận
KDMC	Than của môi trường bệnh thận
LDV	Virus gây bệnh u nang bạch huyết
LOS	Cá thể hình cầu của cơ quan bạch huyết
LOV	Virus ở cơ quan bạch huyết
LOVV	Virus gây ra không bào ở cơ quan bạch huyết
LPV	Virus tương tự Parvovirus
Mab	Kháng thể đơn
MCMS	Hội chứng tử vong giữa vụ
MEM	Môi trường thiết yếu tối thiểu
MG	Nấm u hạt
“MSX”	Hình cầu X đa nhân
NeVTA	Virus Nerka ở hồ Towada, quận Akita và Amori
NHP	Hoại tử gan tụy
NPB	Bệnh còi do virus đa diện có nhân
OKV	Virus ở cá hồi *Oncorhynchus kisutch*

CÁC TỪ VIẾT TẮT

OTC	Oxytetracycline
OMV	Virus ở cá hồi Oncorhynchus masou
OVVD	Bệnh ở màng con hầu do virus
PCR	Phản ứng chuỗi polymerase
PBS	Muối đệm phosphate
PKD	Bệnh tăng sinh thận
PL	Hậu ấu trùng
PNHP	Bệnh hoạt tử gan tụy Pêru
RDS	"Hội chứng biến dạng còi cọc"
RHV	Herpesvirus ở cá hồi vân
RKV	Virus gây bệnh thận ở cá hồi vân
RNA	Axit ribonucleic
RSD	Bệnh đốm đỏ
RTG-2	Tuyến sinh dục của cá hồi vân - 2
RT-PCR	Phản ứng chuỗi transcriptase -polymerase đảo ngược
RV-PJ	Virus nhân hình que của Penaeus japonicus
RVC	Rhabdovirus carpio
SDS-PAGE	Điện di gel sodium dodecyl sulfate polyacrylamide
SEED	Bệnh dịch bột phát ở tôm
SEMBV	Baculovirus ở hệ thống ngoại bì và trung bì
SJNNV	Virus gây hoại tử thần kinh ở cá háo sọc
SKDM	Môi trường bệnh thận có chọn lọc
SMV	Virus gây tử vong ở tôm bố mẹ đã cách ly
SMVD	Bệnh do SMV gây ra
SPF	Sạch bệnh đặc trưng
ssDNA	DNA dải đơn
ssRNA	RNA dải đơn
"SSO"	Sinh vật miền biển
SSN-1	Dòng tế bào cá quả vằn (Channa striatus)
SVC	Bệnh nhiễm virus vào mùa xuân ở cá chép
SVCS	Virus gây bệnh SVC
TEM	Kính hiển vi điện tử
TNHP	Hoại tử gan tụy ở Texas
TPMS	Hội chứng tử vong trong ao ở Texas
TS	Hội chứng Taura
TSV	Virus hội chứng Taura
UV	Tia cực tím
VER	Bệnh viêm não và võng mạc do virus
VHS	Bệnh nhiễm trùng xuất huyết do virus
VHSV	Virus gây VHS
VIMS	Viện nghiên cứu khoa học biển Virginia
VNN	Hoại tử thần kinh do virus
YBV	Baculovirus gây bệnh YHD
YHD	Bệnh đầu vàng
YHV	Virus gây YHD
YHDBV	Baculovirus của bệnh YHD
YTV	Virus gây ung thư Yamame
WSBV	Baculovirus gây bệnh đốm trắng
WSD	Bệnh đốm trắng
WSS	Hội chứng đốm trắng
WSSV	Virus gây WSS

TÊN KHOA HỌC VÀ TÊN THÔNG DỤNG

A. CÁ (vật chủ)

Tên khoa học	Tên thông dụng
Argentina phyraena	cá argentina nhỏ
Aristichthys nobilis	cá mè hoa
Bidyanus bidyanus	cá vược bạc
Carassius auratus	cá vàng
Carassius carassius	cá diếc
Channa striatus	cá quả sọc
Chanos chanos	cá măng biển
Clupea harengus	cá trích
Clupea pallasi	cá trích Thái Bình Dương
Coregonus spp.	cá trắng
Ctenopharyngodon idellus	cá trắm cỏ
Cyprinus carpio	cá chép
Dicentrarchus labrax	cá mú châu Âu
Epinepheles akaara	cá song chấm đỏ
Epinephelus malabaricus	cá song chấm nâu
Epinephelus moara	cá song tảo nâu
Esox lucius	cá chó
Gadus macrocephalus	cá tuyết Thái Bình Dương
Gadus morhua	cá tuyết Đại Tây Dương
Galaxias olidus	cá ngân hà miền núi
Gambussia affinis	cá ăn muỗi
Hippoglossus hippoglossus	cá bơn
Hypophthalmichthys molitrix	cá mè trắng
Ictalurus melas	cá nheo
Labroides dimidatus	cá thầy thuốc
Lates calcarifer	cá chẽm
Macquaria australasica	cá vược macquaria
Melanogrammus aeglefinus	cá tuyết sọc đen
Merlangius merlangius	cá trắng
Micromesistius poutassou	cá trắng xanh lơ
Mugil cephalus	cá đối xám
Oncorhynchus keta	cá hồi chó
Oncorhynchus kisutch	cá hồi coho
Oncorhynchus masou	cá hồi Nhật Bản
Oncorhynchus mykiss	cá hồi vân
Oncorhynchus nerka	cá hồi đỏ
Oncorhynchus rhodurus	cá hồi amago
Oncorhynchus tshawytscha	cá hồi trắng
Oplegnathus fasciatus	cá vẹt Nhật Bản
Oplegnathus punctatus	cá trác đá
Oreochromis spp.	cá rô phi
Paralichthys olivaceus	cá bơn Nhật Bản
Perca fluviatilis	cá vược vây đỏ
Plecoglossus altivelis	cá thơm
Poecilia reticulata	cá khổng tước
Pseudocaranx dentex	cá háo sọc
Rhinonemus cimbrius	cá đá
Salmo salar	cá hồi Đại Tây Dương
Salmo trutta	cá hồi nâu
Salvelinus fontinalis	cá hồi suối
Scophthalmus maximus	cá bơn
Seriola quinqueradiata	cá bơn đuôi vàng Nhật Bản
Silurus glanis	cá nheo
Sparus aurata	cá trác vàng

Sprattus sprattus	cá trính cơm
Takifugu rubripes	cá xem sao
Tinca tinca	cá tinca
Thymallus thymallus	cá thymal
Trisopterus esmarkii	cá lon trạch Na Uy
Umbrina cirrosa	cá đù

B. NHUYỄN THỂ (vật chủ)

Tên khoa học	**Tên thông dụng**
Acanthogobius flavimanus	bống vàng Nhật Bản
Arca sp.	sò
Argopecten gibbus	điệp calico
Austrovenus stutchburyi	sò New Zealand
Barbatia novae-zelandiae (Family Arcidae)	(không có tên)
Cerastoderma (= Cardium) edule	sò châu Âu thông thường
Crassostrea angulata	hầu Bồ Đào Nha
Crassostrea ariakensis	hầu hình chén ariake
Crassostrea commercialis	hầu đá Sydney
Crassostrea gigas	hầuThái Bình Dương
Crassostrea virginica	hầu Mỹ
Crassostrea angulata	hầu Bồ Đào Nha
Haliotis cyclobates	bào ngư
Haliotis laevigata	bào ngư môi xanh
Haliotis roei	bào ngư
Haliotis rubra	bào ngư môi đen
Haliotis scalaris	bào ngư
Macomona liliana (Family Tellinidae)	động vật hai mảnh vỏ, không có tên
Mercenaria mercenaria	ngao vỏ cứng
Mytilus edulis	vẹm ăn được
Mytilus galloprovincialis	vẹm ăn được
Ostrea angasi	hầu phẳng (hầu bùn phương nam)
Ostrea conchaphila (O. lurida)	hầu olympia
Ostrea edulis	hầu châu Âu
Ostrea lutaria (Tiostrea lutaria)	hầu New Zealand
Ostrea puelchana	(không có tên)
Patinopecten yessoensis	điệp Nhật Bản
Pinctada albicans	trai ngọc
Pinctada maxima	trai ngọc lớn
Pteria penguin	trai ngọc có cánh
Ruditapes decussatus	ngao châu Âu
Ruditapes philippinarum	ngao Manila
Saccostrea commercialis	hầu đá Sydney
Saccostrea (Crassostrea) cucullata	hầu ở rừng sú vẹt
Saccostrea echinata	hầu môi đen phương bắc
Saccostrea glomerata	hầu đá Sydney
Scrobicularia plana	vỏ khía rãnh
Tiostrea chilensis (Ostrea chilensis)	hầu Nam Mỹ
Tiostrea lutaria	(không có tên)
Tridacna maxima	ngao khổng lồ

C. GIÁP XÁC (vật chủ)

Tên khoa học	**Tên thông dụng**
Acetes spp. (Crustacea:Sergestidae)	moi, tôm nhỏ
Cherax quadricarinatus	tôm sông nước ngọt, tôm càng đỏ
Euphausia spp.	moi

Marsupenaeus (Penaeus) japonicus	tôm kuruma
Metapenaeus ensis	tôm rảo
Palaemon styliferus	(không có tên)
Penaeus aztecus	tôm nâu phương bắc
Penaeus californiensis	tôm chân vàng
Penaeus chinensis	tôm trắng Trung Quốc
Penaeus duodarum	tôm hồng nuôi lồng
Penaeus esculentus	tôm nâu
Penaeus indicus	tôm he Ấn Độ
Penaeus japonicus	tôm he Nhật Bản
Penaeus marginatus	tôm aloha
Penaeus merguiensis	tôm he thông thường
Penaeus monodon	tôm sú
Penaeus occidentalis	tôm trắng phương tây
Penaeus paulensis	tôm hồng
Penaeus penicillatus	tôm đuôi đỏ
Penaeus plebejus	tôm vua phương đông
Penaeus schmitti	tôm trắng
Penaeus semisulcatus	tôm thẻ
Penaeus setiferus	tôm trắng bản địa
Penaeus stylirostris	tôm xanh
Penaeus subtilis	tôm nâu phương nam
Penaeus vannamei	tôm he chân trắng

D. CÁC MẦM BỆNH/TÁC NHÂN GÂY BỆNH

Aeromonas hydrophila
Argulus foliaceus
Argulus spp.
Aphanomyces astaci
Aphanomyces invadans
Aphanomyces invaderis
Aphanomyces piscicida
Baculovirus penaei
Bonamia ostreae
Dermocystidium marinum
Haplosporidium costale
Haplosporidium. Nelsoni
Herpervirus
Hexamita inflata
Hexamita salmonis
Mytilicola sp.
Labyrinthomyxa marinus
Lerneae cyprinacea
Marteilia maurini
Marteilia refringens
Marteilia sydneyi
Marteilioides christenseni
Marteilioides chungmuensis
Marteilioides lengehi
Mikrocytos mackini
Mikrocytos roughleyi
Minchinia costale
Minchinia nelsoni
Myxobolus artus
Ligula sp.
Perkinsus atlanticus

TÊN KHOA HỌC VÀ TÊN THÔNG DỤNG

Perkinsus marinus
Perkinsus olseni
Perkinsus qugwadi
Piscicola geometra
Polydora sp.
Posthodiplostomumcuticola
Ranavirus
Renibacterium salmoninarum
Rhabdovirus carpio
Salmincola salmoneus
Staphylococcus aureus
Vibrio harveyi
Vibrio splendidus
Vibrio spp

PHẦN 1 - LỜI GIỚI THIỆU

I	**LỜI GIỚI THIỆU**	37
I.1	**Bối cảnh**	38
I.2	**Mục đích và phạm vi**	38
I.3	**Hướng dẫn cho người sử dụng**	38
I.4	**Sức khoẻ và động vật thủy sản**	40
I.5	**Vai trò của chẩn đoán bệnh trong sức khoẻ của động vật thủy sản**	41
I.6	**Các mức độ chẩn đoán**	41
I.7	**Tài liệu tham khảo**	44

I. LỜI GIỚI THIỆU

I.1 Bối cảnh

Chương trình hợp tác kỹ thuật khu vực của FAO (TCP) Dự án ***"Hỗ trợ cho việc di chuyển có trách nhiệm các động vật thủy sản sống"*** (TCP/RAS/6714-A và 9605-A), đã được NACA triển khai từ tháng 1/1998, có sự hợp tác với OIE[1], các cơ quan khu vực và quốc tế (ví dụ: AAHRI[2], AusAID/APEC[3], AFFA[4], và các cơ quan khác), các đại diện (các điều phối viên quốc gia và các điểm tập trung để báo cáo về bệnh) của 21 Chính phủ/lãnh thổ ở khu vực châu Á-Thái Bình Dương (Ôxtrâylia, Bangladesh, Campuchia, CHND Trung Hoa, Hong Kong Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Iran, Nhật Bản, Hàn Quốc, CHDCND Triều Tiên, Lào, Malaysia, Myanmar, Nepal, Pakistan, Philippines, Singapore, Sri Lanka, Thái Lan và Việt Nam) và nhiều chuyên gia khu vực và quốc tế về bệnh của động vật thủy sản. Mục tiêu bao trùm của chương trình là có được bản hướng dẫn cho các quốc gia trong việc tiến hành di chuyển có trách nhiệm (di nhập và chuyển đổi) các động vật thủy sản sống thông qua các chiến lược thích hợp để giảm thiểu các rủi ro tiềm ẩn về sức khoẻ do việc di chuyển động vật thủy sản sống gây ra. Chương trình đã quan tâm đến sự cần thiết phải hoà hợp các hiệp định, các văn bản quốc tế đã có (ví dụ Hiệp định SPS của WTO và các tiêu chuẩn sức khoẻ của OIE) với sự cần thiết về mặt thực tiễn cho các chiến lược phù hợp với khu vực châu Á và hỗ trợ cho Bộ quy tắc ứng xử nghề cá có trách nhiệm (CCRF) của FAO. TCP này trở thành tiêu điểm để phát triển một Chương trình khu vực châu Á-Thái Bình Dương về quản lý Sức khoẻ động vật thủy sản một cách toàn diện và mạnh, là nhân tố chủ yếu của Chương trình công tác 5 năm của NACA (2001-2005). ***"Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật vủa khu vực châu Á về Quản lý sức khoẻ để di chuyển có trách nhiệm các động vật thủy sản sống và Chiến lược đồng thuận và hành động Bắc Kinh (TGBCIS)"*** hoặc ***Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật*** (FAO/NACA 2000) và ***"Sổ tay các quy trình (MOP)"*** (FAO/NACA 2001) đã được xây dựng trong khoảng thời gian ba năm (từ 1998- 2001) trên cơ sở hiểu biết và thống nhất trong tư vấn (qua mức độ quốc gia và các hội thảo khu vực, FAO/NACA/OIE 1998) của các đại diện chính phủ, đại diện các tổ chức hợp tác và các chuyên gia sức khoẻ động vật thủy sản. *"Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật"* cuối cùng đã được chấp nhận về nguyên tắc tại Hội thảo cuối cùng của TCP tổ chức tại Bắc Kinh, CHND Trung Hoa vào tháng 6/2000 (FAO/NACA 2000). ***Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản ở châu Á*** hoặc ***"Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của châu Á"*** là tài liệu thứ ba của bộ tài liệu được TCP ấn hành nhằm hỗ trợ việc thực hiện ***"Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật"*** đặc biệt quan tâm đến nội dung về chẩn đoán, kiểm tra và báo cáo về bệnh.

"Hướng dẫn chẩn đoán bệnh ở châu Á" là một sổ tay chẩn đoán toàn diện về các mầm bệnh và bệnh đã được liệt kê trong hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh động vật thủy sản của NACA/FAO/OIE[5]. Sổ tay đã được xây dựng từ các đóng góp về kỹ thuật của các thành viên Nhóm công tác khu vực (RWG) và Ban dịch vụ Hỗ trợ kỹ thuật (TSS) của TCP và các nhà khoa học về sức khoẻ động vật thủy sản khác ở trong và ngoài khu vực châu Á-Thái Bình Dương đã hỗ trợ cho chương trình khu vực.

Hiện đã có nhiều hướng dẫn, sổ tay và các loại tài liệu hiệu dụng khác về chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản ở dạng CD-ROM trong tài liệu tham khảo. Một số ở dạng ngôn ngữ của từng mức riêng. Ở khu vực châu Á-Thái Bình Dương có thể kể đến Sổ tay chẩn đoán

[1] Cơ quan quốc tế về dịch bệnh
[2] Viện nghiên cứu sức khoẻ động vật thuỷ sản của Cục nghề cá Thái Lan
[3] Cơ quan Phát triển quốc tế của Ôxtrâylia/Hợp tác Kinh tế châu Á- Thái Bình Dương
[4] Bộ Nông nghiệp, Thuỷ sản và Lâm nghiệp Ôxtrâylia
[5] Hệ thống báo cáo hàng quý đã được xây dựng là một trong bốn nội dung chủ yếu của TCP, dựa trên Bộ quy tắc quốc tế về sức khoẻ động vật của OIE - 1997, có sự hợp tác với văn phòng đại diện của OIE ở khu vực châu Á và Thái Bình Dương.

LỜI GIỚI THIỆU

bệnh cá-II của Indonesia (Koesharyani và cs. 2001, GRIM[6]/JICA[7]); Bệnh của tôm Penaeid ở Philippines (Lavilla-Pitogo và cộng sự, 2000, SEAFDEC - AQD[8]); của Thái Lan (a) Quy trình chẩn đoán bệnh cá (Tonguthai và cộng sự, 1999, AAHRI), (b) Quản lý sức khoẻ trong ao nuôi tôm, xuất bản lần thứ 3 (Chanratchakool và ctv1998, AAHRI), (c) Sổ tay kỹ thuật về Hội chứng dịch bệnh lở loét (EUS) (của Lilley và ctv 1998, ACIAR[9]/DFID[10]/AAHRI/NSW[11] - Nghề cá/NACA); của Ôxtrâylia Bệnh động vật thủy sản Ôxtrâylia- Hướng dẫn xác định tài liệu thực địa (Herfort và Rawlin 1999, AFFA); và một CD-ROM về chẩn đoán bệnh tôm (Alday de Graindorge and Flegel 1999). Ở phần phụ lục của các phần khác nhau trong Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của châu Á còn dẫn ra một số tài liệu khác nữa.

"Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của châu Á" bổ sung thêm cho các sổ tay/hướng dẫn hiện có và cung cấp những thông tin có liên quan về bệnh trong Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh động vật thủy sản ở châu Á-Thái Bình Dương của NACA/FAO và OIE, hệ thống này bắt đầu từ quý 3/1998 (NACA/FAO 1999, OIE 1999). Thông tin có trong Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của châu Á được trình bày theo một trình tự từ những quan sát chung tại ao hoặc địa điểm nuôi (Mức độ I), đến hướng dẫn thông tin về mặt kỹ thuật của chẩn đoán phân tử hoặc siêu cấu trúc và các phân tích ở phòng thí nghiệm (Mức độ II và III, và OIE 2000a, b), vì thế, có quan tâm đến các sai khác về bệnh của quốc gia, khu vực và quốc tế, cũng như các mức độ sai khác về năng lực chẩn đoán giữa các quốc gia trong vùng châu Á-Thái Bình Dương.

I.2 Mục đích và phạm vi

Mục đích của ***"Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của châu Á"*** là có được một sổ tay/hướng dẫn chuyên dụng ở cả mức độ trang trại và phòng thí nghiệm về chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản trong khu vực châu Á, để bổ sung cho *"Sổ tay các quy trình"* và sẽ được dùng như là một phần bổ sung để thực hiện các *"Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật"*. ***Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của châu Á*** nhằm mục đích cung cấp một công cụ dùng để nâng cao năng llực chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của quốc gia và khu vực, và cơ sở hạ tầng cần thiết để đáp ứng được các tiêu chuẩn về sức khoẻ động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a, b). Hướng dẫn này nhằm mục đích nâng cao hiểu biết về sức khoẻ động vật thủy sản cũng như cung cấp kiến thức để làm thế nào tiếp cận với các nguồn chẩn đoán nhằm phòng hoặc kiểm tra được các ảnh hưởng của bệnh.

Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của châu Á tập trung vào các bệnh đã được NACA/FAO và OIE liệt kê, nhưng cũng có đưa vào một số bệnh là đáng kể ở các phần thuộc vùng châu Á-Thái Bình Dương.

I.3 Hướng dẫn cho người sử dụng

Hướng dẫn Chẩn đoán bệnh của châu Á được chia làm bốn phần: **Phần 1** bao gồm phần Giới thiệu, Bối cảnh, Mục đích và phạm vi, Hướng dẫn cho người sử dụng, Sức khoẻ và Động vật thủy sản, Vai trò của chẩn đoán bệnh và các mức độ chẩn đoán; **Phần 2- 4**, được chia theo các nhóm vật chủ, có nghĩa là Các bệnh của cá **(Phần 2)**, Các bệnh của nhuyễn thể **(Phần 3)** và Các bệnh của Giáp xác **(Phần 4)**, mỗi phần lại bắt đầu bằng một chương "K*ỹ thuật chung"* nói về các "điểm xuất phát"cần thiết nhất để trả lời các gợi ý và có hiệu quả về các trạng thái của bệnh trong sản xuất thủy sản. Chương này không phải chuyên về bệnh, nó cung cấp thông tin về một phạm vi rộng các trạng thái của nhiễm bệnh. Nó nhấn mạnh tầm quan trọng của các quan sát tổng quát (Mức độ I), và nên làm như thế nào và khi nào. Nó cũng mô tả các thông số môi trường cần ghi chép lại, các quy trình chung khi lấy mẫu, cố định mẫu và tầm quan trọng của ghi chép - lưu trữ. Mỗi phần **Kỹ thuật chung** được chia ra như sau:

Quan sát tổng thể

Tập tính

Quan sát bên ngoài

Các thông số môi trường

Các quy trình chung

Chuẩn bị trước khi lấy mẫu
Thông tin chung
Lấy mẫu để kiểm tra sức khoẻ
Lấy mẫu để chẩn đoán bệnh
Lấy mẫu sống và vận chuyển
Lấy mẫu mô hoặc mẫu chết và vận chuyển
Bảo quản các mô
Vận chuyển các mẫu đã bảo quản

[6] Viện nghiên cứu nuôi trồng thủy sản biển Gondol của Viện nghiên cứu trung ương về khai thác biển và thủy sản, Vụ Hàng hải và thủy sản Indonexia
[7] Cơ quan hợp tác quốc tế của Nhật Bản
[8] Vụ nuôi trồng thủy sản của Trung tâm Phát triển nghề cá Đông Nam Á
[9] Trung tâm nghiên cứu Nông nghiệp quốc tế của Ôxtrâylia

[10] Vụ phát triển Quốc tế của Vương quốc Anh
[11] New South Wales (Ôxtrâylia)

Bảng I.2.1 Các bệnh đã được NACA/FAO và OIE liệt kê và các bệnh khác có trong *Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của châu Á*.

CÁC BỆNH PHỔ BIẾN Ở MỘT SỐ NƠI TRONG KHU VỰC

Các bệnh của cá

1. Dịch bệnh hoại tử cơ quan tạo máu* (EHN)
2. Bệnh hoại tử cơ quan tạo máu do nhiễm trùng* (IHN)
3. Bệnh virus cá hồi Nhật Bản *Oncorhynchus masou* * (OMVD)
4. Hoại tử nhiễm trùng tụy (IPN)
5. Bệnh viêm não và võng mạc do virus (VER)
6. Hội chứng bệnh lở loét (EUS)
7. Bệnh nhiễm khuẩn thận (BKD)

Các bệnh nhuyễn thể

1. Bệnh Bonamia * (*Bonamia* sp., *B. ostreae*)
2. Bệnh Marteilia * (*Marteilia refringens, M. sydneyi*)
3. Bệnh Mikrocytos * (*Mikrocytos mackini, M. roughleyi*)
4. Bệnh Perkinsus * *(Perkinsus marinus, P. olseni*)

Bệnh của giáp xác

1. Bệnh đầu vàng (YHD)
2. Bệnh hoại tử vỏ dưới và cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (IHHN)
3. Bệnh đốm trắng (WSD)
4. Bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa (BMN)
5. Virus gây kết dính mang (GAV)
6. Hội chứng gây tử vong tôm bố mẹ (hội chứng tử vong giữa vụ) (SMVD)

BỆNH DỰ ĐOÁN LÀ NHẬP VÀO KHU VỰC, NHƯNG PHẢI BÁO CÁO CHO OIE

Các bệnh của cá

1. Bệnh nhiễm virus vào mùa xuân ở cá chép* (SVC)
2. Bệnh nhiễm trùng xuất huyết do virus* (VHS)

Các bệnh nhuyễn thể

1. Bệnh Haplosporidiosis* (*Haplosporidium costale, H. nelsoni*)

CÁC BỆNH KHÁC TRONG KHU VỰC, NHƯNG CHƯA ĐƯỢC LIỆT KÊ

Các bệnh của cá

1. Bệnh u nang bạch huyết

Các bệnh nhuyễn thể

1. Bệnh Marteilioidosis (*Marteilioides chungmuensis, M. branchialis*)
2. Bệnh Iridovirosis (*Oyster velar virus disease*)

Các bệnh của giáp xác (các bệnh sau đây mới được dự đoán, nhưng chưa chứng minh là được nhập vào khu vực)

1. Hội chứng Taura (TS)
2. Bệnh còi do virus đa diện có nhân (*Baculovirus penaei*)
3. Bệnh hoại tử khối gan tụy
4. Bệnh dịch ở tôm sông

*Các bệnh phải khai báo của OIE (OIE 1997)

[12] Các bệnh được liệt kê trong Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh của động vật thủy sản ở châu Á-Thái Bình Dương đã được thống nhất sau một quá trình tư vấn của các Điều phối viên quốc gia, các thành viên của Nhóm công tác khu vực

(RWG) và Ban dịch vụ hỗ trợ kỹ thuật (TSS), FAO, NACA và OIE dựa trên bộ luật quốc tế về sức khoẻ động vật thủy sản của OIE - 1997, bao gồm cả một số bệnh được cho là quan trọng ở khu vực châu Á-Thái Bình Dương.

Ghi chép - Lưu trữ

Các quan sát tổng thể
Các quan sát môi trường
Các ghi chép về nuôi thả

Tài liệu tham khảo

Phần "Kỹ thuật chung" được tiếp nối dưới mỗi nhóm vật chủ là các chương tập trung vào các bệnh đặc trưng (ví dụ viral, vi khuẩn, nấm) được liệt kê trong mục danh mục báo cáo hàng quý của NACA/FAO và OIE hiện nay (Bảng 1.2.1). Các bệnh này đã được thừa nhận về tầm quan trọng của khu vực, cũng như trong ý nghĩa thương mại quốc tế. Những bệnh đã liệt kê là "Phải khai báo" hoặc "Các bệnh quan trọng khác" do OIE được tham khảo đối chiếu với văn bản mới nhất của OIE *Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE* (OIE 2000b, còn có ở http://www.oie.int). Những kỹ thuật chẩn đoán được mô tả trong *Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của châu Á* là phù hợp với những kỹ thuật mà OIE đã đề nghị. Do việc chẩn đoán bệnh là một lĩnh vực động nên cần chú ý đặc biệt là **bất kỳ ai khi sử dụng sổ tay này vào mục đích chứng nhận về sức khoẻ cho các di chuyển quốc tế các động vật thủy sản sống cần tham vấn Sổ tay chẩn đoán của OIE trước khi kiểm tra bệnh (kiểm tra bệnh) cho mục đích này**. Ngoài ra, các bệnh, các yếu tố gây bệnh hiện nay *không có* trong Danh mục báo cáo hàng quý của khu vực nhưng lại được liệt kê trong *Hướng dẫn Chẩn đoán bệnh của châu Á*, do chúng được khu vực quan tâm và gây bệnh cho nhiều loài quan trọng về mặt thương mại.

Mỗi chương về các bệnh đặc trưng được trình bày với các thông tin như sau:

- **Tác nhân gây bệnh** - giới thiệu về các tác nhân gây ra bệnh.
- **Vật chủ** - các vật chủ có thể bị nhiễm bệnh (cả nhiễm bệnh tự nhiên và bằng thực nghiệm).
- **Phân bố địa lý** - vùng phân bố địa lý đã biết/ghi chép được của bệnh được cập nhật, khi thích hợp, khi sử dụng các báo cáo hàng quý về bệnh của động vật thủy sản ở châu Á-Thái Bình Dương các năm 1999-2000 (Các báo cáo hàng quý của OIE, NACA/FAO).
- **Các khía cạnh lâm sàng** - mô tả các ảnh hưởng của bệnh, xếp từ các quan sát tổng thể và những thay đổi tập tính, các tổn thương và các chứng cớ khác ở bên ngoài, đến bệnh học bên trong tổng quát và hiển vi.
- **Các phương pháp kiểm tra bệnh** - là các phương pháp dùng để kiểm tra sức khoẻ ở các động vật thủy sản để xác định chúng có hay không bị nhiễm bởi một tác nhânh gây bệnh tiềm ẩn.
- **Các phương pháp chẩn đoán bệnh** - là các quy trình kiểm tra dùng để thử và xác định nguyên nhân của các bệnh hoặc nhiễm bệnh lâm sàng

Các phương pháp kiểm tra và chẩn đoán bệnh được chia ra làm 2 loại:

Dự chẩn - là chẩn đoán bước đầu dựa trên các quan sát tổng thể và các chứng cớ cụ thể. Khi có trên một tác nhân gây bệnh thì cần phải chẩn đoán khẳng định (thường làm ở phòng thí nghiệm mức độ II và/hoặc III) ; và

Kiểm khẳng định - là sự nhận diện có mặt của tác nhân gây bệnh, với độ tin cậy cao của chẩn đoán.

- **Các kiểu lan truyền bệnh** - trình bày các kiểu lan truyền bệnh đã biết và các yếu tố có liên quan đế sự lan truyền của chúng (môi trường, đánh bắt, vòng đời, các nguồn bệnh, v.v...). Lĩnh vực này của việc chẩn đoán được gọi là dịch tễ học và những gì quan sát được trong lĩnh vực nghiên cứu này cũng được đưa vào.
- **Các biện pháp kiểm tra** - mô tả các biện pháp kiểm tra đã biết để tiến hành công việc khi bệnh xảy ra.
- **Tài liệu tham khảo** - các tài liệu có liên quan hiện có về căn bệnh.

Các chương mục cho mỗi nhóm vật chủ cũng được nêu ở **Ba phụ lục** cung cấp thông tin về (a) danh sách các phòng thí nghiệm tham vấn của OIE, (b) danh sách các chuyên gia về bệnh của khu vực có thể cung cấp thông tin và tư vấn có giá trị về bệnh, và (c) các hướng dẫn/sổ tay hữu dụng. Một **Từ điển thuật ngữ** cũng được đưa vào.

I.4 Sức khỏe của động vật thủy sản

LỜI GIỚI THIỆU

Khác với các hình thức nuôi và thu hoạch khác mà ở đó cây trồng và vật nuôi đều nhìn thấy được, các động vật thủy sản cần được chú ý nhiều hơn để theo dõi sức khỏe của chúng. Chúng không dễ quan sát thấy được, trừ khi nuôi ở trong bể, và chúng lại sống trong một môi trường phức tạp và biến động. Cũng tương tự như vậy, việc tiêu thụ thức ăn và tử vong có thể đều ẩn náu kỹ ở dưới nước. Khác với ngành chăn nuôi, nuôi trồng thủy sản có một số lượng loài nuôi đa dạng, môi trường nuôi, nguồn gốc ngăn chặn, tăng cường thao tác và hệ thống nuôi đã sử dụng. Số lượng các bệnh tìm thấy trong nuôi trồng thủy sản cũng thay đổi, một số bệnh đặc trưng của vật chủ thấp hoặc không biết, và nhiều bệnh lại có các triệu chứng không đặc trưng. Hiện nay bệnh đang được cho là một trong những thách thức quan trọng nhất mà ngành nuôi trồng thủy sản đang phải đối mặt.

Tổ hợp của hệ sinh thái thủy sinh tạo ra sự phân biệt giữa khỏe mạnh, hoạt động dưới mức thuận lợi và tiềm ẩn của bệnh, Trong nuôi trồng thủy sản bệnh không phải do một yếu tố riêng lẻ gây ra mà là kết quả cuối cùng của một loạt các yếu tố liên kết tạo các mối quan hệ qua lại giữa vật chủ (bao gồm các điều kiện sinh lý, sinh sản và giai đoạn phát triển, môi trường và sự có mặt của mầm bệnh (Snieszko 1974). Ở các điều kiện nuôi trồng thủy sản, ba yếu tố đặc biệt quan trọng ảnh hưởng đến độ mẫn cảm bệnh của vật chủ: mật độ nuôi, tính mẫn cảm với bệnh bẩm sinh và miễn dịch (tự nhiên, tập nhiễm).

Môi trường bao gồm không chỉ là nước và các thành phần của nó (như ôxy, pH, nhiệt độ, độc chất, chất thải) mà còn kiểu cách của các thao tác quản lý (ví dụ như đánh bắt, xử lý thuốc, các qui trình vận chuyển, v.v.). Các mầm bệnh có thể gồm virus, vi khuẩn, ký sinh trùng và nấm; bệnh có thể gây ra bởi một loài đơn lẻ hoặc do một tập hợp của nhiều mầm bệnh khác nhau. Việc di nhập các bệnh nhiễm trùng là một quan tâm lớn khác trong nuôi trồng thủy sản. Cũng giống như trong chăn nuôi, nuôi trồng thủy sản và ngành thủy sản sẽ còn tiếp tục phải đối mặt với sự gia tăng toàn cầu của các tác nhân gây bệnh do hoạt động tăng cường buôn bán các động vật thủy sản sống và các sản phẩm của chúng (Subasinghe và cs. 2001).

Những phòng vệ đầu tiên và quan trọng nhất để chống lại các thiệt hại do bệnh dưới các tình huống phức tạp này là:

Theo dõi càng đều đặn càng tốt và hành động *thích hợp* khi thấy những dấu hiệu *đầu tiên* của tập tính, tổn thương hoặc tử vong khả nghi.

Các biện pháp tiếp cận cơ bản này-mặc dù đã được con người và sản xuất nông nghiệp biết đến từ lâu-vẫn cần được tăng cường trong nhiều ngành sản xuất động vật. Một số người nuôi và người thu hoạch vẫn còn do dự hành động khi thấy dấu hiệu đầu tiên của các vấn đề về sức khoẻ, do nghĩ rằng nó có thể ảnh hưởng đến năng lực sản xuất của họ, hoặc nó sẽ gây thiệt hại trong cạnh tranh vị trí thị trường. Tuy nhiên, dấu diếm hoặc lẩn tránh các vấn đề về bệnh có thể làm huỷ diệt các động vật thủy sản vì nó là của nơi khác. Sẽ là điều quan trọng để nhận thức rằng bệnh là một thách thức mà bất kỳ ai cũng phải đối mặt, và việc có các nguồn lợi được xử lý có hiệu quả, là những vũ khí ban đầu để chống lại những nghi ngờ và lo sợ không đúng chỗ.

I.5 Vai trò của chẩn đoán trong quản lý sức khỏe và kiểm soát bệnh của động vật thủy sản

Chẩn đoán giữ hai vai trò đáng kể trong quản lý sức khoẻ và kiểm soát bệnh của động vật thủy sản. Như đã trình bày ở trên, một số kỹ thuật chẩn đoán đã được dùng để kiểm tra các con vật khoẻ mạnh để đảm bảo là chúng không mang bệnh ở mức độ cận lâm sàng bởi các mầm bệnh đặc trưng. Đây là việc làm phổ biến ở các quần đàn động vật thủy sản dùng để vận chuyển sống từ một khu vực hoặc quốc gia đến một nơi khác. Việc kiểm tra bệnh giúp cho việc bảo vệ ở hai khía cạnh: (a) nó làm giảm rủi ro do các con vật mang theo một vài nhân tố cơ hội, nếu có, chúng có thể sinh sôi nẩy nở trong quá trình vận chuyển, đánh bắt hoặc thay đổi môi trường; và (b) nó làm giảm rủi ro của các động vật đề kháng hoặc chịu đựng được khi chuyển một mầm bệnh quan trọng đến một quần đàn có khả năng mẫn cảm với bệnh. Vai trò thứ hai của chẩn đoán là ***xác định nguyên nhân của tình trạng sức khoẻ không thuận lợi hoặc bất thường***

khác (như không đẻ, sinh trưởng hoặc tập tính) để đề ra các biện pháp làm nhẹ bớt thích hợp với điều kiện đặc biệt. Đây là vai trò trực tiếp nhất, và cũng là rõ ràng, của việc chẩn đoán sức khỏe của động vật.

Việc chẩn đoán bệnh chính xác thường được mô tả không đúng là phức tạp và tốn kém. Đây chỉ là đúng với một số bệnh khó hơn khi chẩn đoán hoặc bệnh mới xảy ra. Việc chẩn đoán bệnh ***không chỉ duy nhất là phép thử ở phòng thí nghiệm***. Một phép thử ở phòng thí nghiệm có thể khẳng định sự có mặt của một tác nhân gây bệnh đặc trưng, hoặc nó có thể loại bỏ sự có mặt của tác nhân gây bệnh với một mức độ chắc chắn nào đó. Việc chẩn đoán sai có thể dẫn đến các biện pháp kiểm soát không hiệu quả hoặc không thích hợp (thậm chí càng gây tốn kém hơn). Ví dụ, một tác nhân gây bệnh "mới" có thể mới gia nhập vào khu vực nuôi trồng thủy sản lớn, hoặc toàn bộ động vật bị chết khi vận chuyển trong lúc đánh bắt. Chẩn đoán bệnh nên được tiến hành như là một sự tiếp tục theo dõi bắt đầu từ trại nuôi, và trong thực tế là bắt đầu trước khi có bệnh. Các mức độ khác nhau của chẩn đoán bệnh có thể được tiến hành khi khảo sát trạng thái bệnh sẽ được thảo luận ở phần dưới đây.

I.6 Các mức độ chẩn đoán

Hướng dẫn chẩn đoán bệnh của châu Á được xây dựng trên một hệ thống với **"ba mức độ" chẩn đoán**, theo thoả thuận của Hội thảo khu vực lần thứ hai của TCP tổ chức tại Bangkok vào tháng 2/1999 (xem FAO/NACA 2000). Bảng I.6.1 nêu dưới chỉ ra các hoạt động chẩn đoán ở mỗi mức độ, ai là người chịu trách nhiệm, và thiết bị cũng như tập huấn cần thiết. Cần ghi nhớ là không một mức độ nào hoạt động biệt lập, mà hỗ trợ lẫn nhau, mỗi mức độ đóng góp dẫn và thông tin có giá trị để chẩn đoán được tốt nhất. Mức độ I là nền móng và là cơ bản của các mức độ II và III, và các phát hiện khi sử dụng mức độ cao hơn chỉ có thể được giải thích đầy đủ khi có sự kết hợp với các quan sát và kết quả thu được từ các mức độ thấp hơn.

Mức độ I (những quan sát tại trang trại/nơi sản xuất ghi chép - lưu trữ và quản lý sức khoẻ) được đặc biệt nhấn mạnh trong A Hướng dẫn Chẩn đoán bệnh của châu Á vì đây là cơ sở để mở đầu cho các mức độ chẩn đoán khác (II và III).

Mức độ II bao gồm các chuyên sâu về ký sinh trùng, mô bệnh,vi khuẩn và nấm, cần đến đầu tư về tài chính và tập huấn và nói chung là không thể tiến hành ở trang trại và nơi sản xuất được.

Mức độ III bao gồm các dạng chuyên sâu chẩn đoán tiên tiến, cần đến nhiều đầu tư về tài chính và tập huấn hơn. Như bạn đọc sẽ nhận thấy, các kỹ thuật miễn dịch và sinh học phân tử được xếp vào Mức độ III, mặc dù các bộ đồ phân tích ở thực địa hiện nay được thiết kế để sử dụng ở trang trại hoặc ngay ở tại ao (Mức độ I) cũng như dùng cả trong các phòng thí nghiệm vi sinh vật hoặc mô học (Mức độ II). Các nỗ lực này là dấu hiệu tốt chứng tỏ việc chuyển giao kỹ thuật ngày nay đang tăng cường cho công tác chẩn đoán và với việc kiểm tra chất lượng vững vàng, chắc chắn là nhiều kỹ thuật của Mức độ III sẽ được tiếp cận với thực địa trong một tương lai gần (Walker và Subasinghe 2000).

Một trong những khía cạnh quan trọng nhất để đạt hiệu quả tối đa của ba mức độ chẩn đoán là việc đảm bảo cho những người làm chẩn đoán Mức độ I được tiếp cận và biết cách tiếp xúc với sự hỗ trợ của các Mức độ II và III (và với giá cả nào), và ngược lại. Sự hỗ trợ của chẩn đoán Mức độ III thường dựa trên các chuyển tải từ dưới lên, vì vậy ít tiếp xúc với các điều kiện phát sinh ở thực địa. Vì vậy họ cần được phản hồi để đảm bảo là bất kỳ chẩn đoán nào (và các hành động được khuyến nghị) cũng xác đáng với tình hình sản xuất thủy sản đang được đầu tư.

Vì vậy, mục tiêu xuất phát để khởi đầu năng lực chẩn đoán là Mức độ I. Việc kiểm khẳng định, hoặc quan điểm thứ hai, nơi nào có yêu cầu, có thể đạt được bằng cách chuyển đi nơi khác cho đến khi các năng lực này được đáp ứng ngay tại địa phương. Khoảng thời gian cần để xây dựng cơ sở hạ tầng cho chẩn đoán Mức độ II và/hoặc Mức độ III thường phụ thuộc vào tình hình bệnh mà các nhà chẩn đoán Mức độ I đang phải đối mặt và giải quyết trong khu vực/quốc gia và các nguồn lực có sẵn. Nơi nào vẫn còn một số khó khăn thì ít có khả năng thúc đẩy việc xây dựng năng lực chẩn đoán bệnh. Đây là một điểm yếu. Những mối liên hệ chặt chẽ với chẩn đoán Mức độ II và/hoặc III là

Bảng I.6.1 Các mức độ chẩn đoán, những yêu cầu và trách nhiệm kèm theo

Hoạt động	Các yêu cầu của công việc	Trách nhiệm	Các yêu cầu về kỹ thuật cho các hoạt động hỗ trợ
Quan sát con vật và môi trường Kiểm tra lâm sàng	Hiểu biết thông thường (cho ăn, tập tính, sinh trưởng) của quần đàn Quan sát thường xuyên/đều đặn quần đàn Ghi chép- lưu trữ đều đặn, phù hợp và hỗ trợ (các Mức độ II,III) Bảo quản các ghi chép - bao gồm các thông tin cơ bản về môi trường Biệt các nơi chẩn đoán bệnh Năng lực để giao nộp và/hoặc bảo quản các mẫu đại diện để chẩn đoán tốt nhất các Mức độ II, III)	Công nhân nuôi/người quản lý Cán bộ khuyến ngư Cán bộ hỗ trợ thú y Các nhà sinh học thủy sản ở địa phương	Các cẩm nang ngòai thực địa. Các biểu mẫu lưu giữ ghi chép của trang trại Danh sách thiết bị Các tờ biểu mẫu quan sát lâm sàng. Các biểu mẫu ghi chép tại ao/địa điểm nuôi. Các nguyên tắc chỉ đạo bảo quản/vận chuyển để chẩn đoán Mức độ II/III *Các mô tả công việc mẫu/các yêu cầu về kỹ năng.* *Hướng dẫn chẩn đoán bệnh động vật thủy sản ở châu Á*
Ký sinh trùng học Vi khuẩn học Nấm học Mô bệnh học	Các phòng thí nghiệm có thiết bị cơ bản và cán bộ được tập huấn/có kinh nghiệm về bệnh học động vật thủy sản. Giữ và duy trì chẩn đoán đúng và các ghi chép của phòng thí nghiệm. Khả năng bảo quản và lưu kho các mẫu vật để chẩn đoán Mức độ III tốt nhất. Kiến thức/tiếp xúc với các lĩnh vực chuyên môn khác nhau trong Mức độ II. Biết ai là người sẽ giúp chẩn đoán Mức độ III để tiếp xúc quan hệ.	Các nhà sinh học/kỹ thuật thủy sản Các bác sỹ thủy sản Các nhà ký sinh trùng học/kỹ thuật viên Các nhà nấm học/kỹ thuật viên Các nhà vi khuẩn học/kỹ thuật viên Các nhà mô bệnh học/kỹ thuật viên	Hệ thống ghi chép- lưu trữ kiểu mẫu của phòng thí nghiệm. Các quy định về bảo quản/Vận chuyển mẫu để chẩn đoán bệnh Mức độ III. Yêu cầu/thiết bị/các danh sách dự trù của một phòng thí nghiệm kiểu mẫu. Các mô tả công việc mẫu/Các kỹ năng Tiếp cận đến chuyên gia giỏi Mức độ II và III Hướng dẫn chẩn đoán bệnh động vật thủy sản ở châu Á. *Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE* *Các sổ tay chẩn đoán đại cương của khu vực*
Virus học Kính hiển vi điện tử Sinh học phân tử Miễn dịch học	Phòng thí nghiệm được trang bị tốt có cán bộ với chuyên môn giỏi và đã qua đào tạo. Giữ và duy trì chẩn đoán đúng và các ghi chép của phòng thí nghiệm. Lưu trữ và bảo quản các mẫu vật. Có quan hệ với người có trách nhiệm giao mẫu.	Nhà virus học/kỹ thuật viên Các nhà sinh học phân tử/các kỹ thuật viên	Yêu cầu/thiết bị/các danh sách dự trù của một phòng thí nghiệm kiểu mẫu. Các mô tả công việc mẫu/các yêu cầu về kỹ năng Các thông tin giao dịch với các phòng thí nghiệm tham vấn. Các quy định về bảo quản mẫu để đối chiếu/làm cho có hiệu lực. Hướng dẫn chẩn đoán bệnh động vật thủy sản ở châu Á *Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE.* *Tài liệu tham khảo về chẩn đoán phân tử và vi sinh vật đại cương.*

	Mức độ	–	=	≡

I.7 Tài liệu tham khảo

Alday de Graindorge, V. and T.W. Flegel. 1999. Diagnosis of shrimp diseases with emphasis on blacktiger prawn, *Penaeus monodon*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO),Multimedia Asia Co., Ltd, BIOTEC, Network of Aquaculture Cen- tres in Asia Pacific (NACA)and Southeast Asian Chapter of the World Aquaculture So- ciety (WAS). Bangkok, Thailand. (Inter-active CD-ROM format).

Chanratchakool, P., J.F. Turnbull, S.J. Funge-Smith, I.H. MacRae and C. Limsuan. 1998. Health management in shrimp ponds. Third Edition. Aquatic Animal Health Research Institute (AAHRI), Bangkok, Thailand. 152p.

FAO/NACA. 2000. Asia Regional Technical Guidelines on Health Management for the Responsible Movement of Live Aquatic Animals and the Beijing Consensus and Imple- mentation Strategy. FAO Fisheries Technical Paper. No. 402. Rome, FAO. 2000. 53p.

FAO/NACA. 2001. Manual of Procedures for the Implementation of the Asia Regional Techni- cal Guidelines on Health Management for the Responsible Movement of Live Aquatic Animals. FAO Fisheries Technical Paper. No. 402,Suppl. 1. Rome, FAO. 2001. 106p. FAO/NACA/OIE. 1998. Report of the First Train- ing Workshop of the Regional Programme for the Development of Technical Guidelines on Quarantine and Health Certification and Es- tablishment of Informations Systems, for the Responsible Movement of Live Aquatic Animals in Asia. Bangkok, Thailand, 16-20 January 1998. TCP/RAS/ 6714 Field Document No. 1. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Network of Aquaculture Centres in Asia Pacific (NACA) and the Office International des Epizooties (OIE). Bangkok, Thailand. 142p.

Herfort, A. and G.T. Rawlin. 1999. Australian Aquatic Animal Disease Identification Field Guide. Agriculture, Fisheries and Forestry - Australia (AFFA), Canberra. 90p.

Koesharyani, I., D. Roza, K. Mahardika, F. Johnny, Zafran and K. Yuasa. 2001. Manual for Fish Disease Diagnosis - II. Marfine Fish and Crustacean Diseases in Indonesia. Gondol Research Institute for Mariculture and Japan International Cooperation Agency. Bali, Indonesia. 49p.

Lavilla-Pitogo, C.R. G.D. Lio-Po, E.R Cruz-Lacierda, E.V. Alapide-Tendencia and L.D. de la Pena. 2000. Diseases of penaeid shrimps in the Philippines. Aquaculture Extension Manual No. 16. Second edition. Aquaculture Department of the Southeast Asian Fisher- ies Development Center (SEAFDEC-AQD), Tigbauan, Iloilo, Philippines. 83p.

Lilley, J.H., R.B. Callinan, S. Chinabut, S. Kanchanakhan, I.H. MacRae and M.J. Phillips. 1998. Epizootic Ulcerative Syn-drome (EUS) Technical Handbook. Aquatic Animal Health Research Institute (AAHRI), Bangkok, Thailand. 88p.

NACA/FAO. 1999. Quarterly Aquatic Animal Disease Report (Asia and Pacific Region), July-September 1998. FAO Project TCP/RAS/6714. Network of Aquaculture Centres in Asia Pacific (NACA), Bangkok, Thailand. 37p.

OIE. 1997. OIE International Aquatic Animal Health Code, Second Edition. 1997. Office International des Epizooties (OIE), Paris, France. 192p.

OIE. 1998. Quarterly Aquatic Animal Disease Report, October-December 1998 (Asian and Pacific Region). 1998(2). The OIE Represen- tation for Asia and the Pacific, Tokyo, Japan. 33p.

OIE. 2000a. OIE International Aquatic Animal Health Code, Third Edition, 2000. Office International des Epizooties (OIE), Paris, France. 153p.

OIE. 2000b. OIE Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office International des Epizooties (OIE), Paris, France. 237p.

Snieszko, S.F. 1974. The effects of environ-mental stress on outbreaks of infectious dis-eases of fishes. *J. Fish. Biol.* 6:197-208.

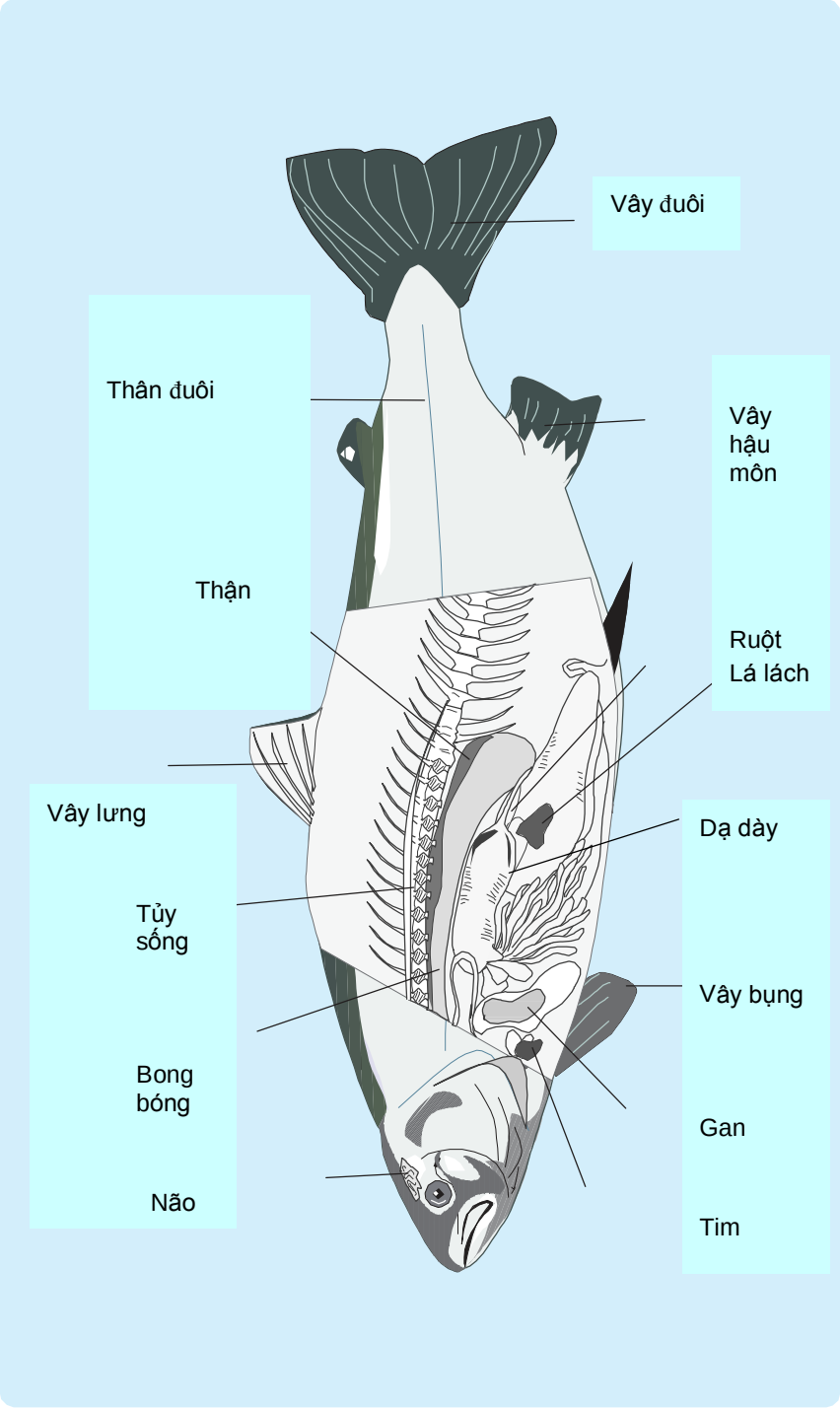
Subasinghe, R.P., M.G. Bondad-Reantaso and S.E. McGladdery. 2001. Aquaculture devel- opment, health and wealth. *In:* Subasinghe, R.P., P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery and J.R. Arthur (eds.). *Aquacul- ture in the Third Millennium*. Technical Pro- ceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand, 20-25

February 2000. (in press).

Tonguthai, K. S. Chinabut, T. Somsiri, P. Chanratchakool and S. Kanchanakhan. 1999. Diagnostic Procedures for Finfish Dis- eases. Aquatic Animal Health Research In- stitute, Bangkok, Thailand.

Walker, P. and R.P. Subasinghe (eds.) 2000. DNA-based molecular diagnostic techniques: research needs for standardization and validation of the detection of aquatic animal pathogens and diseases. Report and proceedings of the Expert Workshop on DNA- based Molecular Diagnostic Techniques: Research Needs for Standardization and Validation of the Detection of Aquatic Animal Pathogens and Diseases. Bangkok, Thailand, 7-9 February 1999. FAO Fisheries Technical *Paper. No. 395*. Rome, FAO. 2000. 93p.

Cấu tạo giải phẫu của cá xương điển hình



PHẦN 2 - BỆNH CÁ

Hình giải phẫu của một cá xương điển hình 46

PHẦN 2 - CÁC BỆNH CỦA CÁ

F.1 **Kỹ thuật chung** 48
F.1.1 Các quan sát tổng quát 48
F.1.1.1 *Tập tính* 48
F.1.1.2 *Quan sát bề ngoài* 48
F.1.1.2.1 Da và vảy 48
F.1.1.2.2 Mang 49
F.1.1.2.3 Thân 50
F.1.1.3 *Quan sát bên trong* 50
F.1.1.3.1 Khoang bụng và Cơ 50
F.1.1.3.2 Các cơ quan 50
F.1.2 **Các chỉ tiêu môi trường** 51
F.1.3 **Quy trình chung** 51
F.1.3.1 *Chuẩn bị trước khi lấy mẫu* 51
F.1.3.2. *Thông tin chung* 52
F.1.3.3 *Lấy mẫu để kiểm tra sức khoẻ* 52
F.1.3.4 *Lấy mẫu để chẩn đoán bệnh* 52
F.1.3.5 *Lấy mẫu sống để vận chuyển* 53
F.1.3.6 *Lấy mẫu mô hoặc cá chết để chuyển đi* 53
F.1.3.7 *Bảo quản (cố định) các mẫu mô* 54
F.1.3.8 *Vận chuyển mẫu đã bảo quản* 54
F.1.4. **Ghi chép - Lưu giữ** 55
F.1.4.1. *Các quan sát tổng quát* 55
F.1.4.2 *Quan sát môi trường* 55
F.1.4.3 *Ghi chép về đàn cá nuôi thả* 55
F.1.5 **Tài liệu tham khảo** 55

CÁC BỆNH CỦA CÁ DO VIRUS

F.2 **Dịch bệnh hoại tử cơ quan tạo máu** 57
F.3 **Bệnh hoại tử cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (IHN)** 60
F.4 **Virus cá hồi Nhật Bản *Oncorhynchus masou* (OMV)** 63
F.5 **Hoại tử nhiễm trùng tụy (IPN)** 66
F.6 **Bệnh viêm não và võng mạc do Virus (VER)** 70
F.7 **Bệnh nhiễm Virus vào mùa xuân ở cá chép (SVC)** 74
F.8 **Bệnh nhiễm trùng xuất huyết do Virus (VHS)** 77
F.9 **Bệnh u nang bạch huyết** 80

BỆNH CỦA CÁ DO VI KHUẨN

F.10 **Bệnh nhiễm khuẩn thận (BKD)** 84

CÁC BỆNH CÓ LIÊN QUAN ĐẾN NẤM

F.11 **Hội chứng dịch bệnh lở loét (EUS)** 88

PHỤ LỤC

F.AI. **Các Phòng thí nghiệm tham vấn về bệnh cá của OIE** 93
F.AII. **Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương** 96
F.AIII. **Danh sách các sổ tay/hướng dẫn hữu dụng về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương** 103

Các phòng thí nghiệm tham vấn của OIE, các chuyên gia khu vực châu Á-Thái Bình Dương, Tổ chức Nông lương của Liên hợp quốc (FAO) và Mạng lưới các Trung tâm nuôi trồng thủy sản châu Á (NACA) luôn cung cấp các thông tin tư vấn sức khoẻ thủy sản chung và những thông tin có giá trị khác. Ban thư ký NACA tại Bangkok (email: naca@enaca.org) đã cung cấp danh sách này trong các phụ lục F.AI và AII, và những địa chỉ cập nhật khác. Những hướng dẫn khác về trình tự chẩn đoán bệnh cung cấp những địa chỉ tham chiếu có giá trị về ký sinh trùng, sinh vật gây hại và bệnh trong khu vực được liệt kê trong phụ lục F.AIII

F.1.1 Các quan sát tổng quát

F.1.1.1 Tập tính (Mức độ I)

Ngay cả khi ở vùng nuôi không có vấn đề gì thì vẫn nên quan sát "tập tính bình thường" của cá để tạo nên và mô tả tình trạng "bình thường". Bất kể thay đổi nào khác với tập tính bình thường cũng nên lưu ý và tiến hành điều tra. Trước khi có các dấu hiệu bệnh lý, cá có thể có biểu hiện ăn nhiều hơn sau đó bỏ ăn, hoặc đơn giản là cá chỉ bỏ ăn một buổi. Ghi chép tỉ lệ chuyển đổi thức ăn bình thường, tỉ lệ chiều dài/trọng lượng hoặc những dấu hiệu hình dáng cơ thể khác như mô tả dưới đây là cần thiết để phát hiện bệnh sớm.

Những tập tính bất thường của cá là cá bơi gần mặt nước, lặn xuống dưới đáy, mất cân bằng, bơi nhanh, bơi vòng tròn hoặc đớp không khí hoặc bất kỳ biểu hiện nào khác với bình thường. Nhiều hành động khác lạ thường có kèm theo trạng thái lờ đờ. Những thay đổi tập tính thường xảy ra khi cá bị căng thẳng (stress). Thiếu ôxy dẫn tới việc cá đớp không khí, lờ đờ, ngửa bụng hoặc thân xoay tròn. Đó là do máu hoặc mang cá bị suy kém. Cá nhảy vụt lên trên mặt nước có thể do bị thương tổn ngoài da, ví dụ, sự nhiễm trùng không đáng kể bên ngoài của những vết trầy da. Bơi vòng tròn hay những tập tính lạ khác có thể báo hiệu những vấn đề về thần kinh mà có thể là những bệnh có liên quan (xem phần F.6 - Bệnh viêm não và võng mạc do virus).

Những kiểu cá chết cũng như mức độ cá chết cần được giám sát chặt chẽ. Nếu tổn thất vẫn như vậy hoặc tăng lên, cần gửi các mẫu để phân tích trong phòng thí nghiệm (Mức độ II và/hoặc III). Việc cá chết đồng loạt hoặc ngẫu nhiên cần được kiểm tra ngay lập tức và các yếu tố môi trường trong khi, trước và sau khi cá chết cần được ghi chép lại. Việc cá chết lan rộng từ vùng này sang vùng khác có thể là do sự xuất hiện của một tác nhân gây bệnh lây nhiễm và cần phải được lấy mẫu ngay lập tức. Nên cách ly cá bị bệnh càng xa càng tốt với những cá không bị bệnh cho đến khi tìm ra nguyên nhân cá chết.

F.1.1.2 Quan sát bề ngoài (Mức độ I)

Nói chung, không thể quan sát bề ngoài để kết luận cá có bệnh, tuy nhiên, việc phát hiện nhanh bất kỳ các biểu hiện bệnh lý dưới đây, cộng với hành động kịp thời (ví dụ, di dời hoặc cách ly khỏi cá khoẻ, gửi mẫu đi xét nghiệm ở phòng thí nghiệm) cũng có thể giảm được đáng kể thiệt hại.

F.1.1.2.1 Da và vây (Mức độ I)

Tổn thương ở da và vây có thể là kết quả của một bệnh lây nhiễm (ví dụ bệnh đỏ da ở cá chép). Tuy nhiên, những vết trầy xước đã có từ trước do va đập cơ học khi tiếp xúc với bề mặt cứng như bê tông hoặc tấn công của động vật ăn thịt (ví dụ: chim, hải cẩu, v.v... hoặc chấn thương do hoá chất) cũng có thể là những cơ hội cho các mầm bệnh sơ cấp hoặc thứ cấp (ví dụ các aeromonas di động). Điều này gây hại thêm cho sức khoẻ của cá.

Những thay đổi về da có liên quan đến bệnh thường dẫn đến xuất hiện các nốt đỏ **(Hình F.1.1.2.1a)** có thể chỉ nhỏ như đầu kim (đốm máu) hoặc những đốm lớn hơn. Những đốm này thường xuất hiện ở quanh các vẩy, nắp mang, hậu môn và vùng vây đuôi, nhưng đôi khi có ở khắp thân. Những dấu hiệu xuất huyết nhiều hoặc mất cân bằng thẩm thấu làm màu da cá đậm hơn. Những tổn thương chảy máu có thể dẫn đến sự ăn mòn da, ảnh hưởng nghiêm trọng đến sự điều hoà áp suất thẩm thấu và bảo vệ chống lại nhiễm trùng thứ cấp. Hiện tượng ăn mòn thường thấy ở mặt lưng (đầu và lưng) và có thể do các nguyên nhân như bị bệnh, cháy nắng hoặc va đập cơ học. Ở một số loài, tổn thương ngoài da có thể do mất nhớt hoặc bong vảy.

Những động vật ký sinh ngoài da như động vật chân chèo, trùng lông tơ hoặc sán lá cũng cần được lưu ý đến. Đối với mang, những động vật này hầu như không gây vấn đề gì trong phần lớn các trường hợp, tuy nhiên, nếu như chúng sinh sôi nảy nở quá cao so với mức bình thường **(Hình F.1.1.2.1b)** thì có thể dẫn tới nhiễm bệnh thứ cấp hoặc một dạng ủ bệnh (hoặc một loại stress khác). Ký sinh trùng có thể bám chặt ở bên ngoài hoặc các giai đoạn ấu trùng kết kén ở các vây hoặc da. Có thể phát hiện được những ấu trùng kết kén này (ví dụ ấu trùng sán lá có đuôi trưởng thành, xen kẽ vật chủ, metacercaria) dưới dạng các nốt trắng hoặc đen **(Hình F.1.1.2.1c)** ở trên da (hoặc ở mô cơ nằm sâu phía dưới).

Sự tăng trưởng bất bình thường ở cá có liên quan đến các bệnh về u, như bệnh do virus *Oncorhynchus masou* (xem mục F.4 - Bệnh do virus *Oncorhynchus masou*) và do bệnh u nang bạch tuyết (xem mục F.9 - Bệnh u nang bạch tuyết), hoặc do các yếu tố môi trường khác.

Cũng có thể quan sát kỹ mắt cá để phát hiện bệnh. Hình dáng, màu sắc, độ sáng của mắt, những bong bóng khí và những vết trầy xước nhỏ rỉ máu (chấm đỏ) có thể chỉ ra các bệnh hiện có hoặc sắp có. Ví dụ, mắt giãn và mở rộng, hay gọi là "mắt lồi", là có liên quan đến một số bệnh **(Hình F.1.1.2.1d).**

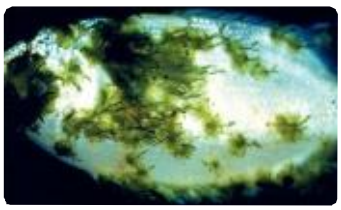
F.1.1.2.2 Mang (Mức độ I)

Những thay đổi dễ quan sát nhất đối với các mô mềm là độ tái và ăn mòn của mang **(Hình.F.1.1.2.2a).** Điều này thường là do cá có bệnh và nên hết sức lưu ý. Những nốt đỏ có thể là biểu hiện của hiện tượng chảy máu, nó làm giảm chức năng hoạt động của mang. Mùi hôi, có màng nhầy hoặc ký sinh trùng (tiên mao trùng, ký sinh đơn chủ, động vật chân chèo, nấm, v.v) cũng có thể làm giảm diện tích bề mặt hoạt động và có thể là dấu hiệu của các vấn đề khác về sức khoẻ **(Hình F.1.1.2.2b).** Điều này có thể ảnh hưởng trực tiếp đến cá hoặc làm cho cá dễ dàng nhiễm các bệnh thứ cấp.

(MG Bondad-Reantaso)

Hình.F.1.1.2.1a. Bệnh đốm đỏ ở cá trắm cỏ

(JR Arthur)



← Hình.F.1.1.2.1b. Trùng mỏ neo *Lerneae cyprinacea* ký sinh bên ngoài cá tai tượng.

(K Ogawa)

Hình.F.1.1.2.1c. Cá thơm, *Plecoglossus altivelis*, bị nhiễm sán lá *Posthodiplostomum cuticola* (?) ấu trùng metacercariae thể hiện là các đốm đen trên da.

(R Chong)

Hình. F.1.1.2.1d. Lở loét đặc trưng, mắt lồi, vây và đuôi bị rữa do *Vibrio* spp.

(SE McGladdery)

Hình.F.1.1.2.2a. Ví dụ về sự ăn mòn mang ở cá hồi Đại Tây Dương, Salmo salar, do động vật chân chèo ký sinh dày đặc *Salmincola salmoneus*

(MG Bondad-Reantaso)

Hình.F.1.1.2.2b. Mang cá có ký sinh trùng đơn chủ

F.1.1.2.3 Thân (Mức độ I)

Bất kể một thay đổi nào khác với hình dáng bình thường ở một con cá cũng biểu hiện cá bị bệnh. Những thay đổi thông thường như "đầu nhọn" thường xảy ra ở cá nhỏ là các vấn đề thuộc phát triển; những đường cong ở bên hoặc ở lưng bụng của cột sống (có nghĩa là chứng ưỡn cột sống và vẹo cột sống) có thể cho biết có vấn đề về chất lượng nước môi trường hoặc dinh dưỡng. Một thay đổi thông thường, dễ phát hiện khác ở hình dáng cơ thể là "bệnh phù". Bệnh phù là sự căng phồng bụng, làm cho cá có dáng vẻ "bụng trương". Đây là biểu hiện rõ rệt thuộc về bệnh như sưng phồng các cơ quan nội tạng (gan, lá lách hoặc thận), hình thành các chất lỏng của cơ thể (rõ rệt = phù nề; chất lưu máu = cổ trướng), do ký sinh trùng hoặc lý do chưa được biết khác. Bệnh phù là một biểu hiện thông thường trong nhiều các bệnh nguy hiểm được liệt kê trong sách Hướng dẫn chẩn đoán bệnh ở châu Á bởi vì nó thường liên quan tới sự phá hỏng có hệ thống điều hoà áp suất thẩm thấu do tế bào máu hoặc thận bị phá huỷ.

F.1.1.3 Quan sát bên trong (Mức độ I)

Cùng với việc theo dõi những thay đổi về tập tính, nên lấy mẫu cá yếu để kiểm tra và mổ cá dọc theo mặt bụng (từ họng đến hậu môn). Làm như vậy sẽ có thể quan sát tổng thể các cơ quan nội tạng và khoang bụng. Một con cá biểu hiện khoẻ mạnh cũng cần được mổ phanh bụng như vậy, nếu người có ít kinh nghiệm về nội quan của cá mà người đó đang xét nghiệm. Sự sắp xếp và hình dáng các cơ quan thay đổi khác nhau tuỳ theo loài.

Những mô bình thường không thể có dịch tự do trong khoang bụng, hệ cơ ổn định, các chất mỡ lắng đọng màu trắng ngà (nếu có) ở xung quanh môn vị, manh tràng, ruột và dạ dày, thận đỏ đậm nằm dẹp dọc phần đỉnh của khoang bụng (giữa xương sống và bong bóng), gan đỏ tụy và lá lách đỏ đậm. Dạ dày và ruột có thể có thức ăn. Sự phát triển tuyến sinh dục có thể thay đổi tuỳ theo mùa. Tim (nằm giữa khoang mang và bị ngăn cách khỏi khoang bụng) và hành động mạch có thể dễ nhận biết và nổi bật.

F.1.1.3.1 Khoang bụng và Cơ (Mức độ I/II)

Những biểu hiện có bệnh trong khoang bụng cá thường thấy nhất là chảy máu và hình thành chất nhờn có máu. Các nốt máu trên cơ của thành khoang bụng cũng có thể xuất hiện. Thành khoang bụng mà bị phân huỷ trong khi mổ có thể cho thấy cá đã bị chết được một lúc và như vậy là đã sử dụng một chút để chẩn đoán chính xác, do sự xâm nhập rất nhanh của các sinh vật hoại sinh thứ cấp (nghĩa là các vi khuẩn sống trên các mô đã chết hoặc đang thối rữa).

Hệ cơ bị hoại tử có thể báo hiệu sự nhiễm bệnh ở cơ, ví dụ do các ký sinh trùng niêm bào. Việc này có thể được điều tra nhanh chóng bằng cách ép một miếng cơ đã nhiễm bệnh giữa hai tấm lam kính hoặc giữa một cái nắp và đáy của đĩa Petri, và quan sát dưới kính hiển vi hỗn hợp hoặc giải phẫu. Nếu có các thể vùi giống bào tử xuất hiện thì nghi ngờ có ký sinh trùng là hợp lý. Một số ký sinh trùng là vi bào tử túi và niêm bào có thể hình thành các u nang trong cơ **(Hình F.1.1.3.1a),** các mô màng bụng (hệ thống màng giữ cho các cơ quan nội tạng cố định trong khoang bụng), và các cơ quan nội tạng dễ dàng nhìn thấy được bằng mắt thường như là các cụm hoặc các khối cầu màu trắng. Các ký sinh trùng này cũng cần được định loại về mặt ký sinh trùng học. Cũng có thể có giun, chúng cuộn lại ở bên trong hoặc xung quanh các cơ quan nội tạng và các mô màng bụng. Không một kí sinh trùng nào trong chúng (mặc dù không có ai trông thấy) gây thành bệnh chỉ trừ khi, có quá nhiều gây nên tắc và làm dịch chuyển các cơ quan nội tạng **(Hình F.1.1.3.1b).**

F.1.1.3.2 Các cơ quan (Các mức độ I-III)

Bất kỳ đốm trắng- xám nào xuất hiện trên gan, thận, lá lách hoặc tụy đều có thể là bệnh, nhất là khi các cơ quan này có các đốm hoại tử hoặc tổn thương khác ở mô. Trong các cơ quan như thận hoặc lá lách, điều này có thể báo hiệu việc ngừng sản xuất các tế bào máu. Những vết loét thận có thể cũng ảnh hưởng trực tiếp đến điều hoà áp suất thẩm thấu và những vết loét trên gan có thể ảnh hưởng đến cơ chế kháng khuẩn và kháng độc. Bất kỳ cơ quan nào trong số kể trên bị sưng lên trên mức bình thường đều là biểu hiện của bệnh, cần được xác định càng sớm càng tốt.

Khi ruột bị phình to (**Hình F.1.1.3.2a** và **Hình F.1.1.3.2b**) cần kiểm tra để xem liệu đây có phải là do thức ăn hay do sự hình thành dịch nhầy. Sự hình thành dịch nhầy là biểu hiện của sự phá vỡ cách sắp đặt thức ăn và chất thải, cũng như sự kích động ruột và thường đi kèm với một số bệnh nghiêm trọng. Điều này cũng có thể xảy ra do sự xâm nhập cơ hội của các đoạn ruột đã bị kích động do sự thay đổi nhanh về thức ăn, ví dụ như do trùng roi *Hexamita salmonis*. Ruột chứa đầy dịch nhầy có thể có đốm ở bên ngoài qua biểu hiện phân kéo dài, kết thành cụm hoặc có dịch nhầy.

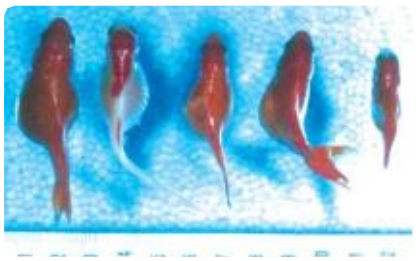
(H Yokoyama)

Hình.F.1.1.3.1a. Nhiễm *Myxobolus artus* trong cơ xương của cá chép 0+.

(K Ogawa)

Hình.F.1.3.1b. Nhiễm ấu trùng *Ligula* sp. (sán dây) ở khoang bụng của cá bống vàng Nhật Bản, *Acanthogobius flavimanus*.

(H Yokoyama)



Hình.F.1.3.2a. Bụng cá vàng bị trương phồng

F.1.2 Các chỉ tiêu môi trường (Mức độ I)

Chất lượng nước và dao động của các điều kiện môi trường, mặc dù không liên quan đến lây nhiễm nhưng có thể có ảnh hưởng lớn đến sức khoẻ của cá, cả trực tiếp (trong các phạm vi chịu đựng về sinh lý) và gián tiếp (tăng khả năng bị lây nhiễm). Điều này đặc biệt quan trọng đối với các loài được nuôi trong những điều kiện ít giống với điều kiện hoang dã. Nhiệt độ nước, độ mặn, độ trong,

(MG Bondad-Reantaso)

Hình.F.1.3.2b. Cá giống cá hồi Nhật Bản (*Onchorynchus masou*) có bụng phình to do nhiễm nấm men bia.

mùi nước và sinh vật phù du nở hoa tất cả đều là những yếu tố quan trọng. Mật độ nuôi cao, phổ biến ở nuôi thâm canh, dễ làm cho cá bị stress cũng như những thay đổi nhỏ của điều kiện môi trường có thể dẫn đến bệnh.Sự tích tụ thức ăn thừa chứng tỏ hoặc là cho ăn quá nhiều hoặc là cá giảm ăn. Trong trường hợp khác, các sản phẩm bị phân huỷ này có thể gây độc trực tiếp hoặc trở thành môi trường cho vi khuẩn sinh sôi nảy nở và lây nhiễm các bệnh thứ cấp. Như vậy, các chất gây ô nhiễm khác cũng có ảnh hưởng lớn đến sức khoẻ của cá.

F.1.3 Quy trình chung

F.1.3.1 Chuẩn bị trước khi lấy mẫu (Mức độ I)

Bất kể nơi nào có thể, nên khẳng định số lượng mẫu cần để xét nghiệm trong phòng thí nghiệm trước khi lấy mẫu. Nhìn chung số lượng cá lấy để kiểm tra bệnh nhiều hơn là lấy để chẩn đoán nguyên nhân cá chết hoặc các triệu chứng bất thường khác. Phòng thí nghiệm chẩn đoán là nơi sẽ nhận mẫu nên hỏi trước để biết chắc phương pháp vận chuyển nào là tốt nhất (ví dụ, ướp đá, bảo quản mẫu bằng hoá chất cố định, nguyên con hay mẫu mô). Phòng thí nghiệm cũng sẽ cho biết liệu có cần kiểm tra cả cá bệnh và cá còn có vẻ khoẻ để so sánh hay không.

Thông báo chính xác cho phòng thí nghiệm biết sẽ gửi tới những gì (có nghĩa là số lượng, kích cỡ hoặc các mô và ngày dự định lấy mẫu và chuyển đi) để phòng thí nghiệm có thể chuẩn bị trước khi mẫu tới. Những việc chuẩn bị như vậy có thể đẩy nhanh tiến độ xử lý mẫu (chuẩn bị hoá chất cố định, dán nhãn các lam kính, bình, đĩa, ống nghiệm, đĩa Petri, bảng dữ liệu, v.v) cũng phải mất hơn một ngày.

F.1.3.2 Thông tin chung (Mức độ I)

Tất cả các mẫu gửi đi chẩn đoán phải có càng nhiều thông tin hỗ trợ càng tốt, như:

- lý do gửi mẫu (có nghĩa là, kiểm tra, chứng nhận sức khoẻ)
- các quan sát tổng thể, ghi chép thức ăn và các chỉ tiêu môi trường
- quá trình và nguồn gốc của đàn cá, ngày chuyển đến và địa điểm các nguồn cá nếu cá không cùng một vùng nuôi.

Những thông tin này sẽ giúp làm rõ liệu việc vận chuyển, thay đổi môi trường hay các tác nhân lây nhiễm là những nguyên nhân cần lưu tâm. Điều này cũng sẽ giúp đẩy nhanh tiến độ các đề xuất về chẩn đoán, đánh giá mối nguy, quản lý và điều trị.

F.1.3.3 Lấy mẫu để kiểm tra sức khoẻ

Những yếu tố quan trọng nhất liên quan đến việc lấy mẫu để kiểm tra là:

- số lượng mẫu phải đủ (xem bảng F.1.3.3 dưới đây)
- lấy những mẫu nghi ngờ mẫn cảm với bệnh
- lấy mẫu bao gồm các nhóm tuổi và vào các mùa dễ phát hiện bệnh nhất. Những thông tin này được đưa vào các phần bệnh cụ thể.

Kích cỡ quần đàn	Tỉ lệ mắc bệnh (%)						
	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	10.0
50	46	46	46	37	37	29	20
100	93	93	76	61	50	43	23
250	192	156	110	75	62	49	25
500	314	223	127	88	67	54	26
1000	448	256	136	92	69	55	27
2500	512	279	142	95	71	56	27
5000	562	288	145	96	71	57	27
10000	579	292	146	96	72	29	27
100000	594	296	147	97	72	57	27
1000000	596	297	147	97	72	57	27
>1000000	600	300	150	100	75	60	30

Bảng F.1.3.3[1]. Số lượng mẫu cần để phát hiện ra ít nhất một cá thể bị nhiễm bệnh trong một quần đàn có kích cỡ và một tỷ lệ mắc bệnh đã nêu. Các giả định 2% và 5% mắc bệnh thường được dùng để kiểm tra các tác nhân gây bệnh từ bên ngoài, với độ tin cậy 95%.

F.1.3.4 Lấy mẫu để chẩn đoán bệnh (Mức độ I)

Tất cả các mẫu gửi đi chẩn đoán bệnh phải có càng nhiều thông tin hỗ trợ càng tốt, như:

- lý do gửi mẫu (cá chết, cá tăng trưởng không bình thường, v.v.)
- các hoạt động của con người (làm sạch lồng/lưới, phân cỡ/phân hạng cá, thay đổi địa điểm nuôi, địch hại, đưa loài mới/đàn mới vào nuôi, v.v.)
- những thay đổi của môi trường (thay đổi chất lượng nước nhanh chóng, như các luồng nước đục, nước mặn chảy vào trong ao nước ngọt, các hiện tượng thời tiết bất thường, v.v.).

[1] Ossiander, F.J. và G. Wedermeyer. 1973. Tạp chí của Uỷ ban Nghiên cứu Nghề cá Canada 30:1383-1384.

Những thông tin này sẽ giúp làm rõ liệu tác động của con người, thay đổi môi trường hay các tác nhân lây nhiễm có là nguyên nhân của việc cá chết hay các triệu chứng bất thường. Những thông tin này là cần thiết để chẩn đoán nhanh và chính xác, vì nó giúp tập trung vào các quy trình điều tra theo yêu cầu.

F.1.3.5 Lấy mẫu sống để vận chuyển (Mức độ I)

Nên lấy mẫu càng gần giờ vận chuyển càng tốt để giảm lượng cá chết trong quá trình vận chuyển. Việc này đặc biệt quan trọng đối với cá sắp chết hoặc cá đã bị bệnh.

Cần thông báo cho phòng thí nghiệm biết thời gian dự kiến mẫu sẽ tới, để đảm bảo chắc chắn phòng thí nghiệm chuẩn bị cơ sở vật chất cần thiết để xử lý trước khi cá tới. Điều này sẽ rút ngắn thời gian từ khi cá bị đưa ra khỏi nước đến khi chuẩn bị mẫu vật để xét nghiệm (xem F.1.3.1).

Nên bọc cá trong 2 lần túi nilon có chứa 1/3 là nước và 2/3 còn lại là không khí/oxy. Các túi nilon phải được gắn chặt (dây hoặc đai cao su) và đặt trong một hộp xốp hoặc hộp bìa cứng có xốp ở các cạnh. Kích thước một túi nilon 60 x 180 cm là thích hợp để chứa tối đa là bốn con cá cỡ 200-300 g. Thể tích nước so với thể tích cá/sinh khối cá là đặc biệt quan trọng đối với cá sống được vận chuyển để kiểm tra ngoại ký sinh, vì vậy cần hỏi ý kiến phòng thí nghiệm trước. Các hộp phải được gắn an toàn để tránh nước đổ ra và có thể bọc hai lần túi bên trong một hộp bìa cứng. Nên hỏi phòng thí nghiệm về yêu cầu đóng gói.

Cần dán nhãn rõ ràng trên các thùng hàng như sau:

"MẪU SỐNG, BẢO QUẢN Ở -------- đến ---------- °C, KHÔNG ĐỂ ĐÔNG LẠNH"

(Điền khoảng nhiệt độ để vận chuyển cá)

Nếu vận chuyển bằng đường hàng không thì ghi rõ:

"GIỮ TẠI SÂN BAY VÀ GỌI ĐIỆN ĐỂ ĐẾN NHẬN"

(Ghi rõ tên và số điện thoại của người chịu trách nhiệm nhận hàng, hoặc nhận hàng tại phòng thí nghiệm).

Nếu có thể nên chuyển hàng vào đầu tuần để tránh trả hàng vào ngày cuối tuần dẫn tới việc bảo quản không đúng và bị mất mẫu.

Thông báo cho người liên hệ lấy hàng ngay khi gửi chuyển hàng đi và cho biết tên hãng vận chuyển, số chuyến bay, số vận đơn và thời gian dự kiến hàng tới nơi.

F.1.3.6 Lấy mẫu mô hoặc cá chết để chuyển đi (Mức độ I)

Trong một số trường hợp, không thể chuyển được mẫu sống đến phòng thí nghiệm chẩn đoán do khoảng cách quá xa hoặc đường giao thông chậm. Trong các trường hợp này những yêu cầu về chẩn đoán phải được thảo luận với cán bộ phòng thí nghiệm trước khi lấy mẫu. Việc vận chuyển các mô không được bảo quản trước hoặc các mẫu cá chết yêu cầu phải cẩn thận, tránh gây ô uế hoặc thối rữa. Hơn nữa, cũng cần chú ý bảo vệ các ngoại ký sinh, nếu đây là những sinh vật quan trọng.

Đối với vi khuẩn, vi nấm hoặc virus:

- Cá nhỏ được bỏ vào túi, buộc kín và chuyển đi nguyên con trong những túi bằng keo gelatin có ướp đá/hoặc đông lạnh.
- Đối với cá to, có thể bỏ nội tạng, cho vào các bình chứa vô trùng và chuyển đi trong các túi bằng keo gelatin có ướp đá/hoặc đông lạnh.
- Để kiểm tra vi khuẩn hoặc nấm nên chuyển cá từng con một được đóng gói và buộc kín riêng và chuyển đi trong các túi bằng keo gelatin ướp đá/hoặc đông lạnh.
- Để kiểm tra virus-cho cá vào túi có chứa 5 thể tích dung dịch muối cơ bản của Hanks có chứa gentamycin (1.000 μg/ml) hoặc penicillin (800 IU/ml) + dihydrostreptamycin (800 μg/ml). Cũng có thể thêm các tác nhân kháng nấm như Mycostatin hoặc Fungizone với mức 400 IU/ml.

Ghi chú: Các mẫu cá nguyên con hoặc còn sống là lý tưởng nhất vì các mô đã bị cắt ra sẽ nhanh chóng tự phân huỷ ngay cả khi để trong đá lạnh, làm cho các mô không thể sử dụng được đối với kỹ thuật khử trùng và kiểm tra vi khuẩn, nhất là ở điều kiện khí hậu nhiệt đới. Cá dùng để kiểm tra vi khuẩn phải được bảo quản trong đá lạnh trong một khoảng thời gian hạn chế. Việc ướp lạnh là cần thiết để đảm bảo các cơ quan/các mô dùng để xét nghiệm có sử dụng kỹ thuật vô trùng được bảo quản ở nhiệt độ thấp hơn nước ở xung quanh (4°C là mức thấp chuẩn) nhưng không được để đông lạnh. Cũng nên bọc riêng mỗi con trong một túi để tránh lây nhiễm từ con

này sang con khác trong cùng một mẫu thử.

F.1.3.7 Bảo quản (cố định) các mẫu mô (Mức độ I)

Nên giết chết cá trước khi cố định. Với cá nhỏ có thể làm chết bằng cách cắt đầu, tuy nhiên việc này gây tổn thương cơ học cho các mô và phương pháp này không thích hợp đối với cá to. Thay vào đó, nên làm cá chết một cách nhẹ nhàng bằng thuốc gây mê liều cao (trừ trường hợp kiểm tra ngoại ký sinh trùng vì có thể bị mất những sinh vật này). Benzocaine hoặc Etomidate với liều dùng cao gấp 3 lần bình thường có hiệu quả để gây mê cá. Nếu có thể nên tránh tiêm thuốc gây mê vì tiêm sẽ gây ra tổn thương mô. Nên cho cá vào trong nước đá trước khi làm cá chết.

Với những loại cá rất nhỏ như cá hương hoặc cá bột thì nên ngâm trực tiếp với tỉ lệ dung tích tối thiểu là 10:1 (dung dịch cố định: mô).

Đối với các loài cá lớn hơn (>6 cm), toàn bộ chiều dài khoang bụng cá nên mổ phanh ra (dọc theo đường giữa bụng) và nội tạng và bong bóng được bóc ra nhẹ nhàng, mỗi cơ quan chính được bóc một lần là xong, cho phép các hoá chất cố định được thẩm thấu tối đa. Lý tưởng nhất là các cơ quan hoặc bất kỳ vết thương nào cần nghiên cứu sẽ được tách ra, cắt thành từng mảnh (<1,0 cm^3) và bỏ trong dung dịch cố định có thể tích ít nhất gấp 10 lần dung tích mô. Tổng thời gian cố định mẫu là có giới hạn.

Đối với việc chuẩn bị mẫu da, tốt nhất là cắt ra từng miếng to bằng dao mổ nhưng tránh ép hoặc làm biến dạng mẫu. Nhanh chóng nhúng da vào hoá chất cố định, sau đó lấy từng miếng da và cắt thành các lát nhỏ hơn rộng khoảng 1,0 cm và nhanh chóng đưa các lát này ngâm lại trong dung dịch cố định trong 24 giờ. Đối với những mẫu lấy từ các vết thương, nên cắt mẫu với chiều rộng không quá 1,0 cm bao gồm cả những mô khoẻ ở xung quanh vết thương để có thể so sánh giữa các mô khoẻ và mô nhiễm bệnh và ngay lập tức cho ngâm vào dung dịch cố định trong 24 giờ.

Để chuẩn bị tiêu bản tốt, tất cả các mô phải cố định ít nhất 24-48 giờ. Nên lưu ý rằng việc bảo quản lâu trong các hoá chất cố định, trừ ethanol 70%, sẽ làm cho mô không thể sử dụng được để lai tại chỗ. Phải hỏi lại phòng thí nghiệm chẩn đoán nếu cần phải bảo quản lâu tại chỗ trước khi chuyển đến phòng thí nghiệm.

Hoá chất cố định thích hợp nhất để bảo quản mẫu cá dùng trong phương pháp mô học là dung dịch Formalin đệm Phosphate.

Dung dịch Formalin đệm Phosphate:

37-40% formaldehyde	100,0 ml
Nước	900,0 ml
$NaH_2PO_4.H_2O$	4,0 g
Na_2HPO_4	6,5 g

Ghi chú: Formaldehyde là một khí tan trong nước và được cung cấp dưới dạng cô đặc còn 40% trọng lượng. Trong dung dịch cô đặc, formaldehyde thường bị đục trong quá trình bảo quản do sản sinh của formaldehyde, như vậy việc làm nóng dung dịch hoặc cho vào một lượng nhỏ NaOH sẽ giúp quá trình khử trùng hợp của paraformaldehyde. Formaldehyde không thích hợp cho việc cố định nếu nó ở dạng cô đặc. Formaldehyde dù nguyên chất thế nào cũng là axit khi mua về (thường có độ pH là 3-5). Cần thận trọng khi kiểm tra độ pH của bất kỳ hoá chất cố định nào có formalin.

F.1.3.8 Vận chuyển mẫu đã bảo quản (Mức độ I)

Các mẫu cần được chuyên chở trong những thùng chứa có niêm phong và không phá vỡ được. Thường thì mẫu được đóng trong hai lần thùng. Nhiều dịch vụ bưu kiện và công ty vận chuyển (đặc biệt là đường hàng không) có những quy định nghiêm ngặt đối với việc vận chuyển hoá chất, kể cả các mẫu đã được bảo quản. Nếu đã cố định đầy đủ các mô (như đã nêu ở mục F.1.3.7) thì khi vận chuyển hầu hết dung dịch bảo quản hay cố định đều phải rút cạn hết ra khỏi mẫu. Dung dịch còn để lại chỉ đủ để không làm khô các mô, điều này sẽ giảm thiểu lượng dung dịch hoá chất phải vận chuyển. Trước khi lấy mẫu, nên báo cho hãng vận chuyển để đảm bảo rằng mẫu được xử lý và bao gói theo đúng các qui định về vận chuyển.

- Các thùng chứa phải được dán nhãn ghi rõ ràng các thông tin mô tả dành cho mẫu sống (F.1.3.5).
- Phải ghi rõ tên và số điện thoại của người chịu trách nhiệm nhận hàng, hoặc nhận hàng ở phòng thí nghiệm.

- Nếu có thể, nên chuyển hàng vào đầu tuần để tránh giao hàng vào ngày cuối tuần, có thể dẫn đến bảo quản mẫu không đúng cách và bị mất mẫu.
- Thông báo cho người liên hệ nhận hàng ngay sau khi chuyển hàng đi và cho biết tên hãng vận chuyển, số chuyến bay, số vận đơn và thời gian dự kiến hàng tới nơi.

F.1.4 Lưu giữ-ghi chép (Mức độ I)

Việc thiết lập và ghi chép tập tính và biểu hiện của cá khi bình thường để so sánh với các quan sát tiến hành khi xảy ra bệnh là cần thiết. Việc lưu giữ- ghi chép vì thế là một biện pháp thiết yếu để quản lý bệnh có hiệu quả. Đối với cá, những yếu tố nên được ghi chép đều đặn được liệt kê ở các mục F.1.4.1, F.1.4.2 và F.1.4.3.

F.1.4.1 Các quan sát tổng quát (Mức độ I)

Những quan sát này có thể được ghi chép hàng ngày về độ tăng trưởng của cá mà lý tưởng nhất là được theo dõi đều đặn, hoặc bằng cách lấy mẫu phụ ở các bể hoặc ao nuôi, hoặc bằng dự đoán từ những quan sát bề ngoài.

Với các cơ sở ương ấp những thông tin tới hạn cần ghi chép lại bao gồm:

- hoạt động cho ăn
- sinh trưởng
- tử vong

Những quan sát này nên ghi chép hàng ngày, đối với tất cả các giai đoạn nuôi, bao gồm: ngày, giờ, số bể, cá bố mẹ (nơi có hơn 1 nguồn cá bố mẹ) và nguồn thức ăn. Cũng nên ghi chép lại ngày và giờ thay đổi, bể và thùng nước, xi phông hút/rửa bằng tia nước và/hoặc tẩy trùng. Lý tưởng nhất là những ghi chép này được một người có trách nhiệm bảo quản thiết bị, kiểm tra đều đặn.

Đối với ao hoặc vùng nuôi cá lồng/lưới, cần quan sát, ghi chép lại những thông tin sau:

- sinh trưởng
- sự nhiễm bẩn
- tử vong

Những thông tin này nên ghi chép có kèm theo ngày, địa điểm nuôi và những hoạt động có liên quan (ví dụ: lấy mẫu để kiểm tra trong phòng thí nghiệm). Cũng như vậy, những ghi chép này nên được kiểm tra đều đặn bởi người có trách nhiệm trông coi cơ sở nuôi.

F.1.4.2 Quan sát môi trường (Mức độ I)

Quan sát môi trường được áp dụng đối với vùng nước mở, ao, lồng và hệ thống nuôi thả lưới vây. Những thông tin cần ghi chép lại bao gồm:

- thời tiết
- nhiệt độ nước
- lượng oxy
- độ mặn
- độ đục của nước (đánh giá định tính hoặc đĩa secchi)
- sự nở hoa của tảo
- các hoạt động của con người (đánh bắt, việc sử dụng đất bên cạnh/các hoạt động sử dụng nước).
- độ pH.

Việc thường xuyên quan sát môi trường như trên sẽ thay đổi tuỳ theo nơi nuôi và loài nuôi. Nơi nào độ mặn hoặc độ đục ít thay đổi thì chỉ yêu cầu ghi chép vào mùa mưa hoặc khi điều kiện thời tiết đặc biệt. Vùng khí hậu ôn đới cần được kiểm tra nhiệt độ nước thường xuyên hơn ở vùng khí hậu nhiệt đới. Nên ghi chép lại các hoạt động của con người trên nguyên tắc "kịp thời", không để chậm trễ về thời gian.Trong mọi trường hợp, ngày và giờ đều phải ghi lại vì các chỉ số như nhiệt độ và độ pH thay đổi rõ rệt trong ngày, nhất là ở các ao mở và những vùng có thủy triều lên xuống.

Không phải khi nào cũng có thể kiểm soát được lượng oxy trong ao. Tuy nhiên, người nuôi nên biết rằng trong những ao mở không có quạt khí, lượng oxy thấp nhất vào sáng sớm khi cây cối (bao gồm cả tảo) đã sử dụng oxy suốt đêm. Sự quang hợp và việc sản sinh oxy sẽ chỉ bắt đầu sau khi mặt trời mọc.

F.1.4.3 Ghi chép về đàn cá nuôi thả (Mức độ I)

Nên ghi chép lại tất cả sự di chuyển của cá vào và ra khỏi một cơ sở ương ấp hoặc vùng nuôi, bao gồm:

- Nguồn cá bố mẹ/trứng/cá bột/cá con và chứng nhận sức khoẻ của chúng
- Khối lượng hoặc số lượng cá
- Điều kiện khi cá đến
- Ngày và giờ vận chuyển đi và tên người có trách nhiệm nhận cá

- Ngày, giờ và địa chỉ vận chuyển cá đến từ trại ương ấp hoặc vùng nuôi.

Những ghi chép như vậy cũng có thể áp dụng (nhưng ít cần thiết hơn) đối với việc vận chuyển giữa các bể, ao, lồng trong một vùng nuôi. Nếu có thể, không nên nuôi lẫn cá ở các nguồn khác nhau. Nếu phải nuôi lẫn thì phải ghi chép chặt chẽ những nguồn cá nào được nuôi lẫn và ngày đưa loạt cá mới vào trong vùng hoặc hệ thống nuôi.

F.1.5 Tài liệu tham khảo

Chinabut, S. and R.J. Roberts. 1999. Pathology and histopathology of epizootic ulcerative syndrome (EUS). Aquatic Animal Health Research Institute. Department of Fisheries, Royal Thai Government. Bangkok, Thailand. 33p.

Close, B., K. Banister, V. Baumans, E. Bernoth, N. Bromage, J. Bunyan, W. Erhardt, P. Flecknell, N. Gregory, H. Hackbarth, D. Morton and C. Warwick. 1997. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. Lab. Anim.31:1-32.

Ossiander, F.J. and G. Wedermeyer. 1973. Computer program for sample size required to determine disease incidence in fish populations. J. Fish. Res. Bd. Can. 30: 1383-1384.

Tonguthai, K., S. Chinabut, T. Somsiri, P. Chanratchakool, and S. Kanchanakhan. 1999. Diagnostic Procedures for Finfish Diseases. Aquatic Animal Health Research Institute, Department of Fisheries, Bangkok, Thailand.

CÁC BỆNH CỦA CÁ DO VIRUS
F.2 DỊCH BỆNH HOẠI TỬ CƠ QUAN TẠO MÁU (EHN)

F.2.1 Thông tin chung

F.2.1.1 Tác nhân gây bệnh

EHN do loại iridovirus có DNA sợi đôi, không vỏ và được gọi là virus gây dịch bệnh hoại tử ở cơ quan tạo máu (EHNV). Loại virus này có chung ít nhất một kháng nguyên với các iridovirus gây bệnh cho cá nheo (S*ilurus glanis*) và cá da trơn (*Ictalurus melas*) ở châu Âu và với các loại iridovirus sống trên động vật lưỡng cư tại Bắc Mỹ (loại virus 3 ở ếch) và tại Ôxtrâylia (Bohle iridovirus). Gần đây, Tổ chức Thú y thế giới (OIE) đã đưa 2 tác nhân là virus trên cá da trơn châu Âu và virus trên cá nheo châu Âu là các tác nhân gây ra dịch bệnh EHN (OIE 2000a; http://www.oie.int). Cách phân loại hiện nay về giống Ranavirus đang được xem xét lại (xem http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTV). Có thể tìm thấy thông tin chi tiết hơn về loại bệnh này trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

F.2.1.2 Các loại vật chủ

EHNV gây bệnh ở cá vược vây đỏ (*Perca fluvitilis)* và cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*). Các loài cá khác dễ nhiễm bệnh do EHNV là cá vược Macquarie (*Macquaria australasica),* cá ăn muỗi (*Gambussia affinis*), cá rô bạc (*Bidyanus bidyanus)* và cá *Galaxias olidus.*

F.2.1.3 Phân bố địa lý

Trước đây, giới hạn địa lý của việc lây nhiễm EHNV được giới hạn ở lục địa của Ôxtrâylia. Tuy nhiên, theo như quyết định gần đây của OIE, các loại iridovirus sống trên cá nheo và cá da trơn là nguyên nhân gây ra EHN thì phân bố địa lý đã nới rộng sang cả châu Âu. Một loại virus có liên quan gần đây được tách ra từ cá vược măng ở Phần Lan đã được phát hiện là có khả năng tác động chéo về mặt miễn dịch nhưng không gây bệnh cho cá hồi vân.

F.2.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về dịch bệnh động vật thủy sản ở châu Á - Thái Bình Dương (1999- 2000)

Ôxtrâylia báo cáo về sự xuất hiện của EHN tại Victoria (cuối năm 1996), New South Wales (cuối năm 1996) và Nam Ôxtrâylia (1992). EHN cũng xuất hiện ở New South Wales trong quí I năm 2000, với sự xuất hiện hàng năm tại khu vực thủ phủ Ôxtrâylia (không có khẳng định của phòng thí nghiệm) (OIE 1999, 2000b).

Ấn Độ báo cáo về EHN trong quí IV của năm 1999 đã ảnh hưởng tới cá quả và cá da trơn (OIE 1999).

F.2.2 Các khía cạnh lâm sàng

Không có các dấu hiệu cụ thể về bệnh liên quan đến EHN. Hoại tử của gan (có hoặc không có các đốm trắng), lá lách, mô tạo huyết của thận và các mô khác dẫn đến cá chết. Sự rối loạn chức năng của máu dẫn tới sự mất cân bằng về khả năng thẩm thấu, gây thương tổn xuất huyết, tạo nên các chất dịch trong các khoang cơ thể. Các chất dịch khoang cơ thể (bệnh báng) cùng với việc lá lách và thận phình to làm cho bụng phình ra (bệnh phù).

Bệnh lâm sàng dường như liên quan đến chất lượng nước thấp, cũng như nhiệt độ của nước. Đối với cá hồi vân, bệnh xuất hiện ở nhiệt độ từ 11 - 17^{o}C (trong tự nhiên) và từ 8 - 21^{o}C (điều kiện thí nghiệm). Không phát hiện ra bệnh ở cá vược vây đỏ ở nhiệt độ dưới 12^{o}C trong điều kiện tự nhiên. Cá vược vây đỏ con non và trưởng thành đều có thể bị ảnh hưởng, nhưng cá con dễ bị nhiễm bệnh hơn **(Hình F.2.2a)**. EHNV đã được tìm thấy trong cá hồi vân từ cỡ cá hương đến cá thịt, mặc dù hiện tượng cá chết thường xảy ra ở cá có chiều dài 0 ± 125 mm.

F.2.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh đối với EHN có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán dịch bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int, hoặc tại các tài liệu tham khảo chọn lọc.

Giống như tác nhân gây bệnh khác, việc kiểm tra bệnh để xác định sự có mặt của 1 tác nhân gây bệnh cần nhiều mẫu hơn so với để chẩn đoán bệnh. Số lượng mẫu sẽ thay đổi tuỳ theo độ tin cậy yêu cầu (xem mục F.1.3.3).

F.2.3.1 Dự chẩn

F.2.3.1.1 Các quan sát tổng thể (Mức độ I) và mô bệnh học (Mức độ II)

Không thể xác định được bệnh ở cá cận lâm sàng, khi sử dụng các quan sát tổng thể (Mức độ I) hoặc mô bệnh học (Mức độ II).

F.2.3.1.2 Virus học (Mức độ III)

EHNV có thể được tách ra từ các dòng tế bào của cá mang xanh 2 (BF-2) hoặc cá mè trắng (FHM). Việc này cần được kiểm tra ở nhiều cá cận lâm sàng (xem bảng F.1.3.3) để phát hiện ra tỉ lệ phần trăm thấp của cá mang bệnh.

F.2.3.2 Kiểm khẳng định

F.2.3.2.1 Các xét nghiệm về tính miễn dịch học (Mức độ III)

Các tác động của việc gây bệnh tế bào (CPE) ở các dòng tế bào của cá BF-2 hoặc FHM cần có sự khẳng định của EHNV là nguyên nhân thông qua xét nghiệm về miễn dịch (thử nghiệm kháng thể huỳnh quang gián tiếp (IFAT) hoặc thử nghiệm về chất hấp thu miễn dịch nhờ enzyme (ELISA) hoặc phản ứng chuỗi Polymerase (PCR) (Mức độ III).

F.2.4 Các phương pháp chẩn đoán

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán EHN có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán dịch bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int, hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

EHNV là loại virus có sức chống chịu cao, có thể chịu được đông lạnh trong thời gian dài, do vậy, cá có thể được lưu giữ và/hoặc vận chuyển động lạnh mà không gây ảnh hưởng đến việc chẩn đoán bệnh.

F.2.4.1 Dự chẩn

F.2.4.1.1 Quan sát tổng thể (Mức độ I)

Như đã đề cập tại mục F.2.2, cần nghi ngờ đã bị nhiễm EHNV khi thấy cá vược vây đỏ bị chết hàng loạt ở điều kiện nước lạnh (<11^{o}C), bao gồm việc ngừng ăn, phình bụng, tổn thương mang và xuất huyết ở vây cũng như toàn bộ lớp da bị tối sẫm. Các quan sát tương tự với cá giống cá hồi vân (11-17^{o}C) cũng cần được nghi ngờ, tuy nhiên các điều kiện cho EHN ở mỗi vật chủ là không đặc trưng.

Khi mổ cá chết có thể thấy gan và lá lách phình to hoặc có các điểm xám trên gan, nhưng những đặc điểm này cũng không đặc trưng.

F.2.4.1.2 Mô bệnh học (Mức độ II)

Mô bệnh học ở các mô tạo máu của thận, gan, lá lách và tim của cả cá vược vây đỏ và cá hồi vân là giống nhau, mặc dù gan của cá vược có vùng bị hoại tử tập trung rộng hơn. Mang cá vược bị bệnh có cục máu xuất huyết và tiết dịch fibrin. Hoại tử tập trung xảy ra ở tụy và thành ruột. Hoại tử ở vùng mô cũ có thể rộng hơn.

F.2.4.1.3 Virus học (Mức độ III)

Để nuôi cấy mô cần cá bột hoặc cá giống nguyên con của cá vược (chiều dài <4mm), nội tạng bao gồm thận (chiều dài cá 4-6cm) hoặc thận, lá lách và gan của cá có kích thước lớn hơn. Việc chẩn đoán bước đầu bắt đầu với việc tách virus ở các dòng tế bào của cá BF-2 hoặc FHM. Hiệu quả gây bệnh tế bào (CPE) là việc kiểm tra chéo sau đó đối với EHNV sử dụng kính hiển vi huỳnh quang gián tiếp hoặc ELISA (F.2.4.2).

F.2.4.1.4 Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Với hình thái 20 mặt, 145-162 nm, các tiểu phần virus mang AND sợi đơn không vỏ bao có mặt trong tế bào chất của các tế bào lá lách, gan, thận và máu bị nhiễm.

F.2.4.2 Kiểm khẳng định

F.2.4.2.1 Xét nghiệm về miễn dịch (Mức độ III)

IFAT và ELISA được yêu cầu sử dụng để khẳng định EHNV trong CPE từ môi trường nuôi tế bào như đã nói tại F.2.4.1.3. EHNV không gây ra các kháng thể trung tính (Ab) ở động vật có vú hoặc cá.

F.2.4.2.2 Phản ứng chuỗi Polymerase (PCR) (Mức độ III)

Các quy trình và các mồi PCR được tạo ra để phát hiện các iridovirus một cách biệt lập từ cá vược vây đỏ (*Perca fluviatilis*), cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*), cá nheo (*Silurus glanis*), cá da trơn (*Ictalurus melas*), cá khổng tước (*Poecilia reticulata*), cá đuối gai (*Labroides dimidatus*), và một loạt ranavirus ở động vật lưỡng cư (tài liệu chưa công bố).

F.2.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Sự lan truyền của EHNV trong cá hồi vân chưa được hiểu một cách đầy đủ. Sự lây nhiễm có thể lặp lại hàng năm và điều này có thể bị ràng buộc với các ổ bệnh của cá vược vây đỏ trong lưu vực nước. Tuy nhiên, bệnh còn xảy ra với tỷ lệ mắc bệnh thấp ở một số đàn cá hồi nhiễm bệnh, vì vậy tỷ lệ tử vong không vượt quá mức "bình thường". Điều này có nghĩa không nhận ra cá bệnh trong số cá bên ngoài có vẻ khoẻ mạnh.

F.2.6 Các biện pháp kiểm soát

Việc ngăn ngừa vận chuyển cá bệnh trong các vùng nước và giảm thiểu tiếp xúc giữa các trại nuôi cá hồi và đàn cá vược ở xung quanh là cần thiết. Ngoài ra, việc làm giảm hoạt động của chim ở các trại nuôi có thể làm giảm cơ hội bộc lộ và lan truyền bệnh. Thông báo và thông tin phòng ngừa cho những người câu cá giải trí ở các vùng cá có bệnh và không có bệnh cũng có thể làm giảm sự lan truyền vô ý.

F.2.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Gould, A.R., A.D. Hyatt, S.H. Hengstberger, R.J. Whittington, and B.E.H. Couper. 1995. A poly- merase chain reaction (PCR) to detect epi- zootic necrosis virus and Bohle iridovirus. *Dis. Aquat. Org.* 22: 211-215.

Hyatt, A.D., B.T. Eaton, S. Hengstberger, G.Russel. 1991. Epizootic haematopoietic necrosis virus: detection by ELISA, immuno- histochemistry and electron microscopy. *J. Fish Dis.*14: 605-618.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Whittington, R.J. and K.A. Steiner. 1993. Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV): improved ELISA for detection in fish tissues and cell cultures and an efficient method for release of antigen from tissues. *J. Vir.Meth.* 43: 205-220.

Whittington, R.J., L.A. Reddacliff, I. Marsh, C. Kear ns, Z. Zupanovic, Z. and R.B. Callinan.1999. Further observations on the epidemiology and spread of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in southeastern Australia and a recommended sampling strategy for surveillance. *Dis. Aquat. Org*. 35: 125-130.F.3

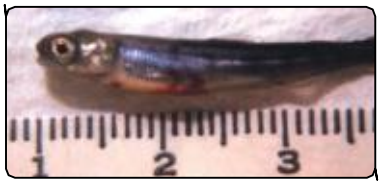
(AAHL)

Hình.F.2.2a. Hiện tượng chết hàng loạt của riêng cá vược vây đỏ. Lưu ý cá nhỏ bị bệnh và một con cá bị sưng phồng dạ dày ở giữa ảnh. Lưu ý đặc điểm mang bị xuất huyết ở con cá trong hình nhỏ ở dưới

(EAFP)

Hình.F.3.2a. Cá bột nhiễm IHN có túi noãn hoàng bị xuất huyết

(EAFP)



Hình.F.3.2b. Các dấu hiệu lâm sàng của cá nhiễm IHN bao gồm da bị sẫm, xuất huyết ở bụng và ở mắt quanh đồng tử.

F.3 BỆNH HOẠI TỬ CƠ QUAN TẠO MÁU DO LÂY NHIỄM (IHN)

F.3.1 Thông tin chung

F.3.1.1 Tác nhân gây bệnh

IHN do Rhabdovirus mang RNA (ssRNA) sợi đơn có bao gây ra và được gọi là virus gây bệnh hoại tử cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (IHNV). Hiện tại nó không được coi là một giống, nhưng Uỷ ban Quốc tế về Phân loại virus (ICTV) hiện đang coi đây là một giống mới - Novirhabdovirus - giống này được đề nghị gộp cả VHSV và IHNV (xem http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTV).

Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể được tìm thấy trong Số tay chẩn doán dịch bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

F.3.1.2 Các loại vật chủ

IHNV lây nhiễm lên cá hồi vân hoặc cá hồi đầu cứng (*Oncorhynchus mykiss),* cá hồi đỏ (*O.nerka*), cá hồi vua (*O. tshawytscha*), cá hồi chó (*O. keta*), cá hồi Nhật Bản (*O. masou*), amago (*O. rhodurus*), cá hồi bạc (*O. kisutch*), và cá hồi Đại Tây dương (*Salmo salar*). Cá bột của cá chó (*Esox lucius),* cá tráp và cá bơn sao cũng có thể bị lây nhiễm trong điều kiện thực nghiệm.

F.3.1.3 Phân bố địa lý

Trước đây, phân bố địa lý của bệnh IHN được giới hạn tại khu vực ven Thái Bình Dương của Bắc Mỹ, tuy nhiên gần đây, loại bệnh này đã lan tới lục địa châu Âu và châu Á.

F.3.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về dịch bệnh động vật thủy sản ở châu Á - Thái Bình Dương (1999-2000)

Ấn Độ báo cáo xuất hiện bệnh IHN vào quí cuối cùng năm 1999 ở cá quả và cá da trơn; Hàn Quốc báo cáo về bệnh IHN ở cá hồi vân vào quí 3 và 4 (tháng 9) năm 2000, trong khi đó Nhật Bản báo cáo về sự xuất hiện của IHN hàng tháng trong năm 1999 và 2000 (OIE 1999, 2000b).

F.3.2 Các khía cạnh lâm sàng

Giữa các cá thể của cùng một loài cá, có sự khác nhau lớn về khả năng nhiễm IHNV. Cá bột còn túi noãn hoàng **(Hình. F. 3.2)** đặc biệt dễ bị nhiễm và khả năng tử vong có thể lên tới từ 90-100%. Ở cá hồi vân hiện tượng cá chết có liên quan đến nhiệt độ nước dưới 14^{o}C. Những cá sống sót của IHNV chứng tỏ miễn dịch đã tập nhiễm được là rất mạnh.

Cá dễ mắc bệnh sẽ bị chuyển màu tối (đặc biệt là mặt lưng và khu vực đuôi) **(Hình F.3.2b)**. Phần bụng có thể bị sưng phồng, có sự xuất huyết ở gốc các vây, ở nắp mang và xung quanh mắt bị trương "mắt lồi". Khả năng bơi cũng giảm sút trông thấy. Một số cá còn có chất thải màu trắng từ hậu môn.

F.3.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh IHV có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán dịch bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.3.3.1 Dự chẩn

F.3.3.1.1 Virus học (Mức độ III)

IHNV có thể được phân lập từ loài mang bệnh cận lâm sàng trên *Epithelioma papulosum cyprinae* (EPC) hoặc các dòng tế bào BF-2. Việc xác định nguyên nhân của bất kỳ CPE ở trên các dòng tế bào này cần đến việc kiểm khẳng định tiếp theo. (F.3.3.2).

F.3.3.2 Kiểm khẳng định

F.3.3.2.1 Xét nghiệm về miễn dịch hoặc xét nghiệm về axit nucleic (Mức độ III)

Nguyên nhân của CPE tạo ra trên EPC hoặc các dòng tế bào BF-2 bằng các mẫu có nghi ngờ mang IHNV phải được kiểm khẳng định thông qua việc xác định miễn dịch hoặc các kỹ thuật dựa trên PCR (F.3.4.2.1).

F.3.4 Các phương pháp chẩn đoán

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán IHN có thể được tìm thấy trong Số tay chẩn đoán dịch bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.3 Bệnh hoại tử cơ quan tạo máu do lây nhiễm (IHN)

F.3.4.1 Dự chẩn

F.3.4.1.1 Các quan sát tổng thể (Mức độ I)

Những thay đổi về tập tính là không đặc trưng đối với bệnh IHN nhưng có thể bao gồm tình trạng hôn mê, cá tụ tập trong khu vực yên tĩnh của ao với những đợt bơi lội thất thường rộ lên theo chu kỳ (xem F.3.2) và mất thăng bằng.

Những thay đổi về bên ngoài bao gồm sự chuyển màu tối (nhất là bề mặt lưng và khu vực vây đuôi), đặc biệt là giai đoạn cá bột còn túi noãn hoàng (tỉ lệ tử vong 90-100%). Bụng cá có thể bị phình do sự tích tụ các chất dịch trong khoang cơ thể (phù) và có thể nhận thấy có hiện tượng xuất huyết ở gốc các vây, nắp mang và quanh mắt. Ở mắt cá có các dấu hiệu mất cân bằng về nước trong các mô do bị phồng lên (lồi mắt). Còn có thể thấy hậu môn lồi ra và phân trắng kéo dài/dạng nhầy.

F.3.4.1.2 Mô bệnh học (Mức độ II)

Các lắt cắt mô cho thấy nhiều mức độ hoại tử khác nhau của mô tạo máu ở thận hay lá lách, cũng như ở não và bộ máy tiêu hoá.

F.3.4.1.3 Virus học (Mức độ III)

Cá bột nguyên con (chiều dài $\leq$ 4cm), nội tạng bao gồm thận (cá dài 4-6cm) hoặc thận, lá lách hay các mô não của những loài cá có kích thước lớn hơn, được sử dụng để phân lập virus ở EPC hoặc các dòng tế bào BF-2. Việc khẳng định về IHNV là nguyên nhân của bất kỳ kết quả về CPE cần có điều tra về xét nghiệm miễn dịch, như được trình bày dưới đây.

F.3.4.2 Kiểm khẳng định

F.3.4.2.1 Các xét nghiệm miễn dịch học (IFAT hoặc ELISA) (Mức độ III)

Việc chẩn đoán IHNV đạt được thông qua việc xét nghiệm miễn dịch các phân lập từ nuôi cấy tế bào sử dụng IFAT hoặc ELISA, hoặc việc chứng minh bằng miễn dịch học của kháng thể IHNV ở các mô của cá bệnh.

F.3.4.2.2 Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Quan sát các tế bào bị bệnh trong nuôi cấy tế bào thấy các virus có hình đầu đạn, có vỏ, đa hình, đường kính 45-100nm và dài 100-430 nm. Trên hầu khắp bề mặt của bao có mọc phân tán đều các mũi nhọn rõ (mặc dù ở điều kiện nuôi cấy tế bào chúng lại kém rõ hơn). Các capsid nhân cuộn lại và xuất hiện dải chéo (4,5 - 5 nm) khi nhuộm âm và soi kính hiển vi điện tử. Sự tái tạo virus diễn ra trong tế bào chất với sự chín muồi của tiểu phần ở màng tế bào hoặc túi đựng dịch Golgi.

F.3.5 Các kiểu lan truyền bệnh

IHNV thường lan truyền từ những cá bệnh sống sót, chúng mang mầm mống bệnh cận lâm sàng. Khi cá trưởng thành, chúng có thể truyền virus trong quá trình đẻ trứng. Cá mang bệnh cũng có thể truyền bệnh thông qua việc truyền IHNV trong phân, nước tiểu, dịch trứng và tiết chất nhầy. Các nguồn lây nhiễm khác bao gồm dụng cụ bị ô nhiễm, trứng của cá bệnh, kí sinh trùng hút máu (như đỉa, rận cá *Argulus* spp.). Các loài chim ăn cá cũng được coi là một nguồn lan truyền bệnh từ nơi này sang nơi khác.

Yếu tố môi trường ảnh hưởng nhiều nhất tới bệnh IHN là nhiệt độ của nước. Bệnh thường xuất hiện trong khoảng nhiệt độ từ 8 - 15^{o}C ở điều kiện tự nhiên. Sự bùng phát bệnh hiếm khi xảy ra ở nhiệt độ >15^{o} C.

F.3.6 Các biện pháp kiểm soát

Hiện tại các biện pháp kiểm soát chủ yếu là phòng tránh thông qua việc tẩy trùng kỹ càng các trứng đã thụ tinh. Trứng, cá bột và cá hương nên được nuôi ở nguồn nước không có virus và tách biệt hoàn toàn với các tác nhân có khả năng mang IHNV. Nếu có thể, cần tránh sử dụng cá bố mẹ sống tại nơi đã từng bùng phát bệnh IHN. Hiện tại, việc tiêm văc-xin chỉ đang trong giai đoạn thử nghiệm.

Với những loại virus gây nhiễm trùng cơ quan tạo máu (VHSV, xem F.8), tình trạng sức khoẻ tốt của cá có thể làm giảm khả năng nhiễm IHN, trong khi đó đánh bắt và các kiểu gây stress khác thường làm cho nhiễm cận lâm sàng trở thành công khai.

F.3 Bệnh hoại tử cơ quan tạo máu do lây nhiễm (IHN)

F.3.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Enzmann, P.J., D. Fichtner, H. Schuetze, and G. Walliser. 1998. Development of vaccines against VHS and IHN: Oral application, molecular marker and discrimination of vaccinated fish from infected populations. J. Appl. Ichth.14: 179-183.

Gastric, J., J. Jeffrey. 1991. Experimentally induced diseases in marine fish with IHHNV and a rhabdovirus of eel. CNEVA - Laboratoire de Pathologie des Animaux Aquatiques B.P.70 - 29289 Plouzane, France. EAS Spec. Publ. No. 14.

Hattenberger-Baudouy, A.M., M. Dabton, G. Merle, and P. de Kinkelin. 1995. Epidemiology of infectious haematopoietic necrosis (IHN) of salmonid fish in France:

F.4 VIRUS CÁ HỒI NHẬT BẢN *ONCORHYNCHUS MASOU* (OMV)

F.4.1 Thông tin chung

F.4.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh do virus *Oncorhynchus masou* (OMVD) gây ra bởi virus *Oncorhynchus masou* (OMV) được xếp vào họ Herpesviridae, dựa trên DNA 20 mặt với đường kính 120-200 nm và có vỏ bao. OMV còn được gọi là virus gây u ở cá hồi Nhật Bản (YTV), virus ở hồ Norka Towada, Quận Akita và Amori (NeVTA), virus gây u ở cá hồi bạc (CSTV), virus *Oncorhynchus kisutch* (OKV), herpesvirus cá hồi bạc (CSHV), virus thận cá hồi vân (RKV), hoặc herpesvirus ở cá hồi gấm (RHV). OMV biến đổi từ herpesvirus của họ Samonidae kiểu 1, loại này thường có ở miền tây nước Mỹ. Hiện nay, loại herpesvirus ở cá hồi này chưa được phân loại (xem tại http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTV).
Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán dịch bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

F.4.1.2 Các loại vật chủ

Cá hồi Kokanee (không thuộc loại cá hồi đỏ đại dương) - *Oncorhynchus nerka*- là loại dễ bị nhiễm nhất; khả năng bị nhiễm được sắp xếp theo trình tự giảm dần như sau: Cá hồi Nhật Bản (*O. masou*), cá hồi chó (*O. keta*), cá hồi bạc (*O. kisutch*) và cá hồi vân (*O. mykiss*).

F.4.1.3 Phân bố địa lý

OMVD được phát hiện tại Nhật Bản, và có thể là tại các con sông ven biển tại Đông Á (chưa có tư liệu) mà cá hồi Thái Bình Dương sinh sống.

F.4.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về dịch bệnh động vật thủy sản ở châu Á-Thái Bình Dương (1999- 2000)

Nhật Bản đã báo cáo về OMVD trong tất cả các tháng của các năm 1999 và năm 2000 và Hàn Quốc nghi ngờ có vào năm 1999 và trong 2 quí đầu của năm 2000 (OIE 1999, 2000b).

F.4.2 Các khía cạnh lâm sàng

OMV lây nhiễm và phát triển ở các tế bào nội bì của mao mạch, lá lách và gan, gây ra hiện tượng phù và xuất huyết. Cá bột một tháng tuổi là giai đoạn phát triển dễ bị lây nhiễm nhất. Thận, lá lách, gan và các khối u là những nơi mà OMV tập trung nhiều nhất trong thời gian lây nhiễm.

4 tháng sau khi có dấu hiệu bệnh, một số loài cá còn sống sót có thể phát triển khối u biểu mô (có thể nhìn thấy khối u một cách rõ ràng) quanh miệng (trên hoặc dưới hàm) và, ở mức độ nhỏ hơn là tại vây đuôi, nắp mang và thân cá. Tình trạng này có thể kéo dài hơn 1 năm. Ở cá hồi bạc 1 năm tuổi, sự lây nhiễm mãn tính tự biến thành những đám loét ở da, các đốm trắng ở gan, u ở miệng và bề mặt cơ thể. Tuy ở cá hồi vân, có một số triệu chứng ở bên ngoài, nhưng cũng có thể quan sát được ruột xuất huyết và các đốm trắng ở gan

Những cá còn sống sau khi bị OMVD sẽ phát triển các kháng thể trung tính để có thể để phòng bị tái lây nhiễm.

F.4.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh OMV có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int hoặc tại các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.4.3.1 Dự chẩn

F.4.3.1.1 Các quan sát tổng thể (Mức độ I)

Các khối u bề mặt tồn tại lâu là rất hiếm, nhưng đó là biểu hiện của thể mang OMV sống. Một số loài như cá hồi vân thì không có những tổn thương như thế.

F.4.3.1.2 Virus học (Mức độ III)

OMV có thể được phân lập từ các dịch sinh sản, các mẫu mô thận, não và lá lách ở phôi cá hồi trắng 214 (CHSE-214) hoặc ở các dòng tế bào tuyến sinh dục cá hồi vân 2(RTG-2). Bất kỳ kết quả CPE nào cũng cần đến các phân tích miễn dịch học và PCR để khẳng định tính đồng nhất của virus có liên quan (xem F.4.3.2.1).

F.4.3.2 Kiểm khẳng định

F.4.3.2.1 Xét nghiệm miễn dịch học và xét nghiệm axit nucleic (Mức độ III)

Ảnh hưởng của gây bệnh tế bào (CPE) trong các nuôi cấy tế bào, cũng như các phân tích các mẫu dịch sinh sản, mô thận, não và lá lách từ cá bị nghi là có bệnh có thể được kiểm tra bằng cách sử dụng các phép thử kháng thể trung tính đặc biệt, các phép thử kháng thể miễn dịch huỳnh quang gián tiếp (IFAT), với việc nhuộm miễn dịch peroxidase, các phép thử ELISA....

F.4.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán OMV có thể được tìm thấy trong Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int hoặc tại các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.4.4.1 Dự chẩn

F.4.4.1.1 Quan sát tổng thể (Mức độ I)

Các thay đổi về tập tính bao gồm trạng thái hôn mê và sự tập hợp xung quanh dòng nước chảy vào của các loài cá hồi dễ nhiễm bệnh cỡ nhỏ. Có thể nhìn thấy rõ các điểm loét hoặc xuất huyết trên da, cùng với đó là màu tối hơn. Mắt cá có thể bị lồi. Ở bên trong cơ thể, các đốm trắng có thể xuất hiện ở gan **(Hình F.4.4.1.1a).** Sau khoảng 4 tháng, ở cá sống sót có các dấu hiệu phát triển vùng da quanh miệng **(Hình F.4.4.1.1b)** hoặc đốm trắng có thể xuất hiện ở nắp mang cá, bề mặt thân hay vùng vây đuôi (hiện tượng này ít xảy ra hơn).

F.4.4.1.2 Mô bệnh học (Mức độ II)

Các lắt cắt mô của cá nghi ngờ bị bệnh có thể có các thương tổn do nhân phồng to trong các mô biểu bì của hàm, mặt trong của nắp mang và thận.

F.4.4.1.3 Virus học (Mức độ III)

Cá bột nguyên con (chiều dài ≤ 4 cm), nội tạng bao gồm thận (dài 4-6 cm) hoặc, với cá có kích thước lớn hơn, các thương tổn, lở loét ở da, khối u, thận, lá lách và não cần thiết để nuôi cấy mô sử dụng các dòng tế bào CHSE 214 hoặc RTG-2. Nguyên nhân của kết quả CPE cần được khẳng định là virus khi sử dụng các quy trình đã nêu tại F.4.3.2.1.

F.4.4.1.3 Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Nhờ kính hiển vi điện tử để phát hiện ra các virus trong nhân của các mô bị nhiễm bệnh và khối u. Các virus của DNA gồm 20 mặt, có vỏ, đường kính 120-200 nm. **(Hình F.4.4.1.3)**

F.4.4.2 Kiểm khẳng định

F.4.4.2.1 Các quan sát tổng thể (Mức độ I)

Tập tính chung và các dấu hiệu nhiễm bệnh tại thời điểm bắt đầu của OMVD là không đặc trưng cho bệnh. Do vậy, việc chẩn đoán khẳng định cần đến xét nghiệm chẩn đoán bổ sung hoặc sự xuất hiện OMVD đã được tư liệu hoá hoặc hiện tượng cá chết một vài tháng trước khi xuất hiện các tổn thương biểu mô và các u.

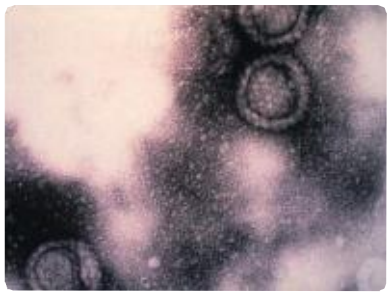
(M Yoshimizu)

Hình.F.4.4.1.1a. Cá hồi chó nhiễm OMV có các đốm trắng ở gan.

(M Yoshimizu)

Hình.F.4.4.1.1b. Khối u xung quanh miệng cá giống cá hồi chó do nhiễm OMV.

(M Yoshimizu)



Hình.F.4.4.1.3. Các tiểu phần OMV phân lập từ cá hồi Nhật Bản, kích thước của nucleocapsid từ 100 - 110 nm.

F.4.4.2.2 Virus học (Mức độ III)

Như đã trình bày tại F.4.3.1.2.

F.4.4.2.3 Xét nghiệm về miễn dịch và xét nghiệm axit nucleic (Mức độ III)

Như đã trình bày tại F.4.3.2.1

F.4.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Virus phát tán với phân, nước tiểu, các khối u bên trong và bên ngoài, và có thể ở cả nước nhầy trên da. Nơi trú ngụ của OMV là cá bị nhiễm bệnh lâm sàng cũng như các vật mang bệnh cận lâm sàng hoang dại hoặc nuôi. Cá trưởng thành nhiễm bệnh sống sót ở chu kỳ sống sớm có thể phát tán virus qua các dịch sinh sản ("cùng với trứng", hơn là sự lây nhiễm theo chiều nằm ngang thực thụ). Lây nhiễm qua trứng, dù ít thường xuyên hơn các hình thức phóng thích virus khác, nhưng là nguồn lây nhiễm gần như chủ yếu ở cá bột.

F.4.6 Các biện pháp kiểm soát

Sự thanh trùng triệt để các trứng đã thụ tinh, hỗ trợ cho việc nuôi cá bột và cá hương trong nước không tiếp xúc với các vật liệu bị ô nhiễm hoặc cá nhiễm bệnh, đã chứng minh là có hiệu quả trong việc làm giảm OMVD bùng phát. Nhiệt độ của nước <14^{o}C sẽ làm tăng khả năng sinh sôi của OMV.

F.4.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Gou, D.F., H. Kubota, M. Onuma, and H. Kodama. 1991. Detection of salmonid herpesvirus (*Oncorhynchus masou* virus) in fish by Southern-blot technique. *J. Vet. Med. Sc.* 53: 43-48.

Hayashi, Y., H. Izawa, T. Mikami, and H. Kodama. 1993. A monoclonal antibody cross-reactive with three salmonid herpesviruses. *J. Fish Dis.*16: 479-486.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Yoshimizu, M., T. Nomura, Y. Ezura, Y. and T. Kimura. 1993. Surveillance and control of infectioushaematopoietic necrosis virus (IHNV) *and Oncorhynchus masou* virus (OMV) of wild salmonid fish returning to the northern part of Japan 1976-1991. Fish. Res.17: 163-173

F.5 HOẠI TỬ NHIỄM TRÙNG TỤY (IPN)

F.5.1 Thông tin chung

F.5.1.1 Tác nhân gây bệnh

Hoại tử nhiễm trùng tụy (IPN) gây ra bởi virus có khả năng gây lây nhiễm cao, loài virus hoại tử nhiễm trùng tụy (IPNV) thuộc họ Birnaviridae. Đây là loài virus gồm 2 đoạn dsRNA thường chủ yếu tồn tại trong nước ngọt, nhưng có thể chịu được trong môi trường nước mặn. Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a)

F.5.1.2 Các loại vật chủ

IPN thường gây ảnh hưởng đến cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*), cá hồi suối (*Salvelinus fontinalis*), cá hồi nâu (*Salmo trutta*), cá hồi Đại dương (*Salmo salar*) và một số loài cá hồi Thái Bình Dương (*Oncorhynchus* spp.). Các loài có liên quan về mặt huyết thanh là loài cá bơn đuôi vàng Nhật Bản (*Seriola quinqueradiata*), cá bơn (*Scophthalmus maximus*), và cá bơn halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Các loài nhiễm cận lâm sàng cũng được tìm thấy ở các loài cá ở cửa sông và cá nước ngọt thuộc họ Anguillidae, Atherinidae, Bothidae, Carangidae, Cotostomidae, Cichlidae, Clupeidae, Cobitidae, Coregonidae, Cyprinidae, Esocidae, Moronidae, Paralichthydae, Percidae, Poecilidae, Sciaenidae, Soleidae và Thymallidae.

F.5.1.3 Phân bố địa lý

Bệnh này phân bố rộng rãi, có mặt ở hầu hết, nếu không nói là tất cả các quốc gia nuôi cá hồi chủ yếu ở Bắc và Nam Mỹ, châu Âu và châu Á.

F.5.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh động vật thủy sản ở châu Á - Thái Bình Dương (1999-2000)

Bệnh IPN được báo cáo có ở Nhật Bản và bị nghi ngờ có ở Hàn Quốc năm 1999; năm 2000, Nhật Bản thông báo có xuất hiện bệnh trong cả năm trừ tháng 2; và Hàn Quốc thông báo vào tháng 4 (OIE 1999, 2000b).

F.5.2 Các khía cạnh lâm sàng

Dấu hiệu đầu tiên của IPN ở cá hồi bột là tình trạng chết đột ngột. Bệnh ngày càng trầm trọng hơn, nhất là sau khi nhập thức ăn cho cá bột sau giai đoạn noãn hoàng. IPN cũng tác động đến cá hồi 2 tuổi Châu Mỹ ngay sau khi thả chúng vào lồng nuôi ở biển. Các dấu hiệu lâm sàng bao gồm dấu hiệu một phần ba của phần dưới cơ thể có màu sẫm tối và các u nhỏ ở trên đầu **(Hình 5.2.a),** bụng bị trương phình rõ rệt **(Hình F.5.2b** và **Hình 5.2c**) và hiện tượng bơi vặn xoắn. Một số loài cá còn có hiện tượng mất lồi. Số cá chết tích đọng lại có thể thay đổi từ dưới 10% đến trên 90%, tuỳ thuộc vào sự kết hợp của một số yếu tố như chủng virus, vật chủ và môi trường. Những cá thể sống sót ở giai đoạn cá con sớm hoặc muộn bị coi là mang IPNV suốt thời gian sống. Tử vong xảy ra cao hơn nếu nhiệt độ nước là ấm áp, và không có chu kỳ mùa rõ rệt.

Tuy, thực quản và dạ dày bị loét và xuất huyết. Ruột rỗng hoặc chứa đầy chất nhày trong (điều này có thể dẫn đến hiện tượng phân trắng).

F.5.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh IPN có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int, hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

Giống như với các tác nhân gây bệnh, phương pháp kiểm tra bệnh nhằm phát hiện sự có mặt của một tác nhân lây nhiễm trong một quần đoàn cận lâm sàng cần đến nhiều mẫu hơn so với chẩn đoán bệnh. Số lượng mẫu thay đổi tuỳ thuộc mức độ tin cậy yêu cầu. (F.1.3.3)

F.5.3.1 Dự chẩn

F.5.3.1.1 Các quan sát tổng thể (Mức độ I) và Mô bệnh học (Mức độ II)

Khi quan sát bằng kính hiển vi các vật mang bệnh cận lâm sàng không có dấu hiệu nhiễm bệnh ở bên trong hay bên ngoài.

F.5.3.1.2 Virus học (Mức độ III)

Các quy trình kiểm tra bệnh sử dụng việc phân lập virus từ các dòng tế bào cá hồi vua (CHSE-214) hoặc vây cá mang xanh (BF-2). Tuy nhiên, nguyên nhân của bất kỳ CPE cần được thẩm tra lại bằng các kỹ thuật kiểm khẳng định (F.5.3.2.2). Cá phục vụ cho việc xét nghiệm virus học bao gồm cá bột nguyên con (thân dài ≤4 cm), nội tạng bao gồm thận (cá dài từ 4-6cm) hoặc gan, thận và lá lách của cá cỡ lớn hơn.

F.5.3.2 Kiểm khẳng định

F.5.3.2.1 Xét nghiệm về miễn dịch và xét nghiệm mẫu phân tử (Mức độ III)

Nguyên nhân virus của bất kỳ CPE nào ở các dòng tế bào CHSE-214 hoặc BF-2 phải được khẳng định bằng xét nghiệm miễn dịch (thử trung tính hoặc ELISA) hoặc kỹ thuật PCR, bao gồm PCR nghịch đảo transcriptase (PT-PCR) và phương pháp lai tại chỗ (ISH).

(EAFP)

Hình.F.5.2a. Cá bị nhiễm IPN có một phần ba thân phía sau bị tối màu và các u nhỏ trên đầu.

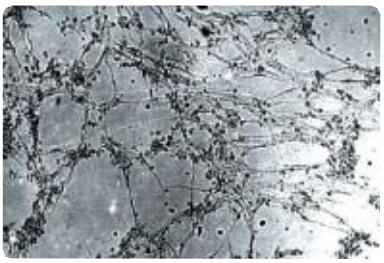
(J Yulin)

Hình.F.5.2b. Cá hương của cá hồi vân có bụng bị phồng to đặc trưng của nhiễm IPN.Trứng đã thụ tinh của loài cá này đã được nhập từ Nhật Bản vào Trung Quốc năm 1987.

(EAFP)

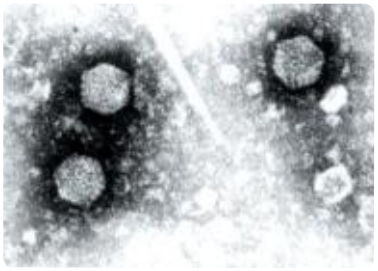
Hình.F.5.2c. Phía trên: cá hương của cá hồi vân bình thường; phía dưới: cá đã bị bệnh

(J Yulin)



Hình.F.5.4.1.3. CPE của IHNV.

(J Yulin)



Hình.F.5.4.1.4. Virus IPN được phân lập từ cá hồi vân nhập khẩu từ Nhật Bản năm 1987. Các tiểu phần virus có đường kính 55nm.

F.5.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán IPN có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000b), tại http://www.oie.int, hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.5.4.1 Dự chẩn

F.5.4.1.1 Các quan sát tổng thể (Mức độ I)

Những dấu hiệu lâm sàng ở cá hương của cá hồi và cá hồi con bao gồm nằm ở đáy bể/ao hoặc bơi vặn xoắn. Khả năng tử vong cao có thể xuất hiện khi cá bột lần đầu tiên được cho ăn hoặc ngay sau khi mang cá hồi non ra biển.Tỷ lệ tử vong thấp do bệnh mãn tính có thể xảy ra dai dẳng vào những thời gian khác. Sự mất màu tối (đặc biệt là ở bề mặt lưng và đuôi) có thể xảy ra đồng thời với hiện tượng phình bụng, sưng mắt và/hoặc phân xám.

F.5 HOẠI TỬ NHIỄM TRÙNG TỤY (IPN)

F.5.4.1.2 Mô bệnh học (Mức độ II)

Bệnh mô có đặc trưng bởi các tổn thương, hoại tử và các vết loét ở tụy, thực quản và dạ dày. Ruột có thể rỗng hoặc chứa đầy nước nhầy trong (khác với nhiễm ký sinh trùng Hexamita inflate-bệnh Hexamita, có chất nhầy màu vàng).

F.5.4.1.3 Virus học (Mức độ III)

Như đã nói đến để kiểm tra bệnh (F.5.3.1.2), cá nguyên liệu phục vụ cho xét nghiệm virus là cá bột nguyên con (chiều dài thân ≤4cm), nội tạng bao gồm thận (cá dài 4-6 cm) hoặc gan, thận và lá lách cho cá cỡ lớn hơn. Virus **(Hình F.5.3.1.3)** có thể được phân lập từ các dòng tế bào CHSE-214 hoặc BF-2, nhưng nguyên nhân của CPE phải được thẩm tra bằng các kỹ thuật kiểm khẳng định (F.5.3.2).

F.5.4.1.4 Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Những đặc điểm siêu cấu trúc của IPNV cũng giống với hầu hết các virus sống trong nước thuộc họ Birnaviridae, vì thế các xét nghiệm miễn dịch hoặc xét nghiệm axit nucleic là cần thiết để khẳng định việc định loài. Các birnavirus là loại không có vỏ, 20 mặt, đường kính khoảng 60 nm **(Hình.F.5.4.1.4).** Cấu tử của axit nucleic gồm 2 đoạn, dsRNA, và có thể được nhận biết thông qua hoá học mô tiêu chuẩn.

F.5.4.2 Kiểm khẳng định

F.5.4.2.1 Virus học và xét nghiệm về miễn dịch (Mức độ III)

Như đã nêu cho kiểm tra bệnh (F.5.3.2.1), nguyên nhân do virus của bất kỳ CPE nào trên các dòng tế bào CHSE-214 hoặc BF-2 đều phải được khẳng định bởi xét nghiệm về miễn dịch (phép thử trung tính hoặc ELISA) hoặc kỹ thuật PCR, bao gồm RT-PCR và ISH.

F.5.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Bệnh này được lan truyền ngang thông qua nước hay lan truyền dọc qua trứng. Lan truyền ngang được thực hiện qua mang và đường tiêu hoá. Virus có sức sống mạnh mẽ ở môi trường nước ngoài trời và có thể sống sót dưới một số biên độ rộng của môi trường. Điều này, cộng với việc thiếu vật chủ đặc trưng, làm cho IPNV có khả năng chống chọi và lan truyền rất dễ dàng trong môi trường nước ngoài trời.

F.5.6 Các biện pháp kiểm soát

Các biện pháp phòng bệnh bao gồm ngăn trứng đã thụ tinh khỏi cá bố mẹ mang IPNV và sử dụng nước suối hay nước từ lòng đất (không có cá mang bệnh tiềm ẩn). Việc tẩy trùng bề mặt trứng là không hoàn toàn có hiệu quả trong việc ngăn ngừa lây nhiễm dọc.

Việc kiểm soát tổn thất trong quá trình bùng phát bệnh bao gồm giảm mật độ nuôi và hạ nhiệt độ nước (trong trường hợp có thể kiểm soát được nhiệt độ).

Hiện tại đã có vắc xin cho IPN và cần cân nhắc khi sử dụng các vắc xin này cho cá đang nuôi lớn tại các khu vực bị dịch IPNV.

F.5.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Frost, P. and A. Ness. 1997. Vaccination of Atlantic salmon with recombinant VP2 of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV), added to a multivalent vaccine, suppresses viral replication following IPNV challenge. *Fish Shellf. Immunol.* 7: 609-619.

Granzow, H., F. Weiland, D. Fichtner, and P.J. Enzmann. 1997. Studies on the ultrastructure and morphogenesis of fish pathogenic viruses grown in cell culture. *J. Fish Dis.* 20: 1-10.

Lee, K.K., T.I. Yang, P.C. Liu, J.L. Wu, and Y.L. Hsu. 1999. Dual challenges of infectious pancreatic necrosis virus and *Vibrio carchariae* in the grouper *Epinephelus* sp.. *Vir. Res.* 63:131-134.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Seo, J-J., G. J. Heo, and C.H. Lee. 1998. Characterisation of aquatic Birnaviruses isolated from Rockfish (*Sebastes schlegeli*) cultured in Korea. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*18: 87-92.

Schlotfeldt, H.-J. and D.J. Alderman. 1995. What Should I Do? A Practical Guide for the Freshwater Fish Farmer. *Suppl. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 15(4). 60p.

Wang, W.S., Y.L. Wi, and J.S. Lee. 1997. Single tube, non interrupted reverse transcriptase PCR for detection of infectious pancreatic ne- crosis virus. *Dis. Aquat. Org.* 28: 229-233.

Yoshinaka, T., M. Yoshimizu, and Y. Ezura. 1998. Simultaneous detection of infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV) and infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) by reverse transcriptase (RT) poly- merase chain reaction (PCR). *Fish. Sci.* 64:650-651.

F.6 BỆNH VIÊM NÃO VÀ VÕNG MẠC DO VIRUS (VER)

F.6.1 Thông tin chung

F.6.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh viêm não và võng mạc do virus (VER) gây ra bởi nodavirus không bao, 20 mặt, đường kính 20-30 nm. Các tác nhân này còn được gọi là loài virus gây hoại tử thần kinh ở cá háo sọc (SJNNV), virus gây hoại tử thần kinh (VNN) và virus gây viêm não cá (FEV). Tất cả các loài này đều có đặc điểm huyết thanh giống nhau, trừ những loài gây bệnh cho cá bơn (F.6.1.2). Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

F.6.1.2 Các loại vật chủ

Bệnh VER có ở ấu trùng, đôi khi ở cá chẽm con (*Lates calcarifer)*, cá vược châu Âu (*Dicentrarchus labrax*), cá bơn (*Scophthalmus maximus*), cá bơn lưỡi ngựa (*Hippoglossus hippoglossus*), cá vẹt Nhật Bản (*Oplegnathus fasciatus*), cá mú chấm đỏ (*Epinepheles akaara*), và cá háo vằn (*Pseudocaranx dentex*). Sự bùng phát dịch bệnh với các dấu hiệu lâm sàng tương tự còn thấy ở loài cá nóc hổ (*Takifugu rubripes*), cá bơn Nhật Bản (*Paralichthys olivaceus*), cá mú tảo bẹ (*Epinephelus moara*), cá mú chấm nâu (*Epinephelus malabaricus*), cá mùi đá (*Oplegnathus punctatus*), cũng như ở một số loài cá nuôi biển khác.

F.6.1.3 Phân bố địa lý

VER xảy ra ở châu Á, Địa Trung Hải và Thái Bình Dương.

F.6.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh động vật thủy sản tại ở châu Á - Thái Bình Dương (1999- 2000)

Ôxtrâylia báo cáo về sự xuất hiện của VER trong 8 tháng của năm 1999, và 7 tháng của năm 2000. Nhật Bản báo cáo về VER trong 6 tháng của năm 2000, 3 tháng của năm 1999. Sự bùng phát lớn gần đây nhất là ở Singapore vào năm 1997 và tháng 4/1999, tháng 11/2000 ở cá vược biển. Hàn Quốc nghi ngờ về sự xuất hiện của VER trong cả năm 1999 và nửa năm 2000 (OIE 1999, OIE 2000b).

F.6.2 Các khía cạnh lâm sàng

VER tác động đến hệ thống thần kinh. Mọi loài bị tác động đều có triệu chứng bơi bất thường (xoắn ốc, xoáy, phóng như lao và ngửa bụng) kèm theo là với tăng kích thước bong bóng, ngừng ăn, thay đổi màu và chết **(Hình F.6.2)**

Những sai khác giữa các loài phần lớn có liên quan đến tuổi khi bệnh bắt đầu tấn công và khi bị bệnh nặng. Dấu hiệu lâm sàng sớm có liên quan với sự tử vong lớn, vì thế bệnh xảy ra ở cá bột một ngày sau khi nở ở cá háo vằn gây ra nhiều thiệt hại nghiêm trọng hơn ở cá bơn vì ở cá bơn mãi đến ngày thứ ba bệnh mới xảy ra. Tỉ lệ tử vong từ 10 - 100%.

Hai dạng của bệnh VER đã được gây cảm nhiễm thực nghiệm (Peducase và cs., 1999):

- cấp tính - được cảm nhiễm bằng cách tiêm vào cơ, và
- bán cấp tính - bằng cách tiêm vào trong màng bụng, tắm, sống chung và đường miệng

F.6.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh VER có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int, hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.6.3.1 Dự chẩn

Không có các tổn thương rõ ràng, chúng có thể được phát hiện ở vật mang mầm bệnh cận lâm sàng.

F.6.3.2 Kiểm khẳng định

F.6.3.2.1 Virus học (Mức độ III)

Nodavirus từ cá chẽm *Lates calcarifer* được nuôi cấy lên dòng tế bào SSN-1 loài cá chuối vằn (*Channa striatus*) (Frerichs và cs. 1996). Sự thích hợp của dòng tế bào này với các nodavirus khác của nhóm này đến nay vẫn chưa biết.

F.6.3.2.2 Xét nghiệm về axit nucleic (Mức độ III)

Phương pháp PCR mới đã cho thấy khả năng để kiểm tra cá có khả năng mang bệnh là cá háo sọc và các loài cá khác (*O. fasciatus, E. akaara, T. rubripes, P. olivaceus, E. moara, O. punctatus* và *D. labrax*).

F.6.4 Các phương pháp chẩn đoán

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán bệnh VER có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int, hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.6 Bệnh viêm não và võng mạc do virus (VER)

(J Yulin)

Hình.F.6.2. Cá chết do bị bệnh VER.

F.6.4.1 Dự chẩn

F.6.4.1.1 Các quan sát tổng thể

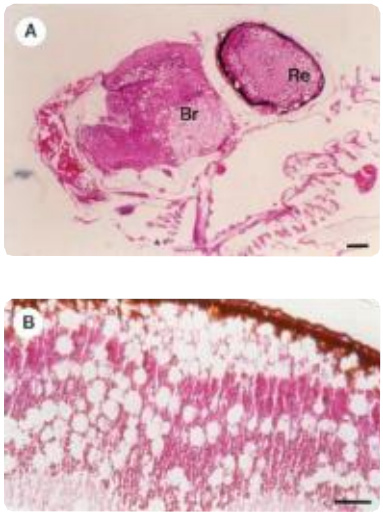
Tập tính bơi không bình thường và bong bóng bị phồng to ở cá bột mới nở và ở giai đoạn cá con. Các loài miêu tả ở trên, cùng với tử vong có liên quan chính là biểu hiện của VER. Các loài khác nhau có các dấu hiệu lâm sàng tổng thể khác nhau (Bảng F.6.4.1.1). Bỏ ăn, đổi màu, kèm theo là các tập tính bất thường cũng nên nghi vấn là bị bệnh.

F.6.4.1.2 Mô bệnh học (Mức độ II)

Các phương pháp về mô bệnh thông thường có thể làm bộc lộ các mức độ tạo không bào ở các mô não và võng mạc. (**Hình F.6.4.1.2a** và **Hình F.6.4.1.2b).** Ấu trùng nhỏ có thể được gắn vào khối parafin và cắt ra hàng loạt để có các lát cắt của não và nhãn cầu. Cá có kích thước lớn hơn (cá con) thường yêu cầu việc loại bỏ và cố định của mắt và não.

Mọi loại bệnh nêu ra ở F.6.1.1 chứng tỏ sự tạo không bào của não, mặc dù một số loài (ví dụ *Umbrina cirrosa*) có thể có một số tổn thương rõ ràng ở không bào. Ngoài ra, sự tạo thành không bào ở các lớp nhân của võng mạc có thể không xảy ra ở cá vẹt Nhật Bản hoặc cá bơn. Trong các lát cắt tiêu bản ở cá vược châu Âu, cá vược Ôxtrâylia, cá vẹt Nhật Bản và mô thần kinh của cá mú chấm nâu đều có các thể ẩn ở bên trong tế bào chất (đường kính ≤5µm). Hiện tượng hoại tử não đã được mô tả ở hầu hết các loài. Sự tạo thành không bào ở ruột không phải do các nodavirus VER gây ra, nhưng là điển hình.

(S Chi Chi)



Hình.F.6.4.1.2a, b. Sự tạo thành không bào trong não (Br) và võng mạc mắt (Re) ở cá mú bị nhiễm GNNV ở Đài Loan Trung Quốc (thước đo tỷ lệ = 100 mm).

F.6.4.2 Kiểm khẳng định

F.6.4.2.1 Virus học (Mức độ III)

Như được nêu tại F.6.3.2.1.

F.6.4.2.2 Các xét nghiệm về tính miễn dịch (Mức độ III)

Các trình tự tiến hành về hoá học mô miễn dịch cho các lát cắt mô cố định trong Bouin hoặc formalin đệm 10% và các kỹ thuật xét nghiệm kháng thể huỳnh quang trực tiếp (DFAT) đều sử dụng các kháng thể với độ đặc hiệu đủ rộng để phát hiện ra ít nhất bốn virus khác trong nhóm này. Phân tích ELISA chỉ thích hợp với SJNNV ở cá bột cá háo vẫn bị bệnh.

F.6.4.2.3 Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Các phần tử virus được tìm thấy ở não và võng mạc mắt bị bệnh bởi TEM và phương pháp nhuộm âm bản. Nhuộm dương bản TEM cho thấy các phần tử virus không bao, 20 mặt, liên kết với các tế bào không bào và các thể vùi. Các phần tử thay đổi từ 22-25nm (cá vược biển châu Âu) đến 34 nm (cá vẹt Nhật Bản) và các thể trong suốt ở bên trong tế bào chất, các tiểu phần kết hợp hay đơn lẻ (cả ở bên trong và bên ngoài tế bào). Ở các tiêu bản nhuộm âm bản, có thể tìm thấy các tiểu phần không bao từ hình tròn đến 20 mặt, 25-30 nm. Điều này phù hợp với nodavirus của bệnh VER.

Loài	Các thay đổi tập tính	Thay đổi hình thức bên ngoài	Bắt đầu các dấu hiệu lâm sàng
Cá vược biển	Bơi lẻ, lao nhanh, như mũi lao và hình xoắn ốc; bỏ ăn	Chuyển sang màu tái, chán ăn và suy nhược	Bắt đầu sớm nhất 9 ngày sau khi nở. Thường từ 15-18 ngày sau khi nở
Cá vược châu Âu	Bơi theo hình xoắn, bỏ ăn	Bóng cá phồng to	Bắt đầu sớm nhất 10 ngày sau khi nở. Thường từ 25-40 ngày sau khi nở
Cá vẹt Nhật Bản	Bơi theo hình xoắn ốc	Màu tối	Bắt đầu bất kể lúc nào khi chiều dài cơ thể đạt từ 6-26mm
Cá mú chấm đỏ	Bơi theo hình xoắn	-	Bắt đầu lần đầu tiên 14 ngày sau nở (dài 7-8mm). Thường bắt đầu khi chiều dài cơ thể từ 9-10 mm.
Cá mú chấm nâu	-	-	Chiều dài tổng cộng 20-50mm
Cá háo sọc	Bơi không bình thường	Bóng cá phồng to	1-4 ngày sau nở
Cá bơn	Bơi theo hình xoắn ốc và vòng tròn, ngửa bụng	Màu tối	Trước 21 ngày sau khi nở

Bảng F.6.4.1.1 - từ OIE (1997).

F.6.4.2.4 Xét nghiệm axit nucleic (Mức độ III)

Các xét nghiệm enzym phiên mã ngược PCR đã được tiến hành để phát hiện và phân loại nodavirus VER.

F.6.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Sự lan truyền theo chiều dọc của virus VER xảy ra ở cá háo sọc, và sự lây nhiễm vào buồng trứng được ghi nhận ở cá vược biển châu Âu. Các kiểu lan truyền khác chưa được chứng minh một cách rõ ràng, nhưng lan truyền theo chiều ngang từ cỡ cá con nuôi xảy ra ở cùng một địa điểm, và các thiết bị, dụng cụ bị bẩn cũng chưa thể được loại trừ. Việc gây cảm nhiễm bằng thực nghiệm đã thu được kết quả ở cá bột cá háo sọc và cá mú chấm đỏ bằng cách thả cá vào trong nước có virus VER. Cá vược biển châu Âu cũng có thể bị lây nhiễm bằng cách tiêm các chất đồng chất của não ở cá bị bệnh.

F.6.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Việc kiểm soát VNN ở cá háo sọc và các loài bị bệnh khác là phức tạp bởi sự lây nhiễm dọc của virus. Đảm bảo vệ sinh nghiêm ngặt ở các trại ương ấp có thể giúp cho việc kiểm soát được lây nhiễm VNN. Loại bỏ cá bố mẹ mang bệnh là một biện pháp để dùng cho cá vược sọc, tuy nhiên đã có một số bằng chứng là việc giảm đánh bắt cá khi cá đẻ có thể làm giảm lây nhiễm của buồng trứng và lan truyền theo chiều ngang ở một số cá mang bệnh. Sử dụng các kỹ thuật sau đây có thể đem lại thành công trong việc kiểm soát bệnh lâm sàng ở cá vược sọc:

- Không tái sử dụng nước nuôi
- Tẩy trùng bằng các chất hóa học nước và các bể ấu trùng giữa các đợt ấp, và
- Giảm mật độ cá bột từ 15-30 con/lit xuống <15 con/lít (10 con/lit là thích hợp).

Anderson và cs. (1993) báo cáo rằng không tái sử dụng nước, khử trùng hoá học nước biển và tẩy trùng nửa số bể dùng cho mỗi vòng ương đã thu được kết quả ở một trại ương cá vược biển.

Nuôi quảng canh trong các “ao xanh” cũng được coi là giảm sự lan tràn của bệnh lâm sàng và/hoặc các tổn thương về mô.

Arimoto và cs. (1996) khuyến nghị các biện pháp sau đây: (a) khử trùng trứng (iodine hoặc ozone) và dụng cụ (chlorine); (b) ương nuôi mỗi mẻ cá bột/cá con trong các bể riêng biệt chứa

nước biển được khử trùng bằng tia cực tím hoặc ozone; và (c) tách hoàn toàn cá bột và cá con của cá háo sọc khỏi cá bố mẹ.

F.6.7. Tài liệu tham khảo chọn lọc

Anderson, I., C. Barlow, S. Fielder, D. Hallam, M. Heasman and M. Rimmer. 1993. Occurrence of the picorna-like virus infecting barramundi. *Austasia Aquacult*. 7:42-44.

Arimoto, M., J. Sato, K. Maruyama, G. Mimura and I. Furusawa. 1996. Effect of chemical and physical treatments on the inactivation of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). *Aquac.* 143:15-22.

Boonyaratpalin, S., K. Supamattaya, J. Kasornchandra, and R.W. Hoffman 1996. Picorna-like virus associated with mortality and a spongious encephalopathy in grouper, *Epinephelus malabaricus*. *Dis. Aquat. Org.* 26:75-80.

Bovo, G., T. Nishizawa, C. Maltese, F. Borghesan, F. Mutinelli, F. Montesi, and S. De Mas. 1999. Viral encephalopathy and retinopathy of farmed marine fish species in Italy. *Vir. Res*. 63: 143-146.

Chi, S.C., W.W. Hu, and B.L. Lo. 1999. Establishment and characterization of a continuous cell line (GF-1) derived from grouper, *Epinephelus coioides* (Hamilton): a cell line susceptible to grouper nervous necrosis virus (GNNV). *J. Fish Dis.* 22: 172-182.

Comps, M., M. Trindade, and C. Delsert. 1996. Investigation of fish encephalitis virus (FEV) expression in marine fishes using DIG-labelled probes. *Aquac.* 143:113-121.

Frerichs, G.N., H.D. Rodger, and Z. Peric.1996. Cell culture isolation of piscine neuropathy nodavirus from juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *J. Gen. Vir.* 77: 2067-2071.

Munday, B.L. and T. Nakai. 1997. Special topic review: Nodaviruses as pathogens in larval and juvenile marine finfish. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 13:375-381.

Nguyen, H.D., K. Mushiake, T. Nakai, and K. Muroga. 1997. Tissue distribution of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) in adult striped jack. *Dis. Aquat. Org.* 28: 87-91.

Nishizawa, T., K. Muroga, K. and M. Arimoto.1996. Failure of polymerase chain Reaction (PCR) method to detect striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) in Striped jack *Pseudocaranx dentex* selected as spawners. *J. Aquat. Anim. Health* 8: 332-334.

OIE. 1997. OIE Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases. Second Edition. Office International des Epizooties, Paris, France. 252p.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Peducasse, S., J. Castric, R. Thiery, J.Jeffroy, A. Le Ven, and F. Baudin-Laurencin,. 1999. Comparative study of viral encephalopathy and retinopathy in juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax* infected in different ways. *Dis. Aquat. Org.* 36: 11-20.

Thiery, R., R.C. Raymond, and J. Castric. 1999. Natural outbreak of viral encephalopathy and retinopathy in juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax*: study by nested reverse transcriptase-polymerase chain Reaction. *Vir. Res.* 63: 11-17.

F.7 BỆNH NHIỄM VIRUS VÀO MÙA XUÂN Ở CÁ CHÉP (SVC)

F.7.1 Thông tin chung

F.7.1.1 Các tác nhân gây bệnh

Bệnh nhiễm virus vào mùa xuân ở cá chép (SVC) gây ra bởi Vesiculovirus ssRNA (Rhabdoviridae), gọi là virus gây bệnh nhiễm virus vào mùa xuân ở cá chép (SVCV) hoặc *Rhabdovirus carpio* (RVC) (Fijan 1999). Thông tin chi tiết hơn về loại bệnh này có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

F.7.1.2 Các loại vật chủ

SVCV lây nhiễm tới cá chép và các loài thuộc họ cá chép, bao gồm cá chép (*Cyprinus carpio*), cá trắm cỏ (*Ctenopharyngodon idellus*), cá mè trắng (*Hypophthalmichthys molitrix*), cá mè hoa (*Aristichthys nobilis*), cá diếc (*Carassius carassius*), cá vàng (*C. auratus*), cá tin ca (*Tinca tinca*) và cá nheo châu Âu (*Silurus glanis*).

F.7.1.3 Phân bố địa lý

SVC hiện chỉ giới hạn ở một số vùng thuộc lục địa châu Âu nơi có nhiệt độ nước thấp vào mùa đông.

F.7.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh của động vật thủy sản ở châu Á - Thái Bình Dương (1999- 2000)

Trong năm 1999-2000, không có báo cáo nào từ các quốc gia về vấn đề này (OIE 1999, 2000b).

F.7.2 Các khía cạnh lâm sàng

Cá chép con và những loài cá chép dễ bị nhiễm khác (F.7.1.2) trong thời gian một năm tuổi phần lớn bị bệnh nặng nhất. Thời gian mắc bệnh bắt đầu vào mùa xuân khi mà nhiệt độ nước đạt 11-17^{o}C. Tình trạng sức khoẻ yếu của cá khi qua đông là một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến quá trình nhiễm. Tỷ lệ tử vong từ 30-70%.

Sự phát triển của virus ở các tế bào nội bì của mạch máu, mô tạo máu và các tế bào nguyên thận gây ra hiện tượng phù nề và xuất huyết và làm suy yếu mô điều hoà áp suất thẩm thấu. Thận, lá lách, mang và não là những cơ quan mà SVCV phát triển mạnh nhất trong thời gian bắt đầu phát bệnh. Các cá thể còn sống sót có tính miễn dịch rất cao, tuy nhiên, cùng với các kháng thể lưu thông, điều này gây ra tình trạng mang bệnh khó nhận biết.

F.7.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh SVC có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int, hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.7.3.1 Dự chẩn

Không có phương pháp nào phát hiện ra nhiễm bệnh cận lâm sàng thông qua các quan sát tổng thể hay mô thông thường.

F.7.3.1.1 Virus học (Mức độ III)

Phương pháp kiểm tra bệnh đối với các vật mang bệnh cận lâm sàng sử dụng đến các chất đồng chất của não ở bất kỳ cỡ cá nào hoặc dịch trứng từ cá mẹ nghi ngờ có bệnh. Các dòng tế bào nhiễm SVCV là EPC và FHM. Bất kỳ kết quả CPE nào cũng cần có các xét nghiệm phân tử như trình bày ở F.7.3.2.

F.7.3.2 Kiểm khẳng định

F.7.3.2.1 Các xét nghiệm về miễn dịch (Mức độ III)

Các sản phẩm của CPE cần được kiểm tra SVCV bằng cách sử dụng phép thử trung tính virus (VN), phép thử kháng thể gián tiếp huỳnh quang IFAT và ELISA. IFAT có thể được sử dụng cho các tiêu bản mô trực tiếp.

F.7.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán SVC có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int, hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.7.4.1 Dự chẩn

F.7.4.1.1 Các quan sát tổng thể (Mức độ I)

Tử vong đột ngột có thể xảy ra mà không có dấu hiệu lâm sàng nào. Các bằng chứng thuộc tập tính là không đặc trưng cho bệnh SVC và bao gồm tình trạng lờ đờ, tách khỏi đàn, tụ tập ở đường nước vào hoặc ở mép ao và có biểu hiện mất thăng bằng.

Các dấu hiệu bên ngoài của việc lây nhiễm cũng không đặc trưng, cá có những mức độ biểu hiện khác nhau của sưng bụng, hậu môn nhô ra và phân kéo dài có nhầy. Cũng có thể thấy xuất huyết ở gốc các vây và hậu môn, mắt lồi, toàn thân bị tối màu và mang bị xám. **(Hình F.7.4.1.1a, b,c** và **d).**

Các dấu hiệu rõ rệt bên trong của việc lây nhiễm bao gồm sự tích tụ các dịch ở

khoang cơ thể, điều này dẫn đến tình trạng phù thấy rất rõ ở bụng, ruột chảy máu và chứa đầy chất nhầy, bong bóng xuất huyết và mang bị thoái hoá.

F.7.4.1.2 Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Việc phát hiện ra các tiểu phần virus không vỏ, có hình viên đạn, dài 90-180 nm và các gai xếp đều đặn trên bề mặt mô lá lách, thận và não, hoặc trong những phân lập từ CPE ở các dòng tế bào như trình bày ở F.7.4.1.3, cần được coi là có báo hiệu của bệnh SVC ở các loài cá chép dễ bị lây nhiễm có các dấu hiệu lâm sàng khác của bệnh. Sự tái tạo virus xảy ra ở tế bào chất với sự hoàn thiện của màng sinh chất và các túi Golgi.

F.7.4.1.3 Virus học (Mức độ III)

Cá nguyên con (dài ≤4 cm), hoặc nội tạng bao gồm thận (của cá dài 4-6 cm) hoặc thận, lá lách và não của cá cỡ lớn hơn có thể được dùng để chuẩn bị cho nuôi cấy mô sử dụng tế bào *Epithelioma papulosum cyprinae* (EPC) hay các dòng tế bào FTM. CPE tạo thành cần được kiểm tra bằng các kỹ thuật chẩn đoán nêu dưới đây và ở F.7.3.2.1 để khẳng định SVCV là nguyên nhân.

F.7.4.2 Kiểm khẳng định

F.7.4.2.1 Xét nghiệm về miễn dịch (Mức độ III)

Như đã trình bày ở F.7.4.1.3, SVCV có thể được khẳng định trong các sản phẩm CPE bằng phép thử virus trung tính (VN), các phép thử kháng thể gián tiếp huỳnh quang (IFAT) và ELISA. IFAT cũng còn được dùng cho các tiêu bản mô trực tiếp.

F.7.4.2.2 Xét nghiệm axit nucleic (Mức độ III)

Kỹ thuật RT-PCR đang được nghiên cứu.

F.7.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Sự truyền nhiễm ngang có thể là trực tiếp (tiếp xúc với virus phát tán trong nước bởi phân, nước tiểu, các dịch sinh sản, và có thể là màng nhầy da) hoặc gián tiếp qua các vật trung gian (các loài chim ăn cá, rận ở cá chép *Argulus foliaceus* hay đỉa *Piscicola geometra*). Sự truyền nhiễm dọc cũng có thể xảy ra qua SVCV ở dịch trứng (tuy nhiên, ở cá chép hương và giống ít bị bệnh SVC nên đây có thể là hình thức truyền nhiễm thứ yếu).

SVCV hiếm khi có thể duy trì được tính lây nhiễm sau khi bị đưa vào bùn ở 4°C trong thời gian 42 ngày, ở nước suối 10°C trong 14 ngày, và sau khi phơi khô ở 4-21°C trong 21 ngày. Điều đó có nghĩa là các cách tiếp cận để thiết lập và duy trì các ổ bệnh là tương đối rộng. Cộng với các cơ chế lan truyền trực tiếp và gián tiếp rộng rãi, điều này làm cho bệnh lây lan mạnh và khó kiểm soát

F.7.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Hiện tại không có biện pháp nào khả thi cho dù đã có một số loại vacxin. Cần tập trung nỗ lực để làm tốt điều kiện cho cá qua đông bằng cách giảm mật độ nuôi, giảm đánh bắt và giữ gìn nghiêm ngặt điều kiện vệ sinh. Các đàn cá mới được kiểm dịch ít nhất 2 tuần trước khi thả xuống ao để nuôi lớn.

Kiểm soát sự lây lan có nghĩa là di rời và huỷ nhanh những cá bị nhiễm bệnh ngay sau khi xác định có bệnh SVC. Việc tái diễn các bùng phát bệnh có thể cho phép hành động dựa trên chẩn đoán sơ bộ. Khi bùng phát bệnh lần đầu nên cách ly hoàn toàn cá bệnh cho đến khi bệnh SVC được khẳng định.

F.7.7 Các tài liệu tham khảo

Dixon, P.F., A.M. Hattenberger-Baudouy, and K. Way. 1994. Detection of carp antibodies to spring viraemia of carp virus by competitive immunoassay. Dis. Aquat. Org. 19: 181-186.

Fijan, N. 1999. Spring viraemia of carp and other viral diseases and agents of warm-water fish, pp 177-244. In: Woo, P.T.K and Bruno, D.W. (eds).Fish Diseases and Disorders. Vol 3. Viral, Bacterial and Fungal Infections. CABI Publishing, Oxon, UK.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France.237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Oreshkova, S.F., I.S. Shchelkunov, N.V. Tikunova, T.I. Shchelkunova, A.T. Puzyrev, and A.A. Ilyichev. 1999. Detection of spring viraemia of carp virus isolates by hybridisation with non-radioactive probes and amplification by polymerase chain reaction. Vir. Res. 63: 3-10.

F.7 Bệnh nhiễm virus vào mùa xuân ở cá chép (SVC)

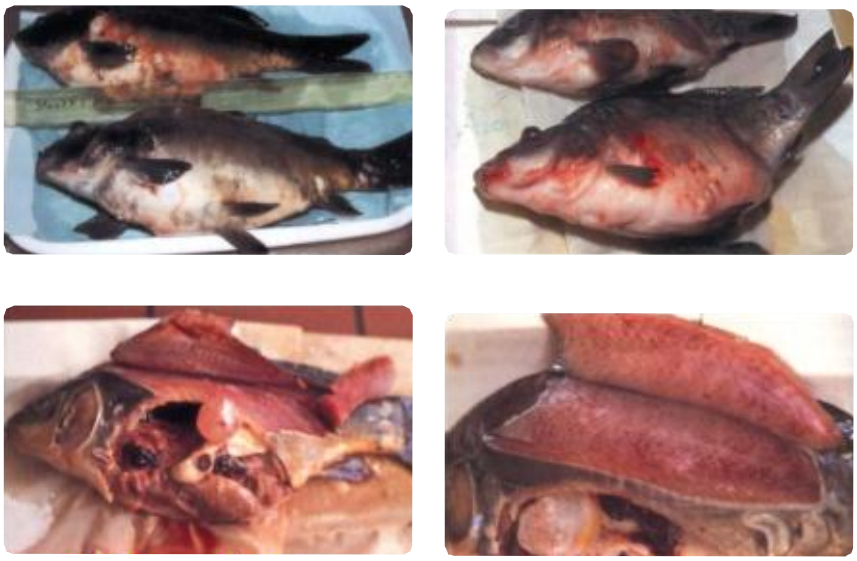
Rodak, L., Z. Pospisil, J. Tomanek, T. Vesley, T. Obr, and L. Valicek. 1993. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of spring viraemia of carp virus (SVCV) in tissue homogenates of the carp Cyprinus carpio L. J. Fish Dis. 16: 101-111.

Schlotfeldt, H.-J. and D.J. Alderman. 1995. What Should I Do? A Practical Guide for the Fresh- water Fish Farmer. Suppl.Bull. Eur. Assoc. FishPathol. 15(4). 60p

(EAFP)

Hình.F.8.4.1.1. Dấu hiệu bên trong không đặc trưng (đốm xuất huyết ở cơ) của cá bị nhiễm bệnh VHS

(EAFP)



Hình.F.7.4.1.1a, b, c, d. Các dấu hiệu lâm sàng không đặc trưng ở cá nhiễm bệnh SVC, có thể là phồng bụng, xuất huyết ở da, mô mỡ ở bụng, bóng hơi và các dấu hiệu khác.

F.8 BỆNH NHIỄM TRÙNG XUẤT HUYẾT DO VIRUS (VHS)

F.8.1 Thông tin chung

F.8.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh nhiễm trùng xuất huyết do virus (VHS) gây ra bởi loài rhabdovirus có bao ssRNA, được coi là loài virus gây ra nhiễm trùng máu (VHSV). VHSV cùng tên với Egtved virus. Cho dù trước đây được cho là thuộc giống *Lyssavirrus* (Rabies virus), ICTV đã bị rơi vào tình trạng "không ổn định" cho đến khi thành lập một giống mới - Novirhabdovirus - bao gồm VHSV và HINV (xem tại http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTV). Một số chủng của VHSV đã được công nhận. Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể được tìm thấy trong Số tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

F.8.1.2 Các loại vật chủ

Bệnh VHS đã được ghi nhận xảy ra ở cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*), cá hồi nâu (*Salmo trutta*), cá thyman (*Thymallus thymallus*), cá hồi trắng (*Coregonus* spp.), cá chó (*Esox lucius*) và cá bơn (*Scophthalmus maximus*). Sự phân biệt về mặt di truyền giữa các chủng của VHSV có liên quan đến bệnh ở cá hồi Thái Bình Dương (*Oncorhynchus* spp.), cá tuyết Thái Bình Dương (*Gadus macrocephalus*) và cá trích Thái Bình Dương (*Clupea pallasi*). Những chủng này ít độc với cá hồi vân (OIE 2000a). VHS cũng đã được phân lập từ cá tuyết Đại Tây Dương *(Gadus morhua)*, cá vược châu Âu (*Dicentrarchus labrax*), cá tuyết chấm đen (*Melanogrammus aeglefinus*), cá tuyết đá (*Rhinonemus cimbrius*), cá trích cơm *(Sprattus sprattus)* cá trích (*Clupea harengus*), cá tuyết Na Uy (*Trisopterus esmarkii*), cá tuyết lam (*Micromesistius poutassou*), cá tuyết trắng (*Merlangius merlangius*) và cá quế (*Argentina sphyraena*) (Mortensen 1999), cũng như cả cá bơn (*Scophthalmus maximus*) (Stone và cs., 1997). Trong mỗi loài lại có mức độ sai khác cao trong cảm nhiễm bệnh, cá non thường sớm mắc bệnh hơn.

F.8.1.3 Phân bố địa lý

VHSV được tìm thấy ở lục địa châu Âu, Đại Tây Dương và biển Baltic. Dù sự lây nhiễm VHSV là rõ rệt ở các loài cá biển tự nhiên của Bắc Mỹ, VHS tiếp tục được coi là bệnh có nguồn gốc từ châu Âu, cho đến khi những xác định về chủng loại phát sinh của các virus tương tự như VHSV cần được làm rõ do chúng không phải là nguyên nhân của bệnh ở cá hồi vân.

F.8.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh động vật thủy sản ở châu Á - Thái Bình Dương (1999- 2000)

Nhật Bản đã thông báo về bệnh này vào quí 2 năm 2000, không có thông báo từ các quốc gia khác (OIE 1999, 2000b).

F.8.2 Các khía cạnh lâm sàng

Virus lây nhiễm các tế bào máu bạch cầu, các tế bào nội bì của các mạch máu, các tế bào tạo huyết của lá lách, tim, các tế bào nguyên thận của thận, nhu mô của não và các tế bào giá đỡ ở mang. Sự lan tràn của virus gây nên tình trạng xuất huyết và suy thoái hoạt động điều hoà áp suất thẩm thấu. Điều này đặc biệt nghiêm trọng ở cá con, nhất là trong các giai đoạn khi nhiệt độ nước từ 4-14^{o}C.

F.8.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh VHS có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int hoặc tại các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.8.3.1 Dự chẩn

F.8.3.1.1 Các quan sát tổng thể (Mức độ I) và Mô bệnh học (Mức độ II)

Không có bằng chứng tổng thể rõ ràng (Mức độ I) và các bằng chứng mô bệnh học (Mức độ II) cho phép đưa ra chẩn đoán về sự lây nhiễm bệnh VHS cận lâm sàng. Tuy nhiên, các mẫm bệnh cận lâm sàng cần phải đưa vào diện nghi ngờ trong các quần đàn có nguồn gốc từ những cá sống sót bị nhiễm lâm sàng hoặc từ đàn cá bố mẹ khẳng định là mang bệnh.

F.8.3.1.2 Virus học (Mức độ III)

VHSV có thể được phân lập từ cá cận lâm sàng ở cá hương cá mang xanh (BF-2), *Epithelioma papulosum cyprinae* (EPC) hoặc tuyến sinh dục cá hồi vân (RTG-2). CPE tạo thành cần được xét nghiệm về miễn dịch học tiếp tục hoặc xét nghiệm axit nucleic để khẳng định VHSH là nguyên nhân (F.8.3.2).

F.8.3.1.3 Xét nghiệm miễn dịch học (Mức độ III)

Hoá mộ miễn dịch học có thể được sử dụng để nêu rõ về VHSV trong các mẫu mô (mà chúng không thể được dùng để kiểm tra bệnh cận lâm sàng). Tuy nhiên, do còn nhiều vật chủ và kiểu huyết thanh, mọi phản ứng chéo cần được

khẳng định thông qua nuôi cấy mô và việc phân lập virus kế tiếp đã được trình bày ở mục F.8.3.1.2.

F.8.3.2 Kiểm khẳng định

F.8.3.2.1 Xét nghiệm về miễn dịch học (Mức độ III)

Việc phát hiện ra VHSV từ nuôi cấy dòng tế bào là có thể khi sử dụng phép thử trung tính virus, phép thử kháng thể gián tiếp huỳnh quang (FIAT) hoặc ELISA.

F.8.3.2.2 Xét nghiệm về Axit Nucleic (Mức độ III)

Kỹ thuật RT-PCR đang được nghiên cứu.

F.8.4 Các quy trình chẩn đoán

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán bệnh VHS có thể được tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.8.4.1 Dự chẩn

F.8.4.1.1 Quan sát tổng thể (Mức độ I)

Không có dấu hiệu lâm sàng tổng thể đặc trưng đối với VHS. Các dấu hiệu chung giống với sự nhiễm trùng máu do vi khuẩn IHN, tổn thương về thấm thấu, xây xát do đánh bắt,vv... và bao gồm cả tỉ lệ tử vong tăng, lờ đờ, tách đàn, tụ tập ở ven bờ ao, lưới và cửa nước vào.

Da có thể bị sẫm màu và thấy rõ các vết xuất huyết ở gốc vây, hậu môn và trên bề mặt cơ thể. Mang cũng có thể bị nhợt. Các thay đổi của các cơ quan bên trong có thể có hoặc không tuỳ thuộc vào tốc độ của lúc bắt đầu tử vong (cá bị stress chết nhanh hơn). Khi xuất hiện các biểu hiện này sẽ có cả sự tích luỹ các dịch máu khoang cơ thể (trướng), ruột chứa đầy nhớt và các mô trực tràng nhợt nhạt. Cũng có thể thấy ở cơ **(Hình F.8.4.1.1),** mô mỡ và bóng hơi những chấm xuất huyết.

F.8.4.1.2 Virus học (Mức độ III)

VHSV có thể được phân lập từ cá bột nguyên con (chiều dài ≤4 cm), mô nội tạng bao gồm thận (cá dài từ 4-6 cm) hoặc các mẫu mô của thận, lá lách, và não của cá cỡ lớn hơn khi dùng BF-2, EPC hoặc RTG-2 (như đã được trình bày ở F.8.3.1.2). Bất kỳ CPE nào tạo thành đòi hỏi tiếp tục xét nghiệm về miễn dịch học hoặc xét nghiệm axit nucleic để khẳng định VHSV là nguyên nhân (F.8.3.2.1/2).

F.8.4.1.3 Xét nghiệm về miễn dịch học (Mức độ III)

Có thể dùng mô hoá miễn dịch học để làm nổi bật VHSV trong các tổn thương mô bệnh học (tuy nhiên, mô bệnh học không phải là phương pháp thông thường để chẩn đoán VHS). Tuy nhiên, do có nhiều vật chủ và kiểu huyết thanh nên mọi phản ứng chéo cần được khẳng định thông qua nuôi cấy mô và phân lập virus tuần tự như đã trình bày ở F.8.3.1.2.

F.8.4.2 Kiểm khẳng định

Như đã trình bày ở F.8.3.2.

F.8.5 Các kiểu lan truyền bệnh

VHSV được phát tán trong phân, nước tiểu và dịch sinh sản của cá mắc bệnh lâm sàng và mang bệnh cận lâm sàng (cá nuôi và cá tự nhiên). Khi có mặt ở một địa điểm hay ở hệ thống nước mưa, bệnh này trở thành dịch bởi vì cá mang virus. VHSV trong nước có thể đi xa 10-26 km theo dòng nước mà vẫn còn khả năng truyền nhiễm. Hình thức lan truyền cơ học là do các loài chim ăn cá, dụng cụ vận chuyển và trứng chưa được tẩy trùng từ cá bố mẹ có bệnh, tất cả đều trở thành những đường lan truyền bệnh (Olesen 1998).

F.8.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Hiện tại không có biện pháp trị bệnh nào hữu hiệu, dù các vắc xin dựa trên DNA đã có một số thành công trong điều kiện phòng thí nghiệm. Hầu hết các biện pháp đều nhằm phá vỡ chu trình lan truyền và tiếp xúc với vật mang bệnh, cũng như việc làm giảm stress cho cá. Sự phát triển của dịch bệnh xảy ra ở nhiệt độ <15^{o}C và các thời kỳ đánh bắt làm cá bị stress ở các đàn cá cận lâm sàng.

Việc cách ly, phá hoại và làm bất thụ cá bệnh, cũng như cá dễ nhiễm bệnh ở xuôi dòng, kèm theo đó là khử trùng địa

F.8 BỆNH NHIỄM TRÙNG XUẤT HUYẾT DO VIRUS (VHS)

điểm và thiết bị đã chứng tỏ có hiệu quả trong kiểm soát các tổn thất do bệnh này

F.8 Bệnh nhiễm trùng xuất huyết do virus (VHS)

gây ra. Công việc tẩy trùng đòi hỏi phải tiếp xúc tối thiểu 5 phút với 3% formalin hoặc 100 ppm iodine, 10 phút với 2% sodium hydroxide và 20 phút với 540 mg/L chlorine. Sau đó ít nhất 4 tuần khi nhiệt độ nước vượt quá 15^{o}C cũng đạt hiệu quả để nuôi lại loài cá có VHSV âm tính. Những biện pháp này đã loại trừ được VHS ở 1 số vùng của châu Âu.

F.8.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Evensen, O., W. Meier, T. Wahli, N.J. Olesen, P.E. Vestergaard Joergensen, and T. Hastein. 1994. Comparison of immunohistochemistry and virus cultivation for detection of viral haemorrhagic septicaemia virus in experimentally infected rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dis. Aquat. Org.* 20:101-109.

Hepell, J., N. Lorenzen, N.K. Armstrong, T. Wu, E. Lorenzen, K. Einer-Jensen, J. Schorr, and H.L. Davis. 1998. Development of DNA vaccines for fish: Vector design, intramuscular injection and antigen expression using viral haemorrhagic septicaemia virus genes as a model. *Fish and Shellf. Immunol.* 8: 271-286.

Lorenzen, N., E. Lorenzen, K. Einer-Jensen, J. Heppell, T. Wu, and H. Davis. 1998. Protective immunity to VHS in rainbow trout

(*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) following

DNA vaccination. *Fish and Shellf. Immunol.* 8: 261-270.

Mortensen, H.F. 1999. Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) from wild marine fish species in the Baltic Sea, Kattegat, Skagerrak and the North Sea. *Vir. Res.* 63: 95-106.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal

Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office International des Epizooties, Paris, France.237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Olesen, N.J. 1998. Sanitation of viral haemorrhagic septicaemia (VHS). *J. Appl. Ichth.* 14: 173-177.

Schlotfeldt, H.-J. and D.J. Alderman. 1995. What Should I Do? A Practical Guide for the Fresh- water Fish Farmer. *Suppl. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 15(4). 60p.

Stone, D.M., K. Way, and P.F. Dixon. 1997. Nucleotide sequence of the glycoprotein gene of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) viruses from different geographical areas: A link between VHS in farmed fish species and vi- ruses isolated from North Sea cod (*Gadus morhua* L.). *J. Gen. Vir.* 78: 1319-1326.

F.8 Bệnh nhiễm trùng xuất huyết do virus (VHS)

F.9.1 Thông tin chung

F.9.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh u nang bạch huyết gây ra bởi dsDNA, loại iridovirus không vỏ kích thước 200 ± 50 nm, đây là loài có kích thước lớn nhất trong họ Iridoviridae. Loài iridovirus ở cá tráp vàng (*Sparus aurata*) được gọi là virus gây bệnh u nang bạch huyết (LDV).

F.9.1.2 Các loại vật chủ

Bệnh u nang bạch huyết thường có ở nhiều họ cá biển và cá nước ngọt, bao gồm cá trích (Clupeidae), cá mướp (Osmeridae), cá vược biển (Serranidae), cá bơn (Paralichthidae), cá hanh (Lutjanidae), cá vược (Percidae), cá trống (Sciaenidae), cá bướm (Chaetodontidae), cá vây cứng nước ngọt (Cichlidae), cá bống (Gobiidae) và cá bơn (Soleidae).

F.9.1.3 Phân bố địa lý

Bệnh u nang bạch huyết ở cá gần như có trên toàn cầu. Đã có báo cáo về bệnh từ châu Âu, Bắc và Trung Mỹ, Ôxtrâylia, châu Phi, Hawaii, Nam Thái Bình Dương và châu Á.

F.9.2 Các khía cạnh lâm sàng

Bệnh u nang bạch huyết là bệnh mãn tính phổ biến và lành tính bởi iridovirus chỉ duy nhất làm các tế bào cuộn vòng lại điển hình là ở da và vây cá. Các dấu hiệu lâm sàng chủ yếu của cá bị bệnh là da và vây nổi các cục như cục sáp **(Hình F.9.2a)** màu trắng (thỉnh thoảng mới có màu đỏ nhợt). Có thể thấy một số thể vùi rời rạc ở tổn thương khối u bạch huyết.

Ở giai đoạn trưởng thành, dấu hiệu thương tổn là các khối có cấu trúc đá cuội nổi lên nhưng không đều. Màu từ màu kem sữa đến xám nhạt, nhưng lớp mô bên ngoài có thể có sắc tố bình thường. Sự phân bố của mạch máu thỉnh thoảng làm cho các cụm lớn tế bào có màu đỏ. Sự thay đổi là đáng kể tuỳ theo kích cỡ, vị trí và sự phân bố của các khối. Cũng có thể các tế bào bị nhiễm bệnh xuất hiện đơn lẻ.

Cho dù sự lây nhiễm bệnh thường hiếm khi liên quan đến bệnh mới có công khai, tình trạng tử vong có thể xảy ra trong điều kiện nuôi, có thể do mang bị thương tổn, khả năng bơi hoặc ăn giảm sút do các thương tổn cơ học. Tác động chủ yếu là tác động kinh tế, bởi cá có những tổn thương dễ phát hiện như thế sẽ khó bán trên thị trường.

F.9.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Hiện tại không có kỹ thuật phát hiện nào đủ nhạy để phát hiện hay phân lập nhóm iridovirus khỏi cá đã bị nhiễm cận lâm sàng. Tới nay, các kỹ thuật nuôi cấy tế bào đã bị giới hạn trong việc phân lập virus khỏi những thương tổn do các u bạch huyết.

F.9.4 Các phương pháp chẩn đoán

F.9.4.1 Dự chẩn

F.9.4.1.1 Các quan sát tổng thể (Mức độ I)

Các dấu hiệu bên ngoài chính có liên quan đến bệnh u nang bạch huyết là các nốt giống như sáp có màu trắng (hoặc đôi khi có màu hồng nhạt), các nốt này có thể mọc trên da và vây. Các nốt này có chứa các vật thể nhỏ hình hạt, và có những dấu hiệu của sự phân bố mạch (sự phát triển của các mao mạch máu thành sự tăng trưởng mô) (**Hình F.9.4.1.1a** và **Hình F.9.4.1.1b**). Sự tồn tại của các thể vùi dạng hạt là một điều quan trọng để nhận biết bệnh u nang bạch huyết với bệnh đậu mùa ở cá chép (gây ra bởi *Herpesvirus*) **(Hình F.9.4.1.1c).** Đặc điểm giống như sáp cũng là một nhân tố quan trọng để phân biệt bệnh u nang bạch huyết với bệnh về nấm ở da **(Hình F.9.4.1.1d).**

F.9.4.2 Kiểm khẳng định

F.9.4.2.1 Mô bệnh học (Mức độ II)

Dưới kính hiển vi bình thường, các lát cắt mô của u bạch huyết cho thấy các thể vùi là các tế bào lớn của các mô liên kết được kích thích bởi virus được bao trong một nang dày. Đường kính của mỗi tế bào lớn này là khoảng 50 μm to hơn dung tích tế bào bình thường 50.000 - 100.000 lần **(Hình F.9.4.2.1a).** Nang phình to **(Hình F.9.4.2.1b),** nhân và hạch tập trung ở chính giữa các thể vùi trong bào chất là những đặc điểm độc đáo. Không có sự luân phiên tế bào như thế xảy ra ở bệnh đậu mùa do Herpesvirus gây ra ở cá chép. Ngoài ra, có thể có một vài thể vùi dạng lưới bắt màu với Eosin ở trong tế bào chất của tế bào khổng lồ. Chúng tương đương với các thể virus lặp lại có độ khúc xạ ánh sáng thấp làm chúng tương tự như tế bào chất và đây là một trong vài trường hợp có thể chẩn đoán được bệnh do virus gây ra bằng kính hiển vi thông thường với độ tin cậy cao. Việc xác định chính xác virus yêu cầu phải được tiếp tục điều tra, tuy nhiên mức độ chẩn đoán này là đủ để cho phép đưa ra lời khuyên (F.9.6).

F.9 BỆNH U NANG BẠCH HUYẾT

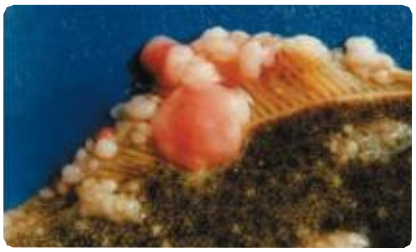
(MG Bondad-Reantaso)

Hình.F.9.2a. Cá quả ở tự nhiên bị bệnh u nang bạch huyết có xuất hiện các khối nổi rõ có cấu trúc như đá cuội không đều.

(J Yulin)

Hình.F. 9.4.1.1a. Cá bơn bị bệnh u nang bạch huyết nặng.

(J Yulin)



Hình.F.9.4.1.1b. Các tổn thương u nang bệnh huyết có các thể vùi dạng hạt.

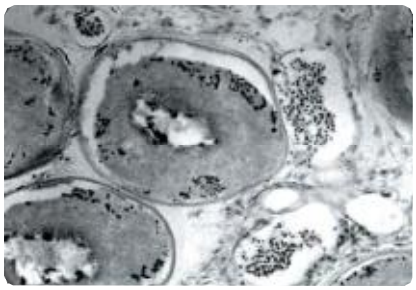
(J Yulin)

Hình.F.9.4.1.1c. Bệnh đậu mùa ở cá chép gây ra bởi Herpesvirus.

(J Yulin)

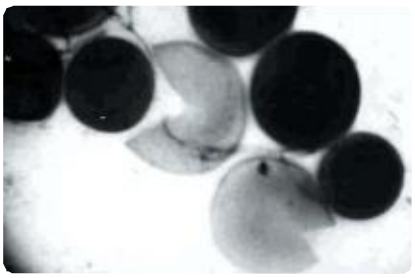
Hình.F.9.4.1.1d. Cá vàng bị nấm trên da

(J Yulin)



Hình.F.9.4.2.1a Các tế bào u nang bạch huyết không lồ có các thể vùi dạng lưới bao quanh nhân.

(J Yulin)



Hình.F.9.4.2.1b. Một lam kính độc đáo về u nang bạch huyết cho thấy một số tế bào khổng lồ và các nang trong suốt.

F.9.4.2.2 Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Quan sát qua kính hiển vi điện tử tại các lắt cắt siêu mỏng của mô u nang bạch huyết là phương pháp cơ bản của việc khẳng định tổng thể và quan sát dưới kính hiển vi thông thường. Các tiểu phần virus có hình 20 mặt (gần như hình cầu 6 cạnh), kích thước 150-300 nm nằm gọn trong tế bào chất của tế bào kết nang. Đặc điểm siêu cấu trúc của các iridovirus gây bệnh u nang bạch huyết gồm một nhân đặc ở trong 2 lớp màng tạo nên capsid **(Hình F.9.4.2.2a** và **Hình F.9.4.2.2b**). Cần lưu ý về sự khác biệt so với Herpesvirus ở bệnh đậu mùa của cá chép, đây là các virus có bao và nhỏ hơn. **(Hình F.9.4.2.2c).**

F.9.4.2.3 Virus học (Mức độ III)

Do việc dễ tìm và xác định các virus có liên quan đến các tổn thương u nang bạch huyết (khi so sánh với các tác nhân virus của các bệnh khác ở cá), người ta đã ít chú ý đến việc nuôi cấy tế bào như là một phương tiện để chẩn đoán khẳng định bệnh này. Tuy nhiên, tác động ngày càng tăng của loại bệnh này trong nuôi trồng thủy sản trên thế giới đã làm tăng sự quan tâm tới việc phân biệt giữa các tác nhân iridovirus đã tham gia vào và tăng tính miễn dịch đã tập nhiễm được đối với sự nhiễm bệnh. Một dòng tế bào mới của cá tráp đầu vàng đang được nghiên cứu và đã cho thấy có những hứa hẹn để phân lập các iridovirus gây bệnh u nang bạch huyết.

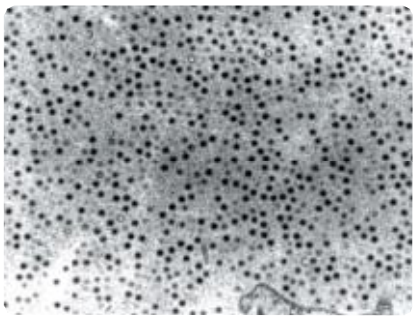
F.9.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Lan truyền do tiếp xúc ngang và do nước là cách thức chủ yếu để lây lan virus u nang bạch huyết. Điều này được khẳng định hơn do tầm quan trọng của vấn đề ở các điều kiện nuôi thâm canh. Mật độ dày và các bệnh ngoài da làm tăng khả năng lan truyền. Bề mặt ngoài trong đó có mang là cửa chính của lối vào biểu bì. Đường miệng có vẻ không liên quan, nhưng không có bằng chứng về sự lan truyền theo chiều dọc.

F.9.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

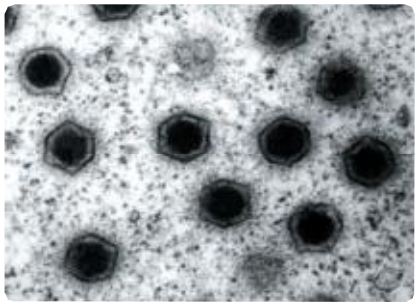
Hiện tại, không có phương pháp trị bệnh hay gây miễm dịch. Có một số bằng chứng về các kháng thể ở ít nhất 1 loài thuộc họ cá bơn, tuy nhiên, điều này cần được nghiên cứu thêm. Để tránh nuôi cá đã bị nhiễm bệnh lâm sàng, việc phát hiện sớm thông qua kiểm soát và tiệt trùng, cùng với việc giảm thiểu mật độ nuôi và xử lý bệnh ngoài da được coi là các biện pháp kiểm soát có hiệu quả.

(J Yulin)



Hình.F.9.4.2.2a. Soi kính hiển vi điện tử thấy nhiều tiểu phần virus trong tế bào chất.

(J Yulin)



Hình.F.9.4.2.2b. Các tiểu phần virus phình to là hình thái điển hình của iridovirus (Thước đo tỷ lệ 100 m).

(J Yulin)

Hình.F.9.4.2.2c. So với virus gây bệnh u nang bạch huyết thì *Herpervirus* ở bệnh đậu mùa cá chép là các virus nhỏ hơn và có bao.

F.9 Bệnh u nang bạch huyết

F.9.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Bowden, R.A., D.J. Oestmann, D. H. Lewis, và M.S. Frey. 1995. Lymphocystis in red drum. *J. Aquat. Anim. Health* 7: 231-235.

Bowser, P.R., G.A. Wooster, và R.G. Getchell. 1999. Transmission of walleye dermal sarcoma and lymphocystis via waterborne exposure. *J. Aquat. Anim. Health* 11: 158-161.

Chao, T.M. 1984. Studies on the transmissibility of lymphocystis disease occurring in seabass (*Lates calcarifer* Bloch). *Sing. J. Prim. Ind.* 12: 11-16.

Dixon, P., D. Vethaak, D. Bucke, và M. Nicholson, M. 1996. Preliminary study of the detection of antibodies to lymphocystis disease virus in flounder, *Platichthys flesus* L., exposed to contaminated harbour sludge. *Fish and Shellf. Immunol.* 6: 123-133.

Garcia-Rosado, E., D. Castro, S. Rodriguez, S.I. Perez-Prieto, và J.J. Borrego. 1999. Isolation and characterization of lymphocystis virus (FLDV) from gilt-edged sea bream (*Sparus aurata* L.) using a new homologous cell line. *Bul. Europ. Assoc. Fish Pathol.* 19: 53-56.

Limsuan, C., S. Chinabut và Y. Danayadol. 1983. Lymphocystis disease in seabass (*Lates calcarifer*). National Inland Fisheries Institute, Fisheries Division,

Department of Fisheries. Tech. Pap. No. 21. 6p. (In Thai, with English abstract).

Perez-Prieto, S.I., S. Rodrigues-Saint-Jean, E. Garcia-Rosado, D. Castro, D., M.C. Alvarez, và J.J. Borrego. 1999. Virus susceptibility of the fish cell line SAF-1 derived from gilt-head seabream. *Dis. Aquat. Org.* 35: 149-153. Williams, T. 1996. The iridoviruses. *Adv. Vir. Res.* 46: 345-412.

Wolf, K. 1988. Fish viruses and fish viral diseases. Cornell University Press, Ithaca, NY.

Xue, L., G. Wang, X. Xu, and M. Li. 1998. Preliminary study on lymphocystis disease of marine cage cultured *Lateolabrax japonicus*. *Marine Sciences/Haiyang Kexue. Qingdao* No. 2: 54-57.

Yulin, J., Y. Li, and Z. Li. 1991. Electron microscopic observation of pathogen of carp-pox disease. Acta Hydrobiologica Sinica/Shuisheng Shengwu Xuebao.15: 193-195.

Yulin, J., Z. Chen, H. Liu, J. Pen, and Y. Huang Y. 1999. Histopathological and electron microscopic observation of Lymphocystic disease virus in flounder (*Paralichthys*), PP30. *In:* Book of Abstracts. Fourth Symposium on Diseases in Asian Aquaculture. Fish Health Section of the Asian Fisheries Society, Philippines.

F.9 Bệnh u nang bạch huyết

F.10.1 Thông tin chung

F.10.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh nhiễm khuẩn thận cá (BKD) là do vi khuẩn *Renibacterium salmoninarum*, một loại vi khuẩn gram dương, hình que, xếp thành ngù, là loài duy nhất của giống *Renibacterium*. Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

F.10.1.2 Vật chủ

Cá thuộc họ Cá hồi Salmonidae là loài dễ mắc bệnh, đặc biệt là các loài *Oncorhynchus* (cá hồi Thái Bình Dương và cá hồi vân).

F.10.1.3 Phân bố địa lý

BKD xuất hiện ở Bắc Mỹ, Nhật Bản, Tây Âu và Chilê.

F.10.1.4 Hệ thống thông báo hàng quí về bệnh động vật thủy sản ở châu Á - Thái Bình Dương (1999-2000)

Nhật Bản thông báo BKD xuất hiện quanh năm trừ tháng 12 của hai năm 1999 và 2000. Pakistan nghi ngờ có bệnh từ tháng 7 đến tháng 12 năm 1999 (OIE 1999, 2000b).

F.10.2 Các khía cạnh lâm sàng

Nhiễm khuẩn *Renibacterium salmoninarum* có thể xảy ra trong một thời gian dài với các biểu hiện bệnh lý chỉ xuất hiện ở giai đoạn nhiễm sớm, thường là khi cá được một năm tuổi. Tác hại của *R. salmoninarum* thay đổi tuỳ theo:

- chủng vi khuẩn
- loài cá hồi bị nhiễm
- các điều kiện của môi trường và nuôi giữ.

Nhờ các tế bào máu nhấn chìm mà vi khuẩn có thể tránh khỏi bị suy yếu thể tiêu bào (lysosome), không bị cơ chế tự vệ ban đầu của cá phá huỷ. Dinh dưỡng và sự vận chuyển nước biển có thể cũng ảnh hưởng đến khả năng nhiễm bệnh do vi khuẩn *R. salmoninarum* và mức nhiễm bệnh ở cá bố mẹ chắc chắn là sẽ có liên quan trực tiếp đến việc nhiễm bệnh ở đàn con của chúng. Thế hệ con của cá bố mẹ có mức nhiễm thấp hoặc không nhiễm *R. salmoninarum* sẽ có sức sống tốt hơn thế hệ con của cá bị nhiễm BKD. Điều này phản ánh những cá bố mẹ đã nhiễm bệnh có khả năng lan truyền bệnh lớn hơn (F.10.5).

F.10.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết về các phương pháp kiểm tra bệnh BKD có thể xem trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại *http://www.oie.int,* hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.10.3.1 Dự chẩn

F.10.3.1.1 Các quan sát tổng quát (Mức độ I) và mô bệnh học (Mức độ II)

Không có các dấu hiệu bệnh lý hay tổn thương mô để có thể phát hiện được ở các vật mang *Renibacterium salmoninarum* cận lâm sàng.

F.10.3.1.2 Vi khuẩn học (Mức độ II)

Khi không thấy có tổn thương, nên chọn thận để nuôi cấy. Ở những con cái trưởng thành cũng có thể sử dụng các dịch ở khoang cơ thể. Môi trường sinh trưởng đặc biệt, như môi trường bệnh thận đã được bổ sung huyết thanh (KDM2) hoặc than củi (KDMC), hoặc môi trường bệnh thận có chọn lọc (SKDM) là cần thiết do bản chất kém chịu đựng của *Renibacterium salmoninarum*.

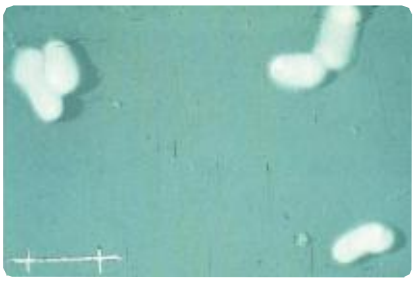
Để vi khuẩn phát triển cần đến 2-3 tuần, nhưng cũng có thể tới 12 tuần. Các khuẩn lạc có hình đầu kim đường kính 2 mm, trắng ngà, bóng, trơn, hoàn toàn nhô cao **(Hình F.10.3.1.2a) (Hình F.10.3.1.2b)**. Vi khuẩn hình que có kích thước 0,3-1,5 x 0,1-1,0 mm, gram dương, PAS dương, bất động, không kháng axit, thường liên kết với nhau thành đôi hoặc chuỗi hoặc hình thù đa dạng ("chữ Trung Quốc"). Những khuẩn già có thể có dạng hạt hoặc tinh thể. Các lát cắt ngang qua các khuẩn lạc này sẽ thấy các vi khuẩn hình que gram dương trong mạng tinh thể. Mặc dù một số vi khuẩn khác có những đặc tính phát triển này, việc định loại vi khuẩn nên được khẳng định bằng xét nghiệm miễn dịch (F.10.3.2.1) hoặc xét nghiệm axit nucleic (F.10.3.2.2).

F.10.3.2 Kiểm khẳng định

F.10.3.2.1 Các xét nghiệm miễn dịch (Mức độ II/III)

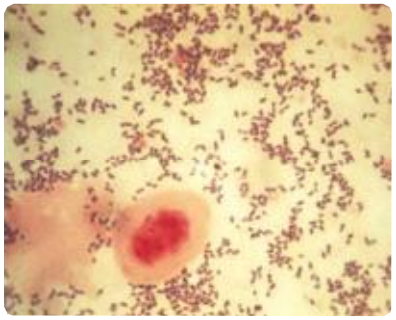
Các xét nghiệm ngưng kết, các xét nghiệm kháng thể huỳnh quang trực tiếp hoặc gián tiếp (DFAT, IFAT) và những *kit* phân tích ELISA đã có hiện nay đều có thể phát hiện ra kháng nguyên *R. salmoninarum* trong các mô cá cũng như từ các nuôi cấy vi khuẩn. Các phép thử ELISA được cho là nhạy nhất, kể cả nhiễm ở mức thấp, vì vậy thiết bị này được khuyên dùng để kiểm tra các bệnh lâm sàng (như dịch buồng trứng của cá hồi bố mẹ). Cũng đã có các thiết bị.

(M Yoshimizu)



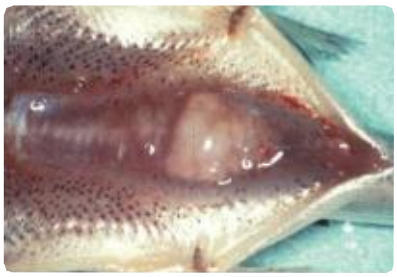
Hình.F.10.3.1.2a Các khuẩn lạc có hình đầu kim đường kính 2mm của *Renibacteriium salmonimarum*, màu trắng ngà, bóng, trơn, hoàn toàn nhô cao; ba tuần sau khi nuôi cấy trong môi trường KDM-2 ở 15°C.

(M Yoshimizu)



Hình.F.10.3.1.2b. Vi khuẩn hình que *Renibacterium salmoninarum* phân lập từ cá hồi Nhật Bản

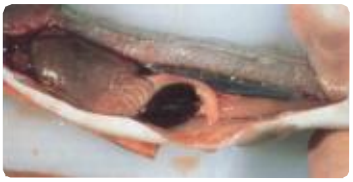
(M Yoshimizu)



Hình.F.10.4.1.1a. Thân của cá hồi Nhật Bản bị trương và có mảng màu xám không đều.

sản xuất để bán trong đó có các hướng dẫn rõ ràng. Những kết quả ELISA dương tính dùng kháng thể đơn dòng hoặc đa dòng nên được khẳng định bằng các phép thử chẩn đoán khác, đặc biệt là trong những trường hợp cận lâm sàng, hoặc phân lập lần đầu (Griffiths và cs., 1996).

(EAFP)



Hình.F.10.4.1.1b. Ở cá bị nhiễm BKD còn quan sát thấy lá lách phình to.

F.10.3.2.2 Xét nghiệm Axit Nucleic (Mức độ III)

Đoạn mồi *Renibacterium salmoninarum* được phát triển cho các mẫu PCR. Thiết bị này có thể phát hiện DNA của *R. salmoninarum* trong dịch đồng chất của mô. Các đoạn mồi này đã được công bố và một số thiết bị hiện nay đã có bán.

F.10.4 Các phương pháp chẩn đoán

Thông tin chi tiết về các phương pháp chẩn đoán bệnh BKD có thể xem trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int, hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.10.4.1 Dự chẩn

F.10.4.1.1 Các quan sát tổng quát (Mức độ I)

Các biểu hiện bệnh lý thường không rõ ràng cho đến khi việc nhiễm bệnh đã trở nên trầm trọng (thường ít nhất sau 1 năm). Các biểu hiện này bao gồm: lồi mắt, thay đổi độ căng của bụng (trương bụng) do chức năng bài tiết của thận đã bị hỏng, các tổn thương ở da và xuất huyết.

Về nội tạng, biểu hiện rõ ràng là những tổn thương màu xám/trắng (các u hạt) ở tất cả các cơ quan, đặc biệt là ở thận **(Hình F.10.4.1.1a)**; cũng có thể quan sát được lá lách phình to **(Hình F.10.4.1.1b)**. Những chấm màu xám có thể tăng lên nhiều và chúng kết hợp lại cho đến khi toàn bộ thận phình ra và sưng lên với các mảng màu xám không đều. Ở cá hồi BKD có thể phân biệt được với bệnh phù thận (PKD) khi bị phù, thận to ra nhưng không chuyển sang màu xám. Một loại bệnh khác về thận ở cá hồi - **chứng thận nhiễm canxi** - chỉ ảnh hưởng đến đường tiết niệu làm cho nó có kết cấu như sứ màu trắng và màu khác nữa.

F.10.4.1.2 Các kính phết (Mức độ I)

Các kính phết từ các tổn thương mô của các vật chủ nghi nhiễm bệnh được nhuộm Gram hoặc nhuộm màu khác có thể thấy rất nhiều vi khuẩn nhỏ hình que, gram dương. Phải rất thận trọng để không nhầm lẫn những vi khuẩn này với các hạt hắc tố thường xuyên có trong các mô thận. Vi khuẩn gram dương khác, như loài *Lactic* cũng có thể xuất hiện, vì vậy cần đến các phương pháp định loại vi khuẩn tiếp tục.

F.10.4.1.3 Vi khuẩn học (Mức độ II)

Bất kỳ khi nào có thể, nên sử dụng việc nuôi cấy vi khuẩn để khẳng định mặc dù gặp những khó khăn do sự phát triển chậm và kén chọn của vi khuẩn *Renibacterium salmoninarum*. Dự chẩn cũng có thể tiến hành từ việc nuôi cấy vi khuẩn do chúng mọc chậm ở 15°C (2-3 tuần). Cũng nên lấy mẫu thận và những cơ quan khác có những tổn thương khả nghi. Quy trình nuôi cấy vi khuẩn đã được mô tả trong phần F.10.3.1.2. Mặc dù có một số vi khuẩn khác cũng có những đặc điểm sinh trưởng này, việc định loại vi khuẩn nên được khẳng định bằng xét nghiệm miễn dịch (F.10.3.2.1) hoặc xét nghiệm axit nucleic (F.10.3. 2.2).

F.10.4.2 Kiểm khẳng định

F.10.4.2.1 Xét nghiệm miễn dịch (Mức độ II/III)

Có thể dùng phương pháp thử ngưng kết trượt để xác định nhanh các tập đoàn nuôi cấy. Ngưng kết vi khuẩn được xác định bằng cách so sánh với thể vẩn giống hệt nhau có chứa huyết thanh thỏ để làm đối chứng. Ngưng kết trùng với *Staphylococcus aureus* (chủng Cowan I) phản ứng nhạy với globulin miễn dịch đặc trưng cũng có hiệu quả làm thúc đẩy quá trình ngưng kết (Kimura và Yoshimizu 1981).

Đối với các phép thử miễn dịch huỳnh quang (trực tiếp và gián tiếp) và thử ELISA, nên sử dụng MAbs kháng những yếu tố di truyền đặc trưng để tránh các phản ứng chéo với vi khuẩn khác. Như đã nêu trong mục F.10.3.2.1, các kết quả dương tính khi dùng các kháng thể đơn dòng hoặc đa dòng sẽ có thể được khẳng định bằng các phép thử chẩn đoán khác, đặc biệt là ở những lần phân lập đầu tiên (Griffiths và cs., 1996).

F.10.4.2.2 Xét nghiệm Axit Nucleic (Mức độ III)

Như đã mô tả ở mục F.10.3.2.2, các dụng cụ PCR kiểm tra *Renibacterium salmoninarum* hiện nay đã có. Tuy nhiên, vẫn rất cần đến việc kiểm tra chéo các mẫu dương tính bằng những phương pháp chẩn đoán khác (vi khuẩn học, thử miễn dịch), đặc biệt là trong những lần phân lập đầu tiên (Hiney và Smith 1999).

F.10.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Renibacterium salmoninarum phân bố rộng rãi trong cả môi trường nước ngọt và nước mặn. Nó có thể lan truyền ngang do nguồn nước và phân cũng như qua các vật chủ có bệnh ở tất cả các độ mặn khác nhau. Việc lan truyền bệnh theo chiều dọc gián tiếp qua các dịch sinh sản và các sản phẩm sinh dục cũng có thể là con đường mang vi khuẩn cận lâm sàng.

F.10.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Do vị trí nằm trong tế bào của vật chủ, rất khó có thể chữa BKD bằng các loại thuốc kháng sinh. Việc tiêm erythromycin cho cá mẹ đều đặn trước khi cá đẻ có vẻ mang lại một số kết quả trong việc tránh lan truyền theo chiều dọc đến trứng. Việc tiêm chủng và thức ăn có trộn thuốc chữa bệnh cũng thành công trong việc làm giảm sự xuất hiện của BKD, tuy nhiên, kết quả lại thay đổi tuỳ theo chủng *R. salmoninarum* và loài vật chủ.

Quan trọng nhất là cách phá vỡ những đường truyền bệnh ngang và dọc (F.10.5). Việc loại bỏ cá bố mẹ có nguy cơ cao mắc BKD, việc giảm mật độ cá nuôi, tránh tiếp xúc với vật mang bệnh cận lâm sàng, giảm gây ra stress và tránh vận chuyển không thích hợp từ nước ngọt sang nước mặn, tất cả những việc này đều đã được chứng minh là làm giảm khả năng gây ra bệnh BKD một cách có hiệu quả.

F.10.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Austin, B., T.M. Embley, and M. Goodfellow. 1983. Selective isolation of *Renibacterium salmoninarum*. *FEMS Micro. Let*. 17: 111-114.

Brown, L.L., G.K. Iwama, T.P.T. Evelyn, W.S. Nelson, and R.P. Levine. 1994. Use of the polymerase chain reaction (PCR) to detect DNA from *Renibacterium salmoninarum* within individual salmon eggs. *Dis. Aquat. Org.* 18: 165-171.

Daly, J.G. and R.M.W. Stephenson. 1985. Charcoal agar, a new growth medium for the fish disease bacterium *Renibacterium salmoninarum*. *Appl. Environ. Micro.* 50: 868-871.

Evelyn, T.P.T. 1977. An improved growth some notes on using the medium. *Bull. of the OIE.* 87: 511-513.

Griffiths, S.G., K. Liska, and W.H. Lynch. 1996. Comparison of kidney tissue and ovarian fluid from broodstock Atlantic salmon for detection of *Renibacterium salmoninarum*, and use of SKDM broth culture with western blotting to increase detection in ovarian fluid. *Dis. Aquat. Org.* 24: 3-9.

Hiney, M.P. and P.R. Smith. 1999. Validation of polymerase chain reaction-based techniques for proxy detection of bacterial fish pathogens: Framework, problems and possible solutions for environmental applications. *Aquac.* 162:41- 68.

Kimura, T. and M. Yoshimizu. 1981. A coagglutination test with antibody-sensitised staphylococci for rapid and simple diagnosis of bacterial kidney disease (BKD). *Dev. Biol. Standard.* 49: 135-148.

Leon, G., M.A. Martinez, J.P. Etchegaray, M.I. Vera, Figueroa and M. Krauskopf. 1994. Specific DNA probes for the identification of the fish pathogen *Renibacterium salmonina- rum*. *Wor. J. Micro.Biotech.* 10: 149-153.

Meyers, T.J., S. Short, C. Farrington, K. Lipson, H.J. Geiger, and R. Gates. 1993. Establishment of a positive-negative threshold optical density value for the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect soluble antigen of *Renibacterium salmoninarum* in Alaskan Pacific salmon. *Dis. Aquat. Org.* 16:191-197.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office International des Epizooties, Paris, France 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Schlotfeldt, H.-J. and D.J. Alderman. 1995. What Should I Do? A Practical Guide for the Freshwater Fish Farmer. *Suppl. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 15(4). 60p.

F.10 Bệnh nhiễm khuẩn thận (BKD)

F.11.1 Thông tin chung

F.11.1.1 Các yếu tố gây bệnh

Các u hạt do nấm trong những mô bị nhiễm EUS là do nấm noãn *Aphanomyces invadans* (còn gọi là *A. invaderis, A. piscicida*, nấm u hạt (MG) và ERA [Aphanomyces gây EUS]). Người ta cũng gọi đó là bệnh đốm đỏ (RSD). Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể xem trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

F.11.1.2 Các vật chủ

EUS tác động đến cá nước ấm ở vùng cửa sông và nước ngọt và lần đầu tiên được phát hiện ở cá thơm (*Plecoglossus altivelis*) nuôi ở Nhật Bản **(Hình F.11.1.2a).** Bệnh bùng phát nguy hiểm ở cá cửa sông miền Đông Ôxtrâylia, đặc biệt là cá đối (*Mugil cephalus*) **(Hình F.11.1.2b).** Một vùng rộng lớn với trên 50 loài đã được khẳng định là bị bệnh này bằng phương pháp chẩn đoán mô bệnh (Lilley và cộng sự, 1998), nhưng một vài loài cá nuôi quan trọng như cá rô phi, cá măng và nhóm cá chép Trung Quốc đã chứng tỏ khả năng kháng được bệnh.

F.11.1.3 Phân bố địa lý

EUS lần đầu tiên được thông báo ở Nhật Bản và sau đó là Ôxtrâylia. Bệnh bùng phát lan truyền theo hướng tây khắp Đông Nam Á và Nam Á. EUS cũng lan theo hướng tây với dịch lớn tại Papua New Guinea, Malaysia, Indonesia, Thái Lan, Philippin, Sri Lanka, Bangladesh và Ấn Độ. Gần đây nhất EUS được khẳng định có ở Pakistan. Bệnh xuất hiện ở cả vùng cửa sông bị nhiễm nấm lở loét (UM) dọc theo bờ Đại Tây Dương của Mỹ là không thể phân biệt được với EUS, nhưng cần phải tiếp tục so sánh các tác nhân gây bệnh có liên quan trong từng trường hợp này.

F.11.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quí về dịch bệnh của động vật thủy sản ở châu Á-Thái Bình Dương (1999-2000)

Theo báo cáo năm 1999, Ôxtrâylia, Bangladesh, Ấn Độ, Nhật Bản, CHDCND Lào, Nepal, Philippines, Sri Lanka và Thái Lan đã thông báo có dịch bệnh trong các tháng khác nhau; năm 2000, Ôxtrâylia, Bangladesh, Ấn Độ, Nhật Bản, CHDCND Lào, Nepal, Pakistan, Philippin và Thái Lan đã thông báo có phát hiện EUS (OIE 1999, OIE 2000b).

F.11.2 Các khía cạnh lâm sàng

Cá nhiễm bệnh điển hình thường có những vết loét da hoại tử đặc trưng về mô học do sự xuất hiện các u hạt nấm nổi bật trong các mô dưới da. Những u hạt do nấm trong các mô đã nhiễm EUS là do nấm noãn *Aphanomyces invadans* gây ra. Những tổn thương ban đầu có thể xuất hiện dưới dạng các đốm đỏ **(Hình F.11.2a),** các nốt này ngày càng sâu hơn khi bệnh phát triển và xâm nhập vào hệ cơ bên dưới **(Hình F.11.2b).** Một số tổn thương sớm có thể có viền hơi trắng nổi lên. Tỷ lệ cá chết cao thường có liên quan với sự bùng phát EUS, nhưng trong một số trường hợp cá có thể chống lại được sự xâm nhập thứ cấp của những vết thương há miệng này, những vết loét có thể chữa được.

F.11.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Hiện nay chưa có các phương pháp kiểm tra nào đối với cá chưa có biểu hiện bệnh.

F.11.4 Các phương pháp chẩn đoán

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán EUS có thể xem trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), tại http://www.oie.int, hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

F.11.4.1 Dự chẩn

F.11.4.1.1 Các quan sát tổng quát (Mức độ I)

Biểu hiện tổng quát của các vết loét thay đổi theo loài, nơi ở và giai đoạn phát triển của vết loét **(Hình F.11.4.1.1a).** Tổn thương nổi bật nhất của EUS là vết loét mở trên da. Tuy nhiên, các bệnh khác cũng có những biểu hiện tương tự như vậy **(Hình 11.4.1.1b)** và điều quan trọng là phải khẳng định sự có mặt của *A. invadans* để đảm bảo chẩn đoán bệnh chính xác.

F.11.4.1.2 Tiêu bản cơ ép nhanh (Mức độ I)

Việc chẩn đoán bệnh EUS ở cá có biểu hiện nghi ngờ loét da có thể được tiến hành bằng cách chứng minh có sợi nấm không vách (đường kính 12-30 µm) trong các tiêu bản ép cơ ở phía dưới tổn thương nhìn thấy được bằng mắt thường **(Hình 11.4.1.2).** Điều này có thể làm được bằng cách ép giữa hai tấm kính hoặc bản kính hiển vi, kiểm tra bằng kính hiển vi thường hoặc kính giải phẫu ngay ở ngoài thực địa.

(K Hatai)

Hình.F.11.1.2a. Cá thơm, *Plecoglatus altivelis*, bị bệnh với các u hạt nấm.

(RB Callinan)

Hình.F.11.1.2b. Cá vược trắng *Bidyanus bidyanus* nuôi ở Đông Ôxtrâylia bị nhiễm EUS

(MG Bondad-Reantaso)

Hình.F.11.2a. Cá trê có các đốm đỏ do mới nhiễm EUS.

(MG Bondad-Reantaso)

Hình.F.11.4.1.1a. Cá đối ở tự nhiên của Philippin bị EUS (1989)

(MG Bondad-Reantaso)

Hình.F.11.2b. Cá quả ở Philippin (1985) bị các tổn thương điển hình của EUS.

(MG Bondad-Reantaso)

Hình.F.11.4.1.1b. Bệnh đốm đỏ ở cá trắm cỏ của Việt Nam có các tổn thương lở loét.

F.11.4.2.1 Kiểm khẳng định (Mức độ II)

Chẩn đoán khẳng định cần có bằng chứng mô học của những u hạt điển hình và sự lan rộng cuả sợi nấm bằng cách nhuộm haematoxylin và Eosin **(Hình F.11.4.2.1a)** hoặc nhuộm nấm thông thường (ví dụ, Grocott's) **(Hình F.11.4.2.1b).** Những vết loét sớm của EUS cho thấy những vết viêm da nông xuất huyết mà không có biểu hiện gì rõ rệt là do nấm. Những vết loét sau này cho thấy sợi nấm *A. invadans* đã xâm nhập vào các mô cơ xương và sưng dần lên. Nấm làm cho sưng to lên và các u hạt được hình thành xung quanh những sợi nấm đã xâm nhập vào, đây là một đặc tính điển hình của EUS. Vết loét lớn dần từ một vết viêm mãn tính nhẹ thành vết viêm da hoại tử lan rộng nguy hiểm, kèm theo sự phá huỷ nghiêm trọng các cơ. Những tổn thương điển hình nhất thường rộng, mở, loét xuất huyết có đường kính khoảng 1-4 cm. Các vết này thường là các lây nhiễm thứ cấp của vi khuẩn và các chủng gây bệnh của *Aeromonas hydrophila* đã được phân lập từ các tổn thương.

F.11.4.2.2 Nấm học (Mức độ II)

Những tổn thương ngoài da nổi lên, có màu xám, vừa phải là nơi thích hợp nhất để phân lập nấm.

Lấy ra các vảy xung quanh viền của vết loét và làm khô lớp da phía dưới bằng một cái bay nung đỏ để khử trùng bề mặt. Dùng một con dao mổ vô trùng và những cái kẹp sắc nhọn vô trùng để cắt qua lớp da dưới vùng đã làm khô và cắt theo chiều ngang để tách các mô bên trên và để lộ ra lớp cơ phía dưới. Đảm bảo là các dụng cụ không đụng vào bề mặt bên ngoài và không gây nhiễm cho phần cơ phía dưới. Cắt các mảnh cơ $2mm^3$ hoặc xấp xỉ $2mm^3$, và đặt vào trong đĩa Petri có chứa aga Czapek Dox và penicillin G (100 đơn vị/ml) và axít oxolinic (100 mg/ml). Đậy kín các đĩa và ủ ở nhiệt độ phòng có kiểm tra hàng ngày. Đưa các đầu sợi nấm đang nổi lên vào trong các đĩa sạch có aga Czapek Dox cho đến khi các nuôi cấy không còn nhiễm.

Có thể định loại nấm đến giống bằng cách kích thích phát sinh bào tử **(Hình F.11.4.2.2a)** và làm xuất hiện đặc điểm vô tính của *Aphanomyces* như đã mô tả trong Lilley và cộng sự (1998). *A. invadans* có đặc tính phát triển chậm khi nuôi cấy **(Hình F.11.4.2.2b)** và ngừng phát triển ở 37°C trong aga GPY (nước GP có 0,5 g/l dịch men bia và 12 g/l aga kỹ thuật). Mô tả chi tiết về mức tăng nhiệt độ được nêu trong sách của Lilley và Roberts (1997). Nấm phân lập được là *A. invadans* có thể được khẳng định bằng cách tiêm 0,1 ml thể vẩn có 100+ động bào tử vào cơ của cá nghi nhiễm EUS (tốt hơn là cá quả *Channa striata*) ở 20°C, và thấy phát triển mô của sợi nấm không vách có đường kính 12-30µm ở trong cơ của cá lấy mẫu sau 7 ngày, và các u hạt điển hình do nấm trong cơ của cá lấy mẫu sau 14 ngày.

F.11.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Người ta cho rằng EUS lan truyền là do lụt và sự di chuyển của những cá đã nhiễm bệnh hoặc mang mầm bệnh. *Aphanomyces invadans* được xem là **"nguyên nhân cần thiết"** gây bệnh EUS, và nó xuất hiện trong mọi trường hợp của bệnh này, tuy nhiên, cần có một tổn thương ban đầu ở da để nấm tấn công và xâm nhập các mô ở bên dưới. Tổn thương này có thể do các nhân tố hữu sinh hoặc vô sinh gây ra. Ở Ôxtrâylia và Philippin, các dịch bùng phát có liên quan nước bị axit hoá (do đất có axit sulfate tràn xuống), kèm theo nhiệt độ thấp, sự xuất hiện của cá dễ mắc bệnh và các mầm nấm *A. invadans*. Ở các vùng khác, không có nước axit thì có thể có các yếu tố sinh học khác (ví dụ nhiễm rhabdovirus) hoặc các yếu tố môi trường (ví dụ nhiệt độ) có thể gây ra các vết loét.

F.11.6 Các biện pháp kiểm soát

Trong mọi trường hợp việc kiểm soát các đàn cá hoang dã là không thể thực hiện được. Lựa chọn những loài có khả năng đề kháng để nuôi hiện là biện pháp có hiệu quả nhất để kiểm soát ngay tại các trại nuôi. Khi không thể thay đổi loài nuôi thì các biện pháp nên thực hiện để ngăn chặn và loại trừ nấm là:

- phơi ao và rắc vôi trước khi thả cá
- loại bỏ cá tự nhiên
- dùng cá bột được nuôi ở trại ương ấp cá đã được xử lý phòng bệnh
- dùng nước sạch
- dùng muối ăn tắm cho cá
- khử trùng lưới và các thiết bị đã bị nhiễm trùng.

F.11.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Blazer, V.S., W.K. Vogelbein, C.L. Densmore, E.B. May, J.H. Lilley and D.E. Zwerner. 1999. Aphanomyces as a cause of ulcerative skin lesions of menhaden from Chesapeake Bay tributaries. J. Aquat. Anim. Health 11:340-349.

Bondad-Reantaso, M,G., S.C. Lumanlan, J.M. Natividad and M.J. Phillips. 1992. Environ- mental monitoring of the epizootic ulcerative syndrome (EUS) in fish from Munoz, Nueva Ecija in the Philippines, pp. 475-490. In: Diseases in Asian Aquaculture 1. M. Shariff, R.P. Subasinghe and J.R. Arthur (eds). Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.

Callinan, R.B., J.O. Paclibare, M.G. Bondad-Reantaso, J.C. Chin and R.P. Gogolewsky.

1995. Aphanomyces species associated with epizootic ulcerative syndrome (EUS) in the Philippines and red spot disease (RSD) in Australia: preliminary comparative studies. Dis. Aquat. Org. 21:233-238.

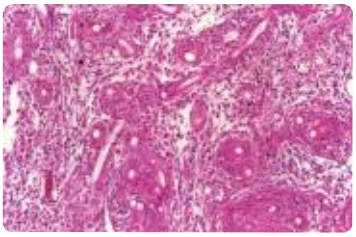
Callinan, R.B., J.O. Paclibare, M.B. Reantaso, S.C. Lumanlan-Mayo, G.C. Fraser and J.Sammut. 1995. EUS outbreaks in estuarine fish in Australia and the Philippines: associations with acid sulphate soils, rainfall and *Aphanomyces*, pp. 291-298. *In:*Diseases in Asian Aquaculture 1. M. Shariff, J.R. Arthur and R.P. Subasinghe (eds). Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.

F.11 Hội chứng dịch bệnh lở loét (EUS)

(MG Bondad-Reantaso)

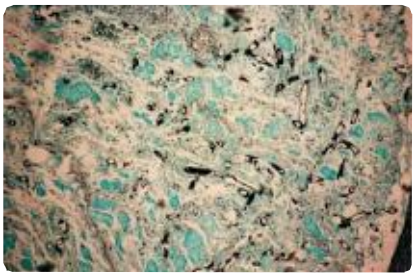
Hình.F.11.4.1.2. U hạt trong tiêu bản ép cơ ở cá bị EUS.

(MG Bondad-Reantaso)



Hình.F.11.4.2.1a. Các u hạt điển hình bị nhiễm nặng nấm ở lát cắt cơ của cá bị EUS (H & E).

(MG Bondad-Reantaso)



Hình.F.11.4.2.1b. Các u hạt nấm có sợi nấm (bắt màu đen) nhờ nhuộm Grocotts.

Chinabut, S. and R.J. Roberts. 1999. Pathology and Histopathology of Epizootic Ulcerative Syndrome (EUS). Aquatic Animal Health Research Institute, Department of Fisheries, Royal Thai Gover nment, Bangkok, Thailand, 33p. ISBN 974-7604-55-8.

(K Hatai)

Hình.F.11.4.2.2a. Đặc điểm điển hình của sự hình thành bào tử *Aphanomyces*

(MG Bondad-Reantaso)

Hình.F.11.4.2.2b. *Aphanomyces invadans* mọc trên môi trường aga 6P.

Fraser, G.C., R.B. Callinan, and L.M. Calder. 1992. *Aphanomyces* species associated with red spot disease: an ulcerative disease of estuarine fish from eastern Australia. J. Fish Dis.15:173-181.

Hatai, K. and S. Egusa. 1978. Studies on the pathogenic fungus of mycotic granulomato-sis-II. Some of the note on the MG-fungus. Fish Pathol. 13(2):85-89 in Japanese, with English abstract).

Hatai, K., S. Egusa, S. Takahashi and K. Ooe.

1977. Study on the pathogenic fungus of mycotic granulomatosis-I. Isolation and pathogenicity of the fungus from cultured ayu infected with the disease. Fish Pathol. 11(2):129-133.

Lilley, J.H., Callinan, R.B., Chinabut, S., Kanchanakhan, S., MacRae, I.H., and Phillips,M.J. 1998. Epizootic Ulcerative

Syndrome (EUS) Technical Handbook. TheAquatic Animal Health Research Institute, Bangkok. 88p

Lilley, J.H. and Roberts, R.J. 1997. Pathogenicity and culture studies comparing Aphanomyces involved in epizootic ulcerative syndrome (EUS) with other similar fungi. J. Fish Dis. 20: 135-144.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office International des Epizooties, Paris, France.237p

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p

Roberts,R.J., B. Campbell and I.H. MacRae(eds). 1994. Proceedings of the Regional Seminar on Epizootic Ulcerative Syndrome, 25-27 January 1994. The Aquatic Animal Health Research Institute. Bangkok, Thai- land

Tonguthai, K. 1985. A preliminary account of ulcerative fish diseases in the Indo-Pacific region (a comprehensive study based on Thai experiences). National Inland Fisheries Institute, Bangkok, Thailand. 39p.

Phụ lục F.AI Các phòng thí nghiệm tham vấn về bệnh cá của OIE

Bệnh	Chuyên gia/Phòng thí nghiệm
Virus gây bệnh hoại tử cơ quan tạo máu (EHNV)	**Dr. A. Hyatt** Australian Animal Health Laboratory Geelong, Victoria 3213, AUSTRALIA Tel: 61-3-52275000 Fax: 61-3-52275555 E-mail: alex.hyatt@dah.csiro.au
	Dr. R. Whittington Elizabeth MacArthur Agricultural Institute PMB 8, Camden NSW 2570, AUSTRALIA Tel: 61-2-46293333 Fax: 61-2-46293343 E-mail: Richard.Whittington@smtpgwy.agric.nsw.gov.au
Virus gây hoại tử cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (Rhabdoviruses)	**Dr. J. A. Leong** Oregon State University Department of Microbiology Nash Hall 220, Corvallis, Oregon 93331-3804 UNITED STATES of AMERICA Tel: 1-541-7371834 Fax: 1-541-7370496 E-mail: leongj@orst.edu
	Dr. J. Winton Western Fisheries Research Center 6505 N.E. 65th Street Seattle, Washington 98115 UNITED STATES of AMERICA E-mail: jim_winton@nbs.gov
Virus cá hồi Nhật bản *Onchorhynchus masou*	**Dr. M. Yoshimizu** Laboratory of Microbiology Faculty of Fisheries Hokkaido University 3-1-1, Minato-cho, Hakodate Hokkaido 041-0821 JAPAN Tel./Fax: 81-138-408810 E-mail: yosimizu@pop.fish.hokudai.ac.jp
Virus gây nhiễm vào mùa xuân ở cá chép	**Dr. B.J. Hill** The Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Sciences (CEFAS) Barack Road, the Nothe, Weymouth, Dorset DT4 8UB UNITED KINGDOM Tel: 44-1305-206626 Fax:44-1305-206627 E-mail: b.j.hill@cefas.co.uk
Virus gây nhiễm trùng xuất huyết	**Dr. N.J. Ollesen** Danish Veterinary Laboratory Hangovej 2, DK-8200 Aarhus N DENMARK Tel: 45-89372431 Fax:45-89372470 E-mail: njo@svs.dk

PHỤ LỤC F.AI CÁC PHÒNG THÍ NGHIỆM THAM VẤN VỀ BỆNH CÁ CỦA OIE

Virus ở cá nheo kênh mương	**Dr. L.A. Hanson** Fish Diagnostic Laboratory College of Veterinary Medicine Mississippi State University Box 9825, Spring Street Mississippi 39762 UNITED STATES of AMERICA Tel: 1-662-3251202 Fax: 1-662-3251031 E-mail: hanson@cvm.msstate.edu
Bệnh viêm não và võng mạc do virus	**Dr. G. Bovo** Instituto Zooprofilaticco Sperimentale delle Venezie Dipartimento di Ittiopatologia, Via Romea 14/A 35020 Legnaro PD ITALY Tel: 39-049-8830380 Fax: 39-049-8830046 E-mail: bovo.izs@interbusiness.it
Bệnh hoại tử nhiễm trùng tụy	**Dr. T. Nakai** Fish Pathology Laboratory Faculty of Applied Biological Sciences Hiroshima University Higashihiroshima 739-8528 JAPAN Tel: 81-824-247947 Fax: 81-824-227059 E-mail: nakaitt@ipc.hiroshima-u.ac.jp
	Dr. B.J. Hill The Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Sciences (CEFAS) Barack Road, the Nothe, Weymouth, Dorset DT4 8UB UNITED KINGDOM Tel: 44-1305-206626 Fax:44-1305-206627 E-mail: b.j.hill@cefas.co.uk
Bệnh thiếu máu ở cá hồi	**Dr. B. Dannevig** National Veterinary Institute Ullevalsveien 68 P.O. Box 8156 Dep., 0033 Oslo NORWAY Tel: 47-22-964663 Fax: 47-22-600981 E-mail: birgit.dannevig@vetinst.no
Hội chứng dịch bệnh lở loét	**Dr. Kamonporn Tonguthai** Aquatic Animal Health Research Institute Department of Fisheries Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900 THAILAND Tel: 662-5794122 Fax: 662-5613993 E-mail: kamonpot@fisheries.go.th
Bệnh nhiễm khuẩn thận	**Dr. R.J. Pascho** Western Fisheries Research Center U.S. Geological Survey Biological Resources Division 6505 N.E. 65th Street Seattle, Washington 98115

	UNITED STATES of AMERICA Tel: 1-206-5266282 Fax:1-206-5266654 E-mail: ronpascho@usgs.gov
Bệnh xuất huyết ruột ở cá trê	**Dr. L.A. Hanson** Fish Diagnostic Laboratory College of Veterinary Medicine Mississippi State University Box 9825, Spring Street Mississippi 39762 UNITED STATES of AMERICA Tel: 1-662-3251202 Fax: 1-662- 3251031 E-mail: hanson@cvm.msstate.edu
Piscriikettsiosis	**Dr. J. L. Fryer** Distinguished Professor Emertius Department of Biology 220 Nash Hall Oregon State University Corvallis, Oregon 97331-3804 Tel:1-541-7374753 Fax: 1-541-7372166 E-mail: fryerj@bcc.orst.edu
Bệnh sán lá (*Gyrodactylus salaris)*	**Dr. T. Atle Mo** National Veterinary Institute Ullevalsvein 68 P.O. Box 8156 Dep., 0033 Oslo NORWAY Tel: 47-22-964722 Fax:47-22- 463877 E-mail: tor-atle.mo@vetinst.no
Bệnh ở cá vền đỏ do virus	**Dr. K. Nakajima** Virology Section, Fish Pathology Division National Research Institute of Aquaculture Fisheries Agency 442-1 Nakatsuhama, Nansei-cho Watarai- gun Mie 516-0913 JAPAN Tel: 81-599661830 Fax:81-599661962 E-mail: kazuhiro@nria.affrc.go.jp

Phụ lục F.AII Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương

Bệnh	Chuyên gia
Hội chứng dịch bệnh lở loét (EUS)	**Dr. Richard Callinan** NSW Fisheries, Regional Veterinary Laboratory Wollongbar NSW 2477 **AUSTRALIA** Tel (61) 2 6626 1294 Mob 0427492027 Fax (61) 2 6626 1276 Email richard.callinan@agric.nsw.gov.au
	Dr. C.V. Mohan Department of Aquaculture College of Fisheries, UAS Mangalore-575002 **INDIA** Tel: 91 824 439256 (College); 434356 (Dept), 439412 (Res) Fax: 91 824 438366 E-mail: cv_mohan@yahoo.com
	Prof. Kishio Hatai Divison of Fish Diseases Nippon Veterinary and Animal Science University 1-7-1 Kyonan-cho, Musashino, Tokyo 180 **JAPAN** Tel: 81-0422-31-4151 Fax: 81-0422-33-2094 E-mail: hatai@scan-net.ne.jp
	Ms. Susan Lumanlan-Mayo Fish Health Section Bureau of Fisheries and Aquatic Resources Arcadia Building, 860 Quezon Avenue Quezon City, Metro Manila **PHILIPPINES** Tel/Fax: 632-372-5055 E-mail: slmayo99@yahoo.com
	Mr. Jose O. Paclibare Fish Health Section Bureau of Fisheries and Aquatic Resources Arcadia Building, 860 Quezon Avenue Quezon City, Metro Manila **PHILIPPINES** Tel/Fax: 632-372-5055 E-mail: jopac@edsamail.com.ph
	Dr. Erlinda Lacierda Fish Health Section Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Center Tigbauan, Iloilo 5021 **PHILIPPINES** Tel: 63 33 335 1009 Fax: 63 33 335 1008 E-mail: eclacier@aqd.seafdec.org.ph
	Dr. Somkiat Kanchanakhan Aquatic Animal Health Research Institute Department of Fisheries Kasetsart University Campus

PHỤ LỤC F.AII DANH SÁCH CÁC CHUYÊN GIA KHU VỰC VỀ BỆNH CÁ Ở CHÂU Á-THÁI BÌNH DƯƠNG

	Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900 **THAILAND** Tel: 662-5794122 Fax: 662-5613993 E-mail: somkiatkc@fisheries.go.th
	Dr. Supranee Chinabut Aquatic Animal Health Research Institute Department of Fisheries Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900 **THAILAND** Tel: 662-5794122 Fax: 662-5613993 E-mail: supranee@fisheries.go.th
	Dr. Melba B. Reantaso Network of Aquaculture Centres in Asia Pacific Department of Fisheries Compound Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900 **THAILAND** Tel: 662- 561-1728 to 9 ext. 113 Fax: 662-561-1727 E-mail: Melba.Reantaso@enaca.org
Hoại tử não do virus (VNN) **Bệnh viêm não và võng mạc (VER)**	**Dr. Kei Yuasa** Fisheries and Aquaculture International Co., Ltd. No. 7 Khoji-machi Bldg., Room B105 4-5 Khoji-machi, Chiyoda-ku Tokyo 102-0083 **JAPAN** Tel: 81-3-3234-8847 Fax:81-3-3239-8695 E-mail: fai@faiaqua.com; yuasakei@hotmail.com
	Dr Myoung-Ae Park Pathology Division National Fisheries Research and Development Institute South Sea Regional Fisheries Research Institute 347 Anpo-ri, Hwayang-myun, Yeosu-City Chullanam-do, 556-820 **KOREA RO** Tel: 82-662-690-8989 Fax: 82-662-685-9073 E-mail: mapark@haema.nfrda.re.kr
	Dr. Lin Li Guangdong Daya Wan Fisheries Development Center Aotou Town Huizhou City, Guangdong Province **PEOPLE's REPUBLIC OF CHINA** Tel: 86-752-5574225 Fax: 86-752-5578672 E-mail: hzgdfdc@pub.huizhou.gd.cn; linli39@hotmail.com
	Dr. Qiwei Qin Tropical Marine Science Institute National University of Singapore 10 Kent Ridge Crescent 119260 **SINGAPORE** Tel: +65-7749656 Fax: +65-7749654 Email: tmsqinqw@nus.edu.sg

Phụ lục F.AII Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương

	Dr Shau Chi Chi Department of Zoology National Taiwan University **TAIWAN PROVINCE of CHINA** Fax: 886 2 2367 3852 E-mail: shauchi@ccms.ntu.edu.tw
	Dr Nguyen Huu Dung Center for Bio-Tech and Environment Research University of Fisheries 02 Nguyen Dinh Chieu St. Nha Trang City, VIETNAM Tel: 84 58 83 2065 Fax: 84 58 83 1147 E-mail: huudung@dng.vnn.vn
Bệnh u nang bạch huyết	**Prof. Jiang Yulin** Shenzhen Exit and Entry Inspection and Quarantine Bureau 40 Heping Road, Shenzhen 518010, **PEOPLE's REPUBLIC OF CHINA** Tel: 86-755-5592980 Fax:86-755-5588630 E-mail: szapqbxi@public.szptt.net.cn
Các bệnh ở cá trắm cỏ	**Prof. Jiang Yulin** Shenzhen Exit and Entry Inspection and Quarantine Bureau 40 Heping Road, Shenzhen 518010, **PEOPLE's REPUBLIC OF CHINA** Tel: 86-755-5592980 Fax:86-755-5588630 E-mail: szapqbxi@public.szptt.net.cn
Các bệnh ký sinh trùng	**Dr. Robert D. Adlard** Queensland Museum PO Box 3300, South Brisbane, Queensland 4101, **AUSTRALIA** Tel: +61 7 38407723 Fax: +61 7 38461226 E-mail:RobertAd@qm.qld.gov.au; http://www.qmuseum.qld.gov.au
	Dr. Robert D. Adlard Queensland Museum PO Box 3300, South Brisbane, Queensland 4101, **AUSTRALIA** Tel: +61 7 38407723 Fax: +61 7 38461226 E-mail: RobertAd@qm.qld.gov.au; http://www.qmuseum.qld.gov.au
	Professor R.J.G. Lester Department of Microbiology and Parasitology The University of Queensland, Brisbane 4072, **AUSTRALIA** Tel: +61-7-3365-3305 Fax:+61-7-3365-4620 E-mail:R.Lester@mailbox.uq.edu.au; http://www.biosci.uq.edu.au/micro/academic/lester/lester.htm
	Dr. Ian D. Whittington Department of Microbiology and Parasitology The University of Queensland Brisbane, Queensland 4072, **AUSTRALIA** Tel: 61-7-3365-3302 Fax:61-7-3365-4620 E-mail: i.Whittington@mailbox.uq.edu.au
	Prof. Abu Tweb Abu Ahmed Department of Zoology Dhaka - 100, **BANGLADESH** Tel: 880-2-9666120

Phụ lục F.AII Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương

	Fax:880-2-8615583 E-mail: zooldu@citechno.net
	Prof. Kazuo Ogawa Department of Aquatic Bioscience Graduate School of Agricultural and Life Sciences The University of Tokyo, Yayoi, Bunkyo-ku Tokyo 113-8657, **JAPAN** Tel: 81-3-5841-5282 Fax:81-3-5841-5283 E-mail: aogawak@mail.ec-u-tokyo.ac.jp
	Dr. Bo Young Jee Pathology Division National Fisheries Research and Development Institute 408-1,Shirang-ri, Kitang-up, Kitang-gun, Pusan, **KOREA RO** Tel: 82-51-720-2498 Fax:82-51-720-2498 E-mail: protjee@nfrdi.re.kr
	Dr. Kim Jeong-Ho Laboratory of Aquatic Animal Diseases College of Veterinary Medicine Chungbuk National University Cheongju, Chungbuk 361-763, **KOREA RO** Tel: +82-43-261-3318 Fax: +82-43-267-3150 E-mail: kimjh89@trut.chungbuk.ac.kr.kimjh89@yahoo.com
	Dr. Craig J. Hayward Laboratory of Aquatic Animal Diseases College of Veterinary Medicine Chungbuk National University Cheongju, Chungbuk 361-763, **KOREA RO** Tel: +82-43-261-2617 Fax: +82-43-267-3150 E-mail: chayward@trut.chungbuk.ac.kr, dameunagi@hotmail.com
	Dr. Susan Lim Lee-Hong Institute of Biological Sciences Institute of Postgraduate Studies and Research Universiti of Malaysia 50603 Kuala Lumpur, **MALAYSIA** Tel: 603-7594502 Fax: 603-7568940 E-mail: susan@umcsd.um.edu.my
	Prof. Mohammed Shariff Faculty of Veterinary Medicine Universiti Putra Malaysia 43400 Serdang, Selangor, **MALAYSIA** Tel: 603-9431064; 9488246 Fax: 603-9488246; 9430626 E-mail: shariff@vet.upm.edu.my

Phụ lục F.AII Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương

	Dr. Leong Tak Seng No. 3 Cangkat Minden, Lorong 13 11700 Glugor, Pulau Pinang, **MALAYSIA** E-mail: mhpg@pc.jaring.my
	Dr. Tin Tun Department of Zoology University of Mandalay MYANMAR E-mail: phys.mdy@mptmail.net.mm
	Dr. Erlinda Lacierda Fish Health Section Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Center Tigbauan, Iloilo 502, **PHILIPPINES** Tel: 63 33 335 1009 Fax: 63 33 335 1008 E-mail: eclacier@aqd.seafdec.org.ph
	Dr. Supranee Chinabut Aquatic Animal Health Research Institute Department of Fisheries Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900, **THAILAND** Tel: 662-5794122 Fax: 662-5613993 E-mail: supranee@fisheries.go.th
	Dr. Melba B. Reantaso Network of Aquaculture Centres in Asia Pacific Department of Fisheries Compound Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900, **THAILAND** Tel: 662- 561-1728 to 9 ext. 113 Fax: 662-561-1727 E-mail: Melba.Reantaso@enaca.org
	Mr. Bui Quang Te Research Institute for Aquaculture No. 1 Dinh Bang, Tu Son, Bac Ninh, **VIETNAM**
Các bệnh do vi khuẩn	**Dr. Indrani Karunasagar** Department of Fishery Microbiology University of Agricultural Sciences Mangalore - 575 002, **INDIA** Tel: 91-824 436384 Fax: 91-824 436384 E-mail: mircen@giasbg01.vsnl.net.in
	Prof. Kiyokuni Muroga Fish Pathology Laboratory Faculty of Applied Biological Science Hiroshima University Higashi-hiroshima 739, **JAPAN** E-mail: fpath@hiroshima-u.ac.jp
	Prof. Mohammed Shariff Faculty of Veterinary Medicine Universiti Putra Malaysia

	43400 Serdang, Selangor **MALAYSIA** Tel: 603-9431064; 9488246 Fax: 603-9488246; 9430626 E-mail: shariff@vet.upm.edu.my
	Mr. Jose O. Paclibare Fish Health Section Bureau of Fisheries and Aquatic Resources Arcadia Building, 860 Quezon Avenue Quezon City, Metro Manila, **PHILIPPINES** Tel/Fax: 632-372-5055 E-mail: jopac@edsamail.com.ph
	Mrs. Celia Lavilla-Torres Fish Health Section Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Center Tigbauan, Iloilo 5021, **PHILIPPINES** Tel: 63 33 335 1009 Fax: 63 33 335 1008 E-mail: celiap@aqd.seafdec.org.ph
	Dr. Temdoung Somsiri Aquatic Animal Health Research Institute Department of Fisheries Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900, **THAILAND** Tel: 662-5794122 Fax: 662-5613993 E-mail: temdouns@fisheries.go.th
Các bệnh do virus	**Mr. Jeong Wan Do** Pathology Division National Fisheries Research and Development Institute 408-1, Shirang-ri, Kitang-up, Kitang-gun, Pusan, **KOREA RO** Tel: 82-51-720-2481 Fax:82-51-720-2498 E-mail: jwdo@nfrdi.re.kr
	Prof. Jiang Yulin Shenzhen Exit and Entry Inspection and Quarantine Bureau 40 Heping Road, Shenzhen 518010, **PEOPLE's REPUBLIC OF CHINA** Tel: 86-755-5592980 Fax:86-755-5588630 E-mail: szapqbxi@public.szptt.net.cn
	Dr. Gilda Lio-Po Fish Health Section Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Center Tigbauan, Iloilo 5021, **PHILIPPINES** Tel: 63 33 335 1009 Fax: 63 33 335 1008 E-mail: liopo@aqd.seafdec.org.ph

Phụ lục F.AII Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương

	Dr. Somkiat Kanchanakhan Aquatic Animal Health Research Institute Department of Fisheries Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900, **THAILAND** Tel: 662-5794122 Fax: 662-5613993 E-mail: somkiatkc@fisheries.go.th
Các bệnh do nấm	**Prof. Kishio Hatai** Divison of Fish Diseases Nippon Veterinary and Animal Science University 1-7-1 Kyonan-cho, Musashino, Tokyo 180, **JAPAN** Tel: 81-0422-31-4151 Fax: 81-0422-33-2094 E-mail: hatai@scan-net.ne.jp
	Dr. Kei Yuasa Fisheries and Aquaculture International Co., Ltd. No. 7 Khoji-machi Bldg., Room B105 4-5 Khoji-machi, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0083, **JAPAN** Tel: 81-3-3234-8847 Fax:81-3-3239-8695 E-mail: fai@faiaqua.com; yuasakei@hotmail.com
Các bệnh của cá	**Dr. Mark Crane** AAHL Fish Diseases Laboratory Australian Animal Health Laboratory CSIRO Livestock Industries Private Bag 24, Geelong Vic 3220, **AUSTRALIA** Tel: +61 3 52 275118 Fax: +61 3 52 275555 E-mail: mark.crane@li.csiro.au
	Dr. Shuqin Wu Pearl River Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences Baihedong, Guangzhou, Guangdong 510380, **PEOPLE's REPUBLIC OF CHINA** Tel: +86 (20) 81517825 ; +86 (20) 81501543 Fax: +86 (20) 81504162 E-mail: sqwxm@163.net
	Dr. Jian-Guo He School of Life Sciences Zhongshan University Guangzhou 510275 **PEOPLE's REPUBLIC OF CHINA** Tel: +86-20-84110976 Fax: +86-20-84036215 Email: lsbrc05@zsu.edu.cn
	Dr. N. Nilakarawasam Department of Zoology The Open University Nawala, Nugegoda, **SRI LANKA** Tel.: 094-1-853777 ext. 270 E-mail: nnila@ou.ac.lk

Phụ lục F.AIII. danh sách các sổ tay/hướng dẫn hữu dụng về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương

- **Tập tranh về bệnh cá (1989) của Kishio Hatai, Kazuo Ogawa and Hitomi Hirose (biên tập) Midori Shobo, Tokyo, 267 tr. (t. Nhật Bản)**

  Liên hệ: Prof. Kazuo Ogawa
  Department of Aquatic Bioscience
  Graduate School of Agricultural and Life Sciences
  The University of Tokyo
  Yayoi, Bunkyo, Tokyo 113-8657
  Tel: +81-3-5841-5282/5284 Fax: +81-3-5841-5283
  E-mail: aogawak@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

- **Ký sinh trùng và bệnh của cá biển ở Đông Nam Á (1994) của Leong Tak Seng**

  Liên hệ: Dr. Leong Tak Seng
  No. 3 Cangkat Minden, Lorong 13
  11700 Glugor, Pulau Pinang, Malaysia
  E-mail: mhpg@pc.jaring.my

- **Thư mục bệnh cá châu Á III Nhật Bản của Wakabayashi H (biên tập). Ấn phẩm đặc biệt về Bệnh cá số 3. Hội bệnh cá Nhật Bản và tổ bệnh cá Hội Nghề cá châu Á, Manila, Philippin**

  Liên hệ: Japanese Society of Fish Pathology

- **Bản đối chiếu Ký sinh trùng cá ở Philippin của J. Richard Arthur và S. Lumanlan- Mayo. 1997. Tài liệu kỹ thuật thủy sản của FAO số 369. 102tr.**

  Liên hệ: Dr. Rohana P. Subasinghe FAO of the United Nations Viale delle Terme di Caracalla Rome 00100 Italy
  E-mail: Rohana.Subasinghe@fao.org

- **Sổ tay chẩn đoán bệnh cá: Bệnh của cá biển và giáp xác ở Indonexia (1998) của Zafran, Des Roza, Isti Koesharyani, Fris Johnny và Kei Yuasa**

  Liên hệ: Gondol Research Station for Coastal Fisheries
  P.O. Box 140 Singaraja, Bali, Indonesia
  Tel: (62) 362 92278 Fax: (62) 362 92272

- **Quy trình chẩn đoán bệnh cá (1999) của Kamonporn Tonguthai, Supranee Chinabut, Temdoung Somsiri, Pornlerd Chanratchakool và Somkiat Kanchanakhan**

  Liên hệ: Aquatic Animal Health Research Institute
  Department of Fisheries Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900, Thailand
  Tel: (66.2) 579.41.22 Fax: (66.2) 561.39.93
  E-mail: aahri@fisheries.go.th

- **Bệnh học và Mô bệnh học của Hội chứng dịch bệnh lở loét (EUS) của Supranee Chinabut và RJ Roberts**

  Liên hệ: Aquatic Animal Health Research Institute
  Department of Fisheries Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900, Thailand
  Tel: (66.2) 579.41.22 Fax: (66.2) 561.39.93
  E-mail: aahri@fisheries.go.th

PHỤ LỤC F.AIII. DANH SÁCH CÁC SỔ TAY/ HƯỚNG DẪN HỮU DỤNG VỀ BỆNH CÁ Ở CHÂU Á-THÁI BÌNH DƯƠNG

- **Bệnh cá dành cho người nuôi cá (1999) của Tina Thorne**

  Liên hệ: Fisheries Western Australia
  3rd Floor, SGIO Atrium
  186 St. Georges Terrace, Perth WA 6000
  Tel: (08) 9482 7333 Fax: (08) 9482 7389
  Web: http://www.gov.au.westfish

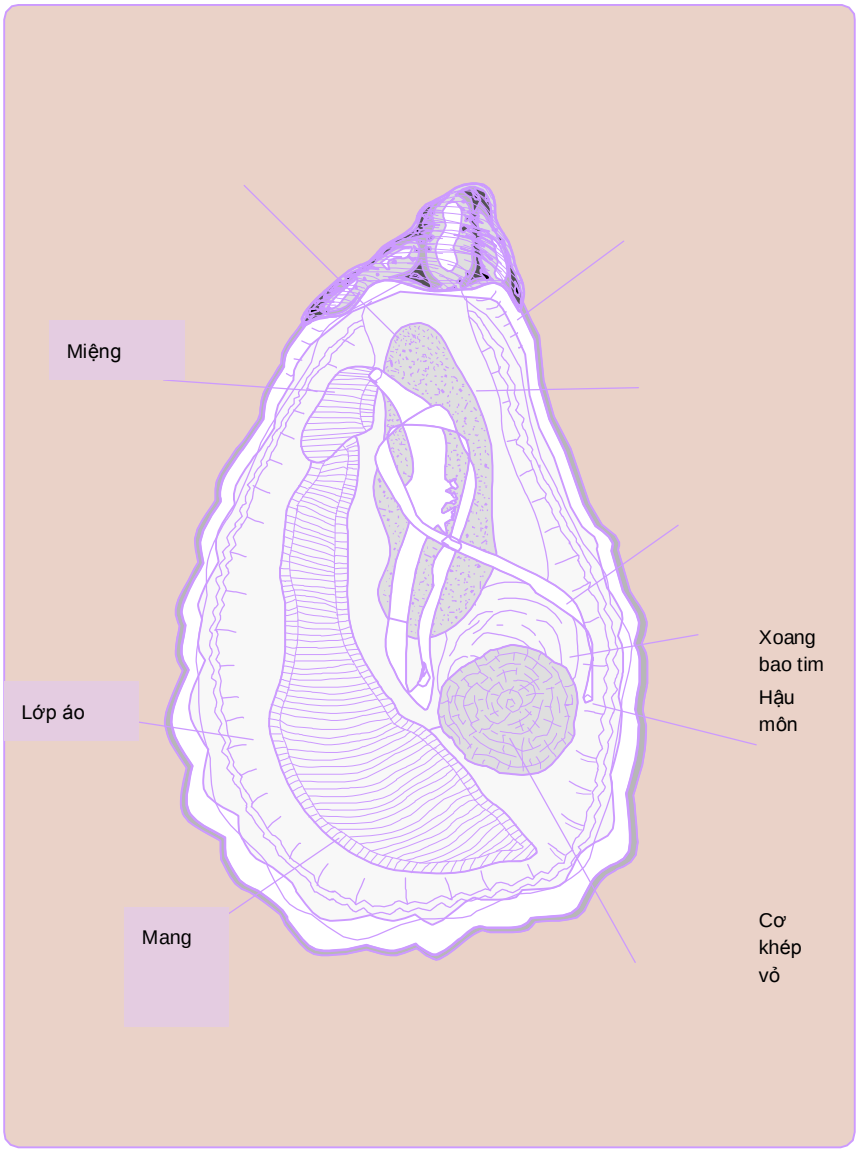
- **Bệnh của động vật thủy sản Ôxtrâylia - Hướng dẫn định loại ngoài thực địa (1999) của Alistair Herfort and Grant Rawlin**

  Liên hệ: AFFA Shopfront - Agriculture, Fisheries and Forestry - Australia
  GPO Box 858, Canberra, ACT 2601
  Tel: (02) 6272 5550 or free call: 1800 020 157
  Fax: (02) 6272 5771
  E-mail: shopfront@affa.gov.au

- **Sổ tay chẩn đoán bệnh cá - II: Các bệnh của cá biển và giáp xác ở Indonesia (2001) của Isti Koesharyani, Des Roza, Ketut Mahardika, Fris Johnny, Zafran và Kei Yuasa, hiệu đính bởi K. Sugama, K. Hatai, and T Nakai**

  Liên hệ: Gondol Research Station for Coastal Fisheries
  P.O. Box 140 Singaraja, Bali, Indonesia
  Tel: (62) 362 92278 Fax: (62) 362 92272

Phụ lục F.AIII. danh sách các sổ tay/hướng dẫn hữu dụng về bệnh cá ở châu Á-Thái Bình Dương


Miệng
Lớp áo
Mang
Xoang bao tim
Hậu môn
Cơ khép vỏ

Cấu tạo giải phẫu con hầu

Cấu tạo giải phẫu con hầu 106

PHẦN 3 - CÁC BỆNH CỦA NHUYỄN THỂ

M.1 **KỸ THUẬT CHUNG** 108
M.1.1 **Các quan sát chung** 109
M.1.1.1 *Tập tính* 109
M.1.1.2 *Các quan sát mặt vỏ ngoài* 109
M.1.1.3 *Các quan sát mặt vỏ trong* 109
M.1.1.4 *Các bề mặt mô mềm* 109
M.1.2 **Các chỉ tiêu môi trường** 112
M.1.3 **Các quy trình chung** 114
M.1.3.1 *Chuẩn bị trước khi thu mẫu* 114
M.1.3.2 *Thông tin chung* 114
M.1.3.3 *Lấy mẫu để kiểm tra sức khoẻ* 114
M.1.3.4 *Lấy mẫu để chẩn đoán bệnh* 114
M.1.3.5 *Lấy mẫu sống để vận chuyển* 114
M.1.3.6 *Bảo quản các mẫu mô* 115
M.1.3.7 *Vận chuyển các mẫu đã bảo quản* 116
M.1.4 **Lưu giữ - ghi chép** 116
M.1.4.1 *Các quan sát tổng thể* 116
M.1.4.2 *Các quan sát môi trường* 117
M.1.4.3 *Ghi chép về nuôi thả* 117
M.1.5 **Tài liệu tham khảo** 117

CÁC BỆNH CỦA NHUYỄN THỂ

M.2 **Bệnh Bonamia (*Bonamia* sp., *B. ostreae*)** 119
M.3 **Bệnh Marteilia (*Marteilia refringens*, *M. sydneyi)*** 123
M.4 **Bệnh Mikrocytos *(Mikrocytos mackini, M roughleyi*)** 127
M.5 **Bệnh Perkinsus (*Perkinsus marinus, P. olseni*)** 131
M.6 **Bệnh Haplosporidium (*Haplosporidium costale, H. nelsoni*)** 136
M.7 **Bệnh Marteilioides (*Marteilioides chungmuensis, M. branchialis*)** 142
M.8 **Bệnh iridovirus (Bệnh màng áo ở hầu do Virus)** 145

PHỤ LỤC

M.AI. **Phòng kiểm nghiệm tham vấn về bệnh nhuyễn thể của OIE** 147
M.AII. **Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh nhuyễn thể ở châu Á Thái Bình Dương** 148
M.AIII. **Danh sách các Sổ tay/hướng dẫn chẩn đoán hữu dụng về bệnh nhuyễn thể** 150

(SE McGladdery)

Hình.M.1.1.1. Vỏ cứng của trai *Mercenaria mercenaria* há miệng, mặc dù ở trên cạn

(MG Bondad-Reantaso)

Hình.M.1.1.2a. Hiện tượng bám nhuyễn thể (mũi tên) ở trai cánh *Pteria penguin*. Trại ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin (1996).

(D Ladra)

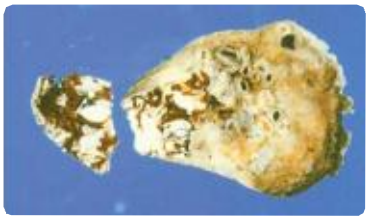
Hình.M.1.1.2b. Trai *Pteria penguin* nuôi ở trại ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin có vỏ bị tổn thương do bọt biển của nước triều dâng cao(1992).

Hình.M.1.1.2f. Trai cánh *Pteria penguin*, có vỏ bi tổn thương do bọt biển của nước triều dâng cao. Trại ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin (1996). →

(MG Bondad- Reantaso)

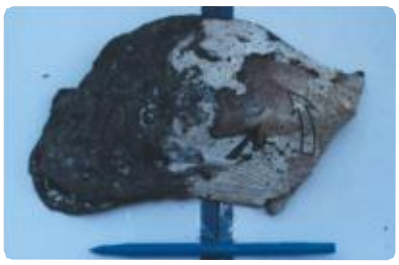
Hình.M.1.1.2c,d. Sinh vật bám dày trên vỏ *Pteria penguin*. Trại Ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin (1996).

(SE McGladdery)



Hình.M.1.1.2e. Các đường hào do *Polydora* sp. đào và sự phá hủy lớp vỏ do vôi hóa ở khớp nối của hầu Mỹ, *Crassostrea virginica,* cộng với sự kết vỏ của con sum trên các bề mặt vỏ khác

(MG Bondad-Reantaso)



M.1 KỸ THUẬT CHUNG

Tư vấn về sức khoẻ động vật nhuyễn thể nói chung và các thông tin liên quan khác luôn sẵn sàng được cung cấp bởi các phòng Thí nghiệm tham vấn của OIE, các chuyên gia khu vực tại châu Á-Thái Bình Dương, FAO và NACA. Danh sách này được nêu trong Phụ lục M.A1 và M.AII, để có thông tin cập nhật cần liên hệ với Ban thư ký của NACA ở Bangkok (e-mail: naca@enaca.org). Các hướng dẫn bổ ích khác về các quy trình chẩn đoán cung cấp các tài liệu tham khảo có giá trị về bệnh nhuyễn thể được liệt kê ở Phụ lục M. AIII.

M.1.1 Các quan sát chung

M.1.1.1 Tập tính (Mức độ I)

Quan sát những thay đổi tập tính của nhuyễn thể trong nước thường rất khó khăn, do đó, cần chú ý thường xuyên tới tập tính của cả bố mẹ và ấu trùng ở các trại ương giống. Dịch bệnh có thể phát sinh nhanh chóng trong điều kiện ương giống, nên việc quan sát định kỳ và thường xuyên ở mức độ I là có giá trị (xem Iridovirus - M.8).

Tập tính ăn của ấu trùng nhuyễn thể cũng là chỉ thị tốt về sức khoẻ của chúng. Cần chú ý đến sự tồn dư thức ăn trong các bể ương ấu trùng và cần thu mẫu ấu trùng còn sống để quan sát dưới kính hiển vi giải phẫu nhằm phát hiện sớm các loại nấm hoại sinh và động vật nguyên sinh (ví dụ: trùng lông tơ) và/hoặc các vi khuẩn. Ấu trùng ở giai đoạn tiền bám có thể bám ở đáy bể hoặc trôi thụ động theo dòng chảy của nước trong các bể chứa.

Trong điều kiện nuôi bình thường, cần quan tâm đến hiện tượng ngừng ăn của nhuyễn thể còn non và trưởng thành. Nếu việc ăn không hồi phục và nhuyễn thể có dấu hiệu suy yếu (sau thời gian từ vài ngày đến vài tuần tuỳ theo nhiệt độ nước), cần thu mẫu để xét nghiệm. Dấu hiệu bị suy yếu bao gồm há miệng (ví dụ 2 vỏ không khép lại được khi ta chạm vào hoặc nhấc nhuyễn thể ra khỏi nước) **(Hình M.1.1.1),** đọng cát và chất thải ở lớp áo và trên mang, màng tách khỏi cạnh vỏ, và giảm di động ở các loài vận động (ví dụ, điệp bơi, ngao đào hang, bào ngư gặm,vv…).

Nếu có nghi ngờ về hiện tượng chết trong tự nhiên, người nuôi phải kiểm tra để xác định xem lý do dẫn đến các thiệt hại. Hiện tượng nhuyễn thể chết rải rác sau các giai đoạn đánh bắt tăng cường cần được điều chỉnh để đánh bắt bổ sung ít nhất nếu có thể được. Nếu nhuyễn thể vẫn bị chết hoặc số lượng chết gia tăng, cần thu mẫu để xét nghiệm. Hiện tượng chết nghi là có do cùng nguyên nhân cần được kiểm tra tức thời và ghi chép lại các yếu tố môi trường trước và sau thời điểm đó. Hiện tượng chết lây lan từ vùng này sang vùng khác nghi ngờ do bệnh truyền nhiễm cần được lấy mẫu tức thời. Cần cách ly các động vật nhiễm bệnh với các động vật không nhiễm bệnh cho đến khi xác định được nguyên nhân gây ra tử vong.

M.1.1.2 Các quan sát mặt vỏ ngoài (Mức độ I)

Sinh vật bám (con sum, con hà, bọt biển, giun nhiều tơ, ấu trùng nhuyễn thể hai vỏ, động vật có vỏ bao, động vật dạng rêu, v.v...) là các sinh vật thường gặp trên bề mặt vỏ nhuyễn thể, và thường không đe dọa đến sức khoẻ của nhuyễn thể. **(Hình M.1.1.2a,b).** Tuy nhiên, việc treo lơ lửng và nuôi ở nước nông có thể làm tăng khả năng cho các sinh vật đến bám và vỏ của nhuyễn thể bị các động, thực vật khác sống bao bọc ra ngoài **(Hình M.1.1.2c,d).** Điều này có thể ảnh hưởng trực tiếp đến sức khoẻ động vật do làm cản trở việc mở và đóng vỏ hoặc ảnh hưởng gián tiếp do cạnh tranh nguồn thức ăn. Cả hai trường hợp đều làm suy giảm sức khoẻ nhuyễn thể vì vậy cần phải làm sạch vỏ. Việc loại bỏ sinh vật bám cần được thao tác càng nhanh càng tốt, rút ngắn tối đa thời gian nhấc lên khỏi mặt nước và nên được thực hiện trong khoảng thời gian mát mẻ nhất trong ngày. Để làm sạch nhanh, người ta thường dùng dòng nước có áp lực cao hoặc thiết bị cơ khí. Nhuyễn thể sau khi đã loại bỏ sinh vật bám cần nhanh chóng đưa trở lại môi trường nước sạch. Không được thải các sinh vật bám ra cùng một khu vực có nhuyễn thể, để tránh khả năng bị sinh vật bám lại. Các biểu hiện bị suy yếu vẫn còn hoặc tăng lên sau khi làm sạch cần được điều tra tiếp tục bằng xét nghiệm trong phòng thí nghiệm.

Việc làm tổn thương vỏ do các sinh vật đục vỏ như bọt biển và giun nhiều tơ **(Hình M.1.1.2e,f)** thường gặp trong điều kiện nuôi ở nước thoáng. Dưới những điều kiện nhất định (đặc biệt đối với nhuyễn thể già), vỏ có thể bị giòn hoặc thậm chí bị thủng lỗ. Các tổn thương như vậy sẽ làm yếu nhuyễn thể và làm chúng dễ bị xâm nhiễm bởi các tác nhân gây bệnh.

Sự biến dạng vỏ (Hình dáng, xuất hiện lỗ trên bề mặt vỏ), sự dễ vỡ, vết nứt vỡ cần được chú ý nhưng thường không biểu thị điều kiện của bệnh **(Hình M.1.1.2g, h).** Màu sắc hoặc mùi bất thường cũng có thể là dấu hiệu nhiễm trùng lớp mô mềm và cần được kiểm tra tại phòng xét nghiệm.

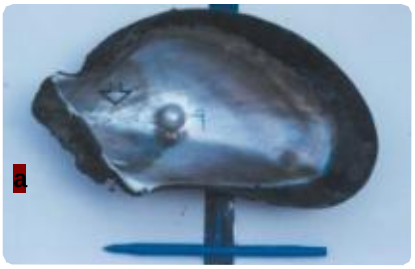
M.1.1.3 Các quan sát mặt vỏ trong (Mức độ I)

Việc xuất hiện sinh vật bám (con sum, bọt biển, giun nhiều tơ, v.v...) ở bề mặt trong của vỏ là dấu hiệu rõ ràng của một động vật nhuyễn thể bị ốm/yếu **(Hình M.1.1.3a** và **Hình M.1.1.3a1).** Mặt trong của vỏ thường được làm sạch nhờ hoạt động của mang và lớp áo.Hiện tượng đục thủng bề mặt trong của vỏ được lấp đầy nhờ sự lắng kết của lớp conchiolin bổ sung và xà cừ **(Hình M.1.1.3b,c).**

(MG Bondad-Reantaso

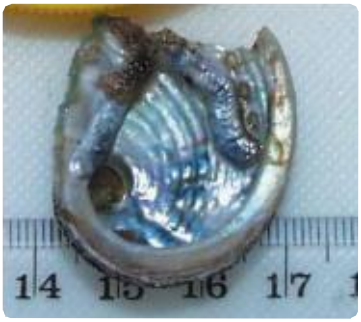
Hình.M.1.1.2g,h. Trai *Pinctada maxima,* vỏ bị bọt biển làm tổn thương do chúng đào thành các hốc thoát- hút trên bề mặt (mũi tên). Các hốc khác (mũi tên nhỏ) là do giun nhiều tơ, ốc hoặc các sinh vật bám khác. Trại ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin (1996)

(MG Bondad-Reantaso)



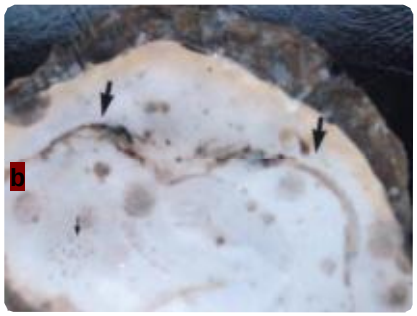
Hình.M.1.1.3a. Vỏ Hầu có cánh *Pteria penguin* bị bọt biển gây tổn thương đục thủng vào tận mặt vỏ bên trong. Trại Ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin (1996)

(B Jones)



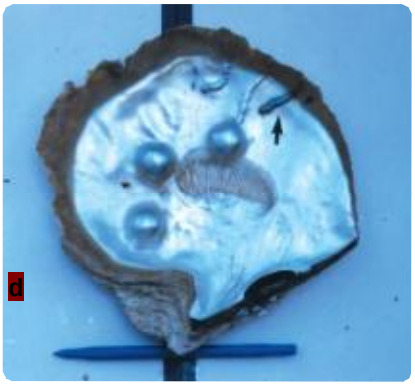
Hình.M.1.1.3a1. Bào ngư (*Haliotis roei*) bị chết do giun

(D Ladra)



Hình.M.1.1.3b,c. b. Dấu hiệu bị xói mòn lớp xà cừ mặt vỏ trong của *Pinctada maxima* (mũi tên), có thể liên quan đến sự co rút màng áo mãn tính. c. Mặt trong của lớp vỏ bị bọt biển đục lỗ xâm nhập hoàn toàn. (mũi tên nhỏ)

(MG Bondad-Reantaso)

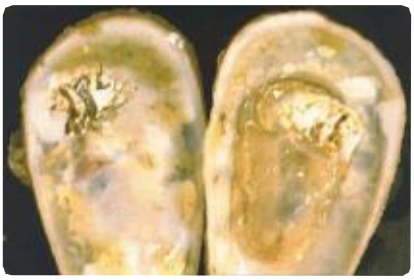


Hình.M.1.1.3d,e,f. Vỏ của trai *Pinctada maxima* (d), *Pteria penguin* (e) và hầu *Crassostrea* sp. (f) bị *Polydora*- đục thành đường ngầm, điều này đã dẫn tới sự hình thành các bọng chứa đầy bùn

(MG Bondad-Reantaso)

Hình.M.1.1.3g. Lớp vỏ bên trong của trai ngọc có cánh cho thấy: các đường ngầm ở mép vỏ (mũi tên thẳng, đậm); đường ngầm do bọt biển (mũi tên trong suốt); và các bọng nước (mũi tên nhỏ, đậm) ở vị trí gắn kết của cơ khép vỏ. Trại Ngọc trai Guian, Đông Philippin (1996)

(SE McGladdery)



Hình.M.1.1.3.h. Sự xâm nhập qua lớp vỏ bởi giun nhiều tơ và bọt biển làm suy yếu và co rút các mô mềm khỏi mép vỏ ở hầu Mỹ *Crassostrea virginica*

Điều này có thể tạo thành một "chỗ phồng" chứa đầy bùn hoặc nước **(Hình M.1.1.3d,e,f).** Vỏ có thể vẫn phủ lên các vật thể kích thích đính kèm vào hoặc xếp lớp sát với vỏ phía trong, quá trình này tạo ra một "viên ngọc phồng" **(Hình.M.1.1.3g).**

Nếu vỏ bị đục thủng hoặc các vật thể kích thích khác vượt quá khả năng tự hồi phục, sức khoẻ của nhuyễn thể sẽ bị đe doạ và dễ bị nhiễm các bệnh cơ hội **(Hình.M.1.1.3.h)**. Có thể xác định mức độ vỏ bị đục thủng bằng cách soi lớp vỏ dưới ánh sáng mạnh.

Khi có các dấu hiệu bất thường ở bên trong lớp cơ chất của vỏ thì cần tiếp tục điều tra, thu mẫu tươi gửi đến phòng xét nghiệm hoặc cố định mẫu để khử canxi về sau.

M.1.1.4 Các bề mặt mô mềm (Mức độ I)

Trạng thái của các mô mềm là chỉ thị thường xuyên cho tình trạng sinh lý của nhuyễn thể. Những đặc điểm chung cần ghi chép bao gồm:

- trạng thái của động vật như: béo- các mô mềm lấp đầy vỏ, căng đều và đục; Bình thường- mô mềm nhũn đục và có thể không lấp đầy khoang vỏ; có chứa nước - các mô mềm có chứa nhiều nước trong suốt và có thể không lấp đầy khoang vỏ **(Hình M.1.1.4a, Hình M.1.1.4b).**
- màu của tuyến tiêu hoá - ví dụ nhợt nhạt, lốm đốm, màu xanh ô liu sẫm
- bất kỳ biểu hiện phình to bất thường của tim hoặc khoang bao tim, ví dụ các khối u ở tim
- sự xuất hiện các ổ tổn thương như: màu sắc bất thường (ví dụ, các đốm màu xanh, đỏ, hồng, đen v.v...)
- mưng mủ **(Hình M.1.1.4c)**
- tổn thương giống như khối u **(Hình M.1.1.4d),** sự ăn mòn mô (ví dụ mang)
- sự xuất hiện các mụn nước trong nội tạng, xúc biện hoặc màng áo **(Hình.M.1.1.4e)**
- sự xuất hiện các viên ngọc hoặc các cặn canxi **(Hình M.1.1.4f)** trong các mô mềm
- sự xuất hiện ký sinh trùng hoặc các sinh vật hội sinh như: cua trong khoang màng áo; trùng chân chèo ký sinh trú trong mang; giun nhiều tơ, giun tròn và sán trong khoang màng áo hoặc trên bề mặt bao quanh **(Hình M.1.1.4g);** giun đỏ (*Mytilicola* spp.) thường thấy khi giải phẫu tuyến tiêu hoá; trùng lông tơ (định cư hoặc bơi tự do) và các động vật nguyên sinh khác (chỉ ở ấu trùng); vi khuẩn (chỉ ở ấu trùng)
- bất kỳ tổn thương cơ học nào (ví dụ dao) cho các lớp mô mềm trong khi mở vỏ.

Các tổn thương mưng mủ, mụn mủ, sự mất màu của mô, sỏi, bọng nước, hiện tượng trong suốt hoặc chứa đầy nước, mang biến dạng,v.v... đều có thể có ở những nhuyễn thể khoẻ mạnh nhưng cần được lưu ý nếu hiện tượng này xuất hiện ở những con yếu hoặc chết. Cần ghi chép mức độ tổn thương của mô và thu mẫu cả động vật nhiễm bệnh và chưa nhiễm bệnh để xét nghiệm trong phòng thí nghiệm. Những con sắp chết hoặc mô có mùi hôi thối thường ít dùng để tiến hành các xét nghiệm tiếp theo (nhất là ở môi trường nước ấm), tuy nhiên cần ghi lại số lượng động vật bị mắc bệnh.

Giun hoặc các sinh vật khác (ví dụ cua, trùng chân chèo, sán) thường thấy ở các mô mềm nhưng không liên quan đến bệnh. Tuy nhiên, nếu chúng có với số lượng lớn ở các động vật nhuyễn thể yếu thì cần ghi chép số lượng và thu các mẫu chưa bị phá huỷ để xét nghiệm và định loại. Cố định mẫu trong dung dịch đệm formalin 10% là thích hợp để bảo quản các đặc điểm cần thiết cho việc định loại tiếp theo.

M.1.2 Các chỉ tiêu môi trường (Mức độ I)

Điều kiện môi trường có ảnh hưởng đáng kể đến sức khoẻ của nhuyễn thể, cả trực tiếp (trong phạm vi chịu đựng sinh lý) và cả gián tiếp (tăng khả năng nhiễm bệnh). Điều này đặc biệt quan trọng đối với các loài nuôi trong điều kiện sống khác biệt đáng kể với tự nhiên (ví dụ hàu sống ở trạng thái treo lơ lửng). Các thông số môi trường quan trọng đối với sức khoẻ nhuyễn thể bao gồm nhiệt độ nước, độ mặn, độ đục, sinh vật bám và sự phát triển quá mức của sinh vật phù du. Những dao động bất thường và nhanh của các thông số này có thể làm tổn thương nghiêm trọng đến sức khoẻ của nhuyễn thể. Những yếu tố tác động bởi con người bao gồm một loạt các chất ô nhiễm hoá học và sinh học. Do nhuyễn thể chủ yếu là các loài sống định cư (đặc biệt trong các điều kiện nuôi) nên chúng đặc biệt nhạy cảm với ô nhiễm. Mặt khác, nhuyễn thể kém chịu đựng đối với một số phương thức lạm dụng/khai thác nguồn nước (ví dụ nạn đánh cá bằng thuốc nổ và cyanua; kéo lưới; sơn dầu và các hợp chất hoá học chống bám khác chất thải nông nghiệp).

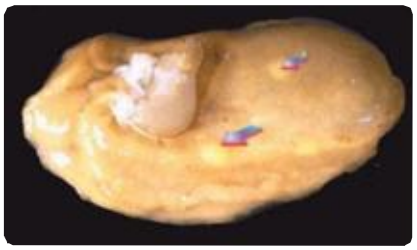
(SE McGladdery)

Hình.M.1.1.4a. Các mô của hầu (*Crassostrea virginica)* ở trạng thái bình thường

(SE McGladdery)

Hình.M.1.1.4b. Các mô chứa nước ở hầu *Crassostrea virginica)* - so sánh với hình M.1.1.4a

(SE McGladdery)



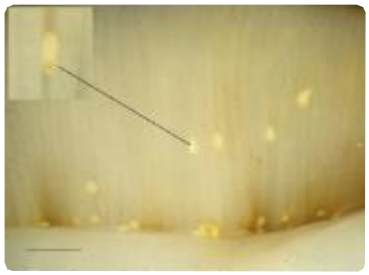
Hình.M.1.1.4c. Những tổn thương mưng mủ (các chấm màu vàng kem) ở lớp màng áo của hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas)*.

(MS Park and DL Choi)

(SE McGladdery)

Hình.M.1.1.4e. Bọng nước ở các mô mềm của ở mép màng áo của hầu Mỹ (*Crassostrea virginica*)

(SE McGladdery)



Hình.M.1.1.4f. Cặn vôi "các viên ngọc" ở mô màng áo của vẹm do tác nhân kích thích là bùn hoặc bào nang giun dẹp

(SE McGladdery and M Stephenson)

Hình.M.1.1.4g. Các đường hào dưới lớp xà cừ ở mép trong của vỏ hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea virginica*), có thêm một con giun nhiều tơ sống tự do *Nereis diversicolor* trên bề mặt trong của vỏ

← Hình.M.1.1.4d. Các tổn thương bề mặt vỏ ở hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas*) do *Marteiliodes chungmuensis*.

Việc lưu giữ số liệu về nhiệt độ, độ mặn (ở vùng cửa sông hoặc vùng bờ biển), độ trong của nước và các tác động xấu do con người sẽ cung cấp các dữ liệu có giá trị, đặc biệt cho việc giải thích chính xác các hiện tượng chết quan sát được và các kết quả phân tích của phòng thí nghiệm.

M.1.3 Các quy trình chung

M.1.3.1 Chuẩn bị trước khi thu mẫu

Nếu có thể, cần xác nhận lại với nhân viên phòng thí nghiệm số mẫu cần để xét nghiệm trước khi thu thập mẫu, Phải bảo đảm rằng mẫu còn nguyên vẹn, nghĩa là không rỗng hoặc vỏ có đầy bùn. Số lượng mẫu dùng để kiểm tra bệnh bao giờ cũng cần đến nhiều hơn so với số mẫu dùng để chẩn đoán bệnh.

M.1.3.2 Thông tin chung (Mức độ I)

Tất cả các mẫu gửi đến phòng xét nghiệm cần được gửi kèm theo càng nhiều thông tin có liên quan càng tốt, cụ thể như sau:

- các nguyên nhân gửi mẫu đến (chết, phát triển/sinh sản bất thường, kiểm tra sức khoẻ, v.v...)
- các quan sát chung và các thông số về môi trường (như đã được mô tả ở phần M.1.1 và M.1.2);
- nếu mẫu được gửi đi do có hiện tượng chết, cần kèm theo tỷ lệ ước tính và các kiểu chết (cấp tính hoặc mãn tính/chết rải rác/hàng loạt) và
- thông tin về nguồn gốc con giống từ địa phương hoặc từ nơi khác đến. Nếu con giống không phải của địa phương, cần thông báo nguồn gốc và thời gian chuyển đến.

Các thông tin trên sẽ giúp xác định nguyên nhân chết là do vận chuyển, thay đổi môi trường hoặc các tác nhân gây bệnh, đồng thời còn giúp chẩn đoán nhanh bệnh hoặc phân tích rủi ro về bệnh.

M.1.3.3 Lấy mẫu để kiểm tra sức khoẻ

Các yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến việc lấy mẫu để kiểm tra bao gồm:

- số lượng mẫu cần đủ lớn (xem bảng M.1.3.3 dưới đây)
- thu mẫu các loài dễ nhiễm bệnh
- mẫu cần đại diện cho các nhóm lứa tuổi hoặc kích cỡ để dễ phát hiện mức độ nhiễm bệnh nhất. Các thông tin như vậy cần tương ứng với các nhóm bệnh riêng.

Số lượng mẫu tiêu chuẩn cần thu để kiểm tra sức khoẻ động vật thủy sản, bao gồm cả nhuyễn thể, được nêu trong bảng M.1.3.3 dưới đây.

M.1.3.4 Lấy mẫu để chẩn đoán bệnh

Tất cả các mẫu thu để chẩn đoán bệnh cần được gửi kèm theo càng nhiều thông tin phụ trợ càng tốt bao gồm:

- nguyên nhân gửi mẫu (do chết, phát triển bất thường, v.v...)
- các hoạt động trong quá trình nuôi (loại bỏ sinh vật bám, phân loại kích cỡ, thay đổi khu nuôi, đưa loài mới hay bổ sung thêm cùng đàn vào, v.v)
- lai lịch và nguồn gốc của quần đàn bị bệnh;
- các thay đổi về môi trường

M.1.3.5 Lấy mẫu sống để vận chuyển (Mức độ I)

Khi số lượng mẫu cần thiết đã được xác định và phòng xét nghiệm đã thông báo thời gian nhận mẫu, lúc đó mới lấy nhuyễn thể ra khỏi nước. Việc này cần tiến hành càng sát thời điểm vận chuyển càng tốt để giảm những thay đổi tích luỹ không khí trong mô và nguy cơ chết trong quá trình vận chuyển. Điều này đặc biệt quan trọng đối với các mẫu nhuyễn thể bị bệnh hoặc sắp chết.

Phòng xét nghiệm cần được thông báo về khoảng thời gian đến để bảo đảm họ có được các vật liệu cần thiết để xử lý mẫu trước khi mẫu đến. Việc này giúp giảm thời gian nhấc ra khỏi mặt nước và bảo quản mẫu để xét nghiệm.

Nhuyễn thể cần được gói trong giấy thấm nước có nước biển bao quanh. Đối với giống cỡ nhỏ dưới 10mm, cần được bao gói trong giấy hoặc cốc styrofoam và chèn khăn giấy ẩm xung quanh để tránh chúng di chuyển trong quá trình vận chuyển. Nhuyễn thể cỡ lớn hơn có thể được vận chuyển riêng trong các túi giữ lạnh (styrofoam hoặc nhựa). Khi có nhiều mẫu cần được giữ lạnh, mỗi mẫu cần được giữ riêng trong túi nhựa có khoá và ghi nhãn rõ ràng. Việc sử dụng các túi nhựa nhằm tránh để nhuyễn thể tiếp xúc với đá lạnh làm từ nước ngọt (do vậy cần chứa đá trong các túi gel-pak hoặc chai

nhựa để giữ lạnh mẫu) và giảm sự thoát dịch màng áo.

Kích cỡ của quần đàn	Tỷ lệ mắc bệnh (%)						
	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	10.0
50	46	46	46	37	37	29	20
100	93	93	76	61	50	43	23
250	192	156	110	75	62	49	25
500	314	223	127	88	67	54	26
1000	448	256	136	92	69	55	27
2500	512	279	142	95	71	56	27
5000	562	288	145	96	71	57	27
10000	579	292	146	96	72	29	27
100000	594	296	147	97	72	57	27
1000000	596	297	147	97	72	57	27
>1000000	600	300	150	100	75	60	30

Bảng M.1.3.3.1[(1)]. Số mẫu cần để phát hiện ra ít nhất có một cá thể bị nhiễm bệnh trong một quần đàn có kích cỡ và một tỉ lệ mắc bệnh đã nêu. Các giả định 2% và 5% mắc bệnh thường được dùng để kiểm tra các tác nhân gây bệnh từ bên ngoài, với độ tin cậy 95%.

Nhãn bao chứa cần ghi rõ:

"Mẫu sống, giữ ở...^{o}C đến...^{o}C, KHÔNG ĐỂ ĐÔNG LẠNH"

Nếu vận chuyển bằng đường hàng không cũng cần ghi rõ:

"GIỮ Ở SÂN BAY VÀ GỌI NGƯỜI ĐẾN NHẬN"

Ghi rõ tên và số điện thoại của người chịu trách nhiệm nhận mẫu ở sân bay hoặc nhận mẫu ở phòng thí nghiệm

Nên chuyển mẫu vào đầu tuần để tránh mẫu đến vào ngày nghỉ cuối tuần có thể làm hư hỏng mẫu do bảo quản không thích hợp. Thông báo tới người nhận ngay khi hàng được gửi đi và nếu có thể, cho họ biết tên của công ty vận chuyển và số vận đơn.

M.1.3.6 Bảo quản các mẫu mô (cố định) (Mức độ I- có tập huấn cơ bản)

Đối với các mẫu không thể vận chuyển sống tới phòng thí nghiệm chẩn đoán, do khoảng cách hoặc do vận chuyển chậm, mẫu cần được cố định (bảo quản) tại chỗ. Việc này thích hợp với xét nghiệm mô tiếp sau, nhưng lại không dùng cho kiểm tra vi khuẩn, nấm hoặc nuôi cấy môi trường (ví dụ nuôi cấy trên môi trường thioglycolate lỏng để xét nghiệm *Perkinsus* spp).Do đó, trước khi thu mẫu các yêu cầu về chẩn đoán phải được thảo luận với nhân viên phòng thí nghiệm.

Có thể sử dụng các dung dịch cố định sau để bảo quản mẫu:

i) dung dịch 1G4F (1% glutaraldehyde: 4% formaldehyde)

* Dung dịch 1G4F gốc - có thể giữ ở 4^{o}C trong 3 tháng

- 120 ml 37-40% dung dịch đệm formalin**
- 20 ml 50% glutaraldehyde
- 360 ml nước máy

**Dung dịch đệm formalin:

- 1 lít 37-40% formaldehyde
- 15 gm disodium phosphate (Na_2HPO_4)

[1]Ossiander, F.J và G. Wedermeyer.1973. Tạp chí của Ủy ban Nghiên cứu nghề cá Canada 30: 1383- 1384.

- 0.06 gm sodium hydroxide (NaOH)
- 0.03 gm phenol đỏ (chỉ thị pH)
- Dung dịch làm việc nên chuẩn bị ngay trước khi sử dụng
- 500 ml nước biển đã lọc
- 500 ml dung dịch gốc 1G4F *

Độ dày của mô yêu cầu khoảng 2-3mm. Có thể bảo quản các mô dài ngày trong dung dịch cố định này ở nhiệt độ phòng. (Có thể cố định các mô dày hơn hoặc toàn bộ cơ thể các động vật bằng dung dịch đệm formalin 10% như dưới đây).

ii) Dung dịch đệm 10% formalin trong nước biển lọc (đây là dung dịch dễ chuẩn bị và bảo quản nhất).

- 10 ml 37-40% dung dịch đệm formalin**
- 90 ml nước biển lọc

Tất cả các mẫu có bề dày dưới 10mm có thể cố định bằng dung dịch này. Nếu mẫu lớn hơn, cắt chúng thành 2 hoặc nhiều mảnh trước khi cố định (phải đảm bảo các mảnh của các loài khác nhau không bị lẫn với nhau).

iii) Dung dịch cố định Davidson.

Mẫu mô có chiều dày tới 10mm có thể được cố định bằng dung dịch Davidson. Trước khi cố định, cần chuyển các mô vào dung dịch ethanol 50% ít nhất trong 2 giờ và sau đó qua dung dịch ethanol 70%, hoặc trực tiếp vào dung dịch isopropanol 70%. Dung dịch cố định cho kết quả tốt nhất có thành phần như sau:

Dung dịch gốc:

- 400 ml glycerin
- 800 ml formalin (37-40% formaldehyde)
- 1200 ml 95% ethanol (hoặc 99% isopropanol)
- 1200 ml nước biển lọc nhân tạo hoặc tự nhiên đã qua lọc.
- Dung dịch làm việc: pha 9 phần dung dịch gốc với 1 phần axit acetic băng

Cần lưu ý:

- Tất cả các dung dịch cố định cần được giữ cách xa nước thoáng và khi sử dụng chú ý không để tiếp xúc với da và mắt.
- Nếu không thể cố định nguyên vẹn động vật nhuyễn thể, cần liên hệ với phòng xét nghiệm chẩn đoán để có chỉ dẫn về việc tách vỏ hoặc lấy ra các mô cần thiết.

M.1.3.7 Vận chuyển các mẫu đã bảo quản (Mức độ I)

Các công ty vận tải (nhất là vận tải hàng không) thường có quy định rất nghiêm ngặt đối với vận chuyển hoá chất, kể cả các mẫu đã được cố định dùng để xét nghiệm chẩn đoán. Xác minh với nhà vận chuyển trước khi thu mẫu để đảm bảo không mất thời gian hoặc thất lạc mẫu do bao gói, dán nhãn, v.v... không đúng quy cách. Nếu các mô được cố định đúng (như hướng dẫn tại mục M.1.3.4), có thể rút cạn gần hết các dung dịch bảo quản hoặc cố định khỏi mẫu vật để vận chuyển. Giữ cho các mô không bị khô càng lâu càng tốt, điều này sẽ giảm thiểu dung tích của dung dịch hoá chất phải vận chuyển. Các mẫu được đóng gói cố định trong thùng chứa bền, kín.

Nhãn thùng chứa cần ghi rõ ràng các thông tin như đối với các mẫu sống (M.1.3.3).

Ghi rõ tên và số điện thoại của người chịu trách nhiệm nhận mẫu tại sân bay hoặc nhận mẫu ở phòng thí nghiệm. Nên chuyển mẫu vào đầu tuần để tránh mẫu đến vào ngày nghỉ cuối tuần có thể làm hư hỏng mẫu do bảo quản không chu đáo. Thông báo tới người có trách nhiệm ngay khi hàng được gửi và nếu được, cả tên của công ty vận chuyển và số vận đơn.

Nếu các mẫu được vận chuyển bằng đường hàng không cần ghi rõ:

"GIỮ Ở SÂN BAY VÀ GỌI NGƯỜI ĐẾN NHẬN"

M.1.4 Lưu giữ - ghi chép (Mức độ I)

Việc lưu giữ ghi chép là cần thiết để quản lý bệnh có hiệu quả. Đối với nhuyễn thể, những yếu tố cần được ghi lại đã được liệt kê ở phần M.1.4.1, M.1.4.2 và M.1.4.3.

M.1.4.1 Các quan sát tổng thể (Mức độ I)

Các quan sát chung có thể bao gồm cả giám sát định kỳ sự sinh trưởng của nhuyễn thể, gồm việc lấy mẫu thứ cấp từ các lồng treo, dây, cọc, hoặc bằng con số ước đoán qua quan sát quần thể.

Đối với các trại giống, thông tin thiết yếu tối thiểu cần được ghi chép là:

- hoạt động cho ăn
- sự tăng trưởng
- tỉ lệ chết

Các quan sát này nên được định kỳ ghi chép hàng ngày đối với ấu trùng và hậu ấu trùng nhuyễn thể, bao gồm ngày, giờ, số bể, bố mẹ (nếu có nhiều hơn một), và nguồn thức ăn (tảo nuôi hoặc nguồn thức ăn khác). Ngày và giờ thay nước của mỗi bể cần được ghi chép, cũng như ngày giờ xiphông vệ sinh bể và khử trùng. Tốt nhất, những ghi chép này nên được người có trách nhiệm về địa điểm/vật nuôi kiểm tra đều đặn.

Đối với các nơi nuôi nhuyễn thể trong nước mở, những thông tin thiết yếu tối thiểu cần được ghi chép bao gồm:

- sinh trưởng
- nhiễm bẩn
- tỷ lệ chết

Những thông tin này nên được ghi chép cùng với ngày, địa điểm và bất cứ hành động gì đã tiến hành (ví dụ như cọ rửa làm sạch, hoặc thu mẫu để xét nghiệm ở phòng thí nghiệm). Tốt nhất, những ghi chép này nên được người có trách nhiệm về địa điểm/vật nuôi kiểm tra đều đặn.

M.1.4.2 Các quan sát môi trường (Mức độ I)

Hoạt động này thích hợp nhất ở các vùng nuôi nước mở, nhưng cũng có thể thực hiện ở các vùng nuôi trên cạn có nước chảy qua hoặc dùng nguồn nước giếng. Số liệu thiết yếu tối thiểu cần được ghi chép bao gồm:

- nhiệt độ
- độ mặn
- độ trong (định tính hoặc đĩa secchi)
- tảo nở hoa
- hoạt động của con người

Tần số quan sát thay đổi tuỳ từng địa điểm. Ở những nơi độ mặn hoặc độ trong ít thay đổi, việc ghi chép có thể chỉ cần tiến hành trong mùa mưa hoặc trong những điều kiện thời tiết đặc biệt. Các vùng khí hậu ôn đới cần được giám sát điều kiện môi trường thường xuyên hơn vùng khí hậu nhiệt đới. Các hoạt động của con người cần được ghi chép theo kiểu "làm gì ghi nấy" để làm cơ sở tham khảo trong trường hợp không xuất hiện bệnh hoặc những thay đổi môi trường có thể coi là nguyên nhân gây ra bệnh.

M.1.4.3 Ghi chép về nuôi thả (Mức độ I)

Thông tin về vận chuyển động vật nhuyễn thể ra hoặc vào trại ương cần được ghi chép, bao gồm:

- nguồn gốc chính xác của con giống/bố mẹ
- tình trạng khi đến
- ngày, giờ và người chịu trách nhiệm nhận lô hàng
- ngày, giờ, địa chỉ nơi đến của lô hàng được vận chuyển ra khỏi trại ương

Nếu có thể không được trộn lẫn các động vật từ các nguồn khác nhau.

Tất cả các hoạt động vận chuyển nhuyễn thể vào hoặc ra khỏi mặt nước mở cần được ghi chép lại, bao gồm:

- nguồn gốc chính xác của nhuyễn thể
- tình trạng khi đến
- ngày, giờ, người chịu trách nhiệm nhận lô hàng
- ngày, giờ, địa chỉ đến của lô hàng được gửi đi.

Ngoài ra, việc vận chuyển con giống trong trại ương, ấp hoặc cơ sở nuôi thịt

cần được ghi ngày tháng để truy xuất trong trường hợp xuất hiện bệnh.

M.1.5 Tài liệu tham khảo

Elston, R.A. 1989. Bacteriological methods for diseased shellfish, pp. 187-215. In: Austin, B. and Austin, D.A. (eds.) Methods for the Microbiological Examination of Fish and Shellfish. Ellis Horwood Ser. Aquac. Fish. Sup.. Wiley and Sons, Chichester, UK.

Elston, R.A. 1990. Mollusc diseases: Guide for the Shellfish Farmer. Washington Sea Grant Program, University of Washington Press, Seattle. 73 pp.

Elston, R.A., E.L. Elliot, and R.R. Colwell. 1982. Conchiolin infection and surface coating Vibrio: Shell fragility, growth depression and mortalities in cultured oysters and clams, Crassostrea virginica, Ostrea edulis and Mercenaria mercenaria. J. Fish Dis. 5:265-284.

Fisher, W.S. (ed.). 1988. Disease Processes in Marine Bivalve Molluscs. Amer. Fish. Soc. Spec. Public. 18. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA.

Howard, D.W. and C.S. Smith. 1983. Histological Techniques for Bivalve Mollusks. NOAA Tech. Memo. NMFS-F/NEC-25.Woods Hole, Massachusetts. 97 pp.

Lauckner, G. 1983. Diseases of Mollusca: Bivalvia, pp. 477-520. In: O. Kinne(ed.) Diseases of Marine Animals Volume II. Introduction Bivalvia to Scaphopoda. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg.

Luna, L.G. 1968. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw-Hill Book Company, New York. 258 pp.

McGladdery, S.E., R.E. Drinnan, and M.F. Stephenson. 1993. A manual of the parasites, pests and diseases of Canadian Atlantic bivalves. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat.Sci. 1931.121 pp.

Ossiander, F.J. and G. Wedermeyer. 1973. Computer program for sample size required to determine disease incidence in fish populations. J. Fish. Res. Bd. Can. 30: 1383-1384.

Pass, D.A., R. Dybdahl, and M.M. Mannion. 1987. Investigations into the causes of mortality of the pearl oyster (Pinctada maxima) (Jamson), in Western Australia. Aquac. 65:149-169.

Perkins, F.O. 1993. Infectious diseases of molluscs, pp. 255-287. In: Couch, J.A. and Fournie, J.W. (eds.). athobiology of Marine and Estuarine Organisms. CRC Press, Boca Raton, Florida.

CÁC BỆNH CỦA NHUYỄN THỂ
M.2 BỆNH BONAMIA (*BONAMIA* SP., *B. OSTREAE*)

M.2.1 Thông tin chung

M.2.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh Bonamia (còn gọi là bệnh vi bào; bệnh hồng cầu ở hầu phẳng hoặc hầu xoắn) gây ra bởi hai loài động vật nguyên sinh thuộc lớp Haplosporidia: *Bonamia ostreae* và *Bonamia* sp. Có thể tìm trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

M.2.1.2 Vật chủ

Bonamia ostreae thường thấy ở *Ostrea edulis* (hầu châu Âu) và *O. conchaphila* (*O. lurida*) (hầu Olympia). Các loại hầu khác thuộc họ *ostreiid* có thể bị nhiễm bệnh khi di chuyển đến các vùng có bệnh, cụ thể là *O. puelchana*, *O. angasi* và *Ostrea lutaria* (*Tiostrea lutaria*) (hầu New Zealand), *Tiostrea chilensis* (*Ostrea chilensis*) (hầu Nam Mỹ), do đó tất cả các loài thuộc giống *Ostrea, Tiostrea* và một số hầu *Crassostrea* (*C. ariakensis*) cũng được xem là mẫn cảm với bệnh. Hiện nay, *Crassostrea gigas* (hầu Thái Bình Dương), *Mytilus edulis* và *M. galloprovincialis* (vẹm ăn được), và *Ruditapes decussatus* và *R. philippinarum* (ngao châu Âu và Manila) được coi là có sức đề kháng bệnh. Những loài này cũng được coi không phải là nguồn bệnh hay mang bệnh cận lâm sàng.

M.2.1.3 Phân bố địa lý

Bonamia ostreae: Thường xuất hiện ở Hà Lan, Pháp, Tây Ban Nha, Italia, Ireland, Vương quốc Anh (không kể Scotland) và Mỹ (các bang California, Maine và Washington). Mặc dù trong những năm đầu của thập kỷ 80, phát hiện thấy hầu bị nhiễm bệnh này ở Đan Mạch nhưng hiện nay loài hầu châu Âu của nước này đã được công nhận là sạch bệnh Bonamia.

Bonamia sp.: Ôxtrâylia (Miền Tây, bang Victoria và Tasmania), và New Zealand (South Island và southern North Island).

M.2.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh động vật thủy sản ở châu Á - Thái Bình Dương(1999-2000b)

Theo báo cáo năm 1999, *Bonamia* sp. đã được ghi nhận là xuất hiện vào tháng 4 tại Ôxtrâylia, tháng 7 và tháng 10 tại Tasmania; tháng 7 và tháng 10 tại miền Tây Ôxtrâylia. Năm 2000, *Bonamia* sp. được báo cáo là xuất hiện tại miền Tây Ôxtrâylia trong tháng 3 và tháng 4. Ở New Zealand, năm 1999 và 2000, hàng tháng đều có báo cáo về sự hiện diện của *Bonamia* sp. (OIE 1999, OIE, 2000b).

M.2.2 Các khía cạnh lâm sàng

Hầu hết các trường hợp nhiễm bệnh đều không xuất hiện các dấu hiệu lâm sàng cho đến khi ký sinh trùng sinh sôi nảy nở đạt đến mức gây ra sự thâm nhiễm và thoát mạch ồ ạt của tế bào máu **(Hình M.2.2.a).** Dấu hiệu bệnh lý biến đổi tuỳ theo loài Bonamia và vật chủ của nó. *Bonamia ostrea* nhiễm vào tế bào máu của loài hầu châu Âu **(Hình M.2.2.b),** tại đây nó phân cắt cho đến khi tế bào máu nổ tung và giải phóng ký sinh trùng vào huyết tương. Bệnh cũng xảy ra tương tự thông qua đường tiêu hoá, nhưng bệnh ở mang còn có thể do con đường khác và đôi khi có thể nhìn thấy bằng mắt thường các tổn thương ở mang. Biểu hiện bệnh lý do *Bonamia* sp. gây ra ở loài hầu *Ostrea angasi* của Ôxtrâylia và loài hầu *Tiostrea chilensis* ở New Zealand là rất khác nhau. Ở loài hầu *Ostrea angasi* của Ôxtrâylia, dấu hiệu nhiễm bệnh đầu tiên là tỉ lệ chết cao. Những con hầu còn sống sót thì rất nhanh mở miệng vỏ khi nhấc ra khỏi nước và có thể có hiện tượng "ứ nước" ở các mô và xuất hiện các đường gồ ghề ở rìa mang (tài liệu chưa công bố của B. Jones, Nghề cá miền Tây Ôxtrâylia). *Bonamia* sp. lây nhiễm vào các vách mang, ống và tuyến tiêu hoá **(Hình M.2.2.c),** từ đây ký sinh trùng sẽ được giải phóng vào ruột và nước xung quanh. Các tế bào máu bị nhiễm bệnh có thể chứa trên 6 ký sinh trùng *Bonamia* **(Hình M.2.2d).** Sự nhiễm bệnh gây ra các thương tổn kiểu áp-xe trên diện rộng (heamocytosis - hiện tượng tiêu huyết cầu), ngay cả khi chỉ có một vài ký sinh trùng. Đối với loài hàu *Tiostrea chilensis*, *Bonamia* sp. xâm nhập qua thành ruột **(Hình M.2.2.e)** sau đó xâm nhiễm vào tế bào máu, tại đây có thể tìm thấy 18 cá thể *Bonamia* trên 1 tế bào máu **(Hình M.2.2f).** Ở hầu *D.angasi,* hiện tượng tiêu huyết cầu do *Tiostrea chilensis* gây ra kém nghiêm trọng hơn. Khi các huyết cầu đã bị nhiễm bệnh xâm nhập vào hệ sinh dục của *Tiostrea chilensis* để tái hấp thụ các tế bào sinh dục không thành thục, ký sinh trùng sinh sản rất nhanh và có thể được giải phóng qua ống dẫn sản phẩm sinh dục. Ký sinh trùng cũng có thể giải phóng ra ngoài thông qua sự hoại tử mô sau khi vật chủ chết. Mặc dù có sự khác nhau trong biểu hiện bệnh lý nhưng các nghiên cứu về xác định trình tự gen cho thấy *Bonamia* sp. ở Ôxtrâylia và ở New Zealand là cùng một loài (theo tài liệu chưa công bố của R. Adlard, Đại học Tổng hợp Queensland, Ôxtrâylia).

M.2.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

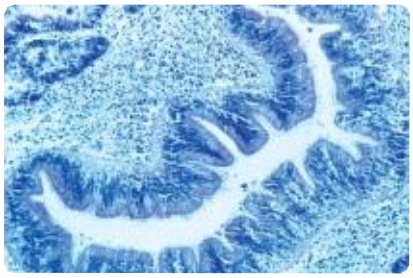
Các phương pháp chi tiết hơn về kiểm tra bệnh có thể tham khảo ở Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của

M.1 Kỹ thuật chung

OIE (OIE 2000a), ở http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

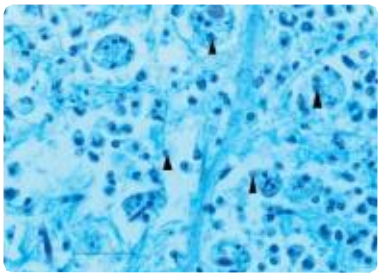
CÁC BỆNH CỦA NHUYỄN THỂ
M.2 BỆNH BONAMIA (*BONAMIA* SP., *B. OSTREAE*)

(SE McGladdery)



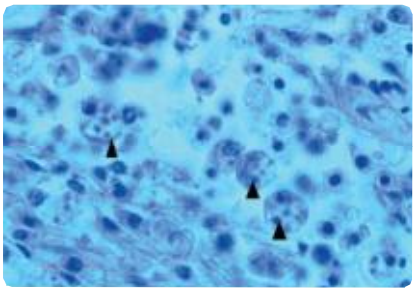
Hình M.2.2 a. Xâm nhiễm tế bào máu và thoát mạch qua thành ruột của hầu châu Âu (*Ostrea edulis*) bị nhiễm *Bonamia ostreae*.

(PM Hine)



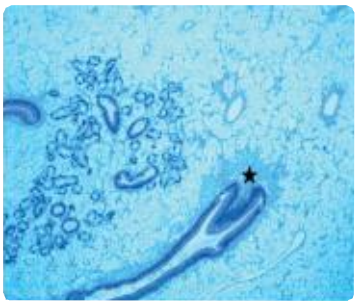
Hình M.2.2d. Ảnh qua kính hiển vi dầu của *Bonamia* sp. gây nhiễm các tế bào máu và nằm tự do (mũi tên) trong huyết tương của loài hầu phẳng Ôxtrâylia *Ostrea angasi* không bị bệnh. Thước tỷ lệ 20 µm (H&E)

(SE McGladdery)



Hình M.2.2 b Ảnh qua kính hiển vi dầu của *Bonamia ostreae* ở bên trong các tế bào máu của loài hầu châu Âu (*Ostrea edulis*) (mũi tên). Thước tỷ lệ 20 µm

(PM Hine)

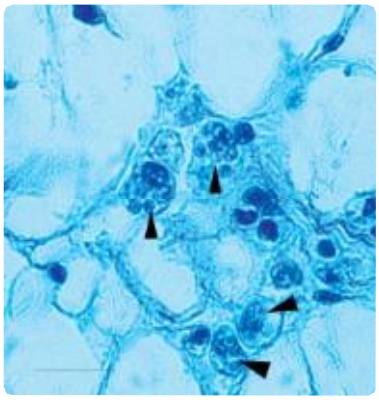


Hình M.2.2 b Xâm nhiễm khu trú của các tế bào máu quanh thành ruột (Hình sao) ở hầu phẳng New Zealand, *Tiostrea lutaria* điển hình của nhiễm *Bonamia* sp. (H&E)

(PM Hine)

Hình M.2.2 c Xâm nhiễm có hệ thống của tế bào máu ở hầu phẳng Ôxtrâylia, *Ostrea angasi* bị nhiễm *Bonamia* sp. Chú ý sự xuất hiện hốc trên thành ruột (H&E).

(PM Hine)



Hình M.2.2 f Ảnh qua kính hiển vi dầu các tế bào máu của hầu,*Tiostrea lutaria* bị nhiễm *Bonamia* sp. (mũi tên).

M.2 Bệnh Bonamia (*Bonamia* sp., *B. ostreae*)

M.2.3.1 Dự chẩn

M.2.3.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Khi ở loài hầu *Ostrea edulis* có biểu hiện chậm lớn, có tổn thương ở mang (trong một số trường hợp), mở miệng và chết thì nên xem xét đến khả năng mắc bệnh Bonamia. Những biểu hiện chung không đặc trưng cho bệnh và đòi hỏi phải kiểm tra mức độ 2.

M.2.3.1.2 Kiểm tra tế bào học (Mức đô II)

Dùng hầu non hoặc tim (tốt nhất là tâm thất) phết hoặc chấm nhẹ lên phiến kính sạch và để khô tự nhiên. Khi đã khô, cố định mẫu bằng cồn methanol 70%. Sử dụng các kit nhuộm máu có bán trên thị trường để nhuộm nhanh và có hiệu quả theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau đó, tiêu bản đã nhuộm được rửa trôi nhẹ nhàng dưới vòi nước, để khô và phủ bằng loại nhựa tổng hợp vẫn dùng làm tiêu bản. Ký sinh trùng có tế bào chất bắt màu kiềm (hoặc không màu như *Bonamia* sp. ở *O. angasi*) và một nhân bắt màu Eosin (tuỳ thuốc nhuộm đã sử dụng). Quan sát mẫu bằng kính soi dầu trong khoảng 10 phút cho mỗi tiêu bản hầu là đủ để kiểm tra bệnh tế bào, vết mô và các tiêu bản mô.

M.2.3.2 Kiểm khẳng định

M.2.3.2.1 Mô bệnh học (Mức độ II)

Nên dùng ít nhất 2 lát cắt lựng - bụng, xuyên qua khoang tim, tuyến sinh dục và mang của hầu trên 18 tháng đến 2 năm tuổi (chiều cao của vỏ lớn hơn 30mm) để kiểm tra bệnh. Những lát cắt này nên được cố định ngay bằng dung dịch cố định nhanh như 1G4F. Các chất cố định như Davidson hoặc nước biển pha 10% formalin đệm cũng có thể dùng cho hầu nguyên con (xem M.1.3.3.3), nhưng không dùng để cố định các lát cắt mô mà sau đó nếu cần phải soi kính hiển vi điện tử. Dung dịch cố định Davidson được dùng cho các kỹ thuật khẳng định tiếp sau của PCR.

Một vài các dung dịch nhuộm tiêu chuẩn (ví dụ như haematoxylin-eosin) có khả năng phát hiện *Bonamia* spp. Các ký sinh trùng này có kích thước 2-5 μm và xuất hiện trong các tế bào máu hoặc biểu mô (như đã mô tả ở trên) hoặc hiếm hơn, bên trong huyết tương hoặc trong xoang ruột, xoang màng áo.

M.2.4 Các phương pháp chẩn đoán

Các phương pháp chẩn đoán chi tiết hơn có thể tham khảo trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), ở http//www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

M.2.4.1 Dự chẩn

M.2.4.1.1 Mô bệnh học và tế bào học (Mức độ II)

Mô học và tế bào học (Mức độ II), như đã mô tả ở mục M.2.3.2.1, có thể được sử dụng. Ở lần chẩn đoán đầu tiên, nên cố định một mẫu mô dự phòng để soi kính hiển vi điện tử (M.2.4.2.1)

M.2.4.2 Kiểm khẳng định

M.2.4.2.1 Kính hiển vi điện tử (Mức độ III)

Mẫu mô để soi kính hiển vi điện tử có thể được cố định bằng dung dịch 1G4F (M.13.3.3), tuy nhiên soi kính hiển vi điện tử sẽ cần để kiểm khẳng định (M.2.4.1.1), các mẫu nhỏ dưới 1mm^3 của mô bệnh nên được cố định trong dung dịch đệm glutaraldehyde pha bằng nước biển. Việc cố định mẫu không nên quá 1 giờ. Có thể lưu mô lâu hơn trong chất cố định glutaraldehyde, tuy nhiên có thể tạo các cấu trúc giả của màng (cấu trúc tạo ra trong quá trình xử lý và thường gây nhiễu cấu trúc của mẫu mô). Sau đó, rửa mô bằng dung dịch đệm thích hợp trước khi cố định lần hai trong dung dịch Osmium tetroxide 1-2% (= axit osmic: độc tính cao). Sau khi cố định lần hai, rửa mô bằng nước biển đã lọc (0,22 μm) trước khi làm khô và phủ resin.

Các mô sau khi cố định lần 2 được bảo quản trong dung dịch đệm thích hợp hoặc phủ resin thích hợp để cắt lát vi phẫu. Lát cắt tiêu bản có độ dày 1 μm được hòa tan trên lam kính và nhuộm bằng dung dịch Toluidine Blue 1%; đây là cách chọn mẫu mô tối ưu để soi phát hiện *Bonamia* spp. Tiêu bản sau đó được đặt lên cái rây bằng đồng để nhuộm chì citrate + uranyl acetate hoặc thuốc nhuộm EM tương đương.

B. ostreae và *Bonamia* sp. có sự khác biệt về siêu cấu trúc như sau:

- Đường kính: *B. ostreae*: 2.4 ± 0.5 μm; *Bonamia* sp. = 2.8 ± 0.4 μm trong *O. angasi* và 3.0 ± 0.3 μm trong *T. chilensis*

- Số lượng ti thể trung bình/lát cắt: *B. ostreae* = 2 ± 1; *Bonamia* sp. = 4 ± 1 ở *O. angasi* và 3 ±1 ở *T. chilensis*

- Số lượng halosporosome trung bình: *B. ostreae* = 7 ± 5;

M.2 Bệnh Bonamia (*Bonamia* sp., *B. ostreae*)

Bonamia sp. = 10 ± 4 ở *O. angas* và 14 ± 6 trong *T. chilensis*

- Tỷ lệ phần trăm các lát cắt có chứa các hạt lipid: *B. ostreae* = 7%; *Bonamia* sp. ở *O. angasi* = 30% và trong *T. chilensis* = 49%.

Cả hai loài đều khác biệt với *Mikrocytos* spp. nhờ có nhân nằm ở vị trí trung tâm. Các thể amip bào của *Bonamia* sp. trong *T. chilensis* khác với *Bonamia ostreae* về kích thước (đường kính: 4,0 - 4,5 µm), tế bào và nhân không đều, các thể vùi tế bào chất vô định hình và các sự sắp xếp của mạng lưới nội chất trơn giống như thể Golgi. Các giai đoạn phát triển khác có mật độ điện tử dày hơn và đường kính nhỏ hơn (3,0 - 3,5 µm).

M.2.5 Các phương thức lan truyền bệnh

Tỷ lệ mắc bệnh và cường độ nhiễm bệnh có xu hướng tăng trong mùa nước ấm với tỉ lệ chết cao nhất vào tháng 9-10 ở Bắc bán cầu và tháng 1 đến tháng 4 ở Nam bán cầu. Rất khó để phát hiện ra ký sinh trùng trước giai đoạn sinh sản hoặc trên những nhuyễn thể còn sống sót sau đợt dịch. Việc sống cộng sinh và xâm nhập vào huyết tương và dịch mô có thể thúc đẩy sự lây nhiễm, nó chứng tỏ rằng việc lan truyền bệnh là trực tiếp (không cần đến ký chủ trung gian). Khi nhiễm *B. ostreae* có thời kỳ tiền phát khoảng 3-5 tháng kể từ khi phơi nhiễm đến khi xuất hiện các triệu chứng lâm sàng. Ở New Zealand, thời kỳ tiền phát của bệnh Bonamia có thể ngắn hơn 2,5 tháng và ít khi vượt quá 4 tháng.

M.2.6 Các biện pháp kiểm soát

Đến nay vẫn chưa có biện pháp hữu hiệu. Sự giảm mật độ nuôi và nhiệt độ nước thấp có thể ngăn chặn biểu hiện triệu chứng của bệnh, tuy nhiên cho đến bây giờ vẫn chưa thành công trong việc trị bệnh triệt để. Nên tránh việc vận chuyển hầu từ vùng nước có dịch bệnh *Bonamia* spp. sang vùng nước chưa bao giờ xuất hiện bệnh

M.2.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Adlard, R.D. and R.J.G. Lester. 1995. Development of a diagnostic test for *Mikrocytosroughleyi*, the aetiological agent of Australian winter mortality in the commercial rockoyster, *Saccostrea commercialis* (Iredale & Roughley). *J. Fish Dis.* 18: 609-614.

Balouet, G., M. Poder, and A. Cahour. 1983. Haemocytic parasitosis: Morphology and pathology of lesions in the French flat oyster, *Ostrea edulis* L. *Aquac.* 43: 1-14.

Banning, P. van 1982. The life cycle of the oyster pathogen *Bonamia ostreae* with a presumptive phase in the ovarian tissue of the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *Aquac.* 84: 189-192.

Barber, B.J. and C. Davis. 1994. Prevalence of *Bonamia ostreae* in *Ostrea edulis* populations in Maine. *J. Shellfish Res.* 13: 398 (abstract).

Carnegie, R.B., B.J. Barber, S.C. Culloty, A.J. Figueras, and D.L. Distel. 2000. Development of a PCR assay for detection of the oyster pathogen *Bonamia ostreae* and support for its inclusion in the Haplosporidia. *Dis. Aquat. Org.* 42(3): 199-206.

Culloty, S.C., B. Novoa, M. Pernas, M. Longshaw, M. Mulcahy, S.W. Feist, and A.J. Figueras.1999. Susceptibility of a number of bivalve species to the protozoan parasite *Bonamia ostreae* and their ability to act as vectors for this parasite. *Dis. Aquat. Org.* 37(1): 73-80.

Dinamani, P., P.M. Hine, and J.B. Jones. 1987. Occurrence and characteristics of the hemocyte parasite *Bonamia* sp. on the New Zealand dredge oyster *Tiostrea lutaria*. *Dis Aquat. Org.* 3: 37-44.

Farley, C.A., P.H. Wolf, and R.A. Elston. 1988. A long term study of "microcell" disease in oysters with a description of a new genus, *Mikrocytos* (g.n.) and two new species, *Mikrocytos mackini* (sp.n.) and *Mikrocytos roughleyi* (sp.n.). *Fish. Bull.* 86: 581-593.

Friedman, C.S. and F.O. Perkins. 1994. Range extensiion of *Bonamia ostreae* to Maine, U.S.A. *J. Inverteb. Pathol.* 64: 179-181.

Hine, P.M. 1991. Ultrastructural observations on the annual infection pattern of *Bonamia* sp. in flat oysters, *Tiostrea chilensis*. *Aquac.* 93: 241-245.

McArdle, J.F., F. McKiernan, H. Foley, and D.H. Jones. 1991. The current status of *Bonamia* disease in Ireland. *Aquac.* 93:273-278.

Mialhe, E., E. Bachere, D. Chagot, and H. Grizel. 1988. Isolation and purification of the protozoan *Bonamia ostreae* (Pichot *et al.*, 1980), a parasite affecting flat oyster *Ostrea edulis* L. *Aquac.* 71: 293-299.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35 p.

M.2 Bệnh Bonamia (*Bonamia* sp., *B. ostreae*)

M.3.1 Thông tin chung

M.3.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh Marteilia do 2 loại ký sinh trùng thuộc ngành Paramyxea gây ra. *Marteilia refringens* gây ra bệnh Aber (bệnh tuyến tiêu hoá) ở loài hầu châu Âu (*Ostrea edulis*) và *Marteilia sydneyi* gây ra bệnh QX ở *Saccostrea glomerata* (syn. *Crassostrea commercialis, Saccostrea commercialis*) và có thể ở *Saccostrea echinata.* Thông tin thêm về bệnh có thể tham khảo trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

M.3.1.2 Vật chủ

Hầu *Ostrea edulis* bị nhiễm *Marteilia refringens*. Các vật chủ khác là *Tiostrea chilensis, Ostrea angasi, O. puelchana, Cerastoderma (= Cardium) edule, Mytilus edulis, M. galloprovincialis, Crassostrea gigas* và *C. virginica. Marteilia sydneyi* nhiễm *Saccostrea glomerata* và có thể ở cả *S. echinata.* Một loại Marteilia khác, *Marteilia maurini*, lây nhiễm lên vẹm (*Mytilus edulis* và *M. galloprovincialis*) ở Pháp, Tây Ban Nha và Ý. Loại ký sinh trùng này khó phân biệt với *M. refringens* về hình thái học và các đặc tính đặc trưng của loài đang được nghiên cứu. Một loài Marteilia chưa xác định được tên đã gây ra hiện tượng chết hàng loạt ở loài điệp Calico (*Argopecten gibbus*) tại bang Florida vào những năm cuối thập kỷ 80, nhưng kể từ đó không thấy xuất hiện trở lại. Ngoài ra còn có một loài Marteilia giống như loài đã được ghi nhận ở loại ngao khổng lồ *Tridacna maxima*. Các loài Marteilia khác đã được miêu tả gồm *M.lengehi* từ Saccostrea *(Crassostrea) cucullata* (Vịnh Ba-tư và Tây Bắc Ôxtrâylia) và *M. christenseni* từ *Scrobicularia plana* (Pháp). Có sự khác nhau về các vật chứa trong bào chất của túi bào tử ở *M. refringens* và *M. sydneyi.*

M.3.1.3 Phân bố địa lý

Marteilia refringens được tìm thấy trong *O. edulis* ở miền nam nước Anh, Pháp, Ôxtrâylia, Bồ Đào Nha, Tây Ban Nha. Marốc và Hy Lạp. *M. sydney* được tìm thấy trong *S. glomerata* ở Ôxtrâylia (bang New South Wales, Queensland và miền Tây Ôxtrâylia).

M.3.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh động vật thủy sản ở châu Á - Thái Bình Dương (1999-2000)

Trong 2 năm này không thấy có báo cáo về sự xuất hiện của bệnh ở các nước. Hầu hết các nước không có thông tin về sự xuất hiện của bệnh (OIE 1999, OIE 2000b).

M.3.2 Các khía cạnh lâm sàng

Các giai đoạn phát triển sớm của *Marteilia refringens* diễn ra ở ống tiêu hoá, biểu mô ruột, biểu mô dạ dày và mang **(Hình M.3.2a).** Sau đó, các giai đoạn hình thành bào tử xuất hiện ở biểu mô ống tiêu hoá nhỏ (ruột tịt) **(Hình M.3.2b).** Sự sinh sản của ký sinh trùng thường gắn liền với sự tiêu hao lượng glycogen dự trữ, hiện tượng chuyển màu của tuyến tiêu hoá, ngừng ăn và suy nhược ở vật chủ. Vật chủ chết có liên quan đến sự hình thành bào tử của ký sinh trùng và sự đứt gãy biểu mô ống tiêu hoá.

M.3.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Các phương pháp kiểm tra bệnh chi tiết hơn có thể tham khảo trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a) ở http://www.oie.int, hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

M.3.3.1 Dự chẩn

M.3.3.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Chậm lớn, há miệng vỏ và chết ở *Ostrea edulis,* và các loài khác nhậy cảm với bệnh nên nghĩ tới bệnh Marteilia. Các biểu hiện chung không điển hình đối với bệnh Bonamia hoặc Marteilia đòi hỏi kiểm tra ở mức độ II.

M.3.3.1.2 Làm tiêu bản mô (Mức độ II)

Cắt lát qua tuyến tiêu hoá, thấm hết nước bằng giấy thấm và đặt trên một lam kính sạch. Cố định tiêu bản bằng Methanol 70% trong 2-3 phút. Có thể thực hiện việc nhuộm màu nhanh và có hiệu quả bằng bộ kít nhuộm màu có bán ở thị trường, theo những chỉ dẫn của nhà sản xuất. Sau đó rửa nhẹ nhàng tiêu bản đã nhuộm dưới vòi nước, để khô và rồi phủ bằng loại nhựa tổng hợp vẫn dùng để làm tiêu bản. Hình thái học của ký sinh trùng được mô tả ở phần mô học (M.3.3.2.1), mặc dù màu sắc có thể biến đổi tuỳ theo thuốc nhuộm đã lựa chọn. Kiểm tra bệnh bước đầu bằng việc nhuộm haematoxylin hoặc trichrome, như đã được sử dụng đối với với mô học, có thể kết hợp cùng với các đặc tính của tiêu bản cố định mô trước khi sử dụng phương pháp thử nhanh. Quan sát 10 phút ở độ phóng đại 10 - 25X được xem là đủ để kiểm tra bệnh.

M.3 BỆNH MARTEILIA
(*MARTEILIA REFRINGENS*, *M. SYDNEYI*)

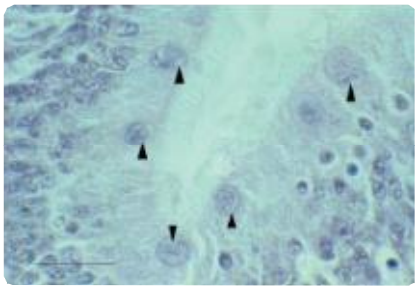
M.3.3.2 Kiểm khẳng định

M.3.3.2.1 Mô bệnh học (Mức độ II)

Để kiểm tra bệnh nên dùng hai lát tiêu bản mô qua phần lưng bụng (dày 2-3 mm). Các mô này có thể lấy từ hầu trên 18 - 24 tháng tuổi (hoặc chiều cao vỏ lớn hơn 30 mm) để cố định nhanh trong chất cố định nhanh, ví dụ như 1G4F. Dung dịch Davidson hoặc formalin đệm 10% có thể được sử dụng cho các mẫu có kích thước lớn hơn hoặc cho hầu nguyên con (xem M.1.3.3.3) nhưng không tối ưu nếu sau đó cần phải soi kính hiển vi điển tử (M.3.4.2.1), (ví dụ, để xác định loài). Một số thuốc nhuộm tiêu chuẩn (ví dụ như haematoxylin-eosin) có khả năng phát hiện *Marteilia* spp.

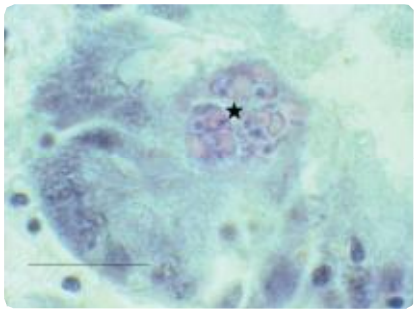
Các giai đoạn phát triển sớm diễn ra ở dạ dày, ruột và biểu mô ống tiêu hoá (thường ở vùng đỉnh của tế bào) và xuất hiện dưới dạng các thể vùi hình cầu, có hạt và ưa kiềm. **(Hình M.3.2a).** Những giai đoạn sau đó diễn ra trong ống tiêu hoá nhỏ, nơi mà sự hình thành bào tử có thể làm cho tế bào bị nhiễm phình to ra. Các bào tử của *Marteilia* spp. có chứa các thể bắt màu Eosin và khúc xạ; các thể này được phát hiện dễ dàng dưới kính hiển vi ở độ phóng đại 10-25X.

(SE McGladdery



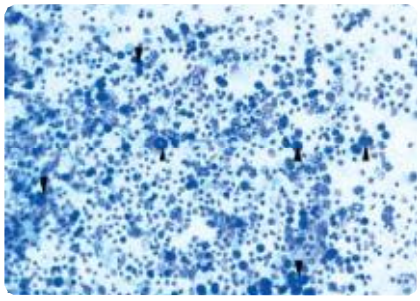
Hình.M.3.2a Ống tiêu hoá của hầu châu Âu, *Ostrea edulis* cho thấy sự nhiễm thể hợp bào dạng amíp (mũi tên) của *Marteilia refringrens* ở vùng ngoài của các tế bào biểu mô. Thước đo tỷ lệ 15 μm (H&E)

(SE McGladdery)

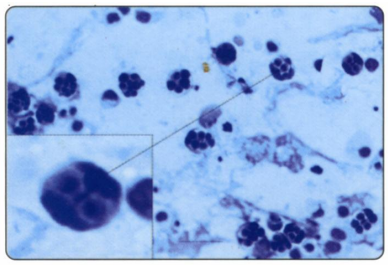


Hình.M.3.2b. Ống tiêu hoá của hầu châu Âu, *Ostrea edulis*, cho thấy giai đoạn bào tử khúc xạ của *Marteilia refringrens* (ngôi sao). Thước đo tỷ lệ 50 μm (H&E)

(RD Adlard)



Hình.M.3.4.1.1a. Mẫu mô từ hầu đá Sydneyi, *Saccostrea commercialis* bị nhiễm nặng *Marteilia sydneyi* (mũi tên) (bệnh QX).Thước đo tỷ lệ 250 μm (H&E)



Hình.M.3.4.1.1b. Ảnh qua kính hiển vi dầu của mẫu mô ép giai đoạn bào tử của *Marteilia sydneyi* ở hầu đá Sydney (*Saccostrea commercialis*); ở ảnh phóng to đính kèm ở góc cho thấy 2 bào tử trong túi bào tử. Thước đo tỷ lệ 50 μm (H&E)

M.3 Bệnh Marteilia
(*Marteilia refringens*, *M. sydneyi*)

M.3.4 Các phương pháp chẩn đoán

Để tìm hiểu thêm về các phương pháp chẩn đoán chi tiết hơn có thể tham khảo Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE; ở http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

M.3.4.1 Dự chẩn

M.3.4.1.1. Làm tiêu bản mô (Mức độ II)

Như đã nói ở mục M.3.3.1.2, có thể dùng các tiêu bản mô để dự chẩn **(Hình M.3.4.1.1a,b).** Lần chẩn đoán đầu tiên, nên cố định mẫu mô dự phòng để chẩn đoán khẳng định bằng mô học và kính hiển vi điện tử.

M.3.4.1.2. Mô bệnh học (Mức độ II)

Có thể sử dụng kỹ thuật mô học như đã miêu tả ở M.3.3.2.1. Ở lần chẩn đoán đầu tiên, nên cố định một mẫu mô dự phòng để quan sát kính hiển vi điện tử, như mô tả ở dưới đây.

M.3.4.2 Kiểm khẳng định

M.3.4.2.1. Kính hiển vi điện tử (Mức độ III)

Tiêu bản mô để soi kính hiển vi điện tử phải được cố định hoặc trong dung dịch 1G4F (M.1.3.3.3) hoặc các mẫu mô nhiễm bệnh (< 1mm^3) thì sử dụng dung dịch đệm và hỗn hợp glutaraldehyde cho nước biển lọc bao quanh. Mô cố định bằng gluteraldehyde 2-3% trong thời gian không quá 1 giờ là tốt nhất vì nếu lưu giữ dài thời gian hơn có thể dẫn đến cấu trúc giả của màng. Mô cố định bằng dung dịch 1G4F trong thời gian 12-24h. Sau khi cố định mô, rửa mô bằng dung dịch đệm thích hợp và cố định lần 2 bằng dung dịch osmium tetroxide 1-2% (OsO_4 = axit osmic - độ độc cao) trong vòng 1h. Rửa dung dịch cố định OsO_4 bằng nước biển lọc (0,22µm) trước khi làm khô và phủ resin.

Các mô sau khi đã cố định có thể được bảo quản trong dung dịch đệm hoặc được phủ resin thích hợp để cắt lát vi phẫu. Hoà tan lát cắt tiêu bản 1micron trên lam kính thủy tinh bằng dung dịch toluidine blue 1%, đây là phương pháp chọn mẫu mô tối ưu để soi phát hiện *Marteilia* spp. Tiêu bản sau đó được đặt lên lưới đồng (có phủ formvar hoặc không) và nhuộm chì citrate + uranyl acetate (hoặc thuốc nhuộm EM tương đương).

Hợp bào *Marteilia refringens* có chứa những thể vùi dạng khía, 8 mầm bào tử, 4 bào tử tạo thành môt túi bào tử trưởng thành. *Marteilia sydneyi* có một lớp màng đồng tâm dày bao quanh bào tử trưởng thành, không có những thể vùi dạng khía ở trong hợp bào, trong mỗi hợp bào hình thành 8-16 mầm bào tử và trong mỗi túi bào tử chứa 2 bào tử (rất hiếm khi có 3 bào tử).

M.3.4.2.2 Lai tại chỗ (Mức độ III)

Kỹ thuật này hiện đang trong giai đoạn hoàn thiện chưa phổ biến. Thông tin về tình hình hiện nay của kỹ thuật này và các kỹ thuật dò phân tử liên quan có thể tìm thấy ở Phòng thí nghiệm IFREMER, ở La Tremblade, Pháp (OIE 2000a, Phụ lục MAI).

M.3.5 Các phương thức lan truyền bệnh

Sự lan truyền của *Marteilia refringens* chỉ xảy ra trong thời kỳ nhiệt độ nước lớn hơn 17^{o}C. Độ mặn cao có thể cản trở sự tăng sinh của *Marteilia* spp. trong mô của vật chủ. Sự lan truyền của *Marteilia sydneyi* cũng mang tính thời vụ, thường xuất hiện trong khoảng giữa đến cuối mùa hè (tháng 1 - 3). Hiện tượng chết nhiều và hình thành bào tử xuất hiện quanh năm. Đường lây nhiễm và vòng đời của ký sinh trùng bên ngoài vật chủ động vật thân mềm vẫn chưa được biết đến. Tuy vẫn chưa thành công trong việc gây nhiễm bệnh này bằng con đường thực nghiệm nhưng một vật chủ trung gian đang được nghi ngờ. Điều này được củng cố bởi các nghiên cứu mới đây cho thấy bào tử không thể tồn tại hơn 7-10 ngày sau khi rời cơ thể hầu. Nhiệt độ thấp kéo dài thời gian tồn tại (ở nhiệt độ 15^{o}C ký sinh trùng có thể tồn tại 35 ngày). Bào tử tồn tại trong có thể cá và chim tối đa 2 giờ, do đó chúng không phải là đường phát tán hoặc lan truyền bệnh.

M.3.6 Các biện pháp kiểm soát

Hiện nay vẫn chưa có biện pháp hữu hiệu. Độ mặn cao ngăn cản biểu hiện lâm sàng của bệnh, tuy nhiên, cho đến nay chưa có cách để tiêu diệt bệnh triệt

để. Nên tránh vận chuyển hầu và vẹm từ vùng nước có bệnh Marteilia sang vùng nước chưa bao giờ xuất hiện bệnh.

M.3.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Anderson, T.J., R.D. Adlard, and R.J.G. Lester. 1995. Molecular diagnosis of *Marteilia sydneyi* (Paramyxea) in Sydney rock oysters, *Saccostrea commercialis* (Angas). *J. Fish Dis.* 18(6): 507-510.

Auffret, M. and M. Poder. 1983. Studies of *Marteilia maurini*, parasite of *Mytilus edulis* from the north coasts of Brittany. Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes, Nantes 47(1-2): 105-109.

Berthe, F.C.J., M. Pernas, M. Zerabib, P. Haffner, A. Thebault, and A.J. Figueras. 1998. Experimental transmission of *Marteilia refringens* with special consideration of its life cycle. Dis. Aquat. Org. 34(2): 135-144.

Berthe, F.C.J., F. Le Roux, E. Peyretaillade, P. Peyret, D. Rodriguez, M. Gouy, and C.P. Vivares. 2000. Phylogenetic analysis of the small subunit ribosomal RNA of *Marteilia refringens* validates the existence of Phylum Paramyxea (Desportes and Perkins, 1990). J. Eukaryote Microbiol. 47(3): 288-293.

Comps, M. 1983. Morphological study of *Marteilia christenseni* sp.n., parasite of Scrobicularia piperata P. (Mollusc, Pelecypod). Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes Nantes 47(1-2): 99-104.

Hine, P.M. and T. Thorne. 2000. A survey of some parasites and diseases of several species of bivalve mollusc in northern Western Australia. Dis. Aquat. Org. 40(1): 67 -78.

Kleeman, S.N. and R.D. Adlard. 2000. Molecular detection of *Marteilia sydneyi*, pathogen of Sydney rock oysters. Dis. Aquat. Org. 40(2):137-146.

Montes, J., M.A. Longa, A. Lama, and A. Guerra. 1998. Marteiliosis of Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) reared in Galicia NW pain. Bull. Europ. Soc. Fish Pathol. 18(4): 124-126.

Moyer, M.A., N.J. Blake, and W.S. Arnold. 1993. An ascetosporan disease causing mass mortality in the Atlantic calico scallop, *Argopecten gibbus* (Linnaeus, 1758). J. Shellfish Res. 12(2): 305-310.

Norton, J.H., F.O. Perkins, and E. Ledua. 1993. Marteilia-like infection in a giant clam, *Tridacna maxima*, in Fiji. Journal of Invertebrate Pathol- ogy 61(3): 328-330.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office International des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Renault, T., N. Cochennec, and B. Chollet. 1995. Marteiliosis in American oysters *Crassostrea virginica* reared in France. Dis. Aquat. Org. 23(3): 161-164.

Robledo, J.A.F. and A. Figueras. 1995. The ef- fects of culture-site, depth, season and stock source on the prevalence of *Marteilia refringens* in cultured mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Galicia, Spain. J. Parasitol. 81(3): 354-363.

Roubal, F.R., J. Masel, and R.J.G. Lester. 1989. Studies on *Marteilia sydneyi*, agent of QX dis- ease in the Sydney rock oyster, Saccostrea commercialis, with implications for its life-cycle. Aust. J. Mar. Fresh. Res. 40(2): 155-167.

Villalba, A., S.G. Mourelle, M.C. Lopez, M.J. Caraballal, and C. Azevedo. 1993. Marteiliasis affecting cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* of Galicia (NW Spain). 1. Etiology, phases of the infection, and temporal and spatial variability in prevalence. Dis. Aquat. Org. 16(1): 61-72.

Villalba, A., S.G. Mourelle, M.J. Carballal, and C. Lopez. 1997. Symbionts and diseases of farmed mussels Mytilus galloprovincialis throughout the culture process in the Rias of Galicia (NW Spain). Dis. Aquat. Org. 31(2):127-139.

Wesche, S.J., R.D. Adlard, and R.J.G. Lester. 1999. Survival of spores of the oyster pathogen *Marteilia sydneyi* (Protozoa, Paramyxea) as assessed using fluorogenic dyes. Dis. Aquat. Org. 36(3): 221-226.

M.3 Bệnh Marteilia
(*Marteilia refringens*, *M. sydneyi*)

M 4.1 Thông tin chung

M 4.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh Mikrocytos gây nên bởi hai loài ký sinh trùng có quan hệ phân loại không chắc chắn. Loài *Mikrocytos mackini* gây bệnh Denman Island (bệnh vi bào) trên các loài hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas)* và *Mikrocytos roughleyi* là tác nhân gây bệnh mùa đông Ôxtrâylia (bệnh mùa đông, bệnh vi bào) trên loài hầu đá Sydney *Saccostrea glomerata*. Tham khảo thêm các thông tin về bệnh ở Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (2000a).

M.4.1.2 Vật chủ

Mikrocytos mackini gây bệnh một cách tự nhiên cho loài *Crassostrea gigas* (hầu Thái Bình Dương). Các loài *Ostrea edulis* (hầu châu Âu), *O. conchaphila* (= *O. lurida*) (hầu Olympia) và *Crassostrea virginica* (hầu Mỹ) sống ở những vùng nước có dịch bệnh cũng rất dễ mắc bệnh này.

Mikrocytos roughleyi chỉ gây bệnh cho hầu đá *Sydney Saccostrea glomerata (Crassostrea commercialis, Saccostrea commercialis).*

M.4.1.3 Phân bố địa lý

Mikrocytos mackini chỉ xuất hiện ở những khu vực nhất định quanh đảo Vancouver, bờ biển Tây Nam của bờ biển Thái Bình Dương của Canada. Ký sinh trùng chỉ sống giới hạn ở vùng nước có nhiệt độ dưới 12°C. *Mikrocytos roughleyi* xuất hiện từ giữa đến phía nam của New South Wales, và ở Albany, Carnarvon của Tây Ôxtrâylia.

M.4.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về dịch bệnh động vật thủy sản vùng châu Á-Thái Bình Dương (1999-2000)

Trong thời gian từ 1999 đến 2000 không có báo cáo nào về bệnh này. Lần xuất hiện dịch bệnh này gần đây nhất là năm 1996 tại Australia (vùng New South Wales và Tây Australia). Hầu hết các nước đều khống có thông tin gì về việc xuất hiện của bệnh này (theo OIE 1999, OIE 2000b).

M.4.2 Các khía cạnh lâm sàng

Mikrocytos mackini bắt đầu nhiễm vào các tế bào mô liên kết bọt gây ra ngưng kết tế bào máu và tạo thành ổ áp xe. Những ổ mụn lớn **(Hình M.4.2a),** các tổn thương áp xe và những chỗ loét mô, tập trung chủ yếu trên lớp màng áo, tương ứng với những vết sẹo nâu trên bề mặt liền kề với lớp vỏ bên trong. Tuy nhiên, những tổn thương này không xuất hiện thường xuyên. Những tế bào nhỏ, đường kính 1-3 µm, thỉnh thoảng được tìm thấy xung quanh vùng tổn thương sớm hoặc trong các tế bào mô liên kết ở các giai đoạn chớm mắc bệnh. Sự nhiễm bệnh nặng thường chỉ xảy ra đối với hầu 2 năm tuổi trở lên.

Mikrocytos roughleyi gây nhiễm nội bào các tế bào máu (không bao giờ nhiễm trên các tế bào mô liên kết), đây là nguyên nhân gây nên những tổn thương khu trú trên mang, ống tiêu hóa và sinh dục.

M.4.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Có thể tìm trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), trên website http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc để có thêm thông tin chi tiết về các phương pháp kiểm tra bệnh.

M.4.3.1 Dự chẩn

M.4.3.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Khi thấy các loài *Crassostrea gigas* và *Saccostrea glomerata* chậm lớn, há miệng và chết, có thể nghi ngờ chúng bị bệnh Mikrocytos. Những biểu hiện chung là không đặc hiệu về tác nhân gây bệnh và cần phải kiểm tra mức độ II, ít nhất cho những lần quan sát đầu tiên.

M.4.3.1.2 Kiểm tra tế bào và làm tiêu bản mô (Mức độ II)

Chấm nhẹ mẫu tim lên lam kính sạch và để khô trong không khí. Ngay sau khi khô, cố định mẫu bằng methanol 70%. Sử dụng các kit nhuộm máu có bán trên thị trường theo hướng dẫn của nhà sản xuất sẽ nhuộm nhanh và hiệu quả. Lam kính sau khi nhuộm được rửa nhẹ nhàng ở vòi nước máy, để khô và phủ lên trên một lớp nhựa tổng hợp vẫn dùng làm tiêu bản. Ký sinh trùng nội bào trong các tế bào máu phù hợp với mô tả trên đây về mô học. Kỹ thuật này thông dụng cho loài *M. roughleyi* hơn là *M. mackini.*

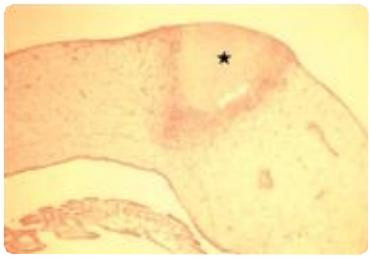
Cắt các lát mô xuyên qua các mô áo (đặc biệt nơi có những ổ áp xe/loét, nếu có) và dùng giấy thấm hút hết nước. Chấm nhẹ lát cắt lên lam kính sạch, cố định 2-3 phút trong methanol 70% rồi nhuộm. Sử dụng các kít nhuộm máu trên thị trường theo hướng dẫn của nhà sản xuất sẽ nhuộm nhanh và hiệu quả. Các lam kính sau khi nhuộm được rửa trôi nhẹ nhàng ở vòi nước máy, làm khô và phủ lên trên một lớp nhựa tổng hợp vẫn dùng để làm tiêu bản.

M.4 BỆNH MIKROCYTOS (*MIKROCYTOS MACKINI, M. ROUGHLEYI*)

(SM Bower)

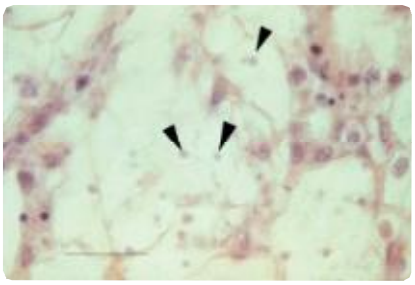
Hình.M.4.2a. Những tổn thương áp xe (mũi tên) trên bề mặt các mô áo của hầu Thái Bình Dương *(Crassostrea virginica)* do *Mikrocytos mackini* gây ra bệnh nặng (bệnh đảo Denman).

(SM Bower)



Hình.M.4.3.2.1a. Lát cắt mô qua vùng áp xe mô áo- tương ứng với vùng tổn thương ở hình M.4.2a, do *Mikrocytos mackini* gây ra cho loài hầu Thái Bình Dương *(Crassostrea virginica)* (H&E).

(SM Bower)



Hình.M.4.3.2.1b. *Mikrocytos mackini* (mũi tên) nhìn dưới kính hiển vi soi dầu trong các mô liên kết quanh vùng bị tổn thương áp xe đã có ở hình M.4.3.2.1a. Thước đo tỷ lệ 20 µm (H&E).

Hình thái học ký sinh trùng được mô tả qua mô học ở mục M.4.3.2.1, mặc dù màu sắc có thể thay đổi tuỳ thuốc nhuộm đã chọn. Việc kiểm tra bệnh ban đầu bằng nhuộm haematoxilin hoặc trichrome, như dùng trong mô học có thể giúp in dấu các đặc điểm của mô rõ hơn trước khi sử dụng phương pháp thử nhanh. Quan sát bằng kính soi dầu trong 10 phút là đủ để kiểm tra bệnh.

M.4.3.2 Kiểm khẳng định

M.4.3.2.1 Mô bệnh học (Mức độ II)

Để kiểm tra bệnh nên kiểm tra ít nhất là hai lát cắt qua lưng bụng (2-3mm) ở mỗi con hầu bằng phương pháp soi kính hiển vi dầu. Nên cố định ngay những lát cắt từ những con hầu trên 2 năm tuổi (hoặc chiều cao của vỏ > 30mm) bằng chất cố định nhanh như 1G4F. Dung dịch Davidson hoặc đệm formalin 10% thường được sử dụng cho hầu có kích thước nhỏ hơn hoặc hầu nguyên con (xem **Hình 1.3.3.3**) nhưng các chất cố định này không tối ưu nếu sau đó cần phải kiểm khẳng định bằng kính hiển vi điện tử (M.4.4.2.1), hoặc định danh loài, nếu cần. Không nên sử dụng hầu có kích thước nhỏ hơn để kiểm tra bệnh Mikrocytos. Nên chọn những lát cắt qua vùng có xuất hiện mụn mủ, áp xe hoặc loét nếu có. Một số thuốc nhuộm tiêu chuẩn (như haematoxilin-eosin) cho phép phát hiện được *Mikrocytos* spp.

Mikrocytos mackini xuất hiện dưới dạng các thể vùi trong tế bào chất của các mô liên kết ngay gần các tổn thương dạng áp xe **(Hình M.4.3.2.1a,b).** Cũng có thể thấy trong các tế bào cơ, ít gặp hơn trong tế bào máu hoặc dạng tự do trong vùng bị tổn thương. *Mikrocytos mackini* khác với *Bonamia* ở đặc điểm có nhân lệch tâm và khác với *M. roughleyi* ở đặc điểm thiếu không bào trong tế bào chất và sự có mặt của các ty thể ở *M. roughleyi*. Những đặc điểm này sẽ không thấy rõ ràng bằng phương pháp soi dầu và cần phải khẳng định bằng các lát cắt vi phẫu 1 micron hoặc kính hiển vi điện tử (sẽ đề cập ở phần sau). Tuy nhiên, cả 2 kỹ thuật này đều không thiết thực cho mục đích kiểm tra bệnh.

Mikrocytos roughleyi có đường kính 1-3µm và chỉ xuất hiện trong các tế bào máu. Không bào có thể có hoặc không trong tế bào chất, nhưng khi có, nó đẩy chỗ cho nhân ra ngoại vi. Cấu trúc nhân của ký sinh trùng nội bào này khi soi kính hiển vi dầu có thể nhìn thấy được hoặc không.

M.4 Bệnh Mikrocytos (*Mikrocytos mackini, M. roughleyi*)

M.4.4. Các phương pháp chẩn đoán

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán có thể tìm trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (2000a), tại website http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc

M.4.4.1 Dự chẩn

M.4.4.1.1 Mô bệnh học và làm tiêu bản mô (Mức độ II)

Phương pháp mô bệnh học (M.4.3.2.1) được sử dụng, tuy nhiên khi chẩn đoán lần đầu nên dùng phương pháp soi kính hiển vi điện tử (M.4.4.2.2). Phương pháp làm tiêu bản mô cũng được sử dụng để dự chẩn, khi chúng biểu hiện các dấu hiệu như mô tả ở mục M.4.3.1.2.

M.4.4.2 Kiểm khẳng định

M.4.4.2.1 Mô bệnh học và làm tiêu bản mô (Mức độ II)

Có thể dùng các phương pháp mô bệnh học (M.4.3.2.1) và làm tiêu bản mô (M.4.3.1.2), nhưng khi chẩn đoán lần đầu nên kiểm khẳng định bằng kính hiển vi điện tử (M.4.4.2.2).

M.4.4.2.2 Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Nên cố định các mô bằng 1G4F trong thời gian 12-24 giờ. Sau khi cố định lần đầu, rửa mô bằng dung dịch đệm và cố định OsO_4 1-2% (axit osmic- có độc tính cao). Nên cố định mẫu lần thứ hai trong 1 giờ, sau đó rửa trôi hết OsO_4 bằng đệm/nước biển đã lọc (0,22 micron) trước khi làm khô và phủ resin.

Các mô sau khi cố định lần thứ hai được bảo quản trong dung dịch đệm hoặc phủ resin thích hợp để cắt vi phẫu. Hoà tan lát cắt tiêu bản 1micron trên lam kính hiển vi bằng dung dịch toluidine blue 1% là phương pháp chọn mẫu mô tối ưu để soi phát hiện *Mikrocytos* spp. Các lát cắt siêu mỏng sau đó được gắn lên tấm lưới bằng đồng (có hoặc không có lớp phủ bên ngoài) và được nhuộm bằng citrate chì + uranyl acetate (hoặc thuốc nhuộm kính hiển vi điện tử tương đương).

Mikrocytos mackini được phân biệt với loài *Bonamia* spp. nhờ siêu cấu trúc siêu vi (cũng như vị trí mô và các vật chủ) ở vị trí của nhân. Ở loài *M. mackini* nó ở vị trí trung tâm của nhân, trong khi đó ở loài *B. ostreae* nó ở vị trí lệch tâm. Ngoài ra *Mikrocytos mackini* còn thiếu ty thể. Mặc dù những đặc điểm siêu cấu trúc của *Mikrocytos roughleyi* không công bố nhưng có thể phân biệt với loài *M. mackini* nhờ sự xuất hiện của không bào trong tế bào chất (cùng với sự khác nhau hoàn toàn về vị trí địa lý, vật chủ và mô).

M.4.5 Các phương thức lan truyền bệnh

Việc lan truyền của *Mikrocytos mackini* bắt đầu vào đầu mùa xuân (tháng 4 đến tháng 5) kéo dài khoảng 3-4 tháng ở nhiệt độ nước dưới 10°C. Độ mặn cao (30-35 ppt) rất thuận lợi cho sự phát triển của ký sinh trùng và ở những vùng cận thủy triều hoặc thủy triều thấp, tỷ lệ chết của những con hàu già xấp xỉ 40%.

Mikrocytos roughleyi cũng thích nghi với vùng nước có nhiệt độ thấp, độ mặn cao và có thể gây chết tới 70% loài hầu đá Sydney ở giai đoạn 3 năm tuổi trước khi thu hoạch. Điều này thường tiếp theo sau giai đoạn cận lâm sàng kéo dài khoảng 2,5 tháng.

Sự lan truyền bệnh của *M.mackini* được thực hiện bằng việc tiếp xúc của các hầu mẫn cảm với bệnh với các dịch đồng chất của các hầu nhiễm bệnh, vì vậy người ta cho rằng loài này có vòng đời trực tiếp. *M. roughleyi* cũng được cho là truyền bệnh trực tiếp từ con hầu này sang con hầu khác.

M.4.6 Các biện pháp kiểm soát

Để giảm tỷ lệ chết của vật chủ do *M. mackini* gây ra ở các vùng có bệnh bằng cách nuôi hầu ở mức thủy triều cao trong thời kỳ dễ lây lan nhất vào tháng 4 - 5 nhằm giảm việc lây lan qua đường nước. Hiện nay chưa có biện pháp nào để kiểm soát đối với *M. roughleyi.*

M.4.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Bower, S.M., D. Hervio, and S.E. Mc Gladdery. 1994. Potential for the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, to serve as a reservoir host and carrier of oyster pathogens. *ICES Council Meeting Papers,* ICES, Copenhagen, Denmark.1994. 5pp.

Bower, S.M. and G.R. Meyer. 1999. Effect of cold-water on limiting or exacerbating some oyster diseases. *J. Shellfish Res.*

18(1): 296 (abstract).

Farley, C.A., P.H. Wolf, and R.A. Elston. 1988. A long-term study of "microcell" disease in oysters with a description of a new genus, *Mikrocytos* (g. n.), and two new species,*Mikrocytos mackini* (sp. n.) and *Mikrocytos roughleyi* (sp. n.). *Fish. Bull.* 86(3): 581-594.

Hervio, D., S.M. Bower, and G.R. Meyer. 1995. Life-cycle, distribution and lack of host specificity of *Mikrocytos mackini*, the cause of Denman Island disease of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *J. Shellfish Res.* 14(1): 228 (abstract).

Hervio, D., S.M. Bower, and G.R. Meyer. 1996. Detection, isolation and experimental transmission of *Mikrocytos mackini*, a microcell parasite of Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg). *J. Inverteb. Pathol.* 67(1): 72-79.

Lester, R.J.G. 1990. Diseases of cultured molluscs in Australia. *Advances in Tropical Aquaculture: Workshop, Tahiti, French Polynesia Feb. 20 - Mar. 4, 1989.* Actes de colloques IFREMER 9: 207-216.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office International des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Smith, I.R., J.A. Nell, and R.D. Adlard. 2000. The effect of growing level and growing method on winter mortality, *Mikrocytos roughleyi*, in diploid and triploid Sydney rock oysters, *Saccostrea glomerulata*. *Aquac.* 185(3-4): 197-205.

M.4 Bệnh Mikrocytos (*Mikrocytos mackini, M. roughleyi*)

M.5.1 Thông tin chung

M.5.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh Perkinsus gây ra bởi hai loài sinh vật đơn bào ký sinh thuộc ngành Apicomplexa (mặc dù những nghiên cứu về axit nucleic gần đây cho thấy chúng có khả năng cùng nhánh với trùng roi - *Dinoflagellates*). *Perkinsus marinus* là nguyên nhân của bệnh "Dermo" trên *Crassostrea virginica* (hầu Mỹ) và *Perkinus olseni* cũng gây bệnh Perkinsus ở nhiều loài 2 mảnh vỏ vùng nước nhiệt đới và cận nhiệt đới. Các loài Perkinsus khác còn gây bệnh cho cả loài ngao ở châu Âu (*Perkinsus atlanticus*) và Đông Mỹ (*Perkinsus* spp.), cũng như cho cả điệp Nhật Bản (Yesso), *Patinopecten yessoensis* ở Canada (*Perkinsus qugwadi*). Mối quan hệ về phân loại học giữa chúng với 2 loài đã nêu phải "khai báo" cho OIE hiện còn đang được nghiên cứu. Thông tin chi tiết thêm về bệnh này có thể tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

M.5.1.2 Vật chủ

Parkinsus marinus (trước kia là *Dermocystidium marinum và Labyrintho-myxa marinus)* gây bệnh cho *Crassostrea virginica* (hầu Mỹ). Việc gây nhiễm thực nghiệm cho *C. gigas* (hầu Thái Bình Dương) có thể thực hiện được, nhưng chúng có sức đề kháng tốt hơn so với *C.virginica*. *Perkinsus olseni* có sự tương đồng rất lớn về rDNA với *Perkinsus altanticus* của *Ruditapes decussatus* và sự hình thành loài của giống này, như đã đề cập ở mục M.5.1.1, hiện nay đang được nghiên cứu về axit nucleic. Các vật chủ phổ biến của *P. olseni* là các loài bào ngư: *Haliotis rubra, H. cyclobates, H. scalaris* và *H. laevigata*. Có hơn 50 loài nhuyễn thể khác nhau mang ký sinh trùng *Perkinsus* spp. cũng như các loài có liên quan khác, nhưng không mắc bệnh (ví dụ, trong ngao Arca [**Hình.M.5.1.2a**] và trai ngọc Pinctada, [**Hình.M.5.1.2b**]).

M.5.1.3 Phân bố địa lý

Perkinsus marinus tìm thấy dọc bờ biển phía đông của Mỹ từ Massachusetts tới Florida, dọc theo Vịnh Mexico tới Venezuela và ở Puerto Rico, Cuba và Brazil. Ngoài ra nó cũng xâm nhập vào Pearl Harbour, Hawaii, phạm vi còn mở rộng đến Delaware Bay, New Jersey, Cape Cod và Maine là do sự di nhập vào nhiều lần các loài hầu và nhiệt độ của nước vào mùa đông tăng cao. *Perkinsus olseni* xuất hiện ở Nam Ôxtrâylia. Những loài khác xuất hiện ở Đại Tây Dương, Thái Bình Dương và vùng biển Địa Trung Hải.

M.5.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh động vật thủy sản ở vùng châu Á - Thái Bình Dương (1999 - 2000)

P. marinus không được báo cáo ở Ôxtrâylia trong khoảng thời gian 1999 - 2000. Tương tự với *P. olseni* (năm xảy ra gần đây nhất là 1997 ở miền Nam Ôxtrâylia và năm 1995 ở New South Wales và Tây Ôxtrâylia). Có nghi ngờ trong giai đoạn báo cáo 1999 - 2000 ở Hàn Quốc. Ở New Zealand, báo cáo phát hiện thấy từ tháng 4/12/2000. *Perkinsus olseni* tìm thấy trong các loài sò tự nhiên, *Austrovenus stutchburyi* (họ Veneridae) và 2 loài 2 mảnh vỏ khác, *Macomona liliana* (họ Tellinidae) và *Barbatia novaezelandiae* (họ Arcidae). Những loài này phổ biến ở bờ biển New Zealand. Các khu vực có xuất hiện bệnh là cảng Waitemata và Kaipara, nhưng sinh vật này có khả năng gây bệnh ở các vùng nước ấm Bắc New Zealand (OIE 1999, OIE 2000a).

M.5.2 Các khía cạnh lâm sàng

Ảnh hưởng của *Perkinsus marinus* trên *Crassostrea virginica* bắt đầu từ sự nhợt màu của tuyến tiêu hoá, gầy rạc, há miệng, co màng áo, sinh trưởng yếu, tuyến sinh dục chậm phát triển, đôi khi có các tổn thương áp xe. Tỷ lệ chết có thể lên tới 95% khi quần đàn *C.virginica* bị nhiễm bệnh.

Sự tăng sinh của *Perkinsus olseni* gây ra phá vỡ các mô liên kết và biểu mô, trên một số vật chủ có tạo thành áp xe ngẫu nhiên. Các mụn mủ đường kính cỡ 8mm ở loài *Haliotis* spp. bị bệnh làm giảm giá trị trên thị trường và kết hợp với các thiệt hại to lớn ở *H. laevigata*.

M.5.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Các thông tin chi tiết về các phương pháp kiểm tra bệnh có thể xem Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), trên http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

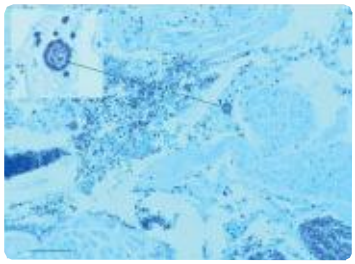
M.5.3.1 Dự chẩn

M.5.3.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Chậm lớn, há miệng và chết của *Crassostrea virginica* và *Haliotis* spp. cũng như của các loài nhuyễn thể khác sống trong vùng nước bị nhiễm Perkinsus thì nên nghi ngờ là nhiễm bệnh Perkinsus. Những biểu hiện chung là không đặc trưng về mầm bệnh và cần đến kiểm tra mức độ II, ít nhất là cho những lần quan sát đầu tiên.

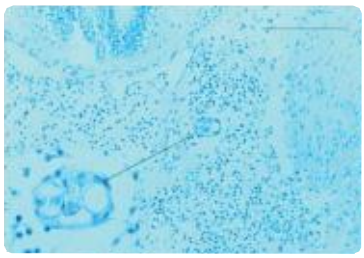
M.5 BỆNH PERKINSUS
(PERKINSUS MARINUS, P. OLSENI)

(PM Hine)



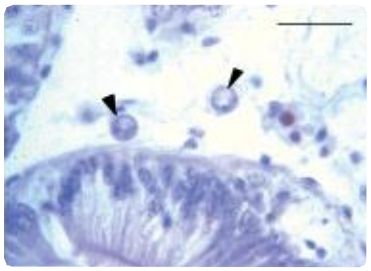
Hình.M.5.1.2a. *Perkinsus* ký sinh trong mô liên kết của sò Arca. Hình chèn phóng đại cho thấy chi tiết của giai đoạn thể nứt rời sớm có các cá thể dinh dưỡng với các thể vùi dạng không bào. Thước đo tỷ lệ 100 μm (H&E)

(PM Hine)



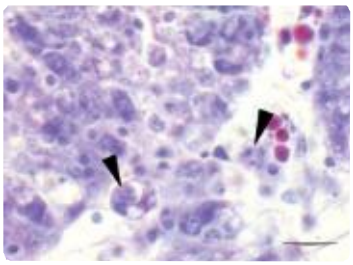
Hình.M.5.1.2b. Trai ngọc *Pinctada albicans* bị nhiễm ký sinh trùng *Perkinsus*. Ảnh chèn phóng đại cho thấy chi tiết của giai đoạn giống thể nứt rời có chứa các cá thể dinh dưỡng với các thể vùi dạng không bào. Thước đo tỷ lệ 250 μm (H&E)

(SM Bower)



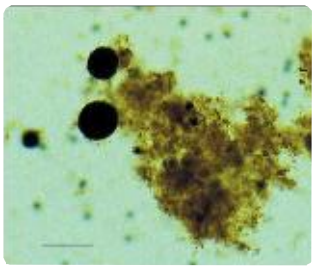
Hình.M.5.3.2.1a. Giai đoạn cá thể dinh dưỡng (Hình "nhẫn có khắc dấu") của *Perkinsus marinus* (mũi tên), nguyên nhân gây bệnh "Dermo" ở mô liên kết của loài hầu Mỹ *(Crassostrea virginica)*. Thước đo tỷ lệ 20 μm(H&E)

(SE McGladdery)



Hình.M.5.3.2.1b. Giai đoạn thể nứt rời của *Perkinsus marinus* (mũi tên), nguyên nhân gây ra bệnh "Dermo" ở mô liên kết tuyến tiêu hoá của hầu Mỹ (*Crassostrea virginica*). Thước đo tỷ lệ 30 μm (H&E).

(SE McGladdery)



Hình.M.5.3.2.2. Ảnh phóng đại bào tử ngủ của *Perkinsus marinus* đã được nhuộm xanh đen bằng dung dịch Lugon iodine, sau khi nuôi cấy trên môi trường thioglycollate lỏng. Thước đo tỷ lệ 200 μm.

M.5.3.2 Kiểm khẳng định

M.5.3.2.1 Mô bệnh học (Mức độ II)

Để kiểm tra bệnh nên kiểm tra ít nhất 2 lát cắt qua lưng - bụng của mỗi con hầu bằng phương pháp soi kính hiển vi dầu. Những lát cắt từ con hầu >2 năm tuổi (hoặc chiều cao của vỏ > 30mm) nên được cố định ngay trong chất cố định nhanh như 1G4F. Dung dịch Davidson hay dung dịch đệm formalin 10% được sử dụng cho những con hầu nhỏ hơn hoặc nguyên con (xem M.1.3.3.3) nhưng các chất cố định này không tối ưu để chẩn đoán khẳng định bằng kính hiển vi điện tử (M.5.4.2.1) hoặc định danh loài tiếp sau đó, nếu cần. Nên chọn các lát qua các mô bị mụn mủ hoặc áp xe, nếu có. Một số thuốc nhuộm tiêu chuẩn (ví dụ: haematoxylin-eosin) có thể phát hiện được *Perkinsus* spp.

M.5 Bệnh Perkinsus (*Perkinsus marinus*, *P. olseni*)

Lây nhiễm *Perkinsus marinus* thường có hệ thống, với những cá thể dinh dưỡng xuất hiện trên các mô liên kết của tất cả các cơ quan. Những cá thể dinh dưỡng còn non (thể phân cắt đơn nhân, thể chia đoạn hoặc thể giao tử bất động) có đường kính 2-3 µm. Giai đoạn "nhẫn có khắc dấu" là những cá thể dinh dưỡng trưởng thành có đường kính 3-10 µm, với sự xuất hiện của không bào lệch tâm thay thế nhân và tế bào chất ra ngoại vi **(Hình.M.5.3.2.1a)**. Giai đoạn "hoa thị" (túi bào tử hoặc thể nứt rời) có đường kính 4-15 µm và có thể chứa 2, 4, 8, 16 hoặc 32 cá thể dinh dưỡng đang phát triển **(Hình.M.5.3.2.1b)**.

Perkinsus olseni có các giai đoạn phát triển tương tự nhưng giai đoạn cá thể dinh dưỡng có đường kính lớn hơn, khoảng 13-16 µm. Tuy nhiên, do tính đa dạng của vật chủ và loài ký sinh trùng nên những đặc điểm hình thái học không được coi là đặc trưng.

M.5.3.2.2 Nuôi cấy trong môi trường Thioglycollate dạng lỏng (Mức độ II)

Cắt các mẫu mô có kích thước 5 - 10 mm (chọn phần tổn thương, các mô mang và mô ruột) và đặt vào trong môi trường Thioglycollate lỏng có chứa các chất kháng sinh. Nhiệt độ và thời gian ủ là tuỳ thuộc vào vật chủ và môi trường. Điều kiện chuẩn để nuôi cấy *P.marinus* là 22 - 25^{o}C trong 4 - 7 ngày ở điều kiện không có ánh sáng. Đối với *P.olseni* có thể nuôi ở nhiệt độ cao hơn.

Ký sinh trùng nuôi cấy sẽ phát triển rộng với đường kính 70 - 250µm. Sau khi ủ, các mô được đặt trong dung dịch có tỷ lệ Lugol's iodine: nước là 1:5 trong 10 phút. Sau đó trải mô lên lam kính hiển vi và quan sát qua kính hiển vi sẽ thấy các bào tử tĩnh được phóng đại có vách tế bào nhuộm màu xanh đen. **(Hình M.5.3.2.2)**.

M.5.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Có thể xem các phương pháp chẩn đoán bệnh chi tiết hơn trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), trên http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

M.5.4.1 Dự chẩn

M.5.4.1.1 Mô bệnh học (Mức độ II)

Có thể dùng các phương pháp mô bệnh học (M.5.3.2.1), nhưng lần chẩn đoán đầu tiên nên cố định mẫu mô dự phòng để quan sát bằng kính hiển vi điện tử (M.5.4.2.2).

M.5.4.1.2 Nuôi cấy trong môi trường Thioglycollate dạng lỏng (Mức độ II)

Cũng có thể dùng phương pháp nuôi cấy trong môi trường Thioglycollate lỏng để dự chẩn (M.5.3.2.2).

M.5.4.2 Kiểm khẳng định

M.5.4.2.1 Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

TEM được dùng để xác định siêu cấu trúc đặc trưng loài của giai đoạn phát triển động bào tử (thụ từ động bào tử giải phóng từ bào tử bất động được nuôi cấy (dạng tiền túi động bào tử). Chuẩn bị mô bao gồm cố định động bào tử đã được cô đọng lại hoặc túi động bào tử (được tạo ra bằng việc đặt bào tử bất động vào trong nước biển đã lọc, để tại đây chúng phát triển thành các túi động bào tử và sinh ra hàng trăm động bào tử di động) trong glutaraldehyde 2-3% đã được trộn và đệm với nước biển ở xung quanh đã được lọc. Các mô trai, hầu cũng có thể được cố định bằng 1G4F trong 12 - 24 giờ. Tiếp sau cố định sơ cấp, rửa mô bằng dung dịch đệm thích hợp và cố định tiếp tục bằng 1 - 2% Osmium tetroxide (OsO_4 = axit Osmic có độc tính cao). Nên hoàn thành cố định lần thứ hai trong vòng 1 giờ. Chất cố định OsO_4 cũng phải được rửa trôi hết bằng nước biển đệm lọc (0,22µm) trước khi làm khô và phủ resin.

Có thể bảo quản các mô sau khi cố định lần thứ hai trong dung dịch đệm thích hợp hoặc phủ resin thích hợp để cắt tiêu bản vi phẫu. Hoà tan lát cắt tiêu bản 1micron trên lam kính thủy tinh bằng dung dịch toluidine blue 1% là phương pháp chọn mẫu mô tối ưu để soi phát hiện *Perkinsus* spp. Việc cô đọng động bào tử lại hoặc túi động bào tử là không cần thiết trước khi kiểm tra bệnh. Các lát cắt siêu mỏng được gắn lên lưới đồng (có phủ formvar hoặc không) và được nhuộm citrat chì và acetat uranyl (hoặc bằng thuốc nhuộm EM tương đương).

Roi ở phần đầu của động bào tử *Perkinsus marinus* có cấu trúc giống một hàng lông và gai. Roi ở phía sau thì trơn. Ở phần đầu có một tổ hợp bao gồm một hình chóp nón, các ống dẫn siêu nhỏ có màng mỏng, các sợi thẳng và các sợi nối với chóp nón. Các không bào lớn cũng xuất hiện ở đầu cuối của động bào tử.

M.5 Bệnh Perkinsus (*Perkinsus marinus*, *P. olseni*)

M.5.5 Các phương thức lan truyền bệnh

Sự gia tăng của *Perkinsus* spp. tương quan với sự ấm lên của nhiệt độ nước (>20^{o}) và nó xảy ra với sự tăng thêm về các dấu hiệu lâm sàng và tỷ lệ tử vong. Hiệu quả gây tử vong đạt đỉnh cao vào cuối mùa nước ấm tại mỗi bán cầu. Giai đoạn lây nhiễm là lúc động bào tử có 2 roi chuyển sang giai đoạn cơ thể dinh dưỡng sau khi xâm nhập vào các mô của vật chủ. Sự gia tăng này sẽ nhân lên theo sinh sản phân đôi nhị phân trong các mô của vật chủ. *Perkinsus marinus* có khả năng rộng muối. *Perkinsus olseni* có thể tồn tại trong môi trường có độ mặn cao.

Việc thả lẫn những vật chủ dễ bị nhiễm bệnh vào các vật chủ đã bị nhiễm cho thấy *Perkinsus* spp. lây nhiễm trực tiếp, kể cả lây nhiễm chéo loài đối với *P. olseni.* Hiện nay chưa có bằng chứng nào chứng minh sự lây nhiễm chéo giống đối với *P. marinus*.

M.5.6 Các biện pháp kiểm soát

Không có thông tin nhiều về loài *Perkinsusl* spp. Hầu hết những nỗ lực nghiên cứu đều tập trung vào sự phát triển các đàn hầu có khả năng đề kháng với *P. marinus*. Những điều này chỉ ra khả năng sống sót trong vùng gây bệnh, nhưng cũng không khuyên là nuôi ở các khu vực không bị nhiễm bệnh vì chúng đều tiềm tàng khả năng mang mầm bệnh. Đã có một số thành công, tuy nhiên, để phòng ngừa nhiễm *P. marinus* ở các ấu trùng ương ấp ở trại sản xuất giống và hầu chưa trưởng thành là sử dụng nguồn nước được lọc sạch và khử trùng bằng tia cực tím. Biện pháp hạn chế việc di chuyển nhằm kiểm soát tình trạng phân bố tràn lan của *Perkinsus* ở nhiều loài hai mảnh vỏ xung quanh lục địa Ôxtrâylia là bất khả thi.

M.5.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

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

Blackbourn, J., S.M. Bower, and G.R. Meyer. 1998. *Perkinsus qugwadi* sp. nov. (incertae cedis), a pathogenic protozoan parasite of Japanese scallops, *Patinopecten yesssoensis*, cultured in British Columbia, Canada. *Can. J. Zool.* 76(5): 942-953.

Bower, S.M., J. Blackbourn, and G.R. Meyer. 1998. Distribution, prevalence and pathogenicity of the protozoan *Perkinsus qugwadi* in Japanese scallops, *Patinopecten yesssoensis*, cultured in British Columbia, Canada. *Can. J. Zool.* 76(5): 954-959.

Bower, S.M., J. Blackbourne, G.R. Meyer, and D.W. Welch. 1999. Effect of *Perkinsus qugwadi* on various species and strains of scallops. *Dis. Aquat. Org.* 36(2): 143-151.

Canestri-Trotti, G., E.M. Baccarani, F. Paesanti, and E. Turolla. 2000. Monitoring of infections by Protozoa of the genera *Nematopsis*, *Perkinsus* and *Porospora* in the smooth venus clam *Callista chione* from the north-western Adriatic Sea (Italy). *Dis. Aquat. Org.* 42(2): 157-161.

Cook, T., M. Folli, J. Klinck, S.E. Ford, and J. Miller. 1998. The relationship between increasing sea-surface temperature and the northward spread of *Perkinsus marinus* (Dermo) disease epizootics in oysters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 46(4): 587 -597.

Fisher, W.S., L.M. Oliver, L., W.W. Walker, C.S. Manning and T.F. Lytle. 1999. Decreased resistance eastern oysters (*Crassostrea virginica*) to a protozoan pathogen (*Perkinsus marinus*) after sub-lethal exposure to tributyltin oxide. *Mar. Environ. Res.* 47(2): 185-201.

Ford, S.E., R. Smolowitz, and M.M. Chintala. 2000. Temperature and range extension by *Perkinsus marinus*. *J. Shellfish Res.* 19(1): 598 (abstract).

Ford, S.E., Z. Xu, and G. Debrosse. 2001. Use of particle filtration and UV radiation to prevent infection by *Haplosporidium nelsoni* (MSX) and *Perkinsus marinus* (Dermo). *Aquac.* 194(1-2): 37-49.

Hine, P.M. and T. Thorne. 2000. A survey of some parasites and diseases of several species of bivalve mollusc in northern Western Australia. *Dis. Aquat. Org.* 40(1): 67 -78.

Kotob, S.I., S.M. McLaughlin, P. van Berkum, and M. Faisal. 1999. Discrimination between two *Perkinsus* spp. isolated from the soft shell clam, *Mya arenaria*, by sequence analysis of two internal transcribed spacer regions and the 5.8S ribosomal RNA gene. *Parasitol.* 119(4): 363-368.

Kotob, S.I., S.M. McLaughlin, P. van Berkum, P. and M. Faisal. 1999. Characterisation of two *Perkinsus* spp. from the soft shell clam,

Myaarenaria, using the small subunit ribosomal RNA gene. *J. Eukaryotic Microbiol.* 46(4): 439-444.

McLaughlin, S.M. and M. Faisal. 1998. *In* vitro propagation of two *Perkinsus* spp. from the soft shell clam *Mya arenaria*. *Parasite* 5(4): 341-348.

McLaughlin, S.M. and M. Faisal. 1998. Histopathological alternations associated with *Perkinsus* spp. infection in the soft shell clam *Mya arenaria*. *Parasite* 5(4): 263-271.

McLaughlin, S.M. and M. Faisal. 1999. A comparison of diagnostic assays for detection of *Perkinsus* spp. in the soft shell clam *Mya arenaria*. *Aquac.* 172(1-2): 197-204.

McLaughlin, S.M. and M. Faisal. 2000. Prevalence of *Perkinsus* spp. in Chesapeake Bay soft-shell clams, *Mya arenaria* Linnaeus, 1758, during 1990-1998. *J. Shellfish Res.* 19(1): 349-352.

Nickens, A.D., E. Wagner, and J.F. LaPeyre. 2000. Improved procedure to count *Perkinsus marinus* in eastern oyster hemolymph. *J. Shellfish Res.* 19(1): 665 (abstract).

O'Farrell, C.L., J.F. LaPeyre, K.T. Paynter, and E.M. Burreson. 2000. Osmotic tolerance and volume regulation in *in vitro* cultures of the oyster pathogen *Perkinsus marinus*. *J. Shellfish Res.* 19(1): 139-145.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office International des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Ordas, M.C. and A. Figueras. 1998. *In vitro* culture of *Perkinsus atlanticus*, a parasite of the carpet shell clam *Ruditapes decussatus*. *Dis. Aquat. Org.* 33(2): 129-136.

Ordas, M., A. Ordas, C. Beloso, and A. Figueras. 2000. Immune parameters in carpet shell clams naturally infected with *Perkinsus atlanticus*. *Fish and Shellfish Immunol.* 10(7): 597-609.

Park, K-I., K-S. Choi, and J-W. Choi. 1999. Epizootiology of *Perkinsus* sp. found in Manila clam, *Ruditapes philippinarum* in Komsoe Bay, Korea. *J. Kor. Fish. Soc.* 32(3): 303-309.

Robledo, J.A.F., J.D. Gauthier, C.A. Coss, A.C, Wright, G.R. Vasta. 1999. Species - specificity and sensitivity of a PCR-based assay for *Perkinsus marinus* in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*: A comparison with the fluid thioglycollate assay. *J. Parasitol.* 84(6): 1237-1244.

Robledo, J.A.F., C.A. Coss, and G.R. Vasta. 2000. Characterization of the ribosomal RNA locus of *Perkinsus atlanticus* and development of a polymerase chain reaction -based diagnostic assay. *J. Parasitol.* 86(5): 972-978.

Yarnall, H.A., K.S. Reece, N.A. Stokes, and E.M. Burreson. 2000. A quantitative competitive polymerase chain reaction assay for the oyster pathogen *Perkinsus marinus*. *J. Parasitol.* 86(4): 827-837.

M.5 Bệnh Perkinsus (*Perkinsus marinus*, *P. olseni*)

M.6.1 Thông tin chung

M.6.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh Haplosporidium do 2 loài sinh vật đơn bào ký sinh thuộc ngành Haplosporidia. *Haplosporidium nelsoni* (syn. *Minchinia nelsoni*) gây bệnh "MSX" (cầu đa nhân X) trên loài *Crassostrea virginica* (hầu Mỹ) và *Haplosporidium costale* (*Minchinia costale*) gây ra bệnh "SSO" (sinh vật miền biển) trên cùng loại vật chủ. Tham khảo thêm các thông tin về bệnh này trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

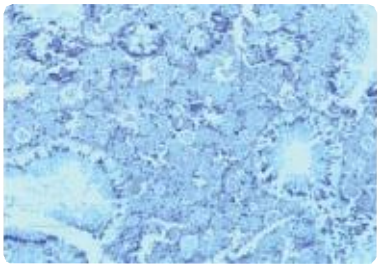
M.6.1.2 Vật chủ

Cả *Haplosporidium nelsoni* và *H. costale* đều gây bệnh trên loài hầu Mỹ *Crassostrea virginica*. Gần đây, 1 loài *Haplosporidium* sp. phân lập từ loài hầu Thái Bình Dương *Crassostrea gigas* đã được định danh là *H. nelsoni* bằng kỹ thuật giải trình tự DNA của 1 DNA ribosome siêu phân tử.

M.6.1.3 Phân bố địa lý

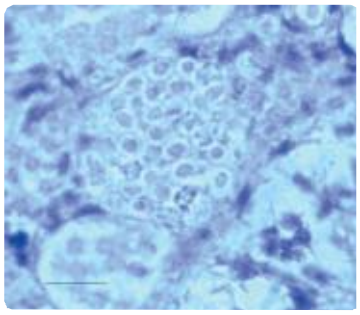
Haplosporidium nelsoni xuất hiện trên các loài hầu Mỹ, dọc bờ biển Đại Tây Dương của Mỹ từ phía bắc Florida đến Maine. Vùng có bệnh chỉ giới hạn đến vịnh Delaware, vịnh Chesapeake, Long Island Sound và Cape Cod. *Haplosporidium nelsoni* cũng được tìm thấy trên *C. gigas* từ California và Washington ở bờ biển Thái Bình Dương của Mỹ, Hàn Quốc, Nhật Bản và Pháp.

(PM Hine)



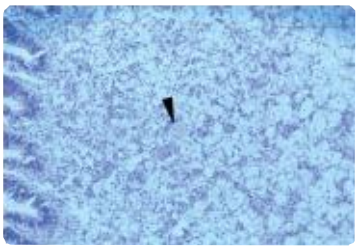
Hình.M.6.1.3a. Lây nhiễm ồ ạt loại ký sinh chưa định tên tương tự như *Haplosporidium* ở ống tiêu hoá và mô liên kết của loài trai ngọc môi vàng *Pinctada maxima* ở miền bắc Tây Ôxtrâylia. Thước đo tỷ lệ 0,5 mm (H&E).

(PM Hine)



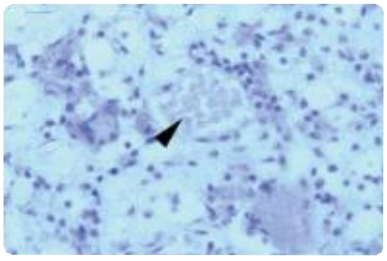
Hình.M.6.1.3b. Ảnh phóng đại qua kính hiển vi dầu giai đoạn bào tử có vảy của loại ký sinh tương tự như *Haplosporidium* trên trai ngọc môi vàng *Pinctada maxima* ở miền bắc Tây Ôxtrâylia. Thước đo tỷ lệ 10μm (H&E).

(PM Hine)



Hình.M.6.1.3c. Xâm nhiễm tế bào máu vào mô liên kết của hầu đá Sydney (*Saccostrea cucullata*) mang các bào tử của loại ký sinh trùng tương tự như *Haplosporidium* (mũi tên). Thước đo tỷ lệ 0,5 mm (H&E).

(PM Hine)



Hình.M.6.1.3d. Ảnh phóng đại qua kính hiển vi dầu các bào tử của loại ký sinh trùng tương tự như *Haplosporidium* (mũi tên) gắn liền với sự xâm nhiễm ồ ạt của tế bào máu ở hầu đá Sydney (*Saccostrea cucullata*). Thước đo tỷ lệ 10 mm (H&E).

M.6 BỆNH HAPLOSPORIDIUM
(HAPLOSPORIDIUM COSTALE, H. NELSONI)

Haplosporidium costale cũng được phát hiện duy nhất trên *C. virginica* từ bờ biển Đại Tây Dương của Mỹ và có 1 rDNA siêu phân tử nhỏ khác với của *H. nelsoni*. *Hapolosporidium costale* cũng phân bố hẹp hơn, từ Long Island Sound, New York đến Cape Charles, Virginia.

Các tác nhân tương tự cũng được tìm thấy trên trai ngọc nuôi ở các trại giống, *Pinctada maxima,* **(Hình.M.6.1.3a,b)** và hầu đá, *Saccostrea cucullata* **(Hình M.6. 1.3c,d)**, từ vùng tây bắc Ôxtrâylia.

M.6.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về cảnh báo dịch bệnh động vật thủy sản ở châu Á - Thái Bình Dương (1999-2000)

Không có thông tin hoặc báo cáo khẳng định nào về bệnh này ở tất cả các quốc gia trong giai đoạn 1999 - 2000 (OIE 1999, OIE 2000b).

M.6.2 Các khía cạnh lâm sàng

Haplosporidium nelsoni xuất hiện ngoại bào trong mô liên kết và biểu mô tuyến tiêu hoá. Sự xuất hiện của chúng thường gắn liền với việc thấy rõ mất màu nâu đỏ của mang và các mô áo. *H. nelsoni* thường sinh bào tử ở các con trai nhỏ (1-2 năm) nhưng ít thấy ở trai trưởng thành và chỉ phát hiện ở biểu mô của ống tiêu hoá. *H. costale* sinh bào tử ở khắp các mô liên kết.

Nhiễm *Haplosporidum nelsoni* xuất hiện và kéo dài qua mùa hè (từ giữa tháng 5 đến cuối tháng 10). Sự phá hủy dần dần của biểu mô tuyến tiêu hoá gắn liền hiện tượng các con trai bị yếu và chết. Một đợt chết thứ hai có thể xảy ra vào đầu mùa xuân ở những con trai quá yếu không thể sống sót qua đông. Giữ sống 2 tuần trong nước biển độ mặn 10 ppt, 20^{o}C sẽ diệt được ký sinh trùng nhưng không làm chết vật chủ. *H. nelsoni* không gây bệnh ở độ mặn <15 ppt.

Haplosporidium costale gây ra dịch chết theo mùa một cách rõ ràng vào giữa tháng 5 và 6. Sự hình thành bào tử thường đồng bộ hơn với nhiễm bệnh MSX, gây vỡ mô cấp tính, làm yếu hoặc gây chết các cá thể bị nhiễm bệnh nặng. Bệnh SSO bị hạn chế ở độ mặn 25-33 ppt và bệnh sẽ không xuất hiện nếu ở độ mặn thấp hơn.

M.6.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Các phương pháp kiểm tra bệnh chi tiết hơn có thể tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), trên http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

M.6.3 Dự chẩn

M.6.3.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Chậm lớn, há miệng và chết của *Crassostrea virginica* và *C. gigas* được coi là nghi ngờ bị nhiễm bệnh Haplosporidium. Các biểu hiện chung là không đặc trưng về mầm bệnh và cần phải kiểm tra ở mức độ II, ít nhất là cho những lần quan sát đầu tiên.

M.6.3.1.2 Kiểm tra tế bào học và làm tiêu bản mô (Mức độ II)

Cũng như với mô học (M.6.3.2.2) trai cỡ nhỏ là phù hợp hơn để kiểm tra bệnh *Haplosporidium nelsoni* bằng tế bào học hoặc tiêu bản mô. Với *H. costal,* sử dụng trai trưởng thành lại thích hợp hơn. Kiểm tra bệnh trong tháng 5- 6 thường được khuyến nghị cho cả hai tác nhân gây bệnh này.

Phết hoặc chấm nhẹ mẫu tim trên lam kính sạch và để khô tự nhiên. Các lát cắt tuyến tiêu hoá và mang cũng có thể dùng làm mẫu bằng cách hút hết nước dư từ bề mặt cắt và chấm nhẹ lên lam kính sạch. Khi đã khô, cố định lam trong metanol 70%. Sử dụng các kít nhuộm máu có sẵn trên thị trường theo hướng dẫn của nhà sản xuất sẽ nhuộm nhanh và hiệu quả. Các lam kính đã nhuộm sau đó được rửa trôi nhẹ nhàng dưới vòi nước, để khô và phủ lên trên bằng nhựa tổng hợp vẫn dùng để làm tiêu bản.

Sự xuất hiện (đặc biệt vào giữa tháng 3 và tháng 5) các hợp bào đa nhân, đường kính 2-15 µm là dấu hiệu của sự nhiễm *H. costale* **(Hình.6.3.1.2a)**. Các hợp bào của *H. nelsoni* có thể phát hiện vào giữa tháng 5 và tháng 10 ở tất cả các mô và có đường kính 4 - 30 µm **(Hình.M.6.3.1.2b)**.

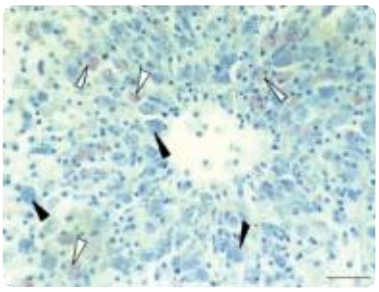
Cũng có thể sử dụng các thể huyền phù của huyết tương ở những con trai còn sống được, tuy nhiên mất nhiều thời gian hơn làm mẫu tim/mô và thường ít hiệu quả khi sử dụng vào mục đích kiểm tra bệnh.

M.6.3.1.3 Mô bệnh học (Mức độ II)

Với tác nhân *Haplosporidium nelsoni*, các con trai cỡ nhỏ thường được lấy để kiểm tra bệnh, còn với *H. costale* thì lấy các con trai đã trưởng thành. Kiểm tra bệnh trong giai đoạn tháng 5- 6 thường được khuyến cáo cho cả 2 loại tác nhân gây bệnh trên. Kỹ thuật sử dụng giống như chẩn đoán khẳng định. (M.6.4.2.2).

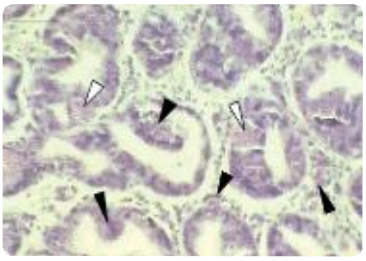
M.6 Bệnh Haplosporidium (*Haplosporidium costale*, *H. nelsoni*)

(SE McGladdery)



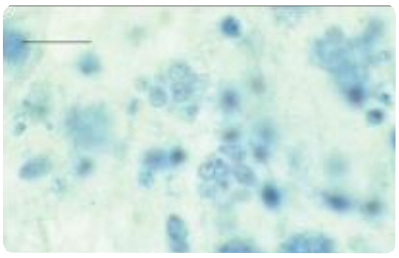
Hình.M.6.3.1.2a. Hợp bào (mũi tên đen) và bào tử (mũi tên trắng) của *Haplosporidium costale*, tác nhân gây bệnh SSO có trong mô liên kết của hầu Mỹ (*Crassostrea virginica*). Thước đo tỷ lệ 50μm.

(SE McGladdery)



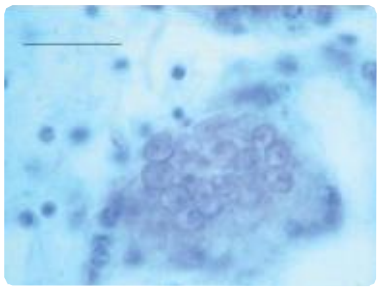
Hình.M.6.3.1.2b. Hợp bào (mũi tên đen) và bào tử (mũi tên trắng) của *Haplosporidium nelsoni*, tác nhân gây bệnh MSX trên mô liên kết và ống tiêu hoá của hầu Mỹ (*Crassostrea virginica*). Thước đo tỷ lệ 100 μm.

(SE McGladdery)



Hình.M.6.4.2.2a. Ảnh phóng đại qua kính hiển vi dầu các bào tử SSO trong mô liên kết của hầu Mỹ *Crassostrea virginica*. Thước đo tỷ lệ 15 μm.

(SE McGladdery)



Hình.M.6.3.2.2b. Ảnh phóng đại qua kính hiển vi dầu các bào tử MSX trong biểu mô ống tiêu hoá của hầu Mỹ *Crassostrea virginica*. Thước đo tỷ lệ 25 μm (H&E).

M.6.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Các phương pháp chẩn đoán chi tiết hơn có thể tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE, trên http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

M.6.4.1 Dự chẩn

M.6.4.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Chẩn đoán giả thiết duy nhất là các quan sát chung về con hầu Mỹ bị chết vào đầu mùa xuân và cuối mùa hè ở các khu vực đã từng có bệnh MSX (độ mặn 12-25 ppt). Chẩn đoán giả định như vậy cần được khẳng định thông qua kỹ thuật chẩn đoán khác (mô học). Tương tự, hiện tượng chết vào mùa hè của loài hầu này ở các vùng nước đã từng có bệnh SSO được giả thiết là do bệnh SSO. Cả 2 bệnh cần được khẳng định, tuy nhiên sự phân bố bệnh của 2 loài *Haplosporidium* có thể trùng lặp.

M.6.4.2 Kiểm khẳng định

M.6.4.2.1 Kiểm tra tế bào học hoặc làm tiêu bản mô (Mức độ II)

Làm mẫu tế bào hoặc mô dương tính (M.6.4.1.1) được coi là kiểm khẳng định khi thu thập từ các loài trai mẫn cảm với bệnh và tại các vùng đã từng xuất hiện nhiễm bệnh do *Haplosporidium* spp.

M.6 Bệnh Haplosporidium (*Haplosporidium costale*, *H. nelsoni*)

M.6.4.2.2 Mô bệnh học (Mức độ II)

Các lát cắt mô dương tính được kiểm khẳng định khi thu thập từ các loài trai mẫn cảm với bệnh và tại các vùng đã từng xuất hiện bệnh do *Haplosporidium* spp.

Cần kiểm tra ít nhất 2 lát cắt lưng - bụng của mỗi con trai, xem qua kính hiển vi dầu để kiểm tra bệnh. Các lát cắt từ những con trai >2 năm tuổi (hay vỏ cao >30 mm) được cố định ngay trong các chất cố định nhanh như 1G4F. Dung dịch Davidson hoặc đệm formalin 10% có thể sử dụng cho trai nhỏ hoặc cả nguyên con (xem M.1.3.3.3) nhưng những chất cố định này không là tối ưu nếu tiếp sau đó chẩn đoán khẳng định bằng kính hiển vi điện tử (EM) (M.6.4.2.3), hoặc định danh loài. Một số thuốc nhuộm tiêu chuẩn (*ví dụ:* haemotoxylin-eosin) cũng cho phép phát hiện được *Haplosprodium* spp.

Sự nhiễm *Haplosporidium* spp. thường là có hệ thống và được đặc trưng bằng sự thâm nhiễm hàng loạt của các tế bào máu bị thoái hoá (các tế bào máu không hạt có tỷ lệ tế bào chất/chất nhân thấp). Chất bào tử của các bào tử *H. costale* thường nhỏ hơn của MSX và thường được phát hiện bằng phản ứng thâm nhiễm tế bào máu với cường độ cao, có thể nhuộm phân biệt bằng thuốc nhuộm Ziehl-Nielsen cải tiến. Các kén bào tử của *H. costale* thường xuất hiện trong các mô liên kết **(Hình.M.6.3.1.2a),** đường kính khoảng 10-25 µm và có chứa các bào tử có nắp hình ovan, kích thước khoảng 3 µm **(Hình.M.6.4.2.2a).** Các kén bào tử của *H. nelsoni* xuất hiện trong biểu mô ống tiêu hoá và có đường kính khoảng 20-50 µm. Các bào tử có nắp của MSX có kích thước 4-6 x 5-8 µm **(Hình.M.6.4.2.2b).** Với loài *C. gigas,* các bào tử cũng có thể xuất hiện trong các mô khác. Nơi đã bị nhiễm bệnh cũ ở hai loài trai có thể được các tế bào máu và cặn bã mô bị hoại tử bao quanh. Một tác nhân gây bệnh tương tự xuất hiện ở trai lấy ngọc *Pinctada maxima* ở phía bắc miền Tây Ôxtrâylia **(Hình M.6.1.3a,b).** Kích cỡ bào tử của *Haplosporidium* giống của *H. nelsoni* nhưng khác với MSX (trên cả *C. virginica* và *C. gigas*) vì chỉ phát hiện thấy trong mô liên kết. Các giai đoạn hợp bào của cả *H. costale* và *H. nelsoni* đã được mô tả ở mục M.6.3.1.2.

M.6.4.2.3 Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Kính hiển vi điện tử được sử dụng để khẳng định siêu cấu trúc loài của bào tử - đặc biệt trong các mô xuất hiện bệnh do 2 tác nhân trên. Mô được cố định bằng 2-3 % glutaraldehyde trong nước biển đệm đã lọc. Các mô của trai cũng có thể được cố định bằng 1G4F trong 12-24 giờ. Sau khi cố định lần đầu, rửa mô trong dung dịch đệm thích hợp và cố định lần 2 bằng 1-2% osmium tetroxide (OsO_4 = axit osmic - *độc tính cao*) trong vòng 1 giờ. Chất cố định OsO_4 sẽ được rửa trôi bằng dung dịch đệm/nước biển đã lọc (0,22 µm) trước khi làm khô và phủ resin.

Các mô đã được cố định lần thứ 2 có thể được bảo quản trong dung dịch đệm hoặc được phủ resin thích hợp để cắt lát vi phẫu. Hoà tan lát cắt tiêu bản 1micron trên lam kính thủy tinh bằng dung dịch toluidine blue 1% là phương pháp chọn mẫu mô tối ưu để soi phát hiện bào tử hoặc hợp bào của *Haplosporidium*.

M.6.4.2.4 Lai tại chỗ (Mức độ III)

Các mẫu DNA cho cả 2 loài *Haplosporidium* đã được tạo ra tại Viện Khoa học Biển Virginia (VIMS), Đại học William and Mary, Gloucester, Virginia, Mỹ. Tuy chưa có bán trên thị trường nhưng những người sử dụng nhiều kinh nghiệm có thể tạo được các mẫu dò hoặc gửi mẫu đến VIMS[2] để phân tích lai tại chỗ.

M.6.5 Các phương thức lan truyền bệnh

Không có ký sinh trùng nào truyền bệnh được trong điều kiện phòng thí nghiệm cũng như qua một (hoặc nhiều) vật chủ trung gian.

M.6.6 Các biện pháp kiểm soát

Chưa tìm được đối với *Haplosporidium* spp. Hầu hết nỗ lực đều tập trung để phát triển các con giống có sức đề kháng bệnh. Các con giống này có khả năng sống sót cao ở các vùng có bệnh, nhưng chúng không được khuyến cáo để dùng tại các vùng không có bệnh vì chúng cũng có khả năng là các vật mang bệnh cận lâm sàng. Cũng đã có một số thành công trong việc ngăn chặn sự nhiễm bệnh của trai nhỏ và ấu trùng ương trong trại giống nhờ lọc và chiếu tia cực tím vào nguồn nước.

[2] Gửi đến Dr. N. Stokes, Virginia Institute of Marine Science, College of William and Mary, Gloucester Point, Virginia 23062, USA. (E-mail: stokes@vims.edu).

M.6 Bệnh Haplosporidium (*Haplosporidium costale*, *H. nelsoni*)

M.6.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Andrews, J.D. 1967. Interaction of two diseases of oysters in natural waters. Proc. Nat. Shellfish. Assoc. 57: 38-49.

Andrews, J.D. 1982. Epizootiology of late summer and fall infections of oysters by Haplosporidium nelsoni, and comparison to the annual life cycle of Haplosporidium costalis, a typical haplosporidian. J. Shellfish Res. 2: 15-23.

Andrews, J.D. and M. Castagna. 1978. Epizootiology of Minchinia costalis in susceptible oysters in seaside bays of Virginia's eastern shore, 1959-1976. J. Inverteb. Pathol. 32: 124-138.

Andrews, J.D., J.L. Wood, and H.D. Hoese. 1962. Oyster mortality studies in Virginia: III. Epizootiology of a disease caused by *Haplosporidium costale*, Wood and Andrews. *J. Insect Pathol.* 4(3): 327-343.

Barber, B.J., S.E. Ford, and D.T.J. Littlewood. 1991. A physiological comparison of resistant and susceptible oysters *Crassostrea virginica* (Gmelin) exposed to the endoparasite *Haplosporidium nelsoni* (Haskin, Stauber & Mackin). *J. Exper. Mar. Biol. Ecol.* 146: 101- 112.

Burreson, E.M. 1997. Molecular evidence for an exotic pathogen: Pacific origin of *Halposporidium nelsoni* (MSX), a pathogen of Atlantic oysters, p. 62. *In:* M. Pascoe (ed.). *10th International Congress of rotozoology*, The University of Sydney, Australia, Monday 21 July - Friday 25 July 1997, Programme & Ab- stracts. Business Meetings & Incentives, Sydney. (abstract).

Burreson, E.M., M.E. Robinson, and A. Villalba. 1988. A comparison of paraffin histology and hemolymph analysis for the diagnosis of *Haplosporidium nelsoni* (MSX) in *Crassostrea virginica* (Gmelin). *J. Shellfish Res.* 7: 19-23.

Burreson, E.M., N.A. Stokes, and C.S. Friedman. 2000. Increased virulence in an introduced pathogen: *Haplosporidium nelsoni* (MSX) in the eastern oyster *Crassostrea virginica*. *J. Aquat. Anim. Health* 12(1): 1-8.

Comps, M. and Y. Pichot. 1991. Fine spore struc- ture of a haplosporidan parasitizing *Crassostrea gigas*: taxonomic implications. *Dis. Aquat. Org.* 11: 73-77.

Farley, C.A. 1967. A proposed life-cycle of *Minchinia nelsoni* (Haplosporida, Haplosporidiidae) in the American oyster *Crassostrea virginica*. *J. Protozool.* 22(3): 418-427.

Friedman, C.S., D.F. Cloney, D. Manzer, and R.P. Hedrick. 1991. Haplosporidiosis of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Inverteb. Pathol.* 58: 367-372.

Fong, D., M.-Y. Chan, R. Rodriguez, C.-C. Chen, Y. Liang, D.T.J. Littlewood, and S.E. Ford. 1993. Small subunit ribosomal RNA gene se- quence of the parasitic protozoan *Haplosporidium nelsoni* provides a molecu- lar probe for the oyster MSX disease. *Mol. Biochem. Parasitol.* 62: 139-142.

Ford, S.E. 1985. Effects of salinity on survival of the MSX parasite *Haplosporidium nelsoni* (Haskin, Stauber and Mackin) in oysters. *J. Shellfish Res.* 5(2): 85-90.

Ford, S.E. 1992. Avoiding the transmission of disease in commercial culture of molluscs, with special reference to *Perkinsus marinus* (Dermo) and *Haplosporidium nelsoni* (MSX). *J. Shellfish Res.* 11: 539-546.

Ford, S.E. and H.H. Haskin. 1987. Infection and mortality patterns in strains of oysters *Crassostrea virginica* selected for resistance to the parasite *Haplosporidium nelsoni* (MSX). *J. Protozool.* 73(2): 368-376.

Ford, S.E. and H.H. Haskin. 1988. Management strategies for MSX (*Haplosporidium nelsoni*) disease in eastern oysters. *Amer. Fish. Soc. Spec. Pub.* 18: 249?256.

Ford, S.E., Z. Xu, and G. Debrosse. 2001. Use of particle filtration and UV radiation to prevent infection by *Haplosporidium nelsoni* (MSX) and *Perkinsus marinus* (Dermo) in hatchery-reared larval and juvenile oysters. *Aquac.* 194(1-2): 37-49.

Hine, P.M. and T. Thorne. 2000. A survey of some parasites and diseases of several species of bivalve mollusc in northern Western Austra- lia. *Dis. Aquat. Org.* 40(1): 67-78.

Katkansky, S.C. and R.W. Warner. 1970. Sporu- lation of a haplosporidian in a Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) in Humboldt Bay, Cali- fornia. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 27(7): 1320-1321.

Kern, F.G. 1976. Sporulation of *Minchinia* sp. (Haplosporida, Haplosporidiidae) in the Pa- cific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) from the Republic of Korea. *J. Protozool.* 23(4): 498-500.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific

Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Renault, T., N.A. Stokes, B. Chollet, N. Cochennec, F.C. Berthe, A. Gerard, A. and E.M. Burreson. 2000. Haplosporidiosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* from the French Atlantic coast. *Dis. Aquat. Org.* 2(3):207-214.

Stokes, N.A. and E.M. Burreson. 1995. A sen- sitive and specific DNA probe for the oyster pathogen *Haplosporidium nelsoni*. *J. Eukary- otic Microbiol.* 42: 350-357.

Wolf, PH. And V.Spague. 1978. An unidentified protistan parasite of the pearl oyster *Pinctada maxima*, in tropical Australia. *J. Inverteb Pathol*. 31:262-263.

M.6 Bệnh Haplosporidium (*Haplosporidium costale*, *H. nelsoni*)

M.7.1 Thông tin chung

M.7.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh Marteilioides do 2 loại ký sinh trùng thuộc ngành động vật nguyên sinh Paramyxea gây ra. *Marteilioides chungmuenis* gây bệnh trên noãn bào của hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas*) và *Marteilioides branchialis* gây bệnh trên mang của hầu *Saccostrea glomerata* (syn. *Crassostrea commercialis*, *Saccostrea commercialis*).

M.7.1.2 Vật chủ

Hầu Thái Bình Dương *Crassostrea gigas* thường bị nhiễm *Marteilioides chungmuensis*. *Marteilioides branchialis* nhiễm trên loài hầu đá Sydney *Saccostrea commercialis*.

M.7.1.3 Phân bố địa lý

Marteilioides chungmuensis gây bệnh trên *C. gigas* ở Nhật và Hàn Quốc. *Marteilioides branchialis* được phát hiện ở Ôxtrâylia (New South Wales).

M.7.2 Các khía cạnh lâm sàng

Marteilioides chungmuensis nhiễm vào tế bào chất của trứng đã chín và phần lớn cơ quan sinh sản của con hầu cái cũng có thể bị nhiễm bệnh. Trứng bị nhiễm được nhả ra hoặc được giữ trong nang làm cho thấy rõ được bề mặt màng áo sưng phồng **(Hình.M.7.2a,b)**. Tỷ lệ mắc bệnh chiến đến 8,3% đã được báo cáo từ Hàn Quốc. *Marteilioides branchialis* gây ra tổn thương cục bộ trên phiến mang và thường đi kèm với sự nhiễm *Marteilia sydneyi* (M.3). *Marteilioides branchialis* thường gây chết các hầu đá Sydney nuôi trong các khay vào mùa thu.

M.7.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

M.7.3.1 Dự chẩn

M.7.3.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

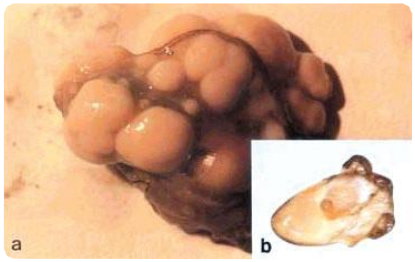
Marteilioides branchialis gây ra các đốm mất màu (đường kính 1-2mm) và gây sưng tấy cục bộ trên phiến mang của hầu đá Sydney vào mùa thu ở Ôxtrâylia, chúng cần được coi là dự chẩn của bệnh Marteilioides.

M.7.3.2 Kiểm khẳng định

M.7.3.2.1 Mô bệnh học (Mức độ II)

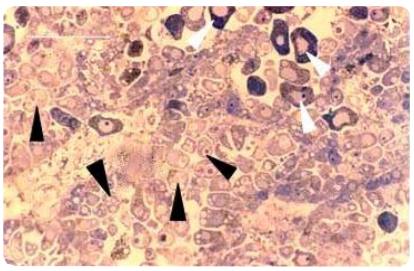
Các kỹ thuật sử dụng tương tự như đã nêu trong chẩn đoán khẳng định bệnh (M.7.4.2.1). Sự xuất hiện các thể vùi được nêu ở mục M.7.4.2.1 dưới đây có thể coi là kiểm khẳng định *Marteilioides* spp. trong quá trình kiểm tra bệnh.

(MS Park and DL Choi)



Hình.M.7.2a,b. a. Biến dạng toàn bộ các mô áo của hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas*) ở Hàn Quốc, do nhiễm loại ký sinh trùng động vật nguyên sinh *Marteiloides chungmuensis*, gây ra việc lưu giữ trứng nhiễm bệnh trong buồng trứng và các ống dẫn sinh dục; b. (Hình chèn) mô áo bình thường của hầu Thái Bình Dương.

(MS Park)



Hình.M.7.4.2.1. Lát cát mô bệnh học qua buồng trứng của hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas*) với trứng bình thường (mũi tên trắng) và trứng bị nhiễm nặng ký sinh trùng *Marteiloides chungmuensis* (mũi tên đen). Thước đo tỷ lệ 100 μm

M.7.4 Các phương pháp chẩn đoán

M.7.4.1 Dự chẩn

M.7.4.1.1 Các quan sát đại thể (Mức độ I)

Như đã nêu ở mục M.7.3.1.1, các đốm mất màu và sưng tấy (đường kính 1-2mm) khu trú trên phiến mang của loài hầu đá Sydney vào mùa thu ở Ôxtrâylia

được coi là giả định dương tính đối với *M. branchialis*.

M.7 Bệnh Marteilioides (*Marteilioides chungmuensis*, *M. branchialis*)

M.7.4.1.2 Mô bệnh học (Mức độ II)

Cho những lần chẩn đoán đầu tiên, nên cố định tiêu bản mô dự phòng cho kính hiển vi điện tử (M.7.4.2.3).

M.7.4.2 Kiểm khẳng định

M.7.4.2.1 Mô bệnh học (Mức độ II)

Các lát cắt mô học dương tính có thể coi là kiểm khẳng định khi chúng được thu thập ở các loài hầu mẫn cảm với bệnh và ở các vùng có tiền sử xuất hiện bệnh do *Marteilioides* spp.

Nên kiểm tra ít nhất 2 lát cắt lưng - bụng qua mỗi con hầu, dùng kính hiển vi soi dầu để kiểm tra bệnh. Các lát cắt từ các con hầu >2 năm tuổi (hoặc chiều cao vỏ >30 mm) nên được cố định ngay trong chất cố định nhanh như 1G4F. Dung dịch Davidson hoặc đệm formalin 10% có thể dùng cho hầu cỡ nhỏ hơn hoặc còn nguyên con (xem M.1.3.3.3) nhưng các chất cố định này không là tối ưu cho việc chẩn đoán khẳng định sau đó, nếu cần, bằng kính hiển vi điện tử (M.6.4.2.3) hoặc định danh loài. Một số thuốc nhuộm tiêu chuẩn khác (ví dụ haemotoxylin-eosin) cũng có thể phát hiện được *Marteilioides* spp..

Marteilioides chungmuensis khu trú trong tế bào chất của trứng nhiễm bệnh **(Hình.M.7.4.2.1)**. Các tế bào gốc (sơ cấp) có chứa các tế bào thứ cấp. Đến lượt mình, các tế bào thứ cấp lại chứa các tế bào giao tử đang phát triển, tạo ra một tế bào tam bội đơn nhờ nẩy mầm nội sinh. Mỗi tế bào tam bội tạo thành 1 bào tử gồm 3 tế bào có vách ngăn trong.

Marteilioides branchialis gây ra sự phát triển quá mức của biểu mô và thâm nhiễm bạch cầu hạt ở vị trí bị nhiễm bệnh. Các tế bào sơ cấp đơn nhân chứa 2-6 tế bào thứ cấp (có khi lên đến 12) trong tế bào chất của các tế bào biểu mô, các tế bào mô liên kết, và đôi khi, các tế bào máu thâm nhiễm vào vị trí bị tổn thương.

M.7.4.2.2 Kính hiển vi điện tử (TEM) (cấp độ III)

Kính hiển vi điện tử cần thiết để khẳng định siêu cấu trúc có tính đặc thù về loài của những ký sinh trùng này. Các mô được cố định trong nước biển đã lọc với 2-3% glutaraldehyde. Các mô cũng có thể được cố định bằng 1G4F trong 12-24 giờ. Sau khi cố đinh lần đầu, rửa bằng dung dịch đệm thích hợp và cố định lần 2 bằng 1-2% osmium tetroxide (OsO_4 = axit osmic - độc tố cao). Nên hoàn thành cố định lần thứ 2 trong 1 giờ. Chất cố định OsO_4 cần được rửa trôi bằng đệm/nước biển đã qua lọc (0,22 μm) trước khi loại nước và phủ resin.

Các mô đã được cố định lần 2 cần được bảo quản trong dung dịch đệm thích hợp hoặc phủ bằng resin thích hợp để làm lát cắt vi phẫu. Tách các lát cắt 1 micron để hoà tan trên lam kính hiển vi bằng dung dịch 1% toludine blue là phương pháp lựa chọn mẫu mô tối ưu để làm bằng chứng tốt nhất cho sự có mặt giả định của *Marteilioides* spp. Các lát cắt siêu mỏng sau đó được gắn lên lưới đồng để nhuộm bằng citrate chì + uranyl acetate hoặc thuốc nhuộm của kính hiển vi điện tử tương đương.

Marteilioides branchialis phân biệt với *Marteilioides* spp. khác nhờ trong bào tử có 2 tế bào đồng tâm (không phải là 3). Ngoài ra, *M. chungmuensis* trong *C. gigas* chỉ có 2 đến 3 tế bào giao tử trên mỗi tế bào gốc so với 2-6 (có khi đến 12) của *M. branchialis*. Các thể chứa nhiều hạt tương tự như của *Marteilia* spp. cũng có ở các tế bào gốc của *M. branchialis*, nhưng lại không có ở *M. chungmuensis*.

M.7.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Chưa xác định được.

M.7.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Chưa có.

M.7.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Anderson, T.J. and R.J.G. Lester. 1992. Sporulation of *Marteilioides branchialis* n.sp. (Paramyxea) in the Sydney rock oyster, *Saccostrea commercialis*: an electron microscope study. *J. Protozool.* 39(4): 502-508.

M.7 Bệnh Marteilioides (*Marteilioides chungmuensis*, *M. branchialis*)

Anderson, T.J., T.F. McCaul, V. Boulo, J.A.F. Robledo, and R.J.G. Lester. 1994. Light and electron immunohistochemical assays on paramyxea parasites. *Aquat. Living Res.* 7(1): 47-52.

Elston, R.A. 1993. Infectious diseases of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Ann. Rev. Fish Dis.* 3: 259-276.

Comps, M., M.S. Park, and I. Desportes. 1986. Etude ultrastructurale de *Marteilioides chungmuensis* n.g. n.sp., parasite des ovocytes de l'huître *Crassostrea gigas* Th. *Protistol.* 22(3): 279-285.

Comps, M., M.S. Park, and I. Desportes. 1986. Etude ultrastructurale de *Marteilioides chungmuensis* n.g. n.sp., parasite des ovocytes de l'huître *Crassostrea gigas* Th. *Protistol.* 22(3): 279-285.

Hine, P.M. and T. Thorne. 2000. A survey of some parasites and diseases of several species of bivalve mollusc in northern Western Australia. *Dis. Aquat. Org.* 40(1): 67-8.

M.8 BỆNH IRIDOVIRUS
(Bệnh màng áo ở hầu do Virus)

M.8.1 Thông tin chung

M.8.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh màng áo ở hầu do virus (OVVD) (bệnh Iridovirus) do một loại virut 20 mặt DNA có sự tương tự về hình thái học với họ Iridoviridae.

M.8.1.2 Vật chủ

Ấu trùng *Crassostrea gigas* (hầu Thái Bình Dương) là các vật chủ, mặc dù các tác nhân virus tương tự thường gắn liền với bệnh ở mang ("Maladie des Branchies") và nhiễm vào tế bào máu ở hầu Bồ Đào Nha (*Crassostrea angulata*) và *C. gigas*.

M.8.1.3 Phân bố địa lý

Sự nhiễm bệnh chỉ được báo cáo một lần từ 2 trại giống ở bang Washington, nhưng thực tế bệnh có ở khắp các cơ sở nuôi *C. gigas* cỡ nhỏ, với biểu hiện lâm sàng chỉ xuất hiện ở những nơi mà điều kiện sinh trưởng không được đảm bảo tối ưu.

M.8.2 Các khía cạnh lâm sàng

OVVD gây tróc tế bào biểu mô màng của ấu trùng có chiều dài >150µm và có thể gây chết 100% ở các trại giống. Ấu trùng không ăn, bị yếu và chết.

M.8.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

M.8.3.1 Dự chẩn

Nói chung đây là sự nhiễm khuẩn cơ hội, chỉ những trường hợp nhiễm lâm sàng mới có thể phát hiện được như mô tả ở mục M.8.4 dưới đây.

M.8.3.1.1 Tiêu bản ướt (Mức độ I)

Các tiêu bản ướt của ấu trùng veliger bị tróc bề mặt biểu mô có lông có thể coi là nghi ngờ bị nhiễm OVVD. Khi quan sát đại thể, các tác nhân gây bệnh cơ hội khác (vi khuẩn và virut giống Herpes) có thể gây ảnh hưởng, vì vậy chẩn đoán mức độ II/III là cần thiết.

M.8.3.1.2 Mô bệnh học (Mức độ II)

Dùng các kỹ thuật đã nêu ở mục M.8.4.2.1 dưới đây, phát hiện các đặc điểm được mô tả trong mục này có thể coi là giả định dương tính của bệnh OVVD. Cần sử dụng kính hiển vi điện tử (Mức độ III) quan sát các thể vùi (M.8.4.2.2) để chẩn đoán khẳng định, ít nhất là cho những lần quan sát đầu tiên.

M.8.3.2 Kiểm khẳng định

M.8.3.2.1 Kính hiển vi điện tử (Mức độ III)

Xem mục M.8.4.2.2.

M.8.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

M.8.4.1 Dự chẩn

M.8.4.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Ấu trùng *Crassostrea gigas* chậm lớn, giảm ăn và giảm bơi có thể coi là nghi ngờ nhiễm OVVD.Các dấu hiệu quan sát được không phải là tác nhân gây bệnh điển hình và cần phải kiểm tra ở mức độ II (M.8.4.2), ít nhất là cho những lần quan sát đầu tiên.

M.8.4.1.2 Tiêu bản ướt (Mức độ I)

Như đã mô tả ở mục M.8.3.1.1. Khi chẩn đoán lần đầu tiên, nên cố định một mẫu mô dự phòng để quan sát kính hiển vi điện tử (M.8.4.2.2).

M.8.4.1.3 Mô bệnh học (Mức độ II)

Xem mục M.8.4.2.1.

M.8.4.1.4 Kính hiển vi điện tử (Mức độ III)

Xem mục M.8.4.2.2.

M.8.4.2 Kiểm khẳng định

M.8.4.2.1 Mô bệnh học (Mức độ II)

Ở nơi ấu trùng đã từng nhiễm OVVD, việc phát hiện ra các thể vùi và bệnh lý trên biểu mô có lông như mô tả dưới đây, có thể coi là khẳng định có bệnh này. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng các tác nhân vi khuẩn khác cũng có thể tạo ra mô bệnh học tương tự và kính hiển vi điện tử là kỹ thuật lý tưởng để khẳng định (M.8.4.2.2).

Ấu trùng cần được dồn tập trung lại bằng máy li tâm hoặc lọc trước khi phủ. Đây là cách tốt nhất khi cố định thứ cấp bằng dung dịch Davidson, 1G4F hoặc chất cố định khác. Dù có thể phủ paraffin được nhưng phủ resin vẫn được khuyến cáo để có được lát cắt tối ưu. Paraffin cho phép cắt lát dưới 3µm bằng máy cắt vi phẫu. Mô phủ resin có thể cắt lớp dày dưới 1µm, nhưng đòi hỏi các máy cắt vi phẫu đặc biệt có các giá đỡ và nhuộm đặc biệt.

Các thuốc nhuộm tiêu chuẩn (ví dụ, haemotoxylin-eosin) sẽ phát hiện các thể vùi nội bào trong các tế bào biểu mô màng có lông. Các thể vùi ban đầu hình cầu, sau trở nên không đều do virut tăng sinh. Có thể phát hiện được các thể vùi trong biểu mô miệng và thực quản, hoặc ít thấy hơn ở trong các tế bào biểu mô áo.

M.8.4.2.2. Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Kính hiển vi điện tử cần sử dụng để quan sát các virut gây bệnh tại chỗ trong các lát cắt mô mang của các ấu trùng đã được ly tâm, làm cô đặc. Cố định trong 2-3% glutaraldehyde không quá 1 giờ để giảm các hư hỏng. Cũng có thể cố định các mô bằng 1G4F trong 12-24 giờ. Sau khi cố định lần đầu, rửa trôi trong đệm thích hợp và cố định tiếp bằng 1-2% osmium tetroxide (OsO_4 = axit osmic - *độc tính cao*). Nên hoàn thành việc cố định lần 2 trong 1 giờ. Chất cố định OsO_4 được rửa bằng đệm hoặc nước biển đã lọc (0,22 µm) trước khi làm khô và phủ resin.

Các mô đã cố định lần 2 được bảo quản trong dung dịch đệm hoặc phủ resin thích hợp để làm lát cắt tiêu bản vi phẫu. Tách các lát cắt 1 µm để hoà tan trên lam kính bằng dung dịch 1% toludine blue là phương pháp lựa chọn mẫu tốt nhất để cắt siêu mỏng. Các lát cắt siêu mỏng được đặt lên lưới đồng, nhuộm bằng citrate chì + uranyl acetate hoặc thuốc nhuộm kính hiển vi điện tử tương đương.

Các tiểu phần virus 20 cạnh (đường kính 228 +/- 7 nm) với 1 capsid màng có 2 lớp mỏng là bằng chứng để khẳng định nhiễm Iridovirus.

M.8.5 Các phương thức lan truyền bệnh

Bệnh xuất hiện vào tháng 3-5 ở các trại giống. Nghi là có sự lan truyền trực tiếp giữa các ấu trùng sắp chết sang các ấu trùng chưa nhiễm bệnh.

M.8.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Chưa có biện pháp gì ngoài việc giảm mất độ thả giống, tăng cường thay nước và các phương pháp vệ sinh trại giống nói chung (khử trùng bể nuôi và các đường ống, vv.).

M.8.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Comps, M. and N. Cochennec. 1993. A Herpes-like virus from the European oyster *Ostrea edulis* L. *J. Inverteb. Pathol.* 62: 201-203.

Elston, R.A. 1979. Virus-like particles associated with lesions in larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *J. Inverteb. Pathol.* 33: 71-74.

Elston, R.A. 1993. Infectious diseases of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Ann. Rev. Fish Dis.* 3: 259-276.

Elston, R. 1997. Special topic review: bivalve mollusc viruses. *Wor. J. Microbiol. Biotech.* 13: 393-403.

Elston, R.A. and M.T. Wilkinson. 1985. Pathology, management and diagnosis of oyster velar virus disease (OVVD). *Aquac.* 48: 189-210.

Farley, C.A. 1976. Epizootic neoplasia in bivalve molluscs. *Prog. Exper. Tumor Res*. 20: 283-294.

Farley, C.A., W.G. Banfield, G. Kasnic Jr. and W.S. Foster. 1972. Oyster Herpes-type virus. *Science* 178: 759-760.

Hine, P.M., B. Wesney and B.E. Hay. 1992. Herpes virus associated with mortalities among hatchery-reared larval Pacific oysters Crassostrea gigas. *Dis. Aquat. Org.* 12: 135-142.

LeDeuff, R.M. 1995. Contribution à l'étude de virus de mollusques marins apparentes aux Iridoviridae et aux Herpesviridae. Doctoral Thesis. *Université de Bordeaux* 234pp.

Le Deuff, R.M., J.L. Nicolas, T. Renault and N. Cochennec. 1994. Experimental transmission of a Herpes-like virus to axenic larvae of Pacific oyster, *Crassostrea gigas. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*14: 69-72.

LeDeuff, R.M., T. Renault and A. Gérard. 1996. Effects of temperature on herpes-like virus detection among hatchery-reared larval Pacific oyster *Crassostrea gigas. Dis. Aquat. Org.* 24: 149-157.

Meyers, T.R. 1981. Endemic diseases of cultured shellfish of Long Island, New York: adult and juvenile American oysters (*Crassostrea virginica*) and hard clams (*Mercenaria mercenaria*). *Aquac.* 22: 305-330.

Nicolas, J.L., M. Comps and N. Cochennec. 1992. Herpes-like virus infecting Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 12: 11-13.

Renault, T., N. Cochennec, R.M. Le Deuff and B. Chollet. 1994. Herpes-like virus infecting Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) spat. *Bull. Eur.Assoc. Fish Pathol.* 14: 64 -66.

Phụ lục M.AI. Phòng kiểm nghiệm tham vấn về bệnh nhuyễn thể của OIE

Bệnh	Chuyên gia/Phòng thí nghiệm
Các mầm bệnh của nhuyễn thể	**Dr. F. Berth** IFREMER Laboratoire de Genetique Aquaculture et Pathologie BP 133, 17390 La Tremblade FRANCE Tel: 33(0)5 46.36.98.36 Fax: 33 (0)5 46.36.37.51 E-mail: fberthe@ifremer.fr

Phụ lục M.All. Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh nhuyễn thể ở châu Á-Thái Bình Dương

Bệnh	Chuyên gia
Bệnh Bonamiosis	**Dr. Brian Jones** Senior Fish Pathologist Fisheries WA Adjunct Professor, Muresk Institute c/o Animal Health Labs 3 Baron-Hay Court, South Perth WA 6151, **AUSTRALIA** Tel: 61-8-9368-3649 Fax: 61-8-9474-1881 E-mail: bjones@agric.wa.gov.au
Bệnh Marteilia/Microcytos	**Dr. Robert D. Adlard** Queensland Museum PO Box 3300, South Brisbane, Queensland 4101, **AUSTRALIA** Tel: +61 7 38407723 Fax: +61 7 38461226 E-mail: RobertAd@qm.qld.gov.au; http://www.qmuseum.qld.gov.au
Bệnh Marteilia	**Dr. Sarah N. Kleeman** Aquatic Animal Biosecurity Animal Biosecurity GPO Box 858 Canberra ACT 2601, **AUSTRALIA** Tel: +61 2 6272 3024 Fax: +61 2 6272 3399 E-mail: sarah.kleeman@affa.gov.au
Các bệnh của nhuyễn thể	P**rofessor R.J.G. Lester** Department of Microbiology and Parasitology The University of Queensland, Brisbane **AUSTRALIA** 4072. Tel: +61-7-3365-3305, Fax: +61-7-3365-4620 E-mail: R.Lester@mailbox.uq.edu.au http://www.biosci.uq.edu.au/micro/academic/lesterlester.htm
	Dr. Dong Lim Choi Pathology Division #408-1, Shirang-ri, Kijang-up, Kijang-gun, Busan 619-902, **KOREA RO** Tel: +82-51-720-2493 Fax: +82-51-720-2498 E-mail: dlchoi@haema.nfrda.re.kr
	Dr. Mi-Seon Park Pathology Division #408-1, Shirang-ri, Kijang-up Kijang-gun, Busan 619-902, **KOREA RO** 619-902 Tel: +82-51-720-2493 Fax: +82-51-720-2498 E-mail: parkms@nfrdi.re.kr

[1] Các chuyên gia có tên trong danh sách này đã được hỏi ý kiến trước và đã đồng ý để cung cấp thông tin có giá trị và tư vấn về sức khỏe động vật có liên quan với lĩnh vực chuyên sâu của họ.

Phụ lục M.AII. Danh sách các chuyên gia khu vực về bệnh nhuyễn thể ở châu Á-Thái Bình Dương

Bệnh	Chuyên gia
	Dr. Jie Huang Yellow Sea Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences 106 Nanjing Road, Qingdao, Shandong 26607, **PEOPLE'S REPUBLIC of CHINA** Tel: 86 (532) 582 3062 Fax: 86 (532) 581 1514 E-mail: aqudis@public.qd.sd.cn
	Mr. Arthur de Vera Fish Health Section Bureau of Fisheries and Aquatic Resources Arcadia Building, 860 Quezon Avenue Quezon City, Metro Manila, **PHILIPPINES** Fax: (632) 3725055 Tel: (632) 4109988 to 89 E-mail: azdv@edsamail.com.ph
	Dr. Paul Michael Hine Aquatic Animal Diseases National Centre for Disease Investigation MAF Operations, P.O. Box 40-742, Upper Hutt, **NEW ZEALAND** Tel: +64-4-526-5600 Fax: +64-4-526-5601 E-mail: hinem@maf.govt.nz
Danh sách các chuyên gia ở ngoài khu vực châu Á-Thái Bình Dương[2]	
Các bệnh của nhuyễn thể	**Dr. Susan Bower** DFO Pacific Biological Station 3190 Hammond Bay Road Nanaimo, British Columbia V9R 5K6, **CANADA** Tel: 250-756-7077 Fax: 250-756-7053 E-mail: bowers@dfo-mpo.gc.ca
	Dr. Sharon E. McGladdery Oceans and Aquaculture Science 200 Kent Street (8W160) Ottawa, Ontario, K1A 0E6, **CANADA** Tel: 613-991-6855 Fax: 613-954-0807 E-mail: mcgladderys@dfo-mpo.gc.ca

[2] Các chuyên gia ở ngoài khu vực châu Á-Thái Bình Dương này đã hỗ trợ chương trình khu vực về bệnh của động vật thủy sản và đồng ý tiếp tục cung cấp thông tin có giá trị và tư vấn về các bệnh của nhuyễn thể.

Phụ lục M.AIII. Danh sách các Sổ tay/Hướng dẫn chẩn đoán hữu dụng về bệnh nhuyễn thể

- **Bệnh của động vật thủy sản Ôxtrâylia - Hướng dẫn định loại ở thực địa của Alistair Herfort và Grant Rawlin**

  Liên hệ: AFFA Shopfront - Agriculture, Fisheries and Forestry - Australia
  GPO Box 858, Canberra, ACT 2601
  Tel: (02) 6272 5550 or free call: 1800 020 157 Fax: (02) 6272 5771
  E-mail: shopfront@affa.gov.au

- **Tóm tắt về các bệnh nhiễm trùng và ký sinh trùng của Nhuyễn thể khai thác thương mại của Bower, SE McGladdery và IM Price (1994)**

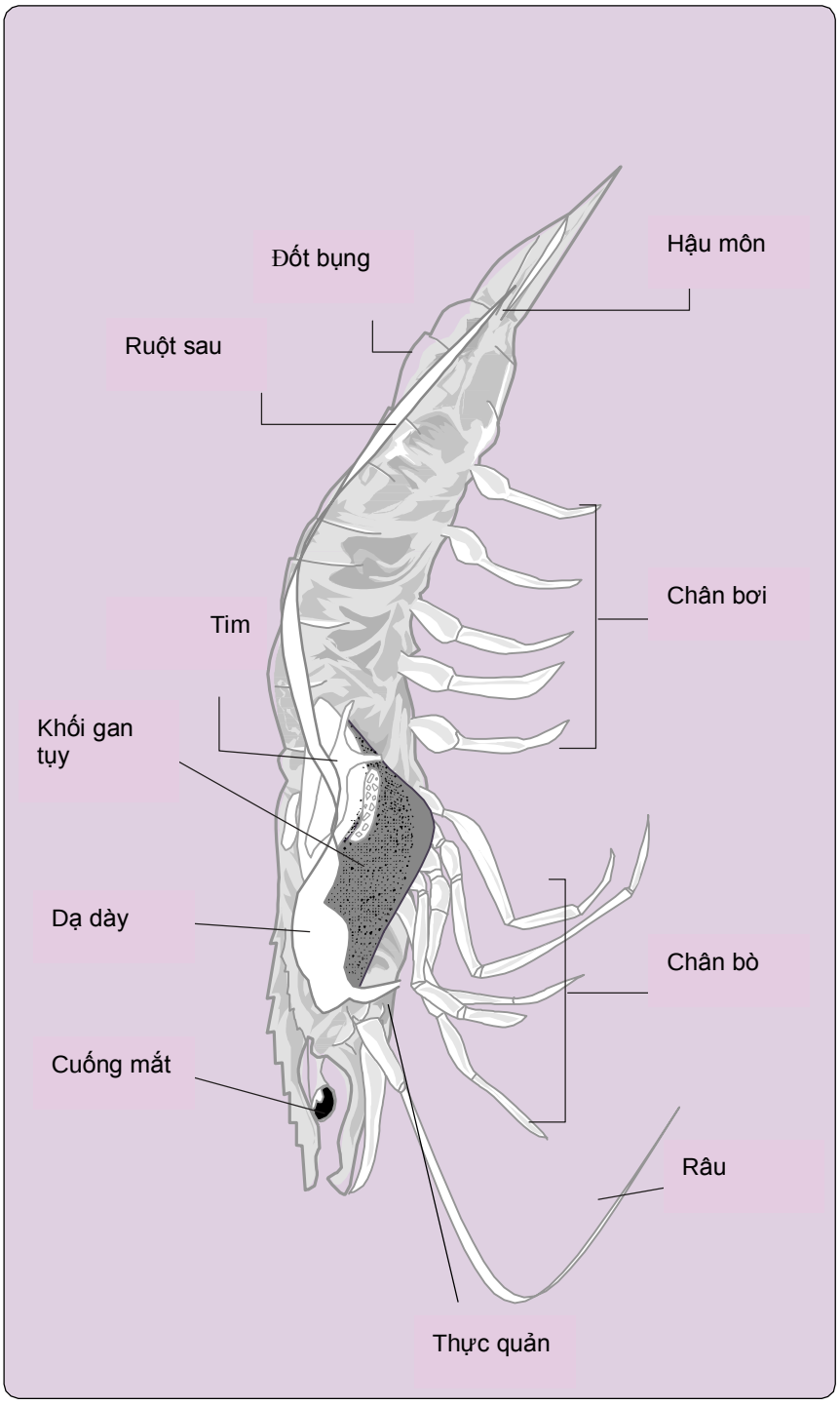
  Liên hệ: Dr. Susan Bower
  DFO Pacific Biological Station
  3190 Hammond Bay Road Nanaimo, British Columbia V9R 5K6, CANADA
  Tel: 250-756-7077 Fax: 250-756-7053
  E-mail: bowers@dfo-mpo.gc.ca

- **Bệnh của nhuyễn thể: Tài liệu hướng dẫn cho người nuôi. 1990 của R.A. Elston. Chương trình Hỗ trợ biển Washington, Trường Đại học Tổng hợp Washington, Seattle. 73 tr.**

- **Sổ tay về ký sinh trùng, địch hại và Bệnh của nhuyễn thể Đại Tây Dương ở Canada.1993 của SE McGladdery, RE Drinnan và MF Stephenson.**

  Liên hệ: Dr. Sharon McGladdery
  Oceans and Aquaculture Science
  200 Kent Street (8W160) Ottawa, Ontario, K1A 0E6
  Tel: 613-991-6855 Fax: 613-954-0807
  E-mail: mcgladderys@dfo-mpo.gc.ca

Hình giải phẫu trong và ngoài của tôm he



PHẦN 4 - BỆNH CỦA GIÁP XÁC

Hình mô tả bên trong và bên ngoài con tôm 152

PHẦN 4 - BỆNH CỦA GIÁP XÁC

C.1 **KỸ THUẬT CHUNG** 155
C.1.1 **Các quan sát chung** 155
C.1.1.1 *Tập tính* 155
C.1.1.1.1 *Tổng quát* 155
C.1.1.1.2 *Tỷ lệ tử vong* 155
C.1.1.1.3 *Hoạt tính ăn* 156
C.1.1.2 *Các quan sát bề mặt* 156
C.1.1.2.1 *Hiện tượng sinh vật bám và ăn mòn* 156
C.1.1.2.2 *Mềm vỏ, đốm và tổn thương vỏ* 156
C.1.1.2.3 *Màu sắc* 156
C.1.1.2.4 *Các quan sát về môi trường* 158
C.1.1.3 *Các bề mặt mô mềm* 158
C.1.2 **Các chỉ tiêu môi trường** 158
C.1.3 **Các quy trình chung** 158
C.1.3.1 *Chuẩn bị trước khi thu mẫu* 158
C.1.3.2 *Thông tin chung* 160
C.1.3.3 *Lấy mẫu để kiểm tra sức khỏe* 160
C.1.3.4 *Lấy mẫu để chẩn đoán bệnh* 160
C.1.3.5 *Lấy mẫu sống để vận chuyển* 160
C.1.3.6 *Bảo quản các mẫu mô* 162
C.1.3.7 *Vận chuyển các mẫu đã được bảo quản* 163
C.1.4 **Ghi chép - Lưu giữ** 163
C.1.4.1 *Các quan sát chung* 163
C.1.4.2 *Các quan sát môi trường* 163
C.1.4.3 *Ghi chép về nuôi thả* 164
C.1.5 **Tài liệu tham khảo** 164

CÁC BỆNH CỦA TÔM DO VIRUS
C.2 **Bệnh đầu vàng (YHD)** 165
C.3 **Bệnh hoại tử vỏ dưới và cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (IHHN)** 171
C.4 **Bệnh đốm trắng (WSD)** 176
C.4a. **Hội chứng đốm trắng do vi khuẩn (BWSS)** 181
C.5. **Bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa (BMN)** 184
C.6. **Virus gây kết dính mang (GAV)** 187
C.7. **Hội chứng gây tử vong tôm bố mẹ (SMVD)** 190
C.8. **Hội chứng Taura (TS)** 192
C.9 **Bệnh còi do virus đa diện có nhân (NPD)** 199

BỆNH CỦA TÔM DO VI KHUẨN
C.10 **Bệnh hoại tử khối gan tụy (NHP)** 205

BỆNH Ở TÔM DO NẤM
C.11 **Bệnh nấm ở tôm càng đỏ** 209

Phần 4 - Bệnh của giáp xác

PHỤ LỤC

C.A I **Các phòng thí nghiệm tham vấn của OIE về các bệnh giáp xác** 214

C.AII. **Danh sách chuyên gia khu vực về bệnh giáp xác ở châu Á - Thái Bình Dương** 214

C.A III **Danh sách các sổ tay/hướng dẫn hữu dụng chẩn đoán bệnh giáp xác ở châu Á-Thái Bình Dương** 217

Danh sách các điều phối viên quốc gia (NCs) 219

Các thành viên của nhóm công tác khu vực (RWG) và các thành viên của ban dịch vụ hỗ trợ kỹ thuật (TSS) 223

Danh mục các hình minh hoạ 228

Các khuyến cáo chung về bệnh giáp xác và thông tin có giá trị khác đã có ở các phòng thí nghiệm tham vấn của OIE, các chuyên gia nguồn của khu vực châu Á-Thái Bình Dương, FAO và NACA. Danh sách được đính kèm trong các phụ lục F.AI và AII, và những thông tin liên hệ mới nhất có thể truy cập từ văn phòng NACA đặt tại Bangkok (Email:naca@enaca.org). Những hướng dẫn hữu ích khác cho qui trình chẩn đoán bệnh lý do các tài liệu tham khảo có giá trị về dịch bệnh của giáp xác cung cấp đã được liệt kê trong phụ lục F.AIII.

C.1.1 Các quan sát chung

Có thể dễ dàng tiến hành những quan sát chung về các dấu hiệu bệnh lý trên tôm ngay tại trại nuôi hoặc bờ ao với ít hoặc không cần đến dụng cụ. Tuy nhiên trong phần lớn các trường hợp, những quan sát này là không đủ để chẩn đoán xác định bệnh, thông tin này là cần thiết để biên soạn sơ bộ thành một "mô tả bệnh" (còn gọi là bệnh án). Các quan sát chung càng chính xác và chi tiết sẽ giúp ích cho việc lập ra kế hoạch hành động nhằm làm giảm thiệt hại hoặc sự lây lan bệnh một cách hiệu quả, thí dụ, ngăn chặn hoặc cách ly nguồn tôm bị nhiễm bệnh, điều trị hoặc thay đổi các thực hành quản lý (chế độ ăn, mật độ thả, bón phân cho ao, vv...). Tất cả các việc này cần được tiến hành trước trong khi chờ các kết quả chẩn đoán thuyết phục hơn.

C.1.1.1 Tập tính

C.1.1.1.1 Tổng quát

Tập tính bất thường của tôm thường được xem là dấu hiệu đầu tiên khi tôm bị sốc hoặc bị bệnh. Các nhà nuôi trồng và công nhân trong trại, thông qua việc tiếp xúc hàng ngày với tôm nên rất dễ cảm nhận được khi "có điều gì đó không bình thường". Điều này có thể là những thay đổi nhỏ trong tập tính ăn, hoạt động bơi hoặc tôm tập trung thành cụm bất thường. Thậm chí địch hại của tôm cũng cung cấp bằng chứng cho những thay đổi "tiềm ẩn" như khi các loài chim ăn cá hoặc ăn tôm tập trung quanh các ao đang bị nhiễm bệnh.

Việc lưu trữ hồ sơ (xem C.1.4) sẽ cung cấp dẫn chứng bổ sung rất có giá trị củng cố thêm cho các quan sát đó và giúp xác định sớm thời điểm bệnh bắt đầu bộc phát. Điều này rất quan trọng đối với chủ trại và các công nhân làm trong trang trại, cũng như các nhân viên làm ở thực địa, để biết tập tính "bình thường" của tôm nuôi. Khi một vài loài và môi trường nuôi thể hiện hay cho thấy những sai khác rất nhỏ trong tập tính, chúng nên được ghi nhận lại, nhất là khi thay đổi hoặc gia tăng thành phần loài, hoặc khi sử dụng thông tin từ một môi trường nuôi khác. Khi có bất kỳ thay đổi nào từ tập tính bình thường tác động lên nhiều nhóm nhỏ các cá thể tôm ngẫu nhiên, điều này nên được xem là nguyên nhân cần được quan tâm và tiến hành điều tra.

Một số biểu hiện cần quan sát trong đàn tôm nuôi gồm:

- hoạt động bất thường trong ngày - vì tôm có khuynh hướng hoạt động nhiều về đêm hơn và tụ ở tầng nước sâu hơn vào ban ngày.
- bơi ở hoặc gần mặt ao hay bờ ao thường ở trạng thái lờ đờ (tôm bơi gần mặt nước sẽ thu hút các loài chim ăn mồi sống).
- tăng tiêu thụ thức ăn và ngay sau đó biếng ăn.
- giảm hoặc ngừng ăn.
- tỷ lệ chuyển đổi thức ăn, tỷ lệ chiều dài/trọng lượng không bình thường.
- sức khỏe suy giảm - trạng thái lờ đờ (ghi chú: trạng thái lờ đờ cũng là đặc tính ở giáp xác khi nhiệt độ nước hay hàm lượng oxy hoà tan thấp, vì vậy những khả năng này phải được loại trừ là những nguyên nhân tiềm ẩn trước khi tiến hành điều tra bệnh).

C.1.1.1.2 Tỷ lệ tử vong

Tỷ lệ tử vong khi đạt đến ngưỡng quan tâm của nhà sản xuất cần được kiểm tra dưới bất cứ hình thức thiệt hại nào như:

- tỷ lệ chết tương đối giống nhau trong suốt vụ nuôi cần được kiểm tra ngay lập tức và xác định các yếu tố môi trường (tốt nhất là so sánh với hồ sơ trước khi tình trạng chết xảy ra - xem C.1.4).
- chết ngẫu nhiên, hoặc chết lác đác cho thấy có vấn đề trong phạm vi hệ thống nuôi hoặc đàn tôm nuôi. Nếu tồn tại những tình huống sau: - a) không có hồ sơ của những tử vong liên quan đến nguồn tôm nuôi, b) tất cả tôm nuôi bắt nguồn từ cùng một nguồn, và c) không có bất kỳ thay đổi nào tác động đến hệ thống nuôi trước khi tôm chết, các mẫu tôm đã nhiễm bệnh và chưa nhiễm bệnh nên được chuyển đến phòng kiểm nghiệm để xét nghiệm (Mức II hoặc III), kèm theo đó là những quan sát chung và hồ sơ tiền sử nguồn tôm (xem C.1.4).
- hiện tượng chết tràn lan phải tìm ra nguyên nhân lây nhiễm và nên tiến hành lấy mẫu ngay. Tôm bị nhiễm bệnh nên được cách ly càng xa càng tốt với tôm lành bệnh đến khi tìm ra nguyên nhân làm cho tôm chết.

C.1.1.1.3 Hoạt tính ăn

Hiện tượng bỏ ăn và không có thức ăn trong ruột là dấu hiệu chỉ thị rõ của bệnh lý còn tiềm ẩn. Việc kiểm tra thức ăn trong ruột tôm được thực hiện hàng ngày bằng cách bắt tôm trong sàn ăn hoặc bát ăn (nếu dùng), hoặc thỉnh thoảng bằng cách thu mẫu để theo dõi sinh trưởng. Tốt nhất, cứ sau 1-2 tuần nên kiểm tra hoạt tính ăn của tôm 1 lần, kể cả cho các hệ thống nuôi quảng canh. Hoạt tính ăn của tôm dễ kiểm tra bằng cách đặt thức ăn vào một sân hoặc bát **(Hình C.1.1.1.3a)** và quan sát tôm phản ứng nhanh như thế nào, tốt nhất là sau khi không cho tôm ăn vài giờ. Một điều rất quan trọng là thức ăn dùng để thu hút tôm mà có thành phần nghèo dưỡng chất, cũ và bảo quản không tốt sẽ không thu hút được tôm. Thức ăn trong ruột được kiểm tra bằng cách soi tôm ngược sáng để quan sát đường ruột trong các đốt đuôi **(Hình C.1.1.1.3b).** Nếu đoạn này rỗng, nhất là vừa sau khi cho ăn, chứng tỏ: i> thức ăn không đủ, hoặc, ii> tôm bắt đầu ngừng ăn (chứng biếng ăn).

Nếu có thể, nên duy trì việc ghi chép thức ăn (xem C.1.4) để xác định các mức tiêu thụ thức ăn thông thường (nghĩa là hoạt tính ăn của tôm khỏe), dùng để so sánh với hoạt tính ăn "nghi ngờ". Trong nhiều trường hợp biếng ăn kéo dài, các mức tiêu thụ thức ăn hàng ngày sẽ duy trì ở mức ổn định hoặc dao động sau khoảng vài tuần. Có thể nhận biết được điều này bằng cách lập một biểu đồ tiêu thụ thức ăn hàng ngày hoặc bằng cách so sánh mức tiêu thụ thức ăn hàng ngày trong sổ theo dõi sau một thời gian dài (3 - 4 tuần).

C.1.1.2 Các quan sát bề mặt (Mức độ I)

C.1.1.2.1 Hiện tượng sinh vật bám và ăn mòn

Hiện tượng sinh vật bám trên vỏ (lớp cuticun) và mang của tôm là một quá trình luôn phát triển và thường bị kiểm soát bởi hoạt động tự làm vệ sinh của tôm. Sự xuất hiện của nhiều sinh vật bám trên bề mặt (như "ký sinh trùng"- gây hại cho vật chủ; hay "sinh vật hội sinh"- không gây bất lợi cho vật chủ) cho thấy các điều kiện nuôi chưa đạt yêu cầu hoặc đang có vấn đề về bệnh. Sự mất dần lớp vỏ ngoài (hiện tượng ăn mòn) của lớp cuticun hoặc các phần phụ (chân, đuôi, râu, chủy) **(Hình C.1.1.2.1a),** hoặc mất hẳn các phần phụ, có hoặc không bị hóa đen (chứng melanin hóa) cũng là những dấu hiệu rõ ràng của tình trạng bệnh. Hiện tượng đứt râu là một dấu hiệu cảnh báo sớm. Ở tôm he khỏe, râu có thể mọc dài quá 1/3 chiều dài cơ thể (khi cong ra sau dọc theo chiều cơ thể). Hơn nữa, chứng ăn mòn hoặc phồng đuôi (chân đuôi và gai đuôi) bị hoặc không bị hóa đen, cũng là một dấu hiệu ban đầu của bệnh **(Hình C.1.1.2.1b).**

C.1.1.2.2 Mềm vỏ, đốm và tổn thương vỏ

Hiện tượng mềm vỏ **(Hình C.1.1.2.2a** và **C.1.1.2.2b),** khác với quá trình lột xác, cũng xác nhận sự xuất hiện của bệnh. Làm tổn thương hoặc các vết thương ở lớp vỏ tạo cơ hội cho các bệnh nhiễm trùng cơ hội (chủ yếu là vi khuẩn và nấm) xâm nhập các mô mềm và tăng sinh, gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến sức khỏe tôm.

Một số bệnh, như bệnh đốm trắng, tác động trực tiếp lên bề mặt vỏ, tuy nhiên, chỉ một số thay đổi là đặc trưng cho một bệnh riêng biệt. Thí dụ, trong trường hợp trên vỏ có các đốm trắng, nghiên cứu gần đây (Wang và cs., 2000) cho thấy có một vi khuẩn cũng có thể tạo ra những dấu hiệu tương tự với các dấu hiệu có ở bệnh đốm trắng (xem C.4) và hội chứng đốm trắng do vi khuẩn (xem C.4a).

C.1.1.2.3 Màu sắc

Màu sắc của tôm là một chỉ thị khác phản ánh rõ tình trạng sức khỏe của tôm.Nhiều giáp xác có màu đỏ khi bị nhiễm bởi nhiều vi sinh vật, hoặc khi bị nhiễm độc **(Hình C.1.1.2.3a),** nhất là khi khối gan tụy bị nhiễm bệnh. Hiện tượng này là do giải phóng sắc tố vàng- cam (carotenoid) thường được chứa trong khối gan tụy. Màu đỏ này không đặc trưng cho bất kỳ trường hợp cá biệt nào (hoặc các nhóm bị nhiễm bệnh), vì vậy việc chẩn đoán tiếp là cần thiết.

Sự chuyển thành màu vàng của phần đầu ngực có liên quan đến bệnh đầu vàng (xem C.2), và nói chung hiện tượng hóa đỏ có liên quan đến các bệnh do virus liên quan đến mang (xem C.6), bệnh đốm trắng hoặc do vi khuẩn, như đã trình bày ở trên, hoặc bệnh nhiễm trùng máu do vi khuẩn (xem C.10). Trong một số trường hợp, sự biến màu chỉ xảy ra trên các phần cuối như đuôi bơi hoặc các phần phụ **(Hình C.1.1.2.3b),** nên cần kiểm tra các phần này kỹ hơn.

Cũng cần lưu ý có một số tôm bố mẹ, đặc biệt là tôm sống ở vùng nước sâu, cũng có màu đỏ (do nguồn thức ăn giàu carotenoid). Điều này không phản ảnh tình trạng sức khỏe, và thường được xác định thông qua sự tương đồng với những con đang trưởng thành. Trong một số điều kiện, một vài giống tôm có thể chuyển màu sang xanh da trời. Hiện tượng này do hàm lượng thấp của sắc tố carotenoid có trong khối gan tụy (và trong các mô khác) do điều kiện môi trường hoặc do độc tố gây ra. Những khác biệt về màu sắc thông thường (từ màu sáng đến màu sẫm) ở một loài tôm là do những sai khác của môi trường sống. Thí dụ, tôm *Penaeus monodon* sinh trưởng ở độ mặn thấp, thường có màu nhạt hơn loài *P.monodon* sinh trưởng trong môi trường biển hoặc nước lợ. Những sai khác

này không hề có liên quan đến sức khỏe tôm nuôi nói chung.

(P Chanratchakool)

Hình.C.1.1.1.3a. Quan sát tập tính của tôm PL trong một cái bát

(P Chanratchakool)

Hình.C.1.1.1.3b. Tôm có màu sáng và trong ruột có đầy thức ăn bắt ở ao có thực vật phù du phát triển tốt.

(P Chanratchakool)

Hình.C.1.1.2.1a. Các phần phụ bị tổn thương chuyển sang màu đen

(P Chanratchakool)

(P Chanratchakool/MG Bondad-Reantaso)

Hình.C.1.1.2.2a,b. Tôm có vỏ mềm lâu dài.

(P Chanratchakool)

Hình.C.1.1.2.3a. Sự chuyển màu xanh da trời và đỏ không bình thường.

(P Chanratchakool)

Hình.C.1.1.2.3b. Sự chuyển màu đỏ ở phần phụ sưng phồng

← Hình.C.1.1.2.1b. Đuôi tôm bị sưng do nhiễm vi khuẩn

C.1.1.2.4 Các quan sát về môi trường

Tôm có mang màu nâu hoặc mềm vỏ (hay mẫu đại diện) nên được chuyển sang một bể kính có sục đủ khí và nước biển sạch, có cùng độ mặn như ở ao mà tôm đã sống. Chúng sẽ được theo dõi 1-2 giờ một lần trong vòng 1 ngày. Nếu tôm hoạt động bình thường trở lại sau vài giờ, phải kiểm tra các thông số môi trường của ao nuôi.

C.1.1.3 Các bề mặt mô mềm (Mức độ I)

Sự thay đổi dễ nhận thấy ở các mô mềm là hiện tượng đóng dơ ở vùng mang **(Hình C.1.1.3a),** đôi khi có hiện tượng chuyển màu nâu kèm theo **(Hình C.1.1.3b)** (Xem C.1.1.2.4). Tình trạng này có thể do bệnh lý và phải hành động nhanh vì nó làm giảm khả năng hấp thu oxy và khả năng sống của tôm.

Khi tách bỏ lớp vỏ vùng đầu tôm sẽ cho phép kiểm tra sơ bộ các cơ quan ở vùng này, đặc biệt là khối gan tụy **(Hình C.1.1.3c).** Khi so sánh với tôm khỏe mạnh, trong vài trường hợp, khối gan tụy có khuynh hướng biến màu (có nghĩa là hơi vàng, tái, đỏ), sưng hoặc teo. Nếu tách khéo khối gan tụy khỏi lớp vỏ, sẽ dễ nhìn thấy phần ruột giữa hơn và cho phép kiểm tra trực tiếp màu sắc ruột (màu sẫm- có thức ăn; màu sáng/trắng/vàng- dạng nhày, rỗng hoặc không có thức ăn - xem C.1.1.1.3). Thông tin này rất hữu ích để xác định tình trạng sức khỏe của tôm và khi các tác nhân gây bệnh nhiễm trùng đã xuất hiện.

C.1.2 Các chỉ tiêu môi trường (Mức độ I)

Điều kiện môi trường có tác động đáng kể đến sức khỏe tôm một cách trực tiếp (sự phân bố ngưỡng chịu đựng sinh lý) và gián tiếp (tăng tính mẫn cảm với sự nhiễm bệnh hoặc các biểu hiện của chúng). Chúng bao gồm những thay đổi hàm lượng oxy hòa tan, độ pH thúc đẩy các biểu hiện của bệnh đầu vàng (xem C.2) và bệnh đốm trắng (xem C.4) tiềm ẩn từ lâu hay do ảnh hưởng của độ mặn sẽ biểu hiện ra bệnh hoại tử khối gan tụy (xem C.10). Điều này đặc biệt quan trọng đối với những loài sinh trưởng trong điều kiện ít giống với điều kiện tự nhiên. Nhiệt độ nước, độ mặn, độ đục, chất lơ lửng và sự nở hoa của tảo **(Hình C.1.2a,b,c và d)** đều là những yếu tố quan trọng. Sự thay đổi đột ngột của môi trường có tầm quan trọng đặc biệt để bột phát ra những bệnh đang tiềm ẩn hơn là những thay đổi từ từ. Do đó, các nhà quản lý và công nhân trại nuôi, cần cố gắng duy trì điều kiện ao nuôi ở phạm vi thích hợp cho loài và càng ổn định ở phạm vi này càng tốt. Mật độ nuôi cao là phổ biến trong nuôi trồng thủy sản nhưng sẽ khiến cho cá thể nuôi bị sốc thậm chí những biến động dù nhỏ của môi trường cũng có thể gây ra bệnh. Ngoài ra, nhiều thay đổi nhỏ tự thân không có ảnh hưởng đến sức khỏe tôm. Nhưng khi những thay đổi nhỏ này xảy ra đồng thời sẽ tạo những kết quả nguy hiểm không lường được.

C.1.3 Các quy trình chung

C.1.3.1 Chuẩn bị trước khi thu mẫu (Mức độ I)

Phòng kiểm nghiệm chẩn đoán bệnh nơi sẽ nhận mẫu cần được thông báo để xác định phương thức chuyển mẫu tối ưu (ướp đá, bảo quản bằng cách cố định, các mẫu toàn thân hoặc mẫu mô). Phòng kiểm nghiệm cũng xác định yêu cầu liệu chỉ thu những cá thể bị nhiễm bệnh, hay cả những cá thể trông vẫn khỏe để so sánh. Như đã trình bày trong phần C.1.3.3 và C.1.3.4, việc điều tra bệnh và chẩn đoán bệnh thường có các đòi hỏi kích cỡ mẫu khác nhau.

Phòng kiểm nghiệm cũng nên được thông báo chính xác mẫu được chuyển đến là gì (số lượng, kích cỡ - hoặc mô), ngày ấn định thu và vận chuyển mẫu càng sớm càng tốt. Để điều tra sơ bộ sức khỏe của vật nuôi, kích cỡ mẫu thường gấp nhiều lần theo phòng kiểm nghiệm yêu cầu. Việc điều tra bệnh cũng phải được lên kế hoạch trước, dựa trên thời điểm dự báo ngày vận chuyển post-larvae (PL) hoặc tôm bố mẹ, điều này, đồng nghĩa với việc các chủ tàu có nhiều thời gian để thông báo trước cho phòng kiểm nghiệm. Trong trường hợp có dịch bệnh bùng phát và số tử vong đáng kể, sẽ không có thời gian báo trước cho phòng kiểm nghiệm. Tuy nhiên, phòng kiểm nghiệm vẫn nên được liên lạc trước khi chuyển hàng hay chuyển tận tay đối với bất cứ mẫu bệnh (vì những lý do được nêu trong phần C.1.3.4). Một số mẫu cần được bao gói an toàn hoặc việc thu mẫu phải do những người được chỉ định, nếu có các yêu cầu xác nhận của quốc gia hoặc quốc tế hoặc nguy cơ lây lan bệnh do vận chuyển mẫu đến một vùng chưa bị nhiễm bệnh.

(P Chanratchakool)

Hình C.1.1.3a. Mang của tôm bị thối bẩn nghiêm trọng

(P Chanratchakool)

Hình.C.1.1.3b. Mang tôm chuyển sang màu nâu.

(P Chanratchakool)

Hình.C.1.1.3c. Tôm ở bên trái có khối gan tụy nhỏ

(V Alday de Graindorge and TW Flegel)

(P Chanratchakool)

Hình.C.1.2a, b, c. Các ví dụ về các dạng nở hoa khác nhau của sinh vật phù du (a- hoa nước màu vàng/xanh lá cây; b- hoa nước màu nâu; c- hoa nước màu lam.

(P Chanratchakool)

Hình.C.1.2d. Thực vật phù du chết.

← Hình. C.1.3.6. Các điểm để tiêm cố định mẫu.

Những thảo luận trước khi thu mẫu với phòng thí nghiệm chẩn đoán bệnh sẽ giúp thúc đẩy nhanh quá trình phân tích và chẩn đoán bệnh của mẫu (nhiều ngày đến nhiều tuần) do nó cho phép chuẩn bị sẵn sàng các dụng cụ thiết bị chẩn đoán cần thiết trước khi mẫu đến và đảm bảo những mẫu khẩn cấp cũng được lên lịch để chẩn đoán nhanh.

C.1.3.2 Thông tin chung

Tất cả các mẫu đem chẩn đoán nên được đính kèm càng nhiều thông tin càng tốt, bao gồm:

- quan sát sơ bộ và hồ sơ về các thông số môi trường (trình bày trong phần C.1.1 và C.1.2)
- phỏng đoán tỷ lệ mắc bệnh và kiểu tử vong (cấp tính hay mãn tính, chết lác đác hay chết dồn tích)
- hồ sơ theo dõi và xuất xứ của nguồn tôm bị nhiễm.
- nếu nguồn tôm không phải là giống địa phương, thì nguồn gốc và ngày nhập cũng phải được gửi kèm.
- các chi tiết về thức ăn, mức tiêu thụ và bất kỳ hoá chất điều trị đã sử dụng

Các thông tin này sẽ cung cấp các chi tiết cơ bản rất có giá trị giúp tập trung chú ý đến tình trạng gây xốc, những thay đổi trong môi trường hoặc các tác nhân gây bệnh là nguyên nhân chính của bất kỳ bệnh nào.

C.1.3.3 Lấy mẫu để kiểm tra sức khỏe

Những yếu tố quan trọng nhất có liên quan đến việc thu mẫu để kiểm tra bao gồm:

- số lượng mẫu phải đủ đảm bảo để xác định bệnh (xem C.1.3.1 và bảng C.1.3.3). Kiểm tra số lượng mẫu theo yêu cầu của phòng kiểm nghiệm trước khi tiến hành thu mẫu và đảm bảo mỗi loại vẫn trong tình trạng nguyên vẹn. Số lượng mẫu được dùng cho mục đích kiểm tra bệnh thường nhiều hơn so với số lượng mẫu dùng để chẩn đoán bệnh.
- cần thu mẫu các loài bị nghi ngờ nhiễm bệnh.
- mẫu bao gồm các nhóm tuổi hoặc nhóm kích cỡ đại diện những triệu chứng cần xác định. Những thông tin này được nêu trong phần bệnh cụ thể; và
- thu mẫu trong suốt mùa khi bệnh có thể xảy ra. Những thông tin này cũng được nêu trong phần bệnh cụ thể.

Như đã trình bày trong phần C.1.3.1, để thu thập mẫu có cần hay không cần đến người được chỉ định, hoặc việc đóng gói bảo đảm có cần thiết không, hoặc liệu mẫu có được thu đáp ứng theo các yêu cầu xác nhận của quốc gia và quốc tế không.

C.1.3.4 Lấy mẫu để chẩn đoán bệnh

Tất cả mẫu dùng để chẩn đoán bệnh cần phải có càng nhiều thông tin hỗ trợ càng tốt, như đã mô tả trong phần C.1.3.2, đặc biệt chú ý đến:

- tỷ lệ và mức độ chết khi so sánh với mức "bình thường " ứng với thời điểm trong năm;
- các kiểu chết (ngẫu nhiên/rời rạc, cục bộ, lây lan, lan rộng)
- tiền sử và nguồn gốc của quần thể bị nhiễm bệnh.
- các chi tiết về thức ăn đã dùng, mức tiêu thụ thức ăn và bất kỳ xử lý hóa chất nào.

Giống như ở phần C.1.3.2, những thông tin trên sẽ giúp làm rõ có tác nhân gây bệnh hay không và giúp tập trung vào những quá trình điều tra cần thiết để chẩn đoán bệnh chính xác. Nguồn thông tin này cũng rất quan trọng cho các phòng kiểm nghiệm nằm ở ngoài vùng hoặc phạm vi nơi bệnh đang bị nghi ngờ phát tán. Trong những trường hợp như thế, phòng kiểm nghiệm phải chuẩn bị để ngăn chặn nghiêm ngặt và bố trí thanh trùng tất cả các thiết bị chuyên chở mẫu vật và các phế phẩm, nhằm tránh lan truyền bệnh từ phòng kiểm nghiệm.

Nếu có thể, trước khi tiến hành thu mẫu nên kiểm tra số lượng mẫu vật cần thu theo yêu cầu của phòng kiểm nghiệm dùng để chẩn đoán bệnh. Cũng phải hỏi lại phòng kiểm nghiệm xem chỉ cần các mẫu vật mang dấu hiệu bệnh lý, hay cả những mẫu vật gồm cả những cá thể khoẻ mạnh và những mẫu bệnh phẩm trong cùng một ao nuôi. Yêu cầu sau thường được sử dụng khi bùng phát bệnh hoặc lần đầu tiên phát hiện chứng bệnh lạ. Những mẫu mang tính so sánh sẽ giúp xác định chính xác những khác thường trong các mẫu vật bị nhiễm bệnh.

C.1.3.5 Lấy mẫu sống để vận chuyển (Mức độ I)

Một khi yêu cầu về kích cỡ mẫu đã được xác định mới tiến hành thu mẫu tôm từ vùng nuôi. Nên thực hiện càng gần nơi sẽ chuyển đi càng tốt để giảm khả năng mẫu bị chết trong quá trình vận chuyển (đặc biệt quan trọng với các mẫu sắp chết hoặc bị bệnh). Nếu có thể, cần đảm bảo cho mỗi mẫu vật được nguyên vẹn.

Tỷ lệ mắc bệnh (%)							
Kích cỡ quần đàn	0.5	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	10.0
50	46	46	46	37	37	29	20
100	93	93	76	61	50	43	23
250	192	156	110	75	62	49	25
500	314	223	127	88	67	54	26
1000	448	256	136	92	69	55	27
2500	512	279	142	95	71	56	27
5000	562	288	145	95	71	57	27
100000	579	292	146	96	72	29	27
1000000	594	296	147	97	72	57	27
10000000	596	297	147	97	72	57	27
>10000000	600	300	150	100	75	60	30

Bảng C.1.3.3[1] Số mẫu cần để phát hiện ra ít nhất có một cá thể bị nhiễm bệnh trong một kích cỡ quần đàn và tỷ lệ mắc bệnh đã nêu. Các giả địnhh 2% và 5% mắc bệnh thường được dùng để kiểm tra các tác nhân gây bệnh từ bên ngoài, với độ tin cậy 95%.

Như trình bày trong phần C.1.3.1, cần thông báo cho phòng kiểm nghiệm thời gian dự kiến mẫu vật sẽ đến để họ chuẩn bị vật liệu cần cho xét nghiệm. Nhờ thế rút ngắn được thời gian di chuyển mẫu vật từ ao nuôi đến việc chuẩn bị cho xét nghiệm.

Nên đóng gói tôm trong nước biển trong 2 lớp túi ni-lông với khoảng không trong túi đã được nạp oxy. Các túi cần được buộc chặt bằng dây cao su hoặc bằng dây thun và được đóng gói trong thùng xốp. Có thể bỏ kèm một ít đá lạnh vào thùng để giữ cho nước mát, nhất là khi vận chuyển thời gian dài. Thùng mẫu sau đó được dán băng keo đảm bảo và có thể được bỏ vào thùng cac- tông. Hỏi lại phòng kiểm nghiệm chẩn đoán bệnh về yêu cầu đóng gói. Một số phòng kiểm nghiệm có những yêu cầu đóng gói riêng cho các vi sinh vật gây bệnh. Các mẫu chuyển đi với mục đích xin chứng nhận có thể còn có thêm một số yêu cầu bổ sung về vận chuyển và thu mẫu. (xem C.1.3.3).

Nhãn của thùng hàng phải ghi rõ:

"MẪU VẬT SỐNG, GIỮ Ở……^{o}C…..
CHO ĐẾN……^{o}C, KHÔNG ĐƯỢC
ĐÔNG LẠNH"

(Ghi ngưỡng chịu đựng về nhiệt độ của tôm sẽ được vận chuyển)

Nếu vận chuyển bằng đường hàng không cũng cần ghi rõ:

"GIỮ TẠI SÂN BAY VÀ GỌI ĐIỆN
THOẠI ĐỂ TIẾP NHẬN"

- xác định rõ tên và số điện thoại của người có trách nhiệm tiếp nhận lô hàng tại sân bay hoặc tiếp nhận tại phòng kiểm nghiệm.
- nếu được, nên chuyển hàng đến vào đầu tuần để tránh đến vào ngày cuối tuần, dễ dẫn đến hư hỏng do bảo quản mẫu không đúng qui cách.
- thông báo cho người tiếp nhận càng sớm càng tốt khi hàng đã được chuyển, và nếu có thể thì cung cấp tên hãng vận chuyển, số chuyến bay, số vận đơn và dự kiến thời gian đến.

(Ghi chú: một số hãng hàng không nghiêm cấm vận chuyển mẫu tươi trong nước biển hoặc mẫu cố định. Tốt nhất là nên kiểm tra hãng hàng không địa phương liệu họ có bất kỳ yêu cầu đặc biệt nào không).

[1] Ossiander, F,J và G. Wedermeyer. 1973. Tạp chí của Uỷ ban Nghiên cứu Nghề cá Canada 30: 1383- 1384

C.1.3.6 Bảo quản các mẫu mô (Mức độ II)

Trong một số trường hợp, như vị trí lấy mẫu cách xa phòng kiểm nghiệm chẩn đoán bệnh hoặc nơi có điều kiện vận chuyển lạc hậu, sẽ rất khó có được mẫu vật tôm còn sống. Việc đông lạnh thường không đáp ứng đủ cho hầu hết các kỹ thuật chẩn đoán (mô học, vi khuẩn học, nấm học, v.v…), do đó cần cố định các mẫu vật tại chỗ (bảo quản bằng hóa chất để tránh mô bị vỡ và phân hủy). Điều này làm cho các bước kiểm tra kế tiếp về mô học, lai giống tại chỗ, PCR hay kính hiển vi điện tử của mẫu được thuận lợi, nhưng sẽ giới hạn việc nghiên cứu vi khuẩn, nấm, virus hoặc các kỹ thuật khác đòi hỏi hệ vi sinh còn sống. Do đó trước khi thu mẫu cần thảo luận với phòng kiểm nghiệm về các yêu cầu chẩn đoán.

Dung dịch cố định thường dùng cho tôm he tốt nhất là dung dịch Davidson.

- 330 ml 95% ethanol
- 220 ml 100% formalin (37% formaldehyde trong dung dịch nước)
- 115 ml acid acetic băng
- 335 ml nước cất
- hoà tan và bảo quản ở nhiệt độ phòng.

(Tuy nhiên cũng cần lưu ý rằng dư lượng formalin sẽ cản trở quá trình kiểm bằng phương pháp PCR. Do đó mẫu dùng cho phân tích PCR nên được cố định bằng dung dịch 70% ethanol).

Dù trong bất kỳ phương pháp cố định nào, cần ghi nhớ rằng cơ quan tiêu hóa chủ yếu của tôm (khối gan tụy) là rất quan trọng trong chẩn đoán bệnh, nhưng lại bị tự tiêu hủy nhanh ngay sau khi tôm chết (sự tiêu hủy mô do chất dịch tiêu tiết ra từ các tế bào gan tụy đã chết). Điều này có nghĩa là cấu trúc của khối gan tụy trước khi chết phân hủy rất nhanh (chuyển sang dạng nhão). Chậm trễ chỉ trong vài giây khi cố định cơ quan này có thể làm cho toàn bộ mẫu vật trở nên vô dụng cho việc chẩn đoán, do đó, mẫu vật phải được ngâm hoặc tiêm dung dịch cố định ngay khi vẫn còn sống. Đối với tôm đã chết, thậm chí khi đã được bảo quản trong đá (hoặc đông lạnh) thì cũng không dùng để cố định mẫu tiếp tục. Ở các vùng nhiệt đới, cách tốt nhất là cố định lạnh nghĩa là bảo quản trong ngăn đông lạnh hoặc giữ trong đá vì sẽ tránh được hiện tượng tự tiêu hủy và sự sinh sôi vi sinh vật thứ cấp giống như các mô đã được cố định.

Nên ngâm trực tiếp ấu trùng (Larvae) và hậu ấu trùng (PL) giai đoạn sớm trong dung dịch cố định với tỷ lệ tối thiểu là 10 thể tích dung dịch cố định so với 1 thể tích mô tôm. Tỷ lệ 10:1 này rất quan trọng để bảo quản mẫu có hiệu quả. Việc cố gắng giảm chi phí bằng cách giảm tỷ thể tích chất cố định thấp hơn tỷ lệ trên có thể làm cho việc bảo quản mô không đạt yêu cầu cho quá trình phân tích.

Đối với PL có chiều dài lớn hơn 20mm, nên dùng kim nhọn tạo một đường rạch nông nhỏ đủ để nâng nhẹ lớp vỏ cutin ở đường giữa lưng, tại khớp nối cutin giữa giáp đầu ngực và đốt bụng đầu tiên. Thao tác này cho phép chất cố định thấm nhanh vào khối gan tụy.

Đối với các PL lớn hơn, tôm ấu niên và tôm trưởng thành nên tiêm dung dịch cố định trực tiếp vào tôm, theo các bước sau:

- đặt tôm ngay ngắn trong nước đá để trấn tĩnh chúng.
- dùng găng tay cao su giải phẫu và kính bảo vệ mắt, tiêm nhanh dung dịch cố định (khoảng 10% trọng lượng cơ thể của tôm) vào các vị trí sau đây (Hình C.1.3.6):
  - khối gan tụy
  - vùng trước khối gan tụy
  - vùng ổ bụng trước, và
  - vùng ổ bụng sau

Cẩn thận khi giữ tôm sao cho góc tiêm tránh xa cơ thể người tiêm, vì dung dịch cố định đôi khi tuột ra khỏi vị trí tiêm do kim bị lệch và có thể gây tổn thương cho mắt. Tốt nhất là để tay cầm kim tiêm áp vào cẳng tay của tay giữ mẫu tôm, để tránh tiêm vào tay giữ mẫu. Nên tiêm dung dịch cố định vào khối gan tụy nhiều hơn vùng ổ bụng. Đối với tôm kích thước lớn hơn, tốt hơn nên tiêm vào nhiều điểm của khối gan tụy. Tất cả biểu hiệu của sự sống không còn và màu sắc tại các vị trí tiêm sẽ thay đổi.

Ngay sau khi tiêm, cắt lớp cutin bằng kéo giải phẫu dọc theo chiều dài thân từ đốt bụng thứ sáu đến lớp cutin che "vùng đầu" (giáp đầu ngực). Từ đây, đi xuyên góc cắt hướng lên tới cho đến khi chạm đến chuỷ. Tránh cắt quá sâu vào lớp mô bên dưới. Tôm trên 12 g nên giải phẫu theo chiều ngang, tối thiểu là ở phần sau của mối nối ổ bụng/giáp đầu ngực và tiếp tục đến ổ bụng giữa. Sau đó ngâm các mô ngay vào dung dịch cố định với tỷ lệ 10:1 của thể tích dung dịch

cố định so với mẫu mô, ở nhiệt độ của phòng. Có thể thay dung dịch cố định sau 24-72 giờ nếu là 70% ethanol, để bảo quản trong thời gian dài.

C.1.3.7 Vận chuyển các mẫu đã được bảo quản (Mức độ I)

Khi vận chuyển bằng đường tàu thủy, tách mẫu vật khỏi dung dịch bảo quản ethanol, gói mẫu vào khăn giấy đã tẩm 50% ethanol và bỏ vào túi ni-lon dán kín. Trong túi không được có dịch lỏng tự do. Buộc lại và đặt vào trong túi thứ hai. Tại hầu hết các quốc gia, số lượng nhỏ các mẫu vật dạng này được phép vận chuyển bằng đường hàng không đến các phòng kiểm nghiệm chẩn đoán bệnh. Tuy nhiên, một vài nước và các hãng vận chuyển (nhất là đối với các hãng vận chuyển bằng đường hàng không) có luật cấm vận chuyển bất kỳ hóa chất nào, kể cả các mẫu cố định dùng để chẩn đoán bệnh. Nên kiểm tra trước với bưu điện hoặc hãng vận chuyển trước khi tiến hành thu mẫu nhằm đảm bảo mẫu vật đã được xử lý và đóng gói theo phương thức thích hợp và được chấp nhận. Tất cả các túi đựng mẫu nên được xếp trong thùng chứa không bị rò rỉ và bằng vật liệu bền.

Nhãn thùng chứa phải ghi rõ tên và số điện thoại của người có trách nhiệm tiếp nhận lô hàng tại sân bay hoặc tiếp nhận tại phòng kiểm nghiệm.

Nếu mẫu được vận chuyển bằng đường hàng không nên ghi rõ "GIỮ TẠI SÂN BAY VÀ GỌI ĐIỆN THOẠI ĐỂ TIẾP NHẬN"

Nếu được, nên vận chuyển hàng vào đầu tuần để tránh thời điểm đến nơi vào ngày cuối tuần dễ dẫn đến hư hỏng do bảo quản mẫu không đúng cách. Thông báo cho người nhận càng sớm càng tốt khi đã chuyển hàng, cũng như cho họ biết tên hãng vận chuyển, số chuyến bay, số vận đơn và dự kiến thời gian đến.

C.1.4 Ghi chép - Lưu giữ (Mức độ I)

Lưu trữ hồ sơ là rất cần thiết để quản lý bệnh có hiệu quả. Đối với tôm, nhiều yếu tố cần được ghi trong hồ sơ thường ngày như đã được nêu trong phần C.1.1 và C.1.2. Điều này rất quan trọng để đưa ra và ghi nhận những tập tính và biểu hiện bình thường để so sánh với những quan sát khi có dịch bệnh xảy ra.

C.1.4.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Những điều này có thể có trong sổ nhật ký thông thường về sự tăng trưởng của tôm, lý tưởng nhất là được theo dõi đều đặn cả bằng lấy thêm mẫu từ bể hoặc ao nuôi, hoặc bằng cả việc ước lượng "dự báo chính xác" từ những quan sát bề mặt.

Đối với những cơ sở ương ấp, thông tin cần thiết phải được ghi chép bao gồm:

- hoạt tính ăn và mức ăn
- giai đoạn của ấu trùng/tăng trưởng
- tỷ lệ chết
- tình trạng ấu trùng

Những quan sát này nên được ghi chép trong hồ sơ mỗi ngày cho tất cả các giai đoạn, bao gồm ngày, giờ, bể, nguồn tôm bố mẹ (nếu có nhiều hơn một) và nguồn thức ăn (mẻ nuôi tôm nước mặn hoặc nguồn thức ăn khác). Ngày và giờ thay nước cho bể cũng phải được ghi chép, cùng với ngày và giờ xi-phông đáy hay khử trùng. Lý tưởng hơn, các số liệu này nên được kiểm tra thường xuyên bởi người có trách nhiệm đối với nơi/vật nuôi.

Nếu được, các trại ương ấp nên có kính hiển vi để soi kiểm tra ấu trùng hàng ngày. Việc này sẽ cho phép họ nhanh chóng phát hiện vấn đề đang nảy sinh trong đàn tôm của họ, trước khi chúng biểu hiện rõ trong phần đông quần thể tôm nuôi.

Đối với ao nuôi, những quan sát thiết yếu tối thiểu cần phải ghi chép bao gồm:

- tăng trưởng
- tiêu thụ thức ăn
- chất vẩn lơ lửng
- hiện tượng tử vong

Những số liệu này nên được ghi chép theo ngày, vị trí và bất kỳ hành động nào đã được hành (thí dụ thu mẫu cho phòng kiểm nghiệm kiểm tra). Điều này là quan trọng để biết các mức thay đổi của các thông số này là rất cần thiết để dự đoán nguyên nhân của bất kỳ dịch bệnh bùng phát nào. Điều này có nghĩa các mức độ

phải được ghi chép thường xuyên và là cơ sở đúng đắn để lập phác đồ theo thời gian. Tốt nhất là những ghi nhận này nên được kiểm tra thường xuyên bởi người có trách nhiệm đối với nơi/vật nuôi.

C.1.4.2 Các quan sát môi trường (Mức độ I)

Điều này thích hợp nhất với những ao mở. Số liệu cần thiết tối thiểu cần có để lưu trữ bao gồm:

- nhiệt độ
- độ mặn
- pH
- độ đục (đánh giá định tính hoặc đĩa secchi)
- sự nở hoa của tảo
- hoạt động của con người (xử lý, phân loại, thay đổi ao nuôi, v.v…)
- hoạt động của định hại.

Như trong phần C.1.4.1, trạng thái và mức độ thay đổi của các thông số này trước khi bùng phát bất kỳ dịch bệnh nào là cực kỳ quan trọng để đánh giá nguyên nhân gây nên dịch. Mặc dù có ích, những số liệu ghi chép trong ngày thu mẫu mang lại hiệu quả ít hơn so với việc ghi chép liên tục. Do đó, không nên khinh suất tầm quan trọng của việc ghi chép cẩn thận, đều đặn và liên tục, bất chấp hậu quả "mong đợi".

Tần suất của việc lưu trữ hồ sơ sẽ khác nhau tùy nơi, mùa. Thí dụ, khi thời tiết không ổn định việc theo dõi sẽ phải thương xuyên hơn so với những mùa có trạng thái ổn định kéo dài.

Hoạt động của con người và địch hại cũng nên được ghi chép trong hồ sơ " theo đúng thực tế".

C.1.4.3 Ghi chép về nuôi thả (Mức độ I)

Tất cả việc xuất và nhập tôm ở một cơ sở ương ấp và ao/vị trí nuôi đều phải được ghi chép. Hồ sơ gồm có:

- Nguồn gốc chính xác của tôm bố mẹ hoặc ấu trùng và các hồ sơ chứng nhận sức khỏe (ví dụ kết quả kiểm tra được tiến hành trước và sau khi vào trại).
- Tình trạng tôm khi tiếp nhận
- Ngày, giờ và tên người có trách nhiệm tiếp nhận vận chuyển nguồn tôm.
- Ngày, giờ và địa điểm nguồn tôm sẽ được vận chuyển ra khỏi cơ sở ương ấp.

Ngoài ra, tất cả di chuyển của tôm trong trại ương ấp, ao ương, hoặc ao nuôi tôm thịt cũng phải được ghi chép theo từng thời điểm để theo dõi nếu xảy ra tình huống dịch bệnh.

Nếu có thể, không nên nuôi chung các dòng vật nuôi khác nhau. Nếu không thể tránh việc nuôi chung, thì phải ghi chép thật cẩn thận thời điểm nuôi chung.

C.1.5 Tài liệu tham khảo

Alday de Graindorge, V. and T.W. Flegel. 1999. Diagnosis of shrimp diseases with emphasis on black tiger prawn, *Penaeus monodon*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Multimedia Asia Co., Ltd, BIOTEC, Network of Aquaculture Cen- tres in Asia Pacific (NACA) and Southeast Asian Chapter of the World Aquaculture So- ciety (WAS). Bangkok, Thailand. (Interactive CD-ROM format).

Chanratchakool, P., J.F. Turnbull, S.J. Funge- Smith, I.H. MacRae and C. Limsuan.1998. Health Management in Shrimp Ponds. Third Edition. Aquatic Animal Health Research In- stitute. Department of Fisheries. Bangkok, Thailand. 152p.

Chanratchakool, P., J.F. Turnbull, S. Funge-Smith and C. Limsuan. 1995. Health Man-agement in Shrimp Ponds. Second Edition. Aquatic Animal Health Research Institute. Department of Fisheries. Bangkok, Thailand. 111p.

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 304p.

Ossiander, F.J. and G. Wedermeyer. 1973. Computer program for sample size required to determine disease incidence in fish popula- tions. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 30: 1383-1384.

Wang,Y.G., K. L. Lee, M. Najiah, M. Shariff and M. D. Hassan. 2000. A new bacterial white spot syndrome (BWSS) in cultured tiger shrimp *Penaeus monodon* and its compari- son with white spot syndrome (WSS) caused by virus. *Dis. Aquat.Org.* 41:9-18.

C.1 Kỹ thuật chung

C.2.1 Thông tin chung

C.2.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh đầu vàng (YHD) gây ra bởi virus đầu vàng (YHV) (trong các tài liệu cũ còn được gọi là Baculovirus đầu vàng - YBV hoặc Baculovirus bệnh đầu vàng - YHDBV). Hiện nay, người ta đã xác định nó không thuộc Baculoviridae. YHV chỉ là một RNA sợi đơn hình que (44 ± 6 x 173 ± 13nm) được bọc bởi bào chất virus gần giống với các virus thuộc họ Coronaviridae. Điện di Agarose cho thấy nó là một gen với kích thước 22kilo base. Virus của cơ quan Lympho (LOV) và virus sống ở mang (GAV) (xem mục C.6) của *Penaeus monodon* ở Ôxtrâylia có liên quan đến các virus đầu vàng phức hợp, mặc dù trong hai loài virus này chỉ có GAV được biết là có thể làm tôm chết. Các thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000 a) và Lightner (1996).

C.2.1.2 Vật chủ

Các lây nhiễm tự nhiên xảy ra ở *Penaeus monodon*, nhưng các lây nhiễm thực nghiệm lại thấy ở *P. japonicus, P.vannamei, Penaeus setiferus, P. aztecus, P.duorarum và P. stylirostris. P. merguiensis* có vẻ kháng được bệnh (nhưng chưa chắc không lây nhiễm). *Palaemon styliferus* được coi là loài mang virus. *Euphausia spp,* moi (*Acetes spp*) và các loài tôm nhỏ khác cũng được thông báo là có mang virus YHD.

C.2.1.3 Phân bố địa lý

YHD gây bệnh cho tôm nuôi ở châu Á, bao gồm Trung Quốc, Ấn Độ, Philippin và Thái Lan. YHD đã được thông báo có trong tôm nuôi ở Texas và có một mẫu đã được thông báo là dương tính với YHV bằng phương pháp phân tích kháng thể (Loh và cs. 1998).

C.2.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh của động vật thủy sản ở vùng châu Á-Thái Bình Dương (1999-2000)

YHD đã được thông báo ở Malaysia vào tháng 6, ở Philippin từ tháng 1-3; ở Srilanka vào tháng 1 và có thể quanh năm 1999 ở Thái Lan. Trong báo cáo vào năm 2000, Ấn Độ đã thông báo bệnh này vào tháng 10 và bệnh nghi ngờ có trong suốt năm ở Thái Lan và Srilanka (OIE 1999, OIE 2000b).

C.2.2 Các khía cạnh lâm sàng

Hàng loạt triệu chứng lâm sàng của bệnh **(Hình C.2.2)** và tôm chết 2-4 ngày sau khoảng thời gian ăn mồi nhiều khác thường và kết thúc bằng việc đột ngột ngừng ăn. Tôm có thể chết 100% trong vòng 3-5 ngày. Tôm bị bệnh tập trung ở rìa ao hoặc gần mặt nước. Gan tụy tôm bị đổi màu làm cho phần đầu ngực có màu vàng nhạt-đó cũng là tên của bệnh. Toàn bộ thân tôm có màu nhợt nhạt khác thường. Tôm hậu ấu trùng (PL) ở 20-25 ngày tuổi hoặc lớn hơn rất dễ bị bệnh, trong khi tôm PL<15 ngày lại kháng được bệnh.

Cần thận trọng trong chẩn đoán vì tôm chết do YHD đã được biết lại không xuất hiện màu vàng nhạt thường thấy trên phần đầu ngực. Triệu chứng lâm sàng không phải luôn xuất hiện và việc không xuất hiện các triệu chứng lâm sàng không phải là không nhiễm YHD. Những chẩn đoán lâm sàng khẳng định khác bao gồm một phần tối thiểu của tôm, nhuộm màu mang và làm lamen huyết tương cần được thực hiện trong bất cứ trường hợp nào dù tôm bị chết nhanh ngoài mong muốn, trong đó không thể loại trừ có virus YHV.

Thường tìm thấy virus YHD trong mô ngoại bì và trung bì của phôi gốc, bao gồm: các mô giữa của gan tụy, các tế bào máu tuần hoàn và tế bào máu phát triển trong các mô máu và các thể thực bào cố định trong tim, cơ quan bạch huyết (Oka), biểu mô mang và tế bào lông, các mô liên kết và mô xốp, lớp biểu bì gần vỏ ngoài và mô tim, các cơ vân và cơ tim, viên nang buồng trứng, mô thần kinh, các tế bào thể dịch thần kinh và tế bào hạch, dạ dày, ruột giữa, và các vách manh tràng. Các tế bào biểu mô của ống gan tụy, ruột giữa và manh tràng (gốc nội bì) không bị nhiễm YHD mặc dù cơ dưới và các mô liên kết lại bị nhiễm. Cơ quan Oka, mang, tim và mô dưới mô sừng kể cả những mô này ở biểu mô dạ dày chứa YHV nhiều nhất. Các tế bào bị nhiễm có biểu hiện suy thoái nhân và vỡ nhân, chúng là những triệu chứng dễ nhận thấy của sự phát triển bột phát do virus (Khanobdee và cs. 2001).

C.2.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Các thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh YHD có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), trên http://www.oie.int hoặc ở các tài liệu tham khảo chọn lọc.

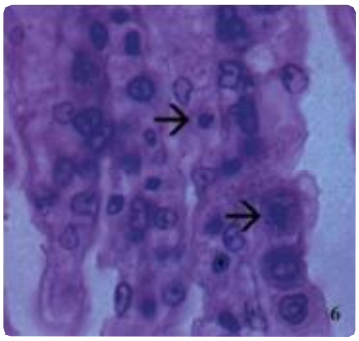
Bệnh đầu vàng (YHD) hiện nay được xếp vào loại bệnh phải khai báo của OIE (OIE 2000a).

CÁC BỆNH CỦA TÔM DO VIRUS
C.2 BỆNH ĐẦU VÀNG (YHD)[1]

(TW Flegel)

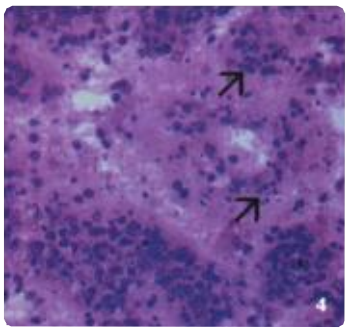
Hình C.2.2: Biểu hiện chung của bệnh đầu vàng thể hiện ở 3 tôm *Penaeus monodon* bên trái.

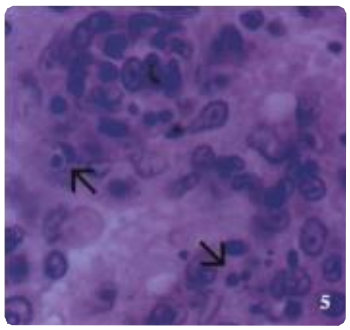
(DV Lightner)



Hình C.2.3.1.4C Lát cắt mô của mang ở tôm *P.monodon* ấu niên bị bệnh đầu vàng. Hình ảnh mô tả sự lan truyền hoại tử của tế bào mang và các tế bào bị nhiễm bệnh kết đặc đều có nhân đông kết và vỡ (mũi tên). Một số tế bào cỡ lớn, phần lớn có hình cầu, với tế bào chất ưa kiềm cũng có ở lát cắt này. Các tế bào đó có thể là những huyết bào còn non nhưng đã thành thục sớm do đối phó với tác động của YHD. Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 1000x

(DV Lightner)





Hình C.2.3.1.4 a,b Lát cắt của cơ quan bạch huyết ở tôm *P.monodon* ấu niên bị bệnh đầu vàng cấp tính trầm trọng được phóng đại ở mức thấp và mức cao cho thấy sự lan truyền hoại tử của các tế bào bạch huyết. Các tế bào bị nhiễm bệnh đều có nhân đông kết và vỡ. Các thể vùi ở dạng đơn lẻ hoặc tập hợp quanh nhân bắt màu thuốc nhuộm kiềm từ màu nhạt tới màu sẫm là biểu hiện của một số tế bào bị nhiễm bệnh (mũi tên). Hiện tượng hoại tử ở bệnh đầu vàng cấp tính khác biệt với bệnh đầu vàng do bị nhiễm virus hội chứng Taura cũng tạo ra bệnh lý học tế bào tương tự ở các mô khác nhau nhưng không có ở cơ quan bạch huyết. Mayer-Bennett H&E ; độ phóng đại từ trên xuống là 525x và 1700x.

C.2.3.1 Dự chẩn

Hiện không có những quan sát chung (Mức độ I) hoặc những kỹ thuật chẩn đoán bệnh học tế bào (Mức độ II) cho phép dự chẩn bệnh đầu vàng ở tôm cận lâm sàng.

C.2.3.2 Kiểm khẳng định

C.2.3.2.1. Phương pháp thử phản ứng chuỗi transcriptase polymerase nghịch đảo RT-PCR (Mức độ III)

Kỹ thuật RT-PCR được đề xuất sử dụng để xác định sự lây nhiễm virus bệnh đầu vàng của tôm bố mẹ và tôm con.

Hiện đã có một số kít thử RT-PCR để tách huyết tương từ các mô ở tôm bố mẹ và tôm PL nhằm xác định RNA của virus bệnh đầu vàng.

C.2.4. Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Những thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), trên http://www.oie.int hoặc ở các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.2.4.1 Dự chẩn

C.2.4.1.1. Các quan sát chung (Mức độ I)

Có thể nghĩ đến bệnh đầu vàng khi có sự gia tăng mức ăn một cách khác thường, tiếp theo đó là bỏ hẳn ăn. Có thể thấy tôm sắp chết bơi gần mặt nước hoặc ven bờ các ao nuôi tôm thịt, chúng bơi lờ đờ và phản ứng chậm. Còn có thể thấy chúng có toàn thân màu nhợt nhạt, giáp đầu ngực vàng nhạt, gan tụy và mang nhợt nhạt. Khi có những biểu hiện này có thể nghĩ đến bệnh đầu vàng, nhất là với tôm sú và nên lấy mẫu để kiểm khẳng định.

C.2.4.1.2. Tiêu bản ép mang

Tôm cả con hoặc các tơ mang được cố định qua đêm trong dung dịch cố định Davidson[2]. Rửa tơ mang bằng nước sạch để loại bỏ chất cố định và nhuộm màu bằng thuốc nhuộm H&E Mayer - Bennett. Làm sạch bằng Xylen, dùng kẹp kim đôi (nếu thao tác dưới kính hiển vi lập thể thì càng tốt), tách bỏ những tơ thứ cấp và bỏ tơ mang chính vào bình chứa Xylen, đậy nắp kín lại để dùng làm mẫu tham chiếu sau này. Đặt các tơ mang thứ cấp lên lamen, ấn nhẹ sao cho càng phẳng càng tốt để tạo thuận lợi cho việc nhìn xuyên thấu tiêu bản Có thể dùng quy trình tương tự cho các lớp mỏng của mô biểu bì. Khi điều chỉnh quan sát thấy có nhiều thể vùi tế bào chất hình cầu, nhuộm đúng màu, ưa kiềm nặng, có đường kính khoảng 2mm hoặc nhỏ hơn và cùng với những quan sát tương tự ở các tiêu bản huyết tương, có thể dự đoán là có bệnh đầu vàng. Các tiêu bản và tơ mang cố định ướt và các lát cắt mô có thể giữ làm tài liệu sử dụng lâu dài.

C.2.4.1.3. Tiêu bản huyết tương (Mức độ II)

Nếu tiêu bản có nhiều tế bào máu có nhân đông kết và vỡ, không thấy có mặt của vi khuẩn thì có thể cho là có bệnh đầu vàng thể sớm. Điều quan trọng là không có vi khuẩn vì nếu có chúng cũng sẽ sản sinh ra những biến đổi nhân hình cầu tương tự. Những biến đổi như vậy rất khó nhận biết ở tôm sắp chết do bị mất các tế bào máu, vì vậy cần lấy tôm khỏe bình thường từ cùng một ao nuôi với các tôm sắp chết để làm mẫu phân tích các triệu chứng này. Huyết tương được lấy bằng bơm tiêm có chứa dung dịch Formalin 25% hoặc dung dịch Davidson cải tiến (axít acetic được thay bằng nước hoặc Formalin) với thể tích nhiều gấp hai lần so với lượng huyết tương. Dạng huyền phù của tế bào máu được lắc kỹ trong bơm tiêm sau đó lấy một giọt nhỏ lên lam kính hiển vi. Tiêu bản và chế phẩm làm khô tự nhiên trước khi nhuộm màu bằng H&E và Eosin hoặc các thuốc nhuộm màu tiêu chuẩn khác. Loại bỏ nước và ép phẳng. Các tiêu bản toàn bộ mang (ở trên) hoặc các lát mô phải như nhau, được dùng để chẩn đoán sơ bộ bệnh đầu vàng.

C.2.4.1.4. Mô bệnh học (Mức độ II)

Cố định tôm nghi bị bệnh đầu vàng sắp chết trong dung dịch Davidson và xử lý cho nhuộm màu chuẩn H&E. Hầu hết các mô nơi có huyết tương đều có thể bị nhiễm bệnh, tuy nhiên những vị trí quan trọng như cơ quan bạch huyết **(Hình C.2.3.1.4ab)**, các tế bào gan tụy trung gian (không phải các tế bào biểu mô ống), tim, cơ và các mô liên kết (không phải các tế bào biểu mô), các mô biểu bì dạ dày và mô mang **(Hình C.2.3.1.4c).** Bằng kính hiển vi quang học có thể xác định được một lượng lớn thể vùi tế bào chất hình cầu có đường kính khoảng 2mm (nhỏ hơn đối với mô trung bì và ngoại bì) bắt màu thuốc nhuộm kiềm và khá đồng màu. Tôm sắp chết có biểu hiện hoại tử mang và các tế bào biểu bì

[2]Nếu cần kết quả nhanh, việc cố định mẫu có thể rút xuống 2 giờ bằng cách thay thế thành phần axit acetic của dung dịch cố định Davidson bằng HCl 50% (không nên chuẩn bị dung dịch này trước khi sử dụng quá nhiều ngày). Sau khi cố định, rửa cẩn thận và chỉnh pH trở về trung tính trước khi đem nhuộm. Không nên cố định mẫu trong thời gian dài hơn hoặc ở nhiệt độ cao hơn 25^{o}C vì có thể làm mô bị hỏng nặng gây khó khăn hoặc không thể dùng để chẩn đoán.

dạ dày nhiều thể vùi tế bào chất bắt màu thuốc nhuộm kiềm mạnh (nhuộm H&E) do nhân thực bào và các thể vùi virus. Trong cơ quan bạch huyết một lượng lớn thể vùi tế bào đông kết nhân và vỡ nhân bắt màu thuốc nhuộm kiềm đã được tìm thấy trong các tế bào cơ bản của các ống thông thường. Mặt khác những thể vùi tương tự chỉ được tìm thấy trong cơ quan bạch huyết hình cầu của Rhabdovirus tôm he (RPS) như đã được mô tả ở Hawaii và virus bạch huyết kiểu Parvo (LPV,LOV) đã được mô tả ở Ôxtrâylia; virus tạo không bào ở cơ quan bạch huyết (LOVV) trong tôm he chân trắng ở Hawaii và ở châu Mỹ; virus hội chứng Taura (TSV) ở tôm he chân trắng, *P.stylirostris* và *P.setiferus* từ Trung và Nam Mỹ. Virus gây kết dính mang (GAV) ở tôm sú Ôxtrâylia; virus gây bệnh tương tự đầu vàng (YHDLV) cho tôm *P. japonicus* ở Đài Loan, Trung Quốc cũng tạo ra tế bào bệnh học giống như bệnh đầu vàng.

C.2.4 Kiểm khẳng định

Khi kiểm sơ bộ cho thấy có khả năng lây nhiễm bệnh đầu vàng thì cần phải kiểm khẳng định (ví dụ, lần đầu phát hiện thấy hoặc có mặt các yếu tố bệnh lý khác), kiểm sinh học (xem mục C.2.4.2.1), soi kính hiển vi điện tử (mục C.2.4.2.2) và các công nghệ phân tử (mục C.2.4.2.3-5) cần được sử dụng tiếp.

C.2.4.2.1. Phương pháp kiểm sinh học (Mức độ I-II)

Phương pháp kiểm sinh học đơn giản nhất là cho tôm tự nhiên (±10g trọng lượng tươi) ăn tôm nghi bị bệnh. Xen kẽ với đó là chuẩn bị các mô nghiền đồng nhất của mang tôm nghi bị bệnh. Li tâm tạo viên nhỏ, gạn nước và lọc (0,45-0,22 mm) dịch nổi. Cho tôm sú ấu niên ((±10g trọng lượng tươi) vào dịch lọc. Tôm bị bệnh sẽ gây ra các triệu chứng bệnh cho tôm tự nhiên trong vòng 24-72 giờ và trong vòng 3-5 ngày 100% tôm sẽ bị chết. Việc nhiễm bệnh cần được xác nhận lại bằng phương pháp tế bào học của mang và huyết tương.

C.2.4.2.2 Phương pháp soi kính hiển vi điện tử (Mức độ III)

Đối với phương pháp soi kính hiển vi điện tử, các mô của mang và cơ quan bạch huyết của tôm sắp chết nghi bị bệnh đầu vàng là thích hợp nhất. Cố định các mô trong dung dịch Glutaraldehyde 2,5%, Paraformaldehyde 2% trong dung dịch đệm Cacodylate và xử lý sau khi cố định bằng dung dịch Osmium tetroxide 1%, trước khi loại nước và gắn vào nhựa Spurr. Những lát cắt 50nm cho qua lưới lọc Cu-200 và nên nhuộm màu bằng Uranyl acetat/ 70% Methanol và Citrat chì Reynold. Việc chẩn đoán virus đầu vàng được khẳng định bằng sự có mặt của các tiểu phần hình que, không bao, không có thể vùi, kích thước 150-200 x 40-50 nm ở trong vùng bào chất hoặc ngoài nhân của các mô đích hoặc bên trong các túi tế bào chất. Các dạng tơ không bao kích thước <800nm cũng có thể tìm thấy trong tế bào chất. Tế bào chất của những tế bào bị bệnh bị phân mảnh và phá vỡ sau 32 giờ nhiễm bệnh.

C.2.4.2.3. Phép kiểm Western Blot (Mức độ III)

Lấy 0,1 ml huyết tương từ tôm nghi bị bệnh đầu vàng pha với 0,1 ml dịch đệm Citrat để dùng ngay hoặc bảo quản ở 80^{o}C để khi cần thì sử dụng. Kiểm tra dương tính của mẫu thử bằng xác định độ sạch virus và kiểm khẳng định bằng cách xác định sự có mặt của 4 giải Protein chính đặc trưng cho virus bệnh đầu vàng ở phân tử lượng 135 và 175 kD. Độ nhạy của phương pháp Western Blot là 0,4 ng protein virus bệnh đầu vàng.

C.2.4.2.4. Phản ứng chuỗi polymerase-transcriptase nghịch đảo (Mức độ III) (RT-PCR)

Phương pháp này có thể dùng để kiểm tra huyết tương của tôm/tôm PL nghi bị bệnh (xem mục C.2.3.2.1). Hiện đã có bán các kít thử RT-PCR để kiểm sơ bộ huyết tương trong các mô tôm bố mẹ/tôm PL nhằm xác định RNA của virus đầu vàng.

C.2.4.2.5. Lai acid nucleic tại chỗ (Mức độ III)

Kít thử tại chỗ để xác định bệnh đầu vàng hiện đã có bán.

C.2.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Bệnh thường được cho là lan truyền theo phương nằm ngang. Tuy nhiên những tôm sống sót sau khi bị bệnh đầu vàng vẫn duy trì lây nhiễm mãn tính cận lâm sàng và được cho là lan truyền theo phương thẳng đứng đối với những cá thể này. Có nhiều loài giáp xác là hoặc có thể là vật truyền bệnh như tôm nước lợ, *Palaemon styliferus* và *Acetes* sp. chúng có thể truyền bệnh đầu vàng đến tôm nuôi.

C.2 Bệnh đầu vàng (YHD)

C.2.6 Các biện pháp kiểm soát

Hiện vẫn chưa có các biện pháp chữa trị tôm bị bệnh đầu vàng. Tuy nhiên, có nhiều biện pháp phòng bệnh được nêu ra nhằm giảm lây lan. Những biện pháp đó như sau:

- tôm bố mẹ cần được kiểm sơ bộ đối với virus bệnh đầu vàng.
- các cá thể bị nhiễm bệnh và con cháu chúng sẽ bị tiêu diệt bằng phương pháp tiệt trùng.
- kết hợp tẩy trùng thiết bị và nước nuôi.
- loại bỏ những vật có khả năng truyền bệnh đầu vàng bằng kiểm sơ bộ tôm pl trước khi thả vào ao.
- sau khi thả, để ngăn chặn việc lan rộng các sinh vật truyền bệnh, nguồn nước dùng cho các lần thay nước cần phải lọc hoặc xử lý trước ở trong các ao chứa.
- tránh làm thay đổi nhanh pH hoặc kéo dài giai đoạn có oxy hoà tan thấp (<2ppm). Điều này có thể gây bùng phát bệnh đầu vàng ở mức dưới gây chết. Độ kiềm không nên dao động quá 0,5 đơn vị pH/ngày và tránh để nước có pH>9. Những biến đổi về độ mặn không hề làm bùng phát bệnh.
- tránh dùng thức ăn thủy sản tươi trong các ao nuôi tôm thịt, bể nuôi thành thục và các thiết bị ương, trừ khi thức ăn đã được tiệt trùng (bức xạ gamma) hoặc thanh trùng (nghĩa là giữ ở 7^{o}C trong 10 phút).

Nếu xảy ra bùng phát bệnh thì phải xử lý ao bị bệnh bằng dung dịch Chlorine 30 ppm để diệt tôm và các vật có tiềm năng mang bệnh. Cần thu gom tôm và các động vật khác bị chết để chôn vùi hoặc tiêu huỷ. Nếu không thể loại bỏ chúng thì cần phơi khô kỹ ao trước khi thả giống mới.

Nếu ao đột nhiên nhiễm bệnh thì có thể thu hoạch khẩn cấp. Nước thải cần được bơm vào ao bên cạnh để tiệt trùng bằng Chlorine và giữ ít nhất trong 4 ngày trước khi tháo đi. Tất cả các chất thải khác cần được chôn vùi hoặc tiêu huỷ. Người thu hoạch cần thay quần áo và tắm ở nơi mà nước thải sẽ chảy vào ao xử lý. Quần áo sử dụng trong khi thu hoạch cần được để vào thùng riêng để xử lý bằng Chlorine và giặt là. Thiết bị, xe cộ, ủng cao su và xung quanh thùng chứa tôm cần được thanh trùng bằng Chlorine và thải nước vào ao xử lý. Những người hàng xóm cần được thông báo về bất kể tình huống phát bệnh đầu vàng nào và những biện pháp khống chế và không nên thay nước tối thiểu 4 ngày sau khi tháo nước khỏi ao tiệt trùng. Các nhà máy chế biến khi nhận tôm thu hoạch khẩn cấp cần được thông báo rằng những lô tôm này đã bị nhiễm virus bệnh đầu vàng và nhà máy cần có những biện pháp thích hợp để tránh việc lan truyền bệnh qua các công-ten-nơ vận chuyển và các phế liệu chế biến. Nghiêm cấm đưa tôm sống từ vùng có dịch cục bộ bệnh đầu vàng và GAV đến những vùng chưa bao giờ bị bệnh.

C.2.6 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Khanobdee, K., C. Soowannayan, T.W. Flegel, S. Ubol, and B. Withyachumnarnkul. 2001. Evidence for apoptosis correlated with mortality in the giant black tiger shrimp *Penaeus monodon* infected with yellow head virus. *Dis. Aquat. Org.* (in press).

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pa- thology and Diagnostic Procedures for Dis- ease of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 304p.

Loh, P.C., E.C.B. Nadala, Jr., L.M. Tapay, and Y. Lu. 1998. Recent developments in im- munologically-based and cell culture proto- cols for the specific detection of shrimp viral pathogens, pp. 255-259. *In:* Flegel T.W. (ed) Advances in Shrimp Biotechnology. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok, Thailand.

Lu, Y., L.M. Tapay, and P.C. Loh. 1996. Devel- opment of a nitrocellullose-enzyme immu- noassay for the detection of yellow-head virus from penaeid shrimp. *J. Fish Dis.* 19(1): 9-13.

Nadala, E.C.B. Jr., L.M. Tapay, S. Cao, and P.C. Loh. 1997. Detection of yellowhead virus and Chinese baculovirus in penaeid shrimp by the western blot technique. *J. Virol. Meth.* 69(1-2): 39-44.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic

Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Spann, K.M., J.E. Vickers, and R.J.G. Lester. 1995. Lymphoid organ virus of *Penaeus monodon* from Australia. *Dis. Aquat. Org.* 23(2): 127-134.

Spann, K.M., J.A. Cowley, P.J. Walker, and R.J.G. Lester. 1997. A yellow-head-like virus from *Penaeus monodon* cultured in Austra- lia. *Dis.Aquat. Org.* 31(3): 169-179.

Wang, C.S., K.F.J.Tang, G.H. Kou, S.N. Chen. 1996. Yellow head disease like virus infec- tion in the Kuruma shrimp *Peneaus japonicus* cultured in Taiwan. *Fish Pathol.* 31(4): 177- 182.

Wongteerasupaya, C., V. Boonsaeng, S. P a nyim, A. Tassanakajon, B. Withyachumnarnkul, and T.W. Flegel. 1997. Detection of yellow-head virus (YHV) of *Penaeus monodon* by RT-PCR amplifica- tion. *Dis. Aquat. Org.* 31(3): 181-186.

C.2 Bệnh đầu vàng (YHD)

C.3.1 Thông tin chung

C.3.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh hoại tử vỏ dưới và cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (IHHN) gây ra bởi virus không bao gắn kết, virus gây bệnh nhiễm trùng vỏ dưới và hoại tử (IHHNV), có đường kính trung bình 22nm với mật độ 1,4 g/ml CsCl có chứa ssDNA mạch thẳng với kích thước khoảng 4,1kb và một vỏ Protein-Capsid có 4 polypeptid với phân tử lượng 74, 47, 39 và 37,5kD. Với những đặc điểm này mà IHHNV được xếp là một thành viên của họ Parvoviridae. Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a) và Lightner(1996).

C.3.1.2 Vật chủ

IHHNV gây bệnh cho nhiều loài tôm thuộc họ *Panaeidae* nhưng hình như không gây bệnh cho các loài cua. Đã thông báo về nhiễm bệnh tự nhiên ở *Penaeus vannamei, P.stylirostris, P.occidentalis, P.monodon,P.semisultacus*, *P.californiensis* và *P.japonicus*. Việc gây bệnh thực nghiệm cũng tiến hành ở tôm *P.setiferus, P.aztecus và P.duorarum, Penaeus indicius* và *P.merguiensis* hình như trơ với nhiễm IHHNV.

C.3.1.3 Phân bố địa lý

Bệnh IHHN xuất hiện ở tôm Penaeid nuôi và hoang dã vùng Trung Mỹ, Ecuado, Ấn Độ, Indonesia, Malaysia, Philippin, Peru, Đài Loan, Trung Quốc và Thái Lan. Mặc dù virus IHHN đã được thông báo có trong tôm nuôi Penaeid của phần lớn vùng Tây bán cầu và ở tôm tự nhiên Penaeid khắp vùng địa lý dọc ven bờ biển Thái Bình Dương của châu Mỹ (từ Peru tới bắc Mehico), bệnh này vẫn không phát hiện thấy trong tôm Penaeidae ở phía bờ Đại Tây Dương của châu Mỹ. Virus IHHN được thông báo là có trong tôm nuôi Penaeidae của Guam, Polynesia thuộc Pháp, Hawaii, Israrel và New Caledonia. Một loại virus khác gần giống virus IHHN cũng đã được thông báo là có ở Ôxtrâylia.

C.3.1.4 Hệ thống báo cáo hàng ngày về bệnh của động vật thủy sản ở vùng châu Á-Thái Bình Dương (1999-2000)

Bệnh này nghi là đã xuất hiện ở Ấn Độ trong báo cáo quý II/1999 và quý I/2000 (OIE 1999, OIE 2000b).

C.3.2 Các khía cạnh lâm sàng

Penaeus stylirostris. Virus IHHN gây ra dịch cấp tính và gây chết hàng loạt (>90%) ở tôm *P.stilirostris*. Mặc dù ấu trùng và hậu ấu trùng non bị lây nhiễm thẳng đứng nhưng không gây ra bệnh, tôm ấu niên trên 35 ngày tuổi có biểu hiện mẫn cảm với bệnh và bị chết hàng loạt. Với những tôm ấu niên bị lây nhiễm theo phương nằm ngang, giai đoạn ủ bệnh và bột phát của bệnh phụ thuộc vào tuổi và cỡ của tôm, với tôm ấu niên non thường bị nhiễm nặng nhất **(Hình C.3.2a)**. Tôm trưởng thành bị nhiễm đôi khi cũng có biểu hiện lâm sàng hoặc chết.

Penaeus vannamei.Bệnh mãn tính "Hội chứng dị hình còi cọc"(RDS) **(Hình C.3.2b,c)** gây ra bởi nhiễm virus IHHN ở *P. vannamei*. Tôm con bị RDS biểu hiện qua việc tôm có nhiều con nhỏ hơn nhiều so với kích thước trung bình ("tôm còi"). Kích cỡ tôm thay đổi thường vượt quá 30% so với kích cỡ trung bình và có thể đạt đến 90%. Trong đàn tôm con *P. vannamei* không bị nhiễm bệnh thường có kích cỡ sai khác dưới 30% so với kích thước trung bình. Các biểu hiện của RDS cũng thấy có tôm *P.stylirostris* nuôi.

C.3.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh IHHN có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a) trên trang http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.3.3.1 Dự chẩn

Không có các dấu hiệu thô (Mức độ I) hoặc các đặc điểm mô học (Mức II) để giúp cho việc dự chẩn virus gây bệnh IHHN ở những vật mang bệnh cận lâm sàng.

C.3.3.2 Kiểm khẳng định

Cần sử dụng đến các phương pháp phân tử để tách virus IHHN ở những vật mang bệnh cận lâm sàng.

C.3.3.2.1. Lai Dot Blot (Mức độ III).

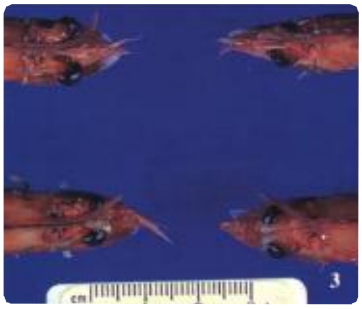
Các mẫu huyết tương hoặc một phần phụ bộ nhỏ (chân bụng) có thể dùng để kiểm Dot Blot. Các kit thử Dot Blot dùng chẩn đoán bệnh IHHN hiện đã có trên thị trường.

C.3 BỆNH HOẠI TỬ VỎ DƯỚI VÀ CƠ QUAN TẠO MÁU DO NHIỄM TRÙNG (IHHN)

(DV Lightner)

Hình C.3.2a: Tôm *P.stylirostris* ấu niên với những biểu hiện của bệnh IHHN cấp tính. Có thể nhìn thấy qua lớp cutin, đặc biệt ở phần bụng là những tổn thương - các ổ bệnh có màu trắng đến vàng sẫm ở biểu mô của lớp cutin hoặc dưới da (mũi tên). Trong khi những tổn thương như vậy là phổ biến ở tôm *P.stylirostris* bị bệnh IHHN cấp tính thể cuối thì chúng lại không là đặc trưng cho bệnh IHHN.

(DV Lightner)



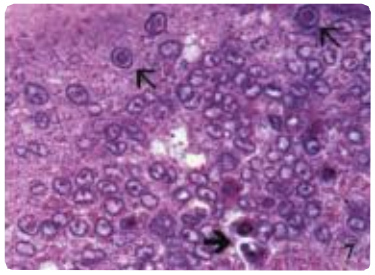
Hình C.3.2b: Nhìn từ phía lưng của tôm con *P. vannamei* (bảo quản trong dung dịch Davidson AFA) cho thấy nhiều biểu hiện của virus IHHN gây ra hội chứng dị hình còi cọc RDS. Lớp cuticun ngoài không bình thường của đốt bụng thứ 6 và thùy đuôi được dùng để minh họa.

Hình C.3.4.1.2a Hình ảnh mang của tôm được phóng đại nhiều lần cho thấy các thể vùi nội nhân bắt màu Eosin (thể vùi Cowdry typ A hoặc CAIs) là đặc trưng cho việc nhiễm virus IHHN. Mayer-Bennett H&E. Phóng to 1800 lần (→)

(DV Lightner)

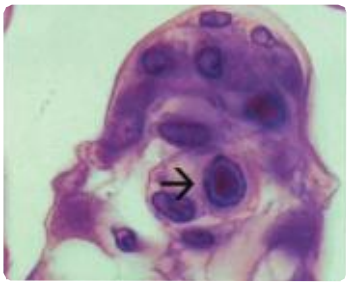
Hình C.3.2c: Hình ảnh nhìn từ mặt bên của tôm con *P. vannamei* (được bảo quản trong dung dịch Davidson AFA) cho thấy nhiều biểu hiện của virus IHHN gây ra hội chứng dị hình còi cọc, RDS. Lớp cutin không bình thường của đốt bụng thứ 6 và thùy đuôi được dùng để minh họa.

(DV Lightner)



Hình.3.4.1.2b: Ảnh chụp qua KHV phóng nhỏ một lát cắt đã nhuộm màu H&E của tôm con *P.stylirostris* bị bệnh IHHN cấp tính nghiêm trọng. Lát cắt này chạy qua biên mô lớp cutin và các mô liên kết dưới vỏ ngay ở phía lưng và phía sau tim. Nhiều tế bào hoại tử có nhân bị đông kết hoặc có các thể vùi nội nhân bắt màu Eosin đặc trưng (Cowdry typ A) hiện rõ (mũi tên). Mayer-Bennett, độ phóng to 830x

(DV Lightner)



C.3.3.2.2. Phương pháp phản ứng chuỗi polymerase (PCR) (Mức độ III)

Các mô tương tự như đã được mô tả ở phần C.3.3.2.1 có thể sử dụng để kiểm sơ bộ cỡ tôm bố mẹ và tôm con chưa chết của những loài mẫn cảm với bệnh bằng PCR.

C.3.4 Các phương pháp chẩn đoán

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán bệnh IHHN có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000b), trên http://www.oie.int hoặc trong các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.3.4.1 Dự chẩn

C.3.4.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Có nhiều biểu hiện không đặc trưng đối với bệnh IHHN. Việc lây nhiễm cấp tính ở tôm con *P.stylirostris* có thể làm giảm lượng tiêu thụ thức ăn một cách đáng kể, kèm theo đó là những thay đổi ngoại hình và tập tính của tôm. Tôm có thể bơi chậm chạp ở lớp nước mặt, lờ đờ sau đó quay đảo và từ từ chìm ngửa bụng xuống đáy ao. Biểu hiện này có thể tiếp tục diễn ra trong vài giờ cho đến khi tôm quá yếu không thể vận động được nữa hoặc bị các tôm khỏe cùng đàn ăn thịt. Khi bị nhiễm bệnh sẽ xuất hiện những đốm trắng hoặc vàng sẫm (khác với những đốm trắng xuất hiện ở bệnh đốm trắng - C.4) ở lớp biểu bì dưới vỏ, nhất là ở những chỗ nối của tấm lưng bụng ở tôm *P.stylirostris*. Những đốm này sau đó bị nhạt đi. Tôm *P.stylirostris* khi sắp chết có thể tiếp tục biến màu xanh nhạt rõ rệt và hệ cơ bụng mờ đục. Mặc dù *P. monodon* thường bị nhiễm virus IHHN nhưng nó thường không gây thành bệnh chủ yếu cho loài tôm này. Tôm con của *P. vannamei* và *P.stylirostris* có triệu chứng RDS, chúng sẽ bị dốc hoặc biến dạng, râu bị gấp, vỏ trở nên ráp và biến dạng. Tôm còi chiếm tỉ lệ cao (30-90%) trong khi đó ở đàn tôm không bị bệnh chỉ có dưới 30% số tôm có cỡ nhỏ hơn cỡ trung bình.

C.3.4.1.2 Mô bệnh học (Mức độ II)

Các tế bào bị bệnh xuất hiện ở mang **(Hình C.3.4.1.2a)** ở biểu bì và dưới vỏ **(Hình C3.4.1.2b)** và biểu mô phía trước và ruột sau, ở dây thần kinh và hạch thần kinh cũng như ở cơ quan tạo máu, tuyến anten, tuyến sinh dục, cơ quan bạch huyết và mô liên kết. Nội nhân bắt màu thuốc nhuộm Eosin (với thuốc nhuộm H&E), các thể vùi Cowdry typ A (CAIs) sẽ giúp cho việc dự chẩn nhiễm virus IHHN. Nhân của tế bào bệnh bị phồng to với thể vùi trung tâm bắt màu Eosin đôi khi bị tách ra từ chất nhiễm sắc có viền bằng một vòng không bắt màu, được lưu giữ bằng các chất cố định có chứa axit acetic. Bởi vì thể vùi nội nhân của virus IHHN có thể lẫn với sự phát triển các thể vùi nội nhân của bệnh đốm trắng, do đó cần có kính hiển vi điện tử (C.3.4.2) hoặc phép thử lai tại chỗ các mẫu nghi nhiễm với mẫu DNA đặc trưng của virus IHHN (C.3.4.2.3-5) để chẩn đoán bệnh. Có thể nhìn thấy các thanh nhiễm sắc bắt màu kiềm ở bên trong các thể vùi Cowdry týp A và các thể vùi tế bào chất cũng có thể lộ rõ.

C.3.4.2 Kiểm khẳng định

C.3.4.2.1 Thử nghiệm sinh học (Mức độ I/II)

Sự lan rộng và tính ác liệt của việc lây lan virus IHHN có thể "tăng mạnh" trong quần thể được cách li bằng cách giữ tôm nghi bị bệnh với mật độ cao hoặc trong các điều kiện gây stress khác (lượng Oxy hoà tan thấp, nhiệt độ nước cao hoặc nồng độ Ammon/Nitrit cao). Những điều kiện này có thể làm gia tăng tình trạng lây nhiễm thấp của virus IHHN và lan truyền bệnh từ vật mang bệnh cận lâm sàng sang tôm chưa bị nhiễm. Việc làm tăng sự lây lan và tính ác liệt này có thể giúp cho khả năng phát hiện bệnh của các phương pháp kiểm chẩn đoán bệnh.

Mẫu tôm chỉ thị (0,1-4 g tôm con *P. stylirostris*) cũng có thể dùng để đánh giá sự có mặt của virus IHHN bằng cách cùng sống chung và ăn chung một loại thức ăn từ vật mang bệnh băm nhỏ hoặc cùng được tiêm bằng dịch vô bào từ tôm nghi bị bệnh.

C.3.4.2.2. Kính hiển vi điện tử (Mức độ III)

Chế phẩm nhuộm âm bản của virus đã làm sạch cho thấy virus thuộc loại không bao, dạng virus nghỉ ngoài tế bào chủ (virion) có 20 mặt, có đường kính 20-22 nm. Tiêu bản kính hiển vi điện tử cho thấy các thể vùi nội nhân có chứa các virion với đường kính 17-26 nm. Các tiểu phần virus cũng có mặt trong bào chất nơi mà chúng tụ tập và sinh sản. Các thanh nhiễm sắc (có thể nhìn thấy bằng kính hiển vi quang học dưới dạng các thể vùi bắt màu thuốc nhuộm kiềm) là đặc điểm nổi bật của các thể vùi nội nhân của virus IHHN. Bằng kính hiển vi quang học có thể phát hiện được sự sắp xếp của các virion tương ứng với các thể vùi tế bào chất.

C.3.4.2.3 Lai Dot Blot (Mức độ III)

Như đã được mô tả ở C.3.3.2.1

C.3.4.2.4 Phản ứng chuỗi polymerase PCR (Mức độ III)

Như đã được mô tả ở C.3.3.2.2

C.3.4.2.5 Lai tại chỗ (Mức độ III)

Hiện có bán sẵn các mẫu ADN đặc trưng của virus IHHN dùng cho kiểm khẳng định bằng phương pháp lai tại chỗ trong nghiên cứu mô học hoặc bằng kính hiển vi điện tử.

C.3.5 Các kiểu lan truyền

Một vài cá thể của quần thể tôm *P. vanamei* và *P.stylirostris* còn sống sau khi bị nhiễm virus IHHN hoặc bị dịch có thể truyền nhiễm cận lâm sàng theo phương nằm ngang cho các đàn tôm nuôi khác hoặc theo phương thẳng đứng, nếu dùng chúng làm tôm bố mẹ.

C.3.6 Các biện pháp kiểm soát

Có thể áp dụng các phương pháp diệt virus IHHN trong những tình huống nuôi thủy sản nhất định. Các phương pháp này phụ thuộc vào việc diệt đàn tôm nhiễm bệnh, tiệt trùng các thiết bị nuôi, tránh tái nhiễm virus (từ những thiết bị nuôi ở xung quanh, tôm tự nhiên v.v), và việc tái tạo đàn tôm giống sạch virus IHHN từ những tôm bố mẹ sạch virus IHHN.

C.3.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Bell, T.A. and D.V. Lightner, D.V. 1984. IHHN vi- rus: Infectivity and pathogenicity studies in Penaeus stylirostris and Penaeus vannamei. Aquac. 38: 185-194.

Bray, W.A., A.L. Lawrence, and J.R. Leung-Trujillo. 1994. The effect of salinity on growth and survival of Penaeus vannamei, with ob- servations on the interaction of IHHN virus and salinity. Aquac. 122(2-3): 133-146.

Browdy, C.L., J.D. Holloway, Jr., C.O. King, A.D. Stokes, J.S. Hopkins, and P.A. Sandifer. 1993. IHHN virus and intensive culture of Penaeus vannamei: Effects of stocking density and water exchange rates. Crus. Biol.13(1): 87-94.

Carr, W.H., J.N. Sweeney, L. Nunan, D.V. Lightner, H.H. Hirsch, and J.J. Reddington. 1996. The use of an infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus gene probe serodiagnostic field kit for screening of can- didate specific pathogen-free Penaeus vannamei broodstock. Aquac.147(1-2): 1-8.

Castille, F.L., T.M. Samocha, A.L. Lawrence, H. He, P. Frelier, and F. Jaenike. 1993. Variabil- ity in growth and survival of early postlarval shrimp (Penaeus vannamei Boone 1931). Aquac. 113(1-2): 65-81.

Karunasagar, I. and I. Karunasagar. 1996. Shrimp diseases and control. Aquaculture Foundation of India, Madras, India 1996: 63-67

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 304p.

Lu, Y., P.C. Loh, and J.A. Brock. 1989. Isola- tion, purification and characterisation of infectious hypodermal and hematopoietic ne- crosis virus (IHHNV) from penaeid shrimp. J.Virol. Meth. 26: 339-344.

Mari, J., J.R. Bonami, and D.V. Lightner. 1993. Partial cloning of the genome of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis vi- rus, an unusual parvovirus pathogenic for penaeid shrimps - diagnosis of the disease using a specific probe. J. Gen. Vi r. 74(12):2637-2643.

Nunan, L.M., B. Poulos, and D.V. Lightner. 1994. Detection of the infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) in Penaeus shrimp tissue homogenate and hemolymph using polymerase chain reaction (PCR). International Symposium on Aquatic Animal Health: Program and Abstracts. Uni- versity of California, School of Veterinary Medicine, Davis, CA, USA. 1994: P-62.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Owens, L., I.G. Anderson, M. Kenway, L. Trott, and J.A.H. Benzie. 1992. Infectious hypoder- mal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) in a hybrid penaeid prawn from tropi- cal Australia. *Dis. Aquat. Org.* 14: 219-228.

Poulos, B.T., D.V. Lightner, B. Trumper, and J.R. Bonami. 1994. Monoclonal antibodies to a penaeid shrimp parvovirus, infectious hypo- dermal and hematopoeitic necrosis virus (IHHNV). *J. Aquat. Anim. Health* 6(2): 149-154.

C.3 Bệnh hoại tử vỏ dưới và cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (IHHN)

C.4.1 Thông tin chung

C.4.1.1 Tác nhân gây bệnh

Tác nhân gây bệnh đốm trắng (WSD) là virus hội chứng đốm trắng (WSSV) hoặc virus đốm trắng (WSV), loại virus có DNA mạch đôi (dsDNA). Trong các báo cáo ban đầu virus đốm trắng được mô tả là một baculovirus hở, nhưng phân tích về sau chuỗi DNA của virus đốm trắng đã cho thấy điều này là không đúng. Hiện nay các virus trong nhóm này được xếp thành một nhóm mới với tên đề nghị là Nimaviridae (Van Hulten và cs., 2001). Mặc dù vậy trong các tài liệu tham khảo còn có một vài tên khác vẫn được sử dụng để mô tả loại virus này như baculovirus hoại tử máu và dưới da (HHNBV); bệnh dịch bùng phát ở tôm (SEED), bệnh virus Trung Quốc, Virus nhân hình que ở tôm *Penaeus japoncius* (RV-PJ), baculovirus trung bì và ngoại bì (SEMBV), baculovirus đốm trắng (WSBV) và virus hội chứng đốm trắng (WSSV). Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể tìm đọc trong Sổ tay bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a) và Lightner (1996).

C.4.1.2 Vật chủ

Bệnh đốm trắng có số lượng vật chủ khá lớn. Bệnh bùng phát được thông báo lần đầu tiên từ trại nuôi tôm *P.japonicus* ở Nhật và sự lây nhiễm tự nhiên sau đó đã quan sát thấy ở tôm *P.chinensis, P.indicus, P. merguiensis, P.monodon, P. setiferus, P.styliostris* và *P.vannamei*. Trong các nghiên cứu thực nghiệm, bệnh đốm trắng cũng gây chết cho tôm *P.aztecus*, *P.duodarum* và *P.setiferus*.

C.4.1.3 Phân bố địa lý

Bệnh đốm trắng lần đầu tiên được thông báo ở Đài Loan -Trung Quốc và Trung Quốc lục địa vào năm 1991-1992, ở Nhật vào 1993 từ tôm nhập khẩu của Trung Quốc. Sau đó cũng phát hiện thấy bệnh ở các nơi khác của châu Á như Trung Quốc, Ấn Độ, Indonesia, Hàn Quốc, Malaysia, Đài Loan - Trung Quốc, Thái Lan và Việt Nam. Ngoài các nước châu Á đã nêu trên còn có nhiều triệu chứng và mô học của bệnh đốm trắng đã được thông báo ở Mỹ và châu Mỹ La tinh.

Như năm 1999, bệnh đốm trắng đã được phát hiện ít nhất ở 9 nước thuộc châu Mỹ là Columbia, Ecuado, Guatemala, Honduras, Mexico, Nicaragua Panama, Peru và Mỹ (Subasinghe và cs. 2001).

C.4.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh của động vật thủy sản ở vùng châu Á-Thái Bình Dương (1999-2000)

Trong báo cáo của năm 1999, bệnh đốm trắng đã được báo cáo từ Bangladesh, Trung Quốc, Indonesia, Nhật, Hàn Quốc, Malaysia, Philippin, Đài Loan-Trung Quốc, Srilanka, Thái Lan và có thể là cả Pakistan. Năm 2000 Bangladesh, Ấn Độ, Nhật, Hàn Quốc, Malaysia, Philippin, Srilanka, Thái Lan, và Việt Nam thông báo có xuất hiện bệnh đốm trắng (NACA/FAO 2000 a,b,c; OIE 1999; OIE 2000 a,b).

C.4.2 Các khía cạnh lâm sàng

Bệnh đốm trắng bùng phát thường được đặc trưng bởi việc chết nhiều và nhanh của đàn tôm bị nhiễm bệnh sau khi có biểu hiện lâm sàng. Tôm bị bệnh cấp tính có biểu hiện biếng ăn, và chết, có lớp vỏ mềm với nhiều đốm trắng (có đường kính 0,5-2mm) ở hai bên sườn vỏ tôm **(Hình C.4.2 a,b)**. Những đốm này ở trong lớp vỏ và không thể loại bỏ bằng việc chà sát. Tôm sắp chết cũng có thể biến màu từ hồng sang đỏ. Các loài tôm nhạy cảm khi đã có các biểu hiện lâm sàng thì dễ dàng bị chết nhiều.Triệu chứng bệnh học kết hợp với sự phá huỷ hệ thống mô ngoại bì và trung bì của mang và các mô dưới lớp vỏ.

C.4.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về phương pháp kiểm định bệnh đốm trắng có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), trên http://www.oie.int hoặc trong các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.4.3.1 Dự chẩn

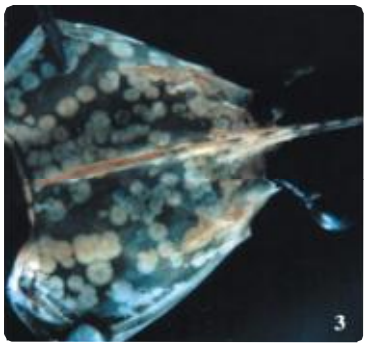
Hiện không có những quan sát chung (Mức độ I) hoặc kỹ thuật chẩn đoán mô bệnh học có thể giúp cho việc dự chẩn bệnh đốm trắng ở tôm cận lâm sàng.

C.4 BỆNH ĐỐM TRẮNG (WSD)[1]

(DV Lightner)

Hình C.4.2a: Tôm *P.monodon* ấu niên với các đốm trắng nổi rõ của bệnh đốm trắng

(DV Lightner/P.Saibaba)



Hình C.4.2b: Vỏ của một tôm *P. monodon* ấu niên bị bệnh đốm trắng. Những cặn vôi phía dưới vỏ là các đốm trắng.

C.4.3.2 Kiểm khẳng định

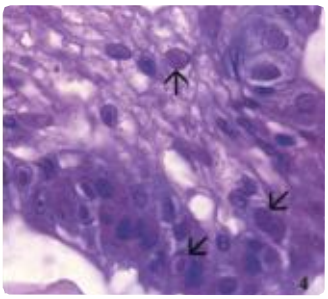
C.4.3.2.1 Kỹ thuật Nested-PCR cho các mô và huyết tương (Mức độ III)

Lo và cs. (1996, 1998) đã đề xuất quy trình Nested-PCR cho các mô và huyết tương. Hiện có bán các kít thử để xác định bệnh đốm trắng ở các vật mang bệnh bằng sử dụng các kỹ thuật PCR cơ bản.

C.4.3.2.2 PCR dùng cho hậu ấu trùng (Mức độ III)

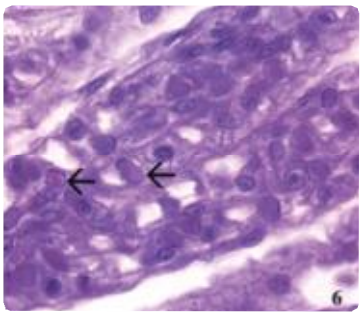
Từ một bể ương ấp chứa 100.000 hậu ấu trùng (PL) hoặc nhiều hơn nữa, lấy khoảng 1000 PL ở mỗi điểm từ 5 điểm khác nhau.

(DV Lightner)



Hình C.4.3.3.1.2a: Lát cắt mô dạ dày của tôm *P. chinensis* ấu niên bị bệnh đốm trắng. Nhìn thấy khá nhiều thể vùi nội nhân trong biểu mô lớp cuticun và mô liên kết phía dưới màng của cơ quan này (mũi tên)

(DV Lightner)



Hình C.4.3.3.1.2b: Lát cắt mang của tôm *P.chinensis* ấu niên bị bệnh baculovirus đốm trắng. Ở các tế bào nhiễm bệnh thấy các thể vùi nội nhân đang và đã phát triển đầy đủ của baculovirus đốm trắng WSBV (mũi tên). Mayer-Bennett H&E; độ phóng đại 900x

Dồn các mẫu vào một chậu, khuấy nhẹ và chọn các PL còn sống ở giữa chậu làm mẫu thử. Mỗi mẫu cần có 150 PL, để có độ tin cậy là 95% với mức giả định nhiễm bệnh 2% trong quần đàn. (xem bảng C.1.3.3 mục C.1 Kỹ thuật chung).

Đối với PL 11 và nhiều ngày tuổi hơn cần loại bỏ mắt tôm ra khỏi các mẫu mô bởi vì chúng sẽ ức chế quá trình PCR. Quá trình tiếp theo như đã được đề xuất ở kỹ thuật Nested-PCR mục C.4.3.2.1.

C.4.3.2.3 Lai Dot Blot (Mức độ III)

Các chi tiết về kỹ thuật lai Dot Blot và kít thử đã được nêu trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh của OIE (OIE 2000a)

C.4.3.2.4 Lai tại chỗ (Mức độ III)

Các chi tiết về kỹ thuật lai tại chỗ và kít thử đã được nêu trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh của OIE (OIE 2000a)

C.4.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán bệnh đốm trắng có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a) trên http://www.oie.int hoặc trong các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.4.4.1 Dự chẩn

C.4.4.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Bệnh đốm trắng thường được báo hiệu trước bằng việc tôm ngừng ăn trong một vài ngày, tôm sắp chết bơi gần mặt nước ở bờ ao nuôi. Những con tôm này sẽ có các thể vùi màu trắng lẫn trong biểu bì và thân tôm thường hơi biến đỏ. Các thể vùi ở lớp vỏ thay đổi từ những chấm nhỏ thành những đĩa có đường kính vài mm và chúng có thể liên kết lại với nhau thành những mảng lớn. Chúng rất dễ nhận thấy nhờ việc bóc lớp vỏ cuntin khỏi giáp đầu ngực, loại bỏ các mô bám và vỏ cutine soi ra ngoài ánh sáng. Sự xuất hiện những đốm trắng trong lớp vỏ cutin có thể do một vài nguyên nhân khác tạo ra. Riêng trường hợp mà Wang và cộng sự, 2000 đã thông báo được gọi là Hội chứng vi khuẩn đốm trắng (BWSS) rất dễ nhầm lẫn với bệnh đốm trắng (WSD) (xem mục C.4a). Do đó việc kiểm tra mô bệnh học là cần thiết để chẩn đoán khẳng định.

C.4.4.1.2 Làm tiêu bản ép nhanh (Mức độ II)

Hai kiểu làm tiêu bản ép nhanh có thể dùng để dự chẩn bệnh đốm trắng: (i) mẫu tôm tươi, không nhuộm màu, được cố định trong Formalin 10%, và soi trên nền tối của kính hiển vi với kính tụ quang ướt, và (ii) các mô đã cố định được nhuộm màu màu H&E.

Đối với phương pháp (ii) toàn bộ con tôm hoặc các tơ mang được cố định trong dung dịch Davidson qua đêm. Nếu muốn có kết quả nhanh thì có thể cố định trong thời gian giảm đi 2 giờ bằng cách thay axit acetic trong dung dịch cố định Davidson bằng HCl 50% (dung dịch này không nên để lâu quá vài ngày mới đem dùng). Sau khi cố định, rửa mô thật kĩ, chuẩn pH đến gần trung tính trước khi nhuộm màu. Không cố định mẫu trong thời gian dài hơn, hoặc ở nhiệt độ trên 25^{o}C vì nó có thể làm cho mô bị hỏng gây ra khó xác định hoặc không thể xác định được. Nhuôm màu bằng Meyer H&E và loại nước bằng xylen (hoặc bằng dung dịch làm sạch tương tự). Để tơ mang lên lam kính, rút bỏ các sợi tơ thứ cấp. Đặt sợi tơ chính vào lọ gắn kín, đổ đầy xylen làm mẫu lưu. Chú ý không để các sợi tơ mang thứ cấp bị khô, gỡ loại bỏ các mảnh lớn hoặc mảnh vụn khỏi lam kính. Nhỏ vào một giọt dung dịch làm tiêu bản, phủ kính lên, ép nhẹ để mô càng phẳng càng tốt. Cũng có thể làm như vậy cho các lớp mỏng của mô ở lớp dưới cutin. Kiểm tra bằng kính hiển vi ở độ phóng đại 40x là thích hợp với phần lớn các nhân bắt màu kiềm đã trương nở tập trung ở giữa, các thể vùi được bao quanh bằng các chất nhiễm sắc. Cũng có thể giữ tất cả các tiêu bản lại làm mẫu lưu.

C.4.4.1.3 Mô bệnh học (Mức độ III)

Tôm nghi bị bệnh đốm trắng sắp chết cần được cố định trong dung dịch Davidson và nhuộm màu bằng haematoxylin và Eosin (H&E). Mô bệnh học của bệnh đốm trắng là rõ rệt và cho phép chẩn đoán khẳng định. Tuy nhiên, nếu lần đầu xác định hoặc xác định những loài mà không được báo trước là mẫn cảm thì cần làm kiểm nghiệm phân tử hoặc kính hiển vi điện tử về bệnh nguyên học do virus.

Tôm sắp chết do virus đốm trắng có biểu hiện huỷ hoại các mô trung bì và ngoại bì. Nhân của các tế bào bệnh bị phình to và khi nhuộm màu với H&E sẽ nhìn thấy các thể vùi trung tâm bắt màu thuốc nhuộm kiềm từ nhạt đến sẫm và được bao bởi chất nhiễm sắc. Cũng có thể nhìn thấy những thể vùi nội nhân này trong mẫu ép mang hoặc mô ở lớp dưới cutin (xem mục C.4.4.1.2) hoặc trong các lát cắt mô. Những mô biểu hiện rõ nhất để xét nghiệm là dưới mô ở lớp dưới cutin của dạ dày **(Hình**

C.4.3.3.1.2a), giáp đầu ngực hoặc các mô mang **(Hình C.4.3.3.1.2b).**

C.4.4.2 Kiểm khẳng định

Việc chẩn đoán bệnh trọn vẹn có thể được hoàn thành bằng kỹ thuật PCR (bước đơn hoặc Nested PCR), kỹ thuật lai tại chỗ, phân tích vết kiểu Western (có thể tìm các quy trình chi tiết trong OIE (2000a) hoặc kính hiển vi điện tử (TEM).

C.4.4.2.5. Phương pháp kính hiển vi điện tử (Mức độ III)

Các mô thích hợp nhất cho việc kiểm tra bằng kính hiển vi điện tử là các mô ở dưới lớp cutin, mang và các chân bò (periopod) đã được kiểm tra trước đó bằng mô học (C.4.4.1.3) hoặc nhuộm ép nhanh (C.4.4.1.2) sẽ thấy rõ nhân bị phồng với các thể vùi Cowdry typ A hoặc chất nhiễm sắc bao quanh thể vùi bắt màu kiềm. Cố định mô ít nhất 24 giờ trong chất cố định là gluteraldehyde 6%, tỷ lệ mô/dịch cố định là 10/1 và với sodium cacodylate hoặc dung dịch phosphate là dung dịch đệm để pH đạt 7. Trường hợp bảo quản dài hơn thì giảm nồng độ Glutaraldehyde xuống 0,5-1%. Sau đó cố định mẫu tiếp bằng dung dịch Osmium tetroxide 1% và nhuộm màu bằng Uranyl Acetate và Chì Citrate(hoặc thuốc nhuộm màu tương đương dùng cho kính hiển vi điện tử). Các virion bệnh đốm trắng có hình que đến ellip với lớp vỏ 3 lớp, kích thước 80-120 x 250-380 nm.

C.4.4.2.6 Kính hiển vi điện tử nhuộm màu âm bản (Mức độ III)

Các tiêu bản huyết tương của tôm nhuộm âm bản có thể cho thấy virion có các phần phụ dạng đuôi bên trong các tế bào bệnh có nhân trương phồng, nhưng không thấy có rõ thể vùi.

C.4.5 Các kiểu truyền bệnh

Tôm bố mẹ từ nguồn tự nhiên và tôm bột thả vào ao nuôi đều mang virus đốm trắng, cũng giống như nhiều giáp xác khác và thậm chí cả ấu trùng côn trùng thủy sinh. Kỹ thuật phân tử đã được sử dụng để khẳng định việc truyền nhiễm của những vật không thuộc loài tôm he mang virus bệnh đốm trắng và những nghiên cứu lan truyền bệnh cho thấy chúng có thể truyền virus đốm trắng cho tôm.

C.4.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Hiện vẫn chưa có biện pháp chữa trị tôm bị nhiễm virus đốm trắng, tuy nhiên đã có nhiều biện pháp phòng ngừa để hạn chế việc lây lan.

Với các cơ sở sản xuất tôm PL người ta đề nghị là tôm bố mẹ tự nhiên cần được kiểm tra sơ bộ bệnh đốm trắng bằng kỹ thuật Nested-PCR. Bất kể cá thể nào bị bệnh, kể cả thế hệ sau cũng cần phải tiêu huỷ bằng các biện pháp vệ sinh và tất cả các thiết bị đã bị ô nhiễm cũng như nước nuôi phải được tiệt trùng. Người ta cũng đã đề xuất là tôm *P.monodon* bố mẹ cần được kiểm bệnh đốm trắng sau khi đẻ nhằm tăng khả năng phát hiện virus.

Khi nuôi lớn, tôm PL cần được kiểm sơ bộ để phát hiện virus bệnh đốm trắng bằng kỹ thuật Nested-PCR, bằng cách sử dụng một lượng lớn tôm PL nhằm đảm bảo phát hiện các lây nhiễm có ý nghĩa. Cách lấy mẫu là chọn những con yếu để kiểm tra, việc này sẽ làm tăng khả năng phát hiện các mẻ tôm bị bệnh.

Trong quá trình nuôi việc thay đổi nhanh nhiệt độ nước, độ cứng và độ mặn hoặc giảm mức oxy (<2ppm) trong giai đoạn dài có thể gây ra bùng phát bệnh đốm trắng ở tôm đã nhiễm cận lâm sàng. Hiện vẫn chưa biết liệu thay đổi lớn của giá trị pH trong ngày đêm có thể làm bùng phát bệnh đốm trắng không nhưng nếu ao có pH ổn định thì nhìn chung tôm ít bị stress. Không nên dùng thức ăn có nguồn gốc động vật thủy sản tươi hoặc tươi qua ướp đông để nuôi tôm thịt, nuôi thành thục và ương ấp trừ khi thức ăn đó đã được tiệt trùng bằng tia gama hoặc thanh trùng (giữ ở 70^{o}C trong 10 phút).

Bất cứ ao nuôi nào bị bệnh cũng cần phải được thanh trùng ngay bằng Chlorin 30 ppm để diệt tôm bệnh và tất cả các vật mang bệnh khác. Tôm và các động vật chết khác cần được dọn sạch và chôn vùi hoặc thiêu huỷ. Nước phải được lưu giữ ít nhất 4 ngày trước khi thải đi. Các chủ ao bên cạnh cần được thông báo ngay và không được thay nước ít nhất 4 ngày sau khi nước được tháo khỏi ao có tôm bệnh nếu như có liên quan đến nguồn nước cấp riêng.

Nếu ao có tôm bị bệnh phải thu khẩn cấp thì nước thải phải được bơm vào ao gần đó hoặc ao chứa để tẩy trùng bằng Chlorin và lưu giữ ít nhất 4 ngày trước khi tháo đi. Toàn bộ nước từ ao đã thu hoạch cần được tháo vào ao xử lý và

bất cứ phế liệu nào cũng đều phải chôn vùi hoặc đốt. Người thu hoạch tôm phải thay quần áo và tắm ở nơi mà nước sẽ được dẫn vào ao xử lý. Quần áo của người thu hoạch cần xếp vào thùng riêng để gửi đi khử trùng và giặt là. Các thiết bị, xe cộ, giày dép và phía ngoài các thùng đựng tôm phải được khử trùng và nước thải phải tháo ra ao xử lý. Nhà máy chế biến cần được thông báo về những lô tôm có bệnh đốm trắng và các biện pháp thích hợp cần được tiến hành trong nhà máy để tránh sự lan truyền bệnh qua các thùng vận chuyển và phế thải chế biến. Cần ngăn chặn việc đưa tôm sống từ vùng có dịch virus đốm trắng cục bộ tới những vùng chưa hề có bệnh hoặc những vùng được coi là sạch bệnh.

C.4.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Chou, H.Y., C.Y. Huang, C.H. Wang, H.C. Chiang and C.F. Lo. 1995. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syn- drome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.* 23: 165-173.

Inouye, K, S. Miwa, N. Oseko, H. Nakano, T. Kimura, K. Momoyama and M. Hiraoka. 1994. Mass mortalities of cultured Kuruma shrimp *Penaeus japonicus* in Japan in 1993: electron microscopic evidence of the caus- ative virus. *Fish Pathol.* 29:149-158.

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 304p.

Lo, C.F., Y.S. Chang, C.T. Cheng, and G.H. Kou 1998. PCR monitoring of cultured shrimp for white spot syndrome virus (WSSV) infec- tion in growout ponds. *In*: Flegel T.W. (ed) Advances in shrimp biotechnology, pp. 281-286. National Center for Genetic Engineer- ing and Biotechnology. Bangkok, Thailand.

Lo, C.F., J.H. Leu, C.H. Ho, C.H. Chen, S.E. Peng, Y.T. Chen, C.M. Chou,, P.Y. Yeh, C.J. Huang, H.Y. Chou, C.H. Wang, and G.K. Kou. 1996. Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. *Dis. Aquat. Org.* 25: 133-141.

Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific and Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2000a. Quarterly Aquatic Animal Disease Report (Asia and Pacific Region), 2000/1, January-March 2000. FAO Project TCP/RAS/6714. Bangkok, Thailand. 57p. Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific and Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2000b. Quarterly Aquatic Animal Disease Report (Asia and Pacific Re- gion), 2000/2, April-June 2000. FAO Project TCP/RAS/6714. Bangkok, Thailand. 59p.

Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific and Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2000c. Quarterly Aquatic Animal Disease Report (Asia and Pacific Region), 2000/3, July-September 2000. FAO Project TCP/RAS/6714. Bangkok, Thailand. 57p.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Subasinghe, R.P., M.G. Bondad-Reantaso, and S.E. McGladdery. 2001. Aquaculture devel- opment, health and wealth. *In:* R.P. Subasinghe, P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery & J.R. Arthur, eds. Aquaculture in the Third Millennium. Techni- cal Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand, 20-25 February 2000. NACA, Bangkok and FAO, Rome. (in press)

Van Hulten, M.C., J. Witteveldt, S. Peters, N. Kloosterboer, R. Tarchini, M. Fiers, H. Sandbrink, R.K. Lankhorst, and J.M. Vlak. 2001 The white spot syndrome virus DNA genome sequence. *Virol.* 286 (1):7-22.

Wang, C.H., C.F. Lo, J.H. Leu, C.M. Chou, M.C. Tung, C.F. Chang, M.S. Su and G.H. Kou. 1995. Purification and genomic analysis of baculoviruses associated with white spot syndrome (WSBV) of *Penaeus monodon. Dis. Aquat. Org.* 23:239-242.

Wongteerasupaya, C., J.E. Vickers, S. Sriurairatana, G.L. Nash, A. Akarajamorn, V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon, B. Withyachumnarnkul and T.W. Flegel. 1995. A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn, *Penaeus monodon. Dis. Aquat. Org.* 21:69-77.

C.4 Bệnh đốm trắng (WSD)

Hội chứng đốm trắng do vi khuẩn (BWSS) hiện nay được coi là có ảnh hưởng đến tôm Penaeus monodon. Sự hiểu biết về bệnh này còn nghèo nàn, nó được đưa ra trong Sổ tay hướng dẫn chẩn đoán bệnh châu Á do có nguy cơ nhầm lẫn trong chẩn đoán với bệnh đốm trắng do virus.

C.4a.1 Thông tin chung

Từ năm 1993 virus bệnh đốm trắng (WSDV) đã gây nên những thiệt hại lớn đối với công nghiệp nuôi tôm ở châu Á và Mỹ-Latinh. Gần đây một hội chứng bệnh khác ở tôm có nhiều biểu hiện lâm sàng là các đốm trắng đã được xác định và thông báo với cái tên là "Hội chứng vi khuẩn đốm trắng" (BWSS) (Wang và cs.,1999,2000). Vì những biểu hiện lâm sàng tương tự như vậy nên đã gây ra sự lúng túng trong khi kiểm sơ bộ bệnh đốm trắng bằng kỹ thuật PCR cơ bản, tôm có những biểu hiện lâm sàng của virus bệnh đốm trắng lại cho các kết quả âm tính. Những ảnh hưởng lâm sàng của hội chứng vi khuẩn đốm trắng nhỏ hơn rất nhiều so với bệnh đốm trắng, mặc dù người ta lưu ý rằng nếu bị nhiễm nặng có thể làm giảm sự lột xác và tốc độ lớn.

C.4a.1.1 Tác nhân gây bệnh

Vi khuẩn *Bacillus subtilis* được cho là tác nhân có khả năng gây bệnh do sự kết hợp của chúng với các đốm trắng (Wang và cs., 2000) nhưng không có mối quan hệ nhân quả nào được xác minh và cũng không có nghiên cứu gây nhiễm nào được tiến hành. *Vibrio cholerae* cũng thường được phân lập với một lượng đáng kể và giống như các đốm trắng chúng cũng được mô tả ở Thái Lan như là hậu quả của việc duy trì độ pH và độ kiềm cao trong ao nuôi mà không có mặt các virus đốm trắng hoặc những mảng đốm do vi khuẩn, điều đó cho thấy có sự liên quan của vi khuẩn có thể là thứ yếu. Sự thiếu vắng tác nhân gây bệnh và khả năng liên quan thứ yếu của vi khuẩn cần phải được nghiên cứu tiếp. Cho đến nay lĩnh vực nghiên cứu bệnh nguyên học vi khuẩn đã chỉ rõ là vi khuẩn không thể là tác nhân gây nên bệnh này.

C.4a.1.2 Vật chủ

Cho đến nay hội chứng này chỉ được thông báo ở tôm *Penaeus monodon* nuôi.

C.4a.1.3 Phân bố theo vùng địa lý

Hội chứng vi khuẩn đốm trắng lần đầu được phát hiện ở tôm *Penaeus monodon* nuôi ở Malaysia năm 1998 (Wang và cs., 1999, 2000). Đây vẫn là báo cáo duy nhất khẳng định có bệnh này.

C.4a.2 Các khía cạnh lâm sàng

Những đốm trắng mờ được nhìn thấy trên vỏ và toàn bộ thân tôm và còn dễ nhận ra hơn khi bóc lớp vỏ cutin ra khỏi cơ thể. Các đốm trắng hình tròn và không dày đặc như ở bệnh đốm trắng **(Hình C.4a.2)**. Soi kính hiển vi mẫu ướt sẽ thấy được các đốm nâu mờ như thương tổn tương tự địa y với viền kiểu gờ khía tròn (mặc dù trường hợp này cũng giống như ở giai đoạn sớm của bệnh đốm trắng và không thể coi như một đặc điểm trong chẩn đoán bệnh). Giữa đốm thường bị ăn mòn, thậm chí còn bị đục thủng. Trong giai đoạn đầu nhiễm bệnh, tôm vẫn còn hoạt động ăn mồi và có thể lột vỏ, lúc đó có thể mất đi các đốm trắng. Tuy nhiên quá trình lột vỏ bị chậm lại, chậm lớn và chết lác đác đối với tôm bị nhiễm bệnh nặng (Wang và cs.,2000).

C.4a.3 Các phương pháp kiểm sơ bộ

Không có báo cáo nào về phương pháp kiểm sơ bộ khi tôm bị nhiễm ở mức cận lâm sàng, kể từ khi Hội chứng vi khuẩn đốm trắng trở thành sự nhiễm bệnh cơ hội.

C.4a.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

C.4a.4.1 Dự chẩn

C.4a.4.1.1 Các quan sát chung (Mức độ I)

Sự có mặt của các đốm trắng ở các lớp cutin của tôm không gây ra tử vong đáng kể.

C.4a.4.1.2 Tiêu bản ướt (Mức độ I)

Nếu các đốm ở lớp vỏ cutin được phát hiện ở tôm *P.monodon* có màu nâu nhạt giống như địa y có viền kiểu gờ khía tròn và ở giữa có những dấu hiệu bị ăn mòn hoặc đục thủng, cùng với sự gia tăng của vi khuẩn, thì có thể coi đó là hội chứng vi khuẩn đốm trắng. Sự lây nhiễm như vậy có thể được coi là âm tính đối với bệnh đốm trắng.

C.4a.4.1.2 Phản ứng chuỗi Polymerase PCR (Mức độ III)

Kết quả âm tính của kiểm PCR virus gây bệnh đốm trắng cho thấy các biểu hiện lâm sàng đối với bệnh đốm trắng có thể

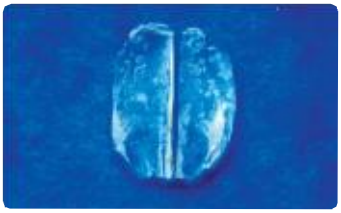
gợi ý cho nguyên nhân khác gây ra hội chứng vi khuẩn đốm trắng.

C.4a. Hội chứng đốm trắng do vi khuẩn (BWSS)

(M. Shariff)

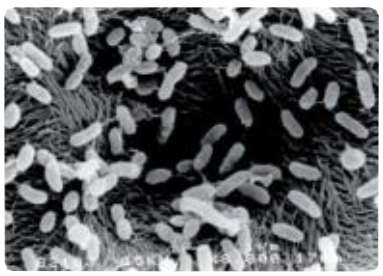
Hình C.4a.2. Các đốm trắng dày đặc trên vỏ tôm *Penaeus monodon* do bị bệnh đốm trắng

(M. Shariff/Wang và cộng sự, 2000 (DAO 41:9-18))



Hình C.4a.4.2.2a,b. Các đốm trắng do vi khuẩn có thưa hơn các đốm trắng do virus. Một vài vi khuẩn đốm trắng có vòng tròn viền hơi trắng và có thể có hoặc không có đốm trắng nhạt, nhỏ ở chính giữa.

(M. Shariff/Wang và cộng sự, 2000 (DAO 41:9-18))



C.4a.4.2 Kiểm khẳng định

C.4a.4.2.1. Mô bệnh học (Mức độ II)

Có thể tiến hành kiểm tra mô nhằm khẳng định các mô mềm kết hợp với những tổn thương của lớp cutin không phải là những biểu hiện của các thể vùi nội nhân đặc trưng ở nội bì và trung bì. Trong trường hợp hội chứng vi khuẩn đốm trắng, vi khuẩn sẽ là tiểu phần vi sinh vật lạ chủ yếu và nó sẽ kết hợp chủ yếu với chính những tổn thương của lớp cutin.

C.4a.4.2.2. Soi kính hiển vi điện tử (Mức độ III)

Sự có mặt của các đốm tổn thương **(Hình C.4a.4.2.1a,b)** cùng với một lượng lớn vi khuẩn **(Hình C.4a.4.2.2c)** xác định bằng kính hiển vi điện tử sẽ khẳng định được hội chứng vi khuẩn đốm trắng.

C.4a.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Vì các vi khuẩn chỉ khu trú ở trên bề mặt cơ thể nên kiểu lan truyền được cho là thông qua nước nuôi. Tuy nhiên điều này cần được chứng minh qua nghiên cứu.

C.4a.6 Các biện pháp kiểm soát

Mặc dù nguyên nhân gây bệnh chưa rõ nhưng có một vài biện pháp có thể làm giảm rủi ro của hội chứng vi khuẩn đốm trắng. Cần tránh tạo ra mật độ vi khuẩn cao trong ao nuôi. Cần thay nước thường xuyên. Tránh sử dụng chế phẩm sinh học có chứa *Bacillus subtilis* cho đến khi nào hiểu rõ hơn mối quan hệ giữa loài vi khuẩn này với hội chứng vi khuẩn đốm trắng. Nên xử lý nhanh ao nuôi có hội chứng vi khuẩn đốm trắng bằng vôi bột (CaO) với nồng độ 25 ppm, tuy nhiên điều này vẫn còn đang nghiên cứu và việc sử dụng vôi bột có thể chính nó đã gây ra những khó khăn do làm tăng nhanh pH của nước ao (xem phần C.4.6).

← Hình: C.4a.4.2.2c: Sự có mặt của rất nhiều vi khuẩn gắn kết với phiến sợi nhỏ ở lớp trong cutin.

C.4a. Hội chứng đốm trắng do vi khuẩn (BWSS)

C.4a.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Wang, Y.G., M. Shariff, K.L. Lee and M.D. Hassan. 1999. A review on diseases of cultured shrimp in Malaysia. Paper was presented at Workshop on Thematic Review on Management Strategies for Major Diseases in Shrimp Aquaculture, 28-30 November 1999, Cebu, Philippines. WB, NACA, WWF and FAO.

Wang, Y. G., K.L. Lee, M. Najiah, M. Shariff and M.D. Hassan. 2000. A new bacterial white spot syndrome (BWSS) in cultured tiger shrimp *Penaeus monodon* and its comparison with white spot syndrome (WSS) caused by virus. *Dis. Aquat. Org.* 41: 9-18.

C.5. BỆNH VIRUS HOẠI TỬ TUYẾN RUỘT GIỮA (BMN)

C.5.1 Thông tin chung

C.5.1.1 Tác nhân gây bệnh

Tác nhân gây bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa (BMN) là virus hoại tử tuyến ruột giữa (BMNV), là một virus gây nhiễm trùng ruột hở, capsit nhân không có bao, có kích thước là 36 x 250 nm; kích thước virus cả bao là 72 x 310 nm. Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể tìm trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (2000a) và Lighter (1996).

C.5.1.2 Vật chủ

Bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa đã được quan sát thấy ở các lây nhiễm tự nhiên ở tôm *Pennaeus japoicus, P. monodon* và tôm *P.plebejus* **(Hình C.5.1.2a)** và ở các lây nhiễm thực nghiệm ở tôm *P. chinensis* và tôm *P. semisulcatus.*

C.5.1.3 Phân bố địa lý

Bệnh Virus hoại tử tuyến ruột giữa đã xuất hiện ở vùng Kyushu và Chugoku của Nhật từ 1971. Những virus tương tự như virus hoại tử tuyến ruột giữa (hở, baculovirus typ C) cũng đã được thông báo ở tôm *P.japonicus* ở Hàn Quốc và tôm *P.monodon* ở Philippin và có thể ở cả Indonesia và Ôxtrâylia.

C.5.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh của động vật thủy sản ở vùng châu Á-Thái Bình Dương (1999-2000)

Các báo cáo từ Nhật năm 1999 không phát hiện thấy (năm 1992 là năm cuối cùng bệnh xuất hiện). Ở Hàn Quốc nghi là có bệnh từ tháng 1-9/1999 và cả năm 2000 (OIE 1999; OIE 2000a).

C.5.2. Các khía cạnh lâm sàng

Ở Nhật bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa được coi là một trong những trở ngại chính của các trại ương nơi mà ấu trùng hoặc hậu ấu trùng giai đoạn sớm bị nhiễm và chết khá cao. Sự xuất hiện màu trắng đục của gan tụy gây ra do hoại tử ống biểu mô gan tụy và cũng có thể hoại tử biểu mô nhầy. Ấu trùng nổi lên và bất động nhưng ở các giai đoạn muộn hơn (PL muộn) có xu hướng kháng được bệnh này.

C.5.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), trên http://www.oie.int hoặc trong các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.5.3.1 Dự chẩn

Hiện vẫn chưa có các kỹ thuật phù hợp cho việc dự chẩn bệnh cho các động vật không có triệu chứng ở các mức độ I hoặc II.

C.5.3.2 Kiểm khẳng định

C.5.3.2.1. Mô bệnh học (Mức độ II)

Kỹ thuật mô bệnh học như đã được mô tả ở mục C.5.4.2.1. là phương pháp kiểm chuẩn do OIE đề xuất (2000a).

C.5.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán bệnh có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE, (OIE, 2002 a); trên http://www.oie.int hoặc trong các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.5.4.1 Dự chẩn

C.5.4.1.1. Các quan sát chung (Mức độ I)

Ấu trùng mắc bệnh hoặc nhiễm virus hoại tử tuyến ruột giữa có biểu hiện là tuyến ruột giữa bị đục, rất dễ thấy bằng mắt thường.

C.5.4.1.2. Kỹ thuật tiêu bản ướt (Mức độ II)

Nhân bị trương phồng trong mẫu ép tươi (soi kính hiển vi trên nền sẫm) hoặc ở các tiêu bản tuyến gan tụy nhuộm màu (soi bằng kính hiển vi quang học) là chứng tỏ mẫu đã bị nhiễm virus hoại tử tuyến ruột giữa. Khi quan sát trên nền sẫm có thiết bị rọi sáng với kính tụ quang ướt thì nhân bị bệnh sẽ cho màu trắng trên nền sẫm. Có hiện tượng này là do sự gia tăng các tia phát xạ và nhiễu xạ sinh ra bởi nhiều tiểu phần virus trong nhân. Các mẫu được cố định bằng Formalin 10% cũng cho những kết quả tương tự.

C.5.4.2 Kiểm khẳng định

C.5.4.2.1. Mô bệnh học (Mức độ II)

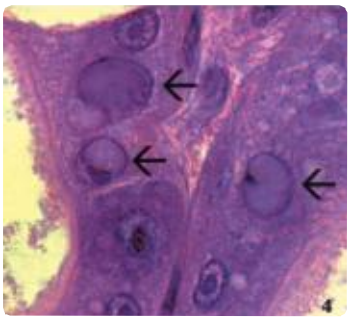
Các mẫu được cố định bằng dung dịch Davidson, nhuộm màu bằng H&E và soi trên kính hiển vi trên nền sáng. Tôm bị bệnh sẽ có nhân phồng to **(Hình 5.4.2.1a)** ở tế bào gan tụy khi xảy ra hoại tử. Nhân tế bào tôm bị bệnh có chất nhiễm sắc của nhân bị co lại, nhiễm sắc chất có viền **(Hình 5.4.2.1bc)** và không có thể ẩn đặc trưng của *Baculovius penaei* (BP) **(Hình**

C.4a. Hội chứng đốm trắng do vi khuẩn (BWSS)

C.9.3.2.3a,b mục C.9) và lây nhiễm *Monodon Baculovirus* **(Hình C.5.4.2.1d).**

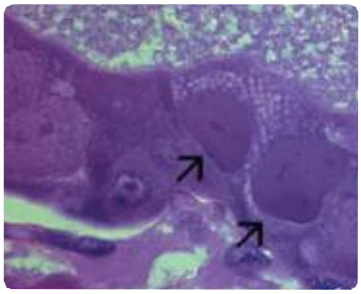
C.5. BỆNH VIRUS HOẠI TỬ TUYẾN RUỘT GIỮA (BMN)

(DV Lightner)



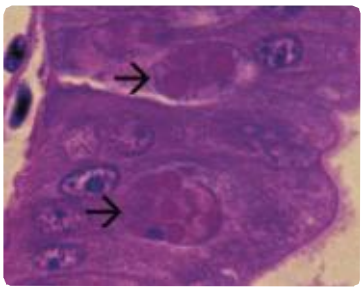
Hình C.5.1.2a. Lắt cắt gan tụy của tôm *P.plebejus* cho thấy một vài tế bào gan tụy có chứa các thể vùi nội nhân kiểu virus hoại tử tuyến ruột giữa. Mayer- Bennett H&E. Độ phóng đại 1700X

(DV Lightner)

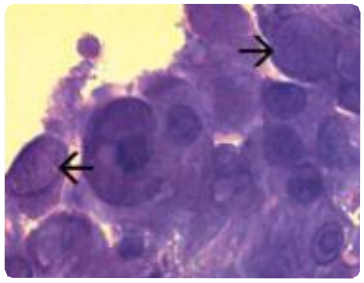


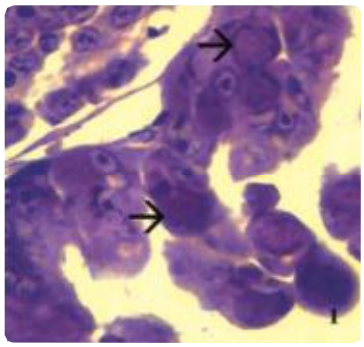
Hình C.5.4.2.1a: Ảnh phóng to nhiều lần của gan tụy ở PL của tôm *P.monodon* bị nhiễm virus hoại tử tuyến ruột giữa nặng dạng Baculovirus. Phần lớn các tế bào gan tụy có nhân bị lây nhiễm. Mayer- Bennett H&E. Độ phóng đại 1700X

(DV Lightner)



(DV Lightner)





Hình C.5.4.2.1b,c Các lát cắt gan tụy của PL *tôm P. japonicus* bị bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa nặng. Các ống gan tụy phần lớn đã bị phá huỷ chỉ giữ các lại các tế bào biểu mô ống có chứa nhân bị phồng trong đó có một thể vùi hình dạng không đều bắt màu Eosin kiềm yếu và thể vùi này lấp đầy nhân. Nhân bị nhiễm virus hoại tử tuyến ruột giữa cũng có chất nhiễm sắc nhân bị co lại, có viền và không có các thể ẩn đây là đặc trưng của lây nhiễm bởi các Baculovirus thể ẩn. Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại (a) 1300X; (b) 1700X

← Hình C.5.1.2 d Các thể ẩn MBV thường xuất hiện là những thể vùi hình cầu, bắt màu Eosin ở trong nhân bị phồng to (mũi tên). Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 1700X.

C.5. Bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa (BMN)

C.5.4.2.2. Phương pháp kính hiển điện tử (TEM) (Mức độ III)

Kính hiển vi điện tử có thể được dùng để chẩn đoán bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa nhờ phát hiện ra các virus có vỏ bọc hình que như đã mô tả ở mục C.5.1.1.

C.5.4 Các kiểu lan truyền bệnh

Hình thức lan truyền chủ yếu của bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa là qua đường miệng. Các virus được thải ra cùng với phân vào môi trường nước của các hệ thống nuôi thâm canh tôm *P.japonicus* giữ một vai trò quan trọng trong việc lây lan bệnh

C.5.5 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Các nồng độ của các chất tiệt trùng khác nhau dùng để diệt virus hoại tử tuyến ruột giữa là chất độc đối với ấu trùng tôm. Có thể loại bỏ một phần hay toàn bộ sự lan truyền của virus bằng cách rửa kỹ các trứng thụ tinh hoặc các ấu trùng bằng nước biển sạch để loại bỏ các chất thải bám vào. Tẩy trùng các thiết bị nuôi và tránh tái nhiễm virus là các yếu tố quyết định để kiểm soát bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa.

Quy trình đã đề xuất nhằm loại bỏ lây nhiễm virus hoại tử tuyến ruột giữa bao gồm thu thập trứng đã thu hoạch từ tôm bố mẹ và lọc chúng qua lớp sa lượt có kích thước lỗ 800 mm để loại bỏ phân hoặc các chất thải tiêu hoá của tôm. Sau đó, trứng được rửa trôi bằng nước biển sạch có độ mặn 28-30‰ trong 3-5 phút nhằm đảm bảo rằng tất cả các cặn phân đã được loại bỏ. Trứng tiếp tục được tập trung lại bằng lọc qua lưới có kích thước lỗ 100mm. Sau đó trứng tiếp tục được rửa trôi bằng nước biển sạch có độ mặn 28-30‰ trong 3-5 phút nhằm loại bỏ các tiểu phần virus bám dính.

C.5.6 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 304p.

Momoyama, K. and T. Sano. 1989. Developmental stages of kuruma shrimp larvae, *Penaeus japonicus* Bate, with baculoviral mid-gut gland necrosis (BMN) virus. *J. FishDis.* 8:585-589.

Natividad, J.M. and D.V. Lightner. 1992. Preva- lence and geographic distribution of MBV and other diseases in cultured giant tiger prawns (*Penaeus monodon*) in the Philip- pines, pp.139-160. *In:* Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States, Fulks, W. and Main, K.L (eds.). The Oceanic Institute, Honolulu, Hawaii, USA.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Park, M.A. 1992. The status of culture and dis- eases of penaeid shrimp in Korea, pp. 161-167. *In:* Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States, Fulks, W. and Main, K.L (eds.). The Oceanic Institute, Ho- nolulu, Hawaii, USA.

Sano, T. and K. Momoyama. 1992. Baculovirus infection of penaeid shrimp in Japan, pp. 169-174. *In:* Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States, Fulks, W. and Main, K.L (eds.). The Oceanic Institute, Ho- nolulu, Hawaii, USA.

Sano, T. T. Nishimura, K. Oguma, K. Momoyama and N. Takeno. 1981. Baculovirus infection of cultured Kuruma shrimp *Penaeus japonicus* in Japan. *Fish Pathol.* 15:185-191.

C.5. Bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa (BMN)

C.6.1 Thông tin chung

C.6.1.1 Tác nhân gây bệnh

Virus gây kết dính mang (GAV) là một virus RNA sợi đơn có liên quan với virus họ Coronaviridae. Nó có liên quan mật thiết với virus đầu vàng và được coi là một thành viên của tổ hợp virus đầu vàng. GAV có thể xuất hiện ở tôm khoẻ hoặc tôm bệnh và trước đây nó được gọi là virus cơ quan bạch huyết (LOV) khi được tìm thấy trong tôm còn khoẻ mạnh.

C.6.1.2 Vật chủ

Lây nhiễm tự nhiên với GAV chỉ được tìm thấy ở tôm *Penaeus monodon*, nhưng lây nhiễm thực nghiệm đã gây ra tử vong ở tôm *P. esculentus*, *P.merguiensis* và *P.japonicus*. Tính kháng bệnh có liên quan đến tuổi và kích cỡ tôm đã được tìm thấy ở tôm *P. japonicus.*

C.6.1.3 Phân bố địa lý

GAV chỉ được tìm thấy ở Queensland trên bờ biển phía đông bắc của Ôxtrâylia và là đặc hữu với tôm *P.monodon* của vùng này.

C.6.1.4 Hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh của động vật thủy sản ở vùng châu Á-Thái Bình Dương (1999-2000)

Ôxtrâylia đã thông báo có sự xuất hiện trên diện rộng của LOV trong tôm *P.monodon* khoẻ nuôi và hoang dã ở Queeensland. Các nước khác cho biết là "không có thông tin" đối với GAV trong các báo cáo giai đoạn 1999 và 2000 (OIE 1999, OIE 2000).

C.6.2 Các khía cạnh lâm sàng

GAV là đặc hữu ở tôm *P.monodon* khoẻ mạnh vùng bắc Queensland. Hiện vẫn chưa rõ là có phải việc gia tăng bệnh là do kết quả của stress môi trường dẫn đến triệu chứng lâm sàng của virus trước khi hiện hữu, vì nó có thể xuất hiện với bệnh đầu vàng và bệnh đốm trắng hoặc liệu bệnh này phát sinh ra từ một lây nhiễm mới với một chủng gây bệnh của GAV. GAV được tìm thấy khá nhiều ở mang và cơ quan bạch huyết nhưng cũng được tìm thấy ở các tế bào máu. Khi lây nhiễm cấp tính tế bào máu sẽ giảm nhanh ở cơ quan bạch huyết bị rối loạn tổ chức và không có cấu trúc ống bình thường và phát hiện được virus trong các mô liên kết của tất cả các cơ quan chủ yếu.

C.6.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

C.6.3.1 Kiểm khẳng định

C.6.3.1.1. Phương pháp thử phản ứng chuỗi Polymerase- transcriptase nghịch đảo RT-PCR (Mức độ III)

Mồi PCR ở dưới được thiết kế để khuyếch đại một đoạn 618 bp của GAV:

GAV-5 5'-AAC TTT GCC ATC CTC GTC AC-3'

GAV-6 5'-TGG ATG TTG TGT GTT CTC AAC-3'

Mồi PCR ở dưới được thiết kế để khuyếch đại một đoạn 317 bp khuyếch đại bằng GAV-5 và GAV-6:

GAV-1 5'-ATC CAT ACT ACT CTA AAC TTC C-3'

GAV-2 5'-GAA TTT CTC GAA CAA CAG ACG-3'

Toàn bộ RNA (100ng) được phân rã với sự có mặt của 35 pmol của mỗi (GAV-5 và GAV-6) bằng cách đun nóng lên 98^{o}C trong 8 phút trong 6 ml, nước DEPC chứa 0,5 ml Formamide đã khử ion và được làm lạnh bằng đá khô. cDNA được tổng hợp bằng cách cho 2ml dung dịch đệm superscript II x 5,1ml 100 mM DTT, 0,5ml 10mM dNTPs, 20 U rRNasin TM (Promega) và 100U Superscript II Transcriptase nghịch đảo (Life Technologies) và nước DEPC đến 10ml, giữ phản ứng ở nhiệt độ 42^{o}C trong 1 giờ sau đó đun nóng lên 99^{o}C trong 5 phút trước khi làm lạnh trên đá. Lấy 1/10 sản phẩm phản ứng cDNA (1ml= 10ng RNA) khuyếch đại lên trong 50ml bằng sử dụng dịch đệm Taq (10ml Tris-HCl pH 9, 50 mM KCl, 0,1% Triton X-100), 1,5mM $MgCl_2$, 35 pmol của mỗi loại mồi GAV-5 và GAV-6 và 200mM dNTPs được phủ bằng 50ml parafin lỏng. PCRs được bắt đầu bằng khởi động nóng trong đó phản ứng được đun nóng lên 85^{o}C trong 5 phút trước khi thêm 2,5Utaq Polymerase (Promega). DNA được nhân lên 30 chu kỳ 95^{o}C/phút, 58^{o}C/phút, 72^{o}C/40 giây tiếp sau là 72^{o}C/10 phút và cuối cùng giữ ở 20^{o}C bằng máy luân nhiệt Corbett Research/Ommigene (Hybaid). Các sản phẩm PCR (10ml) được hoà vào 2% gel agarose-TAE chứa 0,5 mg/ml ethidium bromide.

Khi kết quả của RT-PCR lần 1 là âm tính hoặc không thể kết luận được thì lấy 0,5ml PCR lần 1 khuyếch đại bằng Nested-PCR như trên trong 50ml thể tích - các mồi GAV-1 và GAV-2. Trong một vài trường hợp dùng 5ml của RT-

PCR. Các điều kiện của Nested PCR cũng giống như với PCR lần đầu, chỉ khác

là thời gian nhân bản giảm xuống 30 giây và số chu kỳ giảm xuống 20. Phân tích các mẫu Nested-PCR (10ml) trên các gel Agarose-TAE 2%.

C.6.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

C.6.4.1 Dự chẩn

C.6.4.1.1. Các quan sát chung (Mức độ I)

Tôm bị nhiễm GAV cấp tính có biểu hiện lờ đờ, kém ăn, bơi lâu trên mặt nước hoặc quanh bờ ao. Thân tôm biến thành màu đỏ sẫm, đặc biệt ở các phần phụ bộ, cánh đuôi và phần miệng; mang biến sang vàng-hồng. Còn quan sát thấy giun hình ống và con hà bám trên mang bẩn. Những biểu hiện chung của nhiễm GAV cấp tính luôn thay đổi và không phải luôn nhận thấy được, vì thế chúng không đáng tin cậy ngay cả chẩn đoán sơ bộ.

C.6.4.1.2.Tế bào/mô bệnh học (Mức độ II)

Tách giáp đầu ngực của tôm nhiễm bệnh ra khỏi phần bụng và tách ra theo chiều dọc. Sau đó đem cố định mẫu bằng dung dịch Davidson và xử lý dùng cho mô học. Nhuộm các lát cắt bằng H&E. Các cơ quan bạch huyết của tôm bị bệnh bị mất cấu trúc dạng tiểu quản thông thường. Tại những nơi bị phá vỡ, không có nhân hoặc tế bào rõ ràng với nhân phình to, ngưng kết hoặc tạo ra không bào. Foci của các tế bào không bình thường thấy ở trong các cơ quan bạch huyết và chúng bắt màu Eosin sẫm. Các mang của tôm bệnh có biểu hiện hư hại về cấu trúc như gắn kết các đầu tơ mang, hoại tử toàn bộ và mất lớp biểu bì của các lá mang sơ cấp và thứ cấp. Cấu trúc tế bào của mang biểu hiện bình thường tách biệt với foci nhỏ bắt màu kiềm của các tế bào hoại tử.

C.6.4.2 Kiểm khẳng định

C.6.4.2.1. Soi kính hiển vi điện tử TEM (Mức độ III)

Các mẫu mô được cố định bằng 2,5% glutaraldehyde hoặc 2% paraformaldehyde trong dung dịch đệm cacodylate và cố định lại bằng 1% osmium tetroxide. Mẫu đã cố định sau đó được loại nước bằng một loạt ethanol có nồng độ khác nhau và làm tiêu bản bằng nhựa Spurr. Các lát cắt 50nm được đưa lên sàng Cu-200, nhuộm màu bằng Uranyl acetate hoặc 70% methanol và chì Reynold Citrate. Tế bào chất của các tế bào cơ quan bạch huyết của tôm bệnh có chứa cả các mảnh virus có vỏ hình que lẫn các capsid nhân virus. Các capsid nhân dài 166-435 nm và rộng 16-18 nm.

(P Walker)

Hình. C.6.4.2.1. Quan sát GAV qua kính hiển vi điện tử.

Các capsid nhân có hệ vạch với chu kỳ 7 nm và thường thấy gắn kết với thể lưới nội chất. Các virus có vỏ thường ít phổ biến, xuất hiện chỉ khoảng 20% các tế bào trong khu vực bị phá vỡ của cơ quan bạch huyết. Các virus có vỏ **(Hình C.6.4.2.1)** dài 183-200 nm và rộng 34-42 nm cũng gắn kết với thể lưới nội chất. Cả các virus có vỏ và các capsid nhân đều có mặt trong mô mang nhưng các capsid nhân là phổ biến hơn, chiếm 40-70% các tế bào trong khi đó các virus có vỏ chỉ chiếm dưới 10% các tế bào.

C.6.4.2.2. Phản ứng chuỗi polymerase-transcriptase nghịch đảo (RT-PCR) (Mức độ III)

Như đã mô tả ở mục C.6.3.1.1

C.6.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Dạng lan truyền theo phương nằm ngang có hiệu quả nhất là do ăn thịt lẫn nhau, nhưng việc lan truyền cũng có thể bằng nguồn nước. GAV cũng có thể truyền theo phương thẳng đứng từ tôm bố mẹ còn khoẻ. Virus có thể lan truyền hoặc từ bố hoặc từ mẹ hoặc cả hai, nhưng không rõ là sự lây nhiễm có ở trong trứng không.

C.6.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Hiện chưa có các biện pháp để kiểm soát GAV. Ngăn ngừa sự lan truyền của GAV đến các vùng chưa hề bị lây nhiễm

là một biện pháp đang được khuyến nghị. Phơi khô các ao bị nhiễm bệnh cũng là một biện pháp có hiệu quả để ngăn chặn sự tồn lưu của virus.

C.6.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Cowley, J.A., C.M. Dimmock, C. Wongteera-supaya, V. Boonsaeng, S. Panyam and P.J. Walker. 1999.Yellow head virus from Thailand and gill-associated virus from Aus- tralian are closely related but distinct viruses. *Dis. Aquat. Org.* 36:153-157.

Cowley, J.A., C.M. Dimmock, K.M. Spann and P.J. Walker. 2000b. Gill-associated virus of *Penaeus monodon* prawns: an invertebrate virus with ORF1a and ORF 1b genes related to arteri- and coronaviruses. *J. Gen. Virol.* 81: 1473 - 1484.

Spann, K.M., J.E. Vi ckers and R.J.G. Lester.1995. Lymphoid organ virus of *Penaeus monodon* from Australia. *Dis. Aquat. Org.* 23: 127-134

Spann, K.M., J.A. Cowley, P.J. Walker and R.J.G. Lester.1997. A yellow-head-like virus from *Penaeus monodon* cultured in Austra- lia. *Dis. Aquat. Org.* 31: 169-179.

Spann, K.M., A.R. Donaldson, I.J. East, J.A. Cowley and P.J. Walker. 2000. Differences in the susceptibility of four penaeid prawn species to gill-associated virus (GAV). *Dis. Aquat. Org.* 42: 221-225.

Walker, P.J., J.A. Cowley, K.M. Spann, R.A.J. Hodgson, M.A. Hall and B. Withyachum-nernkul. 2001. Yellow head com- plex viruses: transmission cycles and topo-graphical distribution in the Asia-Pacific re-gion, pp. 227-237. *In:* C.L. Browdy and D.E. Jory (eds).The New Wave: Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Cul- ture, Aquaculture 2001. The World Aquacul- ture Society, Baton Rouge, LA.

C.7 HỘI CHỨNG GÂY TỬ VONG TÔM BỐ MẸ (SMVD)[4]

C.7.1 Thông tin chung

C.7.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh virus gây tử vong tôm bố mẹ (SMVD) gây ra bởi virus DNA sợi đơn khối 12 đỉnh 20 cạnh kích thước 20-25 nm. Những đặc điểm này là rất gần với các virus thuộc họ Parvoviridae. Virus này được gọi là virus gây tử vong tôm bố mẹ và các tên bệnh khác như Hội chứng gây tử vong tôm bố mẹ (SMS) và Hội chứng gây tử vong giữa vụ (MCMS). Thông tin chi tiết hơn về bệnh này có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a).

C.7.1.2 Vật chủ

Bệnh virus gây tử vong tôm bố mẹ gây bệnh ở tôm *Penacus monodon*. Các gây nhiễm thực nghiệm cũng đã gây chết ở tôm *P.esculentus*, *P. japonieus, P. merguiensis* và *Metapenaeusensis*. Tôm nuôi nước ngọt *Cherax quandricarinatus* sắp chết cũng đã được kết hợp với việc gây nhiễm SMV giả định bằng cách sử dụng các phân tích mẫu DNA.

C.7.1.3 Phân bố địa lý

Bệnh virus gây tử vong tôm bố mẹ được phát hiện ở Queensland, cũng như ở Philippin và Srilanka.

C.7.1.4 Hệ thống thông báo hàng quý về bệnh của động vật thủy sản ở vùng châu Á-Thái Bình Dương (1999-2000)

Phần lớn các nước báo cáo rằng "không có thông tin" hoặc "chưa bao giờ gặp" trong 2 năm (1999-2000) ngoại trừ Srilanka, nước này nghi là đã có bệnh vào tháng 8/1999 và xuất hiện bệnh vào tháng 9/1999 (OIE 1999, OIE 2000b). Philippin báo cáo có xuất hiện bệnh virus gây tử vong tôm bố mẹ vào tháng 10-12/1998, nơi mà các mẫu tôm *P.monodon* được gửi đi Ôxtrâylia để làm thử nghiệm lại tại chỗ sử dụng mẫu SMV cho kết quả dương tính (NACA/FAO 1999).

C.7.2 Các khía cạnh lâm sàng

Hiện không có biểu hiện lâm sàng đặc trưng nào đối với virus gây tử vong tôm bố mẹ. Đây là một trong vài virus có liên quan với hội chứng gây tử vong giữa vụ, nó đã gây chết cho rất nhiều tôm sú con và sắp trưởng thành nuôi ở Ôxtrâylia từ 1994-1996. Tôm *P.monodon* ở Philippin cũng bị lây nhiễm tương tự bằng phẩy khuẩn phát sáng (*Vibrio harveyi*).

C.7.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh virus gây tử vong tôm bố mẹ có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000a), trên http://www.oie.int hoặc trong các tài liệu tham khảo chọn lọc.

Hiện không có phương pháp kiểm tra bệnh tiêu chuẩn nào cho các động vật không có triệu chứng bệnh.

C.7.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán bệnh virus gây tử vong tôm bố mẹ có thể tìm trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 200), trên http://www.oie.int hoặc trong các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.7.4.1 Dự chẩn

C.7.4.1.1. Các quan sát chung (Mức độ I)

Không có các biểu hiện lâm sàng đặc trưng của bệnh virus gây tử vong tôm bố mẹ. Tôm *P.monodon* con trong ao nuôi tôm thịt có thể bị biến màu, lờ đờ, vỏ bẩn và biếng ăn. Hiện tượng này có thể gây ra bởi một vài loại vi khuẩn hoặc virus cho nên cần có những phương pháp chẩn đoán khác.

C.7.4.1.2. Tế bào mô bệnh học (Mức độ II)

Bệnh học tế bào không đặc trưng đối với bệnh virus gây tử vong tôm bố mẹ ở tôm *P.monodon* non bị nhiễm bệnh tự nhiên tích tụ hồng cầu và tiêu huỷ tế bào được tập trung quanh bề mặt biểu mô ruột. Các gây nhiễm thực nghiệm sử dụng dịch chiết mô của tôm bị bệnh virus gây tử vong tôm bố mẹ thể hiện triệu chứng lây nhiễm bằng việc tích tụ hồng cầu, hoại tử, lột vỏ các tế bào biểu mô của ruột giữa và gan tụy.

C.7.4.2 Kiểm khẳng định

C.7.4.2.1. Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Các virus gây tử vong tôm bố mẹ được tìm thấy trong biểu mô ruột. Các tiểu phần virus có đường kính khoảng 20-25 nm và có hình đối xứng 6 cạnh (20 mặt).

C.6 Virus gây kết dính mang (GAV)

[4] Bệnh này được liệt kê trong hệ thống báo cáo hàng quý về bệnh động vật thủy sản của FAO/NACA/OIE với tên là "Hội chứng gây tử vong giữa vụ"

C.7.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Các cá thể sắp chết và đã chết bị các con còn sống ăn thịt và đây được coi là hình thức lan truyền bệnh nhanh chóng theo phương nằm ngang

C.7.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Biện pháp được đề xuất là không đưa tôm từ nguồn bị nhiễm virus gây tử vong tôm bố mẹ vào những vùng chưa hề bị bệnh. Loại bỏ tôm sắp chết khỏi ao hàng ngày, nhất là vào đầu vụ sản xuất cũng là một biện pháp. Việc thả vào ao nuôi thế hệ con của những trứng tôm có phản ứng của phân âm tính với SMV bằng cách sử dụng các mẫu PCR, đã làm giảm tử vong xuống 23%.

C.7.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Albaladejo, J.D., L.M. Tapay, V.P. Migo, C.G. Alfafara, J.R. Somga, S.L. Mayo, R.C. Miranda, K. Natividad, F.O. Magbanua, T. Itami, M. Matsumura, E.C.B. Nadala, Jr. and P.C. Loh. 1998. Screening for shrimp viruses in the Philippines, pp. 251-254. *In*: Advances in shrimp Biotechnology, Flegel, T.W. (ed). National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok, Thailand.

Fraser, C.A. and L. Owens. 1996. Spawner-isolated mortality virus from Australian *Penaeus monodon. Dis. Aquat. Org*. 27: 141-148.

NACA/FAO. 1999. Quarterly Aquatic Animal Disease Report (Asia-Pacific Region), 98/2, October to December 1998. FAO Project TCP/RAS/6714. Bangkok, Thailand. 41p.

OIE. 1999. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 35p.

OIE. 2000a. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

OIE. 2000b. Regional Aquatic Animal Disease Yearbook 1999 (Asian and Pacific Region). OIE Representation for Asia and the Pacific. Tokyo, Japan. 40p.

Owens, L. and C. McElnea. 2000. Natural infection of the redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* with presumptive spawner- isolated mortality virus. *Dis. Aquat. Org*. 40: 219-233.

Owens, L., G. Haqshenas, C. McElnea and R. Coelen. 1998. Putative spawner-isolated mortality virus associated with mid-crop mortality syndrome in farmed *Penaeus monodon* from northern Australia. *Dis. Aquat. Org.* 34: 177-185.

C.8. HỘI CHỨNG TAURA (TS)[5]

C.8.1 Thông tin chung

C.8.1.1 Tác nhân gây bệnh

Hội chứng Taura (TS) gây ra bởi virus hội chứng Taura (TSV). Nó tạm thời được xếp vào họ Picornaviridae dựa trên hình thái học của nó (31-32 nm khối 20 mặt không bao), sao chép bào chất, mật độ nổi 1,338 g/ml, bộ gen chứa sợi đơn thẳng ssRNA chiều thuận dài khoảng 10,2 kb và lớp vỏ protein có 3 chuỗi polypeptid chính (55 ; 40 ; 24 kD) và một chuỗi phụ (58kD). Thông tin chi tiết hơn về mầm bệnh có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (2000) và Lightner (1996).

C.8.1.2 Vật chủ

Virus hội chứng Taura gây bệnh ở nhiều loài tôm he Mỹ. Loài mẫn cảm nhất là tôm trắng Thái Bình Dương *Penaeus vannamei*, mặc dù tôm *P.stylirostris* và *P.setiferus* cũng có thể bị nhiễm. Ấu trùng và tôm ấu niên *P.schmittii, P.aztecus, P.duorarum, P.chinensis*, *P.monodon* và *Marsupenaeus (Penaeus) japonicus* cũng đã bị gây nhiễm bằng thực nghiệm.

C.8.1.3 Phân bố địa lý

Hội chứng Taura lần đầu tiên được xác định ở các trại nuôi tôm gần sông Taura, Ecuador (đó cũng là tên của bệnh) vào năm 1992. Sau đó bệnh lan tràn ra hầu khắp các vùng nuôi tôm thịt của châu Mỹ-Latinh bao gồm Hawaii (lan truyền vòng tròn) và vùng bờ biển Thái Bình Dương của Colombia, Costarica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, Mexico, Nicaragua, Panama và Peru.

Virus hội chứng Taura cũng được tìm thấy ở tôm nuôi dọc bờ biển Đại Tây Dương của Belize, Brazil, Columbia, Mexico và Venezuela và các bang đông-nam Mỹ như bang Florida, Nam Carolina và Texas. Virus hội chứng Taura phát tán vòng tròn từ các đàn tôm nuôi ở Florida và Belize. Virus hội chứng Taura được tìm thấy trong tôm he tự nhiên ở Ecuador, El Salvador, Honduras và Mexico. Ở phía đông bán cầu chỉ tìm thấy virus này ở Đài Loan, Trung Quốc nơi mà bệnh đã được đưa vào cùng với tôm *P. vannamei* từ Trung Mỹ.

C.8.2 Các khía cạnh lâm sàng

Hội chứng Taura đặc biệt gây hại cho hậu ấu trùng *P. vannamei* khoảng 14-40 ngày sau khi thả vào ao hoặc bể nuôi tôm thịt, tuy nhiên ở các giai đoạn lớn hơn chúng vẫn có thể bị lây nhiễm nặng.Hội chứng Taura được chia thành 3 giai đoạn khá rõ (i) giai đoạn cấp tính, ở giai đoạn này phần lớn tôm bị chết ; (ii) giai đoạn chuyển tiếp ngắn ; (iii) giai đoạn mãn tính của vật mang bệnh. Ở giai đoạn cấp tính biểu mô cutin bị tác động mạnh nhất. Ở giai đoạn mãn tính, cơ quan bạch huyết là nơi có ưu thế bị bệnh. Ở giai đoạn bị bệnh cấp tính tôm *P. vannamei* có tỉ lệ chết cao (40-90%) trong khi đó nhiều chủng tôm *P. stylirostris* có tính đề kháng với các mức độ nguy hại của bệnh. Những tôm sống sót qua giai đoạn bệnh cấp tính sẽ chuyển qua một giai đoạn chuyển tiếp ngắn rồi chuyển sang giai đoạn mãn tính và có thể sống sót. Giai đoạn cận lâm sàng của việc nhiễm bệnh này được coi là có tham gia vào việc lan truyền bệnh qua vật mang virus Taura sống.

C.8.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết về các phương pháp kiểm tra TVS có thể tìm đọc trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000), trên http://www.oie.int (OIE 2000) hoặc ở các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.8.3.1 Dự chẩn

C.8.3.1.1.Các quan sát chung (Mức độ II)

Bất cứ tôm *P.vannamei* nào hoặc những tôm he mẫn cảm khác còn sống sót sau khi bùng phát hội chứng Taura đều có thể là vật mang TSV. Mặc dù vậy hiện vẫn chưa có những quan sát chung hoặc các triệu chứng ở mức độ I có thể dùng để kiểm tra các vật mang bệnh cận lâm sàng.

C.8.3.1.2. Mô bệnh học (Mức độ I)

Hậu ấu trùng, tôm con và tôm trưởng thành đều có thể kiểm tra bệnh bằng các kỹ thuật mô học và nhuộm tế bào. Giai đoạn mãn tính được đặc trưng ở sự tích đọng hình cầu của các tế bào trong cơ quan bạch huyết; được gọi là “các khối cầu của cơ quan bạch huyết” (LOS). Các khối vật chất này bao gồm các hồng cầu thực bào, chúng đã cô lập các virus hội chứng Taura và tích tụ lại trong khoảng giữa ống của các cơ quan bạch huyết.

C.8.3.1.3. Phép thử miễn dịch (Mức độ III)

Hiện đã có kit thử dot blot cho virus hội chứng Taura của DiagXotics (Wilton, CT, Mỹ). Cũng đã sản xuất kit ELISA sử dụng virus hội chứng Taura MAb. Các kit thử này có thể dùng để kiểm tra khả năng mang virus này ở các vật mang bệnh, nhưng bất kỳ kết quả dương tính nào cũng cần được kiểm tra chéo bằng một phép kiểm khẳng định khác, hoặc bằng phép thử sinh học, cho đến khi thấy được các dấu hiệu lâm sàng hoặc không thấy có virus bằng các công nghệ phân tử (cách này cũng áp dụng để kiểm tra bệnh bằng PCR - C.8.3.1.5).

C.8.3.1.4.Lai tại chỗ (Mức độ III)

Hiện đã có kit thử lai tại chỗ cho virus hội chứng Taura của DiagXotics (Wilton, CT, Mỹ). Kỹ thuật này thường dành để kiểm khẳng định các quan sát về mô học (C.8.3.1.2) hơn là một kỹ thuật tiêu chuẩn để kiểm tra bệnh.

C.8.3.1.5. Kiểm PCR

Một phép thử cơ bản phản ứng chuỗi transcriptase- polymerase nghịch đảo cho mục đích kiểm tra bệnh có ưu điểm là kiểm tra tôm bố mẹ sống và giúp chọn lọc tôm có phản ứng âm tính với virus hội chứng Taura để cho đẻ. Những kết quả dương tính từ những tôm còn sống sót từ những bùng phát virus hội chứng Taura trước đó có thể dùng để kiểm khẳng định, tuy nhiên những kết quả dương tính lần đầu từ loài không mẫn cảm với bệnh hoặc từ những nơi không bị bệnh cục bộ cần được phân tích bằng kỹ thuật khẳng định khác với những lý do tương tự như kỹ thuật lai dot-blot (C.8.3.1.3).

C.8.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Thông tin chi tiết về các phương pháp chẩn đoán virus hội chứng Taura có thể tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000), trên trang http://www.oie.int, hoặc ở các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.8.4.1 Dự chẩn

C.8.3.1.1.Các quan sát chung (Mức độ I)

Có thể thấy hậu ấu trùng hoặc cỡ tôm nhiều ngày tuổi hơn của *Penaeus vannamei* chuyển sang màu đỏ nhạt, nhất là ở đuôi quạt và các chân bụng (nông dân Ecuador gọi là bệnh đỏ đuôi khi bệnh này xuất hiện lần đầu ở đây). Sự thay đổi màu này là do sự lan rộng các tế bào sắc tố đỏ trong lớp biểu mô cuticun. Khi phóng to các mép của chân bụng hoặc chân đuôi có thể thấy rõ ổ bệnh hoại tử.

Khi có những biểu hiện này tôm sẽ có vỏ mềm, ruột rỗng và thường chết trong khi lột vỏ. Khi có dịch bệnh nặng, các loài chim biển (mòng biển, nhạn biển, chim cốc vv...) sẽ bị thu hút đến ao nuôi tôm đang có cỡ trên 1mg.

Mặc dù giai đoạn chuyển tiếp của Hội chứng Taura chỉ kéo dài vài ngày, một số tôm có các biểu hiện tổn thương màu đen với hình dạng không đồng đều ở vỏ cutin một cách ngẫu nhiên **(Hình C 8.4.1.1.c,d,e).** Những biểu hiện này tương ứng với hoạt động sửa chữa tế bào máu xung quanh các tổn thương hoại tử do lớp biểu mô cutin bị nhiễm virus hội chứng Taura. Những tôm như thế có thể hoặc không có thể có vỏ mềm và chuyển màu đỏ, và vẫn có thể ăn bình thường.

C.8.3.1.2. Mô bệnh học (Mức độ II)

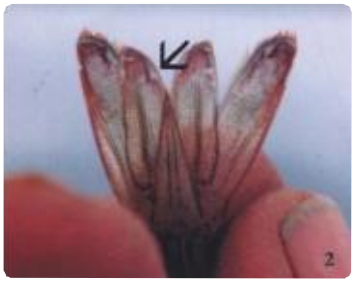
Việc chẩn đoán hội chứng Taura ở các giai đoạn cấp tính cần đến những biểu hiện mô học (các tiêu bản nhuộm H&E) của các vùng bị hoại tử ở lớp biểu mô cutin trên toàn bộ bề mặt cơ thể, phần phụ, mang, ruột sau, thực quản **(Hình C.8.4.1.2b).** Mô liên kết ở dưới lớp cutin và các sợi cơ vân ở dưới hay kề sát với lớp biểu mô cutin cũng có các dấu hiệu hoại tử. Đôi khi lớp biểu mô ống của tuyến râu cũng bị ảnh hưởng. Các tổn thương của lớp cutin có thể chứa các tế bào có tế bào chất bắt màu Eosin không bình thường (nhuộm màu hồng) và nhân bị ngưng kết (chất nhân cô đặc lại) hoặc bị vỡ (chất nhân bị chia nhiều mảnh). Trong giai đoạn cấp tính các tổn thương thường có rất nhiều các mảnh vụn của các tế bào hoại tử và chúng giống như các thể hình cầu sần sùi (đường kính 1-20 μm) có màu nhuộm thay đổi từ bắt màu Eosin sang bắt màu kiềm sáng (màu xanh da trời). Một đặc tính khác của hội chứng Taura cấp tính là có sự ngưng kết hồng cầu hoặc các biểu hiện khác do phản ứng tự vệ của vật chủ. Các đặc tính này phối hợp lại tạo cho các tổn thương hội chứng Taura cấp tính giống như "rắc hạt tiêu" **(Hình C.8.4.2.2c),** điều này coi như để chẩn đoán bệnh và có thể coi là kiểm khẳng định (C.8.4.2.2) cho các loài mẫn cảm ở các vùng nước bị dịch cục bộ. Với những quan sát lần đầu về các đặc điểm mô bệnh này, hoặc việc chúng xuất hiện ở loài tôm he không bình thường hoặc các địa điểm không bình thường thì dùng một kỹ thuật khác để kiểm khẳng định là cần thiết.

Ở giai đoạn chuyển tiếp của hội chứng Taura, số lượng và mức độ ác liệt của các tổn thương lớp cutin là đặc trưng cho bệnh ở giai đoạn cấp tính có giảm đi và bắt đầu có hồng cầu ngưng kết ở các mô bị bệnh. Các tổn thương này sẽ có màu đen.

C.8.4.1.1a,b._Nếu những tổn thương vỏ cutin cấp tính làm thủng lớp mô sừng ngoài, những mặt ngoài bị tổn thương này có biểu hiện của sự hình thành tập đoàn và xâm nhập của vi khuẩn Vibrio spp. hoặc các bệnh nhiễm thứ cấp khác.

Trong giai đoạn mãn tính của hội chứng Taura, biểu hiện lây nhiễm chỉ được thể hiện bằng sự có mặt của các hình cầu trong cơ quan bạch huyết (LOS) **(Hình C.8.4.1.2d)**, nó ứng với việc tích đọng các hồng cầu trong khoảng giữa các khoảng giữa ống của cơ quan bạch huyết.

(DV Lightner)

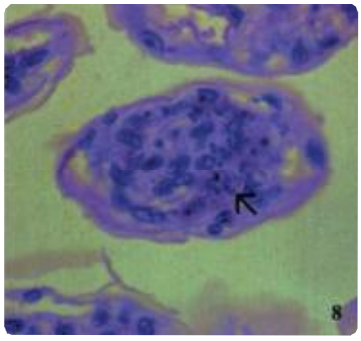


HìnhC.8.4.1.1a,b. a) Tôm *P.vannamei* ấu niên trong giai đoạn cấp tính của hội chứng Taura. Tôm lờ đờ, vỏ mềm và đuôi đỏ rõ rệt; b) Ảnh phóng to nhiều lần phần đuôi cho thấy sự chuyển màu đỏ và các gờ ráp của lớp biểu mô vỏ cutin ở các náng đuôi có ổ hoại tử trên biểu mô (mũi tên).

(DV Lightner/F Jimenez)

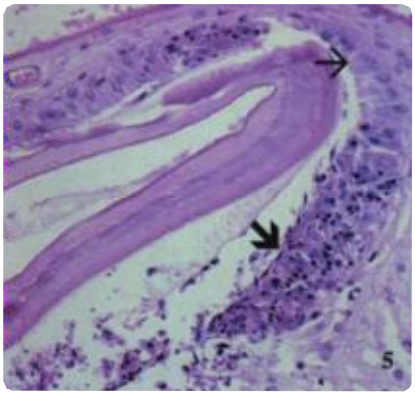
Hình C.8.4.1.1c,d,e: Tôm *P.vannamei* ấu niên nuôi trong ao (c-từ Ecuador; d-từ Texas; e-từ Mexico) có những vết đen của hoại tử mô vỏ cutin do nhiễm virus hội chứng Taura.

(DV Lightner)



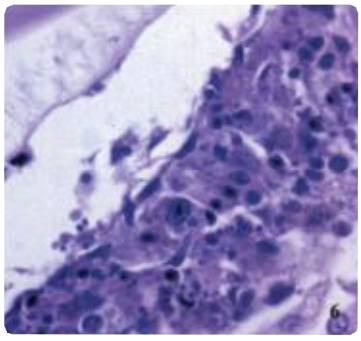
Hình C.8.4.1.2a: Những tổn thương ở mang của tôm *P.vannamei* do virus hội chứng Taura (mũi tên). Nhân bị ngưng kết và vỡ, tăng khả năng bắt màu Eosin của tế bào chất. Sự đa dạng của các thể vùi tế bào chất hình cầu nhuộm màu khác nhau là đặc điểm dễ nhận biết của các tổn thương; độ phóng đại 900X

(DV Lightner)



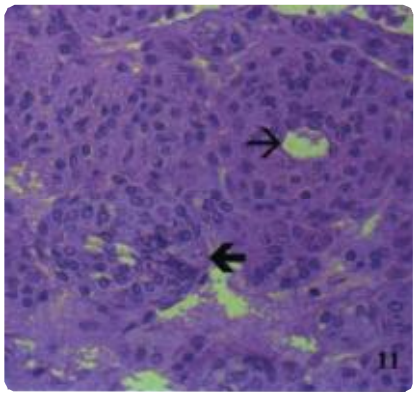
Hình C.8.4.1.2b: Lát cắt mô dạ dày của tôm *P.vannamei* ấu niên cho thấy những vùng hoại tử nổi bật ở lớp biểu mô vỏ cuticum (mũi tên đậm). Bên cạnh các ổ tổn thương là những tế bào biểu mô bình thường (mũi tên mảnh). Mayer-Bennett H&E, độ phóng đại 300X

(DV Lightner)



Hình C.8.4.1.2c: Ảnh phóng to hơn của hình C.8.4.1.2b sẽ thấy những thể vùi tế bào chất có nhân ngưng kết và vỡ giống như "rắc hạt tiêu". Mayer-Bennett, phóng đại 900X

(DV Lightner)



Hình C.8.4.1.2d: Lát cắt dọc giữa cơ quan bạch huyết (LO) của tôm *P. vannamei* ấu niên bị gây nhiễm bệnh bằng thực nghiệm. Rải rác ở giữa các dây hoặc mô của cơ quan bạch huyết (LO) bình thường, đặc trưng bởi nhiều lớp tế bào có vỏ xếp xung quanh một mạch huyết tương trung tâm (mũi tên mảnh), là sự tập trung các tế bào lympho hỗn độn thành các "hình cầu'' lympho. Những hình cầu lympho này không có mạch trung tâm và bao gồm các tế bào có nhân to, các không bào nổi rõ và các thể vùi bào chất khác (mũi tên đậm). Mayer-Bennett H&E, độ phóng đại 300X

C.8.4.2 Kiểm khẳng định

C.8.4.2.1. Phương pháp sinh học (Mức độ I/II)

Tôm *P.vannamei* ấu niên không có mầm bệnh có thể dùng để kiểm tra tôm nghi bị bệnh. Có thể sử dụng 3 phương pháp:

(i) Băm nhỏ tôm nghi bị bệnh để làm thức ăn cho tôm. Ở một bể khác nuôi tôm không có mầm bệnh từ cùng một nguồn, nhưng chỉ cho ăn thức ăn bình thường (đối chứng). Nếu tôm nghi bị bệnh cho kết quả dương tính với virus hội chứng Taura thì sẽ thấy rõ các triệu chứng chung và tổn thương về bệnh học tế bào trong vòng 3-4 ngày sau khi tiến hành thử nghiệm. 3-8 ngày sau sẽ có một lượng đáng kể tôm bị chết. Tôm đối chứng cần phải khoẻ và không có các triệu chứng chung hoặc các biểu hiện mô học về Hội chứng Taura.

(ii) Nghiền đồng nhất cả con tôm lấy từ vùng bị coi là có dịch Taura để tiêm truyền. Hoặc là chỉ dùng đầu tôm, khi nghi ngờ có các biểu hiện của hội chứng Taura đang ở giai đoạn chuyển tiếp (các tổn thương màu đen) hoặc khi không có các dấu hiệu lâm sàng của bệnh (nghi ở giai đoạn mãn tính) do nó kiềm chế cơ quan bạch huyết.

(iii) Các mẫu huyết tương có thể lấy từ tôm bố mẹ và dùng để bộc lộ tôm chỉ thị sạch bệnh như với phương pháp (ii) ở trên.

C.8.4.2.2. Mô bệnh học (Mức độ II)

Quan sát các tổn thương đã mô tả ở mục C.8.4.1.2 có thể được coi là phương pháp kiểm khẳng định đối với những loài nhạy cảm với bệnh từ những nguồn được biết là địa phương đang có virus hội chứng Taura.

C.8.4.2.3. Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Dùng kính hiển vi điện tử để xác định những tổn thương biểu mô ở giai đoạn cấp tính hoặc các khối cầu ở cơ quan bạch huyết thấy trong bào chất của các tế bào bị nhiễm có các tiểu phần virus 20 mặt, không bao, có đường kính 31-32 nm được coi là phương pháp kiểm khẳng định với loài tôm he nhạy cảm với bệnh khi có những biểu hiện lâm sàng chung và mô học. Với những chẩn đoán lần đầu hoặc tiến hành ở loài khác với những loài mẫn cảm tự nhiên hoặc bằng thực nghiệm đã có trong danh mục thì việc kiểm khẳng định thêm bằng công nghệ phân tử (C.8.4.2.6) là cần thiết.

C.8.4.2.4. Phương pháp Dot Blot

Như đã mô tả ở mục C.8.3.1.3

C.8.4.2.5. Lai chéo tại chỗ (Mức độ III)

Như đã mô tả ở mục C.8.3.1.4

C.8.4.2.6 Phương pháp PCR (Mức độ III)

Như đã mô tả ở mục C.8.3.1.5

C.8.5 Các kiểu lan truyền bệnh

Tôm còn sống sót sau giai đoạn cấp tính và giai đoạn chuyển tiếp của hội chứng Taura có thể duy trì lây nhiễm cận lâm sàng mãn tính ở cơ quan bạch huyết trong thời gian sống còn lại. Những con tôm này có thể lan truyền virus theo phương nằm ngang đối với các tôm khác nhạy cảm với bệnh. Sự truyền lan theo phương thẳng đứng cũng có thể diễn ra nhưng điều này cần phải được nghiên cứu thêm.

Ngoài ra, việc di chuyển các vật mang virus hội chứng Taura, các côn trùng thủy sinh và chim biển cũng tham gia vào việc lan truyền bệnh. Loài *Tricholorixa reticulata (Corixidae*) ăn tôm chết và được coi là vật làm lây lan virus Taura do chúng bay từ ao này qua ao khác. Trong phân của chim mòng biển (*Larus atricilla*) được lấy ở quanh các ao bị nhiễm virus hội chứng Taura ở Texas trong thời gian bị dịch năm 1995 đã tìm thấy virus này còn sống. Virus hội chứng Taura còn sống cũng được tìm thấy trong các sản phẩm tôm đông lạnh.

C.8.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Nhiều trang trại vùng Trung Mỹ nơi có Hội chứng Taura cục bộ, các chủ trại đã tăng cường sử dụng tôm *P. vannamei* đánh bắt từ nguồn tự nhiên nhiều hơn tôm giống từ nguồn sản xuất ở các trại giống. Việc làm này đã tăng được tỷ lệ sống đến khi thu hoạch. Có thể cho rằng tôm PL tự nhiên có mức kháng hội

chứng Taura cao hơn nhờ quá trình chọn lọc tự nhiên. Một chiến lược quản lý khác nữa là tăng gấp đôi mật thả độ tôm PL trong các ao nuôi bán thâm canh. Những thiệt hại nặng nề do hội chứng Taura sớm trong chu kỳ sản xuất đã được bù lại bằng số tôm sống (5-40% số tôm giống thả ban đầu) đã quen với hội chứng Taura. Việc chọn giống cho thấy khả năng tăng nguồn giống kháng virus hội chứng Taura của tôm *P. vannamei* và *P.stylirostris* (chúng kháng được cả virus IHHN và virus hội chứng Taura). Các kết quả ban đầu cho thấy tỷ lệ sống tăng từ 20-40%.

Khả năng loại trừ bệnh phụ thuộc vào việc loại bỏ hoàn toàn nguồn tôm lây nhiễm, việc tiệt trùng cơ sở nuôi, tránh tái nhiễm virus (từ các thiết bị nuôi ở gần đó, tôm tự nhiên hoặc các vật mang bệnh cận lâm sàng v.v), và thả lại tôm giống mới sạch virus hội chứng Taura từ nguồn tôm bố mẹ sạch virus hội chứng Taura.

C.8.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Aragon-Noriega, E.A., J.H. Cordova-Murueta, and H.L. Trias-Hernandez. 1998. Effect of Taura-like viral disease on survival of the western white shrimp (Penaeus vannamei) cultured at two densities in Northwestern Mexico. World Aquac. 29(3):66-72.

Bonami, J.R., K.W. Hasson, J. Mari, B.T. Poulos, and D.V. Lightner. 1997. Taura syndrome of marine penaeid shrimp: Characterisation of the viral agent. J. Gen. Virol. 78(2):313-319.

Brock, J.A., R. Gose, D.V. Lightner, and K.W. Hasson. 1995. An overview of Taura Syn- drome, an important disease of farmed Penaeus vannamei, pp. 84-94. In: Swimming through troubled water. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA.

Dixon, H. and J. Dorado. 1997. Managing Taura syndrome virus in Belize: A case study. Aquac. Mag. 23(2): 30-42.

Garza, J.R., K.W. Hasson, B.T. Poulos, R.M. Redman, B.L. White, and D.V. Lightner. 1997. Demonstration of infectious Taura syndrome virus in the feces of seagulls collected during an epizootic in Texas. J. Aquat. Anim. Health 9(2):156-159.

Hasson, K.W., D.V. Lightner, B.T. Poulos, R.M. Redman, B.L. White, J.A. Brock, and J.R. Bonami. 1995. Taura syndrome in Penaeus vannamei: Demonstration of a viral etiology. Dis. Aquat. Org. 23(2):115-126.

Hasson, K.W., J. Hasson, H. Aubert, R.M. Redman, and D.V. Lightner. 1997. A new RNA-friendly fixative for the preservation of penaeid shrimp samples for virological de- tection using cDNA genomic probes. J. Virol. Meth. 66:227-236.

Hasson, K.W., D.V. Lightner, J. Mari, J.R. Bonami, B.T. Poulos, L.L. Mohney, R.M. Redman, and J.A Brock. 1999a. The geo- graphic distribution of Taura Syndrome Virus (TSV) in the Americas: determination by histopathology and in situ hybridisation us- ing TSV-specific cDNA probes. Aquac. 171(1-2):13-26.

Hasson, K.W., Lightner, D.V., Mohney, L.L., Redman, R.M., Poulos, B.T. and B.M. White. 1999b. Taura syndrome virus (TSV) lesion de- velopment and the disease cycle in the Pa- cific white shrimp Penaeus vannamei. Dis. Aquat. Org. 36(2):81-93.

Hasson, K.W., D.V. Lightner, L.L. Mohney, R.M. Redman, and B.M. White. 1999c. Role of lymphoid organ spheroids in chronic Taura syndrome virus (TSV) infections in Penaeus vannamei. Dis. Aquat. Org. 38(2):93-105.

Jimenez, R., R. Barniol, L. Barniol and M. Machuca. 2000. Periodic occurrence of epi- thelial viral necrosis outbreaks in Penaeus vannamei in Ecuador. Dis. Aquat.Org. 42(2):91-99.

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 304p.

Lightner, D.V. 1999. The penaeid shrimp viruses TSV, IHHNV, WSSV and YHV: Current Status in the Americas, available diagnostic meth- ods and management strategies. J. Applied Aquac. 9(2):27-52.

Lightner, D.V. and R.M. Redman. 1998. Strategies for the control of viral diseases of shrimp in the Americas. Fish Pathol. 33:165-180.

Lightner, D.V., R.M. Redman, K.W. Hasson, and C.R. Pantoja. 1995. Taura syndrome in Penaeus vannamei (Crustacea: Decapoda): Gross signs, histopathology and ultrastructure. Dis. Aquat. Org. 21(1):53-59.

Lotz, J.M. 1997a. Effect of host size on viru- lence of Taura virus to the marine shrimp Penaeus vannamei (Crustacea: Penaeidae). Dis. Aquat. Org. 30(1):45-51.

Lotz, J.M. 1997b. Disease control and pathogen status assurance in an SPF-

based shrimp aquaculture industry, with particular reference to the United States, pp. 243-254. In: Diseases in Asian Aquaculture III. Flegel, T.W. and I.H. MacRae (eds.). Fish Health Sec- tion, Asian Fisheries Society, Manila, The Phil- ippines.

Morales-Covarrubias, M.S. and C. Chavez-Sanchez. 1999. Histopathological studies on wild broodstock of white shrimp Penaeus vannamei in the Platanitos Area, adjacent to San Blas, Nayarit, Mexico. J. World Aquac..*Soc.* 30(2):192-200.

Nunan, L.M., B.T. Poulos, and D.V. Lightner. 1998. Reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) used for the detection of Taura Syndrome virus (TSV) in experi- mentally infected shrimp. *Dis. Aquat. Org*. 34(2):87-91.

OIE. 2000. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

Overstreet, R.M., D.V. Lightner, K.W. Hasson, S. McIlwain, and J.M. Lotz. 1997. Susceptibility to Taura syndrome virus of some penaeid shrimp species native to the Gulf of Mexico and the southeastern United States. *J. Invert. Pathol*. 69(2):165-176.

Poulos, B.T., R. Kibler, D. Bradley-Dunlop, L.L. Mohney, and D.V. Lightner. 1999. Production and use of antibodies for the detection of the Taura syndrome virus in penaeid shrimp. *Dis. Aquat. Org.* 37(2):99-106.

Tu, C., H.-T. Huang, S.-H. Chuang, J.-P. Hsu, S.-T. Kuo, N.-J. Li, T.-L. Hsu, M.-C. Li, and S.-Y. Lin. 1999. Taura syndrome in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. *Dis. Aquat. Org*. 38(2):159-161.

Yu, C.-I. and Y.-L. Song. 2000. Outbreaks of Taura syndrome in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. *Fish Pathol*. 35(1):21-24.

Zarain-Herzberg, M. and F. Ascencio-Valle. 2001. Taura syndrome in Mexico: follow-up study in shrimp farms of Sinaloa. *Aquac.* 193(1-2):1-9.

C.9 BỆNH CÒI DO VIRUS ĐA DIỆN CÓ NHÂN

(*BACULOVIRUS PENAEI* [BP] PvSNPV; MONODON BACULOVIRUS [MBV]PmSNPV)

C.9.1 Thông tin chung

C.9.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh còi do virus đa diện có nhân (NPB) là do virus họ Baculoviridae, *Baculovirus penaei* (BP-Pv SNPV) và *Mondon baculovirus* (MBV-PmSNPV). Các bệnh có liên quan đến virus này là bệnh còi do virus, bệnh đa diện có nhân, bệnh do thể vùi đa diện của virus (PIB), bệnh do thể ẩn đa diện của virus (POB) và bệnh do virus *Baculovirus penaei* (BP). Thông tin chi tiết về bệnh này có thể tìm trong sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000).

C.9.1.2 Vật chủ

Bệnh BP lây nhiễm trên nhiều loài tôm he như: *Penaeus duorarum, P. aztecus, P. setiferus, P. vannamei, P. stylirostris và P. marginatus.* Bệnh BP cũng có ở tôm *P. penicillatus, P. schmitti, P. paulensis,* và *P. subtilis.*

Các baculovirus dòng MBV, theo tên gọi tìm thấy chủ yếu ở tôm *P. monodon* nuôi. Những loài tôm cùng nuôi khác cũng bị nhiễm virus dòng MBV, nhưng lại không kết hợp với bệnh lý trầm trọng hoặc không phát triển các nguồn bệnh khác với tôm sú.

C.9.1.3 Phân bố địa lý

Bệnh BP được phát hiện khắp châu Mỹ từ vùng vịnh Mexico đến trung tâm Brazil ở vùng bờ biển phía Đông và từ Peru đến Mexico ở vùng bờ biển Thái Bình Dương. Bệnh BP cũng được tìm thấy trên tôm tự nhiên ở Hawaii. Nhiều dạng bệnh BP cũng được tìm thấy trong vùng địa lý này.

Bệnh MBV được ghi nhận từ Ôxtrâylia, Đông Phi, Trung Đông, nhiều nước ở Ấn Độ - Thái Bình Dương, và từ Bắc Á đến Đông Á. Các virus dòng MBV cũng được cũng tìm thấy ở các vùng nuôi tôm sú *P. monodon* ở Địa Trung Hải và Tây Phi, Tahiti và Hawaii, cũng như ở một vài nơi thuộc Bắc và Nam Mỹ, và vùng Caribbe.

C.9.2 Các khía cạnh lâm sàng

Ảnh hưởng của bệnh BP khác biệt giữa các loài khác nhau. Tôm *Penaeus aztecus* và *P. vannamei* mẫn cảm cao. *Penaeus stylirostris* mẫn cảm vừa phải, *P. monodon* và *P. setiferus* có sức đề kháng/chống chịu bệnh. Trong các loài tôm dễ mắc bệnh, nhiễm bệnh BP có biểu hiện đặc trưng ở giai đoạn ấu trùng và hậu ấu trùng, tôm đột ngột bị ốm yếu và chết nhiều. Tốc độ lớn giảm, tôm ngừng ăn, lờ đờ và trên bề mặt thân tôm có nhiều vết bẩn bám (do giảm hoạt động tự làm vệ sinh của tôm). Virus không chỉ tấn công vào nhân của biểu mô gan tụy mà còn tác động vào biểu mô ruột giữa. Mặc dù nhiễm bệnh có thể là mãn tính hoặc cấp tính, với tỷ lệ chết lũy tiến cao, thì sự có mặt của virus bệnh BP không phải luôn đi kèm với bệnh và tôm hậu ấu trùng cỡ trên 63 ngày tuổi cho thấy không có dấu hiệu bệnh lý của sự nhiễm bệnh (xem C.9.6.).

Bệnh MBV có dấu hiệu bệnh lý tương tự như bệnh BP, do cũng cảm nhiễm trên nhân gan tụy và nhân của biểu mô ruột giữa. Sự lây nhiễm bệnh MBV còn xảy ra trong cơ quan bạch huyết. Các giai đoạn ấu trùng của tôm *P. monodon* rất dễ bị nhiễm bệnh. Tuy nhiên, tỷ lệ nhiễm hơn 45% lại thường ở tôm giai đoạn ấu niên và giai đoạn trưởng thành nhưng không có các ảnh hưởng bệnh lý rõ rệt.

C.9.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Có thể tìm thấy các thông tin chi tiết hơn về phương pháp kiểm tra bệnh NPB trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh độngvật thủy sản của OIE (OIE 2000),trên http://www.oie.int, hoặc trong các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.9.3.1 Dự chẩn

Không có các phương pháp dự chẩn bệnh cho các vật mang bệnh BP và MBV mà không có triệu chứng, trừ các phương pháp soi kính hiển vi trực tiếp (C.9.3.2) quan sát đặc điểm của các thể ẩn (Hình tứ diện của bệnh BP và hình cầu- hình trứng của bệnh MBV) được coi như là kiểm khẳng định.

C.9.3.2 Kiểm khẳng định

C.9.3.2.1. Tiêu bản ướt của mô tươi (Mức độ I/II)

Có thể khẳng định nhiễm bệnh BP bằng quan sát kính hiển vi nền sáng hoặc tương phản các thể vùi (thể ẩn) 4 cạnh (nhiều cạnh) đơn độc hoặc phức hợp **(Hình C.9.3.2.1a)** trong nhân phình to của gan tụy hoặc biểu mô ruột giữa. Các thể này có kích thước dao động từ 0,1 - 20,0 µm (kích thước chuẩn = 8 - 10µm) tính theo trục dọc từ đáy hình tháp đến điểm đối diện.

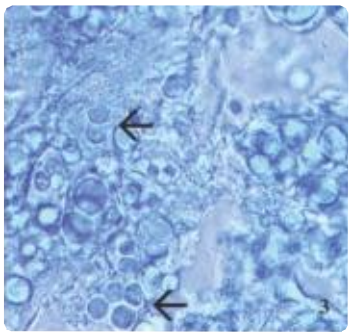
Có thể quan sát bệnh MBV cũng bằng kính hiển vi để thấy các thể ẩn hình đơn cầu hoặc đa cầu hoặc đơn bán cầu hoặc đa bán cầu ở trong nhân phình to của gan tụy hoặc biểu mô ruột giữa. Các thể ẩn của bệnh MBV có đường kính 0.1 - 20,0µm **(Hình C.9.3.2.1b,c).** Các thể ẩn được nhuộm màu bằng dung dịch 0,05% malachite green, khi đó các thể ẩn sẽ bắt màu đậm hơn các thể hình cầu có cùng

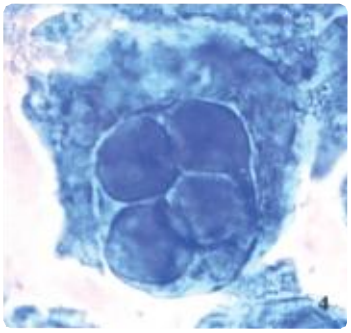
kích thước ở xung quanh (nhân tế bào, các hạt tiết, các giọt lipid, v.v...)

C.9 BỆNH CÒI DO VIRUS ĐA DIỆN CÓ NHÂN

(*BACULOVIRUS PENAEI* [BP] PvSNPV; MONODON BACULOVIRUS [MBV]PmSNPV)

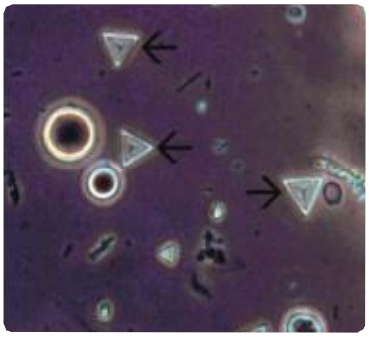
(DV Lightner)



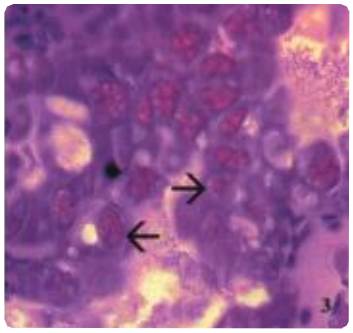


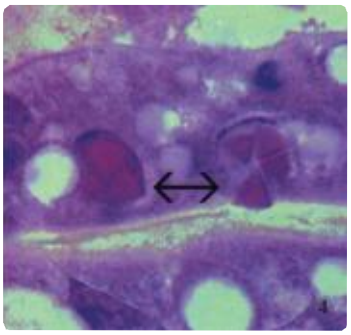
Hình. C.9.3.2.1b,c. Hình phóng đại vừa và to của các tiêu bản ép mô gan tụy của hậu ấu trùng tôm *P. monodon* bị nhiễm MBV. Hầu hết các tế bào gan tụy ở cả 2 hậu ấu trùng thường có các thể ẩn nội nhân hình cầu (mũi tên) chúng được chẩn đoán cho bệnh MBV. 0.1% malachite green. Độ phóng đại 700X (b), và 1700X (c).

(DV Lightner)



(DV Lightner)





Hình. C.9.3.2.3a,b. a) Hình phóng đại trung bình của các lát cắt chạy dọc giữa thân hậu ấu trùng tôm *P. vannamei* bị bệnh BP nặng ở khối gan tụy cho thấy có các thể ẩn tứ diện BP bắt màu Eosin ở trong nhân tế bào gan tụy một cách rõ rệt (mũi tên). Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 700X; b) Hình phóng đại lớn của một ống gan tụy cho thấy một số tế bào bị nhiễm BP có các thể ẩn hình tứ diện, nội nhân, bắt màu Eosin của PB (mũi tên). Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 1800X.

← Hình. C.9.3.2.1a Tiêu bản ướt phân của tôm *P. vannamei* nhiễm bệnh BP cho thấy các thể ẩn tứ diện (mũi tên) đã được chẩn đoán là gây bệnh cho khối gan tụy hoặc các tế bào biểu mô ruột giữa của tôm. Pha tương phản, không nhuộm, độ phóng đại 700X.

C.9.3.2.2. Kiểm tra phân (Mức độ I/II)

Làm các tiêu bản ướt các dải phân và quan sát các thể ẩn như đã mô tả cho các tiêu bản mô tươi (C.9.3.2.1).

C.9.3.2.3. Mô bệnh học (Mức độ II)

Cố định các mô từ tôm sống hay còn trong tình trạng sắp chết (không dùng tôm chết do quá trình hoá lỏng của cơ quan cần quan sát là khối gan tụy) bằng dung dịch Davidson để đảm bảo cố định tốt nhất khối gan tụy (dung dịch 10% đệm formalin bảo quản khối gan tụy ở dưới mức cực thuận). Dung dịch cố định được tiêm trực tiếp vào khối gan tụy. Nên cắt lớp cutin dọc theo đường lưng của giáp đầu ngực để đảm bảo sự xuyên nhập của dung dịch cố định vào các lớp mô nằm dưới và cố định các mô này từ 24 - 48 giờ trước khi chuyển sang lưu trữ trong ethanol 70%. Bước xử lý tiếp theo là đúc mẫu paraffin, sau đó mẫu được cắt với độ dày 5 - 7µm rồi được nhuộm bằng thuốc nhuộm Haematoxylin và Eosin theo phương pháp nhuộm của Harris, hoặc của Giemsa hoặc theo các phương pháp nhuộm Gram. Phương pháp nhuộm Gram biểu mô của Brown và Brenn cho thấy các thể ẩn của bệnh MBV (xem thêm **Hình C.5.4.2.1d** - C.5) và bệnh BP bắt màu đỏ đậm hoặc đỏ tía giúp cho thấy được sự khác biệt của chúng trong các mô ở xung quanh.

C.9.3.2.4. Xét nghiệm bằng PCR (Mức độ III)

Đã bán trên thị trường 2 chuỗi mồi có sẵn của đoạn gen đa diện phát hiện bệnh MBV (của Lu và cs., 1993) và 1 cặp mồi của đoạn gen virus 1017bp (Mari và cs., 1993). Các chi tiết về qui trình kỹ thuật PCR để kiểm tra bệnh ở mô và các mẫu phân được đề cập trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh của OIE (OIE 2000) hay trong các tài liệu tham khảo chọn lọc (C.9.7).

C.9.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Có thể tìm thấy thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán bệnh NPB trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000), ở http://www.oie.itn, hay ở các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.9.4.1 Dự chẩn

C.9.4.1.1.Các quan sát chung (Mức độ I)

Những dấu hiệu chung của bệnh BP rất khác biệt giữa các loài nhưng thường bao gồm: giảm sức tăng trưởng, ngừng ăn và làm vệ sinh thân, lờ đờ và tăng tình trạng đóng bẩn trên toàn thân. Một số tôm còn xuất hiện đường ruột giữa màu trắng xuyên qua lớp cutin phần bụng. Không phải các triệu chứng này đều đặc trưng cho bệnh BP, nhưng có thể dùng chúng để phỏng đoán cho các loài tôm dễ bị nhiễm bệnh và ở các giai đoạn đầu của quá trình phát triển sớm/hậu ấu trùng đã có tiền sử bị nhiễm bệnh BP.

MBV cũng có những dấu hiệu bệnh lý tương tự như bệnh BP, nhưng chủ yếu chỉ gây bệnh giai đoạn ấu trùng ở tôm *P. monodon* với một tương quan nghịch giữa tuổi của ấu trùng và các hiệu quả bệnh lý. Tôm trưởng thành cũng có khả năng mắc bệnh nhưng không có những triệu chứng rõ rệt (xem C.9.3.). Cũng như bệnh BP, các dấu hiệu này cũng không đặc trưng cho bệnh MBV.

C.9.4.2 Kiểm khẳng định

C.9.4.2.1. Tiêu bản ướt của mô tươi (Mức độ I/II)

Như đã được mô tả ở C.9.3.2.1.

C.9.4.2.2. Kiểm tra phân (Mức độ I/II)

Như đã được mô tả ở C.9.3.2.2.

C.9.4.2.3. Mô bệnh học (Mức độ II)

Như đã được mô tả ở C.9.3.2.3.

C.9.4.2.4. Nhuộm tự phát huỳnh quang với phloxine (Mức độ II)

Dung dịch 0.001% phloxine được dùng làm các tiêu bản ép mô hoặc phân, làm cho các thể ẩn của bệnh BP và MBV bắt huỳnh quang màu xanh- vàng khi quan sát dưới kính hiển vi huỳnh quang (lọc cản sáng 0 - 515nm, và lọc kích ứng ở 490nm) (Thurman và cs. 1990). Hiệu quả tương tự đạt được khi dùng dung dịch 0,005% phloxine trong quá trình nhuộm các tiêu bản mô học bằng Haematoxyline và Eosin.

C.9.4.2.5. Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Các virus gây bệnh BP có hình que với vỏ nhân bao phủ có kích thước 286-337nm x 56 - 79nm. Các virus có thể tự do hoặc bị bao phủ bởi một khối protein trong suốt (gọi là thể ẩn). Trong giai đoạn đầu nhiễm bệnh, các virus kết hợp với những chỗ phình của nhân, làm biến dạng các khuôn mẫu đệm của chất nhân, gây ra thoái hoá nhân và phân chia nhỏ màng nhân. Ở các giai đoạn cuối nhiễm bệnh hình thành ra các thể ẩn.

Bệnh MBV có 2 dạng thể ẩn khi quan sát dưới kính hiển vi điện tử (Ramasamy và cs., 2000). Dạng thứ nhất có một dãy trong suốt các thể đa diện nằm cách nhau 5 - 7nm ở bên trong một lớp mạng, chứa các thể virus ẩn (cũng có một vài thể virus hiện rõ ở ngoại biên) có màng kép với kích thước 267±2 x 78±3nm. Các thể ẩn dạng 2 chứa các thể không trong suốt, dạng hạt có đường kính 12nm, chứa hầu hết là các thể virus hiện rõ với kích thước 326±4 x 73±1nm. Ngoài ra, gần đây người ta còn nhận diện được một giai đoạn không có bao ngoài (Vicker và cs., 2000) trong tế bào chất của các tế bào bị bệnh và có liên quan mật thiết đến màng nhân.

C.9.4.2.6. Lai tại chỗ (Mức độ III)

Chi tiết các bước chuẩn bị và qui trình phân tích cần thiết để lai tại chỗ nhằm khẳng định bệnh BP và MBV đã được nêu trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh của OIE (OIE 2000a) trong chương Bệnh còi do virus có nhân đa diện (chương 4.2.2) và chương Bệnh hoại tử vỏ dưới và cơ quan tạo máu do nhiễm trùng (chương 4.2.3).

C.9.5 Các kiểu lan truyền

Bệnh BP và MBV lây truyền qua đường miệng do virus có trong phân của tôm bị nhiễm bệnh (C.9.3.2.2), hoặc do tôm ăn thịt tôm đã chết hoặc vừa chết. Tôm trưởng thành bị nhiễm bệnh cũng có khả năng truyền sang con của chúng thông qua làm bẩn khối trứng đã đẻ ra do phân.

C.9.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Mật độ nuôi cao, hóa chất và các stress do môi trường đã làm tăng tính độc của bệnh BP và MBV ở các loài tôm dễ bị nhiễm bệnh trong điều kiện nuôi.

Có thể tránh cho nguồn tôm bố mẹ không bị nhiễm bệnh bằng cách kiểm tra bệnh của phân tôm bố mẹ và chọn những con trưởng thành không bị nhiễm bẩn phân bằng các thể ẩn mỗi loại virus. Việc phòng tránh nhiễm bệnh bằng cách tẩy uế bề mặt của ấu trùng nauplius hoặc các trứng đã thụ tinh bằng formalin, iodophore, và lọc sạch nước biển theo các bước sau:

- tập trung nauplius và rửa nhẹ nhàng bằng dòng nước biển chảy từ 1 - 2 phút.
- ngâm nauplius trong dung dịch formalin nồng độ 400ppm trong 1 phút rồi chuyển sang ngâm trong dung dịch iodine 0,1ppm trong 1 phút. qui trình này cũng được dùng cho các trứng đã thụ tinh với nồng độ formaline giảm còn 100ppm.
- xả lại nauplius đã xử lý bằng dòng nước biển trong 3- 5 phút, sau đó chuyển đi ấp.

Có thể tiệt trùng các dịch bệnh BP và MBV ở một số cơ sở nuôi trồng thủy sản bằng cách di chuyển hoặc cho tiêu hủy đàn tôm đã bị nhiễm bệnh, khử trùng dụng cụ nuôi, tránh virus tái nhiễm (từ các phương tiện nuôi khác ở bên cạnh, tôm tự nhiên,vv...)

C.9.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Alcivar-Warren,A., R.M. Overstreet, A.K. Dhar, K. Astrofsky, W.H. Carr, J. Sweeny and J.M. Lotz. 1997. Genetic susceptibility of cultured shrimp (*Penaeus vannamei*) to infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus and *Baculovirus penaei*: Possible relation- ship with growth status and metabolic gene expression. *J. Invertebr. Pathol*. 70(3): 190-197.

Belcher, C.R. and P. R. Yo ung. 1998. Colourimetric PCR-based detection of monodon baculovirus in whole *Penaeus monodon* postlarvae. *J. Virol. Methods* 74(1): 21-29.

Brock, J.A., D.V. Lightner and T.A. Bell. 1983. A review of four virus (BP, MBV, BMN, and IHHNV) diseases of penaeid shrimp with particular reference to clinical significance, diagnosis and control in shrimp aquaculture. Proc. 71st Intl. Council for the Exploration of the Sea, C.M. 1983/Gen: 10/1-18.

Brock, J.A., L.K. Nakagawa, H. Van Campen, T. Hayashi, S. Teruya. 1986. A record of *Baculovirus penaei* from *Penaeus marginatus* Randall in Hawaii. *J. Fish Dis*. 9: 353-355.

Bruce, L.D., B.B. Trumper, and D.V. Lightner. 1991. Methods of viral isolation and DNA extraction for a penaeid shrimp baculovirus. *J. Virol. Meth.* 34:245-254.

Bruce, L.D., R.M. Redman and D.V. Lightner. 1994. Application of gene probes to deter-mine target organs of a penaeid shrimpbaculovirus using in situ hybridisation. *Aquaculture* 120(1-2): 45-51.

C.9 Bệnh còi do virus đa diện có nhân

(*BACULOVIRUS PENAEI* [BP] PvSNPV; MONODON BACULOVIRUS [MBV]PmSNPV)

Bruce, L.D., D.V. Lightner, R.M. Redman and K.C. Stuck. 1994. Comparison of traditional and molecular tools for *Baculovirus penaei* infections in larval *Penaeus vannamei*. *J. Aquatic Anim. Health* 6(4): 355-359.

Bueno, S.L., R.M. Nascimento and I. Nascimento. 1990. *Baculovirus penaei* infection in *Penaeus subtilis*: A new host and a new geographic range of the disease. *J. World Aquacult. Soc.* 21(3): 235-237.

Chen, S.N., P.S. Chang and G.S. Kou. 1993. Diseases and treatment strategies on *Penaeus monodon* in Taiwan. pp. 43-57 In: *Proceedings of the Symposium on Aquaculture held in Beijing, 21-23 December 1992*, Taiwan Fisheries Research Institute, Keelung, TRFI Conf. Proc. #3.

Chen, S.N., P.S. Chang, C.C. Chen and G.H. Kou. 1993. Studies on infection pathway of Monodon Baculovirus (MBV). *COA Fish. Ser.* 40: 81-85.

Chen, X., D. Wu, H. Huang, X. Chi and P. Chen. 1995. Ultrastructure on *Penaeus monodon* baculovirus. *J. Fish. China (Shuichan Xuebao)* 19(3): 203-209.

Fegan, D.F., T.W. Flegel, S. Sriurairatana and M. Waiyakruttha. 1991. The occurrence, development and histopathology of monodon baculovirus in *Penaeus monodon* in Thailand. *Aquac.* 96(3-4): 205-217.

Flegel, T.W., V. Thamavit, T. Pasharawipas and V. Alday-Sanz. 1999. Statistical correlation between severity of hepatopancreatic parvovirus infection and stunting of farmed black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquac.*174(3-4): 197-206.

Hammer, H.S., K.C. Stuck and R.M. Overstreet. 1998. Infectivity and pathogenicity of *Baculovirus penaei* (BP) in cultured larval and postlarval Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*, related to the stage of viral development. *J. Invertebr. Pathol.* 72(1): 38-43.

Hao, N.V., D.T. Thuy, L.T. Loan, L.T.T. Phi, L.H. Phuoc, H.H.T. Corsin and P. Chanratchakool. Presence of the two viral pathogens WSSV and MBV in three wild shrimp species (*Penaeus indicus*, *Metapenaeus ensis* and *Metapenaeus lysianassa*). *Asian Fish. Sci.* 12(4): 309-325.

Hsu, Y.L., K.H. Wang, Y.H. Yang, M.C. Tung, C.H. Hu, C.F. Lo, C.H. Wang and T. Hsu. 2000. Diagnosis of *Penaeus monodon* -type baculovirus by PCR and by ELISA. *Dis. Aquatic Org.* 40(2): 93-99.

Karunasagar, I., S.K. Otta and I. Karunasagar. 1998. Monodon baculovirus (MBV) and bacterial septicaemia associated with mass mortality of cultivated shrimp (*Penaeus monodon*) from the east coast of India. *Indian J. Virol.* 14(1): 27-30.

LeBlanc, B.D. and R.M. Overstreet. 1990. Prevalence of *Baculovirus penaei* in experimentally infected white shrimp (*Penaeus vannamei*) relative to age. *Aquac.* 87(3-4): 237-242.

LeBlanc, B.D. and R.M. Overstreet. 1991. Effect of dessication, pH, heat and ultraviolet irradiation on viability of *Baculovirus penaei*. *J. Invertebr. Pathol.* 57(2): 277-286.

LeBlanc, B.D. and R.M. Overstreet. 1991. Efficacy of calcium hypochlorite as a disinfectant against the shrimp virus *Baculovirus penaei*. *J. Aquatic Anim. Health* 3(2): 141-145.

LeBlanc, B.D., R.M. Overstreet and J.M. Lotz. 1991. Relative susceptibility of *Penaeus aztecus* to *Baculovirus penaei*. *J. World Aquacult. Soc.* 22(3): 173-177.

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Disease of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 304p.

Lightner, D.V. and R.M. Redman. 1989. *Baculovirus penaei* in *Penaeus stylirostris* (Crustacea: Decapoda) cultured in Mexico: Unique cytopathology and a new geographic record. *J. Invertebr. Pathol.* 53(1): 137-139.

Lightner, D.V., R.M. Redman, and E.A. Almada Ruiz. 1989. *Baculovirus penaei* in *Penaeus stylirostris* (Crustacea: Decapoda) cultured in Mexico: unique cytopathology and a new geographic record. *J. Inverteb. Pathol.* 53:137-139.

Lu, C.C., K.F.J. Tang, G.H. Kou and S.N. Chen. 1995. Detection of *Penaeus monodon*-type baculovirus (MBV) infection in *Penaeus monodon* Fabricius by *in situ* hybridisation. *J. Fish Dis.* 18(4): 337-345.

Lu, C.C., K.F.J. Tang and S.N. Chen. 1996. Morphogenesis of the membrane labyrinth in penaeid shrimp cells infected with *Penaeus monodon*-baculovirus (MBV). *J. Fish Dis.* 19(5): 357-364.

OIE. 2000. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

Poulos, B.T., J. Mari, J-R. Bonami, R. Redman and D.V. Lightner. 1994. Use of non -radioactively labeled DNA probes for the detection of a baculovirus from *Penaeus monodon* by *in situ* hybridisation on fixed tissues. *J. Virol. Methods* 49(2): 187-194.

Ramasamy, P., P.R. Rajan, V. Purushothaman and G.P. Brennan. 2000. Ultrastructure and pathogenesis of Monodon baculovirus (Pm SNPV) in cultuerd larvae and natural brooders of *Penaeus monodon*. *Aquac.*184(1-2): 45-66.

Shariff, M., R.P. Subasinghe and J.R. Arthur (eds) (1992) *Diseases in Asian Aqaculture*. Proceedings of the First Symposium on Diseases in Asian Aquaculture, Bali 1990. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 585pp.

Spann, K.M., R.J.G. Lester and J.L. Paynter.1993. Efficiency of chlorine as a disinfectant against *Monodon baculovirus*. *Asian Fish. Sci.* 6(3): 295-301.

Stuck, K.C. and R.M. Overstreet. 1994. Effect of *Baculovirus penaei* on growth and survival of experimentally infected postlarvae of the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *J. Invertebr. Pathol.* 64(1): 18-25.

Stuck, K.C. and S.Y. Wang. 1996. Establishment and persistence of *Baculovirus penaei* infec- tions in cultured Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *J. Invertebr. Pathol*. 68(1):59-64.

Stuck, K.C., L.M. Stuck, R.M. Overstreet andS.Y. Wang. 1996. Relationship between BP (*Baculovirus penaei*) and energy reserves in larval and postlarval Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *Dis. Aquat. Org.* 24(3): 191-198.

Thurman, R.B., T.A. Bell, D.V. Lightner and S. Hazanow. 1990. Unique physicochemical properties of the occluded penaeid shrimp baculoviruses and their use in diagnosis of infections. *J. Aquat. Anim. Health* 2(2): 128-131.

Vickers, J.E., J.L. Paynter, P.B. Spradbrow and R.J.G. Lester. 1993. An impression smear method for rapid detection of *Penaeus monodon*-type baculovirus (MBV) in Australian prawns. *J. Fish Dis*. 16(5): 507-511.

Vickers, J.E., R. Webb and P.R. Young. 2000. Monodon baculovirus from Australia: ultrastructural observations. *Dis. Aquat. Org.* 39(3): 169-176.

Wang, S.Y., C. Hong and J.M. Lotz. 1996. Development of a PCR procedure for the detection of *Baculovirus penaei* in shrimp. *Dis. Aquat. Org.* 25(1-2): 123-131.

C.9 Bệnh còi do virus đa diện có nhân

(*BACULOVIRUS PENAEI* [BP] PvSNPV; MONODON BACULOVIRUS [MBV]PmSNPV)

C.10.1 Thông tin chung

C.10.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh hoại tử gan tụy (NHP) do một loại vi khuẩn có kích thước tương đối nhỏ, đa hình ở mức cao Gram âm, chỉ gây bệnh trong nội bào.Vi khuẩn gây bệnh NHP có hai hình dạng khác nhau về hình thái: một dạng là que nhỏ đa hình và không có tiên mao; trong khi đó dạng kia là một que dài xoắn có 8 tiên mao trên đỉnh của vi khuẩn và một tiên mao phụ (đôi khi là 2) ở gờ của vòng xoắn.

Vi khuẩn NHP là một giống mới trong nhóm vi khuẩn phân giải protein nhóm α và có liên hệ mật thiết với vi khuẩn nội cộng sinh khác của động vật nguyên sinh. NHP cũng được biết đến với các tên gọi như bệnh gan tụy hoại tử Texas (TNHP), hội chứng chết trong ao Texas (TPMS) và bệnh gan tụy hoại tử Peru (PNHP). Có nhiều thông tin hơn về bệnh trong Lightner (1996).

C.10.1.2 Vật chủ

NHP gây bệnh trên tôm *Penaeus vannamei* và *P. stylirostris* nhưng gây chết hàng loạt ở tôm *P.vannamei*. Cũng tìm thấy NHP ở tôm *P. aztecus, P. californiensis* và *P. setiferus*.

C.10.1.3 Phân bố địa lý

NHP lần đầu tiên được mô tả ở Texas năm 1985. Các trận dịch khác cũng được ghi nhận ở hầu hết các nước châu Mỹ Latinh ở cả bờ biển Thái Bình Dương và Đại Tây Dương, bao gồm Brazil, Costarica, Ecuador, Mexico, Panama, Peru và Venezuela.

C.10.2 Các khía cạnh lâm sàng

Vi khuẩn gây bệnh NHP chỉ tác động rõ rệt lên các tế bào biểu mô có liên quan đến tuyến gan tụy, cho đến nay, vẫn chưa có loại tế bào nào khác bị nhiễm vi khuẩn này. Khối gan tụy ở tôm là một cơ quan dễ bị nhiễm bệnh do chúng vừa tham gia vào tiêu hóa thức ăn, hấp thu và dự trữ chất dinh dưỡng, nên bất kỳ bệnh nào cũng dễ xâm nhập và gây hậu quả nghiêm trọng đến vật bị nhiễm bệnh, từ việc làm giảm sức tăng trưởng đến tử vong. Sự thay đổi các yếu tố môi trường đóng vai trò quan trọng cho việc bộc lộ các biểu hiện lâm sàng của bệnh NHP; trong đó nhân tố quan trọng nhất là độ mặn của nước trên 16ppt và nhiệt độ nước lớn hơn hoặc bằng 26^{o}C.

C.10.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

C.10.3.1 Kiểm khẳng định

C.10.3.1.1. Phương pháp chấm vết đối với động vật chưa có triệu chứng bị bệnh (Mức độ III)

Hiện đã có kit thử phát hiện chấm vết để kiểm tra bệnh NHP do Diagxotics cung cấp (Wilton, CT, USA).

C.10.3.1.2. Lai tại chỗ (Mức độ III)

Hiện đã có kit phát hiện lai tại chỗ để kiểm tra bệnh NHP do Diagxotics cung cấp (Wilton, CT, USA).

C.10.3.1.3. Xét nghiệm bằng phương pháp PCR (Mức độ III)

Mẫu gan tụy được cố định trong ethanol 70% và được nghiền trước khi xử lý. DNA được tách biệt như sau: Hòa tan 25mg gan tụy đã được nghiền nhỏ trong 250 µl dung dịch đệm tiêu hoá (50mM Tris, 20mM EDTA, 0.5% SDS, pH8,5) trong ống eppendorf 0,5ml. Bổ sung enzyme proteinase K (7,5µl của 20mg ml^{-1}dung dịch gốc) và ủ ống ở 60^{o}C trong 2 giờ có khuấy trộn theo chu kỳ. Ủ tiếp ống ở 95^{o}C trong 10phút nhằm bất hoạt enzyme proteinase K.. Ở bước tiếp theo, dịch nghiền được ly tâm 3 phút ở tốc độ 13000rpm (160000x g) và 75µl của dịch nổi trên mặt được chuyển sang một cột Chroma Spin TE-100 (Clontech Labs) và ly tâm trong máy Rôto nằm ngang theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Dung dịch thu được sau khi ly tâm được pha loãng nồng độ 1:100 và 1:1000 bằng nước cất vô trùng trước khi tiến hành xét nghiệm PCR.

Dưới đây là đoạn mồi oligonucleotide dùng để khuyếch đại các vùng khác nhau của một đoạn gen 16S rRNA:

Xuôi: 5'-ACG TTG GAG GTT CGT CCT TCA G-3'

Ngược 1: 5'-TCA CCC CCT TGC TTC TCA TTG T-3'

Ngược 2: 5'-CCA GTC ATC ACC TTT TCT GTG GTC-3'

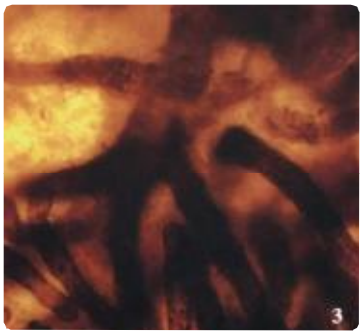
Mồi xuôi và mồi ngược 1 khuếch đại cho đoạn 441bp, mồi xuôi và mồi ngược 2 khuếch đại cho đoạn 660bp. PCR được tiến hành trong 50µl chứa 10mM Tris-HCl (pH 8.3), 50mM KCl, 1,5mM MgCl, 200mM deoxynucleotides, 0,5mM của mồi xuôi và cặp mồi ngược và 0,03 - 0,3µg mẫu DNA. Đun nóng các chất phản ứng đến 94^{o}C trong máy luân nhiệt được lập trình sẵn trước khi bổ sung 1,25 đơn vị Taq DNA polymerase. Sau đó dung dịch cuối cùng được phủ bề mặt bằng một lớp dầu khoáng. Chu trình khuếch đại gồm 35 chu kỳ với 30 giây ở 94^{o}C, 30 giây ở 58^{o}C và 1 phút ở 72^{o}C và thêm 5 phút ở 72^{o}C tiếp theo chu trình cuối. Sản phẩm PCR được quan

sát bằng cách điện di trên thạch agarose 1% trong môi trường đệm TAE chứa 0.5m?g ml^{-1} ethidium bromide.

C.10 Bệnh hoại tử khối gan tụy (NHP)

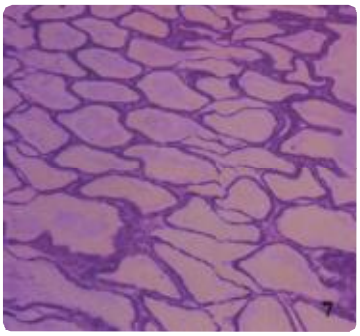
(DV Lightner)

Hình. C.10.4.1.1 Tôm *P. vannamei* giai đoạn ấu niên bị bệnh NHP cho thấy khối gan tụy bị teo rõ rệt đến 50% so với thể tích bình thường.

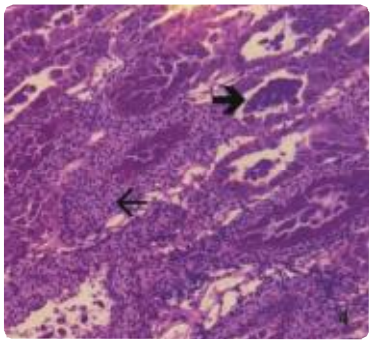


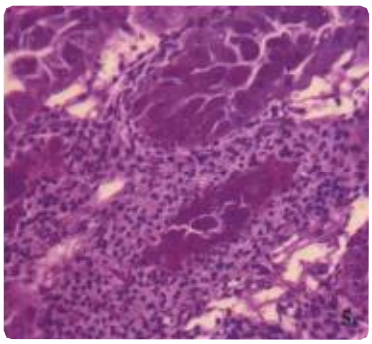
Hình. C.10.4.1.2 Tiêu bản ướt khối gan tụy của tôm nhiễm bệnh có hồng cầu bị sưng phồng, các tuyến gan tụy bị hóa đen và mất các giọt lipid. Tiêu bản không nhuộm, độ phóng đại 150X.

(DV Lightner)



(DV Lightner)





Hình. C.10.4.1.3a,b. Các ảnh với độ phóng đại thấp và vừa của khối gan tụy ở tôm *P. vananmei* giai đoạn ấu niên bị bệnh NHP nặng. Sự sưng hồng cầu nghiêm trọng của khoang bên trong tuyến (mũi tên nhỏ) phản ứng lại triệu chứng hoại tử, tình trạng tế bào bị tiêu hủy và lột vỏ của các tế bào biểu mô tuyến gan tụy (mũi tên lớn) là những thay đổi mô bệnh học chính do bệnh NHP. Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 150X (a), và 300X(b)

← Hình. C.10.4.1.3c Độ phóng đại thấp của tuyến gan tụy ở tôm *P. vannamei* giai đoạn ấu niên bị nhiễm bệnh NHP nặng, mãn tính. Biểu mô tuyến gan tụy bị teo rõ rệt, dẫn đến phù thũng nặng (dịch tràn hoặc "các khu vực có nước" trong gan tụy). Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 100X.

C.10 Bệnh hoại tử khối gan tụy (NHP)

C.10.4 Các phương pháp chẩn đoán

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán NHP có thể tìm trong Lightner (1996) hoặc trong các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.10.4.1 Dự chẩn

C.10.4.1.1.Các quan sát sơ bộ (Mức độ I)

Có nhiều dấu hiệu sơ bộ dùng để xác định khả năng hiện diện của bệnh NHP. Chúng bao gồm: lờ đờ, giảm ăn, tỷ lệ chuyển hoá thức ăn cao, biếng ăn và ruột rỗng, giảm sức tăng trưởng rõ rệt, tỷ lệ trọng lượng-chiều dài thân thấp ("mỏng đuôi"); vỏ mềm và có thể nhũn; mang đen hoặc sẫm màu; bị nhiều vi sinh vật cơ hội bám trên mặt vỏ; bệnh vỏ bị nhiễm vi khuẩn, bao gồm các tổn thương loét lớp cutin hoặc phần phụ bị ăn mòn hóa đen; bị phồng rộp các tế bào sắc tố dẫn đến sự xuất hiện các rìa sẫm màu ở các náng đuôi và chân bụng. Khối gan tụy có thể bị teo **(Hình C.10.4.1.1)** và có một trong các đặc điểm sau: mềm và sũng nước; dịch tràn vào trung khu; nhợt nhạt với sọc sẫm màu (tuyến bị biến đen); trung khu tái nhợt thay thế cho màu vàng nhạt đến màu da cam thông thường. Tỷ lệ chết cao đến trên 90% trong vòng 30 ngày sau khi phát các triệu chứng bệnh nếu không được xử lý.

C.10.4.1.2. Làm tiêu bản ướt (Mức đô II)

Làm tiêu bản ướt khối gan tụy của tôm bị bệnh NHP có thể thấy hiện tượng giảm hoặc biến mất các giọt lipid hoặc/và các tuyến gan tụy bị biến đen **(Hình C.10.4.1.2).**

C.10.4.1.3.Mô bệnh học (Mức độ II)

Đặc tính của bệnh NHP là làm teo khối gan tụy từ ít đến hoàn toàn của tuyến niêm mạc và sự hình thành các dạng vi khuẩn thông qua các tiêu bản mô. Những thay đổi mô học chủ yếu là do NHP bao gồm cả hiện tượng viêm hồng cầu trong lòng các tuyến để phản ứng lại hoại tử, tiêu huỷ tế bào và hiện tượng lột vỏ các tế bào biểu mô tuyến gan tụy **(Hình C.10.4.1.3a,b).** Biểu mô tuyến gan tụy bị teo rõ rệt, tạo nên vùng bị phù thũng rộng (dịch tràn hay "sũng nước") trong gan tụy **(Hình C.10.4.1.3c).** Các tế bào biểu mô tuyến ở bên trong những tổn thương dạng hạt bị teo rõ rệt và suy giảm từ dạng hình trụ đơn giản thành hình lập phương khi xét về hình thái học. Chúng chứa ít hoặc không còn chứa các giọt lipid **(Hình C.10.4.1.3d),** giảm đáng kể hoặc không còn các không bào.

C.10.4.2 Kiểm khẳng định

C.10.4.2.1. Kính hiển vi điện tử (TEM) (Mức độ III)

Có hai hình dạng phân biệt của vi khuẩn gây bệnh NHP trong các tế bào gan tụy bị nhiễm. Dạng thứ nhất có hình que có kích thước 0.3μm x 9μm không có tiên mao. Dạng thứ hai có hình xoắn ốc có kích thước 0.2μm x 2,6 - 2,9μm với 8 tiên mao ở đỉnh của vi khuẩn và có thêm từ 1-2 tiên mao phụ ở gờ của vòng xoắn ốc **(Hình C.10.4.2.1).**

C.10.4.2.2. Phương pháp Dot-blot đối với động vật chưa có triệu chứng bị bệnh (Mức độ III)

Hiện đã có bộ kit Dot-blot để kiểm tra bệnh NHP do Diagxotics cung cấp (Wilton, CT, USA).

C.10.4.2.3. Lai tại chỗ (Mức độ III)

Hiện đã có bộ kit phát hiện lai tại chỗ để kiểm tra bệnh NHP do Diagxotics cung cấp (Wilton, CT, USA).

C.10.4.2.4. Kỹ thuật PCR (Mức độ III)

Như đã được mô tả ở C.10.3.1.3

C.10.5 Các kiểu lan truyền bệnh

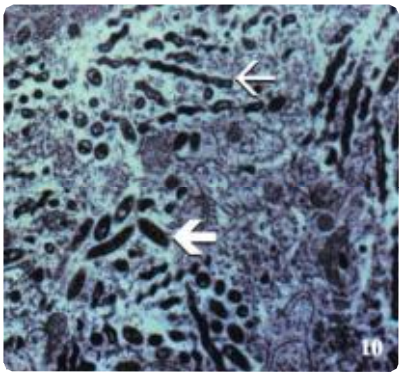
Phát hiện sớm bệnh lý NHP là rất quan trọng để tìm biện pháp xử lý có hiệu quả do khả năng tiềm ẩn của nhóm sinh vật ăn thịt làm khuyếch đại và lan truyền bệnh. Xét nghiệm phân tử hậu ấu trùng của tôm bố mẹ bị bệnh cho thấy sự truyền bệnh theo trục ngang không xảy ra.

C.10.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Lấy mẫu định kỳ và kiểm tra (bằng phương pháp mô bệnh học, kính hiển vi điện tử rất được khuyến cáo tại các trại nuôi đã xảy ra bệnh NHP và những nơi mà điều kiện môi trường thuận lợi cho bùng phát bệnh. Hiện nay, việc sử dụng kháng sinh oxytetracycline (OTC) trong thức ăn có trộn thuốc được xem là biện pháp tốt nhất để trị bệnh NHP có hiệu quả, nhất là nếu bệnh được phát hiện sớm.

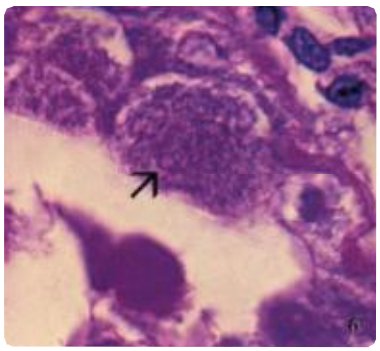
Cũng có một vài bằng chứng cho thấy các ao nuôi có mức nước sâu hơn (2m) và việc sử dụng $Ca(OH)_2$ để xử lý đáy ao trong quá trình chuẩn bị ao trước khi thả giống có thể làm giảm tỷ lệ mắc bệnh NHP. Các biện pháp phòng ngừa bao gồm nạo vét bùn đáy ao, kéo dài thời gian phơi nắng cho ao và các kênh mương dẫn nước trong vài tuần, khử trùng dụng cụ đánh bắt và các thiết bị khác bằng cách dùng Calcium hypochlorite, phơi khô và rải vôi khắp ao.

(DV Lightner)



Hình.C.10.4.1.3.d. Các tế bào biểu mô tuyến gan tụy không có các giọt lipid trong tế bào chất, nhưng thay vào đó là những vi khuẩn bệnh NHP rất nhỏ ở bên trong tế bào chất, không có màng bao bọc (mũi tên). Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 1700 X.

(DV Lightner)



Hình.C.10.4.2.1. Khối gan tụy của tôm *P. vanamei* giai đoạn ấu niên bị bệnh NHP xem ở độ phóng đại thấp của kính hiển vi điện tử. Trong tế bào chất có nhiều vi khuẩn bệnh NHP dạng hình que (mũi tên lớn) và hình xoắn (mũi tên nhỏ). Độ phóng đại 10000X.

C.10.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Brock, J.A. and K. Main. 1994. A Guide to the Common Problems and Diseases of Cultured *Penaeus vannamei*. Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, Hawaii. 241p.

Frelier,P.F., R.F. Sis,T.A. Bell and D.H. Lewis. 1992. Microscopic and ultrastructural studies of necrotizing hepatopancreatitis in Texas cultured shrimp (*Penaeus vannamei*). *Vet. Pathol.* 29:269-277.

Lightner, D.V. 1996. A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 304p.

Lightner, D.V., R.M. Redman and J.R. Bonami. 1992. Morphological evidence for a single bacterial aetiology in Texas necrotizing hepatopancreatitis in *Penaeus vannamei* (Crustacea:Decapoda). *Dis. Aquat. Org*. 13:235-239.

C.11 BỆNH NẤM Ở TÔM CÀNG ĐỎ

C.11.1 Thông tin chung

C.11.1.1 Tác nhân gây bệnh

Bệnh nấm ở tôm càng đỏ (còn gọi là Krebspest, Kraftpest, "la peste", hoặc "crayfish aphanomyciasis") do giống nấm noãn, loài *Aphanomyces astaci*. Đây là loài gần giống với loài gây bệnh ở cá là *A. invadans*, trong hội chứng dịch bệnh lở loét (EUS) ở vùng Đông Nam Á (xem phần F.11).

C.11.1.2 Vật chủ

Gây bệnh trên loài tôm *Astacus astacus* của vùng tây bắc châu Âu, loài tôm đá *Austropotamobius pallipes* của vùng tây nam và tây châu Âu, tôm núi *Austopotmobiss torrentium* của vùng tây nam châu Âu, tôm càng nhỏ hay còn gọi tôm Thổ Nhĩ Kỳ *Astacus leptodactylus* của vùng Đông Âu và Trung Á. Một loài cua Trung Quốc (*Eriocheir sinenis*) cũng bị nhiễm bệnh trong điều kiện thực nghiệm. Tôm Bắc Mỹ (*Pacifasticus leniusculus*, một loài tôm báo hiệu, và *Procambarus clarkii*, loài tôm chuyên sống ở đầm lầy vùng Louisiana) cũng bị nhiễm nấm *A. astaci*, nhưng chúng có sức đề kháng tương đối tốt với bệnh, chỉ bộc lộ các dấu hiệu lâm sàng trong điều kiện nuôi thâm canh.

C.11.1.3 Phân bố địa lý

Nấm *A. astaci* phân bố rộng khắp ở cả châu Âu cũng như Bắc Mỹ. Bệnh xuất hiện đầu tiên ở vùng Bắc Italia vào giữa thế kỷ 19 và sau đó lan rộng đến Balkan và vùng biển Đen, vào Nga, Phần Lan và Thuỵ Điển. Vào những năm 1960, bệnh đã xuất hiện ở Tây Ban Nha và lan sang các đảo Anh Quốc, Thổ Nhĩ Kỳ, Hy Lạp và Na Uy vào những năm 1980.

C.11.2 Các khía cạnh lâm sàng

Sợi nấm của *A.astaci* phát triển trên khắp các phần không bị vôi hóa của lớp cutin và lan rộng dọc theo dây thần kinh. Loài tôm đề kháng với bệnh (vùng Bắc Mỹ) bao bọc sợi nấm trong các nốt nhỏ bị hoá đen làm ngăn cản sự tăng sinh của sợi nấm. Loài tôm dễ mắc bệnh không có khả năng sản sinh ra phản ứng tự vệ này và nấm tăng sinh trên các lớp mô ngoài và lớp cutin giữa của bộ giáp ngoài. Tổn thương của lớp cutin và mô mềm có liên quan, trong điều kiện nước ấm, sẽ làm tôm chết nhanh và làm tôm chết 100%. Loài tôm Bắc Mỹ còn sống sau khi mắc bệnh có thể trở thành vật mang nấm bệnh cận lâm sàng. Tuy nhiên, trong điều kiện nuôi bất lợi những mầm bệnh này sẽ phát thành bệnh.

C.11.3 Các phương pháp kiểm tra bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp kiểm tra bệnh nấm ở tôm càng đỏ có thể tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản của OIE (OIE 2000), trên trang web http:www.oie.int hoặc trong các tài liệu tham khảo chọn lọc.

C.11.3.1 Dự chẩn

C.11.3.1.1.Các quan sát chung (Mức độ I)

Những nốt đen trên lớp cutin của bất kỳ loài tôm cũng đều chỉ rõ sự tồn tại của dịch bệnh trên tôm. Những loài tôm này cần được coi là vật mang mầm bệnh tiềm ẩn và cần được kiểm tra *Aphanomyces astaci* bằng những kỹ thuật chẩn đoán khẳng định (C.11.3.2 và C.11.4.2).

C.11.3.1.2. Soi kính hiển vi (Mức độ I/II)

Như đã mô tả ở phần C.12.3.1.1, ổ nấm của bệnh có thể không dễ nhìn thấy bằng mắt thường. Kiểm tra bằng cách soi kính hiển vi có thể phát hiện những đốm trắng nhỏ trong các mô cơ nằm dưới những nốt nhỏ trong lớp cutin. Những đốm này làm lớp cutin hóa nâu. Những đường màu nâu rõ nét trong lớp cutin cũng bị nghi ngờ là các sợi nấm của. Những vùng cần khảo sát kỹ là lớp cutin vùng bụng mềm của bụng và đuôi; lớp cutin giữa vỏ giáp và đuôi, các khớp nối của các chân bơi (đặc biệt các khớp giữa), lớp cutin quanh hậu môn và mang.

C.11.3.2 Kiểm khẳng định

C.11.3.2.1 Nuôi cấy (Mức độ II)

Có thể phân lập từ nấm lớp cutin và các mô nghi ngờ bằng cách dùng môi trường thạch chứa dịch chiết men bia, glucose và kháng sinh (penicillin G và axit oxolinic) hòa vào nước sông tự nhiên (không cần khử khoáng). Việc xác định đến loài cần đến đặc điểm hình thái học của các bộ phận sinh sản hữu tính của nấm, tuy vậy, các bước này đều không có ở nấm *A. astaci*, do đó, bước khẳng định của bệnh thường dựa trên sự phân lập các tập đoàn nấm với các đặc điểm sau đây (không có loài Oomycetes khác có liên quan mật thiết gây bệnh cho tôm):

- phát triển trong môi trường thạch (trừ khi nuôi cấy ở dưới 7°C, sẽ kích thích sự phát triển bề mặt);
- các tập đoàn không màu;
- không có vách, phân nhánh nhiều, sợi nấm sinh dưỡng có đường kính 7-9μm (tối thiểu 5 μm, tối đa 10 μm);
- sợi nấm non mọc theo cụm rất dày, tế bào chất hình hạt và chứa các hạt có tính khúc xạ cao;
- sợi nấm già hơn chứa nhiều không bào, và sợi nấm già nhất sẽ trở nên rỗng.

Khi cấy chuyển tản nấm từ môi trường nuôi cấy sang nước cất vô trùng, chúng phát triển túi bào tử trong 12-15 giờ (20°C) hoặc 20-30 giờ (16°C). Bào tử có hình dạng amip kéo dài không đều sẽ được giải phóng và nhanh chóng hình thành nang là một khối xung quanh đỉnh của túi bào tử **(Hình C.11.3.2.1.A).** Các bào tử đầu tiên tạo nang có đường kính 9-11 μm (tối thiểu 8μm, tối đa 15 μm). Việc phóng thích động bào tử thứ cấp xảy ra từ những phần nhú có trên bề mặt của nang bào tử đầu tiên. Hiện tượng này xảy ra khi nhiệt độ thấp hơn 4°C, đạt đỉnh ở 20°C và ngừng ở nhiệt độ cao hơn 24°C. Các động bào tử có tiên mao bên và kích thước 8x12μm. Các chi tiết về môi trường nuôi cấy, kỹ thuật và giai đoạn phát triển mô học đã được đề cập trong Sổ tay của OIE (OIE 2000).

C.11.3.2.2. Xét nghiệm sinh học (Mức độ I/II).

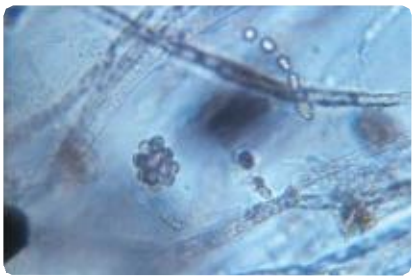
Việc khẳng định bệnh dịch ở tôm có thể được thực hiện bằng cách dùng các động bào tử nuôi cấy từ nấm đã được phân lập từ các mô của tôm nghi ngờ có bệnh. Tôm nhạy cảm với bệnh bị chết nhanh, cùng với sự tái phân lập của nấm như đã mô tả trên đây, có thể coi như kết luận thuyết phục về *A.astaci*.

C.11.4 Các phương pháp chẩn đoán bệnh

Thông tin chi tiết hơn về các phương pháp chẩn đoán bệnh dịch ở tôm sông có thể tìm thấy trong Sổ tay Chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE (OIE 2000), trên trang web http://www.oie.int hoặc các tài liệu tham khảo chọn lọc.

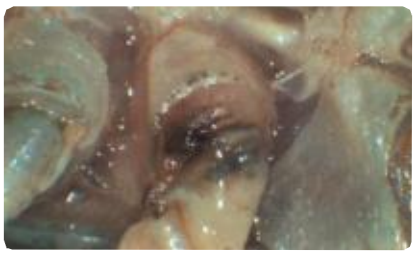
Không có bệnh nào khác, hoặc không bị tác động của ô nhiễm gây chết hoàn toàn tôm sông nhưng lại không gây hại gì cho các động vật khác cùng sống trong nước, trong các tình huống này và với loài tôm dễ bị mắc bệnh thì việc chẩn đoán các bệnh có thể đưa đến kết luận đúng đắn. Tuy nhiên, trong các trường hợp xảy ra lần đầu hoặc trong các tình huống với loài có sức đề kháng thì cần phân lập mầm bệnh để khẳng định.

(EAFP/DJ Alderman)



Hình. C.11.3.2.1a Tiêu bản hiển vi tươi của một phần lớp vỏ giáp bị nhiễm bệnh cho thấy các bào tử của nấm.

(EAFP/DJ Alderman)



Hình. C.11.4.1.1a,b. Các dấu hiệu bệnh lý của tôm bị bệnh cho thấy hệ cơ hoại tử trắng ở đuôi và đi kèm là các nhiễm mãn tính do lớp vỏ giáp hoá đen.

C.11 Bệnh nấm ở tôm càng đỏ

C.11.4.1 Dự chẩn

C11.4.1.1. Quan sát chung (Mức độ I)

Tôm thường hoạt động về đêm, khi thấy một số lớn tôm hoạt động vào ban ngày thì cần phải có nghi vấn. Một số bơi không thành đàn, đầu dễ nghiêng về phía đuôi và không tự uốn thẳng lại được.

Những dấu hiệu bệnh lý chung của bệnh dịch tôm sông thay đổi từ chỗ không có gì đến hàng loạt tổn thương ở bên ngoài. Những đốm trắng ở mô cơ phía dưới các vùng cutin trong suốt (nhất là vùng bụng và các khớp nối chân bò) và các chấm nâu đen **(Hình C11.4.1.1.a,b)** là những biểu hiện đúng nhất.

C.11.4.1.2. So kính hiển vi (Mức độ I/II)

Như ở phần C.11.3.1.2.

C.11.4.2 Kiểm khẳng định

C.11.4.2.1. Nuôi cấy (Mức độ II)

Như ở phần C.12.3.2.1, chẩn đoán dịch bệnh ở tôm sông đòi hỏi sự phân lập và xác định đặc điểm của mầm bệnh, nấm *A. astaci*, bằng cách sử dụng môi trường nuôi cấy nấm có bổ sung các chất kháng sinh để kiểm soát sự nhiễm khuẩn. Việc phân lập chỉ có thể đạt kết quả trước hoặc trong 12 giờ sau khi tôm bị nhiễm bệnh chết.

C.11.4.2.2. Xét nghiệm sinh học (Mức độ I/II)

Như ở phần C.11.3.2.2

C.11.5 Kiểu lan truyền bệnh

Lan truyền theo phương nằm ngang và trực tiếp qua giai đoạn động bào tử hai tiên mao của nấm *A.astaci*, nấm này có tính hướng hoá dương có liên quan tới tôm. Bệnh có thể lan truyền xuôi theo dòng chảy của sông và có tài liệu ghi nhận sự lan truyền ngược dòng của nấm trong phạm vi 2-4 km mỗi năm. Sự lan truyền theo hướng ngược dòng được nghi ngờ là do tôm di chuyển vào giữa giai đoạn nhiễm bệnh và giai đoạn cuối của bệnh. Sự lan truyền bệnh cũng liên quan đến nước dùng để vận chuyển cá giữa các trại nuôi cũng như các dụng cụ bị nhiễm (giầy, dụng cụ đánh bắt, bẫy tôm,vv…)

Người ta cho rằng việc di nhập tôm sông Bắc Mỹ về nuôi đã là nguồn gây bùng phát dịch bệnh tôm ở châu Âu.

C.11.6 Các biện pháp kiểm soát bệnh

Hiện nay vẫn chưa có biện pháp trị bệnh dịch tôm nước ngọt và mức tử vong cao đã cản trở chọn lọc tự nhiên cho tính kháng bệnh ở loài dễ cảm nhiễm nhất (một vài quần đàn ngày nay đã bị tuyệt chủng). Kiểm soát bệnh có kết quả nhất bằng cách ngăn ngừa di nhập hoặc để tôm xổng ra các vùng nước không bị nhiễm bệnh. Ngoài ra, nên tránh chuyển nước hay bất cứ dụng cụ nào từ vùng nước bị nhiễm đến vùng không bị nhiễm, hoặc tiến hành nhưng có sự cảnh báo về diệt khuẩn. Có thể dùng Sodium hypochlorite và iod để diệt khuẩn dụng cụ và phơi nắng hơn 24 giờ cũng có kết quả do nấm Oomycetes không chịu được khô.

C.11.7 Tài liệu tham khảo chọn lọc

Alderman, D.J. 1996. Geographical spread of bacterial and fungal diseases of crustaceans. OIE International Conference on the preven- tion of diseases of aquatic animals through international trade. Office International des Epizooties, Paris, France, June 7-9 1995. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 15: 603-632.

Alderman, D.J. and J.L. Polglase. 1986. *Aphanomyces astaci*: isolation and culture. *J. Fish Dis.* 9: 367-379.

Alderman, D.J., J.L. Polglase,. Frayling and J. Hogger. 1984. Crayfish plague in Britain. *J. Fish Dis.* 7(5): 401-405.

Alderman, D.J., J.L. Polglase and M. Frayling. 1987. *Aphanomyces astaci* pathoogenicity under laboratory and field conditions. *J. Fish Dis*. 10: 385-393.

Alderman, D.J., D. Holdich and I. Reeve. 1990. Signal crayfish as vectors of crayfish plague in Britain. *Aquac.* 86(1): 306.

Dieguez-Uribeondo, J., C. Temino and J.L. Muzquiz. 1997. The crayfish plague *Aphanomyces astaci* in Spain. *Bull. Fr. Peche Piscic.* 1(347): 753-763.

Fuerst, M. 1995. On the recovery of *Astacus astacus* L. populations after an epizootic of the crayfish plague (*Aphanomyces astaci* Shikora). *Eighth Int. Symp. Astacol.*, Louisiana State Univ. Printing Office, Baton Rouge, LA, pp. 565-576.

Holdich, D.M. and I.D. Reeve. 1991. Distribu tion of freshwater crayfish in the British Isles, with particular reference to crayfish plague, alien introductions and water quality. *Aquat. Conserv. Mar. Freshwat. Ecosyst,* 1(2): 139-158.

Lilley, J.H. and V. Inglis. 1997. Comparative ef- fects of various antibiotics, fungicides and disinfectants on *Aphanomyces invaderis* and other saprolegniaceous fungi. *Aquac. Res.* 28(6): 461-469.

Lilley, J.H., L. Cerenius and K. Soderhall. 1997. RAPD evidence for the origin of crayfish plague outbreaks in Britain. *Aquac.* 157(3-4): 181-185.

Nylund, V. and K. Westman. 1995. Fequency of visible symptoms of the crayfish plague fun- gus (*Aphanomyces astaci*) on the signal crayfish (*Pacifasticus leniusculus*) in natural populations in Finland in 1979-1988. Eighth *Int. Symp. Astacol.*, Louisiana State Univ. Print- ing Office, Baton Rouge, LA.

Oidtmann, B., M. El-Matbouli, H. Fischer, R. Hoffmann, K. Klaerding, I. Schmidt and R. Schmidt. 1997. Light microscopy of *Astacus astacus* L. under normal and selected patho- logical conditions, with special emphasis to porcelain disease and crayfish plague. *Fresh- water Crayfish 11*. A Journal of Astacology, Int. Assoc. Astacology, pp. 465-480.

Oidtmann B., L. Cerenius, I. Schmid, R. Hoffman and K. Soederhaell. 1999. Crayfish plague epizootics in Germany - classification of two German isolates of the crayfish plague fun- gus *Apahnomyces astaci* by random ampli- fication of polymorphic DNA. *Dis. Aquat. Org.* 35(3): 235-238.

OIE. 2000. Diagnostic Manual for Aquatic Animal Diseases, Third Edition, 2000. Office In- ternational des Epizooties, Paris, France. 237p.

Reynolds, J.D. 1988. Crayfish extinctions and crayfish plague in central Ireland. *Biol. Conserv.* 45(4): 279-285.

Vennerstroem, P., K. Soederh aell andL. Cerenius. 1998. The origin of two crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) epizootics in Finland on noble crayfish, *Astacus astacus*. *Ann. Zool. Fenn.* 35(1): 43-46.

PHỤ LỤC C.AI CÁC PHÒNG THÍ NGHIỆM THAM VẤN CỦA OIE VỀ CÁC BỆNH GIÁP XÁC

Bệnh	Chuyên gia/Phòng thí nghiệm
Các mầm bệnh của giáp xác	**Prof. D. Lightner** Aquaculture Pathology Section Department of Veterinary Science University of Arizona Building 90, Room 202, Tucson AZ 85721, **USA** Tel: (1.520) 621.84.14 Fax: (1.520) 621.48.99 E-mail: dvl@u.arizona.edu
	Prof. S.N. Chen Department of Zoology Director, Institute of Fishery Biology National Taiwan University No. 1 Roosevelt Road Section 4, Taipei, Taiwan 10764 **TAIWAN PROVINCE of CHINA** Tel: 886-2-368-71-01 Fax: 886-2-368-71-22 E-mail: snchen@cc.ntu.edu.tw

PHỤ LỤC C.AII DANH SÁCH CÁC CHUYÊN GIA KHU VỰC VỀ BỆNH GIÁP XÁC Ở CHÂU Á-THÁI BÌNH DƯƠNG

Bệnh	Chuyên gia
Bệnh của tôm	**Dr. Richard Callinan** NSW Fisheries, Regional Veterinary Laboratory Wollongbar NSW 2477, **AUSTRALIA** Tel (61) 2 6626 1294 Mob 0427492027 Fax (61) 2 6626 1276 E-mail: richard.callinan@agric.nsw.gov.au
	Dr. Indrani Karunasagar Department of Fishery Microbiology University of Agricultural Sciences Mangalore - 575 002**, INDIA** Tel: 91-824 436384 Fax: 91-824 436384 E-mail: mircen@giasbg01.vsnl.net.in
	Dr. C.V. Mohan Department of Aquaculture College of Fisheries University of Agricultural Sciences Mangalore-575002, **INDIA** Tel: 91 824 439256 (College); 434356 (Dept), 439412 (Res) Fax: 91 824 438366 E-mail: cv_mohan@yahoo.com
	Prof. Mohammed Shariff Faculty of Veterinary Medicine Universiti Putra Malaysia 43400 Serdang, Selangor, **MALAYSIA** Tel: 603-9431064; 9488246 Fax: 603-9488246; 9430626 E-mail: shariff@vet.upm.edu.my
	Dr. Jie Huang Yellow Sea Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences 106 Nanjing Road, Qingdao, Shandong 266071, **PEOPLE'S REPUBLIC of CHINA** Tel: 86 (532) 582 3062 Fax: 86 (532) 581 1514 E-mail: aqudis@public.qd.sd.cn
	Dr. Jian-Guo He School of Life Sciences Zhongshan University Guangzhou 510275 **PEOPLE'S REPUBLIC of CHINA** Tel: +86-20-84110976 Fax: +86-20-84036215 E-mail: lsbrc05@zsu.edu.cn
	Dr. Juan D. Albaladejo Fish Health Section Bureau of Fisheries and Aquatic Resources Arcadia Building, 860 Quezon Avenue Quezon City, Metro Manila, **PHILIPPINES** Tel/Fax: 632-372-5055 E-mail: jalbaladejo99@yahoo.com

Phụ lục C.AII Các phòng thí nghiệm tham vấn của OIE về các bệnh giáp xác

Bệnh	Chuyên gia
	Dr. Joselito R. Somga Fish Health Section Bureau of Fisheries and Aquatic Resources Arcadia Building, 860 Quezon Avenue Quezon City, Metro Manila, **PHILIPPINES** Tel/Fax: 632-372-5055 E-mail: jrsomga@edsamail.com.ph
	Dr. Leobert de la Pena Fish Health Section Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Center Tigbauan, Iloilo 5021, **PHILIPPINES** Tel: 63 33 335 1009 Fax: 63 33 335 1008 E-mail: leobert65@yahoo.com; leobertd@aqd.seafdec.org.ph
	Dr. P.P.G.S.N. Siriwardena Head, Inland Aquatic Resources and Aquaculture National Aquatic Resources Research and Develoment Agency Colombo 15, **SRI LANKA** Tel: 941-522005 Fax: 941-522932 E-mail: sunil_siriwardena@hotmail.com
	Dr. Yen-Ling Song Department of Zoology College of Science National Taiwan University 1, Sec. 4, Roosevelt Rd. **TAIWAN PROVINCE OF CHINA** E-mail: yenlingsong@hotmail.com
	Dr. Pornlerd Chanratchakool Aquatic Animal Health Research Institute Department of Fisheries Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900, **THAILAND** Tel: 662-5794122 Fax: 662-5613993 E-mail: pornlerc@fisheries.go.th
	Mr. Daniel F. Fegan National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC) Shrimp Biotechnology Programme 18th Fl. Gypsum Buidling Sri Ayuthya Road, Bangkok **THAILAND** Tel: 662-261-7225 Fax:662-261-7225 E-mail: dfegan@usa.net
	Dr. Chalor Limsuan Chalor Limsuwan Faculty of Fisheries, Kasetsart Unviersity Jatujak, Bangkok 10900, **THAILAND** Tel: 66-2-940-5695

Phụ lục C.AII Các phòng thí nghiệm tham vấn của OIE về các bệnh giáp xác

Bệnh	Chuyên gia
Bệnh virus	**Dr. Gary Nash** Center for Excellence for Shrimp Molecular Biology and Biotechnology Chalerm Prakiat Building Faculty of Science, Mahidol University Rama 6 Road Bangkok 10400 **THAILAND** Tel: 66-2-201-5870 to 5872 Fax: 66-2-201-5873 E-mail: gnash@asiaaccess.net.th
	Dr Nguyen Thanh Phuong Aquaculture and Fisheries Sciences Institute (AFSI) College of Agriculture Cantho University, Cantho **VIETNAM** Tel.: 84-71-830-931/830246 Fax: 84-71-830-247. E-mail: ntphuong@ctu.edu.vn
	Dr Peter Walker Associate Professor and Principal Research Scientist CSIRO Livestock Industries PMB 3 Indooroopilly Q 4068 **AUSTRALIA** Tel: 61 7 3214 3758 Fax: 61 7 3214 2718 E-mail: peter.walker@tag.csiro.au
Các bệnh vi khuẩn	**Mrs P.K.M. Wijegoonawardena** National Aquatic Resources Research and Development Agency Colombo 15, **SRI LANKA** Tel: 941-522005 Fax: 941-522932 E-mail: priyanjaliew@hotmail.com
	Prof. Tim Flegel Centex Shrimp, Chalerm Prakiat Building Faculty of Science, Mahidol University Rama 6 Road, Bangkok 10400 **THAILAND** Personal Tel: (66-2) 201-5876 Office Tel: (66-2) 201-5870 or 201-5871 or 201-5872 Fax: (66-2) 201-5873 Mobile Phone: (66-1) 403-5833 E-mail: sctwf@mahidol.ac.th
	Mrs. Celia Lavilla-Torres Fish Health Section Aquaculture Department Southeast Asian Fisheries Development Center Tigbauan, Iloilo 5021 **PHILIPPINES** Tel: 63 33 335 1009 Fax: 63 33 335 1008 E-mail: celiap@aqd.seafdec.org.ph

PHỤ LỤC C.AIII DANH SÁCH CÁC SỔ TAY HƯỚNG DẪN HỮU DỤNG CHẨN ĐOÁN BỆNH GIÁP XÁC Ơ CHÂU Á – THÁI BÌNH DƯƠNG

- **Bệnh cá châu Á - Thư mục III Nhật Bản của Wakabayashi H (chủ biên).**

  Địa chỉ liên lạc: Japanese Society of Fish Pathology

- **Sổ tay chẩn đoán bệnh cá: Bệnh của cá và giáp xác biển ở Indonesia (1998) của Zafram, Des Roza, Isti Koeshargami, Fris Jahnny và Kei Yuasa.**

  Địa chỉ liên lạc: Gondol Research Station for Coastal Fisheries
  P.O. Box 140 Singaraja, Bali, Indonesia
  Tel: (62) 362 92278
  Fax: (62) 362 92272

- **Quản lý sức khoẻ trong các ao nuôi tôm. Tái bản lần 3 (1998) của P. Chanratchakool, J.F.Turnbull, S.J.Funge-Smith, I.H. MacRae và C. Limsuan.**

  Địa chỉ liên lạc: Aquatic Animal Health Research Institute
  Department of Fisheries Kasetsart University Campus Jatujak, Ladyao, Bangkok 10900, THAILAND
  Tel: (66.2) 579.41.22
  Fax: (66.2) 561.39.93
  E-mail: aahri@fisheries.go.t

- **Bệnh cá (dành cho nông dân nuôi cá) (1999) của Tina Thorne**

  Địa chỉ liên lạc: Fisheries Western Australia
  3rd Floor, SGIO Atrium
  186 St. Georges Terrace, Perth WA 6000
  Tel: (08) 9482 7333 Fax: (08) 9482 7389
  Web: http://www.gov.au.westfish

- **Bệnh động vật thủy sản của Ôxtrâylia - Hướng dẫn định loại ngoài thực địa (1999) của Alistair Herfort và Grant Rawlin**

  Địa chỉ liên lạc: AFFA Shopfront - Agriculture, Fisheries and Forestry - Australia
  GPO Box 858, Canberra, ACT 2601
  Tel: (02) 6272 5550 or free call: 1800 020 157
  Fax: (02) 6272 5771
  E-mail: shopfront@affa.gov.au

- **Bệnh ở tôm he tại Philippines. Tái bản lần 2 (2000) của CR Lavilla-Pitogo, G.D. Lio-Po, E.R. Cruz-Lacierda, E.V. Alapide-Tendencia và L.D. de la Pena**

  Địa chỉ liên lạc: Fish Health Section
  SEAFDEC Aquaculture Department Tigbauan, Iloilo 5021, Philippines Fax: 63-33 335 1008
  E-mail: aqdchief@aqd.seafdec.org.ph
  devcom@aqd.seafdec.org.ph

Phụ lục C.AIII Danh sách các sổ tay hướng dẫn hữu dụng chẩn đoán bệnh giáp xác ở Châu Á - Thái Bình Dương

- **Sổ tay chẩn đoán bệnh cá - II Bệnh của Cá và Giáp xác biển ở Indonesia (2001) của Isti Koesharyani, Des Roza, Ketut Mahardika, Fris Johnny, Zafran and Kei Yuasa, edited by K. Sugama, K. Hatai, and T Nakai**

  Địa chỉ liên lạc: Gondol Research Station for Coastal Fisheries
  P.O. Box 140 Singaraja, Bali, Indonesia
  Tel: (62) 362 92278
  Fax: (62) 362 92272

- **Trình tự tiến hành PCR để phát hiện Virus hội chứng đốm trắng (WSSV) ở tôm. Phòng thí nghiệm dịch vụ công nghệ sinh học tôm. Tập 1, Số 1, Tháng 3-2001.**

  Địa chỉ liên lạc: Shrimp Biotechnology Service Laboratory
  73/1 Rama 6 Rd., Rajdhewee, Bangkok 10400
  Tel. (662) 644-8150
  Fax: (662) 644-8107

DANH SÁCH
CÁC ĐIỀU PHỐI VIÊN QUỐC GIA*

Quốc gia	Tên và địa chỉ
Ôxtrâylia	**Dr. Eva -Maria Bernoth** Manager, Aquatic Animal Health Unit, Office of the Chief Veterinary Officer Department of Agriculture, Fisheries and Forestry GPO Box 858, Canberra ACT 2601, Australia Fax: 61-2-6272 3150; Tel: 61-2-6272 4328 Email: Eva-Maria.Bernoth@affa.gov.au **Dr. Alistair Herfort** (Focal point for disease reporting) Aquatic Animal Health Unit, Office of the Chief Veterinary Officer Department of Agriculture, Fisheries and Forestry GPO Box 858, Canberra ACT 2601, Australia Fax: +61 2 6272 3150; tel: +61 2 6272 4009 E-mail: Alistair.Herfort@affa.gov.au
Bangladesh	**Dr. M. A. Mazid** Director General, Bangladesh Fisheries Research Institute (BFRI) Mymensingh 2201, Bangladesh Fax: 880-2-55259, Tel: 880-2-54874 E-mail: frifs@bdmail.net
Campuchia	**Mr. Srun Lim Song** Head, Laboratory Section, Department of Fisheries 186 Norodom Blvd.,P.O. Box 835, Phnom Penh, Cambodia Fax: (855) 23 210 565; Tel: (855) 23 210 565 E-mail: smallfish@bigpond.com.kh
CHND Trung Hoa	**Mr. Wei Qi** Extension Officer, Disease Prevention and Control Division National Fisheries Technology Extension Centre, No. 18 Ministry of Agriculture Mai Zi dian Street, Chaoyang District, Beijing 100026, China Fax: 0086-1—65074250; Tel: 0086-10-65074250 E-mail: weiqi_moa@hotmail.com
	Prof. Yang Ningsheng (*Focal point for AAPQIS*) Director, Information Center, China Academy of Fisheries Science 150 Qingta Cun, South Yongding Road, Beijing 100039, China Fax: 86-010-68676685; Tel: 86-010-68673942 E-mail: ningsheng.yang@mh.bj.col.com.cn
CHDCND Triều Tiên	**Mr. Chong Yong Ho** Director of Fish Farming Technical Department Bureau of Freshwater Culture Sochangdong Central District, P.O.Box. 95, Pyongyong, DPR Korea Fax- 850-2-814416; Tel- 3816001, 3816121*

* Đây là danh sách các Điều phối viên quốc gia do các Chính phủ và các khu vực trọng điểm đề cử để báo cáo hàng quý về bệnh động vật thuỷ sản ở châu Á-Thái Bình Dương

Danh sách các điều phối viên quốc gia

Hong Kong Trung Quốc	**Dr. Roger S.M. Chong** National Coordinator and Fish Health Officer Agriculture, Fisheries and Conservation Department Castle Peak Veterinary Laboratory San Fuk Road, Tuen Mun New Territories, Hong Kong Fax: +852 2461 8412 Tel: + 852 2461 6412 E-mail: vfhoafd@netvigator.com
Ấn Độ	**Dr. AG Ponniah** Director National Bureau of Fish Genetic Resources Canal Ring Road, P.O. Dilkusha Lucknow-226 002, U.O., India Fax: (911-522) 442403; Tel: (91-522) 442403/442441 E-mail: nbfgr@1w1.vsnl.net.in; nbfgr@400.nicgw.nic.in
	Shri M.K.R. Nair Fisheries Development Commissioner
Inđônêxia	**Mr. Bambang Edy Priyono** National Coordinator (from September 2000) Head, Division of Fish Health Management Directorate General of Fisheries Jl. Harsono RM No. 3 Ragunan Pasar Minggu Tromol Pos No.: 1794/JKS Jakarta - 12550 Indonesia Tel: 7804116-119 Fax: 7803196 - 7812866 E-mail: dfrmdgf@indosat.net.id
Iran	**Dr. Reza Pourgholam** National Coordinator (from November 2000) Veterinary Organization Ministry of Jihad - E - Sazandegi Vali-ASR Ave S.J.Asad Abadi St PO Box 14155 - 6349 Tehran, Iran Tel: 8857007-8857193 Fax: 8857252
Nhật Bản	**Dr. Shunichi Shinkawa** Fisheries Promotion Division, Fishery Agency 1-2-1, Kasumigaseki Chiyoda-ku, Tokyo 100-8907, Japan Fax: 813-3591-1084; Tel: 813-350-28111(7365) E-mail: shunichi_shinkawa@nm.maff.go.jp
CHDCND Lào	**Mr. Bounma Luang Amath** Fisheries and Livestock Department Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries P.O. Box 811, Vientianne, Lao PDR TeleFax: (856-21) 415674; Tel: (856-21) 416932[1]

[1] Các chuyên gia có tên trong Danh sách này đã được hỏi ý kiến trước và họ đã đồng ý cung cấp các thông tin và tư vấn có giá trị về bệnh có liên quan đến lĩnh vực chuyên môn riêng của họ.

Danh sách các điều phối viên quốc gia

Malaysia	**Mr. Ambigadevi Palanisamy** (from September 2001) National Coordinator Fisheries Research Institute Department of Fisheries Penang, Malaysia E-mail: ambigadevip@yahoo.com
	Dr. Ong Bee Lee (focal point for disease reporting) Head, Regional Veterinary Laboratory Services Department of Veterinary Services 8th & 9th Floor, Wisma Chase Perdana Off Jln Semantan 50630, Kuala Lumpur, Malaysia Fax: (60-3) 254 0092/253 5804; Tel: (60-3) 254 0077 ext.173 E-mail: ong@jph.gov.my
Myanmar	**Ms. Daw May Thanda Wint** Assistant Staff Officer, Aquatic Animal Health Section Department of Fisheries Sinmin Road, Alone Township, Yangon, Myanmar Fax: (95-01) 228-253; Tel: (95-01) 283-304/705-547
Nêpan	**Mr. M. B. Pantha**Chief, District Agri Devt. Officer Dist Agric. Devt Office Janakpur, Dhanusha Nepal Fax: (977-1) 486895 E-mail: image@bhawani.wlink.com.np
Pakistan	**Rana Muhammad Iqbal** Assistant Fisheries Development Commissioner II Ministry of Food, Agriculture and Cooperatives R#310, B-Block, Islamabad, Government of Pakistan, Islamabad, Pakistan Fax: 92-051-9201246; Tel: 92-051-9208267
	Dr. Rukshana Anjum Assistant Fisheries Development Commissioner Ministry of Food, Agriculture and Livestock Government of Pakistan Fax: 051 9221246
Philippin	**Dr. Joselito R. Somga** Aquaculturist II, Fish Health Section, BFAR 860 Arcadia Building, Quezon Avenue, Quezon City 1003 Fax: (632)3725055/4109987; Tel:(632) 3723878 loc206 or 4109988 to 89 E-mail: sssomga@edsamail.co.ph
Hàn Quốc	**Dr. Mi-Seon Park** Director of Pathology Division National Fisheries Research and Development Institute 408-1 Sirang, Kijang Pusan 619-900 Korea RO Tel: 82-51-720-2470; Fax: 82-51-720-2498 E-mail: parkms@haema.nfrda.re.kr

Danh sách các điều phối viên quốc gia

Singapore	**Mr. Chao Tien Mee** SAVAO (Senior Agri-Food and Veterinary Authority Officer) OIC, Marine Aquaculture Centre (MAC) Agri-Food & Veterinary Authority of Singapore (AVA) 300 Nicoll Drive, Changi Point, Singapore 498989 Tel: (65) 5428455; Fax No.: (65) 5427696 E-mail: CHAO_Tien_Mee@ava.gov.sg
	Dr. Chang Siow Foong (focal person for disease reporting) Agri-Food and Veterinary Authority of Singapore Central Veterinary Laboratory 60 Sengkang East Way Singapore 548596 Tel: (65) 3863572; Fax No. (65) 3862181 E-mail: CHANG_Siow_Foong@AVA.gov.sg
Sri Lanka	**Mr. A. M. Jayasekera** Director-General National Aquaculture Development Authority of Sri Lanka Ministry of Fisheries and Aquatic Resources Development, 317 1/1 T.B. Jayah Mawatha, Colombo 10, Sri Lanka Tel: (94-1) 675316 to 8; Fax: (94-1) 675437 E-mail: aqua1@eureka.lk
	Dr. Geetha Ramani Rajapaksa (focal point for disease reporting) Veterinary Surgeon Department of Animal Production and Health Veterinary Investigation Centre, Welisara, Ragama, Sri Lanka Tel: + 01-958213 E-mail: sser@sri.lanka.net
Thái Lan	**Dr. Somkiat Kanchanakhan** Fish Virologist, Aquatic Animal Health Research Institute (AAHRI) Department of Fisheries, Kasetsart University Campus Jatujak, Bangkok 10900, Thailand Fax: 662-561-3993; Tel: 662-579-4122, 6977 E-mail: somkiatk@fisheries.go.th
Việt Nam	**Dr. Le Thanh Luu** Vice-Director Research Institute for Aquaculture No. 1 (RIA No. 1) Dinh Bang, Tien Son, Bac Ninh, Vietnam Fax: 84-4-827-1368; Tel: 84-4-827-3070 E-mail: ria1@hn.vnn.vn
	Ms Dang Thi Lua (Focal point for disease reporting) Researcher, Research Institute for Aquaculture No.1 (RIA No.1) Dinh Bang, Tien Son, Bac Ninh, Vietnam Fax: 84-4-827-1368; Tel: 84-4-827 - 3070 E-mail: ria1@hn.vnn.vn; danglua@hotmail.com

CÁC THÀNH VIÊN CỦA NHÓM CÔNG TÁC KHU VỰC (RWG, 1998-2001)

Dr. Eva-Maria Bernoth
Manager, Aquatic Animal Health Unit
Office of the Chief Veterinary Officer
Department of Agriculture, Fisheries and Forestry - Australia
GPO Box 858, Canberra Act 2601,
AUSTRALIA
Tel: 61-2-6272-4328
Fax: 61-2-6272-3150
E-mail: Eva-Maria.Bernoth@affa.gov.au

Mr. Daniel Fegan
Apt. 1D Prestige Tower B
168/25 Sukhumvit Soi 23
Klongtoey, Bangkok 10110,
THAILAND
Tel: (662) 261-7225/(661) 825-8714
Fax: (662) 261-7225
E-mail: dfegan@usa.net

Professor Jiang Yulin
Shenzhen Exit & Entry Inspection and Quarantine Bureau
40 Heping Road, Shenzhen 518010
PEOPLE'S REPUBLIC OF CHINA
Tel: 86-755-5592980
Fax: 86-755-5588630
E-mail: szapqbxi@public.szptt.net.cn

Dr. Indrani Karunasagar
UNESCO MIRCEN for Marine Biotechnology
Department of Fishery Microbiology
University of Agricultural Sciences
College of Fisheries
Mangalore - 575 002
Karnataka,
INDIA
Tel: 91-824 436384
Fax: 91-824 436384/91-824 438366
E-mail: mircen@giasbg01.vsnl.net.in

Ms. Celia Lavilla-Pitogo Torres
SEAFDEC Aquaculture Department
5021 Tigbauan
REPUBLIC OF THE PHILIPPINES
Tel: 63-33 336 2965
Fax: 63-33 335 1008
E-mail: celiap@seafdec.org.ph

Các thành viên của nhóm công tác khu vực (RWG, 1998 - 2001)

Professor Mohammed Shariff
Faculty of Veterinary Medicine
Universiti Putra Malaysia
43400 Serdang, Selangor Darul Ehsan,
MALAYSIA
Tel: 60-3-89431064
Fax: 60-3-89430626
E-mail: shariff@vet.upm.edu.my

Dr. Kamonporn Tonguthai Department of Fisheries Kasetsart University
Campus Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900
THAILAND
Tel: (662) 940-6562
Fax: (662) 562-0571
E-mail: kamonpot@fisheries.go.th

Dr. Yugraj Singh Yadava
National Agriculture Technology Project
Ministry of Agriculture
Pusa, New Delhi 110012,
INDIA
Tel: (91-11)-6254812 (residence)
(91-11) 5822380/5822381 (office)
E-mail: y.yugraj@mailcity.com

CÁC THÀNH VIÊN CỦA BAN DỊCH VỤ HỖ TRỢ KỸ THUẬT:

Dr. James Richard Arthur
FAO Consultant
RR1, Box 13, Savarie Rd.
Sparwood, B.C.
Canada V0B 2G0
Tel: 250-425-2287
Fax: 250 425-0045 (indicate for delivery to R. Arthur, Tel. 425-2287)
E-mail: rarthur@titanlink.com

Dr. Chris Baldock
Director, AusVet Animal Health Services
PO Box 3180
South Brisbane Qld 4101,
AUSTRALIA
Tel: 61-7-3255 1712
Fax: 61-7-3511 6032
E-mail: ausvet@eis.net.au

Mr. Pedro Bueno
Co-ordinator
Network of Aquaculture Centres in
Asia-Pacific
Department of Fisheries
Kasetsart University Campus
Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900,
THAILAND
Tel: (662) 561-1728 to 9
Fax: (662) 561-1727
E-mail: pedro.bueno@enaca.org

Dr. Supranee Chinabut
Director, Aquatic Animal Health Research Institute
Department of Fisheries
Kasetsart University Campus,
Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900,
THAILAND
Tel: (662) 579-4122
Fax: (662) 561-3993
E-mail: supranee@fisheries.go.th

Professor Timothy Flegel
Department of Biotechnology Faculty of Science
Mahidol University
Rama 6 Road, Bangkok 10400,
THAILAND
Tel: (662) 245-5650
Fax: (662) 246-3026
E-mail: sctwf@mahidol.ac.th

Professor Tore Hastein
National Veterinary Institute Ullevalsveien 68,
P.O. Box 8156 Dep. 0033,
NORWAY
Tel: 47 22964710
Fax: 47 22463877
E-mail: Tore.Hastein@vetinst.no

Các thành viên của ban dịch vụ hỗ trợ kỹ thuật:

Dr. Barry Hill
OIE Fish Disease Commission
CEFAS Weymouth Laboratory
The Nothe, Weymouth, Dorset DT4 8UB
UNITED KINGDOM
Tel: 44-1305 206 626
Fax: 44-1305-206 627
E-mail: B.J.HILL@cefas.co.uk

Mr. Hassanai Kongkeo
Special Advisor Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific
Department of Fisheries Kasetsart University Campus
Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900,
THAILAND
Tel: (662) 561-1728 to 9
Fax: (662) 561-1727
E-mail: hassanak@fisheries.go.th

Dr. Sharon E. McGladdery
Shellfish Health Pathologist
Department of Fisheries and Oceans - Canada
Gulf Fisheries Centre, P.O. Box 5030,
Moncton, NB, CANADA E1C 9B6
Tel: 506 851-2018
Fax: 506 851-2079
E-mail: McGladderyS@mar.dfo-mpo.gc.ca

Dr. Kazuhiro Nakajima
Head, Pathogen Section Fish Pathology Division
National Research Institute of Aquaculture
422-1 Nansei-cho, Watarai-gun, Mie 516-0193,
JAPAN
Tel: 81-599 66-1830
Fax: 81-599 6 6-1962
E-mail: kazuhiro@nria.affrc.go.jp

Dr. Yoshihiro Ozawa
OIE Representation for Asia and the Pacific
OIE Tokyo, East 311, Shin Aoyama Bldg,
1-1-1 Minami-aoyama, Minato-ku, Tokyo 107,
JAPAN
Tel: 81-3-5411-0520
Fax: 81-3-5411-0526
E-mail: Oietokyo@tky.3web.ne.jp

Dr. Michael J. Phillips Environment Specialist
Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific
Department of Fisheries Kasetsart University Campus Ladyao
Jatujak, Bangkok 10900,
THAILAND
Tel: (662) 561-1728 to 9
Fax: (662) 561-1727
E-mail: Michael.Phillips@enaca.org

Các thành viên của ban dịch vụ hỗ trợ kỹ thuật:

Dr. Melba B. Reantaso
Aquatic Animal Health Specialist
Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific
Department of Fisheries, Kasetsart University Campus
Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900,
THAILAND
Tel: (662) 561-1728 to 9
Fax: (662) 561-1727
E-mail: Melba.Reantaso@enaca.org; melbar@fisheries.go.th

Dr. Rohana P. Subasinghe
Senior Fishery Resources Officer (Aquaculture)
Inland Water Resources and
Aquaculture Service Fisheries Department,
Food and Agriculture Organization of the United Nations
Viale delle Terme di Caracalla, Rome 00100,
ITALY
Tel: 39-06 570 56473
Fax: 39-06 570 53020
E-mail: Rohana.Subasinghe@fao.org

Mr. Zhou Xiao Wei
Program Officer (Training)
Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific
Department of Fisheries Kasetsart University Campus
Ladyao, Jatujak, Bangkok 10900,
THAILAND
Tel: (662) 561-1728 to 9
Fax: (662) 561-1727
E-mail: zhoux@fisheries.go.th

DANH MỤC CÁC HÌNH MINH HỌA

PHẦN 2 - BỆNH CÁ

PHẦN F.1 KỸ THUẬT CHUNG

Hình.F.1.1.2.1a. Bệnh đốm đỏ ở cá trắm cỏ (**MG Bondad-Reantaso**)

Hình.F.1.1.2.1b. Trùng mỏ neo *Lerneae cyprinacea* ký sinh bên ngoài cá tai tượng **(JR Arthur)**

Hình.F.1.1.2.1c. Cá thơm, *Plecoglossus altivelis***,** bị nhiễm sán lá *Posthodiplostomum cuticola* **(?)** ấu trùng metacercariae thể hiện là các đốm đen trên da **(K Ogawa)**

Hình. F.1.1.2.1d. Lở loét đặc trưng, mất lồi, vây và đuôi bị rữa do *Vibrio* sp. **(R Chong)**

Hình.F.1.1.2.2a. Ví dụ về sự ăn mòn mang ở cá hồi Đại Tây Dương, *Salmo salar*, do động vật chân chèo ký sinh dày đặc *Salmincola salmoneus* **(SE McGladdery)**

Hình.F.1.1.2.2b. Mang cá có ký sinh trùng đơn chủ **(MG Bondad - Reantaso)**

Hình.F.1.1.3.1a. Nhiễm *Myxobolus artus* trong cơ xương của cá chép **(H Yokoyama)**

Hình.F.1.3.1.1b. Nhiễm ấu trùng *Ligula* sp. (sán dây) ở khoang bụng của cá bống vàng Nhật Bản, *Acanthogobius flavimanus* **(K Ogawa)**

Hình.F.1.3.2a. Bụng cá vàng bị trương phồng **(H Yokoyama)**

Hình.F.1.3.2b. Cá giống cá hồi Nhật Bản *(Onchorynchus masou*) có bụng phình to do nhiễm nấm men bia **(MG Bondad - Reantaso)**

PHẦN F.2 DỊCH BỆNH HOẠI TỬ DO CƠ QUAN TẠO MÁU (EHN)

Hình.F.2.2. Hiện tượng chết hàng loạt của riêng cá vược vây đỏ. Lưu ý cá nhỏ bị bệnh và một con cá bị sưng phồng dạ dày ở giữa ảnh. Lưu ý đặc điểm mang bị xuất huyết ở con cá bên trái của hình chèn **(AAHL)**

PHẦN F.3 BỆNH HOẠI TỬ CƠ QUAN TẠO MÁU DO NHIỄM TRÙNG (IHN)

Hình.F.3.2a. Cá bột nhiễm IHN có túi noãn hoàng bị xuất huyết **(EAFP)**

Hình.F.3.2b. Các dấu hiệu lâm sàng của cá nhiễm IHN bao gồm da bị sẫm, xuất huyết ở bụng và ở mắt quanh đồng tử **(EAFP).**

PHẦN F.4 VIRUS CÁ HỒI NHẬT BẢN ONCORHYNCHUS MASOU (OMV)

Hình.F.4.4.1.1a. Cá hồi chó nhiễm OMV có các đốm trắng ở gan **(M Yoshimizu).**

Hình.F.4.4.1.1b. Khối u xung quanh miệng cá giống cá hồi chó do nhiễm OMV (**M Yoshimizu**).

Hình.F.4.4.1.3. Các tiểu phần OMV phân lập từ cá hồi Nhật Bản, kích thước của nucleocapsid từ 100 đến 110 nm **(M Yoshimizu).**

PHẦN F.5 HOẠI TỬ NHIỄM TRÙNG TỤY (IPN)

Hình.F.5.2a. Cá bị nhiễm IPN có một phần ba thân phía sau bị tối màu và các u nhỏ trên đầu **(EAFP)**

Hình.F.5.2b. Cá hương của cá hồi vân có bụng bị phồng to đặc trưng của nhiễm IPN.Trứng đã thụ tinh của loài cá này đã được nhập từ Nhật Bản vào Trung Quốc năm 1987 **(J Yulin)**

Hình.F.5.2c. Phía trên cá hương của cá hồi vân bình thường; phía dưới: cá đã bị bệnh **(EAFP)**

Hình.F.5.4.1.3. CPE của IHNV**.(J Yulin)**

Hình.F.5.4.1.4. Virus IPN được phân lập từ cá hồi vân nhập khẩu từ Nhật Bản năm 1987. Các tiểu phần virus có đường kính 55 nm **(J Yulin).**

PHẦN F.6 BỆNH VIÊM NÃO VÀ VÕNG MẠC DO VIRUS (VER)

Hình.F.6.2. Cá chết do bị bệnh VER **(J Yulin)**

Hình.F.6.4.1.2a, b. Sự tạo thành không bào trong não (Br) và võng mạc mắt (Re) ở cá mú bị nhiễm GNNV ở Đài Loan Trung Quốc (thước đo tỷ lệ = 100 mm) **(S Chi Chi)**

Danh mục các hình minh họa

PHẦN F.7 BỆNH NHIỄM VIRUS VÀO MÙA XUÂN Ở CÁ CHÉP(SVC)

Hình.F.7.4.1.1a, b, c, d. Các dấu hiệu lâm sàng không đặc trưng ở cá nhiễm bệnh SVC, có thể là phồng bụng, xuất huyết ở da, mô mỡ ở bụng, bóng hơi và các dấu hiệu khác **(EAFP).**

PHẦN F.8 BỆNH NHIỄM TRÙNG XUẤT HUYẾT DO VIRUS (VHS)

Hình.F.8.4.1.1. Dấu hiệu bên trong không đặc trưng (đốm xuất huyết ở cơ) của cá bị nhiễm bệnh VHS **(EAFP).**

PHẦN F.9 BỆNH U NANG BẠCH HUYẾT

Hình.F.9.2a. Cá quả ở tự nhiên bị bệnh u nang bạch huyết có xuất hiện các khối nổi rõ có cấu trúc như đá cuội không đều **(MG Bondad - Reantaso).**
Hình.F. 9.4.1.1a. Cá bợn bị bệnh u nang bạch huyết nặng **(J Yulin)**
Hình.F.9.4.1.1b. Các tổn thương u nang bệnh huyết có các thể vùi dạng hạt **(J Yulin).**
Hình.F.9.4.1.1c. Bệnh đậu mùa ở cá chép gây ra bởi *Herpesvirus* **(J Yulin).**
Hình.F.9.4.1.1d. Cá vàng bị nấm trên da **(J Yulin).**
Hình.F.9.4.2.1a. Các tế bào u nang bạch huyết khổng lồ có các thể vùi dạng lưới bao quanh nhân
Hình.F.9.4.2.1b. Một lam kính độc đáo về u nang bạch huyết cho thấy một số tế bào khổng lồ và các nang trong suốt **(J Yulin).**
Hình.F.9.4.2.2a. Soi kính hiển vi điện tử thấy nhiều tiểu phần virus trong tế bào chất **(J Yulin).**
Hình.F.9.4.2.2b. Các tiểu phần virus phình to là hình thái điển hình của *iridovirus* **(**Thước đo tỷ lệ 100 m**)**
(J Yulin).
Hình.F.9.4.2.2c. So với virus gây bệnh u nang bạch huyết thì *Herpervirus* ở bệnh đậu mùa cá chép là các virus nhỏ hơn và có bao **(J Yulin).**

PHẦN F.10 BỆNH NHIỄM KHUẨN THẬN (BKD)

Hình.F.10.3.1.2a. Các tập đàn có hình đầu kim đường kính 2mm của *Renibacteriium salmonimarum*, màu trắng ngà, bóng, trơn, hoàn toàn nhô cao; ba tuần sau khi nuôi cấy trong môi trường KDM-2 ở 15^{o}C **(M Yoshimizu).**
Hình.F.10.3.1.2b. Vi khuẩn hình que *Renibacterium salmoninarum* phân lập từ cá hồi Nhật Bản **(M Yoshimizu).**
Hình.F.10.4.1.1a. Thân của cá hồi Nhật Bản bị trương và có mảng màu xám không đều **(M Yoshimizu).**
Hình.F.10.4.1.1b. Ở cá bị nhiễm BKD còn quan sát thấy lá lách phình to**.**

PHẦN F.11 HỘI CHỨNG DỊCH BỆNH LỞ LOÉT (EUS)

Hình.F.11.1.2a. Cá thơm, *Plecoglatus altivelis*, bị bệnh với các u hạt nấm **(K Hatai)**
Hình.F.11.1.2b. Cá vược trắng *Bidyanus bidyanus* nuôi ở Đông Ôxtrâylia bị nhiễm EUS **(RB Callinan)**
Hình.F.11.2a. Cá trê có các đốm đỏ do mới nhiễm EUS **(MG Bondad - Reantaso)**
Hình.F.11.2b. Cá quả ở Philippin (1985) bị các tổn thương điển hình của EUS **(MG Bondad - Reantaso)**
Hình.F.11.4.1.1a. Cá đối ở tự nhiên của Philippin bị EUS (1989) **(MG Bondad - Reantaso)**
Hình.F.11.4.1.1b. Bệnh đốm đỏ ở cá trắm cỏ của Việt Nam có các tổn thương lở loét **(MG Bondad - Reantaso)**
Hình.F.11.4.1.2. U hạt trong tiêu bản ép cơ ở cá bị EUS **(MG Bondad - Reantaso)**
Hình.F.11.4.2.1a. Các u hạt điển hình bị nhiễm nặng nấm ở lát cắt cơ của cá bị EUS (H & E) **(MG Bondad - Reantaso)**
Hình.F.11.4.2.1b.Các u hạt nấm có sợi nấm (bắt màu đen) nhờ nhuộm Grocotts **(MG Bondad - Reantaso)**
Hình.F.11.4.2.2a. Đặc điểm điển hình của sự hình thành bào tử *Aphanomyces* **(K Hatai)**
Hình.F.11.4.2.2 b. *Aphanomyces invadans* mọc trên môi trường aga 6P **(MG Bondad - Reantaso)**

Danh mục các hình minh họa

PHẦN 3 CÁC BỆNH CỦA NHUYỄN THỂ

MỤC M.1. KỸ THUẬT CHUNG

Hình.M.1.1.1. Vỏ cứng của trai *Mercenaria mercenaria* há miệng, mặc dù để ở trên cạn **(SE McGladdery)**

Hình.M.1.1.2a. Hiện tượng bám nhuyễn thể (mũi tên) ở trai cánh *Pteria penguin*. Trại Ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin (1996) **(MG Bondad - Reantaso)**

Hình.M.1.1.2b. Trai Pteria penguin nuôi ở trại ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin có vỏ bị tổn thương do bọt biển của nước triều dâng cao (1992) **(D Ladra)**

Hình.M.1.1.2c,d. Sinh vật bám dày trên vỏ Pteria penguin. Trại ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin (1996) **(MG Bondad - Reantaso)**

Hình.M.1.1.2e. Các đường hào do *Polydora* sp. đào và sự phá hủy lớp vỏ do vôi hóa ở khớp nối của hầu Mỹ, *Crassostrea virginica*, cộng với sự kết vỏ của con sum trên các bề mặt vỏ khác **(SE McGladdery)**

Hình.M.1.1.2f. Trai cánh Pteria penguin, có vỏ bi tổn thương do bọt biển của nước triều dâng cao. Trại ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippines (1996) **(MG Bondad - Reantaso)**

Hình.M.1.1.2g,h. Trai Pinctada maxima, vỏ bị bọt biển làm tổn thương do chúng đào thành các hốc thoát- hút trên bề mặt (mũi tên). Các hốc khác (mũi tên nhỏ) là do giun nhiều tơ, ốc hoặc các sinh vật bám khác. Trại Ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin (1996) **(MG Bondad - Reantaso)**

Hình.M.1.1.3a. Vỏ Hàu có cánh Pteria penguin bị bọt biển gây tổn thương đục thủng vào tận mặt vỏ bên trong. Trại Ngọc trai Guian, Đông Samar, Philippin (1996) **(MG Bondad - Reantaso)**

Hình.M.1.1.3a 1. Bào ngư ((*Haliotis roei*) bị chết do giun **(B Jones)**

Hình.M.1.1.3 b,c. b. Dấu hiệu bị xói mòn lớp xà cừ mặt vỏ trong của Pinctada maxima (mũi tên), có thể liên quan đến sự co rút màng áo mãn tính. C. Mặt trong của lớp vỏ bị bọt biển đục lỗ xâm nhập hoàn toàn. (mũi tên nhỏ) **(D Ladra)**

Hình.M.1.1.3d,e,f. Vỏ của trai *Pinctada maxima* (d) *Pteria penguin* (e) và hàu *Crassostrea* sp. (f) bị *Polydora*- đục thành đường ngầm, điều này đã dẫn tới sự hình thành các bọng chứa đầy bùn **(MG Bondad - Reantaso)**

Hình.M.1.1.3g. Lớp vỏ bền trong của trai ngọc cho thấy: các đường ngầm ở mép vỏ (mũi tên thẳng, đậm); đường ngầm do bọt biển (mũi tên trong suốt); và các bọng nước (mũi tên nhỏ, đậm) ở vị trí gắn kết của cơ khép vỏ. Trại Ngọc trai Guian, Đông Philippin (1996) **(MG Bondad - Reantaso)**

Hình.M.1.1.3.h. Sự xâm nhập qua lớp vỏ bởi giun nhiều tơ và bọt biển làm suy yếu và co rút các mô mềm khỏi mép vỏ ở hầu Mỹ *Crassostrea virginica* **(SE McGladdery)**

Hình.M.1.1.4a. Các mô của hầu (*Crassostrea virginica*) ở trạng thái bình thường **(SE McGladdery)**

Hình.M.1.1.4b. Các mô chứa nước ở hầu *Crassostrea virginica* - so sánh với hình M.1.1.4a **(SE McGladdery)**

Hình.M.1.1.4c. Những tổn thương mưng mủ (các chấm màu vàng kem) ở lớp màng áo của hầu Thái Bình Dương *(Crassostrea gigas)* **(SE McGladdery)**

Hình.M.1.1.4d. Các tổn thương bề mặt vỏ ở hàu Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas*) do *Marteiliodes chungmuensis* **(MS Park và DL Choi)**

Hình.M.1.1.4e. Bọng nước ở các mô mềm của ở mép màng áo của hàu Mỹ *(Crassostrea virginica*) **(SE McGladdery)**

Hình.M.1.1.4f. Cặn vôi (các viên ngọc) ở mô màng áo của vẹm do tác nhân kích thích là bùn hoặc bào nang giun dẹp **(SE McGladdery)**

Hình.M.1.1.4g. Các đường hào dưới lớp xà cừ ở mép trong của vỏ hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea virginica*), có thêm một con giun nhiều tơ sống tự do Nereis diversicolor trên bề mặt trong của vỏ **(SE McGladdery và M Stemphenson)**

MỤC M.2. BỆNH BONAMIA

Hình M.2.2 a. Xâm nhiễm tế bào máu và thoát mạch qua thành ruột của hầu châu Âu (*Ostrea edulis*) bị nhiễm *Bonamia ostreae* **(SE McGladdery)**

Hình M.2.2 b. Ảnh qua kính hiển vi dầu của *Bonamia ostreae* trong các tế bào máu của loài hàu châu Âu *(Ostrea edulis*) (mũi tên). thước tỷ lệ 20 μm **(SE McGladdery)**

Hình M.2.2c. Xâm nhiễm có hệ thống của tế bào máu ở hầu Ôxtrâylia, *Ostrea angasi* bị nhiễm Bonamia sp. Chú ý sự xuất hiện hốc trên thành ruột (H&E) **(PM Hine)**

Danh mục các hình minh họa

Hình M.2.2 d. Ảnh qua kính hiển vi dầu của *Bonamia* sp. gây nhiễm các tế bào máu và nằm tự do (mũi tên) trong huyết tương của loài hầu phăng Ôxtrâylia *Ostrea angasi* không bị bệnh. Thước tỉ lệ 20 μm (H&E) **(PM Hine)**

Hình.M.1.1.4e. Bọng nước ở các mô mềm của ở mép màng áo của hàu Mỹ *(Crassostrea virginica)* **(PM Hine)**

Hình M.2.2 f. Ảnh qua kính hiển vi dầu các tế bào máu của hầu,*Tiostrea lutaria* bị nhiễm *Bonamia* sp. (mũi tên) **(PM Hine)**

MỤC M.3. BỆNH MARTEILIA

Hình.M.3.2a. Ống tiêu hoá của hầu châu Âu, *Ostrea edulis* cho thấy sự nhiễm thể hợp bào dạng giáp (mũi tên) của *Marteilia refringrens* ở vùng ngoài tế bào biểu mô. Thước đo tỷ lệ 15 μm (H&E) **(SE McGladdery)**

Hình.M.3.2b. Ống tiêu hoá của hầu châu Âu, *Ostrea edulis*, cho thấy giai đoạn bào tử khúc xạ của *Marteilia refringrens* (ngôi sao). Thước đo tỷ lệ 50 μm (H&E) **(SE McGladdery)**

Hình.M.3.4.1.1a. Mẫu mô từ hầu đá Sydney, *Saccostrea commercialis* bị nhiễm nặng *Marteilia sydneyi* (mũi tên) (bệnh QX).Thước đo tỷ lệ 250 μm (H&E) **(RD Adlard)**

Hình.M.3.4.1.1b. Ảnh qua kính hiển vi dầu của mẫu mô ép giai đoạn bào tử của *Marteilia sydneyi* ở hầu đá Sydney *(Saccostrea commercialis*); ở ảnh phóng to đính kèm ở góc cho thấy 2 bào tử trong túi bào tử. Thước đo tỷ lệ 50 μm (H&E) **(RD Adlard)**

MỤC M.4. BỆNH MIKROCYTOS

Hình.M.4.2a. Những tổn thương áp xe (mũi tên) trên bề mặt các mô áo của hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea virginica*) do *Mikrocytos mackini* gây ra bệnh nặng (bệnh đảo Denman) **(SM Brower)**

Hình.M.4.3.2.1a. Lát cắt mô qua vùng áp xe mô áo- tương ứng với vùng tổn thương ở hình M.4.2a, do *Mikrocytos mackini* gây ra cho loài hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea virginica*) (H&E) **(SM Brower)**

Hình.M.4.3.2.1b. *Mikrocytos mackini* (mũi tên) nhìn dưới kính hiển vi soi dầu trong các mô liên kết quanh vùng bị tổn thương áp xe đã có ở hình M.4.3.2.1a. Thước đo tỷ lệ 20 μm (H&E) **(SM Brower)**

MỤC M.5. BỆNH PERKINSUS

Hình.M.5.1.2a. *Perkinsus* ký sinh trong mô liên kết của sò Arca. Hình chèn phóng đại cho thấy chi tiết của giai đoạn thể nứt rời sớm có các cá thể dinh dưỡng với các thể vùi dạng không bào. Thước tỉ lệ 100 μm (H&E) **(PM Hine)**

Hình.M.5.1.2b. Trai ngọc *Pinctada albicans* bị nhiễm ký sinh trùng *Perkinsus*. Ảnh chèn phóng đại cho thấy chi tiết của giai đoạn giống thể nứt rời có chứa các cá thể dinh dưỡng với các thể vùi dạng không bào. Thước đo tỉ lệ 250 μm (H&E) **(PM Hine)**

Hình.M.5.3.2.1a. Giai đoạn cá thể dinh dưỡng (Hình "nhẫn có khắc dấu") của Perkinsus marinus (mũi tên) nguyên nhân gây bệnh "Dermo" ở mô liên kết của loài hàu Mỹ (Crassostrea virginica).Thước đo tỷ lệ 20 μm(H&E) **(SM Brower)**

Hình.M.5.3.2.1b. Giai đoạn thể nứt rời của *Perkinsus marimes* (mũi tên), nguyên nhân gây ra bệnh "dermo" ở mô liên kết tuyến tiêu hoá của hầu Mỹ (*craosos virginica*). Thước tỷ lệ 30 μm (H&E).

Hình.5.3.2.2. Ảnh phóng đại bào tử ngủ của *Perkinsus marinus* đã được nhuộm xanh đen bằng dung dịch Lugon iodine, sau khi nuôi cấy trên môi trường thioglycollate lỏng. Thước đo tỷ lệ 200 μm **(SE McGladdery)**

MỤC M.6. BỆNH HAPLOSPORIDIUM

Hình.M.6.1.3a. Lây nhiễm ồ ạt loại ký sinh chưa định tên tương tự như *Haplosporidium* trên ống tiêu hoá và mô liên kết của loài trai ngọc môi vàng *Pinctada maxima* ở miền Bắc Tây Ôxtrâylia. Thước đo tỉ lệ 0,5 mm (H&E) **(PM Hine)**

Hình.M.6.1.3b. Ảnh phóng đại qua kinh hiển vi dầu giai đoạn bào tử có vảy của loại ký sinh tương tự như Haplosporidium trên trai ngọc môi vàng *Pinctada maxima* ở miền bắc Tây Ôxtrâylia **(PM Hine)**

Danh mục các hình minh họa

Hình.M.6.1.3c. Xâm nhiễm tế bào máu vào mô liên kết của hầu đá Sydney (*Saccostrea cucullata*) mang các bào tử của loại ký sinh trùng tương tự như *Haplosporidium* (mũi tên). Thước đo tỷ lệ 0,5 mm (H&E) **(PM Hine)**

Hình.M.6.1.3d. Ảnh phóng đại qua kính hiển vi dầu các bào tử của loại ký sinh trùng tương tự *Haplosporidium* (mũi tên) gắn liền với sự xâm nhiễm ồ ạt của tế bào máu ở hầu đá Sydney (*Saccostrea cucullata*). Thước đo tỷ lệ 10 μm (H&E) **(PM Hine)**

Hình.M.6.3.1.2a. Hợp bào (mũi tên đen) và bào tử (mũi tên trắng) của *Haplosporidium costale*, tác nhân gây bệnh SSO có trong mô liên kết của hầu Mỹ (*Crassostrea virginica*) **(SE McGladdery)**

Hình.M.6.3.1.2b. Hợp bào (mũi tên đen) và bào tử (mũi tên trắng) của *Haplosporidium nelsoni*, tác nhân gây bệnh MSX trên mô liên kết và ống tiêu hoá của loài hầu Mỹ (*Crassostrea virginica*). Thước đo tỷ lệ 100 μm **(SE McGladdery)**

Hình.M.6.4.2.2a. Ảnh phóng đại qua kính hiển vi dầu các bào tử SSO trong mô liên kết của hầu Mỹ *Crassostrea virginica*. Thước đo tỷ lệ 100 μm **(SE McGladdery)**

Hình.M.6.3.2.2b. Ảnh phóng đại qua kính hiển vi dầu các bào tử MSX trong biểu mô ống tiêu hoá của hầu Mỹ *Crassostrea virginica*. Thước đo tỷ lệ 25 μm (H&E) **(SE McGladdery)**

MỤC M.7. BỆNH MARTEILIOIDES

Hình.M.7.2a,b. Biến dạng toàn bộ các mô áo của hầu Thái Bình Dương (*Crassostrea gigas*) ở Hàn Quốc, do nhiễm loại ký sinh, trùng động vật nguyên sinh *Marteiloides chungmuensis*, gây ra việc lưu giữ trứng nhiễm bệnh trong buồng trứng và sinh dục;(Hình chèn) mô áo bình thường của hầu Thái Bình Dương **(MS Park và DL Choi)**

Hình.M.7.4.2.1. Lát cát mô bệnh học qua buồng trứng của hầu Thái Bình Dương (Crassostrea gigas) với trứng bình thường (mũi tên trắng) và trứng bị nhiễm nặng ký sinh trùng Marteiloides chungmuensis (mũi tên đen). Thước đo tỷ lệ 100 μm **(MS Park)**

PHẦN 4 - BỆNH GIÁP XÁC

MỤC 4.1. KỸ THUẬT CHUNG

Hình.C.1.1.1.3 a. Quan sát tập tính của tôm PL trong một cái bát **(P Charatchokoo)**

Hình.C.1.1.1.3 b. Tôm có màu sáng và trong ruột có đầy thức ăn có ở ao có thực vật phù du phát triển tốt **(P Charatchokoo)**

Hình.C.1.1.2.1a. Các phần phụ bị tổn thương chuyển sang màu đen **(P Charatchokoo)**

Hình.C.1.1.2.1b. Đuôi Tôm bị sưng do nhiễm vi khuẩn **(P Charatchokoo)**

Hình.C.1.1.2.2a,b.Tôm có vỏ mềm lâu dài **(P Charatchokoo/MG Bondad-Reantaso)**

Hình.C.1.1.2.3a. Sự chuyển màu xanh da trời và đỏ không bình thường **(P Charatchokoo)**

Hình.C.1.1.2.3b. Sự chuyển màu đỏ ở phần phụ sưng phồng **(P Charatchokoo)**

Hình C.1.1.3a. Mang của tôm bị thối bẩn nghiêm trọng **(P Charatchokoo)**

Hình.C.1.1.3b. Mang tôm chuyển sang màu nâu **(P Charatchokoo)**

Hình.C.1.1.3c. Tôm ở bên trái có khối gan tụy nhỏ **(P Charatchokoo)**

Hình.C.1.2a, b, c. Các ví dụ về các dạng nở hoa khác nhau của sinh vật phù du (a- hoa nước màu vàng/xanh lá cây; b- hoa nước màu nâu; c- hoa nước màu lam **(P Charatchokoo)**

Hình.C.1.2d. Thực vật phù dư chết **(P Charatchokoo)**

Hình. C.1.3.6. Các điểm để tiêm cố định mẫu **(V Alday de Graindorge và TW Flegel)**

MỤC C.2 BỆNH ĐẦU VÀNG

Hình C.2.2. Biểu hiện chung của bệnh đầu vàng thể hiện ở 3 tôm *Penaeus monodon* bên trái **(TW Flegel)**

Hình C.2.3.1.4 a,b. Lát cắt của cơ quan bạch huyết ở tôm P.monodon ấu niên cấp tính trầm trọng được phóng đại ở mức thấp và mức cao cho thấy sự lan truyền hoại tử của các tế bào bạch huyết. Các tế bào bị nhiễm bệnh đều có nhân

đông kết và vỡ. Các thể vùi ở dạng đơn lẻ hoặc tập hợp quanh nhân bắt màu thuốc nhuộm kiềm từ màu nhạt tới màu sẫm là biểu hiện của một số tế bào bị nhiễm bệnh (mũi tên). Hiện tượng hoại tử ở bệnh đầu vàng cấp tính khác biệt với bệnh đầu vàng do bị nhiễm virus hội chứng Taura cũng tạo ra bệnh lý học tế bào tương tự ở các mô khác nhau nhưng không có ở cơ quan bạch huyết. Mayer-Bennett H&E ; Độ phóng đại từ trên xuống là 525x và 1700x **(V Alday de Graindorge và TW Flegel)**

Hình C.2.3.1.4 c. Lát cắt mô của mang ở tôm *P.monodon* ấu niên bị bệnh đầu vàng. Hình ảnh mô tả sự lan truyền hoại tử của tế bào mang và các tế bào bị nhiễm bệnh kết đặc đều có nhân đông kết và vỡ nên có sự suy thoái và vỡ nhân (mũi tên). Một số tế bào cỡ lớn, phần lớn có hình cầu, với tế bào chất ưa kiềm cũng có ở lát cắt này. Các tế bào đó có thể là những huyết bào còn non nhưng đã thành thục sớm do đối phó với tác động của YHD.Mayer-Bennett H&E, ảnh độ phóng đại 1000x **(DV Lightner)**

MỤC C.3 BỆNH HOẠI TỬ VỎ DƯỚI VÀ CƠ QUAN TẠO MÁU DO NHIỄM TRÙNG (IHHN)

Hình C.3.2a. Tôm *P.stylirostris* ấu niên với những biểu hiện của bệnh IHHN cấp tính. Có thể nhìn thấy qua lớp cutin, đặc biệt ở phần bụng là những tổn thương -các ổ bệnh có màu trắng đến vàng sẫm ở biểu mô của lớp cutin hoặc dưới da (mũi tên). Trong khi những tổn thương như vậy là phổ biến ở tôm *P.stylirostris* bị bệnh IHHN cấp tính thể cuối thì chúng lại không là đặc trưng cho bệnh IHHN **(DV Lightner)**

Hình C.3.2b. Nhìn từ phía lưng của tôm con *P. vannamei* (bảo quản trong dung dịch Davidson AFA) cho thấy nhiều biểu hiện của virus IHHN gây ra hội chứng dị hình còi cọc RDS. Vỏ lớp cutin ngoài không bình thường của đốt bụng thứ 6 và thùy đuôi được dùng để minh họa **(DV Lightner)**

Hình C.3.2c. Hình ảnh nhìn từ mặt bên của tôm *P. vannamei* (được bảo quản trong dung dịch Davidson AFA) cho thấy nhiều biểu hiện của virus IHHN gây ra hội chứng dị hình còi cọc, RDS. Lớp cuticum không bình thường của đốt bụng thứ 6 và thùy đuôi được dùng để minh họa **(DV Lightner)**

Hình C3.4.1.2a. Ảnh chụp qua KHV phóng nhỏ một lát cắt đã nhuộm màu H&E của tôm con *P.stylirostris* bị bệnh IHHN cấp tính nghiêm trọng. Lát cắt này chạy qua biên mô lớp cutin và liên kết dưới vỏ ngay ở phía lưng và phía sau tim. Nhiều tế bào hoại tử có nhân bị đông kết hoặc có các thể vùi nội nhân bắt màu Eosin đặc trưng (Cowdry typ A) hiện rõ (mũi tên). Mayer-Bennett, độ phóng to 830x **(DV Lightner)**

Hình C.3.4.1.2b. Hình ảnh mang của tôm được phóng đại nhiều lần cho thấy các thể vùi nội nhân bắt màu Eosin (thể vùi Cowdry typ A hoặc CAIs) là đặc trưng cho việc nhiễm virus IHHN. Mayer-Bennett H&E. Phóng to 1800 lần **(DV Lightner)**

MỤC C.4 BỆNH ĐỐM TRẮNG (WSD)

Hình C.4.2a. Tôm *P.monodon* ấu niên với các đốm trắng nổi rõ của bệnh đốm trắng

Hình C.4.2b. Vỏ của một tôm *P. monodon* ấu niên bị bệnh đốm trắng. Những cặn vôi phía dưới vỏ là các đốm trắng **(DV Lightner/P. Saibaba)**

Hình C.4.3.3.1.2a. Lát cắt mô dạ dày của tôm *P. chinensis* ấu niên bị bệnh đốm trắng. Nhìn thấy khá nhiều thể vùi nội nhân trong biểu mô lớp cutin và mô liên kết phía dưới màng của cơ quan này (mũi tên) **(DV Lightner)**

Hình C.4.3.3.1.2b. Lắt cắt hần mang của tôm *P.chinensis* ấu niên bị bệnh baculo virus đốm trắng. Ở các tế bào nhiễm bệnh thấy các thể vùi nội nhân đang và đã phát triển đầy đủ của *baculovirus* đốm trắng WSBV (mũi tên). Mayer-Bennett H&E; độ phóng đại 900x **(DV Lightner)**

MỤC C.4a BỆNH VIRUS HOẠI TỬ TUYẾN RUỘT GIỮA (BMN)

Hình C.4a.2. Các đốm trắng dày đặc trên vỏ tôm *Penaeus monodon* do bị bệnh đốm trắng

Hình C.4a.4.2.2a,b. Các đốm trắng do vi khuẩn có thưa hơn các đốm trắng do virus. Một vài vi khuẩn đốm trắng có vòng tròn viền hơi trắng và có thể có đốm trắng nhạt, nhỏ ở chính giữa **(M. Shariff/Wang et al. 2000 (DAO 41:9-18))**

Danh mục các hình minh họa

Hình C.4a.4.2.2c. Sự có mặt của rất nhiều vi khuẩn gắn kết với phiến sợi nhỏ ở lớp trong cutin **(M. Shariff/Wang et al. 2000 (DAO 41:9-18))**

MỤC C.5 HỘI CHỨNG ĐỐM TRẮNG DO VI KHUẨN (BWSS)

Hình C.5.1.2a. Lắt cắt gan tụy của tôm *P.plebejus* cho thấy một vài tế bào gan tụy có chứa các thể vùi nội nhân kiểu Virus hoại tử tuyến ruột giữa. Mayer-Bennett H&E,Độ phóng đại 1700X **(DV Lightner)**

Hình C.5.4.2.1a. Ảnh phóng to nhiều lần của gan tụy ở PL của tôm *P.monodon* bị nhiễm virus hoại tử tuyến ruột giữa nặng dạng *Baculovirus*, Phần lớn các tế bào gan tụy có nhân bị lây nhiễm. Mayer- Bennett H&E., Độ phóng đại 1700X **(DV Lightner)**

Hình C.5.4.2.1b,c. Các lát cắt gan tụy của PL tôm *P. japinicuss* bị bệnh virus hoại tử tuyến ruột giữa nặng. Các ống gan tụy phần lớn đã bị phá huỷ chỉ giữ các lại các tế bào biểu mô ống có chứa nhân bị phồng trong đó có một thể vùi hình dạng không đều bắt màu Eosin kiềm yếu và thể vùi này lấp đầy nhôm. Nhân bị nhiễm Virus hoại tử tuyến ruột giữa cũng có chất nhiễm sắc nhân bị co lại, có viền và không có các thể ẩn đây là đặc trưng của lây nhiễm bởi *Baculovirus* thể ẩn. Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại (a) 1300X; (b) 1700X **(DV Lightner)**

Hình C.5.1.2 d. Các thể ẩn MBV thường xuất hiện là những thể vùi hình cầu, bắt màu Eosin ở trong nhân bị phồng to (mũi tên). Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 1700X **(DV Lightner)**

MỤC C.6 VIRUS GÂY KẾT DÍNH MANG (GAV)

Hình. C.6.4.2.1. Quan sát GAV qua kính hiển vi điện tử **(P Walker)**

MỤC C.8 HỘI CHỨNG TAURA (TS)

Hình C.8.4.1.1a,b. a**.** Tôm *P. vannamei* trong giai đoạn cấp tính của hội chứng Taura. Tôm lờ đờ, vỏ mềm và đuôi đỏ rõ rệt;b. Ảnh phóng to nhiều lần phần đuôi cho thấy sự chuyển màu đỏ và các gờ ráp của lớp biểu mô vỏ cutin ở các náng đuôi có ở hoại tử trên biểu mô (mũi tên) **(DV Lightner)**

Hình C.8.4.1.1c,d,e. Tôm *P. vannamei* ấu niên nuôi (c-từ Ecuador; d-từ Texas; e-từ Mexico) có những vết đen của hoại tử mô vỏ cutin do nhiễm virus hội chứng Taura **(DV Lightner/F Jimenez)**

Hình C.8.4.1.2a. Những tổn thương ở mang của tôm do virus hội chứng Taura (mũi tên). Nhân bị ngưng kết và vỡ, tăng khả năng bắt màu Eosin của tế bào chất. Sự đa dạng của các thể vùi tế bào chất hình cầu nhuộm màu khác nhau là đặc điểm dễ nhận biết của các tổn thương; độ phóng đại 900X **(DV Lightner)**

Hình C.8.4.1.2b. Lát cắt mô dạ dày của tôm *P. vannamei* ấu niên cho thấy những vùng hoại tử nổi bật ở lớp biểu mô vỏ cuticum (mũi tên đậm). Bên cạnh các ổ tổn thương là những tế bào biểu mô bình thường (mũi tên mảnh). Mayer-Bennett H&E, độ phóng đại 300X **(DV Lightner)**

HìnhC.8.4.1.2c Ảnh phóng to hơn của hình C.8.4.1.2b sẽ thấy những thể vùi tế bào chất có nhân ngưng kết và vỡ giống như rắc hạt tiêu ". Mayer-Bennett, phóng đại 900X **(DV Lightner)**

Hình C.8.4.1.2d. Lát cắt dọc giữa cơ quan bạch huyết (LO) của tôm P. vannamei ấu niên bị gây nhiễm bệnh bằng thực nghiệm. Rải rác ở giữa các dây hoặc mô cơ quan bạch huyết (LO) bình thường, đặc trưng bởi nhiều lớp tế bào có vỏ xếp xung quanh một mạch huyết tương trung tâm (mũi tên mảnh), là sự tập trung các tế bào LO hỗn độn thành các hình cầu LO. Những hình cầu LO này không có mạch trung tâm và bao gồm các tế bào có nhân to, các không bào nổi rõ và các thể vùi bào chất khác (mũi tên đậm). Mayer-Bennett H&E, độ phóng đại 300X **(DV Lightner)**

MỤC C.9 BỆNH CÒI DO VIRUS ĐA DIỆN CÓ NHÂN (NPB)

Hình. C.9.3.2.1a. Tiêu bản ướt phân của tôm *P. vannamei* nhiễm bệnh BP cho thấy các thể ẩn tứ diện (mũi tên) đã được chẩn đoán là gây bệnh cho khối gan tụy hoặc các tế bào biểu mô ruột giữa của tôm. Pha tương phản, không nhuộm, độ phóng đại 700X

Danh mục các hình minh họa

Hình. C.9.3.2.1b,c. Hình phóng đại vừa và to của các tiêu bản ép mô gan tụy từ hậu ấu trùng tôm P. monodon bị nhiễm ép MBV. Hầu hết các tế bào gan tụy ở cả 2 hậu ấu trùng thường có các thể ẩn nội nhân hình cầu (mũi tên) chúng được chẩn đoán cho bệnh MBV. 0.1% malachite green. Độ phóng đại 700X (b), và 1700X (c) **(DV Lightner)**

Hình. C.9.3.2.3a,b. a Hình phóng đại trung bình của các lát cắt chạy dọc giữa thân hậu ấu trùng tôm *P. vannamei* bị bệnh BP nặng ở khối gan tụy cho thấy các thể ẩn tứ diện BP bắt màu Eosin ở trong nhân tế bào gan tụy một cách rõ rệt (mũi tên). Mayer-Bennett H&E. độ phóng đại 700X;b: Hình phóng đại lớn của một ống gan tụy cho thấy một số tế bào bị nhiễm BP có các thể ẩn hình tứ diện, nội nhân, bắt màu Eosin của PB (mũi tên). Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 1800X **(DV Lightner)**

MỤC C.10 BỆNH HOẠI TỬ KHỐI GAN TỤY (NHP)

Hình C.10.4.1.1. Tôm *P. vannamei* giai đoạn ấu niên bị bệnh NHP cho thấy khối gan tụy bị

teo rõ rệt đến 50% so với thể tích bình thường **(DV Lightner)**

Hình C.10.4.1.2. Tiêu bản ướt khối gan tụy của tôm nhiễm bệnh có hồng cầu bị sưng phồng các tuyến gan tụy bị hóa đen và mất các giọt lipid. Tiêu bản không nhuộm, độ phóng đại 150X **(DV Lightner)**

Hình C.10.4.1.3a,b. Các ảnh với độ phóng đại thấp và vừa của khối gan tụy ở tôm *P. vananmei* giai đoạn ấu niên bị bệnh NHP nặng. Sự sưng hồng cầu nghiêm trọng của khoang bên trong tuyến (mũi tên nhỏ) phản ứng lại triệu chứng hoại tử, tình trạng tế bào bị tiêu hủy và lột vỏ của các tế bào biểu mô tuyến gan tụy (mũi tên lớn) là những thay đổi mô bệnh học chính do bệnh NHP. Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 150X (a), và 300X(b) **(DV Lightner)**

Hình C.10.4.1.3c. Độ phóng đại thấp của tuyến gan tụy ở tôm P. vannamei giai đoạn ấu niên bị nhiễm bệnh NHP nặng, mãn tính. Biểu mô tuyến gan tụy bị teo rõ rệt, dẫn đến phù thủng nặng (dịch tràn hoặc "các khu vực có nước" bị sũng nước trong gan tụy). Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 100X **(DV Lightner)**

Hình C.10.4.1.3.d. Các tế bào biểu mô tuyến gan tụy không có các giọt lipid trong tế bào chất, nhưng thay vào đó là những vi khuẩn bệnh NHP rất nhỏ ở bên trong tế bào chất, không có màng bao bọc (mũi tên). Mayer-Bennett H&E. Độ phóng đại 1700 X **(DV Lightner)**

Hình C.10.4.2.1. Khối gan tụy của tôm P. vanamei giai đoạn ấu niên bị bệnh NHP xem ở độ phóng đại thấp của kính hiển vi điện tử. Trong tế bào chất có nhiều vi khuẩn bệnh NHP dạng hình que (mũi tên lớn) và hình xoắn (mũi tên nhỏ). Độ phóng đại 10000X **(DV Lightner)**

MỤC C.11 BỆNH DỊCH Ở TÔM SÔNG

Hình C.11.3.2.1a. Tiêu bản hiển vi tươi của một phần lớp vỏ giáp bị nhiễm bệnh cho thấy các bào tử của nấm **(EAFP/DJ Alderman)**

Hình C.11.4.1.1a,b. Các dấu hiệu bệnh lý của tôm bị bệnh cho thấy hệ cơ hoại tử trắng ở đuôi và đi kèm là các nhiễm mãn tính do lớp vỏ giáp hoá đen **(EAFP/DJ Alderman)**

$\frac{63-630}{NN-2005}-78/622-05$

Chịu trách nhiệm nội dung: NAFIQAVED
Chịu trách nhiệm xuất bản: NGUYỄN CAO DOANH
Phụ trách bản thảo: LẠI THỊ THANH TRÀ

In 2.015 bản khổ 15 x 25,5cm tại Công ty Cổ phần in 15. Giấy chấp nhận KHĐT số 78/622 XB-QLXB do CXB cấp ngày 29/4/2005. In xong và nộp lưu chiểu quý IV/2005.

Danh mục các hình minh họa

Hướng dẫn Chẩn đoán bệnh của động vật thủy sản ở châu Á hoặc “Hướng dẫn Chẩn đoán bệnh của châu Á” là một hướng dẫn chẩn đoán cập nhật về các mầm bệnh và bệnh đã được liệt kê trong Hệ thống báo cáo hàng quý vè bệnh động vật thủy sản của NACA/FAO/OIE. Tài liệu đã được xây dựng trên cơ sở có sự tham gia tích cực về mặt kỹ thuật của các nhà khoa học về bệnh động vật thủy sản ở khu vực châu Á-Thái Bình Dương đã hỗ trợ cho chương trình khu vực. Tài liệu Hướng dẫn chẩn đoán bệnh ở châu Á có thể được sử dụng có hiệu quả để chẩn đoán bệnh cho cả ở trang trại và ở phòng thí nghiệm, không chỉ bổ sung cho Sổ tay các Quy trình để thực hiện Các nguyên tắc chỉ đạo kỹ thuật ở khu vực châu Á về quản lý sức khoẻ để di chuyển có trách nhiệm các động vật thủy sản sống, mà còn tham gia vào việc mở rộng năng lực tiềm tàng để chẩn đoán sức khoẻ động vật thủy sản của quốc gia và khu vực, từ đó hỗ trợ các quốc gia nâng cao năng lực kỹ thuật nhằm đáp ứng các yêu cầu của Bộ quy tắc quốc tế về động vật thủy sản của OIE và Sổ tay chẩn đoán bệnh động vật thủy sản của OIE.

ISBN 92-5-104620-4 ISSN 0428-9345
9 789251 046203
TS/M/Y1679E/1/8.01/860

Thiết kế bởi www.multimediaasia.com
Tel: (662) 298-0646-49 Fax: (662) 298-0579