

ĐẶC ĐIỂM MÔ BỆNH HỌC CÁ THẮT LÁT CÒM *Chitala chitala* NHIỄM VI KHUẨN *Aeromonas hydrophila*

Đặng Thụy Mai Thy¹, Từ Thanh Dung và Phạm Thị Kim Phụng

¹ Bộ môn Bệnh học Thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Cần Thơ

Thông tin chung:

Ngày nhận: 10/6/2014

Ngày chấp nhận: 04/8/2014

Title:

Histopathological characterisations of Clown knifefish (*Chitala chitala*) infected with *Aeromonas hydrophila*

Từ khóa:

Cá thắt lát (*Chitala chitala*), *Aeromonas hydrophila*, mô bệnh học

Keywords:

Clown knifefish (*Chitala chitala*), *Aeromonas hydrophila*, histopathology

ABSTRACT

A study on histopathology in clown knifefish effected of *Aeromonas hydrophila*. A total of 22 fish samples was collected for bacterial identification and histological examination. Almost diseased fish, pure cultures of *Aeromonas hydrophila* were isolated from liver and kidney. The histopathology of gills, liver, kidney and spleen was displayed focal hyperaemic, haemorrhage and necrosis in tissues. The renal tubules were observed degeneration, and necrosis followed by tubular destruction. Haemorrhage sometimes occurred among damaged muscle fibers. Histological structure of gills was characterised by the oedematous secondary lamellae with a bacterial invasion into the primary lamellae and gill congestion. Giemsa staining method showed that markedly bacterial cells like as rod shape in these tissues.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được tiến hành nhằm tìm hiểu biến đổi mô bệnh học ở cá thắt lát còm (*Chitala chitala*) nhiễm vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*. Tổng số 22 mẫu cá bệnh được thu và phân tích vi khuẩn và mô học. Kết quả phân lập được vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* từ gan và thận. Mô bệnh học ở mang, gan, thận, tỷ tạng và cơ cho thấy có sự xung huyết, xuất huyết và hoại tử ở nhiều vùng mô. Mất cấu trúc và hoại tử ở các ống thận. Nhiều cụm vi khuẩn được tìm thấy trong mô mang, gan, thận và tỷ tạng. Mô da cơ bị xuất huyết và cấu trúc giữa các sợi cơ rời rạc. Mô mang có hiện tượng trương phồng dính lại của các sợi mang thứ cấp, vi khuẩn trong sợi mang sơ cấp và có hiện tượng xung huyết. Phương pháp nhuộm Giemsa cho thấy tế bào vi khuẩn rõ ràng trong các cấu trúc mô.

1 GIỚI THIỆU

Cá thắt lát còm (*Chitala chitala*) đã và đang trở thành đối tượng nuôi phổ biến ở Đồng bằng sông Cửu Long (ĐBSCL) trong những năm gần đây. Cá có chất lượng thịt thơm ngon, giá trị kinh tế cao và có triển vọng phát triển đa dạng sản phẩm trong xuất khẩu. Ngoài ra, cá thắt lát còm có kích thước lớn, tăng trưởng nhanh, có khả năng thích ứng rộng với điều kiện môi trường, nuôi mật độ cao và sử dụng được nhiều loại thức ăn. Vì là đối tượng nuôi

mới nên các công trình nghiên cứu tập trung chủ yếu vào nhu cầu dinh dưỡng ở các giai đoạn phát triển của cá và sản xuất giống nhân tạo nhằm tăng năng suất và hiệu quả kinh tế cho người nuôi. Nuôi cá thắt lát còm đem lại lợi nhuận kinh tế cao, đây là đối tượng nuôi hấp dẫn của nhiều hộ nông dân ĐBSCL (Trần Thị Thanh Hiền và Nguyễn Hương Thủy, 2008). Cho nên, hiện nay có nhiều nông hộ chuyển sang nuôi cá thắt lát với nhiều mô hình nuôi khác nhau như ao đất hay vèo lưới nên bệnh

đã xuất hiện gây khó khăn và thiệt hại lớn. Tuy nhiên, các công trình nghiên cứu về bệnh trên cá thát lát còn hạn chế. Vì vậy, nghiên cứu đặc điểm mô bệnh học trên cá thát lát còm (*Chitala chitala*) nhiễm vi khuẩn được thực hiện nhằm tìm hiểu ảnh hưởng của bệnh vi khuẩn đến cấu trúc mô ở một số cơ quan của cá góp phần cung cấp thông tin cho quá trình chẩn đoán và điều trị bệnh đạt hiệu quả cao.

2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương pháp thu mẫu và phân lập vi khuẩn ở cá

Tổng số 35 mẫu cá thát lát còm được thu ở Cần Thơ (n=30) ở giai đoạn cá ương và Đồng Tháp (n=5) ở giai đoạn cá thịt, trong đó 22 mẫu cá bệnh và 13 cá khỏe. Cá được tiến hành phân tích tại điểm thu mẫu hoặc vận chuyển về phòng thí nghiệm bằng thùng xốp và tiến hành phân tích tùy điều kiện thực tế.

Quan sát cá bằng mắt thường và ghi nhận tất cả các dấu hiệu bệnh lý bên ngoài và bên trong nội quan. Tiến hành phân tích mẫu vi sinh bằng cách khử trùng bên ngoài bằng cồn 70° sau đó dùng dao kéo đã tiệt trùng để giải phẫu cá. Dùng que cấy tiệt trùng lấy mẫu vi sinh ở gan và thận cấy trên môi trường Tryptic Soy Agar. Ủ đĩa phân lập trong tủ ấm 28°C trong 24-48 giờ. Ghi nhận màu sắc, hình dạng khuẩn lạc và tách rỗng để có được đĩa vi khuẩn thuần. Vi khuẩn được trữ trong môi trường

Brain Heart Infusion Broth và glycerol trong tủ - 80°C để tiến hành các nghiên cứu tiếp theo.

2.2 Phương pháp định danh vi khuẩn

Các đặc điểm về hình thái, sinh lý và sinh hoá của vi khuẩn được xác định bằng cách kiểm tra các chỉ tiêu cơ bản gồm Gram, hình dạng, tính di động, catalase, oxidase, O/F, và sử dụng bộ kit API 20E (BioMérieux, Pháp). Vi khuẩn được định danh theo phương pháp của Cowal and Steel's (Barrow and Feltham, 1999).

2.3 Phương pháp mô học

Mẫu mô ở các cơ quan như mang, gan, thận, tỷ tạng và cơ được thu và cố định trong dung dịch 10% neutral buffer formalin (NBF). Mẫu được xử lý qua các giai đoạn: loại nước, làm trong mẫu và tẩm paraffin. Sau đó mẫu được đúc khối, cắt với độ dày từ 4-6 µm và nhuộm Haematoxylin và Eosin, Giemsa. Tiêu bản được quan sát dưới kính hiển vi lần lượt ở độ phóng đại 100x, 200x và 400x và chụp hình tiêu bản đặc trưng.

3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Dấu hiệu bệnh lý

Cá bệnh được thu có các dấu hiệu bên ngoài như lơ đờ, nổi đầu, hoạt động chậm chạp, kém linh hoạt, màu sắc cơ thể nhợt nhạt, xuất huyết ở vây. Quan sát bên trong nội quan cho thấy tỷ tạng và thận mềm và xuất huyết, gan sẫm màu (Hình 1).



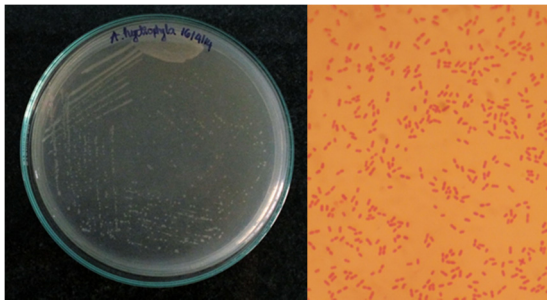
Hình 1: Dấu hiệu bên ngoài của cá bệnh

Dấu hiệu bệnh lý ở cá bệnh xuất huyết như xuất huyết ở vây hậu môn và cơ quan nội tạng gan, thận, tỷ tạng đỏ bầm, nhũn, có dịch trong xoang bụng lồi và xuất huyết vùng mắt và miệng của cá chép, cá rô phi, cá da trơn, cá chình, cá vàng và cá *Sparus aurata*, cá tra, cá rô và lươn (Austin and Austin, 1987; Noga, 2010; Rahman *et al.*, 2001; Sarkar and Rashid, 2012; Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Đức Hiền, 2012; Đặng Thụy Mai Thy và *ctv.*, 2012).

3.2 Phân lập vi khuẩn

Các mẫu cá bệnh tiến hành phân tích vi sinh ở gan và thận kết quả phân lập được 12 chủng vi khuẩn. Vi khuẩn phát triển môi trường TSA sau 24 giờ ở 28°C vi cho dạng khuẩn lạc có kích thước lớn, hình tròn và màu kem hoặc trắng đục. Quan sát và phân tích các đặc điểm hình thái các chủng vi khuẩn có hình que ngắn và Gram âm. Kiểm tra đặc điểm sinh lý và sinh hóa cho thấy vi khuẩn có khả năng di động, phản ứng dương tính với oxidase

và catalase. Các chủng cho phản ứng dương tính với arginine, lysine, VP và phản ứng âm tính với ornithine. Vi khuẩn có khả năng sinh axit từ mannitol, sucrose, glucose và không sử dụng các đường rhamnose, sorbitol, abrabiose, inositol, melibiose, amygdalin. Đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa của các chủng phân lập được có 3 chủng hoàn toàn giống với vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* (Buller, 2004) ngoại trừ không sinh axit từ abrabiose.



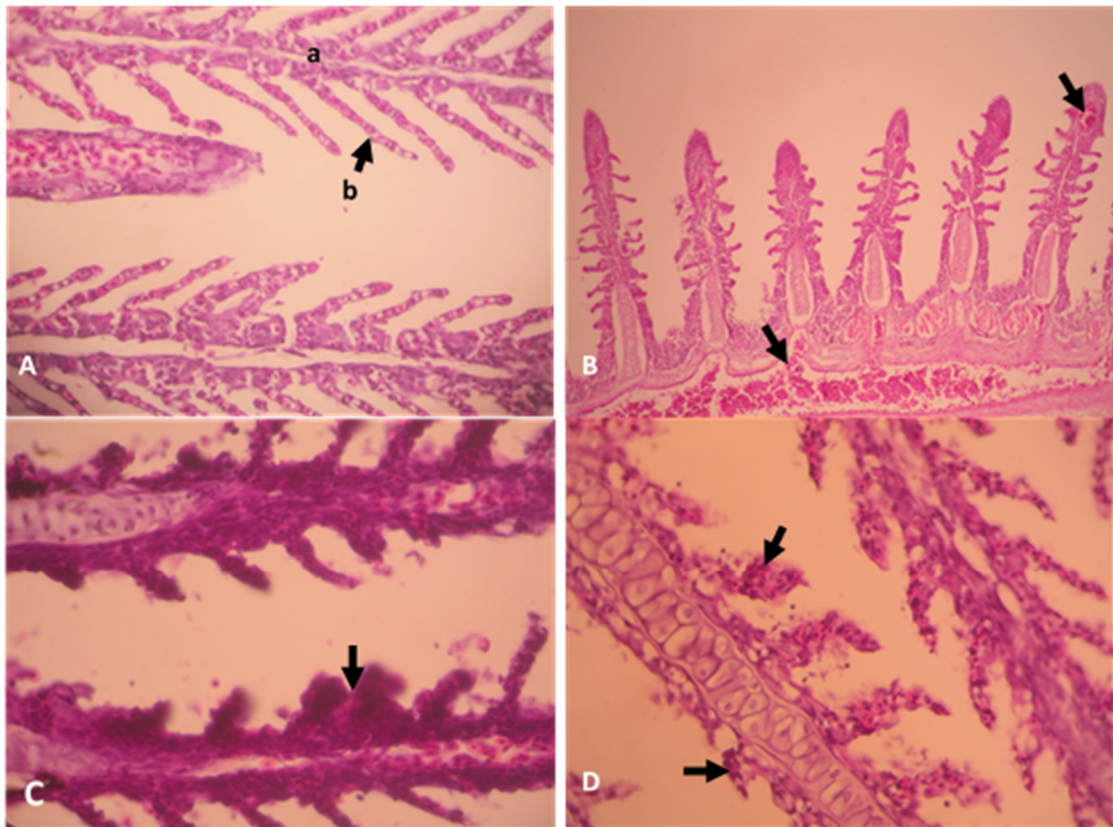
Hình 2: Vi khuẩn *Aeromonas hydrophila*

Vi khuẩn *A. hydrophila* hình que, garm âm, di động và số lượng lớn các chủng có thể tồn tại và có khả năng gây bệnh khác nhau (Camus *et al.*, 1998). Kết quả xác định các chỉ tiêu hình thái, sinh lý và sinh hóa của vi khuẩn giống nghiên cứu của Trần Thị Mỹ Hân và Từ Thanh Dung, 2013).

3.3 Biến đổi cấu trúc mô học ở các cơ quan

3.2.1 Mang

Mang là cơ quan hô hấp chủ yếu của cá. Quan sát mặt cắt ngang mô mang có sợi mang sơ cấp được bao phủ bởi các tế bào biểu mô vảy, bên trong có chứa nhiều tế bào tiết chất nhầy và được nâng đỡ bởi các tế bào ngoài gồm lớp ngoài và lớp biểu mô vảy đơn, bên trong có các tế bào trụ liên kết với nhau tạo thành các mao mạch liên hệ với động mạch ra vào mang (Herrera, 1996). Mang cá thối nát có 4 đôi cung mang, mỗi cung mang gồm có các sợi mang sơ cấp được tạo thành từ các sợi mang thứ cấp xếp thành hai hàng dọc xương cung mang.

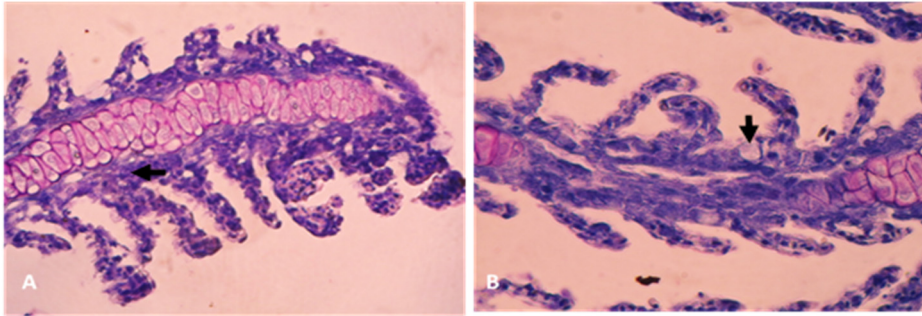


Hình 3: Mô mang cá thối nát nhiễm vi khuẩn *A. hydrophila* (H&E)

A. Mô mang khỏe. a. Sợi mang thứ cấp; b. Sợi mang sơ cấp (100x); B. Động mạch ra vào mang bị xung huyết (100x). C. Sợi mang thứ cấp bị sung phồng và dính lại (200x). D. Sợi mang thứ cấp bị xung huyết và mất đoạn (mũi tên, 400x)

Quan sát mô mang cá bệnh vi khuẩn *A. hydrophila* có sự xung huyết ở động mạch mang và sợi mang sơ cấp và thứ cấp; có hiện tượng phình to sợi mang sơ cấp, thứ cấp và sự tăng lên của các tế bào biểu mô, các sợi mang thứ cấp dính lại. Một số mấu mang bị gãy đứt hay mất đoạn (Hình 3). Mô mang nhuộm Giemsa, có sự hiện diện của nhiều cụm vi khuẩn hình que trong sợi mang sơ cấp (Hình 4).

Hiện tượng dính lại và phồng lên của mang là do khi mầm bệnh tấn công tạo nên phản ứng miễn dịch làm cho các tế bào mang sưng lên và khi các tế bào mang sưng to sẽ dẫn đến sự tiếp xúc giữa các sợi mang này. Từ đó làm giảm chức năng hô hấp và khi bệnh xảy ra, cấu trúc mang bị hủy hoại nghiêm trọng hơn (Robert, 1989). Tế bào biểu mô bị sưng phồng và có sự thay đổi hình thái mô học của mang cho thấy mang đang bị tổn thương (Ferguson, 2006).



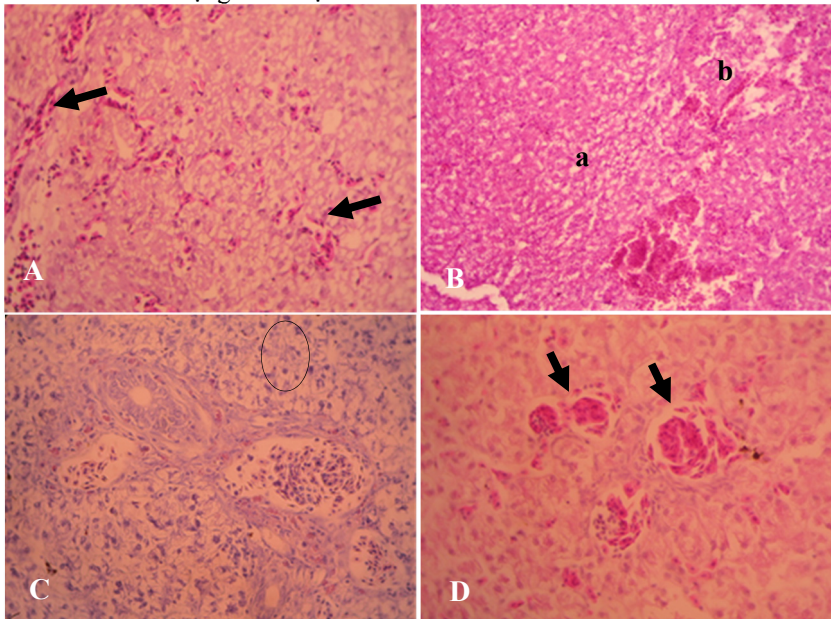
Hình 4: Mô mang cá thối nát nhiễm vi khuẩn *A. hydrophila* (Giemsa)

A và B. Cụm vi khuẩn hình que ở mô mang (200x)

3.2.2 Gan

Gan bao gồm các tĩnh mạch, động mạch, ống dẫn mật, các trung tâm đại thực bào sắc tố, các đảo tụy. Đảo tụy có chức năng ngoại tiết dịch tụy để tiêu hóa thức ăn và chức năng nội tiết (Herrera, 1996). Gan cá thối nát có hình dạng như một khối

lớn có thùy và thường nằm về một bên trong xoang bụng. Ở giữa gan có tĩnh mạch trung tâm, tuyến tụy nằm rải rác trên mô gan cá rô. Các tế bào gan có hình đa giác và sắp xếp lan tỏa theo tĩnh mạch trung tâm.



Hình 5: Mô gan cá thối nát nhiễm vi khuẩn *A. hydrophila*

A. Mô gan cá bị xuất huyết (H&E, 200x); B. a. Vùng tế bào gan bị biến đổi cấu trúc, b. Vùng tế bào gan bị hoại tử (H&E, 100x); C. Cụm vi khuẩn trong tế bào gan (Giemsa, 200x); D. Gan bị xung huyết (mũi tên) (H&E, 400x)

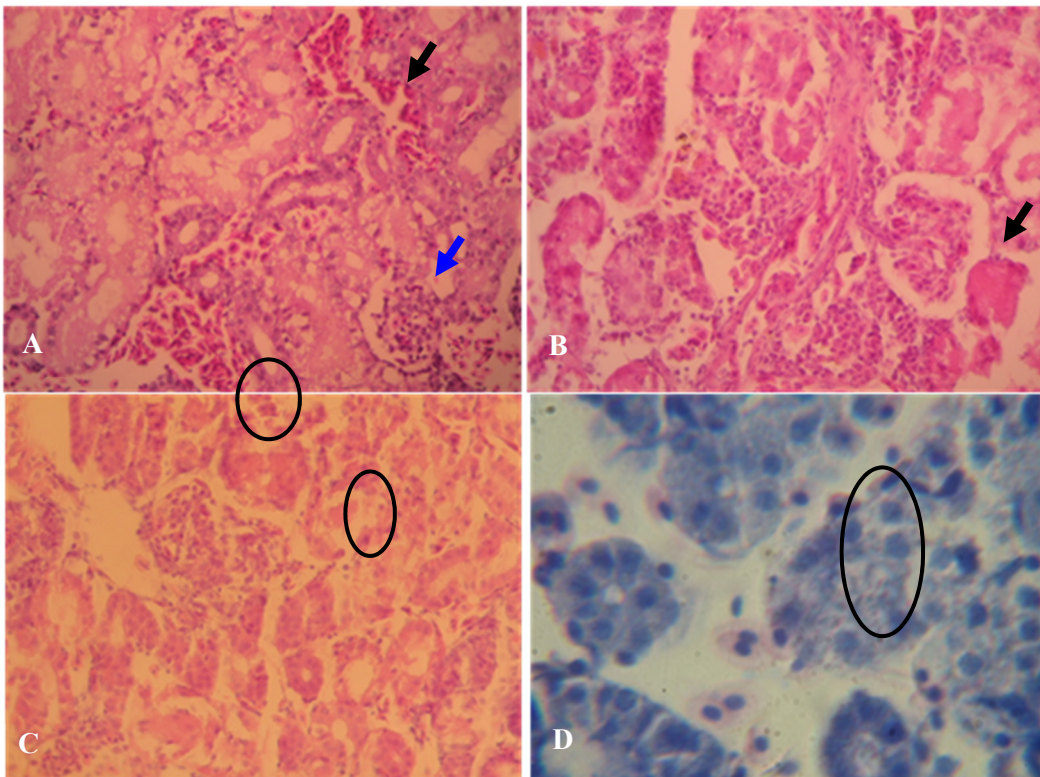
Quan sát mô gan cá bệnh có hiện tượng xung huyết và xuất huyết. Nhiều vùng cấu trúc mô gan có sự biến đổi cấu trúc tế bào gan, màng tế bào bị vỡ và hoại tử. Vi khuẩn hình que xuất hiện rời rạc hay thành cụm trong mô gan khi nhuộm bằng H&E và Giemsa. Ngoài ra, phát hiện được vi khuẩn ở vùng cơ trơn của ống dẫn tụy (Hình 5).

Hiện tượng mất liên kết giữa các tế bào, chủ yếu là do sự xung huyết trong hệ thống mao mạch nằm giữa các tế bào gan kéo dài dẫn đến làm vỡ mạch máu và giải thoát nhiều enzyme tiêu hóa từ các tế bào bạch cầu làm cho tế bào ở vùng dịch viêm bị hủy hoại dẫn đến hoại tử. Những tổn thương trên gan làm cho gan không còn chức năng khử độc, lọc máu, chuyển hóa protein, lipid, glucid, tiết mật làm cho chất độc không được loại bỏ sẽ

tích tụ trong cơ thể kết hợp với những yếu tố khác làm cá chết (Ferguson, 1989).

3.2.3 Thận

Thận sau cá thối lạt là một dãy dài nằm dọc sống lưng trong xoang cơ thể. Cấu trúc mô thận gồm đoạn cổ, ống lượn gần, ống lượn xa và tiểu cầu thận giúp thận thực hiện chức năng chủ yếu là điều hòa muối và nước trong cơ thể (Chinabutt, 1991). Ngoài ra, giữa các ống có nhiều mao mạch xen kẽ nhưng có rất ít mô liên kết và mô tạo máu. Quan sát biến đổi cấu trúc thận cá bệnh cũng có xung huyết và xuất huyết ở các động mạch và mao mạch. Phát hiện nhiều cụm vi khuẩn hình que trong các ống thận cho nên các ống thận ở các mẫu quan sát đều bị phá vỡ và hoại tử. Tương tự, tiểu cầu thận cũng bị vi khuẩn tấn công phá vỡ màng ngoài của nang Bowman (Hình 6).



Hình 6: Mô thận cá thối lạt cảm nhiễm vi khuẩn *A. hydrophila*

A. Thận cá bị xung huyết (mũi tên đen), xuất huyết (mũi tên xanh) (H&E, 200x); B. Cụm vi khuẩn phá hủy màng ngoài của nang Bowman ở tiểu cầu thận (H&E, 400x); C. Cụm vi khuẩn phá hủy các ống thận (H&E, 200x); D. Cụm vi khuẩn phá hủy tế bào trong ống thận (Giemsa, 1000x)

3.2.4 Tỳ tạng

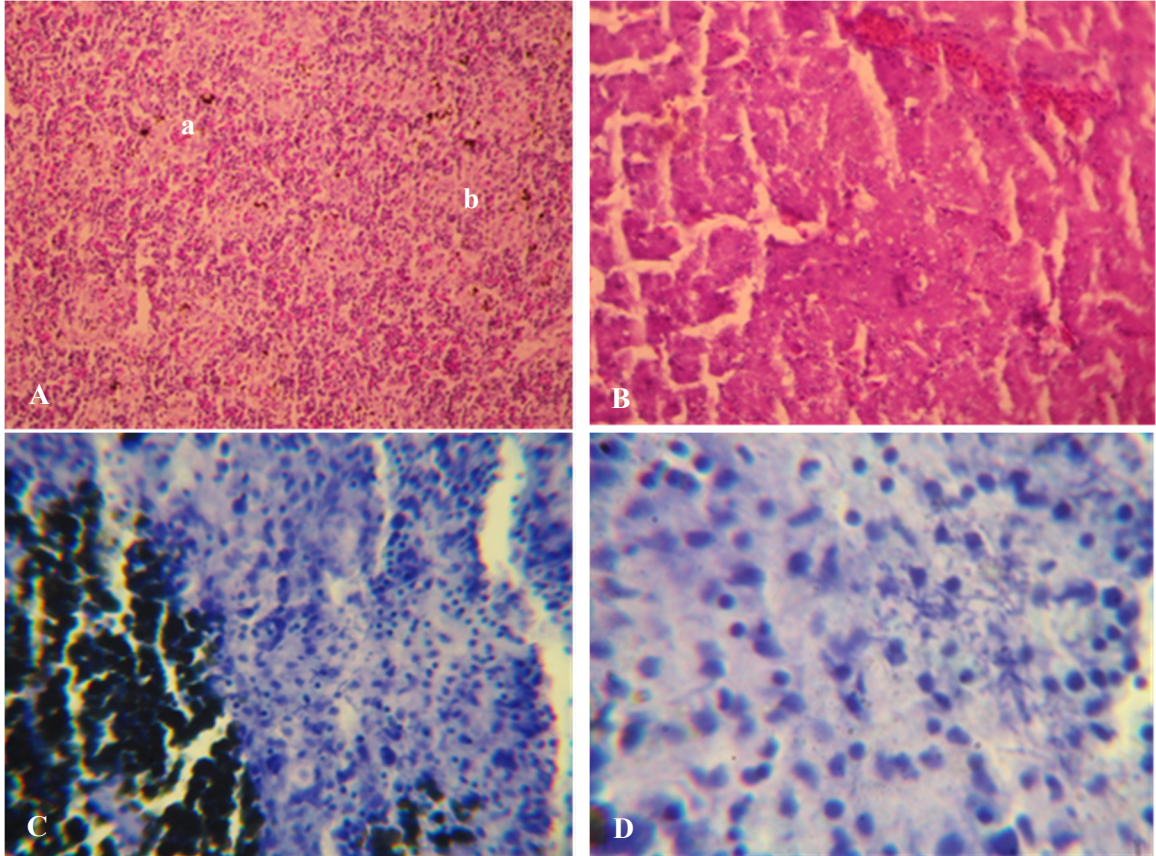
Tương tự các loài cá nước ngọt khác, tỳ tạng cá thối lạt cảm có vùng tỳ trắng và tỳ đỏ là nơi chứa rất nhiều tế bào máu và tế bào lympho xen lẫn

nhau. Tỳ trắng bắt màu đậm hơn tỳ đỏ khi nhuộm Hematoxylin và Eosin (H&E). Ngoài ra trên tỳ tạng còn có các hạt sắc tố vàng nâu khi nhuộm bằng HE và sự hiện diện rời rạc của trung tâm đại thực bào sắc tố (Chinabutt, 1991).

Kết quả phân tích mô học ở cá bệnh cho thấy cũng có sự xung huyết và xuất huyết trong mô. Tương tự ở gan và thận, vi khuẩn hình que cũng được tìm thấy trong mô tỳ tạng cá bệnh, vi khuẩn phát hiện rõ hơn trong mô nhuộm Giemsa. Tuy nhiên, chỉ phát hiện được sự biến đổi cấu trúc tế bào tỳ tạng cá bệnh như vỡ màng ngoài không thấy

hiện tượng hoại tử (Hình 7).

Theo Chinabutt (1991) hiện tượng xuất huyết được giải thích là do độc tố của vi khuẩn làm cho các mao mạch ở những vùng sung huyết bị vỡ hoặc tính thấm thấu của mao mạch tăng lên, làm cho tế bào máu thoát ra.



Hình 7: Mô tỳ tạng cá thối lát còm nhiễm vi khuẩn *A. hydrophila*

A. a. Vùng tủy đỏ, b. Vùng tủy trắng (H&E, 100x); B. Xung huyết ở mô tỳ tạng (mũi tên), cụm vi khuẩn nằm xen giữa tế bào (H&E, 200x); C và D. Vi khuẩn hình que trong mô tỳ tạng (Giemsa, 200x và 400x).

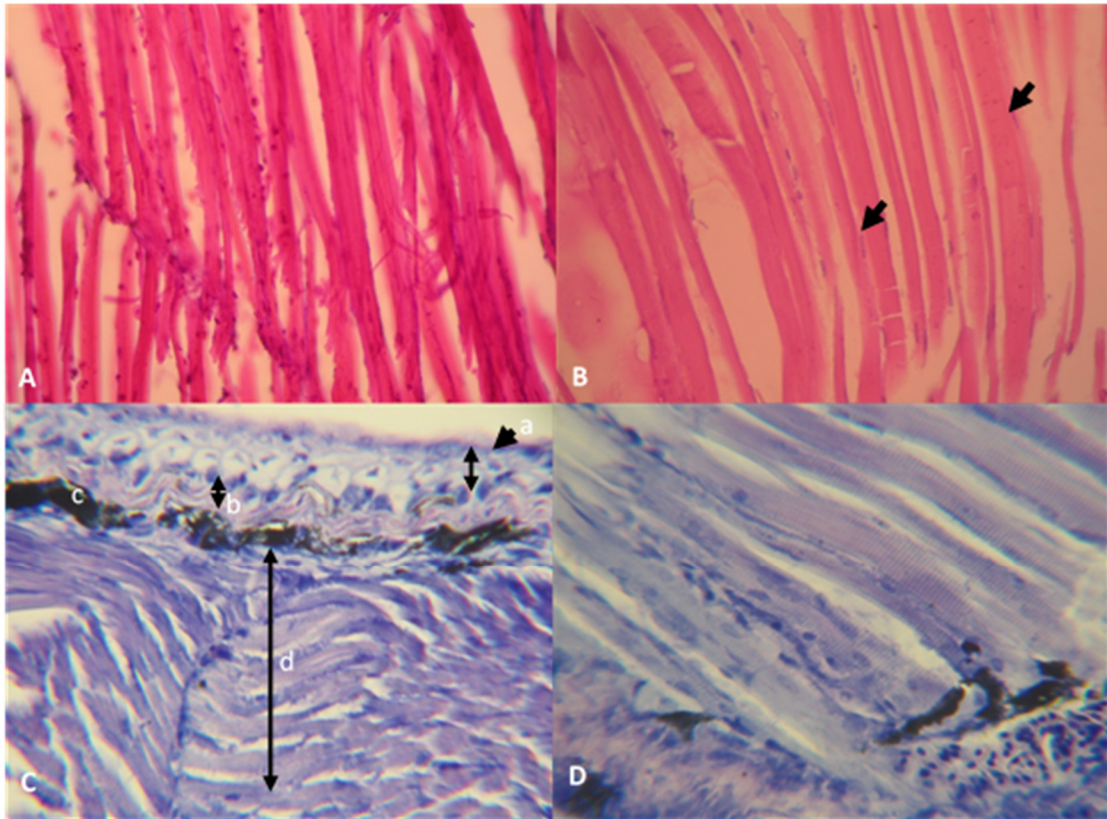
3.2.5 Cơ

Da cá có chức năng là bảo vệ cơ thể không bị tổn thương và là vách ngăn thấm thấu cũng như là rào cản chống lại tổn thương và ngăn chặn các tác nhân gây bệnh (Ferguson, 1989). Độ dày của da thay đổi tùy thuộc vào cơ thể cá, nhưng lớp da dày nhất là ở phần đầu nơi không có hoặc có rất ít vây bảo vệ. Da bao gồm một lớp biểu bì bên ngoài và một lớp hạ bì bên trong (Morrison *et al.*, 2006).

Cấu trúc da cơ cá thối lát còm cũng gồm lớp biểu bì bên ngoài kể đến là lớp hạ bì, mô liên kết và các tế bào hắc tố cũng được tìm thấy. Lớp cơ vẫn được cấu tạo từ những tế bào hình thoi thon dài, có nhiều

nhân. Những sợi cơ kết lại thành bó và giữa các bó cơ có mô liên kết giúp cho khối cơ rắn chắc. Ở cá bệnh, mô da cơ không có biến đổi không nhiều. Xuất huyết ở giữa các bó cơ đồng thời liên kết giữa các bó cơ trở nên rời rạc (Hình 8). Kết quả nhuộm Giemsa cũng không phát hiện vi khuẩn ở mô da cơ.

Nhìn chung, khi quan sát các mẫu cá bệnh xuất huyết cho thấy cấu trúc mô các cơ quan mang, gan, thận và tỳ tạng chủ yếu bị xung huyết, xuất huyết và hoại tử. Theo Hybiya (1982), hoại tử trải qua quá trình thoái hóa tế bào, sự thực bào của đại thực bào hoặc tế bào lưới nội mô. Sự hoại tử là quá trình thoái hóa tế bào thường xuyên xảy ra.



Hình 8: Mô da cơ cá thát lát cảm nhiễm vi khuẩn *A. hydrophila*

A. Xuất huyết ở các bó cơ (H&E, 100x); B. Cấu trúc bó cơ rời rạc, nhân của tế bào cơ vân (mũi tên) (H&E, 200x); C. a. tế bào biểu mô, b. màng mô liên kết, c. lớp tế bào hắc tố, d. cơ vân (Giemsa, 200x); D. Cơ vân (Giemsa, 400x)

Khi gan, thận, tỳ tạng hoại tử gần như hoàn toàn làm cho cá không còn thực hiện được quá trình trao đổi chất của cơ thể cùng với ảnh hưởng của độc tố vi khuẩn làm cho cá chết. Song song đó, vi khuẩn hình que được tìm thấy trong các mô làm phá vỡ tế bào gan, ống tụy, ống thận, tế bào máu ở tỳ tạng làm cho các cơ quan này mất chức năng. Kết quả này cũng hoàn toàn phù hợp với kết quả phân lập vi khuẩn ở gan, thận và tỳ tạng trên môi trường TSA cho vi khuẩn hình que, gram âm và định danh là vi khuẩn *A. hydrophila*. Nghiên cứu của Trần Ngọc Hân và Từ Thanh Dung (2013) đã xác định tác nhân gây bệnh trên cá thát lát cảm là vi khuẩn *A. hydrophila*. Năm 1979, Huizinga *et al.* nghiên cứu mô bệnh học cá *Micropterus salmoides* phát hiện vi khuẩn này nhiễm ở cả cá ở ngoài tự nhiên và cá thí nghiệm. Các thay đổi ở tỳ tạng và tim không gây nguy hiểm nhưng các tổn thương lớn ở gan và thận. Tương tự, mô bệnh học cá chép ở Nhật nhiễm *A. hydrophila* có hiện tượng phù ở khoang chứa vây và có sự hình thành các

khối u ở da. Các tổn thương ở da có sự phân chia lớp biểu bì, phù lớp hạ bì kết hợp với xuất huyết và hoại tử. Cấu trúc mô cơ bị trương phồng đồng thời các sợi cơ bị teo rõ ràng. Tế bào gan cũng bị sung huyết và xuất hiện các hạt. Ống thận thoái hóa thành các không bào, hoại tử và tiêu hủy. Các thay đổi này xảy ra do độc tố của vi khuẩn vì các tế bào vi khuẩn không trực tiếp ảnh hưởng đến mô (Miyazaki *et al.*, 2001). Khi vi khuẩn xâm nhập, tiết ra nhiều độc tố làm cho các tế bào trong vùng tụy trắng dần dần bị thoái hóa, mất đi chức năng, dẫn đến hiện tượng hoại tử. Khi hoại tử xảy ra, chức năng sản sinh hồng cầu, bạch cầu, khả năng tạo kháng thể và thực bào của đại thực bào ở tỳ tạng không còn, cùng với tác động khác làm cho cá chết (Robert, 1989). Bên cạnh đó, các biến đổi mô học ở thận cá thát lát cảm nhiều hơn so với các cơ quan khác. Theo Hibiya (1982) khi hiện tượng viêm xảy ra ở quần cầu thận có sự giãn nở mạch máu, làm thay đổi cấu trúc màng cơ bản của các tế bào biểu mô và nội mô, từ đó làm phá vỡ liên kết

giữa các tế bào. Tại các mạch máu bị viêm xảy ra hiện tượng tăng sinh của tế bào biểu mô và nội mô làm cho quần cầu thận phình to và kéo dài, khoảng không gian giữa quần cầu thận và nang Bowman thu hẹp lại hoặc biến mất. Tuy nhiên, kết quả quan sát mô da cơ cá thát lát cộm chỉ thấy biểu hiện của sự xuất huyết và tế bào cơ rời rạc. Ở cá vàng nhiễm vi khuẩn *A. hydrophila* sau khi cảm nhiễm 24 ngày có hiện tượng tổn thương ở lớp da và hoại tử lớp dưới da. Đến ngày 30 sau khi tiêm, các sợi cơ vỡ ra thành mảnh và hình thành viên dạng hạt ở lớp biểu bì (Harikrishnan *et al.*, 2009).

4 KẾT LUẬN

Cá thát lát bệnh có dấu hiệu xuất huyết ở vây, gan, thận và tỷ tạng phân lập được vi khuẩn *A. hydrophila*. Cấu trúc mô mang, gan, thận và tỷ tạng có biến đổi chủ yếu gồm xung huyết, xuất huyết và hoại tử. Cấu trúc mô da cơ thì không có sự thay đổi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Austin, B., and D.A. Austin. 1987. Bacterial fish pathogens disease in framed and wild fish. Ellis Horwood. Chichester. United Kingdom.
2. Buller, N. B., 2004. Bacteria from fish and other aquatic animal: A practical identification manual. CABI publishing. 353 pp.
3. Chinabut S, P Kitsawat and C Limsuwan, 1991. Histology of the walking catfish, *Clarias batrachus*. International development research centre, Canada. 96 pages
4. Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Đức Hiền, 2012. Đặc điểm mô bệnh học cá rô (*Anabas testudineus*) nhiễm vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* và *Streptococcus* sp. trong điều kiện thực nghiệm. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ, trang 183-193.
5. Đặng Thụy Mai Thy, Trần Thị Thủy Cúc, Nguyễn Châu Phương Lam, Nguyễn Đức Hiền và Đặng Thị Hoàng Oanh, 2012. Đặc điểm mô bệnh học cá rô (*Anabas testudineus*) nhiễm vi khuẩn *Aeromonas hydrophila* và *Streptococcus* sp. trong điều kiện thực nghiệm. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần thơ. 22c:183-193.
6. Ferguson, H.W. 1989. Systemic pathology of fish. Iowa State University Press, USA. 247pp.
7. Groman, D.B. 1982. Histology of the striped bass. American Fisheries Society.
8. Harikrishnan, R., C. Balasundaram, M. Kim, J. Kim and M. Heo M., 2009. Effective administration route of azadirachtin and its impact on haematological and biochemical parameters in goldfish (*Carassius auratus*) infected with *Aeromonas hydrophila*. Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy 53: 613-619
9. Hibiya, T., 1982. An atlas of Fish Histology – Normal and Pathological Features. College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon Univ. Tokyo, Japan, 147pp.
10. Huizinga, H.W., G.W. Esch and T.C. Hazen, 1979. Histopathology of red-sore disease (*Aeromonas hydrophila*) in naturally and experimentally infected largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede). Journal of Fish Diseases 2(4):263-277.
11. Inglis, Valerie., Ronald J. Roberts and Niall R. Bromage. 1993. Bacteria diseases of fish. Institute of Aquaculture, University of Stirling, p61-75. 312pp.
12. Miyazaki, T., T. Kageyama, M. Miura and T. Yoshida, 2001. Histopathology of viremia-associated ana-aki-byo in combination with *Aeromonas hydrophila* in color carp *Cyprinus carpio* in Japan. Diseases Aquatic Organism 44(2): 109-120.
13. Nguyễn Quốc Thịnh, Từ Thanh Dung và Ferguson H.W, 2004. Nghiên cứu mô bệnh học cá tra (*Pangasius hypophthalmus*) bị bệnh trắng gan, Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. Trang 120-125.
14. Rahman, M.H. and K. Kawai. 1999. Biological characteristics of starved *Aeromonas hydrophila* which contribute to virulence in crucian carp, *Carassius cuvieri*. Mic. Research (154): 145-149.
15. Robert R.J., Chinabut, S. 1999. Pathology and Histopathology of Epizootic Ulcerative Syndrom (EUS). Aquatic Animal Health Research Intitute Department of Fisheries Bangkok, Thailand. 33p.
16. Sarkar, M.J.A. and M.M. Rashid. Pathogenicity of the bacterial isolate *Aeromonas hydrophila* to catfishes, carps and perch. J. Bangladesh Agril. Univ. 10(1): 157-161.