

ĐÁNH GIÁ VÀ SO SÁNH ĐỘC LỰC CỦA VI KHUẨN *Streptococcus agalactiae* PHÂN LẬP TỪ CÁ ĐIỀU HỒNG (*Oreochromis* sp.)

Nguyễn Thị Thanh Thủy, Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Nguyễn Ngọc Phước*

Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

*Tác giả liên hệ: nguyennngocphuoc@huaf.edu.vn

Nhận bài: 21/11/2025 Hoàn thành phản biện: 23/12/2025 Chấp nhận bài: 04/01/2026

TÓM TẮT

Nghiên cứu nhằm phân lập, định danh và đánh giá độc lực của vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* trên cá diêu hồng (*Oreochromis* sp.) nuôi tại một số tỉnh, thành của Việt Nam (Hải Phòng, Huế và An Giang). Kết quả phân lập được 21 chủng vi khuẩn từ mẫu cá diêu hồng có biểu hiện bệnh lý đặc trưng khi nhiễm *S. agalactiae*. Qua kết quả định danh, thông qua phản ứng Lancefield, nhuộm Gram, phân tích một số đặc điểm hình thái, sinh hóa của các chủng vi khuẩn bằng bộ kit API 20 Strep, đã xác định 21 chủng đều là vi khuẩn *S. agalactiae*. Thí nghiệm cảm nhiễm được tiến hành trên cá diêu hồng với 6 chủng vi khuẩn HD1, HD2, H3, H4, AG5, và AG6 với liều nồng độ từ 10^3 đến 10^8 CFU/mL. Kết quả xác định liều gây chết 50% (LD₅₀) cho thấy giá trị này khác nhau giữa các chủng vi khuẩn, trong đó thấp nhất chủng AG6 ($0,6 \times 10^4$ CFU/mL), tăng dần ở các chủng AG5 ($1,3 \times 10^4$ CFU/mL), H4 và HD2 ($3,2 \times 10^4$ CFU/mL), H3 (4×10^4 CFU/mL), cao nhất chủng HD1 ($7,9 \times 10^4$ CFU/mL). Kết quả góp phần cung cấp thông tin và cơ sở khoa học cho việc đánh giá mức độ nguy hiểm của các chủng vi khuẩn *S. agalactiae*, từ đó hỗ trợ xây dựng các biện pháp phòng và trị bệnh hiệu quả, phát triển bền vững nghề nuôi cá diêu hồng.

Từ khóa: Cá diêu hồng, Định danh, Độc lực, Phân lập, *Streptococcus* spp., Vi khuẩn

EVALUATION AND COMPARISON OF THE VIRULENCE OF *Streptococcus agalactiae* ISOLATED FROM RED TILAPIA (*Oreochromis* sp.)

Nguyen Thi Thanh Thuy, Nguyen Duc Quynh Anh, Nguyen Ngoc Phuoc*

University of Agriculture and Forestry, Hue University

*Corresponding author: nguyennngocphuoc@huaf.edu.vn

Received: 21/11/2025 Revised: 23/12/2025 Accepted: 04/01/2026

ABSTRACT

This study investigated the isolation, identification, and virulence characterization of *Streptococcus agalactiae* isolated from red tilapia (*Oreochromis* sp.) in Hai Phong, Hue City and An Giang province, Vietnam. A total of 21 bacterial isolates were obtained from diseased red tilapia exhibiting typical pathological signs of *S. agalactiae* infection. Based on the Lancefield grouping test, Gram staining, and analysis of morphological and biochemical characteristics using the API 20 Strep kit, all 21 isolates were identified as *S. agalactiae*. Challenge experiments on red tilapia were conducted using six strains: HD1, HD2, H3, H4, AG5, and AG6 with the challenge doses ranging from 10^3 to 10^8 CFU/mL. The results of the 50% lethal dose (LD₅₀) determination indicated variation among the bacterial strains, with the lowest result observed in AG6 (0.6×10^4 CFU/mL), followed by AG5 (1.3×10^4 CFU/mL), H4 and HD2 (3.2×10^4 CFU/mL), H3 (4×10^4 CFU/mL), and the highest value in HD1 (7.9×10^4 CFU/mL). These results contribute valuable information and a scientific basis for assessing the pathogenicity of *S. agalactiae* strains, thereby supporting the development of effective disease prevention and treatment measures and the sustainable development of red tilapia aquaculture.

Keywords: Bacteria, Identification, Isolation, *Streptococcus* spp., Tilapia, Virulence

1. MỞ ĐẦU

Cá rô phi đỏ hay còn gọi là cá diêu hồng (*Oreochromis sp.*) là một trong những đối tượng nuôi thủy sản quan trọng tại Việt Nam, có tốc độ sinh trưởng nhanh, khả năng thích nghi rộng và giá trị thương mại cao, do đó được nuôi phổ biến ở nhiều địa phương, đặc biệt tại Đồng bằng sông Cửu Long. Sản lượng cá rô phi của Việt Nam thuộc nhóm lớn trong khu vực, đóng góp đáng kể vào thu nhập nông nghiệp và xuất khẩu thủy sản (FAO, 2022; Netherlands Embassy & Netherlands Enterprise Agency, 2025). Tuy nhiên, nghề nuôi cá rô phi nói chung và cá diêu hồng nói riêng đồng thời phải đối mặt với nhiều dịch bệnh mới nổi và bệnh truyền nhiễm cũ tái bùng phát, trong đó bệnh Streptococcosis đặc biệt do tác nhân *S. agalactiae* gây ra, đang là mối đe dọa lớn đối với sản xuất toàn cầu và tại Việt Nam (Truong Thị Mỹ Hạnh và cs., 2022; Van der Heijden và cs., 2023; Abdallah và cs., 2024).

Streptococcus agalactiae gây bệnh cấp tính hoặc mạn tính ở cá rô phi với các biểu hiện lâm sàng điển hình như mắt lồi/đục, bơi mất phương hướng, xuất huyết, viêm màng não; bệnh có thể dẫn tới tỷ lệ chết cao trong thời gian ngắn, gây tổn thất kinh tế nghiêm trọng (Cui và cs., 2022; Phuoc và cs., 2021; Nguyễn Ngọc Phước và cs., 2019). Các nghiên cứu dịch tễ học gần đây cũng ghi nhận sự lan rộng các chủng *S. agalactiae* có tính độc lực cao ở khu vực Đông Nam Á, bao gồm các chủng được phân lập tại Việt Nam và Thái Lan (Duodu và cs., 2024; Sirimanapong và cs., 2023). Các nghiên cứu về bệnh Streptococcosis trên cá rô phi và cá diêu hồng do vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* gây ra trong thời gian qua chủ yếu tập trung vào đặc điểm phân lập và khảo sát tính nhạy cảm với kháng sinh (Đặng Thị Hoàng Oanh và cs., 2012; Truong Thị Mỹ Hạnh và cs., 2024), số lượng nghiên cứu về độc lực và sự khác biệt về mức độ gây bệnh giữa các chủng *S. agalactiae* còn hạn chế, nhiều nghiên cứu

chỉ tiến hành thí nghiệm cảm nhiễm với một hoặc hai chủng vi khuẩn đại diện, chưa phân ánh đầy đủ sự đa dạng di truyền và độc lực của các chủng lưu hành ở các vùng nuôi khác nhau. Bên cạnh đó, phương pháp xác định độc lực và liều gây chết (LD_{50}) chưa được chuẩn hóa đồng bộ giữa các nghiên cứu, gây khó khăn cho việc so sánh và đánh giá mức độ nguy hiểm thực sự của từng chủng vi khuẩn (Phạm Hồng Nhật và cs., 2022; Phạm Hồng Nhật và cs., 2023)

Vi vậy, nghiên cứu này tiến hành phân lập *S. agalactiae* từ cá diêu hồng bệnh lồi mắt xuất huyết tại các vùng nuôi khác nhau tại Việt Nam là Hải Phòng (miền Bắc), Huế (miền Trung) và An Giang (Đồng bằng sông Cửu Long) nhằm đánh giá độc lực của các chủng *S. agalactiae* phân lập từ các vùng nuôi khác nhau trong điều kiện nuôi thực tế. Kết quả nghiên cứu bổ sung cơ sở dữ liệu khoa học phục vụ cho việc xây dựng các biện pháp phòng và trị bệnh hiệu quả, lựa chọn chủng vi khuẩn đại diện cho nghiên cứu vaccine, góp phần giảm thiểu rủi ro dịch bệnh và phát triển bền vững nghề nuôi cá diêu hồng ở Việt Nam

2. NỘI DUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Các chủng *S. agalactiae* được phân lập từ cá diêu hồng (*Oreochromis sp.*) bệnh tại tỉnh An Giang, thành phố Hải Phòng và thành phố Huế. Thời gian thu mẫu từ tháng 06/2024 đến tháng 09/2025.

- Cá thí nghiệm: Cá diêu hồng (*Oreochromis sp.*) khỏe mạnh, khối lượng trung bình 8–10 g/con, được cung cấp bởi Trung tâm giống Thủy sản thành phố Huế. Cá được vận chuyển về phòng thí nghiệm trong điều kiện sục khí đầy đủ và được nuôi trong bể composite dung tích 1.000 L tại Phòng thí nghiệm Bệnh thủy sản, Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm – Đại học Huế trong vòng 14 ngày nhằm đảm bảo thích nghi trước khi tiến hành thí nghiệm. Trong giai đoạn này, cá

được cho ăn thức ăn công nghiệp (Cargill 7414, Việt Nam) ở mức 3% trọng lượng thân vào lúc 8 giờ sáng và 2 giờ chiều, DO ≥ 5 mg/L, nhiệt độ 26-30°C, pH = 7-8. Cá khỏe mạnh và không bị nhiễm *S. agalactiae* được xác định bằng cách lấy mẫu não từ 5 cá chọn ngẫu nhiên, sau đó cấy lên môi trường Tryptone Soya Agar (TSA, Himedia, Ấn Độ) và ủ ở 28°C trong 24 giờ (Phuoc và cs., 2021).

- Môi trường và hóa chất: Tryptone Soya Agar (TSA), Tryptone Soya Broth (TSB, Himedia, Ấn Độ), HiCrome™ Strep B Selective Agar Base (GBS agar, Himedia, Ấn Độ), bộ kit API 20 Strep (BioMérieux, Pháp), Streptex Rapid (Oxoid, Anh), Aquis (Bayer, Việt Nam).

2.2. Nội dung nghiên cứu

- Phân lập và định danh vi khuẩn gây bệnh lồi mắt và xuất huyết trên cá diêu hồng được nuôi tại An Giang, Huế và Hải Dương

- Đánh giá độc lực của các chủng vi khuẩn *S. agalactiae* gây bệnh trên cá diêu hồng trong điều kiện thực nghiệm

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phân lập và định danh vi khuẩn

Mẫu cá diêu hồng (*Oreochromis sp.*) có biểu hiện bệnh điển hình như mắt lồi, bơi lờ đờ và xuất huyết được thu tại các cơ sở nuôi ở tỉnh An Giang, thành phố Hải Phòng và thành phố Huế. Cá được khử trùng bề mặt bằng cồn 70%, sau đó dịch não và thận được lấy bằng dụng cụ vô trùng và cấy trên môi trường Tryptic Soy Agar (TSA), ủ ở 28°C trong 24 giờ.

Các khuẩn lạc nghi ngờ *Streptococcus* được cấy chuyển để thuần khiết và tăng sinh trong môi trường Tryptic Soy Broth (TSB). Chủng vi khuẩn thuần được bổ sung glycerol với tỷ lệ 25% (v/v) và bảo quản ở -80°C để sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Vi khuẩn được định danh sơ bộ thông qua nhuộm Gram và quan sát hình thái dưới kính hiển vi quang học, kết hợp đánh giá

đặc điểm khuẩn lạc trên môi trường GBS agar. Các chủng tạo khuẩn lạc màu xanh nhạt trên môi trường GBS được tiếp tục định danh bằng phản ứng ngưng kết kháng nguyên Lancefield. Các chủng được xác định thuộc nhóm B được kiểm tra đặc tính sinh hóa bằng bộ kit API 20 Strep (BioMérieux, Pháp) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

2.3.2. Sàng lọc độc lực sơ bộ các chủng *Streptococcus agalactiae* bằng phương pháp passage

Để sàng lọc các chủng *Streptococcus agalactiae* có độc lực mạnh phục vụ cho thí nghiệm xác định LD₅₀, tất cả các chủng vi khuẩn phân lập được đều được đánh giá độc lực sơ bộ thông qua một lần passage (truyền qua cơ thể sống) trên cá diêu hồng khỏe mạnh.

Các chủng vi khuẩn được nuôi cấy qua đêm trong môi trường TSB ở 28°C. Sau 24 giờ, dịch nuôi cấy được ly tâm, loại bỏ dịch nổi và sinh khối vi khuẩn được hòa lại trong dung dịch NaCl 0,85% vô trùng. Mật độ vi khuẩn được điều chỉnh đạt 10⁹ CFU/mL dựa trên mật độ quang học (OD₆₀₀) và dữ liệu hiệu chuẩn trước đó. Cá diêu hồng khỏe mạnh (khối lượng 8–10 g/con) được gây mê bằng Aquis-S (0,02 mL/L), sau đó tiêm xoang bụng 0,1 mL huyền phù vi khuẩn. Mỗi chủng vi khuẩn được tiêm cho 03 cá thể, và cá được theo dõi tỷ lệ chết trong vòng 24 giờ sau tiêm. Số lượng cá hạn chế trong bước passage chỉ nhằm sàng lọc định tính độc lực, không dùng cho phân tích thống kê.

Các chủng gây chết 100% cá thí nghiệm (3/3 con) trong vòng 24 giờ được xác định là có độc lực mạnh và được lựa chọn để tiếp tục sử dụng trong thí nghiệm xác định LD₅₀. Các chủng không gây chết hoặc gây chết không hoàn toàn được loại khỏi bước nghiên cứu tiếp theo.

2.3.3. Chuẩn bị vi khuẩn thí nghiệm

Các chủng *S. agalactiae* được lựa chọn được nuôi tăng sinh trong môi trường TSB ở 28°C trong tủ lắc với tốc độ 180 vòng/phút trong 24 giờ. Mật độ vi khuẩn được xác định bằng cách đo OD₆₀₀ trên máy quang phổ UV-VIS (U2900, Hitachi, Nhật Bản), với OD₆₀₀ = 1 tương ứng khoảng 10⁸ CFU/mL (theo dữ liệu hiệu chuẩn nội bộ). Dung dịch vi khuẩn sau đó được pha loãng thập phân để thu các nồng độ từ 10³ đến 10⁸ CFU/mL dùng cho thí nghiệm cảm nhiễm.

2.3.4. Thí nghiệm cảm nhiễm

Cá thí nghiệm được bố trí ngẫu nhiên vào các bể composite dung tích 120 L với mật độ 10 cá mỗi bể, yếu tố môi trường giữa các bể đồng nhất. Thí nghiệm gồm 7 nghiệm thức, bao gồm: (i) đối chứng, trong đó cá được tiêm 0,1 mL dung dịch NaCl 0,85% vô trùng; và (ii) các nghiệm thức cảm nhiễm, trong đó cá được tiêm 0,1 mL vi khuẩn với nồng độ từ 10³ đến 10⁸ CFU/mL. Trước khi tiêm, cá được gây mê bằng Aquis (0,02 mL/L). Vi khuẩn

được tiêm vào xoang bụng, tỷ lệ chết và các dấu hiệu lâm sàng của cá được theo dõi hàng ngày và liên tục trong thời gian 14 ngày. Giá trị LD₅₀ được tính toán theo phương pháp của Reed & Muench (1938) sử dụng công thức sau: $LD_{50} = 10^{a-x}$

Trong đó: a là số lũy thừa mà tại đó vi khuẩn gây cá chết thấp nhất (trên 50%)

x được tính dựa vào công thức: $x = (P_a - 50)/(P_a - P_u)$

Với: P_a là tỷ lệ chết cận trên và P_u là tỷ lệ chết cận dưới của liều gây chết 50%

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu nghiên cứu thu thập được xử lý để tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn bằng phần mềm Microsoft Excel 2013.

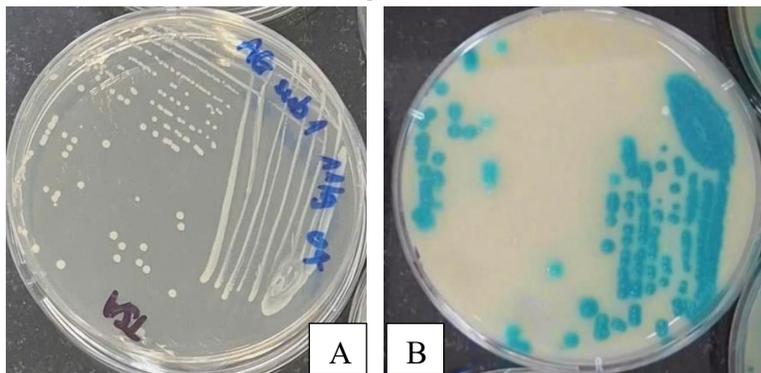
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Phân lập, định danh vi khuẩn

Từ các mẫu cá điều hồng có biểu hiện bệnh điển hình (mắt lồi) (Hình 1) tại tỉnh An Giang, thành phố Hải Phòng và thành phố Huế, đã phân lập được 21 chủng vi khuẩn.



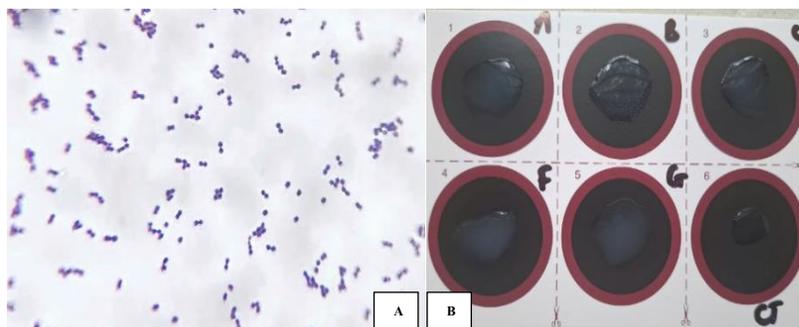
Hình 1. Cá điều hồng bị bệnh với mắt lồi đục.



Hình 2. Vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* tạo khuẩn lạc màu trắng đục trên môi trường TSA (A) và khuẩn lạc màu xanh nhạt trên môi trường GBS (Hình B)

Trên môi trường TSA, khuẩn lạc có dạng tròn, trắng đục, kích thước 0,5–1 mm sau 48 giờ nuôi ở 28°C (Hình 2A). Trên môi trường GBS agar, các khuẩn lạc chuyển màu xanh nhạt – đặc trưng của *S. agalactiae* (Hình 2B). Kết quả nhuộm Gram cho thấy vi khuẩn Gram dương, hình cầu, sắp xếp thành từng cặp hoặc chuỗi ngắn (Hình 3A).

Phản ứng Lancefield cho thấy cả 21/21 chủng đều thuộc nhóm B (Bảng 2, Hình 3B), khẳng định các chủng phân lập được là *S. agalactiae* (Group B *Streptococcus*- GBS). Kết quả này phù hợp với báo cáo trước đây của Đặng Thị Hoàng Oanh và cs. (2012), Nguyễn Ngọc Phước và cs., (2019). Phân tích đặc tính sinh hóa bằng bộ kit API20 Strep cũng cho kết quả tương đồng với mô tả của Buller (2004) (Bảng 1), ngoại trừ phản ứng glycogen – kết quả phù hợp với Đặng Thị Hoàng Oanh và cs.



Hình 3. Vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* bắt màu Gram (+), có dạng hình cầu, tạo thành cặp hoặc chuỗi sau khi nhuộm Gram (A) và tạo phản ứng ngưng kết nhóm B khi thử Lancefield test (B)

Phản ứng ngưng kết Lancefield phản ánh sự hiện diện của kháng nguyên carbohydrate thành tế bào. Ngưng kết nhóm B thường liên quan đến *Streptococcus agalactiae* (Group B *Streptococcus*, GBS). Các nhóm A, C, F và G tương ứng với các

(2012). Một số phản ứng sinh hóa như alkaline phosphatase, arginine dihydrolase và khả năng sử dụng ribose có sự khác biệt giữa các chủng *S. agalactiae* phân lập tại các địa phương khác nhau, đặc biệt ở các chủng phân lập tại Huế. Những khác biệt này phản ánh sự đa dạng sinh học nội loài của *S. agalactiae* và đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu trước đây, cho thấy các chủng vi khuẩn có thể thích nghi với điều kiện môi trường, vật chủ và hệ thống nuôi khác nhau. Tuy nhiên, các biến thiên sinh hóa này không làm thay đổi đặc điểm định danh cơ bản của loài, do tất cả các chủng vẫn phù hợp với hồ sơ sinh hóa điển hình của *S. agalactiae*. Điều này cho thấy các chủng phân lập được có đặc điểm điển hình của *S. agalactiae* gây bệnh trên cá nuôi nước ngọt tại Việt Nam và có đặc điểm sinh hoá khá đồng nhất.

loài *Streptococcus* khác và không bao gồm *S. agalactiae*. Phản ứng ngưng kết nhóm D thường gặp ở *Enterococcus* spp. hoặc *Streptococcus* nhóm D (ví dụ *Streptococcus bovis*).

Bảng 1. Đặc điểm hình thái, sinh hóa của vi khuẩn *S. agalactiae* phân lập từ cá điêu hồng bị bệnh lòi mắt xuất huyết

Chỉ tiêu	Chủng <i>Streptococcus agalactiae</i> (Buller (2004))	Tỷ lệ % các chủng (n=21)	
		Dương tính (+)	Âm tính (-)
Gram	+	100%	
Hình dạng	Hình cầu	100%	
Di động	-		100%
Sinh catalase	-		100%
Sinh oxidase	-		100%
Gây tan huyết β trên môi trường thạch máu	+	100%	
Voges Proskauer	+	100%	
Hippurate hydrolysis	+	100%	
Bile-esculin tolerance	-		100%
Pyrrolidonyl arylamidase	-		100%
α -Galactosidase	-		100%
β -Glucuronidase	+/-		100%
β -Galactosidase	-		100%
Alkaline phosphatase	+	85,7%	14,3%
Leucine aminopeptidase	+	100%	
Arginine dihydrolase	+/-	85,7%	14,3%
Ribose	+	85,7%	14,3%
Arabinose	-		100%
Mannitol	-		100%
Sorbitol	-		100%
Lactose	-		100%
Trehalose	-		100%
Inulin	-		100%
Raffinose	-		100%
Amidon	-		100%
Glycogen	+		100%

(+) dương tính; (-) âm tính; (+s) phản ứng chậm

Bảng 2. Kết quả định danh các chủng vi khuẩn phân lập từ mẫu cá bệnh bằng phản ứng Lancefield

Địa điểm thu mẫu	Số mẫu	Kiểu huyết thanh	Định danh
Hải Phòng	HD1	Nhóm B	<i>S. agalactiae</i> HD1
	HD2		<i>S. agalactiae</i> HD2
	HD3		<i>S. agalactiae</i> HD3
	HD4		<i>S. agalactiae</i> HD4
	HD5		<i>S. agalactiae</i> HD5
	HD6		<i>S. agalactiae</i> HD6
	HD7		<i>S. agalactiae</i> HD7
Huế	H1	Nhóm B	<i>S. agalactiae</i> H1
	H2		<i>S. agalactiae</i> H2
	H3		<i>S. agalactiae</i> H3
	H4		<i>S. agalactiae</i> H4
	H5		<i>S. agalactiae</i> H5
	H6		<i>S. agalactiae</i> H6
	H7		<i>S. agalactiae</i> H7
An Giang	AG1	Nhóm B	<i>S. agalactiae</i> AG1
	AG2		<i>S. agalactiae</i> AG2
	AG3		<i>S. agalactiae</i> AG3
	AG4		<i>S. agalactiae</i> AG4
	AG5		<i>S. agalactiae</i> AG5
	AG6		<i>S. agalactiae</i> AG6
	AG7		<i>S. agalactiae</i> AG7

3.2. Kết quả gây bệnh thực nghiệm trên cá điêu hồng

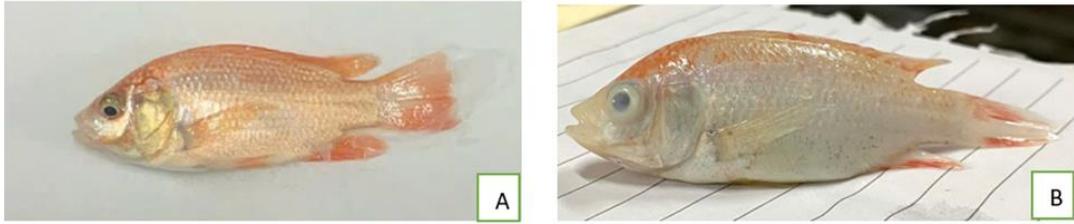
Kết quả passage cho thấy 15 chủng không gây chết cá, trong khi 06 chủng gây chết 100% cá trong vòng 24 giờ, được xác định là các chủng có độc lực mạnh và được lựa chọn để tiếp tục sử dụng trong thí nghiệm xác định LD₅₀. Các chủng này bao gồm: HD1, HD2, H3, H4, AG5 và AG6. Việc sử dụng một lần passage nhằm hạn chế biến đổi độc lực do cấy chuyển nhiều lần *in vitro*, đồng thời đảm bảo phản ánh gần nhất khả năng gây bệnh của vi khuẩn trong điều kiện tự nhiên.

Qua thí nghiệm cảm nhiễm trên cá điêu hồng cho thấy cả 6 chủng đều gây chết cá, với tỷ lệ chết tăng tương ứng theo nồng độ vi khuẩn được tiêm. Hiện tượng chết xuất hiện từ ngày thứ 2–3 sau khi cảm nhiễm và dừng lại vào khoảng ngày thứ 10–11 (Hình 5, 6, 7).

Cá cảm nhiễm xuất hiện các triệu chứng điển hình: bơi lơ đờ, mất phương

hướng, mất lời đực, giảm ăn, não xuất huyết. Đây là các biểu hiện phù hợp với mô tả của *Abuseliana* và cs. (2010), Anshary và cs. (2014) và Phuoc và cs. (2019). Vi khuẩn tái phân lập được đều tạo khuẩn lạc màu xanh nhạt trên môi trường GBS agar và cho kết quả phản ứng ngưng kết nhóm B khi thử Lancefield test. Việc tái phân lập thành công vi khuẩn *S. agalactiae* từ cá chết sau thí nghiệm đã khẳng định tính gây bệnh của các chủng phân lập.

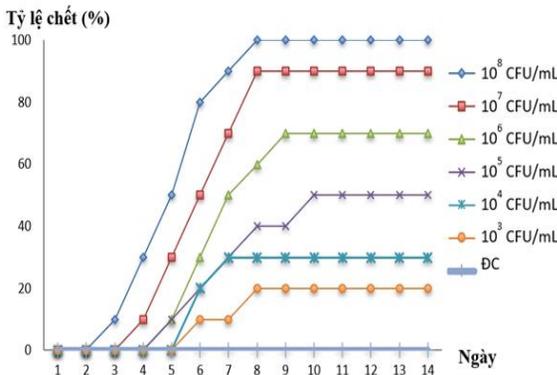
Giá trị LD₅₀ của các chủng HD1, HD2, H3, H4, AG5 và AG6 lần lượt đạt $7,9 \times 10^4$ CFU/mL, $3,2 \times 10^4$ CFU/mL, 4×10^4 CFU/mL, $3,2 \times 10^4$ CFU/mL, $1,3 \times 10^4$ CFU/mL và $0,6 \times 10^4$ CFU/mL. Giá trị LD₅₀ dao động từ $0,6 \times 10^4$ CFU/mL (AG6, độc lực cao nhất) đến $7,9 \times 10^4$ CFU/mL (HD1, độc lực thấp nhất). Đáng chú ý, hai chủng AG5 và AG6 phân lập tại An Giang có độc lực cao hơn hẳn so với các chủng tại Huế và Hải Phòng.



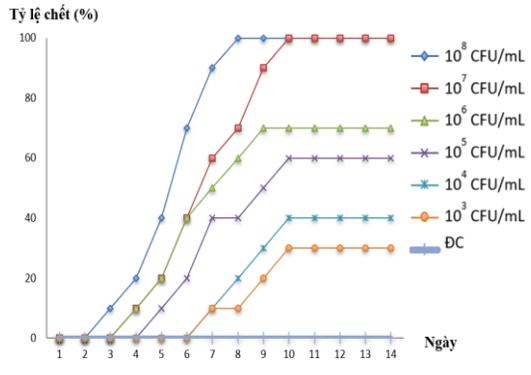
Hình 4. Cá điêu hồng trước khi cảm nhiễm (A) và sau khi cảm nhiễm (B)

Khi so sánh với các nghiên cứu trước đây trên cá rô phi/điều hồng (*Oreochromis* sp.), giá trị LD₅₀ của 6 chủng *S. agalactiae* phân lập trên cá điêu hồng tại An Giang, Huế, Hải Phòng ($0,6 \times 10^4 - 7,9 \times 10^4$ CFU/mL) nhìn chung nằm trong ngưỡng đã được công bố. Đặng Thị Hoàng Oanh và cs. (2012) báo cáo LD₅₀ của chủng vi khuẩn *S. agalactiae* phân lập trên cá điêu

hồng tại Tiền Giang khoảng $4,89 \times 10^4$ CFU/mL, trong khi Nguyễn Ngọc Phước và cs. (2019) xác định giá trị LD₅₀ của các chủng phân lập tại thành phố Huế dao động từ $1,5 \times 10^4$ đến $6,2 \times 10^4$ CFU/mL, tương đương với nhiều chủng trong nghiên cứu này nhưng cao hơn chủng AG5, AG6 (An Giang).

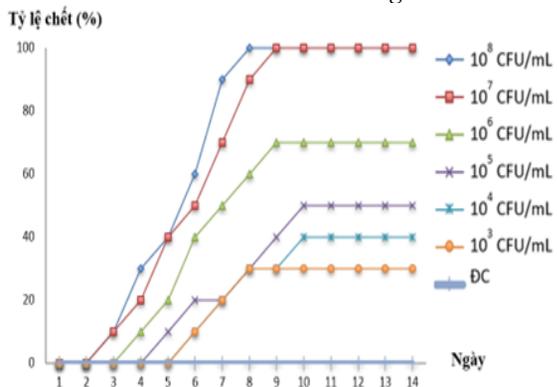


A

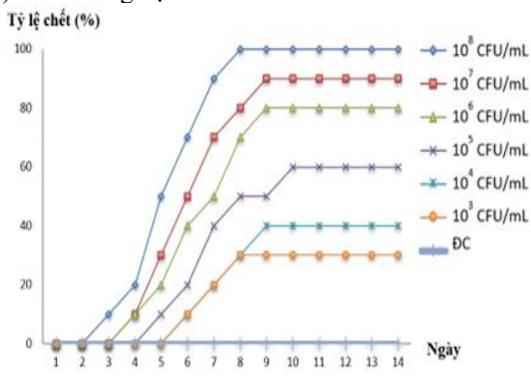


B

Hình 5. Tỷ lệ chết cộng dồn của cá điêu hồng khi cảm nhiễm vi khuẩn *S. agalactiae* HD1 (A) và vi khuẩn *S. agalactiae* HD2 (B) ở các nồng độ khác nhau

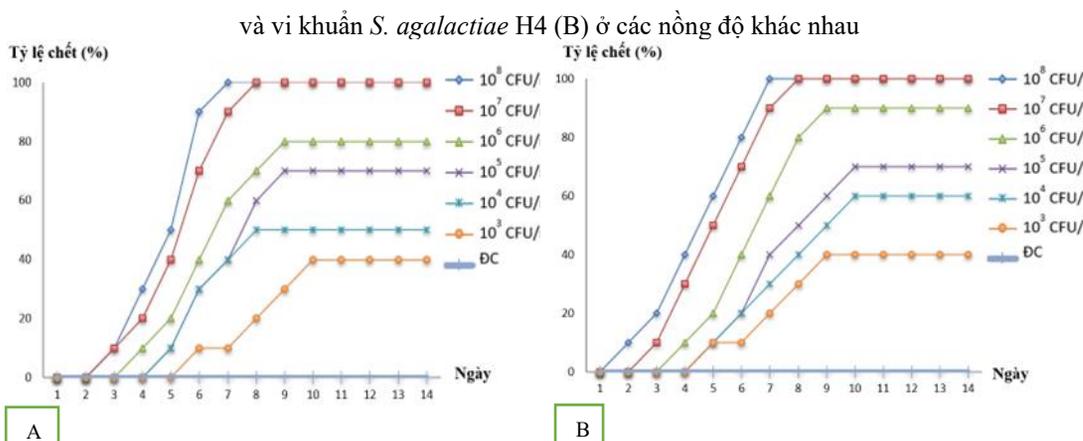


A



B

Hình 6. Tỷ lệ chết cộng dồn của cá điêu hồng cảm nhiễm vi khuẩn *S. agalactiae* H3 (A)



Hình 7. Tỷ lệ chết cộng dồn của cá điều hồng cảm nhiễm vi khuẩn *S. agalactiae* AG5 (A) và vi khuẩn *S. agalactiae* AG6 (B) ở các nồng độ khác nhau

Kết quả của Phuoc và cs. (2021) đã chỉ ra rằng LD_{50} của *S. agalactiae* có sự biến động đáng kể từ 10^3 đến 10^5 CFU/mL, phụ thuộc vào từng chủng và các yếu tố môi trường như nhiệt độ và độ mặn. Điều này nhấn mạnh tính linh hoạt và độc lực của vi khuẩn này. Trước đó, Nguyễn Ngọc Phước và cs. (2015) từng khẳng định sự hiện diện của các chủng độc lực mạnh tại đồng bằng sông Cửu Long, mặc dù không cung cấp số liệu cụ thể về LD_{50} . Bên cạnh đó, nghiên cứu của Trương Thị Mỹ Hạnh và cộng sự (2022) đã báo cáo rằng ngưỡng gây bệnh Streptococcosis ở cá rô phi tại Việt Nam dao động từ 10^4 đến 10^5 CFU/mL, phù hợp với phổ LD_{50} trong nghiên cứu này.

Đáng chú ý, Đoàn Thị Ninh và cs. (2023) đã xác định LD_{50} của các chủng *S. agalactiae* ST Ia và STIII lần lượt là $2,5 \times 10^4$ CFU/mL và $1,9 \times 10^4$ CFU/mL, bổ sung thêm vào sự hiểu biết về mức độ độc lực của vi khuẩn này. Trong khu vực lân cận, Abuseliana và cs. (2010) đã phát hiện LD_{50} khoảng $7,2 \times 10^4$ CFU/mL tại Malaysia, trong khi Anshary và cs. (2014) báo cáo LD_{50} từ $3,1 \times 10^4$ đến $8,9 \times 10^4$ CFU/mL tại Indonesia, và Sirimanapong và cs. (2023) cũng ghi nhận phổ 10^3 – 10^5 CFU/mL tại Thái Lan. Những nghiên cứu này không chỉ xác thực độ nguy hiểm của *S. agalactiae* mà còn mở ra hướng nghiên cứu sâu hơn về tính đa dạng và tác động của nó. Trong nghiên cứu này, thí nghiệm xác định LD_{50} được thực hiện với một lần bố trí cho

mỗi nghiệm thức và chưa có lặp sinh học. Thiết kế này cho phép ước tính nhanh độc lực của các chủng Streptococcus agalactiae trong điều kiện thực nghiệm, tuy nhiên có thể làm giảm độ tin cậy thống kê của giá trị LD_{50} thu được. Việc không lặp lại cũng là một hạn chế cần được xem xét khi so sánh kết quả giữa các nghiên cứu khác nhau. Các nghiên cứu tiếp theo nên được thiết kế với lặp sinh học, tăng số lượng cá thể mỗi nghiệm thức và kết hợp các chỉ tiêu đánh giá bổ sung như thời gian chết trung bình, tải lượng vi khuẩn trong mô và tổn thương mô bệnh học. Những cải tiến này sẽ giúp đánh giá chính xác hơn độc lực và cơ chế gây bệnh của *S. agalactiae* trên cá nuôi.

Như vậy, kết quả hiện tại củng cố bằng chứng rằng độc lực của *S. agalactiae* trên cá rô phi/điều hồng biến động trong khoảng khá rộng, song sự hiện diện của các chủng độc lực cao tại An Giang (LD_{50} chỉ $0,6 \times 10^4$ CFU/mL) cho thấy nguy cơ lớn hơn so với nhiều vùng khác. Sự khác biệt LD_{50} giữa các vùng có thể liên quan đến đa dạng di truyền, huyết thanh và điều kiện môi trường nuôi (nhiệt độ, độ mặn, mật độ nuôi) (Phuoc và cs., 2021). Kết quả này cũng tương đồng với nhận định của Duodu và cs. (2024), rằng sự đa dạng về di truyền và huyết thanh học của *S. agalactiae* dẫn đến độc lực khác nhau, làm gia tăng thách thức trong công tác phòng và điều trị bệnh. Sự biến động giá trị LD_{50} giữa các nghiên cứu cũng phản ánh ảnh hưởng đồng thời của

nhiều yếu tố, bao gồm nguồn gốc chủng, phương pháp gây cảm nhiễm, tình trạng sức khỏe cá và điều kiện môi trường, do đó cần thận trọng khi so sánh trực tiếp các giá trị này giữa các công bố khác nhau. Kết quả nghiên cứu này không chỉ cung cấp thêm dữ liệu về độc lực *S. agalactiae* trên cá điều hồng tại một số địa phương của Việt Nam mà còn khẳng định sự cần thiết phải: (i) chuẩn hóa mô hình cảm nhiễm dựa trên các chủng độc lực cao tại địa phương, và (ii) tích hợp yếu tố địa lý vào chiến lược phát triển vaccine và quản lý bệnh Streptococcosis.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phân lập được 21 chủng vi khuẩn từ cá điều hồng có biểu hiện bệnh điển hình tại các tỉnh An Giang, thành phố Hải Phòng, và thành phố Huế. Kết quả phân tích hình thái, sinh hóa, thử nghiệm Lancefield và bộ kit API 20 Strep xác định toàn bộ đều thuộc loài *S. agalactiae*.

Thử nghiệm cảm nhiễm cho thấy các chủng vi khuẩn có độc lực khác nhau, với giá trị LD₅₀ dao động từ 0,6 × 10⁴ đến 7,9 × 10⁴ CFU/mL. Đáng chú ý, các chủng phân lập tại An Giang (AG5, AG6) thể hiện độc lực cao hơn so với các chủng phân lập tại Huế và Hải Phòng. Tỷ lệ chết của cá tỷ lệ thuận với mật độ vi khuẩn tiêm, xuất hiện từ ngày 3 và ngừng ở ngày 10 sau cảm nhiễm; trong đó chủng AG6 có khả năng gây chết nhanh và mạnh nhất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tài liệu tiếng Việt

Trương Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Thị Hạnh, Nguyễn Thị Minh Nguyệt, Phạm Thị Yến, Lê Thị Mây, Võ Văn Nha và Đặng Thị Lụa. (2022). Ngưỡng mật độ *Streptococcus agalactiae* gây bệnh Streptococcosis ở cá rô phi (*Oreochromis* sp.) nuôi ao nước ngọt. *Bản B của Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, 64(2), 54-59.

Phạm Hồng Nhật, Vũ Thị Huyền, Vũ Thị Trang, Ngô Phú Thỏa, Phạm Thu Uyên, Nguyễn Thị Nhiên, Phạm Anh Tuấn và Phan Thị Vân. (2022). Ứng dụng phản ứng

MULTIPLEX-PCR để xác định kiểu huyết thanh và gen độc lực của vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* gây bệnh trên cá rô phi vằn. *TNU Journal of Science and Technology*, 227(10), 259 - 267

Phạm Hồng Nhật, Vũ Thị Huyền, Trương Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Thị Hạnh, Ngô Phú Thỏa, Phạm Anh Tuấn và Phan Thị Vân. (2023). Nghiên cứu độc lực của vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* 015-RIA1 trên cá rô phi vằn chọn giống sinh trưởng nhanh thể hệ G2. *TNU Journal of Science and Technology*, 228(13), 274 - 281

Đoàn Thị Ninh, Nguyễn Vũ Sơn, Đặng Thị Hóa, Nguyễn Thị Thuý Hằng, Ngô Phú Thỏa, Nguyễn Thị Hương Giang, Kim Văn Vạn, Đặng Thị Lụa và Trương Đình Hoài. (2023). Đánh giá khả năng gây bệnh của vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* serotype Ia và III trên cá rô phi trong điều kiện thực nghiệm. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 21(10), 1256-1269.

Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Thanh Phương. (2012). Phân lập và xác định đặc điểm của vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* từ cá điều hồng (*Oreochromis* sp.) bệnh phù mắt và xuất huyết. *Tạp chí Khoa học, Trường Đại học Cần Thơ*, (22c), 203-212.

Nguyễn Ngọc Phước, Lưu Thị Ngọc Hạnh, Nguyễn Thị Sao, Nguyễn Đức Quỳnh Anh, Trương Thị Hoa và Lê Văn Bảo Duy. (2015). Nghiên cứu đặc điểm sinh hoá vi khuẩn *Streptococcus* sp. gây bệnh trên cá rô phi nuôi tại đồng bằng Sông Cửu Long, Việt Nam. *Tạp chí khoa học Đại học Huế. Chuyên san Nông Nghiệp và phát triển nông thôn*, 104(5), 221-233.

Nguyễn Ngọc Phước, Trần Thị Nhật Anh và Nguyễn Thị Huế Linh. (2019). Phân lập và xác định một số đặc điểm sinh học các chủng *Streptococcus agalactiae* gây bệnh trên cá rô phi đỏ (*Oreochromis* sp.) nuôi tại Thừa Thiên Huế. *Tạp chí Khoa học và công nghệ nông nghiệp Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế*, 3(3), 1591-1601.

2. Tài liệu tiếng nước ngoài

Abuselian, A. F., Daud, H. H. M., Aziz, S. A., Bejo, S. K., & Alsaied, M. (2010). Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* isolated from a fish farm in Selangor to juvenile red tilapia (*Oreochromis* sp.). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(4), 744-750.

- Anshary, H., Kurniawan, R. A., Sriwulan, S., Ramli, R., & Baxa, D. V. (2014). Isolation and molecular identification of *Streptococcus agalactiae* from diseased farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Indonesia. *Pakistani Journal of Biological Sciences*, 17(6), 774–781.
- Buller, N.B. (2004). Bacteria from fish and other aquatic animals: a practice identification manual, 361 pp.
- Cui, L., Feng, T., Zhang, Y., & Li, J. (2022). Pathogenesis of *Streptococcus agalactiae* in tilapia: Clinical signs, histopathology, and immune response. *Aquaculture*, 560, 738578.
- Duodu, S., Henning, P., Sørum, H., & Colquhoun, D. J. (2024). Diversity and virulence of *Streptococcus agalactiae* in tilapia aquaculture: Implications for disease control. *Aquaculture*, 578, 739812.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022: Towards blue transformation. FAO.
- Hanh, T. T. M., Hanh, N. T., May, L. T., Vinh, T. T. T., & Lua, D. T. (2024). Antimicrobial resistance in *Streptococcus agalactiae* in tilapia (*Oreochromis* sp.) farming in Northern Vietnam. *Vinh University Journal of Science*, 53(2A), 15-23
- Netherlands Embassy, & Netherlands Enterprise Agency. (2025). *Aquaculture landscape in Vietnam's Mekong River Delta*.
- Phuoc, N. N., Linh, N. T. H., Crestani, C., & Zadoks, R. N. (2021). Effect of strain and environmental conditions on the virulence of *Streptococcus agalactiae* (Group B *Streptococcus*; GBS) in red tilapia (*Oreochromis* sp.). *Aquaculture*, 534, 736256.
- Reed, L. J., & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American Journal of Epidemiology*, 27(3), 493–497
- Sirimanapong, W., Phuoc, N. N., Crestani, C., Chen, S., & Zadoks, R. N. (2023). Geographical, temporal and host-species distribution of potentially human-pathogenic group B *Streptococcus* in aquaculture species in southeast Asia. *Pathogens* 12(4), 525.
- Van der Heijden, M., Al-Saadi, A., & Mohd, N. (2023). Streptococcosis in tilapia: Emerging challenges and control strategies. *Reviews in Aquaculture*, 15(3), 1447–1463.