

## **PHÂN LẬP VÀ ĐÁNH GIÁ TÌNH TRẠNG KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN *Streptococcus agalactiae* GÂY BỆNH TRÊN CÁ RÔ ĐỒNG (*Anabas testudineus*)**

**Trương Đình Hoài<sup>1\*</sup>, Xa Đức Bình<sup>1</sup>, Mai Văn Thương<sup>1</sup>, Nguyễn Văn Phúc<sup>1</sup>,  
Nguyễn Hữu Vinh<sup>2</sup>, Phạm Thị Lam Hồng<sup>1</sup> và Đoàn Thị Ninh<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam

<sup>2</sup>Công ty VMC Việt Nam

\* Email: [tdhoai@vnua.edu.vn](mailto:tdhoai@vnua.edu.vn)

Ngày nhận bài: 14/01/2024

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 27/02/2024

Ngày chấp nhận đăng: 29/03/2024

### **TÓM TẮT**

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phân lập vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* gây bệnh trên cá rô đồng, xác định các đặc điểm bệnh lý đặc trưng và mức độ kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh. Tổng số 63 mẫu cá có biểu hiện bệnh đã được thu từ 22 hộ nuôi cá rô đồng ở Hà Nội, Hưng Yên và Hải Dương để đưa vào nuôi cấy vi khuẩn, sau đó đã thu được 53 chủng vi khuẩn phát triển chiếm ưu thế, đều là vi khuẩn Gram dương, dạng liên cầu khuẩn. Quá trình định danh bằng hình thái, sinh hoá và giám định bằng PCR đã định danh thành công 22 chủng vi khuẩn *S. agalactiae* đại diện. Cá rô đồng nhiễm *S. agalactiae* có các triệu chứng và bệnh tích đặc trưng như đen thân và xuất huyết trên da (69,8 – 77,4%), mắt xuất huyết và lồi đục (52,8%), nội quan sưng và xuất huyết (58,5%). Các chủng vi khuẩn thu được có mức nhạy cao với 2 loại kháng sinh Amoxicillin và Doxycycline, có mức kháng cao nhất với Sulfamethoxazole/Trimethoprim (40,9%) và từ 13,6 – 27,2% số chủng kháng với kháng sinh Erythromycin, Florfenicol và Oxytetracycline. Kết quả nghiên cứu là cơ sở quan trọng cho quá trình chẩn đoán, phòng và điều trị bệnh do *S. agalactiae* trên cá rô đồng.

**Từ khóa:** cá rô đồng, kháng kháng sinh, *Streptococcus agalactiae*.

### **ISOLATING AND EVALUATING THE ANTIBIOTIC RESISTANCE LEVEL OF *Streptococcus agalactiae* – A SPECIES OF BACTERIUM CAUSING INFECTIONS IN CLIMBING PERCH (*Anabas testudineus*)**

#### **ABSTRACT**

The present study aims to isolate *Streptococcus agalactiae* bacterium, which causes infections in climbing perch, and assess clinical-pathological characteristics of infected fish and the level of antibiotic resistance of the bacteria. A total of 63 diseased fish samples were collected from 22 climbing perch farming households located in Hanoi, Hung Yen, and Hai Duong for bacterial culture, which resulted in 53 isolates of Gram-positive streptococci. 22 representative isolates of *S. agalactiae* were successfully identified, using morphological, biochemical, and PCR identification... The infected fish showed the distinctive symptoms and clinical signs of a darkly pigmented body and the haemorrhaging of their skin (69.8 – 77.4%), as well as the eyes with haemorrhaging and exophthalmia (52.8%); the internal organs are swollen with signs of haemorrhage (58.5%). The bacterial isolates exhibited a high sensitivity to Amoxicillin and Doxycycline, while they presented the highest resistance to Sulfamethoxazole/Trimethoprim (40.9%), and from 13.6 to 27.2% of the isolates were resistant to Erythromycin, Florfenicol, and Oxytetracycline. The research results are important in the diagnosis, prevention, and treatment of diseases caused by *S. agalactiae* in climbing perch.

**Keywords:** antibiotic resistance, climbing perch, *Streptococcus agalactiae*.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá rô đồng (*Anabas testudineus*) dễ nuôi, thịt thơm ngon, có thể chế biến thành nhiều món ăn được nhiều người ưa chuộng. Do vậy, những năm gần đây, các mô hình nuôi cá rô đồng đã mang lại giá trị kinh tế cao hơn một số loài cá truyền thống khác. Trước kia, cá rô đồng chủ yếu được nuôi ở các tỉnh phía Nam như An Giang, Đồng Tháp, Cần Thơ, Hậu Giang. Trong thời gian gần đây, cá rô đồng đã thu hút sự quan tâm của nhiều người nuôi ở các tỉnh miền Bắc như Hải Dương, Hưng Yên, Thái Bình, Hà Nội,... và đã trở thành đối tượng nuôi quan trọng với quy mô và sản lượng cá rô đồng tại khu vực này ngày càng tăng. Tuy nhiên, khi diện tích nuôi thâm canh cá rô đồng gia tăng nhanh, đồng thời trong quá trình nuôi, người nuôi thường tận dụng nguồn chất hữu cơ từ hệ thống chăn nuôi, nuôi kết hợp với vịt, ếch đã làm cho cá rô đồng nhiễm nhiều loại bệnh như giun tròn (Trương Đình Hoài và cs., 2021), giun đầu gai (Trương Đình Hoài và cs., 2021), các loài vi khuẩn như *Aeromonas* sp. và đặc biệt là *Streptococcus agalactiae* (Đặng Thị Hoàng Oanh và cs., 2012).

Vi khuẩn *S. agalactiae* là vi khuẩn thuộc nhóm B Streptococci (GBS), gây bệnh trên cả động vật thủy sản và động vật trên cạn (Evans và cs., 2008). Tuy đã được biết đến từ lâu nhưng tác nhân gây bệnh này vẫn đang được quan tâm nghiên cứu và được coi là bệnh rất nguy hiểm đối với các đối tượng nuôi thủy sản như rô phi, trắm đen, rô đồng do bệnh gây chết trên diện rộng và tỉ lệ chết rất cao (Đoàn Thị Ninh và cs., 2023; Kim Văn Vạn & Trương Đình Hoài, 2021).

Tại Việt Nam, vi khuẩn *S. agalactiae* được phát hiện và đánh giá khả năng gây bệnh trên cá rô đồng nuôi ở Đồng Tháp (Đặng Thị Hoàng Oanh và cs., 2012). Trong nghiên cứu này, khi sử dụng nồng độ tiêm cảm nhiễm  $10^7$  CFU/cá, nhóm tác giả ghi nhận tỉ lệ chết lên đến 70% sau 7 ngày tiêm. Trong khi đó, tại Thái Lan, ao nuôi cá rô đồng nhiễm *S. agalactiae* có tỉ lệ chết từ 10 – 40%

(Klingklib & Suanyuk, 2017). Tuy nhiên, cho đến nay, chưa có nhiều nghiên cứu chuyên sâu về tác nhân gây bệnh này trên cá rô đồng, đặc biệt là tại miền Bắc. Nghiên cứu này được thực hiện để phân lập tác nhân gây bệnh, đánh giá một số đặc điểm bệnh học và tình trạng kháng kháng sinh của vi khuẩn *S. agalactiae* phân lập từ cá rô đồng nhiễm bệnh nuôi tại một số tỉnh miền Bắc Việt Nam.

## 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Vật liệu nghiên cứu

Mẫu cá rô đồng có biểu hiện bệnh; vi khuẩn *S. agalactiae*; các trang thiết bị, dụng cụ, hóa chất sử dụng trong quá trình nuôi cấy, phân lập, định danh và nghiên cứu kháng kháng sinh trên vi khuẩn.

### 2.2. Phương pháp thu mẫu cá bệnh

Tiến hành thu mẫu cá rô đồng có biểu hiện bệnh ở 3 tỉnh miền Bắc có hoạt động nuôi cá rô đồng phát triển là Hà Nội, Hưng Yên và Hải Dương. Tổng số 63 mẫu cá rô đồng có biểu hiện lồi mắt, xuất huyết đặc trưng đã được thu từ 22 hộ nuôi với số lượng mẫu thu là 3 – 5 mẫu/hộ bao gồm: Hà Nội thu từ 5 hộ (19 mẫu); Hưng Yên thu từ 4 hộ (16 mẫu) và Hải Dương thu từ 13 hộ (28 mẫu). Các mẫu cá được thu ở dạng còn sống, được vận chuyển về phòng thí nghiệm theo phương pháp vận chuyển kín.

### 2.3. Phương pháp nuôi cấy, phân lập vi khuẩn

Trước khi thực hiện nuôi cấy vi khuẩn, các mẫu cá bệnh được kiểm tra và tổng hợp các triệu chứng lâm sàng và bệnh tích đặc trưng. Mẫu mô não và thận cá được nhuộm Gram để kiểm tra sự xâm nhập của vi khuẩn trong các mô bào. Tiến hành nuôi cấy vi khuẩn từ thận và não cá trên môi trường Tryptic Soy Agar (TSA, Meck) ở 28°C trong 36h (Buller, 2004). Khuẩn lạc phát triển chiếm ưu thế được tách và nuôi cấy thuần để thực hiện quá trình định danh vi khuẩn.

### 2.4. Phương pháp định danh vi khuẩn

Tổng số 22 chủng vi khuẩn đại diện (01 chủng/hộ thu mẫu) được lựa chọn để định danh tác nhân gây bệnh. Quan sát hình dạng vi khuẩn thuần sau nhuộm Gram dưới kính

hiển vi trong khi tính di động của vi khuẩn được xác định bằng phương pháp soi tươi; các phép thử catalase, oxidase được thực hiện theo hướng dẫn của Hugh & Leifson (1953) và Gagnon và cs. (1959). Một số đặc tính sinh hóa khác được đánh giá bằng bộ kit thử API 20 Strep (Biomerieux, Pháp) theo hướng dẫn của bộ kit, kết quả được đọc sau 24h thử.

Các chủng vi khuẩn sau khi được định danh thành công bằng phương pháp hình thái, sinh hoá, được tách chiết DNA để định danh bằng kỹ thuật PCR. DNA của vi khuẩn thuần được tách bằng bộ kit Instagen Matrix (Bio-rad, Mỹ) theo hướng dẫn trên bộ kit. Quá trình định danh bằng PCR vi khuẩn *S. agalactiae* sử dụng primer đặc hiệu, xác định sự có mặt của gene đích *Cfb* với trình tự đoạn mỗi xuôi F:AAGCGTGTATTCCAGATTTCCT và mỗi ngược R:CAGTAATCAAGCCCAGCAA, kích cỡ vùng gene đích là 474 bp (Li và cs., 2010). Hỗn dịch cho 1 phản ứng PCR có thể tích tổng 20 µL bao gồm 10 µL GoTaq® Green Master Mix (Promega, UK), 1,5 µL mỗi primer xuôi và ngược (nồng độ 10 µM), 3 µL mẫu DNA vi khuẩn, 4 µL nước tách DNA. Đối chứng dương là chủng chuẩn quốc tế *S. agalactiae* ATCC 51487, đối chứng âm là mẫu không DNA. Chu trình nhiệt được thiết đặt theo hướng dẫn của Li và cs. (2010).

Sản phẩm khuếch đại DNA được phân tích trên thiết bị điện di, sử dụng bản gel chứa 1,3% agarose được nhuộm bằng dung dịch Redsafe (Intron, Hàn Quốc). Hình ảnh điện di bản gel được chụp bằng thiết bị analytikjena (Upland, USA).

## 2.5. Phương pháp đánh giá hiện trạng kháng kháng sinh

Tất cả các chủng vi khuẩn sau định danh thành công được sử dụng để xác định mức độ nhạy/kháng đối với kháng sinh bằng phương pháp kháng sinh đồ (Bauer và cs., 1959). Nghiên cứu sử dụng 6 loại kháng sinh được phép sử dụng trong nuôi trồng thủy sản gồm: Amoxicillin (Ax, 10 µg), Doxycycline (Dx, 30 µg), Erythromycin (Er, 15 µg), Florfenicol (Fl, 20 µg) và Oxytetracycline (OTC, 30 µg), Sulfamethoxazole/Trimethoprim (Bt, 23,75/1,25

µg). Các tấm kháng sinh với hàm lượng tiêu chuẩn được sử dụng của hãng Oxoid (Thermo Fisher Scientific, UK).

Vi khuẩn sau nuôi cấy trên thạch TSA 24h ở 28°C được thu vào ống eppendorf 1 mL chứa PBS. Dịch vi khuẩn được điều chỉnh về mức 0,5 theo thang chuẩn McFarland, sau đó rĩa đều vi khuẩn lên bề mặt đĩa thạch Mueller Hinton Agar (MHA) bằng tấm bông đã được khử trùng (CLSI, 2015). Đặt các tấm kháng sinh tương ứng lên đĩa vi khuẩn và ủ ở nhiệt độ 28°C, kết quả vòng vô khuẩn được đo sau 36 h. Mức độ kháng/nhạy của từng loại kháng sinh được xác định dựa trên việc đối chiếu kết quả đo vòng vô khuẩn thu được với tiêu chuẩn CLSI (2015) để chia thành các mức: nhạy, nhạy trung bình, kháng.

## 2.6. Phương pháp xử lý số liệu

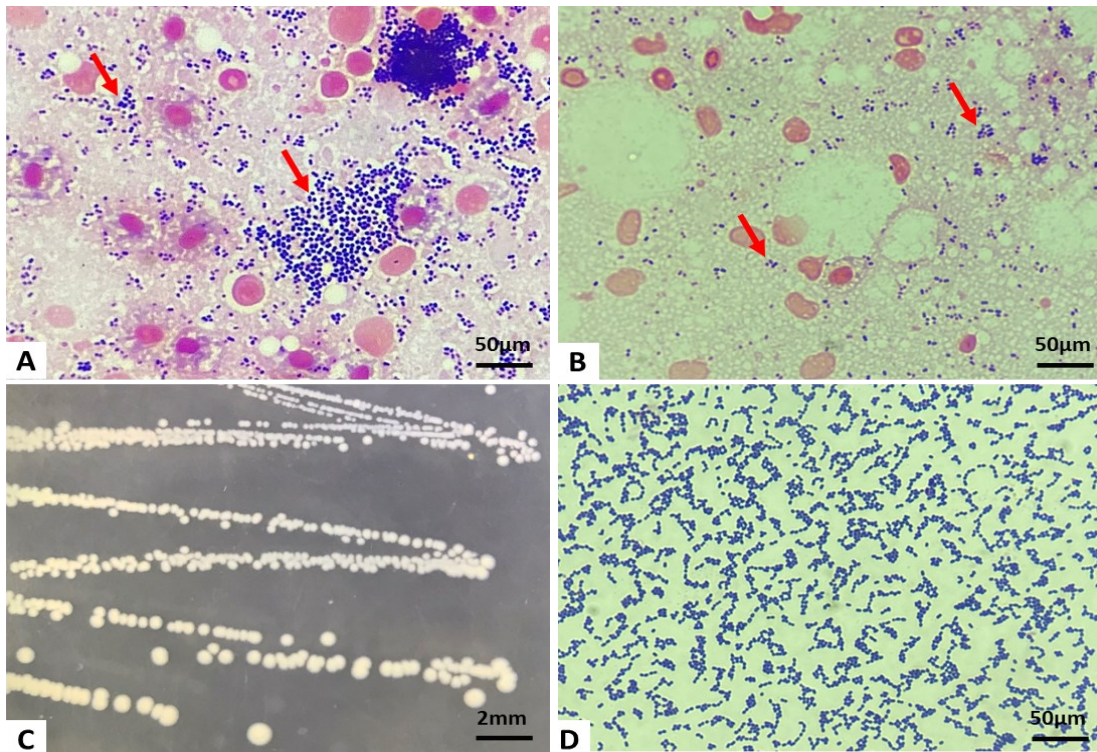
Số liệu về tỉ lệ mẫu cá xuất hiện các triệu chứng, bệnh tích đặc trưng, mức kháng/nhạy của các chủng vi khuẩn đối với kháng sinh được phân tích thống kê mô tả trên phần mềm Excel 2013.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Kết quả nuôi cấy, phân lập vi khuẩn

Kết quả nhuộm gram, soi tươi mẫu mô não và thận cá rô đồng có biểu hiện bệnh đều quan sát được sự xuất hiện của vi khuẩn Gram dương, dạng liên cầu khuẩn, nằm rải rác hoặc tập trung thành cụm lớn trong mô bào (Hình 1A, B). Ở một số mẫu cá bệnh còn quan sát được tế bào mô thận, não cá bị vi khuẩn xâm nhập, gây phá hủy và làm vỡ tế bào.

Quá trình nuôi cấy, phân lập vi khuẩn từ 63 mẫu cá có biểu hiện bệnh thu được 53 chủng vi khuẩn, là những chủng phát triển chiếm ưu thế có khuẩn lạc nhỏ, hình tròn, rìa đều, bóng, hơi lồi, màu kem, tâm hơi đậm, đường kính từ 0,1 – 0,5 mm phát triển sau 36h ở 28°C (Hình 1C). Nhuộm Gram vi khuẩn thuần quan sát được các chủng vi khuẩn Gram dương, hình cầu, liên kết thành dạng cặp hoặc chuỗi (Hình 1D). Các chủng vi khuẩn này được lưu giữ trong môi trường chứa glycerol để sử dụng trong nghiên cứu.



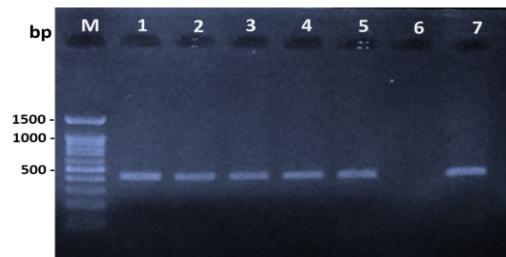
Hình 1. (A) Liên cầu khuẩn xâm nhập trong thận và não cá; (B) khi quan sát mẫu mô nhuộm gram; (C) Vi khuẩn thuần phát triển trên thạch TSA; (D) Hình dạng vi khuẩn thuần

### 3.2. Kết quả định danh vi khuẩn

Lựa chọn đại diện 22 chủng vi khuẩn thuần phân lập được từ cá rô đồng có biểu hiện bệnh (01 chủng/hộ thu mẫu) để đưa vào quá trình định danh. Kết quả thử đặc tính sinh hoá cho thấy 22 chủng vi khuẩn đều có các đặc tính sinh hoá tương đồng nhau, được thể hiện như trong Bảng 1. Khi tra cứu trên hệ thống APIWEB cho kết quả định danh bằng hình thái, sinh hoá là *S. agalactiae*. Các đặc điểm hình thái, sinh hoá ghi nhận được của các chủng vi khuẩn phân lập từ cá rô đồng trong nghiên cứu này tương đồng với các đặc tính của các chủng *S. agalactiae* phân lập từ cá rô đồng và cá rô phi đã được báo cáo trong các nghiên cứu trước (Buller, 2004; Đặng Thị Hoàng Oanh & Nguyễn Thanh Phương, 2012; Nguyễn Ngọc Phước và cs., 2019; Salvador và cs., 2005; Trương Đình Hoài và cs., 2014), đồng thời tương đồng với các đặc điểm ghi nhận được ở chủng đối chứng *S. agalactiae* ATCC 51487.

Quá trình giám định PCR đối với 22 chủng vi khuẩn sau định danh bằng hình thái,

sinh hoá thu được kết quả tất cả 22 chủng đều dương tính với đoạn gene xác định loài *S. agalactiae*, vạch band xuất hiện ở vị trí khoảng 474 bp, trùng với vị trí xuất hiện vạch band của chủng đối chứng dương *S. agalactiae* ATCC 51487 (Hình 2). Kết hợp các kết quả định danh bằng sinh hoá và giám định PCR cho thấy 22/22 chủng vi khuẩn phân lập được từ cá rô đồng có biểu hiện bệnh là *S. agalactiae*.



Hình 2. Hình ảnh điện di một số chủng *S. agalactiae* đại diện phân lập được từ cá rô đồng nhiễm bệnh trong nghiên cứu

M: Marker; giếng 1 – 5: 5 chủng *S. agalactiae* đại diện trong nghiên cứu; giếng 6: đối chứng âm; giếng 7: đối chứng dương, chủng *S. agalactiae* ATCC 51487.

**Bảng 1. Kết quả xác định đặc tính hình thái, sinh hóa của 22 chủng vi khuẩn *S. agalactiae* phân lập từ cá rô đồng**

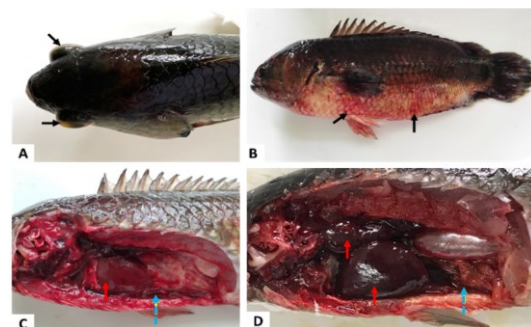
| Đặc tính hình thái, sinh hoá | Chủng <i>S. agalactiae</i> phân lập từ cá rô đồng (n = 22) | Chủng chuẩn <i>S. agalactiae</i> ATCC 51487 |
|------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| Nhuộm Gram                   | Gram (+)                                                   | Gram (+)                                    |
| Hình dạng                    | Cầu khuẩn                                                  | Cầu khuẩn                                   |
| Di động                      | –                                                          | –                                           |
| Sinh catalaza                | –                                                          | –                                           |
| Sinh oxidase đường máu       | –                                                          | –                                           |
| Phản ứng lên men yếm khí     | –                                                          | –                                           |
| Phản ứng lên men hiếu khí    | –                                                          | –                                           |
| Mọc trên môi trường máu      | –                                                          | –                                           |
| Gây tan huyết dạng $\beta$   | +                                                          | +                                           |
| Phản ứng Voges-Proskauer     | +                                                          | +                                           |
| Hippurate hydrolysis         | +                                                          | +                                           |
| Bile-esculin tolerance       | –                                                          | –                                           |
| Pyrolidonyl arylamidase      | –                                                          | –                                           |
| Sinh $\alpha$ -galactosidase | –                                                          | –                                           |
| Sinh $\beta$ -glucuronidase  | –                                                          | –                                           |
| Sinh $\beta$ -galactosidase  | –                                                          | –                                           |
| Alkaline phosphatase         | +                                                          | +                                           |
| Leucine AminoPeptidase       | +                                                          | +                                           |
| Arginine Dihydrolase         | +                                                          | +                                           |
| Sử dụng đường                | –                                                          | –                                           |
| Ribose                       | –                                                          | –                                           |
| Arabinose                    | –                                                          | –                                           |
| Manitol                      | –                                                          | –                                           |
| Sorbitol                     | –                                                          | –                                           |
| Lactose                      | +                                                          | +                                           |
| Trehalose                    | –                                                          | –                                           |
| Inulin                       | –                                                          | –                                           |
| Raffinose                    | –                                                          | –                                           |
| Amidon                       | –                                                          | –                                           |
| Glycogen                     | –                                                          | –                                           |

### 3.3. Kết quả tổng hợp triệu chứng, bệnh tích cá rô đồng nhiễm *S. agalactiae*

Kết quả tổng hợp từ 53 mẫu cá rô đồng nhiễm *S. agalactiae*, sau khi đã phân lập và định danh được tác nhân gây bệnh, ghi nhận được triệu chứng điển hình trên cá bệnh là xuất huyết gốc vây và trên da (69,8%); cơ thể sẫm màu, thay đổi màu sắc (77,4%). Dấu hiệu mất lồi đục và xuất huyết xuất hiện ở khoảng 52,8% số mẫu (Bảng 2; Hình 3). Kết quả giải phẫu xác định được từ 22,6 – 58,5% số mẫu cá rô đồng nhiễm *S. agalactiae* có các biểu hiện sưng và xuất huyết não và các cơ quan nội tạng; bụng chướng và tích dịch.

**Bảng 2. Kết quả triệu chứng, bệnh tích trên cá rô đồng nhiễm *S. agalactiae***

| Cơ quan         | Triệu chứng, bệnh tích                      | Số cá có biểu hiện (n= 53) | Tỉ lệ (%) |
|-----------------|---------------------------------------------|----------------------------|-----------|
|                 |                                             |                            |           |
| Mắt             | Xuất huyết, lồi đục trắng                   | 28                         | 52,8      |
| Não             | Xung mềm, xuất huyết                        | 18                         | 34,0      |
| Gan, thận, lách | Sưng to, xuất huyết                         | 31                         | 58,5      |
|                 | Gan tụ huyết                                | 13                         | 24,5      |
| Xoang bụng      | Bụng chướng, phình to, tích dịch xoang bụng | 12                         | 22,6      |
| Da              | Xuất huyết                                  | 37                         | 69,8      |
|                 | Sẫm màu, thay đổi màu sắc                   | 41                         | 77,4      |



**Hình 3. Triệu chứng, bệnh tích trên cá rô đồng nhiễm vi khuẩn *S. agalactiae***

A – Mắt cá lồi đục; B – Xuất huyết da, gốc vây; C, D – Nội quan sưng, xuất huyết, tụ huyết (mũi tên đỏ, liền nét) và tích dịch xoang bụng (mũi tên xanh, đứt nét)

Trong những năm gần đây, bệnh lồi mắt hay cá đeo kính đang xảy ra nhiều và gây thiệt hại lớn cho các hộ nuôi cá rô đồng. Đây là các dấu hiệu đặc trưng được người nuôi nhận biết về bệnh do vi khuẩn *S. agalactiae* gây ra và đã được nhiều nhóm nghiên cứu báo cáo trên các đối tượng nuôi khác nhau như bệnh lồi, nổi mắt ở cá trắm đen (Kim Văn Vạn & Trương Đình Hoài, 2021); xuất huyết ở cá rô đồng (Đặng Thị Hoàng Oanh và cs., 2012); lồi mắt, xuất huyết trên da và nội quan ở cá rô phi (Đoàn Thị Ninh và cs., 2023; Trương Đình Hoài và cs., 2014). Đặc điểm điển hình này trên cá nhiễm *S. agalactiae* là do vi khuẩn là tấn công và gây bệnh ở mắt và não cá, gây đục, lồi mắt, sưng, xuất huyết các cơ quan này. Ngoài ra, vi khuẩn cũng xâm nhập các cơ quan nội tạng, gây sưng, xuất huyết, tụ huyết ở các mô bào. Như vậy, cá rô đồng nhiễm *S. agalactiae* có các dấu hiệu lâm sàng khá tương đồng với đặc điểm bệnh lý ở các loài cá nước ngọt khác.

### 3.4. Kết quả thử mức độ kháng kháng sinh

Kết quả thử mức độ kháng kháng sinh bằng phương pháp kháng sinh đồ đối với 6 loại kháng sinh thường dùng trong thủy sản cho thấy không có chủng vi khuẩn nào kháng với 2 loại kháng sinh Amoxicillin và Doxycycline, tỉ lệ chủng nhạy với kháng sinh này lần lượt là 86,3% và 72,7%. Các chủng thể hiện mức kháng cao nhất đối với kháng sinh kết hợp Sulfamethoxazole/Trimethoprim với 40,9% số chủng kháng. Trong khi đó, mức kháng đối với 3 loại kháng sinh Erythromycin, Florfenicol, Oxytetracycline là từ 13,6 – 27,2% số chủng (Bảng 3).

**Bảng 3. Kết quả thử kháng sinh đồ đối với 22 chủng *S. agalactiae* phân lập từ cá rô đồng**

| Tên kháng sinh                | Số lượng chủng (%) (n=22) |                 |          |
|-------------------------------|---------------------------|-----------------|----------|
|                               | Nhạy                      | Nhạy trung bình | Kháng    |
| Amoxicillin                   | 19 (86,3)                 | 3 (13,6)        | 0        |
| Doxycycline                   | 16 (72,7)                 | 6 (27,2)        | 0        |
| Erythromycin                  | 12 (54,5)                 | 7 (31,8)        | 3 (13,6) |
| Florfenicol                   | 10 (45,4)                 | 8 (36,3)        | 4 (18,1) |
| Oxytetracycline               | 10 (45,4)                 | 6 (27,2)        | 6 (27,2) |
| Sulfamethoxazole/Trimethoprim | 9 (40,9)                  | 4 (18,1)        | 9 (40,9) |

Trong số 6 loại kháng sinh sử dụng trong nghiên cứu, Sulfamethoxazole/Trimethoprim là loại kháng sinh thường dùng để điều trị bệnh do liên cầu khuẩn trong nuôi thủy sản. Mức kháng cao của các chủng vi khuẩn *S. agalactiae* gây bệnh trên cá rô đồng đối với loại kháng sinh này ghi nhận được trong nghiên cứu có thể do trong quá trình nuôi, người nuôi đã sử dụng không đúng liều lượng và phương pháp dẫn đến gia tăng dần mức kháng. Ngoài ra, nghiên cứu cũng ghi nhận mức kháng tương đối cao của vi khuẩn đối với Oxytetracycline, tương đồng với báo cáo của các nhóm nghiên cứu Dangwetngam và cs. (2016) ở Thái Lan và Chideroli và cs. (2017) ở Brazil đối với vi khuẩn *S. agalactiae* gây bệnh trên cá rô phi. Những chủng này được xác định mang gene kháng Oxytetracycline (tet(M) gene). Mặc dù nghiên cứu hiện tại không xác định gene kháng OTC của các chủng vi khuẩn *S. agalactiae*, nhưng có thể những chủng gây bệnh trên cá rô đồng thu được trong nghiên cứu đã mang gene kháng

thuốc và dẫn đến khả năng suy giảm hiệu quả khi sử dụng các loại kháng sinh này để điều trị khi cá nhiễm bệnh.

### 4. KẾT LUẬN

Vi khuẩn *S. agalactiae* gây bệnh trên cá rô đồng có các đặc tính hình thái, sinh hoá tương đồng với chủng gây bệnh trên cá trắm đen, rô phi và gây ra triệu chứng, bệnh tích đặc trưng là xuất huyết bên ngoài, nội quan, mắt lồi, đục tương tự như biểu hiện bệnh trên các loài cá khác. Các chủng vi khuẩn phân lập được trong nghiên cứu có mức kháng cao nhất đối với kháng sinh Sulfamethoxazole/Trimethoprim và mức nhạy cao nhất đối với 2 loại kháng sinh Amoxicillin và Doxycycline.

### LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Học viện Nông nghiệp Việt Nam đã hỗ trợ kinh phí để thực hiện các nội dung nghiên cứu (Mã số đề tài SV2023-12-59), đồng thời cảm ơn sự hỗ trợ của các sinh viên, học viên khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam, các hộ nuôi cá rô đồng ở Hà Nội, Hưng Yên và Hải Dương trong quá trình thu mẫu phục vụ nghiên cứu.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bauer, A. W., Perry, D., M., & Kirby, W., M. M. (1959). Single-Disk Antibiotic-Sensitivity Testing of Staphylococci: An Analysis of Technique and Results. *A.M.A. Archives of Internal Medicine*, 104(2), 208-216.
- Buller, N., B. (2004). *Bacteria from fish and other aquatic animals: A practical identification manual*. CABI Publishing.
- Chideroli, R., T., Amoroso, N., Mainardi, R., M., Suphoronski, S., A., de Padua, S., B., Alfieri, A., F., Alfieri, A., A., Mosela, M., Moralez, A., T., P., de Oliveira, A., G., Zanolio, R., Di Santis, G., W., & Pereira, U., P. (2017). Emergence of a new multidrug-resistant and highly virulent serotype of *Streptococcus agalactiae* in fish farms from Brazil. *Aquaculture*, 479, 45-51.
- CLSI. (2015). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (Twenty-Fifth Informational Supplement) [CLSI document M100-S25].
- Dangwetngam, M., Suanyuk, N., Kong, F., & Phromkunthong, W. (2016). Serotype

- distribution and antimicrobial susceptibilities of *Streptococcus agalactiae* isolated from infected cultured tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Thailand: Nine-year perspective. *Journal of Medical Microbiology*, 65(3), 247-254.
- Đặng Thị Hoàng Oanh, Nguyễn Đức Hiền & Trương Quỳnh Như. (2012). Phân lập và xác định khả năng gây bệnh xuất huyết trên cá rô đồng (*Anabas testudineus*) của vi khuẩn *Streptococcus agalactiae*. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 22c, 194-202.
- Đặng Thị Hoàng Oanh & Nguyễn Thanh Phương. (2012). Phân lập và xác định đặc điểm của vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* từ cá điêu hồng (*Oreochromis* sp.) gây bệnh mù mắt và xuất huyết. *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, 22c, 203-212.
- Đoàn Thị Ninh, Nguyễn Vũ Sơn, Đặng Thị Hóa, Nguyễn Thị Thuý Hằng, Ngô Phú Thoá, Nguyễn Thị Hương Giang, Kim Văn Vạn, Đặng Thị Lựa & 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.
- Evans, J., J., Bohnsack, J., F., Klesius, P., H., Whiting, A., A., Garcia, J., C., Shoemaker, C., A., & Takahashi, S. (2008). Phylogenetic relationships among *Streptococcus agalactiae* isolated from piscine, dolphin, bovine and human sources: A dolphin and piscine lineage associated with a fish epidemic in Kuwait is also associated with human neonatal infections in Japan. *Journal of Medical Microbiology*, 57(11), 1369-1376.
- Gagnon, M., Hunting, W., M., & Esselen, W., B. (1959). New Method for Catalase Determination. *Analytical Chemistry*, 31(1), 144-146.
- Hugh, R., & Leifson, E. (1953). The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *Journal of Bacteriology*, 66(1), 24-26.
- Kim Văn Vạn & Trương Đình Hoài. (2021). Tác nhân gây bệnh đỏ mắt ở cá trắm đen (*Mylopharyngodon piceus*) và kết quả điều trị. *Tạp chí Khoa học Kỹ thuật Thú y*, 28(6), 52-58.
- Klingklib, C., & Suanyuk, N. (2017). *Streptococcus agalactiae* serotype Ib, an emerging pathogen affecting climbing perch (*Anabas testudineus*) and Günther's walking catfish (*Clarias macrocephalus*) polycultured in southern Thailand. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 47(2), 183-197.
- Li, J., Ye, X., Lu, M., Deng, G., Tian, Y., Jiang, X., & Li, J. (2010). Rapid identification of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae* with duplex PCR assay: Rapid identification of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus iniae* with duplex PCR assay. *Journal of Hunan Agricultural University*, 36(4), 449-452.
- Nguyễn Ngọc Phước, Trần Thị Nhật Anh & Nguyễn Thị Huệ 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 & Công nghệ Nông nghiệp - Trường Đại học Huế*, 3(3), 1591-1601.
- Salvador, R., Muller, E., E., Freitas, J., C., D., Leonhardt, J., H., Pretto-Giordano, L., G., & Dias, J., A. (2005). Isolation and characterization of *Streptococcus* spp. Group B in Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*) reared in hapas nets and earth nurseries in the northern region of Parana State, Brazil. *Ciência Rural*, 35(6), 1374-1378.
- Trương Đình Hoài, Đoàn Văn Vững, Đoàn Thị Ninh & Nguyễn Thị Hương Giang. (2021). Điều trị giun tròn *Camallanus anabantis* kí sinh trên cá rô đồng (*Anabas testudineus*) bằng Fenbendazole. *Tạp chí Khoa học kỹ thuật Thú y*, 2(28), 71-76.
- Trương Đình Hoài, Đoàn Văn Vững, Nguyễn Thị Hương Giang & Kim Văn Vạn. (2021). So sánh hiệu quả điều trị bệnh giun đầu gai *Pallisentis* spp. Trên cá rô đồng (*Anabas testudineus*) bằng levamisole và praziquantel. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*, 19(7), 894-900.
- Trương Đình Hoài, Nguyễn Vũ Sơn, Nguyễn Thị Hoài, Nguyễn Thị Mai Phương & Nguyễn Thị Hậu. (2014). Đặc điểm mô bệnh học của cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) nhiễm *Streptococcus* sp. Nuôi tại một số tỉnh miền bắc Việt Nam. *Tạp chí Khoa học và Phát triển*, 12(3), 360-371.