

Ngưỡng mật độ *Streptococcus agalactiae* gây bệnh Streptococcosis ở cá rô phi (*Oreochromis sp.*) nuôi ao nước ngọt

Trương Thị Mỹ Hạnh^{1*}, Nguyễn Thị Hạnh¹, Nguyễn Thị Minh Nguyệt¹,
Phạm Thị Yên¹, Lê Thị Mây¹, Võ Văn Nha², Đặng Thị Lụa¹

¹Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I

²Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản III

Ngày nhận bài 1/10/2021; ngày chuyển phản biện 5/10/2021; ngày nhận phản biện 1/11/2021; ngày chấp nhận đăng 5/11/2021

Tóm tắt:

Cá rô phi (*Oreochromis sp.*) là một trong những loài thủy sản nuôi chủ lực ở Việt Nam. Trong môi trường nước ngọt, bệnh cá rô phi chịu ảnh hưởng lớn nhất là do *Streptococcus agalactiae*, song thông tin về ngưỡng mật độ *S. agalactiae* gây ra ở loài cá này còn nhiều hạn chế. Mục đích của nghiên cứu này nhằm xác định ngưỡng mật độ *S. agalactiae* trong nước gây bệnh Streptococcosis (bệnh xuất huyết) ở cá rô phi nuôi và một số yếu tố môi trường có liên quan như nhiệt độ, DO, pH, NH₃, NO₂-N. Kết quả cho thấy, cá rô phi bệnh do *S. agalactiae* có biểu hiện bệnh lý điển hình khi ngưỡng mật độ *S. agalactiae* trong gan cá và nước ao nuôi dao động lần lượt trong khoảng 1,1x10⁷-2,9x10⁸ cfu/g và 1,0x10³-1,2x10⁴ cfu/ml. Cá nhiễm *S. agalactiae* nhưng không có biểu hiện bệnh lý khi ngưỡng mật độ *S. agalactiae* trong gan cá và nước dao động trong khoảng 1,3x10³-9,6x10⁵ cfu/g và 2,3x10¹-8,3x10¹ cfu/ml. Mật độ *S. agalactiae* trong nước, nhiệt độ, NH₃ và pH ảnh hưởng đến mật độ *S. agalactiae* trong cá. Xác suất bệnh xảy ra lớn nhất là 98,3% khi mật độ *S. agalactiae* trong nước ≥10³ cfu/ml, tiếp đến 71,4% khi nhiệt độ ≥31°C, 25,9% khi NH₃>0,1 mg/l, 14,01% khi NO₂-N>0,05 mg/l và thấp nhất là 0,07% khi DO<4 mg/l.

Từ khóa: bệnh Streptococcosis, cá rô phi, mật độ *S. agalactiae*.

Chỉ số phân loại: 4.5

Mở đầu

Cá rô phi là loài cá có giá trị kinh tế, thương mại và dinh dưỡng quan trọng [1]. Sản lượng cá rô phi tăng tỷ lệ thuận theo thời gian trong khoảng 30 năm qua kể từ năm 1992. Năm 2019, sản lượng đạt 6,5 triệu tấn, tăng 4% so với năm 2018 và dự kiến tăng lên 7,3 triệu tấn vào năm 2030 [2, 3]. Cá rô phi là đối tượng nuôi thủy sản có nhiều ưu điểm như sinh trưởng nhanh, dễ nhân giống, có thể sinh trưởng và phát triển ở biên độ giao động môi trường lớn (nhiệt độ, độ mặn), dễ chuyển đổi thức ăn bổ sung [1], song còn hạn chế như dịch bệnh vẫn diễn ra trong quá trình nuôi, đặc biệt là bệnh Streptococcosis. Bệnh Streptococcosis xuất hiện phổ biến trong vụ nuôi với tỷ lệ tử vong cao, gây thiệt hại nghiêm trọng về kinh tế, ảnh hưởng đến sản lượng cá rô phi trên toàn thế giới [4-6]. *S. agalactiae* là loài vi khuẩn phổ biến nhất gây bệnh Streptococcosis với tỷ lệ lưu hành chiếm 40-70% ở cá cá giai đoạn giống và thương phẩm [1], với tỷ lệ gây chết lên đến 90-100% [7, 8]. Biểu hiện chính bắt gặp cá nhiễm *S. agalactiae* là cá giảm ăn, bơi không định hướng, bơi vòng tròn, đục mắt, lồi mắt, giải phẫu nội tạng ghi nhận gan, lách sưng, bụng tích nhiều dịch lỏng [9, 10].

Bệnh xuất hiện ở cá khi có sự tương tác giữa động vật thủy sản, mầm bệnh (tác nhân) và môi trường sống (nước),

đồng thời mất cân bằng giữa 3 yếu tố này như cá yếu, giảm sức đề kháng, mật độ mầm bệnh gia tăng hay điều kiện môi trường bất lợi [11]. Một số yếu tố môi trường bất lợi có vai trò ý nghĩa gây bùng phát bệnh Streptococcosis ở cá như nhiệt độ, DO, NH₃, NO₂-N, H₂S, mật độ *Streptococcus sp.* [12, 13], độ kiềm, độ mặn [14]... Cá rô phi nhiễm bệnh do *S. agalactiae* gây ra thì điều kiện bắt buộc là sự hiện diện của *S. agalactiae* trong môi trường nước và sự xâm nhiễm của vi khuẩn này vào cơ thể cá. *S. agalactiae* khi có mặt trong môi trường nước sẽ nhanh chóng nhiễm lên vật chủ (cá) sống trong cùng môi trường và nhân tế bào lên ở da, đặc biệt ở cơ quan nội tạng với tỷ lệ cao (71,2%) [15]. *Streptococcus sp* có thể tồn tại trong thời gian dài trong nước, bùn ao, thậm chí ở cả các thiết bị/dụng cụ được sử dụng trong các hoạt động nuôi/sản xuất [7]. Vì vậy, mục đích của nghiên cứu này nhằm xác định ngưỡng mật độ *S. agalactiae* trong nước gây cá rô phi nhiễm bệnh Streptococcosis và một số yếu tố môi trường có liên quan như nhiệt độ, DO, pH, NH₃, NO₂-N. Kết quả nghiên cứu là cơ sở khoa học có ý nghĩa giúp xác định thời điểm áp dụng giải pháp kỹ thuật để giảm thiểu mật độ *S. agalactiae* cũng như cải thiện chất lượng môi trường nhằm hạn chế bùng phát bệnh.

*Tác giả liên hệ: Email: tmhanh@ria1.org

The density threshold of *Streptococcus agalactiae* causing Streptococcosis in tilapia (*Oreochromis* sp.) cultured in freshwater ponds

Thi My Hanh Truong^{1*}, Thi Hanh Nguyen¹,
Thi Minh Nguyet Nguyen¹, Thi Yen Pham¹,
Thi May Le¹, Van Nha Vo², Thi Lua Dang¹

¹Research Institute for Aquaculture No I

²Research Institute for Aquaculture No III

Received 1 October 2021; accepted 5 November 2021

Abstract:

Tilapia (*Oreochromis* sp.) is one of the key aquaculture species in Vietnam. In freshwater environments, tilapia is most affected by *S. agalactiae*, but information on *S. agalactiae* density threshold causes disease in tilapia has been limited. The purpose of this study was to determine the *S. agalactiae* density threshold causing disease Streptococcosis on tilapia and some related environmental factors such as DO, temperature, pH, NH₃, NO₂-N. The results showed that *S. agalactiae* causes tilapia had typical pathological manifestations when the density of *S. agalactiae* in fish liver and pond water fluctuated in the range of 1.1x10⁷-2.9x10⁸ cfu/g and 1.0x10³-1.2x10⁴ cfu/ml, respectively. Fish infected with *S. agalactiae* showed no pathological symptoms when the *S. agalactiae* density in fish liver and water ranged from 1.3x10³-9.6x10⁵ cfu/g and 2.3x10¹-8.3x10¹ cfu/ml, respectively. The density of *S. agalactiae* in water, temperature, NH₃, and pH affected the density of *S. agalactiae* in fish. The highest probability of disease occurrence was 98.3% when the density of *S. agalactiae* in water was ≥10³ cfu/ml, followed by 71.4% when the temperature was ≥31°C, 25.9% when NH₃>0.1 mg/l, 14.01% in case NO₂-N>0.05 mg/l, and the lowest was 0.07% when DO<4 mg/l.

Keywords: Streptococcosis, *Streptococcus agalactiae* density, tilapia.

Classification number: 4.5

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 4/2021 đến tháng 9/2021 trên 108 mẫu cá thương phẩm và 108 mẫu nước ao nuôi cá rô phi nước ngọt (54 mẫu tại các ao cá không có biểu hiện bệnh lý và 54 mẫu tại các ao cá có biểu hiện bệnh lý) ở tỉnh Hải Dương. Mẫu được phân tích tại Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thủy sản miền Bắc, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản I.

Phương pháp thu và bảo quản mẫu

Đối với mẫu nước: mẫu nước phân tích các chỉ tiêu NO₂-N, NH₃, mật độ *S. agalactiae* được thu trong khoảng thời gian 7-9 giờ sáng, chứa trong chai nhựa. Nước được thu tại 3 vị trí theo đường chéo của ao. Tất cả các mẫu đều được ghi chú cẩn thận và giữ lạnh (4-8°C) trong suốt quá trình vận chuyển đến khi phân tích. Yếu tố pH, DO, nhiệt độ được đo tại hiện trường bằng máy YSI Pro 1020.

Đối với mẫu cá: cá rô phi thu mẫu (gồm cá rô phi vằn, cá rô phi dòng Gift và cá rô phi Đường nghiệp) có biểu hiện bệnh điển hình được thu 3-5 mẫu trên mỗi ao và cá không có biểu hiện bệnh thu 1 mẫu trên mỗi ao, tất cả các mẫu cá được thu khi cá còn sống/yếu. Cá được bảo quản lạnh (4-8°C) trong suốt quá trình vận chuyển đến khi phân tích. Tổng số mẫu thu phân tích là 108 mẫu cá và 108 mẫu nước thu tại 58 hộ nuôi (mỗi hộ nuôi thu 1-3 ao tùy thuộc vào số lượng ao nuôi và số lượng ao có cá biểu hiện bệnh).

Phương pháp phân tích mẫu

Tại phòng thí nghiệm các thông số nêu trên được phân tích theo phương pháp chuẩn. Hàm lượng NH₃ phân tích theo SMEWW 4500-NH₃ F:2011. Phân tích NO₂-N theo phương pháp SMEWW 4500-NO₂ B 2011. Xác định cá rô phi nuôi nhiễm bệnh do *S. agalactiae* bằng nuôi cấy giám định loài bằng test API 20Strep. Định lượng mật độ *S. agalactiae* trong nước và gan cá rô phi theo phương pháp Buller (2004) với môi trường chọn lọc Chromogenic Strepto B.

Phương pháp phân tích số liệu

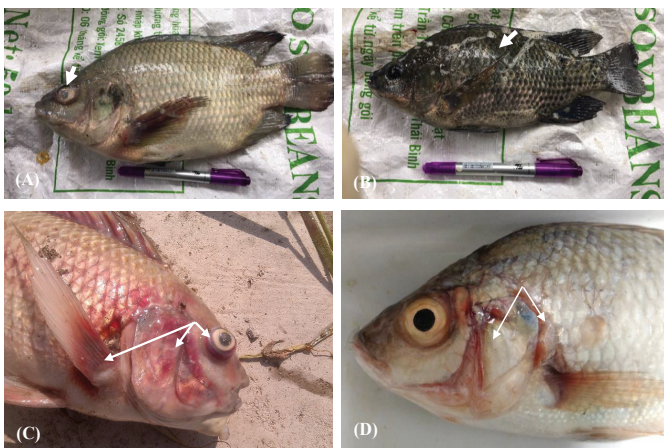
Sử dụng phần mềm SPSS 23 phân tích thống kê, tương quan (Pearson), hồi quy tuyến tính bội (Regression) và xác suất xảy ra cá bệnh với biến phụ thuộc là mật độ *S. agalactiae* trong nước, nhiệt độ, NO₂-N, NH₃, pH và DO, biến phụ thuộc là cá bệnh do *S. agalactiae*/mật độ *S. agalactiae* trong cá.

Kết quả và bàn luận

Ngưỡng *S. agalactiae* gây bệnh Streptococcosis ở cá rô phi nuôi

Kết quả phân tích 54 mẫu cá rô phi nuôi ao nước ngọt có dấu hiệu bệnh cho thấy có 35 mẫu dương tính với *S.*

agalactiae, chiếm 64,8%. Mẫu cá có biểu hiện bệnh được ghi nhận bao gồm các dấu hiệu như giảm ăn, bỏ ăn, xuất huyết nắp mang, gốc vây, lồi mắt, đục mắt, thân cá màu sậm/tối màu (hình 1), bơi không định hướng, gan thận sưng, ruột không có thức ăn. Ghi nhận biến đổi bệnh lý của bệnh trong nghiên cứu này trùng hợp với kết quả nghiên cứu bệnh lý *S. agalactiae* gây ra ở cá rô phi trong điều kiện nuôi thực địa [13, 16, 17]. Bên cạnh đó, có 19 mẫu có biểu hiện bệnh lý giảm ăn, bỏ ăn, lồi mắt, đục mắt song kết quả âm tính với *S. agalactiae*, đây cũng là dấu hiệu điển hình đối với cá rô phi nhiễm bệnh do TiLV gây ra [18, 19]. Tác nhân gây bệnh *S. agalactiae* và TiLV đều gây tổn thương điển hình liên quan đến mắt (đục mắt, lồi mắt), vì vậy chẩn đoán bệnh bằng mô tả dấu hiệu bệnh lý là chưa đủ cơ sở, cần tiến hành chẩn đoán bằng nuôi cấy, phân lập vi khuẩn. Điều này được minh chứng rõ ở kết quả nghiên cứu này khi phân tích 54 mẫu có biểu hiện bệnh lý song có đến 19 mẫu không do *S. agalactiae* gây ra. Ở mẫu cá dương tính với *S. agalactiae* bằng kỹ thuật nuôi cấy, nhuộm gram và thử sinh hóa API 20Strep (hình 2B và 2C), kết quả xác định mật độ *S. agalactiae* trong gan cá và nước ao nuôi cá dao động lần lượt trong khoảng $1,1 \times 10^7 - 2,9 \times 10^8$ cfu/g và $1,0 \times 10^3 - 1,2 \times 10^4$ cfu/ml (bảng 1, hình 2A). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Huicab Pech và cs (2016) [1], Ahmed và Uddin (2005) [20] khi chỉ ra mật độ *Streptococcus* sp. trong một số cơ quan của cá rô phi bệnh như ở mang cá ($8,7 \pm 1,9 \times 10^5 - 2,1 \pm 0,9 \times 10^6$ cfu/g), đường ruột ($2,8 \pm 2,4 \times 10^7 - 1,0 \pm 1,6 \times 10^8$ cfu/g) và trong nước ($1,4 \pm 1,5 \times 10^3 - 8,6 \pm 2,7 \times 10^3$ cfu/ml). Mật độ *Streptococcus* sp. sẽ thay đổi tùy thuộc vào hoạt động trao đổi chất của cá và liên quan đến nhiệt độ môi trường nước [3, 20]. Đây cũng là cơ sở phù hợp với các nghiên cứu gây nhiễm *S. agalactiae* lên cá rô phi đã ghi nhận với nồng độ là $1,1 \times 10^7 - 1,5 \times 10^8$ cfu/cá, cá gây nhiễm có biểu hiện bệnh lý và chết sau 24-168 giờ, tỷ lệ chết tích lũy 67-90% sau 7 ngày [21, 22], trong khi đó, tỷ lệ cá chết không được ghi nhận khi tiêm ở nồng độ $10^4 - 10^5$ cfu/cá [22].



Hình 1. Biểu hiện bệnh lý cá bệnh (mũi tên). (A) Mắt cá đục; **(B)** Thân cá sẫm màu, **(C)** Lồi mắt, xuất huyết gốc vây, xuất huyết nắp mang; **(D)** Xuất huyết nắp mang.

Bảng 1. Mật độ *S. agalactiae* trong mẫu cá và nước nuôi.

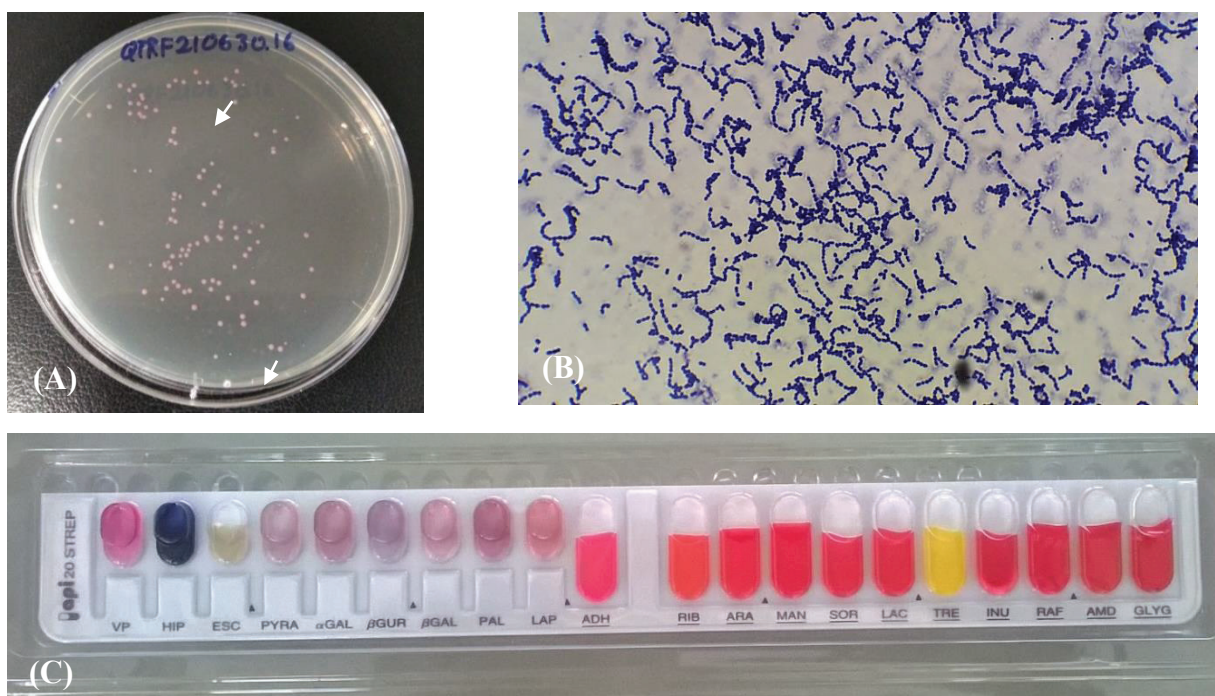
Loại mẫu	Số mẫu phân tích	<i>S. agalactiae</i> (mẫu nhiễm/ mẫu phân tích)	Mật độ <i>S. agalactiae</i> ^(*)					
			Trong gan cá (cfu/g)			Trong nước (cfu/ml)		
			Nhỏ nhất	Lớn nhất	Trung bình ⁽¹⁾	Nhỏ nhất	Lớn nhất	Trung bình ⁽¹⁾
Cá bệnh, nước nuôi cá ⁽²⁾	54 (cá)	35/54	1,1x10 ⁷	2,9x10 ⁸	10,3±1,8x10 ^{7(a)}	1,0x10 ³	1,2x10 ⁴	3,3x10 ⁴ ±433,3 ^(b)
	54 (nước)	54/54						
Cá không bệnh, nước nuôi cá ⁽³⁾	54 (cá)	9/54	1,3x10 ³	9,6x10 ⁵	15,8±9,2x10 ^{3(b)}	2,3x10 ¹	8,3x10 ¹	5,0x10 ¹ ±7,3 ^(b)
54 (nước)	10/54							

Ghi chú: (*): giá trị của mẫu có kết quả dương tính *S. agalactiae*; cfu (colony forming unit): đơn vị khuẩn lạc; ⁽¹⁾: giá trị trung bình ±Std (sai số chuẩn); ^{a, b}: trên cùng 1 cột chỉ sự khác nhau có ý nghĩa về mặt thống kê $p < 0,05$; ⁽²⁾: cá giảm ăn, bỏ ăn đồng thời kèm theo một trong số các dấu hiệu như xuất huyết nắp mang, gốc vây, lồi mắt, đục mắt, bơi không định hướng, thân cá sậm màu. Giải phẫu: gan thận sưng, ruột không có thức ăn. Nước thu chính ao có cá biểu hiện bệnh; ⁽³⁾: cá không có dấu hiệu bất thường ngoài cơ thể cũng như giải phẫu nội tạng. Nước thu ở ao thu cá không có biểu hiện bệnh.

Kết quả định lượng vi khuẩn *S. agalactiae* đối với 54 mẫu cá và 54 mẫu nước thu tại các ao cá có biểu hiện bình thường bằng quan sát cảm quan cho thấy, có 9/54 mẫu cá và 10/54 mẫu nước nhiễm *S. agalactiae*, theo đó, mật độ *S. agalactiae* trong gan cá giao động từ $1,3 \times 10^3$ đến $9,6 \times 10^5$ cfu/g và mật độ *S. agalactiae* trong nước tương ứng ở ao nuôi cá có kết quả nhiễm *S. agalactiae* là $2,3 \times 10^1$ đến $8,3 \times 10^1$ cfu/ml. Mật độ *S. agalactiae* trong gan cá và trong nước ở lô cá không có biểu hiện bệnh có sự khác biệt ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) đối với mật độ *S. agalactiae* trong gan cá và nước ở lô cá có biểu hiện bệnh lý (bảng 1). Như vậy, cá nhiễm *S. agalactiae* và có mật độ *S. agalactiae* trong gan cá đạt đến $9,6 \times 10^5$ cfu/g chưa đủ gây ra các biểu hiện bệnh lý điển hình (giảm ăn, bỏ ăn, xuất huyết, lồi mắt...), tuy nhiên đây là điều kiện thuận lợi để gây ra hiện tượng mất cân bằng (mật độ mầm bệnh gia tăng hay sức đề kháng của cá suy giảm) trong thời gian ngắn tiếp theo. Kết quả này có ý nghĩa quan trọng, chỉ ra thời điểm cần có can thiệp về kỹ thuật nhằm giảm mật độ *S. agalactiae* trong nước, đồng thời nâng cao sức đề kháng của cá nuôi, hạn chế tối đa trường hợp cá bệnh và chết do bệnh.

Một số yếu tố môi trường tác động tới ngưỡng mật độ *S. agalactiae* trong cá rô phi nuôi

Cá biểu hiện bệnh do *S. agalactiae* gây ra phụ thuộc vào mật độ *S. agalactiae* trong gan cá, với mật độ $10^7 - 10^8$ cfu/g cá có biểu hiện bệnh và cá không có biểu hiện bệnh khi mật độ *S. agalactiae* trong gan cá $\leq 9,6 \times 10^5$ cfu/g (bảng 1). Vì vậy, nghiên cứu đưa ra giả thiết mô hình gồm có 7 biến (mật độ *S. agalactiae* trong gan cá, mật độ *S. agalactiae* trong nước, nhiệt độ nước, pH, NO₂-N, NH₃ và DO), trong đó, mật độ *S. agalactiae* trong gan cá là yếu tố phụ thuộc và 6 yếu tố còn lại là các yếu tố/biến độc lập. Kết quả phân tích khảo



Hình 2. Vi khuẩn *S. agalactiae*. (A) Khuẩn lạc *S. agalactiae* trên môi trường chọn lọc (màu hồng cánh sen); (B) *S. agalactiae* bắt màu xanh tím khi nhuộm gram; (C) Các phản ứng sinh hóa sau 24 giờ (API 20Strep).

sát cho thấy, 6 biến độc lập có mức ảnh hưởng 60,3% đến mật độ *S. agalactiae* trong cá, còn lại 39,7% là do các biến ngoài mô hình. Điều đó có nghĩa, 6 yếu tố môi trường nuôi nêu trên trong mô hình có vai trò quan trọng ảnh hưởng đến *S. agalactiae* nhiễm và tăng sinh lên trong cá, gây cá bệnh. Điều này đúng với nguyên lý chung của bệnh ở động vật thủy sản, cụ thể vật nuôi bị bệnh khi có đồng thời 3 yếu tố xuất hiện, bao gồm tác nhân gây bệnh (*S. agalactiae*), tác động bất lợi của một hay một số yếu tố môi trường (mật độ *S. agalactiae* trong nước, nhiệt độ, pH, $\text{NO}_2\text{-N}$, NH_3 hay DO) và sự xuất hiện của vật nuôi/vật chủ (cá rô phi) trong môi trường nuôi [11, 19]. Hơn nữa, kết quả phân tích cho thấy, chỉ số DW=1,482 cho biết có sự tương quan thuận giữa các biến nêu trên trong mô hình (bảng 2). Bên cạnh đó, ở kết quả khảo sát cho thấy, giá trị $p=0,000<0,05$ (bảng 2), rõ ràng mô hình từ giả thiết hoàn toàn đảm bảo trong phân tích và đọc kết quả hồi quy đa biến. Kết quả phân tích hồi quy đa biến cho phép nghiên cứu xác định mức độ ảnh hưởng nhiều hay ít của từng yếu tố độc lập trong mô hình đến mật độ *S. agalactiae* trong cá.

Bảng 2. Khảo sát chung mối tương quan giữa mật độ *S. agalactiae* trong cá rô phi và một số yếu tố môi trường.

Mô hình	R ²	Durbin-Watson (DW)	F	P
1 ^(*)	0,603	1,482	21,705	0,000

(^{*}): mật độ *S. agalactiae* trong cá là biến phụ thuộc, nhiệt độ, pH, DO, NH_3 , $\text{NO}_2\text{-N}$, mật độ *S. agalactiae* trong nước là biến độc lập.

Phân tích tương quan giữa các yếu tố cụ thể trong mô hình cho thấy, mật độ *S. agalactiae* trong cá có mối tương quan chặt chẽ với mật độ *S. agalactiae* trong nước và nhiệt độ ($p=0,000<0,05$), tương quan với NH_3 và tương quan yếu với pH thông qua chỉ số p lần lượt đạt 0,012 và $0,047<0,05$ (bảng 3). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Mohammad và cs (2015) [12] khi chỉ ra nhiệt độ nước, pH, NH_3 có mối tương quan đáng kể với sự hiện diện của *S. agalactiae* trong cá nuôi. Minh chứng rõ thêm cho tương quan giữa *S. agalactiae* trong cá với nhiệt độ được thể hiện trong các nghiên cứu khi nêu bệnh Streptococcosis ở cá rô phi còn được gọi là bệnh nước ấm, do bệnh xuất hiện phổ biến khi nhiệt độ nước trên 27°C [15]. Ở Việt Nam, các đợt dịch bệnh Streptococcosis ở cá rô phi đều có liên quan đến nhiệt độ nước nuôi >30°C, với tỷ lệ chết >80% [12, 23].

Bên cạnh đó, xét về mối tương quan giữa các biến độc lập trong mô hình nhận thấy, mật độ *S. agalactiae* trong nước có tương quan với nhiệt độ, NH_3 và pH, mức độ tương quan với 3 yếu tố này tương tự như *S. agalactiae* trong cá (bảng 3). Nhiệt độ có mối tương quan mạnh với NH_3 và pH với $p=0,000<0,05$, NH_3 có tương quan với pH ($p=0,009$). Trong khi đó, DO và $\text{NO}_2\text{-N}$ không có mối tương quan với các yếu tố trong mô hình, bao gồm pH, $\text{NO}_2\text{-N}$, NH_3 , mật độ *S. agalactiae* trong cá và trong nước (bảng 3).

Bảng 3. Mối tương quan giữa các biến trong mô hình.

	Hệ số	Mật độ <i>S. agalactiae</i> trong nước	Nhiệt độ	NH ₃	pH	NO ₂ -N	DO
Mật độ <i>S. agalactiae</i> trong cá	r	0,427	0,624	0,240	0,192	0,122	0,026
	p	0,000	0,000	0,012	0,047	0,209	0,787
Mật độ <i>S. agalactiae</i> trong nước	r		0,524	0,256	0,170	0,069	0,067
	p		0,000	0,007	0,049	0,481	0,488
Nhiệt độ	r			0,334	0,477	0,147	0,114
	p			0,000	0,000	0,129	0,242
NH ₃	r				0,251	0,058	0,038
	p				0,009	0,554	0,693
pH	r					0,132	0,018
	p					0,172	0,854
NO ₂ -N	r						0,000
	p						0,996

Phân tích hồi quy tuyến tính của mô hình cho thấy chất lượng mối quan hệ của 6 biến độc lập (mật độ *S. agalactiae* trong nước, NH₃, NO₂-N, nhiệt độ, pH và DO) đối với biến phụ thuộc (mật độ *S. agalactiae* trong cá). Cụ thể, mật độ *S. agalactiae* trong nước có ảnh hưởng nhiều nhất đến sự thay đổi của biến phụ thuộc (*S. agalactiae* trong cá) với chỉ số Beta đạt 0,386, tiếp đến là yếu tố nhiệt độ, NH₃ và pH với chỉ số Beta lần lượt tương ứng 0,299, 0,195 và 0,146, trong khi đó NO₂-N và DO không ảnh hưởng đến mật độ *S. agalactiae* trong cá với giá trị Beta=0,021-0,105 và p>0,05 (bảng 4). Hơn nữa, giá trị VIF<2 cho thấy không có hiện tượng đa cộng tuyến trong mô hình.

Bảng 4. Kết quả phân tích hồi quy tuyến tính bội giữa nhiệt độ, pH, NO₂-N, NH₃, mật độ *S. agalactiae* trong nước và mật độ *S. agalactiae* trong cá.

Thông số	Beta chuẩn hóa	p	Thông kê cộng tuyến	
			Dung sai	VIF
Mật độ <i>S. agalactiae</i> trong nước	0,386	0,000	0,671	1,491
Nhiệt độ	0,299	0,001	0,508	1,969
NH ₃	0,195	0,006	0,848	1,179
pH	0,146	0,048	0,703	1,423
NO ₂ -N	0,105	0,111	0,958	1,044
DO	0,021	0,749	0,980	1,020

Từ mô hình hồi quy tuyến tính, tiếp tục phân tích dự đoán xác suất bệnh ở cá rô phi do *S. agalactiae* xảy ra trong một

số điều kiện bất lợi (bảng 5). Kết quả chỉ rõ, xác suất bệnh xảy ra lớn nhất là 98,3% khi mật độ *S. agalactiae* trong nước $\geq 10^3$ cfu/ml, tiếp đến 71,4% khi nhiệt độ $\geq 31^\circ\text{C}$, 25,9% khi NH₃>0,1 mg/l, 14,01% đối với trường hợp NO₂-N>0,05 mg/l và thấp nhất là 0,07% khi DO<4 mg/l. Kết quả nghiên cứu này trùng hợp với nghiên cứu của Trương Thị Mỹ Hạnh và cs (2021) [13] khi nêu mật độ *Streptococcus* sp. ($\geq 10^3$ cfu/ml), NH₃ (>0,1 mg/l), nhiệt độ (>30°C), pH (>8,5) và NO₂-N (>0,25 mg/l) là yếu tố nguy cơ gây cá bệnh Streptococcosis.

Bảng 5. Xác suất cá bệnh Streptococcosis với trường hợp môi trường khác nhau.

TT	Thông số	Đơn vị	Giá trị (khoảng giá trị)	Xác suất xảy ra cá bệnh Streptococcosis (%)
1	DO	mg/l	<4	0,07
2	NO ₂ -N	mg/l	>0,05 (0,095-2,7)	9,43
3	pH		>8,5	14,01
4	NH ₃	mg/l	>0,1 (0,15-0,4)	25,9
5	Nhiệt độ	°C	≥ 31 (31-33,8)	71,4
6	<i>S. agalactiae</i> trong nước	cfu/ml	$\geq 10^3$	98,3

Kết luận

Cá rô phi bệnh do *S. agalactiae* có biểu hiện bệnh lý điển hình khi ngưỡng mật độ *S. agalactiae* trong gan cá và trong nước ao nuôi giao động lần lượt trong khoảng $1,1 \times 10^7$ - $2,9 \times 10^8$ cfu/g và $1,0 \times 10^3$ - $1,2 \times 10^4$ cfu/ml. Cá nhiễm *S. agalactiae* nhưng không có biểu hiện bệnh lý khi ngưỡng mật độ *S. agalactiae* trong gan cá và trong nước giao động lần lượt từ $1,3 \times 10^3$ - $9,6 \times 10^5$ cfu/g và $2,3 \times 10^1$ - $8,3 \times 10^1$ cfu/ml.

Mật độ *S. agalactiae* trong nước, nhiệt độ, NH₃ và pH ảnh hưởng đến mật độ *S. agalactiae* trong cá. Xác suất bệnh xảy ra lớn nhất là 98,3% khi mật độ *S. agalactiae* trong nước $\geq 10^3$ cfu/ml, tiếp đến 71,4% khi nhiệt độ $\geq 31^\circ\text{C}$, 25,9% khi NH₃>0,1 mg/l, 14,01% đối với trường hợp NO₂-N>0,05 mg/l và thấp nhất là 0,07% khi DO<4 mg/l.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Z.G. Huicab Pech, et al. (2016), “Current state of Bacteria pathogenicity and their relationship with host and environment in *Tilapia Oreochromis niloticus*”, *Aquac. Res. Development.*, **7(5)**, pp.1-10.
- [2] <https://www.aquaculturealliance.org/advocate/goal-2019-global-finish-production-review-and-forecast/>.
- [3] World Bank (2013), *Fish to 2030, Prospects for Fisheries and Aquaculture*.
- [4] W. Yang, A. Li (2009), “Isolation and characterization of *Streptococcus agalactiae* from diseased *Acipenser schrenckii*”, *Aquaculture*, **294**, pp.14-17.

- [5] C.A. Shoemaker, P.H. Klesius (1997), "Streptococcal disease problem and control: a review", *International Symposium on Tilapia in Aquaculture*.
- [6] J.J. Evans, P.H. Klesius, C.A. Shoemaker (2006), "An overview of Streptococcus in warmwater fish", *Aquatic Health International Journal*, **7**, pp.10-14.
- [7] G.F. Mian, et al. (2009), "Aspects of the natural history and virulence of *S. agalactiae* infection in Nile tilapia", *Vet. Microbiol.*, **136**, pp.180-183.
- [8] M.G. Bondad Reantaso, et al. (2005), "Disease and health management in Asian aquaculture", *Vet. Parasitol.*, **132**, pp.249-272.
- [9] L.G. Preto Giordano, et al. (2010), "Evaluation of the pathogenesis of *Streptococcus agalactiae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)", *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **53**, pp.87-92.
- [10] F.A. Ali, et al. (2011), "Pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* isolated from a fish in Selangor to Juvenile red tilapia (*Oreochromis sp.*)", *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **10**, pp.914-919.
- [11] S.F. Snieszko (1975), "History and present status of fish diseases", *J. Wildl. Dis.*, **11(4)**, pp.446-459.
- [12] N.A.A. Mohammad, et al. (2015), "Water quality influences the presence of *Streptococcus agalactiae* in cage cultured red hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*", *Aquaculture Research*, **46**, pp.313-323.
- [13] Trương Thị Mỹ Hạnh, Phan Thị Vân, Lê Thị Mây, Nguyễn Hữu Nghĩa, Võ Văn Nha, Nguyễn Đình Xuân Quý, Đặng Thị Lụa (2021), "Yếu tố nguy cơ liên quan đến bệnh Streptococcosis ở cá rô phi nuôi trong nước ngọt", *Tạp chí Khoa học và Công nghệ Việt Nam*, **63(7)**, tr.42-47.
- [14] M.A.A. Amal, M. Zamri-Saad (2011), "Streptococcosis in Tilapia (*Oreochromis niloticus*): a review", *Trop. Agric. Sci.*, **32(2)**, pp.195-206.
- [15] E. Hernandez, J. Figueroa, C. Iregui (2009), "Streptococcosis on a red tilapia (*Oreochromis sp.*) farm: a case study", *J. Fish Dis.*, **32**, pp.247-252.
- [16] Amrullah, et al. (2018), "*Streptococcus agalactiae* whole cell bacteria toxin protein in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*", *AACL Bioflux*, **11(2)**, pp.460-468.
- [17] H. Anshary, et al. (2014), "Isolation and molecular identification of the etiological agents of Streptococcosis in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in net cages in lake Sentani, Papua, Indonesia", *Springerplus*, **3**, DOI: 10.1186/2193-1801-3-627. eCollection 2014.
- [18] M. Eyngor, et al. (2014), "Identification of a novel RNA virus lethal to tilapia", *Journal of Clinical Microbiology*, **52(12)**, pp.4137-4146.
- [19] https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/International_Standard_Setting/docs/pdf/A_TiLV_disease_card.pdf.
- [20] H.A. Ahmed, N. Uddin (2005), "Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) culture in brackish water in Saudi Arabia", *Aquaculture*, **250(3-4)**, pp.566-572.
- [21] J.J. Evans, et al. (2002), "Characterization of b-hemolytic group B *Streptococcus agalactiae* in cultured sea bream, *Sparus auratus* L., and wild mullet, *Liza klunzingeri*, in Kuwait", *Journal of Fish Diseases*, **25**, pp.505-513.
- [22] Trương Thị Mỹ Hạnh, Nguyễn Thị Hạnh, Nguyễn Hữu Nghĩa, Phạm Hồng Nhật, Chu Chí Thiết, Phan Thị Vân (2019), "Một số đặc điểm chính của *Streptococcus agalactiae* gây bệnh ở cá rô phi (*Oreochromis sp*) nuôi trong nước lợ", *Tạp chí Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn*, **12**, tr.73-79.