

ẢNH HƯỞNG CỦA MỘT SỐ YẾU TỐ MÔI TRƯỜNG LÊN SỰ PHÁT TRIỂN CỦA VI KHUẨN *Streptococcus iniae* GÂY BỆNH TRÊN CÁ CHIM VÂY VÀNG (*Trachinotus* spp.)

Nguyễn Công Thiết¹, Trương Anh Vũ¹, Lê Thị Lan Hương¹,
Đoàn Thị Ninh¹, Kim Minh Anh¹, Đặng Thị Hóa¹, Nguyễn Anh Tuấn², Trương Đình Hoài^{1*}

¹Khoa Thủy sản, Học viện Nông nghiệp Việt Nam
²Khoa Thủy sản, Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Huế

*Tác giả liên hệ: tdhoai@vnua.edu.vn

Ngày nhận bài: 16.07.2025

Ngày chấp nhận đăng: 17.09.2025

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của vi khuẩn *Streptococcus iniae* gây bệnh trên cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.) trong điều kiện *in vitro*. Mẫu cá chim vây vàng (n = 54) thu tại Quảng Ninh, Hải Phòng, Ninh Bình bị lồi mắt, xuất huyết được sử dụng để phân lập vi khuẩn, sau đó định danh bằng hình thái, đặc tính sinh hóa, kỹ thuật PCR và gây nhiễm thực nghiệm. Chủng *S. iniae* đại diện của mỗi tỉnh được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ, pH, độ mặn lên sự phát triển của chúng. Tổng 09 chủng *S. iniae* được phân lập và định danh thành công. Kết quả đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ, pH và độ mặn sau 36 giờ nuôi cấy của 03 chủng vi khuẩn *S. iniae* đại diện cho thấy chúng có thể phát triển ở nhiệt độ 15-45°C, nhiệt độ tối ưu là 25-40°C. Vi khuẩn phát triển tốt ở khoảng pH 6-8, tối ưu ở pH trung tính (pH = 7). Vi khuẩn *S. iniae* tồn tại và phát triển được ở độ mặn 0-60‰, tuy nhiên khả năng phát triển của chúng có xu hướng giảm dần khi tăng dần độ mặn. Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin và cơ sở khoa học để xây dựng giải pháp phòng bệnh do vi khuẩn *S. iniae* trên cá chim vây vàng.

Từ khóa: *Streptococcus iniae*, phát triển, yếu tố môi trường, cá chim vây vàng.

Influence of Environmental Factors on the Growth of *Streptococcus iniae* Isolated from Diseased Pompano (*Trachinotus* spp.)

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the impact of key environmental factors on the growth of *Streptococcus iniae*, a pathogenic bacterium affecting Pompano (*Trachinotus* spp.), under *in vitro* conditions. Fish samples (n = 54) exhibiting exophthalmia and hemorrhages, collected from Quang Ninh, Hai Phong, and Ninh Binh, were used for bacterial isolation. Bacterial identification was performed through morphological analysis, biochemical characterization, PCR techniques, and experimental infection. A representative *S. iniae* isolates from each province was utilized to assess the effects of temperature, pH, and salinity on bacterial growth. A total of nine *S. iniae* strains were successfully isolated and identified. The evaluation of environmental influences after 36 hours of cultivation on three representative isolates revealed that *S. iniae* can grow within a temperature range of 15-45°C, with optimal growth observed between 25-40°C. The bacteria grow well at pH of 6-8, with optimal at neutral pH (pH = 7). Additionally, *S. iniae* can survive and develop at salinities ranging from 0 to 60‰. However, its growth capacity tends to decline gradually with increasing salinity. The findings provide a scientific basis for developing strategies to prevent *S. iniae*-related diseases in pompano fish.

Keywords: *Streptococcus iniae*, bacterial growth, environmental factors, pompano.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.) là đối

tượng nuôi quan trọng trong ngành thủy sản, có phổ thức ăn rộng, cường độ bắt mồi mạnh, có khả năng chống chịu tốt với điều kiện nuôi mật

Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của vi khuẩn *Streptococcus iniae* gây bệnh trên cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.)

độ cao; dễ nuôi, chi phí nuôi thấp, đặc biệt thịt trắng, ít xương dăm, giàu dinh dưỡng, phù hợp cho chế biến xuất khẩu và được thị trường ưa chuộng (Linga Prabu & cs., 2021). Cá chim vây vàng là loài rộng muối, có thể sống ở độ mặn từ 2-45 ‰, oxy hoà tan trên 2,5 mg/l, nhiệt độ phù hợp từ 22-30°C (Trần Thị Mai Hương & cs., 2017). Việt Nam có bờ biển dài, thuận lợi cho nuôi các loài cá biển nói chung và cá chim vây vàng nói riêng, các tỉnh ven biển hiện nay đều có xu hướng phát triển nuôi cá chim vây vàng như một hướng phát triển tiềm năng mới, mang lại hiệu quả kinh tế cao, được định hướng phát triển mở rộng quy mô, gia tăng sản lượng nuôi để dần trở thành một trong những loài nuôi biển chủ lực tại Việt Nam (Lê Quốc Việt & cs., 2022).

Một trong những thách thức lớn trong nuôi cá chim vây vàng là sự bùng phát dịch bệnh do vi khuẩn gây ra (Feng & cs., 2021). Trong đó, vi khuẩn *Streptococcus iniae* đã được xác định là tác nhân gây ra các vụ dịch lớn với tỷ lệ chết cao ở cá chim vây vàng và nhiều loài cá biển khác, dẫn đến thiệt hại lớn cho ngành nuôi trồng thủy sản trên toàn cầu (Heckman, 2021). *S. iniae* là vi khuẩn Gram dương, dạng liên cầu và có khả năng gây dung huyết. Các nhiễm bệnh thường có triệu chứng là mù mắt, bơi không định hướng, viêm màng não, xuất huyết nội tạng, nhiễm trùng huyết, tổn thương gan, thận và các nội quan, giảm sức đề kháng của cá, kết hợp với điều kiện môi trường bất lợi có thể gây chết hàng loạt (Trần Vĩ Hích & cs., 2018; Ma & cs., 2024). *S. iniae* liên tục được báo cáo gây bệnh cho các đối tượng sống ở nước mặn, lợ và nước ngọt, đặc biệt là ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới (Pan & cs., 2024).

Cho đến nay, *S. iniae* đã được xác định gây bệnh trên nhiều loài cá khác nhau kể cả cá nước ngọt và cá biển như ở cá đĩa (*Siganus canaliculatus*) (Locke, 2008), cá hồi vân (*Oncorhynchus mykiss*) (Namrudi & cs., 2023), cá chêm (*Lates calcarifer*) (Awate & cs., 2023), cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.) (Xiong & cs., 2023), cá tráp đầu vàng (*Sparus aurata*), cá vược châu Âu (*Dicentrarchus labrax*) và cá đĩa hoang dã (*Siganus rivulatus*) (Zlotkin & cs., 1998). Năm 2020, tại Trung Quốc, dịch bệnh do vi khuẩn

S. iniae đã gây chết hàng loạt cá chim vây vàng nuôi lồng ngoài khơi (Feng & cs., 2021).

Trong khi ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường chính lên phát triển của vi khuẩn *S. iniae* và các loài *Streptococcus* spp. khác gây bệnh ở cá nước ngọt đã được nghiên cứu chuyên sâu, cung cấp thông tin bổ ích cho việc phòng trị bệnh trên cá nước ngọt. Tuy nhiên, thông tin này rất hạn chế với *S. iniae* gây bệnh trên cá biển nói chung và chim vây vàng nói riêng. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường chính trong quá trình nuôi cấy lên sự phát triển của vi khuẩn *S. iniae* gây bệnh trên cá chim vây vàng nhằm cung cấp cơ sở khoa học để nâng cao hiệu quả phòng, trị bệnh trong thực tiễn.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu

Cá chim vây vàng có biểu hiện bệnh thu từ các trại nuôi ở Quảng Ninh, Hải Phòng, Ninh Bình và vi khuẩn *S. iniae* phân lập được từ cá nhiễm bệnh. Một số vật liệu khác bao gồm: Môi trường Tryptic soya broth, Tryptic soya agar (TSB và TSA, Merck) phục vụ nuôi cấy, phân lập vi khuẩn, các loại hóa chất, sinh phẩm, trang thiết bị phục vụ quá trình nuôi cấy, định danh vi khuẩn và thực hiện thí nghiệm đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của vi khuẩn.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thu mẫu, nuôi cấy, phân lập và định danh vi khuẩn

- Phương pháp thu mẫu, nuôi cấy và phân lập vi khuẩn:

Tổng số 54 mẫu cá chim vây vàng (kích thước, khối lượng dao động 8-25cm, 11-356g) nghi nhiễm *S. iniae* (mắt lồi và xuất huyết da, gốc vây) được thu từ 9 trại nuôi (3 trại nuôi/tỉnh), mẫu cá được bảo quản ở nhiệt độ 4-8°C và vận chuyển về phòng thí nghiệm để phân tích. Cá bệnh được tổng hợp các đặc điểm lâm sàng, giải phẫu quan sát bệnh tích đại thể, nuôi cấy, phân lập vi khuẩn. Mô thận, não và

gan của cá bệnh được ria cấy trên môi trường TSA có bổ sung 2% NaCl (Merck, Darmstadt, Đức) và nuôi cấy ở 28°C trong 36 giờ. Khuẩn lạc vi khuẩn nhỏ, tròn, rìa đều, màu trắng đục, không sinh sắc tố và chiếm ưu thế được lựa chọn và tiến hành phân lập và nuôi cấy thuần. Vi khuẩn sau khi phân lập được lưu giữ trong TSB có chứa 20% glycerol và bảo quản ở -80°C để sử dụng cho các bước nghiên cứu tiếp theo.

- *Phương pháp định danh bằng phản ứng sinh hóa:*

Hình dạng vi khuẩn được quan sát sau khi Gram, kiểm tra tính di động, thử đặc tính sinh hóa như catalase, oxidase theo hệ thống định danh của Bergey (Vos & cs., 2011). Một số đặc tính sinh hóa khác được đánh giá bằng bộ kit API 20 Strep theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Những chủng có kết quả thử sinh hóa trùng với chủng chuẩn *S. iniae* ATCC 29178 được lựa chọn để đưa vào các bước định danh tiếp theo.

- *Phương pháp tách chiết DNA và định danh vi khuẩn gây bệnh:*

Những chủng vi khuẩn sơ bộ định danh là *S. iniae* qua phản ứng sinh hóa được sử dụng để tách chiết DNA bằng bộ kit InstaGene (Bio-Rad, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. DNA vi khuẩn sau khi tách được lưu giữ ở -20°C trước khi giám định bằng PCR sử dụng cặp môi đặc hiệu cho vi khuẩn *S. iniae* (Bảng 1). Hỗn dịch cho một phản ứng PCR có thể tích tổng 20µl, bao gồm 10µl Gotag green Master Mix (Promega), 1,5µl mỗi primer xuôi và ngược, 3µl mẫu DNA, 4µl nước tách DNA. Hỗn dịch được đưa vào máy luân nhiệt để khuếch đại đoạn gen đặc hiệu theo chu trình nhiệt như sau: 95°C trong 4 phút; 35 chu kỳ lặp lại: 95°C trong 30s, 58°C trong 30s, và 72°C trong 60s; giai đoạn kéo dài sau cùng ở 72°C trong 7 phút. Sản phẩm PCR được phân tích trên máy điện di sử dụng

bản gel chứa 1% agarose nhuộm bằng dung dịch Redsafe (Intron, Hàn Quốc). Hình ảnh điện di bản gel được chụp bằng hệ thống Gel imager (Bio-Rad, Mỹ).

- *Xác định khả năng gây bệnh thực nghiệm của vi khuẩn:*

Ba chủng đại diện (1 chủng/tỉnh) sau khi giám định PCR được lựa chọn ngẫu nhiên để tiêm cảm nhiễm thực nghiệm. Với mỗi chủng vi khuẩn, cá cảm nhiễm được tiêm với lượng 0,1ml dịch khuẩn với nồng độ tiêm 1×10^5 CFU/cá và một lô đối chứng được tiêm tương tự bằng PBS, thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Cá được cho ăn bằng thức ăn công nghiệp và đảm bảo các điều kiện môi trường trong khoảng phù hợp cho cá sinh trưởng như nhiệt độ dao động ngày đêm 29-32°C, pH 7-8, DO > 5 mg/l, TAN < 1 mg/l, độ mặn 28-30‰. Cá sau tiêm được theo dõi trong 14 ngày, hàng ngày quan sát triệu chứng và mổ khám kiểm tra bệnh tích để so sánh với bệnh tự nhiên. Các mẫu cá mới chết hoặc sắp chết được tái phân lập, định danh lại tác nhân gây bệnh.

2.2.2. Đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của vi khuẩn

Ảnh hưởng của điều kiện nuôi cấy bao gồm nhiệt độ, độ mặn và pH lên quá trình phát triển của vi khuẩn được tiến hành trong ống nghiệm 25ml với mật độ vi khuẩn ban đầu là 1×10^6 CFU/ml.

Ảnh hưởng của nhiệt độ:

Để đánh giá ảnh hưởng của nhiệt độ, tiến hành nuôi cấy vi khuẩn ở 8 khoảng nhiệt độ 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 và 45 với điều kiện pH 7 và không bổ sung thêm NaCl theo mô tả nhóm nghiên cứu Laith & cs. (2017). Thí nghiệm được lặp lại 3 lần. Các mức nhiệt độ được kiểm soát bằng hệ thống thiết bị water bath.

Bảng 1. Các cặp môi sử dụng để giải trình tự và giám định vi khuẩn bằng kỹ thuật PCR

Primer	Trình tự nucleotide (5'-3')	Gene đích	Kích cỡ đoạn gene đích	Tài liệu tham khảo
Sin 1-F	CTAGAGTACACATGTAGCTAAG	<i>16S rRNA</i>	300bp	Zlotkin & cs. (1998)
Sin 2-R	GGATTTTCCACTCCCATTAC			
<i>Lox</i> -1-F	AAGGGGAAATCGCAAGTGCC	<i>lactate oxidase</i>	870bp	Mata & cs. (2004)
<i>Lox</i> -2-R	ATATCTGATTGGGCCGTCTAA			

Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của vi khuẩn *Streptococcus iniae* gây bệnh trên cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.)

Ảnh hưởng của pH:

Đối với pH, môi trường nuôi được điều chỉnh bằng NaOH 1M và HCl 1M để đạt được các ngưỡng pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 và 10 mô tả theo nghiên cứu của Laith & cs. (2017). Mỗi yếu tố thí nghiệm được thực hiện với 3 lần lặp lại. Vi khuẩn được nuôi cấy trong điều kiện nhiệt độ 28°C và không bổ sung thêm NaCl.

Ảnh hưởng của độ mặn:

Với độ mặn, bổ sung NaCl vào môi trường nuôi cấy để đạt được các mức độ mặn thử nghiệm 0, 10, 20, 30, 40, 50 và 60‰ mô tả theo nghiên cứu của Laith & cs. (2017). Mỗi yếu tố thí nghiệm được tiến hành với 3 lần lặp lại. Quá trình nuôi cấy vi khuẩn được tiến hành ở nhiệt độ 28°C, là điều kiện phù hợp cho sự phát triển của vi khuẩn trong môi trường *in vitro*.

Trong các thử nghiệm vi khuẩn được nuôi trong môi trường tăng sinh TSB với các mức nhiệt độ, độ mặn và pH đã thiết kế và theo dõi sinh trưởng thông qua giá trị đo mật độ quang OD₆₀₀ sau 12 giờ, 24 giờ và 36 giờ nuôi cấy.

2.2.3. Phân tích số liệu

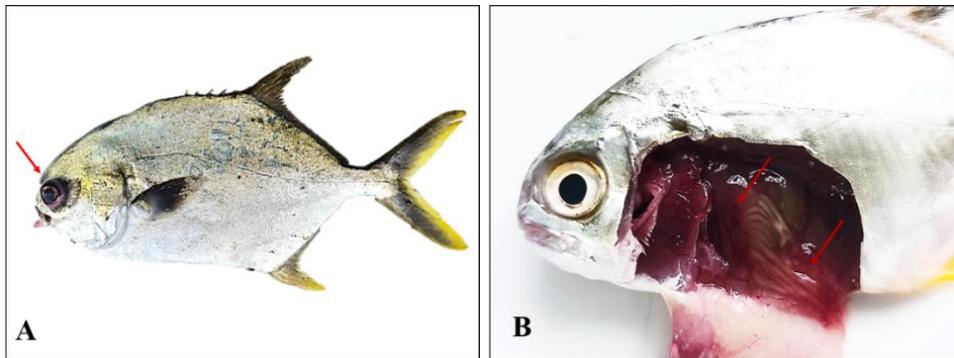
Kết quả đo mật độ quang OD₆₀₀ của dịch khuẩn sau 12 giờ, 24 giờ và 36 giờ nuôi cấy được đánh giá bằng phân tích thống kê mô tả bằng Excel 2016, kết hợp với so sánh giữa các nghiệm thức bằng phân tích ANOVA, sử dụng phép so sánh Turkey Post-Hoc trên phần mềm SPSS20 ở mức tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả phân lập và định danh vi khuẩn *S. iniae*

Cá chim vây vàng nhiễm bệnh có dấu hiệu bơi lơ đờ, mất định hướng, lồi mắt, xuất huyết nội quan, xoang bụng tích dịch (Hình 1).

Quá trình nuôi cấy và phân lập vi khuẩn từ cá chim vây vàng nghi nhiễm *S. iniae* thu được 9 chủng thuần đại diện của 9 trại nuôi trên môi trường TSA với khuẩn lạc hình dạng tròn nhỏ (Hình 2A), rìa đều, màu trắng đục, kích cỡ 0,5-1mm (Hình 2B), vi khuẩn bắt màu gram dương, có dạng hình cầu hoặc liên cầu (Hình 2C).



Hình 1. Triệu chứng và bệnh tích cá chim vây vàng bị bệnh xuất huyết



Hình 2. Hình thái khuẩn lạc (A, B) trên môi trường TSA sau 24 giờ nuôi cấy ở nhiệt độ 28°C và hình thái nhuộm Gram (C) của *S. iniae*

Bảng 2. Đặc tính sinh hóa của *S. iniae* phân lập từ cá chim vây vàng nuôi tại Việt Nam

Đặc điểm sinh hóa	Chủng <i>S. iniae</i> phân lập (n = 09)	Chủng tham chiếu <i>S. iniae</i> ATCC 29178
Nhuộm Gram	+	+
Hình dạng tế bào	Liên cầu	Liên cầu
Oxidase	-	-
Catalase	-	-
Di động	-	-
Kích thước khuẩn lạc	0,5-1 mm	0,5-1 mm
Màu sắc khuẩn lạc (TSA ⁺)	Trắng đục	Trắng đục
Khả năng dung huyết β	+	+
Voges Proskauer (VP)	-	-
Hippuric acid (HIP)	-	-
Esculin (ESC)	+	+
Pyrrrolidonyl Arylamidase (PYRA)	+	+
α -Galactosidase (α -GAL)	-	-
β -Glucuronidase (β -GUR)	-	-
β -Galactosidase (β -GAL)	-	-
Alkaline phosphatase (PAL)	+	+
Leucine AminoPeptidase (LAP)	+	+
Arginine Dihydrolase (ADH)	+	+
Ribose (RIB)	+	+
Arabinose (ARE)	-	-
Manitol (MAN)	+	+
Sorbitol (SOR)	-	-
Lactose (LAC)	-	-
Trehalose (TRE)	+	+
Inulin (INU)	-	-
Raffinose (RAF)	-	-
Amidon (AMD)	+	+
Glycogen (GLYG)	+	+

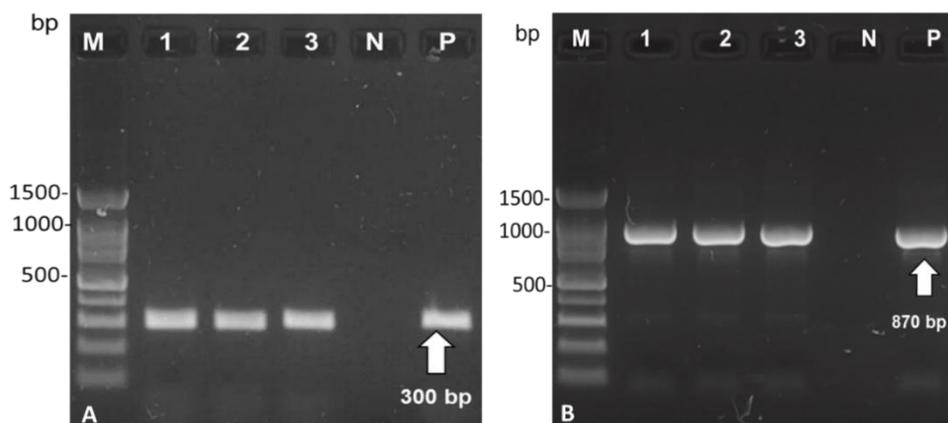
Ghi chú: (+): Dương tính; (-): Âm tính.

Các chủng nghi ngờ có đặc tính sinh hóa như không di động, âm tính với các phép thử oxidase, catalase, thủy phân esculin và không thủy phân hippurate, các phản ứng pyrrolidonylarylamidase, arginine dihydrolase dương tính; phản ứng β -Glucuronidase, Voges-Proskauer, α -Galactosidase, β -Galactosidase âm tính và các đặc tính sinh hoá khác tương đồng với đặc tính của chủng chuẩn *S. iniae* ATCC 29178, và được xác định sơ bộ là vi khuẩn *S. iniae*. Kết quả thử đặc tính sinh hóa của các chủng vi khuẩn *S. iniae* phân lập trên cá chim vây vàng

nhễm bệnh trong nghiên cứu này có sự tương đồng với các chủng *S. iniae* phân lập từ cá heo (Pier & Madin, 1976), cá chêm (Bromage & cs., 1999; Tran Vi Hich & cs., 2013).

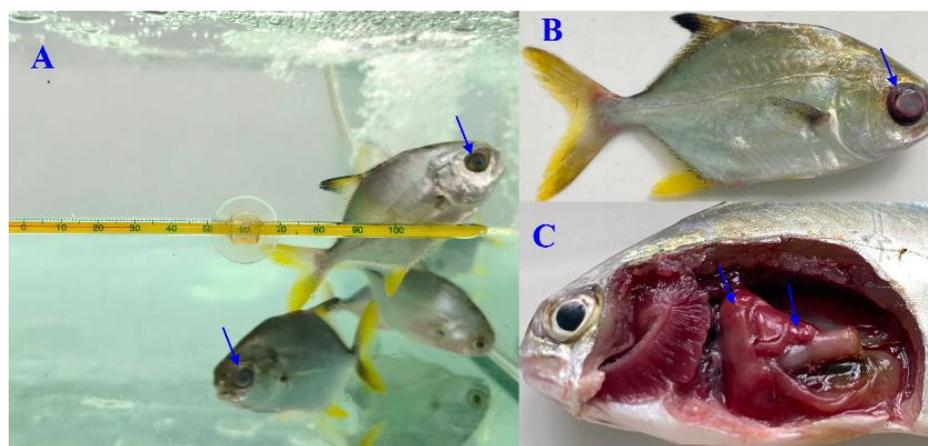
Vì 9 chủng vi khuẩn có sự tương đồng cao từ hình thái và đặc tính sinh hoá, do vậy chọn ngẫu nhiên 3 chủng (1 chủng/tỉnh) để giám định bằng kỹ thuật PCR làm cơ sở để đánh giá ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường (Bảng 2, Hình 3). Kết quả giám định PCR cho thấy cả 03 chủng dương tính với cả 2 cặp môi đặc hiệu với vi khuẩn *S. iniae* (Hình 3).

Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của vi khuẩn *Streptococcus iniae* gây bệnh trên cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.)



Ghi chú: A: *Sin 1/ Sin 2*; B: *Lox -1/ Lox -2*. M: Marker; giếng 1-3: DNA của 03 chủng vi khuẩn phân lập từ cá chim vây vàng; N: Đối chứng âm; P: Đối chứng dương (DNA của *S. iniae* ATCC 29178).

Hình 3. Kết quả sàng lọc bằng PCR chủng vi khuẩn sử dụng cặp mồi đặc hiệu cho vi khuẩn *S. iniae*



Hình 4. Cá chim vây vàng được cảm nhiễm *S. iniae* biểu hiện bởi mất định hướng (A), loét mắt (B), và xuất huyết nội quan (C)

Kết quả gây bệnh thực nghiệm: Các lô cá cảm nhiễm với *S. iniae* cho thấy cá xuất hiện dấu hiệu lâm sàng và bệnh tích tương đồng với cá nhiễm bệnh ngoài tự nhiên như bơi mất định hướng, loét mắt, xuất huyết nội quan (Hình 4), trong khi cá lô đối chứng khỏe mạnh trong suốt quá trình thí nghiệm. Kết quả nuôi cấy, giám định lại bằng PCR từ mẫu cá chết trong quá trình cảm nhiễm đều cho kết quả vi khuẩn *S. iniae*.

3.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh trưởng của vi khuẩn *S. iniae*

Kết quả nghiên cứu cho thấy *S. iniae* có khả năng sinh trưởng trong dải nhiệt độ tương đối

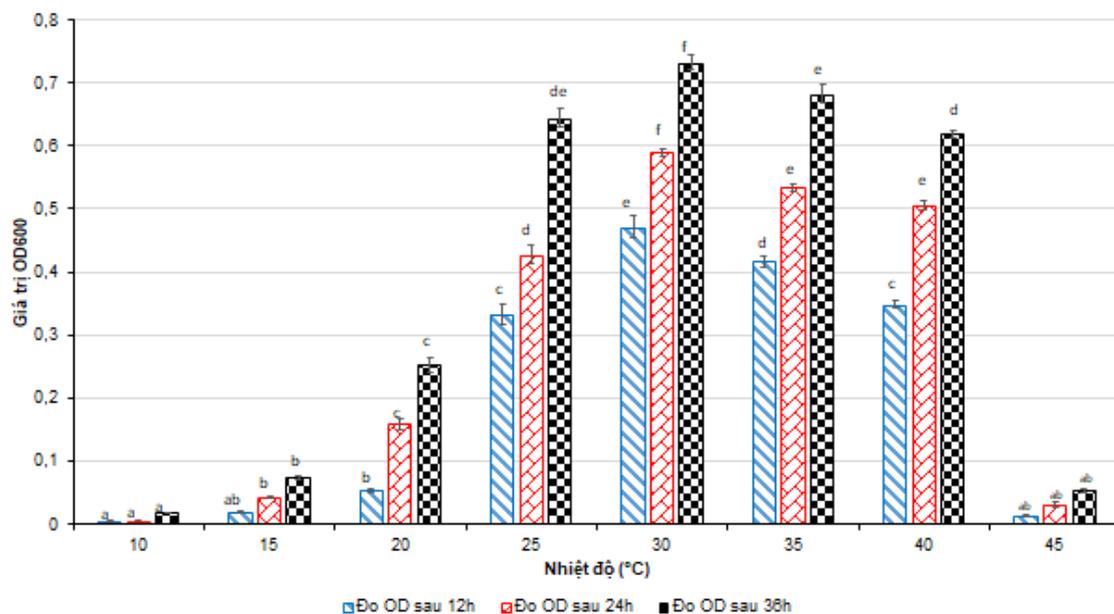
rộng từ 15-45°C, tuy nhiên phát triển tốt nhất trong khoảng 25-40°C, với nhiệt độ tối ưu là 30°C ($P < 0,05$) tại cả ba thời điểm theo dõi (sau 12h, 24h và 36h nuôi cấy). Cụ thể, vi khuẩn phát triển tốt ở các mức nhiệt 25, 35 và 40°C, trong khi sự sinh trưởng suy giảm đáng kể ở 20°C ($P < 0,05$). Tại các mức nhiệt 10, 15 và 45°C, vi khuẩn phát triển rất kém (Hình 5). Những kết quả này cho thấy *S. iniae* có khả năng thích nghi với điều kiện nhiệt độ cao, phù hợp với đặc điểm khí hậu nhiệt đới, đặc biệt giai đoạn nắng nóng mùa hè, thường ghi nhận các đợt bùng phát bệnh trên cá biển. Kết quả này tương đồng với báo cáo của Bromage & Owens (2009), trong đó tỷ lệ chết cao

nhất ở cá chêm (*Lates calcarifer*) nhiễm *S. iniae* được ghi nhận ở 25-28°C. Bên cạnh đó, Zhou & cs. (2008) xác định khoảng nhiệt độ tối ưu cho sự phát triển của *S. iniae* là 35-40°C, cao hơn so với kết quả trong nghiên cứu này. Sự khác biệt này có thể do sự sai khác về điều kiện nuôi cấy, phương pháp thí nghiệm hoặc nguồn gốc vi khuẩn. Tuy nhiên, các nghiên cứu đều khẳng định loài *S. iniae* có khả năng phát triển tốt trong điều kiện nhiệt độ cao. Ngoài ra, so sánh với loài *Streptococcus agalactiae*, tác nhân gây bệnh phổ biến khác trên cá nước ngọt cũng cho thấy xu hướng tương tự. Nghiên cứu của Laith & cs. (2017) cho thấy *S. agalactiae* phát triển mạnh ở 25-35°C, tối ưu ở 30°C. Điều này cho thấy rằng khả năng sinh trưởng mạnh ở điều kiện nhiệt độ cao là một đặc điểm phổ biến ở nhiều loài *Streptococcus* gây bệnh cho động vật thủy sản. Đáng chú ý, khoảng nhiệt độ phát triển tối ưu của *S. iniae* (25-40°C) cũng trùng khớp với khoảng nhiệt độ nuôi lý tưởng cho sự sinh trưởng của nhiều loài cá biển, trong đó có cá chim vây vàng (Trần Thị Mai Hương & cs., 2017). Khi nhiệt độ môi trường tăng cao (đặc biệt từ 30-40°C), mặc dù điều kiện này thuận lợi cho sự phát triển của vi khuẩn, song lại gây stress và

suy giảm miễn dịch ở cá từ đó tạo điều kiện cho bệnh bùng phát (Ndong & cs., 2007). Vì vậy, trong điều kiện thời tiết nắng nóng, cần bổ sung các chế phẩm tăng cường miễn dịch, sát trùng định kỳ với ao nuôi, vệ sinh lồng lưới và treo thuốc sát trùng với mô hình nuôi lồng.

3.3. Ảnh hưởng của pH lên sinh trưởng của vi khuẩn *S. iniae*

Kết quả nghiên cứu cho thấy *S. iniae* phát triển tốt trong khoảng pH từ 6,0 đến 8,0, với giá trị tối ưu ở pH 7,0. Khả năng sinh trưởng không có sự khác biệt đáng kể khi vi khuẩn được nuôi cấy trong môi trường có pH 6,0 và 8,0 ($P > 0,05$), tuy nhiên sự phát triển suy giảm rõ rệt khi pH giảm xuống 5,0 hoặc tăng lên 9,0 ($P < 0,05$). Điều này cho thấy khả năng phát triển của *S. iniae* bị ức chế khi pH nằm ngoài giới hạn thích hợp. Nghiên cứu gần đây của Xu & cs. (2024) ghi nhận chủng *S. iniae* 2022SI08 phát triển tốt trong môi trường có pH 6,5-7,5, với mức tối ưu tại pH 7,0. Sự tương đồng giữa các nghiên cứu củng cố nhận định rằng *S. iniae* là loài có khả năng phát triển tốt trong điều kiện pH trung tính và bị hạn chế khi môi trường quá axit hoặc kiềm.



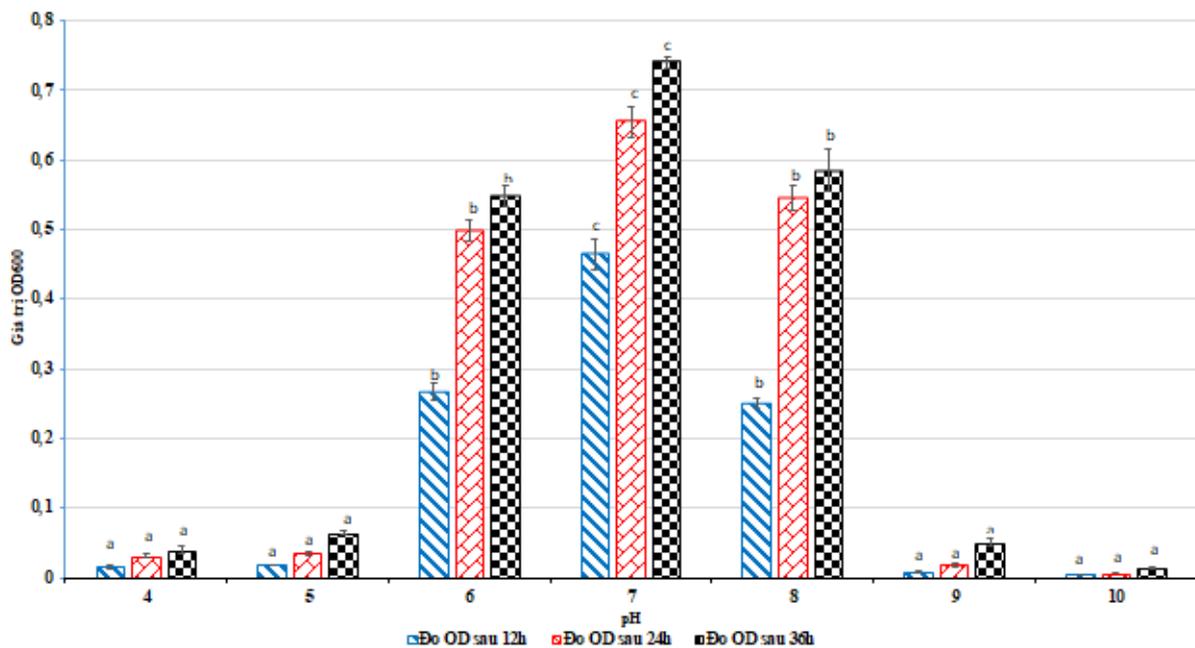
Ghi chú: Các chữ cái a, b, c, d, e, f trong các cột có ký hiệu giống nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Hình 5. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên sinh trưởng của vi khuẩn *S. iniae*

Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của vi khuẩn *Streptococcus iniae* gây bệnh trên cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.)



Hình 6. Hình ảnh vi khuẩn *S. iniae* phát triển trong ống nghiệm các điều kiện nhiệt độ khác nhau sau 36 giờ nuôi cấy



Ghi chú: Các chữ cái a, b, c ở các cột có ký hiệu giống nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Hình 7. Ảnh hưởng của pH lên sinh trưởng của vi khuẩn *S. iniae*

Tương tự, nghiên cứu của Laith & cs. (2017) cho thấy *S. agalactiae* phát triển tốt nhất trong khoảng pH 6-8 trên cá rô phi (*O. niloticus*) và suy giảm mạnh khi pH vượt ra ngoài khoảng này. Sự tương đồng về khoảng pH thích hợp cho sinh trưởng giữa các loài *Streptococcus* càng khẳng định vai trò pH môi trường trong sự phát

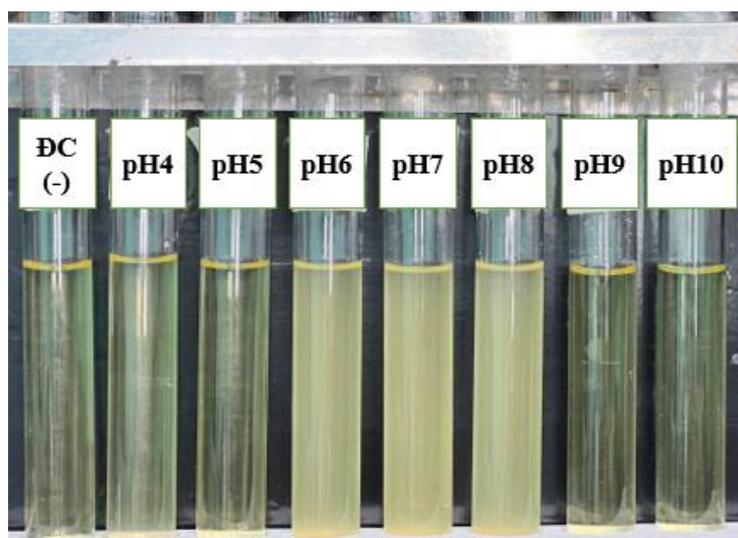
triển của giống vi khuẩn này. Theo cơ chế lý hóa ở pH trung tính, trạng thái ion hóa của các nhóm axit - bazơ duy trì cấu hình enzyme ổn định, qua đó đảm bảo hiệu quả các phản ứng trao đổi chất (Padan & cs., 2005). Khi pH lệch khỏi khoảng 6-8, quá trình proton hóa làm thay đổi cấu trúc bậc ba của protein và giảm hoạt

tính enzyme, do vậy vi khuẩn sử dụng nhiều năng lượng để cân bằng proton trong và ngoài màng, làm giảm hiệu quả tổng hợp ATP và vật chất tế bào, từ đó hạn chế sự phát triển của vi khuẩn (Cotter & Hill, 2003). Trong thực tế, khoảng pH tối ưu cho sự sinh trưởng và phát triển của cá chim vây vàng được ghi nhận trong khoảng 7,5-8,5 (Lê Quốc Việt & cs., 2022). Điều này cho thấy khoảng pH tối ưu của vật chủ và tác nhân gây bệnh có sự trùng lặp nhất định, do đó việc điều chỉnh pH môi trường nhằm ức chế sự phát triển của *S. iniae* là không khả thi. Vì vậy, nâng cao khả năng kháng bệnh, hạn chế gây stress, áp dụng các biện pháp phòng bệnh tổng hợp nhằm kiểm soát mật độ vi khuẩn *S. iniae* là cần thiết.

3.4. Ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng của vi khuẩn

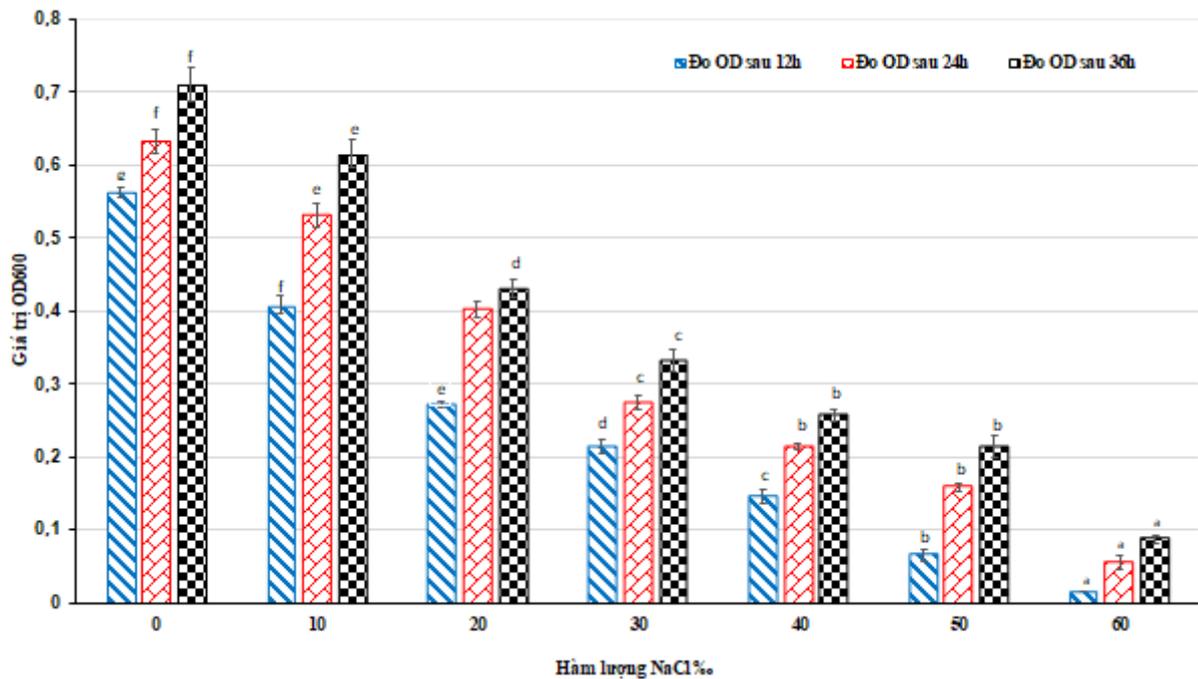
Ở nhiệt độ nuôi cấy 28°C, vi khuẩn *S. iniae* phân lập từ cá chim vây vàng có khả năng phát triển tốt và sống sót được trong khoảng độ mặn rộng từ 0 đến 60‰ (Hình 9 và 10). Khi được nuôi cấy trong môi trường tăng sinh không bổ sung thêm NaCl, vi khuẩn phát triển tốt nhất, với giá trị đo OD₆₀₀ sau 12h, 24h, 36h đều cao hơn có ý nghĩa thống kê so với các độ mặn khác (P < 0,05). Kết quả này có tương đồng với kết quả của các nghiên cứu trước đó. Cụ thể, Xu & cs. (2024) đã ghi nhận chủng *S. iniae* 2022SI08

phát triển tốt ở độ mặn 5-15‰, trong khi đó Laith & cs. (2017) cũng ghi nhận vi khuẩn *S. agalactiae* phát triển tốt trong môi trường tăng sinh bổ sung NaCl 0‰ đến 55‰ và giá trị tối ưu là 5‰. Khi tăng độ mặn trong môi trường nuôi cấy lên 10, 20 và 30‰ sự phát triển của vi khuẩn giảm nhưng vẫn thể hiện khả năng nhân lên tốt (P < 0,05). Khi tiếp tục tăng độ mặn lên 40 và 50‰ vi khuẩn vẫn phát triển và đạt mật độ tương đương nhau nhưng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (P > 0,05). Khi tăng độ mặn lên 60‰, khả năng phát triển của vi khuẩn *S. iniae* suy giảm rõ rệt. Kết quả nghiên cứu phù hợp với tình hình thực tế bệnh do vi khuẩn *S. iniae* gây ra được ghi nhận cho nhiều loài cá nuôi ở cả môi trường nước mặn, lợ và nước ngọt (Xiong & cs., 2023). Ngoài ra, vi khuẩn *S. iniae* phân lập từ cá rô đồng (*Anabas testudineus*) cũng được ghi nhận có thể phát triển ở 65‰ (Từ Thanh Dung & cs., 2013). Nghiên cứu của Muhammad & cs. (2020) ghi nhận chủng vi khuẩn *S. iniae* (NH-1) phát triển tốt ở độ mặn từ 0 đến 30‰, phát triển chậm ở 50‰. Khả năng phát triển của *S. iniae* trong khoảng độ mặn rộng phản ánh cơ chế điều hòa thẩm thấu hiệu quả. Ở độ mặn tối ưu, ion Na⁺ và Cl⁻ góp phần ổn định cấu trúc protein và cân bằng điện tích qua màng, duy trì hoạt động bình thường của enzyme góp phần tổng hợp vật chất tế bào để nhân lên (Record & cs., 1998).



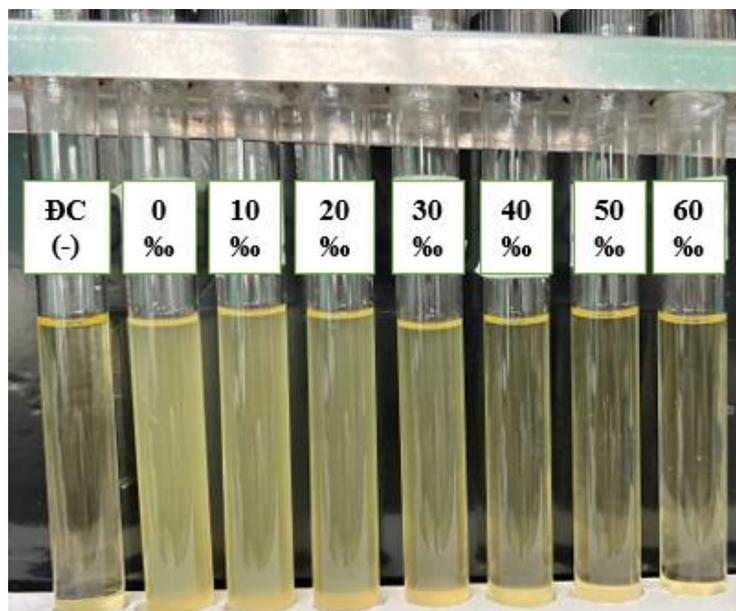
Hình 8. Hình ảnh phát triển của vi khuẩn *S. iniae* trong ống nghiệm ở các điều kiện pH khác nhau sau 36 giờ nuôi cấy

Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của vi khuẩn *Streptococcus iniae* gây bệnh trên cá chim vây vàng (*Trachinotus spp.*)



Ghi chú: Các chữ cái a, b, c, d, e, f ở các cột có ký hiệu giống nhau biểu thị sự sai khác có ý nghĩa thống kê ($P < 0,05$).

Hình 9. Ảnh hưởng của độ mặn lên sinh trưởng của vi khuẩn *S. iniae*



Hình 10. Hình ảnh phát triển của vi khuẩn *S. iniae* trong ống nghiệm ở các điều kiện độ mặn khác nhau sau 36 giờ nuôi cấy

Các mẫu trong nghiên cứu này được thu từ ba tỉnh ven biển miền Bắc điều kiện nhiệt độ, pH và độ mặn khá tương đồng. Trong khi đó, các vùng biển miền Trung và miền Nam có đặc điểm môi

trường khác biệt. Vì vậy, mở rộng phạm vi thu mẫu và so sánh các chủng *S. iniae* từ nhiều vùng miền để làm rõ đặc điểm dịch tễ bệnh và xây dựng biện pháp phòng trị phù hợp cho từng vùng.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã phân lập và giám định thành công vi khuẩn *S. iniae* từ cá chim vây vàng thông qua đánh giá các đặc tính hình thái, sinh hóa, giám định bằng kỹ thuật PCR và gây nhiễm thực nghiệm. Kết quả nghiên cứu cũng đã làm rõ ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường như nhiệt độ, pH, độ mặn lên sự phát triển của vi khuẩn *S. iniae*. Sau 36 giờ nuôi cấy ở các điều kiện môi trường khác nhau cho thấy vi khuẩn *S. iniae* có thể phát triển trong dải nhiệt độ từ 15 đến 45°C, với khoảng tối ưu từ 25 đến 40°C, phát triển mạnh ở khoảng pH 6-8, tối ưu ở pH trung tính (pH = 7). Vi khuẩn này cũng có thể tồn tại và phát triển từ 0 đến 60‰, tuy nhiên khả năng phát triển có xu hướng giảm dần khi tăng độ mặn. Kết quả nghiên cứu cung cấp thông tin và cơ sở khoa học để xây dựng các giải pháp phòng chống dịch bệnh do vi khuẩn *S. iniae* trên cá chim vây vàng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Học viện Nông nghiệp Việt Nam, mã số đề tài T2025-14- 05TD.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Awate S., Mubarka S. & Huber R.G. (2023). Whole genomic characterization of *streptococcus iniae* isolates from barramundi (*Lates calcarifer*) and preliminary evidence of cross-protective immunization. *Vaccines*. 11(9): 1443.

Bromage E. & Owens L. (2009). Environmental factors affecting the susceptibility of barramundi to *Streptococcus iniae*. *Aquaculture*. 290(3-4): 224-228.

Bromage E., Thomas A. & Owens L. (1999). *Streptococcus iniae*, a bacterial infection in barramundi *Lates calcarifer*. *Diseases of Aquatic Organisms*. 36(3): 177-181.

Cotter P. D. & Hill C. (2003). Surviving the acid test: responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 67(3): 429-453.

Feng Y., Bai M., Geng Y., Chen D., Huang X., Ouyang P., Guo H., Zuo Z., Huang C. & Lai W. (2021). The potential risk of antibiotic resistance of *Streptococcus iniae* in sturgeon cultivation in

Sichuan, China. *Environmental Science and Pollution Research*. 28: 69171-69180.

Heckman T.I. (2021). Understanding and controlling the widespread piscine pathogen *Streptococcus iniae*. University of California, Davis. 137p.

Laith A., Ambak M.A., Hassan M., Sheriff S. M., Nadirah M., Draman A.S., Wahab W., Ibrahim W.N.W., Aznan A.S. & Jabar A. (2017). Molecular identification and histopathological study of natural *Streptococcus agalactiae* infection in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Veterinary World*. 10(1): 101.

Lê Quốc Việt, Lý Văn Khánh, Trần Nguyễn Duy Khoa & Trần Ngọc Hải (2022). Ảnh hưởng thời điểm bổ sung thức ăn tổng hợp lên tăng trưởng và tỷ lệ sống của cá chim vây vàng (*Trachinotus blochii*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. 58(1): 205-212.

Linga Prabu D., Ebenezer S., Chandrasekar S., Anikuttan K., Sayooj P. & Vijayagopal P. (2021). Culture of snubnose pompano, *Trachinotus blochii* (Lacepede, 1801) in indigenous re-circulatory aquaculture system using low cost fishmeal-based diet. *Indian Journal of Geo Marine Sciences*. 50(10): 787-794.

Ma J., Wu H., Ma Z. & Wu Z. (2024). Bacterial and Host Factors Involved in Zoonotic Streptococcal Meningitis. *Microbes and Infection*. 105335.

Mata A.I., Blanco M.M., Domínguez L., Fernández-Garayzabal J.F. & Gibello A. (2004). Development of a PCR assay for *Streptococcus iniae* based on the lactate oxidase (lctO) gene with potential diagnostic value. *Veterinary Microbiology*. 101(2): 109-116.

McNulty S.T., Klesius P.H., Shoemaker C.A. & Evans J.J. (2003). *Streptococcus iniae* infection and tissue distribution in hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *Morone saxatilis*) following inoculation of the gills. *Aquaculture*. 220(1-4): 165-173.

Muhammad M., Zhang T., Gong S., Bai J., Ju J., Zhao B. & Liu D. (2020). *Streptococcus iniae*: a growing threat and causative agent of disease outbreak in farmed Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *Pakistan Journal of Zoology*. 52(5): 1931.

Namrudi S., Siahkalroodi S.Y., Hajibaglu A. & Mazandarani M. (2023). Effects of two-strain streptococcosis vaccine *Streptococcus iniae/Lactococcus garvieae* on some serum immune parameters in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Environment Journal*. 15(2): 205-212.

Ndong D., Chen Y.Y., Lin Y.H., Vaseeharan B. & Chen J.-C. (2007). The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high

Ảnh hưởng của một số yếu tố môi trường lên sự phát triển của vi khuẩn *Streptococcus iniae* gây bệnh trên cá chim vây vàng (*Trachinotus* spp.)

- temperatures. *Fish & Shellfish Immunology*. 22(6): 686-694.
- Pan J.M., Guo H.Y., Liu B.S., Zhang N., Xian L., Zhu T.F., Zhu K.C. & Zhang D.-C. (2024). Characterization of the *Galectin-3* gene and its association with *Streptococcus iniae* resistance traits in *Acanthopagrus latus* (Houttuyn, 1782). *Aquaculture*. 593: 741364.
- Pier G.B. & Madin S.H. (1976). *Streptococcus iniae* sp. nov., a beta-hemolytic streptococcus isolated from an Amazon freshwater dolphin, *Inia geoffrensis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 26(4): 545-553.
- Padan E., Bibi E., Ito M. & Krulwich T.A. (2005). Alkaline pH homeostasis in bacteria: new insights. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 1717(2): 67-88.
- Record Jr M.T., Courtenay E.S., Cayley D.S. & Guttman H.J. (1998). Responses of *E. coli* to osmotic stress: large changes in amounts of cytoplasmic solutes and water. *Trends in Biochemical Sciences*. 23(4): 143-148.
- Trần Thị Mai Hương, Đàm Thị Mỹ Chinh & Lê Văn Khôi (2017). Ảnh hưởng của nhiệt độ đến sự phát triển và dị hình của ấu trùng cá chim vây vàng *Trachinotus blochii*. *Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam*. (12): 1912.
- Trần Văn Hích, Nguyễn Thị Tường Hạnh & Nguyễn Thị Kim Cúc (2018). Bệnh mù mắt do liên cầu khuẩn gây ra ở cá bóp nuôi tại Khánh Hòa. *Tạp chí Khoa học - Công nghệ Thủy Sản, Trường Đại học Nha Trang*. (02): 032-038.
- Tran Vi Hích, Vu Dang Ha Quyen, Nguyen Huu Dung & Wergeland H.I. (2013). Experimental *Streptococcus iniae* infection in barramundi (*Lates calcarifer*) cultured in Vietnam. *International Journal of Aquatic Science*. 4(1): 3-12.
- Từ Thanh Dung, Huỳnh Thị Ngọc Thanh & Nguyễn Khương Duy (2013). *Streptococcus iniae*, tác nhân gây bệnh đen thân trên cá rô đồng (*anabas testudineus*). *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*. (26): 96-103.
- Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H. & Whitman W.B. (2011). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Springer Science & Business Media. 3: 662-696.
- Xiong X., Chen R. & Lai J. (2023). Comparative genomics analysis of *Streptococcus iniae* isolated from *Trachinotus ovatus*: novel insight into antimicrobial resistance and virulence differentiation. *BMC Genomics*. 24(1): 775.
- Xu H., Zhu N., Chen Y., Yue H., Zhuo M., Wangkahart E., Liang Q. & Wang R. (2024). Pathogenicity of *Streptococcus iniae* causing mass mortalities of yellow catfish (*Tachysurus fulvidraco*) and its induced host immune response. *Frontiers in Microbiology*. 15: 1374688.
- Zhou K., Cui T., Li P., Liang N., Liu S., Ma C. & Peng Z. (2008). Modelling and predicting the effect of temperature, water activity and pH on growth of *Streptococcus iniae* in Tilapia. *Journal of Applied Microbiology*. 105(6): 1956-1965.
- Zlotkin A., Hershko H. & Eldar A. (1998). Possible transmission of *Streptococcus iniae* from wild fish to cultured marine fish. *Applied and Environmental Microbiology*. 64(10): 4065-4067.