

PHÂN LẬP VÀ XÁC ĐỊNH KHẢ NĂNG GÂY BỆNH XUẤT HUYẾT TRÊN CÁ RÔ ĐỒNG (*ANABAS TESTUDINEUS*) CỦA VI KHUẨN *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

Đặng Thị Hoàng Oanh¹, Trương Quỳnh Như¹ và Nguyễn Đức Hiền²

ABSTRACT

Four bacterial isolates from diseased climbing perch (Anabas testudineus) that displayed a symptom of hemorrhagic septicemia were identified as Streptococcus agalactiae. These bacterial isolates have round, convex, cream coloured and about 1mm diameter colonies on brain heart infusion agar plate after 24 hours incubating at 30°C. They are Gram positive, coccus, non-motile, oxidase and catalase negative as well as negative with fermentation and oxidation of glucose. All isolates gave positive reaction with voges-proskauer, hippurate, β-glucuronidase, alkaline phosphatase and leucine aminopeptidase but negative with the remaining tests. Result of slide agglutination test with Strep-B-Latex kit indicated that all tested strains are S. agalactiae biotype 2. Experimental infection (10⁷ CFU/fish) showed that studied strain can cause hemorrhagic septicemia in healthy climbing perch as those in natural infection.

Keywords: Hemorrhagic septicemia disease, climbing perch, *Streptococcus agalactiae* biotype 2

Title: Isolation and pathogenicity of *Streptococcus agalactiae* biotype on climbing perch (*Anabas testudineus*)

TÓM TẮT

Bốn chủng vi khuẩn phân lập từ não cá rô đồng (Anabas testudineus) bệnh xuất huyết được định danh là Streptococcus agalactiae. Các chủng vi khuẩn mọc trên môi trường brain heart infusion agar sau 24 giờ ở 30°C tạo khuẩn lạc tròn, lồi, màu kem, kích thước khoảng 1mm. Chúng không gây tan huyết, Gram dương, hình cầu hay liên cầu, không di động, oxidase và catalase âm tính, không có khả năng lên men hiếu khí và kỵ khí. Tất cả đều cho phản ứng dương tính với chỉ tiêu voges-proskauer, hippurate, β-glucuronidase, alkaline phosphatase và leucine aminopeptidase và âm tính với những chỉ tiêu khác. Kết quả ngưng kết miễn dịch xác định các chủng vi khuẩn phân lập được là S. agalactiae týp 2. Kết quả cảm nhiễm bằng phương pháp tiêm (mật độ 10⁷ CFU/cá) cho thấy vi khuẩn có khả năng gây bệnh xuất huyết ở cá rô thí nghiệm như cá nhiễm bệnh tự nhiên.

Từ khoá: Bệnh xuất huyết, cá rô đồng, *Streptococcus agalactiae* týp 2

1 GIỚI THIỆU

Cá rô đồng (*Anabas testudineus*) là loài cá bản địa vùng Đồng Bằng Sông Cửu Long (ĐBSCL) và có tiềm năng nuôi tăng sản cao, thịt cá thơm ngon, có giá trị kinh tế và được nhiều người ưa chuộng. Cá rô đồng được nuôi phổ biến ở các tỉnh ĐBSCL như An Giang, Đồng Tháp, Cần Thơ và Hậu Giang. Tuy nhiên việc mở

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

²Chi cục Thú Y Cần Thơ

rộng diện tích nuôi và sự thâm canh hóa nghề nuôi cá rô đồng cũng không tránh khỏi tình trạng dịch bệnh xảy ra ngày càng nhiều và gây thiệt hại ngày càng nghiêm trọng hơn. Trong số các bệnh thường gặp ở cá rô đồng thì bệnh xuất huyết là một trong những bệnh gây chết cá với tỉ lệ cao. Trong số các vi khuẩn gây bệnh xuất huyết ở cá thì *Aeromonas hydrophila* là vi khuẩn có khả năng gây bệnh trên nhiều loài cá nước ngọt như cá nheo (*Ictalurus punctatus*) (Ventura và Grizzle, 1987), cá tra (*Pangasianodon hypophthalmus*) (Loan *et al.*, 2009) và lươn đồng (Bin *et al.*, 2010). Bên cạnh đó, vi khuẩn *Streptococcus sp.* gây các triệu chứng tương tự cũng được phát hiện trên cá (Evans *et al.*, 2006). Vi khuẩn *Streptococcus* có thể tấn công ở mọi giai đoạn phát triển của cá (Amal *et al.*, 2008). *Streptococcus* là vi khuẩn có hình cầu, Gram âm rất đa dạng về thành phần loài và kiểu huyết thanh nên dễ nhầm lẫn với những nhóm cầu khuẩn khác về kiểu hình và đặc tính sinh lý, sinh hóa. Do đó, việc xác định tác nhân gây bệnh xuất huyết ở cá không thể chỉ dựa vào dấu hiệu bệnh lý mà cần phải kết hợp với những xét nghiệm khác để xác định chính xác về tác nhân gây bệnh.

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả phân lập, đặc điểm sinh hóa, kiểu huyết thanh và khả năng gây bệnh xuất huyết của vi khuẩn *S. agalactiae* týp 2 ở cá rô đồng nhằm cung cấp thông tin cho việc phòng trị hiệu quả bệnh vi khuẩn ở đối tượng nuôi thủy sản này.

2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Phương pháp thu và phân lập vi khuẩn từ mẫu bệnh phẩm

Mười hai mẫu cá rô đồng có dấu hiệu lờ đờ, xuất huyết được thu từ những ao nuôi cá rô đồng ở huyện Tháp Mười, Đồng Tháp và được vận chuyển trong thùng ướp có sục khí về phòng thí nghiệm Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ. Chỉ những mẫu bệnh phẩm còn sống mới được sử dụng để phân lập vi khuẩn.

Trước khi phân lập vi khuẩn, mặt ngoài cơ thể cá được khử trùng bằng cồn 70° và lau sạch. Sau đó, tiến hành mổ cá bằng dao mổ và kéo tiết trùng. Dấu hiệu bệnh lý bên trong cơ thể cá được ghi nhận. Kế đến, dùng dao mổ tiết trùng rạch một đường trên thận và gan. Đặt que cấy vào nơi vừa rạch, xoay nhẹ để lấy mẫu bệnh phẩm và cấy trên đĩa môi trường Brain heart infusion agar (BHIA, Merck). Não cá cũng được phân lập vi khuẩn tương tự như gan và thận. Đĩa cấy được ủ 24 giờ ở 30°C. Các chủng vi khuẩn phân lập, sau khi tách rỗng được trữ ở -80°C trong môi trường Brain heart infusion broth (BHIB, Merck) có chứa 25% glycerol. Các chủng vi khuẩn được chọn để nghiên cứu tiếp theo được trình bày ở bảng 1.

2.2 Phương pháp định danh vi khuẩn

Các chỉ tiêu hình thái, sinh lý và sinh hóa được chọn để định danh vi khuẩn được trình bày ở bảng 2. Hình dạng, kích thước và tính rỗng của vi khuẩn được xác định bằng phương pháp nhuộm Gram. Tính di động của vi khuẩn được quan sát bằng cách nhỏ một giọt nước cất lên lam, trải đều lên lam một ít vi khuẩn, đập bằng lammela và quan sát bằng kính hiển vi ở vật kính 40X. Các đặc điểm sinh lý và sinh hóa được xác định dựa theo cẩm nang của Cowan và Steels (Barrow và Feltham, 1993) và sử dụng kit API 20 Strep (BioMerieux, Pháp).

Bảng 1: Các chủng vi khuẩn phân lập từ cá rô chọn nghiên cứu

STT	Mã PTN	Nơi thu mẫu	Cơ quan phân lập	Năm thu mẫu
1	Cá 1 Não1	Tháp Mười	Não	2012
2	Cá 2 Não	Tháp Mười	Não	2012
3	Cá 3 Não	Tháp Mười	Não	2012
4	Cá 4 Não	Tháp Mười	Não	2012

2.3 Xác định kiểu huyết thanh

Kiểu huyết thanh của vi khuẩn được xác định bằng phương pháp ngưng kết miễn dịch bằng kit Strep-B-Latex (GBS) (Statens Serum Institut, Đan mạch) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Dung dịch latex được để ở nhiệt độ phòng và lắc đều trước khi sử dụng. Hai giọt dung dịch latex (khoảng 10 µl/giọt) được nhỏ lên hai lam. Dùng que cấy tiết trùng lấy khoảng từ 3-5 khuẩn lạc cho vào 3ml nước muối sinh lý, lắc đều rồi nhỏ một giọt dung dịch vi khuẩn lên một lam. Một giọt nước muối sinh lý được nhỏ lên lam còn lại để làm đối chứng âm. Dùng tâm tiết trùng trộn đều 2 dung dịch. Phản ứng dương tính sẽ có ngưng kết xuất hiện trong 5 – 10 giây. Kết quả dương tính khi sử dụng Strep-B-Latex giúp xác định vi khuẩn *Streptococcus* có kiểu huyết thanh Ib (serotype Ib) hay kiểu sinh học 2 (biotype 2).

2.4 Gây cảm nhiễm

Thí nghiệm được thực hiện tại phòng thí nghiệm ướn Khoa Thủy sản, Đại học Cần Thơ trên hệ thống bể nhựa (35L). Các bể được khử trùng bằng chlorine, rửa lại bằng nước sạch. Sau đó cho nước vào bể (25L), sục khí liên tục vài ngày để loại hết chlorine. Cá thí nghiệm có trọng lượng khoảng 20g/con, màu sắc tươi sáng, phản ứng linh hoạt. Cá được bố trí 10 con/bể và để vài ngày cho cá quen dần với môi trường nước thí nghiệm. Thí nghiệm được bố trí gồm 2 nghiệm thức lặp lại hai lần, gồm có: (1) nghiệm thức đối chứng, tiêm dung dịch 0.85% NaCl (0.1 ml/cá); (2) nghiệm thức cảm nhiễm tiêm chủng vi khuẩn Cá1Não1 (0.1 ml/cá).

Vi khuẩn được nuôi tăng sinh trong môi trường BHIB 24 giờ ở 30 °C. Sau đó ly tâm 7500 vòng/phút trong 10 phút, rửa vi khuẩn 2 lần bằng dung dịch 0,85% và xác định mật độ vi khuẩn bằng máy so màu quang phổ ở bước sóng 590nm kết hợp với phương pháp đếm số khuẩn lạc trên môi trường BHIA (CFU/ml). Mật độ gây cảm nhiễm là 10⁷ CFU/cá, mỗi con cá được tiêm 0,1 ml dung dịch vi khuẩn ở phần gốc vi ngực, theo dõi liên tục biểu hiện của cá trong 7 ngày. Những con cá có dấu hiệu lờ đờ, bơi lội kém linh hoạt được thu để quan sát dấu hiệu bệnh lý, làm tiêu bản kính phết thận và tái phân lập và tái định danh vi khuẩn từ thận và não.

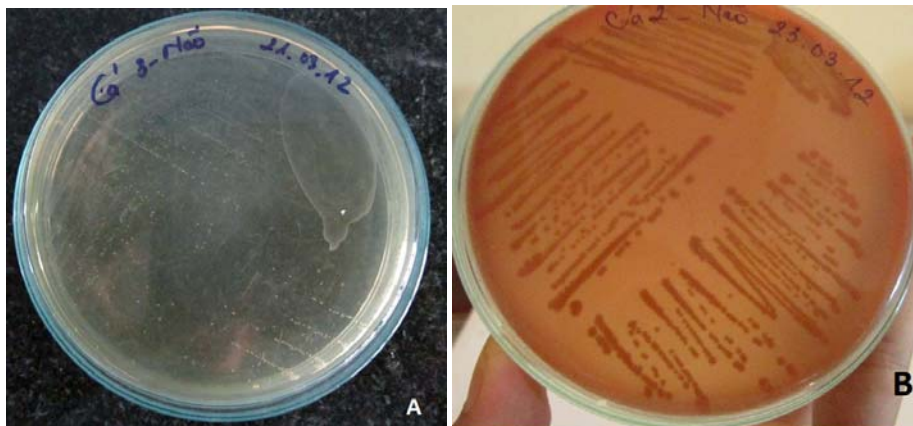
3 KẾT QUẢ

3.1 Dấu hiệu bệnh lý

Mẫu bệnh phẩm thu được là cá lờ đờ, nổi đầu hoạt động chậm chạp, kém linh hoạt, màu sắc cơ thể nhợt nhạt, trên thân có những đốm xuất huyết ở vây ngực và vây bụng, mang tái nhạt, bụng trương to, xoang bụng có chứa dịch màu vàng, nội tạng bị xuất huyết, mềm nhũn.

3.2 Phân lập vi khuẩn

Kết quả phân lập từ não được 4 chủng vi khuẩn (Cá1Nnão, Cá2Nnão, Cá3Nnão và Cá4Nnão). Trên môi trường BHIA sau 48 giờ ở 30°C vi khuẩn phát triển chậm thành các khuẩn lạc có hình tròn, lồi, màu kem, kích thước khoảng 1mm (Hình 1A). Vi khuẩn có khả năng phát triển trên môi trường có chứa 5% máu cừu nhưng không có khả năng gây tan huyết (Hình 1B).



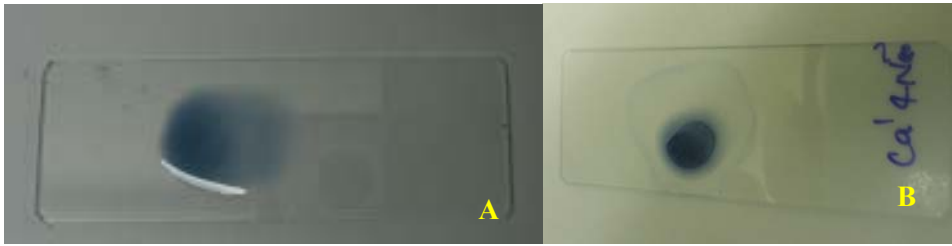
Hình 1: Khuẩn lạc trên môi trường BHIA (A) và mọc trên môi trường thạch máu nhưng không gây tan huyết (B)

Kết quả quan sát và phân tích các đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hóa của các chủng vi khuẩn phân lập từ cá rô đồng bệnh xuất huyết được trình bày ở bảng 2. Chúng là vi khuẩn Gram dương, hình cầu hay liên cầu, không di động, phản ứng âm tính với oxidase và catalase, không có khả năng lên men glucose trong cả hai điều kiện hiếu khí và kỵ khí.

Kết quả định danh bằng kit API 20 Strep cho thấy tất cả các chủng cho phản ứng voges-proskauer, hippurate, β -glucuronidase, alkaline phosphatase và leucine aminopeptidase dương tính. Tất cả các chủng cho phản ứng Bile-esculin, Pyrrolidonyl arylamidase, α -galactosidase và arginine dihydrolase âm tính. Chúng cho phản ứng âm tính với ribose, arabinose, manitol, sorbitol, lactose, trehalose, inulin, raffinose, amidon và glycogen. Dựa trên các chỉ tiêu sinh hóa và căn cứ vào mã số định danh của kit API 20 Strep, tất cả 4 chủng vi khuẩn được định danh là *Streptococcus agalactiae*. Đặc điểm hình thái, sinh lý và sinh hoá của các chủng vi khuẩn trong nghiên cứu này, giống với vi khuẩn *S. agalactiae* (Buller, 2004) trừ chỉ tiêu glycogen là âm tính so với kết quả của Buller (2004) là dương tính. Đặc biệt là kết quả âm tính với esculin là phản ứng sinh hóa nổi bật của vi khuẩn *S. agalactiae*. Salvador *et al.* (2005) cũng định danh *S. agalactiae* với các chỉ tiêu tương tự.

Phản ứng ngưng kết miễn dịch dựa trên nguyên tắc của sự liên kết giữa kháng nguyên và kháng thể có thể nhìn thấy được ở dạng kết khối (Gella *et al.*, 1991). Trong nghiên cứu này, phản ứng ngưng kết miễn dịch giúp phát hiện nhanh và nhận dạng kiểu huyết thanh (serotíp) Ib của vi khuẩn *S. agalactiae*. Kết quả đáng chú ý là tất cả các chủng được kiểm tra đều cho phản ứng ngưng kết dương tính

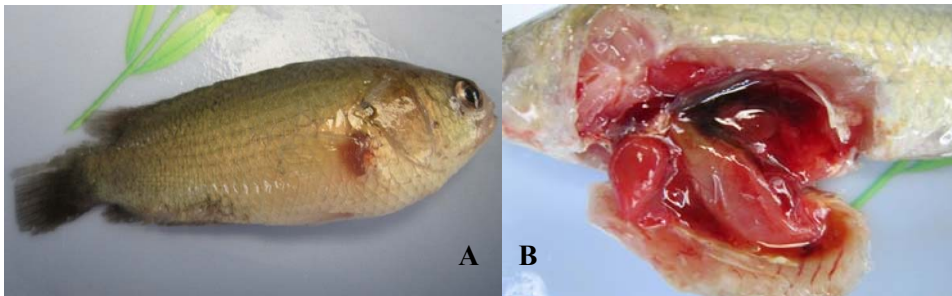
(kiểu huyết thanh Ib/kiểu sinh học 2) giúp xác định các chủng vi khuẩn phân lập được là *S. agalactiae* týp 2 (Bảng 2, Hình 2).



Hình 2: Kết quả ngưng kết miễn dịch. A. âm tính; B. dương tính

3.3 Khả năng gây bệnh xuất huyết ở cá rô của của vi khuẩn *S. agalactiae*

Kết quả thí nghiệm cảm nhiễm cá rô đồng khỏe với chủng vi khuẩn Cá1Não1 cho thấy cá bắt đầu có dấu hiệu bệnh lý và chết vào ngày thứ hai sau khi tiêm vi khuẩn. Đến ngày thứ bảy sau khi tiêm vi khuẩn, tỉ lệ cá chết ở nghiệm thức tiêm vi khuẩn là 70%. Cá ở nghiệm thức tiêm vi khuẩn có dấu hiệu bệnh lý giống nhau là tách đàn, bơi lội lờ đờ trên mặt nước, phản ứng chậm với tiếng động. Mắt hơi lồi, xuất huyết ở gốc vây ngực (Hình 3A). Giải phẫu xoang bụng thấy có chứa dịch màu đỏ, gan nhợt nhạt, tụy tạng đỏ bầm, vây đuôi bị mòn (Hình 3B). Dấu hiệu bệnh lý của cá ở thí nghiệm cảm nhiễm giống như dấu hiệu bệnh lý của các mẫu được thu ở ao nuôi. Trong khi đó, ở các bể đối chứng tiêm nước muối sinh lý thì không có cá chết, tất cả cá thí nghiệm ở nghiệm thức này vẫn ở trạng thái sinh lý bình thường trong suốt thời gian thí nghiệm.



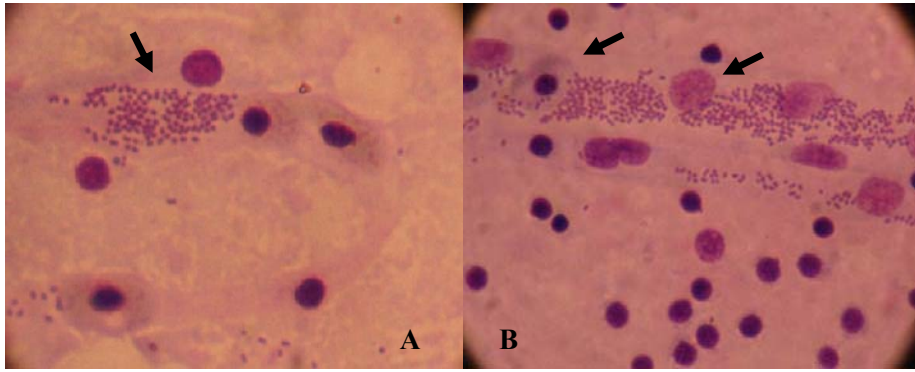
Hình 3: hiệu bệnh lý của cá 48 giờ sau tiêm vi khuẩn. A. bên ngoài. B. Bên trong

Quan sát dưới kính hiển vi (40X) mẫu cá rô bệnh do gây cảm nhiễm vi khuẩn bằng phương pháp phết kính mẫu tươi ở não và thận nhuộm Giemsa thì thấy có nhiều vi khuẩn dạng hình cầu (Hình 4A) nằm rải rác trên vùng mẫu phết kính hoặc tập trung thành từng cụm. Ngoài ra, ở một số mẫu thận và não cá bệnh phát hiện vi khuẩn phá hủy màng tế bào (Hình 4B). Kết quả này giống như khi phân lập vi khuẩn từ thận và não trên môi trường thạch BHIA. Tỷ lệ mẫu nhiễm khuẩn là 100%.

Bảng 2: Đặc điểm hình thái, sinh lý, sinh hoá của vi khuẩn phân lập từ cá rô đồng bệnh

Chỉ tiêu	Chủng vi khuẩn				Buller (2004)
	1	2	3	4	
Nhuộm Gram	+	+	+	+	+
Hình dạng	cầu	cầu	cầu	cầu	cầu
Di động	-	-	-	-	-
Sinh catalaza	-	-	-	-	-
Sinh oxidaza	-	-	-	-	-
Phản ứng lên men yếm khí	-	-	-	-	-
Phản ứng lên men hiếu khí	-	-	-	-	-
Mọc trên môi trường máu	+	+	+	+	+
Gây tan huyết	γ	γ	γ	γ	
Phản ứng Voges-Proskauer	+	+	+	+	+
Hippurate hydrolysis	+	+	+	+	+
Bile-esculin tolerance	-	-	-	-	-
Pyrrolidonyl arylamidase	-	-	-	-	-
Sinh α-galactosidase	-	-	-	-	-
Sinh β-glucuronidase	+	+	+	+	+
Sinh β-galactosidase	-	-	-	-	-
Alkaline phosphatase	+	+	+	+	+
Leucine AminoPeptidase	+	+	+	+	+
Arginine Dihydrolase	-	-	-	-	-
Sử dụng đường					
Ribose	-	-	-	-	+s
Arabinose	-	-	-	-	-
Manitol	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-
Lactose	-	-	-	-	-
Trehalose	-	-	-	-	-
Inulin	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-
Amidon	-	-	-	-	-
Glycogen	-	-	-	-	+
Kiểu huyết thanh	Ib	Ib	Ib	Ib	

Ghi chú: (1) Cá 1 Nã; (2) Cá 2 Nã; (3) Cá 3 Nã; (4) Cá 4 Nã; (+) dương tính; (-) âm tính; (+s) phát triển chậm



Hình 4: Vi khuẩn trong thận của cá rô cảm nhiễm *S. agalactiae* (Giemsa). (A) Cụm vi khuẩn ở thận (mũi tên); (B) Vi khuẩn tấn công vào hồng cầu (mũi tên)

Những con cá gần chết sau khi gây cảm nhiễm được giải phẫu để tái phân lập vi khuẩn ở thận và não. Kết quả tái phân lập vi khuẩn từ thận và não của 10 mẫu cá bệnh từ bể cảm nhiễm trên môi trường BHIA sau 24 giờ ở nhiệt độ 30°C thì được 16 đĩa có khuẩn lạc phát triển. Khuẩn lạc ở các đĩa BHIA có màu sắc và hình dạng khuẩn lạc tương tự nhau là màu kem, hình tròn, lồi, kích thước 1 mm, giống với khuẩn lạc của vi khuẩn phân lập từ mẫu cá rô bệnh xuất huyết lúc thu mẫu. Các chủng vi khuẩn tái phân lập được tái định danh bằng các chỉ tiêu hình thái, sinh lý, sinh hóa và kiểu huyết thanh. Kết quả cho thấy các chủng vi khuẩn tái phân lập được có các chỉ tiêu hình thái sinh lý, sinh hóa và kiểu huyết thanh giống như chủng vi khuẩn cảm nhiễm *S. agalactiae* Cá1Não1.

Dựa vào tỉ lệ cá chết ở nghiệm thức cảm nhiễm vi khuẩn, dấu hiệu bệnh lý, kính phết thận, kết quả tái phân lập và tái định danh cho thấy chủng vi khuẩn *S. agalactiae* Cá1Não1 có khả năng gây bệnh xuất huyết ở cá rô đồng giống như dấu hiệu bệnh lý của các mẫu cá bệnh được thu ở ao nuôi.

4 THẢO LUẬN

Bốn chủng vi khuẩn phân lập từ cá rô đồng bệnh có những đặc tính chung của nhóm vi khuẩn *Streptococcus* là Gram dương, có hình cầu hay liên cầu, không có khả năng di động trong môi trường lỏng, cho phản ứng oxidase và catalase âm tính, không có khả năng lên men glucose trong cả hai điều kiện hiếu khí và kỵ khí, mọc trên môi trường thạch máu nhưng không có gây tan huyết (Barrow và Feltham, 1993, Buller, 2004). Mặc khác, chúng cho phản ứng voges-proskauer, hippurate, β -glucuronidase, alkaline phosphatase và leucine aminopeptidase dương tính nhưng âm tính với các loại đường, Pyrrolidonyl arylamidase, α -galactosidase, arginine dihydrolase và nhất là âm tính với Bile-esculin. Các đặc tính sinh hóa này giúp phân biệt vi khuẩn *S. agalactiae* với các nhóm cầu khuẩn khác và nhất là trong nhóm *Streptococcus* (Buller, 2004; Salvador *et al.*, 2005). Thêm vào đó, tất cả các chủng đều cho phản ứng ngưng kết dương tính với kiểu huyết thanh Ib (kiểu sinh học 2) giúp xác định các chủng vi khuẩn phân lập được là *S. agalactiae* tít 2. Kết quả này tương tự với kết quả của Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Thanh Phương (2012) xác định vi khuẩn phân lập từ cá điêu hồng (*Oreochromis sp*) nuôi trong bể ở Cai Lậy, Tiền Giang bị bệnh phù mắt và xuất huyết là *S. agalactiae* tít 2.

2. Sự hiện diện cầu khuẩn gram dương nằm rải rác hoặc tập trung thành từng đám trên vùng mô kính phết thận khi nhuộm Gram cũng được mô tả ở cá chim bạc *Pampus argenteus* và điêu hồng nhiễm *S. agalactiae* (Duremdez *et al.*, 2004; Đặng Thụy Mai Thy và Đặng Thị Hoàng Oanh, 2011).

Khả năng gây bệnh xuất huyết trên cá rô của các chủng vi khuẩn *S. agalactiae* trong nghiên cứu này tương tự như kết quả cảm nhiễm *S. agalactiae* ở cá điêu hồng (*Oreochromis sp.*) của Đặng Thụy Mai Thy và Đặng Thị Hoàng Oanh (2011). Nhóm tác giả này cũng ghi nhận được dấu hiệu bệnh lý của cá sau 48 giờ cảm nhiễm là xuất huyết ở vây ngực và vây bụng, mang tái nhạt, bụng trương to. Một số cá có mắt bị xuất huyết, mờ đục. Bên trong xoang bụng có chứa dịch, nội tạng bị xuất huyết. Tương tự, *S. agalactiae* cũng làm chết cá rô phi (*Oreochromis niloticus*) với tỉ lệ 20-90% trong vòng 10 ngày sau khi tiêm với mật độ 10^1 - 10^8 CFU/ml (Suanyuk *et al.*, 2005).

5 KẾT LUẬN

Các chủng vi khuẩn phân lập từ các mẫu cá rô đồng có dấu hiệu xuất huyết là *S. agalactiae* týp 2. Kết quả thí nghiệm cảm nhiễm xác định các chủng vi khuẩn này có khả năng gây xuất huyết cá rô đồng khỏe trong điều kiện cảm nhiễm thực nghiệm giống như dấu hiệu bệnh ở cá thu từ ao nuôi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Amal, A.M.N. , N. Nazifah, A.S. Zahrah, M.V. Sabri, M.Z. Saad, 2008. Determination of LD50 for *Streptococcus agalactiae* infections in red tilapia and gift. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture. 1245-1251.
- Barrow, G. I. and R. K. A. Feltham. 1993. Cowan and Steel's manual for the indentification of medical bacteria, 3rd edn. Cambridge Univesity Press, Cambridge. 262
- Bin, P., Guang-you, Y., Xiao-li, C., Ai-si2, Z. and Ming-li, H. E. 2010. Isolation and identification on pathogenic bacteria of hemorrhagic septicemia disease in rice field eels (*Monopterus albus*). Freshwater Fisheries. 2011-03
- Buller, N.B., 2004. Bacteria from fish and other aquatic animals: a practice identification manual, 361 pp.
- Đặng Thụy Mai Thy và Đặng Thị Hoàng Oanh. 2011. Đặc điểm mô bệnh học ở cá điêu hồng (*Oreochromis sp.*) nhiễm vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* trong điều kiện thực nghiệm. Kỷ yếu Hội nghị khoa học thủy sản lần 4 : 289-301.
- Đặng Thị Hoàng Oanh và Nguyễn Thanh Phương. 2012. Phân lập và xác định đặc điểm của vi khuẩn *Streptococcus agalactiae* từ cá điêu hồng (*Oreochromis sp.*) bệnh phù mắt và xuất huyết. Tạp chí khoa học, Đại học cần Thơ.
- Evans, J., P.H. Klesius and C.A. Shoemaker. 2006. *Streptococcus* in warm-water fish. Aquaculture Health International. 10-14
- Salvador, R., Muller, E. E., de Freitas, J. C., Leonhardt, J. H., Preto-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, Santa Maria, 35 (6):1374-1378.
- Gella, F. J., Serra, J. and Gener, J. 1991. Latex agglutination procedures in immunodiagnosis. Pure&App/. Chem. 63 (8): 1131-1134.

- Loan Thi Thanh Ly, Du Ngoc Nguyen, Phuong Hong Vo, Cuong Van Doan. 2009. Hemorrhage Disease of Cultured Tra Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) in Mekong Delta (Vietnam). The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh 61(3).
- Ventura M. T. and J. M. Grizzle. 1987. Evaluation of portals of entry of *Aeromonas hydrophila* in channel catfish. Aquaculture. 65: 205-214.
- Suanyuk, N., Kanghear, H., Khongpradit, R. and Supamattaya, K. 2005. *Streptococcus agalactiae* infectin in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Songklanakarin J. Sci. Tech. (27):307-319.