

# Przypadki flawobakterioz u pstrągów i karpia hodowanych w Polsce

ALICJA KOZIŃSKA, AGNIESZKA PĘKALA

Zakład Chorób Ryb Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego,  
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Kozińska A., Pękala A.

## Various cases of flavobacteriosis in trout and carp cultured in Poland

### Summary

The aim of the paper was to present the clinical data in four cases of flavobacteria infections in fish cultured in Poland and to characterize the isolates. The cases occurred in September 2005 and in February and March 2006 in three trout farms and one carp farm. In the first case, *Fl. psychrophilum* and *Fl. columnare* were isolated from apparently healthy rainbow trout. In the second case, common carp showed clinical signs specific for columnaris disease and abundant growth of bacteria producing yellow colonies was observed in skin and gills samples. The bacteria of separated isolates were identified as *Fl. columnare*. In the third case, abundant growth of flavobacteria was obtained from rainbow trout fry population with haemorrhages in the yolk sac and numerous mortalities. Separated isolates were identified as *Fl. psychrophilum* and *Fl. branchiophilum*. In the fourth case, skin darkening and mortalities were observed in rainbow trout after moving to another farm. An abundant growth of bacteria from kidney and intestine samples was obtained and yellow colonies grew uniformly or predominated over other bacterial flora. *Fl. psychrophilum* was identified among the isolates. In total, 17 isolates were identified. All the isolates showed characteristics specific for flavobacteria: they grew on *Cytophaga* agar, produced yellow colonies with spreading, wrinkled or whole edges (dependend on bacteria species). Cultures comprised Gram-negative, long cells without spores or fruiting bodies (except for three isolates). Other phenotypic properties were consistent with those of reference strains used in the studies. The isolates identified as *Fl. columnare*, *Fl. branchiophilum* or *Fl. psychrophilum* varied little in their range of properties with regard to data of other authors.

**Keywords:** trout, carp, *Flavobacterium* sp.

Flawobakteriozy ryb wywoływane są przez drobnoustroje z rodzaju *Flavobacterium*, które wcześniej zaliczano do rodzajów *Flexibacter* lub *Cytophaga*. Uważa się, że tzw. chorobę kolumnową wywołuje *Flavobacterium columnare* (wcześniej *Flexibacter columnaris*), bakteryjną chorobę skrzelii (BGD – bacterial gill disease) wywołuje *Fl. branchiophilum*, a tzw. chorobę zimnej wody (CWD – cold water disease) wywołuje *Fl. psychrophilum* (wcześniej *Flexibacter psychrophilus*, *Cytophaga psychrophila*) (19). Każda z tych chorób może mieć ostry przebieg i, jeżeli ryby nie są leczone, zachorowalność dochodzi czasami do 100%, a śmiertelność do 50% lub nawet 80%. Z chorobami ryb związane są także inne gatunki *Flavobacterium*, takie jak: *Fl. hydatis* (wcześniej *Cytophaga aquatilis*), *Fl. johnsoniae* i *Flavobacterium* sp. (1, 18, 20). Ich znaczenie w patogenezie nie jest dotychczas dokładnie wyjaśnione.

Flawobakterie występują naturalnie w środowisku wodnym oraz stanowią składnik normalnej mikroflory skrzelii u zdrowych ryb, a możliwe, że nawet ikry

(2, 11, 21). Jednak rezerwuary patogennych dla ryb bakterii z tej grupy nie zostały ściśle ustalone (4). Identyfikacja poszczególnych gatunków nie jest łatwa, ale większość flawobakterii związanych z chorobami ryb posiada kilka wspólnych cech pozwalających łatwo je odróżnić od innych grup bakterii. Są to Gram-ujemne cienkie pałeczki, często osiągające długość 4-8 µm z występującymi formami nitkowatymi dochodzącymi do 100 µm. Polimorfizm komórkowy występuje nawet w obrębie tego samego gatunku i zależy od czasu hodowli i użytego podłoża. Drobnoustroje tego rodzaju opisywane są jako niezarodnikujące i nie wytwarzające owocników. Najlepiej rozwijają się na podłożach ubogich w substancje odżywcze, np. na agarze *Cytophaga* (3), a żółta lub pomarańczowa barwa kolonii jest charakterystyczna niemal dla wszystkich flawobakterii. Inną cechą charakterystyczną dla niektórych gatunków jest zdolność do wykonywania tzw. ślizgowego ruchu poprzez wyginanie komórki.

Wśród flawobakterioz najbardziej rozpowszechniona jest choroba kolumnowa, występująca u różnych

gatunków ryb na całym świecie (4, 24). W ostatnich 10 latach diagnozowano ją także w Polsce u ryb łososiowatych i karpio-watych na podstawie charakterystycznych objawów klinicznych i badań histopatologicznych (26). Jednak ze względu na trudności w poprawnej identyfikacji gatunku, przypadki zachorowań ryb nie zostały opisane. Chorobę BGD stwierdzano najczęściej u ryb łososiowatych w Japonii i USA. W Europie choroba ta występuje rzadziej, notowano ją w Portugalii, Szkocji i we Włoszech (16, 22). Choroba zimnej wody atakuje prawie wszystkie gatunki ryb łososiowatych, ale może występować także u węgorza, karpia i innych ryb karpio-watych (9). Zasięg CWD początkowo był ograniczony do kontynentu Ameryki Północnej, ale później choroba rozprzestrzeniła się także w Azji i Europie (4). Wśród krajów europejskich CWD stwierdzano w Danii, Anglii, Francji, Niemczech i Hiszpanii (7, 10). W roku 2004 choroba pojawiła się także w jednym z gospodarstw rybackich w Polsce (5).

Celem badań było przedstawienie danych klinicznych o przypadkach zakażeń ryb w Polsce różnymi gatunkami *Flavobacterium* i charakterystyka izolatów. Dane te dotyczą badań przeprowadzonych w Zakładzie Chorób PIWet-PIB w Puławach.

### Materiał i metody

Badania wykonano w latach 2005-2006. Flawobakterie izolowano od ryb pochodzących z czterech różnych gospodarstw rybackich, w tym z trzech pstrągowych i jednego karpio-wego. Do badań użyto po 10 ryb z każdego gospodarstwa.

W pierwszym gospodarstwie pstrągowym we wrześniu 2005 r. w populacji ryb o masie 40-60 g występowały tylko pojedyncze śnięcia. Ryby nie wykazywały żadnych innych objawów chorobowych. W gospodarstwie karpio-wym, na początku lutego br. ryby o masie 160-180 g zaczęły pod pływać pod dopływ i obserwowano początkowo pojedyncze, a później coraz bardziej liczne śnięcia ryb. Temperatura wody w stawie wynosiła 5-6°C. Badaniem klinicznym stwierdzono na skórze zwiększone wydzielanie śluzu, którego konsystencja była nierównomiernie zagęszczona, a także obrzęk i zwiększone wydzielanie śluzu w skrzelach. Badanie sekcyjne wykazało prawidłowy wygląd mięśni i narządów wewnętrznych. Ogólne straty wyniosły ponad 30% obsady ryb. Na przełomie lutego i marca 2006 r., w drugim gospodarstwie pstrągowym wystąpiły zaburzenia u wylęgu pstrąga tęczowego. Temperatura wody wynosiła ok. 6°C. U wylęgu obserwowano wybroczyny w woreczku żółtkowym i występowały liczne śnięcia. Wyniki badań przeprowadzonych w kierunku obecności wirusów VHSV, IHNV i IPNV były ujemne. W marcu 2006 r. stwierdzono potransportowe śnięcia pstrąga tęczowego o masie 40-60 g w trzecim gospodarstwie pstrągowym. Badaniem parazytologicznym wykazano obecność pasożyta *Dactylogyrus* sp. Po zastosowaniu kąpieli leczniczej w soli kuchennej pasożyta nie stwierdzono, ale śnięcia zwiększyły się, powodując ogólne straty sięgające 10% obsady. U poszcze-

gólnych sztuk obserwowano pociemnienie skóry, poza tym ryby nie wykazywały żadnych innych objawów klinicznych. Badaniem sekcyjnym wykazano zwiększoną wilgotność nerki i przekrwienie błony śluzowej przewodów pokarmowych. Po zastosowaniu enrofloksacyny śnięcia ustały. Wyniki badań w kierunku obecności wirusów VHS, IHN i IPN były ujemne.

**Badania bakteriologiczne.** Próbkę do badań bakteriologicznych pobierano z nerki i śledziony od ryb nie wykazujących objawów klinicznych oraz wówczas, kiedy jedynym objawem były śnięcia ryb lub ze zmienionych tkanek zewnętrznych (skóra, skrzela) i organów wewnętrznych (nerka, śledziona, wątroba). Wylęg z woreczkiem pobierano w całości. Próbkę rozcieńczano w jałowym płynie fizjologicznym (PBS) w stosunku 1 : 1 (wag./obj.), homogenizowano i posiewano równocześnie na dwa podłoża: agar tryptozowo-sojowy (TSA) i Cytophaga agar (CA). Każdorazowo materiał posiewano na 2 płytki zawierające określony rodzaj podłoża; jedną z nich inkubowano w temp. 17°C ± 1, drugą w temp. 27°C ± 1. Inkubację prowadzono przez 10 dni. Po tym czasie oceniano proporcje żółtych lub pomarańczowych kolonii w stosunku do całkowitej flory bakteryjnej oraz ich morfologiczne zróżnicowanie. Następnie izolowano po 3-4 kolonie różnego typu i przeprowadzono dokładną identyfikację fenotypową wg danych z piśmiennictwa (4, 9, 12, 24), a także porównywano badane izolaty ze szczepami referencyjnymi: NCIMB 2248 (*Fl. columnare*), NCIMB 2219 (*Fl. branchiophilum*) i NCIMB 2247 (*Fl. psychrophilum*). Badano właściwości morfologiczne, zdolność ruchu, zdolność wytwarzania barwnika fleksirubino-wego oraz właściwości biochemiczne i enzymatyczne. Właściwości morfologiczne komórek badano w preparatach świeżych i barwionych metodą Grama. Przy obserwacji mikroskopowej świeżych preparatów określano jednocześnie zdolność ruchu. Wytwarzanie barwnika fleksirubino-wego badano poprzez nakropienie na kolonie 20% KOH i obserwację zmiany ich barwy (17). Test na oksydazę cytochromową wykonano przy użyciu gotowego odczynnika Oxidase reagent (bioMérieux), a test na katalazę przy użyciu świeżo przygotowanej 3% wody utlenionej. Typ metabolizmu glukozy (O/F test), zdolność wytwarzania kwasu z arabinozy, celobiozy, glukozy, D-ksylozy, laktozy, maltozy, mannitolu, mannozy, rafinozy i salicyny oznaczano przy zastosowaniu klasycznych metod probówkowych, stosując podłoże o następującym składzie (9): trypton (0,05%), wyciąg drożdżowy (0,05%), czerwień fenolowa (0,0018%) oraz odpowiedni cukier lub alkohol w końcowej koncentracji 0,2%. Hydrolizę żelatyny badano na płytkach z podłożem o następującym składzie: trypton (0,05%), wyciąg drożdżowy (0,05%), agar (2%), żelatyna (4%). Inne właściwości biochemiczne oraz enzymatyczne izolatów badano przy użyciu zestawów odpowiednio API 20 E i API Zym (bioMérieux).

### Wyniki i omówienie

Według danych piśmiennictwa, przy zakażeniach ryb przez flawobakterie mogą występować objawy chorobowe, charakterystyczne dla określonego patogenu należącego do tej grupy bakterii (4, 12, 22, 24). Jednak zarówno objawy kliniczne, jak też przebieg choroby

zależą w dużym stopniu od zjadliwości szczepu oraz gatunku i wieku ryby (4, cyt.12). W badaniach własnych, objawy kliniczne dały podstawę do podejrzenia flawobakteriozy tylko u ryb w gospodarstwie karpowym. Zwiększone wydzielanie i zagęszczona konsystencja śluzu na skórze i w skrzelach są charakterystyczne dla choroby kolumnowej, chociaż podobne objawy występują także przy niektórych egzoparazytozach. W badanym przypadku pasożytów jednak nie stwierdzono. W drugim gospodarstwie pstragowym objawy kliniczne wskazywały raczej na chorobę wirusową wylegu pstrąga tęczowego. Przeprowadzone badania nie wykazały obecności wirusów chorobotwórczych dla tego gatunku ryb. W gospodarstwach pstragowych, pierwszym i czwartym, ryby nie wykazywały żadnych objawów klinicznych lub mało charakterystyczne pociemnienie skóry i śniecia.

Badaniem bakteriologicznym w każdym z opisanych przypadków wykazano wzrost charakterystycznych, żółto zabarwionych kolonii bakteryjnych w próbkach inkubowanych na podłożu CA w temperaturze 17°C, a tylko część z nich rozwijała się podczas równolegle prowadzonej inkubacji w temperaturze 27°C na tym samym podłożu. Z większości tych samych próbek nie uzyskano wzrostu podobnych kolonii na podłożu TSA.

U pstrągów z gospodarstwa pierwszego mikroflora próbek nerki i śledziona była nieliczna i urozmaicona. Stwierdzono obecność dwóch typów żółtych kolonii, które stanowiły ok. 30% ogólnej flory bakteryjnej. Oba typy charakterystycznych kolonii rozwijały się na CA, a tylko jeden z nich również na podłożu TSA. Zaistniało więc podejrzenie nosicielstwa bakterii z rodzaju *Flavobacterium*. Spośród 5 wyosobnionych izolatów, 3 zidentyfikowano jako *Fl. psychrophilum* i 2 jako *Fl. columnare*.

W próbkach zmienionej skóry i skrzeli karpia stwierdzono obfity wzrost charakterystycznych rozpełzających po podłożu żółtych kolonii, stanowiących ponad 90% całkowitej flory bakteryjnej w tych próbkach. Bakterie rozwijały się na obu użytych w badaniach podłożach, TSA i CA, w temperaturze 17°C i 27°C. Trzy wyosobnione izolaty zidentyfikowano jako *Fl. columnare*. W narządach wewnętrznych ryb nie stwierdzono obecności bakterii.

W posiewach wylegu pstrąga tęczowego stwierdzono charakterystyczne żółte kolonie. Kolonie rozwijały się tylko na CA, przy czym wzrost był znacznie bardziej obfity w temperaturze 17°C niż 27°C. Bakterie te stanowiły 70-95% flory bakteryjnej w poszczególnych próbkach. Spośród 4 wyosobnionych izolatów, po 2 zidentyfikowano jako *Fl. psychrophilum* i *Fl. branchiophilum*. Trudno było ustalić, który z tych gatunków wywołał zmiany chorobowe. Prawdopodob-

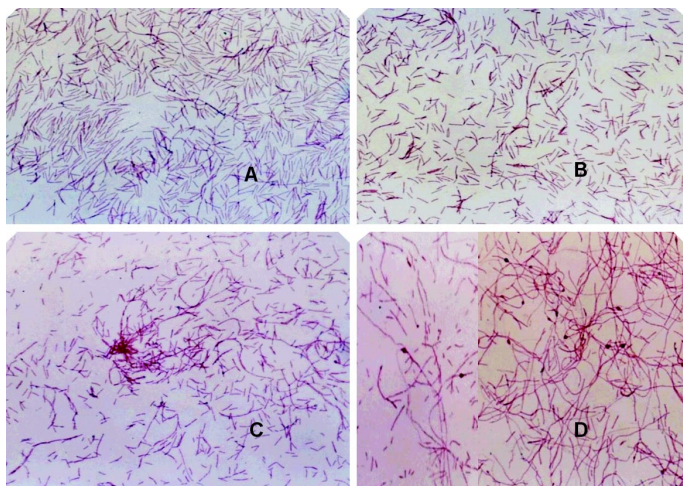
Tab. 1. Właściwości morfologiczne, hodowlane i biochemiczne izolatów sklasyfikowanych jako *Fl. columnare*

Właściwości	Badane izolaty (n = 5)	<i>Fl. columnare</i> NCIMB 2248	Wg różnych autorów*
Ruch ślizgowy	+	+	+
Kolonie rozpełzające	+	+	+
Barwnik fleksirubinowy	+	+	+
Wzrost w temp. 5°C, 17°C, 27°C	+	+	+
Wzrost na TSA	+	+	-
Oksydaza	+ 3	+	+
Kwas z: arabinozy, celobiozy, laktozy, mannitolu, mannozy, rafinozy, salicyny	-	-	-
Kwas z maltozy	+	-	-
Kwas z glukozy	+	+	-
Kwas z D-ksylozy	-	-	r
API 20E:			
$\beta$ -galaktozydaza (ONPG)	+ (4); - (1)	-	r
H <sub>2</sub> S	-	-	+
Żelatyna	+	+	+
Glukoza, mannitol, inozytol, sorbitol, ramnoza, sacharoza, melibioza, amigdalina, arabinoza	-	-	-
Redukcja NO <sub>3</sub>	+	+	+

Objaśnienia: \* – wg 4, 9; (s) – reakcja słaba; r – reakcje różne zależnie od szczepu; liczba w nawiasie – liczba izolatów dodatnich/ujemnych

nie większą rolę w patogenezie miały *Fl. psychrophilum*, ponieważ *Fl. branchiophilum*, jak wynika z dotychczasowej wiedzy, wywołuje bakteryjną chorobę skrzeli. Zwraça jednak uwagę fakt obecności *Fl. branchiophilum* u wylegu, u którego skrzela jeszcze się nie rozwinęły.

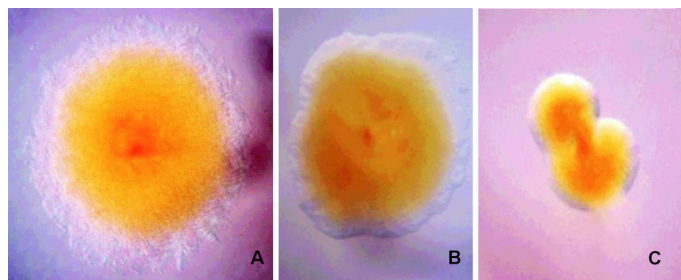
Obfity wzrost żółtych kolonii stwierdzono w próbkach nerki i przewodu pokarmowego u ryb z czwartego gospodarstwa pstragowego. Bakterie wzrastały tylko na CA w temperaturze 17°C i zdecydowanie dominowały nad pozostałą florą bakteryjną. Nawet w próbkach śluzówki przewodów pokarmowych stanowiły do 95% flory bakteryjnej, co wskazuje, że bakterie te mają zdolność redukcji lub niemal całkowitej eliminacji fizjologicznej, zwykle zróżnicowanej flory przewodów pokarmowych. Kolonie uzyskane z próbek nerki i przewodów pokarmowych nie wykazywały znaczących różnic morfologicznych. Spośród 5 wyosobnionych izolatów tylko 2 zidentyfikowano jako *Fl. psychrophilum*. Trzy pozostałe izolaty, chociaż były podobne do tego gatunku także w szerokim zakresie właściwości biochemicznych, nie zostały sklasyfikowane do rodzaju *Flavobacterium*. U 3 wspomnianych wyżej izolatów stwierdzono obecność owocników, umieszczonych na końcach komórek układających się w łańcuchy. Owocniki nie posiadały szypulek ani rozgałęzień



Ryc. 1. Preparaty z hodowli izolatów na CA barwione metodą Grama: morfologia komórek *Fl. columnare* (A), *Fl. branchiophilum* (B), *Fl. psychrophilum* (C) oraz izolatów wytwarzających owocniki (D)

(ryc. 1). Xu (25) opisał bakterie z podobnymi owocnikami i zidentyfikował je jako *Myxococcus piscicola* należące do rodziny *Myxobacteriaceae*. Interesujące jest, że bakterie te były związane z chorobą skrzelu u amura, co wskazuje, że mogą być także patogenem ryb.

Łącznie ze wszystkich opisanych przypadków wyosobniono 17 izolatów. Wszystkie wzrastały na CA w postaci żółto zabarwionych kolonii w temp. 5 i 17°C. Kolonie zawierały Gram-ujemne, długie pałeczki (ryc. 1), wytwarzające katalazę i hydrolizujące żelatynę (w testach płytkowych). W testach przeprowadzonych przy użyciu zestawów API 20E wszystkie izolaty były ujemne w następujących reakcjach: dwuhydrolaza argininy, dekarboksylaza lizyny i ornityny, wykorzystanie cytrynianu, wytwarzanie H<sub>2</sub>S, ureazy, deaminazy tryptofanu, indolu, reakcja Voges-Proskauera, wytwarzanie kwasu z glukozy, mannitolu, inozytolu, ramnozy, sacharozy, melibiozy, amygdaliny i arabinozy. Identyczne reakcje wykazywały użyte w badaniach szczepy referencyjne. Inne właściwości izolatów, zmienne dla poszczególnych gatunków lub w obrębie gatunku, przedstawione są w tabelach 1, 2, 3 i 4. *Fl. columnare* i *Fl. psychrophilum* wykazują ruch ślizgowy i oba gatunki mogą wytwarzać kolonie rozpełzające. Jednak w przypadku *Fl. psychrophilum* obserwowano dwa typy kolonii na agarze Cytophaga: kolonie pofałdowane rozpełzające lub gładkie z nierozpełzającymi krawędziami (12). Izolaty zidentyfikowane w obecnej pracy jako *Fl. columnare* tworzyły żółte kolonie rozpełzające po podłożu, kolonie izolatów *Fl. branchiophilum* były pofałdowane na krawędziach, natomiast kolonie izolatów *Fl. psychrophilum* miały krawędzie gład-



Ryc. 2. Morfologia kolonii izolatów *Fl. columnare* (A), *Fl. branchiophilum* (B) i *Fl. psychrophilum* (C)

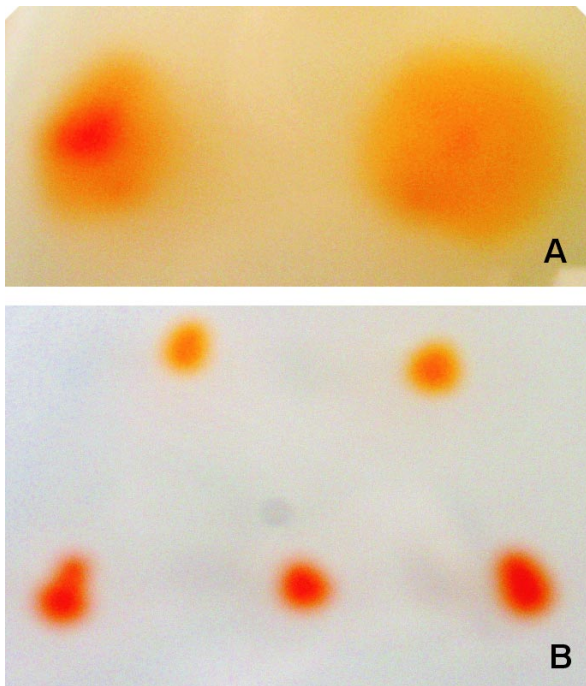
kie (ryc. 2). Barwnik fleksirubinowy jest charakterystyczny dla wielu szczepów flawobakterii chorobotwórczych dla ryb (12, 22, 24). Obecność tego barwnika stwierdzono u 12 izolatów zidentyfikowanych jako *Fl. columnare* lub *Fl. psychrophilum* (ryc. 3) oraz u 3 izolatów wytwarzających owocniki.

Właściwości 5 izolatów zidentyfikowanych jako *Fl. columnare* były identyczne jak szczepu referencyjnego tego gatunku NCIMB 2248, za wyjątkiem wytwarzania kwasu z celobiozy i maltozy. Badane izolaty były w tych testach dodatnie, natomiast szczep refe-

Tab. 2. Właściwości morfologiczne, hodowlane i biochemiczne izolatów sklasyfikowanych jako *Fl. branchiophilum*

Właściwości	Badane izolaty (n = 2)	<i>Fl. branchiophilum</i> NCIMB 2219	Wg różnych autorów*
Ruch ślizgowy	-	-	-
Kolonie rozpełzające	-	-	R
Barwnik fleksirubinowy	-	-	R
Wzrost w temp. 5°C, 17°C, 27°C	+	+	+
Wzrost na TSA	+ (s) (1); - (1)	+ (s)	-**
Oksydaza	-	-	-
Kwas z: celobiozy, glukozy, maltozy, sacharozy	+	+	+
Kwas z: arabinozy, D-ksylozy, laktozy, mannitolu, salicyny	-	-	-
Kwas z mannozy	+	+	r
Kwas z rafinozy	-	-	+
Kwas z trehalozy	-	-	+
<b>API 20E:</b>			
β-galaktozydaza (ONPG)	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	+
Żelatyna	-	+	+
Glukoza, sacharoza, melibioza	-	-	+
mannitol, inozytol, sorbitol, ramnoza, amigdalina, arabinoza	-	-	-
Redukcja NO <sub>3</sub>	-	-	-

Objaśnienia: \* – wg 4, 8, 9, 15, 23; \*\* – bakterie rozwijają się na TSA rozcieńczonym 1 : 20; (s) – reakcja słaba; r – reakcje różne zależnie od szczepu; liczba w nawiasie – liczba izolatów dodatnich/ujemnych



Ryc. 3. Kolonie izolatu *Fl. columnare* (A) i *Fl. psychrophilum* (B): Po nakropleniu 20% KOH na kolonię z lewej (A) i trzy kolonie na dole ryciny (B) zmieniły one barwę z żółto-pomarańczowej na czerwoną

rencyjny ujemny. W przeciwieństwie do danych z piśmiennictwa (4, 9) badane izolaty i szczep referencyjny rozwijały się one na podłożu TSA, wykazywały słabą reakcję rozkładu glukozy, a w testach API nie wytwarzały H<sub>2</sub>S (tab. 1). Właściwości dwóch izolatów *Fl. branchiophilum* odpowiadały właściwościom referencyjnego szczepu tego gatunku NCIMB 2219 i były zgodne z danymi z piśmiennictwa (4, 8, 9, 15, 23) za wyjątkiem wytwarzania kwasu z rafinozy i trehalozy. Izolaty i badany szczep referencyjny były w tych reakcjach ujemne (tab. 2). Właściwości większości izolatów *Fl. psychrophilum* odpowiadały cechom referencyjnego szczepu tego gatunku NCIMB 2247 i były zgodne z danymi z piśmiennictwa (4, 7, 8, 9). Jedyne 3 izolaty były ujemne w reakcji hydrolizy żelatyny (w teście API 20E) w przeciwieństwie do szczepu referencyjnego i danych piśmiennictwa (tab. 3). Powyższe niezgodności wynikają prawdopodobnie z różnic dotyczących stosowanych podłoży, temperatury inkubacji, gęstości zawiesiny bakteryjnej stosowanej do napełniania pasków API itp. Identyfikację poszczególnych gatunków potwierdziły wyniki właściwości enzymatycznych uzyskanych w zestawach API Zym (tab. 4). Na uwagę zasługuje fakt, że 3 izolaty zawierające owocniki wykazywały właściwości hodowlane, biochemiczne, enzymatyczne niemal identyczne z izolatami *Fl. psychrophilum*, co wskazuje na bliskie pokrewieństwo obu gatunków. Morfologicznie różniły się tylko obecnością owocników. Jest więc bardzo prawdopodobne, że bakterie te są, podobnie jak *Fl. psychrophilum*, chorobotwórcze dla ryb, tym bardziej, że

Tab. 3. Właściwości morfologiczne, hodowlane i biochemiczne izolatów sklasyfikowanych jako *Fl. psychrophilum*

Właściwości	Badane izolaty (n = 7)	<i>Fl. psychrophilum</i> NCIMB 2247	Wg różnych autorów *
Ruch ślizgowy	+	+	+
Kolonie rozpełzające	-	-	r
Barwnik fleksirubinowy	+	+	+
Wzrost w temp. 5°C i 17°C	+	+	+
27°C	-	-	-
Wzrost na TSA	-	-	-
Oksydaza	+	+	+
Kwas z celobiozy	-	-	bd
Kwas z: arabinozy, glukozy, D-ksylozy, laktozy, maltozy, mannitolu, mannozy, salicyny	-	-	-
Kwas z rafinozy	-	-	bd
API 20E:			
β-galaktozydaza (ONPG)	-	-	-
H <sub>2</sub> S	-	-	+
Żelatyna	+ (4); - (3)	+	+
Glukoza, mannitol, inozytol, sorbitol, ramnoza, sacharoza, melibioza, amygdalina, arabinoza	-	-	-
Redukcja NO <sub>3</sub>	-	-	-

Objaśnienia: \* – wg 4, 7, 8, 9; r – reakcje różne zależnie od szczepu; bd – brak danych; liczba w nawiasie – liczba izolatów dodatnich/ujemnych

czynnikami zjadliwości flawobakterii są prawdopodobnie zewnątrzkomórkowe enzymy (14).

Pojawienie się różnych gatunków *Flavobacterium* w ostatnim czasie może być związane zarówno z niekorzystnym wpływem anomalii pogodowych, jak też wzrostem zanieczyszczeń środowiska wodnego. Trudno jest jednak ocenić dokładną przyczynę wystąpienia związanych z tymi bakteriami zaburzeń zdrowotnych u ryb oraz źródło zakażeń, ponieważ badania nad tą grupą drobnoustrojów prowadzone są w Polsce w ograniczonym zakresie. Opisane przypadki flawobakterioz, jak też nieco wcześniej opisany przypadek wystąpienia choroby zimnej wody w Polsce (5) wskazują na potrzebę podjęcia szerszych badań diagnostycznych i epizootycznych obejmujących chorobotwórcze i groźne dla zdrowia ryb flawobakterie.

## Piśmiennictwo

1. *Acuigrup A.*: Flavobacteriosis in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), [w:] Ahne W.: Fish Diseases. Springer-Verlag, Berlin 1980, 212-217.
2. *Allen D. A., Austin B., Colwell R. R.*: Numerical taxonomy of bacterial isolates associated with a freshwater fishery. J. Gen. Microbiol. 1983, 129, 2043-2062.
3. *Anacker R. L., Ordal E. J.*: Studies on the myxobacterium *Chondrococcus columnaris*. 1. Serological typing. J. Bacteriol. 1959, 78, 25-32.
4. *Austin B., Austin D. A.*: Bacterial Fish Pathogens. Springer, London 1999.
5. *Bernad A., Terech-Majewska E., Siwicki A. K.*: Choroba zimnej wody – przypadek w jednym z gospodarstw rybackich na terenie województwa warmińsko-mazurskiego, [w:] Ochrona zdrowia ryb – aktualne problemy. IRS, Olsztyn 2004, s. 168.

Tab. 4. Właściwości enzymatyczne izolatów *Fl. columnare*, *Fl. branchiophilum* i *Fl. psychrophilum*

Enzymy	Nr testu	Izolaty <i>Fl. columnare</i> (n = 5)	Wg różnych autorów*	Izolaty <i>Fl. branchiophilum</i> (n = 2)	Wg różnych autorów**	Izolaty <i>Fl. psychrophilum</i> (n = 7)	Wg różnych autorów***
Kontrola	1	-	-	-	-	-	-
Fosfataza alkaliczna	2	+	+	+	+	+	+
Esteraza (C4)	3	+ (2); - (3)	r	+	+	+	r
Esteraza Lipaza (C8)	4	+	+	+	+	+	+
Lipaza (C14)	5	-	-	-	-	-	-
Arylamidaza leucyny	6	+	+	+	+	+	+
Arylamidaza waliny	7	+ (4); - (1)	+ ****	+	+	+ (s) (5); - (2)	r
Arylamidaza cystyny	8	+ (3); - (2)	+ ****	+	+	-	-
Trypsyna	9	-	r	-	r	-	-
$\alpha$ -chymotrypsyna	10	-	-	-	-	-	-
Fosfataza kwaśna	11	+	+ ****	+	+	+	+
Fosfohydrolaza naftylo-AS-BI	12	+	+	+	+	+	+
$\alpha$ -galaktozydaza	13	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -galaktozydaza	14	-	-	-	-	-	-
$\beta$ -glukoronidaza	15	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -glukozydaza	16	+ (2); - (3)	r	+	r	-	-
$\beta$ -glukozydaza	17	-	-	-	r	-	-
N-acetylo- $\beta$ -glukozaminidaza	18	+ (s) (2); - (3)	-	-	-	-	-
$\alpha$ -mannozydaza	19	-	-	-	-	-	-
$\alpha$ -fukozydaza	20	-	-	-	-	-	-

Objaśnienia: \* – wg 6, 8, 13, 15; \*\* – wg 8, 15, 23; \*\*\* – wg 6, 8, 15; \*\*\*\* – niektóre szczepy wykazują reakcję słabą (2 lub poniżej w skali 1-5) interpretowaną jako ujemna wg Ostland i wsp. (15); (s) – reakcja słaba (2 lub poniżej w skali 1-5); r – reakcja różna zależnie od szczepu; liczba w nawiasie – liczba izolatów dodatnich/ujemnych

6. *Bernardet J.-F.*: Flexibacter columnaris: first description in France and comparison with bacterial strains from other origins. Dis. Aquat. Org. 1989, 6, 37-44.
7. *Bernardet J.-F., Grimont P.*: Deoxiribonucleic acid relatedness and phenotypic characterization of Flexibacter columnaris sp. nov., nom. rev., Flexibacter psychrophilus sp. nov., nom. rev., and Flexibacter maritimus Wakabayashi, Hikida and Masumura 1986. Int. J. Syst. Bacteriol. 1989, 39, 346-354.
8. *Bernardet J.-F., Swegers P., Vancanneyt M., Berthe F., Kersters K., Vandamme P.*: Cutting a Gordian knot: emended classification and description of the gGenus Flavobacterium, emended description of the Family Flavobacteriaceae, and proposal of Flavobacterium hydatis nom. nov. (Basonym, Cytophaga aquatilis Strohl and Tait 1978). Int. J. Syst. Bacteriol. 1996, 46, 128-148.
9. *Buller N. B.*: Bacteria from fish and other aquatic animals: a practical identification manual. CABI Publishing, Wallingford, UK 2004.
10. *Cipriano R., Schill W. B., Teska J. D., Ford L. A.*: Epizootiological study of bacterial cold-water disease in Pacific salmon and further characterization of the etiological agent, Flexibacter psychrophila. J. Aqu. Anim. Health 1996, 8, 28-36.
11. *Hansen G. H., Bergh Ø., Michaelsen J., Knappskog D.*: Flexibacter ovolyticus sp. nov., a pathogen of eggs and larvae of Atlantic halibut, Hippoglossus hippoglossus L. Int. J. Syst. Bacteriol. 1992, 42, 451-458.
12. *Holt R. A., Rohovec J. S., Fryer J. L.*: Bacterial cold-water disease, [w:] Inglis V., Roberts R. J., Bromage N. R.: Bacterial diseases of fish. Blackwell Science Ltd, Oxford 1993, 3-22.
13. *Humphry D., George A., Black G., Cummings S.*: Flavobacterium frigidarium sp. nov., an aerobic, psychrophilic, xylanolytic and laminarinolytic bacterium from Antarctica. Int. J. Syst. Evolut. Microbiol. 2001, 51, 1235-1243.
14. *Newton J. C., Wood T. M., Hartley M. M.*: Isolation and partial characterization of extracellular proteases produced by isolates Flavobacterium columnare derived from channel catfish. J. Aqu. Anim. Health 1997, 9, 75-85.
15. *Ostland V. E., Lumsden J. S., MacPhee D. D., Ferguson H. W.*: Characteristics of Flavobacterium branchiophilum, the cause of salmonid gill disease in Ontario. J. Aqu. Anim. Health 1994, 6, 13-26.
16. *Prost M.*: Choroby ryb. PTNW, Lublin 1994, 124-132.
17. *Reichenbach H., Behrens H., Hirsch Z.*: The classifications of the Cytophaga-like bacteria, [w:] Reichenbach H., Weeks O. B.: The Flavobacterium – Cytophaga Group. Verlag Chemie, Deerfield Beech, Florida 1981, 7-15.
18. *Rintamäki-Kinnunen P., Bernadet J. F., Bloigu A.*: Yellow pigmented filamentous bacteria connected with farmed salmonid fish mortality. Aquacult. 1997, 149, 1-14.
19. *Shotts E. B. Jr, Starliper C. E.*: Flavobacterial diseases: columnaris disease, cold-water disease and bacterial gill disease, [w:] Woo P. T. K., Bruno D. W.: Fish diseases and disorders, t. 3 viral, bacterial and fungal infections. CABI Publishing, Wallingford, UK, 559-576.
20. *Strohl W. R., Tait L. R.*: Cytophaga aquatilis sp. nov., a facultative anaerobe isolated from the gills of freshwater fish. Int. J. Syst. Bacteriol. 1978, 28, 293-303.
21. *Trust T. J.*: Bacteria associated with the gills of salmonid fishes in freshwater. J. Appl. Bacteriol. 1975, 38, 225-233.
22. *Turnbull J. F.*: Bacterial gill disease and fin rot, [w:] Inglis V., Roberts R. J., Bromage N. R.: Bacterial Diseases of Fish. Blackwell Science Ltd, Oxford 1993, 23-39.
23. *Wakabayashi H., Huh G., Kimura N.*: Flavobacterium branchiophila sp. nov., a causative agent of bacterial gill disease of freshwater fishes. Int. J. Syst. Bacteriol. 1989, 39, 213-216.
24. *Wakabayashi H.*: Columnaris disease, [w:] Inglis V., Roberts R. J., Bromage N. R.: Bacterial Diseases of Fish. Blackwell Science Ltd, Oxford 1993, 23-39.
25. *Xu*: Studies on the gill diseases of the grass carp (Ctenopharyngodon idellus). 1. Isolation of the myxobacterial pathogen. Acta Hydrobiol. Sinica 1975, 5, 315-329.
26. *Żelazny J.*: Możliwości rozpoznawania i zwalczania fleksibakteriozy – nowej choroby karpia, [w:] Żelazny J.: Ochrona zdrowia karpia w hodowli stawowej. PIWet. Puławy 2001, 99-104.

Adres autora: dr Alicja Kozińska, ul. Kusocińskiego 1/25, 24-100 Puławy; e-mail: koala@piwet.pulawy.pl