

ИЗУЧЕНИЕ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫХ ТЕСТОВ НА ОСНОВЕ БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИЙ РОДА *FAVOBACTERIUM*

Семанин Антон Геннадьевич, аспирант кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Васильев Дмитрий Аркадьевич, доктор биологических наук, профессор кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

Золотухин Сергей Николаевич, доктор биологических наук, профессор кафедры «Микробиология, вирусология, эпизоотология и ветеринарно-санитарная экспертиза»

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Новый Венец, 1; тел.: 8(8422)55-95-47;

e-mail: anton-vet@mail.ru

Ключевые слова: бактерия, референс-штамм, желатин, тест-система, среда, крахмал.

В статье представлены результаты исследований биохимических свойств референс-штаммов из музея кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновского ГАУ: *Flavobacterium pectinovorum* VKMB-1171, *Favobacterium aquatile* VKPMB-8534, *Flavobacterium johnsoniae* VKMB-1426. Были проведены исследования по выявлению сахаролитической активности бактерий с использованием сред Гисса с глюкозой, лактозой, мальтозой, маннитом, сахарозой, дульцитом, сорбитом, крахмалом, декстрозой. Изучена каталазная и оксидазная активность штаммов *F.pectinovorum* VKMB-1171, *F. aqualite* VKPMB-8534, *F. johnsoniae* VKMB-1426. Проведены исследования по определению протеолитического разжижения желатина, которые позволили выявить расхождения с имеющимися в литературе данными о положительной реакции на желатиназу. Так, в ходе эксперимента нами было установлено, что изучаемые штаммы не разжижают желатин. В работе была использована тест-система для ускоренной биохимической идентификации энтеробактерий «Рapid-энтеро 200 М» (ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург). Данная тест-система основана на микрообъемной технологии с использованием жидких дифференциальных сред. Установлено, что отличительной особенностью штамма *F.johnsoniae* VKMB-1426 от *F.pectinovorum* VKMB-1171 и *F.aquatile* VKPMB-8534 является отсутствие ферментации лактозы и сахарозы, в свою очередь *F.pectinovorum* VKMB-1171, в отличие от остальных, не ферментирует крахмал, а *F.aquatile* VKPMB-8534, единственный из изученных штаммов, не гидролизует казеин. Полученные в работе данные служат хорошей основой для дальнейших исследований, связанных с разработкой тест-системы по идентификации и дифференциации флавобактерий.

Введение

Известно, что водная среда является ареалом распространения и жизнедеятельности значительного количества бактерий, при этом видовой состав микрофлоры различается в зависимости от типа водоема (пресные и соленые, реки, озера, и т. п.). Патогенными, т. е. вызывающими заболевание рыб и человека, являются около 70 видов микроорганизмов. Бактерии рода *Flavobacterium* встречаются во всех водных экосистемах мира, особенно в пресной воде, а также в почве [1]. Флавобактериальные заболевания были впервые описаны Дэвисом в 1922 году и с тех пор признаны серьезной угрозой для рыбоводческих хозяйств, которая приводит к постоянным экономическим потерям [2]. *Flavobacterium johnsoniae* (ранее *Cytophaga johnsonae*) относится к большой, разнообразной группе аэробных грамотрицательных бактерий, известных как группа *Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides*. *F. johnsoniae* обычно обнаруживают в почве, а также часто выделяют с внешних поражений некоторых видов рыб. Этот вид флавобактерий связан с несколькими вспышками заболеваний. Например, в Австралии смертность белого морского окуня от данного вида флавобактерий достига-

ла более 5 % [3]. Совсем недавно ряд новых видов *Flavobacterium spp.* был изолирован от больных рыб в Южной Америке, Европе и Северной Америке [4]. В связи с бурным развитием в России рыбоводческих хозяйств, занимающихся разведением пресноводной рыбы, создаются благоприятные условия для возникновения и распространения бактериальных болезней, которые вызывают флавобактерии, поэтому необходимо более детальное изучение данных микроорганизмов [5].

Цель работы - изучить основные биохимические свойства бактерий рода *Favobacterium u*, используя полученные результаты, разработать тест-систему по идентификации и дифференциации флавобактерий.

Для выполнения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- провести эксперименты по изучению биохимической активности бактерий рода *Favobacterium*;
- выявить отличительные особенности разных видов флавобактерий.

Объекты и методы исследований

Объекты исследований - референс-штаммы из музейной коллекции кафедры микробиологии,

вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ Ульяновского ГАУ: *Flavobacterium pectinovorum* VKMB-1171, *Favobacterium aquatile* VKPMB-8534, *Flavobacterium johnsoniae* VKMB-1426.

Изучение биохимических свойств изучаемых штаммов бактерий проводили с использованием методик, апробированных сотрудниками кафедры микробиологии, вирусологии, эпизоотологии и ВСЭ ФГБОУ ВО Ульяновского ГАУ в ходе собственных многолетних исследований.

Для определения сахаролитических свойств использовали среды Гисса с глюкозой (ФБУН-ГНЦПМиБ, г. Оболенск), лактозой (ФБУНГНЦПМиБ, г. Оболенск), мальтозой (ФБУНГНЦПМиБ, г. Оболенск), маннитом (ФБУНГНЦПМиБ, г. Оболенск), сахарозой (ФБУНГНЦПМиБ, г. Оболенск), дульцитом (ФБУНГНЦПМиБ, г. Оболенск), сорбитом (ФБУНГНЦПМиБ, г. Оболенск), крахмалом (ООО «ХайМедиаСейлз», Индия), декстрозой (ООО «ХайМедиаСейлз», Индия). Приготовленные по прописи среды разливали в стерильные пробирки по 4 мл и автоклавировали в течение 30 минут при 112 °С. Исследуемые культуры штаммов засеивали в пробирки со средой уколом петли. Культивировали в течение 7 суток с ежедневным просмотром результатов при 25 °С.

Для определения протеолитического разжижения желатина использовали питательный бульон, содержащий 12 % пищевого желатина. В мясопептонный бульон вносили желатин и оставляли до набухания на 30 минут. Затем полученную смесь прогревали в водяной бане при 45 °С до полного расплавления желатина. Устанавливали pH-7,2. Полученную среду разливали в стерильные пробирки по 8 мл и автоклавировали в течение 30 минут при 110 °С. Посев суточной культуры исследуемых штаммов проводили уколом в столбик среды. В качестве контроля была пробирка с незасеянной средой. Пробирки культивировали в течение 48 часов при 25 °С. После культивирования опытную и контрольную (незасеянную) пробирки охлаждали в холодильнике в течение 30 минут и по «текучести» желатина делали заключение о наличии фермента.

Также в работе была использована согласно инструкции тест-система для ускоренной биохимической идентификации энтеробактерий «Рapid-энтеро 200 М» (ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург). Данный набор позволяет поставить тесты на следующие показатели: эскулин, индол, уреазу, маннозу, арабинозу, лизиндекарбоксилазу, орнитиндекарбоксилазу, адонит, триптофанаминидазу, маннит и нитратредуктазу.

Тест на каталазную активность проводили с применением 3%-го раствора перекиси водорода. Положительным результатом служило образова-

ние пузырьков газа. Оксидазный тест проводили с применением 1%-го раствора N-N-диметил-парафенилендиамина. Данный раствор капали на отдельно стоящую колонию и наблюдали за изменением цвета колонии в течение 10-60 сек.

Наличие фермента уреазы определяли, используя агар Кристенсена с мочевиной (ООО «БиоКомпас-С», г. Углич). Среду готовили по прописи, разливали в стерильные пробирки по 4 мл и стерилизовали текучим паром в течение 30 мин. Исследуемые культуры штаммов засеивали в пробирки со средой уколом петли. Культивировали в течение 48 часов с ежедневным просмотром результатов при 25 °С.

Для определения способности утилизировать цитрат натрия использовали агар Симмонса (ООО «БиоКомпас-С», г. Углич). Среду, приготовленную по прописи, разливали в стерильные пробирки по 4 мл. Стерилизовали автоклавированием при 1,1 атм (121 °С) в течение 15 мин. Для выявления утилизации ацетата использовали ацетатный агар (ООО «БиоКомпас-С», г. Углич), приготовленный по прописи и разлитый по стерильным пробиркам, автоклавировали при 1,1 атм (121 °С) в течение 15 мин. Референс-штаммы флавобактерий засеивали уколом бактериологической петли. Культивировали в течение 48 часов с ежедневным просмотром результатов при 25 °С.

Для определения гидролиза казеина использовали среду Skim milk acetate medium. Данную среду готовили по прописи и стерилизовали автоклавированием при 1,1 атм (121 °С) в течение 15 мин. После чего разливали на стерильные чашки Петри. Исследуемые штаммы засеивали штрихом и культивировали 48 часов при 25 °С. Положительным результатом являлось просветление среды вокруг колоний.

Среду Клигlera (ООО «БиоКомпас-С», г. Углич) готовили по прописи и разливали в стерильные пробирки. После посева штаммов уколом в пробирку культивировали их 48 часов при 25 °С. Учитывали образование сероводорода по почернению столбика среды в пробирке. Отрицательным результатом считали отсутствие изменения цвета среды.

Результаты исследований

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 1 и на рисунках 1-3.

Результаты исследований, представленные в таблице 1, свидетельствуют о проявлении сахаролитической активности штаммом *F.aquatile* VKPMB-8534. Так, данный вид микроорганизма через 48 часов ферментирует глюкозу, лактозу, мальтозу, сахарозу, декстрозу, крахмал; не ферментирует дульцит, сорбит, маннит. Штамм *F.johnsoniae* VKMB-1426 ферментирует крахмал (через 96 часов), глюкозу (72 часа), мальтозу и декстрозу (48

Таблица 1

Изучение биохимических свойств бактерий рода

Favobacterium

Тест	Изучаемый штамм		
	<i>F. johnsoniae</i> VKMB-1426	<i>F. pectinovorum</i> VKMB-1171	<i>F. aquatile</i> VKPMB-8534
глюкоза	+	+	+
лактоза	-	+	+
мальтоза	+	+	+
сахароза	-	+	+
маннит	-	-	-
дульцит	-	-	-
сорбит	-	-	-
декстроза	+	+	+
каталаза	+	+	+
оксидаза	-	-	-
казеин	+	+	-
индол	+	+	+
эскулин	+	+	+
уреаза	-	-	-
манноза	-	-	-
арабиноза	-	-	-
лизиндекарбоксилаза	-	-	-
орнитиндекарбоксилаза	-	-	-
адонит	-	-	-
триптофанамидаза	-	-	-
нитратредуктаза	-	-	-
желатиназа	-	-	-
крахмал	+	-	+
H ₂ S(сероводород)	-	-	-
утилизация ацетата	-	-	-
утилизация цитрата	-	-	-

Примечание: «+» положительная реакция; «-» отрицательная реакция

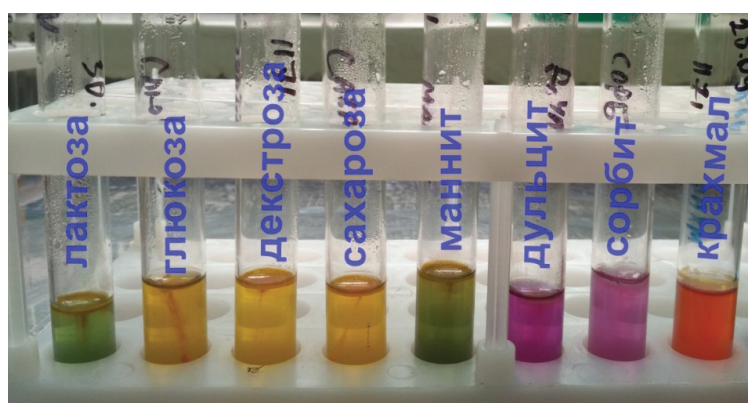


Рис. 1 – сахаролитические свойства *F. pectinovorum* VKMB-117 (через 96 часов) на средах Гисса с лактозой, глюкозой, декстрозой, сахарозой, маннитом, дульцитом, сорбитом, крахмалом

часов); не ферментирует лактозу, сахарозу, маннит, дульцит, сорбит. Штамм *F. pectinovorum* VKMB-1171 ферментирует крахмал (через 96 часов), глюкозу и декстрозу (48 часов), мальтозу и сахарозу (через 86 часов); не ферментирует маннит, дульцит, лактозу, сорбит (рис. 1).

Эффективность использования тест-системы «Рапид-энтеро 200 М» учитывали через 4, 6 и 12 часов. В ходе исследования у всех трех штаммов изучаемого микроорганизма была отмечена способность образовывать индол и гидролизировать эскулин. Не отмечена активность в отношении уреазы, маннозы, арабинозы, лизиндекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы, адонита, триптофанамидазы, маннита и нитратредуктазы. Результаты исследований приготовленных сред в пробирках и тест-системы не расходятся.

Отрицательный результат теста на желатиназу – отсутствие текучести желатина после охлаждения пробирок с изучаемыми штаммами (рис. 2). Отметим, что полученные нами результаты расходятся с имеющимися в литературе данными (Nicky B. Buller «Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals»).

Положительный результат на гидролиз казеина (просветление среды вокруг колоний) отмечен у штаммов *F. johnsoniae* VKMB-1426, *F. pectinovorum* VKMB-1171 (рис. 3).

Выводы

Изучение сахаролитических и протеолитических свойств штаммов бактерий рода *Favobacterium* позволило нам отметить особенности биохимической активности у разных видов данного рода. Так, отличительной особенностью штамма *F. johnsoniae* VKMB-1426 от *F. pectinovorum* VKMB-1171 и *F. aquatile* VKPMB-8534 является отсутствие ферментации лактозы и сахарозы аналогично данным монографии «Bacteria from Fish and Other Aquatic Animals» (Nicky B., 2004). Все полученные результаты совпадают с данными, представленными в справочнике Берджи (J. Brenner, 2005), за исключением результатов протеолитического разжижения желатина у всех изучаемых штаммов. Кроме того, *F. pectinovorum* VKMB-1171, в отличие от остальных, не ферментирует крахмал, а *F. aquatile* VKPMB-8534, единственный из изученных штаммов, не гидролизует казеин; эти данные также не совпадают с данными, указанными в справочнике Бер-

джи (J. Brenner, 2005). Полученные в ходе работы результаты служат хорошей основой для дальнейших исследований, связанных с разработкой тест-системы по идентификации и дифференциации флавобактерий.

Библиографический список

1. Семанин, А.Г. Изучение возбудителя флавобактериоза / А.Г. Семанин, Н.П. Пекарская // Инновационная деятельность в модернизации АПК. Материалы Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – Курская государственная сельскохозяйственная академия им. профессора И.И. Иванова, 2017. – С.229-231.

2. Loch, T.P. *Flavobacterium spartansii* sp. nov., a pathogen of fishes, and emended descriptions of *Flavobacterium aquidurensis* and *Flavobacterium araucanum* / T.P.Loch, M.Faisal // Int J Syst Evol Microbiol.- 2014. -64(2). -406–412.

3. Выделение и типирования *Flavobacterium psychrophilum* из объектов аквакультуры / А.Г. Семанин, Д.Г. Сверкалова, А.И. Калдыркаев, А.Г. Шестаков, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы VII Международной научно-практической конференции. – Ульяновск: ГСХА им. П.А. Столыпина, 2016. - С. 280-283.

4. Результаты изучения биохимических свойств *Flavobacterium psychrophilum* / Д.А. Виктор, А.П. Воротников, Н.А. Парамонова, Д.А. Васильев // Международный научно-исследовательский журнал. – Екатеринбург, 2014. - С. 53-54.

5. Семанин, А.Г. Разработка параметров идентификации / А.Г. Семанин, Д.Г. Сверкалова, А.Г. Шестаков // Достижения молодых учёных в ветеринарную практику. Материалы IV Международной научно-практической конференции – Владимир: Федеральное государственное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных», 2016. - С. 149-154.

6. Золотухин, С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных / С.Н. Золотухин. – Ульяновск: Копиринг, 2004. – 130с.

7. Роль бактерий *Flavobacterium psychrophilum* в патогенезе рыб / Н.А. Парамонова, Д.А. Виктор, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Биотехнология: реальность и перспективы в сельском хозяйстве. – Саратов: Издательство «КУБиК», 2013. – С. 93-95

8. Семанин, А.Г. Выделение и изучение свойств бактерий из открытых водоёмов РФ / А.Г. Семанин, С.Н. Золотухин, Н.П. Пекарская // Современные проблемы и перспективы агропромышленного комплекса Сибири. Материалы XVI региональной научно-студенческой конференции аграр-



Рис. 2 – отсутствие протеолитического разжижения желатина штаммами *F.johnsoniae* VKMB-1426 и *F.pectinovorum* VKMB-1171 (через 48 часов)



Рис. 3 –просветление среды вокруг колоний *F.pectinovorum* VKMB-117 (через 48 часов на среде Skim milk acetate medium)

ных вузов СФО. –Кемеровский государственный сельскохозяйственный институт, 2017. –С.170-173.

9. Садртдинова, Г.Р. Изучение культуральных свойств бактерий вида *Klebsiella oxytoca* / Г.Р. Садртдинова, Е.А. Ляшенко, Д.А. Васильев // Биотехнология: реальность и перспективы. Материалы международной научно-практической конференции. - Саратов: Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, 2014. - С. 193-196.

10. Садртдинова, Г.Р. Биохимическая активность бактерий вида *Klebsiella oxytoca* / Г.Р. Садртдинова, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы VII международной научно-практической конференции. - Ульяновск: УГСХА, 2016. - Том III. - С. 261-265.

11. Barnes, M.E. A Review of *Flavobacterium psychrophilum* Biology, Clinical Signs, and Bacterial Cold Water Disease Prevention and Treatment /M.E.

Barnes, M.L. Brown // The Open Fish Science Journal. - 2011, 4 – P. 1–9.

12. Bernardet J-F., Nakagawa Y. An introduction to the family Flavobacteriaceae. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., Stackebrandt E., editors. vol. 7. Springer-Verlag; 2006. - P. 455–480.

13. *Flavobacterium chilense* sp. nov. and *Flavobacterium araucanum* sp. nov., isolated

from farmed salmonid fish. / P.Kämpfer, N.Lodders, K.Martin, R.Avenidaño-Herrera // Int J Syst Evol Microbiol. - 2012. -62(6). P.1402–1408.

14. Flemming, L. Phenotypic and molecular characterisation of fish-borne *Flavobacterium johnsoniae*-like isolates from aquaculture systems in South Africa / L.Flemming, D.Rawlings, H. Chenia // Res Microbiol. -2007. -158(1). – P.18–30.

STUDY OF DIFFERENTIAL TESTS BASED ON BIOCHEMICAL PROPERTIES OF BACTERIA OF FAVOBACTERIUM GENUS

Semanin A.G., Vasilyev D.A., Zolotukhin S.N.
FSBEI Ulyanovsk SAU
432017, Ulyanovsk, Novyy Venets bld., 1;
8 (8422) 55-95-47 E-mail: anton-vet@mail.ru

Key words: bacterium, reference strain, gelatin, test system, medium, starch.

The article presents results of the research on the biochemical properties of the reference strains of the museum, which belongs to Department of Microbiology, virology, epizootiology and VSE of Ulyanovsk State Agricultural Academy: *Flavobacterium pectinovorum* VKMB-1171, *Favobacterium aquatile* VKPMB-8534, *Flavobacterium johnsoniae* VKMB-1426. Studies have been conducted to identify saccharolytic activity of bacteria using Hiss medium with glucose, lactose, maltose, mannitol, sucrose, dulcitol, sorbitol, starch, dextrose. Catalase and oxidase activity of such strains as, *F.pectinovorum* VKMB-1171, *F. aqualite* VKPMB-8534, *F. johnsoniae* VKMB-1426 was studied. We conducted a research to determine proteolytic gelatin deliquation, which revealed discrepancies with the published data on the positive response to gelatinase, so in the course of our experiment it was found that the studied strains do not deliquefy gelatin. Test system for rapid biochemical identification of enterobacteria "Rapid-entero 200 M" (FBSI "Institute of Epidemiology and Microbiology named after Pasteur", St. Petersburg) was used. This test system is based on technology which applies microvolume fluid differential media. It is stated that peculiar feature of *F.johnsoniae* VKMB-1426 strain from *F.pectinovorum* VKMB-1171 and *F.aquatile* VKPMB-8534 is the deficiency of lactose and sucrose fermentation, whereas, *F.pectinovorum* VKMB-1171 unlike the rest does not ferment starch, and *F.aquatile* VKPMB-8534 is the only one of the strains studied that does not hydrolyze casein. The data obtained in this work provide a good basis for further research related to development of a test system for identification and differentiation of flavobacteria.

Bibliography

1. Semanin A.G. Study of the causative agent of flavobacteriosis / A.G. Semanin, N.P. Pekarskaya // Innovative activity in the modernization of the agro-industrial complex. Materials of the International scientific-practical conference of students, graduate students and young scientists. - Kursk State Agricultural Academy named after Professors I.I. Ivanov, 2017.-P.229-231.
2. Loch T. P., Faisal M. *Flavobacterium spartansii* sp. Nov., A pathogen of fishes, and emended descriptions of *Flavobacterium aquidurensis* and *Flavobacterium araucanum*. Int J Syst Evol Microbiol. 2014; 64 (2): 406-412
3. Isolation and typing of *Flavobacterium psychrophilum* from aquaculture objects / A.G. Semanin, D.G. Sverkalova, A.I. Kaldyrkaev, A.G. Shestakov, S.N. Zolotukhin, D.A. Vasilyev // Agrarian science and education at the present stage of development: experience, problems and solutions. Materials of the VII International Scientific and Practical Conference. - Ulyanovsk: State Agricultural Academy named after P.A. Stolypin, 2016. - P. 280-283.
4. Results of studying the biochemical properties of *Flavobacterium psychrophilum* / D.A. Viktorov, A.P. Vorotnikov, N.A. Paramonova, D.A. Vasilyev // International Scientific and Research Journal. -Ekaterinburg, 2014. - P. 53-54
5. Semanin, A.G. Development of identification parameters / A.G. Semanin, D.G. Sverkalova, A.G. Shestakov // Digest: Achievements of Young Scientists in Veterinary Practice: materials of the IV International Scientific-Practical Conference. - Vladimir: Federal State Institution "Federal Center of Animal Health Protection", 2016. - P. 149-154.
6. Zolotukhin, S.N. Insufficiently studied enterobacteria and their role in animal pathology / S.N. Zolotukhin. - Ulyanovsk: Copyring, 2004. - P.29-37 (130p).
7. Paramonova, N.A. The role of *Flavobacterium psychrophilum* bacteria in the pathogenesis of fish / N.A. Paramonova, D.A. Viktorov, D.A. Vasilyev, S.N. Zolotukhin // Biotechnology: reality and prospects in agriculture. - Saratov: Publishing house "KUBIK", 2013. - P. 93-95
8. Semanin, A.G. Isolation and study of bacteria properties of surface water of the Russian Federation / A.G. Semanin, S.N. Zolotukhin, N.P. Pekarskaya // Modern problems and prospects of the agro-industrial complex of Siberia. Materials of the XVI regional scientific-student conference of agrarian high schools of the Siberian Federal District. -Kemerovo State Agricultural Institute, 2017.-P.170-173.
9. Sadrtidinova, G.R. Study of cultural properties of bacteria of *Klebsiella oxytoca* species / G.R. Sadrtidinova, E.A. Lyashenko, D.A. Vasilyev // Biotechnology: Reality and Prospects: materials of International Scientific and Practical Conference. - Saratov: Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, 2014. - P. 193-196.
10. Sadrtidinova, G.R. Biochemical activity of bacteria of *Klebsiella oxytoca* species / G.R. Sadrtidinova, D.A. Vasilyev, S.N. Zolotukhin // Agrarian science and education at the present stage of development: experience, problems and solutions: Materials of the VII International Scientific and Practical Conference. - Ulyanovsk: USAA, 2016. - V. III. - P. 261-265.
11. Barnes, M.E. A Review of *Flavobacterium psychrophilum* Biology, Clinical Signs, and Bacterial Cold Water Disease Prevention and Treatment / M.E. Barnes, M.L. Brown // The Open Fish Science Journal - 2011, 4 - P. 1-9.
12. Bernardet J-F., Nakagawa Y. An introduction to the family Flavobacteriaceae. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K.H., Stackebrandt E., editors. Vol. 7. Springer-Verlag; 2006. pp. 455-480.
13. Kämpfer P, Lodders N., Martin K., Avenidaño-Herrera R. *Flavobacterium chilense* sp. Nov. And *Flavobacterium araucanum* sp. Nov., Isolated from farmed salmonid fish. Int J Syst Evol Microbiol. 2012; 62 (6): 1402-1408.
14. Flemming L, Rawlings D., Chenia H. Phenotypic and molecular characterization of fish-borne *Flavobacterium johnsoniae*-like isolates from aquaculture systems in South Africa. Res Microbiol. 2007; 158 (1): 18-30.