

## **ΒΙΟΧΗΜΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΥΞΟΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΑΠΟ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΕΣ ΤΣΙΠΟΥΡΕΣ ΚΑΙ ΛΑΒΡΑΚΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ**

**Ε. Γουρζιώτη<sup>1</sup>, Μ.Ν. Κολύγας<sup>1</sup>, Ι.Σ. Παππάς<sup>2</sup>, Γ.Δ. Ευαγγελοπούλου<sup>3</sup>**

**Φ. Αθανασοπούλου<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Εργαστήριο Ιχθυολογίας και Ιχθυοπαθολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Καρδίτσα

<sup>2</sup>Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Τοξικολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Καρδίτσα

<sup>3</sup>Εργαστήριο Μικροβιολογίας και Παρασιτολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Καρδίτσα

**Σκοπός:** Η μυξοβακτηρίαση αποτελεί περιοριστικό παράγοντα εκτροφής τόσο σε τσιπούρα και λαβράκι όσο και σε άλλα είδη με κύριο αιτιολογικό παράγοντα το είδος *Tenacibaculum maritimum*. Η μέθοδος διάγνωσης της νόσου συνήθως βασίζεται στην χαρακτηριστική μικροσκοπική εικόνα των βακτηρίων. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι τόσο η διερεύνηση ύπαρξης ενός μοναδικού βιοχημικού προφίλ του βακτηρίου ως αξιόπιστη μέθοδος ταυτοποίησης, όσο και η ικανότητα ταυτοποίησης με μοριακές μεθόδους.

**Υλικά-Μέθοδοι:** Πραγματοποιήθηκαν τρεις εποχιακές δειγματοληψίες σε δείγματα ασθενών εκτρεφόμενων ιχθυδίων: τσιπούρες (*Sparus aurata*) και λαβράκια (*Dicentrarchus labrax*) από τρεις ιχθυομονάδες (Βόρειο Ιόνιο, Νότιο Ιόνιο, Βόρειο Αιγαίο) όπου υπήρχε έξαρση της ασθένειας. Συνολικά εξετάστηκαν ανά περιστατικό: 1) 35 ιχθύδια τσιπούρας, μέσου βάρους 1g 2) 20 ιχθύδια λαβρακιού, μέσου βάρους 2g και 3) 20 ιχθύδια λαβρακιού, μέσου βάρους 6g. Για την απομόνωση έγινε λήψη δειγμάτων από δερματικές αλλοιώσεις, καθώς και από εσωτερικά όργανα, τα οποία ελέγχθηκαν μακροσκοπικά και μικροσκοπικά (νωπά επιχρίσματα και χρώση Gram). Χρησιμοποιήθηκαν τα θρεπτικά υποστρώματα: Cytophaga agar, F.M.M. agar, M.A. και TSA+2% NaCl, ενώ η επώαση έγινε στους 20°C για 48 ή 72 ώρες. Για τον έλεγχο του βιοχημικού

προφίλ των βακτηρίων χρησιμοποιήθηκαν τα εμπορικά αντιδραστήρια API 20E, API 20NE, API ZYM και API 50CH (Biomerieux). Για την μοριακή ταυτοποίηση πραγματοποιήθηκε απομόνωση γενετικού υλικού, DNA (Dneasy Tissue kit-Qiagen) και PCR χρησιμοποιώντας τους εκκινητές, MAR1 και MAR2.

**Αποτελέσματα-Συμπεράσματα:** Τα ασθενή ιχθύδια εμφάνισαν κοινή συμπτωματολογία όπως, ανορεξία, αιμορραγίες στις γνάθους, αιμορραγική στοματίτιδα, αποχρωματισμό δέρματος, ωχροκίτρινες νεκρωτικές αλλοιώσεις στο δέρμα και στην ουρά και θνησιμότητα που κυμαίνονταν 5-10% επί του συνολικού αριθμού ψαριών ανά δεξαμενή.

Από την μικροσκοπική εξέταση παρατηρήθηκαν, Gram (-) λεπτοί, επιμήκεις βάκιλοι, οι οποίοι αναπτύχθηκαν και απομονώθηκαν σε θρεπτικά υποστρώματα. Η ταυτοποίηση των βακτηρίων έγινε μοριακά, με την τεχνική της PCR όπου και αναγνωρίστηκε ως υπεύθυνο αίτιο το βακτήριο *Tenacibaculum maritimum*. Σε ότι αφορά τα βιοχημικά συστήματα API, το βιοχημικό προφίλ ήταν παρόμοιο για όλα τα στελέχη ανεξάρτητα από το είδος των ψαριών και την γεωγραφική προέλευση. Στοιχεία που μαρτυρούν μια ομοιογένεια στον Ελλαδικό χώρο στα βιοχημικά χαρακτηριστικά του *Tenacibaculum maritimum*.

Συμπερασματικά, η απομόνωση του γενετικού υλικού και η ταυτοποίηση του *T. maritimum* με API 20E και API ZYM είναι δυνατή, ωστόσο η μοριακή διαγνωστική μέθοδος θεωρείται πιο αξιόπιστη και ταχύτερη. Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος II . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου

