

โรคจุดดำของไรน้ำนางฟ้าและแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง

Black Disease of Fairy Shrimps and Associated Bacteria

หนูเดือน เมืองแสน (Nooduan Muangsan)^{1*}

สุวรรณา เนียมสนธิ (Suwanna Niamsanit)²

สุรศักดิ์ ศิริพรอดุลศิลป์ (Surasak Siripornadulsil)³

บทคัดย่อ

โรคจุดดำ (black disease) มีลักษณะเป็นปมสีดำพบได้ตามส่วนต่างๆ ของร่างกายของไรน้ำนางฟ้า เช่น ขาว่ายน้ำ หนวดหาง ทำให้ไรน้ำนางฟ้าตายหลังจากแสดงอาการของโรคภายใน 1-5 วัน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียจากไรน้ำนางฟ้าไทย (*Branchinella thailandensis* Sanoamuang, Saengphan and Murugan, 2002) ที่เป็นโรคจุดดำโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมี พบแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง 4 กลุ่มหลักคือ *Aeromonas* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. และ *Chryseobacterium* spp.

Abstract

Black disease causing the death of fairy shrimp is typically shown by black nodules on several parts of the body such as on the thoracic appendage, antennae, and tail. The aim of this study is to isolate and identify potentially pathogenic bacteria from diseased fairy shrimps (*Branchinella thailandensis* Sanoamuang, Saengphan and Murugan, 2002). All associated bacteria were identified by morphological studies and biochemical tests and they were classified into four groups as follows: *Aeromonas* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. and *Chryseobacterium* spp.

คำสำคัญ: แบคทีเรีย โรคจุดดำ ไรน้ำนางฟ้า

Keywords: bacteria, black disease, fairy shrimp

¹ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²อาจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*corresponding author

บทนำ

ไร่น้ำนางฟ้า (fairy shrimp) เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังจำพวกครัสเตเชียน (Crustacean) อยู่ในอันดับ อะโนสตราคา (Anostraca) ดำรงชีวิตในแหล่งน้ำชั่วคราว กินอาหารโดยการกรอง มีรูปร่างคล้ายกุ้งขนาดเล็ก ตัวใสอ่อนนุ่ม แต่ไม่มีเปลือกแข็งและว่ายน้ำหงายท้อง มีขาว่ายน้ำจำนวน 11 คู่ ลำตัวยาว 1.1–4.5 เซนติเมตร ส่วนหางแยกเป็นสองแฉกมีสีแดง ประเทศไทยพบไร่น้ำนางฟ้า 3 ชนิดซึ่งเป็นชนิดใหม่ของโลกและจัดเป็นสัตว์ประจำถิ่น ดังนี้ คือ (1) ไร่น้ำนางฟ้าสิรินธร (*Streptocephalus sirindhornae* Sanoamuang, Murugan, Weekers and Dumont, 2000), (2) ไร่น้ำนางฟ้าไทย (*Branchinella thailandensis* Sanoamuang, Saengphan and Murugan, 2002) และ (3) ไร่น้ำนางฟ้าสยาม (*Streptocephalus siamensis* Sanoamuang and Saengphan) (ละออศรีและนุกูล, 2547)

ปัจจุบันไร่น้ำนางฟ้าเป็นสัตว์เศรษฐกิจชนิดใหม่ที่มีศักยภาพทดแทนการนำเข้าอาร์ทีเมีย (artemia) หรือไรน้ำเค็ม ซึ่งมีมูลค่าไม่น้อยกว่า 500 ล้านบาทต่อปี เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำ เช่น อาหารสำหรับลูกกุ้งและปลาสวยงาม การเพาะเลี้ยงไรน้ำในระดับอุตสาหกรรมได้ประสบความสำเร็จในเบื้องต้นโดยศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สามารถเพิ่มปริมาณไร่น้ำนางฟ้าได้อย่างรวดเร็ว สามารถเพาะเลี้ยงได้ด้วยความหนาแน่น 50 ตัวต่อลิตรและผลิตไข่ได้เป็นจำนวนมาก (Saengphan et al., 2005) อย่างไรก็ตามได้เกิดปัญหาโรคจุดดำ (black disease) ในระหว่างการเพาะเลี้ยงซึ่งมีลักษณะเป็นปมสีดำ (black nodules) และทำให้ไร่น้ำนางฟ้าตายส่งผลกระทบต่อปริมาณการผลิตและลดมูลค่าทางเศรษฐกิจของไร่น้ำนางฟ้า ได้มีรายงานการเกิดโรคจุดดำในไรน้ำจืดชนิดอื่นโดยมีพยาธิสภาพเป็นปมสีดำตามส่วนต่างๆ ของร่างกายที่เก็บจากบ่อธรรมชาติและจากโรงเพาะเลี้ยงในประเทศเบลเยียม เมื่อทำการแยกแบคทีเรียก่อโรคจากไรน้ำจืดที่เป็นโรคจากโรงเพาะเลี้ยงและทดสอบการก่อโรค พบแบคทีเรียหลายกลุ่มและ

พบว่า *Aeromonas hydrophila* เป็นแบคทีเรียก่อโรคที่ทำให้ไรน้ำจืดที่นำมาทดสอบตายมากกว่า 58% ในเวลา 5 วัน (Diercken et al., 1998) แต่ยังไม่เคยมีการรายงานเชื้อก่อโรคที่พบในไร่น้ำนางฟ้าในประเทศไทยมาก่อน ดังนั้นเพื่อให้การเพาะเลี้ยงไร่น้ำนางฟ้ามีประสิทธิภาพสูงทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจจำแนกแบคทีเรียจากไร่น้ำนางฟ้าที่เป็นโรคจุดดำ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการหาวิธีในการป้องกันหรือกำจัดโรคนี้

วิธีการศึกษา

1. การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อแบคทีเรียออกจากไร่น้ำนางฟ้าไทย

เก็บตัวอย่างไร่น้ำนางฟ้าไทยที่เป็นโรค 10 ตัวจากโรงเพาะเลี้ยงภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น (เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2548) จากนั้นนำตัวอย่างไร่น้ำนางฟ้าสดมาแยกเชื้อแบคทีเรียโดยทำการล้างไร่น้ำนางฟ้าด้วยน้ำกลั่นและตามด้วยสารละลายปลอดเชื้อ 0.85% NaCl จำนวน 3 ครั้ง ตัดส่วนที่มีสีดำซึ่งเป็นลักษณะอาการของโรคแล้วใช้ห้วงเขี่ยเชื้อปลอดเชื้อป้ายกระจายขึ้นส่วนที่มีสีดำแล้วนำไปใส่จานเพาะอาหาร tryptic soy agar (TSA) หนึ่งจานต่อไรน้ำหนึ่งตัว นำจานอาหารไปบ่มที่ 25°C เป็นเวลา 24–48 ชั่วโมง ทำการนับและแยกโคโลนีที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีที่ต่างกันเพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์และเก็บเชื้อเหล่านี้ในกลีเซอรอล 15% เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2. การทดสอบเชื้อขั้นต้น

นำเชื้อแบคทีเรียโคโลนีเดี่ยวบริสุทธิ์มาทำการย้อมสีแกรมและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ทำการไต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสง (1000x) และการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการ ได้แก่ ความสามารถในการใช้แล็กโตส (MacConkey Agar) การทดสอบออกซิเดส (oxidase) การทดสอบคะตะเลส (catalase) การทดสอบการเคลื่อนที่ (motility) การ

ทดสอบการเจริญบน triple sugar iron (TSI) agar และ การทดสอบ oxidation/fermentation of glucose (O/F) ตามวิธีที่อธิบายไว้โดย MacFaddin (2000)

3. การทดสอบทางชีวเคมีโดยใช้ API20 E Kit และ API20 NE Kit

นำเชื้อแบคทีเรียที่ผ่านการทดสอบคุณสมบัติทางประการจำนวน 25 ไอโซเลต (isolate) ซึ่งเป็นกลุ่มแกรมลบ รูปร่างท่อน มาทำการทดสอบกับน้ำยาทดสอบของ API20 จำนวนสองชุด คือ ชุด API20E Kit (BioMerieux, Inc. USA) ที่ใช้ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการใช้น้ำตาลแลคโตสและชุด API20NE Kit (BioMerieux, Inc. USA) ที่ใช้ทดสอบแบคทีเรียที่ไม่ใช้น้ำตาลแลคโตส โดยทำตามวิธีที่อธิบายโดยผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด ทำการวิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรม APILAB Plus version 3.3.3 (BioMerieux, Inc. USA) หลังจากนั้นจะทำการทดสอบซ้ำหากผลการวิเคราะห์ยังเป็นที่น่าสงสัยและจัดจำแนกกลุ่มแบคทีเรียโดยอาศัยหลักการที่อธิบายไว้ใน Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt et al., 1994)

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

จากการเก็บตัวอย่างโรนันางฟ้าไทยจากโรงเพาะเลี้ยงที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น พบลักษณะปมสีดำส่วนใหญ่ตามบริเวณขาว่ายน้ำ ทาง หวัด และบางครั้งพบตามส่วนแผ่นหลัง (รูปที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Dierckens et al. (1998) ที่รายงานการเกิดโรคจุดดำในโรนัน้ำจืด 3 ชนิด คือ *Branchipus schaefferi*, *Chirocephalus diaphanous* และ *Streptocephalus torvicornis* ผลการจำแนกแบคทีเรียที่แยกจากบริเวณที่พบปมสีดำจากโรนันางฟ้าไทยที่เป็นโรคพบแบคทีเรียมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันหลายแบบ อย่างไรก็ตามจะพบแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีเหมือนกันที่เป็นประชากรโดยส่วนใหญ่ เมื่อนำตัวอย่างแบคทีเรียทั้งหมดที่สุ่มคัดเลือกจำนวน 25 ไอโซเลต

มาทำการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าแบคทีเรีย 92.59% (25 ใน 27 ไอโซเลต) มีรูปร่างท่อน ดิดส์แกรมลบ อีก 2 ไอโซเลตเป็นแกรมบวก รูปร่างท่อน จากนั้นทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบทั้ง 25 ไอโซเลต สามารถแยกแบคทีเรียออกเป็น 4 กลุ่มดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 ทำการทดสอบเพิ่มเติมโดยใช้ API20 E Kit และ API20 NE Kit และวิเคราะห์ผลโดยใช้โปรแกรม APILAB Plus version 3.3.3 (BioMerieux, Inc. USA) ได้ผลดังตารางที่ 2 และ 3 และเมื่อนำผลการทดสอบทั้งหมดมาจัดจำแนกกลุ่มแบคทีเรียโดยอาศัยหลักการที่อธิบายไว้ใน Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt et al., 1994) ทำให้สามารถจำแนกแบคทีเรียได้เป็น 4 กลุ่ม (cluster) ดังนี้ คือ *Aeromonas* spp. (10 ไอโซเลต), *Klebsiella pneumoniae* (6 ไอโซเลต), *Enterobacter* spp. (7 ไอโซเลต) และ *Chryseobacterium* spp. (2 ไอโซเลต) ซึ่งแตกต่างจากที่ Dierckens et al. (1998) ได้รายงานไว้จากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากโรนัน้ำจืดสามชนิดที่เป็นโรคจุดดำจากโรงเพาะเลี้ยงในประเทศเบลเยียมโดยพบแบคทีเรียห้ากลุ่ม คือ *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Comamonas testosteroni*, *Aeromonas* sp. และ *Flavobacterium* sp. แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายชนิดของแบคทีเรียที่แยกได้จากโรนัน้ำจืดที่เป็นโรคจุดดำตามสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่า เชื้อ *Aeromonas*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Enterobacter* สามารถพบได้ในบ่อน้ำและทะเลสาบน้ำจืดและมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคในสัตว์น้ำ (Campbell et al., 1976; Niemi et al., 1983)

จากผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียหลายชนิดที่อาจจะเป็นสาเหตุสำคัญในการก่อโรคจุดดำในโรนันางฟ้าไทย พยาธิสภาพที่เกิดขึ้นคือลักษณะปมสีดำตามส่วนต่างๆ ของร่างกายโดยพบปมสีดำมากบริเวณขาว่ายน้ำและโรนันางฟ้าจะตายหลังจากเกิดโรค 1-5 วัน ปมสีดำที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลผลิตสุดท้าย (end-product) เช่น เมลานิน ที่สัตว์ไม่มีกระดูก

สันหลังพวกคริสต์เขียนสร้างขึ้นในปฏิกิริยาตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (Dierckens et al., 1998) หรืออาจเป็นกลุ่มเซลล์ที่ตายแล้ว และเป็นไปได้ว่าการตายของไร่นางฟ้าที่เป็นโรคอาจเกิดจากปมสีดำไปขัดขวางกระบวนการกินอาหารที่เป็นแบบการกรองและกระบวนการหายใจ นอกจากนี้ยังสังเกตพบว่าไร่นางฟ้าเป็นโรคจุดดำมากในช่วงฤดูหนาว สันนิษฐานได้ว่าการลดลงของอุณหภูมิอาจมีส่วนทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของไร่นางฟ้าลดลง

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี โดยใช้ API20E kit และ API20NE kit ของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากไร่นางฟ้าที่เป็นโรคจุดดำพบแบคทีเรีย 4 กลุ่มหลัก คือ *Aeromonas* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. และ *Chryseobacterium* spp. ที่อาจจะเป็นสาเหตุสำคัญในการก่อโรคจุดดำ ดังนั้นการทดลองสำคัญที่จะทำต่อไปคือ การทดสอบการก่อโรคจุดดำในไร่นางฟ้าไทยของแบคทีเรียที่แยกได้เหล่านี้ว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดใดและจัดจำแนกให้ถึงระดับสปีชีส์ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาการก่อโรคจุดดำและหาวิธีในการควบคุม ป้องกันและกำจัดโรคนี้ ซึ่งจะส่งผลให้การเพาะเลี้ยงไร่นางฟ้ามีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

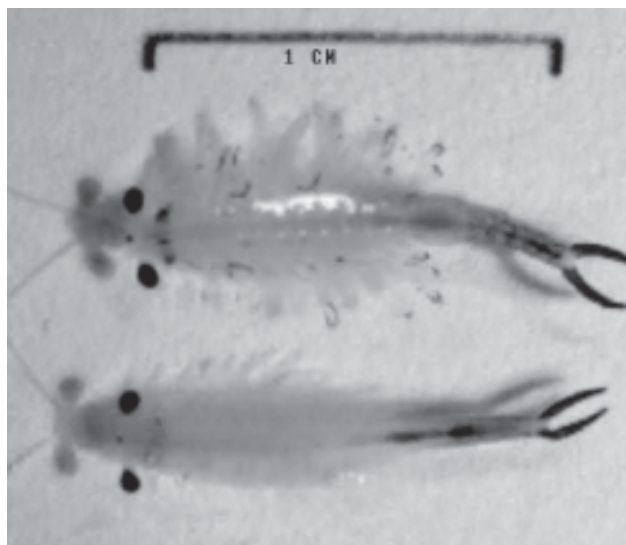
กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนโครงการจากศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น รหัสโครงการ ATRC_R4802 ขอขอบคุณ ศ.ดร. ละออศรี เสนาะเมือง ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างไร่นางฟ้า ผศ.ดร. ยานี ตระกูลพาณิชย์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ อนุเคราะห์สารเคมีบางชนิดและโปรแกรมในการวิเคราะห์ผล ขอขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์และแพทยศาสตร์ที่อนุเคราะห์สายพันธุ์แบคทีเรียบางชนิด

เพื่อใช้เป็นหน่วยควบคุม รวมทั้งผู้ที่มีส่วนร่วมช่วยงานวิจัยทุกท่านจนทำให้งานนี้สำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- ละออศรี เสนาะเมือง และ นุกูล แสงพันธุ์. 2547. การเพาะเลี้ยงไร่นางฟ้า. ศูนย์วิจัยอนุกรมวิธานประยุกต์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. โรงพิมพ์คลังนาวิทยา, ขอนแก่น
- Campbell, L.M., Michaels, G., Klein, R.D. and Roth, I.L. 1976. Isolation of *Klebsiella pneumoniae* from lake water. *Can. J. Microbiol.* 22(12): 1762-7.
- Dierckens, K.R., Vandenbergh, J., Beladjal, L., Huys, G., Mertens, J. and Swings, J. 1998. *Aeromonas hydrophila* causes "black disease" in fairy shrimps (Anostraca; Crustacea). *Journal of Fish Disease* 21(2): 113-119.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Baltimore MD, Williams and Wilkins.
- MacFaddin, J.F. 2000. *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. 3rd edition. PA, USA. Lippincott Williams and Wilkins.
- Niemi, M., Sibakov, M., and Niemela, S. 1983. Antibiotic resistance among different species of fecal coliforms isolated from water samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 45(1): 79-83.
- Saengphan, N., Shiel, R.J. and Sanoamuang, L. 2005. The cyst hatching pattern of the Thai fairy shrimp, *Branchinella thailandensis* Sanoamuang, Saengphan and Murugan, 2002 (Anostraca). *Crustaceana* 78(5): 513-523.



รูปที่ 1 แสดงไร่นางฟ้าที่เป็นโรคจุดดำมีลักษณะเป็นปมสีดำตามขาค่ายน้ำ (ภาพบน) และไร่นางฟ้าที่ไม่แสดงอาการของโรค (ภาพล่าง)

ตารางที่ 1 ลักษณะพื้นฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการของเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากไร่นางฟ้า (n= จำนวนตัวอย่าง)

ลักษณะ	กลุ่ม 1 (n=6)	กลุ่ม 2 (n=7)	กลุ่ม 3 (n=10)	กลุ่ม 4 (n=2)
Gram stain	Negative	Negative	Negative	Negative
MacConkey agar	Lactose fermentation	Lactose fermentation	Non-Lactose fermentation	Non-Lactose fermentation
Catalase test	Positive	Positive	Positive	Positive
Oxidase test	Negative	Negative	Positive	Positive
Motility test	Negative	Positive	Positive	Negative
Oxidation/Fermentation	O/F	O/F	O/F	-/-
TSI test	A/A, G	K/A, G	K/A, G	K/NC, no G

ตารางที่ 2 คุณสมบัติทางชีวเคมีที่ได้จากการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากโรน้านางฟ้าโดยใช้ API20E Kit (n= จำนวนตัวอย่าง)

API20E Tests	<i>Escherichia coli</i>	กลุ่ม 1 (n= 6)	กลุ่ม 2.1 (n=4)	กลุ่ม 2.2 (n=3)
B-Galactosidase	+	+	+	+
Aginine dihydrolase	+	-	+	+
Lysine decarboxylase	+	+	-	-
Ornithine decarboxylase	+	-	+	-
Citrate utilization	-	+	+	+
H ₂ S production	-	-	-	-
Urease	-	+	-	-
Tryptophane deaminase	-	-	-	-
Indole production	+	-	-	-
Acetoin production	-	+	+	+
Gelatinase	-	-	-	-
Fermentation/Oxidation of				
-glucose	+	+	+	+
-manitol	+	+	+	+
-inositol	-	+	+	+
-sorbitol	+	+	+	+
-rhamnose	+	+	-	+
-sucrose	+	+	+	+
-melibiose	+	+	+	+
-amygdalin	-	+	+	+
-arabinose	-	+	+	+
Oxidase	-	-	-	-
Identification Result โดย โปรแกรม APILAB Plus v 3.3.3	99.8 % <i>E. coli</i>	97.6% <i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> <i>ssp</i> <i>pneumoniae</i>	90.9 % <i>Enterobacter</i> <i>cloacae</i>	51.6% <i>E. cloacae</i> + 39.4% <i>E. sakazakii</i>

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางชีวเคมีที่ได้จากการตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่แยกออกจากโรหนางฟ้าโดยใช้ API20NE Kit (n= จำนวนตัวอย่าง)

API20NE test	<i>Aeromonas hydrophila</i>	กลุ่ม 3.1 (n=2)	กลุ่ม 3.2 (n=3)	กลุ่ม 3.3 (n=5)	กลุ่ม 4 (n=2)
Reduction of nitrates to nitrites	+	+	+	+	-
Reduction of nitrate to nitrogen	-	-	-	-	-
Indole production	+	+	+	+	-
Acidification of glucose	+	+	+	+	-
Arginine dihydrolase	-	-	-	-	-
Urease	+	+	+	-	+
Hydrolysis (B-glucosidase)	+	+	-	+	+
Hydrolysis (protease)	+	+	+	+	-
B-galactosidase					
Assimilation of	+	+	+	+	-
-glucose	-	-	+	-	-
-arabinose	+	+	+	+	-
-mannose	+	+	+	+	-
-manitol	+	+	+	+	-
-N-acetyl-glucosamine	+	+	+	+	-
-maltose	+	+	+	+	-
-gluconate	+	+	-	+	-
-caprate	-	-	-	-	-
-adipate	+	+	+	+	-
-malate	+	+	+	+	-
-citrate	-	-	+	-	-
-phenyl-acetate	+	+	+	+	+
Oxidase					
Identification Result โดยโปรแกรม APILAB Plus v 3.3.3	83.8 % <i>A. hydrophila</i> / <i>caviae</i> +16.1% <i>A. sobria</i>	83.8 % <i>A. hydrophila</i> / <i>caviae</i> +16.1% <i>A. sobria</i>	81.7 % <i>A. hydrophila</i> / <i>caviae</i>	99.2% <i>A. sobria</i>	92.9 % <i>Chryseobacterium indologenes</i>