

Andrzej K. Siwicki¹, Elżbieta Terech-Majewska², Joanna Grudniewska¹,
Krzysztof Kazuń¹, Edward Głąbski¹, Barbara Kazuń¹, Magdalena Majewicz-Zbikowska¹,
Ewa Szczucińska³

¹Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

²Katedra Epizootologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie

³Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie

Ocena skuteczności szczepionek w immersji przeciwko jersiniozie u narybku pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*)

Wstęp

Doskonalenie metod ochrony zdrowia ryb staje się podstawowym elementem nowoczesnych metod chowu i hodowli. Bez stałego postępu w zakresie profilaktyki i terapii w znaczący sposób ogranicza się produkcję ryby konsumpcyjnej. Pobudzanie organizmu ryb do obrony przed określonymi patogenami, zanim dojdzie do naturalnego ich kontaktu i rozwoju choroby, wydaje się najbardziej rozsądną i uzasadnioną drogą zapobiegania stratom spowodowanym chorobami (Siwicki i in. 1998a, Evensen 2009). Celem szczepienia przy użyciu swoistej szczepionki jest przygotowanie ryby do skutecznej obrony. Jej podstawą jest swoiste przestrojenie organizmu tak, aby czynnik patogenny miał znaczne ograniczenie lub brak możliwości wywołania choroby. Ważną cechą szczepionek, odróżniającą je od chemioterapeutyków jest fakt, że nie mają one żadnego wpływu na jakość produktów spożywczych, co jest bardzo istotnym atutem przemawiającym za tą metodą profilaktyki w dobie walki o zdrową żywność. Szczepionki to preparaty biologiczne zawierające jeden lub kilka antygenów uzyskanych z patogennych mikroorganizmów izolowanych od ryb, które są pozbawione patogenności przez zastosowanie różnych zabiegów fizycznych lub chemicznych. Powodują swoiste pobudzenie mechanizmów obronnych, a efektem ich działania jest pojawienie się w organizmie swoistych przeciwciał produkowanych przez uczulone limfocyty B oraz wystąpienie swoistej odpowiedzi typu komórkowego, za którą odpowiedzialne są limfocyty T i makrofagi. Główną rolą szczepionki jest zabezpieczenie ryby przed chorobą bez narażenia na potencjalne niebezpieczeństwo zakażenia (Siwicki i in. 1998b, Siwicki i in. 2001). Odporność, którą indukuje szczepionka chroni organizm ryby przed chorobą, a nie zakażeniem, dzięki wytworzeniu swoistej reakcji odpornościowej i pamięci immunologicznej. To właśnie ta swoista

odpowieź i pamięć są bardzo istotnymi instrumentami dla pojawienia się mechanizmów tzw. spokojnej koegzystencji pomiędzy żywicielem (ryba) a patogenem. Naturalny kontakt organizmu ryby z czynnikiem patogennym powoduje, że wytworzone po szczepieniu komórki pamięci immunologicznej (uczulone komórki, które mają zakodowane cechy patogenu i są zdolne do szybkiej produkcji przeciwciał) nie znikają, a nawet zwiększa się ich liczba, potęgując swoistą odporność przeciwwakaźną (Van Muiswinkel i Cooper 1992, Gudding i in. 1999, Siwicki i Morand 2000, Siwicki i in. 2001).

Najbardziej efektywną drogą podawania szczepionek jest iniekcja dootrzewnowa, ale jej wykonanie jest zbyt stresogenne dla ryb i pracochłonne, gdy nie posiada się bardzo drogiego sprzętu do aplikacji. Dlatego najczęściej stosowaną metodą podania szczepionki jest immersja, ale wymaga ona bardzo sprawnej organizacji oraz dużego doświadczenia hodowcy w zakresie obchodzenia się z narybkiem (Siwicki i in. 2002, Evensen 2009).

W ostatnich latach nasiliło się występowanie jersiniozy wywołanej przez bakterię *Yersinia ruckeri*, która powodowała znaczące straty w hodowli pstrąga tęczowego w Polsce i innych krajach Europy (Toranzo 2010). Badania bakteriologiczne prowadzone w Zakładzie Patologii i Immunologii Ryb IRS oraz Katedrze Epizootologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM wykazały, że ponad 60% izolowanych szczepów *Y. ruckeri* z klinicznych przypadków było wysoce opornych na działanie oksytetracykliny, która jest podstawowym składnikiem preparatu Ichtioxan. Brak lub ograniczone możliwości skutecznej antybiotykoterapii spowodowały, że część hodowców zdecydowała się na stosowanie szczepień ochronnych przy użyciu importowanych szczepionek z Francji, Włoch oraz Wielkiej Brytanii. Szczególnie zainteresowanie wzbudziła szczepionka przeciwko jersiniozie produkowana

przez firmę Schering-Plough Animal Health (AquaVac ERM), która indukuje wysoką odporność przeciwko zakażeniu *Y. ruckeri* w podchowach pstrąga tęczowego.

Wychodząc naprzeciw potrzebom praktyki podjęto badania nad opracowaniem pierwszej polskiej autoszczepionki przeciwko jersiniozie, opartej na szczepkach *Y.ruckeri* izolowanych od ryb pochodzących z różnych regionów Polski. W tym zakresie podjęto współpracę z Zakładami Higieny Weterynaryjnej oraz ośrodkami naukowymi, które udostępniły szczepy bakterii *Y.ruckeri* izolowane od ryb.

W 2001 r. wyprodukowano w Katedrze Epizootiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie pierwszą serię autoszczepionki przeciwko jersiniozie (Yersivac), która została poddana badaniom dotyczącym jej nietoksyczności oraz skuteczności do indukowania swoistej odpowiedzi po podaniu w iniekcji i immersji. Uzyskane wyniki badań doświadczalnych, prowadzonych *in vitro* i *in vivo* były bardzo zadowalające, a badania terenowe wykazały, że uzyskano bardzo dobrze tolerowaną i wysoce immunogenną autoszczepionkę przeciwko jersiniozie u ryb łososiowatych (Siwicki i in. 2002, Grudniewska i in. 2010).

Celem podjętych badań było określenie skuteczności polskiej autoszczepionki przeciwko jersiniozie (Yersivac) i porównanie jej efektywności ze szczepionką importowaną AquaVac ERM (UK) w podchowach kontrolowanych narybku pstrąga tęczowego w nowej sytuacji epizootycznej.

Materiał i metody

Badania doświadczalne prowadzono na narybku pstrąga tęczowego pochodzącego z Zakładu Hodowli Ryb Łososiowatych IRS w Rutkach. Ryby użyte do badań były w dobrej kondycji, a badania kliniczne nie wykazywały zmian wskazujących na toczący się proces chorobowy. Z każdej partii przeznaczonych do doświadczeń ryb wybierano losowo 5 sztuk, które poddawano badaniom wirusologicznym i bakteriologicznym. Badania doświadczalne przeprowadzono w latach 2005-2008 w Katedrze Epizootiologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie. Każdorazowo do badań użyto 300 sztuk narybku pstrąga tęczowego o zróżnicowanej masie ciała: 4-5 g, 10-12 g, 20-22 g oraz 50-55 g. Przyjęto jednakowy dla wszystkich grup ryb schemat doświadczeń. Ryby po transporcie przetrzymywano w basenach z obiegiem wody i natlenieniem w temperaturze 12°C przez okres 7 dni w celu adaptacji do zmienionych warunków środowiskowych. Następnie 300 ryb każdej grupy wagowej dzielono na trzy grupy po

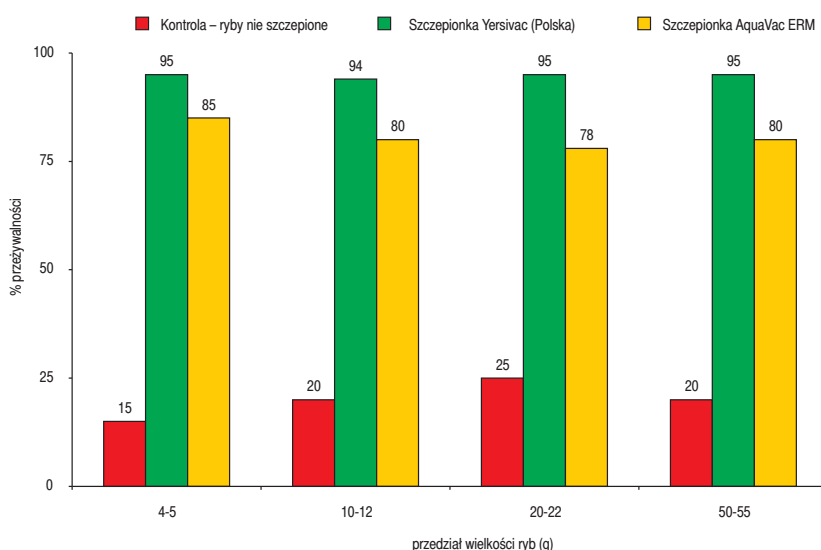
100 sztuk i poddawano szczepieniu w immersji przez okres 30 sek. wg schematu:

- ryby szczepione w immersji szczepionką Yersivac,
- ryby szczepione w immersji szczepionką AquaVac ERM,
- ryby nie szczepione – grupa kontrolna.

Następnie po 60 dniach po szczepieniu ryby wszystkich grup zakażano eksperymentalnie patogenną bakterią *Y.ruckeri* podawaną w iniekcji dootrzewnowo w dawce 0,1 ml/szt. (1×10^7 bakterii /1 ml). Ryby obserwowano oraz rejestrowano dobową liczbę śnięć w każdej grupie. Wszystkie śnięte ryby poddawano badaniom klinicznym i anatomopatologicznym oraz wykonywano posiewy z narządów wewnętrznych (nerka, wątroba, śledziona) w celu izolacji patogennego szczepu, którego użyto do zakażeń eksperymentalnych.

Wyniki i dyskusja

Badania doświadczalne potwierdziły, że autoszczepionka Yersivac oparta na polskich szczepkach *Y. ruckeri* jest wysoce skuteczna w ochronie zdrowia narybku pstrąga tęczowego przed jersiniozą. Badania kliniczne wykazały, że po podaniu obu szczepionek obserwowano znaczne ograniczenie zmian klinicznych w obrębie jamy gębowej, wskazujących na rozwój jersiniozy. U ryb szczepionych nie obserwowano zmian anatomopatologicznych wskazujących na toczący się proces chorobowy. U ryb śniętych z grupy kontrolnej oraz z grup doświadczalnych poddanych szczepieniu izolowano z narządów patogenny szczep *Y. ruckeri*. Wyniki obserwacji po eksperymentalnym zakażeniu ryb, które poddano szczepieniu w immersji szczepionkami Yersivac oraz AquaVac ERM przedstawiono na rys. 1. U ryb wszystkich przedziałów wagowych: 4-5 g, 10-12 g, 20-22 g oraz 50-55 g, poddanych szczepieniu w immersji



Rys. 1. Procent przeżywalności narybku pstrąga tęczowego o zróżnicowanej masie ciała, szczepionego w immersji szczepionkami Yersivac oraz AquaVac ERM po eksperymentalnym zakażeniu patogenną bakterią *Yersinia ruckeri*.

szczepionką Yersivac obserwowano podobną przeżywalność w granicach 94-95%, podczas gdy w grupach ryb nie szczepionych przeżywalność kształtowała się w granicach 15-25% w zależności od masy ciała. Badania porównawcze nad skutecznością szczepionek Yersivac i AquaVac ERM wykazały, że autoszczepionka oparta na polskich szczepach indukuje wyższą odporność przeciw zakażeniom *Y. ruckeri*, wyrażającą się 94-95% przeżywalnością w porównaniu ze szczepionką importowaną AquaVac ERM, gdzie przeżywalność kształtowała się w granicach 78-85% w zależności od masy ciała szczepionych ryb. Jednakże przeprowadzone badania jednoznacznie wykazały, że obie badane szczepionki Yersivac oraz AquaVac ERM są wysoce skuteczne do wykorzystania w immunoprofilaktyce swoistej jersiniozy u pstrąga tęczowego. Pozwalają one na znaczne ograniczenie strat w pierwszych miesiącach podchowu pstrąga tęczowego oraz zmniejszenie kosztów leczenia jersiniozy chemioterapeutykami.

Badania nad polską szczepionką przeciwko jersiniozie są dużym sukcesem rybactwa. Podjęcie seryjnej produkcji szczepionki Yersivac jest uzależnione od hodowców. Wraz ze wzrostem zainteresowania szczepionką, sukcesywnie będzie obniżać się jej cena tak, aby zastosowanie szczepionki było uzasadnione ekonomicznie.

Literatura

- Evensen O. 2009 – Development in fish vaccinology with focus on delivery methodologies, adjuvants and formulations – Options Mediterranean 86: 177-186.
- Grudniewska J., Dobosz S., Terech-Majewska E., Zalewski T., Siwicki A.K. 2010 – Ekonomiczny i zdrowotny wymiar stosowania szczepień przeciwko furunkulozie i jersiniozie w podchowcie pstrąga tęczowego – Komun. Ryb. 1: 18-21.
- Gudding R., Lillehaug A., Evensen O. 1999 – Recent developments in fish vaccinology – Vet. Immun. Immunopathol. 72: 203-2012.
- Siwicki A.K., Morand M., Klein P., Studnicka M., Terech-Majewska E. 1998a – Modulation of nonspecific defence mechanisms and protection against diseases in fish – Acta Vet. Brno 67: 323-328.
- Siwicki A.K., Morand M., Terech-Majewska E., Niemczuk W., Kazuń K., Głabski E. 1998b – Influence of immunostimulants on the effectiveness of vaccine in fish: *in vitro* and *in vivo* study – J. Appl. Ichthyol. 14: 225-227.
- Siwicki A.K., Morand M., Fuller J., Nissen S., Kazuń K., Głabski E. 2001 – Influence of HMB on the antibody secreting cells (ASC) after *in vitro* and *in vivo* immunization with the anti-*Yersinia ruckeri* vaccine of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) – Vet. Res. 32: 491-498.
- Siwicki A.K., Grawiński E., Terech-Majewska E., Trapkowska S., Kazuń B. 2001 – Ocena skuteczności polskiej szczepionki przeciw jersiniozie u pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) – W: Problemy Rybactwa Polskiego w 2001, Wyd. IRS, Olsztyn: 79-84.
- Siwicki A.K., Morand M. 2000 – Fish Vaccines – actual knowledge. EFIS 2000 – Infectious Immunity and Vaccines 1: 37.
- Siwicki A.K., Morand M., Kazuń K., Keck N., Głabski E. 2002 – Application of anti-stress products in aquaculture: influence of Propiscin on the effectiveness of anti-*Yersinia ruckeri* vaccine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) – Arch. Pol. Fish. 10: 143-152.
- Toranzo A.E. 2010 – Report about fish bacterial diseases – resources.ciheam.org/om/pdf/b49/04600220.pdf
- Van Muiswinkel W.B., Cooper E.L. 1992 – Immunology and immunization of fish – Dev. Comp. Immunol. 2: 250-260.

Przyjęto po recenzji 22.09.2010 r.

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF IMMERSION VACCINATION AGAINST YERSINOSIS IN JUVENILE RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Andrzej K. Siwicki, Elżbieta Terech-Majewska, Joanna Grudniewska, Krzysztof Kazuń, Edward Głabski, Barbara Kazuń, Magdalena Majewicz-Zbikowska, Ewa Szczucińska

ABSTRACT. The aim of the study was to determine the effectiveness of immersion vaccination against yersinosis of juvenile rainbow trout. Juvenile rainbow trout of various body weights were studied each time, as follows: 4-5 g, 10-12 g, 20-22 g, 50-55 g. The fish were held in tanks in an oxygenated water recirculating system at a temperature of 12°C, and then 300 fish from each group were segregated by weight into three groups of 100 individuals. The fish were immersed for about 30 seconds in the vaccines Yersivac and AquaVac ERM. The control group comprised fish that were not vaccinated. Sixty days after vaccination, all of the groups were exposed experimentally to the pathogenic bacteria *Yersinia ruckeri* by intraperitoneal injection, and the number of fish deaths was registered. The survival rate in all of the fish groups vaccinated by immersion in Yersivac was similar at about 95%, while survival in the groups of fish that were not vaccinated was 15-25%, depending on the weight of the fish. Comparative studies indicated that auto-vaccination with the Polish vaccine resulted in higher resistance against *Y. ruckeri* than did that with the imported vaccine AquaVac ERM, following the administration of which survival was 78-85%, depending on the body weight of the vaccinated fish.

Keywords: rainbow trout, yersinosis, vaccination, immersion