

Alicja Kozińska, Agnieszka Pękala

Zakład Chorób Ryb, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy w Puławach

Porównanie efektywności dwóch autoszczepionek przeciwko jersiniozie u pstrągów tęczowych (*Oncorhynchus mykiss*)

Wstęp

Wzrastająca intensyfikacja produkcji ryb oraz narastające skażenie środowiska, w znacznym stopniu sprzyjają rozwojowi wielu chorób zakaźnych. Ponadto ryby hodowane są zwykle w monokulturach, przez co zakłócona jest naturalna równowaga biologiczna w środowisku wodnym. Pojawienie się określonego czynnika chorobotwórczego w obiekcie, gdzie hodowane są ryby wrażliwe na ten czynnik, stwarza sprzyjające warunki do rozwoju choroby, która często ma ostry przebieg. W takiej sytuacji nawet zastosowanie antybiotyku (w przypadku choroby bakteryjnej), nie zawsze przynosi poprawę stanu zdrowia ryb, ponieważ leki te podawane są zwykle w paszy, a ryby chore przestają żerować. Wybór odpowiedniego leku musi być jednak poprzedzony diagnostyką laboratoryjną oraz badaniem lekowrażliwości wyizolowanych drobnoustrojów. Badania te są czasochłonne, natomiast leczenie ryb powinno być podejmowane możliwie jak najwcześniej, po wystąpieniu pierwszych objawów choroby. Dlatego też kluczową rolę w zapobieganiu bakteryjnym chorobom ryb powinna odgrywać profilaktyka, a szczególnie immunoprofilaktyka, polegająca na stosowaniu preparatów zwiększających odporność nieswoistą i/lub swoistą u ryb. W gospodarstwach rybackich, w których określona choroba bakteryjna pojawia się systematycznie i może przynosić duże straty, stosowanie szczepionek stanowi jeden z najważniejszych elementów postępowania profilaktycznego.

Do produkcji szczepionek komercyjnych wykorzystuje się najczęściej dobrze poznane pod względem morfologicznym, biochemicznym, antygenowym oraz chorobotwórczym szczepy bakteryjne. Efektywność tych szczepionek może znacznie spadać, zwłaszcza wówczas, kiedy określona choroba wywoływana jest przez patogen o zmienionym profilu fenotypowym, genotypowym lub/i antygenowym. Zdecydowana większość komercyjnych szczepionek przeciwko jersiniozie zawiera, jako czynnik immunogenny, całe, inaktywowane komórki bakteryjne typowego szczepu Hagermana, należącego do grupy serologicznej O1a, wcześniej określanego jako serowar

I (Romalde i in. 1993, Toranzo i in. 2009, Barnes 2011). Już pod koniec lat 80. ubiegłego stulecia obserwowano, że szczepionki te powodowały znacznie niższą ochronę przeciwko serowarom czy też serotypom występującym w niektórych krajach Ameryki Południowej i w Norwegii (Erdal 1989, Barnes 2011). Zróżnicowanie serologiczne, jak też biochemiczne pomiędzy szczepami *Yersinia ruckeri* występuje także w naszym kraju (Pękala 2008, Pękala i in. 2010). Pojawiają się również nowe warianty serologiczne oraz nowe biogrupy *Y. ruckeri*, które są w znacznym stopniu odporne na komercyjne szczepionki przygotowane na bazie szczepu Hagermana. Takie przypadki udokumentowano w Wielkiej Brytanii i Hiszpanii (Austin i in. 2003, Fouz i in. 2006). W ostatnich latach nietypowe szczepy *Y. ruckeri* spotykane są również w Polsce (obserwacje własne, nie opublikowane).

Istnieją udokumentowane dane, że stosowanie autoszczepionek zawierających antygeny szczepów *Y. ruckeri* należących do grup serologicznych występujących na określonych obszarach geograficznych w sposób istotny zwiększało efektywność szczepień (Erdal 1989, Siwicki i in. 2010). Znacznie lepsze efekty szczepień uzyskiwano także stosując autoszczepionki przygotowane w oparciu o nowo pojawiające się biogrupy tej bakterii (Austin i in. 2003, Fouz i in. 2006).

Głównym celem prezentowanych badań było porównanie skuteczności dwóch autoszczepionek opartych na różnych, wyizolowanych w Polsce, terenowych szczepach *Y. ruckeri* przeciwko szczepom homologicznym w stosunku do szczepu szczepionkowego oraz przeciwko szczepom heterologicznym, wyizolowanym od ryb z innych gospodarstw. Badania te poprzedzono określeniem optymalnej dawki inaktywowanych komórek *Y. ruckeri*, optymalnego czasu ekspozycji ryb w zawieszynie autoszczepionek oraz kontrolą ich bezpieczeństwa.

Materiał i metody

Ogółem do badań użyto 810 szt. pstrągów tęczowych (*Oncorhynchus mykiss*) o masie ciała 8-10 g. Badania przeprowadzono w trzech etapach. W każdym z nich ryby

pochodziły z tego samego gospodarstwa, które było wolne od jersiniozy. Przed rozpoczęciem doświadczeń ryby adaptowano do warunków laboratoryjnych przetrzymując je w basenie przy ciągłym przepływie i natlenianiu wody o temperaturze $13^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Z każdej partii ryb wybierano losowo 6 sztuk, celem dokładnej oceny ich stanu zdrowotnego, przeprowadzając badanie kliniczne, sekcyjne, parazytologiczne i bakteriologiczne. Szczepienia ryb wykonano metodą immersji.

Na przeprowadzenie doświadczeń uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej w Lublinie (Uchwała nr 33/2008).

Pierwszy etap badań

Badania dotyczyły określenia optymalnej dawki antygeny, podawanego rydom w immersji oraz optymalnego czasu ekspozycji ryb na antygen. Do badań wybrano trzy szczepy *Y. ruckeri* (YR1, MD1 i Pt263), pochodzące z różnych gospodarstw rybackich i różniące się właściwościami biochemicznymi. Różnice dotyczyły dekarboksylacji lizyny, wytwarzania acetoiny (reakcja Voges-Proskauera), hydrolizy żelatyny. Wszystkie 3 szczepy należały do serotypu O1 wg klasyfikacji serologicznej Davies (1990) oraz biotypu 2. Każdy z tych szczepów wyizolowany został od pstrągów tęczowych, u których obserwowano kliniczną postać jersiniozy.

Każdą z 3 autoszczepionek przygotowywano na bazie całych komórek bakteryjnych, namnożonych w bulionie tryptozowo-sojowym (TSA), w temperaturze $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, a następnie inaktywowanych formaliną w stężeniu 0,4%. Przed inaktywacją sprawdzano miano komórek bakteryjnych oraz czystość hodowli, natomiast 48 godzin po inaktywacji przeprowadzano kontrolę jałowości autoszczepionek.

Pstrągi tęczowe, o masie jednostkowej 8-10 g, podzielono na 3 główne grupy doświadczalne, po 150 szt. oraz grupę kontrolną liczącą 90 ryb. Każda z grup doświadczalnych przeznaczona została do immunizacji autoszczepionką zawierającą antygeny innego szczepu *Y. ruckeri*. Celem przeprowadzenia badań w różnych wariantach, poszczególne grupy doświadczalne podzielono na 5 podgrup liczące po 30 ryb. Wszystkie ryby doświadczalne immunizowano umieszczając je w 10 litrach zawiesiny antygeny, stosując 5 następujących wariantów szczepień:

- wariant I (W I) – dawka antygeny: 5×10^7 komórek ml^{-1} ; czas ekspozycji: 1,0 min,
- wariant II (W II) – dawka antygeny: 10^8 komórek ml^{-1} ; czas ekspozycji: 0,5 min,
- wariant III (W III) – dawka antygeny: 10^8 komórek ml^{-1} ; czas ekspozycji: 1,0 min.,
- wariant IV (W IV) – dawka antygeny: 5×10^8 komórek ml^{-1} ; czas ekspozycji: 0,5 min,
- wariant V (W V) – dawka antygeny: 5×10^8 komórek ml^{-1} ; czas ekspozycji: 1,0 min.

Powyższe warianty zostały zastosowane dla każdej z 3 użytych autoszczepionek. Ryby z grupy kontrolnej poddano kąpielom w 10 litrach wody nie zawierającej antygenów, przez 1 min. Następnie każdą grupę ryb umieszczano w oddzielnych akwariach, przy ciągłym przepływie i natlenianiu wody o temperaturze $13^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Po 6 tygodniach ryby z poszczególnych podgrup zakażano szczepem homologicznym w stosunku do szczepu szczepionkowego. Do zakażeń użyto zawiesiny bakterii w jałowym płynie fizjologicznym, zawierającej 10^7 komórek bakteryjnych ml^{-1} . Każdej rybie wstrzykiwano dootrzewnowo 0,2 ml zawiesiny. W ten sam sposób zakażano ryby kontrolne, po 30 sztuk każdym z ww. szczepów *Y. ruckeri*. Obserwację prowadzono przez 21 dni, notując wystąpienie objawów choroby i liczbę śnięć w poszczególnych grupach. Skuteczność immunizacji w poszczególnych wariantach oceniano wyliczając względny procent przeżywalności (RPS – relative percentage survival), wg wzoru:

$$1 - \frac{\text{liczba śnięć w grupie doświadczalnej}^*}{\text{liczba śnięć w grupie kontrolnej}} \times 100$$

*w czasie odpowiadającym śmiertelności w grupie kontrolnej

Ryby świeżo śnięte poddawano badaniom bakteriologicznym celem ustalenia, czy przyczyną śnięć były szczepy *Y. ruckeri* użyte do zakażeń.

Drugi etap badań

Po ustaleniu optymalnego miana i czasu ekspozycji ryb na poszczególne autoszczepionki przeprowadzono badanie ich bezpieczeństwa dla ryb. Badania wykonano na 90 pstrągach tęczowych, które podzielono na 3 grupy. Każdą z grup immunizowano autoszczepionkami zawierającymi antygeny innego szczepu *Y. ruckeri* (Yr1, MD1 lub Pt263). Zastosowano stężenia antygenów 5-krotnie wyższe (5×10^8 komórek/ml) od ustalonej w poprzednim etapie dawki optymalnej. Ryby przetrzymywano w zawieszynie antygenów przez okres 2-krotnie dłuższy (2 min) od ustalonego czasu optymalnego. Obserwowano zachowanie się ryb oraz przeprowadzono badania kliniczne i sekcyjne po 7, 14 i 21 dniach od czasu szczepienia, każdorazowo u 10 ryb z każdej grupy.

Trzeci etap badań

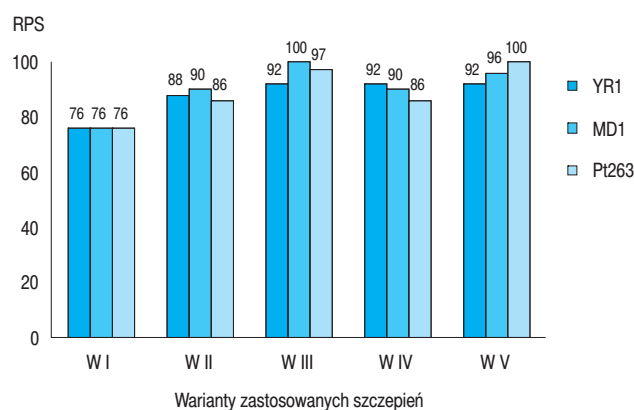
Badania dotyczyły porównania efektywności autoszczepionek w stosunku do szczepu szczepionkowego i 3 innych szczepów *Y. ruckeri*. W tym celu przygotowano dwie autoszczepionki, w sposób opisany wyżej, z których jedna zawierała antygeny szczepu YR1, druga antygeny szczepu Pt426. Do badań użyto 180 pstrągów tęczowych. Po 60 pstrągów tęczowych poddano immunizacji jedną z przygotowanych szczepionek, pozostałe 60 ryb stanowiły grupy kontrolne. Immunizację przeprowadzono w ustalonych wcześniej warunkach optymalnych odnośnie dawki anty-

geny i czasu ekspozycji ryb na antygen. Po upływie 6 tygodni ryby immunizowane każdą z dwóch autoszczepionek podzielono na 4 grupy doświadczalne: A1, A2, A3 i A4 (ryby immunizowane antygenami YR1) oraz B1, B2, B3 i B4 (ryby immunizowane antygenami Pt426), natomiast ryby nie szczepione podzielono na 4 grupy kontrolne (K1, K2, K3, K4), po 15 szt. w każdej grupie.

Do zakażeń użyto, oprócz szczepów szczepionkowych, 2 innych szczepów *Y. ruckeri*: MD1 i Pt263. Ryby z grup A1 oraz B4 zakażano szczepem homologicznym w stosunku do szczepu szczepionkowego (odpowiednio YR1 oraz Pt426). Każdy z tych szczepów został również użyty do zakażenia odpowiednich grup kontrolnych (K1 i K4). Pozostałe grupy zakażano szczepami heterologicznymi. Zakażenia przeprowadzono w sposób opisany wyżej. Obserwację prowadzono codziennie przez 21 dni, notując wystąpienie objawów chorobowych i liczbę śnięć. Efektywność autoszczepionek przeciwko poszczególnym szczepom *Y. ruckeri*, użytym do zakażeń oceniano w ten sam sposób, jak w I etapie badań. Ryby w stanie agonalnym lub świeżo śnięte poddano badaniom bakteriologicznym celem ustalenia, czy przyczyną śnięć były szczepy *Y. ruckeri* użyte do zakażeń ryb.

Wyniki

W pierwszym etapie badań, w okresie od podania autoszczepionek do dnia zakażenia eksperymentalnego, ryby ze wszystkich grup doświadczalnych i w grupie kontrolnej wykazywały dobrą kondycję i nie stwierdzono żadnych zmian chorobowych ani śnięć. W drugim dniu po zakażeniu wystąpiły pierwsze objawy choroby u ryb kontrolnych i u poszczególnych ryb w grupach doświadczalnych. Początkowo obserwowano pociemnienie skóry i osłabioną kondycję, natomiast w następnych dniach u ryb kontrolnych zaczęły pojawiać się wybroczyny u podstaw płetw i w okolicy jamy gębowej. Typowe objawy jersiniozy rozwinęły się tylko u 20% ryb w I wariantcie doświadczenia (5×10^7 komórek w 1 ml szczepionki) oraz w grupach kontrolnych. Śnięcia ryb wystąpiły we wszystkich grupach kontrolnych, sięgając 70-90%. W grupach doświadczalnych, najwyższy procent śnięć (17-23%) zanotowano u ryb szczepionych w zawiesinie zawierającej 5×10^7 inaktywowanych komórek bakteryjnych w 1 ml. W grupie tej odnotowano najniższy względny procent przeżywalności ryb (RPS), który wynosił 76%, niezależnie od użytego antygeny do immunizacji (rys.1). W grupach immunizowanych przez okres 0,5 min szczepionkami zawierającymi antygeny w liczbie 10^8 i 5×10^8 komórek w 1 ml, względna przeżywalność wynosiła odpowiednio od 86 do 90% i od 86 do 92%. Zakres RPS w grupach immunizowanych szczepionkami zawierającymi te same dawki antygeny, ale immunizowanych przez 1,0 min był identyczny w III i V wariantcie doświadczenia i wynosił 92-100%, zależnie od użytego antygeny. W grupach tych



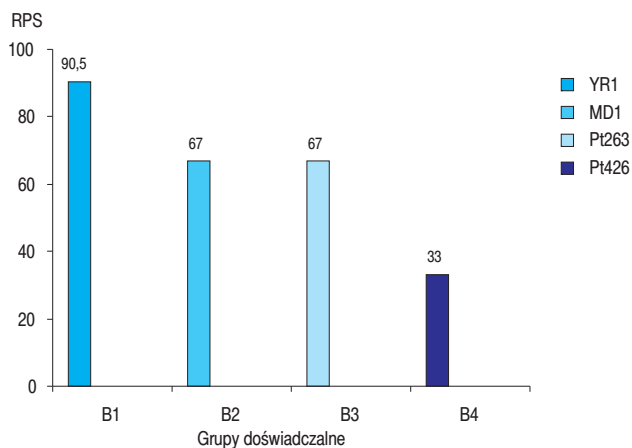
Rys. 1. Względny procent przeżywalności (RPS) ryb w poszczególnych wariantach szczepień (W I – W V) o zróżnicowanej dawce antygeny w autoszczepionkach i różnym czasie ekspozycji ryb na antygen: W I – 5×10^7 komórek ml^{-1} , 1 min; W II – 10^8 komórek ml^{-1} , 0,5 min; W III – 10^8 komórek ml^{-1} , 1,0 min; W IV – 5×10^8 komórek ml^{-1} , 0,5 min; W V – 5×10^8 komórek ml^{-1} , 1,0 min.

wskaźnik RPS był od 16% do 24% wyższy niż w I wariantcie doświadczenia, w którym ryby ekspozycje na działanie autoszczepionki przez taki sam okres (rys. 1). W posiewach materiału pobranego od ryb w stanie agonii lub świeżo śniętych stwierdzono jednolity wzrost bakterii *Y. ruckeri*. Wyizolowane szczepy wykazywały homologię serologiczną, jak również biochemiczną w stosunku do tych, które były użyte do zakażeń ryb.

W drugim etapie, dotyczącym badania bezpieczeństwa autoszczepionek, u żadnej z ryb poddanych działaniu 5-krotnej dawki antygeny i dwukrotnie dłuższym czasie ekspozycji na ten antygen nie stwierdzono patologicznych zmian w powłokach skórnych, na płetwach, w skrzelach, jamie gębowej ani w narządach wewnętrznych. Zewnętrzne powłoki ciała, skrzel i narządy wewnętrzne wyglądały prawidłowo w każdym z trzech etapów kontroli – po 1, 2 i 3 tygodniach od czasu zastosowania szczepionki. Nie obserwowano również żadnych nieprawidłowych zachowań ryb.

W trzecim etapie badań, w okresie od podania autoszczepionek do dnia zakażenia eksperymentalnego, ryby we wszystkich grupach doświadczalnych i kontrolnych wykazywały dobrą kondycję i nie stwierdzono żadnych zmian chorobowych ani śnięć. W każdej z 4 grup kontrolnych, objawy chorobowe zaobserwowano już po upływie 2 dni od czasu eksperymentalnego zakażenia, przynajmniej u 30% ryb. Pierwszym objawem było pociemnienie skóry, w następnych dniach pojawiły się wybroczyny u podstawy płetw, na pokrywach skrzelowych lub/i w okolicy jamy gębowej. W ciągu 3 tygodni w poszczególnych grupach kontrolnych wystąpiły śnięcia 60-80% ryb. U pozostałych przy życiu ryb w grupach kontrolnych nie obserwowano żadnych objawów chorobowych.

Po 7 dniach od czasu zastosowania szczepionki zawierającej antygeny szczepu YR1, w grupach doświadczalnych A2, A3 i A4 wystąpiły zmiany chorobowe, odpowied-



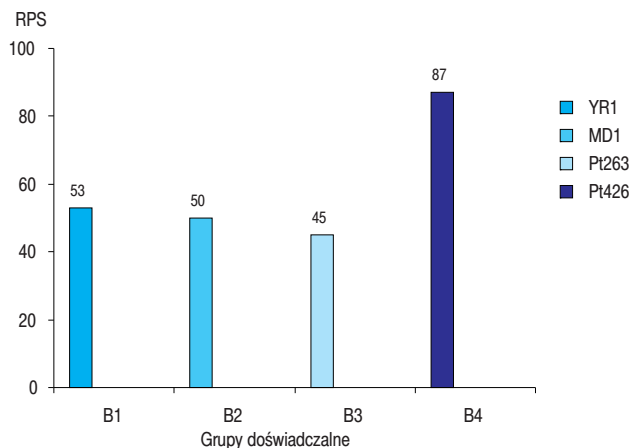
Rys. 2. Względny procent przeżywalności (RPS) ryb immunizowanych autoszczepionką zawierającą antygeny szczepu YR1, zakażanych szczepem homologicznym (grupa B1) oraz szczepami heterologicznymi (grupy B2, B3 i B4).

nio u 33, 20 i 40% ryb. Zmiany były podobne do tych, które obserwowano u ryb kontrolnych. Po 10-14 dniach wystąpiły śnięcia większości tych ryb. Względny procent przeżywalności w poszczególnych grupach przedstawiono na rys. 2. Najwyższy wskaźnik RPS (90,5%) odnotowano u ryb zakażanych szczepem homologicznym (YR1) w stosunku do antygeny, natomiast najniższy (33%) w grupie zakażanej szczepem Pt426. Względny procent przeżywalności ryb szczepionych antygenami Pt426 przedstawiony jest na rys. 3. Po zakażeniu szczepem homologicznym RPS wynosił 87%, podczas gdy w grupach zakażanych szczepami heterologicznymi przeżywalność była znacznie niższa i wynosiła od 45 do 53%.

W próbkach pobranych ze zmienionych tkanek zewnętrznych oraz z nerki ryb w stanie agonii lub świeżo śniętych ze wszystkich grup kontrolnych oraz z grup doświadczalnych izolowano bakterie *Y. ruckeri*, które wykazywały homologię serologiczną, jak również biochemiczną w stosunku do szczepów użytych do zakażeń ryb.

Omówienie wyników i dyskusja

Komercyjne szczepionki przeciwko jersiniozie różnią się pod względem liczby inaktywowanych komórek bakteryjnych. Szczepionka Yersi-Fishvax (Fatro, Włochy) zawiera ok. $1,5 \times 10^9$ komórek ml^{-1} , AquaVac® ERM (MSD Animal Health) 5×10^9 komórek ml^{-1} (Deshmukh i in. 2012), w ulotce AquaVac® RELERA™ (Scheler-Plaque-Animal Health) brak jest informacji o liczbie inaktywowanych komórek. Jednocześnie każdy z producentów zaleca rozcieńczenie szczepionek w stosunku 1:10 do szczepień w immersji. W efekcie uzyskuje się roztwory immersyjne zawierające różną liczbę komórek bakteryjnych w 1 ml. Dlatego też, przed przystąpieniem do realizacji głównego celu pracy, przeprowadzono badania określające optymalną dawkę antygeny i czas ekspozycji ryb na przygotowane preparaty.



Rys. 3. Względny procent przeżywalności (RPS) ryb immunizowanych autoszczepionką zawierającą antygeny szczepu Pt426, zakażanych szczepem homologicznym (grupa B4) oraz szczepami heterologicznymi (grupy B1, B3 i B4).

Ze względu na fakt, że poszczególne szczepy bakteryjne mogą się różnić w zakresie immunogenności, badania te przeprowadzono przy użyciu 3 różnych szczepów. Badania wykazały, że przy dawkach 10^8 i 5×10^8 inaktywowanych komórek bakteryjnych w 1 ml roztworu immersyjnego, wyniki są bardzo porównywalne, przy czym nieco lepsze efekty (1-14%, zależnie od użytego szczepu) uzyskano w grupach ryb ekspozowanych na działanie autoszczepionek przez okres 1 min. Wyniki te potwierdzają sugestie Grudniewskiej i in. (2010). Według tych autorów właściwie przygotowana szczepionka powinna zawierać atenuowane komórki bakterii w liczbie $1-5 \times 10^9$ komórek ml^{-1} i rozcieńczona w stosunku 1:10. W przygotowanym roztworze (po rozcieńczeniu zawierającym $1-5 \times 10^8$ komórek ml^{-1} – przyp. autorów) ryby powinno się zanurzać na 30-60 sekund. Nie wykazano znaczących różnic w immunogenności użytych szczepów; wynosiły one od 0 do 6% przy określonym czasie ekspozycji ryb na roztwory szczepionkowe.

Uzyskane wyniki jednoznacznie pokazały, że użyte do badań autoszczepionki nie wykazują działań ubocznych. Według Farmakopei Polskiej (2008), w przypadku szczepionek dla ryb, stosowanych w immersji, do badania bezpieczeństwa powinno się zastosować 2-krotnie wyższą dawkę antygeny, a szczepienie przeprowadzić w czasie 2-krotnie dłuższym od zalecanego. W naszych badaniach ryby poddane były ekspozycji na 5-krotną dawkę antygeny w stosunku do dawki optymalnej i nie zaobserwowano żadnych zmian patologicznych.

Prezentowane wyniki III etapu badań wskazują, że pomimo, iż pomiędzy szczepami występuje pewien stopień reakcji krzyżowych, to jednak autoszczepionki zawierające antygeny określonego szczepu *Y. ruckeri*, są najbardziej efektywne wobec szczepu homologicznego. Prawdopodobnie jest to efektem zmienności bakterii *Y. ruckeri*. Pojawiają się nowe biotypy, a także nowe warianty serologiczne tych bakterii. Na uwagę zasługuje szczep Pt426, który został

wyzolowany od ryb wcześniej szczepionych autoszczepionką zawierającą antygeny YR1. Objawy jersiniozy u tych ryb pojawiły się po ok. 3 miesiącach od czasu szczepienia. Podobne przypadki miały miejsce w Anglii i Hiszpanii (Austin i in. 2003, Fouz i in. 2006). Okazało się, że jest to szczep znacznie różniący się biochemicznie od szczepu YR1. Prawdopodobnie szczep ten reprezentuje też inny wariant antygenowy, ponieważ wykazywał bardzo słabą reakcję z surowicą anty O1. Przeprowadzone badania wykazały, że RPS u ryb immunizowanych YR1 był najniższy (33%) po zakażeniu tym szczepem, natomiast w grupie immunizowanej antygenami szczepu Pt426, przeżywalność była znacznie wyższa (87%) po zakażeniu tym szczepem, niż po zakażeniu szczepami heterologicznymi (45-53%).

Badania porównawcze dwóch komercyjnych szczepionek, AquaVac® ERM i AquaVac® RELERA™ (MSD Animal Health), prowadzone przez Deshmukh i in (2012) wykazały, że względny procent przeżywalności ryb wynosił od 40 do 60%, zależnie od użytej szczepionki. Autoszczepionki użyte w prezentowanych badaniach wykazywały zdecydowanie wyższą efektywność (RPS od 87,0 do 90,5%), a w I etapie badań zanotowano nawet 100% przeżywalności w dwóch grupach doświadczalnych. Podobne wyniki uzyskano przy zastosowaniu autoszczepionki Yersivac, opartej na polskich szczepach *Y. ruckeri* (Siwicki i in. 2010).

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że autoszczepionki przygotowane na bazie szczepu/szczepów wyizolowanych z danego gospodarstwa rybackiego i stosowane tylko do szczepienia ryb w tym gospodarstwie rokurają najlepsze efekty w immunoprofilaktyce pstrągów tęczowych. Ze względu na pojawianie się nowych wariantów biochemicznych i serologicznych *Y. ruckeri*, wskazane byłoby, w określonych odstępach czasu (przynajmniej raz

na 2 lata), izolowanie nowych szczepów do przygotowania autoszczepionek. Byłoby to konieczne w przypadku pojawienia się objawów jersiniozy w stosunkowo krótkim czasie po szczepieniu.

Literatura

- Austin D.A., Robertson P.A.W., Austin B. 2003 – Recovery of new biogroup of *Yersinia ruckeri* from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) – System. Appl. Microbiol. 26: 127-131.
- Barnes A.C. 2011 – Enteric Redmouth Disease (ERM) (*Yersinia ruckeri*) – W: Fish diseases and disorders (Red.) P.T.K. Woo and D.W. Bruno, CABI Head Office, Wallingford, UK, Vol. 3: 484-511.
- Davies R.L. 1990 – O-serotyping of *Yersinia ruckeri* with special emphasis on European isolates – Vet. Microbiol. 22:299-307.
- Deshmukh S., Raida M.K., Dalsgaard I., Chetri J.K., Kania P.W., Buchmann K. 2012 – Comparative protection of two different commercial vaccines against *Yersinia ruckeri* serotype O1 and biotype 2 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) – Vet. Immunol. Immunopathol. 145:379-385.
- Erdal J.I. 1989 – Vaccination against common infectious diseases in fish – Norsk Veteriaertidsskrift, 101: 489-495.
- Farmakopea Polska VIII 2008 – Szczepionka przeciw wibriozie ryb tososio-watych, inaktywowana. Tom I: 687-689.
- Fouz B., Zarza C., Amaro C. 2006 – First description on non-motile *Yersinia ruckeri* serovar I strains causing disease in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), cultured in Spain – J. Fish Dis. 29: 339-346.
- 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.
- Pękala A. 2008 – Charakterystyka fenotypowa i genotypowa krajowych izolatów *Yersinia ruckeri* w aspekcie ich patogenności dla ryb – Rozprawa doktorska, PIWet-PIB, Puławy.
- Pękala A., Kozińska A., Antychowicz J. 2010 – Serological variation among Polish isolates of *Yersinia ruckeri* – Bull. Vet. Inst. Puławy. 54: 305-308
- Ramalde J.E., Magariños B., Barja J.L., Toranzo A.E. 1993 – Antigenic and molecular characterization of *Yersinia ruckeri*: Proposal for a new intraspecies classification – Syst. Appl. Microbiol. 16:411-419.
- Siwicki A.K., Terech-Majewska E., Grudniewska J., Kazuń K., Głabski E., Kazuń B., Majewicz-Zbikowska M., Szczucińska E. 2010 – Ocena skuteczności szczepionek w immersji przeciwko jersiniozie u narybku pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*) – Komun. Ryb. 5: 13-15.
- Toranzo A.E., Romalde J.L., Magariños B., Barja J.L. 2009 – Present and future of aquaculture vaccines against Fish bacterial diseases – Options Méditerranéennes, A/no.86: 155-176.

Przyjęto po recenzji 14.08.2012 r.

COMPARISON OF THE EFFICACY OF TWO AUTOLOGOUS VACCINES AGAINST YERSINIOSIS IN RAINBOW TROUT

Alicja Kozińska, Agnieszka Pękala

ABSTRACT. The present study compares the protective effect of two autologous vaccines against homologous and heterologous *Yersinia ruckeri* strains. These studies were preceded by determining optimal vaccination conditions (antigen dose and fish exposition time to the vaccine suspension). Each of the vaccines contained antigens prepared from one of two strains of *Y. ruckeri*: YR1 or Pt426, which originated from different farms and exhibited some biochemical differences. The fish were immersed in the vaccines containing 10^8 of antigens for 60 sec. (conditions determined as optimal). Six weeks after immunization, the fish that had been immunized with the different vaccines were divided into four groups. One of them was infected with the strain that is homologous to the vaccine. Each of the remaining groups was infected with one of the three heterologous strains. The relative percentage of survival (RPS) after infection with homologous strains was 90.5% for YR1 and 87% for Pt426, while for heterologous strains RPS it was markedly lower at a range of 33 to 67%. The results indicate that vaccines prepared using *Y. ruckeri* strains originating from particular farms and applied only in these farms may result in the best prophylaxis against yersiniosis in rainbow trout.

Keywords: autologous vaccines, yersiniosis, comparison, rainbow trout