

Andrzej K. Siwicki¹, Elżbieta Terech-Majewska², Agnieszka Lepa¹, Joanna Grudniewska³

¹Zakład Patologii i Immunologii Ryb, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

²Katedra Epizootologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie

³Zakład Hodowli Ryb Łososiowatych, Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie

Zakaźna martwica układu krwiotwórczego (IHN) u pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*): diagnostyka i immunoprofilaktyka

Systematyczne badania diagnostyczne prowadzone w ośrodkach hodowli ryb łososiowatych w Europie wykazały znaczący wzrost przypadków obecności wirusa IHN (*Infectious Haematopoietic Necrosis*) u narybku pstrąga tęczowego (Essbauer i Ahne 2001, Ammayappan i in. 2010). Intensywne badania nad molekularną budową wirusa IHN, ze szczególnym uwzględnieniem budowy genomu wykazały, że wirus ten zawiera swoisty gen NV, który odróżnia go od innych wirusów należących do rodziny *Rhabdoviridae*. W związku z powyższym zaliczono ostatecznie wirus IHN do rodzaju *Novivirus*.

W Polsce od 2000 roku są prowadzone systematyczne badania diagnostyczne nad występowaniem wirusa IHN, co daje możliwość oceny sytuacji epizootycznej (Terech-Majewska i in. 2000, Matras 2011, Siwicki i Terech-Majewska 2011). Jednakże od 2009 roku obserwuje się wzrost występowania wirusa IHN u narybku pstrąga tęczowego, szczególnie w północnych regionach Polski. Przypuszcza się, że znaczący wzrost importu ikry mógł być bezpośrednią przyczyną pojawienia się wirusa IHN w Polsce. W artykule opublikowanym na łamach Komunikatów Rybackich już w 2011 roku prezentowaliśmy aktualny stan wiedzy na temat zakaźnej martwicy układu krwiotwórczego oraz zagrożenia wynikające z braku rzetelnej wiedzy na temat diagnostyki i zwalczania tej jednostki chorobowej (Siwicki i Terech-Majewska 2011). Wychodząc naprzeciw potrzebom praktyki rybackiej w Instytucie Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie uruchomiono w 2005 roku Laboratorium Diagnostyki Molekularnej Chorób Ryb, gdzie podjęto badania nad szybką i wczesną diagnostyką chorób wirusowych ryb, w tym również wirusa IHN. Równolegle w Katedrze Epizootologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie uruchomiono Pracownię Diagnostyki Molekularnej Chorób Zakaźnych, która również prowadzi diagnostykę chorób ryb. Od 2005 roku prowadzone są systematyczne badania diagnostyczne IHN w ośrodkach naukowych IRS oraz w gospodarstwach rybackich prowadzących hodowlę pstrąga

tęczowego w zróżnicowanych systemach chowu. Podczas konferencji zorganizowanej w 2010 roku na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie przedstawiono najnowsze osiągnięcia w diagnostyce, profilaktyce i terapii chorób wirusowych podlegających obowiązkowi zwalczania. Zakaźna martwica układu krwiotwórczego ryb łososiowatych wzbudziła szczególne zainteresowanie, czego wynikiem była burzliwa dyskusja. Wydawnictwo IRS Olsztyn przygotowało monografię z tej konferencji pt. "Choroby ryb podlegające obowiązkowi zwalczania oraz inne choroby zagrażające hodowli – diagnostyka, profilaktyka, terapia" pod redakcją Wojciecha Szwedę, Andrzeja Siwickiego i Elżbiety Terech-Majewskiej (Wyd. IRS, Olsztyn 2010: 5-241).

Podstawą ochrony zdrowia zwierząt akwakultury w zakresie chorób zakaźnych objętych obowiązkiem monitorowania i zwalczania jest monitorowanie gospodarstw w kierunku obecności najgroźniejszych patogenów. Laboratoria w strukturach Państwowej Inspekcji Weterynaryjnej stosują się do wymagań: Dyrektywy Rady 2006/88/WE, Decyzji Komisji z 22 lutego 2011/183/WE, Projektu „Diagnostic Manual for certain aquatic animals diseases”, Instrukcji Głównego Lekarza Weterynarii nr GIW. 400/R-10/06 z dnia 17 marca 2006 roku w sprawie powiatowych lekarzy weterynarii przy przesyłaniu próbek ryb do badań w Krajowym Laboratorium Referencyjnym dla Chorób Ryb oraz „Podręcznika pobierania próbek do laboratoryjnych badań diagnostycznych chorób zakaźnych zwierząt” opracowanym przez Główny Inspektorat Weterynarii w 2008 roku. Gospodarstwa utrzymujące ryby z gatunków wrażliwych na zakażenie poddawane są monitoringowi w zakresie obecności wirusów VHS i IHN dwukrotnie w ciągu roku, w okresach, gdy temperatura wody nie przekracza 15°C, w odpowiednim odstępnie czasu. W przygotowanej próbce powinny znaleźć się także ryby, które odbiegają klinicznie od normy. Bada się 30 sztuk ryb w próbce z gospodarstwa, a próba powinna odzwierciedlać strukturę wiekową ryb w gospodarstwie. Wiodącym gatun-

kiem monitorowanym w naszych hodowlach jest pstrąg tęczy. W dalszej kolejności inne gatunki, jeśli są hodowane w gospodarstwie. Zakres oraz metody pracy podczas monitoringu wydają się być już w pełni dopracowane, co powinno stanowić dobre zabezpieczenie ryb w gospodarstwach. Nadal jednak choroba się rozprzestrzenia. Łączna liczba gospodarstw rybackich w Europie, w których podejrzewa się obecność wirusa w roku 2011 wynosiła 61. W całej Europie, pomimo tego że monitoring jest prowadzony systematycznie od wielu lat, tylko 50 procent gospodarstw jest uznanych za wolne od IHN (Matras i in. 2012), co sugeruje, że stosowane metody mogą być niewystarczające. Metody diagnostyczne stosowane w Krajowym Laboratorium PIWet- PIB w Puławach oraz ZHW, usytuowanych w strukturze Państwowej Inspekcji Weterynaryjnej są ujednolicone, jednakże zdarzają się niezgodności wyników, co budzi niezadowolone wśród hodowców. Dla potrzeb Inspekcji prowadzone są systematyczne urzędowe badania diagnostyczne ukierunkowane na VHS/IHN, gdyż hodowla ryb jest czynnością nadzorowaną, ale hodowcy mają możliwość wykonywania badań pozaurzędowych, także bezpośrednio w Laboratorium Referencyjnym UE w Aarhus w Danii.

Diagnostyka laboratoryjna IHN

Diagnostyka IHN jest oparta na zaleceniach OIE 2011 i polega na:

- izolacji i identyfikacji wirusa w hodowlach komórkowych (najbardziej czułe są EPC, FHM)
- zastosowaniu metod immunologicznych: IF, IE, ELISA, ISPA oraz test seroneutralizacji,
- zastosowaniu metod molekularnych (RT-PCR, OIE 2011, Williams i in. 1999).

Tylko wynik dodatni pozwala na zastosowanie procedur zwalczania. Hodowcy ryb łososiowatych w Polsce mają do dyspozycji szeroki wachlarz możliwości kontrolowania tej choroby oraz wsparcie merytoryczne w zakresie szeroko pojętej profilaktyki i zwalczania ze strony nauki i praktyki weterynaryjnej. Niezmiennie nadal podstawą rozpoznawania jest właściwy wywiad i badania kliniczne w przebiegu z objawami, których rozwój zależy od patogenności wirusa i naturalnej oporności.

Patogenność wirusa IHN

Intensywne badania doświadczalne i kliniczne wykazały, że wirus IHN wnika do organizmu ryb różnymi drogami:

- przez skrzela, a następnie wędruje do śródbłonka naczyń krwionośnych wielu narządów,
- przez przewód pokarmowy, gdzie po przełamaniu bariery jelitowej dostaje się do śródbłonka naczyń krwionośnych wielu narządów,

- przez skórę, a następnie po przełamaniu bariery skórnej dostaje się drogą naczyń krwionośnych do różnych narządów.

Po wnikięciu do organizmu wirus wędruje drogą naczyń krwionośnych do wielu narządów: nerek, śledziony, mięśni, gardła, przełyku, żołądka, serca i opon mózgowych. Najdłużej utrzymuje się w tkance krwiotwórczej nerek, doprowadzając do jej zniszczenia (Roberts 1978, Ahne i Kurstak 1989, Essbauer i Ahne 2001).

Obserwacje własne oraz dane literaturowe jednoznacznie sugerują, że występują dwa okresy pojawiania się choroby: w okresie wiosennym, gdy następuje wzrost temperatury oraz w okresie jesiennym, gdy występują gwałtowne spadki temperatur. W temperaturach pomiędzy 10-15°C wirus wywołuje chorobę o przebiegu ostrym. Poniżej 10°C choroba przyjmuje postać przewlekłą, podczas gdy w temperaturze powyżej 15°C obserwuje się uspokojenie i zanik objawów chorobowych. Obserwowany gwałtowny zanik objawów chorobowych w temperaturze powyżej 15°C jest wynikiem aktywacji humoralnych mechanizmów obronnych z intensywną produkcją interferonu (Guz 2010). To zjawisko jest dziś wykorzystywane do opracowania skutecznych metod immunoprofilaktyki nieswoistej przy tej jednostce chorobowej.

Obserwacje kliniczne wykazały, że na zakaźną martwicę układu krwiotwórczego zapadają dość często ryby będące w dobrej kondycji, intensywnie żerujące, charakteryzujące się dobrymi przyrostami masy ciała. W takich przypadkach wybuch choroby jest gwałtowny, przebieg ostry ze stratami sięgającymi nawet 80-90% obsady. Wirus IHN może wywołać chorobę już u wylęgu, który posiada jeszcze woreczek żółtkowy, a obserwowane w tym okresie śnięcia sięgają 80-100% obsady.

Dużym zagrożeniem dla hodowli jest bezobjawowe nosicielstwo wirusa u ryb starszych. Stwierdza się go między innymi u tarlaków w płynie jajnikowym i w mleczu. Istnieje również możliwość transowaryjnego zakażenia ryb, choć dość często stwierdza się również wirus na powierzchni ikry. Nosicielami wirusa mogą być pasożyty zewnętrzne (pijawki) i skorupiaki. Tę drogę przenoszenia wirusa stwierdzano między innymi w zaniedbanych gospodarstwach, które nie przestrzegały podstawowych zasad hodowli. Również odchody ryb chorych oraz ryby śnięte są głównym źródłem zakażenia, szczególnie w intensywnych systemach hodowli pstrąga, gdzie zagęszczenia obsad są bardzo wysokie.

Objawy kliniczne przy zakaźnej martwicy układu krwiotwórczego są mało charakterystyczne i dość często mylone z innymi jednostkami chorobowymi tła wirusowego. Na szczególną uwagę zasługują takie objawy jak:

- pociemnienie skóry,
- wzdęcie powłok ciała z nagromadzeniem się dużej ilości płynu wysiękowego,

- wysadzenie gałek ocznych,
- wybroczyny u podstawy płetw,
- bladeść skrzelii oraz błon śluzowych,
- dość często obserwowane pseudoodchody (długie białe pasemka ciągnące się z otworu odbytowego),
- hiperaktywność naprzemienna z apatią obserwowana szczególnie u starszych ryb.

Zapobieganie i zwalczanie tej jednostki chorobowej jest bardzo trudne. Jedną ze skutecznych metod jest stosowanie szczepień ochronnych. Badania w tym kierunku są prowadzone, szczególnie w zakresie opracowania skutecznej szczepionki podawanej *per os* u narybku (Adomako i in. 2012). W tym miejscu należy wyraźnie podkreślić, że przechorowanie pozostawia po sobie trwałe nosicielstwo. Szczególnie istotne jest wprowadzanie nowych metod profilaktyki, przestrzeganie podstawowych zasad higieny w hodowli oraz przepisów dotyczących zwalczania. Liczne obserwacje oraz badania doświadczalne pozwoliły wypracować kilka modeli postępowania profilaktycznego ograniczającego do minimum możliwość wystąpienia choroby. Na szczególną uwagę zasługuje:

- stała dezynfekcja sprzętu rybackiego oraz środków transportu,
- dezynfekcja zapłodnionej ikry – szczególnie zalecane są kąpiele w preparatach jodoforowych (powyżej 100 ppm aktywnego jodu) przez minimum 10 min,
- inkubacja ikry w obiektach odizolowanych od hodowli tuczowej oraz zbiorników wodnych, w których mogą występować nosiciele,
- podchów wylęgu w temperaturze powyżej 15°C,
- szczególna kontrola stanu kondycyjnego tarlaków,
- stosowanie immunoprofilaktyki nieswoistej przeciw-wirusowej u tarlaków w okresie przed i potartowym.

Wpływ preparatu Bioimmuno II na nieswoiste komórkowe i humoralne mechanizmy obronne u tarlaków pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*)

W IRS Olsztyn opracowano i podjęto badania doświadczalne nad skutecznością preparatu o nazwie Bioimmuno II, który zawiera w swoim składzie naturalne i syntetyczne immunostymulatory, a nośnikiem tych związków są drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. Badania wstępne wykazały, że składniki preparatu stymulują odporność przeciwwirusową i hamują replikację wirusa IHN (LaPatra i in. 1998, Siwicki i in. 2000a, Siwicki i in. 2000b, Siwicki i in. 2002, Siwicki i in. 2008).

Celem badań było określenie wpływu preparatu Bioimmuno II podawanego w paszy na komórkowe i humoralne mechanizmy obronne u tarlaków pstrąga tęczowego.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 20 samicach oraz 20 samcach pstrąga tęczowego, które na podstawie badań klinicznych nie wykazywały zmian wskazujących na toczący się proces chorobowy. Tarlakom grupy doświadczalnej obejmującej 10 sztuk samic oraz 10 sztuk samców podawano Bioimmuno II (IRS Olsztyn) w paszy przez 14 dni w dawce 1 kg na 100 kg paszy. Karmienie rozpoczęto 30 dni przed przewidywanym okresem tarła. Ryby grupy kontrolnej otrzymywały paszę bez dodatku Bioimmuno II.

Do badań immunologicznych pobrano krew jałowo z żyły ogonowej, igłą do strzykawki z heparyną o objętości 5 ml, od ryb grupy kontrolnej i grupy doświadczalnej po wstępnym wprowadzeniu ryb w stan znieczulenia ogólnego preparatem Propiscin (IRS Olsztyn). Krew rozdzielano na dwie próbki, które przetrzymywano w temperaturze 4°C. Z pełnej krwi pierwszej próbki izolowano leukocyty po wirowaniu komórek w gradiencie Gradisolu (Polfa, Polska). Określano aktywność metaboliczną (RBA) oraz bójczą (PKA) fagocytów przy użyciu metody opisanej przez Siwickiego i in. (2008). Równocześnie określano poziom odpowiedzi proliferacyjnej limfocytów na mitogeny ConA (Sigma) i LPS (Sigma) metodą spektrofotometryczną (Siwicki i in. 2008). Z pełnej świeżej krwi z drugiej próbki przygotowywano preparaty do oznaczenia mieloperoksydazy w neutrofilach, a następnie po odwirowaniu krwi, w surowicy oznaczano aktywność lizozymu (LSM) oraz całkowity poziom immunoglobulin (Ig). Aktywność mieloperoksydazy (MPO) oznaczano metodą opisaną przez Siwickiego i in. (1993a). Aktywność lizozymu w surowicy oznaczano metodą turbidymetryczną opisaną przez Siwickiego i Andersona (1993b). Poziom Ig oznaczano metodą spektrofotometryczną przy użyciu glikolu etylenowego 10 000 (Sigma) opisaną przez Siwickiego i Andersona (1993b). Poziom interferonu (IFN) oznaczano metodą ELISA wg procedury opisanej przez producenta (R and D System, Inc, USA).

Uzyskane wyniki badań poddano analizie statystycznej określając wartości średnie oraz odchylenie standardowe (SD). Wykorzystano program Statistica for Windows 7.1 (Stat-Soft, Inc 2004). Zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (ANOVA). Istotność różnic określano na poziomie $P < 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wpływ preparatu Bioimmuno II, podawanego przez 14 dni w paszy samcom i samicom pstrąga tęczowego na 30 dni przed tarłem, na komórkowe i humoralne mechanizmy obronne przedstawiono w tabeli 1.

Bioimmuno II podawany *per os* przed tarłem statystycznie istotnie zwiększa aktywność metaboliczną i bójczą fagocytów krwi oraz odpowiedź proliferacyjną limfocytów stymulowanych mitogenami zarówno u samic, jak i u sam-

ców. Równocześnie stwierdzono statystycznie istotny wzrost aktywności mieloperoksydazy i lizozymu oraz poziom Ig i interferonu u samic i samców pstrąga tęczowego w porównaniu z rybami, które nie otrzymywały w karmie Bioimmuno II. Uzyskane wyniki badań jednoznacznie wykazały, że Bioimmuno II podawany w paszy przed tarłem stymuluje komórkowe i humoralne mechanizmy obronne u samic i samców.

TABELA 1

Wpływ preparatu Bioimmuno II na nieswoiste komórkowe i humoralne mechanizmy obronne u samców i samic pstrąga tęczowego podawanego w paszy przez 14 dni przed okresem tarła (średnie wartości SD; n =10; *istotność różnic P<0,05)

Parametry immunologiczne	Grupa kontrolna		Bioimmuno II	
	samice	samce	samice	samce
Aktywność metaboliczna (RBA) fagocytów krwi (OD 620 nm)	0,32 ±0,03	0,30 ±0,02	0,43±0,03*	0,39±0,03*
Aktywność bójcza (PKA) fagocytów krwi (OD 620 nm)	0,30±0,02	0,28±0,03	0,39±0,02*	0,37±0,03*
Aktywność proliferacyjna limfocytów krwi stymulowanych ConA (OD 620 nm)	0,40±0,03	0,38±0,02	0,48±0,04*	0,45±0,02*
Aktywność proliferacyjna limfocytów krwi stymulowanych LPS (OD 620 nm)	0,29±0,02	0,27±0,02	0,39±0,03*	0,37±0,03*
Aktywność MPO (całkowita)	76 ± 12	74 ± 10	91 ± 11*	90 ± 10*
Aktywność LSM (mgL)	26,5±1,2	27,5±0,9	39,5±1,5*	37,0±1,5*
Poziom Ig (g/L)	10,5±0,8	12,0±1,0	18,5±1,5*	19,0±1,2*
Poziom IFN (pg/ml)	15±0,6	13,0±1,0	35,0±1,0*	32,0±1,5*

Wcześniejsze badania prowadzone zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo* jednoznacznie wykazały, że wirus IHN ma silne działanie supresyjne na komórki immunokompetentne odpowiedzialne za prawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego ryb (Siwicki i in. 2008, Siwicki i Terech-Majewska 2011).

W związku z powyższym, jednym z podstawowych działań profilaktycznych powinno być stosowanie immunostymulatorów naturalnych czy syntetycznych w podchowach pstrąga tęczowego, które powodują aktywację nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych. Tego typu działania, określane jako immunoprofilaktyka nieswoista, mają na celu stymulowanie odporności przeciwwirusowej nie tylko u narybku, ale szczególnie u tarlaków, co gwarantuje, że uzyskane od nich potomstwo będzie w stanie zwalczyć wirus IHN dzięki indukcji interferonu, głównego czynnika obrony przed tym wirusem (Siwicki i in. 2000b, Siwicki i in. 2008). Wstępne badania doświadczalne wykazały, że preparat Bioimmuno II stymuluje aktywność fagocytów i limfocytów, bardzo istotnych elementów odporności przeciwwirusowej tarlaków. Równocześnie wzrost poziomu mieloperoksydazy i interferonu, najistotniejszego parametru odporności przeciwwirusowej

sugeruje, że Bioimmuno II podawany tarlakom może poprawić potencjał odporności przeciwwirusowej i ograniczyć nosicielstwo wirusa IHN. Badania w tym zakresie będą kontynuowane.

W związku z powyższym, jednym z podstawowych działań profilaktycznych powinno być stosowanie immunostymulatorów naturalnych czy syntetycznych w podchowach pstrąga tęczowego, które powodują aktywację nieswoistych komórkowych i humoralnych mechanizmów obronnych. Taki efekt wykazują preparaty naturalne zawierające glukany, Macrogard (Tromso, Norway), Bioimmuno (IRS, Olsztyn) (La Patra i in. 1998, Siwicki i Terech-Majewska 2011). Wstępne badania doświadczalne wykazały, że preparat Bioimmuno (IRS) produkowany dla potrzeb praktyki rybackiej jest wysoce przydatny w stymulowaniu odporności przeciwwirusowej u ryb (Siwicki i in. 2008). Oprócz metod immunomodulacji do podniesienia potencjału odporności populacji ryb konieczna jest stała praca selekcyjna i dążenie do uzyskania materiału o najwyższej jakości biologicznej. Jest wysoce prawdopodobne, że rozszerzenie zakresu monitoringu o markery odporności u ryb selekcyjnowanych na tarlaki, stałe stosowanie immunoprofilaktyki nieswoistej oraz szybkiej diagnostyki, także poza programem uwalniania i zwalczania może pozwolić na ochronę hodowli ryb i ograniczenie ryzyka.

Literatura

- Adomako M., St-Hilaire S., Zheng Y., Eley J., Marcum R.D., Sealey W., Donahower B.C., LaPatra S., Sheridan P.P. 2012 – Oral DNA vaccination of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against infectious hematopoietic necrosis virus using PLGA [Poly(D,L-Lactic-Co-Glycolic Acid)] nanoparticles – J. Fish Dis. 35: 203-212.
- Ammayappan A., LaPatra S.E., Vakharia V.N. 2010 – Molecular characterization of the virulent infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) strain 220-90 – Virol. J.: 7-10.
- Ahne W. Kurstak E. 1989 – Viruses of Lower Vertebrates – Springer-Verlag New York: 411-441.
- Essbauer S., Ahne W. 2001 – Viruses of lower vertebrates – J. Vet. Med. 48: 403-475.
- Guz L. 2010 – Zakaźna martwica układu krwiotwórczego ryb łososiowatych (Infectious Hematopoietic Necrosis) – W: Choroby Ryb Podlegające Obowiązkowi Zwalczenia oraz inne choroby zagrażające hodowli – diagnostyka, profilaktyka, terapia (red.) Szweđa W., Siwicki A.K., Terech-Majewska E., Wyd. IRS, Olsztyn: 55 – 70.
- LaPatra S.E., Lauda K.A., Jones G.R., Shewmaker W.S., Bayne C.J. 1998 – Resistance to IHN virus infection in rainbow trout is increased by glucan while subsequent production of serum neutralizing activity is decreased – Fish Shellfish Immunol. 8: 435-446.
- Matras M. 2011 – Obecny stan wiedzy i analiza rozprzestrzenienia się wirusowych chorób ryb – Zakaźne choroby ryb, wybrane zagadnienia, Wyd. PiWet. Puławy: 7-22.
- Matras M., Stachnik M., Borzym E., Maj J. 2012 – IHN – występowanie, patogeneza i diagnostyka – XXXVII Krajowa Konferencja – W: Mat. Szkolenie dla Hodowców Ryb Łososiowatych, Rumia 10-12 października 2012 : 134- 141.
- OIE, Światowa Organizacja Zdrowia Zwierząt 2011 – Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. Diseases of fish. Infectious hematopoietic necrosis.
- Roberts R.J. 1978 – Fish Pathology – Bailliere Tindall London : 115-143.
- Siwicki A.K. 2000 – Application of RNase protection assays for rapid assessment of genetic variation of IHNV in fish. Biologia molekularna w diagnostyce chorób zakaźnych i biotechnologii, SGGW Warszawa: 85-86.
- Siwicki A.K., Anderson D.P., Antychowicz J. 1993a – Nonspecific defence mechanisms assay in fish I. Phagocytic index, adherence and phago-

- cytic ability of neutrophils (NBT test) and myeloperoxidase activity test – Fish Disease Diagnosis and Preventions Methods. Wyd. IRS, Olsztyn: 95-103.
- Siwicki A.K., Anderson D.P. 1993b – Nonspecific defence mechanisms assay in fish II. Potential killing activity of neutrophils and monocytes, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin (Ig) level in serum – Fish Disease Diagnosis and Preventions Methods. Wyd. IRS, Olsztyn: 105-111.
- Siwicki A.K., Małaczewska J., Kazuń B., Wójcik R. 2008 – Immunomodulating effect of methisoprinol on the pronephros macrophages and lymphocytes activity after suppression induced by infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) – Acta Vet. Brno 77: 631-635.
- Siwicki A.K., Morand M., Klein P. 2000a – Badania porównawcze nad wpływem dimeru lizozymu (KLP-602) na produkcję interferonu i TNF przez fibroblasty zakażone wirusem IHN, VHS, SVC oraz Iridowirusem ryb – Mikrobiologia na Przełomie Wieków. Wyd. UWM, Olsztyn: 135-136.
- Siwicki A.K., Morand M., Terech-Majewska E., Pozet F. 2000b – Influence of IHNV on cell-mediated immunity and interleukin-like protein production in fish. Infectious Immunity and Vaccines – EFIS 2000: 38.
- Siwicki A.K., Pozet F., Morand M., Kazuń B., Trapkowska S. 2002 – In vitro effect of methisoprinol on salmonid rhabdoviruses replication – Bull. Vet. Inst. Pulawy 46: 53-58.
- Siwicki A.K., Terech-Majewska E. 2011 – Zakaźna martwica układu krwiotwórczego ryb łososiowatych (IHN): aktualny stan wiedzy oraz wpływ wirusa IHN na układ odpornościowy – Komun. Ryb. 6: 8-11.
- Szweda W., Siwicki A.K., Terech-Majewska E. 2010 – Choroby ryb podlegające obowiązkowi zwalczania oraz inne choroby zagrażające hodowli – diagnostyka, profilaktyka, terapia – Wyd. IRS, Olsztyn, 5-241.
- Terech-Majewska E., Siwicki A.K., Kazuń K., Głąbski E. 2000 – Izolacja i identyfikacja wirusa zakaźnej martwicy układu krwiotwórczego (IHN) u pstrąga tęczowego w Polsce – Annales UMCS, DD, 390.
- Williams K., Blake S., Sweeney A., Singer JT., Nicholson BL. 1999 – Multiplex reverse transcriptase PCR assay for simultaneous detection of three fish viruses – J. Clin. Microbiol. 37: 4139-4141.

Przyjęto po recenzji 03.12.2012 r.

INFECTIOUS HEMATOPOIETIC NECROSIS (IHN) IN RAINBOW TROUT – DIAGNOSIS AND IMMUNOPROPHYLAXIS

Andrzej K. Siwicki, Elżbieta Terech-Majewska, Agnieszka Lepa, Joanna Grudniewska

ABSTRACT. In the past few years there has been an increase in Poland of IHN virus isolation on rainbow trout farms. Diagnostic studies using biological, immunoassay (ELISA), and molecular (PCR) methods have been performed systematically. Simultaneous intensive study has also demonstrated that the IHN virus has an immunosuppressive effect that causes decreased macrophage and lymphocyte activity in rainbow trout. One method to limit losses caused by the IHN virus is to stimulate the innate antiviral immune response in spawners. The aim of the study was to determine the impact of a new immunostimulator, Bioimmuno II (IRS Olsztyn), which was administered with the feed for 14 days, on the innate cellular and humoral defense mechanisms of rainbow trout spawners. The experiment was performed on 20 female and 20 male rainbow trout. Immunoassays indicated that Bioimmuno II stimulates the innate cellular and humoral mechanisms in females and males. The increased activity of the macrophages and lymphocytes is particularly important, while increased levels of interferon is a very significant element of innate antiviral immunity. The results obtained suggest that Bioimmuno II can be useful in activating the innate antiviral immunity to IHN in rainbow trout spawners.

Keywords: rainbow trout, IHN, immunoprophylaxis, Bioimmuno II