

MARIA PROST
Lublin

Nowe dane na temat szczepienia ryb przeciw chorobom bakteryjnym i wirusowym

Stosowane dotychczas metody zapobiegania chorobom ryb polegają na: 1) zabiegach mających na celu likwidację czynnika chorobowego w środowisku t.j. osuszaniu i dezynfekcji stawów, 2) zabiegach stwarzających maksymalnie korzystne warunki środowiskowe dla ryb jak umiejętne nawożenie, uprawa, koszenie niepożądanego rośliności, stworzenie odpowiednich warunków tlenowych, odczynu i temperatury wody, 3) kontroli lekarskiej obsad, a zwłaszcza tych, którymi mają być zarybione nowe ośrodki hodowlane, 4) stosowaniu profilaktycznym niektórych środków chemicznych jak: sulfamidów, antybiotyków, preparatów furanowych, fosforoorganicznych i innych.

Dzięki osiągnięciom uzyskanym w ostatnich latach do powyższych metod dojdzie przypuszczalnie w bliskiej przyszłości jeszcze jedna, a mianowicie immunoprofilaktyka. Badania na ten temat były poprzedzone wieloma doświadczeniami i obserwacjami dotyczącymi obrony komórkowej i humoralnej u ryb. Wyniki tych badań wykazały, że procesy obronne tych zwierząt są w zasadzie podobne do odbywających się u wyższych kręgowców. Proces fagocytozy związany jest u ryb (podobnie jak u wyższych kręgowców) z czynnikiem obronnym zwanym komplem. Produkcja przeciwciał pod wpływem stymulacji antygenowej odbywa się u ryb (podobnie jak u wyższych kręgowców) w komórkach plazmatycznych śledziony, nerek, czasem wątroby oraz w komórkach limfoidalnych.

Odpowiedź immunologiczna jest jednak u ryb w dużym stopniu uzależniona od warunków środowiskowych, co jest zrozumiałe ze względu na dużą zmienność metabolizmu, a więc i dynamiki immunogennej tych zmienneociepnych zwierząt. Dlatego też synteza przeciwciał odbywa się w różnych temperaturach środowiska wodnego u różnych gatunków ryb. I tak np. w temperaturze 5°C odbywa się ona u pstrąga, podczas gdy brak jej u karpia. Związane jest to z różnym u tych ryb optimum temperatury, w którym ich procesy metaboliczne są najbardziej intensywne. Pstrągi wymagają niskiej temperatury (optimum 14—15°C), podczas gdy karpie wysokiej (optimum 25—27°C). W temperaturze 5°C aktywność metaboliczna pstrągów jest jeszcze dość znaczna, podczas gdy u karpia tak znikomą, że wchodzi one w stan hibernacji.

Drugą, istotną różnicą dotyczącą procesu obrony humoralnej jest to, że po podaniu antygeny okres pojawiania się przeciwciał jest znacznie dłuższy u ryb niż u kręgowców wyższych i trwa co najmniej kilka tygodni.

Badania nad szczepieniem ryb dotyczyły dotychczas pięciu chorób bakteryjnych, a mianowicie: wrzodzienicy, wibriozy, choroby „red mouth”, korynebakteriozy nerek i myksobakteriozy zwanej chorobą kolumnaris, oraz trzech chorób wirusowych: zakaźnej martwicy układu krwiotwórczego łososiowatych (IHN), posocznicy wirusowej łososiowatych (VHS) oraz zakaźnej martwicy trzustki łososiowatych (IPN).

Wrzodzienica

Jest to choroba ryb łososiowatych, spośród których najbardziej wrażliwy jest pstrąg źródłany. Wywołana jest przez pałeczki *Aeromonas salmonicida*. Występuje w warunkach hodowlanych. Powodując zmiany zapalne i martwicze skóry, mięśni i narządów wewnętrznych jest przyczyną dużych strat w hodowli.

Pierwsze badania nad wakcynacją ryb rozpoczęto właśnie od tej choroby. Przeprowadzono je jeszcze w 1942 r. (10). Rybom (*Salmo clarki*) podano w karmie szczepionkę sporządzoną z bakterii *Aeromonas salmonicida* inaktywowanych chloroformem. Ryby poddane tej wakcynacji ginęły w 25%, podczas gdy nie poddane w 75%. W latach następnych powszechne i skuteczne stosowanie lecznicze antybiotyków i sulfamidów przeciw wrzodzienicy spowodowało zanik zainteresowania szczepieniami ryb. W latach 60-tych następuje jednak nawrót do tego rodzaju metody profilaktycznej ze względu na pojawienie się oporności u szczepów bakteryjnych po wielokrotnym stosowaniu sulfamidów i antybiotyków. W roku 1964 zastosowano (18) szczepionkę z zabitych formołem *A. salmonicida* podaną z adjuwantem lub bez niego. Najwyższe miano przeciwciał oraz pomyślne rezultaty szczepienia uzyskano po zastosowaniu szczepionki z adjuwantem oraz podanej parenteralnie. Doustne podanie szczepionki dało rezultaty raczej negatywne (18, 22). W 1970 r. (17) sporządzono nową, doustną szczepionkę z *Aeromonas salmonicida* inaktywowanych ultradźwiękami i precypitynowanych alunem lub też zabitych w wysokiej temperaturze. Wyniki tych badań były tak pozytywne, że zlecono jednemu z zakładów farmaceutycznych produkcję tej szczepionki. Jednakże użycie jej w praktyce okazało się zawodne, gdyż nie w każdym przypadku u ryb poddanych szczepieniu wystąpiła odporność. Szczepionkę wycofano z produkcji. Nie zaniechano jednak dalszych prac na temat immunizacji ryb przeciw wrzodzienicy. W badaniach późniejszych (20, 21) okazało się, że szczepionka sporządzona z bakterii zabitych i z adjuwantem lub

z oczyszczonej endotoksyny *A. salmonicida* podana w iniekcji wywołuje całkowitą odporność u ryb łososiowatych z rodzaju *Coho*. Sprawa szczepień ryb przeciw wrzodzienicy nie weszła wprawdzie w stadium praktycznego ich zastosowania, jednakże istnieją podstawy do twierdzenia, że jest to możliwe w niedalekiej przyszłości.

Wibrioza

Jest to choroba wywołana przez przecinkowca *Vibrio anguillarum* występująca głównie u węgorzy, ale również i u innych gatunków ryb. Pojawia się tylko u ryb przebywających w wodach słonawych. U chorych ryb występują stany zapalne i martwica skóry, płetw, skrzel, gałek ocznych oraz narządów wewnętrznych. Choroba ta jest problemem gospodarczym u ryb hodowanych systemem klatkowym. W Kanadzie i USA notowano 100%-owe straty u ryb łososiowatych hodowanych w ten sposób.

Pierwsze badania nad szczepieniem ryb przeciw wibriozie pochodzą z 1964 r. (16). Wykonana u pstrągów tęczowych immunizacja zwłaszcza po podaniu szczepionki w iniekcji okazała się skuteczna. Potwierdziły to dalsze badania z 1973 r. (13). Iniekcje zabitych przecinkowców podanych z adjuwantem wywołują wysokie miana przeciwciał w surowicy ryb, podczas gdy immunizacja doustna wywołuje jedynie pojawienie się przeciwciał w błonie śluzowej jelita. Inne badania wykonane w USA nad doustnym szczepieniem wykazały, że rezultaty pozytywne można otrzymać tylko w danym rejonie geograficznym. W innych rejonach USA nie uzyskano dobrych wyników szczepienia. Świadczy to o odrębności antygenowej szczepów bakteryjnych.

Podanie w iniekcji dootrzewnowej szczepionki sporządzonej z bakterii zabitych w temperaturze 100°C (4) lub bakterii żywych, niepatogenicznych (5) dało znacznie lepsze rezultaty.

Nową metodą szczepienia jest stosowanie kąpieli ryb w zawiesinie szczepionki. Kąpiel taka winna być poprzedzona „szokiem osmotycznym” ryb przez krótkie, 2-minutowe zanurzenie ich w hipertonicznym roztworze soli. Wzmaga to wchłanianie szczepionki w skrzelach. Inną metodą próbowaną w 1976 r. (15) jest podawanie szczepionki przez waporyzację ryb wyjętych z wody. Rezultaty szczepienia przy tego rodzaju metodzie nie są jeszcze wiadome.

Obecnie są produkowane w USA dwie szczepionki z zabitych bakterii *Vibrio anguillarum*. Produkcja trzeciej jest w przygotowaniu (9). Wakcynacja ryb przeciw wibriozie weszła więc już w stadium praktycznego stosowania.

Choroba „red mouth”

Jest to choroba pstrągów wywołana przez bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* nieokreś-

lonego gatunku. U chorych ryb dochodzi do silnego stanu zapalnego błony śluzowej jamy gębowej i skóry dookoła otworu gębowego. Choroba ta jest stwierdzana w USA. Doświadczalnie stosowano szczepienie pstrągów tęczowych przy pomocy zabitych formołem bakterii, przy czym stosowano ją doustnie, dootrzewnowo i w kąpieli. Najbardziej skuteczna okazała się szczepionka podana w iniekcji (3), gdyż stwierdza się obecność przeciwciał w surowicy krwi ryb i odporność trwającą dłuższy czas, podczas gdy po szczepieniu doustnym i w kąpieli odporność trwa bardzo krótko.

Korynebakterioza nerek

Maczugowce z rodzaju *Corynebacterium* wywołują u ryb łososiowatych chorobę nerek i ogólny stan posocznicy. Wakcynację ryb (*Oncorhynchus nerka*) wykonano przy pomocy maczugowców zabitych w wysokiej temperaturze (11). Stwierdzono obecność przeciwciał w surowicy tych ryb. Próby szczepienia przy pomocy kąpieli, nawet po zastosowaniu szoku osmotycznego, nie wywoływały dostatecznej odporności u ryb (12).

Choroba kolumnaris

Jest to choroba występująca u wielu gatunków ryb wywołana przez bakterię *Flexibacter columnaris*. U chorych ryb pojawiają się martwicze ubytki skóry, płetw i skrzel. Śmiertelność ryb jest znaczna.

Próby szczepień ryb łososiowatych przy pomocy szczepionki doustnej sporządzonej z bakterii zabitych w wysokiej temperaturze wykazały, że ryby te uzyskiwały odporność; pojawiała się ona jednak dopiero po kilku miesiącach (14).

Zakaźna martwica układu krwiotwórczego łososiowatych (IHN)

Jest to choroba wirusowa ryb łososiowatych. Wirus atakuje przede wszystkim narządy krwiotwórcze ryb, a mianowicie część przednią nerki i śledzionę. U chorych ryb obserwuje się pociemnienie skóry, błądź błon śluzowych i skrzel oraz wysięki zapalne. Infekcja tego wirusa wywołuje u pstrągów produkcję interferonu (6) oraz przeciwciał neutralizujących (2).

W 1976 r. wykonano szczepienia pstrągów przez podanie żywych wirusów o osłabionej wirulencji przez 34—41 pasaży w hodowli komórkowej. U ryb poddanych szczepieniu śmiertelność wynosiła 0—4 na 20 sztuk w grupie, podczas gdy u nieszczepionych 18—20. Ponieważ istnieje możliwość powrotu do stanu wirulencji u wirusów inaktywowanych przez pasażowanie — wykonano próby inaktywacji wirusa IHN beta propiolaktonem (1). Szczepionkę stosowano w kąpieli po podaniu ryb uprzednio szokowi

osmotycznemu. Wyniki tych szczepień nie były zadowalające. Prace nad szczepieniem ryb przeciw wirusowi IHN nadal są prowadzone.

Posocznica wirusowa łososiowatych (VHS)

Jest to choroba pstrągów tęczowych wywołana przez wirus Egtved z grupy *Rhabdovirus*. U chorych ryb występują silne stany zapalne w różnych narządach, tkankach oraz objawy świadczące o procesie chorobowym w układzie nerwowym. Śmiertelność pstrągów w hodowli jest duża.

Badania wykonane w latach siedemdziesiątych (7, 8, 23) wykazały, że u pstrągów można wywołać procesy obronne przy infekcji tym wirusem. Dlatego wykonano pierwsze próby szczepień inaktywowanym wirusem i uzyskano odporność u pstrągów doświadczalnych. Prace te nie są jeszcze opublikowane i dalsze badania są w toku.

Zakaźna martwica trzustki ryb łososiowatych (IPN)

Jest to choroba pstrągów źródłanych wywołana przez wirus z grupy *Reoviridae*. Choroba ta występuje głównie u młodych 8–10-tygodniowych ryb. W tym przypadku szczepienie musiałoby dotyczyć narybku bardzo małego, zaopatrzonego jeszcze w pęcherzyk żółtkowy. Pomimo dużych trudności próby takie wykonano podając w iniekcji narybkowi 4-tygodniowemu wirusy inaktywowane formolem. U ryb tych choroba nie wystąpiła, w przeciwieństwie do ryb kontrolnych (9). Ten sposób szczepienia jest jednak w praktyce niemożliwy do masowego stosowania. Próby szczepienia przy pomocy kąpieli nie powiodły się. Mimo tych trudności badania nad opracowaniem szczepionki przeciw IPN są nadal prowadzone.

Oceniając ogólnie stan badań nad immunoprofilaktyką ryb należy podkreślić, że jedynie prze-

ciw wibriozie prace weszły już w stadium wykonawcze i są stosowane w praktyce. Mimo bardzo dużych trudności szereg pracowni (głównie w USA i we Francji) zajmuje się nadal tym zagadnieniem. Zasadniczą trudność stanowi uzyskanie szczepionki, która mogłaby być stosowana doustnie lub w kąpieli. Pokonanie istniejących trudności miałoby ogromne znaczenie dla hodowli ryb zwłaszcza w warunkach nowoczesnej hodowli, w której w zupełnie sztucznych warunkach i przy intensywnym karmieniu odbywa się masowa produkcja ryby handlowej.

Piśmiennictwo

1. Amend D. F.: J. Fish. Res. Board Can. 33, 1059, 1976.
2. Amend D. F., Smith C.: J. Fish. Res. Board Can. 31, 1371, 1974.
3. Anderson D. P., Nelson J. R.: J. Fish. Res. Board Can. 31, 214, 1974.
4. Antipa R.: J. Fish. Res. Board Can. 33, 1291, 1976.
5. Bratten B. A., Hodgins H. O.: J. Fish. Res. Board Can. 33, 845, 1976.
6. De Kinkelin P., Le Berre M.: C. R. Acad. Sci. Paris, 279, 445, 1974.
7. De Kinkelin P., Dorson M.: J. Gen. Virol. 19, 125, 1973.
8. De Kinkelin P., Gerard J. P., Dorson M., Le Berre M.: Fish. Health News, 1976 (w druku).
9. Dorson M.: Riv. It. Piscic. Ittiop., A. XII, 2, 43, 1977.
10. Duff D. C. B.: J. Immunol. 44, 87, 1942.
11. Evelyn T.: J. Wildl. Dis. 7, 328, 1971.
12. Evelyn T.: Seattle, April 4–6, 1977.
13. Fletcher T. C., White A.: Aquaculture 1, 417, 1973.
14. Fujiwara M. P., Nakatani R. E.: J. Fish. Res. Board Can. 28, 1253, 1971.
15. Gould R. W.: M. S. Thesis, Oregon State University, Corvallis, 1976.
16. Hayashi K., Kobayashi S., Kamata T., Ozaki H.: J. Fac. Fish Pref. Univ. Mie, 181–191, 1964.
17. Klontz G. W., Anderson D. P.: Am. Fish. Soc. Wash., D. C., 1970.
18. Krantz G. E., Reddecliff J. M., Heist G. E.: Progr. Fish. Cult. 20, 3, 1964.
19. Krantz G. E., Reddecliff J. M., Heist G. E.: Progr. Fish. Cult. 62, 65, 1964.
20. Paterson W. D., Fryer J. L.: J. Fish. Res. Board Can. 31, 1743, 1974.
21. Paterson W. D., Fryer J. L.: J. Fish. Res. Board Can. 31, 1751, 1974.
22. Spence K. D., Fryer J. L., Pilcher K. S.: Can. J. Microbiol. 11, 397, 1965.
23. Vestergaard-Jorgensen P. E.: J. Fish. Res. Board Can. 28, 875, 1971.

Adres autora: prof. dr Maria Prost, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin.

RIMLER R. B., DAVIS R. B., PAGE R. K.: Zakaźna koryza: badania nad odpornością krzyżową z użyciem siedmiu szczepów *Haemophilus gallinarum*. (Infectious coryza: cross-protection studies using seven strains of *Haemophilus gallinarum*). Amer. J. vet. Res. 38, 1587–1589, 1977 (10).

W badaniach nad odpornością krzyżową uodporniano 16 tygodniowe kurczęta rasy Leghorn bakteriami sporządzonymi z 7 szczepów *Haemophilus gallinarum* (serotypy A, B i C). Bakteryjna zawierała 3 części hodowli bulionowej bakterii i 1 część wodorotlenku glinu. Jako środek inaktywujący i konserwujący dodawano tiomersal (0,01%). Ptaki szczepiono podskórnie, dwukrotnie w wieku 16 i 19 tygodni życia. W 22 tygodniu wykonano challenge jednym z siedmiu szczepów *H. gallinarum* stosowanym do produkcji bakteryny. Po 3 tygodniowej obserwacji 50% kurcząt poddawano ubojowi i badano sekcjami. W badaniach stwierdzono występowanie trzech immunotypów *H. gallinarum*. Kurczęta szczepione szczepami immunotypu II były wrażliwe na zakażenie szczepami należącymi do immunotypu I. U szczepionych ptaków po zakażeniu typami heterologicznymi nie występowały zapalenia worków powietrznych.

OLSON L. D., RODABAUGH D. E.: Ipronidazol, ronidazol i dimetridazol stosowany jako dodatek do karmy w leczeniu i zapobieganiu dyzenterii świń po wielokrotnej ekspozycji i zakażeniach naturalnych *Salmonella choleraesuis*. (Ipronidazole, ronidazole and dimetridazole in feed for treatment and prevention of swine dysentery in swine after multiple exposure and swine spontaneously infected with *Salmonella choleraesuis*). Amer. J. vet. Res. 38, 1461–1469, 1977 (10).

Ipronidazol i dimetridazol stosowane jako dodatek do paszy w ilości 0,011% działały leczniczo w przypadku dyzenterii świń. Leki te zapobiegały występowaniu biegunki oraz skracaly czas trwania biegunki u prosiąt zakażonych doświadczalnie, kilkakrotnie, *Salmonella choleraesuis*. Po stosowaniu paszy z ipronidazolem nie obserwowano nawrotów choroby. Okres między zakażeniem i odstawieniem karmy z lekiem wynosił od 1 do 14 dni. Stałe podawanie paszy zawierającej ronidazol w stężeniu 0,003; 0,006 lub 0,009% lub dimetridazol w stężeniu 0,012% zapobiegało występowaniu klinicznych objawów dyzenterii u prosiąt zakażonych doświadczalnie, kilkakrotnie *S. choleraesuis*. Dyzenterya występowała jednakże po 34 dniach w jednej grupie prosiąt, które otrzymywały karmę z ronidazolem w ilości 0,006% przez okres tygodnia po zakażeniu.

G

G