

XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH

**16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024
GDYNIA**



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Metody diagnostyczne w ocenie stanu zdrowia ryb - możliwości i wyzwania

Karolina Duk

Weterynaryjne Laboratorium Diagnostyczne

ALAB Plus – ALAB *bioscience*



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



DIAGNOSTYKA

to proces ustalania przyczyny
(czynnika etiologicznego)
lub charakteru choroby
poprzez analizę objawów
klinicznych oraz przeprowadzanie
specjalistycznych testów
diagnostycznych



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa

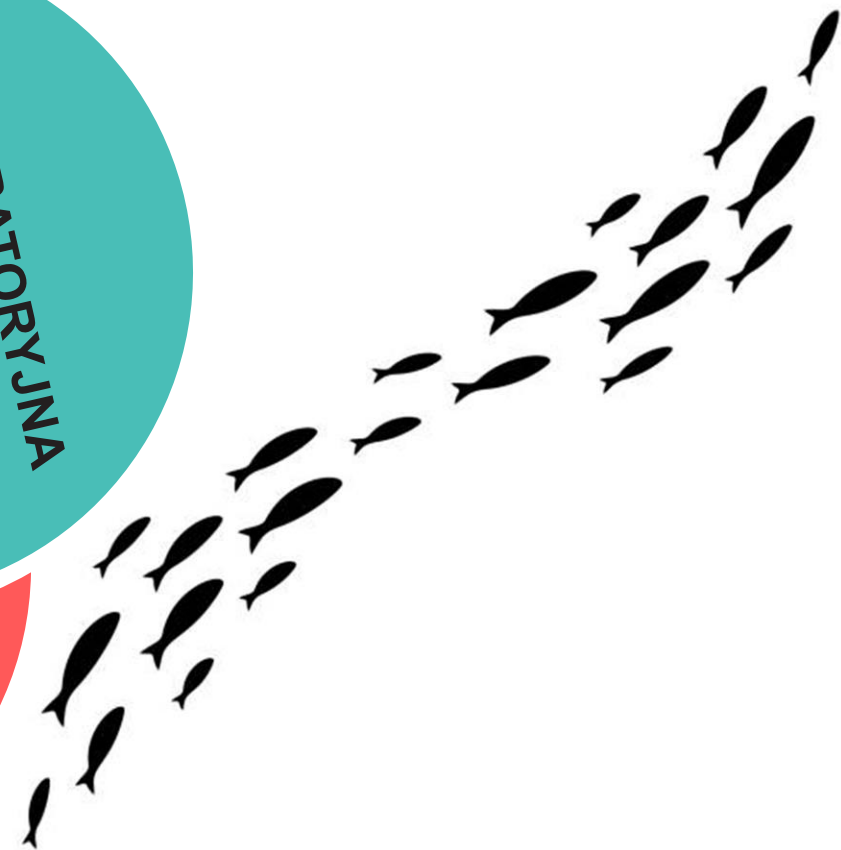
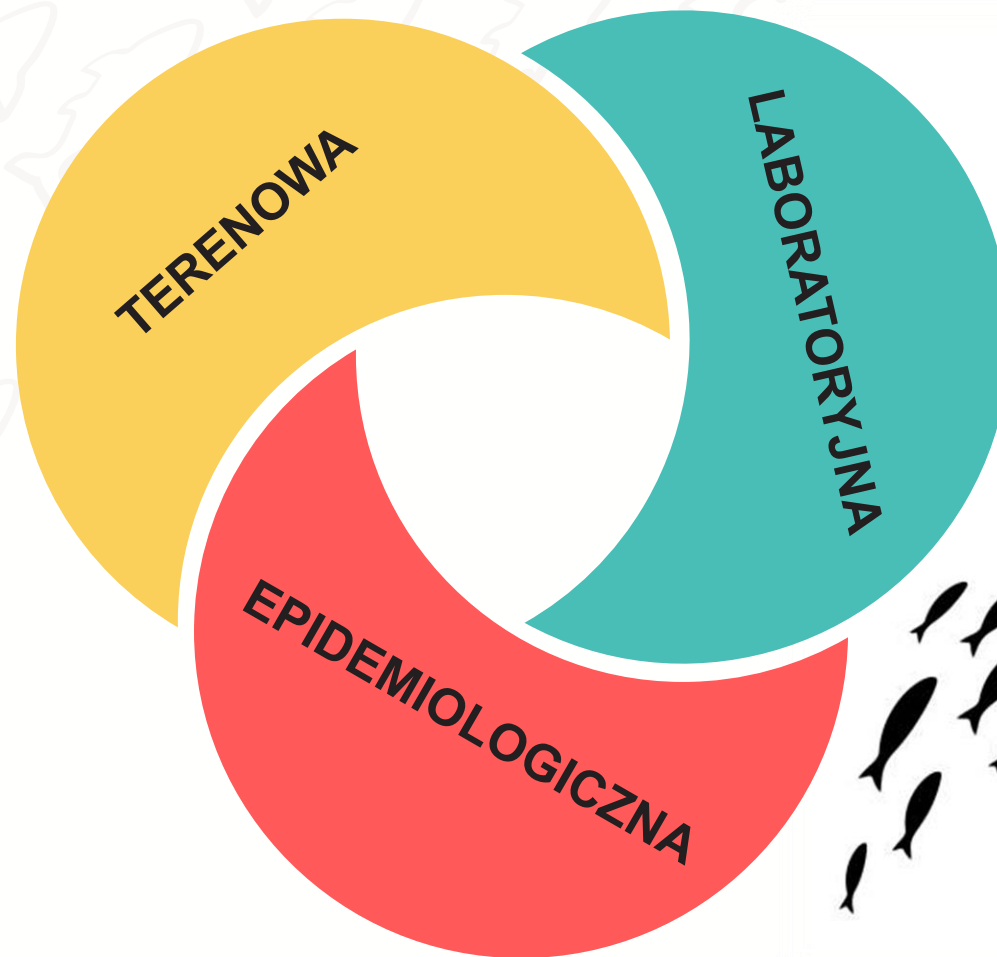


Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



POZIOMY DIAGNOSTYKI



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



CELE METOD DIAGNOSTYCZNYCH



- **Diagnostyczne/interwencyjne** - badanie zwierząt z widocznymi objawami choroby
- **Przesiewowe/profilaktyczne** – badanie zwierząt domniemanie zdrowych
- **Potwierdzające** - stosuje się je w celu potwierdzenia (lub odrzucenia) wyniku wątpliwego, diagnozy domniemanej lub poprzedniego pozytywnego testu.



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



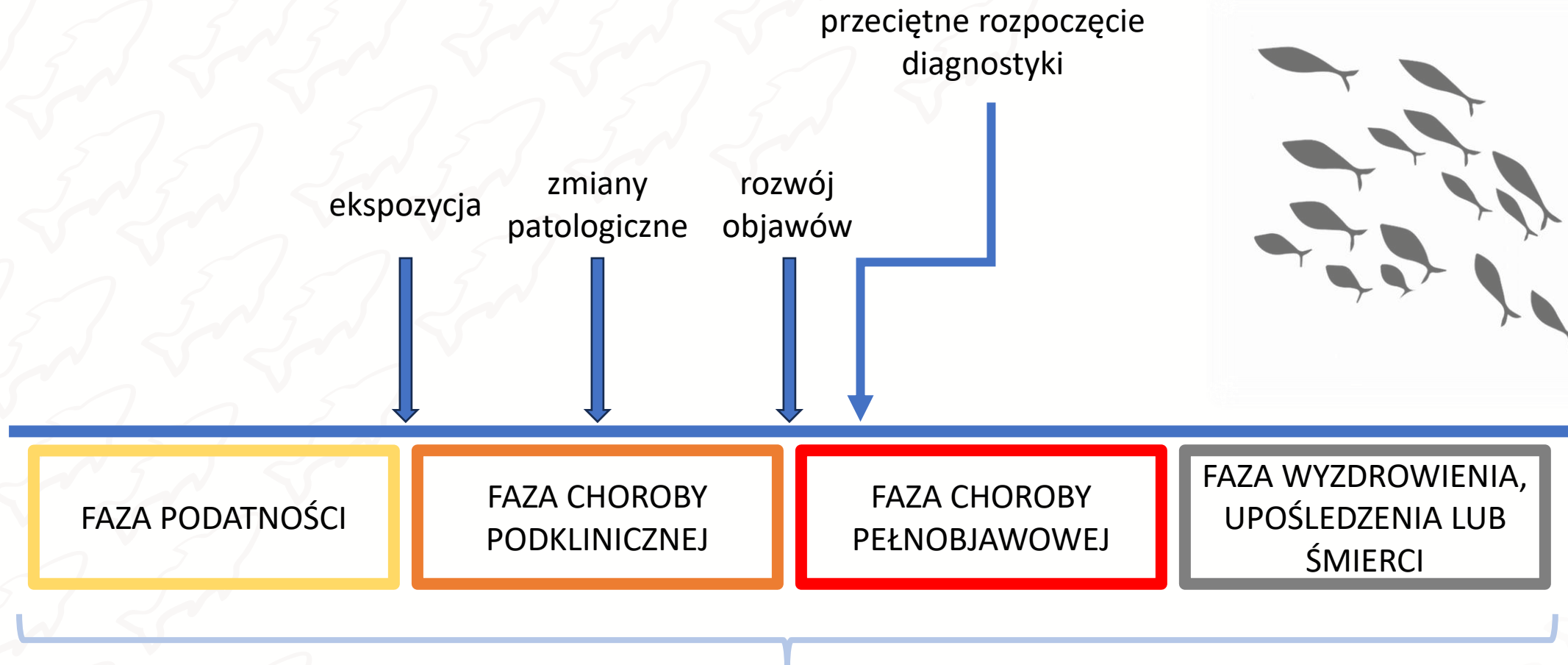
Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską





mogą się różnić pomiędzy osobnikami i wpływają na nie środki zapobiegawcze i lecznicze



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



CZUŁOŚĆ



SPECYFICZNOŚĆ



PRAWIDŁOWA
DIAGNOZA



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Table 4.1. OIE recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	A. Surveillance of apparently healthy animals				B. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				C. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts												
Histopathology ³						++	++	1				
Cytopathology ³												
Cell culture	+++	+++	+++	3	+++	+++	+++	3	+++	+++	+++	3
Real-time PCR	+++	+++	+++	3	+++	+++	+++	3	+++	+++	+++	3
Conventional PCR						++	++	2	++	++	++	2
Amplicon sequencing ⁴									+++	+++	+++	3
<i>In-situ</i> hybridisation												
Bioassay												
LAMP												
IFAT									++	++	++	2
Ag-ELISA									++	++	++	2
Neutralisation test (antibody or antiserum)									++	++	++	2

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the OIE Pathway (Chapter 1.1.2); PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification. IFAT = indirect fluorescent antibody test; Ag-ELISA = antigen enzyme-linked immunosorbent assay.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6).

²Early and juvenile life stages have been defined in Section 2.2.3.

³Cytopathology and histopathology can be validated if the results from different operators has been statistically compared.

⁴Sequencing of the PCR product.

Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.



KLIENT
<ul style="list-style-type: none"> • historia przypadku • tlen • temperatura • informacje dodatkowe

PRÓBKA WODY
<ul style="list-style-type: none"> • pomiary • tlen (na miejscu) • temperatura (na miejscu) • amoniak • azotany, azotyny • pH • twardość • zasolenie

RYBY
<ul style="list-style-type: none"> • RUTYNOWE BADANIE KLICZNE • badanie <ul style="list-style-type: none"> • zmiany zachowania • zmiany wyglądu • sedacja <ul style="list-style-type: none"> • rozmaz krwi (jeśli objawy anemii) • biopsja skóry, skrzelii • koproscopia • identyfikacja <ul style="list-style-type: none"> • ektopasożyty • choroby grzybicze • bakterie skóry i skrzelii • epitheliocystis • lymphocystis • hemopatie • opcjonalnie zaawansowane metody diagnostyki klinicznej

NEKROPSJA
<ul style="list-style-type: none"> • hodowle <ul style="list-style-type: none"> • pobranie próbek nerki i innych narządów do hodowli bakteryjnych • identyfikacja <ul style="list-style-type: none"> • endopasożyty • grzybice układowe • choroby nowotworowe • choroby proliferacyjne

Czy postawione rozpoznanie wystarczająco tłumaczy zachorowanie i śmiertelność?

TAK

NIE

DIAGNOSTYKA WYKLUCZAJĄCA

- wszystkie domniemane diagnozy
- testy specjalistyczne

IDENTYFIKACJA

- choroby wirusowe
- niedobory żywieniowe
- zatrucia
- uszkodzenia mechaniczne
- szok środowiskowy
- zaburzenia genetyczne
- zakwity alg HAB
- choroby idiopatyczne



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



METODY DIAGNOSTYKI TERENOWEJ		CZUŁOŚĆ	SPECYFICZNOŚĆ
Metody makroskopowe			
Objawy kliniczne	P	40-60%	50-70%
Zmiany behawioralne	P	30-50%	40-60%
Zaawansowana analiza obrazu	P	60-80%	70-85%
METODY DIAGNOSTYKI TERENOWEJ I LABORATORYJNEJ			
Metody kliniczne			
Anatomopatologia	P	60-80%	70-90%
Biochemia kliniczna	P	50-75%	60-85%
Metody mikroskopowe			
Preparaty gniecione, tzw. „mokre szkiełka”	P, C	50-70%	80-95%
Preparaty odciskowe i rozmazy: hematologia	P, C	60-75%	70-90%
Cytopatologia	C	70-85%	85-95%



METODY DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ		CZUŁOŚĆ	SPECYFICZNOŚĆ
Metody wykrywające patogen bezpośrednio			
Metody mikroskopowe			
Preparaty gniecione, tzw. „mokre szkiełka”	P, C	50-70%	80-95%
Rozmazy: barwienia różnicowe, immunofluorescencja (IF)	P, C	70-90%	85-95%
Mikroskopia elektronowa	P, C	80-95%	90-98%
Histologia: morfologia, barwienia różnicowe, immunohistochemia (IHC), fluorescencja w miejscu hybrydyzacji (FISH)	P, C	70-90%	80-95%
Izolacja patogenu			
Hodowla w liniach komórkowych	P, C	70-90%	85-95%
Sztuczne podłoża	P, C	60-85%	80-90%
Trawienie tkanki	P, C	60-85%	75-90%



METODY DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ		CZUŁOŚĆ	SPECYFICZNOŚĆ
Identyfikacja patogenu			
Charakteryzacja fenotypowa	P, C	70-85%	80-90%
Metody wykrywania antygenów na bazie przeciwciał: test neutralizacji, test przeciwciał immunofluorescencyjnych (IFAT), test immunoenzymatyczny (ELISA)	C	80-95%	85-98%
Techniki molekularne: PCR, RT-PCR, sekwencjonowanie, multiplex-PCR, Q-PCR, dPCR	C	90-99%	95-99%
Metody wykrywające patogen pośrednio			
Metody serologiczne: test immunoenzymatyczny ELISA, neutralizacja surowicy, immobilizacja, mikroaglutynacja, pasywna hemaglutynacja	P, C	80-95%	85-98%



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



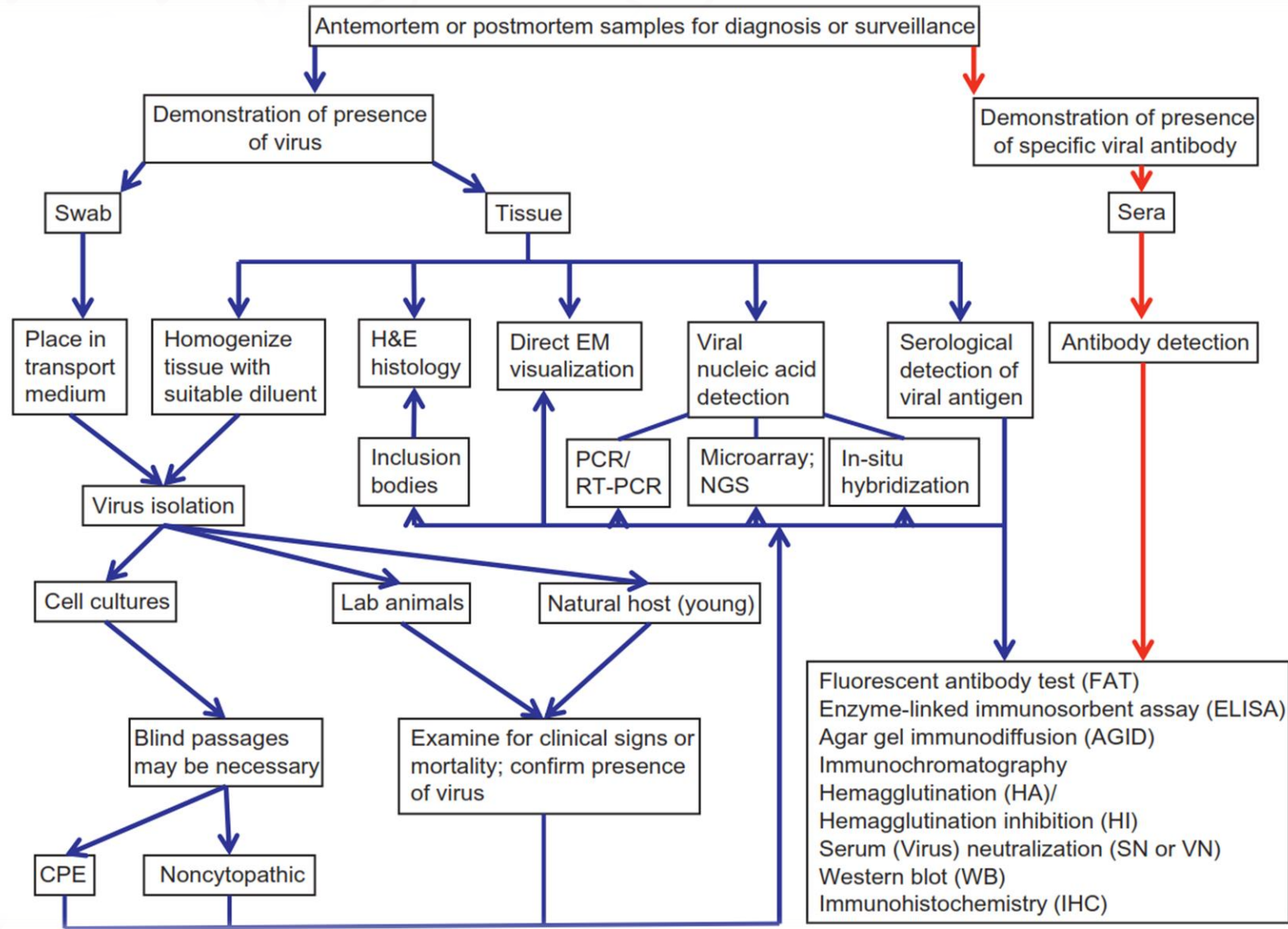
Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską





BiomarkHD (dPCR/qPCR)

A. Multiple applications on a single system



Gene expression

Genotyping

Sample identification

Copy number variation

Digital PCR

Flex Six™
IFC

24.192
IFC

48.48
IFC

96.96
IFC

Juno 96.96
GT IFC

192.24
IFC



Number of samples

6 x 12

24

48

96

96

192

Number of assays

6 x 12

192

48

96

96

24

Number of datapoints

864

4,608

2,304

9,216

9,216

4,608



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



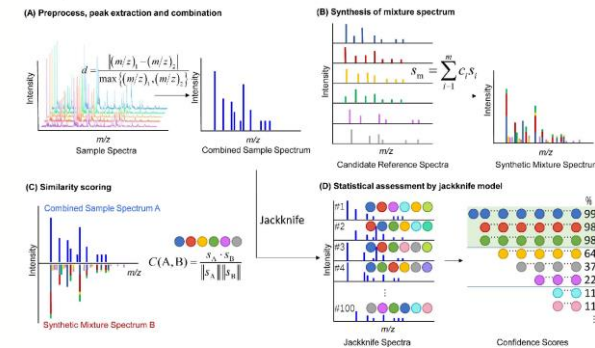
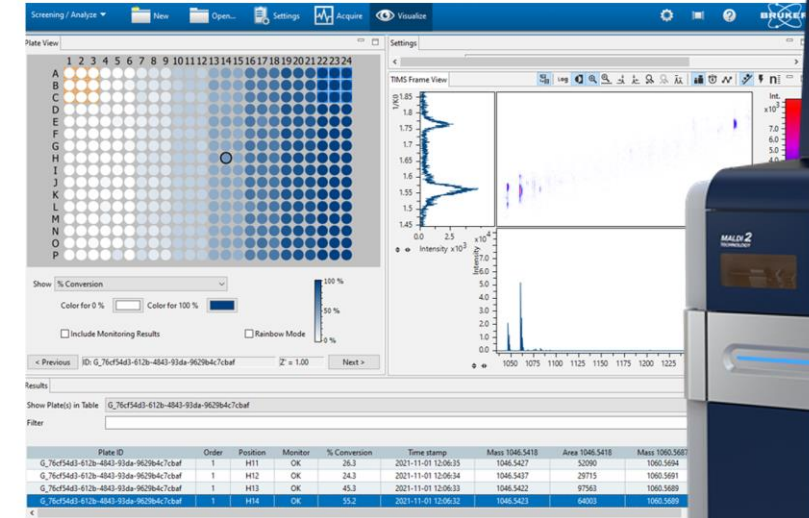
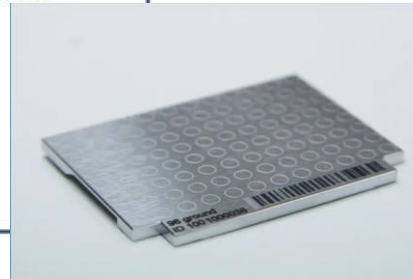
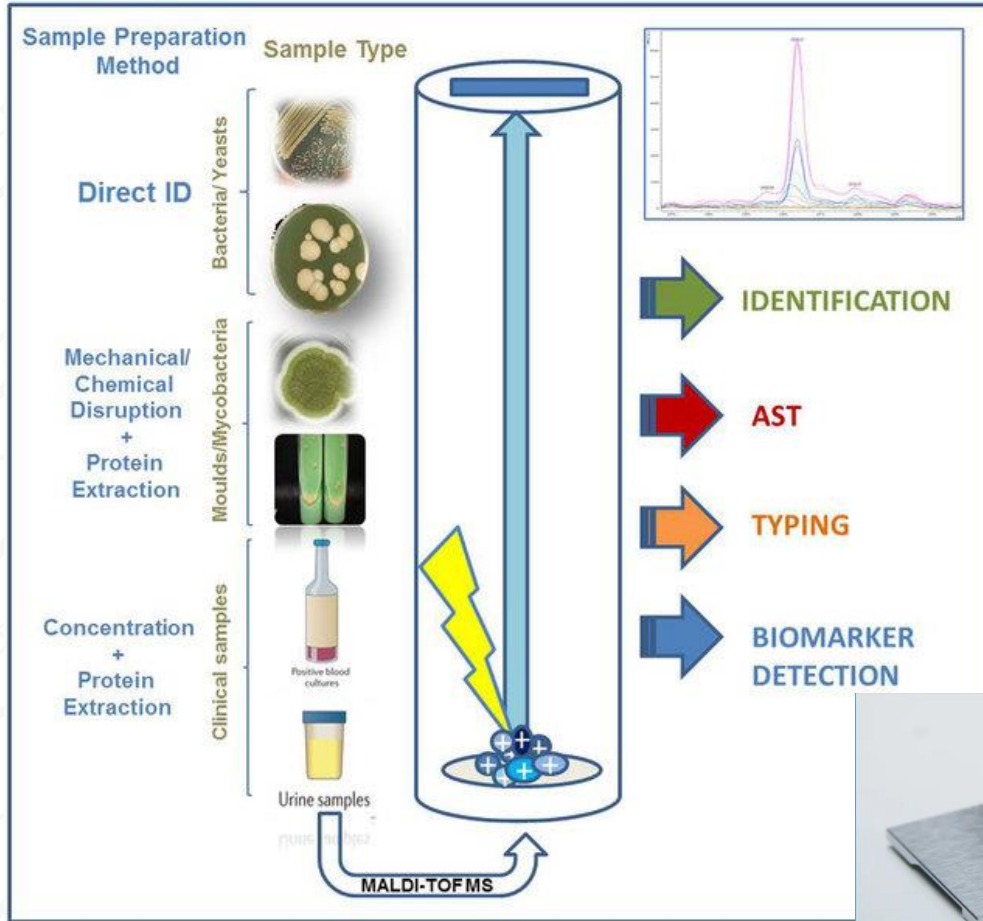
Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



MALDI-TOF

(MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION/IONIZATION - TIME OF FLIGHT)



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
 dla Rybactwa

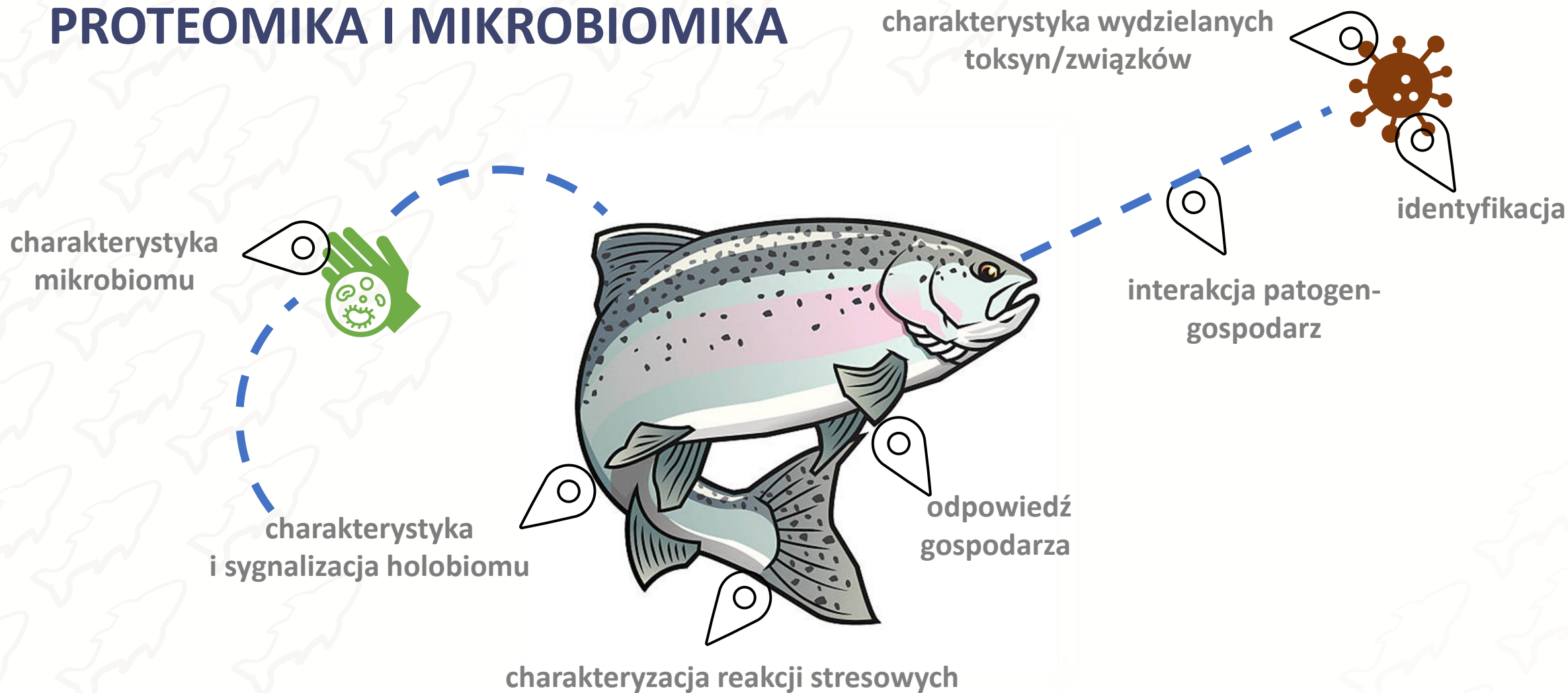


Rzeczpospolita
 Polska

Dofinansowane przez
 Unię Europejską



PROTEOMIKA I MIKROBIOMIKA



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa

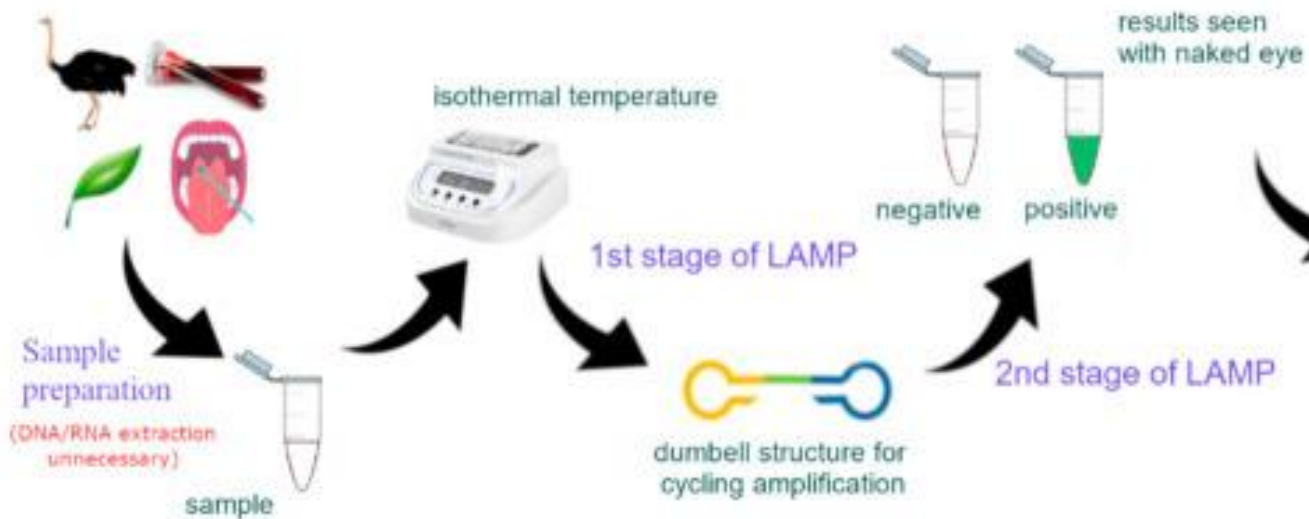


Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



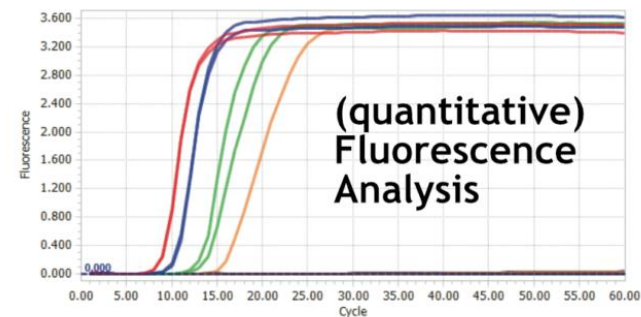
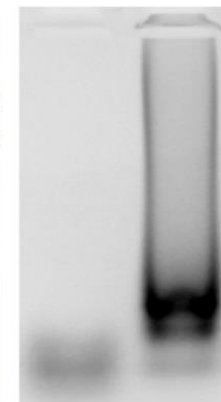
LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP)



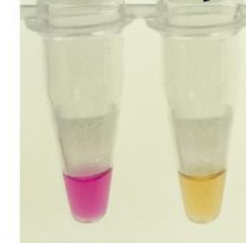
Lateral Flow Analysis (HybriDetect)



Agarose Gelelectrophoresis



Colorimetric Analysis



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



WYZWANIA

- właściwy dobór próbek
- właściwa metoda
- czas
- wyposażenie
- dostępność specjalistycznych materiałów
- koszty
- **WIEDZA I CHĘĆI**



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



A serene sunset over a body of water. The sky is a mix of purple, pink, and orange, with scattered clouds. In the foreground, a small wooden boat with a blue hull is on the water, its reflection visible. The background shows a calm sea and a distant shoreline with some structures.

A correct diagnosis is
three-fourths the remedy.

Mahatma Gandhi

DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ



XLIX SZKOLENIE - KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH
16 – 18 PAŹDZIERNIKA 2024 | GDYNIA



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

