

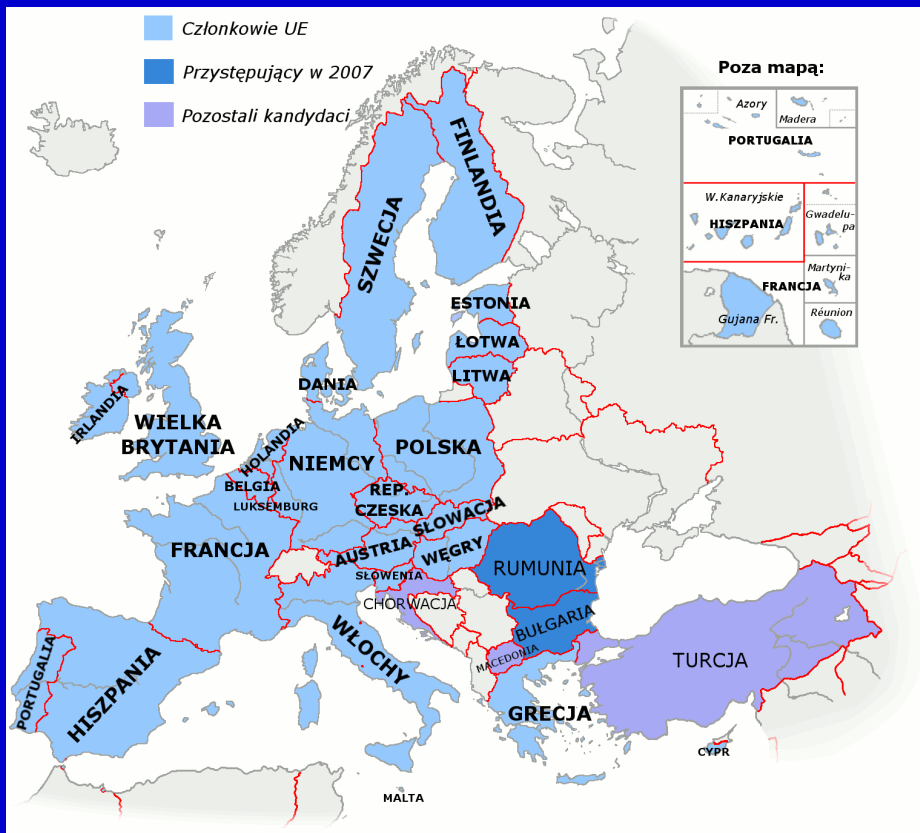
**MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA  
BIOPREPARATÓW  
W OCHRONIE ZDROWIA RYB  
HODOWLANÝCH**

**OCENA SKUTECZNOŚCI STOSOWANIA  
BIOPREPARATÓW  
W OCHRONIE ZDROWIA RYB  
HODOWLANÝCH**



**Instytut Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie**  
**Zakład Patologii i Immunologii Ryb Żabieniec**

**Uniwersytet Warmińsko Mazurski w Olsztynie**  
**Katedra Epizootiologii**  
**Katedra Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej**



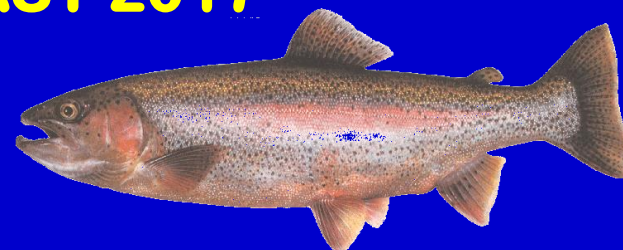
**Zróznicowana strefa klimatyczna i preferencja gatunkowa**

**Odmienne systemy chowu**

**Różna sytuacja epizootyczna**

**Muszą powstawać indywidualne programy zwalczania dla różnych krajów UE**

**BELFAST 2017**





**Diagnostyka bakteriologiczna  
oraz  
monitorowanie oporności bakterii na antybiotyki**



## Antybiotylogram



### *Yersinia ruckeri*

**Oporne na tetracykliny**

Średnio wrażliwe

Wrażliwe

**2014**

**80 %**

**10 %**

**10 %**

**2015**

**80 %**

**15 %**

**5 %**

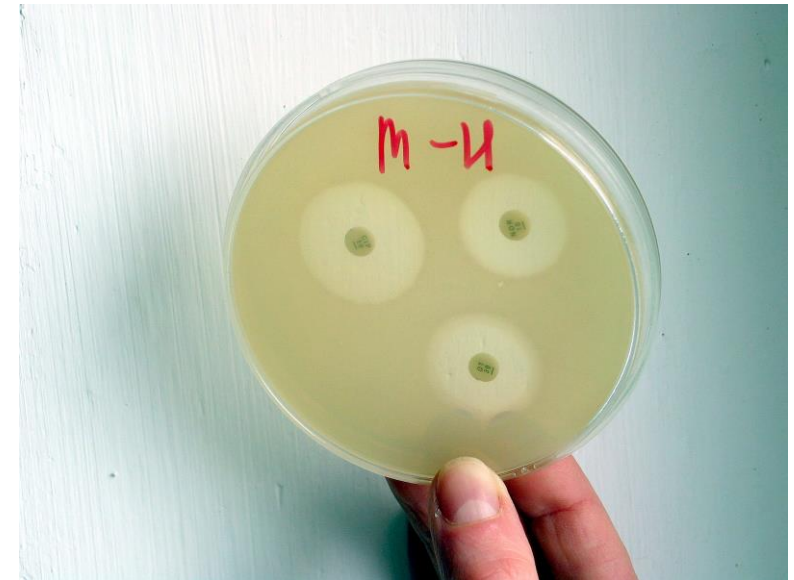
**2016**

**90 %**

**10 %**

**0**

## Antybiotylogram



***Aeromonas salmonicida***

**2014**

**2015**

**2016**

**subsp. *salmonicida***

**Oporne na tetracykliny**

**80 %**

**90 %**

**90 %**

**Średnio wrażliwe**

**10 %**

**5 %**

**10 %**

**Wrażliwe**

**10 %**

**5 %**

**0**

# Immunoprofilaktyka w ochronie zdrowia ryb

## IMMUNOMODULATORY



## SZCZEPIONKI



**KAŻDA INGERENCJA POWODUJĄCA ZMIANY  
W FUNKCJONOWANIU UKŁADU IMMUNOLOGICZNEGO  
NIEZALEŻNIE OD STANU KONDYCYJNEGO  
I ZDROWOTNEGO OKREŚLANA JEST JAKO**

## **IMMUNOMODULACJA**

**CZYNNIKI INGERUJĄCE W FUNKCJONOWANIE UO  
DZIELIMY NA:**

**WZMAGAJĄCE (STYMULUJĄCE)**

**ORAZ**

**HAMUJĄCE (SUPRESYJNE)**

**NOWE POJĘCIA I ZJAWISKA W IMMUNOLOGII KLINICZNEJ:**

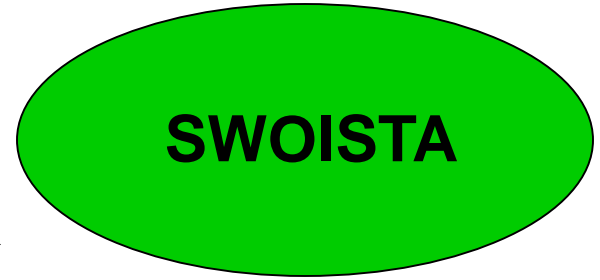
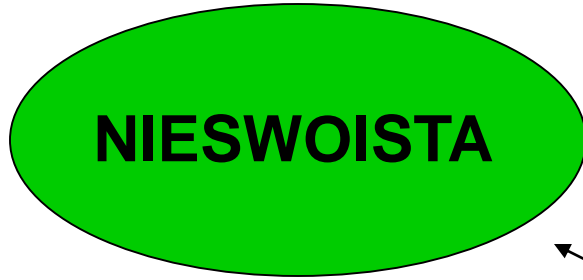
**ODNOWA - KORYGOWANIE (IMMUNORESTORATION)**

**WZMAGANIE - POTĘGOWANIE (IMMUNOPOTENTIATION)**

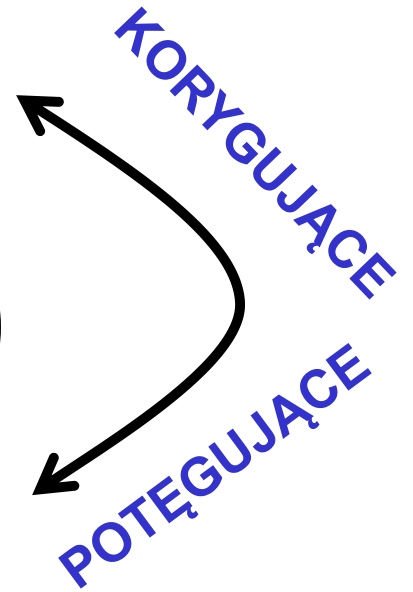
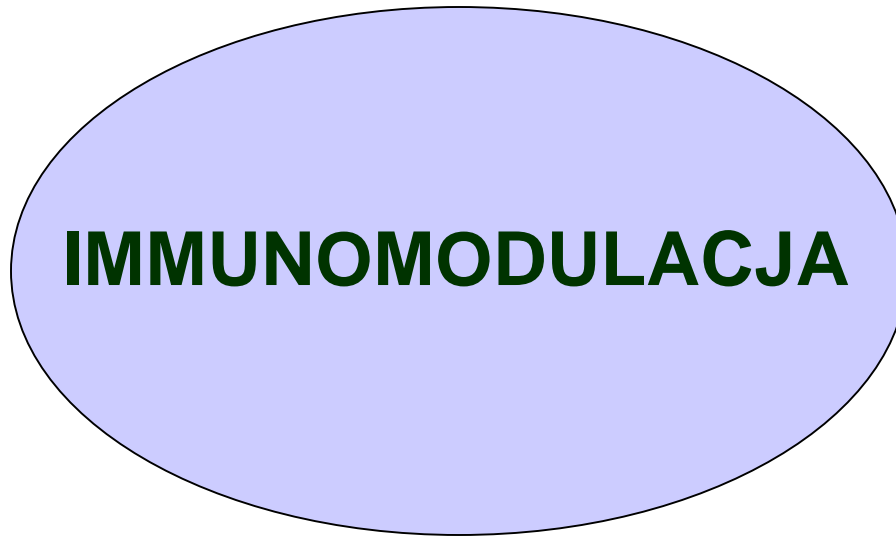
**REAKTYWNOŚCI IMMUNOLOGICZNEJ**

**BIOSTYMULATORY**

**SZCZEPIONKI**



**IMMUNOSTYMULACJA**



**IMMUNOSUPRESJA**

# WPŁYW IMMUNOSTYMULATORÓW NA MECHANIZMY OBRONY



## Układ badawczy:

## *In vitro*

## *In vivo*

Fagocytoza

wzmagają

wzmagają

Migracja spontaniczna makrofagów

wzmagają

wzmagają

Chemotaksja

wzmagają

wzmagają

Uwalnianie histaminy

hamują

hamują

Proliferacja komórek T i B

wzmagają

wzmagają

Liczba limfocytów T

wzmagają

wzmagają

Liczba limfocytów B

wzmagają

wzmagają

Aktywność komórek NK

wzmagają

wzmagają

Cytotoksyczność limfocytów

wzmagają

wzmagają

Produkcja cytokin (monokin i limfokin)

wzmagają

wzmagają

Produkcja interferonu: (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ )

wzmagają

wzmagają

Produkcja TNF

modulują

modulują

Poziom immunoglobulin

bez działania

wzmagają

Liczba ASC

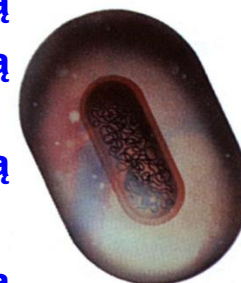
wzmagają

wzmagają

Wytwarzanie przeciwciał swoistych

bez działania

wzmagają



**Lewamizol**

- stymuluje odporność nieswoistą

**TFX**

- stymuluje odporność nieswoistą

**Glukany**

- stymuluje odporność jelitową GALT

**Chitozan**

- stymuluje odporność skórną SIS

**Dimer lizozymu** - stymulacja odporności nieswoistej

**Isoprinosine/Methisoprinol** - stymuluje odporność przeciwwirusową oraz hamuje replikację wirusów RNA i DNA

**HMB** – przyspiesza metabolizm tłuszczów, zmniejsza otłuszczenie międzynarządowe, wykazuje działanie detoksykacyjne

**Rezweratrol** – działanie immunomodulujące

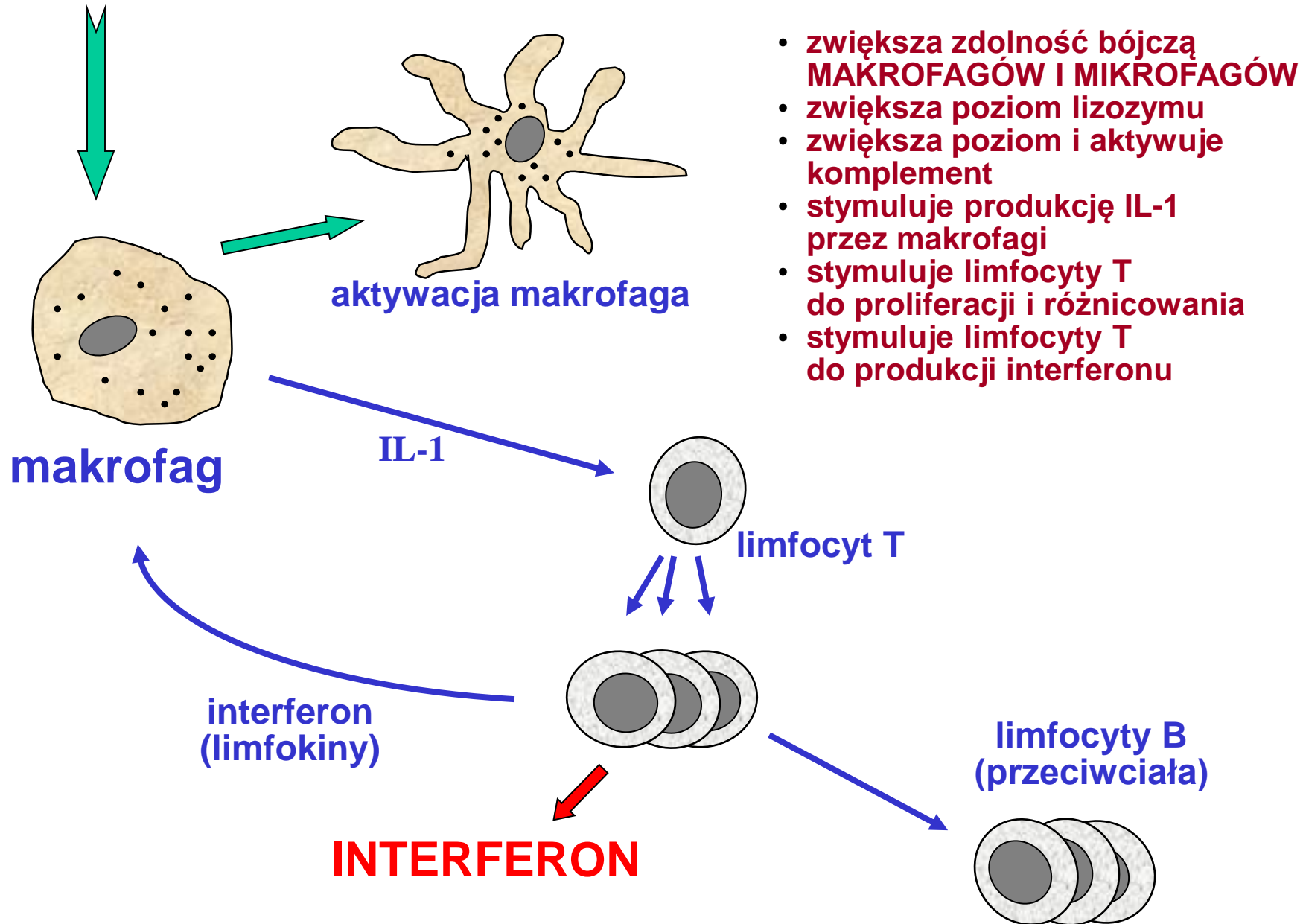
**Preparaty:**

**BIOIMMUNO I, II, III**

**BIOIMMUNO BKD**



# GLUKANY - schemat działania immunostymulującego



# WSKAZANIA DO STOSOWANIA IMMUNOMODULATORÓW

- w okresach największego zagrożenia chorobami
- w trakcie i po chemio- i antybiotykoterapii
- przed i po stresie:
  - **transport**
  - **zmiana żywienia**
- po intoksykacji ksenobiotykami
- przed szczepieniami ochronnymi
- równocześnie ze szczepionką
- w trakcie i po infekcjach wirusowych



# Ocena skuteczności naturalnych immunomodulatorów w podchowach kontrolowanych

**Maksymalny czas stosowania 14 dni**

**Przerwa 7 dni**



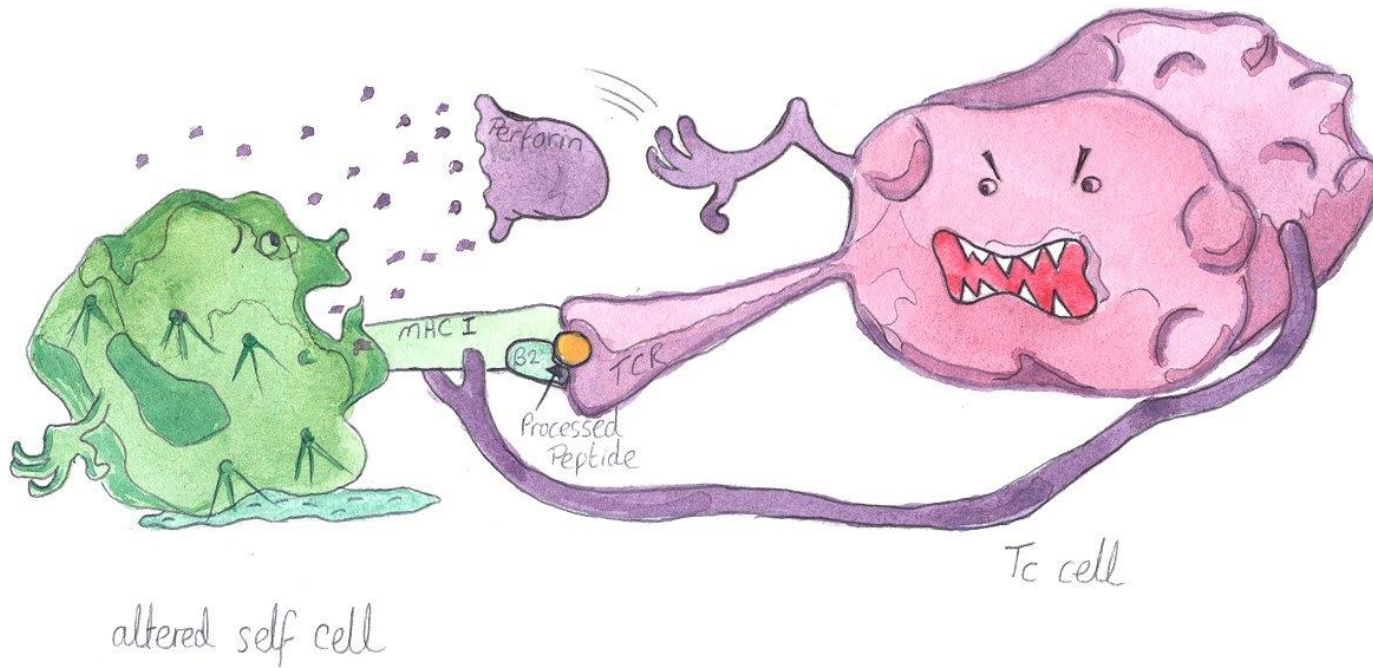
**Badania:  
hematologiczne  
biochemiczne  
immunologiczne**

**Badania nad wpływem na  
MIKROBIOM**

# CD4 limfocyty pomocnicze zaczynają się pytać po co



# CD8 T limfocyty cytotoksyczne zaczynają się denerwować

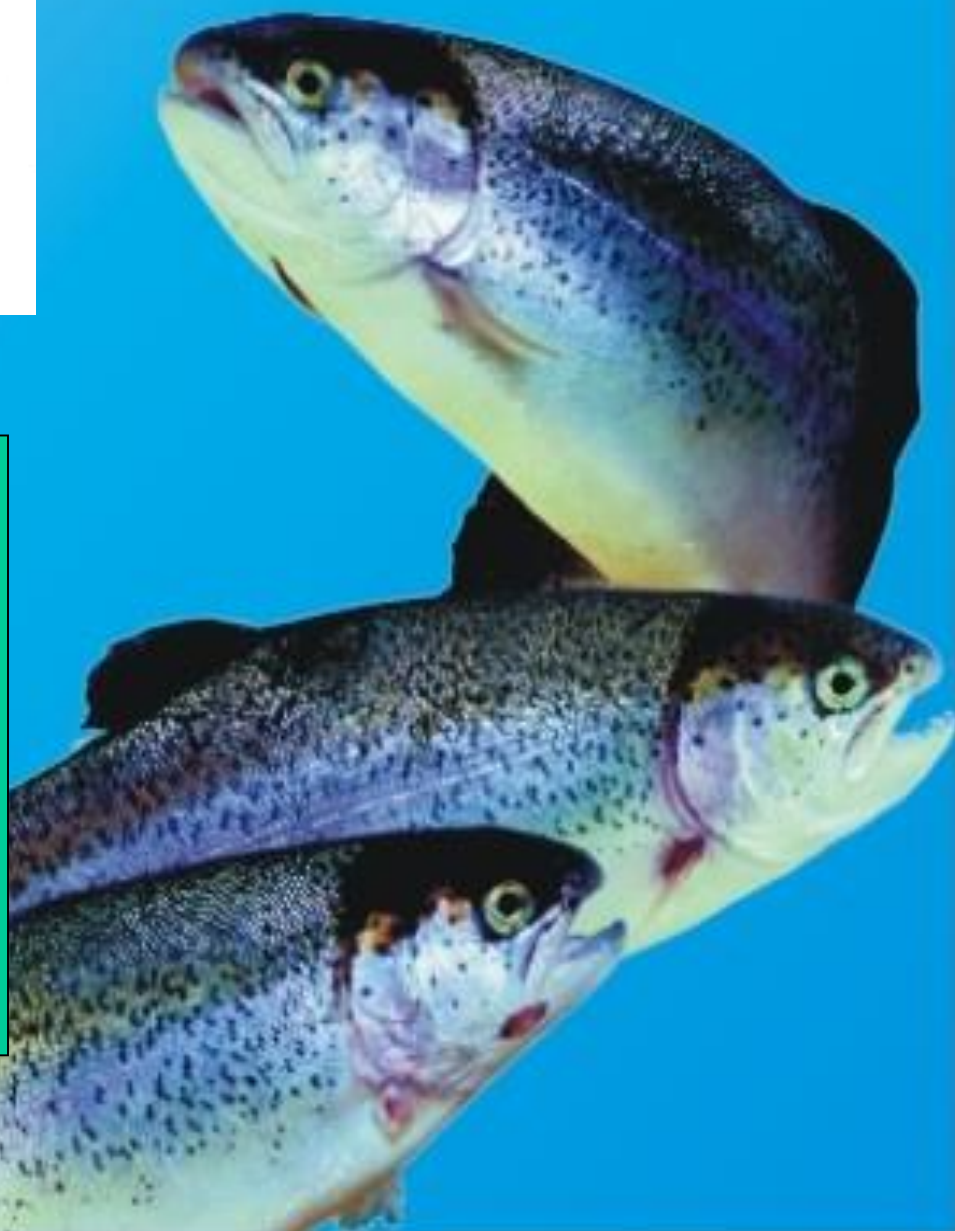




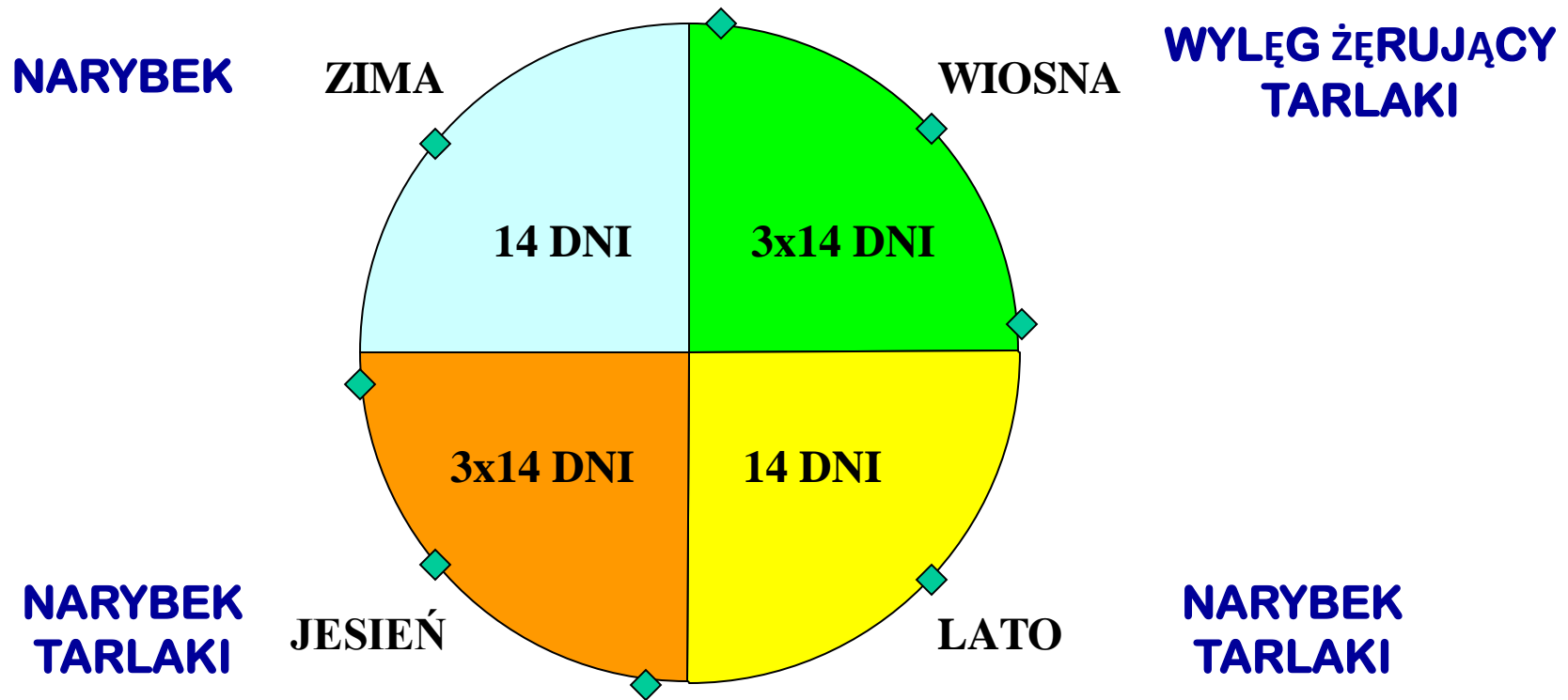
• *Profilaktyka*

**Brak efektu  
a dość często zmęczenie**

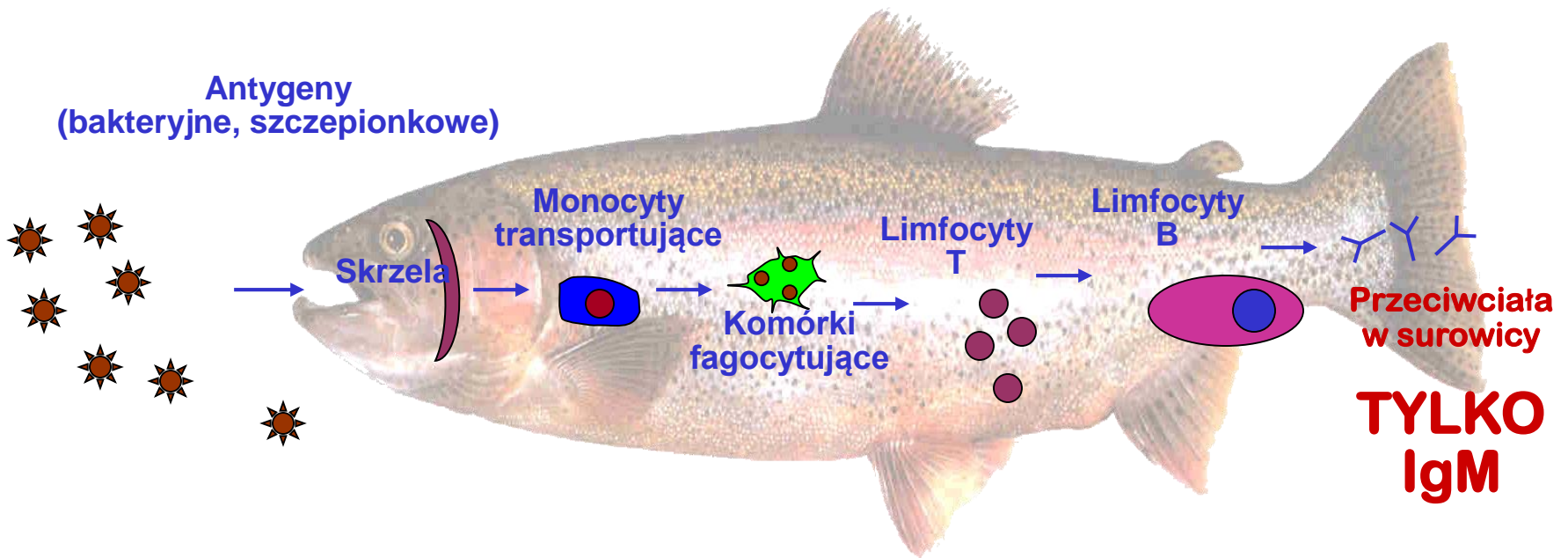
immunomodulacja  
**a nie**  
immunostymulacja



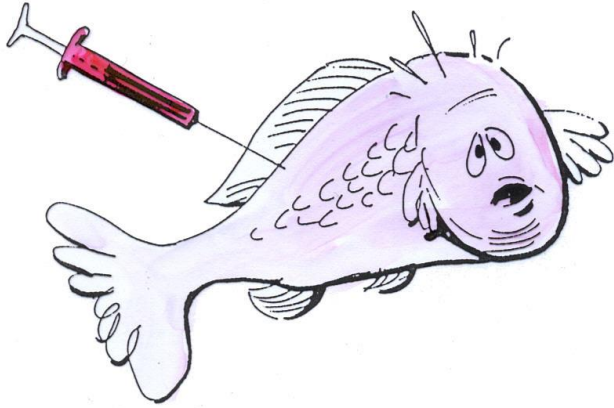
# Stosowanie Biopreparatów w sezonie hodowlanym



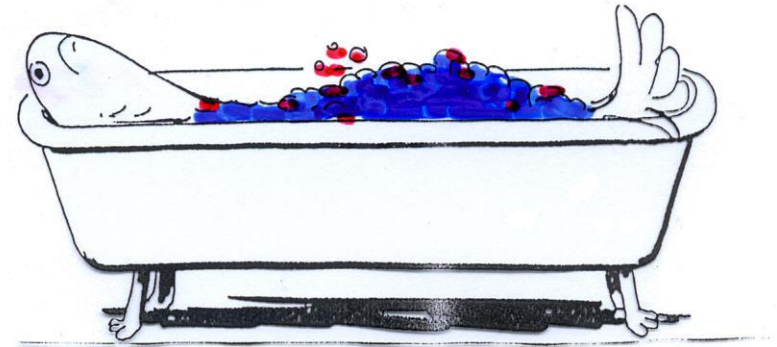
# SZCZEPIONKI



## \* iniekcja dootrzewnowa



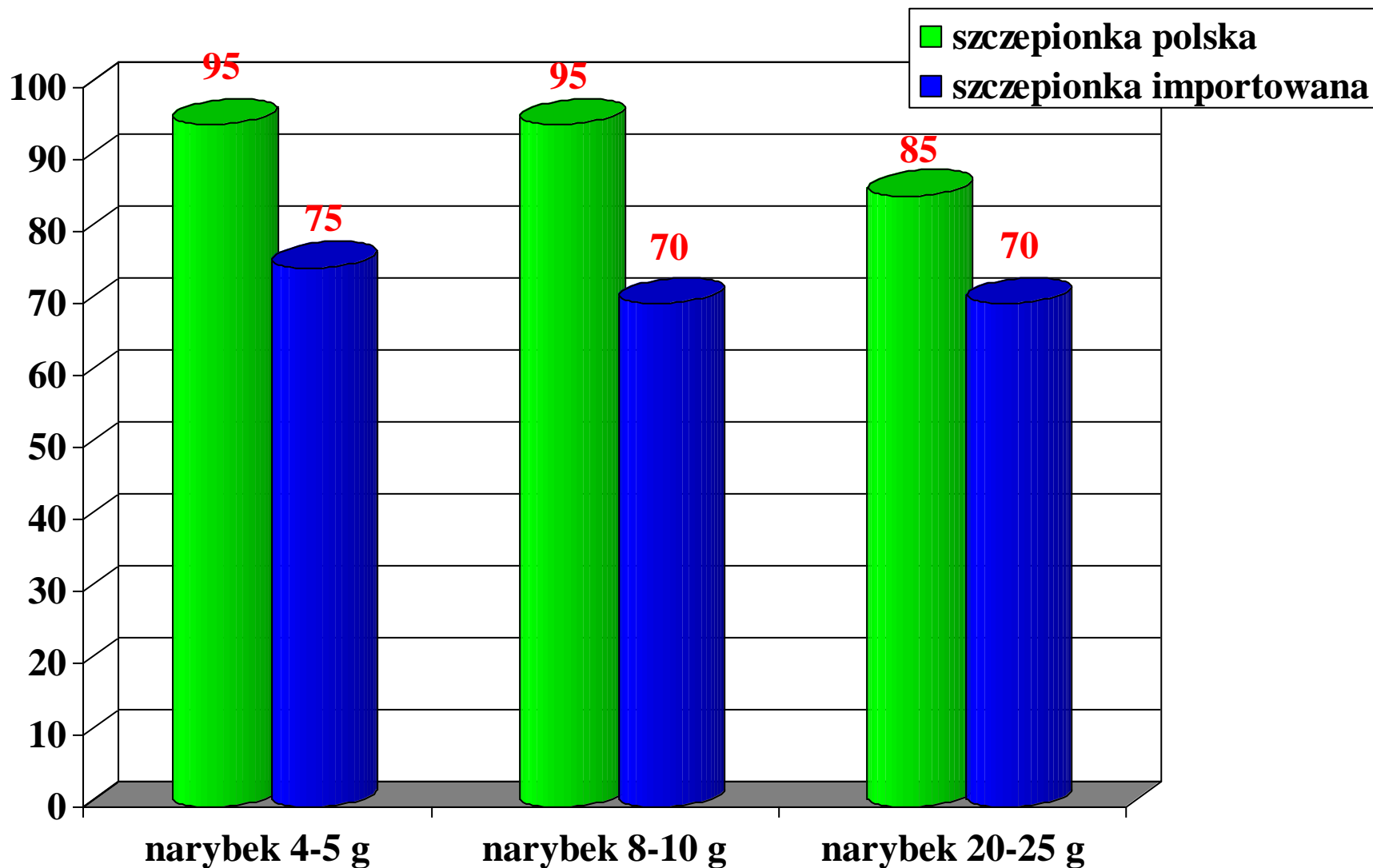
- \* zanurzenie w roztworze:
  - metoda immersyjna
  - kąpiele



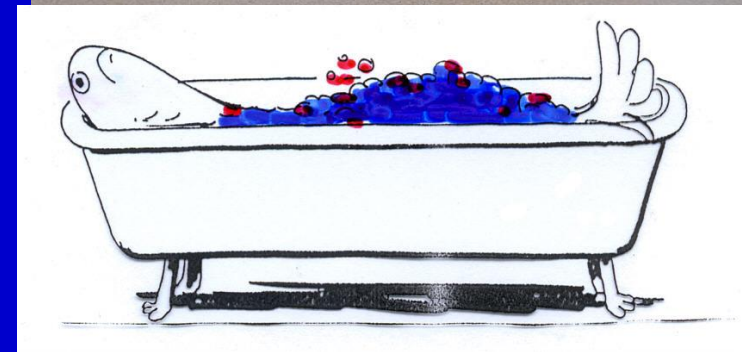
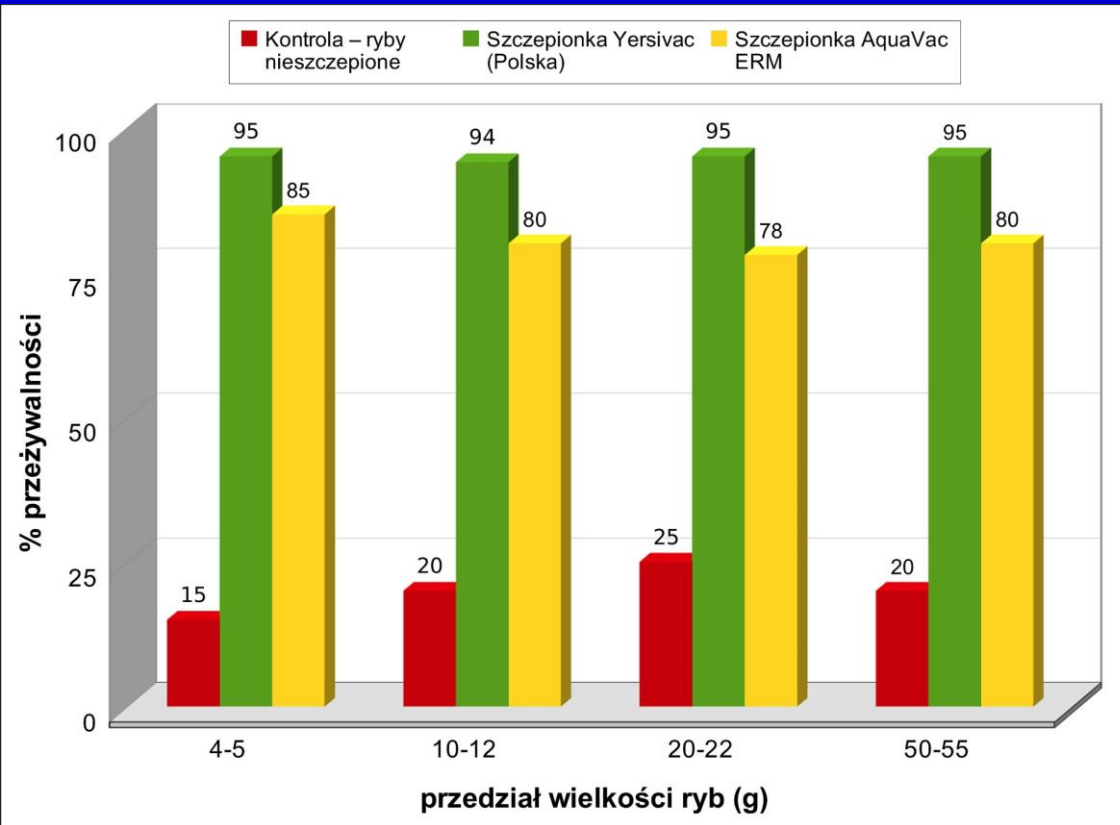
- \* *per os*
  - karma mokra
  - granulaty

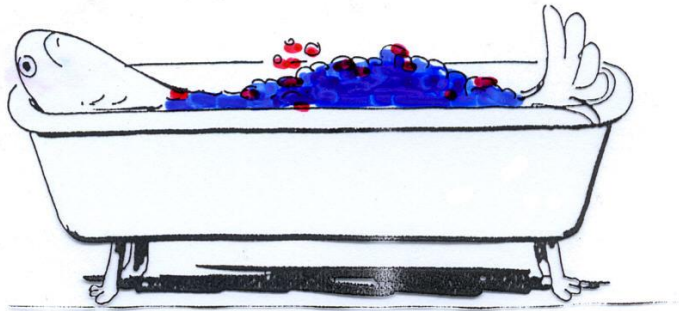


# Porównanie skuteczności szczepienia przeciwko jersiniozie (przeżywalność po zakażeniu eksperymentalnym).



# Autoszczepionka YRESIVAC



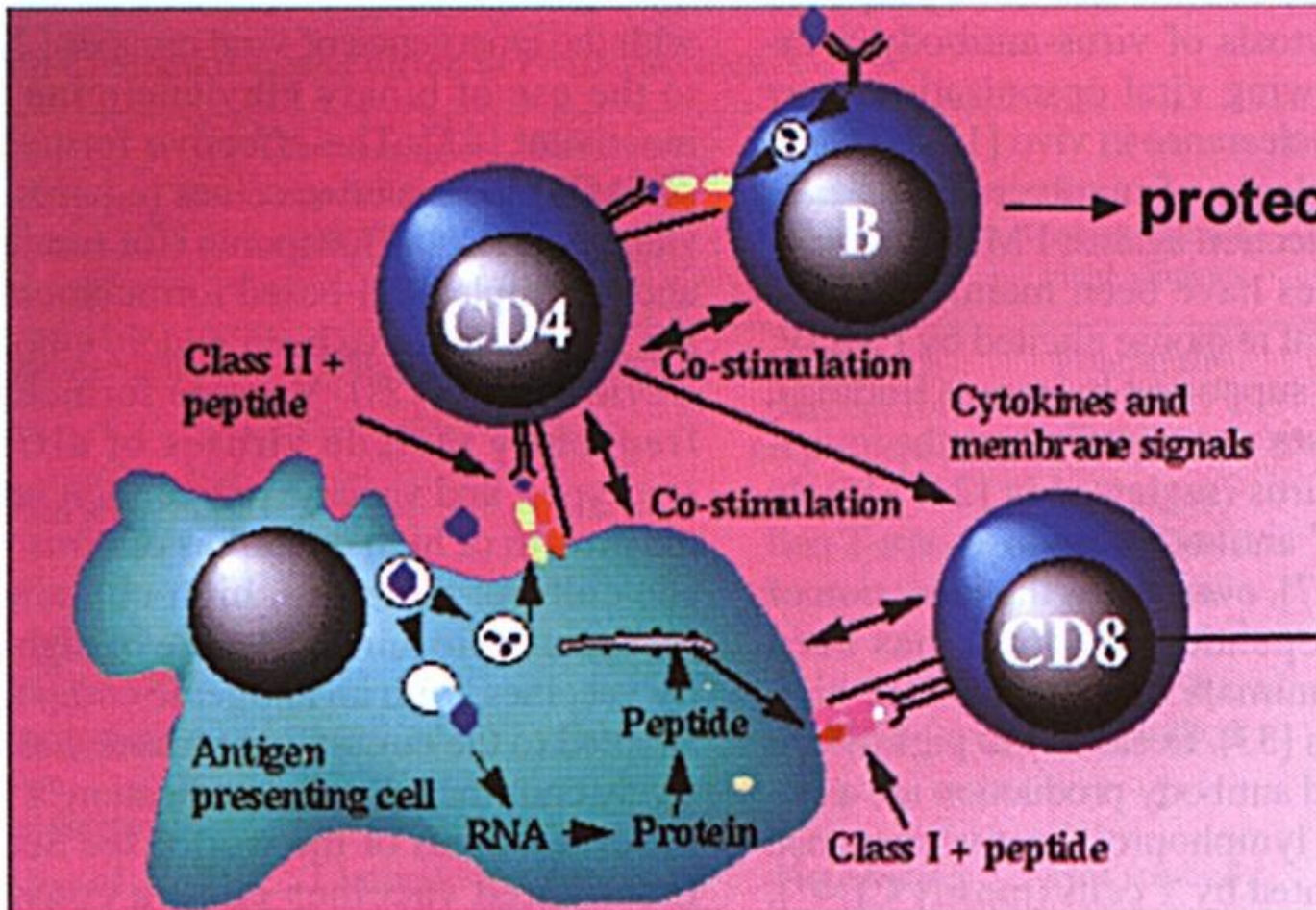


## Autoszczepionki: **YRESIVAC** oraz **FUROVAC**

### Testowana skuteczność w warunkach terenowych

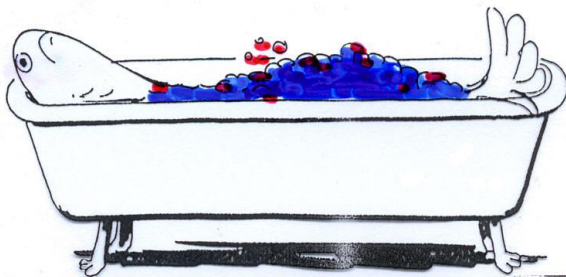
- eliminacja formaldehydu do zabicia antygeny
- nowe adiuwanty naturalne
- stosowanie biopreparatów przed szczepieniami
- temperatura szczepienia
- eliminacja stresu w czasie szczepienia





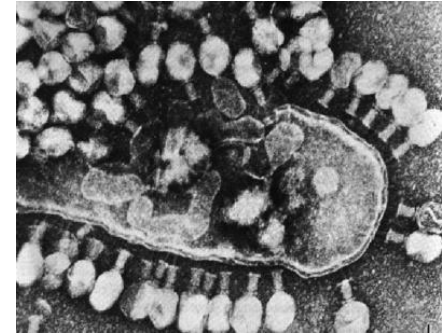
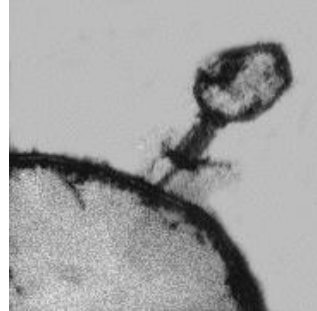
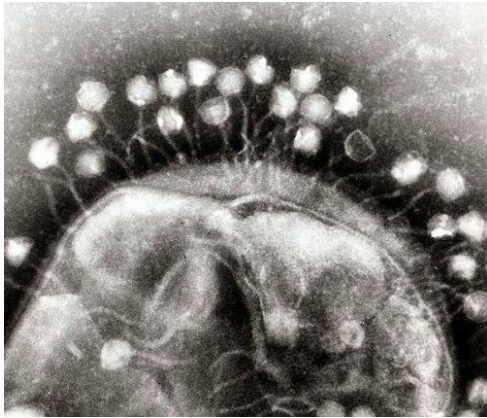
**Przeciwciała  
swoiste  
IgM**

**Aktywacja  
odporności  
komórkowej**



**Nowej generacji szczepionki**

# BAKTERIOFAGI



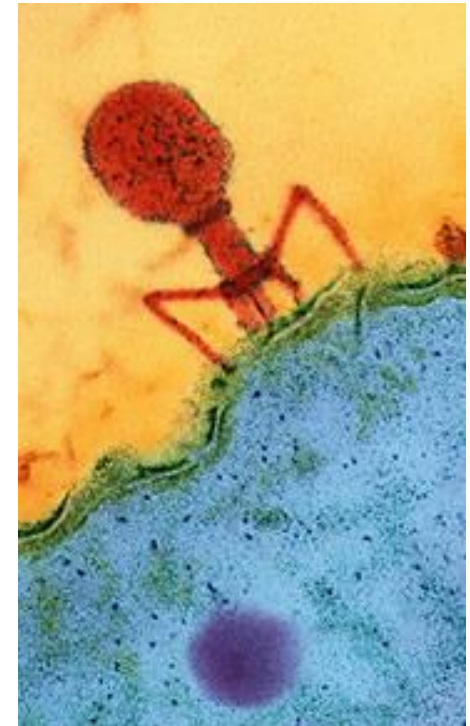
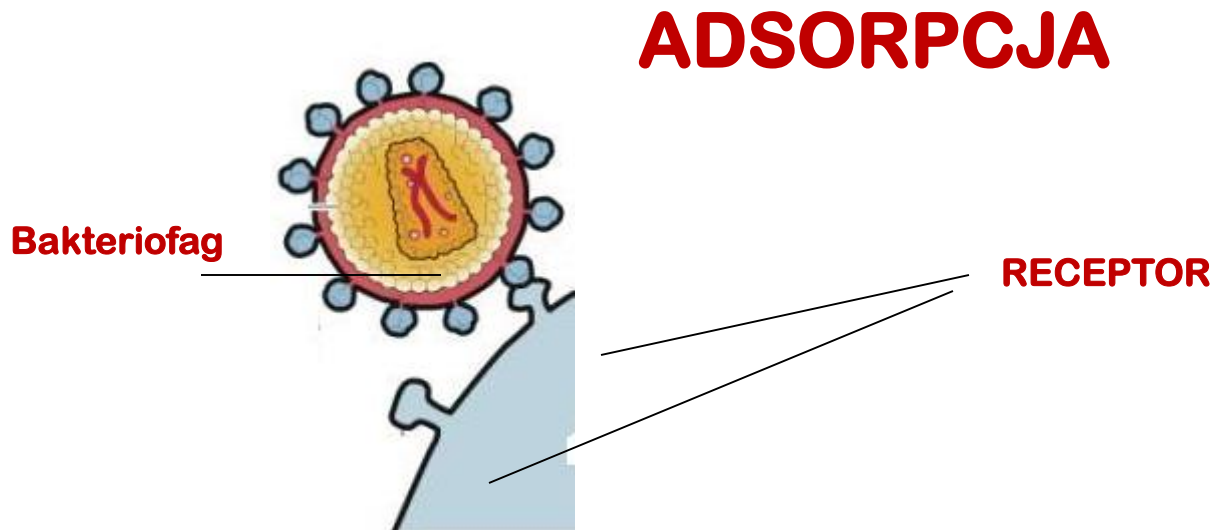
**Bakteriofag zwane fagami to wirusy bakteryjne które atakują tylko żywe i wrażliwe bakterie**

**Występują wszędzie tam gdzie bakterie:**

**woda, gleba, wszystkie żywe organizmy, przewodzie pokarmowym oraz pokarmie**

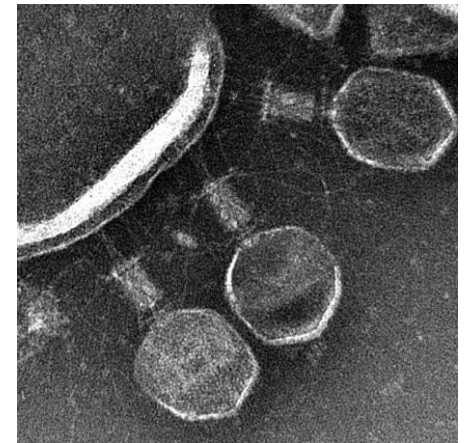
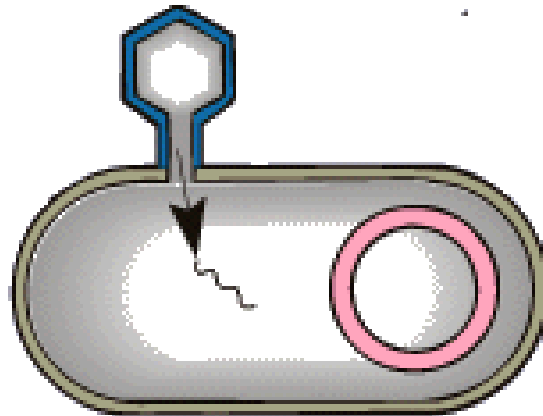
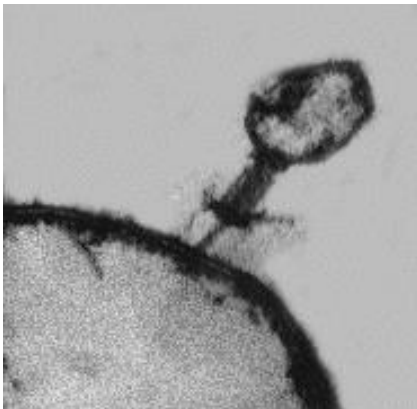
Zasadnicze znaczenie dla zakażenia wirusowego mają receptory komórkowe. Jeżeli komórka nie posiada receptorów swoistych dla danego wirusa nie może zostać przez niego zaatakowana

Stąd np. ludzie i zwierzęta nie mogą ulec zakażeniu  
**BAKTARIOFAGIEM**

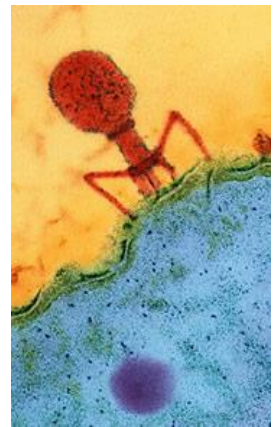
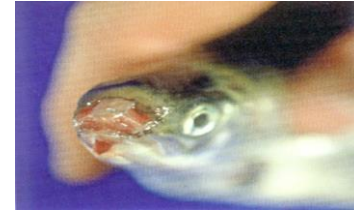
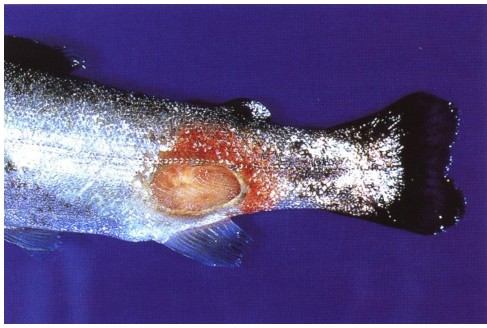


**Pierwszy etap** zakażenia jest nieco odmienny w przypadku bakteriofagów. Ponieważ u bakterii nie zachodzą procesy pinocytozy ani fagocytozy bakteriofagi – po połączeniu się z receptorem – wstrzykują do wnętrza komórki bakteryjnej kwas nukleinowy, natomiast cała reszta (kapsyd) pozostaje na zewnątrz. „**Wstrzykiwanie**” materiału genetycznego odbywa się przez skracanie trzonka.

Dalsze etapy namnażania wirusów są takie same zarówno w przypadku atakowanych komórek zwierzęcych czy ludzkich



## **WSTRZYKIWANIA MATERIAŁU GENETYCZNEGO BAKTERIOFAGA**



## **Możliwości zastosowania bakteriofagów w akwakulturze**

- izolacja i hodowla bakteriofagów bójczych**
- droga podania u ryb**
- wpływ bakteriofagów na organizm ryb**
- ocena skuteczności wobec patogennych bakterii dla ryb**
- stworzenie programu zwalczania chorób**

# Izolacja i hodowla bakteriofagów

Zdjęcie bakteriofaga T4 pod mikroskopem



Bakteriofagi bójcze wobec:

*Aeromonas salmonicida*

*Aeromonas hydrophila*

*Pseudomonas fluorescense*

*Yersinia ruckeri* !!!!!!!!!!!!!

DNA lityczne T4 bakteriofagi

Rząd: *Caudovirales*

Rodzina: *Myoviridae*

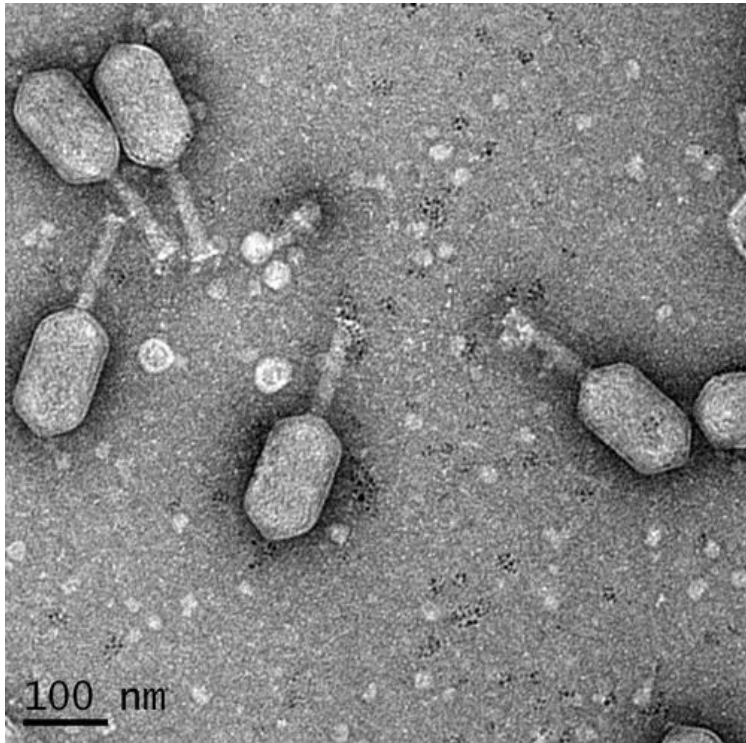


***Aeromonas sp.***  
***Yersinia sp.***

***Pseudomonas sp***



# Drogi podania bakteriofagów



- immersja
- per os w paszy ale w nośniku zamkniętym

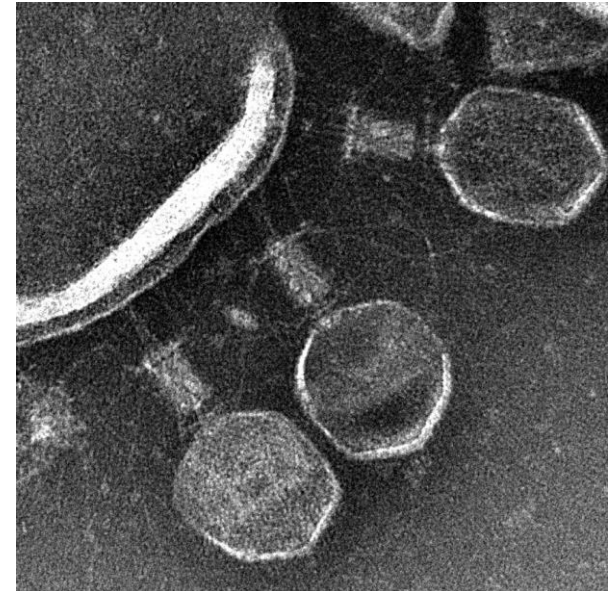
**Nie stwierdzono  
negatywnego wpływu  
różnych stężeń na stan  
kondycyjny i zdrowotny  
ryb**



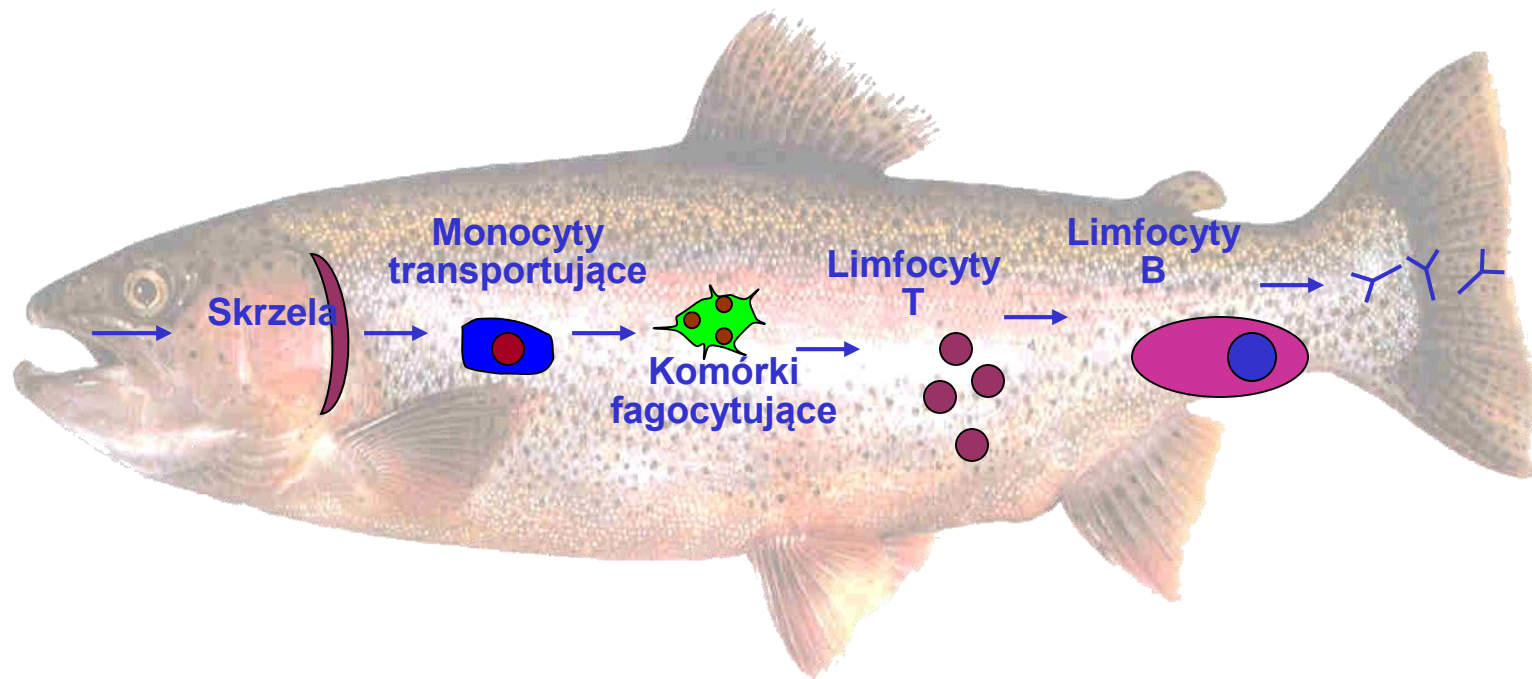
**Kąpiele w czasie transportu**

# Co wiemy dziś

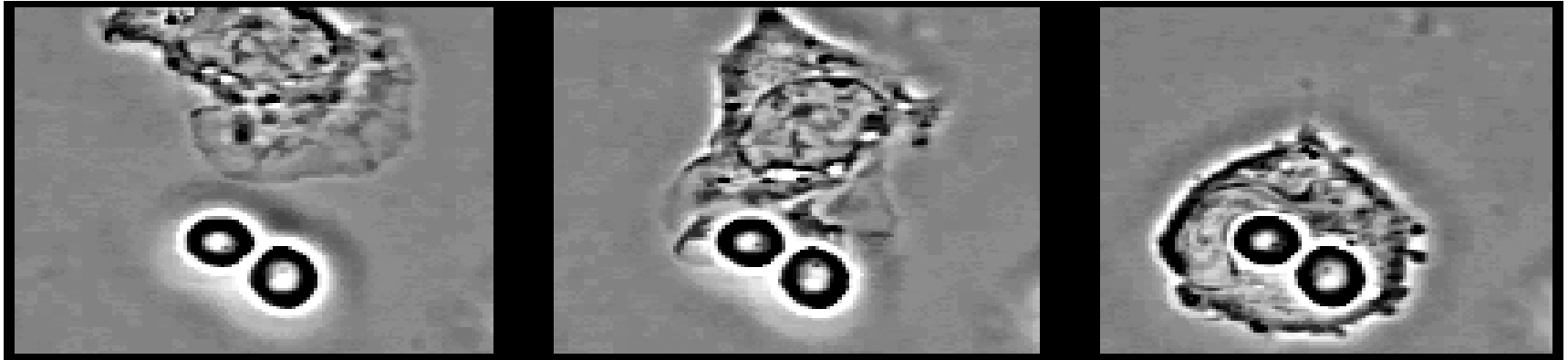
- **bójcze wobec gatunków**
- **bezpieczne dla ryb i środowiska**
- **znamy skuteczne stężenia do stosowania w immersji i paszy**
- **nie niszczą biofiltru w obiegach zamkniętych**
- **oczyszczają obieg zamknięty z patogennej bakterii**
- **muszą spotkać swoją bakterię bardzo szybko aby się namnożyć**



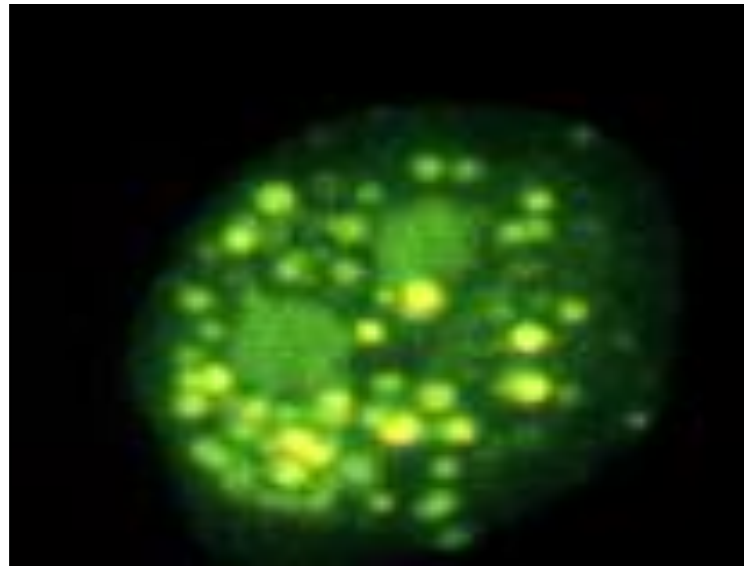
**Bakteriofagi łatwo wchłaniają się przez skrzela  
wchłaniają się z przewodu pokarmowego  
mogą stymulować układ immunologiczny**



# Makrofagi przenoszą



**bakteriofagi z krwią po całym organizmie**



**Effects of **Bafador** on the hematological and biochemical parameters in rainbow trout and carp  
(mean  $\pm$  SD, n=20)**

Parameters:		Time after administrated of Bafador			
		Before	1 day	2 day	3 day
RBC (mln/mm <sup>3</sup> )	Carp	1.9 $\pm$ 0.7	1.8 $\pm$ 0.6	1,9 $\pm$ 0.8	1,8 $\pm$ 0.6
	<b>Rainbow trout</b>	<b>2.3 <math>\pm</math> 0.5</b>	<b>2.5 <math>\pm</math> 0.4</b>	<b>2.4 <math>\pm</math> 0.5</b>	<b>2.3 <math>\pm</math> 0.4</b>
Ht (%)	Carp	30.8 $\pm$ 4.5	31.4 $\pm$ 5.2	32,1 $\pm$ 4.6	31.2 $\pm$ 4.8
	<b>Rainbow trout</b>	<b>27.5 <math>\pm</math> 3.5</b>	<b>28.3 <math>\pm</math> 3.9</b>	<b>28.6 <math>\pm</math> 4.1</b>	<b>27,8 <math>\pm</math> 3.4</b>
Hb (g%)	Carp	8.4 $\pm$ 1.8	8.8 $\pm$ 1.6	9,1 $\pm$ 1.9	8,6 $\pm$ 1.4
	<b>Rainbow trout</b>	<b>10.6 <math>\pm</math> 2.2</b>	<b>10.9 <math>\pm</math> 2.1</b>	<b>11,5 <math>\pm</math> 1.9</b>	<b>11,0 <math>\pm</math> 1.8</b>
SCH (g/l)	Carp	38.2 $\pm$ 5.4	38.6 $\pm$ 5.8	38,9 $\pm$ 5.1	38,4 $\pm$ 5.2
	<b>Rainbow trout</b>	<b>42.5 <math>\pm</math> 6.5</b>	<b>42.9 <math>\pm</math> 6.1</b>	<b>42,6 <math>\pm</math> 5.9</b>	<b>42,3 <math>\pm</math> 6.1</b>
SSH (g/l)	Carp	23.2 $\pm$ 4.6	23.7 $\pm$ 3.9	23.5 $\pm$ 4.1	23,4 $\pm$ 4.2
	<b>Rainbow trout</b>	<b>25.4 <math>\pm</math> 4.4</b>	<b>25.7 <math>\pm</math> 4.5</b>	<b>25,5 <math>\pm</math> 4.3</b>	<b>25,3 <math>\pm</math> 4.1</b>
Cortisol level (ng/ml)	Carp	178 $\pm$ 34	179 $\pm$ 35	181 $\pm$ 37	180 $\pm$ 35
	<b>Rainbow trout</b>	<b>195 <math>\pm</math> 39</b>	<b>198 <math>\pm</math> 40</b>	<b>201 <math>\pm</math> 43</b>	<b>196 <math>\pm</math> 42</b>
Glucose level (mg/dl)	Carp	128 $\pm$ 22	126 $\pm$ 25	125 $\pm$ 27	127 $\pm$ 23
	<b>Rainbow trout</b>	<b>141 <math>\pm</math> 25</b>	<b>140 <math>\pm</math> 28</b>	<b>138 <math>\pm</math> 24</b>	<b>142 <math>\pm</math> 28</b>
AST (U/L) activity	Carp	66.9 $\pm$ 9.3	67.4 $\pm$ 9.6	68.2 $\pm$ 9.8	67.1 $\pm$ 9.0
	<b>Rainbow trout</b>	<b>83.5 <math>\pm</math> 10</b>	<b>85.2 <math>\pm</math> 9.4</b>	<b>84.9 <math>\pm</math> 9.1</b>	<b>83.9 <math>\pm</math> 9.7</b>
ALT (U/L) activity	Carp	2.3 $\pm$ 0.6	2.4 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 0.8	2.4 $\pm$ 0.8
	<b>Rainbow trout</b>	<b>3.5 <math>\pm</math> 0.5</b>	<b>3.2 <math>\pm</math> 0.8</b>	<b>3.7 <math>\pm</math> 0.5</b>	<b>3.6 <math>\pm</math> 0.8</b>

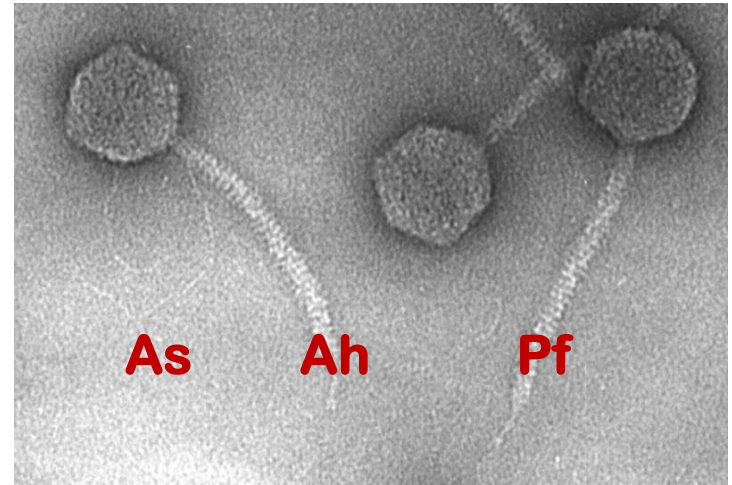
**Effects of Bafador on the non-specific cellular and humoral immunity in rainbow trout and carp  
(mean  $\pm$  SD, n=20, \*statistically significant P< 0.05)**

Immunological parameters:		Time after administrated of Bafador			
		Before	1 day	2 day	3 day
RBA (OD 620 nm)	Carp	0.42 $\pm$ 0.05	0.45 $\pm$ 0.04	0.48 $\pm$ 0.3*	0.50 $\pm$ 0.5*
	<b>Rainbow trout</b>	<b>0.48 <math>\pm</math> 0.05</b>	<b>0.52 <math>\pm</math> 0.05</b>	<b>0.56 <math>\pm</math> 0.05*</b>	<b>0.58 <math>\pm</math> 0.5*</b>
PKA (OD 620 nm)	Carp	0.32 $\pm$ 0.05	0.36 $\pm$ 0.04	0.38 $\pm$ 0.04*	0.41 $\pm$ 0.05*
	<b>Rainbow trout</b>	<b>0.36 <math>\pm</math> 0.05</b>	<b>0.40 <math>\pm</math> 0.05</b>	<b>0.46 <math>\pm</math> 0.05*</b>	<b>0.49 <math>\pm</math> 0.04*</b>
LP by ConA (OD 620 nm)	Carp	0.45 $\pm$ 0.05	0.49 $\pm$ 0.04	0.53 $\pm$ 0.05*	0.55 $\pm$ 0.04*
	<b>Rainbow trout</b>	<b>0.49 <math>\pm</math> 0.05</b>	<b>0.53 <math>\pm</math> 0.05</b>	<b>0.57 <math>\pm</math> 0.05*</b>	<b>0.59 <math>\pm</math> 0.05*</b>
LP by LPS (OD 620 nm)	Carp	0.35 $\pm$ 0.05	0.39 $\pm$ 0.05	0.41 $\pm$ 0.04*	0.43 $\pm$ 0.04*
	<b>Rainbow trout</b>	<b>0.39 <math>\pm</math> 0.05</b>	<b>0.42 <math>\pm</math> 0.05</b>	<b>0.49 <math>\pm</math> 0.05*</b>	<b>0.50 <math>\pm</math> 0.05*</b>
Lysozyme activity in plasma (mg/L)					
	Carp	2.2 $\pm$ 0.4	2.6 $\pm$ 0.5	2.9 $\pm$ 0.5*	3.4 $\pm$ 0.8*
	<b>Rainbow trout</b>	<b>87.2 <math>\pm</math> 8.4</b>	<b>90.5 <math>\pm</math> 8.5</b>	<b>95.5 <math>\pm</math> 8.5*</b>	<b>97.5 <math>\pm</math> 7.5*</b>
Ceruloplasmin activity in plasma (IU)					
	Carp	58 $\pm$ 14	59 $\pm$ 15	81 $\pm$ 14*	83 $\pm$ 15*
	<b>Rainbow trout</b>	<b>75 <math>\pm</math> 19</b>	<b>78 <math>\pm</math> 20</b>	<b>91 <math>\pm</math> 13*</b>	<b>96 <math>\pm</math> 18*</b>
Total protein level in serum (g/L)					
	Carp	48 $\pm$ 12	51 $\pm$ 15	55 $\pm$ 17	57 $\pm$ 15
	<b>Rainbow trout</b>	<b>57 <math>\pm</math> 15</b>	<b>60 <math>\pm</math> 18</b>	<b>68 <math>\pm</math> 14</b>	<b>67 <math>\pm</math> 15</b>
Total Ig level in serum (g/L)	Carp	6.8 $\pm$ 1.2	7.5 $\pm$ 1.5	8.5 $\pm$ 1.5*	8.7 $\pm$ 1.2*
	<b>Rainbow trout</b>	<b>9.5 <math>\pm</math> 1.5</b>	<b>10.2 <math>\pm</math> 1.4</b>	<b>13.2 <math>\pm</math> 1.1*</b>	<b>13.9 <math>\pm</math> 1.3*</b>



# BAFADOR – 1 ®

**Koktajl bakteriofagowy  
zawierający trzy  
patogenne szczepy  
bakterii dla ryb**

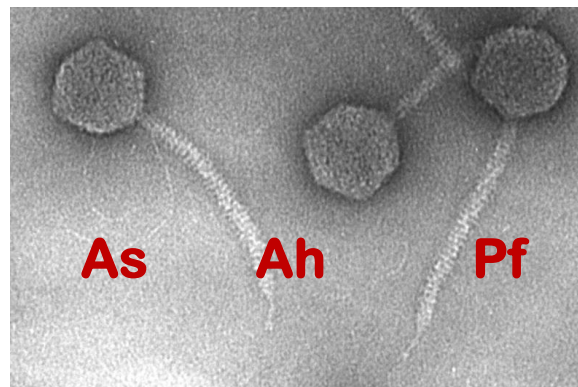


**Śmiertelność po zakażeniu: kontrola 90 %**

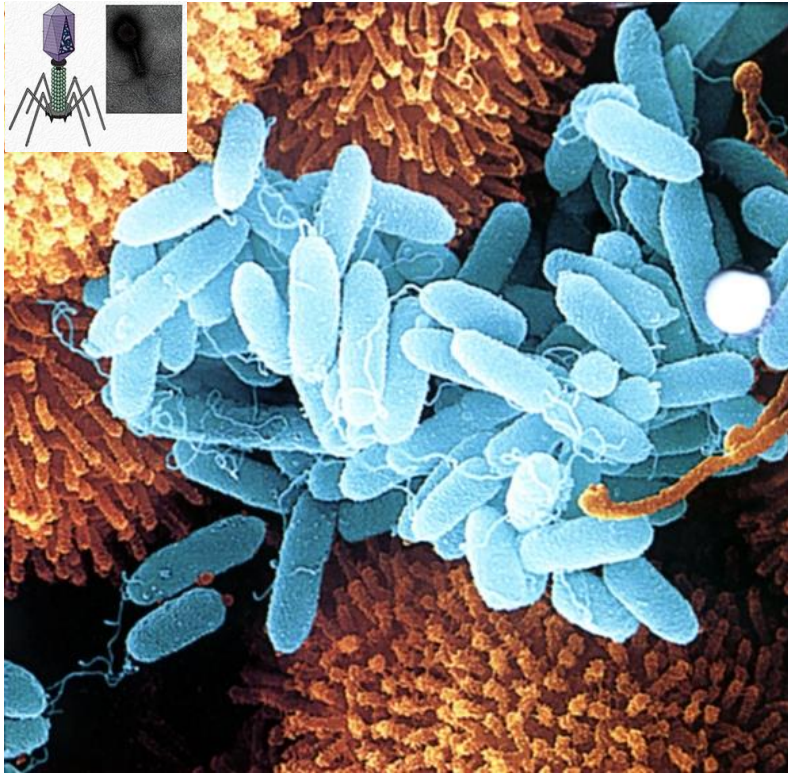
<b>Z As + Bafador 1 aplikowany w immersji 24 h po</b>	<b>30 %</b>
<b>Z Ah + Bafador 1</b>	<b>30 %</b>
<b>Z Pf + Bafador 1</b>	<b>35 %</b>
<b>Bafador 1 + Z As po 24 h</b>	<b>35 %</b>
<b>Bafador 1 + Z Ah</b>	<b>35 %</b>
<b>Bafador 1 + Z Pf</b>	<b>40 %</b>

# BAFADOR – 1, 2,3 oraz 4 ®

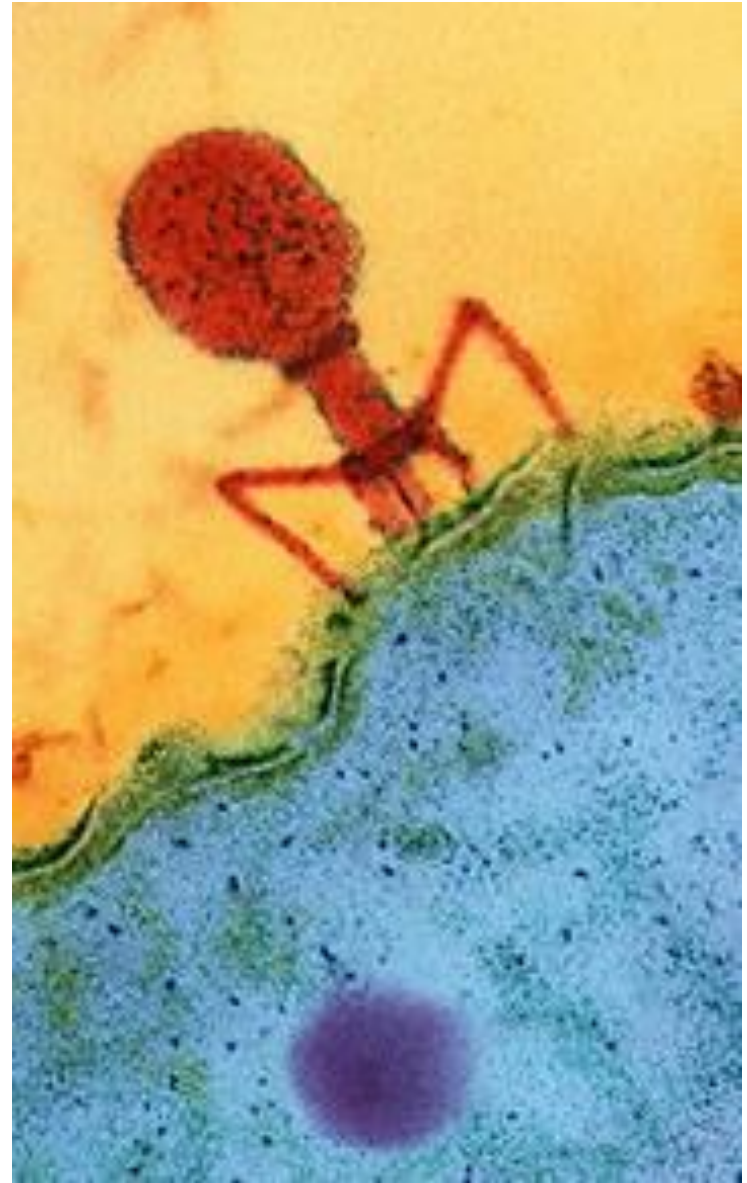
Koktajle bakteriofagowe zawierające trzy patogenne szczepy bakterii dla ryb



Typ preparatu:	As	Ah	Pf	Śmiertelność po zakażeniu:		
	udział % bakterii	% bakterii		As	Ah	Pf
<b>Bafador 1</b>	<b>33 %</b>	<b>33 %</b>	<b>33 %</b>	<b>30 %</b>	<b>30 %</b>	<b>35 %</b>
<b>Bafador 2</b>	<b>50 %</b>	<b>25 %</b>	<b>25 %</b>	<b>20 %</b>	<b>35 %</b>	<b>45 %</b>
<b>Bafador 3</b>	<b>25 %</b>	<b>50 %</b>	<b>25 %</b>	<b>35 %</b>	<b>20 %</b>	<b>45 %</b>
<b>Bafador 4</b>	<b>25 %</b>	<b>25 %</b>	<b>50 %</b>	<b>40 %</b>	<b>40 %</b>	<b>20 %</b>



**Dziękuję za  
zainteresowanie**



# Bacterial Kidney Disease

## *Renibacterium salmoninarum*

Przewlekła choroba wiosenna u ryb łososiowatych  
w temperaturze 8 - 14°C



Wysoka śmiertelność  
u narybku

Słabe przyrosty mc

Zwiększona podatność  
na choroby

# Proliferative **K**idney **D**isease

**PKD** wywołana przez pasożyty myxosporidia  
genus *Sphaerospora*



# BKD 2018



**Podjęto działania zmierzające do opanowania/kontrolowania tej choroby w Polsce:**

- **we współpracy z PIWet Puławy szybka diagnostyka molekularna z zastosowaniem RT PCR**
- **W przygotowaniu nowy preparat Bioimmuno BKD z dodatkiem antybiotyku ???**
- **podjęto próbę izolacji i przygotowania preparatu bakteriofagowego (Bafador 5).**

Dziękuję za uwagę

