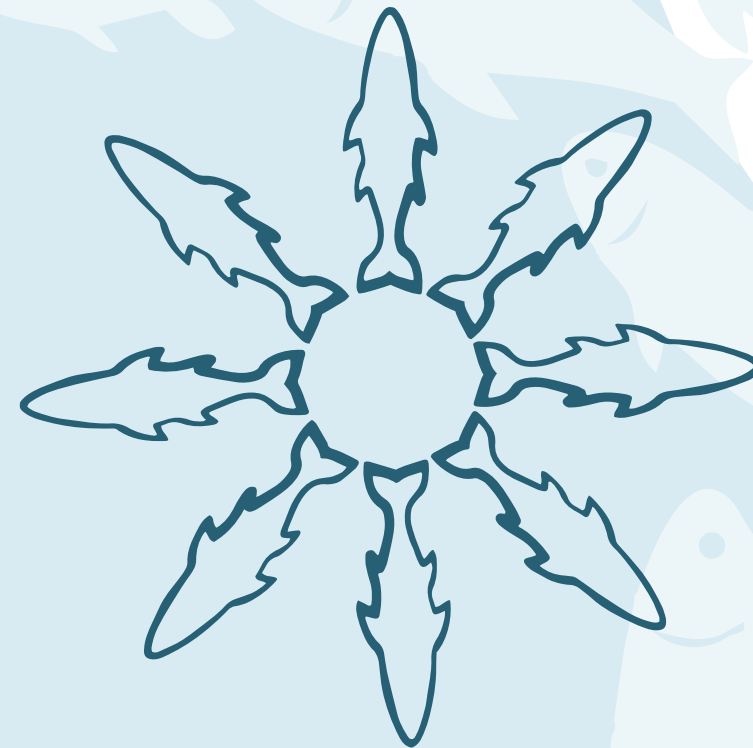


51. SZKOLENIE KONFERENCJA HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Wyniki badań dotyczące efektywności szczepionek autogenicznych (autoszczepionek) stosowanych w kąpieli oraz w karmie

Agnieszka Pękala-Safińska, Małgorzata Pomorska-Mól

Katedra Nauk Przedklinicznych i Chorób Zakaźnych
Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu



PSTRĄG WIELKOPOLSKI

SALMOCROSS – projekt realizowany przez konsorcjum:

1. Gospodarstwo Rybackie PSTRĄG TARNOWO - Ziemowit Pirtań
2. Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie – dr hab. inż. Radosław Kajetan Kowalski
3. Wydział Geografii i Oceanografii Uniwersytetu Gdańskiego - prof. dr hab. inż. Konrad Ocalewicz
4. Gospodarstwo Rolne Hodowla Ryb Łososiowatych
5. Ośrodek Zarybieniowy Czarci Jar



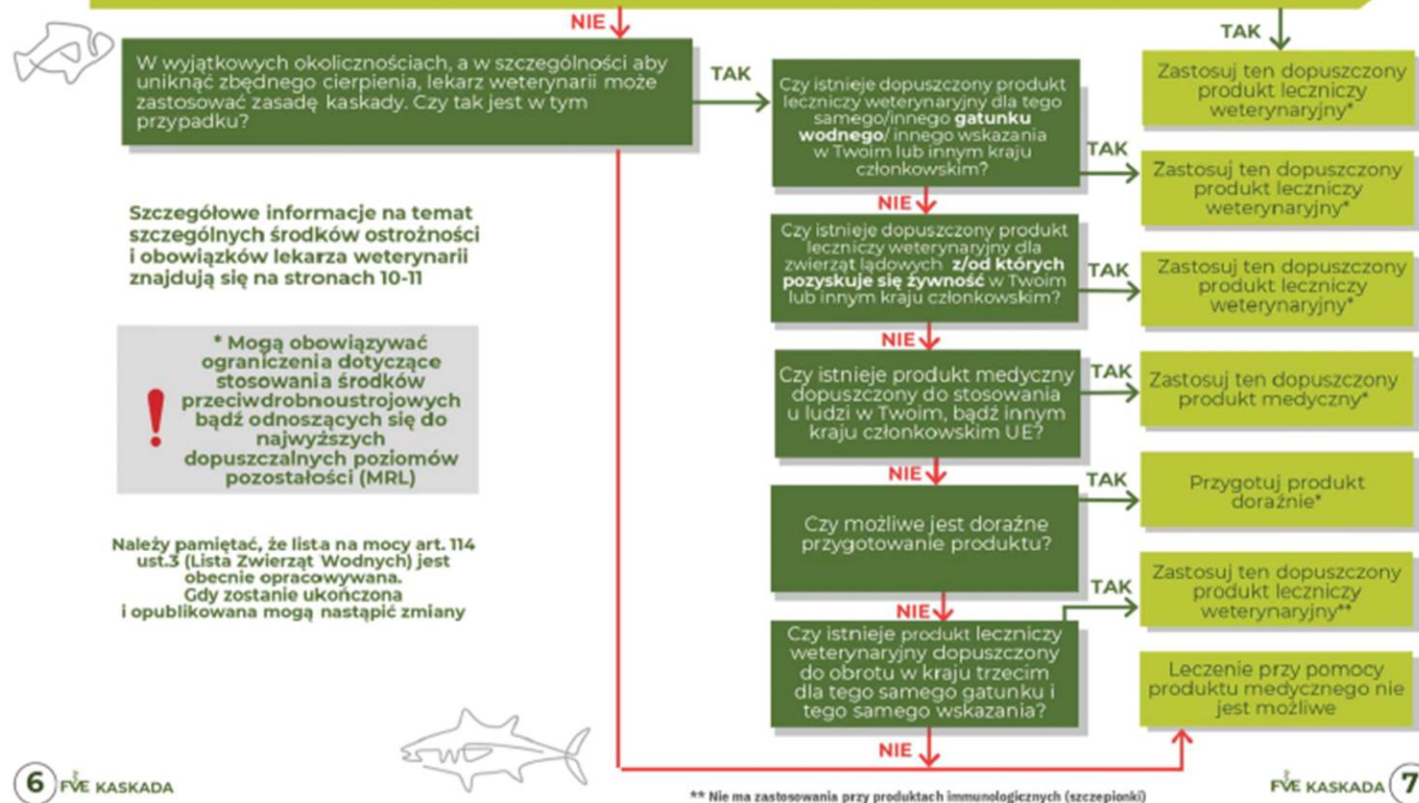
PSTRĄG WIELKOPOLSKI



- Większa podatność na infekcje bakteryjne, w szczególności na *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*
- Konieczność wdrożenia antybiotykoterapii

ZWIERZĘTA WODNE Z/OD KTÓRYCH POZYSKUJE SIĘ ŻYWNÓŚĆ

Czy istnieje produkt leczniczy weterynaryjny dla tego gatunku i wskazania?



Zasady stosowania kaskady

Technika szczepień

Imersja

- masowe szczepienia wylęgu/narybku
- zabieg związany ze stresem manipulacyjnym
- niepewne dawkowanie
- ograniczona penetracja antygeny



Metoda	Czas ekspozycji
zanurzenie	5 – 120 s
kąpiel	1 godz.



H

ŁOSOSIOWATYCH



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Technika szczepień

Iniekcja

- pracochołonna
- obarczona dużym ryzykiem
- najbardziej efektywna (?)
- przeznaczona dla większych ryb, > 20 g

Metoda	Dawka
Iniekcja	Ustalenie dawki iniekcyjnej



Technika szczepień

Szczepienie doustne

- masowe szczepienie ryb
- zabieg bezstresowy
- niepewne dawkowanie
- skuteczność (?)
- metodologia szczepienia (?)

Metoda	Adiuwant	Dawka
Z karmą	Dobór adiuwantu	Ustalenie strategii dawkowania



CEL: opracowanie skutecznej immunizacji ryb

↪ pobudzenie odpowiedzi immunologicznej

↪ wywołanie długotrwałej odporność

OCHRONA przed chorobami



- 1. Wybór patogenu/ów do produkcji szczepionki autogenicznej**
 - badania diagnostyczne ryb
 - stworzenie kolekcji szczepów
- 2. Opracowanie technologii szczepień**
 - opracowanie i zastosowanie szczepionek autogenicznych
- 3. Ocena parametrów immunologicznych (ELISA, miano przeciwciał, challenge)**



Szczepienie pstrąga wielkopolskiego w kąpeli oraz doustnie

Grupy doświadczalne

Grupa badawcza (szczepienie)

n = 30 ryb



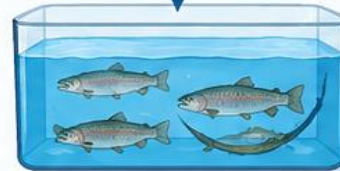
Grupa kontrolna (bez szczepienia)

n = 30 ryb



Przebieg doświadczenia

Dzień 0
Szczepienie w kąpeli

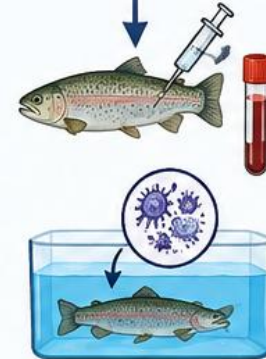


Grupa badawcza – zanurzenie w roztworze szczepionki

Grupa kontrolna – zanurzenie w wodzie bez szczepionki

Po 2 miesiącach

Pobranie krwi i challenge



Po 4 miesiącach

Szczepienie doustne

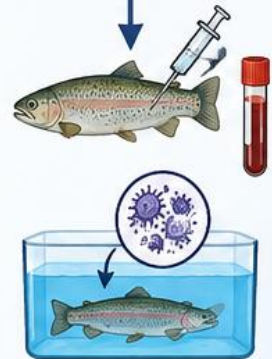


Grupa badawcza – szczepionka doustna

Grupa kontrolna – karma

Po 6 miesiącach

Pobranie krwi i challenge



Szczepienie w kąpeli (dzień 0)



Srupa badawcza (roztwór szczepionki)



Grupa kontrolna (woda bez szczepionki)

Pobranie krwi (po 2 i 6 miesiącach)

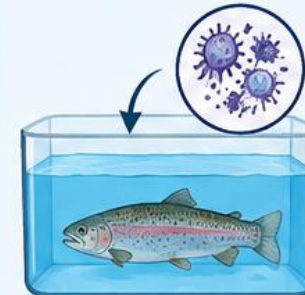


Parametry immunologiczne

- fibryogen
- haptoglobina
- SAA
- CFHL-1
- C1q-LP3
- katelicydyna
- HSP70
- IgM



Challenge



 Grupa: 30 ryb (kontrolna i badawcza)

 Kąpiel: dzień 0

 Krew + challenge: po 2 i 6 miesiącach

 Doustnie: po 4 miesiącach

 Kontrola: karma (po 4 miesiącach)



51. SZKOLNICA
 HODOWŁOŚĆ
 ŁOSI

Technika szczepień

Metoda	Testowane rozcieńczenie szczepionki	Czas ekspozycji	Temperatura wody
Imersja ryba ~ 2,5 g	1:50	60 – 90 s	10 – 12 °C 16 – 18 °C
	1:5000	1 godz.	10 – 12 °C



Technika szczepień

Metoda	Testowane warianty szczepienia	Użyty adiuwant	Temperatura wody
Doustna p.o. Narybek ~ 150-200 g	5 / 5 / 5 5 dni szczepienia / 5 dni przerwy / 5 dni szczepienia	Montanide GR Seppic	12 – 16 °C 8 – 12 °C
	3 / 8 / 3 3 dni szczepienia / 8 dni przerwy / 3 dni szczepienia		
	7 dni szczepienia		



ELISA

Oznaczane parametry immunologiczne

- **białka ostrej fazy (BOF):**
 - **haptoglobina (Hp)**
 - **fibrynogen (Fb)**
 - **surowiczy amyloid A (SAA)**
- **białko podobne do czynnika H układu dopełniacza 1 (CFHL-1)**
- **białko C1q-podobne 3 (C1q-LP3)**
- **katelicydyna**
- **białko szoku cieplnego 70**
- **przeciwciała klasy IgM**
- **kortyzol**



Oznaczane parametry

- **testy challenge**
 - zakażenia eksperymentalne ryb szczepami homologicznymi do szczepów szczepionkowych
- **oznaczenie RPS**
(ang. relative percentage survival)

$$\text{RPS} = 1 - \left[\frac{\% \text{ śmiertelności w grupie doświadczalnej}}{\% \text{ śmiertelności w grupie kontrolnej}} \right] \times 100$$



Oznaczane parametry immunologiczne Imersja (10 – 12°C)

Grupa	Kontrola	1: 50	1:5000
CFHL-1 (Complement Factor H-like protein 1) u ryb to białko, które odgrywa kluczową rolę w regulacji części układu odpornościowego odpowiadającego za reakcje nieswoiste (wrodzone), biorące udział w obronie przed patogenami. CFHL-1 pomaga rozróżniać komórki własne od obcych oraz reguluje odpowiedź immunologiczną.			
CFHL-1 (µg/ml)	4,58	7,77	2,31
C1q-LP3 (ng/ml)	161,55	41,35	175,80
IgM (ng/ml)	13,11	7,29	6,64
SAA (ng/ml)	<1,56	<1,56	<1,56
Katelicydyna (ng/ml)	509,30	1857,66	5414,92

Katelicydyna jest peptydem przeciwdrobnoustrojowym odgrywającym kluczową rolę w odporności wrodzonej, stanowiąc pierwszą linię obrony przed patogenami poprzez niszczenie błon bakteryjnych. Białko to może modulować reakcje immunologiczne.

Oznaczane parametry immunologiczne

Imersja (16 – 18 °C)

	Grupa Kontrolna	1: 50
Parametr	Średnia	Średnia
Haptoglobina (ng/ml)	25,02	<0,625
Fibrynogen (µg/ml)	2962,81	255,57
Immunoglobulina M (IgM) u ryb jest głównym izotypem przeciwciał zarówno w odporności ogólnoustrojowej, jak i śluzówkowej, pełniąc rolę kluczowego składnika zarówno wrodzonych, jak i nabytych mechanizmów obronnych. Zazwyczaj jest to pierwsza klasa przeciwciał wytwarzana w trakcie odpowiedzi immunologicznej		
IgM (ng/ml)	3,26	6,99
SAA (ng/ml)	132,03	15,79
Katelicydyna (ng/ml)	3130,02	<0,625
Białko szoku cieplnego 70 (pg/ml)	37,24	45,03



Oznaczane parametry immunologiczne Szczepienie doustne (8 - 12°C)

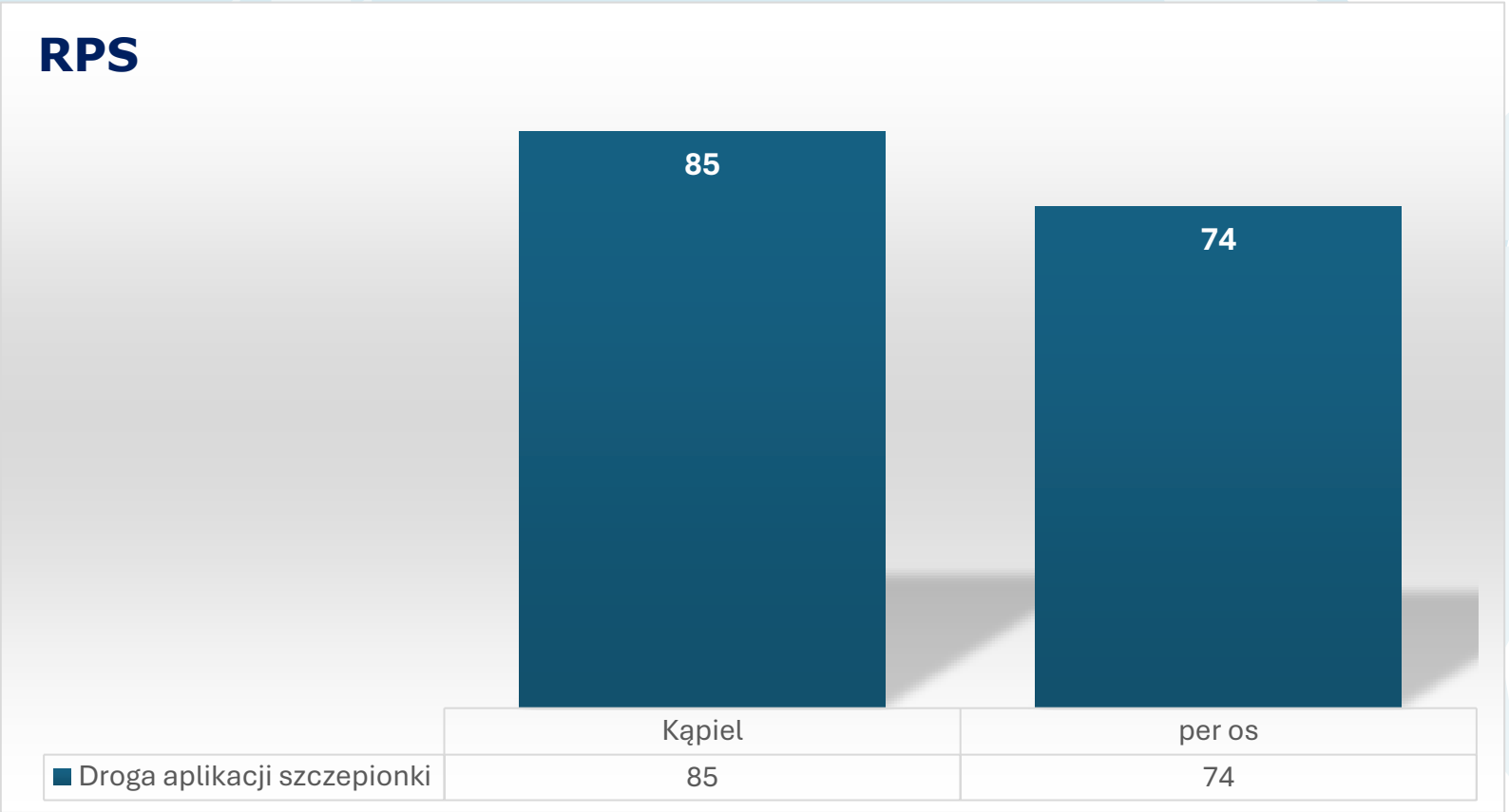
Grupa	Kontrola	5/5/5
Parametr	Średnia	Średnia
Haptoglobina (ng/ml)	281,36	<0.625
Fibrynogen (µg/ml)	4320,40	957,765
CFHL-1 (µg/ml)	20,47	16,09
C1q-LP3 (ng/ml)	32,79	35,11
IgM (ng/ml)	1,36	7,61
SAA (ng/ml)	76,86	45,39
Katelicydyna (ng/ml)	<0,625	88,33
Białko szoku cieplnego 70 (pg/ml)	25,52	43,05



Oznaczane parametry immunologiczne Szczepienie doustne (12 - 16°C)

Grupa	K	5/5/5	3/8/3	7
Parametr	Śr	Śr	Śr	Śr
Haptoglobina (ng/ml)	256,1	73,9	132,3	86,0
Fibrynogen (µg/ml)	55,8	17,1	36,2	27,5
CFHL-1 (µg/ml)	22,2	22,6	24,3	19,0
C1q-LP3 (ng/ml)	22,6	8,5	61,8	115,2
IgM (ng/ml)	23,4	43,5	24,2	35,7
SAA (ng/ml)	4,3	10,8	5,3	5,7
Katelicydyna (ng/ml)	251,1	644,7	483,1	2546,3
Białko szoku cieplnego 70 (pg/ml)	55,1	45,8	46,9	41,8

Zakażenia eksperymentalne



WNIOSKI

- Zauważono korelację pomiędzy temperaturą wody, drogą podania szczepionki, a parametrami układu immunologicznego ryb:
 - imersja: korzystne rozcieńczenie 1:50
CFHL-1 i katelicydyny w temp. 10–12°C
 - doustna: katelicydyny i IgM w temp. 8 – 12°C
potencjał do ustalenia protokołu immunizacji
- Immunizacja doustna w schemacie: 5/5/5 oraz 7



WNIOSKI

- Oznaczanie katecylidyny oraz IgM może mieć znaczenie w określaniu efektywności immunizacji pstrąga wielkopolskiego
- Wskaźnik RPS wskazał bardzo obiecujące wyniki szczepień drogą doustną
- Adiuwant Montanide GR ma potencjał do zastosowania w przygotowaniu szczepionek doustnych dla pstrąga wielkopolskiego





Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

Praca naukowa dofinansowana ze środków budżetu państwa w ramach programu Ministra Edukacji i Nauki pod nazwą „Nauka dla Społeczeństwa II” nr projektu NdS-II/SP/0356/2024/01



51 SZKOLENIE
KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB
ŁOSOSIOWATYCH



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Dziękuję za uwagę

**Podziękowania dla
mgr Izabeli Kucińskiej
dr hab. Marty Rybskiej
mgr Aleksandry Biegniewskiej**



51 SZKOLENIE
KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB
ŁOSOSIOWATYCH



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

