

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΑΛΙΕΙΑΣ &  
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ**



**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Νέες Τάσεις Εμβολιασμού στις Ιχθυοκαλλιέργειες**

**Μαριλένα Μέταϊ (Α.Μ. 12233)**

**Βασίλειος Μεντζάς (Α.Μ. 12232)**

**Εισηγητής: Κωνσταντίνος Πούλος (ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ)**

**ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 2020**

## **ΜΕΛΗ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

- Κανλής Γρηγόρης
- Λογοθέτης Παναγιώτης
- Πούλος Κωνσταντίνος

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε θερμά τον Κ. Πούλο Κωνσταντίνο για την ανάθεση της παρούσας πτυχιακής εργασίας, όπου χωρίς την πολύτιμη βοήθειά του θα ήταν αδύνατη η εκπόνηση της.

Ιδιαίτερα θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τους γονείς μας για την στηρίξη τους και την υπομονή τους για όλα τα χρόνια της φοίτησής μας.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ABSTRACT.....</b>	<b>5</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>5-6</b>
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.1 ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ – ΧΡΗΣΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ.....	7-11
1.2 ΕΙΔΙΚΗ ΚΑΙ ΜΗ ΕΙΔΙΚΗ ΠΡΟΛΗΨΗ .....	12-13
1.3 ΤΑ ΑΝΟΣΟΕΝΙΣΧΥΤΙΚΑ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.....	13-14
1.4 ΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ.....	15
1.5 ΤΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΕΡΑ ΙΧΘΙΟΠΑΘΟΓΟΝΑ.....	16
2. ΕΜΒΟΛΙΑ.....	17
2.1 ΓΕΝΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ .....	17
2.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΒΑΣΗ ΤΩΝ ΕΜΒΟΛΙΩΝ .....	18
2.3 ΤΡΟΠΟΙ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΤΩΝ ΕΜΒΟΛΙΩΝ .....	18-19
2.4 ΚΑΤΑΛΛΗΛΕΣ ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΕΙΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ .....	19-20
2.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΜΒΟΛΙΩΝ.....	20
2.6 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΕΜΒΟΛΙΩΝ DNA ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ.....	20-21
2.7 ΑΥΤΕΜΒΟΛΙΑ.....	22
2.8 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΕΜΒΟΛΙΩΝ.....	22-23
2.9 ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΕΜΒΟΛΙΩΝ.....	23-24
3. ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΕΜΒΟΛΙΩΝ.....	24-25
3.1 ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΤΩΝ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΙΧΘΥΩΝ.....	25
3.1.1 ΔΟΝΑΚΙΩΣΗ.....	25-26
3.1.2 ΕΥΠΑΘΕΙΑ, ΤΡΟΠΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ, ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ .....	26
3.1.3 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ .....	27-28
3.1.4 ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....	28
3.2. ΦΩΤΟΒΑΤΗΡΙΔΙΩΣΗ.....	29
3.2.1. ΕΥΠΑΘΕΙΑ, ΤΡΟΠΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ, ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ.....	29-30

3.2.2 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ.....	30
3.2.3 ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....	30-31
3.3.ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ.....	32
3.3.1 ΔΙΑΓΝΩΣΗ.....	32-33
3.3.2 ΠΡΟΛΗΨΗ.....	33-34
3.4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	34
4 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	35-40

## **ABSTRACT**

For the last 20 years, aquaculture has introduced fish vaccination, which is used to prevent some diseases, in order to avoid high mortality in the population. Initially, an important part of the vaccination chapter is its biological basis, as it is the body's second line of defense and is administered in different ways, depending on the size and age of each individual. Next, the diseases of farmed fish represent a separate and important research field, which concerns the epidemiology of diseases for farmed fish, the analysis of pathogenic microorganisms, the mode of transmission, the clinical manifestations of each disease and the diagnosis. In conclusion, current research activities focus on vaccination as a possible means of control, however, there are primarily a number of factors that need to be addressed to ensure both the prevention and immediate control of diseases that can affect fish.

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Τα τελευταία 20 χρόνια στις υδατοκαλλιέργειες έχει καθιερωθεί ο εμβολιασμός των ψαριών, ο οποίος χρησιμοποιείται για την πρόληψη κάποιων ασθενειών, με σκοπό την αποφυγή μεγάλης θνησιμότητας στον πληθυσμό. Αρχικά, σημαντικό κομμάτι στο κεφάλαιο του εμβολιασμού είναι η βιολογική βάση του, αφού αυτός αποτελεί την δεύτερη γραμμή άμυνας του οργανισμού και χορηγείται με διάφορους τρόπους, ανάλογα με το μέγεθος και την ηλικία του κάθε ατόμου. Στην συνέχεια, οι ασθένειες των καλλιεργούμενων ψαριών αντιπροσωπεύουν ένα ξεχωριστό και σημαντικό ερευνητικό πεδίο, το οποίο αφορά την επιδημιολογία ασθενειών για τα καλλιεργούμενα ψάρια, την ανάλυση παθογόνων μικροοργανισμών, τον τρόπο μετάδοσης, τις κλινικές εκδηλώσεις της κάθε νόσου και την διάγνωση. Εν κατακλείδι, οι τρέχουσες ερευνητικές δραστηριότητες εστιάζουν στον εμβολιασμό ως ένα πιθανό μέσο ελέγχου, ωστόσο, υπάρχει πρωτίστως ένας αριθμός από παράγοντες που πρέπει να αντιμετωπιστούν για να εξασφαλιστούν τόσο η πρόληψη όσο και η άμεση καταπολέμηση των ασθενειών από της οποίες μπορεί να νοσήσουν τα ψάρια.

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ – ΧΡΗΣΗ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΩΝ

Οι αγωγές διακρίνονται σε αντιπαρασιτικές και σε αντιμικροβιακές. Η χρήση των αντιμικροβιακών ουσιών, με κύρια παραδείγματα το οξολινικό οξύ και την οξυτετρακυκλίνη είναι ευρύτατα διαδεδομένη στις ελληνικές ιχθυοκαλλιέργειες για την αντιμετώπιση βακτηριακών συζυμικών νοσημάτων των ευρύαλων ψαριών. Τέλος, οι μέθοδοι χορήγησης αντιμικροβιακών ουσιών είναι η προσθήκη του αντιβιοτικού στην τροφή ή η εμφάνιση του ψαριού σε διάλυμα της ουσίας. Οι κυριότερες μέθοδοι θεραπευτικής αγωγής είναι:

- Θεραπεία εμφάνισης (εξωτερική θεραπεία)
- Συστηματική θεραπεία μέσω της τροφής
- Συνδυασμός θεραπείας εμφάνισης και συστηματική

### ➤ Θεραπεία εμφάνισης

Η επιτυχία της εξαρτάται από τις φυσικοχημικές παραμέτρους του νερού, τη σχέση τοξικότητας/δραστικότητας του φαρμάκου και τη φυσική κατάσταση των ψαριών. Για το σκοπό αυτό ελέγχονται πριν και κατά τη διάρκεια της αγωγής η θερμοκρασία του νερού, η περιεκτικότητά του σε αμμωνία και οξυγόνο, το pH και η σκληρότητα του όπας επίσης και τα διαλυμένα σε αυτό σωματίδια. Για τη μείωση της κατανάλωσης οξυγόνου και της παραγωγής αμμωνίας συστήνεται νηστεία του ιχθυοπληθυσμού για 12-48 ώρες πριν την εφαρμογή της θεραπείας. Η εμφάνιση γίνεται συνήθως τις πρωινές ώρες. Η τοξικότητα εξαρτάται άμεσα από το φάρμακο, τη δοσολογία, τις φυσικοχημικές συνθήκες του νερού και την επιβάρυνση του οργανισμού του ψαριού. Για την αποφυγή λαθών ελέγχεται η κατάσταση των βραγχίων όπου, στην περίπτωση παρασιτισμού, γίνεται κατάλληλη θεραπεία αλλά και υπολογισμοί δόσης φαρμάκων.

Η θεραπεία εμβάπτισης υποδιαιρείται στις ακόλουθες μορφές:

**1.Μπάνιο:** εμβάπτιση σε σταθερό διάλυμα χαμηλής συγκέντρωσης για 30 έως 60 λεπτά.

**2.Παρατεταμένη εμβάπτιση:** εμβάπτιση σε διάλυμα πολύ μικρής πυκνότητας για περίοδο πάνω από 12 ώρες.

**3.Σύντομη εμβάπτιση:** εμβάπτιση σε υψηλής πυκνότητας διάλυμα 1-5 λεπτά.

**4.Έκχυση:** μικρή ποσότητα στερεής χημικής ουσίας τοποθετείται στην είσοδο παροχής νερού για διάλυση της με τη ροή του νερού.

### **Συστηματική θεραπεία**

Η ανάμειξη του φαρμάκου στη τροφή χρησιμοποιείται για θεραπεία συστηματικών βακτηριακών νοσημάτων και παρασιτώσεων του εντέρου. Η εφαρμογή θεραπείας με την τροφή πρέπει να γίνει έγκαιρα πριν τη μείωση της όρεξης που συνοδεύει κάθε ασθένεια. Η θερμοκρασία του νερού επηρεάζει καθοριστικά την απορρόφηση και τον μεταβολισμό του φαρμάκου όπως και την περίοδο παραμονής του στους ιστούς του ψαριού. Για την κλινική επιτυχία της αγωγής η αποστολή δειγμάτων στο εργαστήριο για ταχεία διάγνωση και επιλογή της κατάλληλης φαρμακευτικής ουσίας αποτρέπει την ανάπτυξη ανθεκτικότητας. Η χρήση αντιβιοτικών συχνά είναι αλόγιστη με αποτέλεσμα την αποτυχία των διάφορων θεραπευτικών αγωγών.

Μερικά από τα κυριότερα αίτια που οδηγούν σε αποτυχία της θεραπευτικής αγωγής είναι τα ακόλουθα: η λανθασμένη επιλογή αντιβιοτικού και η ανάπτυξη ανθεκτικότητας, η χαμηλή δοσολογία, η ανεπαρκής ανάμειξη του αντιβιοτικού στην τροφή που οδηγεί σε ανομοιογενή κατανομή του αντιβιοτικού στον ιχθυοπληθυσμό και λήψη μικρότερης από την επιβαλλόμενη ποσότητα αντιβιοτικού από πολλά ψάρια. Μείωση της όρεξης λόγω της εκδήλωσης της ασθένειας, λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας ή λόγω καθυστερημένης διάγνωσης και εντόπιση, των βακτηρίων σε δυσπρόσιτους ιστούς (μακροφάγα, νεκρωτικές αλλοιώσεις) καθιστούν δύσκολη, αν όχι αδύνατη, την αποτελεσματική θεραπεία. Παράγοντες όπως η ανάμειξη διαφόρων



ηλικιών, η παρουσία άγριου ιχθυοπληθυσμού- φορέα του παθογόνου παράγοντα, η μεταφορά εργαλείων, η επανακυκλοφορία της εκροής στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς και η ύπαρξη ψαριών- φορέων αυξάνουν τις πιθανότητες επαναμόλυνσης. Λεπτομερή αρχεία περιστατικών θανάτων και θεραπευτικών αγωγών θα πρέπει να τηρούνται από τον υπεύθυνο κάθε μονάδας. Η επιλογή της κατάλληλης θεραπείας εξαρτάται από το σύστημα παραγωγής ενώ το κόστος της θεραπευτικής αγωγής αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες για την τελική επιτυχία.

Ασθένειες ψαριών και αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται

ΑΣΘΕΝΕΙΑ	ANTIBIOTIKO	ΤΡΟΠΟΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ
Coldwater disease	<b>1.Oxytetracycline</b> <b>2.Sulphonamides (sulphisoxazole , Sulphamerazine, Sulphamethazine)</b>	<b>→50-75 mg/kg of fish/day for 10 days</b>  <b>→100-200mg/kg of fish/day for 10-20 days</b>
Columnaris disease	<b>1.Oxytetracycline</b> <b>2.Sulphonamides (sulphisoxazole , Sulphamerazine, Sulphamethazine)</b>	<b>→50-75 mg/kg of fish/day for 10 days</b>  <b>→100-200mg/kg of fish/day for 10-20 days</b>
Saltwater columnaris	<b>1.Oxytetracycline</b>	<b>→50-75 mg/kg of fish/day for 10 days</b>
Emphysematous putrefactive disease(EPD)	<b>1.Oxytetracycline</b>	<b>→50-75 mg/kg of fish/day for 10 days</b>
Enteric septicaemia(ESC)	<b>1.Oxytetracycline</b> <b>2.Polymyxin B Nonapeptide</b> <b>3.Potentiated Sulphonamide</b> <b>4. Sulphonamides</b> <b>5. Tetracycline</b>	<b>→50-75 mg/kg of fish/day for 10 days</b> <b>→8-20 mg/kg of fish/day for 1-2 days</b> <b>→30mg/kg of fish/day for 10 days</b> <b>→100-200mg/kg of fish/day for 10-20d</b> <b>→75-100mg/kg of fish/day for 10-140 days</b>
Fin rot	<b>1.Oxytetracycline</b>	<b>→50-75 mg/kg of fish/day for 10 days</b>

Gill disease(BGD)		1.Oxytetracycline	→50-75 mg/kg of fish/day for 10 days
Enteric Redmouth disease(ERM)		1.Oxytetracycline 2. Potentiated Sulphonamide 3. Sulphonamides 4. Tiamulin	→50-75 mg/kg of fish/day for 10 days →30mg/kg of fish/day for 10 days →100-200mg/kg of fish/day for 10-20d →5mg/kg of fish/day for 14 days
RTFS BKD		1.Oxytetracycline	→50-75 mg/kg of fish/day for 10 days
Bacterial Kidney disease(BKD)		1.Penicillin G 2. Sulphonamides	→75-100mg/kg of fish/day for 10-21 days →100-200mg/kg of fish/day for 10-20d
Mycobacteriosis		1.Streptomycin 2.Sulphonamides sulphisoxazole, Sulphamerazine, Sulphamethazine)	→50-75mg/kg of fish/day for 5-10 days  →100-200mg/kg of fish/day for 10-20 days
Vibriosis		1.Potentiated Sulphonamide 2.Sulphonamides	→30mg/kg of fish/day for 10 days →100-200mg/kg of fish/day for 10-20 days
Streptococciosis		1.Oxytetracycline 2.Sodium nifurstyrenate 3. Tetracycline	→50-75 mg/kg of fish/day for 10 days →50mg/kg of fish/day for 3-5 days →75-100mg/kg of fish/day for 10-140 days

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΨΑΡΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

## **1.2 ΕΙΔΙΚΗ ΚΑΙ ΜΗ ΕΙΔΙΚΗ ΠΡΟΛΗΨΗ**

### **Συνθήκες εκτροφής**

Η μη ειδική πρόληψη αποτέλεσε αντικείμενο έντονου ενδιαφέροντος τα τελευταία χρόνια. Υψηλές ιχθυοφορτίσεις, ανεπαρκές τάισμα και συχνή αδυναμία/αποφυγή απομάκρυνσης νεκρών ψαριών βελτιστοποίησαν τις συνθήκες ανάπτυξης για μικροοργανισμούς. Επιπρόσθετα, ψάρια τα οποία στρεσάρονται κατ' αυτό τον τρόπο είναι πιο ευαίσθητα στις ασθένειες. Η διατήρηση χαμηλών ιχθυοφορτίσεων, η συχνή απομάκρυνση των νεκρών ψαριών, που σε περιόδους ασθeneιών θα πρέπει να είναι καθημερινή, αποτελούν τις πλέον συνήθεις μεθόδους βελτίωσης των συνθηκών εκτροφής.

### **Βελτίωση τροφών- χρήση ανοσοενισχυτικών**

Οι ιχθυοτροφές συμβάλλουν κι αυτές στην καλή κατάσταση των υδρόβιων ζώων και κατ' επέκταση, στην ανθεκτικότητα απέναντι στις ασθένειες. Εκτός της βελτίωσης των τροφών όσον αφορά τα βασικά συστατικά, έχουν δημιουργηθεί ιχθυοτροφές με ποικίλες συγκεντρώσεις σιδήρου και λιπαρών οξέων. Μη ειδικές ανοσοενισχυτικές ουσίες όπως οι βήτα γλυκάνες έχουν δείξει ότι έχουν θετική επίδραση στη γενική αντίσταση στις ασθένειες και καινούρια προϊόντα αναμένεται να προστεθούν τα επόμενα χρόνια. Είναι γεγονός ότι τα ψάρια που τρέφονται με μια ισορροπημένη τροφή είναι λιγότερο ευαίσθητα από αυτά που τρέφονται με μια τροφή λιγότερο ισορροπημένη.

### **Γενική ανθεκτικότητα**

Έρευνες έχουν καταδείξει ότι υπάρχει ένας γενετικός παράγοντας που εμπλέκεται στην ανθεκτικότητα έναντι των ασθeneιών. Παραμένει όμως αναπάντητο το ερώτημα εάν τα ψάρια που είναι ανθεκτικά σε μια ασθένεια, είναι ανθεκτικά και σε άλλες ασθένειες και κατά πόσο η ανθεκτικότητα στις ασθένειες είναι δυνατόν να επιδρά αρνητικά σε άλλες επιθυμητές ιδιότητες των εκτρεφόμενων οργανισμών, όπως η ανάπτυξη, η μετατρεψιμότητα των τροφών κ.λπ.

## **ΕΙΔΙΚΗ ΠΡΟΛΗΨΗ**

### **Εμβολιασμός**

Ένα από τα πλέον επιτυχή μέτρα στη πρόληψη των ασθενειών είναι η εφαρμογή εμβολιακών προγραμμάτων. Οι περιορισμοί του εμβολιασμού σε σχέση με τις μη ειδικές μεθόδους πρόληψης είναι ο περιορισμένος αριθμός ασθενειών για τις οποίες έχουν αναπτυχθεί εμβόλια. Ο εμβολιασμός εφαρμόζεται με διάφορους τρόπους, με ένεση, με εμβάπτιση, με ψεκάσμο ή με χορήγηση δια του στόματος. Η αποτελεσματικότητα του εμβολιασμού επηρεάζεται από την ποιότητα του εμβολίου, την ικανότητα των ψαριών να αναπτύξουν ανοσία και τις συνθήκες κάτω από τις οποίες εκτελείται ο εμβολιασμός.

Στην Ελλάδα έχει ήδη αρχίσει να εφαρμόζεται σε ευρεία κλίμακα στην πράξη η εφαρμογή εμβολιακών προγραμμάτων που περιλαμβάνουν εμβολιασμούς τόσο στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς όσο και επανεμβολιασμούς στις μονάδες πάχυνσης.

Υπάρχουν διάφορα εμβολιακά προγράμματα, αλλά οι παραγωγοί θα πρέπει να επιλέγουν αυτά τα οποία είναι κατάλληλα για τις συνθήκες διαχείρισης που εφαρμόζουν και κυρίως αυτά τα οποία έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά στην πράξη. Θα πρέπει να τονιστεί ότι η εφαρμογή των εμβολιασμών σε άλλες ιχθυοκαλλιεργητικές χώρες έχει δείξει ότι η ισχυρότερη και μεγαλύτερη σε διάρκεια προστασία επιτυγχάνεται με τη χορήγηση των εμβολίων δια της ενέσιμης οδού και ιδιαίτερα όταν συνδυάζεται με εμβόλια ελαιώδους σύστασης.

### **1.3 ΤΑ ΑΝΟΣΟΕΝΙΣΧΥΤΙΚΑ ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ**

Πρόκειται για ουσίες που χορηγούνται μαζί με τα αντιγόνα στα εμβόλια χώρα και οι οποίες, χωρίς να είναι ειδικές, ενισχύουν τροποποιούν την ανοσοαντίδραση του συγκεκριμένου αντιγόνου (Raa, 2000). Είναι ουσίες που ενισχύουν σε μεγάλο βαθμό την ανταπόκριση του σώματος στα εμβόλια και είναι ουσιώδεις εάν επιζητείται να εδραιωθεί 24 μακράς διάρκειας ανοσολογική μνήμη σε διαλυτά αντιγόνα. Έτσι επιτυγχάνεται πιο δραστική χημική κυτταρική ανοσία απ' ότι αν το αντιγόνο ήταν

μόνο του. Βρίσκουν εφαρμογή στην ενεργητική ανοσοποίηση με αδρανοποιημένα εμβόλια στις τροφές. Συνήθως, τα ελεύθερα αντιγόνα απορροφώνται γρήγορα από τους γύρω ιστούς και καταστρέφονται από τα μακροφάγα, πολλές φορές πριν προλάβουν να διεγείρουν ανοσοαντίδραση. αποφυγή της ταχείας απορρόφησης βρέθηκε ότι επιτυγχάνεται με τη χρήση ουσιών που συμπεριφέρονται ως μακράς διάρκειας αποθήκες αντιγόνων (Anderson, 1992). Τα ανοσοενισχυτικά δρουν κατά διαφόρους τρόπους. Τα στερεά ανοσοενισχυτικά προστατεύουν τα αντιγόνα από τη γρήγορη αποδόμηση και έτσι παρατείνουν τη δράση των αντιγόνων που περιέχουν (Thompson et al., 1993). Η χρήση των ανοσοενισχυτικών στην εκτροφή των υδρόβιων οργανισμών για την πρόληψη των ασθενειών είναι μια ελπιδοφόρος νέα ανάπτυξη αλλά ταυτόχρονα και μια επιτακτική ανάγκη. αλόγιστη χρήση αντιβιοτικών έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη ανθεκτικών προς αυτά βακτηριακών στελεχών, με συνέπεια τη μειωμένη αποτελεσματικότητά τους. Έτσι, έχουν αρχίσει ήδη έρευνες που μελετούν τις θεραπευτικές ιδιότητες ουσιών διαφορετικής φύσεως από αυτήν των κοινών μέχρι τώρα φαρμάκων. Γενικά, τα ανοσοενισχυτικά περιλαμβάνουν μια ομάδα βιολογικών και συνθετικών ενώσεων που ενισχύουν τους μη ειδικούς αμυντικούς μηχανισμούς στους υδρόβιους οργανισμούς (Sivicki et al., 1994).

Τα πιο ευρέως Χρησιμοποιημένα είναι τα εξής:

Βιταμίνες

Προβιοτικά

Πρεβιοτικά Αιθέρια έλαια,

εκχυλίσματα βοτάνων και φύκη

#### 1.4 ΤΟ ΑΝΟΣΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ

Το ανοσοποιητικό σύστημα των ψαριών χαρακτηρίζεται από την έμφυτη, φυσική ή μη ειδική άμυνα και την επίκτητη ή ειδική άμυνα. Την πρώτη διαθέτουν όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων και των ψαριών, εκ γενετής και απαρτίζεται από κυτταρικά και χημικά συστατικά, ενώ η δεύτερη σχετίζεται με την παραγωγή αντισωμάτων μέσω μιας ειδικής αναγνώρισης των διαφόρων αντιγόνων και περιλαμβάνει και ορισμένα κυτταρικά στοιχεία. Η σημασία αυτών των δυο συστημάτων μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την ηλικία των ψαριών και επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες. Στους τελεόστεους ιχθύες, το ανοσοποιητικό σύστημα συντίθεται από υποπληθυσμούς των λευκοκυττάρων, που περιλαμβάνουν τα Β και Τ λεμφοκύτταρα, τα κοκκιοκύτταρα, τα θρομβοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα μη ειδικά κυτταροτοξικά κύτταρα (Olabuenaga 2000).

Η αντίσταση σε μια αρχική μόλυνση και η ανάρρωση από αυτήν, στα ψάρια, είναι το αποτέλεσμα μιας συνθέτης αλληλεπίδρασης μεταξύ μη ειδικών και ειδικών αμυντικών μηχανισμών. Η επίκτητη ανοσία σε επαναμολύνσεις πραγματοποιείται μέσω λεμφοκυττάρων και επιτυγχάνεται κυρίως μέσω αντισωμάτων, τα οποία μπορούν να εξουδετερώσουν ιούς, να διευκολύνουν τη φαγοκυττάρωση των παθογόνων μικροοργανισμών μέσω της δράσης των οψονινών και να ενεργοποιήσουν το συμπλήρωμα μέσω της κλασικής οδού (Sakai 1984). Μόνο μια κλάση αντισωμάτων έχει βρεθεί στους τελεόστεους ιχθύες, που αντιστοιχεί στην IgM κλάση των θηλαστικών (Dorson 1981, Ellis 1989). Η IgM των ψαριών είναι συνήθως τετραμερής, αντίθετα προς την πενταμερή δομή της IgM των θηλαστικών. Ο ρόλος των αντισωμάτων των ψαριών στην ανάρρωση από τις διάφορες ασθένειες δεν έχει μελετηθεί σε βάθος, ωστόσο μέσω των εμβολιασμών μπορούμε να πετύχουμε υψηλές τιμές εξουδετερωτικών ή συγκολλητικών αντισωμάτων, που παρέχουν πλήρη προστασία απέναντι σε ορισμένες λοιμώξεις (Ellis 1989).

## 1.5 ΤΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΤΕΡΑ ΙΧΘΥΟΠΑΘΟΓΟΝΑ

Η γνώση της ιχθυοπαθολογίας είναι απαραίτητη για την αντιμετώπιση των παθολογικών προβλημάτων που παρατηρούνται στην ελεγχόμενη ιχθυοκαλλιέργεια, αλλά και για την προστασία της δημόσιας υγείας από τα νοσήματα των ψαριών που μεταδίδονται στον άνθρωπο. Τα νοσήματα που είναι περισσότερο γνωστά και έχουν καλύτερα μελετηθεί, είναι αυτά που προσβάλλουν ψάρια εκτροφής, διότι τα ψάρια αυτά εξαιτίας της μεγάλης ιχθυοπυκνότητας, τα διάφορα νοσήματα εμφανίζονται σε μεγαλύτερη ένταση και μπορούν καλύτερα να μελετηθούν οι διάφορες φάσεις τους (εμφάνιση, αιτιολογία, πρόληψη κ.λ.π.). Θα περιοριστούμε κυρίως στα νοσήματα εκείνα που προκαλούν σοβαρές απώλειες στην οργανωμένη ιχθυοκαλλιέργεια.

Τα νοσήματα των ψαριών τα διακρίνουμε ανάλογα με τα αίτια που τα προκαλούν, ως εξής:

(α) Νοσήματα από ιούς

(β) Νοσήματα από βακτήρια

Τα νοσήματα των ψαριών που οφείλονται σε ιούς (ιώσεις) θεωρούνται και τα πιο επικίνδυνα για την οργανωμένη ιχθυοκαλλιέργεια, εξαιτίας των μεγάλων απωλειών που συνήθως προκαλούν στα εκτρεφόμενα ψάρια, αδυναμίας αντιμετώπισης τους με τα συνήθη θεραπευτικά μέσα, της ευκολίας με την οποία μεταδίδονται και της δυσκολίας για την ριζική αντιμετώπιση τους, όταν εμφανιστούν σε μια εκτροφή.

Τα ψάρια πολύ συχνά προσβάλλονται από νοσήματα που οφείλονται σε βακτήρια. Τα νοσήματα αυτά, παρόλο που σήμερα αντιμετωπίζονται με τα διάφορα αντιμικροβιακά ιδιοσκευάσματα, αποτελούν για την εντατική ιχθυοκαλλιέργεια μια διαρκή απειλή. Σε περίπτωση που τα ψάρια διαθέτουν υγιεινή κατάσταση τα βακτήρια συμπεριφέρονται ως σαπρόφυτα, αν όμως τα ψάρια υποστούν οποιαδήποτε ταλαιπωρία από αίτια του περιβάλλοντος, διατροφής κ.λ.π. μπορούν να προκαλέσουν παθολογικές καταστάσεις με σοβαρές συνέπειες για την εκτροφή.



## **2. ΕΜΒΟΛΙΑ**

### **2.1 ΓΕΝΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ**

Κάθε εμβολιασμός που εφαρμόζεται στα ψάρια πρέπει να διέπεται από κάποιες βασικές αρχές. Έτσι, ο εμβολιασμός πρέπει να γίνεται μόνο σε υγιή ψάρια, τα οποία δεν βρίσκονται σε κατάσταση καταπόνησης. Ψάρια τα οποία υποφέρουν από κάποιο νόσημα ή υπέστησαν πρόσφατα διάφορους χειρισμούς δεν ενδείκνυται να εμβολιάζονται. Πριν τον εμβολιασμό τα ψάρια πρέπει να στερούνται της τροφής έτσι ώστε ο πεπτικός σωλήνας να είναι άδειος. Με τη νηστεία πετυχαίνουμε τη μείωση της καταπόνησης των ψαριών λόγω των χειρισμών και της καλύτερης ανταπόκρισης στα αναισθητικά. Επιπρόσθετα, ο εμβολιασμός πρέπει να γίνεται σε υγιές περιβάλλον, να αποφεύγεται η έκθεση των ψαριών σε νοσήματα και η μετακίνηση τους σε δυνητικά παθογόνο περιβάλλον για περίπου δυο εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό, όταν η θερμοκρασία του νερού κυμαίνεται γύρω στους 15 ° C. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες νερού, απαιτείται μικρότερο χρονικό διάστημα για την εγκατάσταση της ανοσίας (Varvarigos 2003). Κύριο ρόλο για την εφαρμογή της οποιασδήποτε της θεραπευτικής αγωγής, έχει η σωστή και η έγκυρη διάγνωση και συνταγή από κτηνίατρο ιχθυοπαθολόγο. Αρχικά, θα πρέπει να εξεταστεί η φυσική κατάσταση των ψαριών και θα πρέπει να εκτιμηθεί η πρωτογενής ή δευτερογενής σημασία του παθολογικού παράγοντα.

## 2.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΒΑΣΗ ΤΩΝ ΕΜΒΟΛΙΩΝ

Τα εμβόλια ανήκουν στην δεύτερη γραμμή άμυνας και αποτελούν τα βιολογικά προϊόντα, τα οποία προκαλούν προληπτική αύξηση της ανοσίας ενάντιων κάποιων συγκεκριμένων βακτηρίων και ιών. Είναι συνήθως υγρό εναιώρημα ζωντανών ή νεκρών παθογόνων μικροοργανισμών μετά από ειδική επεξεργασία, που όταν προσλαμβάνεται από τον οργανισμό των ψαριών διεγείρει το ανοσοποιητικό τους σύστημα. Η ανοσογονικότητα του εμβολίου εμπλέκει συνήθως την μέτρηση ειδικών τίτλων αντισωμάτων στο αίμα. Για κάποια, αλλά όχι για όλα τα εμβόλια, ένα καθορισμένο όριο με τα επίπεδα των αντισωμάτων έχει συσχετιστεί με την προστασία (Pulendran et al., 2010). Συνήθως όμως, δεν είναι σε θέση να παρέχουν προστασία από μόνα τους, ειδικά τα εμβόλια εκείνα που βασίζονται σε ανασυνδυασμένα ή αδρανοποιημένα αντιγόνα. Γενικά, ο σχεδιασμός ενός εμβολίου αποτελείται από δύο συστατικά, ένα τμήμα που διεγείρει την προσαρμοζόμενη ανοσολογική απόκριση και ένα μη ειδικό στοιχείο που προκαλεί έμφυτες ανοσοαποκρίσεις. Το συγκεκριμένο τμήμα παρέχεται από τα αντιγονικά συστατικά των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή εμβολίου, ενώ το μη εξειδικευμένο τμήμα παρέχεται από ανοσοενισχυτικά. Για να καθοριστεί καλή ανοσολογική μνήμη και για να καλύψει την περίοδο στην οποία η ευπάθεια του ψαριού στην ασθένεια είναι υψηλότερη, μια αναμνηστική δόση του εμβολίου είναι απαραίτητη.

## 2.3 ΤΡΟΠΟΙ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΤΩΝ ΕΜΒΟΛΙΩΝ

Η χορήγηση των εμβολίων στα ψάρια μπορεί να γίνει με διάφορες μεθόδους, από τις οποίες οι κυριότερες είναι με ένεση, με εμβάπτιση ή με χορήγηση από το στόμα. Οι μέθοδοι αυτοί διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την καταπόνηση (stress) και τους χειρισμούς που υφίστανται τα ψάρια κατά την εφαρμογή των εμβολιασμών, καθώς και ως προς τον χρόνο και την εργασία που απαιτείται για την εφαρμογή τους. **Η χορήγηση εμβολίων από το στόμα**, με αντιγόνο που ενσωματώνεται στην τροφή, ήταν η ιδανική μέθοδος για τον εμβολιασμό των ψαριών και σήμερα έχουν ήδη

αναπτυχθεί τέτοια εμβόλια. Παρ' όλα αυτά, η μέθοδος αυτή έχει το εξής μειονέκτημα: ο βαθμός προστασίας που επιτυγχάνεται είναι μικρός και η ενσωμάτωση του εμβολίου στην τροφή είναι ακριβή και καταναλώνει μεγαλύτερη ποσότητα εμβολίου σε σχέση με τις μεθόδους της εμβάπτισης και της ένεσης (Press and Lillehaug 1995). Όσον αφορά **την μέθοδο της εμβάπτισης**, είναι μέθοδος εκλογής για τα ιχθύδια μικρού βάρους 1g έως 30g. Τα ψάρια ήδη από το βάρος 1 γραμμαρίου έχουν αναπτύξει ικανοποιητικά το ανοσοποιητικό τους σύστημα ώστε να μπορεί να αξιοποιεί τα αντιγόνα του εμβολίου παράγοντας ειδικά αντισώματα. Το εμβόλιο διαλύεται σε αναλογία 1/10 και τα ψάρια μετά από 24ωρη τουλάχιστον νηστεία εμβαπτίζονται για 30 sec. Τέλος, **η μέθοδος της ενδοπεριτοναϊκής έκχυσης (ένεση)**, πραγματοποιείται σε ψάρια >30g, όπου αναισθητοποιούνται μέχρι αναισθησίας και το εμβόλιο εγχύεται αδιάλυτο ενδοπεριτοναϊκά σε δόση 0,1 ml. Το σημείο της ένεσης βρίσκεται στην κοιλιακή χώρα, στο μέσο μεταξύ έδρας και κοιλιακών πτερυγίων. Χρησιμοποιούνται αυτόματες επαναληπτικές σύριγγες των οποίων η βελόνη εισέρχεται στην περιτοναϊκή κοιλότητα υπό γωνία 45° και μέχρι βάθους 0,5 cm.

#### **2.4 ΚΑΤΑΛΛΗΛΕΣ ΠΡΟΥΠΟΘΕΣΕΙΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΥ**

Οι προϋποθέσεις για έναν εμβολιασμό ξεκινάνε αρχικά από την προετοιμασία της παραλαβής του εμβολίου. Πιο συγκεκριμένα, φροντίζουμε την θερμοκρασία να διατηρείται 2 και 8°C, έλεγχος εάν ο τύπος και η ποσότητα του εμβολίου είναι σωστά, καθώς και την ημερομηνία λήξης, τον κωδικό παρτίδας και το έντυπο παραλαβής εμβολίου. Στην συνέχεια, απαραίτητος έλεγχος για εμβόλιο και ψάρια αφορά το εμβόλιο να παραμένει ομογενοποιημένο σε θερμοκρασία δωματίου κατά την νύχτα, θερμοκρασίες μεταξύ 15-20°C είναι ιδανικές για ένεση. Όχι παραπάνω από τη φυσιολογική θερμοκρασία δωματίου ή κάτω από 2°C. Προστασία του εμβολίου από τις υψηλές θερμοκρασίες και την άμεση έκθεση στο ηλιακό φως. Στο κομμάτι των ψαριών καλείται να γίνει διαλογή λίγο πριν τον εμβολιασμό με ελάχιστο βάρος 15 γραμμαρίων και με την καλύτερη δυνατή υγεία. Τέλος, σημαντικό είναι να έχει διατηρηθεί 24ωρη νηστεία. Οι θερμοκρασίες κυμαίνονται κατά τη θερινή περίοδο (>19°C) και 2-3 μέρες πριν τον εμβολιασμό κατά την χειμερινή περίοδο <18°C. Για την προετοιμασία του περιβάλλοντος και του εξοπλισμού απαιτείται προσοχή στην θερμοκρασία του νερού (αποφυγή υψηλών θερμοκρασιών και της μεγάλης διαφοροποίησής της πριν, κατά και μετά τον εμβολιασμό). Η δόση εμβολίου,

μηχανές εμβολιασμού και άλλος εξοπλισμός απαιτούν καθαριότητα και χειρισμό από ειδικούς για την αποφυγή βλάβης των ψαριών.

## 2.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΜΒΟΛΙΩΝ

Η αποτελεσματικότητα των εμβολίων αναγνωρίζεται μόνο με την εκατοστιαία επιβίωση (relative percent survival= rps), σύμφωνα με την εξίσωση :

$$Rps = 1 - \frac{\% \text{ επιβίωση εμβολιασμένων ψαριών}}{\% \text{ επιβίωση μη εμβολιασμένων ψαριών}} * 100\%$$

Σύμφωνα με την σχέση αυτή ένας εμβολιασμός θεωρείται επιτυχημένος όταν το αποτέλεσμα έχει ως εξής : **Rps > 80-85 %.**

## 2.6 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΕΜΒΟΛΙΩΝ DNA ΣΤΙΣ ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

Η βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας πρέπει να αυξήσει την παγκόσμια παραγωγή και αποτελεσματικότητά της για να καλύψει τις αυξανόμενες ανάγκες των καταναλωτών για προϊόντα ψαριών και οστρακοειδών. Δυστυχώς, οι μολυσματικές ασθένειες αποτέλεσαν σημαντικό εμπόδιο για την ανάπτυξη και την αποδοτικότητα των ιχθυοτροφείων. Ενώ τα εμβόλια προσφέρουν τον πιο αποτελεσματικό τρόπο για τον έλεγχο των μολυσματικών παθογόνων, τα τρέχοντα προϊόντα ήταν επιτυχημένα μόνο έναντι ορισμένων ασθενειών. Αυτές είναι κυρίως βακτηριακές και εξακολουθούν να υπάρχουν πολλές σημαντικές ασθένειες, κυρίως ιικής και παρασιτικής προέλευσης, για τις οποίες δεν υπάρχει προφυλακτική θεραπεία. Τα εμβόλια DNA, σε σύγκριση με

τα παραδοσιακά εμβόλια αντιγόνου, έχουν αρκετά πρακτικά και ανοσολογικά πλεονεκτήματα που τα καθιστούν πολύ ελκυστικά για τη βιομηχανία υδατοκαλλιέργειας. Η πρώιμη επιτυχία των εμβολίων DNA σε ζωικά μοντέλα ήταν πολύ ενθαρρυντική, αλλά τα ψάρια είναι μοναδικά από πολλές απόψεις, και ευρήματα με άλλες κατηγορίες σπονδυλωτών, δηλαδή θηλαστικά και πουλιά, δεν ισχύουν απαραίτητα για υδρόβια ζώα. Ωστόσο, πιο πρόσφατες μελέτες με γονίδια αναφοράς έδειξαν ότι τα κύτταρα ψαριών εκφράζουν αποτελεσματικά ξένες πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από ευκαρυωτικούς φορείς έκφρασης. Ένας φορέας ραχοκοκαλιάς ειδικά για την πισκίνη μπορεί τελικά να βελτιώσει την ανοσοαπόκριση στα εμβόλια DNA, αλλά υπάρχουν ήδη ισχυρές άμεσες ενδείξεις για την πρόκληση προστατευτικής ανοσίας με τα διαθέσιμα σήμερα πλασμίδια. Οι ανοσοαποκρίσεις στο πλασμίδιο DNA που εγχέεται ενδομυϊκά (IM) σε ψάρια χαρακτηρίζονται από την παραγωγή αντισωμάτων, τα οποία έχουν αποδειχθεί ότι εξουδετερώνουν σε δύο διαφορετικά μοντέλα ιογενών νόσων. Υπάρχουν επίσης έμμεσες ενδείξεις που υποδηλώνουν την πρόκληση ανοσίας μέσω κυττάρων. Παρά τα στοιχεία αυτά, Οι ανοσολογικές αποκρίσεις στα εμβόλια DNA έχουν χαρακτηριστεί ελάχιστα στα ψάρια λόγω της περιορισμένης γνώσης του ανοσοποιητικού συστήματος της πισκίνης και του μικρού αριθμού μελετών για το θέμα. Εκτός από τη βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητας των εμβολίων DNA, άλλα σημαντικά ζητήματα, όπως η ασφάλεια και το κόστος παραγωγής θα είναι καθοριστικοί παράγοντες για την πιθανή εφαρμογή αυτής της τεχνολογίας σε εμπορικές ιχθυοκαλλιέργειες. Θα πρέπει επίσης να αναπτυχθούν εναλλακτικές μέθοδοι χορήγησης για μικρά ψάρια και είδη χαμηλής αξίας, για τα οποία η ένεση IM δεν είναι πρακτική και / ή οικονομικά αποδοτική. όπως η ασφάλεια και το κόστος παραγωγής θα είναι καθοριστικοί παράγοντες για την πιθανή εφαρμογή αυτής της τεχνολογίας σε εμπορικές ιχθυοκαλλιέργειες. Θα πρέπει επίσης να αναπτυχθούν εναλλακτικές μέθοδοι χορήγησης για μικρά ψάρια και είδη χαμηλής αξίας, για τα οποία η ένεση IM δεν είναι πρακτική και / ή οικονομικά αποδοτική.

## 2.7 ΑΥΤΕΜΒΟΛΙΑ

Οι βακτηριακές ασθένειες αποτελούν έναν από τους βασικούς ζημιογόνους παράγοντες στις υδατοκαλλιέργειες. Στην αγορά διατίθενται εμβόλια για κάποια από τα κυριότερα παθογόνα των καλλιεργούμενων ψαριών όπως το *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* (παστερέλλωση), *Vibrio anguillarum* (δονακίωση), *Aeromonas salmonicida* (furunculosis), ωστόσο η πλειονότητα των βακτηριακών ασθενειών αντιμετωπίζεται με αντιβιοτικά. Εναλλακτικά, η χρήση αυτεμβολίων μπορεί να αντισταθμίσει το αυξημένο κόστος παραγωγής ενός νέου εμβολίου, το χρονοβόρο της διαδικασίας καθώς και τις ανεπιθύμητες επιπτώσεις από τη χρήση αντιβιοτικών (ανθεκτικότητα βακτηρίων, διαταραχή μικροβιακής χλωρίδας του περιβάλλοντος). Συγκριτικά με τα εμπορικά εμβόλια, τα αυτεμβόλια παράγονται για το συγκεκριμένο στέλεχος που προκάλεσε την ασθένεια και εφαρμόζονται μόνο στη μονάδα όπου αυτό απομονώθηκε για περιορισμένο χρονικό διάστημα. Ουσιαστικά αναφέρεται ένα εμβόλιο που παρασκευάζεται με την καλλιέργεια του νοσογόνου μικροβίου το οποίο λαμβάνεται από τον ίδιο τον οργανισμό.

## 2.8 ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΕΜΒΟΛΙΩΝ

Η πρόληψη των ψαριών από τις ασθένειες είναι εξαιρετικά σημαντική ώστε το τελικό προϊόν να είναι ασφαλές προς κατανάλωση. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση εμβολίων, ώστε να μειωθεί η πιθανότητα ασθενειών και κατ' επέκταση της ανάγκης να χρησιμοποιηθεί κάποια φαρμακευτική ουσία για τη θεραπεία. Τα εμβόλια είναι εγκεκριμένα από τον ΕΟΦ και χρησιμοποιούνται κάτω από ορισμένες συνθήκες και σε νεαρά ψάρια τα οποία δεν προσφέρονται άμεσα στον καταναλωτή αλλά προστατεύονται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους.

Σύμφωνα με την ελληνική νομοθεσία **επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται μόνο εμβόλια εγκεκριμένα** σύμφωνα με την υπ' αριθμ. 282371/2006 (B T731) απόφαση

Υπουργών Οικονομίας και Οικονομικών και Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων «Εναρμόνιση της Ελληνικής νομοθεσίας προς την αντίστοιχη κοινοτική στον τομέα της παραγωγής και της κυκλοφορίας των κτηνιατρικών φαρμάκων, σε συμμόρφωση προς τις οδηγίες 2001/82/EK και 2004/28/EK του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου περί κοινοτικού κώδικα για τα κτηνιατρικά φάρμακα» και τον κανονισμό (ΕΚ) υπ' αριθμ. 726/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου της 31ης Μαρτίου 2004 (ΕΕ υπ' αριθμ. L 136 της 30.4.2004 σελ. 1), για τη θέσπιση κοινοτικών διαδικασιών χορήγησης άδειας και εποπτείας όσον αφορά τα φάρμακα που προορίζονται για ανθρώπινη και για κτηνιατρική χρήση και για τη σύσταση Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων».

## **2.9 ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΕΜΒΟΛΙΩΝ**

Στις ιχθυοκαλλιέργειες χρησιμοποιούνται σκευάσματα εμβολίων για πρόληψη των ασθενειών από ιούς και βακτήρια, κυρίως για την αποφυγή μεγάλης θνησιμότητας. Πιο συγκεκριμένα, τα εμπορικά σκευάσματα εμβολίων που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής:

- Alpha Dip 2000: Εναιώρημα εμβάπτισης
- AquaVac Photobae Prime: Ανοιχτό ρόδινο εναιώρημα που περιέχει αδρανοποιημένες καλλιέργειες του βακτηρίου *Photobacterium damsella* subsp. *Piscicida*
- Alpha ject 2000: δυδύναμο Ενέσιμο εμβόλιο σε μορφή γαλακτώματος (νερό σε λάδι) κρεμώδους χρώματος για λαυράκι (*Dicentrarchus labrax*)
- AquaVac Photobae Boost: Ανοιχτό κίτρινο ελαιώδες γαλάκτωμα που περιέχει αδρανοποιημένες καλλιέργειες του βακτηρίου *Photobacterium damsella* subsp. *Piscicida*

- Aqua Vac Vibrio Pasteurella: Υδάτινο εναιώρημα για ένεση.
- NODAxprsTriple vaccine Nodavirus Vaccine Technologies (Nodaxpress 3): Τριδύναμο εμβόλιο με αδρανοποιημένες καλλιέργειες των *V. anguillarum*, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* και b-nodavirus, περιέχει μεταβολίσιμα έλαια.
- Autogenous Viral Nervous Necrosis (VNN) vaccine (Pharmaq): Μονοδύναμο εμβόλιο έναντι του ιού της ιογενούς εγκεφαλοπάθειας και αμφιβληστροειδοπάθειας. Περιέχει αδρανοποιημένες καλλιέργειες με φορμόλη του ιού της VNN και ανοσοενισχυτικό (υγρή παραφίνη).

Το AquaVac Photobae Boost και το AquaVac Photobae Prime χρησιμοποιούνται σαν βοήθημα για την πρόληψη της παστερέλλωσης, ενώ τα εμβόλια Alpha Dip 2000, Aqua Vac Vibrio Pasteurella και το Alpha Ject 2000 χρησιμοποιούνται για την διέγερση της ενεργητικής ανοσίας ενάντια στο *Vibrio anguillarum* και στο *Photobacterium damsella* subsp. *Piscicida*.

### **3. ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ ΕΜΒΟΛΙΩΝ**

Οι παρενέργειες των εμβολίων, που παρατηρούνται στα ψάρια, εξαρτώνται κυρίως από τη μέθοδο χορήγησης τους και το είδος του εμβολίου που χρησιμοποιείται. Έτσι, οι σοβαρότερες παρενέργειες παρατηρούνται στις περιπτώσεις που τα εμβόλια χορηγούνται με ενδοπεριτοναϊκή ένεση και περιέχουν διάφορες επικουρικές ουσίες (έκδοχα), η μέθοδος αυτή ωστόσο αποτελεί ταυτόχρονα και την περισσότερο αποτελεσματική οδό χορήγησης εμβολίων (Midtlyng et al. 1996a, Midtlyng et al. 1996b, Anderson 1997, Evensen 2003). Δεδομένου ότι οι παρενέργειες των εμβολίων



στα ψάρια μπορούν να έχουν σοβαρό οικονομικό αντίκτυπο στον τομέα των υδατοκαλλιεργειών, η προσπάθεια για παρασκευή ασφαλέστερων εμβολίων, είναι μείζονος σημασίας για την πρόοδο της τεχνολογίας των εμβολίων (Midtlyng 1997, Gudding et al. 1999).

### **3.1 ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΤΩΝ ΕΚΤΡΕΦΟΜΕΝΩΝ ΙΧΘΥΩΝ**

#### **3.1.1 ΔΟΝΑΚΙΩΣΗ (VIBRIOSIS)**

Το γένος *Vibrio* περιλαμβάνει τα περισσότερα σημαντικά υδρόβια, παθογόνα για τα ψάρια, βακτήρια. Adhesion of internal organs (Lemia 2003). Συμφύσεις μεταξύ των εσωτερικών οργάνων (Lemia 2003). και τα είδη *Vibrio* βρίσκονται διάσπαρτα σε όλο το υδάτινο περιβάλλον. Τα *Vibrio* spp είναι gram αρνητικά βακτήρια, κινητά, και ορισμένα είδη, όπως το *V anguillarum*, το *V Ordalii*, το *V Salmonicida*, το *V harveyi* και το *V alginolyticus* είναι οι κύριοι παράγοντες που προκαλούν τη δονακίωση, που είναι μια πολύ σοβαρή σηψαιμική λοίμωξη (Toranzo et al. 1997, Yiagnisis et al. 2008, Yiagnisis et al. 2009). Το *V anguillarum* είναι το περισσότερο λοιμογόνο είδος *Vibrio* και παράγει ποικιλία από πρωτεάσες υπεύθυνες για την πρόκληση ελκωτικών αλλοιώσεων στους σκελετικούς μύες. Υπάρχουν 10 ορότυποι του *V anguillarum*, οι ορότυποι 01 και 02 είναι αυτοί που συναντούμε συχνότερα στα μεσογειακά εκτρεφόμενα είδη και στη μόλυνση με αυτούς τους ορότυπους αναφέρεται συνήθως ο όρος δονακίωση (Αθανασοπούλου 2006). Τα είδη *Vibrio* έχουν ισχυρά ανοσοποιητικούς λιποπολυσακχαρίτες, οι οποίοι διεγείρουν την παραγωγή έντονης προστατευτικής ανοσολογικής ανταπόκρισης στα σολομοειδή (Toranzo et al. 1997)

και γενικά σε όλα τα ψάρια. Εμπορικά εμβόλια, που βασίζονται σε προπαρασκευη του βακτηρίου των ειδών *Vibrio*, είναι πολύ αποτελεσματικά και προκαλούν μακροχρόνια ανοσία.

### **3.1.2 ΕΥΠΑΘΕΙΑ, ΤΡΟΠΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ**

Πολλά είδη ψαριών των θαλάσσιων νερών, των υφάλμυρων και του γλυκού νερού είναι ευαίσθητα στα δονάκια και κυρίως στο *Listonella anguillarum*. Οι λοιμώξεις τις οποίες προκαλούν τα δονάκια αποτελούν για την εκτροφή θαλάσσιων ψαριών επικίνδυνη και μόνιμη απειλή. Το *Listonella anguillarum* προκαλεί σημαντικές απώλειες στην πέστροφα, στο σολομό, στη τσιπούρα και στο λαβράκι που εκτρέφονται στη θάλασσα χωρίς βέβαια να εξαιρούνται αυτά αλλά και άλλα που ζουν και αναπτύσσονται σε διάφορα υδάτινα οικοσυστήματα, ιδιαίτερα το χέλι των λιμνοθαλασσών.

Οι λοιμώξεις από τα δονάκια δεν περιορίζονται στα ψάρια της θάλασσας μόνο, αλλά επεκτείνονται και στα ψάρια που εκτρέφονται στα γλυκά νερά όπως είναι η πέστροφα, σε πολλά τροπικά είδη ενυδρείων και στο χέλι. Επίσης η νόσος προσβάλλει και καλλιεργούμενα καρκινοειδή.

Τα δονάκια αποτελούν μέρος της μικροβιακής χλωρίδας των νερών. Κάτω από ορισμένες δυσμενείς συνθήκες (υψηλή θερμοκρασία νερού, αιφνίδιες αυξομειώσεις αλατότητας, υπερπληθυσμός, έλλειψη διαλυμένου οξυγόνου, μεταβολές της τιμής του pH, παρουσία τοξικών ουσιών κ.α.), ή διαταραχή της υγιεινής κατάστασης των ψαριών, τα δονάκια μπορούν να αποκτήσουν παθογόνα δράση και να προκαλέσουν σοβαρές επιζωοτίες.

Πηγές μόλυνσης είναι τα κατεστραμμένα δίχτυα, το ίζημα των δεξαμενών, περιπτώματα, τροφή που δεν καταναλώθηκε, ψάρια-φορείς της εκτροφής αλλά και αυτά που ζουν ελεύθερα. Η μόλυνση πραγματοποιείται κατά πάσα πιθανότητα με την είσοδο του παθογόνου βακτηρίου στον οργανισμό των ψαριών από το στόμα ή από το δέρμα, κάτω από ορισμένες προϋποθέσεις. Λοιμογόνα στελέχη είναι δυνατόν να απομονωθούν και από το περιεχόμενο του εντέρου (Φώτης & Αγγελίδης 2003).

Η θνησιμότητα στην υπεροξεία μορφή είναι δυνατόν να ανέλθει στο 80%. Στην οξεία μορφή, μέχρι και 40% του προσβεβλημένου ιχθυοπληθυσμού έχει παρατηρηθεί. Η θνησιμότητα στην πλειοψηφία των περιπτώσεων στην Ελλάδα ακόμα και με ταυτόχρονη χορήγηση θεραπευτικών ουσιών, κυμαίνεται μεταξύ 10 έως 20%.

### 3.1.3 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Στα προσβεβλημένα ψάρια, οι κλινικές εκδηλώσεις εξαρτώνται από την μορφή της νόσου. Στην υπεροξεία μορφή (συνηθέστερη σε ιχθύδια) η ασθένεια προκαλεί υψηλή θνησιμότητα χωρίς κλινικά συμπτώματα, εκτός από απώλεια της όρεξης και σκούρο χρωματισμό του δέρματος.

Η οξεία μορφή είναι η συνηθέστερη. Εξωτερικά παρατηρούνται ερυθρότητα του στόματος, εξοφθαλμία, ερυθρότητα της βάσης των πτερυγίων και της έδρας. Σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρούνται ελκωτικές αλλοιώσεις στο δέρμα σε διάφορα σημεία του σώματος. Κατά την νεκροψία, η κλινική εικόνα είναι εκείνη της αιμορραγικής σηψαιμίας με αιμορραγίες στα περισσότερα όργανα (εικόνα 3.1.2 α). Χαρακτηριστικές είναι οι αλλοιώσεις στο έντερο, το οποίο εμφανίζεται διογκωμένο λόγω της φλεγμονής και της παρουσίας καθαρού υδαρούς περιεχομένου ενώ και ο σπλήνας είναι διογκωμένος (εικόνα 3.1.2 β). Τις περισσότερες φορές παρατηρούνται και συμφορήσεις στα υπόλοιπα εσωτερικά όργανα και κυρίως στο ήπαρ όπως επίσης και στους μυς (Πράπας & ΕΤΑΛ 2000).



*Εικόνα 3.1.2 α.: Δονακίωση σε λαβράκι – αιμορραγικές αλλοιώσεις και εξαλκώσεις στο δέρμα*

*(Αρχείο Α. Πράπα)*



*Εικόνα 3.1.2 β.: Δονακίωση σε λαβράκι – σπληνομεγαλία και υπεραιμία εντέρου  
(Αρχείο Α. Πράπα)*

### **3.1.4 ΔΙΑΓΝΩΣΗ**

Η δονακίωση χρειάζεται μεγάλη προσοχή, γιατί συγγέεται με πολλές άλλες παθήσεις σηψαιμικού χαρακτήρα. Η διάγνωση τίθεται με βάση τα κλινικά συμπτώματα και επιβεβαιώνεται με την απομόνωση και ταυτοποίηση του υπεύθυνου βακτηρίου σε κατάλληλα θρεπτικά υποστρώματα. Για την ακριβή ταυτοποίηση του μικροβίου απαιτούνται μια σειρά βιοχημικών εξετάσεων και δοκιμή οροσυγκόλλησης με ομόλογο αντιγόνο (Πράπας & ΕΤΑΛ 2000).

### **3.2 ΦΩΤΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΩΣΗ (*Photobacteriosis*)**

Η νόσος οφείλεται στο βακτήριο *Pasteurella piscicida* (σημερινή ονομασία: *Photobacterium damsela subspecies piscicida*), πρωτοεμφανίστηκε στις ανατολικές ακτές της Αμερικής το 1963. Στην Ελλάδα η παστεριδίαση παρουσιάστηκε πρώτη φορά το Μάιο του 1990 από τον Α. Πράπα, η διάγνωση τέθηκε από το Εθνικό Εργαστήριο Αναφοράς και σχεδόν ταυτόχρονα εμφανίστηκε σε πολλές χώρες της Μεσογείου. Η φωτοβακτηριδίωση είναι ένα από τα πιο σημαντικά νοσήματα που προσβάλλουν τα νεαρά ιχθύδια εκτρεφόμενων ψαριών θάλασσας. Χαρακτηρίζεται από το σκούρο χρωματισμό του δέρματος και από την παρουσία κοκκιωμάτων στα νεφρά και στο σπλήνα(Πράπας & ΕΤΑΛ 2000).

Το *Photobacterium damsela subspecies piscicida* χαρακτηρίζεται από πολυμορφισμό, είναι Gram αρνητικό και διαστάσεων 0,6-1,2\*0,8-2,6μm. Το βακτήριο αυτό εμφανίζει χαρακτηριστική διπολική χρώση, είναι ακίνητο, χωρίς κάψα και σπορογόνο. Αναπτύσσεται πολύ καλά στους 25° C σε αιματούχο Agar με 1-2,5% NaCl. Οι αποικίες του είναι διαφανείς, γυαλιστερές και άχρωμες. Στη δοκιμή της καταλάσης και της οξειδάσης είναι θετικό(Φώτης & Αγγελίδης 2003).

#### **3.2.1. ΕΥΠΑΘΕΙΑ, ΤΡΟΠΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ, ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ**

Η φωτοβακτηριδίωση προσβάλλει ψάρια του αλμυρού νερού και χαρακτηρίζεται ως ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα της εκτροφής των ψαριών σε ιχθυοκλωβούς (τσιπούρα και λαβράκι). Η μετάδοση της νόσου γίνεται με το νερό, με την τροφή και από ψάρι σε ψάρι. Ως πύλες εισόδου θεωρούνται τα βράγχια, το στόμα και ο υποδόριος ιστός ύστερα από λύση συνεχείας του δέρματος. Τα ψάρια φορείς αποτελούν πιθανώς δεξαμενές μόλυνσης, γιατί το *Photobacterium damsela subspecies piscicida* δεν ζει παραπάνω από τέσσερις έως πέντε ημέρες στις εκβολές των ποταμών (Φώτης & Αγγελίδης 2003).

Η παθογένεια είναι όμοια με άλλες σηψαιμίες των ψαριών, οι οποίες οφείλονται σε βακτήρια. Η εκδήλωση της νόσου εξαρτάται από τη θερμοκρασία του νερού και συνήθως παρουσιάζει εποχιακή εμφάνιση με ιδιαίτερη ένταση τους καλοκαιρινούς μήνες. Στις μονάδες πάχυνσης η νόσος εμφανίζεται όταν η θερμοκρασία είναι μεγαλύτερη από τους 20° C, αλλά και με την μείωση της αλατότητας συνήθως ύστερα από έντονες βροχοπτώσεις, ενώ στους ιχθυογεννητικούς σταθμούς μπορεί να προκαλέσει απώλειες και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (16 έως 17° C).

Η φωτοβακτηριδίωση είναι δυνατό να έχει σύντομη εξέλιξη με μαζικούς θανάτους (οξεία μορφή) ή να διαρκέσει αρκετούς μήνες(χρόνια μορφή). Σε νύμφες τσιπούρας σε ιχθυογεννητικούς σταθμούς η θνησιμότητα είναι δυνατόν να ανέλθει στο 50-100%. Η τσιπούρα θεωρείται ευαίσθητη μέχρι το βάρος των 80-100 g, ενώ το λαβράκι προσβάλλεται καθ' όλη την διάρκεια του κύκλου εκτροφής και η θνησιμότητα μπορεί να ανέλθει μέχρι και 20% του προσβεβλημένου ιχθυοπληθυσμού

### **3.2.2 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ**

Τα κλινικά συμπτώματα δεν είναι παθογνωμονικά. Η νόσος εκδηλώνεται με δύο μορφές την οξεία και την χρόνια. Στην οξεία μορφή το μόνο εξωτερικό σύμπτωμα μπορεί να είναι ο σκούρος χρωματισμός του δέρματος. Συχνά παρατηρείται εστιακή νέκρωση των βραγχίων (εικόνα 3.2.3 α). Εσωτερικά παρατηρείται διόγκωση και σκούρος χρωματισμός του σπλήνα και υπεραιμία του ήπατος. Στη χρόνια μορφή είναι χαρακτηριστική η δημιουργία λευκών οζιδίων (κοκκιώματα) στον σπλήνα και τους νεφρούς (Πράπας & ΕΤΑΛ 2000).

### **3.2.3 ΔΙΑΓΝΩΣΗ**

Η διόγκωση και η παρουσία οζιδίων στον σπλήνα είναι χαρακτηριστικά συμπτώματα της νόσου (εικόνα 3.2.3 β) , αλλά για την επιβεβαίωση της διάγνωσης απαιτείται απομόνωση και ταυτοποίηση του υπεύθυνου παθογόνου παράγοντα με τη βοήθεια βιοχημικών και ορολογικών εξετάσεων(Πράπας & ΕΤΑΛ, 2000).



*Εικόνα 3.2.3.α.: παστερίαση σε λαβράκι – εστιακή νέκρωση βραγχίων και σπληνομεγαλία (Αρχείο Α. Πράπα)*



*Εικόνα 3.2.3.β.: παστερίαση σε λαβράκι – υπεραιμία ήπατος και σπληνομεγαλία (Αρχείο Α. Πράπα)*

### **3.3 ΕΓΚΕΦΑΛΟΠΑΘΕΙΑ (NODAVIRUS)**

Η νόσος εμφανίζεται κυρίως στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης των ψαριών (νυμφών και ιχθυδίων). Δεν υπάρχουν σοβαρά κλινικά σημάδια στην επιφάνεια του σώματος ή τα βράγχια σε οποιοδήποτε στάδιο του ιού (Nakai et al., 2009). Επηρεαζόμενα ιχθύδια και μεγαλύτερα ψάρια δείχνουν μια ποικιλία από ασταθείς συμπεριφορές όπως σπειροειδές κολύμπι, στροβιλίσμος, η κοιλιακή χώρα του ψαριού να επιπλέει στην επιφάνεια του νερού, και την βλάβη της νηχτικής κύστης, αλλά δεν είναι ασυνήθιστο να παρουσιαστούν τέτοιες ανωμαλίες στο κολύμπι και στις επηρεαζόμενες προνύμφες (Nakai et al., 2009). Ιστοπαθολογικά, η ασθένεια χαρακτηρίζεται από σοβαρά εκτεταμένη νέκρωση και σχηματισμό κενотоπίων στο κεντρικό νευρικό σύστημα (εγκέφαλος, νωτιαίος μυελός) και στον αμφιβληστροειδή χιτώνα, αλλά μερικές φορές ψάρια σε πρώιμα προνυμφικά στάδια στερούνται κενотоπίου ιστού (Munday et al., 2002). Υπάρχει σημαντική διαφορά από την ηλικία κατά την οποία η ασθένεια παρατηρείται για πρώτη φορά και την περίοδο κατά την οποία συμβαίνει η θνησιμότητα (Munday et al., 2002; OIE 2003). Σε γενικές γραμμές, όσο πιο γρήγορα παρουσιαστούν τα προγενέστερα σημάδια της νόσου, τόσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός της θνησιμότητας (Nakai et al., 2009). Στο λαβράκι, η θνησιμότητα συνήθως δεν παρατηρείται έως ότου περασουν περίπου 30 ημέρες από την εκκόλαψη. Η εμφάνιση νέων εστιών της νόσου συμβαίνει ακόμη και στην αγορά (Le Breton et al., 1997). Η θνησιμότητα των νεαρών ή μεγαλύτερων ψαριών συνήθως δεν φθάνει το 100%, υποδεικνύοντας έτσι την εξάρτηση της ευαισθησίας με την ηλικία.

### **3.3.1 ΔΙΑΓΝΩΣΗ**

Όταν παρουσιαστεί υψηλός δείκτης θνησιμότητας στις ευαίσθητες προνύμφες στα εκκολαπτήρια, χωρίς την παρουσία παθογόνων παραγόντων στην κλινική κατεργασία, τότε η λοίμωξη podavirus θα πρέπει να αποκλειστεί (Noga, 2011). Για ιολογικές εξετάσεις, θα πρέπει να λαμβάνονται δείγματα από ολόκληρες προνύμφες ή ιχθύδια (Noga, 2011). Από μεγαλύτερα ψάρια, πρέπει να λαμβάνονται δείγματα του εγκεφάλου, του νωτιαίου μυελού και των ματιών (Noga, 2011). Υποθετική διάγνωση μπορεί να γίνει με ιστοπαθολογία του εγκεφάλου ή / και του αμφιβληστροειδή χιτώνα που δείχνει την τυπική κενотоπιοποιητική εγκεφαλοπάθεια, νέκρωση, και αμφιβληστροειδοπάθεια (Noga, 2011). Εντούτοις, μερικά ψάρια μπορεί μερικές φορές να έχουν μόνο λίγα κενотоπία στον εγκέφαλο τους, καθιστώντας τη διάγνωση πολύ δύσκολη (Noga, 2011). Τα σωματίδια του ιού μπορούν να ανιχνευθούν στον ιστό του εγκεφάλου μέσω της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας, αλλά αυτό είναι μόνο μια



συμπερασματική διάγνωση (Noga, 2011). Η οριστική διάγνωση μπορεί να επιτευχθεί μέσω της αναγνώρισης του ιού με τη χρήση ενός ειδικού ανιχνευτή (αντίσωμα ή γονίδιο) (Noga, 2011). Για την κύρια μέθοδο της οριστικής διάγνωσης χρησιμοποιείται ένας ανιχνευτής γονιδίων (PCR) όπου ο εντοπισμός του ιού γίνεται 21 είτε από τον ιστό ή από την καλλιέργεια κυττάρων (Noga, 2011). Εναλλακτικά, πολυκλωνικός αντί – VNN ορός θα εντοπίσει όλα τα στελέχη του nodavirus και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αναγνωρίσει τα μολυσμένα κύτταρα είτε σε τμήματα ιστού ή σε κηλίδες ιστού (Munday et al., 2002). Ωστόσο, η ανίχνευση του VNN με την χρήση των PCRs πρέπει να ακολουθείται από μια άλλη μέθοδο, είτε ιστοπαθολογία με ανοσο-χρώση είτε απομόνωση του ιού σε καλλιέργεια κυττάρων, για επιβεβαίωση της διάγνωσης (Nakai et al., 2009). Ταυτοποίηση του ιού σε κυτταρική καλλιέργεια που δείχνει κυτταροπαθητικά αποτελέσματα (CPE), εκτελείται είτε με μοριακή ή ορολογική δοκιμασία συμπεριλαμβανομένου ενός τεστ εξουδετέρωσης του ιού (Mori et al., 2003).

### **3.3.2 ΠΡΟΛΗΨΗ**

Ο VNN είναι εξαιρετικά ανθεκτικός σε διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες και μπορεί να επιβιώσει για μεγάλο χρονικό διάστημα στο νερό της θάλασσας (Arimoto et al., 1996; Frerichs et al., 2000). Η νόσος εύκολα μπορεί να αναπαραχθεί σε υγιή ψάρια από: α) την συμβίωση με μολυσμένα ψάρια β) την βύθιση σε ένα εναιώρημα ιού γ) με ένεση (Nguyen et al., 1996; Grotmol et al., 1999; Peducasse et al., 1999). Επομένως, ο τρόπος μετάδοσης της λοίμωξης είναι κατά βάση οριζόντιος μέσω της εισροής και της εκτροφής των υδάτων, και μέσω σκευών, οχημάτων, και από τις ανθρώπινες δραστηριότητες (Nakai et al., 2009). Για να αποφευχθούν τέτοιου είδους οριζόντιας μετάδοσης λοίμωξης, κάποια απολυμαντικά είναι αποτελεσματικά για την αδρανοποίηση του ιού: υποχλωριώδες νάτριο, χλωριούχο βενζαλκόνιο, ιώδιο, οξύ υπεροξυγονούχο, και το όζον (Arimoto et al., 1996; Frerichs et al., 2000). 22 Υπάρχει απόδειξη κάθετης μετάδοσης της λοίμωξης από τους γεννήτορες στους απογόνους, στο λαβράκι, το Ασιατικό λαβράκι, καλκάνι, ιππόγλωσσα και σφυρίδα (Arimoto et al., 1992 Comps et al., 1994 Mushiake et al., 1994 Watanabe et al., 2000). Το πλύσιμο γονιμοποιημένων αυγών στο όζον, η επεξεργασία του θαλασσινού νερού και η απολύμανση του νερού εκτροφής με όζον, ελέγχει αποτελεσματικά την ασθένεια κατά την παραγωγή προνυμφών σε ένα ευρύ φάσμα ψαριών (Grotmol and Totland,

2000; Tsuchihashi et al., 2002). Είναι σημαντικό να μειωθούν οι παράγοντες του στρες με τη βελτίωση των μεθόδων αναπαραγωγικής επαγωγής, συμπεριλαμβανομένη την εκτροφή των γεννητόρων (Mushiake et al., 1994). Σε μεγάλα ηλικιακά στάδια των ψαριών ο VNN προκαλεί σοβαρές θνησιμότητες σε καλλιέργειες και στην ανοικτή θάλασσα (Nakai et al., 2009). Η μόλυνση μπορεί να προκληθεί από την απόπτωση του ιού από υποκλινικά ή από την επιμένουσα λοίμωξη στα εκτρεφόμενα ή μη εκτρεφόμενα ψάρια (Chi et al., 2005; Cutrin et al., 2007; Sakamoto et al., 2008). Ένα αποτελεσματικό σύστημα εμβολιασμού είναι απαραίτητο για την πρόληψη της νόσου κατά τη διάρκεια αναπτυξης των ψαριών στην ιχθυοκαλλιέργεια της ανοικτής θάλασσας (Nakai et al., 2009). Στη πρόληψη γίνεται ενεση με μία ανασυνδυασμένη περιβλήματος ιογενή πρωτεΐνη που ονομάζεται *Escherichia coli* (Husgard et al., 2001; Tanaka et al., 2001), είτε εμβολιασμός με όμοια σωματίδια του ιού-που εκφράζεται σε ένα σύστημα βακουλοϊού (Thiery et al., 2006)- ή εμβολιασμός με αδρανοποιημένο ιό. Όλα τα παραπάνω είναι αποτελεσματικά στον έλεγχο της νόσου (Yamashita et al., 2005). Μία πρωτογενής μόλυνση με ένα μη λοιμογόνο aquabirnavirus (Birnaviridae) κατέστειλε αποτελεσματικά μια δευτερεύουσα μόλυνση betanodavirus (Pakingking et al., 2005). Διπλοί εμβολιασμοί με aquabirnavirus και αδρανοποιημένο εμβόλιο είναι 23 επίσης πολύ χρήσιμα στην πρόληψη της ασθένειας (Yamashita et al., 2009). Εμπορικά διαθέσιμα παρασκευάσματα εμβολίων δεν υπάρχουν, αλλά χρειάζονται επείγοντως. Απολύμανση και καραντίνα είναι τα μόνα αποδεδειγμένα μέσα για τον έλεγχο των επιδημιών podaviral (Noga, 2011). Η εξάλειψη της μόλυνσης έχει επιτευχθεί σε ορισμένες περιπτώσεις VNN.

### **3.4 Συζήτηση-Συμπεράσματα**

Τα τελευταία χρόνια ο εμβολιασμός στις ιχθυοκαλλιέργειες είναι μια πολύ θετική εξέλιξη για την υγεία των ψαριών. Πιο συγκεκριμένα, με την χρήση των αντιβιοτικών υπερισχούσε η βακτηριακή ανθεκτικότητα με αποτέλεσμα να μην υποχωρούσε το στέλεχος και να μην βοηθούσε κάποιο αντιβιοτικό. Αυτό έχει ως επίπτωση την υποβάθμιση του θαλάσσιου περιβάλλοντος αλλά και τυχόν προβλήματα στον άνθρωπο. Με την ανοσοπροφύλαξη, υπάρχει η πρόληψη στα ψάρια για την αποφυγή εμφάνισης κάποιας ασθένειας, καθώς πολλά και ποικίλη σκευάσματα στο εμπόριο. Οι τρόποι χορήγησης ενός εμβολίου διαφέρει με το μέγεθος του ψαριού και γι αυτό υπάρχουν διαφορετικά σκευάσματα για κάθε περίπτωση.

#### 4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ιχθυοτροφία και ιχθυοπαθολογία, Γεράσιμου Πνευματικάτου 1996
2. Σημειώσεις εργαστηρίου και θεωρίας ιχθυοπαθολογίας Ι, Θεοφάνης Βορεινάκης 2006
3. Εμβολιασμός ιχθύων, Π. Παπαδόπουλος, Κ. Μπιτχαβά, Ε. Τζιρώνι, Φ. Αθανασοπούλου 2008
4. Η ασθένεια της Ιογενούς Νευρικής Νέκρωσης η Εγκεφαλοπάθεια (VNN) σε καλλιεργούμενα ψάρια, Επιδημιολογία, διάγνωση και θεραπεία της νόσου, Βασίλης Παρασκευάς 2015
5. Σύγκριση αποτελεσματικότητας δίδυναμου εμπορικού και πειραματικών εμβολίων κατά της δονακίωσης και φωτοβακτηριδίασης στην τσιπούρα *Sparus aurata* (L.) : διερεύνηση της ανοσολογικής αντίδρασης με τις μεθόδους ELISA και Western Blot, Κοσμά Ιωάννα 2016
6. Διαχείριση αντιβιοτικών ουσιών σε ιχθυοκαλλιέργειες, Πανάγου Ασήμω 2009
7. Χρήση ανοσοενισχυτικών ουσιών στις υδατοκαλλιέργειες, Παπαδοπούλου Άννα 2009
8. Αντιβιοανοχή του δονακίου *Listonella anguillarum* και *Pohtobacterium damsella* ssp. *Piscicida* στην τσιπούρα και το λαβράκι από απομονώσεις των τελευταίων 5 ετών στην Ελλάδα, Μαλλή Αθηνά 2013

9. Effects of temperature and salinity on outbreaks of bacterial diseases of farmed sea bass *dicentrarchus labrax*, Spinos E., Gerakis A. , Palaiologos A, & Bakopoulos V.
  
10. Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, Νομοθεσία Υδατοκαλλιεργειών
  
11. Εγχειρίδιο εμβολιασμού, Pharmaq
  
12. Πράπας Α., ΕΤΑΛ., 2000. Πρακτικός οδηγός ιχθυοπαθολογίας εκτρεφόμενων στην Ελλάδα ψαριών και οστρακόδερμων. Υπουργείο Γεωργίας, Γενική Δ/νση Αλιείας
  
13. The use of immune-stimulants in fish kai selfish feeds, Raa 2000
  
14. Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis, AK Siwicki, DP Anderson, GL Rumsey
  
15. Olabuenaga Susana E (2000) Fish Immune System. Gayana (Concepc.) vol64 no2, 205-215. Cited 16/10/2006. Available from World Wide
  
16. Varvarigos P (2003) Practical considerations of vaccination strategies. Cited 28/09/2006. Available from World Wide

17. Sakai DK (1984) Opsonization by fish antibody and complement in the immune phagocytosis by peritoneal exudate cells isolated from salmonid fishes. *J Fish Dis*,
18. Dorson M (1981) Role and characterization of fish antibody. *Develop Biol Standard*
19. Ellis AE (1989) The immunology of teleosts. In: Roberts W (Ed.), *Fish pathology 2nd edn* Bailliere Tindall London
20. B. Pulendran, S Li, HI Nakaya- immunity 2010- Elsevier
21. CML Press, A. Lillehaug *British Veterinary Journal* 1995- Elsevier
22. Toranzo AE, Santos Y, Barja JL (1997) Immunization with bacterial antigens: *Vibrio* infections. In: Gudding R, Lillehaug A, Midtlyng PJ, F. Brown, (Eds.), *Fish Vaccinology*. Dev Biol Stand Basel Switzerland Karger Publishers
23. Yiagnisis M., Alexis M., Bitchava K., Govaris A., Athanassopoulou F.(2008) The impact of different levels of oxygen in the aerobic intestinal microflora of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). In: 9th Panhellenic Symposium of Oceanography and Fishing, Patra.
24. Yiagnisis M., Solomakos N., Alexis M., Bitchava K., Athanassopoulou F.(2009) *Vibrio* species of medical importance, isolated from diseased marine fish in Greece. *Journal in applied Ichthyology*, in press

25. Φώτης Γ., Αγγελίδης Π., 2003. Εκτροφή και παθολογία ιχθύων, τόμος Α, υδάτινο περιβάλλον, στοιχεία ιχθυολογίας, ιχθυοτροφία και ιχθυοπαθολογία.
26. Nakai, T., Sugaya, T., Nishioka, T., Mushiake, K., & Yamashita, H. (2009) Current knowledge on viral nervous necrosis (VNN) and its causative betanodaviruses.
27. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΧΥΜΙΚΗΣ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ ΤΟΥ ΕΥΡΩΠΑΙΚΟΥ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ (*Dicentrarchus labrax*) ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟ ΜΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΕΜΒΟΛΙΑ ΕΝΑΝΤΙ ΤΟΥ ΙΟΥ ΒΕΤΑΝΟΔΑΥΙΡΟΥ, ΣΤΟ ΠΕΔΙΟ ΚΑΙ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ Κυβέλου βασιλική
28. Munday, B. L., Kwang, J., & Moody, N. (2002) Betanodavirus infections of teleost fish: a review. *Journal of Fish Diseases*
29. Le Breton, A., Grisez, L., Sweetman, J., & Ollevier, F. (1997). Viral nervous necrosis (VNN) associated with mass mortalities in cage-reared sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). *Journal of Fish Diseases*
30. Noga, E. J. (2011) *Fish disease: diagnosis and treatment*. John Wiley & Sons.
31. Mori, K. I., Mangyoku, T., Iwamoto, T., Arimoto, M., Tanaka, S., & Nakai, T. (2003) Serological relationships among genotypic variants of betanodavirus. *Diseases of aquatic organisms*
32. Arimoto, M., Sato, J., Maruyama, K., Mimura, G., & Furusawa, I. (1996) Effect of chemical and physical treatments on the inactivation of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). *Aquaculture*
33. Nguyen, H. D., Nakai, T., & Muroga, K. (1996) Progression of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV) infection in naturally and experimentally infected striped jack *Pseudocaranx dentex* larvae. *Diseases of Aquatic Organisms*

34. Grotmol, S., Bergh, Ø., & Totland, G. K. (1999) Transmission of viral encephalopathy and retinopathy (VER) to yolk-sac larvae of the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*: occurrence of nodavirus in various organs and a possible route of infection.
35. Peducasse, S., Castric, J., Thiery, R., Jeffroy, J., Le Ven, A., & Baudin Laurencin, F. (1999) Comparative study of viral encephalopathy and retinopathy in juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax* infected in different ways. *Diseases of aquatic organisms*
36. Mushiake, K., Nishizawa, T., Nakai, T., Furusawa, I., & Muroga, K. (1994) Control of VNN in striped jack-selection of spawners based on the detection of SJNNV gene by Polymerase Chain-Reaction (PCR). *Fish Pathology*
37. Watanabe, K. I., Nishizawa, T., & Yoshimizu, M. (2000) Selection of brood stock candidates of barfin flounder using an ELISA system with recombinant protein of barfin flounder nervous necrosis virus. *Diseases of aquatic organisms*
38. Tsuchihashi, Y., Kuriyama, I., Kuromiya, Y., Kashiwagi, M., & Yoshioka, M. (2002) Control of viral nervous necrosis (VNN) in seedling production of sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *Suisanzoshoku*
39. Chi, S. C., Wu, Y. C., & Cheng, T. M. (2005) Persistent infection of betanodavirus in a novel cell line derived from the brain tissue of barramundi *Lates calcarifer*. *Diseases of aquatic organisms*

40. Sakamoto, T., Okinaka, Y., Mori, K., Sugaya, T., Nishioka, T., Oka, M., & Nakai, T. (2008) Phylogenetic analysis of betanodavirus RNA2 identified from wild marine fish in oceanic regions. *Fish Pathology*
41. Thiery, R., Cozien, J., Cabon, J., Lamour, F., Baud, M., & Schneemann, A. (2006). Induction of a protective immune response against viral nervous necrosis in the European sea bass *Dicentrarchus labrax* by using betanodavirus virus-like particles. *Journal of virology*
42. Yamashita, H., Mori, K., & Nakai, T. (2009) Protection conferred against viral nervous necrosis by simultaneous inoculation of aquabirnavirus and inactivated betanodavirus in the sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* (Thunberg). *Journal of fish diseases*
43. Midtlyng PJ, Reitan LJ, Lillehaug A, Ramstad A (1996a) Protection, immune response and side effects in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) vaccinated against furunculosis by different procedures. *Fish Shellfish Immunol*
44. Midtlyng PJ, Reitan LJ, Speilberg L (1996b). Experimental studies on the efficacy and side-effects of intraperitoneal vaccination of Atlantic salmon
45. Midtlyng PJ (1997) Vaccinated fish welfare: protection versus side effects. In: Gudding R, Lill
46. Gudding R, Lillehaug A, Evensen O (1999) Recent developments in fish vaccinology. *Vet Immunol Immunopathol*
47. Ανάπτυξη πειραματικού αυτεμβολίου έναντι παθογόνων βακτηρίων σε καλλιεργούμενα λαβράκια Σμυρλή Μαρία



