



Naučni institut za veterinarstvo "Novi Sad"

Scientific Veterinary Institute Novi Sad



dr vet. med. Dušan Lazić

Zdravstvena zaštita riba

Odeljenje za epizootologiju, kliničku dijagnostiku i DDD

Health care of freshwater fish

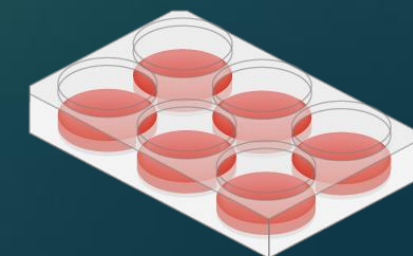
Department of epizootology, clinical diagnostics, and DDD



Dijagnostika virusnih bolesti u slatkovodnoj akvakulturi



- ▶ U cilju pouzdane dijagnostike neophodno je upoznati se sa svim dostupnim anamnestičkim podacima, patološkim promenama i rezultatima identifikacije infektivnog agensa kako bi, ukrštanjem ovih nalaza utvrdili najverovatniji uzrok bolesti i osnovne faktore koji su uticali na njen nastanak.
- ▶ Metode dijagnostike i detekcije virusnih bolesti riba obuhvataju:
 - ▶ izolaciju virusa na kulturi tkiva
 - ▶ elektronsku mikroskopiju
 - ▶ Upotrebu seroloških i molekularnih metoda.
- ▶ izolacija virusnih patogena na kulturi tkiva i dalje ostaje preporučeni metod za dijagnostiku virusnih bolesti riba.





Dijagnostika virusnih bolesti u slatkovodnoj akvakulturi



- ▶ Vrsta tkiva koje se koristi za ispitivanje prisustva virusa zavisi od veličine i starosti riba
- ▶ kod ispitivanja mladi, vrši se homogenizacija celih riba
- ▶ kod starijih kategorija za virusološko ispitivanje se koriste samo unutrašnji organi, dok se kod odraslih primeraka koriste delovi organa.
- ▶ Za ispitivanja matičnog zapata na prisustvo virusa, tokom mresta se vrši uzorkovanje ovarijalne tečnosti.

Dijagnostika virusnih bolesti u slatkovodnoj akvakulturi



- ▶ Sakupljena tkiva se homogenizuju pomoću stomahera ili tarionika i tučka, razblaže u odgovarajućem medijumu (MEM) u odnosu 1:5 ili 1:10, zatim centrifugiraju, i supernatanti dekontaminiraju propuštanjem kroz filter sa veličinom pora od 0.22-0.45 μm .
- ▶ Umesto filtriranja moguća je 24-časovna inkubacija homogenata u MEM-u koji sadrži visoku koncentraciju antibiotika.
- ▶ Viruse nije moguće detektovati svetlosnom mikroskopijom, pa se iz tog razloga za detekciju njihovog prisustva koriste žive ćelije gajene in vitro.
- ▶ Razvijen je veliki broj kontinuiranih ćelijskih linija riba u svrhu dijagnostike i naučnoistraživačkog rada.
- ▶ Virusi inficiraju kultivisane ćelije i izazivaju promene koje se nazivaju citopatogeni efekat (CPE), koji se može videti svetlosnim mikroskopom.



Dijagnostika virusnih bolesti u slatkovodnoj akvakulturi



- ▶ Ukoliko je virus prisutan i infektivan za inokulisane ćelije, CPE će se obično pojaviti u roku od 1-7 dana, u zavisnosti od virusa i temperature inkubacije.
- ▶ Izgled CPE je često specifičan za određenu grupu virusa, ali su razlike obično previše suptilne za nedvosmislenu identifikaciju.
- ▶ Iz tog razloga se, nakon izolacije, identifikacija virusa vrši pomoću različitih metoda, kao što su serum neutralizacija, test fluorescentnih antitela, ELISA, PCR ili druge molekularne metode.
- ▶ Neke od ovih metoda se takođe koriste i za detekciju virusnih antigena ili nukleinskih kiselina u inficiranim tkivima riba, što obezbeđuje mnogo bržu identifikaciju virusa i postavljanje dijagnoze.





Dijagnostika virusnih bolesti u slatkovodnoj akvakulturi

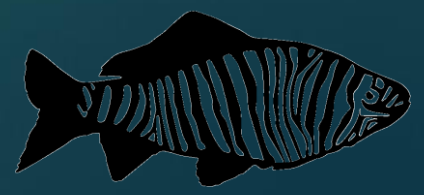
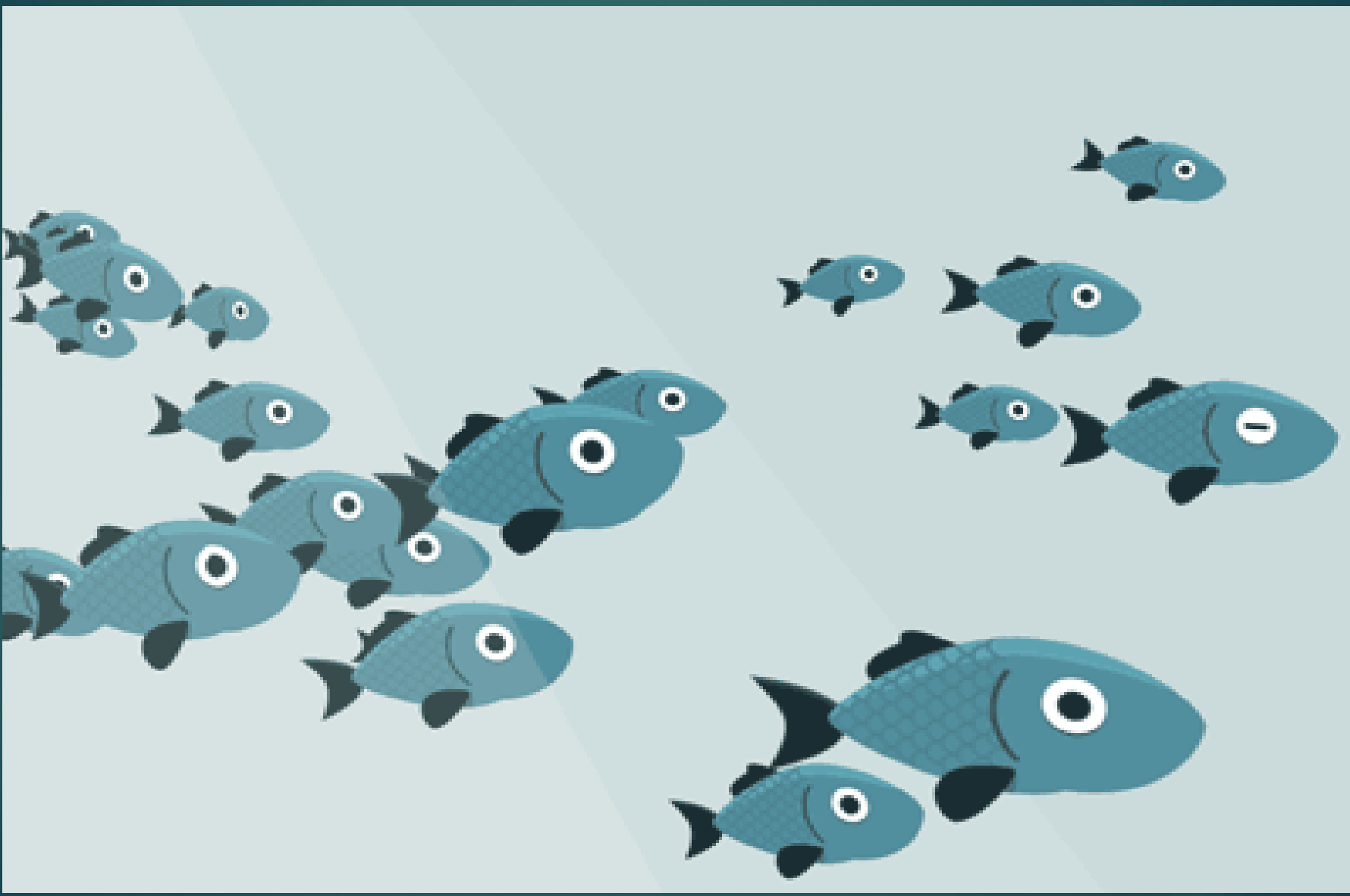


- ▶ Na vreme uočiti i prepoznati simptome bolesti kod riba predstavlja jedan od prvih koraka ka postavljanju adekvatne dijagnoze bolesti odnosno uočavanja greške vezane za tehnologiju, a nakon toga i do terapije odnosno rešavanja problema koji je doveo do određenih simptoma.
- ▶ Najčešće je tehnolog na farmi prvi koji uoči znake kod riba koji mogu indikovati bolesti, kao što je smanjeno konzumiranje hrane, neuobičajeno ponašanje ribe, abnormalno plivanje, skupljanje oko izvora vode itd.
- ▶ Uoliko dođe do uginuća ribe to se obično brzo uoči. Na farmskim uslovima gde se zdravstveni status riba prati i drži pod kontrolom ukoliko se primete znaci bolesti, oni se pažljivo isprate a nekoliko obolelih riba se pregleda i secira radi utvrđivanja kliničkih i patoanatomskih znakova bolesti.
- ▶ Ukoliko postoji sumnja da je infektivni agent uzročnik obolenja uzimaju se uzorci i šalju na laboratorijska ispitivanja.

- ▶ Problem postaje značajan kada su klinički znaci nespecifični a patogen se ne izoluje, ili kada je u isto vreme prisutno nekoliko patogena.
- ▶ U takvom slučaju problem je najčešće multifaktorijalan i podrazumeva više uzroka, koji su često i međuzavisni.
- ▶ Tada treba ispitati ishranu, ambijentalne uslove, odnosno kvalitet vode kao primarne uzroke a etiološke agense kao sekundarne patogene.



Thank you for your attention



Thank you