

Učinkovitost docjepljivanja lubina (*Dicentrarchus labrax*) u uzgojnim uvjetima



Snježana Zrnčić, D. Oraić, Jelka Pleadin, Ž. Mihaljević i I. Cvitić

Uvod

Kavezni uzgoj lubina i komarče je ekonomski najdohodovnija grana akvakulture u Hrvatskoj. Jednako kao i u intenzivnoj proizvodnji drugih animalnih vrsta, bolesti predstavljaju kritičnu točku i prouzroče znatne i opetovane gubitke. Vibrioza prouzročena gram negativnom bakterijom *Vibrio* (*Listonella*) *anguillarum* serotip O1 jedna je od najznačajnijih bakterijskih bolesti uzgajanog lubina u Hrvatskoj i ostalim mediteranskim zemljama (Le Breton, 1996., Oraić i sur., 1996., Toranzo, 2004.). Bolest je karakterizirana hemoragičnom septikemijom i izaziva mortalitete koji dosežu do 50% oboljele populacije. Uzročnik može preživjeti u morskom okolišu 50 mjeseci (Yiagnosis, 2006.) pa bolest ima endemski karakter, i da bi se kontrolirali gubici u proizvodnji nužno je liječenje antibioticima.

Na hrvatskim uzgajalištima lubina, bolest se obično javlja u proljeće kada temperatura mora naglo raste, ujesen pri naglom padu temperature, a posljednjih nekoliko godina velike gubitke nanosi kronični oblik vibrioze kompliciran infekcijom gram negativnom bakterijom *Tenacibaculum maritimum* krajem zime (Zrnčić i Oraić, 2013.). Čak i uz provođenje liječenja gubici se penju na 10 do 20% zahvaćene populacije, a štete prouzročene

bolešću povećavaju troškove liječenja, slabije konverzije hrane i zaostajanje u rastu (Sawyer i Strout, 1977., Zrnčić, 1999.) i posljedični negativan utjecaj na tržišnu kvalitetu ribe (Salte i sur., 1994.). Sporadično se gubici u uzgoju povećavaju epidemijama pastereloze prouzročenim gram negativnom bakterijom *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* ujesen, a pojavi bolesti prethode ljeta s dugotrajno visokim temperaturama mora (Oraić i sur., 1998.).

Razvoj moderne akvakulture nameće implementaciju programa prevencije bolesti temeljene na stimulaciji imunskog sustava, u tehnologiju uzgoja riba (Gudding i Van Muiswinkel, 2013.). Cijepljenjem lubina pripravkom protiv vibrioze i pastereloze koja sadrži inaktivirane uzročnike postiže se dobra zaštita od ovih dviju bolesti i cijepljenje je prihvaćeno kao jedna od mjera biosigurnosti na mnogim uzgajalištima lubina u Mediteranu (Santos i sur., 1991., Graveningen i sur., 1998.).

Vrlo se učinkovita zaštita od vibrioze temelji na programu koji započinje cijepljenjem mlađa lubina mase 1-2 grama uranjanjem u mrijestilištu. Takav tretman rezultira dobrom zaštitom u trajanju od 2 do 4 mjeseca (Wardle, 1996.) sa stupnjem zaštite 60-80%. Da bi se stupanj i vrijeme

Dr. sc. Snježana ZRNČIĆ, dr. med. vet., znanstvena savjetnica, dr. sc. Dražen ORAIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, dr. sc. Jelka PLEADIN, dipl. ing. biotehnol., docentica, znanstvena savjetnica, dr. sc. Željko MIHALJEVIĆ, dr. med. vet., znanstveni savjetnik, Hrvatski Veterinarski institut, Zagreb; Igor CVITIĆ, voditelj uzgajališta Friškina d.o.o.

trajanja zaštite poboljšali, primjenjuje se docjepljivanje lubina u kavezima (Toranzo i sur., 2009.). Docjepljivanje se može provoditi uranjanjem, parenteralnom (i/p) aplikacijom cjepiva te primjenom cjepiva u hrani (Le Breton, 2009.), ovisno o uvjetima uzgoja, veličini ribe i mogućnostima primjene. Svaka od metoda ima prednosti i nedostatke, ali općenito se smatra da se i/p docjepljivanjem postiže najduže trajanje imunosti. Međutim, za provođenje postupka potrebna je skupa oprema i stručno osposobljeno osoblje.

S obzirom da na većinu hrvatskih uzgajališta mlađ lubina dolazi iz različitih hrvatskih i inozemnih mrijestilišta, gdje je cijepjenje mlađa protiv vibrioze uobičajen tehnološki postupak, cilj ovog istraživanja je bio provjeriti učinkovitost docjepljivanja mlađa lubina protiv vibrioze i pastereloze metodom uranjanja na uzgajalištu tijekom godine dana uzgoja.

Materijal i metode

Opis eksperimentalnog uzgajališta

Uzgajalište lubina i komarče, na kojem je provedeno istraživanje, je manje uzgajalište smješteno u uvali zaštićenoj od svih vjetrova, osim zapadnog, a riba se uzgaja u kavezima različitih oblika i kapaciteta. Epidemiološka povijest na uzgajalištu je dosta nepovoljna s obzirom da se kavezi nalaze na otprilike istim pozicijama već dvadeset godina te su tijekom proteklih godina zabilježene pojave vibrioze svake godine, a povremeno i pastereloze. Najteži oblici vibrioze bilježeni su u nekoliko proteklih uzgojnih sezona krajem zime, kada je primarna infekcija bila komplicirana s infekcijom *T. maritimum*, uz vrlo visoki udio mortaliteta.

Riba za pokuse

Pokusno je cijepljen mlađ lubina podrijetlom iz hrvatskog mrijestilišta izmriješten 14. prosinca 2011. Prvo cijepjenje mlađa protiv vibrioze **provedena** je uranjanjem u mrijestilištu 03. travnja 2012. kada je mlađ bio u dobi od 111 dana, uz prosječnu tjelesnu težinu od 1,4 grama. Dvadesetak dana nakon cijepjenja mlađ

je dopremljen u kavez na uzgajalište. Tijekom svibnja iste godine je obolio od infekcije *T. maritimum* i provedeno je liječenje florfenikolom. Sredinom lipnja uočena je invazija parazitom *Ceratomyxus oestroides* te je provedena antiparazitarna kupka deltametrinom.

U veljači 2013. uočen je povišen mortalitet, provedena je razudba i bakteriološka pretraga te je u kontrolnoj skupini dijagnosticirana vibrioza (*V. anguillarum*) uz koinfekciju *T. maritimum*, a u cijepjenoj skupini samo infekcija *T. maritimum*. Provedeno je liječenje kontrolne skupine flumekvinom tijekom 10 dana početkom ožujka, a zatim je istovjetno liječenje ponovljeno u travnju 2013.

Postupak docjepljivanja

Za pokus je korišteno cjepivo ALPHA DIP 2000 (Pharmaq, Norveška), cjepivni pripravak za uranjanje koji sadrži suspenziju formalinom ubijene bakterije *Vibrio anguillarum* serotip O1 i *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* namijenjen za cijepjenje i docjepljivanje. Prema uputi proizvođača litra cjepiva se razrijedi s 10 litara ambijentalne vode te se tako dobije cjepivna suspenzija dostatna za cijepjenje 100 kg ribe.

Docjepljivanje je provedeno 10. kolovoza 2012. u povoljnim okolišnim uvjetima pri temperaturi mora od 23,0 °C, količini otopljenog kisika oko 5 mg/L uz zasićenje od 81%. Tjedan dana prije docjepljivanja započeo je tretman ribe mješavinom beta-glukana i manan-oligosaharida u hrani kako bi se potaknuli nespecifični obrambeni mehanizmi i postigao optimalni status organizma u trenutku manipulacije. Dva dana prije postupka prekinuta je hranidba, a dan prije kavez je podijeljen u dva dijela; jedan u koji će se smjestiti docijepljena riba, a drugi za kontrolnu skupinu. Neposredno prije docjepljivanja smanjen je volumen kaveza podizanjem mreže, oko kaveza je navučena cerada i riba je blago sedirana niskim dozama benzokaina. Izlovljavane su manje količine ribe, anestetizirane uranjanjem u benzokain, a kada bi se

umirile, docjepljivane su uranjanjem u otopinu cjepivnog pripravka tijekom 30 sekundi. Nakon provedenog postupka, riba je vagana kako bi se odredila količina docjepljivane ribe u pripremljenoj količini cjepiva. Docjepljivana riba smještena je u novi kavez na buđenje. Tijekom cijelog postupka mjerena je koncentracija kisika u kavezu sa sediranom ribom i u trenutku kada se zasićenje spustilo ispod 80% dodavan je kisik.

Kontrola parametara rasta i preživljavanja

Neposredno prije pokusa uzorkovano je 50 primjeraka lubina i izmjerena im je duljina, težina i određen Fultonov indeks kondicije (KI) (Ricker, 1975.). Isti je postupak ponavljan na 30 primjeraka, mjesečno, tijekom 4 mjeseca nakon cijepjenja, a redovito su bilježeni podatci o temperaturi mora i mortalitetima. Kontrola parametara rasta provedena je i prilikom uzorkovanja krvi za određivanje IgM. Godinu dana nakon docjepljivanja izražen je RPP (relativni postotak preživljavanja), izračunat prema sljedećoj formuli: $RPP = 1 - (\% \text{ mortaliteta u pokusnoj skupini} / \% \text{ mortaliteta u kontrolnoj skupini}) \times 100$ (Amend, 1981.).

Određivanje količine IgM u serumu

U lipnju 2013. godine uzorkovana je krv punkcijom kaudalne vene od po 10 primjeraka iz docjepljene skupine i kontrolne skupine. Uzorci su ostavljeni preko noći na +4 °C da se odvoje korpuskularni elementi te su odvojeni serum i centrifugirani u centrifugi s hlađenjem na 1000 g/min tijekom 15 minuta. Izdvojeni serum pretraženi su primjenom komercijalnog imunoenzimskog testa (ELISA) za kvantitativno određivanje IgM u serumu riba, prema uputi proizvođača (Cusabio, Kina), s mogućnošću detektiranja u rasponu od 2 µg/mL do 50 µg/mL IgM.

Statistička analiza

Distribucija prikupljenih podataka testirana je Shapiro-Wilk W testom.

Nakon testiranja distribucije, u analizi statističke povezanosti, korištena je multivariabilna regresijska analiza. Ukoliko distribucija podataka nije bila normalna, korišten je neparametrijski Spaerman korelacijski test. Statističke analize provedene su uporabom Stata 10.0 programa (StataCorp. 2005 Stata Statistical Software: Release 10.0, College Station, TX, SAD). Razina statističke značajnosti od $p < 0,05$ je prihvaćena kao značajna.

Rezultati

Pokusno cijepljeni mlađ lubina bio je dugačak $14,12 \pm 1,15$ cm, težio je $29,86 \pm 6,99$ g i imao indeks kondicije $1,04 \pm 0,07$. Razlike u prirastu u duljini i težini između cijepjene i necijepjene skupine nisu bile značajne tijekom prva četiri mjeseca, što je vidljivo u Tabeli 1. Mortaliteti su jedino u prvom mjesecu nakon cijepjenja bili viši u cijepljenom od necijepljenog kaveza, što je uočljivo iz Tabele 2. i Grafa 1.

Početkom lipnja 2013. ribe iz docjepljivane skupine su narasle na duljinu $244 \pm 9,8$ cm, težinu $160,7 \pm 71$ g i imale su KI $1,1 \pm 0,07$, dok su necijepljeni lubini narasli na $236,24 \pm 10,9$ cm, težinu $140,47 \pm 13,6$ g i imali su KI $1,07 \pm 0,07$, $p = 0,078$ što je na granici signifikantnosti. U docjepljenoj skupini izmjerene su prosječne vrijednosti IgM od $4,42 \pm 1,93$ µg/mL, a u kontrolnoj je skupini izmjerena prosječna vrijednost IgM od $2,22 \pm 0,29$ µg/mL (Graf 2).

Rasprava

Dugi niz godina su epidemije vibrioze na hrvatskim uzgajalištima lubina manje ili više uspješno liječene primjenom antibakterijskih lijekova. No, posljednjih su nekoliko godina zabilježeni ozbiljni gubitci od kronične vibrioze komplicirani koinfekcijom *T. maritimum* krajem zime. U to doba godine, s obzirom na niske temperature mora od ≥ 12 °C, riba slabo uzima hranu, a antibakterijsko liječenje se nije pokazalo učinkovito. Osim toga, na nacionalnom tržištu ne postoji

Tabela 1. Parametri rasta nakon docjepljivanja

Mjesec	Duljina (cm)		Težina (g)	
	Kontrolna	Pokusna	Pokusna	Kontrolna
Kolovoz*2012.	14,12±1,15 (9-16,5)		29,83±6,99 (8,2-44,6)	
Rujan 2012.	16,85±0,98 (14,5-18,5)	16,85±1,24 (14-19)	54±8,98 (32-74)	53,93±12,51 (29-77)
Listopad 2012.	18,43±0,93 (17-20)	18,96±1,12 (17-21)	73,37±10,17 (56-97)	79±14,25 (56-109)
Studen 2012.	20,13±1,64 (17-22,5)	20,42±1,3 (17,5-23)	96,9±21,76 (54-132)	97,6±18,75 (61-130)

*Početni parametri uzgoja izmjereni na dan docjepljivanja

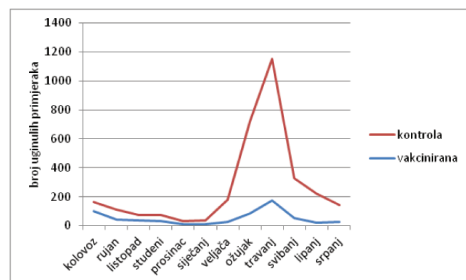
Tabela 2. Mjesečni mortaliteti u docjepljenoj i kontrolnoj skupini

Mjesec	Temperatura mora Prosječno °C	Broj uginulih primjeraka	
		Cijepljena skupina	Kontrolna skupina
Kolovoz 2012.	23,78	103	61
Rujan 2012.	22,73	40	70
Listopad 2012.	21,78	36	37
Studen 2012.	19,25	34	42
Prosinac 2012.	16,2	11	19
Siječanj 2013.	13,5	12	25
Veljača 2013.	12,1	26	152
Ožujak 2013.	12,3	84	634
Travanj 2013.	14,7	175	975
Svibanj 2013.	18,5	52	274
Lipanj 2013.	20,8	20	202
Srpanj 2013.	21,8	26	115

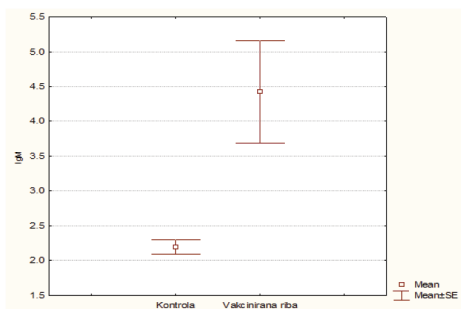
dostatan izbor lijekova registriranih za antibakterijsko liječenje riba, a zamijećena je i smanjena osjetljivost na neke lijekove. Pozitivna iskustva prevencije vibrioze cijepljenjem u mrijestilištu i docjepljivanjem na uzgajalištu u drugim mediteranskim zemljama (Le Breton, 2009.), ukazuju da je takav postupak optimalna opcija upravljanja zdravljem lubina u uzgoju.

Rezultati pokusa provedenog u uzgojnim uvjetima pokazuju visoku učinkovitost docjepljivanja mlađa lubina uranjanjem izraženu višim preživljavanjem docjepljivane u odnosu na skupinu koja je cijepljena samo u mrijestilištu. Jednako dobre rezultate docjepljivanja uranjanjem su u laboratorijskim uvjetima u Grčkoj postigli Angelidis i sur. (2006.), koji su učinkovitost cijepljenja i docjepljivanja provjeravali izazivačkom infekcijom bakterijom *V. anguillarum*.

U našem istraživanju 6 mjeseci nakon docjepljivanja na uzgajalištu je izbila vibrioza. Na taj je način učinkovitost docjepljivanja provjerena „prirodnom izazivačkom infekcijom“. Za procjenu učinkovitosti postupka uzeti su u obzir svi mortaliteti tijekom godine dana nakon provedenog docjepljivanja. Ove činjenice objašnjavaju razliku u RPP koji je u našem pokusu iznosio 75%, za razliku od laboratorijskog pokusa u Grčkoj gdje je izazivačka infekcija provedena i/p aplikacijom bakterije, a RPP je dva tjedna kasnije iznosio 93% kod primarno cijepljene, odnosno 100% kod docjepljene ribe. Slične su rezultate, nakon izazivačke infekcije cijepljenog i docjepljenog lubina u laboratorijskim uvjetima, postigli Galeotti i sur. (2013.). Međutim, prema Europskoj farmakopeji RPP viši od 70% nakon i/p cijepljenja, odnosno viši od 60% nakon cijepljenja uranjanjem, smatraju se zadovoljavajućim i označavaju učinkovito



Graf 1. Mjesečni mortaliteti mlađa lubina u docjepljivanoj i kontrolnoj skupini



Graf 2. Količina IgM ($\mu\text{g/mL}$) izmjerena u serumu docjepljivane i kontrolne skupine



Slika 1. Priprema kaveza za anesteziriranje ribe koja će se docjepljivati.



Slika 2. Anestezirana riba koja će se docjepljivati.



Slika 3. Docjepljivanje metodom uranjanja.



Slika 4. Docjepljena riba u novom kavezu.

čepivo (EU, EDQM, 2013.). Bitno je naglasiti da je RPP od 75% postignut u uzgojnim uvjetima i u razdoblju tijekom godina nakon provođenja docjepljivanja.

Uzgojni rezultati, praćeni kroz udio preživljavanja, prirasti izmjerenu količinu IgM u docjepljivanoj i kontrolnoj skupini ovog pokusa, pokazuju učinkovitost docjepljivanja uranjanjem mlađa lubina na uzgajalištu u svim navedenim parametrima. Razlika u broju preživjelih jedinki je znatna; 95% u docjepljivanoj, u odnosu na 80% u kontrolnoj skupini. Preživljavanje i činjenica da nije bilo

potrebno primjeniti antimikrobnu terapiju tijekom prirodne infekcije dokazuju ekonomsku opravdanost primjene docjepljivanja. Prirast je u cijepjenoj skupini bio jedva nešto veći ($244 \pm 9,8$ cm, $160,7 \pm 71$ g, KI $1,1 \pm 0,07$), granične signifikantnosti u odnosu na kontrolnu ($236,24 \pm 10,9$ cm, $140,47 \pm 13,6$ g, KI $1,07 \pm 0,07$). Međutim, vrlo je vjerojatno da je jednak prirast u kontrolnoj skupini prouzročen većim prostorom uzgoja ribe, odnosno manjom gustoćom, s obzirom da je u kontrolnoj skupini preživljavanje bilo 15% manje nego u cijepjenoj.

Deset mjeseci nakon docjepljivanja u serumu docjepljenih riba izmjerena je gotovo dvostruko veća količina IgM ($4,42 \pm 1,93 \mu\text{g/mL}$) u odnosu na ribu iz kontrolne skupine ($2,22 \pm 0,29 \mu\text{g/mL}$). Ovi podatci dokazuju da je ovako pobuđen humoralni imunitet dugotrajan, a dobiveni rezultati su sukladni s rezultatima sličnog pokusa provedenog u lubina uzgajanih u bazenima i kavezima na Sardiniji (Viale i sur., 2006.). Autori su pratili uzgojne rezultate i protutijela u serumu lubina docjepljenih protiv vibrioze godinu dana nakon docjepljivanja i zaključili da je prednost u preživljavanju i titru protutijela u serumu 10% veća u docjepljene ribe.

Provedeno pokusno docjepljivanje na uzgajalištu upućuje na zaključak da je takav postupak ekonomski opravdan i da pruža zaštitu od učestalih reinfekcija bakterijom *V. anguillarum*. S obzirom da tijekom razdoblja praćenja docjepljene ribe nije bilo prirodne infekcije *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, nije bila moguća evaluacija učinkovitosti druge komponente ispitivanog cijepljivog pripravka. Posljednjih dvadesetak godina brojni su primjeri opravdanosti cijepljenja ribe u svjetlu održivog rasta, razvoja i isplativosti akvakulture (Thorarinnsson i Powell, 2006.). Kod riba zaštićenih cjepivom tijekom cijelog uzgojnog ciklusa će gubitci od bakterijskih bolesti i potreba liječenja biti svedeni na minimum. Cijepljenje će imati povoljan ekonomski učinak na profitabilnost i stoga bi postupak docjepljivanja trebalo svakako uključiti u proizvodni proces uzgoja lubina.

Zahvala

Autori zahvaljuju tvrtki Pharmaq, Norveška za ustupljeno cjepivo ALPHA DIP 2000 i gosp. Draganu Pezelju, vlasniku uzgajališta Friškina d.o.o. što nam je omogućilo provođenje pokusa.

Sažetak

Marikultura je kroz uzgoj lubina i komarče najzastupljenija grana akvakulture u Hrvatskoj. Bolesti predstavljaju kritičnu točku u proizvodnji, a najučestalije su pojave vibrioze prouzročene bakterijom *Vibrio anguillarum* serotip O1 i pas-

tereloze prouzročene bakterijom *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. S ciljem poboljšanja proizvodnih rezultata u uzgoju lubina provedeno je pokusno docjepljivanje, uranjanjem, protiv ovih dvaju bakterijskih uzročnika u uzgojnim uvjetima. Tijekom godine dana praćeni su okolišni uvjeti, parametri rasta te je određena količina IgM u serumu docjepljivanih lubina i onih kontrolne skupine. Rezultati su pokazali preživljavanje u docjepljivanoj skupini 95% za razliku od 80% u kontrolnoj skupini, a relativni postotak preživljavanja (RPP) je bio 75%. Razina IgM u serumu lubina je deset mjeseci nakon docjepljivanja bila dvostruko veća u docjepljene skupine ($4,42 \pm 1,93 \mu\text{g/mL}$) za razliku od kontrolne skupine ($2,22 \pm 0,29 \mu\text{g/mL}$). Pokusno docjepljivanje ukazuje na ekonomsku opravdanost uvođenja postupka docjepljivanja u tehnologiju uzgoja kao jednu od važnih mjera biosigurnosti.

Literatura

1. AMEND, D. F. (1981): Potency testing of fish vaccines. *Dev. Biol. Stand.* 49, 447-454.
2. ANGELIDIS, P., D. KARAGIANNIS and E. M. CRUMP (2006): Efficacy of a *Listonella anguillarum* (syn. *Vibrio anguillarum*) vaccine for juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Dis. Aquat. Org.* 71, 19-24.
3. EU, EDQM (2013): European Pharmacopoeia, 8th edition. <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-8th-edition-1563.html>.
4. GALEOTTI, M., N. ROMANO, D. VOLPATTI, C. BULFON, A. BRUNETTI, P. G. TISCAR, F. MOSCA, F. BERTONI, M. G. MARCHETTI and L. ABELLI (2013): Innovative vaccination protocol against vibriosis in *Dicentrarchus labrax* (L.) juveniles: Improvement of immune parameters and protection to challenge. *Vaccine* 31, 1224-1230.
5. GRAVENINGEN, K., R. THORARINSSON, L. H. JOHANSEN, B. NISSEN, K. L. S. RIKARSEN and E. GREGER (1998): Bivalent vaccines for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) against vibriosis and pasteurellosis. *J. Appl. Ichthyol.* 14, 159-162.
6. GUDDING, R. and W. B. VAN MUISWINKEL (2013): A history of fish vaccination Science-based disease prevention in aquaculture. *Fish Shellfish Immunol.* 35, 1683-1688.
7. LE BRETON, A. (1996): An overview of the main infectious problems in cultured seabass *Dicentrarchus labrax* and seabream *Sparus aurata*: solutions? International Workshop on "Seabass and Seabream Culture: Problems and Prospects". Verona, Italy, Oct, 16-18) 67-86.
8. LE BRETON, A. (2009): Vaccines in Mediterranean aquaculture: practice and needs. In: RODGERS, C., BASURCO, B. (eds.). The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. *Options Méditerranéennes: Serie A. Séminaires Méditerranéennes*; n. 86.

9. ORAIĆ, D., S. ZRNČIĆ and B. ŠOŠTARIĆ (1996): *Vibrio anguillarum* ulcerative dermatitis in cage cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*). The seventh Ljudevit Jurak International Symposium on Comparative Pathology. (Zagreb, 7.-8.6.1996.). Book of Abstracts.
10. ORAIĆ, D., S. ZRNČIĆ and B. ŠOŠTARIĆ (1998): The most prevalent diseases in cultivated sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and sea bream (*Sparus aurata*) in fish farms along the Croatian coast. Third International Symposium on Aquatic Animal Health. (Baltimore, MD, USA). Book of Abstracts.
11. RICKER, W. E. (1975): Computation and interpretation of biological statistics of populations. *Bull. Fish. Res. Board Can.* 191, p. 382.
12. SALTE, K. A. RORVIK, E. REED and K. NORBERG (1994): Winter ulcers of the skin in Atlantic salmon, *Salmon salar* L.: pathogenesis and possible aetiology. *J. Fish. Dis.* 17, 661-665.
13. SANTOS Y., I. BANDIN, S. NUNEZ, K. GRAVNINGEN and A. E. TORANZO (1991): Protection of turbot *Scophthalmus maximus* (L.) and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Richardson) against vibriosis using two different vaccines. *J. Fish Dis.* 14, 407-411.
14. SAWYER, E. S. and R. G. STROUT (1977): Survival and growth of vaccinated, medicated and untreated coho salmon (*Onchorhynchus kisutch*) exposed to *Vibrio anguillarum*. *Aquaculture* 10, 311-315.
15. THORARINSSON, R. and D. B. POWELL (2006): Effects of disease risk, vaccine efficacy, and market price on the economics of fish vaccination. *Aquaculture* 259, 42-49.
16. TORANZO, A. E. (2004): Report about fish bacterial diseases. In: ALVAREZ-PELLITERO P., BARJA J. L., BASURCO B., BERTHE F., TORANZO A. E. (eds.). *Mediterranean aquaculture diagnostic laboratories Zaragoza: CIHEAM. Options Méditerranéennes, B. Etudes et Recherches.* 49, pp. 49-89.
17. TORANZO, A. E., J. L. ROMALDE, B. MARGARINOS and J. L. BARJA (2009): Present and future of aquaculture vaccines against fish bacterial diseases. In: Rogers, C., B. Basurco (eds.) *The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. Options Méditerranéennes, A.* 86, 155-176.
18. VIALE, I., C. CUBADDA, G. ANGELUCCI and F. SALATI (2006): Immunization of European sea bass, *D. labrax* L. 1758, fingerlings with a commercial vaccine against vibriosis: a one year survey on antibody level, disease and growth. *J. Appl. Aquaculture* 18, 53-66.
19. WARDLE, R. (1996): Vaccination strategies for the prevention and control of diseases of farmed sea bass, bream and turbot. *International Workshop on "Fish Health Management in Sea Bass and Sea Bream Farming"*. (Malta, Oct. 9-12.).
20. YIAGNISIS, M. (2006): Mediterranean Scenario: Vibriosis in the Mediterranean area. HCMR at the Second Open DIPNET workshop. (Prague, April 3-4).
21. ZRNČIĆ, S. (1999): Patomorfološka, epizootična i bakteriološka istraživanja vibrioze lubina (*Dicentrarchus labrax*) iz uzgoja u hrvatskom priobalju. Doktorska disertacija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
22. ZRNČIĆ, S. and D. ORAIĆ (2013): Overview of vibriosis in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) at Croatian farms. Open workshop on Vibriosis in Aquaculture. EAFP Conference. (Tampere, Finland. 04.09.2013). Book of Abstracts.

Effectiveness of revaccination of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in farm conditions

Snježana ZRNČIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Dražen ORAIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Jelka PLEADIN, BSc, PhD, Assistant Professor, Željko MIHALJEVIĆ, DVM, PhD, Scientific Advisor, Croatian Veterinary Institute, Igor CVITIĆ, Fishery's Manager, Friškina d.o.o.

Economically, the cultivation of sea bass and sea bream is the most important mariculture activity in Croatian aquaculture. Critical points during cultivation are disease outbreaks, namely vibriosis caused by the bacterium *Vibrio anguillarum* serotype O1, and pasteurellosis caused by *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, which occur often. The aim of this study was to improve the production results in sea bass cultivation by means of experimental revaccination against these bacterial diseases. Environmental conditions, growth parameters and serum

levels of IgM of revaccinated and control groups were measured during twelve months after revaccination. Results of the experiment showed that the relative percentage of survival (RPS) was 75%. IgM measured in the serum of revaccinated sea bass sera was twice as high ($4.42 \pm 1.93 \mu\text{g/mL}$) as in the control group ($2.22 \pm 0.29 \mu\text{g/mL}$) ten months later. Revaccination of sea bass should be implemented into the cultivation process at farms as a biosecurity measure due to its cost-effectiveness.