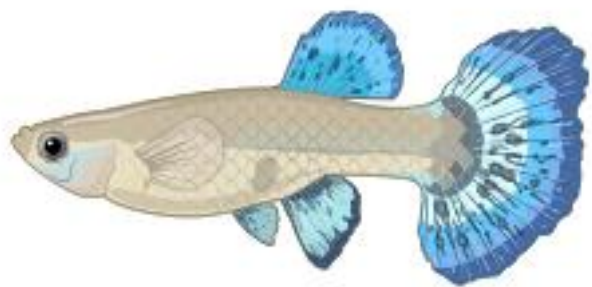




Bakteriální infekce sladkovodních ryb, zhodnocení stavu antimikrobiální rezistence v ČR

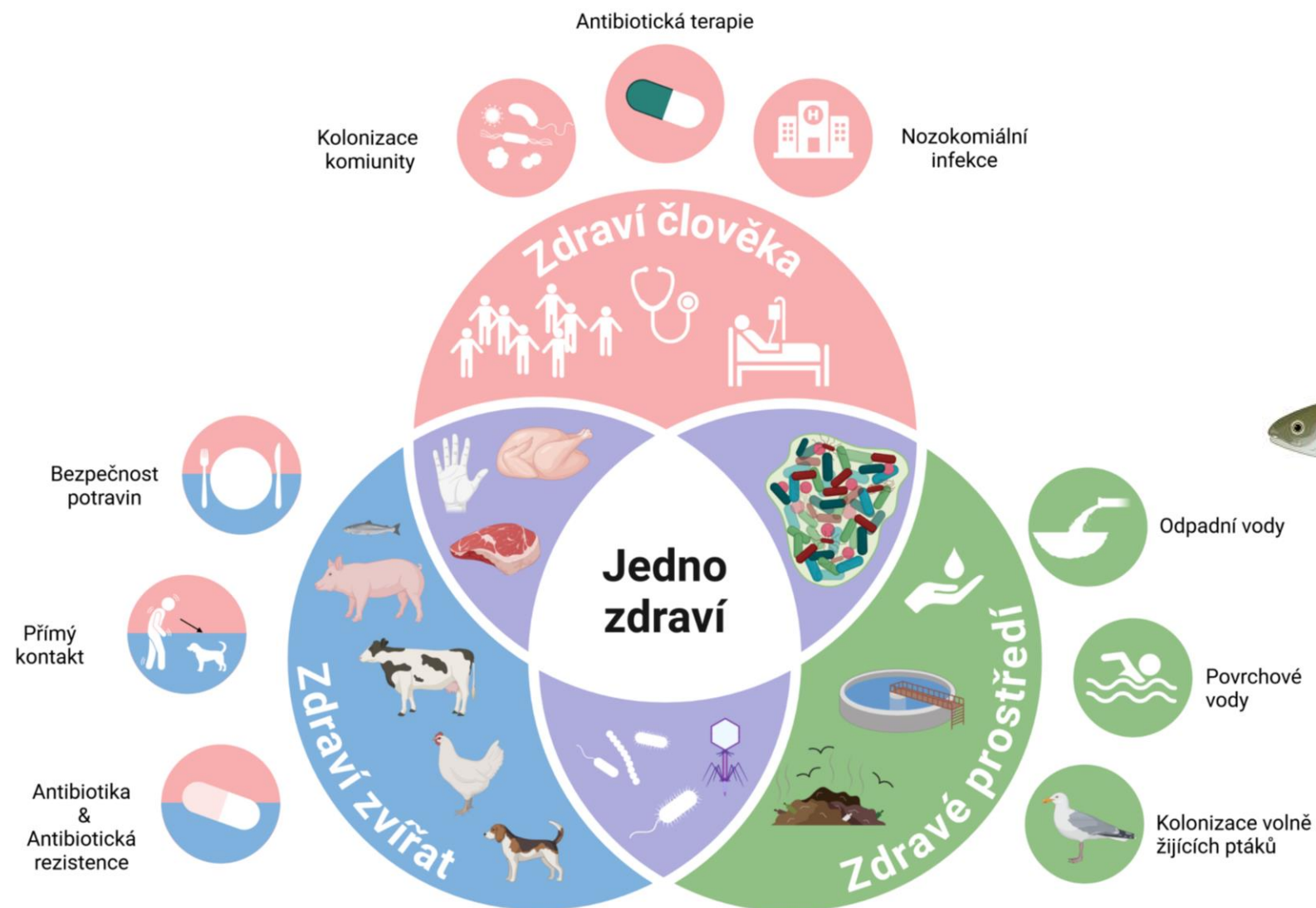
Alois Čížek

Veterinární univerzita Brno

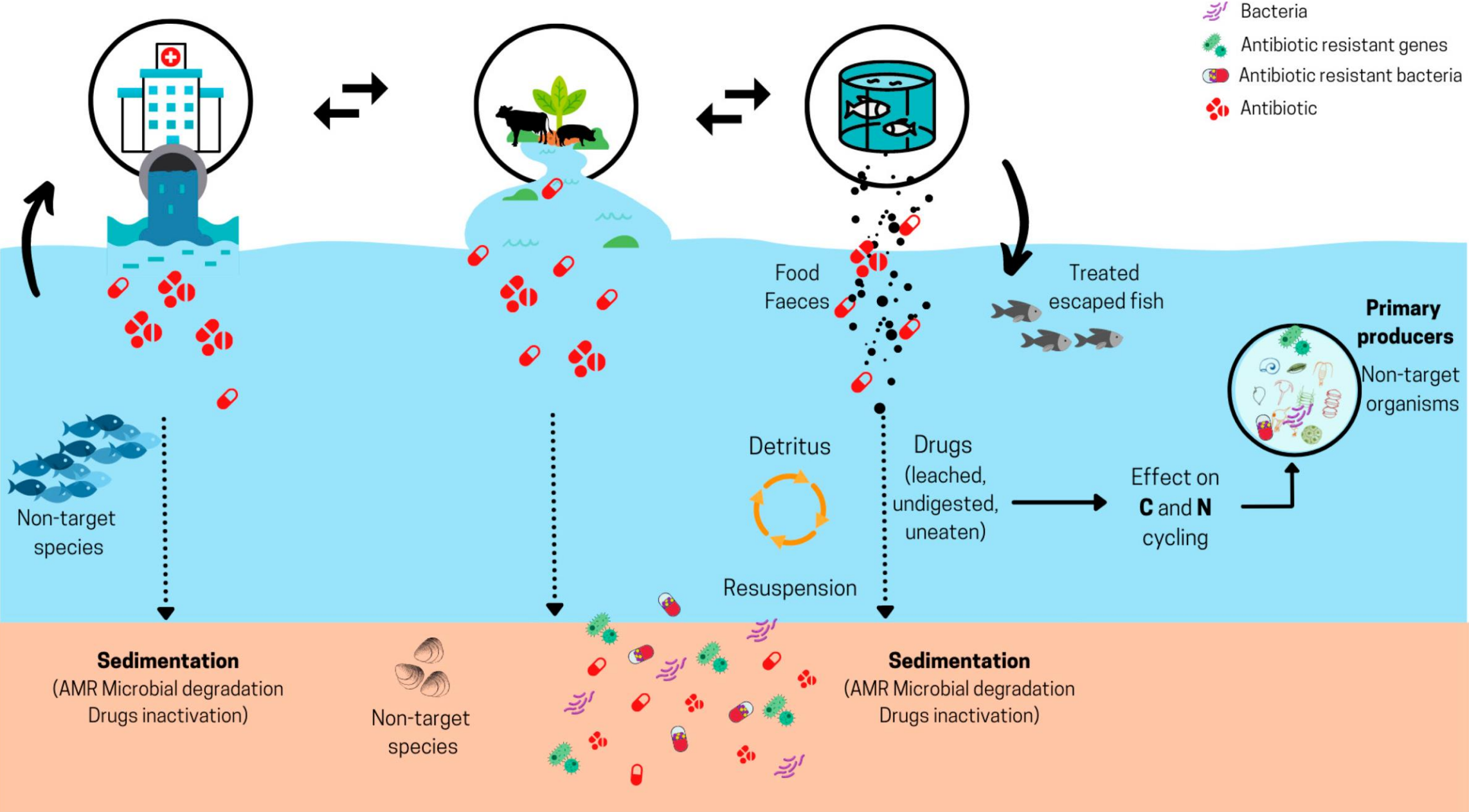


Konference CZEPAR - 19. – 20. listopadu 2025

Rezistentní bakterie ve vodním prostředí v konceptu jednoho zdraví



Integrated Fish Farming and “Waste as Feed” (Reviews in Aquaculture, 15, 2022, 2, 568-578)



Akvakultura – globální pohled



Akvakultura je nejrychleji rostoucí odvětví celého sektoru produkce potravin na světě



17 % všech živočišných bílkovin pohází z vodních živočichů



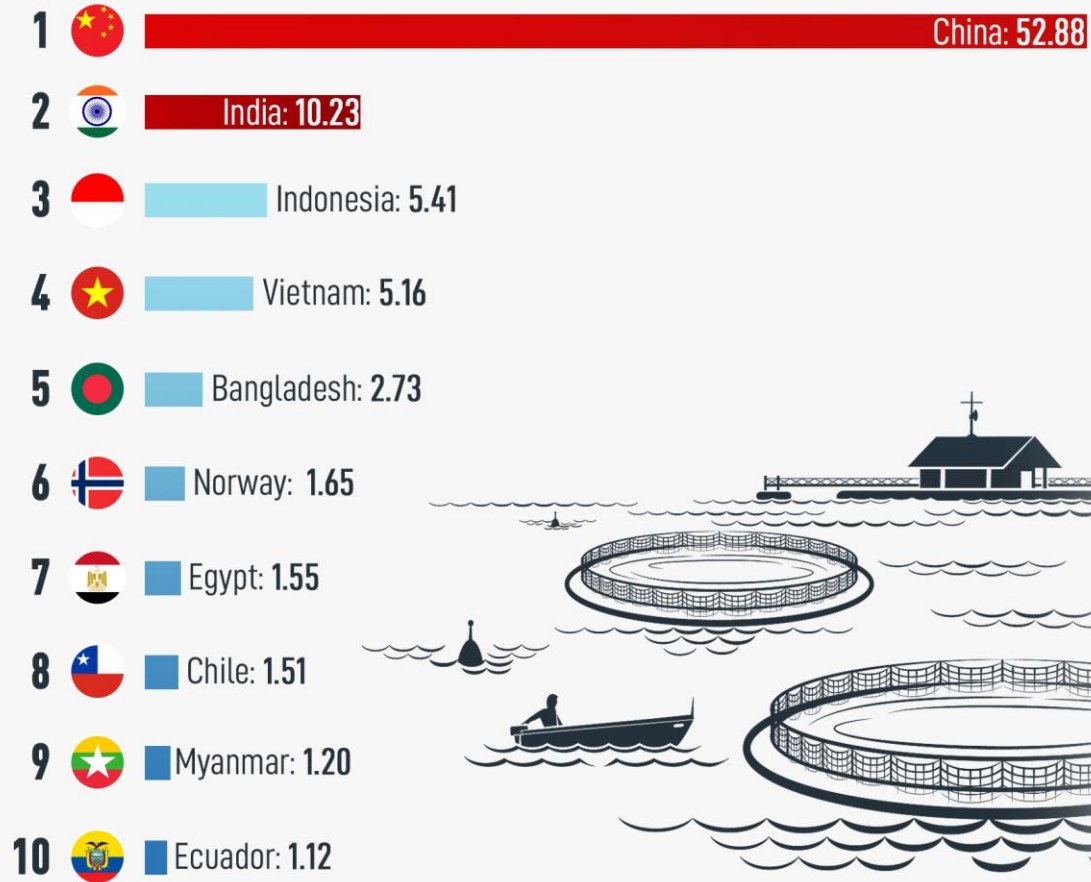
Ryby tvoří zhruba 20 % živočišných bílkovin konzumovaných na osobu u více než 40 % světové populace lidí



Čínské přísloví: *Ulov si rybu a budeš mít jídlo na jeden den; nauč se chovat ryby a budeš mít dostatek potravy do konce svého života*

TOP 10 COUNTRIES IN GLOBAL AQUACULTURE

(AQUATIC ANIMALS, IN MILLION TONNES)



Note: Data is from production in 2022
Source: The State of World Fisheries and Aquaculture 2024---FAO



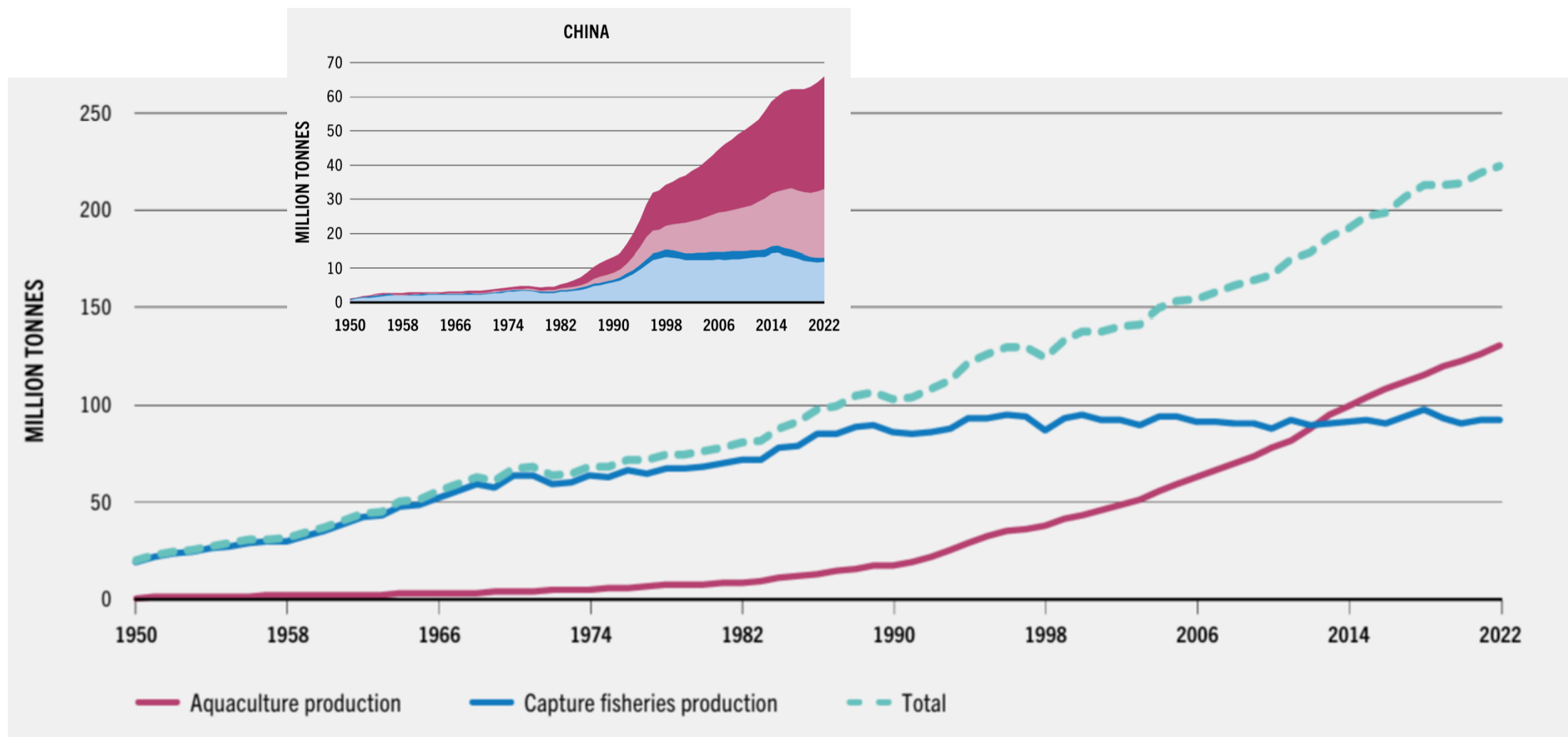
Countries with the Highest Fish Production, 2021

Top 10 fish producing Countries in the world

		In million tons
1	China	67.8
2	Indonesia	16.7
3	India	10.9
4	Vietnam	6.4
5	Bangladesh	6.3
6	Norway	4.9
7	Chile	4.4
8	Japan	3.1
9	United States	2.8
10	Egypt	2.7

Source: Food and Agriculture Organization
of the United Nations (FAO)

Světová produkce akvakultury již 10 let převyšuje rybolov

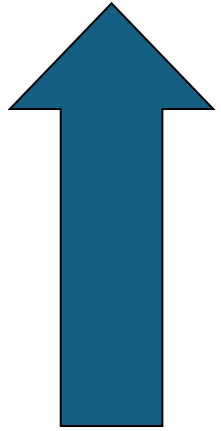


Technologie intenzivních akvakultur

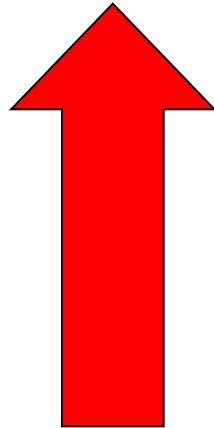
- Průtočné systémy
- Rybniční systémy
- Uzavřené recirkulační systémy



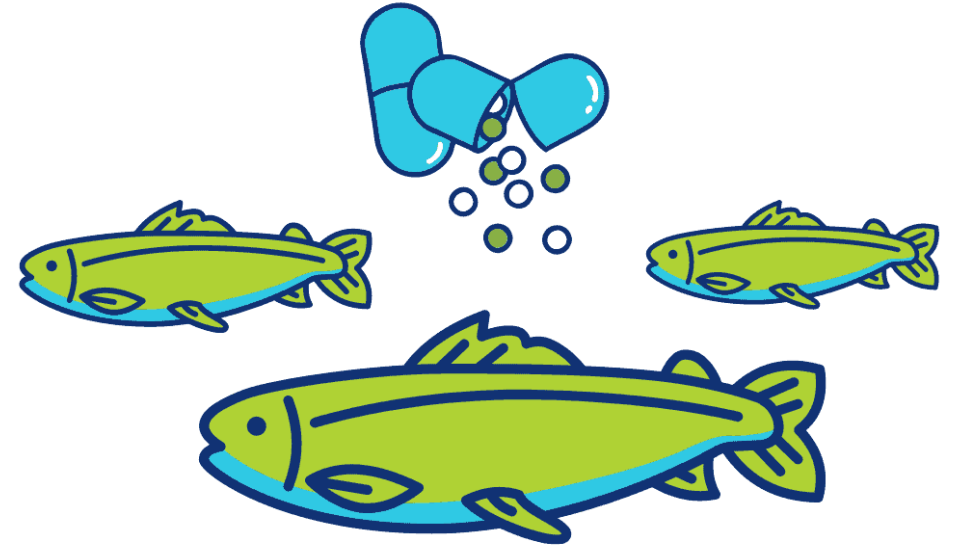
Koncentrace rybích obsádek vs. zdraví



Intenzifikace akvakultur



Riziko infekčních chorob

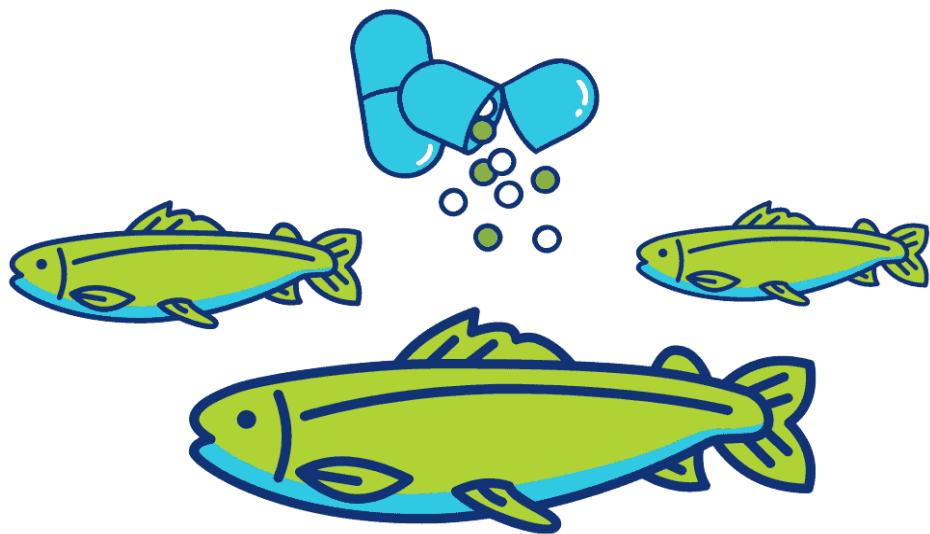


Globální pohled



- One Health Trust
 - v roce 2017 bylo v akvakultuře celosvětově použito 10 259 tun antimikrobiálních látek
 - do roku 2030 se zvýší o 33 % na 13 600 tun ročně
 - nejvýznamnější podíl (93,8 %) celosvětového používání antimikrobiálních látek v akvakultuře připadá na oblast Asie a Tichomoří, přičemž pouze Čína se v roce 2017 podílela na spotřebě 57,9 %

Rizika použití antimikrobik u ryb jsou známa



Aplikační formy atimikrobik

- medikované krmivo,
- léčebné koupele (jikry, ryby),
- injekční

- selekce a šíření rezistentních bakterií a genů rezistence ve vodním prostředí
- riziko globálního šíření antimikrobiální rezistence s dopadem na veřejné zdraví
 - riziko horizontálního přenosu na patogeny člověka
 - potenciální riziko kolonizace tržních ryb jinými druhy rezistentních bakterií, které mohou vodu kontaminovat

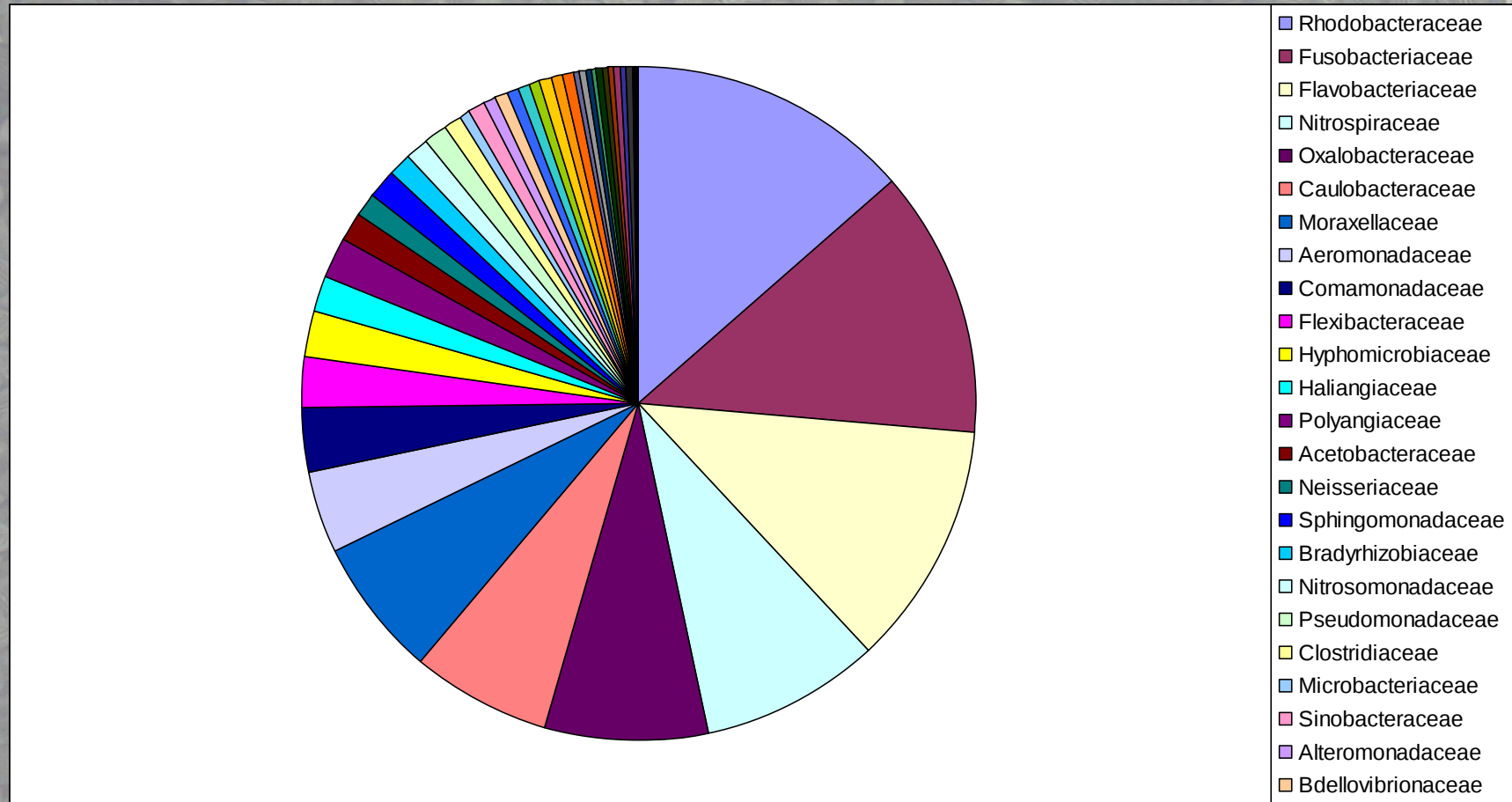
UZAVŘENÉ RECIRKULAČNÍ SYSTÉMY







Proporcionální zastoupení sekvencí specifických pro čeledě bakterií ve vzorku DNA biofiltru



Weiet al. Science of The Total Environment, Vol. 934, 2024, 173268

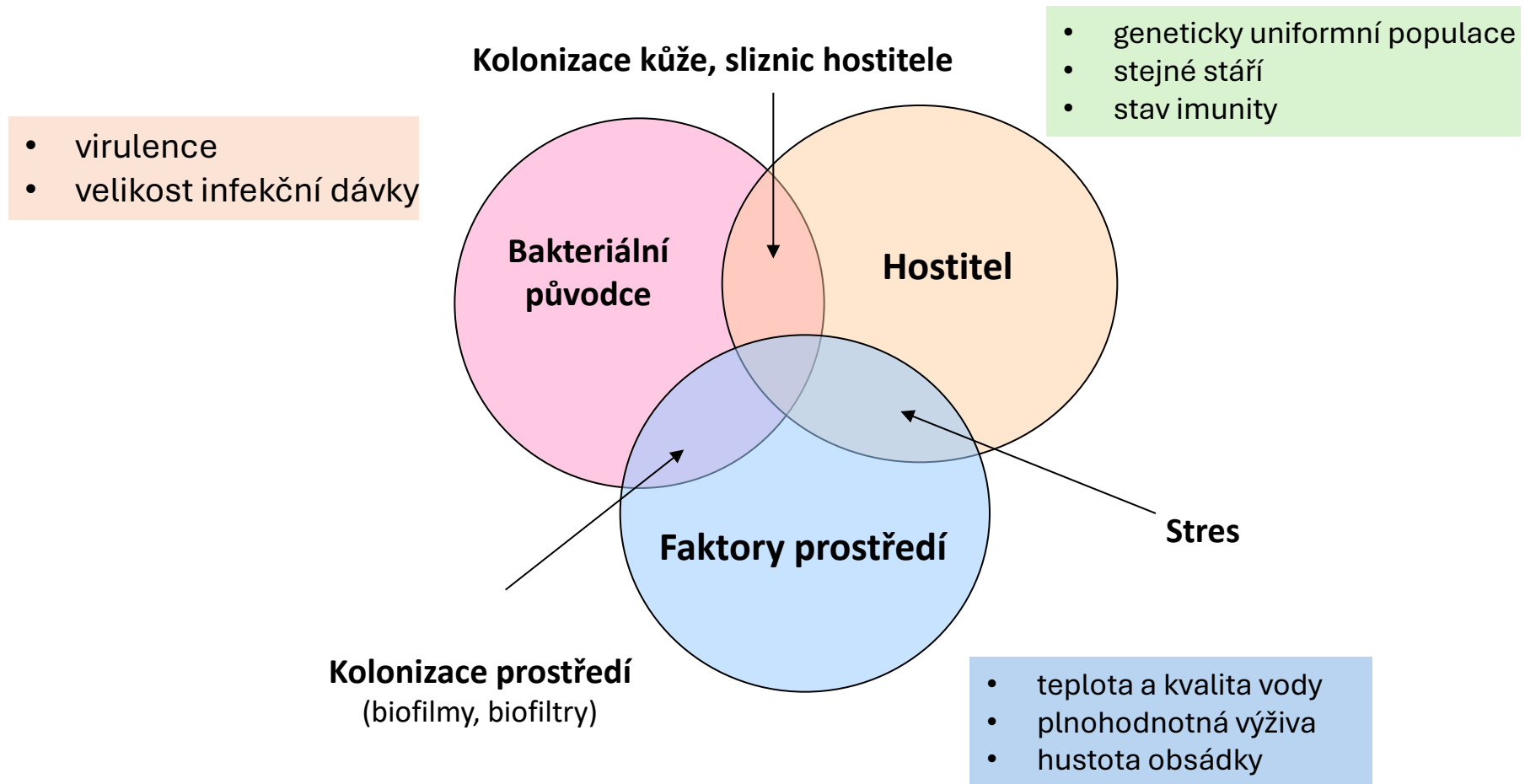
V důsledku nedostatečné denitrifikace dochází k zrychlenému šíření genů rezistence konjugací v biofiltrech

Přehled nejvýznamnějších bakterióz



- **Bakteriální septikémie ryb** – mezofilní aeromonády,
- **Erythrodermatitida kaprů** – *Aeromonas hydrophila*
- **Furunkulóza lososovitých** (*Aeromonas salmonicida*)
- **Yersinióza** (*Yersinia ruckeri*)
- **Flavobakteriόza** (*Flavobacterium psychrophilum*)
- **Kolumnarόza** (*Flavobacterium columnare*)
- **Renibakteriόza** (*Renibacterium salmoninarum*)
- **další bakteriální onemocnění** (*Streptococcus iniae*, *Edwardsiella tarda*, *E. ictaluri*, mykobaktérie,...)

Patogeneze bakterióz ryb

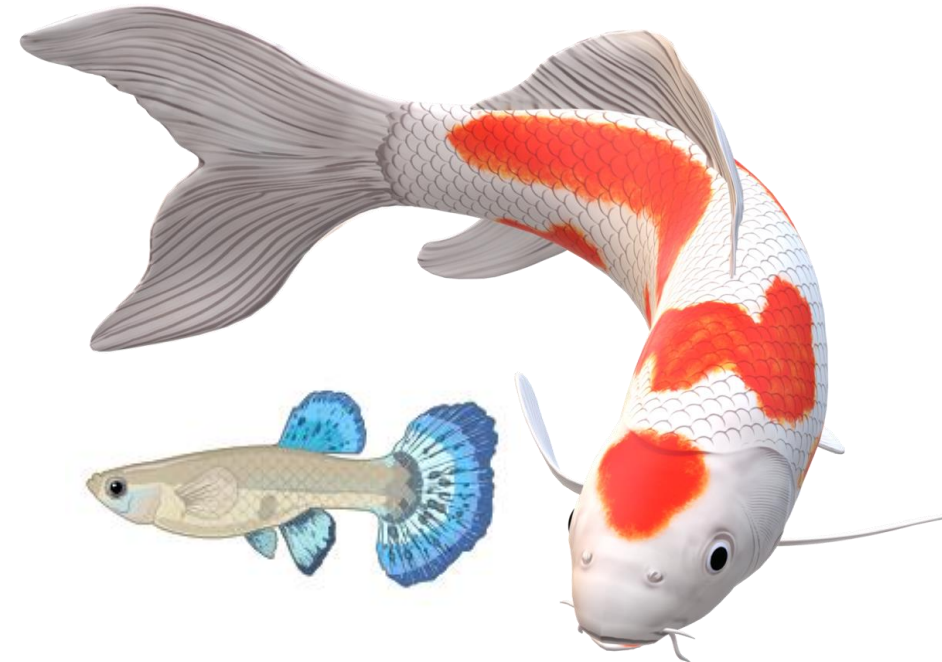


Naše některé výsledky

- Porovnání citlivosti vůči antimikrobiálním látkám u bakterií izolovaných z kaprů obecných, koi kaprů a akvarijských ryb
- Stav citlivostí izolátů *Flavobacterium psychrophilum* z chovů pstruha duhového
- Analýza mikrobioty nalezené v přepravní vodě okrasných ryb

Metody

- Rozdílná náročnost na podmínky kultivace u sledovaných agens
- Standardní metody stanovení citlivosti (CLSI)
 - chybí interpretační kritéria pro výsledky (CLSI) (W/nW)
- Aplikace metod molekulární biologie



Registrované antimikrobiální látky pro léčbu ryb v užitkových chovech

- antibiotické rezistence má dopad především na ekonomiku produkce
 - **Oxytetracyklin** (Rupin Special)
 - **Flumechin** (Flumiquil 50%)
 - **Florfenikol** (Aquaflor 500 mg/g premix pro medikaci krmiva pro pstruha duhového)
- v podmínkách ČR původci bakteriální infekcí konzumních ryb představují pro člověka minimální zoonotické riziko (*M. marinum*, možná kolonizace jinými druhy bakterií)



Kapr KOI



Nisai Doitsu Sanke

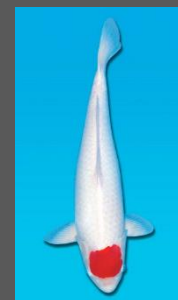


9 500 Kč

Yonsai Kohaku



57 000 Kč

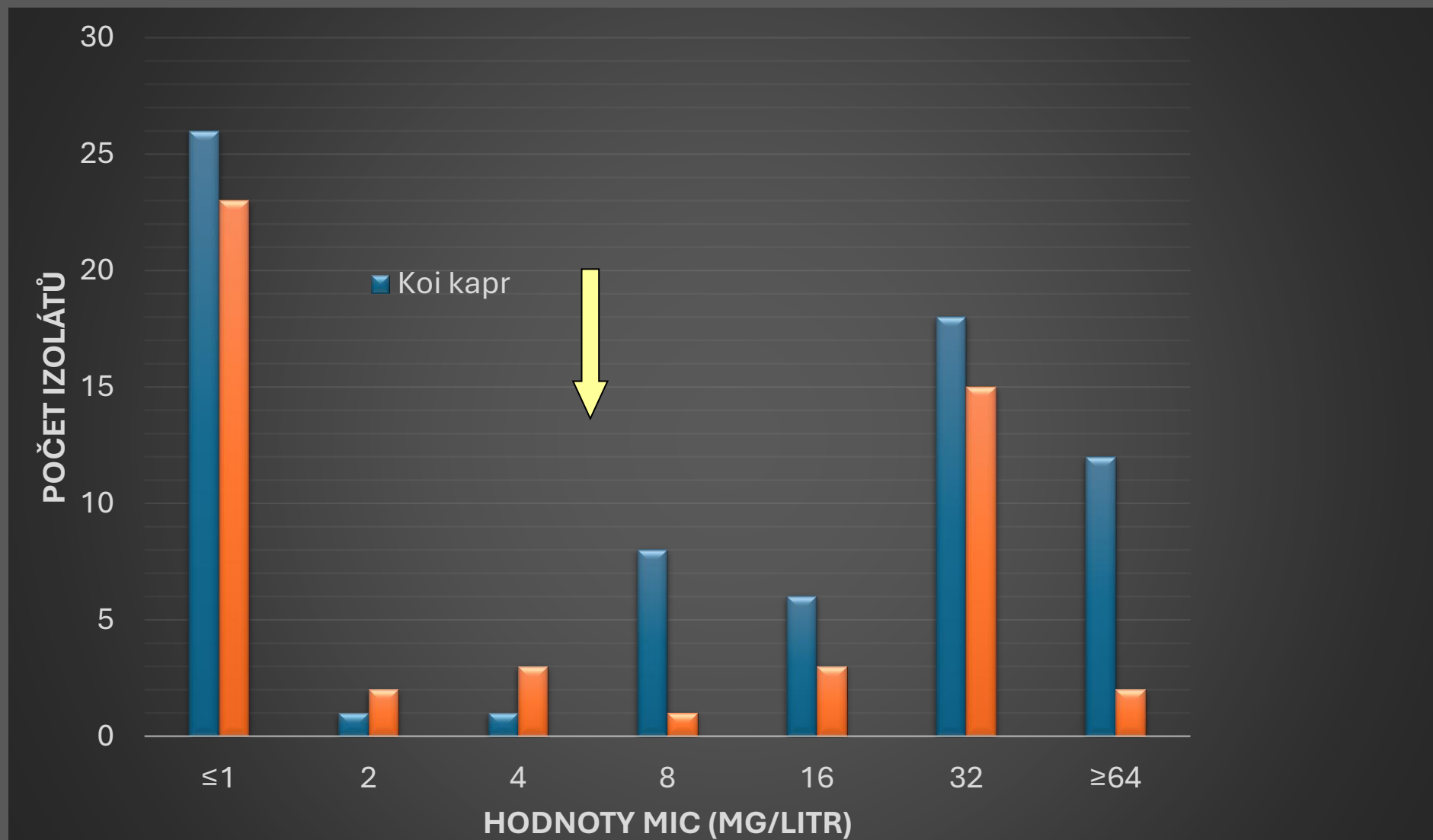


TANCHO

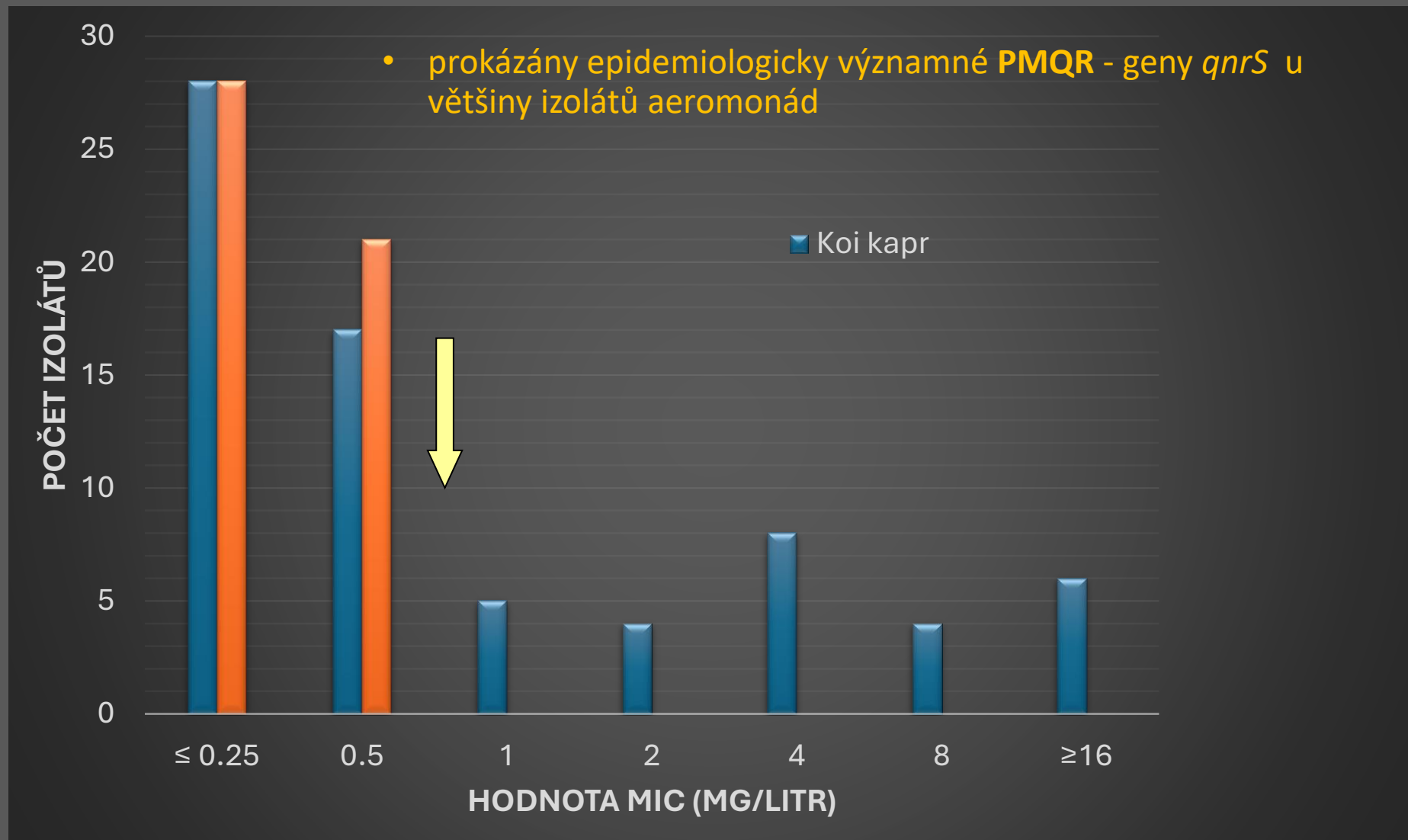


KOROMO

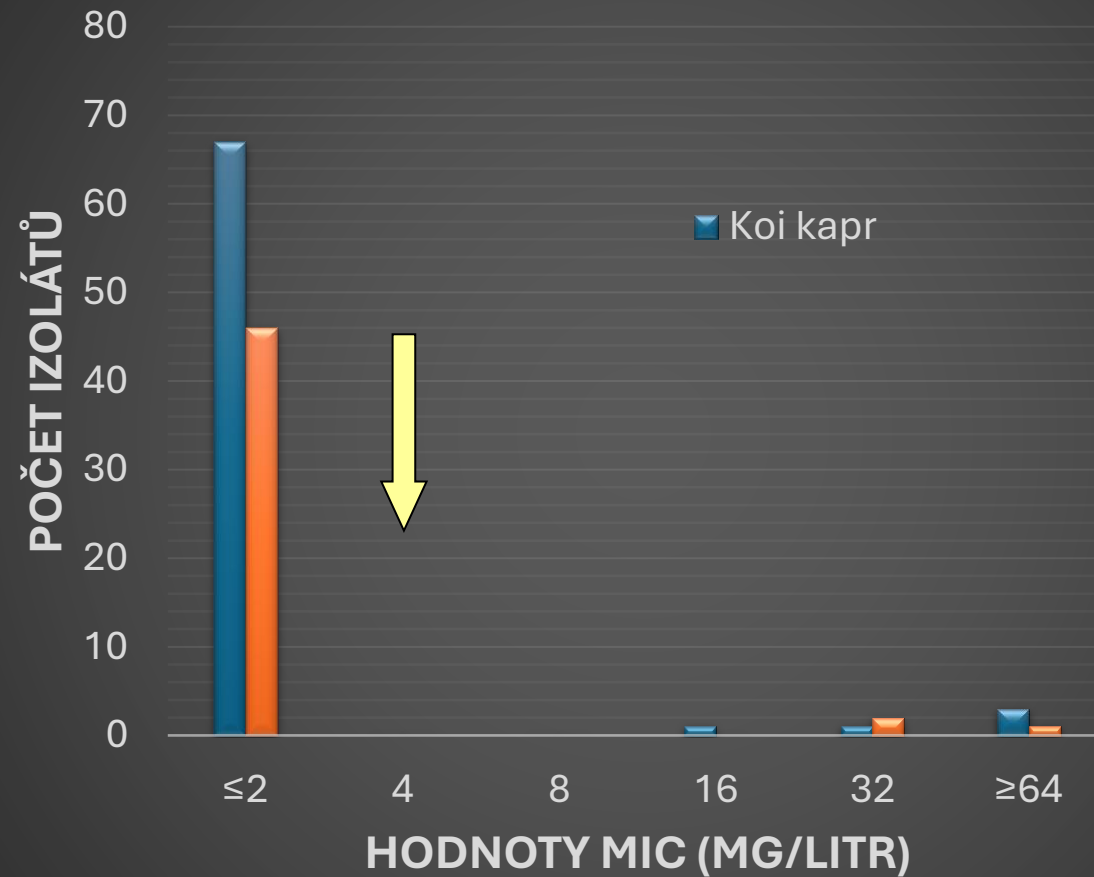
Rozložení hodnot **MIC oxytetracyklinu** u mezofilních aeromonád izolovaných z koi kaprů (n=72) a kaprů obecných (n=49)



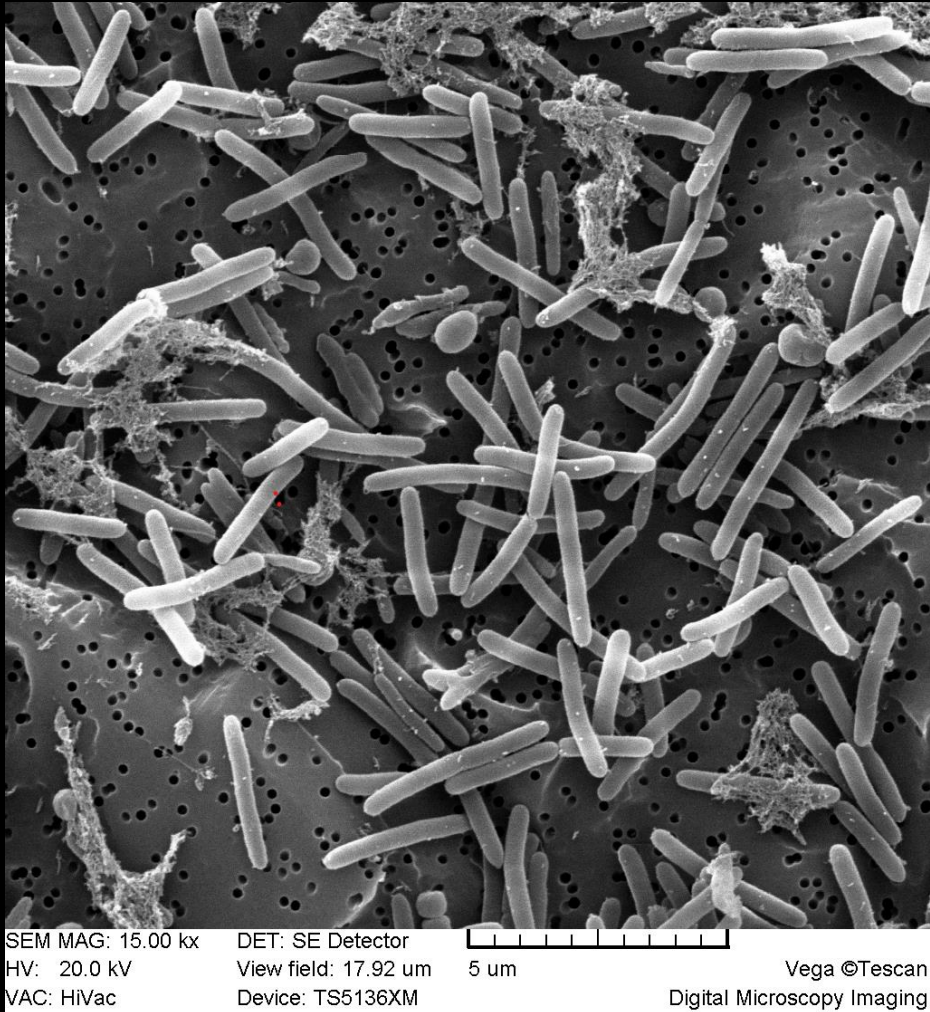
Rozložení hodnot **MIC enrofloxacin** u mezofilních aeromonád izolovaných z koi kaprů (n=72) a kaprů obecných (n=49)



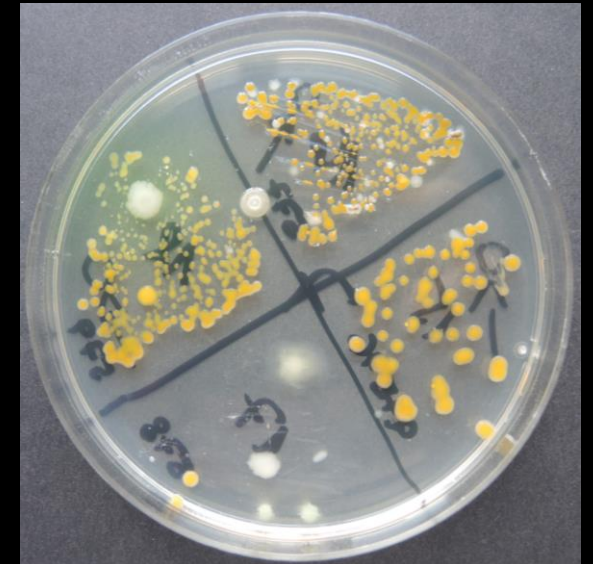
Rozložení hodnot **MIC florfenikolu** u mezofilních aeromonád izolovaných z koi kaprů (n=72) a kaprů obecných (n=49)



Flavobacterium psychrophilum

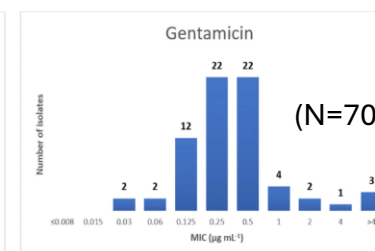
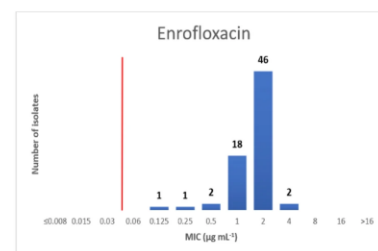
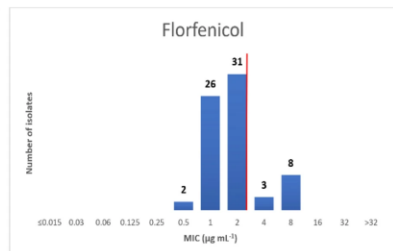
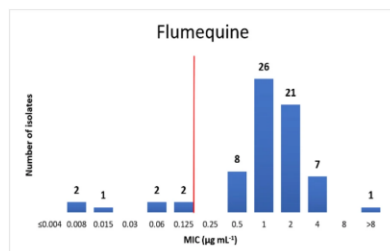
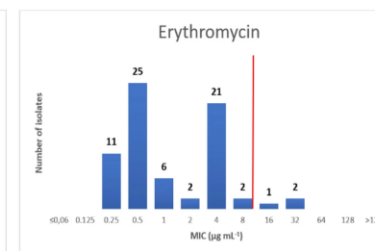
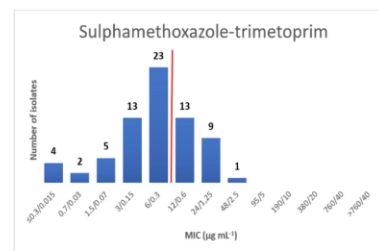
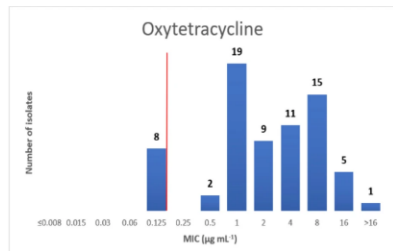
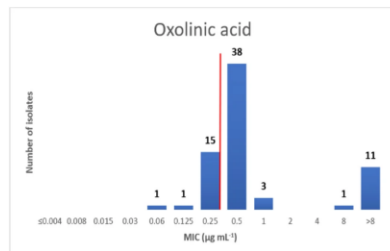


- Rainbow TROUT Fry SYNDROME (RTFS)
- Bacterial Cold Water DISEASE (BCWD)



Vaibarova et al. Genetic and phenotypic diversity of *Flavobacterium psychrophilum* isolates from Czech salmonid fish farms. BMC Microbiol 24, 352 (2024)

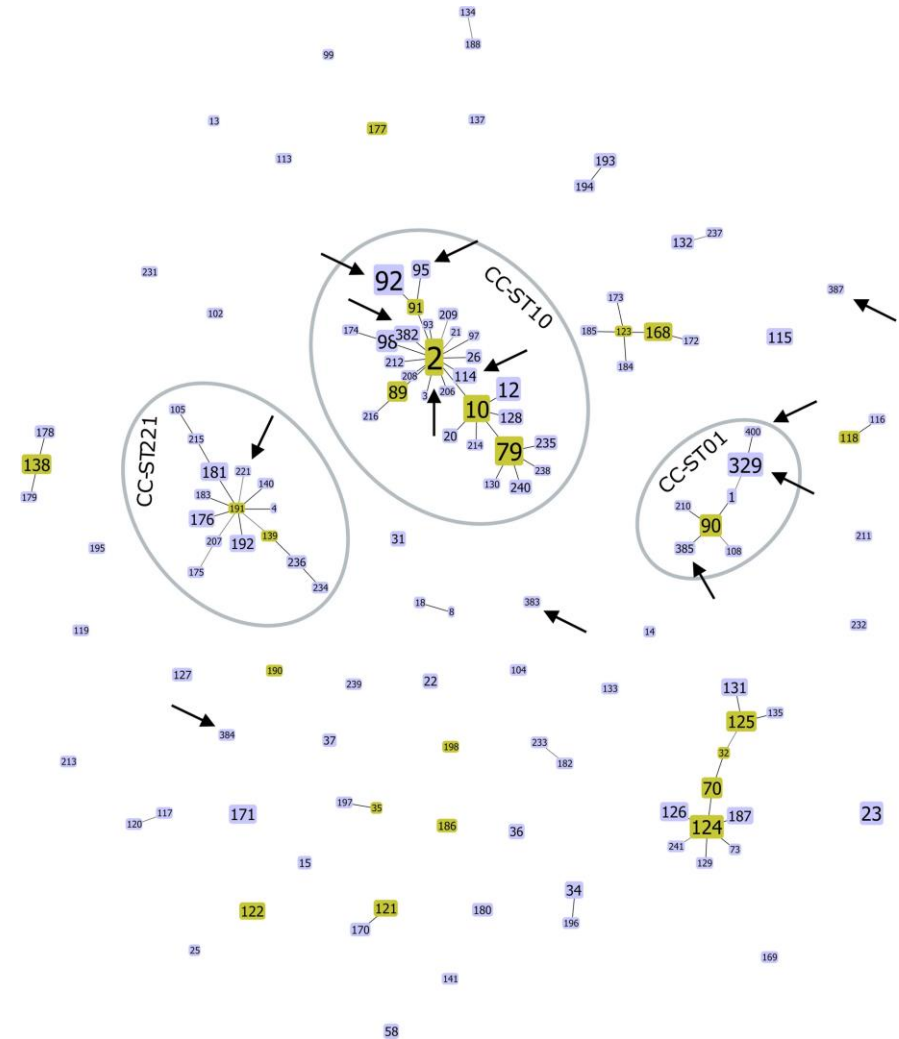
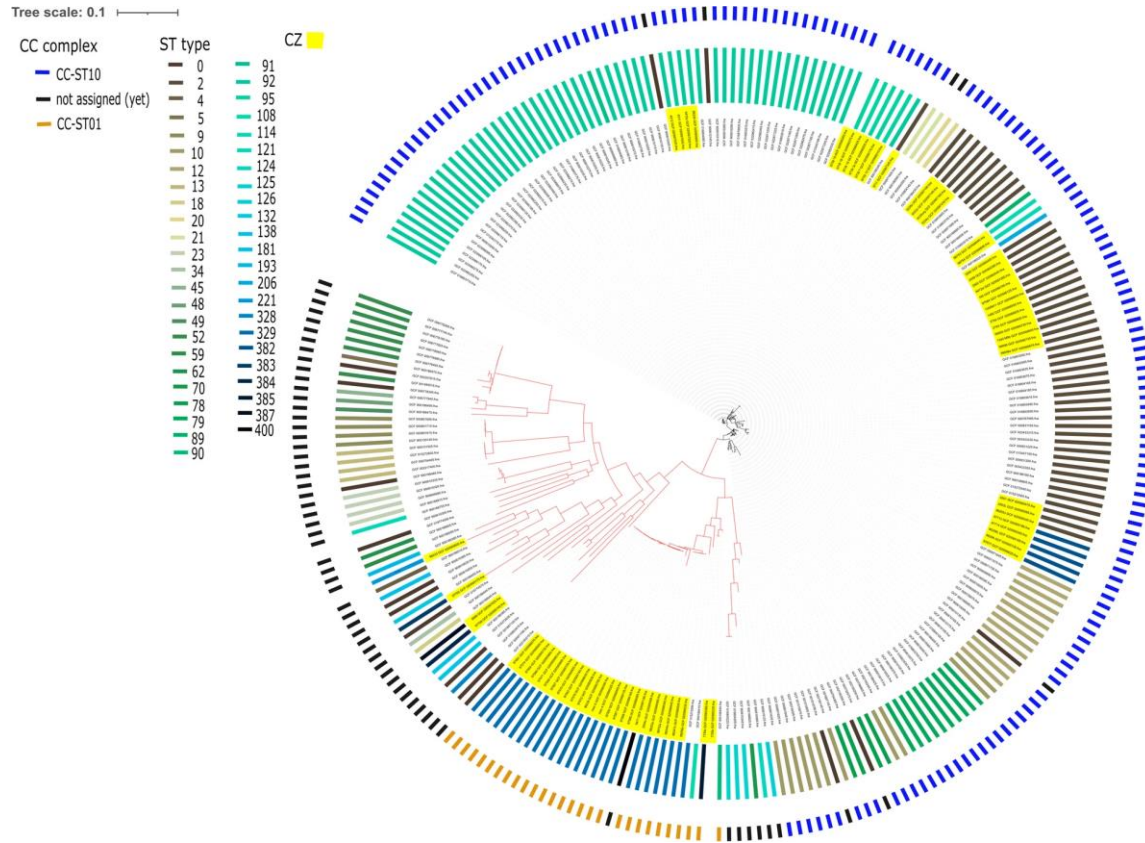
- prokázáno 12 sekvenčních typů (ST), včetně sedmi nově popsanych
 - 24 izolátů bylo identifikováno jako ST329, nový sekvenční typ
 - 22 bylo klasifikováno jako globálně rozšířený ST2
- vysoký podíl izolátů klasifikovaných jako nedivoký typ se sníženou citlivostí vůči kyselině oxolinové, oxytetracyklinu, flumechinu a enrofloxacinu
- většina izolátů byla klasifikována jako divoký typ pro florfenikol, sulfamethoxazol-trimethoprim a erythromycin



(N=70)



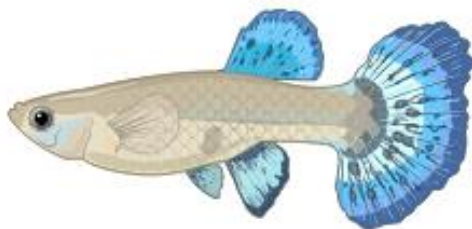
Genetická a fenotypová diverzita izolátů *Flavobacterium psychrophilum* z českých farem lososovitých ryb



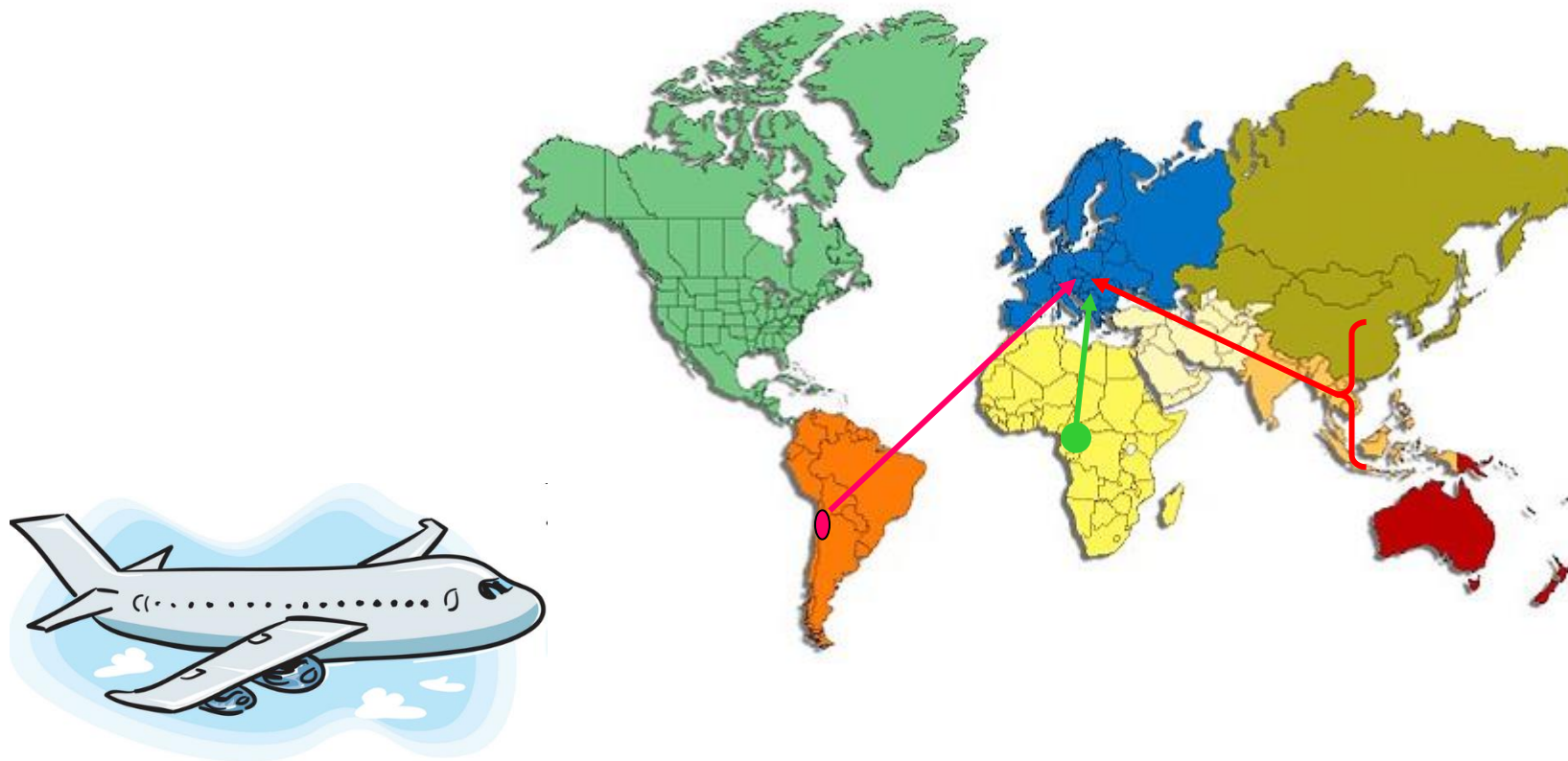


Akvarijní ryby

- Maloobchod s akvarijními rybami v posledním desetiletí prudce vzrostl a nyní dosáhl **více než 1,5 miliardy ryb** přepravovaných mezi zeměmi každý rok
- Globální trh v roce 2023 dosáhl hodnoty přibližně **5,72 miliardy USD**
 - předpoklad do roku 2032 - vzroste na **12,00 miliard USD**
- Evropa má největší podíl na trhu s více než **39,8 % (2024)**
- Mezi klíčové bakteriální patogeny pro akvarijní ryby patří *Flavobacterium columnare*, *Edwardsiella* spp., *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp. a *Vibrio* spp.



ČR je největší producent akvariálních ryb (reexport) mezi evropskými zeměmi (podíl **31 %**)



Antibiotika se často používají během přepravy k prevenci bakteriálních infekcí !



Příjmy peruánské rodiny pochází z chovu akvariijních ryb.



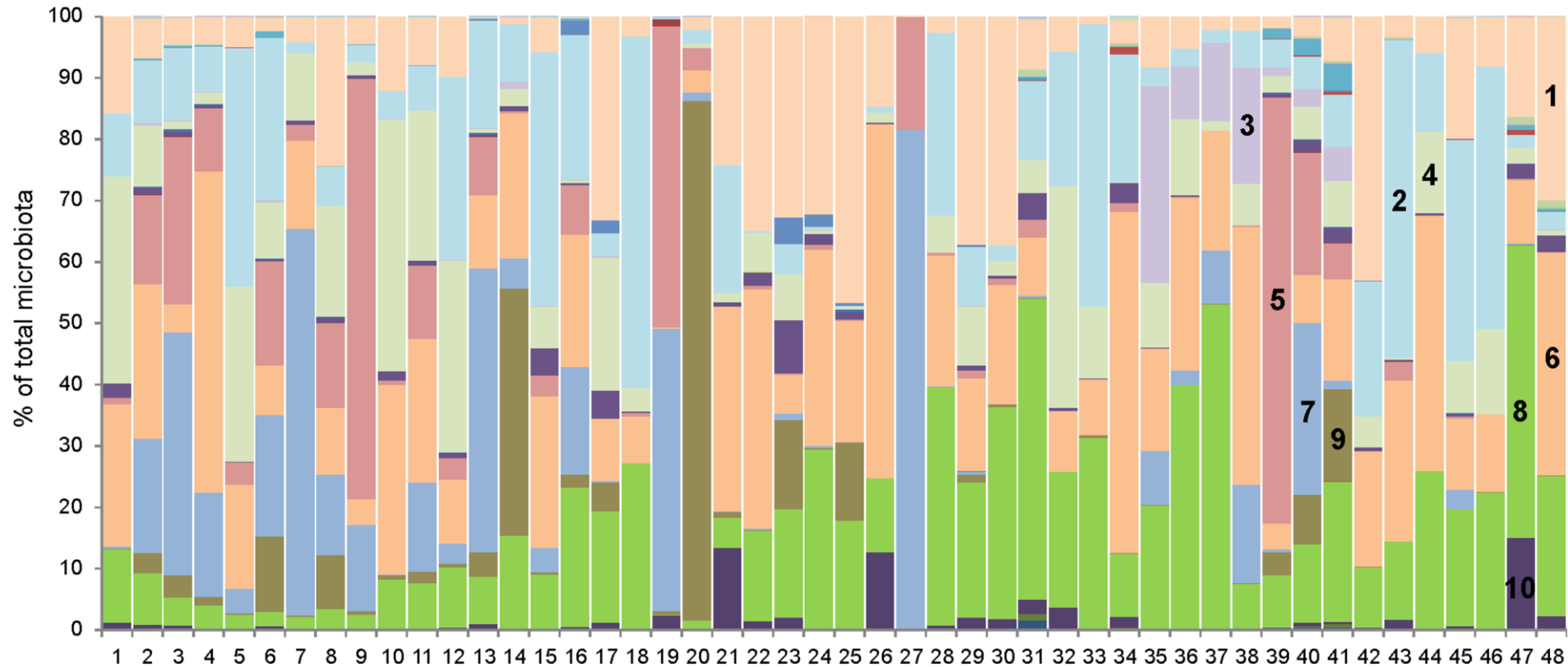
BETTAS IN EVERY BOTTLE



Gerzova L et al.. Characterization of microbiota composition and presence of selected antibiotic resistance genes in carriage water of ornamental fish. PLoS One. 2014 Aug 1;9(8):e103865.

- prevalence vybraných genů rezistence na antimikrobika v mikrobiotě nalezené v přepravní vodě okrasných ryb pocházejících ze 3 různých kontinentů
 - gen *sul1* byl přítomen u 11 ze 100 bakterií
 - *tet(A)* byl přítomen u 6 ze 100 bakterií
 - geny *strA* , *tet(G)* , *sul2* a *aadA* byly přítomny v 1–2 kopiích na 100 bakterií
 - v integronech třídy I bylo přítomno 12 různých typů kazet s geny rezistence

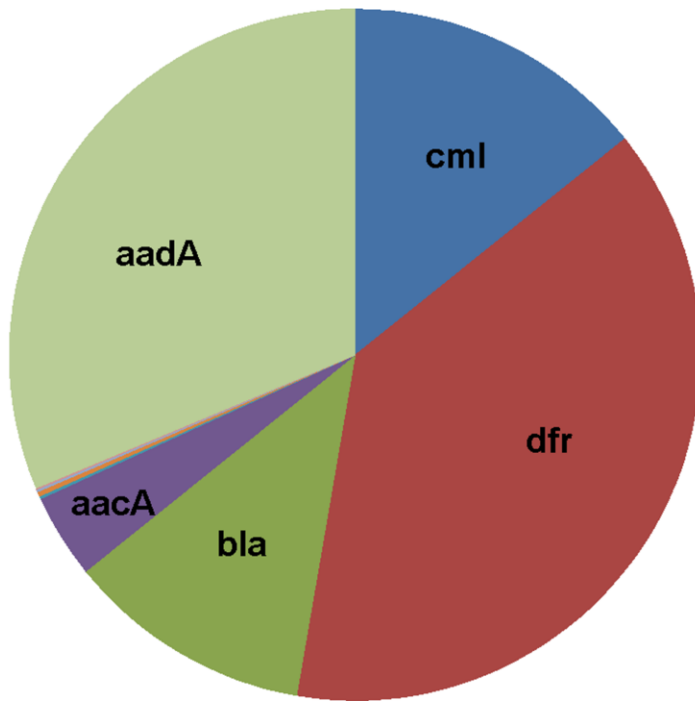
Složení mikrobioty přepravní vody pro okrasné ryby na úrovni tříd



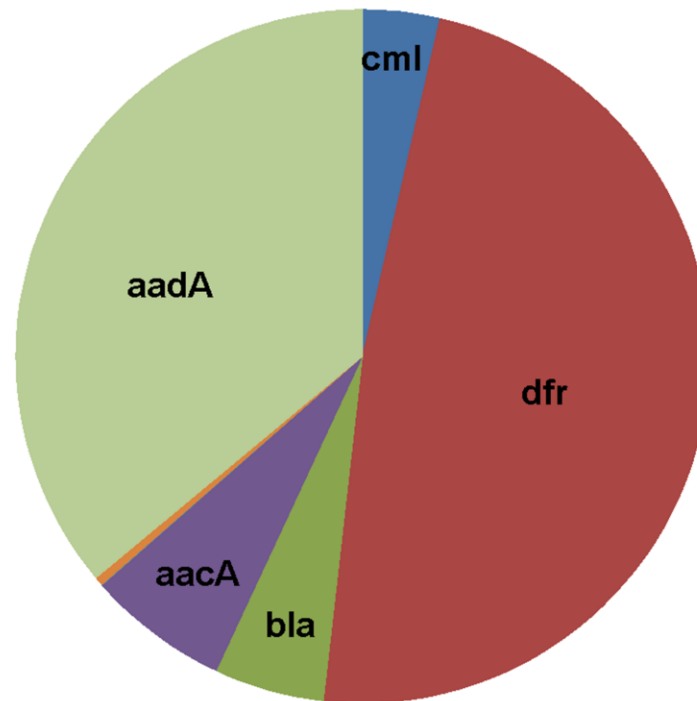
1 – Sphingobacteria, 2 – Gammaproteobacteria, 3 – Fusobacteria, 4 – Flavobacteria, 5 – Clostridia,
6 – Betaproteobacteria, 7 – Bacteroidia, 8 – Alphaproteobacteria, 9 – Bacilli, 10 – Actinobacteria

Distribuce vybraných genů v integronových strukturách

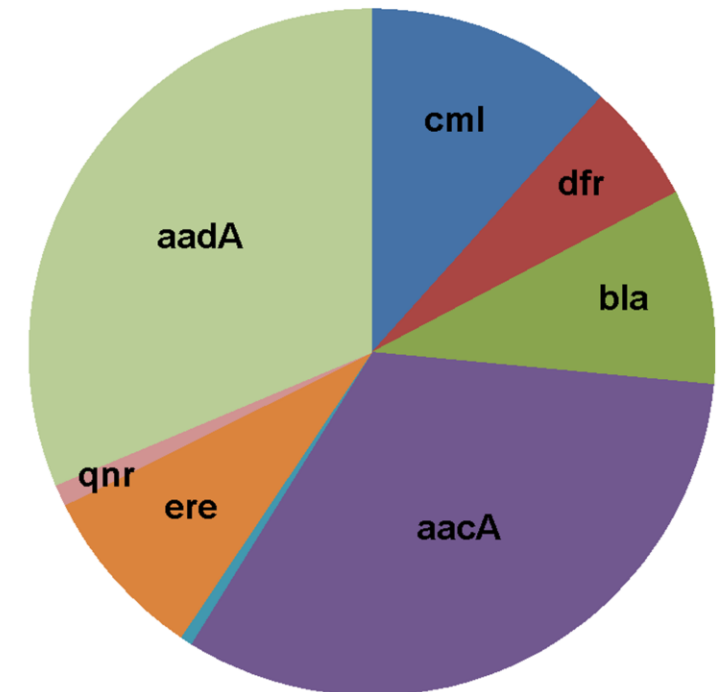
Integron pyrosequencing



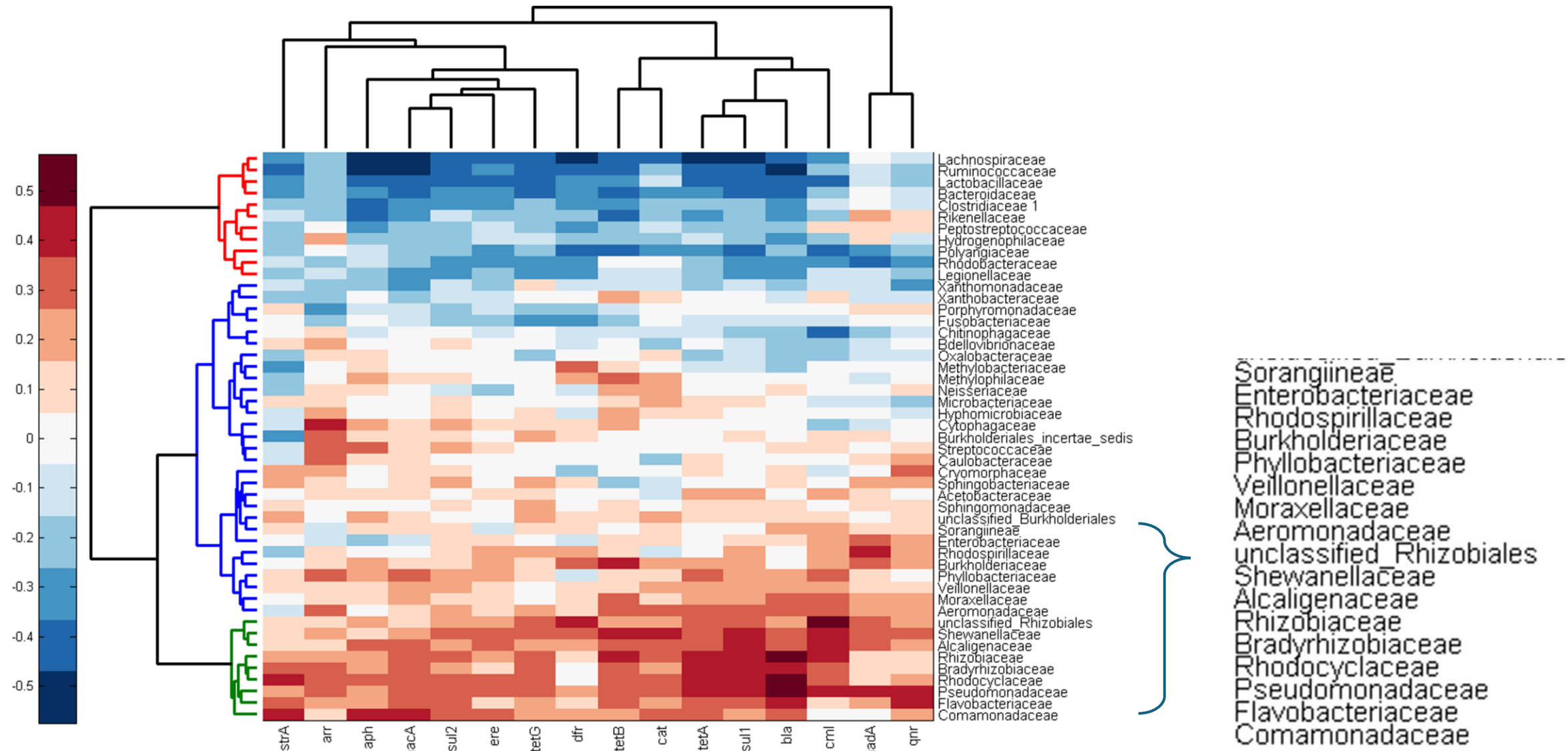
Integron real time PCR



Fecal DNA real time PCR



Heat mapa znázorňující korelační koeficienty přítomnosti jednotlivých čeledí a konkrétních genů rezistence



Kosmetické využití - RYBÍ PEDIKÚRA - rizika

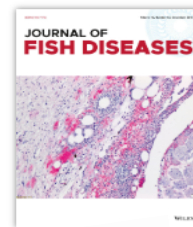
Garra rufa

A. hydrophila (žábra, orgány, kůže) s rezistencí k flumequinu, oxytetracyklinu, kyselině oxolinové, potencovaným sulfonamidům



Evidence of fish and human pathogens associated with doctor fish (*Garra rufa*, Heckel, 1843) used for cosmetic treatment

Enrico Volpe, Luciana Mandrioli, Francesca Errani, Patrizia Serratore, Sara Ciulli ✉



Volume 42, Issue 12
December 2019
Pages 1637-1644

Volume 7, Issue 5
September 2021



CASE REPORTS | APRIL 13 2021

Periungual *Mycobacterium marinum* Infection following a Fish Manicure

Subject Area:  Dermatology.

Olivier Vanhooteghem ; Ivan Theate; Virginie De Schaetzen

RESEARCH ARTICLES

The microbiological quality of water in fish spas with *Garra rufa* fish, the Netherlands, October to November 2012

F M Schets (ciska.schets@rivm.nl)¹, H H van den Berg¹, R de Zwaan², D van Soolingen², A M de Roda Husman¹

1. National Institute for Public Health and the Environment, Centre for Zoonoses and Environmental Microbiology, Bilthoven, the Netherlands
2. Centre for Infectious Diseases and Perinatal Screening, Bilthoven, the Netherlands

- obavy ohledně možného přenosu infekcí na klienty
- průkaz *Aeromonas veronii*, *A. hydrophila*, *P. aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Shewanella putrefaciens*, *Mycobacterium marinum* a *M. goodii*
- většina detekovaných patogenů jsou dobře známí původci zoonóz
- mikrobiologická vyšetření rybek používaných ke kosmetickým ošetřením je důležité, zejména v souvislosti s případy hynutí ryb

Bakteriologicky bylo vyšetřeno 115 akvarijských ryb 49 druhů - importy z 8 zemí:
Vietnam (46x), Thajsko (17x), Čína (12x), Slovensko (9x), Česká republika (6x),
Brazílie (2x), Peru (1x) a Singapur (1x)

Acanthocobitis botia 1x
Acanthophtalmus kuhli 2x
Acanthopsis choirorhynchus 1x
Aphycharax rubripinnis 2x
Aphyosemion australe 2x
Aphyosemion gardneri 1x
Apistogramma agassizii 1x
Balantiocheilus melanopterus 2x
Barbus tetrazona 2x
Botia hymenophysa 2x
Botia macracantha 1x
Botia modesta 1x
Botia striata 1x
Bunocephalus coracoideus 1x
Carassius auratus 1x
Caridina – kreveta 1x
Carinotetraodon lorteri 1x
Carnegiella laevis 1x
Colisa chuna 1x
Colisa lalia 2x
Corydoras boa 1x
Crossocheilus siamensis 1x
Cyrtocara borleyi 1x
Epalzeorhynchus kallopterus 1x
Fundulopanchax arnoldi 1x
Gyrinocheilus aymonieri 2x
Gyrinocheilus blunt 2x

Hypostomus plecostomus 11x
Chanda ranga 2x
Kryptopterus bicirrh 1x
Kryptopterus bicolor 2x
Labeo bicolor 9x
Labeo chrysophekadion 1x
Lamprologus brichardi 1x
Leiocassis siamensis 2x
Macrogathus spp. 1x
Pangio kuhlii 6x
Papiliochromis ramirezi 1x
Pleurodeles waltl – mlok 1x
Poecilia reticulata 7x
Poecilia sphenops 2x
Poecilia velifera 4x
Pterygoplyctis gibbiceps 2x
Pterophyllum scallare 1x
Sesarma mederi – krab 1x
Sewellia lineolata 1x
Tetraodon nigroviridis 1x
Trichogaster trichopterus 1x
Tropheus moorii 2x
Xiphophorus helleri 2x
Xiphophorus maculatus 19x

WWW.MOJE-AKVARIUM.NET

© 2005

Zastoupení izolovaných druhů bakterií z akvariálních ryb (n = 115)

Druh	Počet izolátů daného druhu	Procentuální zastoupení
<i>Aeromonas</i> spp. *	80	67,8
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	13	11,0
<i>Pseudomonas putida</i>	8	6,8
<i>Citrobacter freundii</i>	3	2,5
<i>Shewanella putrefaciens</i>	3	2,5
<i>Vibrio cholerae</i>	2	1,7
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	2	1,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0,8
<i>Citrobacter braakii</i>	1	0,8
<i>Vibrio fluvialis</i>	1	0,8
<i>Comamonas testosteroni</i>	1	0,8
<i>Ralstonia pickettii</i>	1	0,8
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	1	0,8
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	0,8

* biochemická identifikace aeromonád na úroveň komplexů: *A. sobria*, *A. hydrophila*, *A. caviae*

Počet a % zastoupení izolátů rezistentních k danému počtu antimikrobiálních látek

Skupina izolátů (počet izolátů v dané skupině)	Počet izolátů rezistentních k (n) antimikrobiálním látkám													
	n = 0	n = 1	n ≥ 1	n = 2	n = 3	n = 4	n = 5	n = 6	n = 7	n = 8	n = 9	n = 10	n = 11	n = 12
<i>Aeromonas</i> (80)	0 0,0%	6 7,5%	80 100,0%	4 5,0%	13 16,3%	5 6,3%	2 2,5%	5 6,3%	7 8,8%	5 6,3%	18 22,5%	12 15,0%	3 3,8%	0 0,0%
<i>Pseudomonas</i> (22)	1 4,5%	0 0,0%	21 95,5%	0 0,0%	0 0,0%	1 4,5%	0 0,0%	1 4,5%	2 9,1%	0 0,0%	2 9,1%	4 18,2%	10 45,5%	1 4,5%
Ostatní (16)	0 0,0%	0 0,0%	16 100,0%	0 0,0%	4 25,0%	0 0,0%	1 6,3%	1 6,3%	2 12,5%	3 18,8%	1 6,3%	2 12,5%	2 12,5%	0 0,0%

<i>Aeromonas</i>	<i>Pseudomonas</i>
Enrofloxacin	Amikacin
Erythromycin	Aztreonam
Florfenicol	Cefotaxime
Flumequine	Ceftazidime
Gentamicin	Ceftriaxone
Chloramphenicol	Ciprofloxacin
Nitrofurantoin	Colistin
Oxolinic acid	Gentamicin
Oxytetracycline	Imipenem
Sulphamethoxazole	Levofloxacin
/ trimethoprim	Meropenem
Sulphonamid cp.	Piperacillin
	Ticarcilin
	Tobramycin

Výsledky fenotypu rezistence 80 izolátů *Aeromonas* spp.

Testovaná ntimikrobiální látka	Interpretace	Počet izolátů v dané kategorii, tj. % v rámci rodu <i>Aeromonas</i>			
		MIC		DDM	
FFC florfenicol	R	39	48,8%	22	27,5%
	I	3	3,8%	8	10,0%
	S	38	47,5%	50	62,5%
CIP ciprofloxacin	R	42	52,5%	42	52,5%
	I	2	2,5%	10	12,5%
	S	36	45,0%	28	35,0%
OT oxytetracyklin	R	71	88,8%	73	91,3%
	I	0	0,0%	2	2,5%
	S	9	11,3%	5	6,3%
TR trimetoprim	R	49	61,3%	NT	NT
	I	11	13,8%	NT	NT
	S	20	25,0%	NT	NT
CHF chloramfenikol	R	41	51,3%	40	50,0%
	I	4	5,0%	5	6,3%
	S	35	43,8%	35	43,8%
OA kys.oxolinová	R	65	81,3%	67	83,8%
	I	0	0,0%	1	1,3%
	S	15	18,8%	12	15,0%

- u izolátů nesoucích v genomu integron třídy 1 (45 izolátů) byla zjištěna přítomnost genových kazet - aadA1, aadA2, dhfr1, dhfr12
- z 80 izolátů aeromonád 20 (25 %) s průkazem PMQR epidemiologicky významné rezistence k fluorovaným chinolonům PMQR (geny *qnrS2*, *qnrB*, *aac-Ib-cr*)

Závěr

- Užitkové ryby v porovnání s okrasnými představují minimální riziko pro veřejné zdraví
- Sekvenováním byly predikovány skupiny bakterií, které mohou ve vodním ekosystému představovat zdroj genů kódujících různé mechanismy atb rezistence
- Horizontální přenos genů rezistence usnadňuje **mikrobiální biofilm** přítomný v biofiltrech a na površích ve vodním prostředí
- Multirezistence mezofilních aeromonád je vázána na **integrony I třídy s různými genovými kazetami** a na **plazmidy typu IncU**
- Dovoz akvariálních ryb představuje potenciální nebezpečí zavlečení nových determinant rezistence
- Domácí akvária jsou rezervoárem multirezistentních bakterií, proto při manipulaci s rybami a kontaktu s vodou a dalšími složkami akvárií by se mělo dbát zvýšené opatrnosti a hygienických zásad



Poděkování spolupracovníkům

- *doc. RNDr. Monika Dolejská, Ph.D.*
- *Mgr. Lenka Davidová-Geržová, Ph.D.*
- *MVDr. Věra Vaibarová, Ph.D.*
- *RNDr. Hana Dobiášová, Ph.D.*
- *Mgr. Jana Kučerová*



Děkuji za pozornost!



Konference CZEPAR - 19. – 20. listopadu 2025