

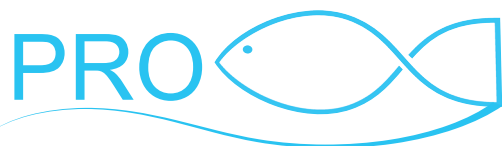


VÚVeL Academy - od výzkumu k praxi v chovech
hospodářských zvířat, cyklus seminářů

SBORNÍK ZE SEMINÁŘE
14. 06. 2023
(VÚVeL BRNO)

**Zdraví, nemoci a imunita
našich ryb**

Seminář přináší poznatky vzniklé řešením projektu Udržitelná produkce zdravých ryb
v různých akvakulturních systémech
– PROFISH, r. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000869.



Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech

Registrační číslo projektu:	CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000869
Národní program:	Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání
Výzva:	02_16_019 - Excelentní výzkum
Hlavní příjemce:	Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.
Partneři:	Mendelova univerzita v Brně Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Cíle projektu:

Projekt je založen na spolupráci tří institucí s cílem získat nové poznatky základního i aplikovaného výzkumu v oblasti udržitelnosti produkce sladkovodních ryb v České republice.

Řešení je rozděleno do tří výzkumných cílů, které jsou zaměřeny na studium vztahů mezi rybami, původci onemocnění a vnějšími podmínkami, které ovlivňují zdravotní stav i ekonomiku chovu ryb.

Dílčí aktivity budou zacíleny také na technologické, zootechnické či výživářské faktory nebo vlivy znečištění životního prostředí nebo problematiku používání antibiotik. Další aktivity budou směřovat ke studiu infekčních původců onemocnění a imunitních mechanismů.

Očekávanými výstupy projektu jsou kromě vědeckých a odborných publikací také např. certifikované metodiky nebo diagnostické soupravy. Nedílnou součástí je internacionalizace projektu a výchova studentů.

Období realizace projektu:	01/2019 – 06/2023
Celkové způsobilé náklady projektu:	116 788 810,20 Kč
Celkové způsobilé náklady VÚVeL:	56 642 523,20 Kč
Webové stránky projektu:	https://www.vri.cz/cz/projekty_op



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
OP Výzkum, vývoj a vzdělávání



Foto: zdroj PIXABY

POZVÁNKA



Česká technologická platforma pro zemědělství
ve spolupráci s
Výzkumným ústavem živočišné výroby, v. v. i., Českou zemědělskou univerzitou Praha,
Mendelovou univerzitou v Brně a
Výzkumným ústavem veterinárního lékařství, v. v. i.
si Vás dovoluji pozvat na seminář

Zdraví, nemoci a imunita našich ryb

PROGRAM

10.00 – 12.00 BLOK IMUNOLOGIE, INFEKČNÍ NEMOCI

- **Základní aspekty imunologie ryb** – MVDr. Martin Faldyna, Ph.D. (VÚVeL)
- **Vrozená imunita vůči herpesviróze koi** – Mgr. Radek Machát, Ph.D. (VÚVeL)
- **Aktuální poznatky vakcinologie sladkovodních ryb** – MVDr. Ľubomír Pojezdal, Ph.D. (VÚVeL)
- **Funkční imunologické testy, praktické využití** – MVDr. Hana Minářová, Ph.D. (VÚVeL)
- **Likvidace choroboplodných zárodků ve vodě ošetřením technologií CaviPlasma** – MVDr. Ivana Papežiková, Ph.D. (MENDELU)
- **Vliv dezinfekčních přípravků na kvalitu vody a osídlení ryb infekčními organismy** – MVDr. Eliška Zusková, Ph.D. (FROV JU)

12.30 – 15.00 BLOK VLIV PROSTŘEDÍ A VÝŽIVY

- **Nebezpečné nákazy ryb – aktuální legislativa a změny v roce 2023** – MVDr. Kateřina Mikulášková (SVÚ Jihlava)
- **Využití rostlinných imunostimulantů v akvakultuře** – MVDr. Veronika Piačková, Ph.D. (FROV JU)
- **Pozitivní ovlivnění zdraví a růstu ryb prostřednictvím výživy – probiotika, betaglukany, selen, zinek, kvasnice, luštěniny** – Ing. Lucie Všeticková, Ph.D. (MENDELU)
- **Operační zákroky u koi kaprů – praktické zkušenosti** – doc. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D. (VETUNI)
- **Představení pracoviště Oddělení chorob ryb, praktická ukázka** – MVDr. Ľubomír Pojezdal, Ph.D. (VÚVeL)

Kontaktní osoba: doc. MVDr. Soňa Šlosárková, Ph.D.; e-mail: sona.slosarkova@vri.cz

Seminář přináší poznatky vzniklé řešením projektu Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech – PROFISH, r. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000869.

V průběhu semináře bude pořizována fotodokumentace akce, případně audiovizuální záznam výhradně za účelem medializace a propagace akce.

Osobní údaje budou v souladu s nařízením EP a Rady (EU) č. 679/2016 o ochraně fyzických osob v souvislosti se zpracováním osobních údajů a o volném pohybu těchto údajů a o zrušení směrnice 95/46/ES zpřístupněny také Státnímu zemědělskému intervenčnímu fondu a Ministerstvu zemědělství pro účely administrace, kontroly a evaluace Programu rozvoje venkova na období 2014–2020.

Kdy:
14. 6. 2023
10:00 – 15:00 hod.

Kde:
VÚVeL,
Hudcova 296/70,
Brno 621 00

Kontakt:
Tel.: 773 756 631

Účast na semináři je
bezplatná, občerstvení
zajištěno.

Registrace
www.vri.cz/prihlaseni/





Zdraví, nemoci a imunita našich ryb



VÚVeL ACADEMY, 14. 06. 2023

PROGRAM

10.00 – 12.00 BLOK IMUNOLOGIE, INFEKČNÍ NEMOCI

- Základní aspekty imunologie ryb – MVDr. Martin Faldyna, Ph.D. (VÚVeL)
- Vrozená imunita vůči herpesviroze koi – Mgr. Radek Machát, Ph.D. (VÚVeL)
- Aktuální poznatky vakcinologie sladkovodních ryb – MVDr. Lubomír Pojezdal, Ph.D. (VÚVeL)
- Funkční imunologické testy, praktické využití – MVDr. Hana Minářová, Ph.D. (VÚVeL)
- Likvidace choroboplodných zárodků ve vodě ošetřením technologií CaviPlasma – MVDr. Ivana Papežiková, Ph.D. (MENDEL)
- Vliv dezinfekčních přípravků na kvalitu vody a osídlení ryb infekčními organismy – MVDr. Eliška Zusková, Ph.D. (FROV JU)

12.30 – 15.00 BLOK VLIV PROSTŘEDÍ A VÝŽIVY

- Nebezpečné nákazy ryb – aktuální legislativa a změny v roce 2023 – MVDr. Kateřina Mikulášková (SVÚ Jihlava)
- Využití rostlinných imunostimulantů v akvakultuře – MVDr. Veronika Piačková, Ph.D. (FROV JU)
- Pozitivní ovlivnění zdraví a růstu ryb prostřednictvím výživy – probiotika, betaglukany, selen, zinek, kvasnice, luštěniny – Ing. Lucie Všetáčková, Ph.D. (MENDEL)
- Operační zákroky u koi kaprů – praktické zkušenosti – doc. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D. (VETUNI)
- Představení pracoviště Oddělení chorob ryb, praktická ukázka – MVDr. Lubomír Pojezdal, Ph.D. (VÚVeL)

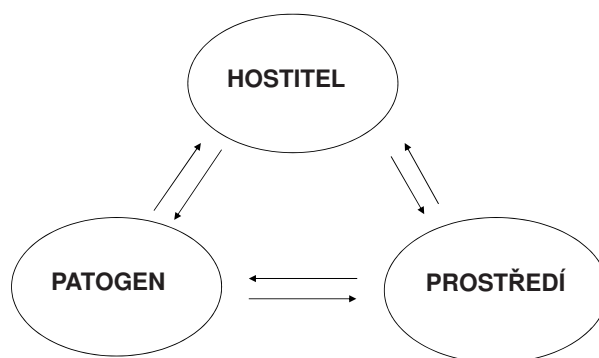


Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech – PROFISH

Operační program Výzkum, vývoj, vzdělávání
Výzva Excelentní výzkum



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



Výzkumný cíl VS-1: Vztah mezi hostitelem a prostředím

- 1.1. Vliv vnějších faktorů na vnitřní prostředí ryb
- 1.2. Vliv chovu ryb na vnější prostředí
- 1.3. Ryba z pohledu kvality a bezpečnosti potravin

Výzkumný cíl VS-2: Vztah mezi hostitelem a patogenem

- 2.1. Obranné mechanismy ryb
- 2.2. Studium patogenů
- 2.3. Studium interakcí mezi hostitelem a patogenem

Výzkumný cíl VS-3: Vztah mezi prostředím a patogenem

- 3.1. Mikrobiom biofiltrů
- 3.2. Antibiotická rezistence
- 3.3. Viry u řas a sinic
- 3.4. Úloha prostředí v šíření patogenů v rámci chovu i mimo ně

Základní aspekty imunologie ryb

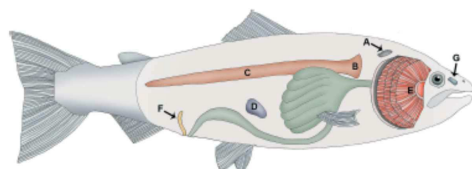
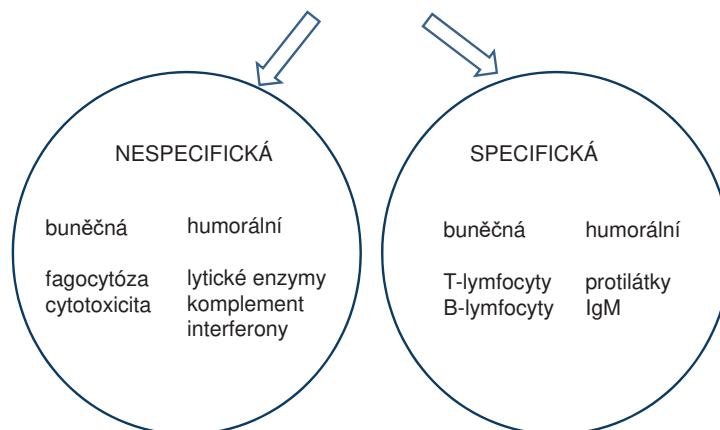
MARTIN FALDYNA

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i.
Hudcova 296/70, Brno



VÚVeL ACADEMY, 14. 06. 2023

IMUNITA

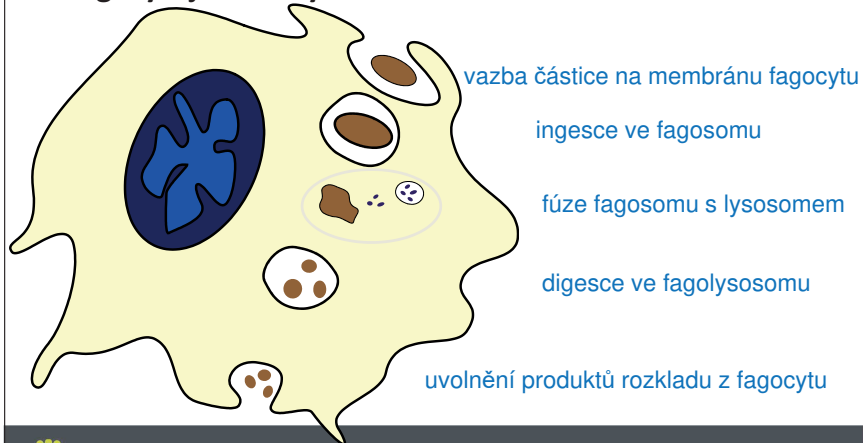


- A – thymus
- B – hlavová ledvina
- C – tělová ledvina
- D – slezina
- E – žábra s interbrachiální lymfoidní tkání – hodně T lymfocytů
- F – burza (jenom u lososa?) – hodně T, hodně IgD, IgM málo, IgT vůbec
- G – čichový orgán s lymfoidní tkání asociovanou s nosohltanem



Antibakteriální imunita – nespecifické mechanismy

- Fagocytující buňky



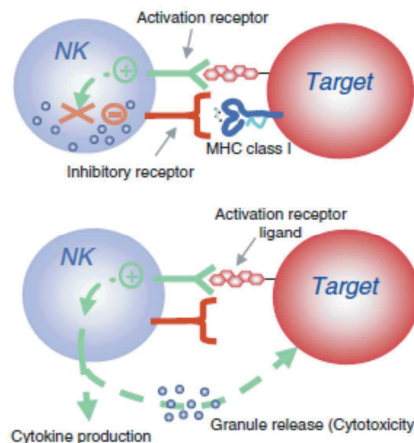
Antibakteriální imunita – nespecifické mechanismy

- Solubilní faktory:

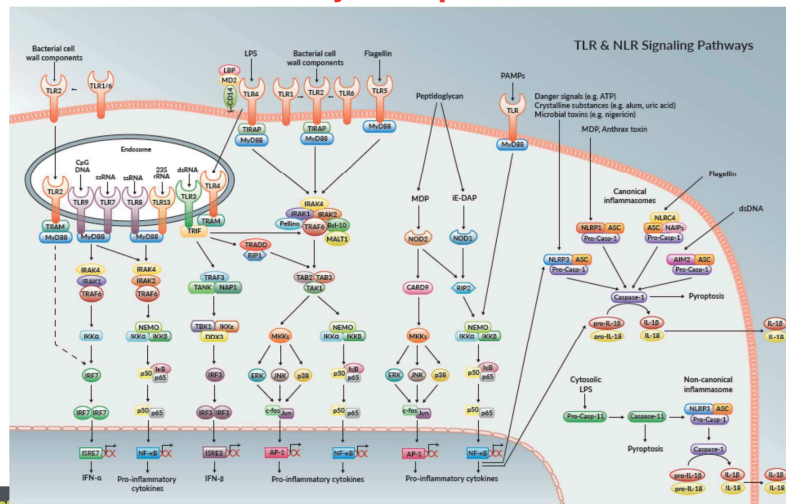
- antibakteriální peptidy – defenziny, cathelicidin, heptacidin, piscidiny
- lysozym
- komplement (degranulace žírných buněk, zvýšení propustnosti cév, chemotaxe neutrofilů, opsonizace)

Antivirová imunita – nespecifické mechanismy

- NK-buňky

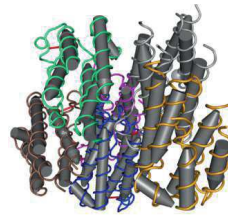


Jak imunitní systém pozná infekci?

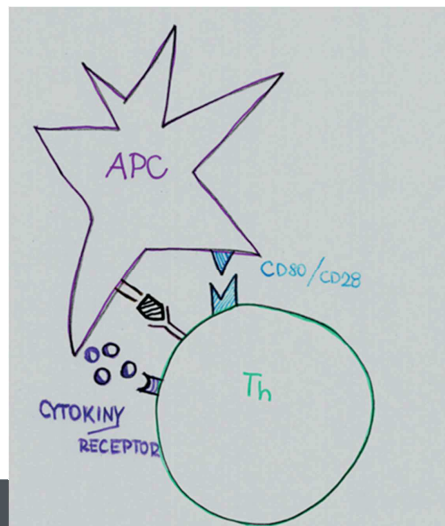


Antivirová imunita – nespecifické mechanismy

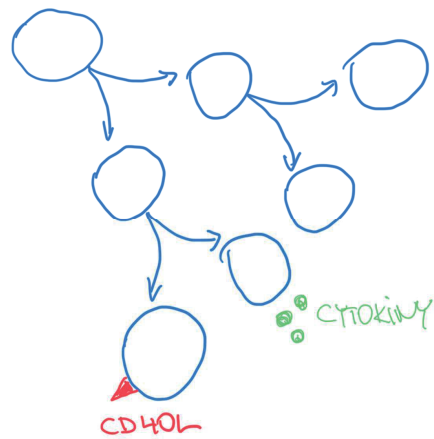
- aktivace TLR7 vede k produkci interferonu alfa
- aktivace TLR3 vede k produkci interferonu beta a prozánětlivých cytokinů
- IFN α/β mají stejný receptor
- zvyšují „připravenost buněk“
- zvyšují aktivitu imunitního systému
- mají protivirový účinek



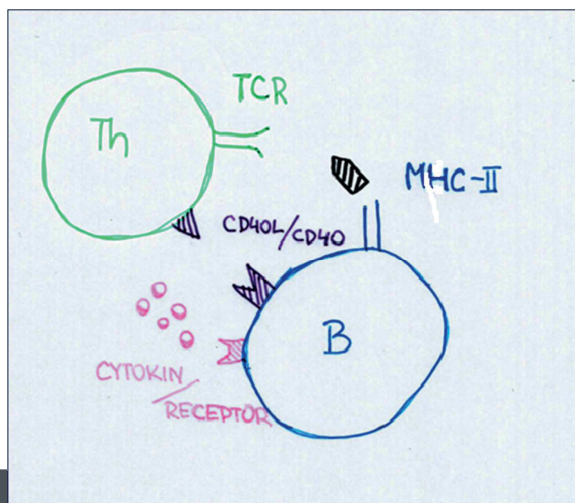
Rozvoj specifické imunity



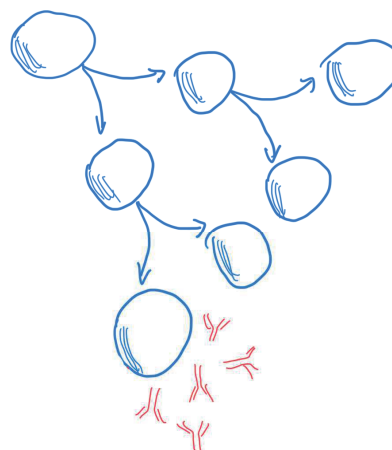
Rozvoj specifické imunity



Rozvoj specifické imunity

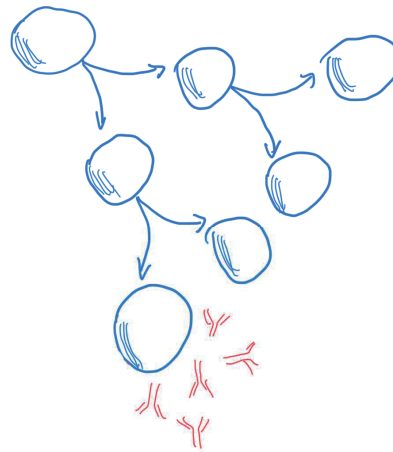


Rozvoj specifické imunity



Rozvoj specifické imunity

IgM
IgT – slizniční imunita
IgD ?

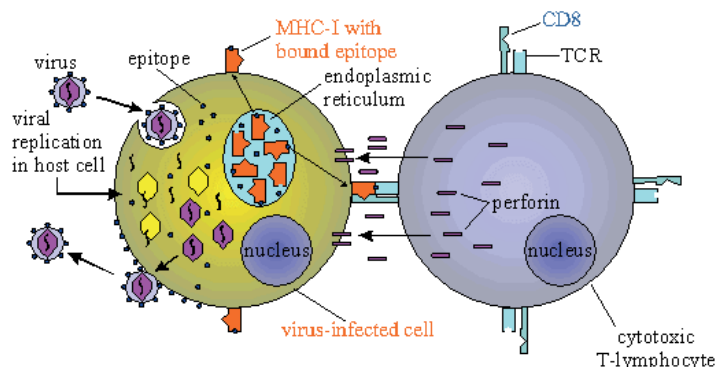


Antivirová imunita – specifické mechanismy

1. opsonizace (fagocytóza)
2. aktivace komplementu
3. ADCC – antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
4. neutralizace toxinů
5. neutralizace virů
6. zabránění adherence patogenů na povrch sliznice (IgT ?)

Antivirová imunita – specifické mechanismy

- buněčná imunitní odpověď – cytotoxické lymfocyty



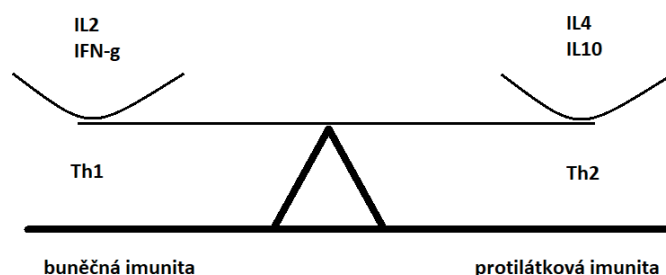
Antibakteriální imunita – specifické mechanismy

1. opsonizace (fagocytóza)
2. aktivace komplementu
3. ADCC – antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
4. neutralizace toxinů
5. neutralizace virů
6. zabránění adherence patogenů na povrch sliznice (IgT ?)



Antivirová imunita – specifické mechanismy

- buněčná imunitní odpověď – Th pomocné lymfocyty



Nespecifická imunita



Selekce na přirozenou odolnost
Dobré prostředí
Kvalitní potrava
Probiotika
Nespecifická stimulace - glukany



Špatná zoohygiena
Stres
Kontaminace životního prostředí
Kontaminace krmiv



Specifická imunita



**Imunizace
(pasivní)
Aktivní - vakcinace**



**Špatná zoohygiena
Stres
Kontaminace životního prostředí
Kontaminace krmiv**



VUVeL

Děkuji za pozornost



VUVeL

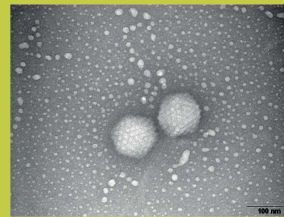
Vrozená imunita vůči koi herpesviróze

Radek Machát



Koi herpesvirémie (KHV)

- *Cyprinid herpesvirus 3* (CyHV-3)
 - dsDNA virus
- Teplota vody 16-28 °C
- Hostitel
 - Kapr obecný (+plemena)
 - Hybridy kapra a jiných kaprovitých ryb
 - Kapr obecný X Karas stříbřitý
 - Kapr obecný X Karas obecný



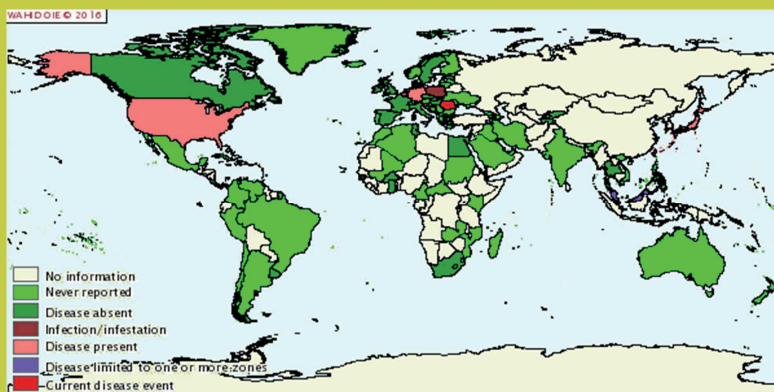
Pavel Kulich



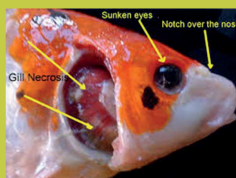
Koi herpesvirémie (KHV)

- Nemocnost a úmrtnost až 100%
 - první úmrtí po 6 až 8 dnech
- Detekována skoro všude, kde jsou chováni kapři
 - V ČR mezi lety 2016 a 2021 detekováno 28 ohnisek nákazy
- Na seznamu Světové organizace pro zdraví zvířat (WOAH, nebo též OIE)
- Výskyt latence?
- Léčba a vakcína?
- Citlivé na teplotu (inaktivace 30 minut při 60°C), chloroform (lipidická rozpouštědla), pH <3 nebo >11





KHV příznaky



D. Griffiths 2006



www.rivetrack.org



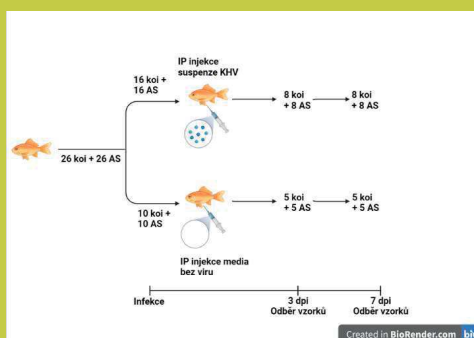
<http://koiherpesvirusdiag.blogspot.cz>



<http://koiherpesvirusdiag.blogspot.cz>

Infekční pokus s KHV

(projekt pokusu VUVeL 4/2020, č. rozhodnutí MZe 2157)



- Kultivace viru
CyHV-3 *in vitro*
- Teplota ve vodních tancích: 23°C
- Odběr orgánů
 - Slezina
 - Hlavová ledvina
 - Žábra

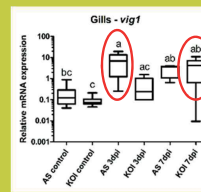
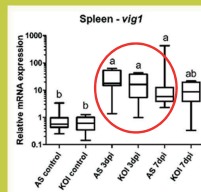
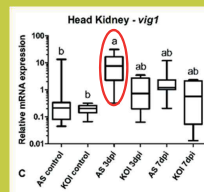
Cíle

- Rozdíly ve vrozené imunitní odpovědi kapřích plemen s rozdílnou citlivostí vůči KHVD
 - Testy na úrovni exprese genů a proteinů
 - Signální dráha interferonu třídy I
 - Mechanismus buněčné cytotoxicity
 - NK-podobné buňky, nespecifické cytotoxické buňky, neutrofilní granulocyty
 - Komplementová kaskáda



Výsledky

- Aktivace signální dráhy interferonu třídy I (IFNI)
 - Mx1, viperin, ISP15
 - Bez zvýšené exprese samotného IFN
 - MDA5, RIG-I, LGP2

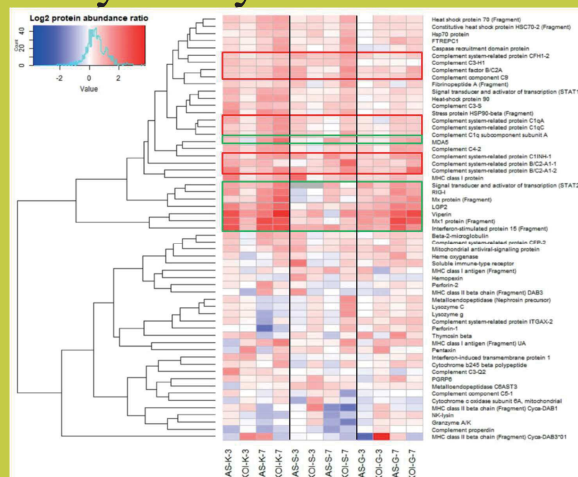


AS- amur wild carp
KOI- Koi carp
Dpi- days post infection
Abc- markers of differences among groups



Výsledky

- Zvýšená aktivita komplementu
 - U sazana (výrazněji) již od 3 dpi



Shrnutí a využití

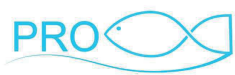
- Imunitní reakce odolného plemena vůči KHV rychlejší a silnější než u plemena citlivějšího
 - Na úrovni signální dráhy IFN-I
 - Na úrovni komplementu
- Zvýšení odolnosti kapřích populací
 - Šlechtěním odolnějších plemen
 - křížení méně odolných plemen s např. sazanem



Poděkování

- MVDr. Martin Faldyna, Ph.D.
- MVDr. Ján Matiašovic, Ph.D.
- Ing. Tomáš Veselý, CSc.
- MVDr. Ľubomír Pojezdal, Ph.D.
 - Národní referenční laboratoř pro virové choroby ryb
- Mgr. Jan Gebauer, Ph.D.
- Kolektiv výzkumné skupiny Klinické imunologie a imunologie infekčních chorob

EF16_019/0000869 - UDRŽITELNÁ PRODUKCE ZDRAVÝCH RYB V RŮZNÝCH AKVAKULTURNÍCH SYSTÉMECH – PROFISH (2019-2023, MSM/EF)



Aktuální poznatky vakcinologie sladkovodních ryb



Ľubomír Pojezdal
VÚVeL Academy
14. 6. 2023

Vakcíny registrované v EU

- Prevažne inaktivované/živé atenuované
- DNA vakcíny od r. 2018



Vakcíny v EU - druhy

- Losos obecný
- „pstruh“ – prevažne PD
- Mořčák evropský
- Mořan zlatý
- Pakambala velká



?

- Kapr?
- Bez zastoupení, komerčně neúspěšná
vakcína proti jarní virémií 80tá-90tá léta



Vakcíny v EU - Vírusy

- IPN – infekční nekróza pankreatu, pstruh, losos
- PD – onemocnění pankreatu, losos
- VNN – virová neuropatická nekróza, mořan, mořčák



Vakcíny v EU – Baktérie 1

- *Yersinia ruckeri* – ERM – pstruh, losos
- *Aeromonas salmonicida* – pstruh, losos
- *Moritella viscosa* – zimní vředy, losos
- *Lactococcus garviae* – pstruh, jih EU



Vakcíny v EU – Baktérie 2

- *Vibrio anguillarum*
(*Listonella* a.; *V. ordalii*)
- *Photobacterium damsela*
(*Pasteurella piscicida*)
- Obojí mořan a mořčák



VUVeL

Kapr - Výzvy

- Podobné jako pstruh, tilapia
- Nízka cena jedného kusu (vs. Losos)
- Nižšia intenzita chovu (vs. Stredomoieí)



VUVeL

Výzvy

- Manipulácia
- Injekčná aplikácia
- Revakcinácia



VUVeL

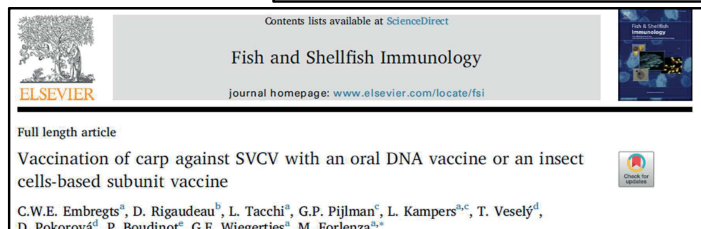
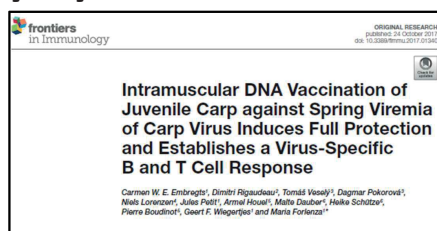
Výzvy

Skúsenosti VUVeL

DNA vakcína na SVC

Skvelá do svalu, nefunkčná

Do krmiva



Ideálna vakcína

- Aplikácia kúpeľom
- Aplikácia v krmive
- Jednorázová aplikácia
- Trvalý efekt
- Nízka cena



Riešenia

- Celogenómové sekvenovanie
 - Výber správneho kmeňa baktérie/vírusu



Riešenia

- Reverzná vakcinológia
 - DNA vakcíny
 - mRNA vakcíny



Riešenia

- Nanočastice
 - VLP - virus-like particles
 - ISCOM - immunostimulating complexes



Riešenia

- Nanočastice
 - Mukoadhezíva
 - Chitosan
 - Oxidy kobaltu



Funkční imunologické testy, praktické využití

MVDr. Hana Minářová, Ph.D.



Funkční imunologické testy

- Schopnost imunitních buněk aktivně reagovat na podněty

Naměřené hodnoty

Funkční testy

×



Ryby × savci



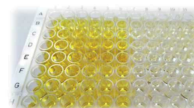
Podněty

- Stimulace množení buněk – lymfocyty
- Pohlcování částic, respirační vzplanutí – fagocyty



Test blastické transformace lymfocytů

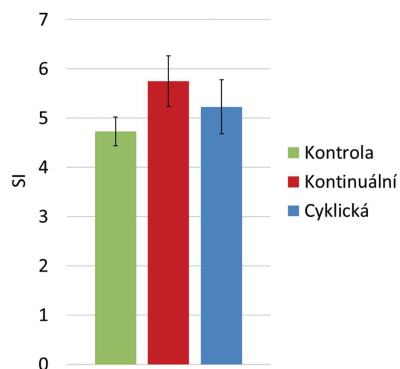
- Stimulace nespecifická
- Stimulace specifická (po infekci, vakcinaci)
- Vliv látek podávaných v krmivu (pstruh duhový)
 - Probiotika
 - Selen a zinek



Test blastické transformace lymfocytů

Probiotika

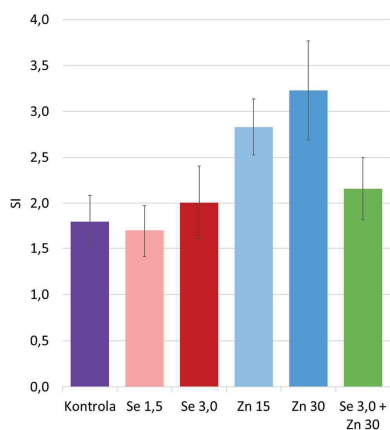
- Specifická aktivace 4 týdny po vakcinaci (*Yersinia ruckeri*)
- Bez nespecifické aktivace
- Protilátky



Test blastické transformace lymfocytů

Selen a zinek

- Specifická aktivace 5 týdnů po infekci (*A. salmonicida*)



Fagocytární aktivita – respirační vzplanutí

- Vliv látek podávaných v krmivu (pstruh duhový)
 - Rostlinná krmiva a imunostimulanty (beta-glukany, vitaminy C a E)
- Porovnání fagocytární aktivity
 - 24 druhů ryb vyskytujících se ve volných vodách ČR



Fagocytární aktivita – respirační vzplanutí

Rostlinná krmiva a imunostimulanty (beta-glukany, vitaminy C a E)

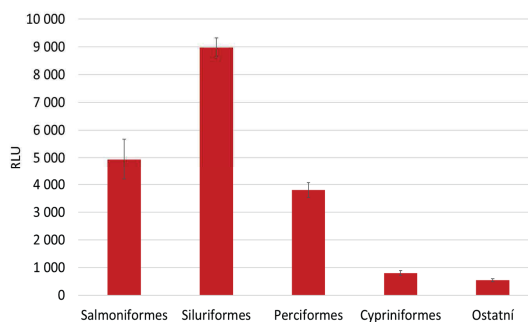
- Imunostimulanty nižší hodnoty po infekci
- Rostlinná krmiva vyšší hodnoty i před infekcí (*A. salmonicida*)

- Protilátky



Fagocytární aktivita – respirační vzplanutí

Porovnání fagocytární aktivity u 24 druhů ryb
vyskytujících se ve volných vodách ČR



Závěr

- Komplexní posouzení imunitní odpovědi
- Vliv krmiva – probiotika, imunostimulanty, toxiny
- Vakcinace, infekce



Mendelova
univerzita
v Brně

Děkuji za pozornost



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
OP Výzkum, vývoj a vzdělávání



Tato práce vznikla v rámci projektu PROFISH CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000869, který je podpořený z Evropského fondu pro regionální rozvoj v rámci operačního programu Výzkum, vývoj a vzdělávání MŠMT.



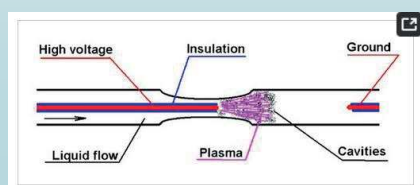
Likvidace choroboplodných zárodků ve vodě ošetřením technologií CaviPlasma

MVDr. Ivana Papežíková, Ph.D. a kolektiv



Technologie CaviPlasma

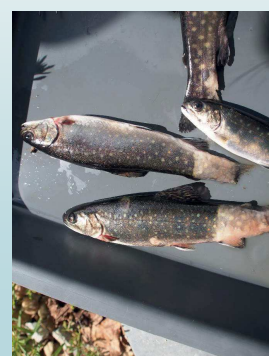
- Technologie vyvinutá k dočišťování vody, biocidní účinek, odstraňování polutantů
- Kombinace hydrodynamické kavitace a výboje plazmatu
 - snížení tlaku v ošetřované vodě, vznik bublin. Oblak bublin prochází prostorem mezi dvěma elektrodami, vysoké napětí, vznik výboje plazmatu
 - Vznik reaktivních forem kyslíku (peroxydy, $\text{OH}^\cdot$, ozon)
 - Při přechodu zpět do kapalné fáze vznik rázové vlny, poškození mikroorganismů



Maršálek a kol. (2019). Removal of *Microcystis aeruginosa* through the Combined Effect of Plasma Discharge and Hydrodynamic Cavitation. *Water* 2020, 12(1)

Část 1. Vliv ošetření CaviPlasmou na životnost bakteriálních patogenů ryb

- *Aeromonas salmonicida* (ATCC 33658)
- *Aeromonas hydrophila* (CCM 7232)
- *Flavobacterium psychrophillum* (ATCC 49418)



- ❖ Připraveny suspenze bakterií ve vodovodní vodě
- ❖ Suspenze ošetřeny technologií CaviPlasma (1-5 průchodů zařízením)
- ❖ Skladování při 17 °C, očkování na agar (1 h po ošetření, dále po 1, 2 a 7 dnech skladování)
- ❖ Po 48 h inkubace počítání narostlých kolonií
- ❖ Výsledky – CFU/ml suspenze

A. hydrophila CCM 7232 (koncentrace CFU/ml)

	D 0	D1	D2	D7
kontrola	$7,3 \times 10^6$	$7,5 \times 10^7$	$6,6 \times 10^7$	$1,03 \times 10^8$
1 průchod	$7,8 \times 10^5$	$<10^3$	$<10^2$	0
2 průchody	$2,7 \times 10^4$	$<10^2$	$<10^1$	0
3 průchody	0	0	0	0
4 průchody	0	0	0	0
5 průchodů	0	0	0	0

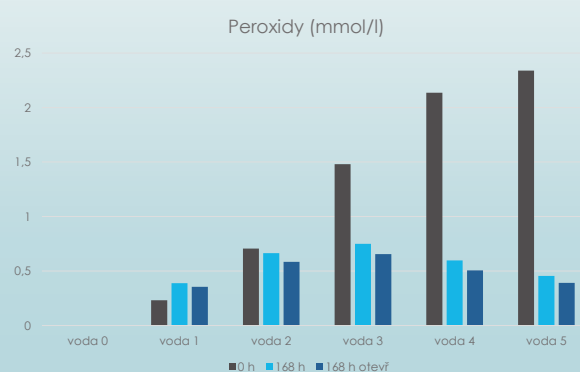
A. salmonicida ATCC 33658 (koncentrace CFU/ml)

	D 0	D 1	D 2	D 7
kontrola	$4,5 \times 10^6$	$8,6 \times 10^7$	$1,8 \times 10^8$	$2,0 \times 10^8$
1 průchod	$1,04 \times 10^6$	$2,84 \times 10^3$	0	0
2 průchody	$1,17 \times 10^5$	0	0	0
3 průchody	9×10^1	0	0	0
4 průchody	0	0	0	0
5 průchodů	0	0	0	0

F. psychrophilum ATCC 49418 – devitalizace po jediném průchodu zařízením

Obsah peroxidů v ošetřené vodovodní vodě

- ▀ 0 – 5 průchodů zařízením
- ▀ Těsně po ošetření
- ▀ 7 dní po ošetření
- ▀ 7 dní po ošetření při skladování vody v otevřených zkumavkách



Část 2.

Vliv ošetření CaviPlasmou na životnost kožovce rybího



- Infekční materiál: seškraby z kůže a ze žaber ryb přirozeně infikovaných kožovcem
- Materiál přidán do vody v nádobách, voda ošetřena CaviPlasmou
 - Voda s kožovcem neošetřená (pro pozitivní kontrolu)
 - Voda s kožovcem, 1 průchod zařízením (délka ošetření 80 s)
 - Voda s kožovcem, 5 průchodů zařízením (délka ošetření 420 s)
 - Voda bez kožovce, neošetřená (pro negativní kontrolu)
- **Ošetřená/neošetřená voda dolita do nádrží se zdravými rybami** (10 % celkového objemu vody)
 - Juvenilní sumec velký ($6,3 \pm 1,3$ g; $102,7 \pm 8,9$ mm)

Provedené odběry a analýzy

- Odběry provedeny po projevu prvních klinických příznaků
- Odběr krve (hematologické vyšetření, fagocytární aktivita)
 - Fagocytární aktivita v plné krvi – luminometricky, aktivace fagocytů zymosanem
- Seškraby kůže a žaber (mikroskopické vyšetření)
- Odběr kožního slizu (stanovení aktivity lysozymu)

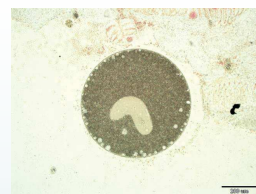
Mikroskopické vyšetření – kůže (počty parazitů v zorném poli)



	Negativní kontrola	Cavi 1 průchod	Cavi 5 průchodů	Pozitivní kontrola
	Počet parazitů	Počet parazitů	Počet parazitů	Počet parazitů
1	0	0	0	35-50
2	0	0	0	35-50
3	0	0	0	20-40
4	0	0	0	25-40
5	0	0	0	40-60
6	0	0	0	40-60
7	0	0	0	50-70
8	0	0	0	50-60

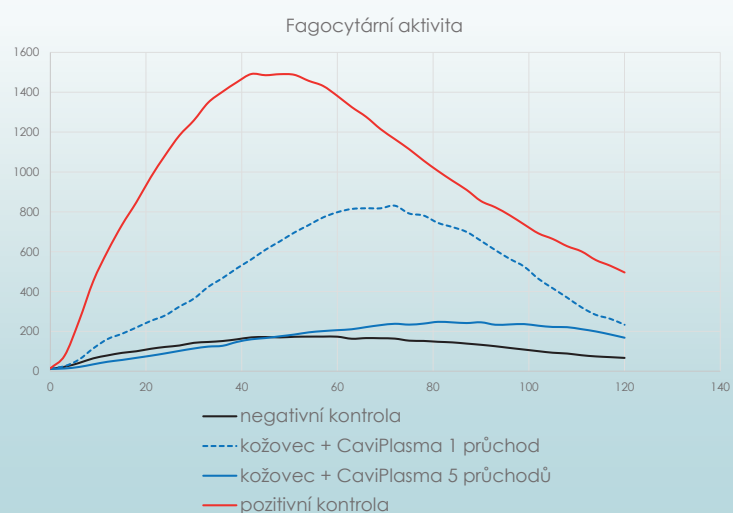
Mikroskopické vyšetření – žábry

(počty parazitů v celém seškrabu)



	Negativní kontrola	Cavi 1 průchod	Cavi 5 průchodů	Pozitivní kontrola
	Počet parazitů	Počet parazitů	Počet parazitů	Počet parazitů
1	0	0	0	35
2	0	0	0	52
3	0	0	0	26
4	0	0	0	23
5	0	0	0	36
6	0	0	0	18
7	0	0	0	28
8	0	0	0	25

Fagocytární aktivita – kinetika



Počty erytrocytů a leukocytů

	Erys (T/L)	Leu (G/L)
Negativní kontrola	1,88 ± 0,27	73,75 ± 16,6
Kožovec + Cavi 1 průchod	1,62 ± 0,28	72,88 ± 13,52
Kožovec + Cavi 5 průchodů	1,81 ± 0,24	62,75 ± 24,43
Pozitivní kontrola	1,51 ± 0,45*	41,75 ± 14,06 **

Lysozym v kožním slizu

	Aktivita lysozymu (U/ml)
Negativní kontrola	54,9 ± 1,7
Kožovec + Cavi 1 průchod	52,6 ± 1,0 **
Kožovec + Cavi 5 průchodů	58,8 ± 1,2 **
Pozitivní kontrola	58,5 ± 2,1 **

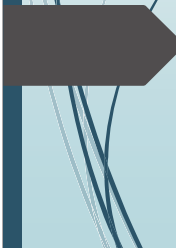


Technologie CaviPlasma, perspektivy do budoucna

- Největší experimentální zařízení – kapacita desítky m³ za hodinu, využitelné v praxi
- Provozní náklady – ošetření 1 m³ vody - 1,5 kWh (1 průchod)

Možné problémy

- Oteplování ošetřené vody (1-2 °C/1 průchod)
- Vliv na funkci biofiltrů
 - testování právě probíhá
- Vliv na ryby
 - Přidání ošetřené vody do nádrže nezvyšuje mortalitu (sumec velký, pstruh duhový)
 - Vliv na produkční parametry ryb, na vnitřní prostředí ryb, na oxidativní stres?
- dlouhodobý efekt?



Děkuji za pozornost



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Vliv desinfekčních přípravků na kvalitu vody a osídlení ryb infekčními organismy



MVDr. Eliška Zusková, PhD.
Email: zuskova@frov.jcu.cz

www.frov.jcu.cz



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Akvakultura a potřeba desinfekce

- Citlivost obsádek k onemocnění :
 - zvýšená hustota obsádek
 - manipulační stres
 - snížená kvalita vody
- Sledované desinfekční prostředky
 - Kyselina peroctová
 - Chloramin T
 - Chlorové vápno



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice
Czech Republic

Laboratorní testy

- test akutní toxicity - proveden podle standardně operačního postupu SOP 01, který vychází z normativních postupů ČSN EN ISO 7346-2 Jakost vod – Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby /*Brachydanio rerio* Hamilton Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)/ Část 2: Obnovovací metoda, OECD 203 Fish, Acute Toxicity Test

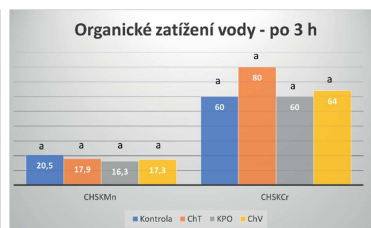
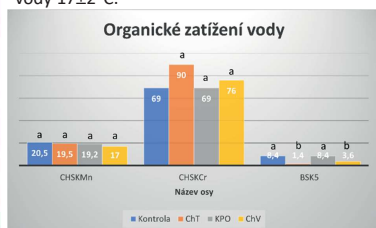
NÁZEV TESTU	POUŽITÝ ORGANISMUS	VÝSLEDEK (mg/l)
Test akutní toxicity (Chlor. T)	<i>Cyprinus carpio</i>	96hLC50 = 9,7
Test akutní toxicity (KPO)	<i>Cyprinus carpio</i>	96hLC50 = 4
Test akutní toxicity (KPO)	<i>Poecilia reticulata</i>	96hLC50 = 7
Test akutní toxicity (KPO)	larvy <i>Cyprinus carpio</i>	48hLC5 = 2,9
Akutní imobilizační test (KPO)	<i>Daphnia magna</i> Straus	48hEC50 = 2
Inhibiční test (KPO)	<i>Desmodesmus subspicatus</i>	72hLC50 = 4

- I nízké koncentrace desinfekčních látek mohou vyvolávat zdravotní problémy a při ošetření vody s následným naskladněním ryb je vhodné tyto zbytkové koncentrace aplikovaných látek ověřit.



Vliv na organické zatížení vody

- Sledování množství organických látek za využití chemické (CHSK) a biochemické (BSK) spotřeby kyslíku ve vodě s obsahem různých desinfekčních prostředků aplikovaných v koncentracích využitelných v provozu.
- K testu byla použita povrchová voda
- Tři desinfekční prostředky (chloramin T, KPO a chlorové vápno) za stejných podmínek, při teplotě vody $17 \pm 2^\circ\text{C}$.



- Statisticky významná změna nastala pouze u parametru BSK₅ (viz graf 1), kde došlo vlivem desinfekčních prostředků – Chloraminu T a chlorového vápna k eliminaci bakterií napomáhajících biologické degradaci organických látek.
- Na podkladě výsledků lze konstatovat, že aplikace desinfekčních látek do zatížené vody v příslušných koncentracích nemá výrazný vliv na organické zatížení.



Vliv desinfekce na parazitární a bakteriální osídlení ryb, a na hematologické a biochemické ukazatele

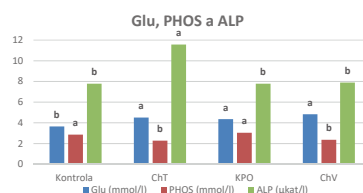
METODIKA:

- 12 akvárií o objemu 20 l (á 5 ks ryb)
- 4 denní ošetření 4 skupin ryb po 15 ks ($m = 40$ g)
 - **Kontrola** - ryby ponechány v čisté vodovodní vodě
 - **ChT** - voda ošetřena 20 mg/l Chloraminu T
 - **KPO** - voda ošetřena 1 mg/l Kyseliny peroctové
 - **ChV** - voda ošetřena 1,5 mg/l Chlorového vápna
- Chloramin T a chlorové vápno bylo využito jednorázově, zatímco aplikace KPO v dávce 1 mg/l probíhala každé ráno v 9:00.
- Po 4denní expozici byla rybám odebrána krev, následně byly usmrceny zastříhnutím a přerušením míchy za hlavou a byl proveden bakteriologický sčít z oblasti hřbetní svaloviny (5 cm) a dále byly ryby parazitologicky vyšetřeny.



Výsledky - biochemie

Parametr (jednotky)	Kontrola	ChT	KPO	ChV
	$\bar{x} \pm \text{SD} (n=10)$	$\bar{x} \pm \text{SD} (n=10)$	$\bar{x} \pm \text{SD} (n=10)$	$\bar{x} \pm \text{SD} (n=10)$
Glu (mmol/l)	$3,65 \pm 0,75^b$	$4,50 \pm 0,32^a$	$4,35 \pm 0,53^a$	$4,83 \pm 0,47^a$
TP (g/l)	$30,33 \pm 4,00^a$	$32,33 \pm 1,80^a$	$29,11 \pm 1,62^a$	$32,11 \pm 2,62^a$
ALB (g/l)	$10,78 \pm 0,67^{ab}$	$11,22 \pm 1,09^b$	$9,78 \pm 0,97^a$	$11,22 \pm 0,97^a$
GLOB (g/l)	$19,67 \pm 2,55^a$	$21,11 \pm 2,32^a$	$19,33 \pm 1,58^a$	$20,89 \pm 1,83^a$
ALT (μkat/l)	$73,89 \pm 41,56^{ab}$	$56,22 \pm 8,77^b$	$79,44 \pm 12,44^{ab}$	$90,11 \pm 22,59^a$
AST (μkat/l)	$435,11 \pm 254,60^a$	$279,33 \pm 18,51^a$	$344,11 \pm 48,70^a$	$435,67 \pm 219,46^a$
ALP (μkat/l)	$7,78 \pm 2,05^b$	$11,56 \pm 2,55^a$	$7,78 \pm 1,20^b$	$7,89 \pm 1,36^b$
Ca (mmol/l)	$1,87 \pm 0,08^{ab}$	$1,99 \pm 0,08^b$	$1,79 \pm 0,12^a$	$1,98 \pm 0,09^{ab}$
CHOL (mmol/l)	$3,76 \pm 0,47^a$	$3,51 \pm 0,09^a$	$3,42 \pm 0,29^a$	$3,59 \pm 0,14^a$
TRIG (mmol/l)	$0,89 \pm 0,35^a$	$0,95 \pm 0,11^a$	$0,93 \pm 0,22^a$	$0,85 \pm 0,41^a$
PHOS (mmol/l)	$2,85 \pm 0,47^a$	$2,27 \pm 0,22^b$	$3,03 \pm 0,15^a$	$2,35 \pm 0,38^b$





Výsledky - hematologie

Parametr (jednotky)	Kontrola	ChT	KPO	ChV
	$\bar{x} \pm \text{SD}$ (n=10)	$\bar{x} \pm \text{SD}$ (n=10)	$\bar{x} \pm \text{SD}$ (n=10)	$\bar{x} \pm \text{SD}$ (n=10)
RBC (T/l)	$2,08 \pm 0,40^a$	$2,52 \pm 0,39^a$	$2,01 \pm 0,14^a$	$2,14 \pm 0,50^a$
PCV (l/l)	$0,43 \pm 0,04^b$	$0,55 \pm 0,04^a$	$0,41 \pm 0,03^b$	$0,47 \pm 0,03^b$
Hb (g/l)	$96,68 \pm 5,26^{ab}$	$108,98 \pm 9,82^a$	$90,81 \pm 5,55^b$	$91,91 \pm 12,83^b$
MCV (fl)	$211,33 \pm 25,43^a$	$220,02 \pm 22,09^a$	$205,69 \pm 21,56^a$	$228,31 \pm 48,27^a$
MCH (pg)	$47,86 \pm 8,80^a$	$43,98 \pm 6,28^a$	$45,45 \pm 5,39^a$	$45,13 \pm 12,63^a$
MCHC (l/l)	$0,23 \pm 0,02^a$	$0,20 \pm 0,02^a$	$0,22 \pm 0,01^a$	$0,20 \pm 0,03^a$



Výsledky - bakteriologie

Determinace stupně bakteriální infekce pomocí stupnice 1-5.

Označení	Slovní hodnocení	Jiné označení	Růst bakterií
1	slabá infekce	+	méně než 50 KTJ
2	mírná infekce	++	50 - 100 KTJ
3	střední infekce	+++	100 - 200 KTJ
4	silná infekce	++++	200 - 300 KTJ
5	masivní infekce	+++++	vice než 300 KTJ

Průměrný stupeň bakteriální infekce (1-5) u všech testovaných skupin.

Skupina	Kontrola	ChT	KPO	ChV
	(n=10)	(n=10)	(n=10)	(n=10)
Stupeň infekce ($\bar{x} \pm \text{SD}$)	$3,0 \pm 1,1^a$	$3,8 \pm 1,0^a$	$2,5 \pm 0,5^{ab}$	$1,8 \pm 1^b$



Výsledky - parazitologie

Prevalence (%) a průměrný stupeň intenzity parazitární infekce kůže vyšetřovaných ryb (0-4) u všech testovaných skupin (n=10).

Skupina	Prevalence (%) / stupeň infekce 0-4 (průměrný stupeň infekce na skupinu)			
	KŮŽE			
	Trichodina	Apiosoma	Gyrodactylus	Ichthyophthirius
Kontrola	100/2,7	90/1,4	40/1	30/1,3
ChT	0/0	0/0	0/0	0/0
KPO	10/2	0/0	0/0	0/0
ChV	70/1	0/0	0/0	20/1



Laboratorní testy prokázaly, že:

- i nízké koncentrace desinfekčních látek mohou vyvolávat zdravotní problémy a při ošetření vody s následným naskladněním ryb je vhodné tyto zbytkové koncentrace aplikovaných látek ověřit.
- aplikace desinfekčních látek v příslušných koncentracích do zatížené povrchové vody nemá výrazný vliv na její organické zatížení.
- **Chloramin T** v jednorázové dávce 20 mg/l mírně ovlivňuje hematologické a biochemické parametry krve ryb a má antiprotozoární efekt. Vliv na bakteriální zatížení ryb se neprokázal.
- **KPO** v opakované dávce 1 mg/l neovlivňuje hematologické a biochemické parametry krve ryb a má antiprotozoární a antibakteriální efekt.
- **Chlorové vápno** v jednorázové dávce 1,5 mg/l neovlivňuje hematologické a biochemické parametry krve ryb a má z vybraných látek nejvýraznější antibakteriální efekt.



Provozní testy



- 2 sádky o objemu 500 m³ napuštěny vodou z patogenně zatížených lokalit (přečerpání z rybníka).
- Voda z jedné sádky byla následně ošetřena testovaným desinfekčním přípravkem (Chloramin T, KPO, chlorové vápno), voda z druhé sádky byla ponechána bez ošetření a sloužila jako kontrolní.
- Do sádky byly bezprostředně po ošetření nasazeny pokusné ryby v množství 10-20 ryb/sádku v závislosti na velikosti, pocházející z jarních, letních nebo podzimních odlovů.
- Ryby byly na sádkách přechovávány 3-6 dní.
- Na konci testu byly ryby odloveny a bylo provedeno bakteriologické a parazitologické vyšetření ryb a hydrochemický rozbor vody.



Provozní testy - závěr



- Aplikace **Chloraminu T** (20mg/l opakovaně v různých intervalech) způsobila jen mírný, statisticky nevýznamný pokles parazitárního zatížení ryb. Shodný trend u všech testů se projevil ve snížení infekčního zatížení parazitů *Trichodina* sp. na kůži i žábřích. Nebyl zaznamenán statisticky významný efekt na bakteriální osídlení kůže ryb. Organické zatížení vody se po aplikaci ChT vždy lehce snížilo. Všechny zjištěné rozdíly byly velmi mírné a protektivní efekt ošetřené vody tedy nebyl na podkladě testů dostatečně prokázán.
- Aplikace **KPO** (1 mg/l opakovaně v různých intervalech) vedla k prokazatelné eliminaci parazitů *Trichodina* sp. na kůži i žábřích ryb. Rovněž došlo k snížení druhového spektra bakteriálního zatížení (viz. graf 5), zatímco semikvantitativní bakteriální zatížení a organické zatížení vody se nelišilo od kontroly. Organické zatížení vody se u testovaných KPO skupin nelišilo od kontroly. V testech byl prokázán **znatelný efekt na parazitární i bakteriální osídlení ryb**.
- Aplikace **chlorového vápna** (1,5 mg/l jednorázově) byla odzkoušena dodatečně (mimo naplánované pokusy) bez následných opakování. Vzhledem k nízké iniciální parazitární prevalenci nelze efektivitu ošetření hodnotit.



Provozní testy prokázaly, že:

Chloramin T (opakovaná aplikace 20mg/l)

- působí jen mírný pokles parazitárního zatížení ryb – a to zejména protozoárních parazitů rodu *Trichodina* při vyšších teplotách vody.
- nemá významný efekt na bakteriální osídlení kůže ryb.
- mírně snižuje organické zatížení vody

KPO (opakovaná aplikace 1mg/l)

- působí statisticky významný pokles parazitárního zatížení kůže i žaber ryb – účinkuje na protozoární parazity rodu *Trichodina*.
- snižuje druhové bakteriální zatížení ryb
- nemá vliv na organické zatížení vody



DOPORUČENÍ

DOPORUČENÉ DÁVKY

Na podkladě výsledků realizovaného projektu doporučujeme ošetření vody desinfekčními přípravky Chloramin T a KPO v chovech kapra obecného následovně:

Aplikace Chloraminu T jsou využitelné v rozmezí **20-30 mg/l**, a to v závislosti na organickém zatížení vodního prostředí (čím vyšší zatížení, tím vyšší dávka), teplotě vody (vyšší dávky do chladné vody) a ošetřované kategorii ryb (nižší dávky pro citlivější nižší věkové kategorie ryb). Výsledný efekt po přisazení ryb je zejména **ANTIPARAZITÁRNÍ** (působí na jednobuněčné parazity).

Aplikace KPO jsou využitelné v rozmezí **1-3 mg/l**, a to opět v závislosti na organickém zatížení vodního prostředí (čím vyšší zatížení, tím vyšší dávka), teplotě vody (vyšší dávky do chladné vody) a ošetřované kategorii ryb (nižší dávky pro citlivější nižší věkové kategorie ryb). Výsledný efekt po přisazení ryb je **ANTIPARAZITÁRNÍ** (působí na jednobuněčné parazity) i **ANTIBAKTERIÁLNÍ**.



Děkuji Vám
za pozornost!





Nebezpečné nákazy ryb: Aktuální legislativa a změny v roce 2023



MVDr. Kateřina Mikulášková
SVU Jihlava



Obsah

1. Legislativní přehled
2. Sledované virové choroby ryb
3. Program dozoru
4. Aktuální nákazová situace



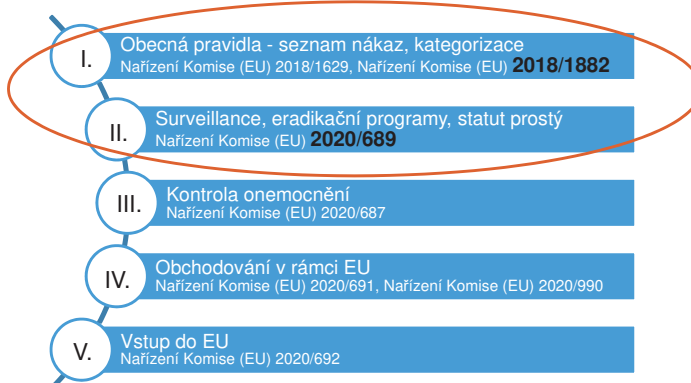
2

AKTUÁLNÍ LEGISLATIVA



„Animal Health Law“

- Nařízení Evropského Parlamentu a Rady (EU) 2016/429 (od 21.4.2021)



3

[illegible]

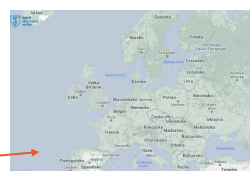
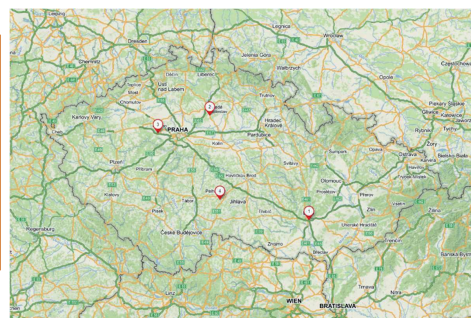
www.gov.uk

Ep4004 KOIHERPESVÍROZKA (KHV) – Vyluč – virologické vyšetření (P + PCR)
 Vyšetření se provádí na celém úlovku (K1, K2). Na vybraných hospodářstvích se odebrá 30 ryb.
 Monitoring je prováděn u každé obce (K1, K2).
 Vyšetření se provádí 1× ročně. O výkonech informuje KVS SVS.
 1. Odběr vzorků se provede v období 15. až 26. 6. 2023, pokud jsou ryby chovány dva až tři týdny při teplotě 15 až 26 °C.
 2. Odběr vzorků se provede v období 15. až 26. 6. 2023, pokud jsou ryby chovány dva až tři týdny při teplotě 15 až 26 °C.
 3. Odběr vzorků se provede v období mimo teplotní optimální pro psoberení v rybníku v souvislosti s výlovem nebo během jiné manipulace s rybami. Je však nutné odebrat vzorky (rozměr 24 až 42 cm) z náhodně vybraných rybníků.

5

ČR	Počet vyšetřených směsných vzorků	Počet ohnisek
2020	696	4
2021	847	6
2022	60	4

EVROPA	Počet hlášených ohnisek
2019	96
2020	79
2021	2
2022	0



6

Kategorie C- VHS, IHN



Rhabdoviridae, Novirhabdovirus, RNA

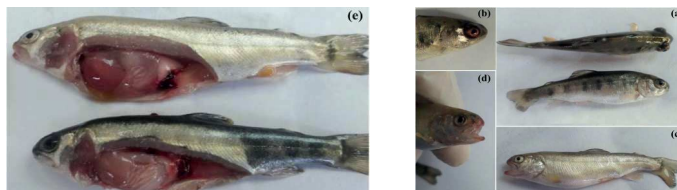
Nejvnímavější mladé ryby do 1 roku věku

Přímý kontakt, nepřímo – kontaminovaná voda, předměty
*IHN - nepřímý vertikální přenos (desinfekce jodovými preparáty)

Apatie, poruchy plavání, rovnováhy
Asfyxie, ztráta reflexů, náhlé úhyny (IHN)

Ztmavnutí povrchu těla, exoftalmus, ascites, krváceniny, anemie žaber

Teplota prostředí do 15°C



7

Kategorie C – VHS, IHN



Nařízení EP a Rady (EU) 2016/429 „AHL“

DOBROVOLNÝ PROGRAM DOZORU

...„dobrovolný program testování a opatření pro tlumení nákazy prováděný v souvislosti s nákazou **kategorie C** v zařízení akvakultury, které se **neúčastní programu eradikace** za účelem dosažení statusu území prostého nákazy, avšak z **testů vyplývá**, že dané zařízení akvakultury **není danou nákazou kategorie C infikováno**.“ (bod 17 čl. 2 Nařízení Komise (EU) 2020/691)

POVINNOSTI V PŘÍPADĚ PODEZDŘENÍ NA VÝSKYT TÉTO NÁKAZY

- Neprodlené šetření s cílem potvrzení či vyloučení nákazy
- Do té doby přijmutí předběžných opatření k tlumení nákaz

článek 9, odst. 1c
článek 31, odst. 2

článek 76

8

Kategorie C – VHS, IHN



Nařízení Komise (EU) 2020/689

POŽADAVKY NA PROGRAM DOZORU

A. OBECNÉ

PŘÍLOHA VI,
ČÁST III,
kapitola 1

příslušný orgán **navrhne dozor** ... a **zohlední** při tom konkrétní požadavky v oblasti dozoru: „iv) pro prokázání v souladu s programy dozoru uvedenými v kapitolách 1 až 6 části III přílohy VI, že **zařízení**, která nejsou do eradikačního programu uvedeného v bodu ii) zařazena nebo která **nezískala status území prostého nákazy podle bodu iii), nejsou infikována**“

- Teplota vody < 14°C
- Upřednostnit slabé či abnormálně se chovající ryby
- Pstruh duhový, či ostatní vnímavé druhy ryb, různé kategorie
- Různá místa odběru, všechny části zařízení, všechny ročníky

9

Kategorie C – VHS, IHN

Nařízení Komise (EU) 2020/689



POŽADAVKY NA PROGRAM DOZORU

B. SPECIFICKÉ

- V souladu s mírou rizika (vysoké x střední x nízké)
- Testování za pomoci uvedených diagnostických metod s negativním výsledkem

PŘÍLOHA VI,
ČÁST III,
kapitola 1

L 174/334 CS Úřední věstník Evropské unie 3.6.2020

Tabulka 1

Program dozoru pro VHS/IHN

Míra rizika (*)	Počet veterinárních kontrol za rok v každém zařízení	Počet ryb ve vzorku (*)
vysoká	1 ročně	30
střední	1 za 2 roky	30
nízká	1 za 3 roky	30

(*) V případě pobřežních oblastí nebo pobřežních jednotek nemusí být vzorky odebrány dříve než 3 týdny po převozu ryb ze slatě do sladké vody.

(*) Míra rizika, kterou příslušný orgán danému zařízení přidělí v souladu s bodem 1 kapitoly 2 části I. Maximální počet ryb na umělostředisku: 10

C. POŽADAVKY NA OPĚTOVNÉ ZAHÁJENÍ PROGRAMU DOZORU V NÁVAZNOSTI NA OHNISKO NÁKAZY

10

Kategorie C – VHS, IHN

DIAGNOSTICKÁ PRAXE



2022

VS.

2023

11. Ryby

EpU210 VIROVÁ HEMORAGICKÁ SEPTIKÉMIE A INFEKČNÍ NEKRÓZA KRVETVORNÉ TKÁNĚ – VyLa – virologické vyšetření (KV)

Ve schválených zařízeních akvakultury pro chov živočichů pocházejících z akvakultury chovánech odpovídající množství vnímavých druhů ryb se odebírají vzorky k vyšetření, dle stanovené míry rizika zařízení následovně:

1. zařízení s vysokou mírou rizika – odběr vzorků 1x ročně;
2. zařízení se střední mírou rizika – odběr vzorků 1x za 2 roky;
3. zařízení s nízkou mírou rizika – odběr vzorků 1x za 3 roky.

Odběr vzorků je prováděn v období, kdy je při odběru teplota vody nižší nebo rovna 14 °C, nebo pokud teplota vody nedosahuje stanovené teploty, odeberou se vzorky za nejnižších teplot v průběhu roku.

Vyšetření se provádí u vnímavých ryb vždy z jednoho vzorku, který se skládá z 30 ryb.

V zařízeních s generačními rybami lze odběr ryb nahradit odběrem ovarálních tekutin.

6. Ryby

EXU210 VIROVÁ HEMORAGICKÁ SEPTIKÉMIE A INFEKČNÍ NEKRÓZA KRVETVORNÉ TKÁNĚ – VyLa – virologické vyšetření (KV)

Ve schválených zařízeních akvakultury pro chov živočichů pocházejících z akvakultury, která chovají odpovídající množství vnímavých druhů ryb a která se účastní programu dozoru pro uvedené nákazy, se odebírají vzorky k vyšetření v souladu s přílohou VI části III kapitoly I nařízení (EU) 2020/689 dle stanovené míry rizika zařízení následovně:

1. zařízení s vysokou mírou rizika – odběr vzorků 1x ročně;
2. zařízení se střední mírou rizika – odběr vzorků 1x za 2 roky;
3. zařízení s nízkou mírou rizika – odběr vzorků 1x za 3 roky.

Odběr vzorků je prováděn v období, kdy je při odběru teplota vody nižší nebo rovna 14 °C, nebo pokud teplota vody nedosahuje stanovené teploty, odeberou se vzorky za nejnižších teplot v průběhu roku.

Vyšetření se provádí u vnímavých ryb vždy z jednoho vzorku, který se skládá z 30 ryb.

V zařízeních s generačními rybami lze odběr ryb nahradit odběrem ovarálních tekutin.

SCHVÁLENÉ ZAŘÍZENÍ
AKVAKULTURY

+
ZAŘÍZENÍ, KTERÁ
SE ÚČASTNÍ
PROGRAMU
DOZORU

11

PROGRAM DOZORU Kdo vyšetřuje?



- Schválená zařízení akvakultury chováající vnímavé druhy ryb, která se účastní programu dozoru



ZCELA DOBROVOLNÉ



ALE

Účast v Registru akvakultury (VHS) - Hospodářství schváleného produkčního podniku akvakultury

Hospodářství schváleného produkčního podniku akvakultury

reg. číslo	středisko	název	GPS	adresa	typ	podle zákona	datum
CZ 81130317	Ryby		49°44'11.02"N 16°15'50.20"E	Mlýnská 251, 75021 Pákov	Monoakvakulturní	NO DISCUS	08.04.2022
CZ 81130370	Ryby	rybník Pákov	49°47'25.11"N 16°17'25.44"E	Horní Sušice, 75035 Horní Sušice	Monoakvakulturní	Český rybářský svaz, z.s., územní svaz pro Severní Moravu a Slezsko	05.04.2022
CZ 81130380	Ryby	Na ječínkách	49°54'19.49"N 17°22'56.72"E	Brázdova, 75351 Brázdova	Monoakvakulturní	Ing. Milan Pavlík	05.03.2022
CZ 81130337	Ryby	Mladětko	49°53'45.87"N 17°42'29.58"E	Mladětko, 74754 Mladětko	Monoakvakulturní	Český rybářský svaz, z.s., územní svaz pro Severní Moravu a Slezsko	20.01.2022
CZ 81130312	Ryby	Nová Lúčka	49°53'23.04"N 17°40'45.89"E	Nová Lúčka, 75057 Nová Lúčka	Monoakvakulturní	Bo. Pavel Váňa, DIS	14.07.2020
CZ 81130342	Ryby	Moravice	49°51'4.14"N 17°44'18.08"E	Moravice, 74764 Moravice	Monoakvakulturní	Bo. Pavel Váňa, DIS	15.07.2020

V případě výskytu podezření z nákazy mají povinnost testovat všichni (166/1999 Sb.)

12

PROGRAM DOZORU

Správné vzorkování

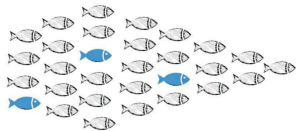


• DŮLEŽITÉ!!

• Ovlivňuje pravděpodobnost záchytu onemocnění

- doba vzorkování
- prevalence v populaci
- druh odebraného vzorku
- počet vzorků
- senzitivita a specificita testu
- účel testování

UKOTVENO V
LEGISLATIVĚ



Nařízení Komise (EU) 2020/689

$t < 14^{\circ}\text{C}$

přednostně **pstruh duhový**

**30ks živých ryb či ovariální
tekutina generačních ryb**

slabě abnormálně se chovající
ryby

různé kategorie

různá místa odběru

všechny části zařízení

13

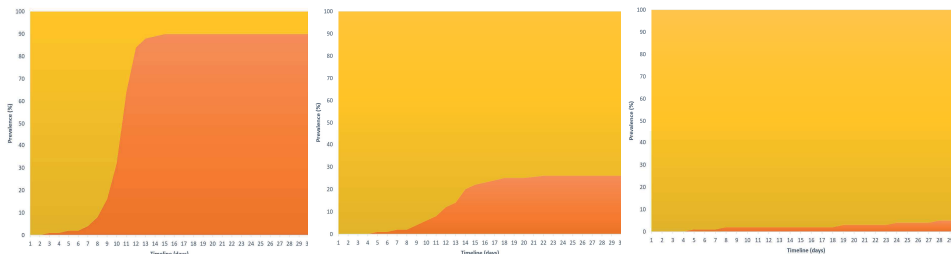
Pravděpodobnost záchytu onemocnění

- Výrazně ovlivněna prevalencí

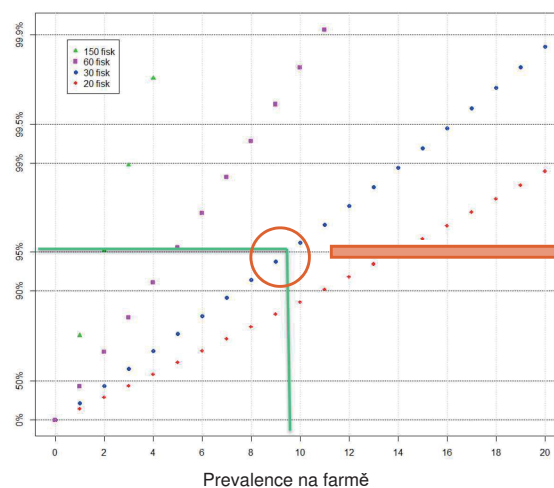


PREVALENCE

= počet jedinců, kteří jsou v daném časovém období infikováni



Je nutné odebrat 30 ks ryb?



Při odběru 30 ks
ryb u onemocnění
s 10% prevalencí
mám 95%
procentní
pravděpodobnost,
že chorobu
zachytím



DETEKČNÍ LIMIT

15

PROGRAM DOZORU

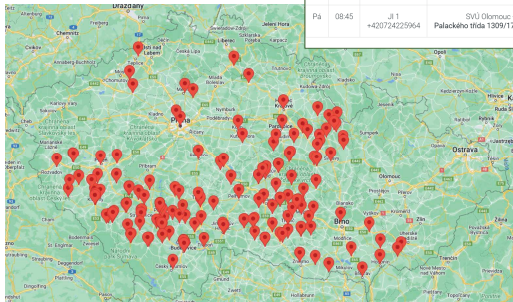
Transport vzorků



- V ideálním případě zahájit vyšetření do 24 hod
- Rychlý transport chlazených vzorků ($\leq 10^{\circ}\text{C}$)
 - Osobně
 - Pomocí svozné linky
 - Popř. TNT (pouze ovariální tekutina)

Brno - SVÚ Olomouc Palackého třída 1236, Brno-město Typ: stáří			
Po	08:45	Ji 2 +420/770122186	SVÚ Olomouc - pracoviště Brno Palackého třída 1309/174, Rečkovice, 61200 Brno
St	08:45	Ji 2 +420/770122186	SVÚ Olomouc - pracoviště Brno Palackého třída 1309/174, Rečkovice, 61200 Brno
Pá	08:45	Ji 1 +420/724225964	SVÚ Olomouc - pracoviště Brno Palackého třída 1309/174, Rečkovice, 61200 Brno

V PŘÍPADĚ
ODPOLEDNÍHO
DODÁNÍ PROSÍME
O TELEFONICKÉ
OHLÁŠENÍ



16

PROGRAM DOZORU

Jak dlouho trvá testování?



Vyšetření orgánů (srdce, slezina, ledvina, popř. mozek)

Tři směsné vzorky po 10 kusech

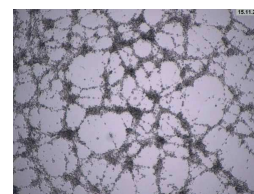
» Homogenizace, ošetření antibiotiky, filtrace

Izolace viru na vnímavých tkáňových kulturách

- » Časově náročné - **min. 14 dní** (přímá pasáž 7-10 dní, první pasáž 7-10 dní)
- » Na dvou typech tkáňových kultur současně (BF-2 či RTG-2, FHM či EPC)
- » Přítomnost viru je prokázána výskytem cytopatického efektu (CPE)
- » V případě výskytu cytopatického efektu následuje identifikace viru

• **Identifikace viru**

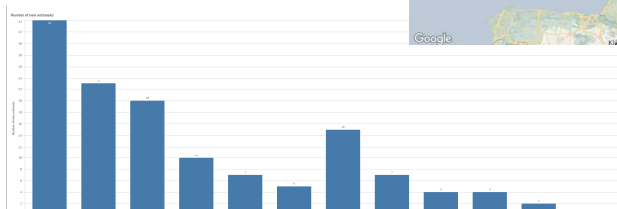
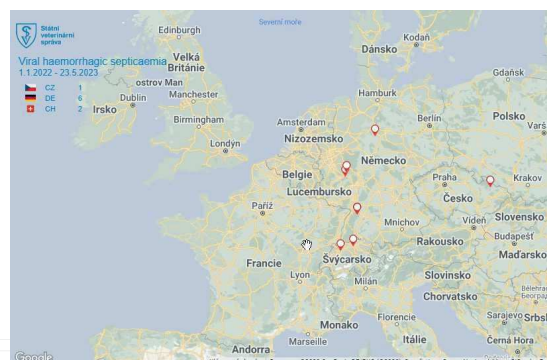
- » RT-PCR, RT-qPCR, ELISA
- » sekvenace



AKTUÁLNÍ NÁKAZOVÁ SITUACE - VHS



ČR	Počet ohnisek
2017	0
2018	0
2019	3
2020	1
2021	2
2022	0
2023	1?



18

VHS – poslední případ ČR

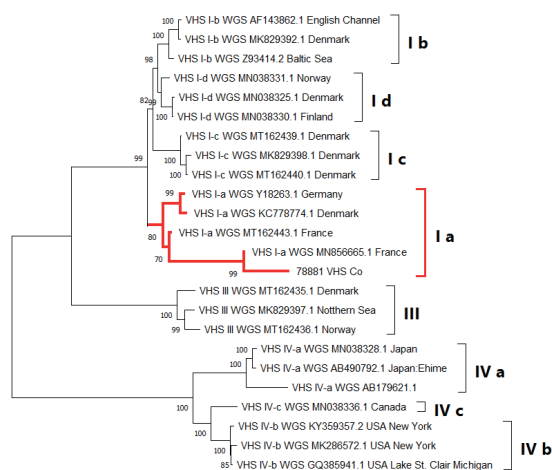


LEDEN 2023

- Hospodářství s chovem pstruha duhového
- Moravskoslezský kraj
- Apatie, exoftalmus, úhyny
- 3x směsný vzorek po 10 ks pozitivní RT-qPCR, pozitivní CPE na TK



VHS – poslední případ ČR



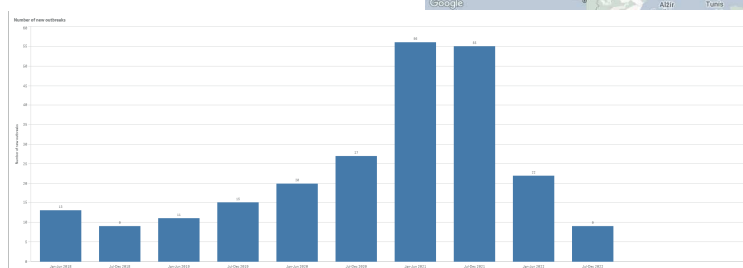
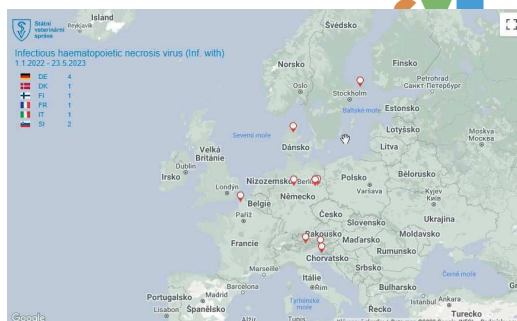
Fylogenetický strom
Alignment: algor. Clustal W
Fylogenet. anal.: Neighbor-Joining method

- Nejrozšířenější
- V Evropě běžný
- Vysoce patogenní pro pstruha duhového

20

AKTUÁLNÍ NÁKAZOVÁ SITUACE - IHN

ČR	Počet ohnisek
2017	0
2018	0
2019	1
2020	0
2021	0
2022	0



V Evropě velmi aktuální téma
(Dánsko, Finsko, Německo, Francie, Itálie)

21



Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice



South Bohemian Research Center
of Aquaculture and Biodiversity
of Hydrocenoses

Využití rostlinných imunostimulantů v akvakultuře



Veronika Piačková, VÚVeL Academy, 14. 6. 2023



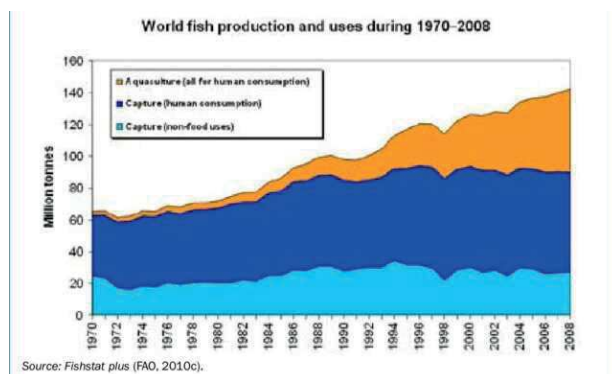
Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice



South Bohemian Research Center
of Aquaculture and Biodiversity
of Hydrocenoses

Světová produkce ryb v akvakultuře roste v závislosti na zvyšující se spotřebě a stagnujících až snižujících se výlovcích z moří a oceánů.

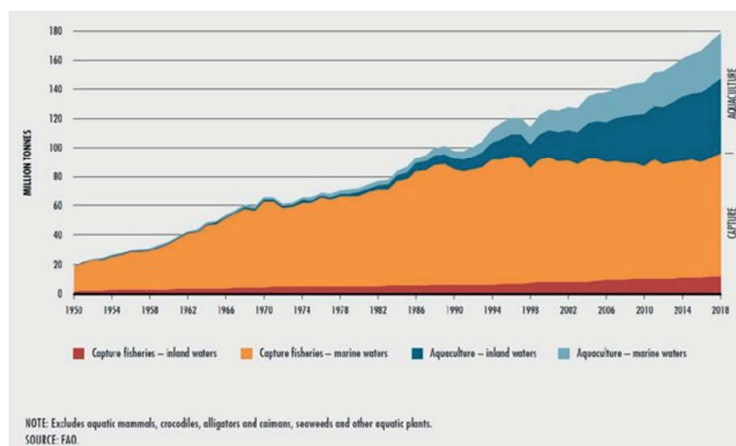


Fakulta rybářství
a ochrany vod
Faculty of Fisheries
and Protection
of Waters

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice



South Bohemian Research Center
of Aquaculture and Biodiversity
of Hydrocenoses





Chov ryb v akvakultuře

+

- Vyšší produktivita v kontrolovaných podmínkách
- Celoroční produkce násadových i tržních ryb
- Zkrácení reprodukčního cyklu

—

- Vysoká energetická náročnost
- Zvýšení eutrofizace přírodních vod a nebezpečí vnosu cizorodých látek do životního prostředí
- Vyšší stresová zátěž ryb ⇒ oslabení imunitního systému ⇒ vyšší náchylnost k onemocnění ⇒ vyšší potřeba použití léčiv



- Dlouhodobé používání antimikrobiálních látek má za následek vznik antimikrobiální rezistence
- V zájmu zpomalení tohoto procesu vyzývá EMA (Evropská agentura pro léčiva) k omezení používání antimikrobik a antiparazitik v humánní i veterinární medicíně
- V chovech ryb už tak dost omezené možnosti použití léčiv
- Do budoucna je nutno počítat s dalšími legislativními restrikcemi



V rámci snahy o snížování spotřeby antimikrobiálních látek jsou hledány alternativní cesty k udržení zdravých obsádek ryb:

- Důraz na zoohygienu (ne vždy stoprocentní, ne vždy možné)
- Šlechtění odolnějších plemen a linií (zdlouhavý proces s nejistým výsledkem)
- Vakcíny (ne zcela dostupné, drahé, vyžadující fyzickou manipulaci s rybami)

Nebo

- Aplikace látek zlepšujících nespecifickou imunitu



Rostlinné imunostimulanty

+

- Přírodní původ ⇒ minimální zatížení prostředí cizorodými látkami při výrobě i aplikaci
- Pozitivní ovlivnění růstu ryb
- Nízká finanční náročnost
- Minimum negativních vedlejších účinků
- Velmi pestrý výběr

-

- Nekonstantní složení jednotlivých šarží



- V posledních cca 10 letech bylo realizováno a publikováno mnoho studií zabývajících se testováním účinků rostlinných extraktů na imunitní systém ryb.
- Většina testovaných rostlin je pěstována v Asii (Indie, Srí Lanka,...)
- Mnoho z nich je součástí tradiční čínské, indonéské nebo ajurvédské medicíny
- V experimentech byly používány zejména druhy ryb významné pro asijskou akvakulturu (tlamouni, labeo,...) a ryby mořské (mořan, platýs, mořčák,...)



A víc se dozvíte na semináři VÚVeL Academy 14. 6. 2023 v Brně. 😊

Operační zákroky u koi kaprů – praktické zkušenosti

Ivana Mikulíková

kolektiv Ústavu ekologie, chorob zoozvířat, zvěře, ryb a včel
(VETUNI)

kolektiv Ústavu zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství
(MENDELU)

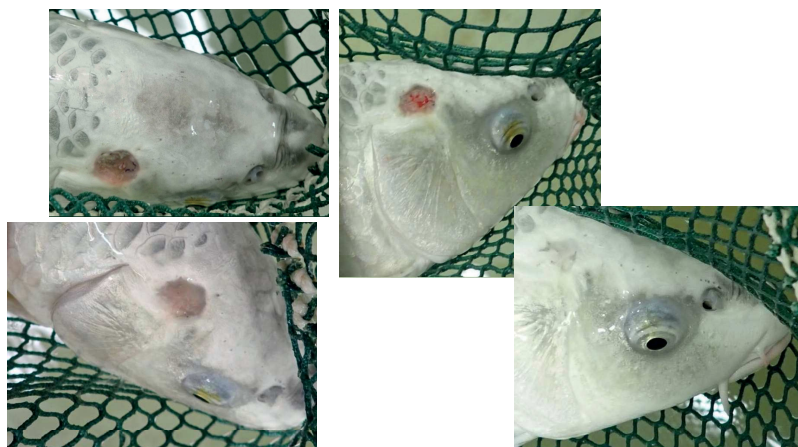
Koi kapr Celestýn



Koi kapr Celestýn



Koi kapr Celestýn



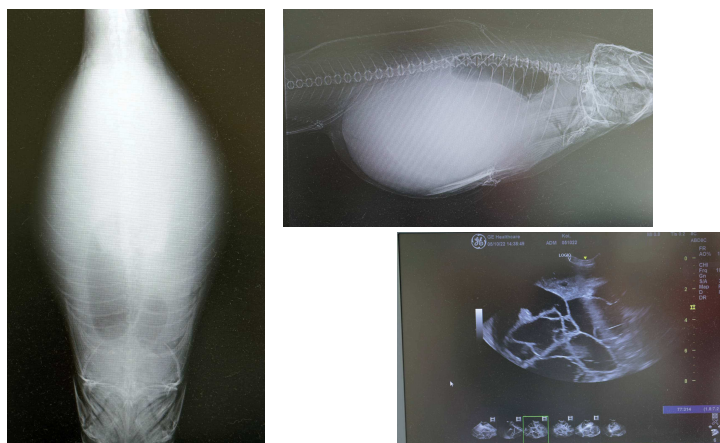
4

Koi kapr Bubák



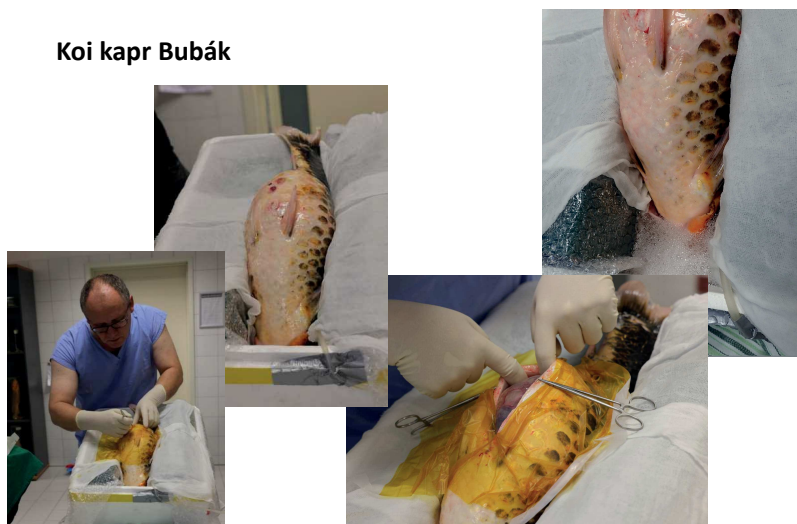
5

Koi kapr Bubák



6

Koi kapr Bubák



7

Koi kapr Bubák



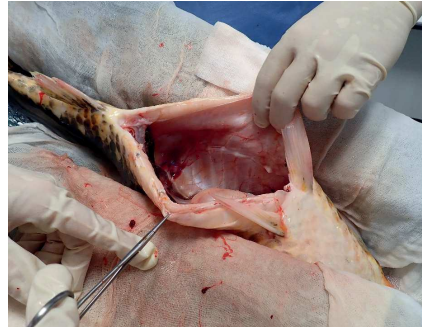
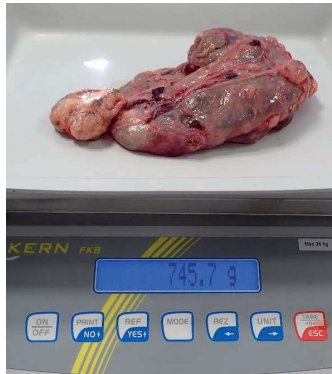
8

Koi kapr Bubák



9

Koi kapr Bubák



10

Koi kapr Bubák



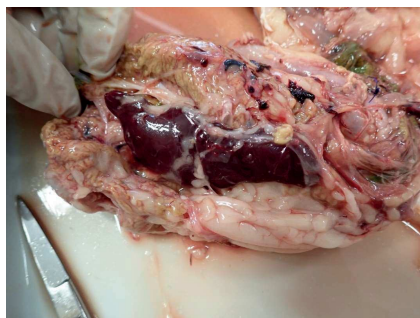
11

Koi kapr Bubák



12

Koi kapr Bubák



13

Děkuji za pozornost



Mendelova
univerzita
v Brně

Copyright:

Výzkumný ústav veterinárního
lékařství, v. v. i. Brno
Hudcova 296/70, 621 00

Tel.: +420 773 756 631
E-mail: vri@vri.cz

www.vri.cz