



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

SBORNÍK ZE SEMINÁŘE
8. 10. 2025
(VÚVeL BRNO)

**Zdravotní problematika v chovech
hmyzu určeného pro potraviny a krmiva**



Česká technologická platforma pro zemědělství ve spolupráci
s Výzkumným ústavem veterinárního lékařství, v. v. i.

si Vás dovoluji pozvat na seminář VÚVeL ACADEMY

ZDRAVOTNÍ PROBLEMATIKA V CHOVECH HMYZU URČENÉHO PRO POTRAVINY A KRMIVA

Akce se uskuteční

8. 10. 2025 9:30–14:00

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

Program:

- Virové choroby jedlého hmyzu – RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D. (VÚVeL)
- Bakteriální a houbové choroby jedlého hmyzu – Mgr. Petra Straková, Ph.D. (VÚVeL)
- Výsledky virologické a bakteriologické analýzy vzorků hmyzu z tuzemské obchodní sítě, díl I.
– RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D. (VÚVeL)
- Výsledky virologické a bakteriologické analýzy vzorků hmyzu z tuzemské obchodní sítě, díl II.
– Mgr. Helena Juřicová, Ph.D. (VÚVeL)
- Geny antibiotické rezistence u hmyzu z tuzemské obchodní sítě – Mgr. Petra Straková, Ph.D. (VÚVeL)
- Metody molekulární biologie pro identifikaci hmyzu – Mgr. Adam Norek, Ph.D. (VÚVeL)

Registrace: on-line na odkazu www.vri.cz/prihlaseni

Kontaktní osoba: sona.slosarkova@vri.cz; tel.: +420 773 756 631

Informace pro účastníky:

- Účast na semináři je bezplatná.
- Seminář přináší poznatky vzniklé v souvislosti s řešením výzkumného projektu NAZV QL24010336.

Virové choroby jedlého hmyzu

Jana Prodělalová

VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Financováno projektem NAZV QL24010336



Projekt NAZV QL24010336

Nové poznatky pro snižování rizik chovu hmyzu pro lidskou spotřebu z
pohledu ekosystému, chovatele i konzumenta

2024 - 2028



VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Cílem projektu je získat nové poznatky v oblasti infekčních chorob jedlého hmyzu a bezpečnosti produkovaného proteinu:

1. analýza epidemiologické situace v tuzemských chovech hmyzu.
2. příprava detekčních metod pro významné entomopatogeny.
3. příprava postupů pro sanaci prostředí chovu zacílené na jednotlivé skupiny patogenů.



VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Řešitelský tým

RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D.

Mgr. Petra Straková, Ph.D.

Mgr. Adam Norek, Ph.D.

Mgr. Romana Moutelíková, Ph.D.

Mgr. Kristýna Kořená

Mgr. Helena Juřicová, Ph.D.

Ing. Martin Jeřábek, Ph.D.

Ing. Karel Titl

Mgr. Michaela Víšková



VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Očekávané výsledky projektu

- publikace Jimp a Jost
- workshopy
- technické postupy pro diagnostiku infekcí hmyzu a sanaci chovatelského prostředí
- užitečný vzor (souprava pro detekci patogenů)
- informační brožura o výsledcích projektu



VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

- ve schvalovacím procesu EFSA je 13 dalších návrhů, které zahrnují doposud neschválené druhy: včela medonosná – trubčí plod
Hermetia illucens, moucha z čeledi bráněnkovitých



VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Hmyz pro lidskou spotřebu (= jedlý hmyz)

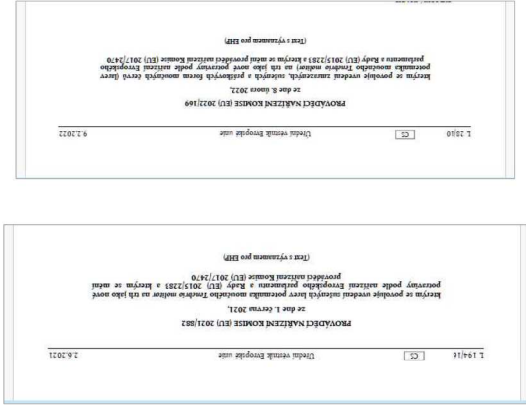
Hmyz, který lze uvádět na trh EU za podmínek uvedených v Nařízení Evropského parlamentu a rady (EU) 2015/2283, o nových potravinách (platné od 1.1.2018).

V současnosti platná povolení Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA):

- 1.kašovitě, sušené a práškové formy larev **potemníka stájového**
- 2.zmražené, sušené a práškové formy **cvrčka domácího**
- 3.částečně odtučněný prášek z cvrčka domácího
- 4.zmražené, sušené a práškové formy **saranče stěhovavé**
- 5.sušené larvy **potemníka moučného**
- 6.zmražené, sušené a práškové formy moučných červů (larev) **potemníka moučného**



VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno





potemník stájový



© Vladimír Motýčka

saranče stěhovavá



© Jan Zima

cvrček domácí



potemník moučný



- viry
- bakterie
- houby
- mikrosporidie
- výtrusovci
- hlístice
- roztoči

Vírové infekce hmyzu

Riziko (nejen) virové infekce v chovu hmyzu:

- v chovu je přenos patogena a propuknutí onemocnění snadnější než v původním prostředí
- teplota, relativní vlhkost, koncentrace CO₂, přítomnost pesticidů, toxinů, těžkých kovů
- výživa, hustota populace, vývojové stádium hmyzu, napadení několika druhy škodlivých organismů zároveň, přítomnost endosymbiontů



www.kcaliky.cz



autor: Zdeněk Hyan
www.biolb.cz

Vírová infekce hmyzu

• skrytá

- bez zjevných klinických příznaků
- tvoří se malé množství virových částic
- hostitel často přežívá

• otevřená

- zjevné klinické příznaky
- tvoří se VELKÉ množství virových částic
- hostitel často uhynie



Klinické příznaky virových infekcí u hmyzu:

- poruchy svlékání
- snížený váhový přírůstek
- menší počet nakladených vajíček
- změny barvy a průsvitnosti exoskeletu
- zvětšený zadeček
- střeva bělavá nebo nahnědlé barvy
- změny v konzistenci výkalů
- paralýzy



VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

rod *Iridovirus*

- infekce bezobratlých i obratlovců (obojživelníci)
- IIV6 – úhyny larev potěmnicka moučného (paralýza, tmavé zbarvení, úhyn)
- IIV6 – negativní dopad na reprodukci, úhyny cvrčka domácího, hypertrofie a iridescence tukového tělesa
- IIV29 – úhyny potěmnicka moučného ve stádiu kukly, nápadné namodralé iridescentní zbarvení



VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Čeleď	Virion	Genom	Druh (triviální název)	Hmyz
Iridoviridae	velký neobalený	lineární dsDNA	Invertebrate iridescent virus 6, 29	potěmník moučný sar. stěh., cv. dom.
Nudiviridae	velký obalený	kruhová dsDNA	G.b. nudivirus	cvrček dvojskrvný
Parvoviridae	malý neobalený	lineární dsDNA	A.d. densovirus A.d. miniambidensovirus	cvrček domácí potěmník moučný
Poxviridae	velký obalený	lineární dsDNA	Alphaentomopoxvirus Betaentomopoxvirus	brouci rovnokřídli
-	-	kruhová ssDNA	A.d. volnovirus	cvrček domácí
Dicistroviridae	malý neobalený	jednořetězcová RNA (+)	Cricket paralysis virus	cvrček domácí
Iflaviridae	malý neobalený	jednořetězcová RNA (+)	A.d. iflavirus	cvrček domácí



VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

čeleď *Parvoviridae*, podčeleď *Densovirinae*

rod *Ambidensovirus*

- *Tenebrio molitor* densovirus – poruchy vývoje, změny zbarvení kutikuly larev, stará kutikula se nesvléká, larvy nežerou, nepohybují se a hynou.

- ***A.d. densovirus*** – decimuje velkochovy cvrčků i volně žijící cvrčky.

Poruchy růstu a rozmnožování, snížený příjem potravy, malá aktivita, **paralýza**, úhyn. Úhyn posledních larválních stádií a mladých dospělců až 100 %.

rod *Miniambidensovirus*



VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

431-3039 AM - Wageningen University and Research Library IP Address:137.224.11.139

Diseases in edible insect rearing systems

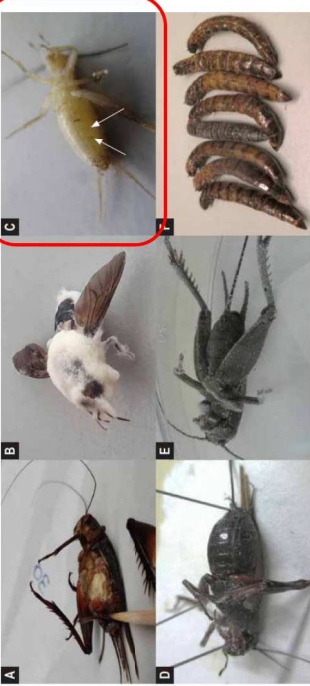


Figure 1. Clinical signs of infections in selected insects produced for food and feed. (A) Adult of the cricket, *Teleogryllus* sp. with inner organs showing a massive cell growth of *Rickettsiella grylli*. (B) Adult of black soldier fly, *Hermetia illucens* showing advanced mycosis due to an infection with *Beauveria bassiana*. (C) Nymph of the cricket, *Acheta domestica* with swollen abdomen and liquefied inner tissue (arrows) due to an infection with *A. domesticus densovirus* (ADDV). (D) Adult of the cricket, *Gryllus bimaculatus* with a strongly swollen abdomen due to an infection with *R. grylli*. (E) Adult of the cricket, *Modiolus* sp. showing advanced mycosis due to an infection with *Mearnsi* sp. (F) Larvae of the giant mealworm, *Zophobas morio* showing flaccidity and a dark coloration due to advanced septicemia caused by an infection with *Pseudomonas aeruginosa*. Photos: A, C, D, E and F by Gabriela Maciel-Vergara, and B by Antoine Lacocq.

Maciel-Vergara, G. et al. (2021). Diseases in edible insects rearing systems. Journal of Insects as Food and Feed 7(5):621-683

VRI

čeled' *Poxviridae*

- saranče stěhovavá – nedospělá stádia, pomalá infekce, ne vždy způsobuje úhyn. Fatální je koinfekce s ILV6.

VUVeL

VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Výsledky virové a bakteriologické analýzy vzorků hmyzu z tuzemské obchodní sítě, díl I.

Jana Prodělalová

VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Financováno projektem NAZV QL24010336

VUVeL

Sběr vzorků (krmný hmyz z obchodní sítě)

Druh	Počet vzorků k 8.10.
Cvrček banánový	7
Cvrček domácí	8
Potemník brazilský	1
Potemník moučný	4
Potemník stájový	2
Saranče pustinná	1
Saranče stěhovavá	14
Šváb argentinský	1
Šváb šedý	1
Krmná směs pro cvrčky a šváby	1
Krmná směs pro potemníky	1
Krmná směs pro sarančata	1
Celkem	39+3

VUVeL

VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Optimální počet jedinců ve vzorku

- dle použité metody a přístrojového vybavení
- 5g hmyzu/30 ml DPBS** (kuličkový homogenizátor OMNI s rotorem pro 3x50 ml zkumavky, 50 ml zkumavky/2,8 mm keramické kuličky)

Izolace nukleových kyselin a proteinu

- TRI REAGENT® - DNA/RNA/PROTEIN (Molecular Research Center, Inc.)

VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Detekční metoda

PCR: Invertebrate iridovirus IIV6, *A.d. densovirus*, *A.d. miniambibensovirus*, *G.b. nudivirus*, *A.d. volvovirus*

RT-PCR: *A.d. iflavivirus*, Cricket paralysis virus, *A.d. virus*, [Slow bee paralysis virus](#), [deformed wing virus](#)

VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Výsledky

Druh	Počet vzorků	Detekované viry
Cvrček banánový	7	<i>A.d. denso</i> ; IIV6; <i>A.d. volvo</i> ; <i>A.d. ifla</i>
Cvrček domácí	8	<i>A.d. denso</i> ; IIV6; <i>A.d. ifla</i>
Potemník brazilský	1	<i>A.d. denso</i>
Potemník moučný	4	<i>A.d. denso</i> ; IIV6
Potemník stájový	2	<i>A.d. denso</i> ; IIV6;
Saranče pustinná	1	<i>A.d. denso</i>
Saranče stěhovavá	14	<i>A.d. denso</i> ; IIV6; <i>A.d. ifla</i>
Šváb argentinský	1	<i>A.d. denso</i> ; IIV6
Šváb šedý	1	<i>A.d. denso</i>
Krmná směs pro cvrčky a šváby	1	<i>A.d. denso</i>
Krmná směs pro potemníky	1	<i>A.d. denso</i> ; IIV6
Krmná směs pro sarančata	1	<i>A.d. denso</i> ; IIV6
Celkem	39+3	

VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Výsledky

Hledaný virus	Počet pozitivních vzorků
<i>Acheta domestica</i> densovirus	87 % (34;n=39)
<i>Acheta domestica</i> miniambibensovirus	negativní
<i>Acheta domestica</i> volvovirus	15 % (6;n=39)
Gryllus bimaculatus nudivirus	negativní
Invertebrate iridovirus IIV6	77 % (30;n=39)
<i>Acheta domestica</i> iflavivirus	41 % (16;n=39)
Cricket paralysis virus	negativní
<i>Acheta domestica</i> virus	negativní
Deformed wing virus, Slow bee paralysis v.	negativní

VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Sbíráme vzorky!

1. Pravidelné odběry z chovatelského zařízení
2. Vzorky s klinickými příznaky, při podezření na infekci v chovu, při zdravotních problémech v chovu

iana.prodelalova@vri.cz

777 786 321



VÚVeL

VÚVeL ACADEMY 8.10.2025, Brno

Bakteriální a houbové choroby jedlého hmyzu

NAZV SEMINÁŘ, PETRA STRAKOVÁ
FINANCOVÁNO PROJEKTEM NAZV QL24010336

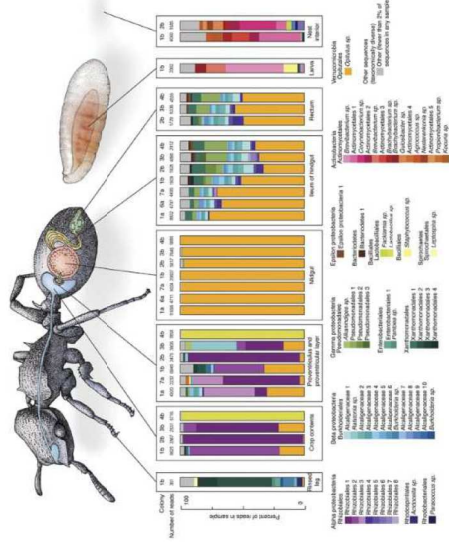


Běžně se vyskytující bakterie

- U čerstvého hmyzu: mezofilní aeroby, enterobakterie, sporující bakterie (a jejich endospory), mléčné bakterie (LAB)
- U zpracovaného hmyzu: nižší počty
- Hygienické standardy
- Např. sarančata – rostlinná dieta (tráva), specifický mikrobiom (dominantní LAB např. *Weissella*, *Pedococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*); potěmnik – dominantní *Spiroplasma*, enterobakterie (např. *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Erwinia*, *Pantoea*), LAB, atd

Hmyzí mikrobiota

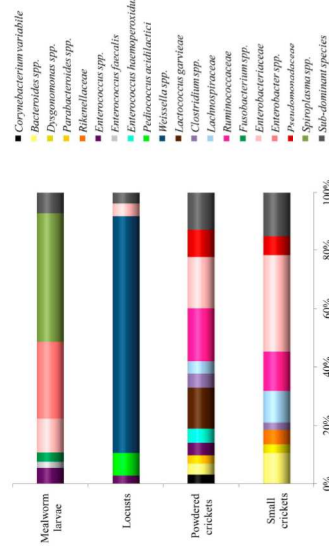
- Agens virového, bakteriálního, houbového původu
- Čerstvý hmyz vs zpracovaný hmyz
- Spolehlivá diagnostika – přesná identifikace
- Potenciální riziko pro konzumenta, ale i pro hmyz samotný



Obrazek převzat z: Lanan, M., Rodrigues, P., Agellon, A. et al. A bacterial filter protects and structures the gut microbiome of an insect. *ISME J* 16, 1686–1695 (2016).

Běžně se vyskytující bakterie

- 16S rRNA, oblast V1-V3, V3-V4 apod.



Obrazek převzat z: Gardale, C., Oulmas, A., Milarov, V., Tuszari, M., Carimali, F., Ajalanti, L., Rolo, P., Ruchioni, S., Bidero, N., Cennamo, F. The microbiota of mealworm processed edible insects as revealed by high-throughput sequencing. *Food Microbiol.* 2017 Apr;62:15-22.

Entomopatogenní organismy - bakterie

- historicky – včela medonosná, bourec morušový
- Primární patogen vs oportunní patogen
- Široká škála druhů – G+ i G- (*Bacillaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Streptococcaceae*)
- Generalisté (spóry *B. thuringiensis*) i specialisté (*Paenibacillus larvae*, *P. popilliae* – milky disease, *B. sphaericus* - komáři)
- Sporulující (např. *Bacillus*), nesporulující (*Pseudomonas*, *Serratia* – amber disease, *Rickettsiella*)
- Infekce – orální
- Obecné symptomy: změny zbarvení, ochablost, špatná kondice a koordinace pohybu, u *Rickettsiella grylli* – oteklý/nateklý abdomen, „zkapalnění“ vnitřních orgánů
- Využití: kontrola škůdců

Entomopatogenní organismy – houby, mikrosporidie

- Specialisté i generalisté, přirozeně saprofyté
- Řád *Entomophthorales* – *Entomophthora muscae* – moucha domácí (houba aktivně z mrtvých těl uvolňuje konidie)
- Řád *Hypocreales* – rod *Metarhizium* a *Beauveria* (sekrece *toxínů* – *destruxin*, *bavericin*), generalisté, infikují např. potěmnicka moučného, bource morušového, mouchu domácí, mouchu bráněnku, sarančí stěhovavou
- Rody *Purpureocillium* (mšice, molice), *Lecanicillium* (třásněnka) a *Clonostachys* (brouci trojatec, rušník, zrnokaz)
- nejen na hmyz ale i na hlístice (Nematoda), mikrosporidie – chronické infekce
- Infekce – penetrace a prorůstání kutikuly, růst v hemolymfě a sporulace externě po smrti hostitele
- Symptomy: pozorování konidií a dalších vnějších znaků na mrtvém těle hmyzu

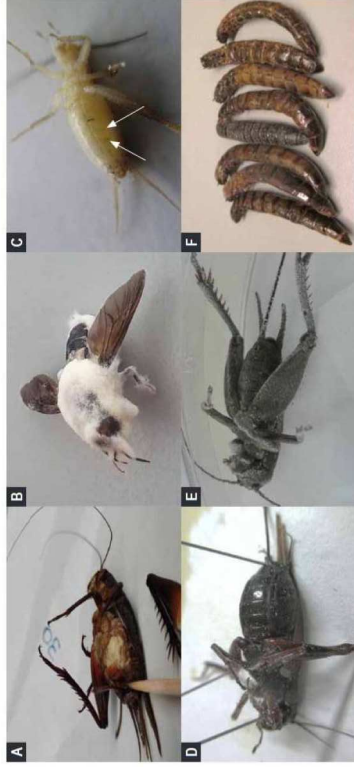
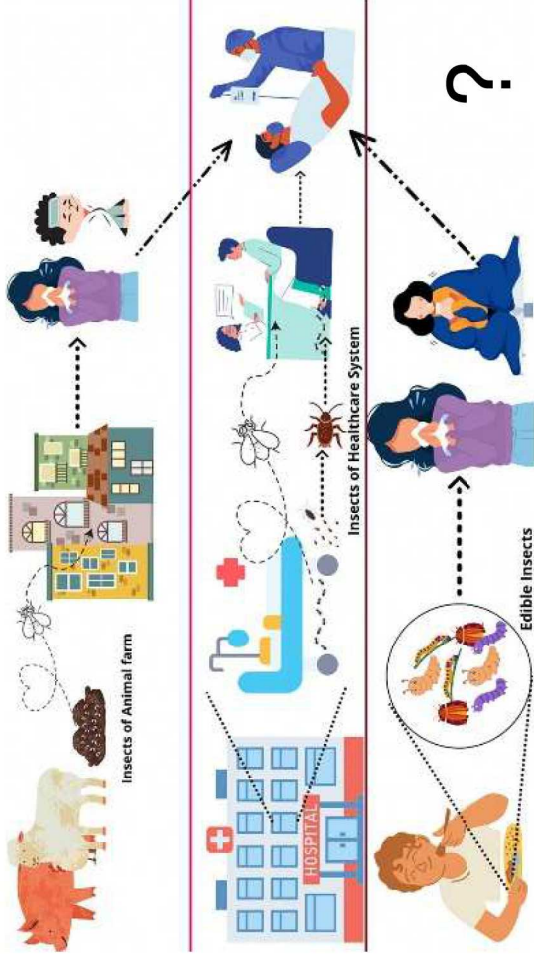


Figure 1. Clinical signs of infections in selected insects produced for food and feed. (A) Adult of the cricket, *Teleogryllus* sp. with inner organs showing a massive cell growth of *Rickettsiella grylli*. (B) Adult of black soldier fly, *Hermetia illucens* showing advanced mycosis due to an infection with *Beauveria bassiana*. (C) Nymph of the cricket, *Acheta domestica* with swollen abdomen and liquefied inner tissue (arrows) due to an infection with *A. domesticus densovirus* (AddV). (D) Adult of the cricket, *Gryllus bimaculatus* with a strongly swollen abdomen due to an infection with *R. grylli*. (E) Adult of the cricket, *Modyogryllus* sp. showing advanced mycosis due to an infection with *Metarhizium* sp. (F) Larvae of the giant mealworm, *Zophobas morio* showing flaccidity and a dark coloration due to an infection with *Pseudomonas aeruginosa*. Photos: A, C, D, E and F by Gabriela Maciel-Vergara, and B by Antoine Lecoq.

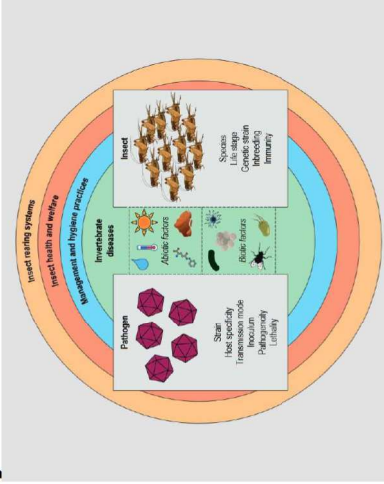
Obrázek převzat z: Maciel-Vergara, G., Jensen, A.B., Lecoq, A., & Elberberg, J. (2021). Diseases in edible insect rearing systems. *Journal of Insects as Food and Feed*, 7(5), 621-638.



Obrázek převzat z: Rawat N, Anjali, Shreyash, Sabu B, Jarwal R, Devi PP, Yastav K, Rana HS, Ruggagall R. Understanding the role of insects in the acquisition and transmission of antibiotic resistance. *Sci Total Environ*. 2023 Feb 1; 858(p1 1):158805.

Faktory umožňující rozvoj onemocnění v kolonii

- Podmínky chovu – vlhkost, teplo
- Změna krmiva, obsah nutrientů
- Populační hustota
- Prevence: dodržování postupů hygieny chovu hmyzu, hmyzí welfare, včasná a přesná diagnostika



Metodika kultivace

- V roce 2024 – 9 vzorků (3x potěmnik, 2x cvrček, 2x šváb, 2x saranče)
- V roce 2025 – 27 vzorků (14x cvrček, 8x saranče, 3x potěmnik), navíc otestovány tři krmné směsi pro hmyz
- Homogenizace hmyzu → izolace TRIZOL (DNA/RNA/protein)
- 100 ul homogenátu odebráno na kultivaci – naředěno až na 10⁻³ (dle zkušenosti), 100 ul na krevní agar (KA5 Columbia agar s 5% beraní krve) rozhojektováno, v případě prvních kultivací inkubace 24h (až 48h) 37 °C/20°C aerobně/anaerobně
- Následně už jen kultivace 24h při 37 °C aerobně

Výsledky kultivace

- Narostlé kolonie – popsány morfologicky a přepích na MALDI
- Počet narostlých kolonií – nejvíc u potěmníků a švábů, méně u cvrčků a sarančat (problémy – plazivý proteus, „dominantní“ bakterie)



Výsledky kultivace

37 °C		20 °C	
aerobní	anaerobní	aerobní	anaerobní
G+ Bacillus cereus, Corynebacterium, Lactococcus garvieae, Streptococcus, Weissella	G+ Lactococcus garvieae, L. lactis, Pediococcus, Enterococcus	G+ Enterobacter, Lactococcus garvieae	G+ Enterococcus, Lactococcus garvieae, Pediococcus
G- Enterobacter, Hafnia alvei, Klebsiella, Citrobacter, Kluyvera	G- Hafnia alvei, Klebsiella, Kluyvera, Enterobacter	G- Kluyvera, Acinetobacter	G-

Závěr

- Detekce běžné se vyskytující hmyzí mikroflóry
- Nepotvrzen výskyt entomopatogenních bakterií
- Limitace kultivačních metod
- Limitace MALDI
- Cíl: Molekulární biologie/ NGS a rozšíření kultivačních podmínek (striktní anaeroby)

Geny antibiotické rezistence u hmyzu z tuzemské obchodní sítě

NAZV SEMINÁŘ, PETRA STRAKOVÁ

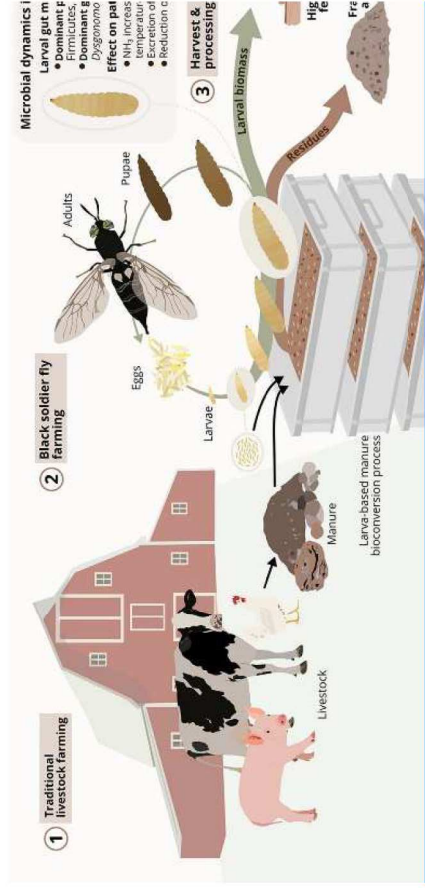
Financováno projektem NAZV QL24010336

Může jedlý hmyz hrát roli v přenosu AR?

- ARB(bacteria) vs. ARD(determinants)/ARG(genes)
- Zdroj ARB/ARG: krmivo, prostředí
- Masivní užívání ATB → ARB/ARG rozšířené v prostředí
- Horizontální přenos ARG
- Hmyz – přirozeně osídlen bakteriemi, velké množství druhů – střevo



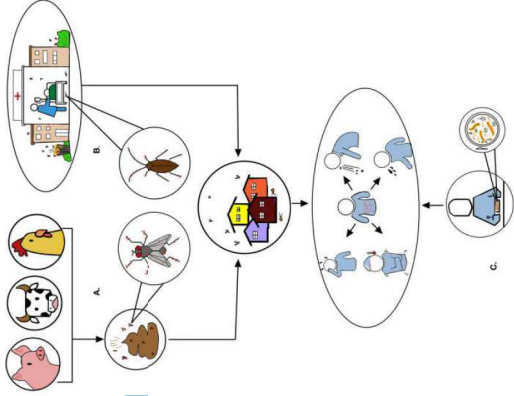
Obrázek převzat z: Giacinto A et al. (2019). Current knowledge on the microbiota of edible insects intended for human consumption: A state of art review. Food Res Int 110527.



Obrázek převzat z: Liu T, Kousanezhad T, Chapple AM, Kumar V, Zhao Y, Zhao Z, Awasthi MK. Black soldier fly larvae for organic manure recycling and its potential for a circular bioeconomy: A review. Sci Total Environ. 2022 Aug 10;833:153122.

Potvrzení ARB/ARG u hmyzu

- A – hmyz vyskytující se u farmových zvířat (dobytek, drůbež, prasata)
- B – hmyz vyskytující se v nemocnicích
- C – jedlý hmyz ?
- Pomocí molekulárních metod detekce ARG – specifická PCR
- Kultivační potvrzení ARB - minimálně



Obrázek převzat z: Rawat N, Anjali, Shreyata, Sabu B, Jamwal R, Devi PP, Yadav K, Raina HS, Rajagopal R. Understanding the role of insects in the acquisition and transmission of antibiotic resistance. Sci Total Environ. 2023 Feb 1;858(P1):159805.

Detekce genů AR v homogenátech hmyzu

- ARG – tetracyklin (tetK, tetM, tetO, tetS), erythromycin (ermA, ermB, ermC), metilicilin (mecA), betalaktamy (blaZ), vankomycin (vanA, vanB, vanC)
- Pozitivní kontroly – z bakteriologie (dr. Zouharová) a FNUSA (dr. Vacek)
- Gen **tetS** detekován u: potměníka stájového, brazilského a moučného; cvrčka banánového a cvrčka domácího, švába argentinského a saranče stěhovavé
- Gen **tetM** detekován u: cvrčka banánového a cvrčka domácího, švába argentinského a potměníka stájového
- Gen **vanB** detekován u: potměníka moučného, saranče pustinné a saranče stěhovavé, cvrčka banánového
- ve shodě s literaturou

Table 1. Occurrence of ARGs in edible insects

Insect	Scientific Name	Country	Bacteria	Methods	ARGs	Ref.
Small crickets	<i>Acheta domestica</i>	Netherlands Market	<i>Staphylococcus pyogenes</i> 7108	nested PCR	tet (C)	[8]
Small crickets	<i>Acheta domestica</i>	Netherlands Market	<i>Lactobacillus caseiparae</i> ILC279	PCR	tet (M)	[8]
Locusts	<i>Locusta migratoria</i>	Netherlands Market	<i>Staphylococcus aureus</i> COL	PCR	blaZ	[8]
Mealworm larvae	<i>Tenebrio molitor</i>	Netherlands Market	<i>Staphylococcus aureus</i> COL, <i>Enterococcus faecalis</i> 1102, <i>Staphylococcus aureus</i> COL	PCR	tet(M), tet(S), tet(K)	[8]
Giant waterbugs	Belontiidae	Thailand Market	<i>Enterococcus faecalis</i> 2.16, <i>Staphylococcus aureus</i> COL, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2921	nested PCR	erm(B), tet(K), blaZ	[8]
Black ants	<i>Polyrhachis</i>	Thailand Market	<i>Staphylococcus aureus</i> COL	PCR	tet(K)	[8]
Black ants	<i>Polyrhachis</i>	Thailand Market	<i>Staphylococcus aureus</i> COL	nested PCR	erm(B), erm(C), blaZ	[8]
Winged termites	Termitidae	Thailand Market	<i>Enterococcus faecalis</i> 2.16, <i>Staphylococcus aureus</i> COL, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2921	nested PCR	erm(B), erm(C), tet(S), tet(K), blaZ	[8]
Rhino beetles	<i>Hypocserma contractum</i>	Thailand Market	<i>Enterococcus faecalis</i> 2.16, <i>Staphylococcus aureus</i> COL, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2921	nested PCR	erm(B), tet(S), tet(K), blaZ	[8]
More crickets	<i>Grylloblatta</i>	Thailand Market	<i>Staphylococcus aureus</i> COL	PCR	erm(B), tet(S), tet(K)	[8]
More crickets	<i>Grylloblatta</i>	Thailand Market	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2921	nested PCR	blaZ	[8]
Silverfish pupae	<i>Bombus mori</i>	Thailand Market	<i>Enterococcus faecalis</i> 1102, <i>Staphylococcus aureus</i> COL, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 2921	nested PCR	tet(S), tet(K), blaZ	[8]

Obrázek převzat z: Rawat N, Anjali, Shreyata, Sabu B, Jamwal R, Devi PP, Yadav K, Raina HS, Rajagopal R. Understanding the role of insects in the acquisition and transmission of antibiotic resistance. Sci Total Environ. 2023 Feb 1;858(P1):159805.

Crickets	Austria, Belgium, France, and the Netherlands	<i>Acheta domestica</i>	Lactic acid bacteria, Enterobacteriaceae; <i>Pseudomonadaceae</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	PCR	erm(B), erm(C), tet(S), tet(K), tet(S), tet(K), blaZ, aac-aph
Mealworms	Tenebrio molitor L.		Total mesophilic aerobes, spore-forming bacteria, lactic acid bacteria, Enterobacteriaceae	PCR, N-PCR	erm(B), vanA, tet(M), tet(S); tet(K), aac-aph
Mealworms	Tenebrio molitor L.		Total mesophilic aerobes, spore-forming bacteria, lactic acid bacteria, Enterobacteriaceae	PCR, N-PCR	erm(B), erm(C), tet(M); tet(S), tet(K), mecA, aac-aph
Mealworms	Tenebrio molitor L.		Total mesophilic aerobes, spore-forming bacteria, lactic acid bacteria, Enterobacteriaceae	PCR, N-PCR	erm(B), erm(C), tet(O); tet(S), tet(K), mecA, aac-aph
Mealworms	Tenebrio molitor L.		Total mesophilic aerobes, spore-forming bacteria, lactic acid bacteria, Enterobacteriaceae	PCR, N-PCR	erm(A), erm(B), ermC, vanA; vanB, tet(M), tet(O), tet(S); tet(K), mecA, blaZ, aac-aph
House cricket	Acheta domestica		total aerobic mesophilic microflora, lactobacilli, Enterobacteriaceae, total coliforms, staphylococci, and enterococci	PCR, N-PCR	tetM
Mealworms	Tenebrio molitor L.		Staphylococcus sp., Bacillus sp., Weissella sp., Eikenella sp., Exiguobacterium sp.	PCR, N-PCR	bla(OXA-48), bla(NDM-1); tet(M), tet(K), tet(S), erm(B), erm(C), aac-aph
Grasshopper	Locusta migratoria migratorides		Staphylococcus sp., Bacillus sp., Weissella sp., Eikenella sp., Exiguobacterium sp.	PCR, N-PCR	bla/VM
Grasshopper	Locusta migratoria migratorides		Staphylococcus sp., Bacillus sp., Weissella sp., Eikenella sp., Exiguobacterium sp.	PCR, N-PCR	bla(OXA-48), bla(NDM-1); tet(M), tet(K), tet(S), erm(B), erm(C), aac-aph, blaZ
Crickets	Acheta domestica			PCR, N-PCR	tet(C), tet(K), tet(M), tet(S), erm(B)

Obrázek převzat z: Rawat N, Anjali, Shreyata, Sabu B, Jamwal R, Devi PP, Yadav K, Raina HS, Rajagopal R. Understanding the role of insects in the acquisition and transmission of antibiotic resistance. Sci Total Environ. 2023 Feb 1;858(P1):159805.



Závěr

- Hmyz – rezervoár ARB/ARG
- Jedlý hmyz – možný zdroj ARB/ARG pro konzumenta
- Udržení a rozšiřování ARB/ARG ?



Výsledky bakteriologické analýzy vzorků hmyzu z tuzemské obchodní sítě

Helena Luřicová
Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v.v.i., Brno
Financováno projektem NAZV QL24010336

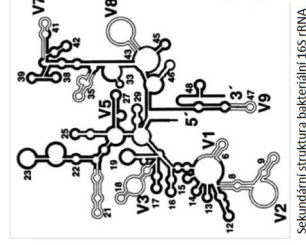
Mikrobiota, mikrobiom - metody analýzy (zaměřeno na bakterie)

- ✓ **Mikrobiota** - soubor všech mikroorganismů, které osidlují určité prostředí
- ✓ **Mikrobiom** - soubor jejich genetického materiálu
- ✓ **Kultivační metody:**
 - + umožnit zachytit životaschopné kmeny
 - + izolace a charakterizace jednotlivých bakterií
 - optimalizace kultivačních podmínek
 - zachytí jen část taxonů
- ✓ **Sekvenační metody:**
 - + vysoká citlivost
 - + velký soubor dat
 - izolace dostatečně kvalitní DNA v dostatečné c
 - nižší zachyt vzácně abundantních taxonů



Gen pro 16S rRNA - taxonomická identifikace bakterií

- ✓ Kóduje rRNA malé podjednotky (30s) prokaryotických ribozomů
- ✓ Délka 1 542 bp
- ✓ Obsahuje konzervované oblasti a variabilní oblasti (V1-V9)
- ✓ **Metody NGS**
 - amplifikace a sekvenace V3/V4 oblasti v komplexním bakteriálním společenství
 - identifikace, klasifikace, určení četnosti (abundance)



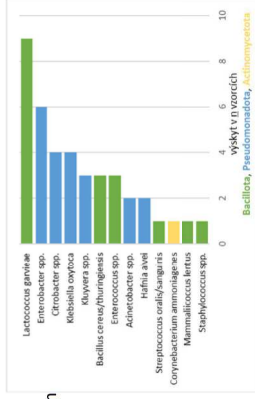
Analyzované vzorky krmného hmyzu

- Celkem analyzováno 14 vzorků krmného hmyzu
6 druhů hmyzu:
- ✓ cvrček banánový (*Gryllus assimilis*) (n=4)
 - ✓ cvrček domácí (*Acheta domestica*) (n=1)
 - ✓ saranče stěhovavá (*Locusta migratoria*) (n=5)
 - ✓ potěmník stájový (*Alphitobius diaperinus*) (n=2)
 - ✓ šváb argentinský (*Blattica dubia*) (n=1)
 - ✓ šváb šedý (*Nauphoeta cinerea*) (n=1)

Kultivační metody - výsledky

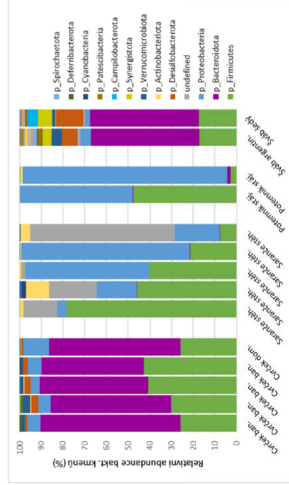
Kultivační záchyt bakterií:

- ✓ 3 bakteriální kmeny: **Firmicutes** (Bacillota), **Proteobacteria** (Pseudomonadota), **Actinobacteriota** (Actinomycetota)
- ✓ 24 různých bakteriálních druhů
- ✓ nebyl záchyt patogenních bakterií se zoonotickým potenciálem



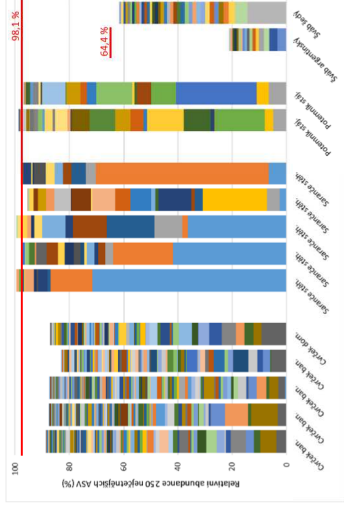
Abundance hlavních bakteriálních kmenů

- ✓ cvrček - Firmicutes 33%, Bacteroidota 55%, Proteobacteria 7%
- ✓ šváb - Firmicutes 17%, Bacteroidota 50%, Desulfobacterota 10%, Synergistota 5%
- ✓ saranče - Firmicutes 29%, Proteobacteria 43%, **undefined 23% (Proteobacteria)**, Actinobacteriota 4%
- ✓ potměnk - Firmicutes 25%, Proteobacteria 73%



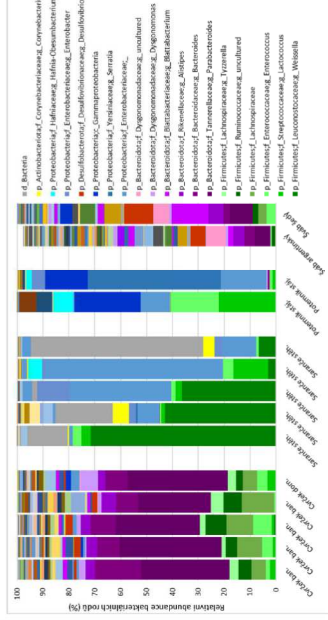
Sekvenování genu pro 16S rRNA

- ✓ **ASVs = amplicon sequence variants**
- ✓ 2 105 ASVs = 788 ASVs nad 0,1% (suma 98,1-100%; 64,4%)
- ✓ **diverzita** (pestrost) - kolik různých bakteriálních druhů (taxonů, ASV) a jak rovnoměrně jsou zastoupeny
- ✓ **index chao1** - druhová bohatost (richness)
 - ✓ šváb argentinský 1 340 ASV
 - ✓ cvrček 200 ASV
 - ✓ saranče, potměnk 35 ASV
- ✓ **Shannonův index** - kombinuje bohatost a rovnoměrnost (evenness)
 - ✓ šváb, cvrček vyšší hodnoty
- ✓ **Simpsonův index** - zaměřuje se na dominanci (abundanci)

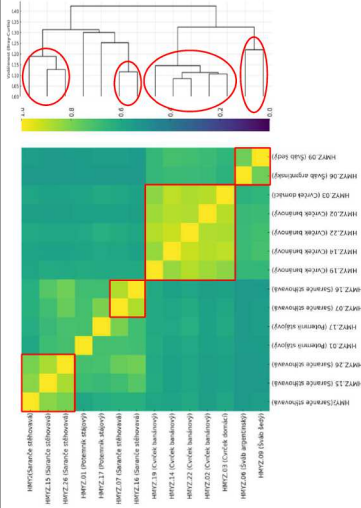


Abundance hlavních bakteriálních rodů

- ✓ **Firmicutes**: Weissella (W. confusa/cibaria / Leuconostoc paramesenteroides, možný probiotický potenciál, SS), Lactococcus (L. garvieae group - 10 % u PS), Enterococcus (PS), undefined, Tyzzerella (CB, CD, degradace celulózy)
- ✓ **Bacteroidota**: Parabacteroides, Bacteroides, Blattabacterium (mutualistická endosymbiontní bakterie - šš, ša)
- ✓ **Proteobacteria**: Serratia, Enterobacter (E. quasi/hormaechei/cloacae), Kluyvera (výskyt v půdě, odpadních vodách, potenciální entomopatogen), undefined (PS, nejblíží podobnost 92% - bakterie z otmilků či čmeláka)
- ✓ **undefined bacteria**: nejblíží podobnost 82%, pravděpodobně proteobakterie (SS)



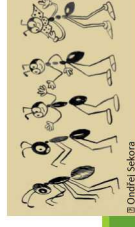
Podobnost mikrobiomu vzorků krmného hmyzu



Shrnutí

- ✓ Mikrobiom hmyzu je pestrý a u některých druhů ještě o hodně pestřejší
 - ? lze ovlivnit dietou, prostředím (hygienou chovu)
 - ☐ navýšit n analyzovaných vzorků
- ✓ Mikrobiota se liší mezi jednotlivými druhy krmného hmyzu:

cvrčci + švábi x sarančata + potměnící
- ✓ Kulturační i sekvenční metody poskytují komplementární pohled na mikrobiotu
 - provést cílenou kultivaci na patogeny - klíčové pro zhodnocení bezpečnosti potravin a krmiv



Děkuji za pozornost
helena.juricova@vri.cz



VUvEL
VÝZKUMNÝ ÚSTAV
PRO VÝVOJ
LÉČIVÝCH LÁTEK
V ÚSTAVU
PRO VÝVOJ
LÉČIVÝCH LÁTEK
V ÚSTAVU
PRO VÝVOJ
LÉČIVÝCH LÁTEK

LC-MS/MS

core genome

Name	# Sources
Mitochondriální geny_proteom_jednotlivce	144
Acheilichia domestica_univerzita_2024_11_201604	171
Agrobacterium fabrum_univerzita_2024_11_051604	47
Aspergillus nidulans_univerzita_2024_11_051604	47
Candida albicans_univerzita_2024_11_051604	47
Escherichia coli_univerzita_2024_11_051604	1544
Nauphoeta cinerea_univerzita_2024_11_051604	37
Solenopsis invicta_univerzita_2024_11_051604	880
Tribolium molitor_univerzita_2024_11_051604	15916
Zophobas morio_univerzita_2024_11_051604	29659



VUVeL
VETERINÁRNÍ
UNIVERSITA
V BRNĚ

Vědomostní centrum
pro řešení problémů
v oblasti veterinární medicíny
a zvěřinářství

Univerzita J. A. Komenského
v Brně
Fakulta veterinární medicíny
Ústav pro řešení problémů
v oblasti veterinární medicíny
a zvěřinářství

Závěr Poděkování

Objektivní metody jsou základní nástrojem analýzy potravin a krmiv

Pro jejich efektivní nasazení je třeba znát identifikační markery pro celou měřenou populaci v dané lokalitě

Proteomické metody a DNA metody mají své výhody, ale i nevýhody

Oba přístupy jsou náchylné na poškození vzorků působením chemických a fyzikálních vlivů – zlomy v DNA, modifikace proteinů

A pokud se s námi podělíte o nějaké hmyzí vzorky Budeme rádi

Děkují za pozornost a případné dotazy

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