



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

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

Nemoci a chorobné stavy ryb



Editor
Miroslava Palíková

Vodňany, 2019



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

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

NEMOCI A CHOROBNÉ STAVY RYB

Miroslava Palíková – editor

Autoři:

Miroslava Palíková, Veronika Piačková, Stanislav Navrátil, Eliška Zusková, Ivana Papežíková, Jitka Kolářová, Lubomír Pojezdal, Iva Dyková, Tomáš Scholz, Milan Gelnar, Zdeňka Svobodová, Eva Řehulková, Jan Mareš, Helena Modrá, Radim Blažek, Tomáš Veselý



EVROPSKÁ UNIE
Evropský námořní a rybářský fond
Operační program Rybářství

Vydání a tisk publikace byly uskutečněny v rámci Operačního programu Rybářství 2014–2020: Projekt Kniha II, reg. č. CZ.10.5.109/5.2/4.0/17_009/0000372 byl spolufinancován Evropskou unií.

Obsahová část publikace byla vytvořena za podpory projektů NAZV: QJ 1210013, QJ 1510077, QK1820354 a QK 1710114, projektu GAČR P505/12/G112 European Centre of IchthyoParasitology – ECIP, projektu Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky – CENAKVA (LM2018099) a 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 VVV MŠMT.

Upřímné poděkování autorů patří pečlivým recenzentům a členům redakční rady, kteří přispěli řadou cenných a podnětných návrhů a připomínek. Poděkování patří rovněž studentkám DSP, Mgr. Evě Syrové a MVDr. Haně Minářové za vytvoření rejstříků a pomoc při opravách rukopisu, Ing. arch. Vladimíru Palíkovi za pomoc s grafickou úpravou obrázků a Mgr. Karin Heřmanské za jazykovou korekturu.

Vydala

*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod,
Zátiší 728/II, 389 25 Vodňany, www.frov.jcu.cz*

Grafický design a technická realizace: *Jesenické nakladatelství Jena Šumperk*

Odborný editor: *Ing. Antonín Kouba, Ph.D.*

Jazyková korektura: *Mgr. Karin Heřmanská*

Autoři fotografií na obálce: *J. Mareš, M. Palíková, I. Dyková, E. Řehulková, A. Prouza.*

Vydání: *první*

Náklad: *500 ks*

Rok vydání: *2019*

ISBN 978-80-7514-085-2

©Miroslava Palíková, Veronika Piačková, Stanislav Navrátil, Eliška Zusková, Ivana Papežiková, Jitka Kolářová, Lubomír Pojezdal, Iva Dyková, Tomáš Scholz, Milan Gelnar, Zdeňka Svobodová, Eva Řehulková, Jan Mareš, Helena Modrá, Radim Blažek, Tomáš Veselý

Adresy autorů:

Doc. MVDr. Miroslava Palíková, Ph.D. (editor), MVDr. Ivana Papežíková, Ph.D.,
Ústav ekologie a chorob zvěře, ryb a včel, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno
Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Agronomická fakulta,
Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno

Prof. MVDr. Stanislav Navrátil, CSc.,

Ústav ekologie a chorob zvěře, ryb a včel, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

MVDr. Veronika Piačková, Ph.D., MVDr. Eliška Zusková, Ph.D., MVDr. Jitka Kolářová
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Fakulta rybářství a ochrany vod,
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zátíši 728/II, 389 25 Vodňany

MVDr. Lubomír Pojezdal, Ph.D., Ing. Tomáš Veselý, CSc.

Laboratoř virologie ryb, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 296/70, 621 00 Brno

Prof. MVDr. Iva Dyková DrSc.

Ústav botaniky a zoologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno
Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Agronomická fakulta,
Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno

Doc. RNDr. Milan Gelnar, CSc., Mgr. Eva Řehulková, Ph.D.

Ústav botaniky a zoologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno

Prof. RNDr. Tomáš Scholz, CSc.

Parazitologický ústav, Biologické centrum Akademie věd ČR,
Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice

Prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc.

Ústav ochrany zvířat a welfare a etologie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie,
Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

Prof. Dr. Ing. Jan Mareš

Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Agronomická fakulta,
Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1/1665, 613 00 Brno

Doc. MVDr. Helena Modrá, Ph.D.

Ústav teritoriálních studií, Fakulta regionálního rozvoje a mezinárodních studií,
Mendelova univerzita v Brně, tř. Gen. Píky 2005/7, 613 00 Brno

RNDr. Radim Blažek, Ph.D.

Ústav biologie obratlovců, Akademie věd ČR, Květná 170/8, 603 00 Brno

Externí odborní oponenti:

RNDr. Antonín Prouza

Státní veterinární ústav Jihlava, Rantířovská 93/20 Horní Kosov, 586 01 Jihlava

MVDr. Peter Košuth, Ph.D.

Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie v Košiciach,
Komenského 68/73, 041 81 Košice, Slovensko

MVDr. Marie Vágnerová, Ph.D. (5. kapitola)

Ústřední veterinární správa Státní veterinární správy, Slezská 100/7, 120 56 Praha 2

MVDr. Leona Nepejchalová, Ph.D. (7. kapitola)

Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv, Hudcova 232/56A, 621 00 Brno-Medlánky

Interní odborný oponent:

MUDr. Eva Šálková

Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Fakulta rybářství a ochrany vod,
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zátíši 728/II, 389 25 Vodňany

Obsah

Úvod	13
------	----

M. Palíková

Zásady odběru vzorků u ryb	16
----------------------------	----

I. Papežíková, M. Palíková

VIROVÁ ONEMOCNĚNÍ

1

21

V. Piačková, L. Pojezdal, T. Veselý

DNA viry	25
----------	----

V. Piačková

1.1. Poxviridae	25
-----------------	----

1.1.1. Edémová nemoc kaprů	25
----------------------------	----

1.2. Iridoviridae	30
-------------------	----

1.2.1. Lymfocystóza ryb	30
-------------------------	----

1.2.2. Epizootická nekróza krvetvorné tkáně	32
---	----

1.3. Alloherpesviridae	37
------------------------	----

1.3.1. Virové onemocnění sumečka skvrnitého	37
---	----

1.3.2. Puchýřnatost ryb	39
-------------------------	----

1.3.3. Koi herpesviróza	41
-------------------------	----

1.4. Circoviridae	49
-------------------	----

1.4.1. Papilomatóza úhořů	49
---------------------------	----

RNA viry	52
----------	----

L. Pojezdal, T. Veselý

1.5. Birnaviridae	52
-------------------	----

1.5.1. Infekční nekróza pankreatu	52
-----------------------------------	----

1.6. Rhabdoviridae	56
--------------------	----

1.6.1. Infekční hematopoetická nekróza	56
--	----

1.6.2. Virová hemoragická septikémie	58
--------------------------------------	----

1.6.3. Jarní virémie kaprů	61
----------------------------	----

1.6.4. Rhabdoviróza štičího plůdka	63
------------------------------------	----

1.7. Orthomyxoviridae	69
-----------------------	----

1.7.1. Infekční anémie lososů	69
-------------------------------	----

1.8. Togaviridae	73
------------------	----

1.8.1. Spavá nemoc pstruhů a onemocnění pankreatu lososů	73
--	----

BAKTERIÁLNÍ ONEMOCNĚNÍ*M. Palíková, S. Navrátil***2****77**

2.1. Riketsie a chlamydie	80
<i>S. Navrátil</i>	
2.1.1. Pisciriketsiáza	80
2.1.2. Epitheliocystóza	81
2.2. <i>Renibacterium salmoninarum</i>	87
<i>M. Palíková</i>	
2.2.1. Renibakteriáza lososovitých ryb	87
2.3. <i>Mycobacterium</i> spp.	92
<i>S. Navrátil</i>	
2.3.1. Mykobakteriáza	92
2.4. <i>Aeromonas</i> spp.	98
2.4.1. Furunkulóza	98
<i>M. Palíková</i>	
2.4.2. Další aeromonádové infekce	102
<i>S. Navrátil, M. Palíková</i>	
2.5. <i>Flavobacterium</i> spp.	108
<i>M. Palíková</i>	
2.5.1. Cytofagóza a anemický syndrom plůdku pstruha duhového	108
2.5.2. Kolumnaróza	111
2.5.3. Bakteriální onemocnění žaber	113
2.6. <i>Yersinia ruckeri</i>	119
<i>M. Palíková</i>	
2.6.1. Yersiniáza lososovitých	119
2.7. <i>Vibrio</i> spp.	124
<i>M. Palíková</i>	
2.7.1. Vibrióza	124
2.8. <i>Edwardsiella</i> spp.	128
<i>S. Navrátil</i>	
2.8.1. Edwardsielózy	128

3.1. Dinoflagellata	135
<i>S. Navrátil</i>	
3.1.1. Piscinoodinióza	135
3.2. Ciliophora	139
<i>V. Piačková</i>	
3.2.1. Ektokomensálové	139
3.2.2. Ichtyoftirióza	141
3.2.3. Chilodonelóza	146
3.2.4. Trichodinózy	148
3.3. Apicomplexa	154
<i>S. Navrátil, M. Palíková</i>	
3.3.1. Kokcidiózy	154
3.3.2. Krevní parazité	158
3.4. Oomyceta	160
<i>I. Papežíková</i>	
3.4.1. Saprolegnióza	160
3.4.2. Branchiomykóza	164
3.4.3. Epizootický vředový syndrom	166
3.5. Améboidní organismy	171
<i>I. Dyková</i>	
3.5.1. Nodulární onemocnění žaber lososovitých ryb	172
3.5.2. Viscerální granulomatózní amébózy	176
3.6. Metamonada	181
<i>I. Papežíková</i>	
3.6.1. Spironukleózy	181
3.7. Kinetoplastea	186
<i>I. Papežíková</i>	
3.7.1. Ichtyobodóza	186
3.7.2. Kryptobióza	189
3.7.3. Trypanosomóza a trypanoplasmóza	192
3.8. Microsporidia	197
<i>I. Dyková</i>	
3.8.1. Mikrosporidiózy spojené s tvorbou xenomů	199
3.8.2. Mikrosporidiózy spojené s difúzním postižením tkání ryb	201
3.9. Fungi	206
<i>V. Piačková</i>	
3.9.1. Fomóza plynového měchýře lososovitých	206
3.10. Ichthyosporea (Mesomycetozoa)	209
<i>I. Papežíková</i>	
3.10.1. Ichtyofonóza	209
3.10.2. Dermocystidóza	211

3.11. Metazoa	215
3.11.1. Myxozoa	216
<i>M. Palíková</i>	
3.11.1.1. Proliferativní onemocnění ledvin	218
3.11.1.2. Myxobolóza lososovitých	222
3.11.1.3. Další významné myxozoární infekce	225
3.11.2. Monogenea	233
<i>M. Gelnar, E. Řehulková, E. Zusková</i>	
3.11.3. Trematoda	260
<i>E. Zusková, T. Scholz</i>	
3.11.3.1. Oční motoličnatost	261
3.11.3.2. Sanguinikolóza	265
3.11.3.3. Postodiplostomóza	268
3.11.4. Cestoda	272
<i>T. Scholz, E. Zusková</i>	
3.11.4.1. Botriocéfaloza	273
3.11.4.2. Další střevní cestodózy	276
3.11.4.3. Méně významné rybí tasemnice	279
3.11.5. Nematoda	288
<i>E. Zusková, T. Scholz</i>	
3.11.5.1. Filometroidóza	288
3.11.5.2. Anguilikolóza	290
3.11.5.3. Méně významné rybí hlístice	294
3.11.6. Acanthocephala	302
<i>E. Zusková, T. Scholz</i>	
3.11.6.1. Neoechinorhynchóza	304
3.11.6.2. Pomforhynchóza	305
3.11.6.3. Méně významní vrtejši	308
3.11.7. Hirudinea	311
<i>E. Zusková, T. Scholz</i>	
3.11.8. Arthropoda	314
<i>M. Palíková, M. Gelnar, E. Řehulková</i>	
3.11.8.1. Ergasilóza	316
3.11.8.2. Lerneóza	319
3.12.7.3. Argulóza	322
3.11.8.4. Další významné arthropodózy	325
3.11.9. Mollusca	331
<i>R. Blažek, M. Gelnar</i>	
3.11.9.1. Glochidióza	331

ZOONÓZY*M. Palíková, T. Scholz***4****335**

- 4.1. Bakteriální nemoci ryb vyvolávající onemocnění člověka 337
4.2. Metazoární onemocnění ryb vyvolávající onemocnění člověka 339

NÁKAZY RYB POVINNÉ HLÁŠENÍM*M. Palíková***5****351****CHOROBNÉ STAVY NEINFEKČNÍHO PŮVODU***Z. Svobodová, S. Navrátil, V. Piačková, J. Mareš, H. Modrá***6****359**

- 6.1. Poruchy související se změnami základních fyzikálně-chemických parametrů vody 361
S. Navrátil, Z. Svobodová
- 6.1.1. Poškození ryb změnami teploty, teplotní šok 361
6.1.2. Poškození ryb vysokými nebo nízkými hodnotami pH 362
6.1.3. Poškození ryb nedostatkem kyslíku 363
6.1.4. Poškození ryb překysličenou vodou 365
6.1.5. Poškození ryb nadbytkem rozpuštěných plynů 366
6.1.6. Poškození ryb světlem 367
6.1.7. Poškození ryb amoniakem 367
6.1.8. Poškození ryb dusitany a dusičnany 371
6.1.9. Poškození ryb oxidem uhličitým 372
- 6.2. Poruchy vyvolané toxickým působením polutantů 376
Z. Svobodová
- 6.2.1. Poškození ryb chlórem 376
6.2.2. Poškození ryb kovy 377
6.2.3. Poškození ryb organickými polutanty 381
- 6.3. Poruchy alimentárního původu 390
V. Piačková, H. Modrá
- 6.3.1. Mykotoxikózy 390
H. Modrá
- 6.3.2. Ceroidní degenerace jater 394
V. Piačková
- 6.3.3. Dysbalance nutrientů, vitamínů a minerálů 395
V. Piačková
- 6.4. Stres u ryb 409
J. Mareš

7.1. Obecné zásady léčby u ryb	419
7.1.1. Léčba v chovech potravinových ryb	419
7.1.2. Léčba v zájmových chovech ryb	420
7.1.3. Možnosti léčby ryb v ČR	420
7.2. Aplikace léčiv u ryb	421
7.2.1. Léčebné koupele ryb	421
7.2.2. Perorální aplikace léčiv	422
7.2.3. Injekční aplikace léčiv	423
7.3. Přehled léčebných látek a přípravků používaných v chovech ryb	424
Rejstřík původců	448
Rejstřík dezinfekčních a terapeutických látek a přípravků	457
Seznam latinských a českých názvů ryb vyskytujících se v knize	458
Abstrakt	461
Abstract	462

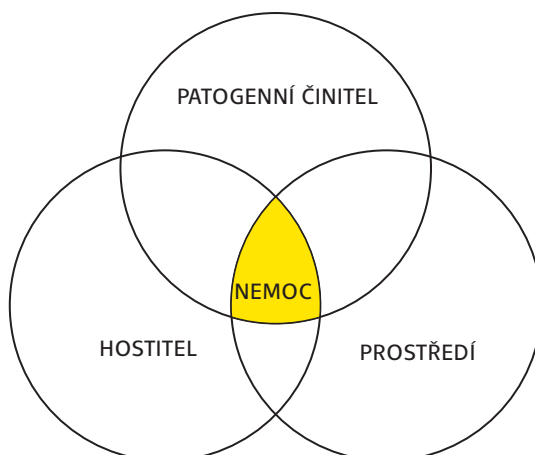
ÚVOD

Miroslava Palíková

Zdravotní problematika ryb, podobně jako jiných zvířat, je dynamický proces, který se neustále vyvíjí: objevují se nová onemocnění, vyvíjejí se diagnostické metody, terapeutická i preventivní opatření, upřesňují se informace o původcích nemocí. Tato kniha je koncipována především jako výukový materiál určený zejména pro vysokoškolské studenty a posluchače veterinárních a rybářských oborů. Jako zdroj informací ji lze využít i pro studenty středních odborných škol se zaměřením na rybářství a pro odbornou veřejnost věnující se chovu ryb. Kniha představuje ucelený přehled a komplexní charakteristiku nemocí a chorobných stavů u ryb vyskytujících se v našich chovech, ve volných vodách a v zájmových chovech sladkovodní akvaristiky včetně diagnostických postupů, preventivních a terapeutických možností. Jsou zde uvedena onemocnění a chorobné stavy ryb vyskytující se zejména v klimatických podmínkách střední Evropy. Navíc jsou zmíněna i některá onemocnění, která nebyla dosud v našich podmínkách diagnostikována nebo neohrožují závažným způsobem zdravotní stav ryb, ale vzhledem k rozrůstajícímu se obchodu a ke zvyšujícím se exportům a importům ryb je nutno počítat s jejich možným zavlečením a patogenním uplatněním i v našich podmínkách. Dávkování preventivních, dezinfekčních a terapeutických látek je uvedeno v samostatné kapitole 7.

Ke vzniku onemocnění a chorobných stavů ryb většinou nestačí pouhá fyzická přítomnost patogenního činitele v prostředí, ale jsou také zapotřebí podmínky vhodné pro jeho uplatnění. Ty jsou dány kombinací stavu rybiho organismu a kvality vodního prostředí. Životní prostředí, ve kterém se ryby nacházejí, zásadně ovlivňuje jejich zdravotní stav. Vliv prostředí a působení patogenů se může vzájemně doplňovat a potencovat. Navíc přítomnost ryb v prostředí, hustota jejich obsádky a produkty jejich metabolismu mohou ovlivňovat nejenom kvalitu samotného prostředí, ale i výskyt patogenů. Zdravotní stav ryb, kvalita prostředí a výskyt patogenů v prostředí je tedy vždy výsledkem vzájemné interakce tří výše zmíněných základních faktorů: ryb, prostředí a patogenu, viz níže uvedené schéma.

Schematické znázornění vzájemných vztahů mezi patogenem, jeho hostitelem a vnějším prostředím ilustrující komplexní působení podmiňujících faktorů onemocnění (1).



Moderní biologie je dynamický obor, který se neustále vyvíjí a mění. Jednou z takových změn je i pohled na systematiku eukaryotických organismů. Tradiční systém členění eukaryota podle způsobu výživy a organelové výbavy buněk do říší rostlin, hub a živočichů. Tento systém je v současnosti nahrazován novou klasifikací vycházející z ultrastrukturálních studií a z molekulárně-fylogenetických analýz. Nová klasifikace eukaryot je založená na vytvoření eukaryotického stromu, jehož základem je existence superskupin lišících se vzájemně fylogenetickou pozicí svých zástupců (2). Při psaní této knihy se autoři snažili používat tuto novou klasifikaci, ale protože se týká zejména jednobuněčných organismů (protista), v některých kapitolách (metazoární původci) se přidrželi starší taxonomie a jsou zde ponechány hlavní skupiny, jako třídy a nižší klasické taxony. Příklady zařazení některých původců chorob do superskupin jsou uvedeny v následující tabulce.

Zařazení některých eukaryotických původců chorob do superskupin (2)

Superskupina	Nižší taxonomické skupiny	Příklady původců onemocnění
SAR*	Alveolata (Dinoflagellata, Ciliophora, Apikomplexa) Stramenopila (Oomyceta)	<i>Piscinoodinium pilullare</i> <i>Trichodina</i> sp. <i>Epistylis</i> sp. <i>Chilodonella</i> sp. <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> <i>Goussia</i> sp., <i>Eimeria</i> sp. <i>Haemogregarina</i> sp. <i>Saprolegnia</i> sp. <i>Branchiomyces</i> sp.
ARCHAEPLASTIDA		
EXCAVATA	Discoba (Kinetoplastea) Metamonada Malawimonas (Heterolobosea)	<i>Ichthyobodo</i> sp. <i>Trypanoplasma</i> sp. <i>Trypanosoma</i> sp. <i>Cryptobia branchialis</i> <i>Spironucleus</i> sp. <i>Naegleria</i> sp.
AMOEBOZOA	Tubulinea	<i>Neoparamoeba perurans</i>
OPISTHOKONTA	Fungi Ichthyosporea Metazoa (Animalia)	<i>Phoma herbarum</i> <i>Glugea</i> sp. <i>Pseudoloma</i> sp. <i>Ichthyophonus</i> sp. <i>Dermocystidium</i> sp. Myxozoa Monogenea Nematoda Trematoda Acanthocephala Arthropoda Annelida

*Pozn. Označení SAR vzniklo spojením počátečních písmen nižších taxonomických skupin zahrnutých v této superskupině: Stramenopila, Alveolata a Rhizaria.

LITERATURA

1. Snieszko, S.F., 1974. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *Journal of Fish Biology* 6: 197–208.
2. Adl, S.M., Simpson, A.G.B., Lane, C.E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S.S., Brown, M.W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., le Gall, L., Lynn, D.H., McManus, H., Mitchell, E.A.D., Mozley-Stanridge, S.E., Parfrey, L.W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C.L., Smirnov, A., Spiegel, F.W., 2012. The Revised Classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 59: 429–514.

ZÁSADY ODBĚRU VZORKŮ U RYB

Ivana Papežiková, Miroslava Palíková

Pro správnou diagnostiku nemocí a chorobných stavů ryb je nutné, aby měl veterinární lékař k dispozici reprezentativní vzorek ryb na vyšetření. Z tohoto důvodu je zde uvedena stručná metodika odběru vzorků.

Při zjištění atypického chování nebo zvýšeného hynutí ryb je vždy potřeba kontaktovat veterinárního lékaře, který provede místní šetření – zjistí anamnézu a provede ohledání ryb a patologicko-anatomické vyšetření. Na základě posouzení anamnestických údajů, klinických příznaků a zjištěných patologicko-anatomických změn pak obvykle stanoví pouze suspektní diagnózu, protože klinické příznaky a patologicko-anatomické nálezy u nemocí ryb jsou jen málokdy patognomické (1). Do suspektní diagnózy je potřeba zahrnout všechny nemoci i chorobné stavy ryb připadající v úvahu v rámci diferenciativní diagnostiky. Na základě suspektní diagnózy pak veterinární lékař provede následná laboratorní vyšetření (např. mikroskopické vyšetření, kultivaci) nebo odběry vzorků, určených k vyšetření ve specializovaných laboratořích (obvykle Státních veterinárních ústavů – SVÚ). Na základě výsledků těchto vyšetření stanoví definitivní diagnózu a navrhne terapeutická opatření.

Pokud veterinární lékař nemá možnost provést místní šetření osobně, může chovatel po domluvě odebrat vzorky ryb a zaslat je k vyšetření spolu s podrobnými anamnestickými údaji. Odběry dalších vzorků pak provádí v laboratoři veterinární lékař.

V rámci anamnézy je potřeba uvést charakteristiku chovného zařízení (zejména typ a rozlohu zařízení, zdroj vody, chované druhy a věkové kategorie ryb), krmnou strategii, prováděnou manipulaci, přesuny a dovozy ryb. Jedním z nejdůležitějších anamnestických údajů je **aktuální teplota vody**. Dále se uvádějí údaje o zdravotním stavu ryb (který **druh a která věková kategorie** hyne, popis klinických příznaků a mortalita, dosud prováděné zásahy a jejich efekt).

Nejvhodnější je dopravit do laboratoře živé ryby pod kyslíkovou atmosférou. Není-li možný převoz živých ryb, ryby usmrtíme a dopravíme do laboratoře zchlazené. Usmrcené zchlazené ryby jsou vhodné pro většinu vyšetření za předpokladu, že jsou do laboratoře dopraveny během několika hodin. Nemáme-li k dispozici živé ryby, je možné pro některá vyšetření nouzově použít i ryby čerstvě uhynulé (viz dále)(1).

V případě podezření na vznik zdravotních problémů ryb související s použitím nevhodného/nekvalitního krmiva je nutné odebrat na vyšetření i vzorek krmiva. Vzorek krmiva je potřeba pečlivě označit podle dodávky krmiva (číslo šarže krmiva).

V případě podezření na úhyn ryb z důvodu jejich pobytu v nevhodném prostředí (havarijní úhyny ryb) se odebírají i další materiály (voda, sediment, bentos, nárosty). Podrobný popis postupu při vyšetřování havarijních úhynů ryb je uveden v metodice Fakulty rybářství a ochrany vod Jihočeské univerzity (FROV JCU)(2).

Odběr vzorků pro virologické vyšetření

Pro virologické vyšetření přednostně odebíráme živé ryby s viditelnými příznaky onemocnění v minimálním počtu 10 kusů (1). Podle prováděcího rozhodnutí Komise (EU) 2015/1554 se v případě předepsané kontroly zdraví zvířat odebírá minimálně 30 kusů ryb. U generačních ryb v době dozrání při výtěru lze odebrat ovariální tekutinu nebo semeno, taktéž od 30 kusů ryb.

Není-li možné dopravit do virologické laboratoře živé ryby, zasílají se usmrcené celé ryby, případně u velkých ryb vnitřní orgány (játra, ledviny, slezina, srdce, mozek, žábry) nebo jejich části. Výběr orgánů vhodných pro vyšetření konzultujeme s virologickou laboratoří. Při odběru orgánů a tkání je nezbytné, aby byla pro každý vzorek použita samostatná sada sterilních nástrojů. Nemáme-li k dispozici dostatek nástrojů, je možné nástroje před dalším použitím očistit, ponořit do etanolu a opálit nad plamenem. Vzorky orgánů a tkání ukládáme samostatně do sterilních zkumavek a uchováváme v chladu. Zchlazené vzorky by měly být zpracovány do 24 hodin po odběru. Pokud to není možné, lze vzorky zamrazit na -20 °C a méně. Tento postup však není vhodný u vzorků, u nichž se předpokládá přítomnost nízkých titrů viru (např. u klinicky zdravých ryb, u kterých potřebujeme ověřit, že nejsou přenašeči choroby)(1,3).

Některá virová onemocnění mohou svými projevy připomínat otravu, je tedy vhodné odebrat i vzorky vody pro hydrochemické a toxikologické vyšetření.

Odběr vzorků pro bakteriologické vyšetření

Pro bakteriologické vyšetření odebíráme živé ryby s viditelnými příznaky onemocnění. Uhynulé ryby nejsou vhodné, protože po úhynu dochází k rychlé kolonizaci tkání saprofytickou mikroflórou. Ideální je dopravit do mikrobiologické laboratoře živé ryby. Další možností je rychlý převoz čerstvě usmrcených ryb, které uchováváme na ledu. Třetí možností je provést kultivaci na místě a do laboratoře dopravit naočkované misky. Nedoporučuje se používat transportní média, protože o schopnosti bakteriálních patogenů ryb přežít v těchto médiích je zatím k dispozici málo informací (1). Naočkované misky zajistíme lepicí páskou, vložíme do uzavíratelného sáčku a převezeme do laboratoře.

Kultivaci provádíme z kůže (v případě výskytu kožních změn), ze žaber a z vnitřních orgánů. Kultivace z kůže a ze žaber se provádí po opatrném vnějším ohledání, ještě před zhotovováním seškrabů pro případné parazitologické vyšetření. Jsou-li na kůži a na žábách viditelné eroze, kultivujeme z nich. Nevhodné jsou léze viditelně kontaminované plísněmi. Poté otřeme povrch těla ryby 70% etanolem, otevřeme tělní dutinu pomocí sterilních nástrojů tak, abychom nepoškodili trávicí trakt, a provedeme kultivaci z vnitřních orgánů. Kultivace se obvykle provádí ze sleziny nebo z kraniální části ledvin. Ledviny jsou obzvláště vhodné, protože jsou překryty plynovým měchýřem a jsou uloženy v retroperitoneálním prostoru, kde jsou relativně izolovány od okolních orgánů (1). Z jiných orgánů provádíme kultivaci v případě, že jsou na nich viditelné léze (kultivujeme z okrajů i ze středu lézí). Pokud máme k dispozici jen uhynulé ryby a předpokládáme přítomnost septikémie, je vhodným orgánem pro kultivaci mozek, protože u něj dochází k postmortální kolonizaci oportunními mikroorganismy později než u ostatních orgánů (1). Z orgánu buď provedeme kultivaci přímo vpichem sterilní kličky, anebo orgán sterilně vyjmeme, zhomogenizujeme a kultivaci provedeme z homogenátu.

Mnoho bakteriálních patogenů ryb lze kultivovat na krevním agaru (1). Řada z nich (např. *Flavobacterium* spp.) však vyžaduje speciální kultivační média. Výběr vhodného média konzultujeme na základě suspektní diagnózy s mikrobiologickou laboratoří.

Většina bakteriálních patogenů ryb vytvoří viditelné kolonie do 48–72 hodin (4). Některé druhy bakterií (*Renibacterium salmoninarum*, *Mycobacterium* spp.) však rostou i několik týdnů (5). Při podezření na onemocnění způsobená těmito mikroorganismy je vhodné odebrat vzorky na analýzu pomocí PCR (viz dále) a zhotovit roztěry nebo otiskové preparáty orgánů pro rychlé mikroskopické vyšetření. Roztěry a otiskové preparáty fixujeme rychlým protažením sklíčka nad plamenem (4).

Odběr vzorků pro bakteriologické a virologické vyšetření ryb je rovněž uveden v metodikách FROV JU a Mendelovy univerzity v Brně (6,7).

Odběr vzorků pro parazitologické vyšetření

Pokud je to možné, odebíráme pro parazitologické vyšetření více kusů ryb, protože intenzita napadení se mezi jedinci liší (8). Pro objektivní stanovení prevalence a průměrné intenzity parazitárního onemocnění je proto vhodné odebrat 10–15 ks ryb. Odebíráme živé ryby, které přepravujeme pod kyslíkovou atmosférou bez výměny vody, neboť po přesunu do jiné vody může dojít k opadnutí některých ektoparazitů z těla hostitele. K opuštění hostitele dochází také po úhynu ryb (1), při použití anestetik (8) anebo při náhlé změně teploty vody. Máme-li k dispozici jen uhynulé ryby, skladujeme je na ledu a snažíme se o co nejrychlejší vyšetření.

Praktické návody k provádění vyšetřovacích a léčebných postupů u vybraných parazitárních onemocnění ryb jsou uvedeny v metodice FROV JU (9).

Odběr vzorků pro histopatologické vyšetření

Pro histopatologické vyšetření je nutné vždy odebírat tkáně od čerstvě usmrčených ryb. Uhynulé ryby nejsou vhodné, protože tkáně se po úhynu rychle rozkládají a počínající autolytické procesy mohou překrýt histologický nálezn (1,3). Vzorky tkání pro histopatologické vyšetření fixujeme v 10% pufrovaném formaldehydu. Objem formaldehydu by měl minimálně 10x přesahovat objem vzorku (1,3). Optimální velikost vzorku je do 1 cm³ (1). Velmi malé ryby (s průměrem břicha do 0,5 cm) můžeme usmrtit a zafixovat v celku pouze s nastřížením tělní dutiny.

Odběr vzorků na PCR

Při odběru je nejdůležitější zabránit vzájemné kontaminaci vzorků. Pro každý vzorek je třeba použít zvláštní sadu sterilních nástrojů. Vzorky ukládáme samostatně do zkumavek nebo do uzavíratelných sáčků. Jsme-li schopni vzorky okamžitě dopravit do laboratoře, můžeme je skladovat zchlazené na ledu. Pro pozdější použití vzorky zmrazujeme na teplotu -20 °C a nižší. Není-li v terénu možné zchlazení nebo zmražení vzorků, lze je zafixovat v čistém 90–95% etanolu (použití denaturovaného lihu může být problematické a nelze je doporučit) anebo v jiném činidle stabilizujícím nukleové kyseliny (např. *RNAlater*) (1,3).

Označování vzorků

Na každém vzorku musí být uvedeno datum odběru, chovatelské zařízení, ze kterého vzorek pochází, druh ryby a popis vzorku (o jaký orgán nebo tkáň se jedná). Pokud laboratoř vyžaduje vyplněnou objednávku vyšetření, musí se označení vzorků shodovat s údaji na objednávce.

LITERATURA

1. Handler, J., 2008. Fin Fish Sampling. National Aquatic Animal Health Technical Working Group – Advisory Document, 39 p.
2. Svobodová, Z., Máchová, J., Chloupek, P., Večerek, V., 2011. Metodický postup vyšetřování havarijních úhynů ryb. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, 28 s.
3. OIE manual: Diseases of Fish. 2018 © OIE – Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals –12/10/2018, chapter 2.3.0.

4. Weber, S.E.P, Govett, P., 2009. Parasitology and Necropsy of Fish. 2009. Compendium: Continuing Education of Veterinarians, pp. 1-7.
5. Austin, B., Austin, D., 2007. Bacterial Fish Pathogens. Diseases of Farmed and Wild Fish. Praxis Publishing Ltd, Chicester, UK, 552 p.
6. Piačková, V., Čížek, A., Veselý, T., Pokorová, D., 2014. Odběr vzorků pro bakteriologické a virologické vyšetření ryb. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 142, 26 s.
7. Čížek, A., Manga, I., Masaříková, M., 2014. Využití hmotnostní spektrometrie MALDI TOF a polymerázové řetězové reakce ke confirmaci suspektních kultur *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum* a *Yersinia ruckeri*. Metodika 07/2013, Mendelova univerzita v Brně, 28 s.
8. Callahan, H.A., Noga, E.J., 2002. Tricaine dramatically reduces the ability to diagnose protozoan ectoparasite (*Ichthyobodo necator*) infections. Journal of Fish Diseases 25: 433-437.
9. Kolářová, J., Zusková, E., Steinbach, Ch., Velíšek, J., 2017. Praktické návody k provádění vyšetřovacích a léčebných postupů u vybraných parazitárních onemocnění ryb. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 166, 53 s.

VIROVÁ ONEMOCNĚNÍ

Veronika Piačková, Ľubomír Pojezdal, Tomáš Veselý

VIROVÁ ONEMOCNĚNÍ

Veronika Piačková, Lubomír Pojezdal, Tomáš Veselý

Viry jsou velmi malá infekční agens, která se množí pouze uvnitř živé hostitelské buňky, k čemuž využívají její organely a zásobní látky. Velikost virionu (virové partikule) se pohybuje v rozmezí 18–300 nm. Tvary mohou být různé, od sférického až po tvar projektilu. Virový genom je tvořen buď deoxyribonukleovou kyselinou (DNA), nebo ribonukleovou kyselinou (RNA). Obě mohou být buď jedno-, nebo dvouvláknové.

Mimo buňku je **virová partikule** (neboli **virion**) tvořena nukleovou kyselinou obklopenou proteinovým obalem, zvaným **kapsida**. Ta je tvořena z jednotek zvaných **kapsomery**, které mohou být poskládány podle tří typů symetrií: ikosahedrální, helikální a komplexní. Některé viry mají ještě další obal složený z lipidů a glykoproteinů, který je částečně tvořen hostitelskou buňkou. V extracelulárním stavu je virus metabolicky inertní. Jakmile pronikne do hostitelské buňky, začne replikovat svůj genom a ostatní komponenty. Tomuto produktivnímu procesu říkáme **infekce**.

Pokud infekce zasáhne více hostitelských buněk, vyvolá to různé specifické a nespecifické reakce postiženého organismu. V závislosti na efektivnosti těchto reakcí může infekce vyústit v 1) klinicky zjevné onemocnění doprovázené klinickými a patologickými příznaky, nebo 2) bezpříznakovou (tichou) infekci, která může být prokázána pouze identifikací původce nebo následně detekcí specifických protilátek.

Východisko infekce může být různé:

- a) hostitel nevykazuje žádné klinické změny a eliminuje virus;
- b) nerozvinou se klinické příznaky, ale infekce přetrvává (vironosičství);
- c) rozvine se klinické onemocnění a hostitel uhynie;
- d) rozvine se klinické onemocnění, hostitel se uzdraví a virus eliminuje;
- e) hostitel se uzdraví z klinického onemocnění, ale infekce přetrvává bez klinických příznaků (vironosičství).

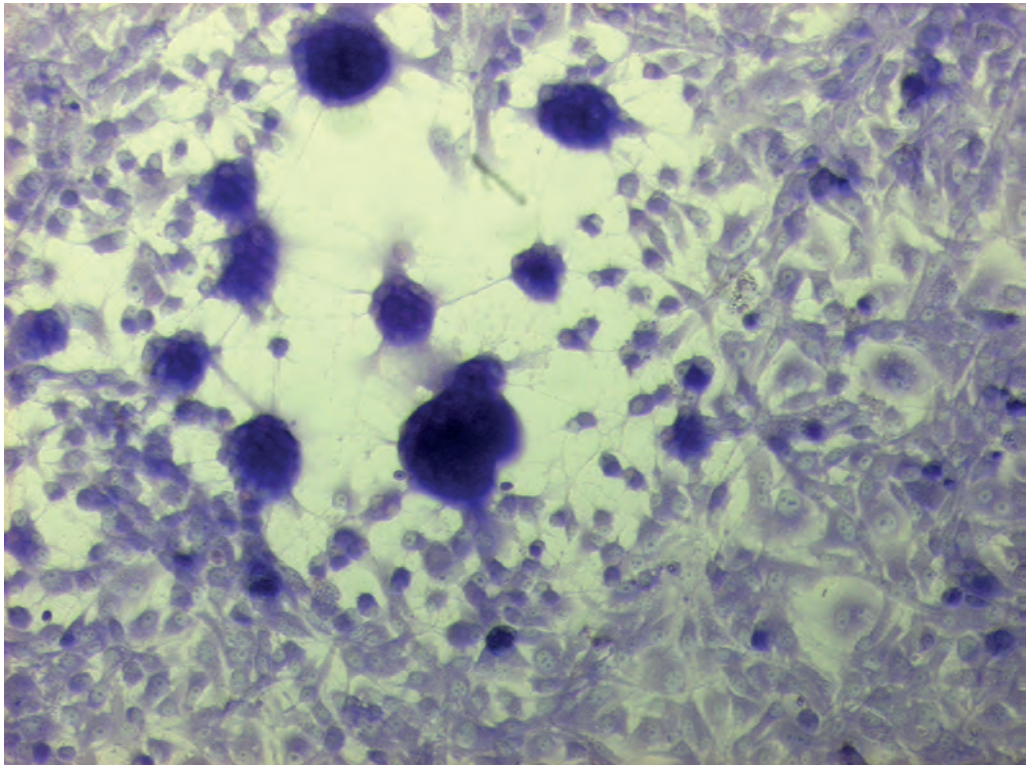
Při každé „úspěšné“ infekci, bez ohledu na její východisko, je virus po určitou dobu nebo někdy trvale vylučován do prostředí výkaly, močí a z povrchových epitelů (žábry, kůže).

Diagnostika virových nemocí je od svého počátku založena na kultivaci virů na tkáňových kulturách. Přítomnost viru je zde signalizována vznikem cytopatického efektu (CPE)(obr. 1.1). Pro kultivaci rybích virů byly vyvinuty speciální tkáňové kultury na bázi rybích tkání. Pozitivní výsledek kultivace musí být v každém případě potvrzen ještě další diagnostickou metodou. Tou může být např. ELISA (imunoenzymatická reakce), nebo v současné době nejvíce využívaná polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction – PCR) založená na detekci známého úseku virové nukleové kyseliny. K průkazu právě probíhající nebo dříve proběhlé infekce je možno, stejně jako u jiných živočichů, použít metody průkazu specifických protilátek.

Viry je možno v prostředí inaktivovat **dezinfekcí** fyzikálními nebo chemickými prostředky.

Při ochraně obsádek před virovými chorobami jsou velmi důležitá preventivní opatření zahrnující zabránění zavlečení infekce do chovu, karanténu nově dovezených ryb, vakcinaci, genetickou selekci na rezistenci, dodržování hygieny v chovu a zajištění welfare ryb.

Některé virové choroby ryb jsou zařazeny na seznam exotických a neexotických nákaz podléhajících hlášení (viz kapitola 5).



Obr. 1.1. Cytopatogenní efekt (tvorba plaků a přítomnost syncytií) způsobený přítomností viru CCVD na tkáňové kultuře CCO (zvětšení 100×, barvení dle Wrighta). (Foto L. Hansen)

DNA viry

Veronika Piačková

1.1. POXVIRIDAE

Poxviry patří mezi největší známé viry. Jejich široké hostitelské spektrum zahrnuje savce, ptáky, plazy, ryby a hmyz. Na rozdíl od většiny DNA virů se poxviry replikují v cytoplazmě a mají komplexní morfologii (1). Zatím se žádný rybí poxvirus nepodařilo izolovat na buněčné linii (2). Kromě edémové nemoci kaprů neboli spavé nemoci koi kaprů, která bude podrobněji popsána dále, jsou známy ještě další dvě choroby ryb způsobené poxviry, a sice poxviróvá nemoc žaber u lososa obecného, *Salmo salar* (Salmon gill poxvirus disease – SGPVD)(3) a proliferativní zánět žaber u aju východního, *Plecoglossus altivelis* (4). Všechny rybí poxviry mají afinitu k žábrám a ohrožují jejich funkci (2).

1.1.1. EDÉMOVÁ NEMOC KAPRŮ

Úvod. První zmínky o edémové nemoci kaprů (carp edema virus disease – **CEVD**) pocházejí z Japonska. V sedmdesátých letech 20. století zde bylo popsáno edematické onemocnění virového původu u juvenilních kaprů (5). Vzhledem k tomu, že hlavním klinickým projevem onemocnění u koi kaprů je letargie a ztráta reflexů, bývá používán i název „koi sleepy disease“ (KSD) – spavá nemoc koi kaprů (6).

Kromě Japonska, kde byla KSD diagnostikována poprvé, bylo toto onemocnění na konci 20. století zaznamenáno v USA (7). V Evropě byl virus poprvé detekován odborným pracovištěm CEFAS (Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science) ve Velké Británii v roce 2009 u koi kaprů importovaných z Izraele do Belgie (8). Během dalších let byly zaznamenány pozitivní záchyty kapřího edema viru (CEV) z případů onemocnění a úhynů kaprů a koi kaprů i v Brazílii (9), Indii (10) a Číně (11), následovaly další evropské země – Rakousko (12), Německo (13), Polsko (14) a Holandsko (15). V České republice byl první hromadný úhyn kaprů, u nichž byl pak zpětně diagnostikován CEV, zaznamenán v roce 2013. Od té doby bývá na našem území CEV detekován v jarních měsících v několika případech ročně. V roce 2017 byl virus detekován u nemocných ryb i v podzimních měsících. Ztráty úhynem ryb bývají různě vysoké v závislosti zejména na průběhu teplot vody v jarních měsících.

Původce. Za původce onemocnění je považován virus zařazený do čeledi Poxviridae. Údaje o velikosti a tvaru virionu, uváděné různými autory, se poněkud liší (250–400 nm, morušovitý vzhled, ovoidní virion nebo symetricky uspořádané kapsomery kolem ledvinovitého nukleoidu) (6,7,16). Ve všech případech se jedná o útvary identifikované elektronovou mikroskopií v preparátech z postižené žaberní tkáně. Definitivní podoba viru bude pravděpodobně popsána až po jeho úspěšné kultivaci na buněčných liniích.

Vnímavé druhy. Virus byl prozatím detekován pouze ve tkáních kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a jeho barevné variety koi.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem infekce jsou nakažené ryby, voda a pravděpodobně i rybolovné pomůcky. Šíření viru napříč chovy i zeměmi napomáhá obchod s okrasnými i potravinovými rybami. Zdrojem nákazy mohou být i výstavy okrasných ryb, pokud ryby nejsou vystavovány v samostatných nádržích a za přísných karanténních podmínek.

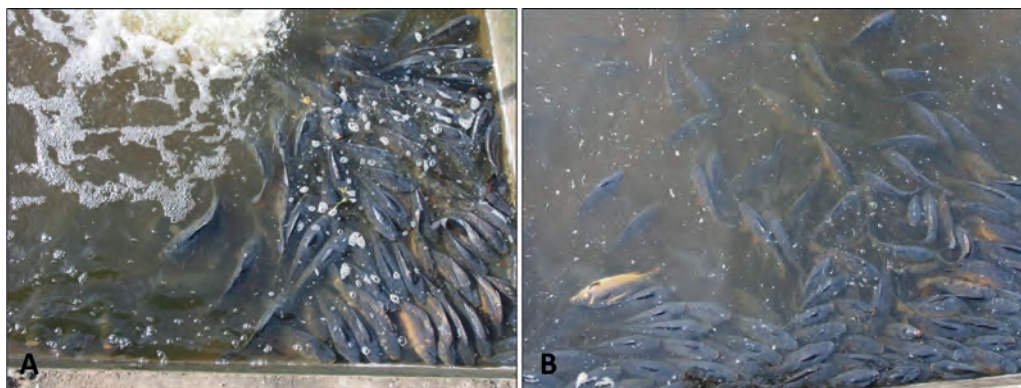
Vstup infekce do organismu zatím nebyl spolehlivě objasněn.

Podmiňující faktory. Na vznik a vývoj onemocnění má vliv především teplota vody. I zde je však pozorován rozdíl mezi kapry a koi kapry. U koi kaprů se příznaky spavé nemoci projevují nejčastěji při teplotách 15–25 °C, zatímco kapři obecní (zřídka i koi) mohou onemocnět i při teplotách výrazně nižších (6–10 °C). Proto se v našich podmínkách onemocnění vyskytuje zejména v jarním, případně podzimním období.

Průběh a vývoj onemocnění. U koi kaprů se onemocnění objevuje nejčastěji při teplotě vody 15–25 °C, přičemž u juvenilních koi může mortalita dosáhnout 75–100 %. Při vyšších teplotách hynou ryby během 2–3 dnů od objevení se prvních příznaků (6,7,10,13). U kaprů obecných a zřídka i u koi kaprů může onemocnění propuknout i při nižších teplotách (6–10 °C), průběh onemocnění je protražovanější a mortalita nižší (8,12). Při teplotě 10–12 °C se první klinické příznaky objeví po 4–10 dnech od kontaktu naivních ryb s infikovanými (9).

Ryby nakažené CEV často trpí sekundárními infekcemi (bakteriálními, virovými, parazitárními), což svědčí o oslabení imunitního systému. Tento jev je popisován i u jiných poxvirových infekcí ryb (17) a savců (18).

Klinické příznaky. Klinické příznaky, pozorované u kaprů obecných a u koi kaprů, se úplně neshodují. U koi kaprů jsou nejčastěji pozorovanými klinickými příznaky výrazná letargie a ztráta únikového reflexu. Nemocné ryby se malátně pohybují a padají ke dnu, kde leží na boku, jako by spaly. Při výrazné fyzické stimulaci se „probudí“, chvíli plavou zdánlivě normálně, ale posléze zase klesají ke dnu (6,9,12). U nemocných juvenilních koi kaprů bylo také pozorováno shromažďování u hladiny nebo u břehů (18). U kaprů obecných je rovněž popisována malátnost a ztráta reflexů, ale nejvýraznější jsou projevy dušení – nouzové dýchání u hladiny, shromažďování ryb u přítoku a u břehů (obr. 1.1.1.1).

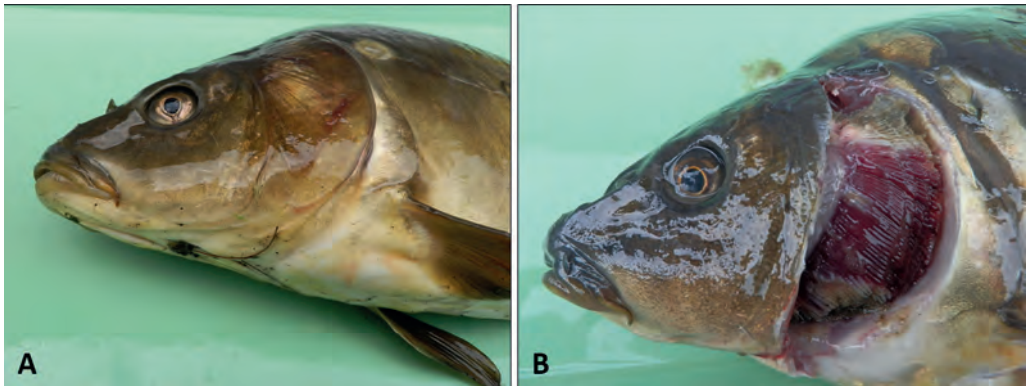


Obr. 1.1.1.1. Klinické příznaky typické pro CEVD u kaprů obecných: shromažďování u přítoku (A), ztráta únikového reflexu, nouzové dýchání u hladiny (B). (Foto: M. Palíková)

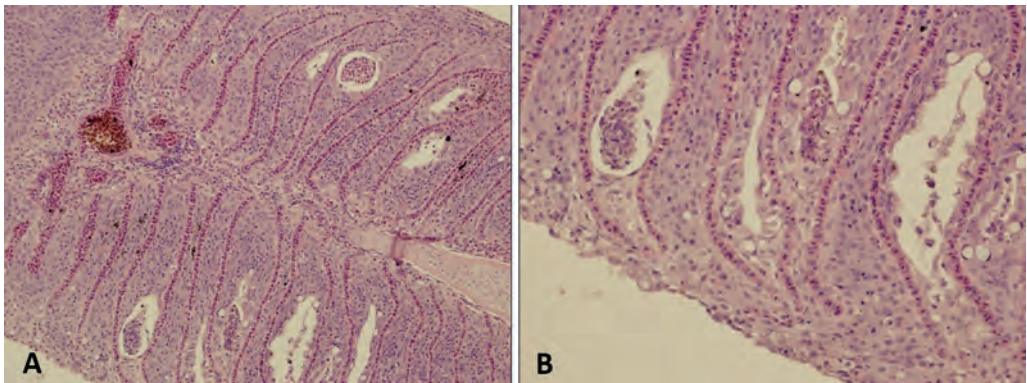
Patologické změny. Na kůži nemocných ryb, zejména juvenilních koi kaprů, jsou pozorovány ojedinělé eroze a hemoragie s edémem (6). Častá je také zvýšená produkce hlenu na kůži a na žábřích (19,20). U dospělých ryb je diagnostikována enoftalmie (obr. 1.1.1.2), ulcerózní změny kolem úst a při bázi ploutví, světlé zduřelé žábry a zánět kolem řitního otvoru (6,10,11,13,15). Nejvíce poškozena je při CEVD žaberní tkáň (obr. 1.1.1.2). Při histologickém vyšetření je patrná hyperplazie žaberních epiteliálních buněk vedoucí ke slepení žaberních tyčinek v apikální části a postupně až ke splývání sousedních lístků (6,16). Popisován je také

edém epiteliálních buněk (13), edematózní změny postihují také báze žaberních lístků (6,8) (obr. 1.1.1.3). Změny na žábřích nelze ovšem považovat za patognomické, protože jsou velmi podobné poškození, které vzniká v důsledku některých parazitárních nebo bakteriálních infekcí či koi herpesvirózy. Kromě žaberní tkáně bývají pozorovány také změny v jaterních buňkách (hepatocytech) a v tubulárních buňkách ledvin, kde bývá zjišťováno hyalinní zkapénkovatění (výskyt kapének hyalínu v cytoplasmě)(6).

Diagnóza. Pro potvrzení CEVD je potřeba prokázat původce ve tkáních vyšetřovaných ryb. Pokusy o kultivaci tohoto viru na běžně používaných rybích buněčných liniích zatím nebyly úspěšné (12,13), proto jedinou možností průkazu přítomnosti viru, respektive jeho DNA, je konvenční, nested (dvoukolová) nebo real-time PCR (8,18,21,22).



Obr. 1.1.1.2. Při onemocnění vyvolaném Carp Edema Virem (CEV) je patrný enoftalmus (A), nejvíce jsou postiženy žábry, většinou je patrné zvýšené zahlenění až těžké nekrotické změny se sekundárním zaplísněním (B). (Foto: V. Piačková)



Obr. 1.1.1.3. Při histologickém vyšetření žaber je patrná hyperplazie žaberního epitelu, splnutí žaberních lístků a přítomnost dutinek s buněčným detritem. (Foto: F. Tichý)

V současné době je známo několik sad primerů, které lze pro identifikaci CEV DNA použít. Bylo zjištěno, že existuje několik geneticky mírně odlišných typů viru, a proto je důležité použít správnou sadu primerů, která odpovídá danému genotypu. V případech onemocnění a hynutí

koi kaprů bývá identifikován jiný typ viru než u kaprů obecných (22). Jako nejvhodnější pro identifikaci CEV DNA se jeví žaberní tkáň (18).

V žaberní tkáni nemocných ryb je možno virus identifikovat také pomocí transmisní elektronové mikroskopie (TEM), která zobrazí množství zralých virionů v cytoplazmě postižených buněk. Hodně však záleží na správném načasování odběru vzorků a většinou je zapotřebí několika opakovaných odběrů, aby byl výsledek TEM pozitivní (6,23).

Terapie. Cílená léčba kapří edemové nemoci se neprovádí. V indikovaných případech je možno aplikovat podpůrnou aplikaci antibiotik pro tlumení sekundárních bakteriálních infekcí.

Prevence. V rámci prevence CEV by měly být uplatňovány podobné přístupy jako u koi herpesvirózy (KHV), to znamená nákup ryb z důvěryhodných zdrojů, karanténa nově přivezených ryb (minimálně 30 dnů při 10–15 °C), dezinfekce nádrží a rybolovného nářadí, nepřehušťování obsádek a udržování ryb v dobré kondici (23). Dá se předpokládat, a první výsledky výzkumných studií to potvrzují, že plemena rezistentnější vůči KHV budou vykazovat vyšší odolnost i vůči CEV (18). Vývoj vakcíny je zatím ve stádiu pokusných studií. Chovatelé koi kaprů v Japonsku jako prevenci propuknutí onemocnění CEV v důsledku stresu (transport, zhoršená kvalita vody) používají dlouhodobou koupel ryb v 0,5% roztoku kuchyňské soli (24).

LITERATURA

1. Moss, B., 2007. Poxviridae: the Viruses and their Replication. In: Knipe, D.M., Howley, P.M., Griffin, D.E., Lamb, R.A., Martin, M.A., Roizman, B., Straus, S.E. (Eds). Fields Virology, fifth edn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, pp. 2905–2947.
2. Gjessing, M.C., Weli, S.C., Dale, O.B., 2016. Poxviruses of Fish. In: Kibenge, F.S.B. and Godoy, M.G. (Eds). Aquaculture Virology; Elsevier Academic Press, London, UK, pp. 119–122.
3. Gjessing, M.C., Thoen, E., Tengs, T., Skotheim, S.A., Dale, O.B., 2017. Salmon gill poxvirus, a recently characterized infectious agent of multifactorial gill disease in freshwater and seawater reared Atlantic salmon. *Journal of Fish Diseases* 40: 1253–1265.
4. Wada, S., Atami, H., Kurata, O., Hatai, K., Kasuya, K., Watanabe, Y., 2008. Proliferative branchitis associated with pathognomonic, atypical gill epithelial cells in cultured ayu *Plecoglossus altivelis*. *Fish Pathology* 43: 89–91.
5. Murakami, Y., Shitanaka, M., Toshida, S., Matsuzato, T., 1976. Studies on mass mortality of juvenile carp: about mass mortality showing edema. *Bulletin of Hiroshima Fresh Water Fish Experimental Station*, pp. 19–33 (v japonštině).
6. Miyazaki, T., Isshiki, T., Katsuyuki, H., 2005. Histopathological and electron microscopy studies on sleepy disease of koi *Cyprinus carpio koi* in Japan. *Diseases of Aquatic Organisms* 65: 197–207.
7. Hedrick, R.P., Antonio, D.B., Munn R.J., 1997. Poxvirus like agent associated with epizootic mortality in juvenile koi (*Cyprinus carpio*). *FHS Newsletter* 25: 1–2.
8. Way, K., Stone, D., 2013. Emergence of carp edema virus-like (CEV-like) disease in the UK. *Finfish News* 15: 32–34.
9. Hesami, S., Viadanna, P., Steckler, N., Spears, S., Thompson, P., Kelley, K., Yanong, R., Francis-Floyd, R., Shelley, J., Groff, J., Goodwin, A., Haenen, O., Waltzek, T., 2015. Carp Edema Virus Disease (CEVD)/Koi Sleepy Disease (KSD). University of Florida EDIS Publication FA189 <http://edis.ifas.ufl.edu/FA189>.

10. Swaminathan, T.R., Kumar, R., Dharmaratnam, A., Basheer, V.S., Sood, N., Pradhan, P.K., Sanil, N.K., Vijayagopal, P., Jena, J.K., 2016. Emergence of carp edema virus (CEV) in cultured ornamental koi carp, *Cyprinus carpio koi* in India. *Journal of General Virology* 97: 3392–3399.
11. Zhang, X., Ni, Y., Ye, J., Xu, H., Hou, Y., Luo, W., Shen, W., 2017. Carp edema virus, an emerging threat to the carp (*Cyprinus carpio*) industry in China. *Aquaculture* 474: 34–39.
12. Lewisch, E., Gorgoglione, B., Way, K., El-Matbouli, M., 2015. Carp edema virus/Koi sleepy disease: An emerging disease in Central-East Europe. *Transboundary and Emerging Diseases* 62: 6–12.
13. Jung-Schroers, V., Adamek, M., Teitge, F., Hellmann, J.O., Bergmann, S.M., Schütze, H., Kleingeld, D.W., Way, K., Stone, D., Runge, M., Keller, B., Hesami, S., Waltzek, T., Steinhagen, D., 2015. Another potential carp killer? - Carp Edema Virus disease in Germany. *BMC Veterinary Research* 11: 114.
14. Matras, M., Borzym, E., Stone, D., Way, K., Stachnik, M., Maj-Paluch, J., Palusińska, M., Reichert, M., 2016. Emergence of the carp edema virus (CEV) in Polish aquaculture - phylogenetic analysis of the first cases. *Journal of Fish Diseases* 40: 319–325.
15. Haenen, O., Way, K., Gorgoglione, B., Ito, T., Paley, R., Bigarre, L., Waltzek, T., 2016. Novel viral infections threatening Cyprinid fish. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* 36: 11–23.
16. Ono, S., Nagai, A., Sugai, N., 1986. A histopathological study on juvenile colorcarp, *Cyprinus carpio*, showing edema. *Fish Pathology* 21: 167–175.
17. Strayer, D.S., 2012. Poxviruses. In: Specter, S., Bendinelli, M., Friedman, H. (Eds). *Virus-Induced Immunosuppression*, Chapter 9, Plenum Press, N.Y. p. 173–192.
18. Adamek, M., Oschilewski, A., Wohlsein, P., Jung-Schroers, V., Teitge, F., Dawson, A., Gela, D., Piačková, V., Kocour, M., Adamek, J., Bergmann, S. M., Steinhagen, D., 2017a. Experimental infections of different carp strains with the carp edema virus (CEV) give insights into the infection biology of the virus and indicate possible solutions to problems caused by koi sleepy disease (KSD) in carp aquaculture. *Veterinary Research* 48: 12.
19. Oyamatsu, T., Hata, N., Yamada, K., Sano, T., Fukuda, H., 1997a. An etiological study on mass mortality of cultured color carp juveniles showing edemas. *Fish Pathology* 32: 81–88.
20. Pretto, T., Abbadì, M., Panzarin, V., Quartesan, R., Manfrin, A., Toffan, A., 2015. Carp edema virus (CEV): first detection in Italy. *Book of abstracts EAAP 17th International Conference on disease of fish and shellfish, Las Palmas de Gran Canaria 7–11 September 2015. Poster P-119. European Association of Fish Pathologists*, p. 343.
21. Oyamatsu, T., Matoyama, H., Yamamoto, K., Fukuda, H., 1997b. A trial for the detection of carp edema virus by using polymerase chain reaction. *Suisan Zoshoku* 45: 247–252.
22. Adamek, M., Matras, M., Jung-Schroers, V., Teitge, F., Heling, M., Bergmann, S.M., Reichert, M., Way, K., Stone, D.M., Steinhagen, D., 2017b. Comparison of PCR methods for the detection of genetic variants of carp edema virus. *Diseases of Aquatic Organisms* 126: 75–81.
23. Way, K., Haenen, O., Stone, D., Adamek, M., Bergmann, S.M., Bigarré, L., Diserens, N., El-Matbouli, M., Gjessing, M.C., Jung-Schroers, V., Leguay, E., Matras, M., Olesen, N. J., Panzarin, V., Piačková, V., Toffan, A., Vendramin, N., Veselý, T., Waltzek, T., 2017. Emergence of carp edema virus (CEV) and its significance to European common carp and koi *Cyprinus carpio*. *Diseases of Aquatic Organisms* 126: 155–166.
24. Seno, R., Hata, N., Oyamatsu, T., Fukuda, H., 2003. Curative effect of 0.5% salt water treatment on carp, *Cyprinus carpio*, infected with Carp Edema Virus results mainly from reviving the physiological condition of the host. *Fish Pathology* 51: 2.

1.2. IRIDOVIRIDAE

Viry z čeledi Iridoviridae jsou velké viry s dvouvláknovou DNA, jejichž hostiteli jsou pouze poikiloternní obratlovci a hmyz (1). Mnoho iridovirů způsobuje onemocnění ryb doprovázená mortalitou, s významným dopadem na produkci a welfare ryb chovaných v akvakultuře. Podčeleď Alphairidovirinae zahrnuje tři rody, kam jsou zařazeny patogeny ryb a nižších obratlovců. Rod **Ranavirus** zahrnuje kromě virů patogenních pro obojživelníky a plazy také tři druhy patogenní pro ryby: Virus epizootické hematopoetické nekrózy (*Epizootic haematopoietic necrosis virus* – EHNV) endemický v Austrálii, virus patogenní pro sumce velkého (*European catfish virus* – ECV) endemický v kontinentální Evropě, *Santee-Cooper ranavirus* zahrnující izoláty z druhů ryb v Severní Americe a Asii, a nakonec *Singapore grouper iridovirus* z mořských ryb. Viry z rodu **Megalocytivirus** napadají mořské i sladkovodní ryby v Asii. Rod **Lymphocystivirus** zahrnuje dosud tři zařazené druhy (Lymphocystis disease virus 1, 2 a 3), způsobující výrazné povrchové léze, charakteristické pro lymfocystózu. Některé viry z čeledi Iridoviridae dosud nebyly zařazeny do rodů, přestože způsobují závažné choroby, jako např. erytrocytární nekrózu (*Erythrocytic necrosis virus* – ENV) nebo iridovirové onemocnění jesetera bílého (*Acipenser transmontanus*) – *White sturgeon iridovirus* – WSIV (2). Je pravděpodobné, že iridoviry mohou způsobovat onemocnění i u jiných druhů ryb, např. u kaprů (3), úhořů (4), cichlid (5) atd.

1.2.1. LYMFOCYSTÓZA RYB

Úvod. Lymfocystóza (lymphocystosis piscium, lymphocystis virus disease – **LCVD**; lymphocystis disease – **LD**) je onemocnění charakterizované nodulárními kožními lézemi. V devatenáctém století bylo jednou z prvních popsaných virových nemocí ryb (6). Virová etiologie byla pomocí elektronové mikroskopie a kultivace původce na buněčné linii potvrzena téměř o sto let později (7,8).

Původce. Patogenním činitelem je v případě lymfocystózy DNA virus zařazený do čeledi Iridoviridae, označovaný *Lymphocystis disease virus* – LCDV (9). Jsou rozlišovány 3 typy – LCDV-1, LCDV-2 a LCDV-C (*Lymphocystis disease virus China*)(1). Velikost virové partikule může být v závislosti na hostitelském druhu ryby rozdílná a kolísá mezi 200 až 230 nm (10). Virus vykazuje afinitu k fibroblastům a vyvolává lokální změny v kůži, nikoliv systemickou infekci. Je obtížně kultivovatelný na buněčných liniích (11).

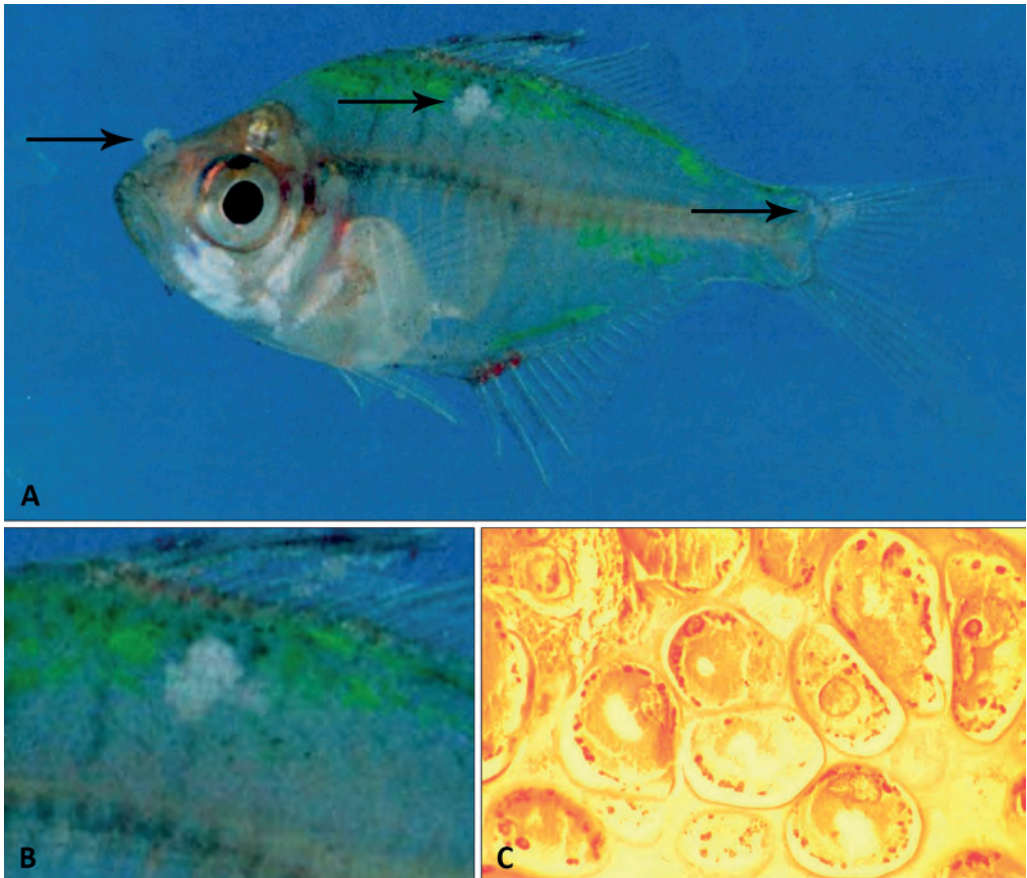
Vnímavé druhy. Lymfocystózou může onemocnět velmi široká škála druhů ryb. Mezi vnímavé patří druhy sladkovodní, brakické i mořské. V 80. letech bylo známo 141 vnímavých druhů ryb (12) a je velmi pravděpodobné, že od té doby tento počet ještě vzrostl. Často je toto onemocnění diagnostikováno u tropických akvariálních ryb (13,14,15). LCDV představuje hlavní virový patogen v chovech mořského cejna (*Sparus auratus*)(16), v japonských a korejských chovech japonského halibuta (*Paralichthys olivaceus*) a japonského mořčáka (*Lateolabrax japonicus*) (17).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Virus se šíří horizontálně a k nakažení hostitele dochází přes žábry nebo poškozenou kůži (11,18). Subklinicky nakažené generační ryby mohou vertikálně infikovat potomstvo virem přítomným na povrchu ovulovaných jiker (19). Mnoho ryb může být latentně infikovaných a onemocnění se u nich projeví v souvislosti se stresem (např. po transportu)(20). Délka inkubační doby je závislá na teplotě vody – čím vyšší teplota, tím kratší inkubační doba.

Podmiňující faktory. Vznik lymfocystózy je podporován znečištěním vody, nedostatkem kyslíku, přehuštěním obsádek a nutričním stresem (16). U akvariálních ryb bývá propuknutí choroby vyvoláno stresem při transportu.

Průběh a vývoj onemocnění. Lymfocystóza má obvykle chronický průběh. Rychlost nástupu a přetrvávání kožních lézí závisí na hostiteli, virulenci původce a teplotě vody. Například u slunečnic (*Lepomis sp.*) se ve 25 °C léze na kůži objevily a zase zmizely během deseti dnů, zatímco ve 12 °C to trvalo 6 týdnů (18). Virus může být na kůži, ocasní ploutvi a oku detekován ještě 4 týdny po vymizení příznaků (16).

Klinické příznaky. Jsou nevýrazné.



Obr. 1.2.1.1. Makroskopické změny (multinodulární tumory) patrné na kůži u okouníčka sklovitého (*Pseudambassis ranga*) (A); detail útvaru (B); histologický nálezný pro lymfocystózu: hypertrofované fibroblasty, v cytoplasmě na periferii buněk jsou patrná mnohočetná retikulární bazofilní tělíska (C) (barvení H&E). (Foto: M. Palíková)

Patologické změny. U postižených ryb se objevují na kůži multinodulární tumory, tzv. lymfocysty (obr. 1.2.1.1). Ojedinele se podobné útvary mohou vyskytnout i na povrchu vnitřních orgánů (21). Každý uzlík je tvořen jedním mimořádně zvětšeným kožním fibroblastem,

který je pouhým okem viditelný. Cytoplazma takto postižených buněk obsahuje mnohočetná retikulární bazofilní tělíčka (22). Jádro a jadérko jsou také hypertrofovaná (23). V raném stádiu onemocnění vypadají ryby jako posypané solí. U některých druhů ryb se nodulární změny netvoří a postižené fibroblasty jsou překryty melanocyty ve formě pigmentovaných lézí (22).

Diagnóza. Lymfocystózu je možno diagnostikovat na základě nálezů typických kožních změn. Makroskopický nález lze potvrdit histologickým vyšetřením (hypertrofie fibroblastů – obr. 1.2.1.1) nebo molekulárně biologickými metodami, jako konvenční PCR (24), real-time PCR (25) nebo metodou Loop Mediated Isothermal Amplification – LAMP (26).

Terapie. Neprovádí se. Léze většinou samovolně vymizí.

Prevence. K ochraně před zavlečením lymfocystózy slouží obvyklá preventivní opatření. Ve farmových chovech je nejdůležitější izolace nebo ještě lépe úplné odstranění postižených jedinců, aby se zabránilo šíření viru. Produkční ztráty způsobené chorobou mohou být redukovány naředěním obsádek. Vertikálnímu přenosu viru lze zabránit dezinfekcí jiker jódovými preparáty (viz kapitola 7.3.20). K profylaxi byla vyvinuta rekombinantní plazmidová DNA vakcína k injekční aplikaci. Zatím nebyla klinicky otestována, ale v experimentálních podmínkách indukovala specifickou imunitu po dobu minimálně 90 dní od aplikace (27). Kromě této byla vyvinuta i perorální vakcína (28).

1.2.2. EPIZOOTICKÁ NEKRÓZA KRVETVORNÉ TKÁNĚ

Úvod. Epizootická hematopoetická nekróza (epizootic haematopoietic necrosis – EHN) je systémové iridovirové onemocnění ryb postihující okouna říčního (*Perca fluviatilis*) a pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Poprvé byla diagnostikována u divoce žijící populace okouna říčního v Austrálii (29). Okoun je vůči EHN více vnímavý, mortalita může dosahovat až 95 %, zatímco pstruh duhový onemocní méně často a kumulativní mortalita bývá obvykle nízká (3–4 %)(30,31). Virus EHN zatím nebyl v Evropě izolován, onemocnění je endemické pouze v Austrálii, ale vzhledem k jeho vysoké virulenci bylo zařazeno na seznam nákaz Světové organizace pro zdraví zvířat (World Organisation for Animal Health – OIE). Také v České republice je toto onemocnění uvedeno na seznamu nákaz povinných hlášením, který je součástí zákona č. 166/1999 Sb. Podle vyhlášky č. 290/2008 Sb. o veterinárních požadavcích na živočichy pocházející z akvakultury a na produkty akvakultury, o opatřeních pro předcházení a zdolávání některých nákaz vodních živočichů je EHN klasifikována jako exotická nákaza.

Původce. Původce epizootické nekrózy krvetvorné tkáně, označovaný zkratkou EHNV (*Epizootic hematopoietic necrosis virus*), je DNA virus patřící do čeledi Iridoviridae, rodu *Ranavirus*. Virion o velikosti cca 150 nm má ikosahedrální symetrii, genom je tvořen dvouvláknovou DNA a obsahuje 127 kbp. Virus je velmi odolný k vysušení a ve vodě může přežívat několik měsíců. Ve zmrazených rybích tkáních může perzistovat více než 2 roky (32), ve zmrazených jatečně opracovaných rybách minimálně 1 rok (33). Je pravděpodobné, že na farmách může přežívat ve vodě, sedimentu, na rostlinách a rybochovném zařízení měsíce až roky. Virus je citlivý vůči působení 70% etanolu, roztoku chloridu sodného v koncentraci 200 mg.l⁻¹ a k zahřátí na 60 °C po dobu 15 minut (32).

Vnímavé druhy. V přírodních podmínkách je vnímavý pouze okoun říční a pstruh duhový ve všech věkových kategoriích (34,29,30). Experimentálně se podařilo nakazit i další druhy ryb (*Macquaria australasica*, *Bidyanus bidyanus*, *Gambusia affinis*, *Galaxias olidus*, štika obecná [*Esox lucius*], sumeček černý [*Ameiurus melas*] a candát obecný [*Sander lucioperca*]) (32,35,36). Kapr obecný (*Cyprinus carpio*) a karas zlatý (*Carassius auratus*) jsou vůči viru rezistentní (37).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Virus je endemický v jihovýchodní Austrálii s nepravidelnou distribucí, neboť i uvnitř tohoto území některé farmy zůstávají EHNV prosté (38).

Horizontální přenos infekce mezi vnímavými jedinci v rámci populace je zprostředkován vodou nebo požíváním infikovaných ryb. Šíření infekce mezi populacemi může probíhat několika způsoby, tím nejobvyklejším jsou pravděpodobně přesuny infikovaného plůdku. Další cestou šíření je migrace volně žijících okounů říčních (*Perca fluviatilis*) a okounů zlatých (*Macquaria ambigua ambigua*), kteří mohou být vironosiči. Vzhledem k vysoké odolnosti viru nelze podcenit ani možnost jeho přenosu rybářským náčiním, loděmi, a také rybožravými ptáky (33). Vertikální přenos nebyl potvrzen.

Podmiňující faktory. Na pstružích farmách napomáhá vzniku onemocnění vyšší hustota rybí obsádky, nedostatečný přísun kvalitní vody, znečištění vody krmivem nebo oslabení ryb jinými nemocemi (bakteriální, eukaryotické). K onemocnění ryb nejčastěji dochází v rozmezí teplot 11–20 °C (31,39).

Divoce žijící okouni onemocní nejčastěji během léta (29,34). Je pravděpodobné, že choroba je vázána na každoroční přísun neimunních mladých ryb, které jsou vystaveny viru během svého pobytu v mělkých vodách. Dospělé ryby většinou během těchto vzplanutí ne onemocní. Jako spouštěč se zřejmě uplatňuje i vyšší teplota vody na mělčinách, kde mladé ryby vyhledávají plankton, zatímco starší ryby konzumují bentos a větší plankton v hlubších a chladnějších vodách (40).

Průběh a vývoj onemocnění. Inkubační doba je u okounů i u pstruhů ovlivněna teplotou. Při teplotách kolem 20 °C se první příznaky objevují zhruba po 10 dnech, při nižších teplotách se inkubační doba prodlužuje. Při teplotách nižších než 10 °C se onemocnění neobjevuje (41). EHNV, podobně jako jiné ranaviry, má afinitu k vnitřní výstelce cév. Během inkubační doby se šíří do mnoha orgánů a tkání.

Klinické příznaky. Klinické příznaky jsou nespecifické. U nemocných ryb může být pozorována ztráta rovnováhy, rozevřená skřelová víčka, nechutenství, ztmavnutí povrchu těla a náhlé hynutí (30,31,34,41).

Patologické změny. U nemocných ryb bývá pozorováno zvětšení dutiny tělní, překrvení lebečního krytu a okolí nozder. Slezina a ledviny jsou edematózně zduřelé, v játrech mohou být patrná světlá miliární nekrotická ložiska, u základěn ploutví petechie. U infikovaných pstruhů duhových byla popsána také ulcerózní dermatitida, edém a nekróza plynového měchýře (41). Histologické změny jsou charakterizovány multifokálními nekrotizacemi jater, sleziny a krvetvorné tkáně ledvin (30,31,34,41).

Mikroskopicky mohou být v hepatocytech na okrajích nekrotických ložisek detekovány bazofilní intracytoplazmatické inkluze. Podobné inkluze mohou být zastiženy v intersticiálních buňkách ledvin a sleziny. Dále mohou být zaznamenány hyperplazie a multifokální nekróza epiteliálních buněk žaber a nekróza epiteliálních buněk trávicího traktu (38).

Diagnóza. Diagnóza se stanoví na základě klinického a patologicko-anatomického vyšetření, epizootologického průzkumu a laboratorního vyšetření, které je pro potvrzení diagnózy rozhodující. Diagnóza spočívá v kultivaci viru na tkáňových kulturách (BF-2 – buněčná linie z plůdku slunečnice velkoploutvé (*Lepomis macrochirus*) – bluefin fry; FHM – buněčná linie z jelečka velkohlavého (*Pimephales promelas*) – fathead minnow; EPC – epitelioma papulosum cyprini; CHSE – buněčná linie z embryí lososa čavyča (*Oncorhynchus tshawytscha*) – chinook salmon embryo) při teplotách 15–22 °C (42,43), a v průkazu přítomnosti viru pomocí elektronové mikroskopie, ELISA (44), imunoperoxidázové reakce a PCR (45,46).

Všechny diagnostické metody jsou podrobně rozpracovány v manuálu diagnostických testů pro vodní živočichy (Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals 2017; <http://www.oie.int>). Vzhledem k tomu, že v současnosti z hlediska legislativy jde o exotickou nákazu, kdy je povinná likvidace infikovaného chovu, je nutné bezpečné určení EHNV a jeho odlišení od ostatních vysoce příbuzných ranavirů pomocí sekvenace viru.

Terapie. Není propracována.

Prevence. Prevence vzniku a šíření EHN na farmách spočívá v zabránění zavlečení původce do chovu a v důsledném dodržování zoohygieny (kvalita vody, nízká hustota obsádek, dezinfekce). Ozdravení prostředí od infekce těmito viry je vzhledem k jejich dlouhému přežívání v prostředí a rezistenci k dezinfekčním prostředkům velmi problematické.

LITERATURA

- Williams, T., Barbosa-Solomieu, V., Chinchar, V.G., 2005. A Decade of Advances in Iridovirus Research. In: Maramorosch, K., Shatkin, A.J. (Eds). *Advances in Virus Research*, vol. 65, Elsevier Academic Press Inc, San Diego, CA, 173 p.
- Hick, P., Becker, J., Whittington, R., 2016. Iridoviruses of Fish. In: Kibenge, F.S.B. and Godoy, M.G. (Eds). *Aquaculture Virology*; Elsevier Academic Press, London, UK, pp. 127–152.
- Shchelkunov, I.S., Shchelkunov, T.I., 1990. Infectivity experiments with *Cyprinus carpio* iridovirus (CCIV), a virus unassociated with carp gill necrosis. *Journal of Fish Diseases* 13: 475–484.
- Sorimachi, M., 1984. Pathogenicity of ICD virus isolated from Japanese eel. *Bulletin National Research Institute of Aquaculture* 6: 71–75.
- Armstrong, R.D., Ferguson, H.W., 1989. Systemic viral disease of the orange chromide cichlid *Etroplus maculatus*. *Diseases of Aquatic Organisms* 7: 155–157.
- Lowe, J., 1874. Fauna and Flora of Norfolk, part 4: Fishes. *Transactions of the Norfolk and Norwich Naturalists' Society* 21: 56.
- Walker, R., 1962. Fine structure of lymphocystis virus in fish. *Virology* 18: 503–508.
- Wolf, K., Gravel, M., Malsberger, R.G., 1966. Lymphocystis virus: isolation in a centrarchid cell line. *Science* 151: 1004–1005.
- Ahne, W., 1994. Viral infections of aquatic animals with special reference to Asian aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases* 4: 375–426.
- Jancovich, J.K., Chinchar, V.G., Hyatt, A., Miyazaki, T., Williams, T., Zhang, Q.Y., 2012. Family Iridoviridae. In: King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., Lefkowitz, E.J. (Eds.), *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, Elsevier Academic Press, San Diego, CA, pp. 193–210.
- Esbauer, S., Ahne, W., 2001. Viruses of lower vertebrates. *Journal of Veterinary Medicine B* 48, 403–475.
- Anders, K., 1989. Lymphocystis Disease of Fishes. In: Ahne, W., Kurstak, E. (Eds). *Viruses of Lower Vertebrates*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 141–159.
- Hossain, M., Song, J.Y., Kitamura, S.I., Jung, S.J., Oh, M.J., 2008. Phylogenetic analysis of lymphocystis disease virus from tropical ornamental fish species based on major capsid protein gene. *Journal of Fish Disease* 31: 473–479.
- Weber III, E.P.S., 2013. Itchy fish and viral dermatopathies sampling, diagnosis and management of common viral diseases. *Veterinary Clinics of North America–Exotic Animal Practice* 16: 687–703.

15. Xu, L.W., Feng, J., Huang, Y.H., 2014. Identification of lymphocystis disease virus from paradise fish *Macropodus opercularis* (LCDV-PF). *Archives of Virology* 159: 2445–2449.
16. Cano, I., Alonso, M.C., Garcia-Rosado, E., Saint-Jean, S.R., Castro, D., Borrego, J.J., 2006. Detection of lymphocystis disease virus (LCDV) in asymptomatic cultured gilt-head seabream (*Sparus aurata*, L.) using an immunoblot technique. *Veterinary Microbiology* 113: 137–141.
17. Tak Seng, L., Colorni, A., 2002. Infectious Diseases of Warmwater Fish in Marine and Brackish Waters. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W., Lim, L.H.S. (Eds). *Diseases and Disorders in Finfish and Cage Culture*. CAB International, Wallingdorf, UK, pp. 193–230.
18. Wolf, K., 1988. *Fish Viruses and Fish Virus Diseases*. Cornell University Press, Ithaca, New York, 476 p.
19. Cano, I., Valverde, E.J., Garcia-Rosado, E., Alonso, M.C., Lopez-Jimena, B., Ortiz-Delgado, J.B., Borrego, J.J., Sarasquete, C., Castro, D., 2013. Transmission of lymphocystis disease virus to cultured gilthead seabream, *Sparus aurata* L., larvae. *Journal of Fish Diseases* 36: 569–576.
20. Noga, E.J., 2010. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment*, 2nd edn. Blackwell Publishing, Iowa, US.: pp. 171–172.
21. Roberts, R.J., 2012. *Fish Pathology*. Wiley-Blackwell, Chichester.
22. Miyazaki, T., 2007. *Colour Atlas of Fish Histopathology*, vol. 2. ShinSuisan Shinbun-Sha Ltd, Tokyo.
23. Reddacliff, G.L., Quartararo, N., 1992. Lymphocystis in cultured snapper (*Pagrus auratus*) and wild kingfish (*Seriola lalandi*) in Australia. *Australian Veterinary Journal* 69: 116–117.
24. Cano, I., Ferro, P., Alonso, C., Bergmann, S.M., Romer-Oberdorfer, A., Garcia-Rosado, E., Castro, D., Borrego, J.J., 2007. Development of molecular techniques for detection of lymphocystis disease virus in different marine fish species. *Journal of Applied Microbiology* 102: 32–40.
25. Ciulli, S., Pinheiro, A., Volpe, E., Moscato, M., Jung, T.S., Galeotti, M., Stellino, S., Farneti, R., Prosperi, S., 2015. Development and application of a real-time PCR assay for the detection and quantitation of lymphocystis disease virus. *Journal of Virological Methods* 213: 164–173.
26. Li, Q., Yue, Z.Q., Liu, H., Liang, C.Z., Zheng, X.L., Zhao, Y.R., Chen, X., Xiao, X.Z., Chen, C.F., 2010. Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of lymphocystis disease virus. *Journal of Virological Methods* 163: 378–384.
27. Zheng, F.R., Sun, X.Q., Liu, H.Z., Zhang, J.X., 2006. Study on the distribution and expression of a DNA vaccine against lymphocystis disease virus in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture* 261: 1128–1134.
28. Tian, J.Y., Sun, X.Q., Chen, X.G., 2008. Formation and oral administration of alginate microsphere loaded with pDNA coding for lymphocystis disease virus (LCDV) to Japanese flounder. *Fish and Shellfish Immunology* 24: 592–599.
29. Langdon, J.S., Humphrey, J.D., Williams, L.M., Hyatt, A.D., 1986. First virus isolation from Australian fish: an iridovirus like pathogen from redfin perch, *Perca fluviatilis* L. *Journal of Fish Diseases* 9: 263–268.
30. Langdon, J.S., Humphrey, J.D., Williams, L.M., 1988. Outbreaks of an EHN-like iridovirus in cultured rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, in Australia. *Journal of Fish Diseases* 11: 93–96.
31. Whittington, R.J., Philbey, A., Reddacliff, G.L., Macgown, A.R., 1994. Epidemiology of epizootic hematopoietic necrosis virus (EHN) infection in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) – findings based on virus isolation, antigen capture Elisa and serology. *Journal of Fish Diseases* 17: 205–218.

32. Langdon, J.S., 1989. Experimental transmission and pathogenicity of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in redfin perch, *Perca fluviatilis* L., and 11 other teleosts. *Journal of Fish Diseases* 12: 295–310.
33. Whittington, R.J., Kearns, C., Hyatt, A.D., Hengstberger, S., Rutzou, T., 1996. Spread of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in redfin perch (*Perca fluviatilis*) in southern Australia. *Australian Veterinary Journal* 73: 112–114.
34. Langdon, J.S., Humphrey, J.D., 1987. Epizootic hematopoietic necrosis, a new viral disease in redfin perch *Perca fluviatilis* L. in Australia. *Journal of Fish Diseases* 10: 289–298.
35. Bang Jensen, B., Ersbøll, A.K., Ariel, E., 2009. Susceptibility of pike *Esox lucius* to a panel of Ranavirus isolates. *Diseases of Aquatic Organisms* 83: 169–179.
36. Bang Jensen, B., Holopainen, R., Tapiovaara, H., Ariel, E., 2011a. Susceptibility of pike-perch *Sander lucioperca* to a panel of ranavirus isolates. *Aquaculture* 313: 24–30.
37. Bang Jensen, B., Reschova, S., Cinkova, K., Vesely, T., Ariel, E., 2011b. Common carp (*Cyprinus carpio*) and goldfish (*Carassius auratus*) were not susceptible to challenge with ranavirus under certain challenge conditions. *Bulletin for the European Association of Fish Pathologists* 3: 112–118.
38. Whittington, R.J., Becker, J.A., Dennis, M.M., 2010. Iridovirus infections in finfish - critical review with emphasis on ranaviruses. *Journal of Fish Diseases* 33: 95–122.
39. Whittington, R.J., Reddacliff, L.A., Marsh, I., Kearns, C., Zupanovic, Z., Callinan, R.B., 1999. Further observations on the epidemiology and spread of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) in farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in southeastern Australia and a recommended sampling strategy for surveillance. *Diseases of Aquatic Organisms* 35: 125–130.
40. Whittington, R.J., Reddacliff, G.L., 1995. Influence of environmental temperature on experimental infection of redfin perch (*Perca fluviatilis*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with epizootic haematopoietic necrosis virus, an Australian iridovirus. *Australian Veterinary Journal* 72: 421–424.
41. Reddacliff, L.A., Wittington, R.J., 1996. Pathology of epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) infestation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) and redfin perch (*Perca fluviatilis* L.). *Journal of Comparative Pathology* 115: 103–115.
42. Crane, M.St., Young, J., Williams, L.M., 2005. Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHNV) growth in fish cell lines in different temperatures. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* 25: 228–231.
43. Ariel, E., Nicolajsen, N., Christophersen, M.B., 2009. Propagation and isolation of ranaviruses in cell culture. *Aquaculture* 294: 159–164.
44. Cinkova, K., Reschova, S., Kulich, P., Vesely, T., 2010. Evaluation of a polyclonal antibody for the detection and identification of ranaviruses from freshwater fish and amphibians. *Diseases of Aquatic Organisms* 89: 191–198.
45. Marsh, I.B., Whittington, R.J., O'Rourke, B., Hyatt, A.D., Chisholm, O., 2002. Rapid differentiation of Australian, European and American ranaviruses based on variation in major capsid protein gene sequence. *Molecular and Cellular Probes* 16: 137–151.
46. Holopainen, R., Honkanen, J., Jensen, B.B., Ariel, E., Tapiovaara, H., 2011. Quantitation of ranaviruses in cell culture and tissue samples. *Journal of Virological Methods* 171: 225–233.

1.3. ALLOHERPESVIRIDAE

Herpesviry jsou různorodá skupina virů s velkým DNA genomem. Uvnitř řádu Herpesvirales se rozlišují tři čeledi: **Herpesviridae**, která zahrnuje patogeny plazů, ptáků a savců, **Malacoherpesviridae**, kam patří viry měkkýšů, a **Alloherpesviridae** infikující ryby a obojživelníky (1,2,3). Tato čeleď zahrnuje v současnosti čtyři rody: rod **Batrachovirus** zahrnující viry skokanů (RaHV-1 a RaHV-2), rod **Cyprinivirus** zahrnující patogeny kaprovitých ryb a úhoře (CyHV-1, CyHV-2, CyHV-3 a AngHV-1), rod **Ictalurivirus** s viry sumecků a jesetera bílého (IcHV-1, IcHV-2 a AciHV-2) a rod **Salmonivirus** obsahující viry napadající salmonidy (SalHV-1, SalHV-2 a SalHV-3) (4). Některé rybí herpesviry mají podobnou vlastnost jako herpesviry lidské, a sice zůstávat v hostitelském organismu velmi dlouho v latenci, a za určitých podmínek (stres, roční období, hormonální změny) se mohou znovu aktivizovat (5). V přírodních podmínkách většinou k závažnému onemocnění ani šíření infekce nedochází, ale v podmínkách akvakultury, kde jsou vyšší hustoty obsádek, mohou některé alloherpesviry způsobit závažné epizootie doprovázené vysokou morbiditou a mortalitou (6).

1.3.1. VIROVÉ ONEMOCNĚNÍ SUMEČKA SKVRNITÉHO

Úvod. Virové onemocnění sumečka skvrnitého (Channel Catfish Virus Disease – **CCVD**) je akutní, nakažlivé a vysoce hostitelsky specifické onemocnění mladých sumecků objevující se především v USA (7). Významné rozšíření této choroby souviselo s rozvojem průmyslových chovů sumečka v 60. letech 20. století. Původce poprvé izoloval N. Fijan (8) a podrobněji byl popsán začátkem 70. let 20. století (9). V amerických chovech dosud představuje ekonomicky velmi závažný problém a vzhledem k současnému rozvoji recirkulačních chovů ryb v ČR nelze jeho výskyt vyloučit ani u nás.

Původce. „Channel catfish virus“ (CCV), *Herpesvirus ictaluri* neboli *Ictalurid herpesvirus 1* (IcHV-1) byl zařazen do řádu Herpesvirales, čeledi Alloherpesviridae, rodu *Ictalurivirus* (10,3). Průměr ikosaedrální nukleokapsidy tvořené 162 kapsomerami je cca 100 nm, velikost celého virionu je 175–200 nm. Genom CCV je tvořen lineární dvouvláknovou DNA (11). Virus je inaktivován 20% éterem nebo 5% chloroformem, teplotou 60 °C po dobu 1 hodiny, UV zářením nebo mořskou vodou. V rybníční vodě si zachová infekčnost pouze 2 dny při 25 °C, ale 28 dní při teplotě 4 °C (12).

Vnímavé druhy. Vnímavý je sumeček skvrnitý (*Ictalurus punctatus*). Další příbuzné druhy ryb, jako sumeček americký (*Ameiurus nebulosus*), sumec velký (*Silurus glanis*), keříčkovec červenolemý (*Clarias gariepinus*), keříčkovec žabí (*Clarias batrachus*) nebo sumeček velký (*Ictalurus furcatus*) se zdají být rezistentní. Poslední jmenovaný je pro svou relativní odolnost vůči CCV doporučován k chovu jako alternativní druh (12,13,14,15).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Onemocnění je endemické v chovech sumecků na většině území Spojených států amerických (16). Výskyt u divoce žijících sumecků nebyl zaznamenán. K nakažení může dojít horizontálním (infikovanou vodou, rybami) nebo vertikálním přenosem (pohlavními produkty). Vertikální přenos umožňuje viru jeho přetrvávání v populaci.

Podmiňující faktory. Onemocnění se objevuje v teplém období od května do září, kdy teplota vody překračuje 25 °C (12). Významným predispozičním faktorem je také věk ryb. Plůdek je mnohem vnímavější než dospělé ryby, onemocnění se nejčastěji projevuje ve stáří 2–6 měsíců, při hmotnosti méně než 10 g. Plůdek mladší než 60 dní vykazuje vyšší odolnost pravděpodobně díky transferu mateřských protilátek (17).

Průběh a vývoj onemocnění. Nástup onemocnění je náhlý a průběh akutní. Mortalita může dosáhnout až 100 % během 7–10 dní (18).

Klinické příznaky. Ryby vykazují křečovitě poruchy plavání, zejména jako reakci na krmení nebo jiné rušivé podněty (19). V terminálním stádiu leží na dně a zrychleně dýchají (7).

Patologické změny. Postižené ryby vykazují hemoragické projevy a příznaky dysfunkce ledvin. Na kůži břicha a na ploutvích nalézáme hemoragická ložiska. V dutině tělní je nažloutlá až načervenalá tekutina. Vnitřní orgány jsou světle růžové barvy, střevo je prázdné. Slezina bývá tmavě červené až fialové barvy. V ledvinách a játrech bývají přítomné hemoragie nebo petechie. Nápadný bývá i exoftalmus (obr. 1.3.1.1). Na kůži mohou být přítomny změny vyvolané sekundární bakteriální infekcí, např. *Flavobacterium columnare*. V mikroskopickém obraze dominují změny charakteru hemoragií, edému, zánětlivého buněčného infiltrátu a přítomnosti nekrotické tkáně. Nejvíce bývají postiženy ledviny, nejméně pankreas (20). Jsou pozorovány četné nekrózy krvetvorné tkáně předních ledvin, v zadních ledvinách je patrná nekróza epitelu proximálních tubulů (21).



Obr. 1.3.1.1. Exoftalmus a zvětšená dutina tělní v důsledku formování velkého množství ascitu. (Foto L. Hanson).

Diagnóza. Diagnózu je možno stanovit na základě patomorfologického a histologického vyšetření, kultivace na buněčných liniích a PCR. Nejvhodnější pro kultivaci je buněčná linie z ovárií sumečka tečkovaného (channel catfish ovary – CCO). Pro potvrzení přítomnosti viru se používá virus neutralizační test (22). Latentní nosiče viru je možno identifikovat pomocí průkazu specifických protilátek (23) nebo identifikací latentní virové DNA pomocí ICHV-1 specifické PCR (24).

Terapie. Neprovádí se.

Prevence. Uplatňují se obvyklá preventivní opatření spočívající v ochraně před zavlečením viru do chovu, karanténě infikované populace, dezinfekci (viz kapitola 7.), držení ryb v dobrých podmínkách a nepoužívání CCV pozitivních generačních ryb k chovu. Ryby, které přežijí vzplanutí choroby, mohou být dochovány do tržní velikosti, ale tak, aby nepřišly do kontaktu s naivními rybami (12). Bylo vyvinuto několik typů vakcín, ale žádná z nich zatím neposkytuje spolehlivou ochranu.

1.3.2. PUCHÝŘNATOST RYB

Úvod. Onemocnění známé pod triviálním názvem „kapří neštovice“ (carp pox, epithelioma papulosum cyprini – **EPa**) je v chovech kapra obecného známo už od středověku (25,26). Jeho virová etiologie, o níž se začalo spekulovat na začátku 20. století (27), byla potvrzena až v šedesátých letech (28). Teprve v osmdesátých letech se podařilo původce vykultivovat a byl zařazen mezi herpesviry (26,29). Přestože je toto onemocnění velmi rozšířené, ekonomický dopad v chovech není příliš velký, ryby jsou znehodnoceny pouze vzhledově.

Původce. Původce onemocnění, dříve nazývaný *Herpesvirus cyprini*, je podle současné nomenklatury zařazen do rodu *Cyprinivirus*, čeledi Alloherpesviridae, jako kapří herpesvirus 1 (*Cyprinid herpesvirus 1*; CyHV-1). Velikost virionu je 110–130 nm. Ze všech tří alloherpesvirů, které infikují kaprovité ryby, je CyHV-1 geograficky nejrozšířenější (30,3).

Vnímavé druhy. Nejčastěji se onemocnění projevuje u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a jeho okrasné variety koi (31). Častěji onemocní ryby starší, hlavně dvou- nebo tříleté. Infekce plůdku může vyústit v akutní systémové onemocnění doprovázené vysokou mortalitou (32). Proliferativní kožní změny podobné těm, které doprovázejí infekci CyHV-1 u dospělých kaprů, se mohou objevit i u jiných kaprovitých druhů, jako např. u zlaté formy jelce jesena (*Leuciscus idus*) (33,34), ale i u lososovitých ryb, úhoře říčního (*Anguilla anguilla*), štiky obecné (*Esox lucius*), sumce velkého (*Silurus glanis*), okouna říčního (*Perca fluviatilis*), jeseterovitých a různých druhů akvarijních ryb (33,35,36,37). Není však zcela jasné, jestli jsou také virové etiologie.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Virus kapřích neštovic je rozšířen v chovech kapra v Evropě (38), v USA (3) a Asii (39). Stejně jako jiné herpesviry, i CyHV-1 má schopnost vytvářet latentní stádium v různých tkáních svého hostitele a za příznivých podmínek opět vyvolat onemocnění. Ryby přeživší klinické onemocnění jsou proto považovány za doživotní vironosiče (40,41). Přenašečem mohou být i vodní bezobratlí, zejména kapřivci (*Argulus* sp.) (42).

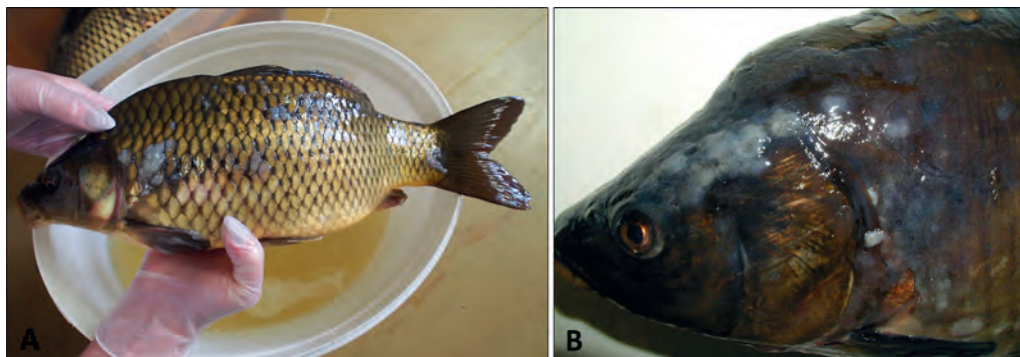
Podmiňující faktory. Rozvoj onemocnění je ovlivňován teplotou vody. Typické šedobílé nebo narůžovělé proliferativní kožní změny se objevují na podzim při poklesu teploty vody, přetrvávají přes zimní období a na jaře, když teplota vody stoupne, postupně ztmavnou a vymizí (43).

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh onemocnění závisí na kondici a hlavně věku postižených ryb. U ryb mladších než 2 měsíce může infekce CyHV-1 vyvolat akutní letální systémové onemocnění. Pokud jsou infekci vystaveny ryby starší, vyvine se u nich chronické proliferativní onemocnění kůže, které se může periodicky vracet (26,32). Inkubační doba může být i několik měsíců. Příznaky chronického proliferativního onemocnění se objevují na podzim při poklesu teploty vody pod 15 °C a při zvýšení teploty na jaře zase ustupují (44). Jednou infikované ryby mohou při snížení teploty opět vykazovat proliferativní změny na kůži. V mezidobí je možno pomocí *in situ* hybridizace zachytit latentní virus v kranálních a spinálních nervech a v podkožní tkáni (41,43).

Klinické příznaky. Dospělé infikované ryby nevykazují žádné klinické příznaky. U juvenilů se může rozvinout nechutenství, malátnost a onemocnění bývá doprovázeno vysokou mortalitou (31). Infikovaný plůdek vykazuje poruchy plavání a ztmavnutí kůže (32).

Patologické změny. U dospělých ryb se na kůži hlavy, těla i na ploutvích vytvářejí šedobílé hlenovité až voskové prominující okrsky (obr. 1.3.2.1), které mohou mít někdy až květákovitý tvar. Histologicky jsou tyto léze tvořeny výraznou epidermální hyperplazií, která může přecházet v hyperplazii papilomatózní (27). Zároveň dochází k vymizení hlenových buněk.

(obr. 1.3.2.2). Hyperplastické keratinocyty často vykazují marginální uspořádání chromatinu a světlé eosinofilní intranukleární inkluze.



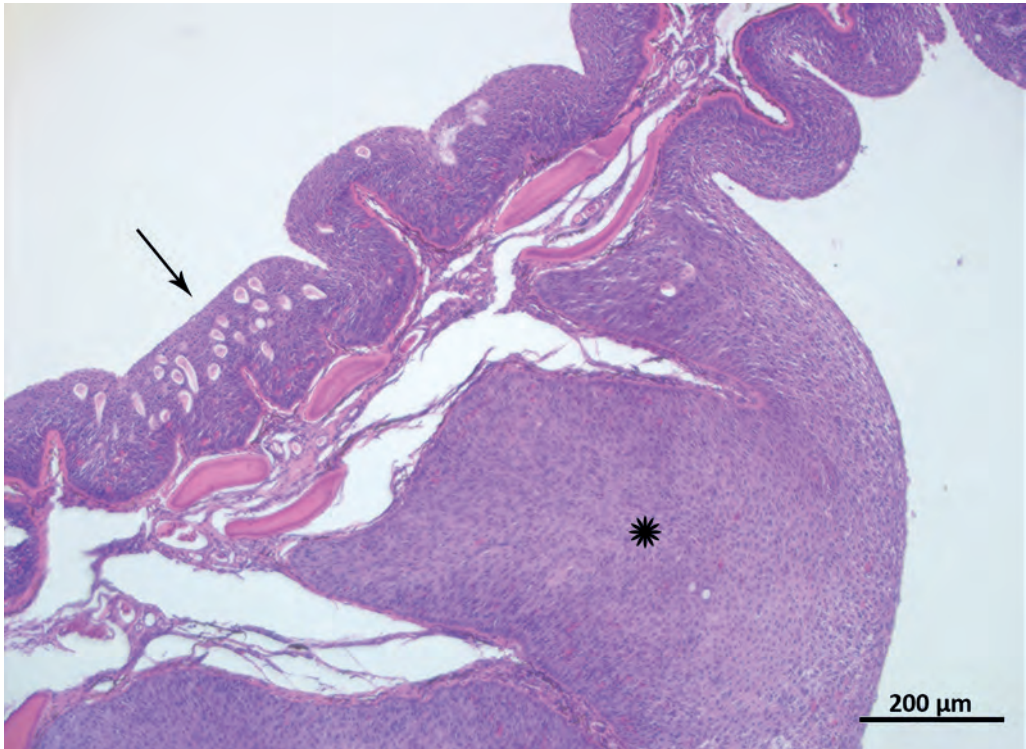
Obr. 1.3.2.1. Proliferativní změny na kůži způsobené CyHV-1. Celkový pohled na kapra s typickými kožními změnami (A); detail kožních změn na hlavě kapra (B). (Foto: M. Palíková)

Juvenilní infikované ryby mohou mít zvětšenou dutinu tělní, exoftalmus, krváceniny na žaberním víčku (operkulu) a na bocích a tmavší pigmentaci kůže (31). V histologických řezech je patrná těžká hyperplazie keratinocytů, díky níž je pokožka (epidermis) 4–5× silnější než u zdravých ryb. Je zde také pozorováno zvýšené množství buněk podléhajících apoptóze, charakteristických hypereozinofilní cytoplazmou a pyknotickými jádry. Hlenové buňky se vyskytují ve zvýšené míře, eosinofilní a lymfocytární infiltrace je jen mírná (32).

Diagnóza. Proliferativní kožní změny jsou natolik typické, že ke stanovení diagnózy většinou stačí jen patologicko-anatomické vyšetření. V případě dubiozního nálezu je možno doplnit také histologické vyšetření postižených tkání. Původce je možno prokázat v histologických preparátech nepřímou imunofluorescencí nebo *in situ* hybridizací (45). K dispozici je také PCR (46). Virus je obtížně kultivovatelný, ale podařilo se jej pomnožit na buněčných liniích KF-1 (koi fin), EPC a FHM při 20 °C za vzniku cytopatického efektu (vakuolizace a zakulacení buněk) 5 dní po inokulaci (37).

Terapie. Účinná terapie není známa. V minulosti byly zkoušeny různé rostlinné preparáty pro zvýšení imunity ryb, vápnění rybníků (47), aplikace formaldehydu atd., ale účinnost nebyla vysoká. Hyperplastické epiteliální útvary spolehlivě mizí pouze po zvýšení teploty vody nad 20 °C. Při opětovném snížení teploty na 15 °C však nelze vyloučit recidivu.

Prevence. Jedním z možných preventivních opatření je vyřazení generačních ryb trpících tímto onemocněním z chovu. Byla také zaznamenána rozdílná vnímavost různých plemen a hybridů (48), takže je možné částečně eliminovat riziko vzniku onemocnění vhodným výběrem násadového materiálu.



Obř. 1.3.2.2. Histologický nález typický pro puchýřnatost ryb: hyperplazie epidermálních buněk a vymizení buněk hlenových (*), na opačné straně nepoškozená kůže s přítomností hlenových buněk (->); řez postiženou ploutví (H&E). (Foto: M. Palíková)

1.3.3. KOI HERPESVIRÓZA

Úvod. Koi herpesviróza (**KHV**, koi herpes virus disease – **KHVD**, carp nephritis and gill necrosis virus disease – **CNGVD**) je závažné onemocnění kapra obecného a jeho okrasné variety – koi kapra (49). Poprvé bylo identifikováno v roce 1998 v Izraeli a v USA, kde způsobilo značné ztráty především v chovech koi kaprů (50), a během několika následujících let se rozšířilo do dalších asijských a evropských zemí (Japonsko, Čína, Indonésie, Taiwan, Malajsie, Velká Británie, Belgie, Holandsko, Německo, Dánsko, Lucembursko, Francie, Rakousko, Itálie, Švýcarsko, Polsko, Česká republika atd.) (49,51), kde kapr patří k hlavním chovaným druhům ryb. Rychlé rozšíření koi herpesvirózy má pravděpodobně na svědomí nekontrolovaný obchod s okrasnými rybami. Od roku 2009 je tato choroba uvedena na seznamu nálezů povinných hlášením (příloha č. 2 zákona č. 166/1999 Sb.) a podle vyhlášky č. 290/2008 Sb. patří mezi neexotické nákazy.

Původce. Původcem onemocnění je virus, který byl na základě svých morfologických vlastností a hostitelské specifčnosti zařazen do řádu Herpesvirales, čeledi Alloherpesviridae, rodu *Cyprinivirus* jako kapří herpesvirus 3 (*Cyprinid herpesvirus 3*, CyHV-3)(52). Jeho genom je tvořen lineární dvouvláknovou DNA o velikosti 295 kbp, což je největší genom ze všech dosud sekvenovaných herpesvirů (53).

Vnímavé druhy. Světová organizace pro zdraví zvířat (OIE) uvádí mezi druhy vnímavé ke KHV pouze kapra obecného, jeho barevné variety (koi) a jeho křížence s karasem obecným (*Carassius carassius*) a karasem zlatým (*Carassius auratus*). Přirozená vnímavost ke koi herpesviróze byla prokázána pouze u kapra obecného a jeho okrasné variety (54), a to ve všech věkových kategoriích (55). V experimentálních podmínkách byly zjištěny rozdíly ve vnímavosti k onemocnění KHV mezi plemeny kapra chovanými na území ČR. Jednoznačně byl potvrzen pozitivní vliv amurského sazana (*Cyprinus rubrofuscus*), neboť téměř všechna plemena, která mají ve svém rodokmenu tuto původní divokou formu asijského kapra (např. ropšínský šupinatý kapr a amurský lysec) vykazovala při experimentálních infekcích vyšší přežití než plemena odvozená pouze od dunajské populace kapra obecného (56). V experimentálních podmínkách byla rovněž testována vnímavost jiných druhů sladkovodních ryb. Klinické příznaky onemocnění se podařilo navodit pouze u kříženců koi kapra a karasa zlatého a koi kapra a karasa obecného (57), ale virová DNA byla detekována ve tkáních mnoha dalších kaprovitých i nekaprovitých druhů ryb, z nichž některé mohou být za určitých podmínek bezpříznakovými přenašeči infekce (55).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. KHV je velmi nakažlivá a může se šířit vodou, exkrementy nebo přímým kontaktem s infikovanými rybami (58). Infekce se dále může šířit rybolovným náčiním a pomůckami (59). Ryby, které KHV přežily, jsou pokládány za potenciální zdroj nákazy. Vylučování viru těmito rybami bývá indukováno stresem (změna teploty, manipulace, transport, výtěr atd.) (60). Nejvýznamnějším faktorem ovlivňujícím vylučování viru do prostředí, nakažení hostitele a průběh onemocnění je teplota vody. V přírodních podmínkách je pravděpodobně nevhodnějším obdobím pro šíření viru konec jara, tj. doba výtěru, kdy se ryby shromažďují, jsou ve vzájemném kontaktu a hormonální změny související s výtěrem na čas utlumují činnost jejich imunitního systému. Tak může docházet k šíření viru v dospělé populaci kaprů. Existuje teorie, že vzhledem k tomu, že virus v přírodních podmínkách nepřežívá déle než tři dny, líhne se nová kapří generace už do „KHV-prostého“ prostředí a tím je zajištěno, že nedojde k likvidaci celé populace potenciálních hostitelů (61).

Podmiňující faktory. Jak již bylo řečeno, hlavním podmiňujícím faktorem vzniku onemocnění je teplota vody. Onemocnění se nejčastěji projevuje při teplotách 18–28 °C. Za permissivní (tj. pro replikaci viru nejvhodnější) je pokládána teplota 23 °C. Pokud jsou čerstvě nakažené ryby (1–5 dní po kontaktu s infekcí) přesunuty do nepermissivní teploty (≤ 13 °C nebo ≥ 30 °C), výrazně se tím sníží mortalita (62). Věk ryb nehraje při šíření infekce a vzniku onemocnění významnou roli, vnímavé jsou všechny věkové kategorie kapra a koi kapra, kromě larev do délky 1 cm. Larvy větší než 2 cm jsou již plně vnímavé (63).

Průběh a vývoj onemocnění. Vstupní branou infekce je kůže (64) nebo sliznice měkkého patra (65). Po úvodní replikaci v epidermis se virus rychle šíří do celého organismu ryby. Rychlost šíření pravděpodobně souvisí s afinitou viru k bílým krvinkám. Zdrojem infekce pro další hostitele je replikace viru ve tkáni žaber, kůže a střeva. Délka inkubační doby, průběh onemocnění a mortalita závisí zejména na teplotě vody, ale také na virulenci původce a vnímavosti hostitele. Podobně jako jiné herpesviry, i CyHV-3 vykazuje kromě fáze množení v hostitelských buňkách, doprovázeného jejich destrukcí, také fázi latence. Během ní je virus v nízkém počtu kopií přítomen v různých tkáních (mozek, bílé krvinky atd.) a může být reaktivován např. teplotním šokem (66,67,60).

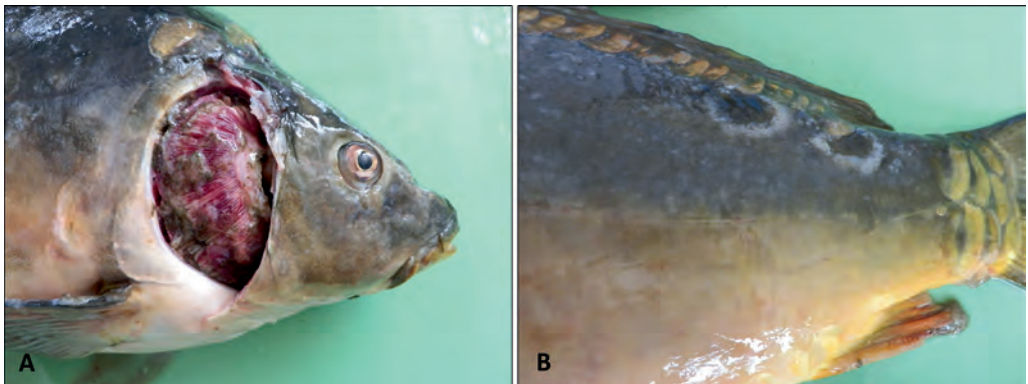
Klinické příznaky. První příznaky onemocnění se mohou objevit už 2–3 dny po nakažení ryb, při nižší teplotě je inkubační doba delší. Ryby jsou apatické, přestávají přijímat krmivo, leží na dně nádrže se staženou hřbetní ploutví. V rybnících se postižené ryby shromažďují u hladiny,

u přítoku nebo u břehů a nouzově dýchají. Některé ryby vykazují v terminální fázi onemocnění i nervové příznaky, ryby jsou dezorientované a ztrácejí rovnováhu (50). Onemocnění je zpravidla doprovázeno vysokou mortalitou, v chovech koi kaprů může dosahovat až 100%. Nástup mortality je také ovlivňován teplotou: pokud jsou ryby chovány při teplotě 23–28 °C, objevují se první úhyny za 5–8 dní. Při teplotě 16–18 °C dochází k prvním úhynům až za 14–21 dní (52,68).

Patologické změny. Pro KHV je typické poškození žaber. Zpočátku jsou nepravidelně vybarvené a poměrně rychle se objevují nekrotické okrsky, které často podléhají povrchovému zaplísnění. V závislosti na fázi onemocnění se mění vzhled kůže. Zpočátku může být pozorováno překrvení u základů ploutví a na ventrální straně těla, stejně jako světlé nepravidelné skvrny v důsledku zvýšené sekrece kožního hlenu (obr. č. 1.3.3.1).

V pozdějších fázích onemocnění se odlupuje odumřelý epitel a produkce hlenu se snižuje, takže kůže nabývá vzhledu smirkového papíru, mohou se objevit i herpetické léze a rozpad ploutví. Typické jsou rovněž zapadlé oči (enoftalmus)(50).

Nejvýraznější histopatologické změny je možno pozorovat na žábřácích, na kůži, v ledvinách, slezině, játrech a trávicím traktu. Žábry vykazují zpočátku smíšenou zánětlivou buněčnou infiltraci, posléze eroze primárních lamel, fúzi sekundárních lamel a adhezi filament, hyperplazii a hypertrofii epitelálních buněk. Bývají pozorovány také výrazné zánětlivé změny a nekróza žaberního epitelu vyúsťující v totální ztrátu žaberních lamel. Druhým nejvíce postiženým orgánem jsou ledviny. V histologických řezech mohou být zaznamenány multifokální nekrózy krvební tkáně a tubulárního epitelu. Ve slezině a játrech jsou postiženy především splenocyty a hepatocyty. Jaterní parenchym je postižen zánětlivou infiltrací. U ryb, které vykazovaly jasné neurologické příznaky, bylo potvrzeno městnání krve v kapilárách a malých věnách související s edematózní disociací nervových vláken v mozečku a prodloužené míše. V kůži infikovaných ryb je o 50 % nižší počet pohárkových buněk, jsou štíhlejší v důsledku vyprázdnění a nedoplnění hlenu (69).



Obr. č. 1.3.3.1. Pro KHV je typická nekróza žaber (A), nekrotické okrsky často podléhají povrchovému zaplísnění; objevují se skvrny na kůži způsobené nepravidelnou tvorbou hlenu (B). (Foto: V. Piačková)

Diagnóza. Pro diagnostiku KHV je možno využít různé metody. Jsou založeny na detekci virových partikulí, virové DNA, transkriptů nebo antigenů. Virus je možno kultivovat na buněčných liniích KF-1, CCB (*Cyprinus carpio* brain) nebo na nově vyvinuté buněčné linii

z ocasní ploutve koi kapra (70,71), avšak kultivace není příliš úspěšná. Pro detekci virové DNA byl vyvinut kompletní set molekulárně biologických metod: DNA hybridizace, PCR, nested PCR, kvantitativní real-time TaqMan PCR a metoda LAMP. Specifické protilátky v krevním séru ryb mohou být detekovány pomocí ELISA testu (72). Princip ELISA je využíván také při detekci CyHV-3 ve stěrech ze žaber pomocí rychlých diagnostických testů (FASTest® Koi HV kit). CyHV-3 může být také detekován ve tkáních a otiskových preparátech z orgánů infikovaných ryb imunohistochemicky a imunofluorescenčně (69). Při vyšetření ryb v Národní referenční laboratoři pro virové nemoci ryb se využívá nested PCR a real-time TaqMan PCR.

Terapie. Léčba KHV se neprovádí. Vzhledem k tomu, že podle vyhlášky č. 209/2008 Sb. se jedná o neexotickou nákazu, při pozitivním nálezu DNA KHV v úředně odebraných vzorcích ryb vyhláší příslušná krajská veterinární správa Státní veterinární správy (KVS SVS) mimořádná veterinární opatření (viz kapitola 5. Nákazy ryb povinné hlášením).

Prevence. Obecně lze říci, že prevence KHV spočívá zejména v zodpovědném přístupu chovatelů, dopravců a prodejců ryb, sportovních rybářů a veterinárních lékařů.

Zavlečení nákazy do chovů lze předcházet:

1. Nákupem ryb z důvěryhodných zdrojů, eventuálně vyžádáním si virologického vyšetření ryb před nákupem.
2. Karanténou nově přivezených ryb (zejména ryb importovaných ze zahraničí a ryb nejistého původu) v nádrži oddělené od ostatních.
3. Důslednou dezinfekcí nádrží, sítí, rybolovných pomůcek, transportních beden, vaniček atd. K dezinfekci je možné použít jakýkoliv virucidní přípravek (viz kapitola 7).

Pokud bude v budoucnu KHV vyřazena ze seznamu nákaz povinných hlášením a bude možno chovat i ryby KHV-pozitivní (tj. ryby, které nevykazují příznaky onemocnění, ale v jejich tkáních je možno detekovat virovou DNA), bude důležité především zabránit ztrátám onemocněním a úhynem ryb. K tomu přispějí tyto zásady a opatření:

4. Udržování ryb v dobré kondici adekvátní krmnou dávkou, koncentrací ryb a kvalitou vody, minimalizace stresu.
5. Chov plemen vykazujících vůči onemocnění KHV vyšší rezistenci.
6. Vakcinace ryb. V současné době je vyvinuto několik vakcín proti KHV, ale žádná z nich není na území Evropské unie registrována a tudíž je nelze použít (73).

LITERATURA

1. Davison, A.J., Eberle, R., Ehlers, B., Hayward, G.S., McGeoch, D.J., Minson, A.C., Pellett, P.E., Roizmann, B., Studdert, M.J., Thiry, E., 2009. The order Herpesvirales. *Archives of Virology* 154: 171–177.
2. McGeoch, D.J., Rixon, F.J., Davison, A.J., 2006. Topics in herpesvirus genomics and evolution. *Virus Research* 117: 90–104.
3. Waltzek, T.B., Kelley, G.O., Alfaro, M.E., Kurobe, T., Davison, A.J., Hedrick, R.P., 2009. Phylogenetic relationships in the family Alloherpesviridae. *Diseases of Aquatic Organisms* 84: 179–194.
4. ICTV, 2014. *Virus Taxonomy*. International Committee on Taxonomy of Viruses. <http://www.ictvonline.org/virustaxonomy.asp>.

5. Smail, D.A., Munro, E.S., 2012. The Virology of Teleosts. In: Roberts, R.J. (Ed.). Fish Pathology, 4th edn. Blackwell Publishing, Chichester, UK: pp. 186–291.
6. Hanson, L., Doszpoly, A., van Beurden, S.J., de Oliveira Viadanna, P.H., Waltzek, T., 2016. Alloherpesviruses of Fish. In: Kibenge, F.S.B. and Godoy, M.G. (Eds). Aquaculture Virology; Elsevier Academic Press, London, UK, pp. 153–172.
7. Sano, M., Nakai, T., Fijan, N., 2011. Viral Diseases and Agents of Warmwater Fish. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). Fish Diseases and Disorders vol. 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections, 2nd edn. CAB International, Oxfordshire, UK, pp. 166–244.
8. Fijan, N., 1968. Progress report on acute mortality of channel catfish fingerlings caused by virus. Bulletin – Office International des Epizooties 69: 1167–1168.
9. Wolf, K., Darlington, R.W., 1971. Channel catfish virus: a new herpesvirus of ictalurid fish. Journal of Virology 8: 525–533.
10. Davison, A.J., Eberle, R., Hayward, G.S., 2005. Family Herpesviridae. In: Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J. (Eds). Virus Taxonomy Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, Elsevier, Amsterdam, pp. 193–212.
11. Davison, A.J., 1992. Channel catfish virus: a new type of herpesvirus. Virology 186: 9–14.
12. Plumb, J.A., 1989. Channel catfish virus. In: Ahne, W. and Kurstak, E. (Eds). Viruses of lower vertebrates, Springer Verlag, Berlin, pp. 198–216.
13. Chumnongsitathum, B., Plumb, J.A., Hilge, V., 1988. Histopathology, electron microscopy and isolation of channel catfish virus in experimentally infected European catfish, *Silurus glanis* L. Journal of Fish Diseases 11: 351–357.
14. Boon, J.H., McDowal, T., Hedrick, R.P., 1988. Resistance of the African catfish, *Clarias gariepinus*, and the Asian catfish, *Clarias batrachus*, to channel catfish virus. Aquaculture 74: 191–194.
15. Dunham, R.A., Hyde, C., Masser, M., Plumb, J.A., Smitherman, R.O., Perez, R., Ramboux, A.C., 1993. Comparison of culture traits of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, and blue catfish, *I. furcatus*. Journal of Applied Aquaculture 3: 257–268.
16. Thompson, D.J., Khoo, L.H., Wise, D.J., Hanson, L.A., 2005. Evaluation of channel catfish virus latency on fingerling production farms in Mississippi. Journal of Aquatic Animal Health 17: 211–215.
17. Hanson, L.A., Rudis, M.R., Petrie-Hanson, L., 2004. Susceptibility of channel catfish fry to Channel Catfish Virus (CCV) challenge increases with age. Diseases of Aquatic Organisms 62: 27–34.
18. Wolf, K., 1988. Fish Viruses and Fish Virus Diseases. Cornell University Press, Ithaca, New York, 476 p.
19. Smail, D.A., Munro, E.S., 2012. The Virology of Teleosts. In: Roberts, R.J. (Ed.). Fish Pathology, 4th edn. Blackwell Publishing, Chichester, UK: pp. 186–291.
20. Wolf, K., Herman, R.L., Carlson, C.P., 1972. Fish viruses: histopathologic changes associated with experimental channel catfish virus disease. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 29: 149–150.
21. Plumb, J.A., Gaines, J.L., Mora, E.C., Bradley, G.G., 1974. Histopathology and electron microscopy of channel catfish virus. *Ictalurus punctatus* Rafinesque. Journal of Fish Biology 6: 661–664.
22. Bowser, P.R., Plumb, J.A., 1980. Fish cell lines: establishment of a line from ovaries of channel catfish. In Vitro 16: 356–358.

23. Crawford, S.A., Gardner, I.A., Hedrick, R.P., 1999. An enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of antibodies to channel catfish virus (CCV) in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 11:148–153.
24. Gray, W.L., Williams, R.J., Jordan, R.L., Griffin, B.R., 1999. Detection of channel catfish virus DNA in latently infected catfish. *Journal of General Virology* 80: 1817–1822.
25. McAllister, P.E., Lidgerding, B.C., Herman, R.L., Hoyer, L.C., Hankins, J., 1985. Viral diseases of fish:– first report of carp pox in golden ide (*Leuciscus idus*) in North America. *Journal of Wildlife Diseases* 21: 199–204.
26. Sano, T., Fukuda, H., Furukawa, M., 1985a. *Herpesvirus cyprini*: biological and oncogenic properties. *Fish Pathology* 20: 381–388.
27. Löwenthal, W., 1907. Einschlussartige Zell- und Kernveränderungen in der Karpfenpocke. *Zeitschrift für Krebsforsch* 5: 197–204.
28. Schubert, G.H., 1966. The infective agent in carp pox. *Bulletine – Office International des Epizooties* 65: 1011–1022.
29. Sano, T., Fukuda, H., Furukawa, M., Hosoya, H., Moriya, Y., 1985b. A herpesvirus isolated from carp papilloma in Japan. In: Ellis, A.E. (Ed.). *Fish and Shellfish Pathology*. Academic Press, London, pp. 307–311.
30. Wolf, K., 1988. *Fish viruses and fish viral diseases*. Cornell University Press, Ithaca, NY, 476 p.
31. Plumb, J.A., Hanson, L.A., 2011. Carp and minnow viruses. In: Plumb, J.A., Hanson, L.A. (Eds). *Health maintenance and principal microbial diseases of cultured fishes*, 3rd edn. Blackwell Publishing, pp. 109–134.
32. Crossland, N., Hawke, J., Del Piero, F., 2018. Investigation of a Cyprinid herpesvirus 1 disease episode in a group of pond-reared koi. *Journal of Aquatic Animal Health* 30: 185–190.
33. McAllister, P.E., 1993. Goldfish, Koi, and Carp Viruses. In: Stoskopf, M.K. (Ed.). *Fish medicine*. Saunders Company, Philadelphia, PA, pp. 478–485.
34. Steinhagen, D., Kruse, P., Neukirch, M., 1992. Virus-associated epidermal hyperplasia in golden ide *Leuciscus idus melanotus*. *Diseases of Aquatic Organisms* 13: 225–229.
35. Nigrelli, R.F., 1952. Virus and tumors in fishes. *Annals of the New York Academy of Sciences* 54: 1076–1092.
36. Lucky, Z., 1970. Pathological changes with pox (*Epithelioma papulosum*) in the sheatfish (*Silurus glanis*). *Acta Veterinaria Brno* 39: 81–86.
37. Dixon, P.F., 2008. Virus diseases of cyprinids. In: Eiras, J.C., Segner, H., Kapoor, B.G. (Eds). *Fish Diseases*, vol. 1. Science Publishers, Enfield, NH, pp. 87–184.
38. Päck, P., Hussar, P., Järveots, T., Paaver, T., 2011. Club cells active role in epidermal regeneration after skin hyperplasia of koi carp *Cyprinus carpio*. *Aquaculture, Aquarium, Conservation and Legislation – International Journal of the Bioflux Society* 4: 455–462.
39. Yardimci, B., Secer, F.S., Yavuzcan, H., 2009. Histopathological and electron microscopical evaluation of pox disease in carp (*Cyprinus carpio*, L.). *Ankara Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 56: 43–56.
40. Sano, N., Sano, M., Sano, T., Hondo, R., 1992. *Herpesvirus cyprini*: detection of the viral genome by *in situ* hybridization. *Journal of Fish Diseases* 15: 153–162.
41. Sano, N., Morivake, M., Hondo, R., Sano, T., 1993a. *Herpesvirus cyprini*: a search for viral genome in infected fish by *in situ* hybridization. *Journal of Fish Diseases* 16: 495–499.

42. Landsberg, J.H., Shilo, M., Sarig, S., 1989. Parasites and associated diseases of fish in warm water culture with special emphasis on intensification. Fish culture in warm water systems: problems and trends. Boca Raton, FL CRC Press Inc: 195–252.
43. Sano, N., Moriwake, M., Sano, T., 1993a. *Herpesvirus cyprini*: thermal effects on pathogenicity and oncogenicity. Fish Pathology 28: 171–175.
44. Palmeiro, B., Scott Weber III, E., 2010. Viral pathogens of fish. In: Roberts, H.E. (Ed.). Fundamentals of Ornamental Fish Health. Blackwell Publishing, pp. 113–124.
45. Sano, N., Moriwake, M., Hondo, R., Sano, T., 1993b. *Herpesvirus cyprini* – a search for viral genome in infected fish by *in-situ* hybridization. Journal of Fish Diseases 16: 495–499.
46. Viadanna, P.H.O., Miller-Morgan, T., Peterson, T., Way, K., Stone, D.M., Marty, G.D., Pilarski, F., Hedrick, R.P., Waltzek, T.B., 2017. Development of a PCR assay to detect cyprinid herpesvirus 1 in koi and common carp. Diseases of Aquatic Organisms 123: 19–27.
47. Fijan, N., 1999. Spring Viraemia of Carp and Other Viral Diseases and Agents of Warm-Water Fish. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.V., (Eds). Fish Diseases and Disorders 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections, CAB International, New York, pp. 177–244.
48. Hines, R.S., Wohlfarth, G.W., Moav, R., Hulata, G., 1974. Genetic differences in susceptibility to two diseases among strains of the common carp. Aquaculture 3: 187–197.
49. Pokorová, D., Vesely, T., Piackova, V., Reschova, S., Hulova, J., 2005. Current knowledge on koi herpesvirus (KHV): A review. Veterinarni Medicina–Czech 50: 139–147.
50. Perelberg, A., Smirnov, M., Hutoran, M., 2003. Epidemiological description of a new viral disease afflicting cultured *Cyprinus carpio* in Israel. Israeli Journal of Aquaculture–Bamidgeh 55: 5–12.
51. Haenen, O., Way, K., Bergmann, S., Ariel, E., 2004. The emergence of KHV and its significance to European aquaculture. Bulletin of European Association of Fish Pathologists 24: 293–307.
52. Waltzek, T. B., Kelley, G. O., Stone, D. M., Way, K., Hanson, L., Fukuda, H., Hirono, I., Aoki, T., Davison, A. J., Hedrick, R. P., 2005. Koi herpesvirus represents a third cyprinid herpesvirus (CyHV-3) in the family Herpesviridae. Journal of General Virology 86: 1659–1667.
53. Aoki, T., Hirono, I., Kurokawa, K., Fukuda, H., Nahary, R., Eldar, A., Davison, A. J., Waltzek, T. B., Bercovier, H., Hedrick, R. P., 2007. Genome sequences of three koi herpesvirus isolates representing the expanding distribution of an emerging disease threatening koi and common carp worldwide. Journal of Virology 81: 5058–5065.
54. Hedrick, R. P., Waltzek, T. B., McDowell, T. S., 2006. Susceptibility of koi carp, common carp, goldfish, and goldfish × common carp hybrids to Cyprinid herpesvirus – 2 and Herpesvirus – 3. Journal of Aquatic Animal Health 18: 26–34.
55. Rakus, K., Ouyang, P., Boutier, M., Ronsmans, M., Reschner, A., Vancsok, C., Jazowiecka – Rakus, J., Vanderplasschen, A., 2013. Cyprinid herpesvirus 3: an interesting virus for applied and fundamental research. Veterinary Research 44: 85.
56. Piačková, V., Flajšhans, M., Pokorová, D., Reschová, S., Gela, D., Čížek, A., Veselý, T., 2013. Sensitivity of common carp, *Cyprinus carpio* L., strains and crossbreeds reared in the Czech Republic to infection by Cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3; KHV). Journal of Fish Diseases 36: 75–80.
57. Bergmann, S.M., Sadowski, J., Kielpinski, M., Bartłomiejczyk, M., Fichtner, D., Riebe, R., Lenk, M., Kempster, J., 2010. Susceptibility of koi x crucian carp and koi x goldfish hybrids to koi herpesvirus (KHV) and the development of KHV disease (KHVD). Journal of Fish Diseases 33: 267–272.

58. Noga, E.J., 2010. Fish Disease: Diagnosis and Treatment, 2nd edition. Blackwell Publishing, Iowa, US.: pp. 171–172.
59. CEFAS, 2016. <https://marinescience.blog.gov.uk/2016/07/01/khv-fishery-angler-net-equipment/>.
60. Eide, K.E., Miller-Morgan, T., Heidel, J. R., Kent, M.L., Bildfell, R.J., LaPatra, S., Watson, G., Jin, L., 2011. Investigation of koi herpesvirus latency in koi. *Journal of Virology* 85: 4954–4962.
61. Baumer, A., Fabian, M., Wilkens, M.R., Steinhagen, D., Runge, M., 2013. Epidemiology of cyprinid herpesvirus-3 infection in latently infected carp from aquaculture. *Diseases of Aquatic Organisms* 105: 101–108.
62. McColl, K.A., 2013. Review of the literature on cyprinid herpesvirus 3 (CyHV-3) and its disease. PestSmart Toolkit publication, Invasive Animals Cooperative research centre, Canberra, Australia: pp. 34.
63. Ronen, A., Perelberg, A., Abramowitz, A., Hutoran, M., Tinman, S., Bejerano, I., Steinitz, M., Kotler, M., 2003. Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio*. *Vaccine* 21: 4677–4684.
64. Ito, T., Sano, M., Kurita, J., Yusa, K., Iida, T., 2007. Carp larvae are not susceptible to koi herpesvirus. *Fish Pathology* 42: 107–109.
65. Costes, B., Raj, V.S., Michel, B., Fournier, G., Thirion, M., Gillet, L., Mast, J., Loeffrig, F., Bremont, M., Vanderplasschen, A., 2009. The major portal of entry of koi herpesvirus in *Cyprinus carpio* is the skin. *Journal of Virology* 83: 2819–2830.
66. Yuasa, K., Sano, M., 2009. Koi herpesvirus: status of outbreaks, diagnosis, surveillance, and research. *Israeli Journal of Aquaculture Bamidgah* 61: 169–179.
67. St-Hilaire, S., Beevers, N., Way, K., Le Deuff, R.M., Martin, P., Joiner, C., 2005. Reactivation of koi herpesvirus infections in common carp *Cyprinus carpio*. *Diseases of Aquatic Organisms* 67: 15–23.
68. Xu, J.R., Bently, J., Beck, L., Reed, A., Miller-Morgan, T., Heidel, J.R., Kent, M.L., Rockey, D.D., Jin, L., 2013. Analysis of koi herpesvirus latency in wild common carp and ornamental koi in Oregon, USA. *Journal of Virological Methods* 187: 372–379.
69. Yuasa, K., Ito, T., Sano, M., 2008. Effect of water temperature on mortality and virus shedding in carp experimentally infected with koi herpesvirus. *Fish Pathology* 43: 83–85.
70. Pikarsky, E., Ronen, A., Abramowitz, J., Levavi-Sivan, B., Hutoran, M., Shapira, Y., Steinitz, M., Perelberg, A., Soffer, D., Kotler, M., 2004. Pathogenesis of acute viral disease induced in fish by carp interstitial nephritis and gill necrosis virus. *Journal of Virology* 78: 9544–9551.
71. Hedrick, R.P., Gilad, O., Yun, S., Spangenberg, J., Marty, G.D., Nordhausen, R.W., Kebus, M., Bercovier, H., Eldar, A., 2000. A herpesvirus associated with mass mortality of juvenile and adult koi, a strain of common carp. *Journal of Aquatic Animal Health* 12: 44–57.
72. Dong, C., Weng, S., Li, W., Li, X., Yi, Y., Liang, Q., He, J., 2011. Characterization of a new cell line from caudal fin of koi, *Cyprinus carpio koi*, and first isolation of cyprinid herpesvirus 3 in China. *Virus Research* 161: 140–149.
73. Piačková, V., Pokorová, D., Veselý, T., Čížek, A., Zusková, E., Pospíchal, A., Reschová, S., 2015. Prevence vzniku koi herpesvirózy v chovech kapra a koi kapra. *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 161, 33 s.*

1.4. CIRCOVIRIDAE

Cirkoviry jsou malé (12–27 nm), neobalené viry s ikosahedrální kapsidou obsahující jednovláknovou cirkulární DNA. Čeleď *Circoviridae* je relativně nová, ale rychle rostoucí díky vývoji molekulárních diagnostických technik (1). Cirkoviry se replikují v buněčném jádře (2), ale o jejich schopnosti vyvolat onemocnění u ryb se zatím ještě mnoho neví. První rybí cirkovirus byl detekován u plůdku palem obecných (*Barbus barbus*) v případě zvýšené mortality plůdku (*Barbel circovirus*, BaCV)(3). O něco později byl detekován další cirkovirus z případu úhynu dospělých sumců velkých (*Silurus glanis*) v jezeře Balaton (*Catfish circovirus*, CfCV) (4). Souvislost mezi nálezem cirkovirů a těmito dvěma případy onemocnění ryb není zcela prokázána, ale oba případy korespondují s nálezy zjišťovanými při cirkovirových infekcích prasat a ptáků. Podobně nejistá je i souvislost mezi třetím rybím cirkovirem (*Eel circovirus*, EeCV) a onemocněním úhořů doprovázeným papilomatózními nádorovými změnami v okolí ústního otvoru (5).

1.4.1. PAPILOMATÓZA ÚHOŘŮ

Úvod. Papilomatóza, neboli „květákovitá nemoc“ evropských úhořů říčních (*Anguilla anguilla*)(papillomatosis anguillarum, stomatopapillomatosis – **StoPa**, cauliflower disease, orocutaneous papillomatosis) byla poprvé popsána na začátku 20. stol. v Baltském moři (6). Poté se rozšířila podél severního evropského pobřeží od Polska až po Skotsko (Německo, Švédsko, Dánsko). Sporadicky se objevuje u úhořů v přítocích severoevropských řek (7,6) a velmi zřídka bývá zaznamenána i u nás.

Původce. Původce tohoto onemocnění není zcela jasný. V některých publikacích je uváděn pozitivní nález podobný viru infekční nekrózy pankreatu subtypu Ab (8). Tento aquabirnavirus, nazývaný „evropský úhoří virus“ (*Eel virus Europe* – EVE), je však častěji spojován s jiným onemocněním japonských a evropských úhořů, doprovázeným abnormálním tvarem trupu v důsledku křečovitého strnutí a překrvením břicha, ploutví a žaber (9,10). Z ryb postižených typickými papilomatózními nádorovými změnami byly izolovány různé viry (birna-, orthomyxo- a rhabdoviry)(11,12,8), ale zdá se, že ani jeden z nich není jediným samostatným původcem onemocnění. Z úhořů postižených stomatopapilomatózou v Německu byl izolován virus nazvaný *Eel virus-2* (EV-2), pravděpodobně orthomyxovirus, ale ani zde jeho role při vzniku onemocnění nebyla dostatečně objasněna. Podobný virus byl izolován z mladých úhořů v pobřežních vodách Severní Ameriky (13). Poslední virologický nález z úhořů z jezera Balaton trpících papilomatózou byl pro svou podobnost s cirkoviry nazván *Circo-like virus* (5).

Vnímavé druhy. Vnímavý je úhoř říční.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Původce papilomatózy se šíří vodou ze zamořeného prostředí a především prostřednictvím infikovaného monté.

Podmiňující faktory. Významnou roli při vzniku a rozvoji papilomatózních změn pravděpodobně hraje přítomnost chemických polutantů a teplota vody (14). Byla zaznamenána určitá sezónnost výskytu papilomatózních změn u úhořů s kulminací v letních měsících (15).

Průběh a vývoj onemocnění. Choroba má chronický průběh, může trvat i několik let. Není prokazatelně známo, kdy dochází k nakažení úhořů. Vzhledem ke geografickému rozšíření choroby je pravděpodobné, že k němu dochází ještě ve stádiu monté. Patologické změny a s nimi související klinické příznaky se však objevují až u dospělých úhořů. Pokud nejsou nádorovitými útvary příliš omezováni v příjmu potravy, mohou se dožít i poměrně vysokého věku (5).

Klinické příznaky. Klinický obraz závisí na rozsahu a lokalizaci polypovitých útvarů. Příznaky se objevují až v pokročilém stádiu onemocnění. Nemocné ryby jsou malátné, obtížně plavou, ztrácejí plachost, nepřijímají potravu, hubnou a postupně ojedinele hynou (16).



Obr. 1.4.1.1. Květákovitý útvar v okolí dutiny ústní (formalinový preparát)(A, B); histologický řez fibroepiteliálním papilomem (C)(barvení H&E). (Foto: A, B – J. Grmela, C – M. Palíková)

Patologické změny. Benigní epidermální neoplazmata (fibroepiteliální papilomy) vyrůstají většinou v oblasti hlavy, ale mohou se vyskytnout i na jiných částech těla (14). Papilomy jsou zpočátku drobné, později nabývají květákovitého charakteru a jsou tmavě pigmentovány. Jsou tvořeny proliferující pojivovou tkání překrytou mnohvrstevným epitelem (obr. 1.4.1.1). Bývá také pozorována proliferace malpighických buněk v pojivové tkáni. Srdeční svalovina může být prostoupena světle šedými skvrnami, které mikroskopicky odpovídají myomu (benigní nádor vycházející z buněk srdeční svaloviny) (5).

Diagnóza. Při hledání původce papilomatózy byly využívány různé diagnostické metody, jako např. sérum neutralizační test (8) nebo kultivace na buněčných liniích FHM a RTG-2 (rainbow trout gonad)(12). Pro identifikaci circo-like viru byla použita PCR (5).

Terapie. Terapie se neprovádí.

Prevence. Spočívá v eliminaci dovozů úhořího monté z oblastí, kde se papilomatóza vyskytuje. Proto je důležité sledovat zdravotní stav úhořů vylovených z našich rybníků a rybářských revírů a případné nálezy dávat do souvislosti s původem monté.

LITERATURA

1. Tuboly, T., 2016. Circoviruses of Fish. In: Kibenge, F.S.B. and Godoy, M.G. (Eds). *Aquaculture Virology*; Elsevier Academic Press, London, UK, pp. 183–192.
2. Mankertz, J., Bulk, H.J., Blaess, G., Mankertz, A., 1998. Transcription analysis of porcine circovirus (PCV). *Virus Genes* 16: 267–276.
3. Lőrincz, M., Czágola, A., Farakas, S.L., Székely, C., Tuboly, T., 2011. First detection and analysis of fish circovirus. *Journal of General Virology* 92: 1817–1821.

4. Lőrincz, M., Dán, Á., Láng, M., Csaba, G., Tóth, G.A., Székely, C., Cságola, A., Tuboly, T., 2012. Novel circovirus in European catfish (*Silurus glanis*). Archives of Virology 157: 1173–1176.
5. Dospoly, A., Tarján, Z.L., Glávits, R., Müller, T., Benkö, M., 2014. Full genome sequence of a novel circo-like virus detected in an adult European eel *Anguilla anguilla* showing signs of cauliflower disease. Diseases of Aquatic Organisms 109: 107–115.
6. Wolf, K., 1988. Fish Viruses and Fish Virus Diseases. Cornell University Press, Ithaca, New York, 476 p.
7. Delves-Broughton, J., Fawell, J.K., Woods, D., 1980. The first occurrence of 'cauliflower disease' of eels *Anguilla anguilla* L. in the British Isles. Journal of Fish Diseases 3: 255–256.
8. Ahne, W., Schwanz-Pfützner, I., Thomsen, I., 1987. Serological identification of 9 viral isolates from European eels (*Anguilla anguilla*) with stomatopapilloma by means of neutralization tests. Journal of Applied Ichthyology 3: 30–32.
9. Sano, T., 1976. Viral diseases of cultured fishes in Japan. Fish Pathology 10: 221–226.
10. Sano, T., Okamoto, N., Nishimura, T., 1981. A new viral epizootic of *Anguilla japonica* Temminck and Schlegel. Journal of Fish Diseases 4: 127–139.
11. Wolf, K., Quimby, M.C., 1973. Fish viruses: buffers and methods for plaquing eight agents under normal atmosphere. Applied Microbiology 25: 659–664.
12. McAllister, P.E., Nagabayashi, T., Wolf, K., 1997. Viruses of eels with and without stomato papillomas. Annals of the New York Academy of Sciences 298: 233–244.
13. Nagabayashi, T., Wolf, K., 1979. Characterization of EV-2, a virus isolated from European eels (*Anguilla anguilla*) with stomatopapilloma 1. Virology 30: 358–364.
14. Peters, G., 1975. Seasonal fluctuations in the incidence of epidermal papillomas of the European eel *Anguilla anguilla* L. Journal of Fish Biology 7: 415–422.
15. Möller, H., 1984. Dynamics of fish diseases of the lower Elbe River. Helgoländer Meeresunters 37: 389–413.
16. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. Ediční středisko Veterinární a farmaceutické univerzity Brno, 155 p.

RNA viry

Lubomír Pojezdal, Tomáš Veselý

1.5. BIRNAVIRIDAE

Čeď Birnaviridae zahrnuje velké množství virových druhů infikujících široké spektrum organismů. Název čeledi je odvozen od její charakteristické genetické informace, kterou tvoří **bisegmentovaná RNA**. V současnosti je čeď Birnaviridae dělena na 4 rody: *Avibirnavirus* s typovým druhem, virem infekční burzitidy drůbeže, *Blosavirus* se zástupcem *Blotched snakehead virus* (lat. *Channa maculata*), *Entomobirnavirus*, pod který spadá virus octomilky obecné (*Drosophila melanogaster*) *Drosophila X virus* a konečně rod *Aquabirnavirus* s typovým druhem, virem infekční nekrózy pankreatu (*Infectious pancreatic necrosis virus* – IPNV)(1). Do rodu *Aquabirnavirus* je řazeno široké spektrum virů postihujících více než 100 druhů mořských a sladkovodních ryb, měkkýšů a korýšů, druh IPNV však zahrnuje pouze zástupce vyvolávající onemocnění lososovitých ryb (2).

1.5.1. INFEKČNÍ NEKRÓZA PANKREATU

Úvod. Infekční nekróza pankreatu (infekční nekróza slinivky, infectious pancreatic necrosis – IPN) je onemocnění plůdku lososovitých ryb, projevující se destrukcí tkáně pankreatu spojenou až s 90% mortalitou, v závislosti na věkové kategorii ryb. Virus je rozšířen ve všech oblastech intenzivního odchovu lososovitých ryb (3,4) a působí značné ekonomické ztráty zejména v zemích severní a západní Evropy (5). V České republice byl poslední případ IPN virologicky potvrzen v roce 2001 (6), je však nutno poznamenat, že od povinného vyšetřování na přítomnost viru bylo upuštěno po roce 2011 (7).

Původce. Virus infekční nekrózy pankreatu (IPNV) je typovým druhem rodu *Aquabirnavirus* v čeledi Birnaviridae. Virus je neobalený, s velikostí částic přibližně 60 nm (8) a jeho genetickou informaci tvoří bisegmentovaná dvouvláknová RNA, která kóduje dva strukturální a čtyři nestrukturální proteiny (9). Izoláty viru je serologicky možné rozdělit do dvou seroskupin s množstvím serotypů (10) nebo genetickou analýzou na sedm genoskupin typických svou geografickou příslušností (11,12).

Vnímavé druhy. Podle prováděcího nařízení Komise (EU) č. 2016/1096 patří mezi vnímavé druhy pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) spolu s ostatními zástupci rodu *Oncorhynchus*, siven americký (*Salvelinus fontinalis*), pstruh obecný (*Salmo trutta*), losos obecný (*Salmo salar*) a síh severní (*Coregonus lavaretus*). Virus byl izolován také z lipana podhorního (*Thymallus thymallus*), ze zástupců čeledi kaprovitých (Cyprinidae), úhořovitých (Anguillidae), štikovitých (Esocidae), okounovitých (Percinidae) a z dalších sladkovodních i mořských druhů ryb (13).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Přítomnost viru IPN byla potvrzena u volně žijících ryb v mořském i sladkovodním prostředí, kde je předpokládán zdroj infekce v přilehlých zamořených chovech (14,15). Virus se v prostředí šíří kontaktem ryb horizontálně. K přenosu infekce postačuje už nízký titr viru, což naznačuje efektivní mechanismus nakažení hostitele přes žábry, střevo nebo kůži (2). Byl prokázán i vertikální přenos viru uvnitř jikry (16).

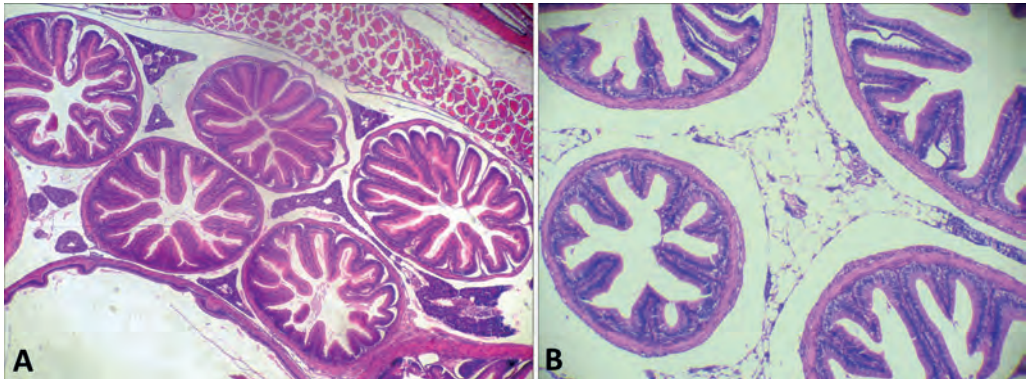
Podmiňující faktory. U pstruha duhového jsou nejvnímavější raná stadia plůdku, k projevům nemoci obvykle nedochází u ryb, které překročily hranici 1500 denních stupňů, resp. délku pěti

centimetrů (17). U lososa je nejrizikovější skupinou ryba po přesunu do mořských klecí ve věku 12–24 měsíců (18). Ryby každého věku však mohou sloužit jako chroničtí nosiči viru (19). Infekce se typicky projevuje při teplotách 6–16 °C (17).

Průběh a vývoj onemocnění. Inkubační doba onemocnění je dlouhá 4–7 dnů. Virus projevuje afinitu k buňkám střevní sliznice, ledvin a zejména pankreatu (20).

Klinické příznaky. Typickými, ne však patognomickými příznaky jsou anorexie a poruchy plavání plůdku se spirálovitým pohybem nebo poleháváním u bočních stěn a dna nádrže. Může být pozorováno i ztmavnutí povrchu těla, zvětšení tělní dutiny a exoftalmus. Mortalita u nejmladších kategorií dosahuje až 90 % (2). V případě chronického onemocnění nemusí docházet k projevení klinických příznaků, virus je však rybami dlouhodobě vylučován (16).

Patologické změny. Pitevní nález je opět nespecifický, viditelná je bledost žaber, ledvin, sleziny a jater. Trávicí trakt neobsahuje zažítinu, pouze hlen mléčné barvy. Možný je výskyt roztroušených hemoragií, zejména mezi pylorickými přívěsky (13). Histologickým vyšetřením jsou zjištěny rozsáhlé nekrózy střevní stěny a acinárních buněk exokrinního pankreatu (19) (obr. 1.5.1.1).



Obr. 1.5.1.1. Histologický řez pylorickými přívěsky zdravých ryb, mezi nimiž se nachází okrsky inertní pankreatické tkáně (A); nekróza až vymizení pankreatické tkáně při infekční nekróze pankreatu (B) (barvení H&E). (Foto: H. Schmidt-Posthaus)

Diagnóza. Klinické ani patologicko-anatomické příznaky nejsou pro vyslovení diagnózy dostatečné. Pro kultivaci viru se jako nejvhodnější jeví linie CHSE-214, BF-2 a RTG-2 (21). Z molekulárních metod jsou k dispozici konvenční RT-PCR (22) i real-time RT-PCR (23). Dostupné jsou komerční sady pro serologické vyšetření IPNV.

Terapie. Specifická terapie není dostupná. V důsledku nízké ceny postižené ryby – plůdku nebývá nasazena ani léčba podpurná.

Prevence. Komerční vakcíny proti IPN jsou dostupné pro lososa obecného, žádná však pro pstruha duhového. Je proto nutné klást důraz na ochranu chovu a zejména líhni před zavlečením infikovaných ryb nebo jiker z důvodu vertikálního přenosu viru (16). Virus je v prostředí citlivý vůči běžným dezinfekčním prostředkům (19). Na existenci genetických markerů odolnosti vůči IPN je založen vývoj šlechtitelských programů, jejichž výsledkem jsou mimo jiné odolnější linie pstruha duhového. Tyto jsou v současné době komerčně dostupné pro trhy v Norsku, Velké Británii a Chile (24).

LITERATURA

1. Delmas, B., Mundt, E., Vakharia, V.N., Wu, J.L., 2011. Birnaviridae ICTV 9th Report (2011). In: <https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/dsrna-viruses-2011/w/dsrna_viruses/176/birnaviridae>. Navštíveno: 22. května 2018.
2. Munro, E.S., Midtlyng, P.J., 2011. Infectious pancreatic necrosis and associated aquatic birnaviruses. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections, 2nd edn. CAB International, Preston, UK, pp. 1–65.
3. Zhu, L., Wang, X., Wang, K., Yang, Q., He, J., Qin, Z., Geng, Y., Ouyang, P., Huang, X., 2017. Outbreak of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in farmed rainbow trout in China. *Acta Tropica* 170: 63–69.
4. Crane, M.S.J., Hardy-Smith, P., Williams, L.M., Hyatt, A.D., Eaton, L.M., Gould, A., Handler, J., Kattenbelt, J., Gudkovs, N., 2000. First isolation of an aquatic birnavirus from farmed and wild fish species in Australia. *Diseases of Aquatic Organisms* 43: 1–14.
5. Olesen, N.J., Vendramin, N., 2016. Report: 20th Annual workshop of the national reference laboratories for fish diseases, Copenhagen, Denmark, pp. 20–22.
6. Reschova, S., Pokorova, D., Hulova, J., Kulich, P., Vesely, T., 2008. Surveillance of viral fish diseases in the Czech Republic over the period January 1999 – December 2006. *Veterinarni Medicina* 53: 86–92.
7. SVSCR. 2018. Nákazová situace v ČR. In: <<https://www.svscr.cz/zdravi-zvirat/zdravi-ryb/nakazova-situace-v-cr/>>. Navštíveno 9. května 2018.
8. Dobros, P., Hallett, R., Kells, D.T.C., Soresen, O., Rowe, D., 1977. Biophysical studies of infectious pancreatic necrosis virus. *Journal of Virology* 22: 150–159.
9. Dobros, P., 1995. The Molecular Biology of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV). *Annual Review of Fish Diseases* 5: 20–54.
10. Hill, B.J., Way, K., 1995. Serological classification of infectious pancreatic necrosis (IPN) virus and other aquatic birnaviruses. *Annual Review of Fish Diseases* 5: 55–77.
11. Blake, S., Ma, J.Y., Caporale, D.A., Jairath, S., Nicholson, B.L., 2001. Phylogenetic relationships of aquatic birnaviruses based on deduced amino acid sequences of genome segment A cDNA. *Diseases of Aquatic Organisms* 45: 89–102.
12. Nishizawa, T., Kinoshita, S., Yoshimizu, M., 2006. An approach for genogrouping of Japanese isolates of aquabirnaviruses in a new genogroup, VII, based on the VP2/NS junction region. *Journal of General Virology* 86: 1973–1978.
13. Wolf, K. Infectious pancreatic necrosis. In: Wolf, K., 1988. *Fish Viruses and Fish Viral Diseases*. Cornell University Press, Ithaca, USA, pp. 115–158.
14. Knuesel, R., Segner, H., Wahli, T., 2003. A survey of viral diseases in farmed and feral salmonids in Switzerland. *Journal of Fish Diseases* 26: 167–182.
15. Wallace, I.S., Gregory, A., Murray, A.G., Munro, E.S., Raynard, R.S., 2008. Distribution of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in wild marine fish from Scottish waters with respect to clinically infected aquaculture sites producing Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases* 31: 177–186.

16. Bootland, L.M., Dobos, P., Stevenson, R.M.W., 1991. The IPNV carrier state and demonstration of vertical transmission in experimentally infected brook trout. *Diseases of Aquatic Organisms* 10: 13–21.
17. Dorson, M., Trochy, C., 1981. The influence of fish age and water temperature on mortalities of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, caused by a European strain of infectious pancreatic necrosis virus. *Journal of Fish Diseases* 4: 213–221.
18. Mutoloki, S., Jossund, T.B., Ritchie, G., Munangandu, H.M., Eversen, O., 2016. Infectious pancreatic necrosis virus causing clinical and subclinical infections in Atlantic salmon have different genetic fingerprints. *Frontiers in Microbiology* 7: 1393.
19. Noga, E.J. Problem 75: Infectious Pancreatic Necrosis (IPN). In: Noga, E.J., 1996. *Fish Disease Diagnosis and Treatment*. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, USA, pp. 208–2011.
20. Swanson, R.N., Carlisle, J.C., Gillespie, J.H. 1982. Pathogenesis of infectious pancreatic necrosis virus infection in brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), following intraperitoneal injection. *Journal of Fish Diseases* 5: 449–460.
21. Lorenzen, E., Carstensen, B., Olesen, N.J., 1999. Inter-laboratory comparison of cell lines for susceptibility to three viruses: VHSV, IHNV and IPNV. *Diseases of Aquatic Organisms* 37: 81–88.
22. Kerr, C.R.C., Cunningham, C.O., 2006. Moving molecular diagnostics from laboratory to clinical application: a case study using infectious pancreatic necrosis virus serotype A. *Letters in Applied Microbiology* 43: 98–104.
23. Orpetveit, I., Mikalsen, A.B., Sindre, H., Eversen, O., Dannevig, B.H. Midtlyng, P.J., 2010. Detection of Infectious pancreatic necrosis virus in subclinically infected Atlantic salmon by virus isolation in cell culture or real-time reverse transcription polymerase chain reaction: influence of sample preservation and storage. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 22: 886–895.
24. IPN resistance for rainbow trout. 2018. In: <<https://aquagen.no/en/products/trout-eggs/product-documentation-for-rainbow-trout/ipn-resistance-for-rainbow-trout/>>. Navšiveno 22. května 2018.

1.6. RHABDOVIRIDAE

Viry z čeledi Rhabdoviridae jsou typické svou jednovláknovou, záporně orientovanou RNA, která je v důsledku náchylnosti k mutacím odpovědná za existenci širokého spektra rodů a druhů virů spadajících pod tuto čeleď. Hostiteli virů jsou některé druhy rostlin, členovců i obratlovců. Z hlediska akvakultury jsou významné tři rody, jejichž zástupci vyvolávají onemocnění ryb. Rod *Novirhabdovirus* se zástupci viru infekční hematopoetické nekrózy a virové hemoragické septikémie, rod *Sprivivirus*, pod který je řazen virus jarní virémie kaprů a rhabdovirus štičího plůdku a rod *Perhabdovirus*, pod který spadají tři samostatné druhy: *Perch perhabdovirus* (rhabdovíroza okounovitých), *Sea trout perhabdovirus* (rhabdovíroza sivena obrovského) a *Anguillid perhabdovirus* (evropský X virus úhořů a americký virus úhořů)(1).

1.6.1. INFEKČNÍ HEMATOPOETICKÁ NEKRÓZA

Úvod. Infekční hematopoetická nekróza (infekční nekróza krvetvorné tkáně, infectious hematopoietic necrosis – **IHN**) je onemocnění lososovitých ryb, které bylo poprvé popsáno ve Spojených státech amerických v r. 1953 (2) s projevy destrukce krvetvorné tkáně, generalizovaných hemoragií, ascitu a masivních úhynů převážně nejmladších kategorií pstruhů a lososů. Jeho sporadický nebo pravidelný výskyt je monitorován a potvrzen ve více zemích Evropské unie, včetně České republiky, kde onemocnění působí vážné ztráty v chovech pstruha duhového. Onemocnění patří mezi neexotické nákazy povinné hlášením podle Směrnice Rady 2006/88/ES.

Původce. Infekční hematopoetickou nekrózu způsobuje modelový zástupce rodu *Novirhabdovirus* čeledi Rhabdoviridae, podle nové klasifikace (1) nazvaný *Salmonid novirhabdovirus* (dříve označovaný jako virus infekční nekrózy krvetvorné tkáně [IHNV]). Do rodu *Novirhabdovirus* jsou kromě tohoto druhu řazeny další tři druhy virů: *Piscine novirhabdovirus*, další významný patogen lososovitých ryb – původce virové hemoragické septikémie (viz kapitola 1.6.2.), *Hirame novirhabdovirus* (HIRRV), který působí ekonomické ztráty v chovech japonského halibuta (*Paralichthys olivaceus*)(3) a *Snakehead novirhabdovirus* (1). Obalená částice viru tvaru projektilu obsahuje spirálovitě stočenou záporně orientovanou jednovláknovou molekulu RNA o velikosti přibližně 11000 nukleotidů. RNA kóduje šest proteinů: nestrukturní Nv protein, který je charakteristickým znakem rodu *Novirhabdovirus* a pět strukturních proteinů (N, P, M, G, L)(4). Virus je rozdělen do pěti genoskupin, typických svojí geografickou příslušností. Genoskupiny U, M a L nacházíme v chovech a volných vodách západního pobřeží Severní Ameriky (z ang. „upper, middle, low“)(5), genoskupina E postihuje chovy pstruha duhového v Evropě (6) a genoskupina J byla izolována v chovech lososů a pstruha duhového v Japonsku (7).

Vnímavé druhy. Podle vyhlášky č. 59/2013 Sb. patří mezi vnímavé druhy ryb zástupci rodů *Oncorhynchus* a *Salmo*, jmenovitě pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*), losos obecný (*Salmo salar*), losos keta (*Oncorhynchus keta*), losos kisuč (*Oncorhynchus kisutch*), losos masu (*Oncorhynchus masou*), losos nerka (*Oncorhynchus nerka*), losos pacifický rodur (*Oncorhynchus rhodurus*) a losos čavyča (*Oncorhynchus tshawytscha*). Příležitostně infekce byly popsány u volně žijícího nebo farmově chovaného pstruha obecného (*Salmo trutta*), sivena amerického a severního (*Salvelinus fontinalis*, *S. alpinus*), štiky obecné (*Esox lucius*), úhoře říčního (*Anguilla anguilla*), jesetera bílého (*Acipenser transmontanus*), sledě pacifického (*Clupea pallasii*) a tresky obecné (*Gadus morhua*)(8). V České republice byl virus nalezen u pstruha duhového a štiky obecné.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Lokalitou přirozeného výskytu IHNV je severozápadní pobřeží Severní Ameriky, od Aljašky po Kalifornii (5). Prostřednictvím obchodu s rybami a jikrami došlo k rozšíření viru do chovů lososovitých ryb v Asii (Japonsko, Čína, Korea) a zemí Evropy včetně ČR (6,7,8). Přítomnost viru ve volných vodách byla v Evropě potvrzena ve Francii, Švýcarsku (9) a v Kosově (10). Infekce se šíří zejména horizontálně – vodou a kontaktem s infikovanými rybami, které virus vylučují močí a slizem (6). Vstupní bránou infekce jsou žábry a kůže u báze ploutví (11). Možné je také nakažení trávicím traktem – pozřením infikované tkáně. Virus nemá schopnost pronikat do spermií a jiker, může však docházet k nepřímému vertikálnímu přenosu nákazy infikovanými pohlavními tekutinami (12).

Podmiňující faktory. Kromě stupně virulence kmene viru odpovědného za vypuknutí konkrétního ohniska hraje u IHN hlavní roli stáří, resp. hmotnost hostitele. Nejcitlivější jsou nejranější stádia ryb (plůdek do tří gramů), u kterých mortalita dosahuje až 100 %. Stejný izolát viru v pokusu způsobil 50% mortalitu u ryb o hmotnosti 15–20g a 20% mortalitu u pstruhů duhových vážících 40–50g (13). Teplota vody, při které dochází k nejvýraznější propagaci viru, je 8–15 °C. Virus však může způsobovat úhyny i mimo toto rozmezí, potvrzená je jeho schopnost replikace při 3–18 °C (8). Vysoká hustota rybí obsádky má výrazný vliv na zvýšení četnosti přenosu infekce v rámci nádrže v důsledku přímého kontaktu zdravých a nakažených ryb, jakož i prostřednictvím snížené kvality vody a zvýšeného stresu, ke kterému při ní dochází (14). Stres je také důvodem zvýšené produkce viru hostitelem v období výtěru.

Průběh a vývoj onemocnění. Inkubační doba závisí na teplotě vody a velikosti ryb. K prvním úhynům u plůdku může docházet již čtyři dny po infekci (14). Po průniku viru do těla dojde k pomnožení viru v epidermálních buňkách a k následné kolonizaci orgánů krvevorné tkáně 2.–4. den po infekci (15). Slezina a hlavová ledvina jsou nejvíce postiženými orgány, virus je možné nalézt také v játrech, pankreatu, srdci a ve svalovině (12). V případě chronické subklinické infekce je možnost detekce viru u přeživších rybách až jeden rok po infekci (16). Za místo perzistence viru je také považována nervová tkáň (17).

Klinické příznaky. Popisované jsou pouze nespecifické příznaky: anorexie, dezorientace, letargie střídaná prudkými fázemi aktivity. Výrazný je denní nárůst mortality, úhrnná mortalita může dosahovat až 100 % (13).

Patologické změny. Typické, ne však patognomické, jsou příznaky společné s virovou hemoragickou septikémií: ztmavnutí povrchu těla, exoftalmus, bledé žábry, krváceniny u bází ploutví, v orgánech a ve svalovině. V důsledku poruchy krvevornosti se objevuje anémie, tělní dutina se z důvodu hromadění tekutiny (ascites) zvětšuje (18). Při histologickém vyšetření jsou patrné degenerativní změny a nekrotická ložiska v krvevorné tkáni sleziny a ledviny (17).

Diagnóza. Legislativa EU umožňuje u infekční nekrózy krvevorné tkáně stejné možnosti definitivní diagnostiky přítomnosti patogenu jako v případě VHS. Jedná se o molekulární metodu real-time RT-PCR, při které je detekována přítomnost RNA viru IHN, nebo o nespecifickou izolaci viru na vybraných buněčných liniích (EPC, RTG-2), která je následně doplněna metodou molekulární (real-time RT-PCR, konvenční RT-PCR) nebo metodou enzymově-imunoanalytickou či imunofluorescenční (ELISA, IFAT).

Terapie. Terapie není dostupná.

Prevence. Od r. 2005 je v Kanadě a USA schválená DNA vakcína proti IHN v chovech lososů (19) pod obchodním názvem APEX-IHN. Injekční aplikace do svalů však snižuje její potenciál využití pro chov pstruha duhového vzhledem k nižší hmotnosti ryb v čase aplikace, nízké ceně jednoho kusu zvířete a technicky problematické manipulaci s větším počtem ryb. V současné době není žádná vakcína proti IHN licencována pro podmínky Evropské unie. Prevence zavlečení

onemocnění do chovu, kontrola kupovaných živých ryb, dezinfekce jiker a používaného vybavení tak spolu s povinným hlášením podezření na přítomnost nákazy a následnými mimořádnými veterinárními opatřeními a eradikací ohniska zůstávají nejspolehlivějším způsobem ochrany zdravého chovu.

1.6.2. VIROVÁ HEMORAGICKÁ SEPTIKÉMIE

Úvod. Virová hemoragická septikémie (*Egtved virus*, infekční anémie pstruhů, infekční vodnatelnost pstruhů, *Piscine novirhabdovirus*, viral haemorrhagic septicaemia – **VHS**) byla poprvé popsána v Dánsku v r. 1938 za příznaků generalizovaných hemoragií, sepse a vysoké mortality. V současné době je ekonomicky nejvýznamnějším virovým onemocněním v chovech pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) kontinentální Evropy včetně České republiky. Postihuje také široké spektrum mořských i sladkovodních ryb severní polokoule, od chovu platýzů v Asii (20) po volně žijící populace ryb v Atlantickém a Tichém oceánu a jezerech Severní Ameriky (21). Patří mezi neexotické nákazy povinné hlášením podle směrnice Rady 2006/88/ES.

Původce. Virus virové hemoragické septikémie (VHSV) patří mezi rhabdoviry rodu *Novirhabdovirus* čeledi Rhabdoviridae společně s virem infekční hematopoetické nekrózy (IHNV)(1). Obalená částice viru o velikosti 60 × 200 nm má tvar projektilu a obsahuje jednovláknovou záporně orientovanou RNA o velikosti přibližně 11200 nukleotidů, která kóduje jeden nestrukturní (Nv) a pět strukturních proteinů (N, P, M, G, L). Virus je rozdělen do čtyř genotypů I–IV, které korelují s geografickým rozšířením viru a mohou dále obsahovat podskupiny (22). V ČR je nejpravděpodobnější rozšíření podskupiny Ia – izoláty kontinentální Evropy.

Vnímavé druhy. Podle vyhlášky č. 59/2013 Sb. patří mezi tuzemské vnímavé druhy ryb kromě pstruha duhového (a obecně rodu *Oncorhynchus*) také pstruh obecný (*Salmo trutta*), štika obecná (*Esox lucius*) a lipan podhorní (*Thymallus thymallus*). OIE však eviduje určitý stupeň vnímavosti u více než 80 druhů mořských, brakických a sladkovodních ryb (23). Možnost nákazy nebo přenašečství proto není vyloučena ani u okouna říčního (*Perca fluviatilis*), sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*), úhoře říčního (*Anguilla anguilla*), karasa zlatého (*Carassius auratus*)(24) či lososa obecného (*Salmo salar*). Ve světě jsou podstatné ekonomické ztráty způsobené úhynem v chovech pakambaly velké (*Scophthalmus maximus*) a japonského halibuta (*Paralichthys olivaceus*), převážně v Japonsku a Koreji (20). Ve volné přírodě je virus potvrzen u sledě (*Clupea* spp.), síha (*Coregonus* spp.), tresky (*Gadus* spp.) a šprota (*Sprattus* spp.). Z ekologického hlediska vynikají hromadné úhyny až 28 druhů sladkovodních ryb, ke kterým dochází v posledních 20 letech v oblasti severoamerických Velkých jezer (21).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. VHSV se přirozeně vyskytuje v populacích mořských ryb Baltského a Severního moře, Atlantického a Tichého oceánu (25) a pobřežních vod Japonska a Koreje (26). Přítomnost a závažnost viru ve sladkovodním prostředí je dobře dokumentována v Severní Americe (27). V kontinentální Evropě jsou nálezy viru nebo protilátek u volně žijících ryb popisovány převážně v návaznosti na přílehlá ohniska nákazy v chovech pstruha duhového (28). Hlavním mechanismem šíření onemocnění je horizontální přenos – kontakt zdravých a infikovaných ryb. Virus do těla proniká žábrami a kůží. Nakažení jedinci virus vylučují především močí a kůží. U VHSV nedochází k pravému vertikálnímu přenosu onemocnění (29), virus však může být přítomen v pohlavních tekutinách. Popsán je také přenos viru pozřením

svaloviny infikovaných ryb (30). Z faktorů prostředí může k přenosu viru dojít prostřednictvím vody, techniky a vybavení, které přišly do kontaktu s infikovanými rybami. Popisováno je i šíření viru prostřednictvím roznosu nakažených kadáverů rybožravým ptactvem (28).

Podmiňující faktory. Virus může vyvolat onemocnění a úhyn u všech věkových kategorií hostitele. K infekci je nejcitlivější plůdek o váze 0,3–3,0 g (31). K přenosu viru typicky dochází při teplotách 1–15 °C, s nejvyšší četností při 9–12 °C (23). Onemocnění se často projeví při stresu – při změnách teploty v jarním období, manipulaci s rybami, vysoké hustotě rybí obsádky, nevhodné kvalitě vody. Dosavadní pokusy o vyšetření méně vnímavých linií pstruha duhového byly neúspěšné (32).

Průběh a vývoj onemocnění. Inkubační doba závisící na teplotě vody a infekční dávce se pohybuje v rozmezí 3–30 dnů po infekci. Virus do těla proniká žábami a kůže a při akutním průběhu onemocnění po dvou dnech způsobuje poškození endotelu cév. Tři dny po infekci je virus přítomen v ledvinách a hostitel začíná viriony vylučovat močí. Následuje destrukce jaterního parenchymu a exokrinního pankreatu v rozpětí 4–5 dnů po infekci (31). V případě chronického průběhu dochází k minimálním ztrátám a klinickým příznakům, typické je však dlouhodobé (měsíce) vylučování viru postiženými jedinci (33).

Klinické příznaky. Jsou vesměs nespecifické. Jedná se o letargii nebo naopak plachost, poruchy plavání a udržování rovnováhy, dezorientaci a anorexii. Pozorujeme prudké zvýšení mortality v chovu, u pstruha duhového může dosahovat hodnoty přes 50 %.

Patologické změny. Charakteristickými, ne však patognomickými změnami jsou ztmavnutí povrchu těla, exoftalmus a hemoragie u bázi ploutví (obr. 1.6.2.1). Při pitvě jsou viditelné roztroušené hemoragie ve svalech a vnitřních orgánech. V důsledku anémie může dojít k bledému zabarvení jater a žaber a hromadění výpotku v tělní dutině (obr. 1.6.2.2). Slezina může být zvětšená, ledviny bývají v pokročilém stádiu nekrotické (34).



Obr. 1.6.2.1. Virová hemoragická septikémie: ztmavnutí těla a exoftalmus (A); exoftalmus s periokulárními hemoragiemi u pstruha duhového (B). (Foto: A – M. Palíková, B – T. Veselý)



Obr. č. 1.6.2.2. Virová hemoragická septicémie: hemoragie ve stěně plynového měchýře, anémie žaber a jater (A); hemoragie v játrech, v tukové tkáni a na peritoneu (B); hemoragie ve svalovině (C). (Foto: M. Palíková)

Diagnóza. Na základě patologicko-anatomických nálezů může být vyslovena pouze suspektní diagnóza (podezření na nákazu). Z důvodu zařazení VHS mezi nákazy povinné hlášením je nevyhnutelné každé podezření na přítomnost VHSV následně potvrdit virologickými a molekulárními metodami. Prováděcí rozhodnutí Komise (EU) 2015/1554 jako možnosti definitivní diagnostiky VHSV uvádí buď samostatnou detekci nukleové kyseliny viru metodou real-time RT-PCR, nebo kombinaci izolace viru na vnímavé buněčné linii (EPC, BF-2, RTG-2) s následnou identifikací viru metodou molekulární (konvenční RT-PCR, real-time RT-PCR) nebo enzymově-imunoanalytickou či imunofluorescenční (ELISA, IFAT).

Terapie. Komerční terapie není dostupná. Podpůrná terapie se nevyužívá z důvodu povinného zavedení mimořádných veterinárních opatření v případě potvrzení ohniska nákazy.

Prevence. Komerční vakcína proti VHSV není dostupná, experimentální vakcíny dosahují rozličné úrovně ochrany před infekcí (35,36) s výjimkou DNA vakcín, které v infekčních pokusech dosahují dobrých výsledků (37). V podmínkách EU však vakcinace vzhledem ke statusu choroby není možná. Ochrana zdravého chovu před zavlečením nákazy obchodem s rybami tak zůstává nejjistějším způsobem prevence výskytu VHS. U plůdku a dospělých ryb se jedná především o znalost nálezové situace v místě odchovu a karanténu ryb po přijetí do vlastního zařízení. U jiker je doporučena dezinfekce povrchu, která zabraňuje nepřímému vertikálnímu

přenosu viru (29). Běžné dezinfekční prostředky na bázi chlóru nebo jódu deaktivují virus na technickém zařízení a pomůckách (38). Dezinfekce zdroje vody prostřednictvím UV záření je jednou z možností ochrany chovu před zavlečením viru (39).

1.6.3. JARNÍ VIRÉMIE KAPRŮ

Úvod. Jarní virémie kaprů (infekční vodnatelnost kaprů, zánět plynového měchýře, spring viraemia of carp – **SVC**) je generalizované krvácivé onemocnění především mladších kategorií kapra obecného, které může způsobovat úmrtnost až 70 %. Příznaky a souvislost výskytu se zvýšením teploty vody v jarním období byly popisovány už začátkem 20. století (40), virový původ nemoci však byl odhalen až v 70. letech (41). SVC patří na seznam nákaz sledovaných Světovou organizací pro zdraví zvířat (42). Výskyt viru byl potvrzen ve většině zemí Evropy, v Severní Americe, Brazílii a Číně (43,44,45). V České republice je virus přítomen a příležitostně diagnostikován, přesné údaje o promoření chovů však nejsou k dispozici v důsledku absence plošného monitoringu.

Původce. Virus jarní virémie kaprovitých, *Carp sprivivirus* (dříve *Spring viraemia of carp virus* – SVCV) patří do čeledi Rhabdoviridae. Do rodu *Sprivirus*, kterého je SVCV typovým druhem, patří ještě druh *Pike sprivivirus* (1,46). Historicky byl SVCV řazen do rodu *Vesiculovirus* (47). Obalená částice viru má tvar projektilu o velikosti 80–180 nm. Genetickou informaci viru tvoří jednovláknová negativně orientovaná RNA o velikosti přibližně 11000 nukleotidů, která kóduje pět strukturálních proteinů (N, P, M, G, L)(48). Na základě genetické analýzy je virus možné rozdělit do čtyř podskupin (Ia–Id) typických svou geografickou příslušností (46).

Vnímavé druhy. Podle nařízení Komise (EU) č. 1096/2016 patří mezi vnímavé druhy kromě kapra obecného a kapra koi (*Cyprinus carpio*) také tolstolobec pestrý (*Aristichthys nobilis*), karas stříbřitý (*Carassius gibelio*), karas obecný (*Carassius carassius*), amur bílý (*Ctenopharyngodon idella*), tolstolobik bílý (*Hypophthalmichthys molitrix*), sumec velký (*Silurus glanis*), lín obecný (*Tinca tinca*) a jelec jesen (*Leuciscus idus*). Přirozená infekce je popisována u cejna velkého (*Abramis brama*)(49), štiky obecné (*Esox lucius*) (50) a jesetera sibiřského (*Acipenser baerii*) (51); experimentálně byla nakažena plotice obecná (*Rutilus rutilus*) (52).

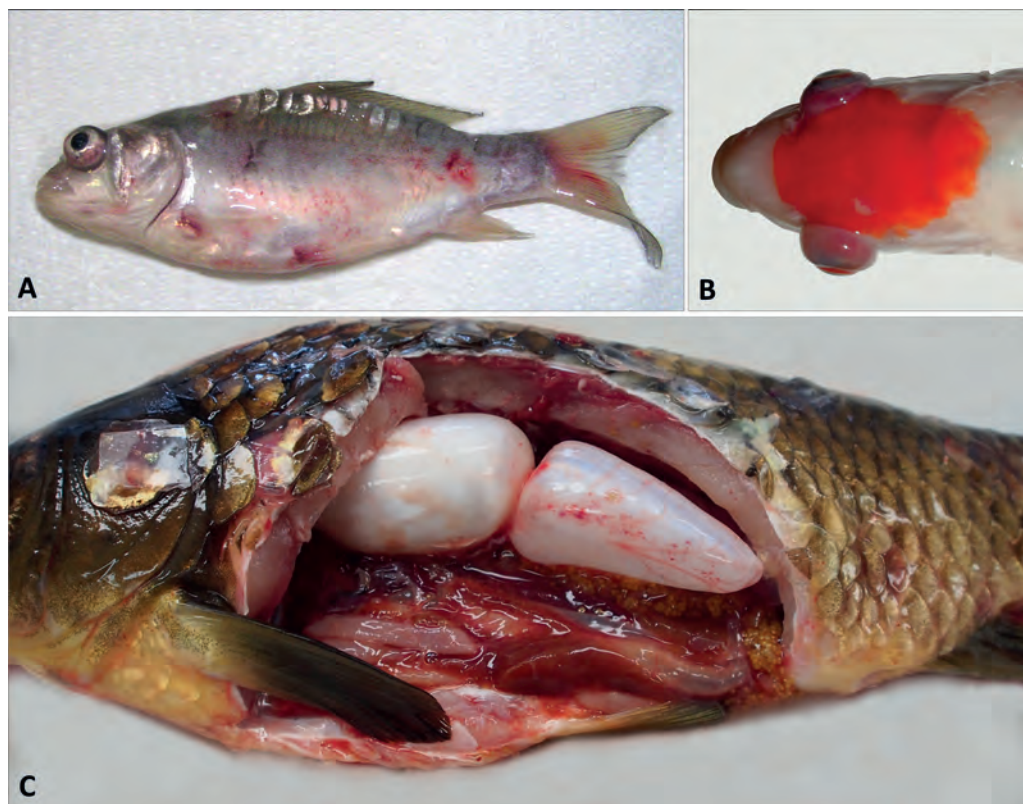
Zdroj infekce a nakažení hostitele. Virus se v prostředí šíří horizontálně – přímým kontaktem ryb nebo vodou. Vertikální přenos jikrami nebo pohlavními tekutinami se nejvíce pravděpodobným, nelze ho však úplně vyloučit. Původce byl izolován také z kapřivce plochého (*Argulus foliaceus*) a chobotnatky rybí (*Piscicola geometra*) odebraných z infikovaných ryb (44). Nově popsaným zdrojem viru je obojživelník – čolek východní (*Cynops orientalis*), u kterého byl v roce 2016 nalezen životaschopný virus SVC (54). Roli dalších druhů zvířat v pozici vektoru viru proto není možné podceňovat. Vstupní branou infekce do těla hostitele jsou žábry, infikované ryby virus vylučují výkaly a močí.

Podmiňující faktory. Nejvyšší vnímavost k infekci vykazují mladé ryby do jednoho roku, mortalita u nich může dosahovat až 70 % obsádky. Vnímavé jsou však všechny věkové kategorie, pouze s mortalitou obvykle nepřesahující 30 % (40). Teplota vody má výrazný vliv na průběh onemocnění, typické projevy infekce je možné pozorovat v teplotním rozmezí 10–17 °C. Infekce s mírnějšími příznaky je však popsána už při teplotě 5 °C a úhyny plůdku se vyskytují při teplotách do 23 °C (40, 44). Několik výzkumných skupin se zabývá šlechtěním kapra na odolnost vůči jarní virémii, žádná linie však dosud nebyla podrobena zdokumentovanému infekčnímu testu (40).

Průběh a vývoj onemocnění. Inkubační doba je plně závislá na teplotě vody, při teplotě 17 °C je nárůst mortality pozorován 10–15 dnů po infekci, při nižších teplotách je nástup onemocnění pomalejší. Virus je ve slezině, ledvině, játrech a střešní stěně přítomen již čtyři dny po infekci a způsobuje generalizovanou virémii pět dnů po průniku do těla hostitele. V případě chronické nebo bezpříznakové infekce je virus vylučován po dobu několika měsíců (55). Často dochází k přidružení sekundárních, zejména bakteriálních infekcí.

Klinické příznaky. Typické jsou hromadné úhyny především kapra obecného mladších věkových kategorií, ostatní druhy ryb bývají postiženy v menší míře. Nemocní jedinci jsou apatičtí, shromažďují se u břehu nebo u přítoku vody a vykazují ztrátu reflexů. Viditelné je u nich ztmavnutí povrchu těla, anémie žaber, exoftalmus a zvětšení dutiny tělní (55).

Patologické změny. Výrazný je edém všech orgánů, přítomnost tekutiny nebo srůstů v dutině tělní a četných hemoragií v kůži, podkoží, orgánech a především ve stěně plynového měchýře (obr. 1.6.3.1). Slezina může být zvětšená (56). Histologicky je možné pozorovat ložiskovou nekrózu a hyperémii v játrech, slezině, kaudální i kranální ledvině, pankreatu a peritoneu. V plynovém měchýři je přítomno narušení vrstvy *lamina epithelialis* (44).



Obr. 1.6.3.1. Jarní virémie kaprů: hemoragie na povrchu těla a u báze ploutví a exoftalmus u plůdku kapra (A); exoftalmus u koi kapra (B); hemoragie na plynovém měchýři (C). (Foto: A – T. Veselý, B, C – M. Palíková)

Diagnóza. Virus je možné kultivovat na buněčných liniích EPC a FHM při teplotě 20 °C. Následná identifikace viru může být provedena metodou enzymově-imunoanalytickou nebo imunofluorescenční (ELISA, indirect fluorescent antibody technique – IFAT) nebo molekulární – konvenční RT-PCR s následnou nested PCR (50). Elektronovou mikroskopií je možné pozorovat typické částice viru tvaru projektilu. Doporučena je následná sekvenční analýza pozitivního vzorku. Pozitivní nález serologickými metodami musí být potvrzen metodou molekulární nebo použitím monoklonální protilátky z důvodu vysoké zkřížené reaktivity příbuzných zástupců rodu *Sprivirus* (44). Při změnách na plynových měchýřích je nutné v rámci diferenciatní diagnostiky vyloučit parazitární původce, např. myxozoární infekce (viz kapitola 3.8.3).

Terapie. Specifická terapie proti SVC není dostupná. V případě okrasných ryb je možné postupně umělé zvýšení teploty nad 20 °C. Aplikace antibiotických a antiparazitárních přípravků může mít vliv na snížení mortality v chovu.

Prevence. Komerční vakcína proti SVC není v současné době dostupná. Od výroby české injekční vakcíny bylo upuštěno v 80. letech. Inaktivované vakcíny vykazují nedostatečný stupeň ochrany. DNA vakcíny, které byly úspěšně testovány proti jiným rybím rabdovírům (IHNV, VHSV), ukázaly v laboratorních pokusech s SVCV slibné výsledky a představují proto vhodný cíl výzkumu (57). Nejpodstatnějším faktorem v ochraně chovu je zabránění zavlečení nákazy. Doporučit lze znalost zdravotního stavu nakupovaných ryb, karanténu ryb před smícháním obsádek, odchov vlastního plůdku a starší násady. Dobrá kondice ryb, kvalitní krmivo a nízké parazitární zatížení pomáhají snížit mortalitu v případě výskytu onemocnění (44,55).

1.6.4. RABDOVIRÓZA ŠTIČÍHO PLŮDKU

Úvod. Rabdoviróza plůdku štiky obecné (rabdoviróza štik, pike fry rhabdovirus disease – PFRD) je akutní onemocnění plůdku štiky obecné typické vysokou mortalitou u nejmladších kategorií, projevující se hemoragickou nebo hydrocefalickou formou. Virový původce onemocnění byl popsán v Holandsku v roce 1973 (58) a onemocnění se sporadicky vyskytuje v chovech na území Evropy (59), včetně České republiky (53).

Původce. Původce onemocnění, *Pike sprivirus* (dříve označovaný jako virus rabdovirózy štičího plůdku, *Pike fry rhabdovirus* – PFRV), patří do čeledi Rhabdoviridae rodu *Sprivirus*. S druhem *Carp spirivirus* (SVCV) sdílí PFRV 65–66 % genetické struktury, stavbu nukleové kyseliny a virionu a také některé antigenní vlastnosti (47,60). *Pike sprivirus* v současné době zahrnuje také izoláty v minulosti označované jako rabdovirus amurů (*Grass carp rhabdovirus* – GCRV) a rabdovirus línů (*Tench rhabdovirus* – TRV), které se vyznačují vysokou genetickou příbuzností bez současného výskytu společného předka (1). Historicky byl PFRV společně s SVCV řazen do rodu *Vesiculovirus* (47).

Vnímavé druhy. Hlavním hostitelem viru je štika obecná (*Esox lucius*), původce však byl izolován také ze sumce velkého (*Silurus glanis*), cejnka malého (*Blicca bjoerkna*), stěvličky východní (*Pseudorasbora parva*), jelce jesena (*Leuciscus idus*) a plotice obecné (*Rutilus rutilus*) (55). U starších zdrojů popisujících infekci u amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) a lína obecného (*Tinca tinca*) není známo, zda se nejednalo o izoláty GCRV a TRV (46).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Přirozený výskyt viru se předpokládá v oblastech intenzivního odchovu štiky obecné. Přenos viru je horizontální – kontaktem zdravých a nakažených ryb. Pravý vertikální přenos nelze vyloučit, dezinfekce jodovými preparáty však deaktivuje 99,9% viru přítomného na povrchu jiker a zabraňuje následné infekci (61).

Podmiňující faktory. Nejnímavější jsou nejmladší věkové kategorie plůdku, u kterých může mortalita dosahovat až 100 %. Plůdek velikosti nad pět centimetrů vykazuje značně sníženou míru nakažení, která dále klesá s postupujícím věkem hostitele (61). Typickým obdobím výskytu příznaků jsou jarní měsíce – březen až duben, kdy se teplota vody pohybuje v rozmezí 12–20 °C. Virus je však schopen replikace při teplotách 10–31 °C (58).

Průběh a vývoj onemocnění. Při teplotě 15 °C je možné první příznaky zvýšené mortality pozorovat 14 dnů po infekci, již 25 dnů po experimentální infekci však mortalita dosahovala 100 % (61).

Klinické příznaky. Postižené ryby jsou apatické, plavou osamoceně a uléhají na dno. V případě hydrocefalické formy ryby vykazují nervové příznaky – poruchy rovnováhy a spirálovitý pohyb, viditelný bývá exoftalmus a zduření dorzální části hlavy.

Patologické změny. U hydrocefalické formy jsou hlavním patologickým nálezem otoky a hemoragie ve svalovině, ledvině a míše. Tělní dutina obsahuje výpotek, perikardiální prostor může být naplněn krví. Hemoragická forma se projevuje hemoragiemi pozorovatelnými zejména mezi prsními ploutvemi, a bledými žábry (62). Histologicky je viditelná nekróza a degenerativní změny tubulů ledvin (62).

Diagnóza. Virus je možné kultivovat při 20 °C na buněčných liniích FHM a BF-2 (55). Při následné enzymově-imunoanalytické nebo nepřímé imuno fluorescenční (ELISA, IFAT) identifikaci viru je podstatný výběr monoklonální protilátky, v důsledku vysoké zkřížené reaktivity virů rodu *Sprivirus* (60). Konvenční RT-PCR následovaná sekvenční analýzou představuje nejjistější způsob identifikace zástupců rodu *Sprivirus* (46).

Terapie. Specifická terapie není dostupná, podpůrná terapie není vzhledem ke kategorii ryb a rychlému průběhu onemocnění praktická.

Prevence. Komerční vakcína není dostupná. Potřebná je ochrana chovu a zejména prostorů líhně před zavlečením infekce. Té může být dosaženo znalostí zdravotního stavu generačních ryb, dezinfekcí jiker a karanténou nově nakoupených ryb (62).

LITERATURA

1. Walker, P.J., Blasdell, K.R., Calisher, C.H., Dietzgen, R.G., Kondo, H., Kurath, G., Longdon, B., Stone, D.M., Tesh, R.B., Tordo, N., Vasilakis, N., Whitfield, A.E., and ICTV Report Consortium, 2018. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Rhabdoviridae*. Journal of General Virology 99: 447–448.
2. Rucker, R.R., Whipple, W.J., Parvin, J.R., Evans, C.A., 1953. A contagious disease of salmon possibly of virus origin. US Fish and Wildlife Service Fisheries Bulletin 54: 35–46.
3. Zhang, J., Tang, X., Sheng, X., Xing, J., Zhan, W., 2017. Isolation and identification of a new strain of hirame rhabdovirus (HIRRV) from Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in China. Virology Journal 14: 73.
4. Morzunov, S.P., Winton, J.R., Nichol, S.T., 1995. The complete genome structure and phylogenetic relationship of infectious hematopoietic necrosis virus. Virus Research 38: 175–192.
5. Kurath, G., Garver, K.A., Emmenegger, E.J., Einer-Jensen, K., Anderson, E.D., 2003. Phylogeography of infectious haematopoietic necrosis virus in North America. Journal of General Virology 84: 803–814.
6. Enzmann, P.J., Castric, J., Bovo, G., Thiery, P.F., Schutze, H., Wahli, T. 2010., Evolution of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV), a fish rhabdovirus, in Europe over 20 years: implications for control. Diseases of Aquatic Organisms 89: 9–15.

7. Nishizawa, T., Kinoshita, S., Kim, W.S., Higashi, S., Yoshimizu, M., 2006. Nucleotide diversity of Japanese isolates of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) based on the glycoprotein gene. *Diseases of Aquatic Organisms* 71: 267–272.
8. OIE. 2017. Chapter 2.3.4. Infectious Hematopoietic Necrosis. In: *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals* (2017)
9. Knusel, R., Bergmann, S.M., Einer-Jensen, K., Casey, J., Segner, H., Wahli, T., 2007. Virus isolation vs RT-PCR: which method is more successful in detecting VHSV and IHNV in fish tissue sampled under field conditions? *Journal of Fish Diseases* 30: 559–568.
10. Rexhepi, A., Berxholi, K., Scheinert, P., Hamidi, A., Sherifi, K., 2011. Study of viral diseases in some freshwater fish in the Republic of Kosovo. *Veterinarski Arhiv* 81: 405–413.
11. Harmache, A., LeBerre, M., Droineau, S., Giovanni, M., Bremont, M., 2006. Bioluminescence imaging of live infected salmonids reveals that the fin bases are the major portal of entry for *Novirhabdovirus*. *Journal of Virology* 80: 3655–3659.
12. Dixon, P., Paley, R., Alegria-Moran, R., Oidtmann, B., 2016. Epidemiological characteristics of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV): a review. *Veterinary Research* 47: 63.
13. Bergmann, S., Fichtner, D., Skall, H.F., Schlodtfeld, H.J., Olesen, N.J., 2003. Age- and weight-dependent susceptibility of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to isolates of infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV) of varying virulence. *Diseases of Aquatic Organisms* 55: 205–210.
14. Ogut, H., Reno, W.P., 2004. Effects of fish density on spread of infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *The Israeli Journal of Aquaculture* 56: 218–225.
15. Bootland, L.M., Leong, J.A.C., 2011. Infectious Hematopoietic Necrosis Virus. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. 2011. *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*, 2nd edn. CAB International, Preston, UK, pp. 1–65.
16. Drolet, B.S., Chiou, P.P., Heidel, J., Leong, J.A.C., 1995. Detection of truncated virus particles in a persistent RNA virus infection *in vivo*. *Journal of Virology* 69: 2140–2147.
17. Muller, A., Sutherland, B.J.G., Koop, B.F., Johnson, S.C., Garver, K.A., 2015. Infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) persistence in Sockeye Salmon: influence on brain transcriptome and subsequent response to the viral mimic poly (I:C). *BMC Genomics* 16: 634.
18. Ahmadivand, S., Soltani, M., Mardani, K., Shokrpour, S., Hassanzadeh, R., Ahmadpoor, M., Rahmati-Holasoo, H., Meshkini, S., 2017. Infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) outbreak in farmed rainbow trout in Iran: Viral isolation, pathological findings, molecular confirmation, and genetic analysis. *Virus Research* 229: 17–23.
19. Garver, K.A., LaPatra, S.E., Kurath, G., 2005. Efficacy of an infectious hematopoietic necrosis (IHNV) virus DNA vaccine in Chinook *Oncorhynchus tshawytscha* and sockeye *O. nerka* salmon. *Diseases of Aquatic Organisms* 64: 13–22.
20. Isshiki, T., Nishizawa, T., Kobayashi, T., Nagano, T., Miyazaki, T., 2001. An outbreak of VHSV (viral hemorrhagic septicemia virus) infection in farmed Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in Japan. *Diseases of Aquatic Organisms* 47: 87–99.

21. Thompson, T.M., Batts, W.N., Faisal, M., Bowser, P., Casey, J.W., Phillips, P., Garver, K.A., Winton, J., Kurath, G., 2011. Emergence of *Viral hemorrhagic septicaemia virus* in the North American Great Lakes region is associated with low viral genetic diversity. *Diseases of Aquatic Organisms* 96: 29–43.
22. Einer-Jensen, K., Ahrens, P., Forsberg, R., Lorenzen, N., 2004: Evolution of the fish rhabdovirus viral haemorrhagic septicaemia virus. *Journal of General Virology* 85: 1167–1179
23. OIE. 2017. Chapter 2.3.10. Viral Haemorrhagic Septicaemia. In: *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals* (2017)
24. Getchell, R.G., Erkinharju, T., Johnson, A.O., Davis, B.W., Hatch, E.E., Cornwell, E.R., Bowser, P.R., (2015) Goldfish *Carassius auratus* susceptibility to viral hemorrhagic septicaemia virus genotype IVb depends on exposure route. *Diseases of Aquatic Organisms* 115: 25–36.
25. Meyers, T.R., Minton, J.R., 1995. Viral haemorrhagic septicaemia virus in North America. *Annual Review of Fish Diseases* 5: 3–24.
26. Elsayed, E., Faisal, M., Thomas, M., Whelan, G., Batts, W., Winton, J., 2006. Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus from muskellunge, *Esox masquinongy* (Mitchill), in Lake St Clair, Michigan, USA reveals a new sublineage of the North American genotype. *Journal of Fish Diseases* 29: 611–619.
27. Kim., R., Faisal, M., 2011. Emergence and resurgence of the viral hemorrhagic septicemia virus (Novirhabdovirus, Rhabdoviridae, Mononegavirales). *Journal of Advanced Research* 2: 9–23.
28. Knuesel, R., Segner, H., Wahli, T., 2003. A survey of viral diseases in farmed and feral salmonids in Switzerland. *Journal of Fish Diseases* 26: 167–182.
29. Munro, E.S., Gregory, A., 2010. The risk associated with vertical transmission of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 30: 154–158.
30. Schonherz, A.A., Hansen, M.H.H., Jorgensen, H.B.H., Berg, P., Lorenzen, N., Einer-Jensen, K., 2012. Oral transmission as a route of infection for viral haemorrhagic septicaemia virus in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 35: 395–406.
31. Smail, D.A., Snow, M., 2011. Viral Haemorrhagic Septicaemia. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W., 2011. *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*, 2nd Edition. CAB International, Preston, UK, pp. 110–142.
32. Slierendrecht, W.J., Olesen, N.J., Juul-Madsen, H.R., Lorenzen, N., Henryon, M., Berg, P., Sondergaard, J., Koch, C., 2001. Rainbow trout offspring with different resistance to viral haemorrhagic septicaemia. *Fish and Shellfish Immunology* 11: 155–167.
33. Hershberger, P.K., Gregg, J.L., Grady, C.A., Taylor, L., Winton, J.R., 2010. Chronic and persistent viral hemorrhagic septicemia virus infections in Pacific herring. *Diseases of Aquatic Organisms* 93: 43–49.
34. Stone, D.M., Ferguson, H.W., Tyson, P.A., Savage, J., Wood, G., Dodge, M.J., Woolford, G., Dixon, P.F., Feist, S.W., Way, K., 2008. The first report of viral haemorrhagic septicaemia in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in the United Kingdom. *Journal of Fish Diseases* 31: 775–784.
35. Kavaliauskis, A., Arnemo, M., Speth, M., Lagos, L., Rishovd, A.L., Estepa, A., Griffiths, G., Gjoen, T., 2016. Protective effect of a recombinant VHSV-G vaccine using poly(I:C) loaded nanoparticles as an adjuvant in zebrafish (*Danio rerio*) infection model. *Developmental and Comparative Immunology* 61: 248–257.

36. Isshiki, T., Morimoto, M., Iwasaki, M., Abe, M., Nagano, T., Hazama, T., Song, J.Y., Kitamura, S.I., 2012. Protective efficacy of a formalin-inactivated vaccine against viral haemorrhagic septicaemia in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fish Pathology* 47: 121–128.
37. Lorenzen, N., Lorenzen, E., Einer-Jensen, K., 2001. Immunity to viral haemorrhagic septicaemia (VHS) following DNA vaccination of rainbow trout at an early life-stage. *Fish and Shellfish Immunology* 11: 585–591.
38. Phelps, N.B.D., Goodwin, A.E., Marceux, E., Goyal, S.M., 2013. Comparison of treatments to inactivate viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV-IVb) in frozen baitfish. *Diseases of Aquatic Organisms* 102: 211–216.
39. Alfonso, L.O.B., Richmond, Z., Eaves, A.A., Richard, J., Hawley, L.M., Garver, K.A., 2012. Use of ultraviolet C (UVC) radiation to inactivate infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) and viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) in fish processing plant effluent. *Journal of Aquaculture Research and Development* 3: 120.
40. Ahne, W., Bjorklund, H.V., Essbauer, S., Fijan, N., Kurath, G., Winton, J.R., 2002. Spring viremia of carp (SVC). *Diseases of Aquatic Organisms* 52: 261–272.
41. Fijan, N., Petrinc, Z., Sulimanovic, D., Zwilenberg, L.O., 1971. Isolation of the viral causative agent from the acute form of infectious dropsy of carp. *Veterinarski Arhiv* 41: 125–138.
42. OIE-Listed diseases, infections and infestations in force in 2018. In: <<http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2018/>>. Navštíveno 9. května 2018.
43. Garver, K.A., Dwilow, A.G., Richard, J., Booth, T.F., Beniac, D.R., Souter, B.W., 2007. First detection and confirmation of spring viraemia of carp virus in common carp, *Cyprinus carpio* L., from Hamilton Harbour, Lake Ontario, Canada. *Journal of Fish Diseases* 30: 665–671.
44. OIE. 2017. Chapter 2.3.9. Spring Viraemia of Carp. In: *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals (2017)*
45. Shao, L., Zhao, J., 2017. Isolation of a highly pathogenic spring viraemia of carp virus strain from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in late summer, China, 2016. *Virus Research* 238: 183–192.
46. Stone, D.M., Ajne, W., Denham, K.L., Dixon, P.F., Liu, C.T.Y., Sheppard, A.M., Taylor, G.R., Way, K., 2003. Nucleotide sequence analysis of the glycoprotein gene of putative spring viraemia of carp virus and pike fry rhabdovirus isolates reveals four genogroups. *Diseases of Aquatic Organisms* 53: 203–210.
47. Carstens, E.B., 2010. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2009). *Archives of Virology* 155: 133–146.
48. Ashraf, U., Lu, Y., Lin, L., Youan, J., Wang, M., Liu, X., 2016. Spring viraemia of carp virus: recent advances. *Journal of General Virology* 97: 1037–1051.
49. Basic, O., Schachner, O., Bilic, I., Hess, M., 2009. Phylogenetic analysis of spring viraemia of carp virus isolates from Austria indicates the existence of at least two subgroups within genogroup Id. *Diseases of Aquatic Organisms* 85: 31–40.
50. Koutna, M., Vesely, T., Psikal, I., Hulova, J., 2003. Identification of spring viraemia of carp virus (SVCV) by combined RT-PCR and nested PCR. *Diseases of Aquatic Organisms* 55: 229–235.
51. Vicenova, M., Reschova, S., Pokorova, D., Hulova, J., Vesely, T., 2011. First detection of pike fry-like rhabdovirus in barbel and spring viraemia of carp virus in sturgeon and pike in aquaculture in the Czech Republic. *Diseases of Aquatic Organisms* 95: 87–95.

52. Haenen, O.L.M., Davidse, A., 1993. Comparative pathogenicity of two strains of pike fry rhabdovirus and spring viremia of carp virus for young roach, common carp, grass carp and rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms* 15: 87–92.
53. Ip, S.H., Lorch, J.M., Blehert, D.S., 2016. Detection of spring viraemia of carp virus in imported amphibians reveals an unanticipated foreign animal disease threat. *Emerging Microbes & Infections* 5: 97.
54. Sano, M., Nakai, T., Fijan, N., 2011. Viral Diseases and Agents of Warmwater Fish. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W., 2011. *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*, 2nd Edition. CAB International, Preston, UK, pp. 166–244.
55. Jeremic, S., Jakic-Dimi, D., Radosavljevic, V., 2004. Dissemination of spring viraemia of carp (SVS) in Serbia during the period 1992-2002. *Acta Veterinaria (Beograd)* 54: 289--299.
56. Wolf, K., 1988. Spring Viraemia of Carp. In: Wolf, K. 1988. *Fish Viruses and Fish Viral Diseases*. Cornell University Press, Ithaca, USA, pp. 191–217.
57. Emmenegger, E.J., Kurath, G., 2008. DNA vaccine protects ornamental koi (*Cyprinus carpio koi*) against North American spring viremia of carp virus. *Vaccine* 26: 6415–6421.
58. Kinkelin, P., Galimard, B., Bootsma, R., 1973. Isolation and identification of the causative agent of "red disease" of pike (*Esox lucius* L. 1766). *Nature* 241: 465–467.
59. Hong-Lian, C., Hong, L., Zong-Xiao, L., Jun-Qiang, H., Long-Ying, G., Xiu-Jie, S., Yu-Lin, J., 2009. Characterization of the complete genome sequence of pike fry rhabdovirus. *Archives of Virology* 154: 1489–1494.
60. Dixon, P.F., Longshaw, C.B., 2005. Assessment of commercial test kits for identification of spring viraemia of carp virus. *Diseases of Aquatic Organisms* 67: 25–29.
61. Bootsma, R., 1975. Transmission experiments with pike fry (*Esox lucius* L.) rhabdovirus. *Journal of Fish Biology* 7: 269–276
62. Wolf, K., 1988. Pike Fry Rhabdovirus Disease. In: Wolf, K., 1988. *Fish Viruses and Fish Viral Diseases*. Cornell University Press, Ithaca, USA, pp. 177–187.

1.7. ORTHOMYXOVIRIDAE

Viry z čeledi Orthomyxoviridae jsou typické svojí jednovláknovou záporně orientovanou RNA, která je dělená na 6–10 segmentů v závislosti na příslušnosti k rodu. Virové částice jsou obalené a dosahují velikosti 80–140 nm. Společným znakem čeledi je přítomnost strukturálního glykoproteinu hemaglutinin-esterázy (HE), který virionům umožňuje přichycení k hostitelské buňce (1). Nejznámějším zástupcem čeledi Orthomyxoviridae je široká skupina influenzavirů, čeleď však obsahuje také rod *Isavirus* s jediným zástupcem napadajícím ryby – virem infekční anémie lososů (1). Nově popsany virus *Tilapia lake virus* (TiLV)(2) je díky svým vlastnostem v literatuře označován jako podobný orthomyxovirům (orthomyxo-like), v době vzniku této publikace však ještě nebyl definitivně zařazen (1).

1.7.1. INFEKČNÍ ANÉMIE LOSOSŮ

Úvod. Nakažlivá chudokrevnost lososů (infectious salmon anaemia – ISA) je generalizované onemocnění projevující se anémií, ascitem a vysokou úhrnnou mortalitou. Vyskytuje se především v mořském odchovu lososa obecného. Popsáno bylo v Norsku v roce 1984 (3) a v současné době postihuje chovy lososů v severní Evropě, Severní Americe a Chile. Jedná se o neexotickou nákazu povinnou hlášením podle směrnice Rady 2006/88/ES, Česká republika jí však je z historických důvodů prostá.

Původce. Virus infekční anémie lososů (*Salmon isavirus* – ISAV) patří do čeledi Orthomyxoviridae a je typovým druhem rodu *Isavirus* (1). Obalené částice viru mají velikost 120–140 nm (4) a jejich genetickou strukturu tvoří osm segmentů jednovláknové RNA záporné polarity o velikosti přibližně 14500 nukleotidů (5), které kódují deset proteinů. Z povahy genomu tohoto viru plyne jeho vysoká schopnost mutace i v prostředí jednoho hostitele (6). Z hlediska systematického a epidemiologického je nejpodstatnější gen pro hemaglutinin-esterázu (HE), konkrétně jeho úsek HPR (high polymorphism region, oblast četných polymorfizmů), který se vyskytuje ve dvou podobách. Virus s kompletní strukturou této oblasti, označovaný také HPR0, je plošně rozšířen v populaci farmově chovaných lososů a působí mezi nimi pouze přechodné infekce s minimálními klinickými příznaky (7,8), na rozdíl od formy HPR-deleted (HPRΔ), která je odpovědná za ohniska onemocnění infekční anémie lososů s typickými klinickými příznaky a vysokou kumulativní mortalitou (9). Dlouhodobě teoretizovaná možnost přímé mutace HPR0 kmene na virulentní formu HPRΔ byla poprvé pozorována až v roce 2016 (10).

Vnímavé druhy. Podle vyhlášky č. 59/2013 Sb. patří mezi vnímavé druhy losos obecný (*Salmo salar*), pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) a pstruh obecný (*Salmo trutta*). Přirozená infekce se vyskytuje také u lososa kisuč (*Oncorhynchus kisutch*)(11).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Lokality přirozeného výskytu ISAV jsou sladké a mořské vody severní Evropy (12,13) a Severní Ameriky (14). Výskyt viru v populacích volně žijících ryb v Chile je vázán na ohniska nákazy v přilehlých chovech (11). Virus se šíří převážně horizontálně – kontaktem zdravých a nakažených ryb. Virus do organismu proniká žábami (7). Ryby virus vylučují hlenem, močí, trusem i krví (9). V prostředí odchovu lososů v mořských klecích je nejvýznamnějším rizikovým faktorem blízkost jiného ohniska nákazy (15), předpokládá se však také vliv volně žijících ryb jako vektoru nákazy (12). Experimentálně je také potvrzen mechanický přenos prostřednictvím mořských vší (*Lepeophtheirus salmonis*)(16). Z hlediska vertikálního přenosu viru není možné vyloučit roli jiker a embryí nakažených generačních ryb jako potenciálního zdroje infekce (17).

Podmiňující faktory. Klinické onemocnění se, až na výjimky, projevuje u ryb po přesunu do mořských klecí ve věku 12 a více měsíců. Největší mortality jsou zaznamenávány během jarních a podzimních měsíců (18). Stres spojený s vysokou hustotou obsádky, nevhodné počasí v zimním období a zátěž v podobě bakteriálních a parazitárních onemocnění zhoršují klinický průběh nemoci (16).

Průběh a vývoj onemocnění. Inkubační doba se v chovech pohybuje v rozmezí týdnů až měsíců, při experimentálních infekcích trvá 2 až 3 týdny (3). Po proniknutí viru do organismu hostitele žábrami (7) se původce množí v buňkách endotelu žaberních cév. Poté je možné virus najít ve všech orgánech (19). Průběh nemoci je dlouhodobý a je spojen s neustálým vylučováním viru hostitelem.

Klinické příznaky. Postižené ryby nepřijímají potravu, ale po dlouhou dobu si udržují normální hmotnost. Jsou letargické, plavou pomalu, zdržují se u hladiny nebo stěn klecí. Typický velmi pozvolný nárůst mortality kolem jednoho promile denně může zpočátku být připisován jiným faktorům, při rozšíření infekce do více klecí však může kumulativní mortalita na farmě dosáhnout až 80 % (9). Infekce HPRO formou viru se projevuje pouze lehkou přechodnou infekcí žaber bez klinických příznaků (7).

Patologické změny. Ukazují na různý stupeň poškození krevního oběhu a projevují se edémem šupinových pouzder, ascitem, hemoragickými projevy (petechiální až masivní krváceniny) v orgánech, ztmavnutím až zčernáním jater v důsledku hemoragické nekrózy a zvětšením sleziny (3). Výrazná je generalizovaná anémie, při plně vyvinuté nemoci hematokrit dosahuje hodnoty nižší než 10 %. Histologický náleze je nespecifický, přítomny bývají nekrózy tubulů ledvin (18).

Diagnóza. Virus je možné kultivovat na buněčných liniích ASK (atlantic salmon kidney) nebo SHK-1 (salmon head kidney) a následně identifikovat metodou molekulární (konvenční RT-PCR, real-time RT-PCR), enzymově-imunoanalytic kou metodou (ELISA), imunofluorescencí (IFAT), nebo alternativně diagnostikovat samostatnou metodou real-time RT-PCR. Výsledek je nutné podrobit sekvenční analýze z důvodu rozlišení viru HPRO a HPRΔ (20).

Terapie. Specifická terapie není dostupná. Možná je podpůrná terapie: zvýšená kvalita krmení, antibakteriální a antiparazitární opatření.

Prevence. Komerční inaktivovaná vakcína proti ISAV se používá v Kanadě, Chile a na Faerských ostrovech (20). V prostředí Evropské unie jsou hygienická a epidemiologická opatření nejjistějším způsobem ochrany proti nákaze. Virus je citlivý na běžné dezinfekční prostředky a včasná identifikace a eradikace viru v jedné kleci výrazně snižuje úhrnnou mortalitu celého chovu (16).

LITERATURA

1. McCauley, J.W., Hongo, S., Kaverin, N.V., Kochs, G., Lamb, R.A., Matrosovich, M.N., Perez, D.R., Palese, P., Presti, R.M., Rimstad, E. and Smith, G.J.D., 2011. Orthomyxoviridae ICTV Report (2011). In: <https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/negative-sense-rna-viruses-2011/w/negrna_viruses/209/orthomyxoviridae>. Navštíveno 22. května 2018.
2. Tsofack, J.E.K., Zamostiano, R., Watted, S., Berkowits, A., Rosenbluth, E., Mishra, N., Briese, T., Lipkin, W.I., Kabuusu, R.M., Ferguson, H., del Pozo, J., Eldar, A., Bacharach, E., 2016. Detection of tilapia lake virus in clinical samples by culturing and nested reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 55: 759–767

3. Thorud, K.E., Djupvik, H.O., 1988. Infectious salmon anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 8: 109–111.
4. Dannevig, B.H., Kalk, K., Namork, E., 1995. Isolation of the causal virus of infectious salmon anaemia (ISA) in a long-term cell line from Atlantic salmon head kidney. Journal of General Virology 76: 1353–1359.
5. Mjaaland, S., Rimstad, E., Falk, D., Dannevig, B.H., 1997. Genomic characterization of the virus causing infectious salmon anemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): An orthomyxo-like virus in a teleost. Journal of Virology 71: 7681–7686.
6. Kulshreshtha, V., Kibenge, M., Salonijs, K., Simard, N., Riveroll, A., Kibenge, F., 2010. Identification of the 3' and 5' terminal sequences of the 8 RNA genome segments of European and North American genotypes of infectious salmon anemia virus (an *Orthomyxovirus*) and evidence for quasispecies based on the non-coding sequences of transcripts. Virology Journal 7: 338.
7. Christiansen, D.H., Ostergaard, P.S., Snow, M., Dale, O.B., Falk, K., 2011. A low-pathogenic variant of infectious salmon anemia virus (ISAV-HPRO) is highly prevalent and causes a non-clinical transient infection in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the Faroe Islands. Journal of General Virology 92: 909–918.
8. Lyngstad, T.M., Kristoffersen, A.B., Hjortaas, M.J., Devold, M., Aspehaug, V., Larssen, R.B., Jansen, P.A., 2012. Low virulent infectious salmon anaemia virus (ISAV-HPRO) is prevalent and geographically structured in Norwegian salmon farming. Diseases of Aquatic Organisms 101: 197–206.
9. Aamelfot, M., Dale, B.O., Falk, K., 2014. Infectious salmon anaemia – pathogenesis and tropism. Journal of Fish Diseases. 37: 291–307.
10. Christiansen, D.H., McBeath, A.J.A., Aamelfot, M., Matejusova, I., Fourrier, M., White, P., Petersen, P.E., Falk, K. 2017. First field evidence of the evolution from a non-virulent HPRO to a virulent HPR-deleted infectious salmon anaemia virus. Journal of General Virology 98: 595–606.
11. Godoy, M.G., Kibenge, M.J.T., Suarez, R., Lazo, E., Heisinger, A., Aguinaga, J., Bravo, D., Mendoza, J., Llegues, K.O., Avenadro-Herrera, R., Vera, C., Mardones, F., Kibenge, F.S.B., 2013. Infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Chilean Atlantic salmon (*Salmo salar*) aquaculture: emergence of low pathogenic ISAV-HPRO and re-emergence of virulent ISAV-HPRΔ: HPR3 and HPR14. Virology Journal 10: 344.
12. Plarre, H., Devold, M., Snow, M., Nylund, A., 2005. Prevalence of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in wild salmonids in western Norway. Diseases of Aquatic Organisms 66: 71–79.
13. Raynard, R.S., Murray, A.G., Gregory, A., 2001. Infectious salmon anaemia virus in wild fish from Scotland. Diseases of Aquatic Organisms 46: 93–100.
14. Kibenge, M.J.T., Iwamoto, T., Wang, Y., Morton, A., Routledge, R., Kibenge, F.S.B., 2016. Discovery of variant infectious salmon anaemia virus (ISAV) of European genotype in British Columbia, Canada. Virology Journal 12: 3.
15. Aldrin, M., Lyngstad, T.M., Kristoffersen, A.B., Storvik, B., Borgan, O., Jansen, P.A., 2011. Modelling the spread of infectious salmon anaemia among salmon farms based on seaway distances between farms and genetic relationships between infectious salmon anaemia virus isolates. Journal of the Royal Society Interface 8: 1346–1356.
16. Valdes-Dononso, P., Mardones, F.O., Jarpa, M., Ulloua, M., Carpenter, T.E., Perez, A.M., 2013. Co-infection patterns of infectious salmon anaemia and sea lice in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in southern Chile (2007–2009). Journal of Fish Diseases 36: 353–360.

17. Mardones, F.O., Martinez-Lopez, B., Valdes-Dononso, P., Carpenter, T.E., Perez, A.M., 2014. The role of fish movements and the spread of infectious salmon anemia virus (ISAV) in Chile, 2007–2009. *Preventive Veterinary Medicine* 114: 37–46.
18. Rimstad, E., Dale, O.B., Dannevig, B.H., Falk, K., 2011. Infectious Salmon Anaemia. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*, 2nd edn. CAB International, Preston, UK, pp. 143–165.
19. Aameloft, M., Dale, O.B., Weli, S.C., Koppang, E.O., Falk, K., 2012. Expression of the infectious salmon anemia virus receptor on Atlantic salmon endothelial cells correlates with the cell tropism of the virus. *Journal of Virology* 86: 10571–10578.
20. OIE. 2017. Chapter 2.3.5. Infection with Infectious Salmon Anaemia Virus. In: *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals* (2017).

1.8. TOGAVIRIDAE

Částice virů čeledi Togaviridae mají typický tvar dvacetistěnu o velikosti přibližně 70 nm. Z povahy jejich genetické informace, jednovláknové pozitivně orientované molekuly RNA náchylné k mutacím, vyplývá jejich rozmanitost (1). Do čeledi tedy patří široká skupina virů postihujících zejména obratlovce, která je přenášena především bodavým hmyzem. Jediným zástupcem infikujícím ryby je druh alfavirus lososovitých (*Salmon pancreas disease virus*) (2), který je řazen do rodu *Alphavirus*. Do tohoto rodu je řazeno dalších 30 druhů virů, žádný z nich však nemá význam pro akvakulturu.

1.8.1. SPAVÁ NEMOC PSTRUHŮ a ONEMOCNĚNÍ PANKREATU LOSOSŮ

Úvod. Spavá nemoc pstruhů (sleeping disease – **SD**) byla poprvé popsána v roce 1994 ve Francii (3) jako chronické onemocnění projevující se nekrózami pankreatu, srdeční a kosterní svaloviny, kumulativní mortalitou do 50 % a typickým výskytem apatických „spících“ ryb v chovech pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a pstruha obecného (*Salmo trutta*). (4). Na základě genetické analýzy bylo v roce 2002 (5) prokázáno, že původce SD je pouze podtypem alfaviru lososovitých, který je už od 70. let znám jako původce onemocnění pankreatu (pancreatic disease – **PD**) lososů chovaných v severní Evropě (6). V současnosti jsou obě onemocnění (SD i PD) uváděna pod názvem **infekce alfavirem lososovitých** (7). Spavá nemoc je kromě Francie a Britských ostrovů (8) rozšířená v chovech kontinentální Evropy: v Itálii, Španělsku (9), Německu a Polsku (7). Onemocnění pankreatu se vyskytuje v oblasti Britských ostrovů (10) a v Norsku (11). Klinické příznaky odpovídající PD byly popsány u lososů v Severní Americe, přítomnost viru mimo Evropu však nebyla potvrzena (12).

Původce. Alfavirus lososovitých (*Salmonid alphavirus* – **SAV**, *Salmon pancreas disease virus*) patří do čeledi Togaviridae a rodu *Alphavirus* (2). Jedná se o obalený virus velikosti 60–70 nm (13) a jeho genetickou informaci tvoří jednovláknová pozitivně orientovaná molekula RNA o přibližné délce 12000 nukleotidů, která kóduje čtyři strukturální a čtyři nestrukturální proteiny (5). Na základě genetických odlišností je virus rozdělen do šesti podtypů SAV1–SAV6 (14). Protilátky proti jednotlivým podtypům SAV vykazují vysoký stupeň zkřížené reaktivity (15), podtypy se však liší geografickou příslušností. Z epidemiologického hlediska je podstatné, že zatímco onemocnění pankreatu lososů vyvolávají všechny podtypy, spavou nemoc u pstruhů (SD) způsobuje pouze podtyp SAV2 (14).

Vnímavé druhy. PD typicky postihuje lososa obecného (*Salmo salar*), v moři chovaného pstruha duhového a pstruha obecného. SD je nejvíce rozšířena v sladkovodních chovech zmiňovaných druhů pstruha (9).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. SAV se endemicky vyskytuje v lokalitách intenzivního chovu lososů v severní Evropě, kde je podezření na přenos viru populacemi volně žijících ryb (16). V kontinentální Evropě je endemický výskyt SAV potvrzen ve Francii (17) a lze ho očekávat i v ostatních krajinách pravidelného výskytu onemocnění. Zdrojem infekce jsou nakažené ryby, které virus vylučují močí, hlenem a výkaly (18). Vertikální přenos jikrami se v současné době jeví nepravděpodobným (19). V případech šíření infekce na dlouhé vzdálenosti je hlavním faktorem přesun živých ryb (11).

Podmiňující faktory. Obě onemocnění se mohou projevit u ryb všech věkových kategorií (20). Vyšší teplota vody v jarním období má vliv na zkrácení inkubační doby onemocnění (21). Vysoká hustota rybí obsádky, nízká kvalita vody a bakteriální nebo parazitární zátěž v chovu

zvyšují mortalitu v důsledku infekce SAV. Známá je závažnost podvojně infekce SAV a viru infekční pankreatické nekrózy (22).

Průběh a vývoj onemocnění. Inkubační doba onemocnění závisí na externích faktorech, pohybuje se od pěti týdnů do šesti měsíců (21). Virus do těla proniká žábami a trávicím traktem a po krátké viremické fázi se usazuje v srdci, ledvině, pankreatu a kosterní svalovině (23).

Klinické příznaky. Obě onemocnění mají společné nespecifické příznaky: anorexie, exoftalmus, ztmavnutí povrchu těla, špatný výživný stav. V chronické fázi spavé nemoci ryby „spí“: projevují apatii, poruchy plavání, polehávají na dně nebo se zdržují po stranách nádrží (4). Chronická fáze onemocnění pankreatu je typická přítomností zakrslých ryb – dlouhé štíhlé kusy s nenávratně poškozenou tkání pankreatu a následnou poruchou růstu (2). Mortalita může dosahovat až 50 % obsádky.

Patologické změny. Patologický nález je nespecifický, vyskytuje se prázdný trávicí trakt a případná petechiální krvácení v orgánech. Histologicky jsou přítomny ložiskové až totální nekrózy acinárních buněk exokrinního pankreatu, nekrózy srdeční svaloviny a tkáně ledvin. V chronické fázi, tj. 40 a více dnů po infekci, je u spavé nemoci viditelná degenerace svalových vláken kosterní svaloviny (20), u zakrslých jedinců s chronickým onemocněním pankreatu pozorujeme rozsáhlou fibrózu periacinární tkáně pankreatu (10).

Diagnóza. Na základě klinických a především histologických nálezů může být vyslovena suspektní diagnóza. Tato musí být potvrzena virologicky – izolací viru na buněčné linii (CHSE-214, BF-2, FHM) s následnou identifikací viru metodou molekulární (konvenční RT-PCR, real-time RT-PCR) nebo enzymově-immunoanalytickou nebo nepřímou imunofluorescencí (ELISA, IFAT). Dostupná je také samostatná metoda real-time RT-PCR a konvenční RT-PCR bez předchozí izolace na buněčné kultuře. Při posuzování histologických nálezů je důležitá diferenciatní diagnostika PD a infekční pankreatické nekrózy, kdy IPN nepostihuje srdeční a kosterní svalovinu (9).

Terapie. Terapie není dostupná.

Prevence. Existuje několik komerčně dostupných inaktivovaných injekčních vakcín proti původci PD u lososa obecného. Vakcíny vycházejí z podtypu SAV1 (9) nebo SAV3 (24). Z podtypu SAV3 vychází také vůbec první DNA vakcína schválená pro použití v EU – Clynav (25). Vakcína specificky cílená na spavou nemoc u pstruha duhového není momentálně dostupná. Ochrana chovu před zavlečením nemoci obchodem s živými rybami je hlavní složkou prevence proti SD u pstruha duhového. Virus je citlivý na běžné dezinfekční prostředky a UV záření, což umožňuje provádět dezinfekci jiker (19), zdroje vody, vybavení, nádrží a technického zařízení (1). Situace je složitější v mořském odchovu lososů, kde již vzdálenost dva kilometry od nejbližšího chovu představuje střední riziko přenosu infekce (11).

LITERATURA

1. Graham, D.A., McLoughlin, M.F., 2011. Salmonid Alphaviruses. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections, 2nd Edition. CAB International, Preston, UK, pp. 245–275.
2. McLoughlin, M.F., Graham, D.A., 2007. Alphavirus infections in salmonids – a review. *Journal of Fish Diseases* 30: 511–531.
3. Boucher, P., Castric, J., Baudin Laurencin, F., 1994. Observations of virus-like particles in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* infected with sleeping disease virulent material. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 14: 215–216.
4. Boucher, P., Raynard, R.S., Houghton, G., Baudin Laurencin, F., 1995. Comparative experimental transmission of pancreas disease in Atlantic salmon, rainbow trout and brown trout. *Diseases of Aquatic Organisms* 22: 19–24.
5. Weston, J., Villoing, S., Bremont, M., Castric, J., Pfeffer, M., Jewhurst, V., McLoughlin, M., Rodseth, O., Christie, K.E., Koumans, J., Todd, D., 2002. Comparison of two aquaticalphaviruses, Salmon pancreas disease virus and Sleeping disease virus, by using genome sequence analysis, monoclonal reactivity, and cross-infection. *Journal of Virology* 76: 6155–6163.
6. Munro, A.L.S., Ellis, E., McVicar, A.H., McLay, H.A., Needham, E.A., 1984. An exocrine pancreas disease of farmed Atlantic salmon in Scotland. *International Council for the Exploration of the Sea* 19: 1–6.
7. OIE. 2017. Chapter 2.3.6. Infection with Salmonid Alphavirus. In: *Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals* (2017)
8. Graham, D.A., Rowley, H.M., Walker, I.W., Weston, J.H., Branson, E.J., Todd, D., 2003. First isolation of sleeping disease virus from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in the United Kingdom. *Journal of Fish Diseases* 26: 691–694.
9. Graham, D.A., Rowley, H.M., Fringuelli, E., Bovo, G., Manfrin, A., McLoughlin, M.F., Zarza, C., Khalili, M., Todd, D., 2007. First laboratory confirmation of salmonid alphavirus infection in Italy and Spain. *Journal of Fish Diseases* 30: 569–572.
10. Rowley, H.M., Doherty, C.E., McLoughlin, M.F., Welsh, M.D., 1998. Isolation of salmon pancreas disease virus (SPDV) from farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Scotland. *Journal of Fish Diseases* 21: 469–471.
11. Kristoffersen, A.B., Viljugrein, H., Kongtrop, R.T., Brun, E., Jansen, P.A., 2009. Risk factors for pancreas disease (PD) outbreaks in farmed Atlantic salmon and rainbow trout in Norway during 2003–2007. *Preventive Veterinary Medicine* 90: 127–136.
12. Kent, M.L., Elston, R.A., 1987. Pancreas disease in pen-reared Atlantic salmon in North America. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 7: 29–31.
13. Nelson, R.T., McLoughlin, M.F., Rowley, M.A., Platten, M.A., McCormick, J.I., 1995. Isolation of a toga-like virus from farmed Atlantic salmon *Salmo salar* with pancreas disease. *Diseases of Aquatic Organisms* 22: 25–32.
14. Fringuelli, E., Rowley, H.M., Wilson, J.C., Hunter, R., Rodger, H., Graham, D.A., 2008. Phylogenetic analyses and molecular epidemiology of European salmonid alphaviruses (SAV) based on partial and nsP3 gene nucleotide sequences. *Journal of Fish Diseases* 31: 811–823.

15. Graham, D.A., Rowley, H.R., Frost, P., 2014. Cross-neutralization studies with salmonid alphavirus subtype 1–6 strains: results with sera from experimental studies and natural infections. *Journal of Fish Diseases* 37: 683–681.
16. Karlsen, M., Hodneland, K., Endresen, C., Nylund, A., 2006. Genetic stability within the Norwegian subtype of salmonid alphavirus (family *Togaviridae*). *Archives of Virology* 151: 861–874.
17. Villoing, S., Bearzotti, M., Chilmoneczyk, S., Castric, J., Bremont, M., 2000. Rainbow trout sleeping disease virus is an atypical alphavirus. *Journal of Virology* 74: 173–183.
18. Graham, D.A., Brnawn, A., Savage, P., Frost, P., 2012. Detection of salmon pancreas disease virus in the faeces and mucus of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., by real-time RT-PCR and cell culture following experimental challenge. *Journal of Fish Diseases* 35: 949–951.
19. Kongtorp, R.T., Stene, A., Andreassen, P.A., Aspehaug, V., Graham, D.A., Lyngstad, T.M., Olsen, A.B., Olsen, R.S., Sandberg, M., Santi, N., Wallace, C., Breck, O., 2010. Lack of evidence for vertical transmission of SAV 3 using gametes of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., exposed by natural and experimental routes. *Journal of Fish Diseases* 33: 879–888.
20. Kerbart Boscher, S., McLoughlin, M., Le Ven, A., Cabon, J., Baud, M., Castric, J., 2006. Experimental transmission of sleeping disease in one-year-old rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), induced by sleeping disease virus. *Journal of Fish Diseases* 29: 263–273.
21. Stene, A., Bang Jensen, B., Knutsen, O., Olsen, A., Viljugrein, H., 2014. Seasonal increase in sea temperature triggers pancreas disease outbreaks in Norwegian salmon farms. *Journal of Fish Diseases* 37: 739–751.
22. Bang Jensen, B., Kristoffersen, A.B., Myr, C., Brun, E., 2012. Cohort study of effect of vaccination on pancreas disease in Norwegian salmon aquaculture. *Diseases of Aquatic Organisms* 102: 23–31.
23. Andersen, L., Bratland, A., Honeland, K., Nylund, A., 2007. Tissue tropism of salmonid alphaviruses (subtypes SAV1 and SAV3) in experimentally challenged Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Archives of Virology* 152: 1871–1883.
24. Karlsen, M., Tingbo, T., Solbakk, I.T., Evensen, O., Furevik, A., Aas-Eng, A., 2012. Efficacy and safety of an inactivated vaccine against Salmonid alphavirus (family *Togaviridae*). *Vaccine* 30: 5688–5694.
25. European Medical Agency. 2016. First DNA vaccine in the EU recommended for use in salmon. Press release EMA 22. 6. 2016

BAKTERIÁLNÍ ONEMOCNĚNÍ

Miroslava Palíková, Stanislav Navrátil

2

BAKTERIÁLNÍ ONEMOCNĚNÍ

Miroslava Palíková, Stanislav Navrátil

Bakteriální onemocnění jsou příčinou mnoha úhynů ryb v akvakultuře i ve volných vodách. Zvláště prostředí intenzivních chovů, kde jsou ryby chovány ve vysokých hustotách a kde mohou významně působit i různé další stresové faktory, je pro uplatnění bakteriálních původců optimální. Většinu onemocnění způsobují bakterie saprofytní, jejichž primární úloha spočívá v účasti na syntetických a degradačních procesech ve vodním prostředí a jsou to tedy oportunní neboli fakultativní patogeny. Významnou roli při jejich uplatnění jako původců chorob hraje stres, který může vzniknout důsledkem špatné kvality vody (zvýšené organické zatížení, přítomnost polutantů), kyslíkového deficitu, jiného onemocnění (virového, eukaryotického), nevhodné chovné technologie nebo reprodukční fáze ryb (1,2). Nejvýznamnější skupinu mezi těmito příležitostnými patogeny představují pohyblivé aeromonády (kapitola 2.4.2)(1).

Některé druhy bakterií jsou pro ryby primárními neboli obligátními patogeny. Mohou ve vodním prostředí přežívat poměrně dlouho, ale nejsou schopny se významněji množit bez svého rybího hostitele. Propuknutí těchto onemocnění je také do značné míry ovlivněno stresem. Pokud jsou podmínky prostředí pro ryby ideální, dochází často ke vzniku latentní infekce, kdy jsou ryby klinicky zdravé a mohou se na dlouhou dobu stát bacilonosiči. Při působení vnějších nebo vnitřních stresových faktorů u nich pak dochází ke vzniku klinického onemocnění a k šíření infekce na další hostitele (2). U ryb se uplatňují gramnegativní i grampozitivní bakterie. Většina původců rybích onemocnění je gramnegativní.

Diagnostika bakterióz se opírá o identifikaci původce. V současné době jsou pro mnohé rybí patogeny k dispozici molekulárně-biologické metody založené na identifikaci známého úseku nukleové kyseliny, ale nezbytným diagnostickým nástrojem stále zůstává kultivace bakterií na mikrobiologických půdách a v případě riketsií (kapitola 2.1) i na tkáňových kulturách.

K léčbě bakterióz se používají antibiotika a sulfonamidy. V důsledku neuvážené, nesprávné a mnohdy neopodstatněné aplikace těchto antimikrobiálních látek do vodního prostředí dochází u rybích bakteriálních patogenů ke vzniku antibiotické rezistence, která léčbu bakteriálních infekcí značně komplikuje (2).

LITERATURA

1. Austin, B., Austin, D.A., 2007. Bacterial Fish Pathogens, Diseases of Wild and Farmed Fish, 4th Edition. Praxis Publishing, Chichester, U.K., 552 p.
2. Roberts, R.J., 2012. The Bacteriology of Teleosts. In: Roberts, R.J. (Ed.). Fish Pathology, 4th Edition. Blackwell Publishing, Chichester, U.K, pp. 339–382.

2.1. RIKETSIE A CHLAMYDIE

Stanislav Navrátil

Původci onemocnění patřící do této skupiny sdílejí některé společné vlastnosti, tj. intracelulární růst, replikaci binárním dělením a typickou gramnegativní buněčnou stěnu. Chlamydie se odlišují svým unikátním vývojovým cyklem zahrnujícím přechod z infekčních buněk s pevnou stěnou na flexibilní replikativní formy. Množství druhů riketsií a chlamydií je patogeny lidí a jiných živočichů (1). Z ryb jsou nejlépe popsány riketsie vyvolávající pisciriketsiózu (2) a chlamydiím podobné organismy vyvolávající epiteliozystózu (3).

2.1.1. PISCIRIKETSIOZA

Úvod. Onemocnění poprvé popsal J. L. Fryer v roce 1989 (2) u lososa kisuč (*Oncorhynchus kisutch*) v mořském klecovém chovu v Chile. Onemocnění vyvolává značné ekonomické ztráty (např. 4) a vyskytuje se jak na americkém kontinentu, tak v Evropě i Austrálii (5). Bylo označováno jako coho salmon syndrome (6) nebo jako salmonid rickettsial septicaemia (7) a piscirickettsiosis (8,9).

Původce. Původcem onemocnění je bakterie *Piscirickettsia salmonis*. Jedná se o nepohyblivou, pleomorfní, ale především kokoidní bakterii, která se může vyskytovat v párech ve formě zakřivených tyčinek nebo prstenců (2). Průměr buněk je 0,5–1,5 μm. Replikuje se binárním dělením v membránou obklopených cytoplazmatických vakuolách infikovaných buněk a v určitých rybích buněčných liniích (1). Bakterie může být také izolována na agaru nebo v bujónu. Barví se tmavomodře Giemsou, je Gimenez-negativní a zachovává bazický fuchsin při barvení Pinkertonovou metodou na riketsie a chlamydie (2).

Vnímavé druhy. Onemocnění bylo popsáno u řady salmonidů z mořské (2) a sladké vody (10,11) včetně pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) (7). Onemocnění bylo popsáno i u jiných druhů ryb (5).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. V terestrických podmínkách přenášejí riketsie mezihostitelští členovci nebo vektorů (12). Nález *P. salmonis* v parazitickém stejnonožci *Ceratothoa gaudichaudii* (13) naznačuje, že ektoparazité mohou usnadnit přenos *P. salmonis*. Horizontální přenos se může ve sladkých a mořských vodách uskutečnit i bez vektoru (7,11). Ryby jsou také potenciálním rezervoárem tohoto patogenu při kohabitaci infikovaných a neinfikovaných ryb (14). Na základě experimentů bylo zjištěno, že *P. salmonis* může pronikat přes kůži a žábry, stejně jako při aplikaci původce do žaludku a střeva (15,16,17). Dalšímu šíření patogenu napomáhají odloupané epitelie ze sliznic, renálních tubulů a žaberních lístků a kanibalismus (7,14,17). Možnost vertikálního přenosu byla experimentálně demonstrována u pstruha duhového (18,19). Vertikální přenos je považován za vzácný (5).

Podmiňující faktory. Za hlavní podmiňující faktor je uváděna především hustota rybí obsádky.

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh onemocnění bývá akutní s vysokými ztrátami dosahujícími až 90 % (17).

Klinické příznaky. Zjišťuje se inapetence, ztmavnutí těla, letargie, plavání pod hladinou nebo po obvodu nádrží. Bylo pozorováno bludné abnormální plavání a vrtohlavost (poruchy rovnováhy, nekoordinované pohyby, pohyby do kruhu) (20, 21). Ryby mohou hynout i bez klinických příznaků onemocnění (14).

Patologické změny. Kožní projevy onemocnění zahrnují drobné okrsky prominujících šupin, jindy pak mělké vředy (2,22). Játra a slezina bývají zvětšené, na játrech se někdy objevují bílá nebo smetanově zbarvená ložiska o průměru 5–6 mm (9). Při hematologickém vyšetření jsou zjišťovány velmi nízké hodnoty hematokritu (6). Tyto změny jsou způsobeny nekrózou hemopoetické tkáně i krvácivými projevy (intramuskulární i orgánové petechie). V důsledku anémie jsou žábry světlé barvy. Makrofágy v nátěrech z periferní krve obsahují *P. salmonis* (6,7,14,26). Při septikemii se vyskytuje ascites a detekujeme přítomnost krvácenin ve svalovině a vnitřních orgánech (7,23,24). Zejména u pstruhů se ve svalovině objevují kaverny se serózně hemoragickým exudátem (25). Při histologickém vyšetření je popisována zejména granulomatózní zánětlivá reakce organismu – přítomnost drobných granulomů ve tkáních. Riketsie jsou viditelné v cytoplazmatických vakuolách buněk ledvin a ostatních orgánů (1).

Diagnóza. Diagnóza je založena na mikroskopickém pozorování bakterie v obarvených otiskových nebo roztěrových preparátech tkání a na izolaci původce na tkáňových kulturách (2) nebo agarových půdách obvykle obohacených ovčí krví a cysteinem (27–29). Pro identifikaci se používá imunofluorescence, imunohistochemické vyšetření nebo PCR (30–32).

Terapie. V *in vitro* podmínkách je *P. salmonis* citlivá k široké škále antibiotik včetně gentamycinu, streptomycinu, erytromycinu, tetracyklinu a chloramfenikolu (2,7). Použití antibiotik k léčbě uvádí celá řada autorů (např. 6,7,33), ale s proměnlivými výsledky (33).

Prevence. Preventivní opatření spočívají v dodržování chovatelských pravidel snižujících riziko horizontálního přenosu: farmy v postižené oblasti ponechat ladem, snížení hustoty rybí obsádky, oddělený chov jednotlivých věkových kategorií v daném areálu. I když byl vertikální přenos prokázán pouze experimentálně, je vhodné provádět preventivní vyšetření chovného generačního hejna (1). Pro imunoprophylaxi je k dispozici velké množství komerčně vyráběných vakcín s inaktivovaným bakterinem.

2.1.2. EPITHELIOCYSTÓZA

Pod tímto označením jsou uváděna onemocnění ryb, zkratkou označovaná jako EP, vyvolaná chlamydiemi nebo chlamydiím podobnými organismy (chlamydia-like organisms – CLO). Historie tohoto onemocnění začíná v roce 1920, kdy Plehnová (34) popsala žaberní onemocnění kapra a údajného původce nazvala *Mucophilus cyprini* (35). Podle současných poznatků jsou útvary označované jako *M. cyprini* hypertrofované buňky žaberního epitelu (36).

Původce. Původcem onemocnění jsou různé druhy **chlamydií**. Například ve Švýcarsku jsou popisovány u pstruha obecného (*Salmo trutta*) druhy *Piscichlamydia salmonis* a *Clavochlamydia salmonicola* (37). V Maďarsku byly u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a karasa stříbřitého (*Carassius gibelio*) na základě sekvenční analýzy identifikovány chlamydie zařazené do rodu *Neochlamydia*, *Protochlamydia* a *Piscichlamydia* (38). Bakterie jsou pleiomorfni a mají velikost 0,2–1,2 μm.

Vnímavé druhy. Onemocnění postihuje mnoho druhů sladkovodních a mořských ryb (35).

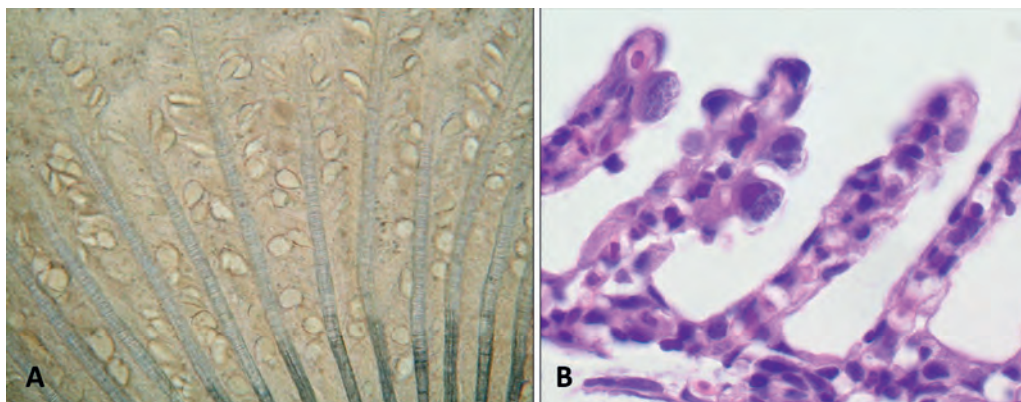
Zamoření prostředí a nakažení hostitele. Onemocnění je snadno horizontálně přenosné (35). Podle Paperny (39) mohou v přenosu hrát důležitou úlohu infikované sítě a další vybavení. Experimentálně byla prokázána přímá infekce žaber a kůže (40,41).

Průběh a vývoj onemocnění. Chlamydie napadají buňky žaber a méně často epidermální buňky (1,35). Onemocnění má benigní nebo proliferativní průběh (1).

Klinické příznaky. U žaberních infekcí se objevuje letargie a zrychlené dýchání (1). Při proliferaci žaberního epitelu dochází k respirační insuficienci a může docházet k vysoké mortalitě (42,43).

Patologické změny. Při patologickém vyšetření nacházíme cysty na žaberních lístcích a zřídka na kůži. Cysty jsou transparentně bílé nebo žluté a dosahují průměru až 1 mm. Cysty představují hypertrofované hostitelské buňky naplněné původcem. Zvětšené hostitelské buňky mají průměr 10–400 μm a často jsou obklopeny skvamózními nebo kubickými epiteliálními buňkami (1). Cysty mohou být tvořeny jednou buňkou (44) nebo splynutím více buněk (45). Infikované buňky jsou typicky epiteliální, avšak původci infekce byli nalezeni i v hlenu, epiteliální výstelce, v chloridových buňkách (46), pilířovitých buňkách (47) a buňkách popsaných jako možné transformované makrofágy (48). Při proliferativní infekci se kolem cyst vytváří vrstva hyperplastického epitelu (1). V terminálním stádiu proliferativní formy jsou žábry zduřelé (35).

Diagnóza. Onemocnění lze diagnostikovat mikroskopickým vyšetřením nativního kompresního preparátu žaber s nálezem hypertrofovaných buněk se zrnitou vnitřní strukturou nebo mikroskopickým vyšetřením obarvených histologických preparátů žaber (obr. 2.1.1.1) (42). Rovněž je možná diagnostika pomocí transmisní elektronové mikroskopie (35). Rozvíjejí se molekulární metody (1), např. sekvenční analýza (38).



Obr. 2.1.1.1. Epitheliocystóza: seškrab ze žaber – nativní preparát (A); histologický preparát žaber (B). (Foto: A – M. Palíková, B – H. Smith-Posthaus)

Terapie. Terapie se většinou neprovádí, původci jsou však citliví na antibiotika (38,49).

Prevence. Prevence spočívá ve správné chovatelské praxi (1). Je doporučována dezinfekce vody UV zářením (50). Vývoj vakcíny je nepravděpodobný (1).

LITERATURA

1. Arkush, K.D., Bartolomew, J.L., 2011. *Piscirickettsia*, *Francisella* and Epitheliocystis. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). Fish Diseases and Disorders. Vol. 3: Viral, Bacterial and Fungal Diseases, pp. 302–337.
2. Fryer, J.L., Lannan, C.N., Garcés, L.H., Larenas, J.J., Smith, P.A., 1990. Isolation of a *Rickettsiales*-like organism from diseased coho salmon *Oncorhynchus kisutch* in Chile. *Fish Pathology* 25: 107–114.
3. Hoffman, G.L., Dunbar, C.E., Wolf, K., Zwillenberg, L.O., 1969. Epitheliocystis, a new infectious disease of the bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Antonie Van Leeuwenhoek Journal of Microbiology and Serology* 35: 146–158.
4. Wilhelm, V., Miquel, A., Burzio, L.O., Roseblatt, M., Engel, E., Valenzuela, S., Parada, G., Valenzuela, P.D.T., 2006. A vaccine against the salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis* based on recombinant proteins. *Vaccine* 24: 5083–5091.
5. Bartolomew, J., Arkush, K.D., Soto, E., 2017. *Piscirickettsia salmonis*. In: Woo, P.T.K., Cipriano, R.C. (Eds). Fish Viruses and Bacteria, Pathobiology and Protection., Wallingford, Oxford, pp. 272–285.
6. Branson, E.J., Nieto Díaz-Munoz, D., 1991. Description of a new disease condition occurring in farmed coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), in South America. *Journal of Fish Diseases* 14: 147–156.
7. Cvitanich, J.D., Garate, O.N., Smith, C.E., 1991. The isolation of a rickettsia-like organism causing disease and mortality in Chilean salmonids and its confirmation by Koch's postulate. *Journal of Fish Diseases* 14: 121–145.
8. Fryer, J.L., Lannan, C.N., Giovannoni, S.J., Wood, N.D., 1992. *Piscirickettsia salmonis* gen. nov., sp. nov., the causative agent of an epizootic disease in salmonid fishes. *International Journal of Systematic Bacteriology* 42: 120–126.
9. Lannan, C.N. and Fryer, J.L., 1993. *Piscirickettsia salmonis*, a major pathogen of salmonid fish in Chile. *Fisheries Research (Amsterdam)* 17: 115–121.
10. Gaggero, A., Castro, H., Sandino, A.M., 1995. First isolation of *Piscirickettsia salmonis* from coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum), and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), during the freshwater stage of their cycle. *Journal of Fish Diseases* 18: 277–279.
11. Almendras, F.E., Fuentealba, I.C., Jones, S.R.M., Markham, F., Spangler, E., 1997. Experimental infection and horizontal transmission of *Piscirickettsia salmonis* in freshwater-raised Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases* 20: 409–418.
12. Weiss, E., Moulder, J.W., 1984. Order I. Rickettsiales Juszczakiewicz 1939, 25AL. In: Krieg, N.R. (ed.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore/London, pp. 687–729.
13. Garcés, L.H., Correal, P., Larenas, J.J., Contreras, J., Oyanedel, S., Fryer, J.L., Smith-Schuster, S.P., 1994. Finding of *Piscirickettsia salmonis* on *Cerathothoa gaudichaudii*. Abstract. In: International Symposium on Aquatic Animal Health, Seattle, Washington, 4–8 September, p. 109.
14. Arkush, K.D., McBride, A.M., Mendonca, H.L., Okihira, M.S., Andree, K.B., Marshall, S., Henriquez, V., Hedrick, R.P., 2005. Genetic characterization and experimental pathogenesis of *Piscirickettsia salmonis* isolated from white seabass *Atractoscion nobilis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 63: 139–149.

15. Smith, P.A., Pizarro, P., Ojeda, P., Contreras, J., Oyanedel, S., Larenas, J., 1999. Routes of entry of *Piscirickettsia salmonis* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms* 37: 165–172.
16. Smith, P.A., Rojas, M.E., Guajardo, A., Contreras, J., Morales, M.A., Larenas, J., 2004. Experimental infection of coho salmon *Oncorhynchus kisutch* by exposure of skin, gills and intestine with *Piscirickettsia salmonis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 61: 53–57.
17. Smith, P.A., Díaz, F.E., Rojas, M.E., Díaz, S., Galleguillos, M., Carbonero, A., 2015. Effect of *Piscirickettsia salmonis* inoculation on the ASK continuous cell line. *Journal of Fish Diseases* 38: 321–324.
18. Larenas, J.J., Astorga, C., Contreras, J., Smith, P., 1996. *Piscirickettsia salmonis* in ova obtained from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) experimentally inoculated. *Archivos de Medicina Veterinaria* 28: 161–166.
19. Larenas, J.J., Bartholomew, J., Troncoso, O., Fernandez, S., Ledezma, H., Sandoval, N., Vera, P., Contreras, J., Smith, P., 2003. Experimental vertical transmission of *Piscirickettsia salmonis* and *in vitro* study of attachment and mode of entrance into the fish ovum. *Diseases of Aquatic Organisms* 56: 25–30.
20. Skarmeta, A.M., Henriquez, V., Zahr, M., Orrego, C., Marshall, S.H., 2000. Isolation of a virulent *Piscirickettsia salmonis* from the brain of naturally infected coho salmon. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 20: 261–264.
21. McCarthy, U., Steiropoulos, N.A., Thompson, K.D., Adams, A., Ellis, A.E., Ferguson, H.W., 2005. Confirmation of *Piscirickettsia salmonis* as a pathogen in European sea bass *Dicentrarchus labrax* and phylogenetic comparison with salmonid strains. *Diseases of Aquatic Organisms* 64: 107–119.
22. Cvitanich, J.D., Garate, N.O., Smith, C.E., 1990. Etiological agent in Chilean coho disease isolated and confirmed by Koch's postulates. *American Fisheries Society/Fish Health Section Newsletter* 18: 1–2.
23. Brocklebank, J.R., Evelyn, T.P., Speare, D.J., Armstrong, R.D., 1993. Rickettsial septicaemia in farmed Atlantic and chinook salmon in British Columbia: clinical presentation and experimental transmission. *Canadian Veterinary Journal* 34: 745–748.
24. Rodger, H.D., Drinan, E.M., 1993. Observation of a rickettsia-like organism in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Ireland. *Journal of Fish Diseases* 16: 361–369.
25. Rojas, V., Olivares, J., del Rio, R., Marshall, S.H., 2008. Characterization of a novel and genetically different small infective variant of *Piscirickettsia salmonis*. *Microbial Pathogenesis* 44: 370–378.
26. Garcés, L.H., Larenas, J.J., Smith, P.A., Sandino, S., Lannan, C.N., Fryer, J.L., 1991. Infectivity of a rickettsia isolated from coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *Diseases of Aquatic Organisms* 11: 93–97.
27. Muel, M.J., Ware, C., Smith, P.A., 2008. Culture of *Piscirickettsia salmonis* on enriched blood agar. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 20: 213–214.
28. Mikaelsen, J., Skjaervik, O., Wiik-Nielsen, J., Wasmuth, M.A., Colquhoun, D.J., 2008. Agar culture of *Piscirickettsia salmonis*, a serious pathogen of farmed salmonid and marine fish. *FEMS Microbiology Letters* 278: 43–47.

29. Yañez, A.J., Silva, H., Valenzuela, K., Pontigo, J.P., Godoy, M., Troncoso, J., Romero, A., Figueroa, J., Carcamo, J.G., Avendaño-Herrera, R., 2013. Two novel blood-free solid media for the culture of the salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis*. *Journal of Fish Diseases* 36: 587–591.
30. Lannan, C.N., Ewing, S.A., Fryer, J.L., 1991. A fluorescent antibody test for the detection of the rickettsia causing disease in Chilean salmonids. *Journal of Aquatic Animal Health* 3: 229–234.
31. Alday-Sanz, V., Rodger, H., Turnbull, T., Adams, A., Richards, R.H., 1994. An immunohistochemical diagnostic test for rickettsial disease. *Journal of Fish Diseases* 17: 189–191.
32. House, M.L., Fryer, J.L., 2002. The biology and molecular detection of *Piscirickettsia salmonis*. In: Cunningham, C.O. (Ed.). *Molecular Diagnosis of Salmonid Diseases*. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands, pp. 141–155.
33. Smith, P.A., Vecchiolla, I.M., Oyanedel, S., Garcés, L.H., Larenas, J., Contreras, J., 1996. Antimicrobial sensitivity of four isolates of *Piscirickettsia salmonis*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 16: 164–168.
34. Plehn, M., 1920. Neue Parasiten in Haut and Kiemen von Fischen. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, Originale, Abteilung I* 85: 275–281.
35. Pospíšil, L., 1998. Chlamydiosis in the fish. *Veterinární Medicína Czech* 43: 307–310.
36. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. *Choroby ryb*. VFU Brno, 155 s.
37. Soto, M.G., Vidondo, B., Vaughan, L., Rubin, F.J., Segner, H., Samartin, S., Schmidt-Posthaus, H., 2017. Investigations into the temporal development of epitheliocystis infections in brown trout: a histological study. *Journal of Fish Diseases* 40 (6): 811–819.
38. Sellyei, B., Molnar, K., Szekeley, C., 2017. Diverse Chlamydia-like agents associated with epitheliocystis infection in two cyprinid fish species, the common carp (*Cyprinus carpio* L.) and the gibel carp (*Carassius auratus gibelio* L.). *Acta Veterinaria Hungarica* 65(1): 29–40.
39. Paperna, I., 1977. Epitheliocystis infection in wild and cultured sea bream (*Sparus aurata*) and grey mullets (*Liza ramada*, Mugilidae). *Aquaculture* 10: 169–176.
40. Hoffman, G.L., Dunbar, C.E., Wolf, K., Zwillenberg, L.O., 1969. Epitheliocystis, a new infectious disease of the bluegill (*Lepomis macrochirus*). *Antonie Van Leeuwenhoek Journal of Microbiology and Serology* 35: 146–158.
41. Wolf, K., 1988. Epitheliocystis. In: Wolf, K. (Ed.). *Fish Viruses and Fish Viral Diseases*. Cornell University Press, Ithaca, London, pp. 435–444.
42. Nowak, B.F., LaPatra, S.E., 2006. Epitheliocystis in fish. *Journal of Fish Diseases* 29: 573–588.
43. Draghi, A. II, Bebak, J., Popov, V.L., Noble, A.C., Geary, S.J., West, A.B., Byrne, P., Frasca, S. Jr., 2007. Characterization of a Neochlamydia-like bacterium associated with epitheliocystis in cultured Arctic charr *Salvelinus alpinus*. *Diseases of Aquatic Organisms* 76: 27–38.
44. Zachary, A., Paperna, I., 1977. Epitheliocystis disease in the striped bass *Morone saxatilis* from the Chesapeake Bay. *Canadian Journal of Microbiology* 23: 1404–1414.
45. Wolke, R.E., Wyand, D.S., Khairallah, L.H., 1970. A light and electron microscopic study of epitheliocystis disease in the gills of Connecticut striped bass (*Morone saxatilis*) and white perch (*Morone americanus*). *Journal of Comparative Pathology* 80: 559–563.
46. Paperna, I., Alves de Matos, A.P., 1984. The development of epitheliocystis in carp, *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Diseases* 7: 137–147.

47. Miyazaki, T., Fujimaki, Y., Hatai, K., 1986. A light and electron microscopic study on epitheliocystis disease in cultured fishes. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 52: 199–202.
48. Desser, S., Paterson, W., Steinhagen, D., 1988. Ultrastructural observations on the causative agent of epitheliocystis in the brown bullhead, *Ictalurus nebulosus* Lesueur, from Ontario and a comparison with chlamydiae of higher vertebrates. *Journal of Fish Diseases* 121: 453–460.
49. Goodwin, A.E., Park, E., Nowak, B.F., 2005. Successful treatment of largemouth bass, *Micropterus salmoides* (L.) with epitheliocystis hyperinfection. *Journal of Fish Diseases* 28: 623–625.
50. Miyaki, K., Mizuta, K., Yamamoto, N., Yoshikoshi, K., Kanai, K., Tabeta, O., 1998. Mass mortality of hatchery-reared juveniles of bartail flathead, *Platycephalus* sp. due to epitheliocystis-like disease. *Bulletin of the Nagasaki Prefectural Institute of Fisheries* 24: 7–10.

2.2. RENIBACTERIUM SALMONINARUM

Miroslava Palíková

2.2.1. RENIBAKTERIÓZA LOSOSOVITÝCH RYB

Úvod. *Renibacterium salmoninarum* způsobuje onemocnění nazývané renibakteriόza lososovitých ryb nebo také bakteriální onemocnění ledvin. V zahraniční literatuře se nemoc nazývá bacterial kidney disease – **BKD**. Nemoc byla poprvé popsána ve Skotsku v roce 1930 (1). Onemocnění je často popisováno jako bakteriémie charakterizovaná difúzním systérovým granulomatózním zánětem (2). V současné době se vyskytuje v Severní i Jižní Americe, v Evropě a v Asii. Geografické rozšíření zahrnuje jak sladkovodní, tak mořské prostředí, a to všude tam, kde se přirozeně vyskytují nebo jsou chovány lososovité ryby (3). Renibakteriόza je jedním z nejvíce devastujících onemocnění volně žijících populací lososů, kteří se mohou infikovat jak ve sladké, tak ve slané vodě (4). Vysokou mortalitu způsobuje i v komerčních chovech v Severní Americe nebo ve Skandinávii. Současně jsou ztráty výrazně redukovány díky zvýšené ochraně chovů (5). V našich podmínkách onemocnění nepůsobí významné ztráty.

Původce. *Renibacterium salmoninarum* je G pozitivní, nesporeující, nepohyblivá tyčinkovitá bakterie velikosti 0,3–1 × 1–1,5 μm, často se spojující do dvojic. Jedná se o fakultativně intracelulárního patogena s afinitou k fagocytům, sinusoidálním a retikulárním buňkám (6). Bakterie je schopna adherovat k hostitelským buňkám, kolonizovat tkáň a vyvázat se z hostitelské imunitní odpovědi. Vyznačuje se pomalým růstem na půdách obohacených cysteinem.

Vnímavé druhy. Původce je obligátním patogenem lososovitých ryb včetně lipana (*Thymalus thymalus*), hlavatky (*Hucho hucho*) a síhů (*Coregonus* sp.). Vnímavost není u všech druhů stejná. Pacifičtí lososi (*Oncorhynchus* sp.) jsou více vnímaví než atlantští (*Salmo* sp.). Pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) patří mezi více rezistentní druhy. V našich podmínkách patří mezi nejvnímavější druhy siven americký (*Salvelinus fontinalis*) a pstruh obecný (*Salmo trutta*). Původce byl detekován i u některých nelosovitých druhů ryb a měkkýšů, ale jejich úloha jako rezervoárů či vektorů není vyjasněna (3).

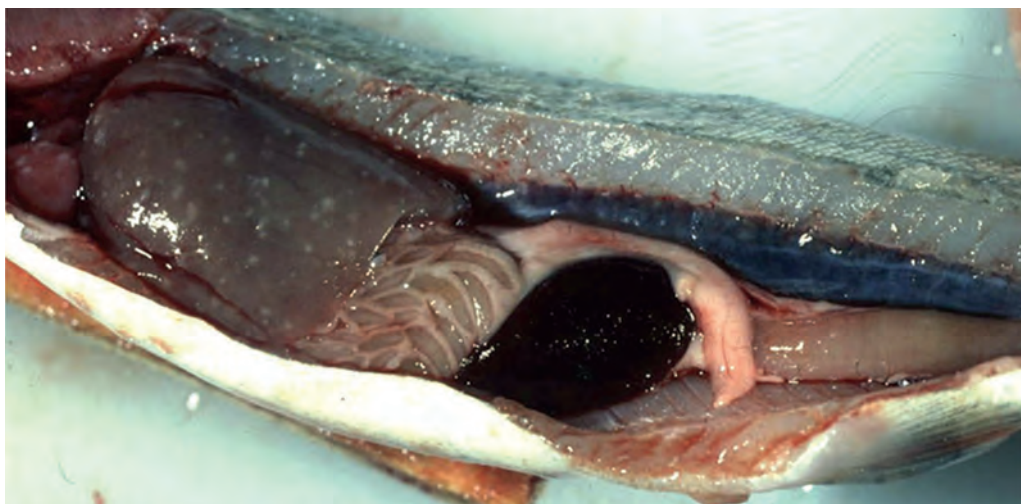
Zdroj infekce a nakažení hostitele. Původce se šíří horizontálně vodou infikovanou nakaženými rybami. V prostředí přetrvává jenom relativně krátkou dobu (4–21 dnů při 10–18 °C) (7). Ryby se nakazí přes zažívací trakt nebo poškozeným povrchem těla (8). *Renibacterium salmoninarum* je jednou z mála bakterií, které se šíří i vertikálně jikrami od infikovaných generačních ryb. Do jikry se bakterie dostanou buď přímo v ovariální tkáni v raném vývoji nebo z ovariální tekutiny přes mikropyle (9). *Renibacterium salmoninarum* může perzistovat delší dobu v rybách v subklinické formě infekce (7).

Podmiňující faktory. Nejvnímavější věkovou kategorií představují juvenilní ryby ve stáří 6–12 měsíců a ryby před výtěrovým obdobím (10). Onemocnění se vyskytuje především při teplotách vody 8–18 °C. Vyšší mortalita se projevuje při vyšších teplotách. Významnou úlohu v rozvoji onemocnění hrají faktory prostředí: tvrdost vody (průběh onemocnění je těžší v měkké a alkalické vodě), teplota vody, salinita prostředí a výživa.

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh onemocnění je chronický. Původce se dostává do krve, rozvíjí se bakteriémie a pomalu vznikají nekrotická ložiska v ledvinách, ale i v jiných orgánech. Dochází ke vzniku anémie a imunosuprese (3,11). Často se přidružují koinfekce. Imunosupresivní účinek původce snižuje odolnost vůči sekundárním patogenům a může vyústit ve smrt hostitele (12).

Klinické příznaky. U nemocných ryb se objevuje malátnost a ztmavnutí těla. Ryby se shromažďují u výtoku z nádrže a mohou se u nich objevovat poruchy plavání (otáčení okolo podélné osy, křečovitě pohyby). Klinické příznaky nemusí být vždy přítomny (3,13).

Patologické změny. Ryby mají zvětšenou dutinu tělní, anemické žábry, exoftalmus. Na kůži se nacházejí drobné puchýřky vyplněné čirou nebo hemoragickou tekutinou, petechie v okolí ploutví a po těle, případně drobné ulcerace. V dutině tělní bývá ascites. Nejnápadnější změny bývají na ledvinách, které jsou zduřené a s přítomností šedavých nodulárních lézí o velikosti několika mm. Podobné uzlíky mohou být přítomny i ve slezině, v srdci a v játrech (obr. 2.2.1.1). Slezina bývá zvětšená. Krváceniny mohou být přítomny i na peritoneu, v orgánech dutiny tělní a ve svalovině. Intramuskulárně se mohou vyskytovat i cysty nebo abscesy (3,11).

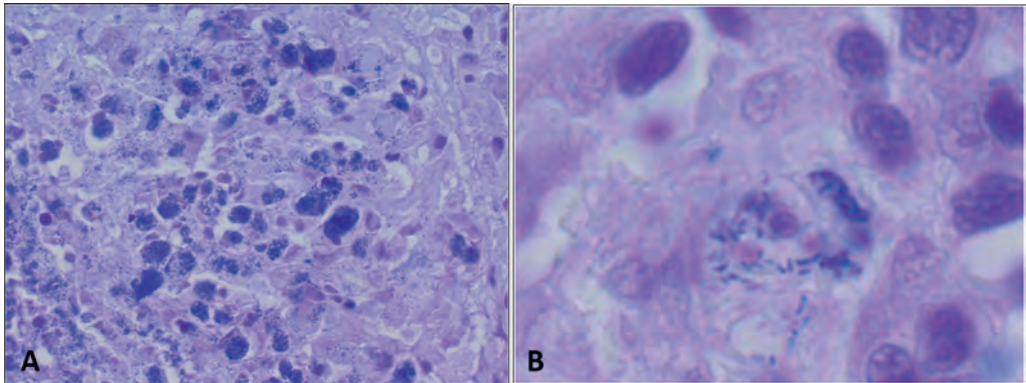


Obr. 2.2.1.1. Zduřené ledviny, přítomnost drobných šedavých uzlíků na srdci a játrech, splenomegalie. (Foto: H. Schmidt-Posthaus)

Histologicky nacházíme granulomatózní zánětlivé změny zejména v ledvinách, ale i v dalších tkáních. Starší granulomy mají typickou strukturu tvořenou nekrotickým středem obklopeným fibrózní tkání s přítomností epiteloidních a lymfoidních buněk. V ledvinách je rovněž zjišťována glomerulonefritida. U některých druhů lososovitých ryb se okolo granulomatózního ložiska nevytváří ostré ohraničení (10). Bakterie nacházíme vně i uvnitř buněk. Charakteristickým nálezem pro renibakteriózu je rovněž přítomnost rozptýleného pigmentu ve tkáních, k čemuž dochází pravděpodobně rozpadem melanomakrofágů (2). V řezech barvených podle Grama nacházíme přítomnost G+ bakterií (obr. 2.2.1.2).

Diagnóza. Suspektní diagnóza je založena na posouzení podmiňujících faktorů, epizootologické situace a na posouzení klinických a patologických změn. Potvrzení diagnózy je na základě identifikace původce. Původce je nutné kultivovat na speciálních půdách, především jde o půdu KDM2 (14). Lze jej však kultivovat i na krevním agaru (KA) obohaceném o cystein (15). Optimální teplota pro kultivaci je 15–18 °C a kolonie se objeví nejdříve za 5–7 dní inkubace (16). Většinou kultivace trvá 3 týdny a může docházet k přerůstání rychleji rostoucími bakteriemi. Kultivace se daří nejlépe z ledvin. Bakterie narostou ve formě hladkých, okrouhlých, prominujících, lesklých, krémových (nepigmentovaných) kolonií o průměru do

2 mm (17). Pro rychlou předběžnou diagnostiku je možné provést barvení otiskových preparátů z ledvin dle Grama, ale toto barvení vykazuje nízkou senzitivitu ($1 \times 10^{7-9}$ buněk na 1 g tkáně) (18). Díky nesnadné kultivaci a pomalému růstu byla vyvinuta řada dalších metod. Původce lze diagnostikovat např. ELISA testem nebo imunohistochemicky (7). Diagnostiku lze provést rovněž molekulárními metodami, a to konvenční PCR, nested PCR i kvantitativní qPCR (7,11).



Obr. 2.2.1.2. Histologický řez postiženou slezinou obarvený Gramem: přítomnost shluků gram pozitivních bakterií (A); detail (B). (Foto: H. Schmidt-Posthaus)

Terapie. K léčbě renibakterií lze použít antimikrobiální látky účinné pro G+ bakterie. Chemoterapeutika mají však jen částečný úspěch. Nejvíce testovaným antibiotikem je erythromycin, který však není registrovaný pro ryby ani v ČR ani v EU. Navíc léčbou nedochází ke kompletní eliminaci původce (3).

Prevence. Eradikace *R. salmoninarum* ze zamořeného chovu je problematická díky horizontálnímu i vertikálnímu přenosu, výskytu patogenu jak v chovech, tak ve volných vodách a díky výskytu subklinických infekcí (18). V současné době je k dispozici pouze jedna komerčně vyráběná vakcína s označením Renogen (Elanco Animal Health) obsahující lyofilizované živé buňky nepatogenní bakterie *Arthrobacter davidanieli*. Vakcína je ale registrována pouze na americkém kontinentě. Vývoj v oblasti vakcín je orientován na zkoušení inaktivovaných bakterií *R. salmoninarum* nebo na vakcíny obsahující živé atenuované izoláty (9). Vzhledem k absenci účinných terapeutických či profylaktických přípravků byla v endemických oblastech výskytu tohoto onemocnění přijata určitá opatření vedoucí ke snížení ztrát způsobených zmiňovanou nemocí. Vertikální přenos je eliminován likvidací jiker od infikovaných ryb. Ke screeningovému vyšetření ledvinové tkáně jikernaček je používána ELISA metoda (12). Další preventivní strategie spočívají v obecných principech, které pomáhají redukovat horizontální i vertikální přenos a rovněž snižují riziko propuknutí klinického onemocnění: udržovat optimální podmínky v chovu, nepřepřehňovat chovnou kapacitu, dodržovat dobrou hygienu, turnusový způsob chovu, provádět pravidelné kontroly zdravotního stavu ryb, používat ozonizaci nebo UV záření, dezinfikovat jikry a minimalizovat stres.

LITERATURA

1. Smith, I.W., 1964. The occurrence and pathology of Dee disease. *Freshwater and Salmon Fisheries Research* 34: 1–12.
2. Bruno, D.W., 1986. Histopathology of bacterial kidney disease in laboratory infected rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, and Atlantic salmon, *Salmo salar* L., with reference to naturally infected fish. *Journal of Fish Diseases* 9: 523–537.
3. Elliot, D.G., 2017. *Renibacterium salmoninarum*. In Woo, P.T.K., Cipriano, R.C. (Eds). *Fish Viruses and Bacteria. Pathobiology and Protection*. CAB International, London, UK, pp. 286–297.
4. Earp, B.J., Ellis, C.H., Ordal, E.J., 1953. *Kidney Disease in Young Salmon*. Special Report Ser. No. 1, Department of Fisheries, Washington State, 73 p.
5. Olsen, A.B., Borno, G., Colguhoun, D.J., Flesja, K., Haldorsen, R., Nilsen, H., Skjelstad, H.R., Hjeltnes, B., 2007. *The Health Situation in Farmed Fish in Norway 2006*. National Veterinary Institute, Oslo, p. 20.
6. Flano, E., Lopez-Pierro, P., Razquin, B., Kaattari, S.L., Villena, A., 1996. Histopathology of the renal and splenic haemopoietic tissues of coho salmon *Oncorhynchus kisutch* experimentally infected with *Renibacterium salmoninarum*. *Diseases of Aquatic Organisms* 24: 107–115.
7. Pascho, R.J., Elliott, D.G., Chase, D.M., 2002. Comparison of Traditional and Molecular Methods for Detection of *Renibacterium salmoninarum*. In: Cunningham, C.O. (Ed.). *Molecular Diagnosis of Salmonid Diseases*. Kluwer, Dordrecht. The Netherlands, pp. 157–209.
8. Elliott, D.G., McKibben, C.L., Conway, C.M., Purcell, M.K., Chase, D.M., Applegate, L.M.J., 2015. Testing of candidate non-lethal sampling methods for detection of *Renibacterium salmoninarum* in juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Diseases of Aquatic Organisms* 114: 21–43.
9. Elliott, D.G. Wiens, G.D., Hammell, K.L., Rhodes, L.D., 2014. Vaccination against Bacterial Kidney Disease. In: Gudding, R., Lillehaug, A., Evensen, Ø. (Eds). *Fish Vaccination*. Wiley Blackwell, Chichester/Oxford, UK, pp. 255–272.
10. Evelyn, T.P.T., 1993. Bacterial Kidney Disease – BKD. In: Inglis, V., Roberts, R.J., Bromage, N.R. (Eds). *Bacterial Diseases of Fish*. Halsted Press, New York, pp. 177–195.
11. Wiens, G.D., 2011. Bacterial Kidney Disease (*Renibacterium salmoninarum*). In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (eds.). *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Pathogens*, 2nd edn. CABI, Wallingford, UK, pp. 338–374.
12. Munson, A.D., Elliott, D.G., Johnson, K., 2010. Management of bacterial kidney disease in Chinook salmon hatcheries based on broodstock testing by enzyme-linked immunosorbent assay: a multiyear study. *North American Journal of Fisheries Management* 30: 940–955.
13. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. *Choroby ryb*. Vydalo VFU Brno, 155 s.
14. Evelyn, T.P.T., 1977. An improved growth medium for the kidney disease bacterium and some notes for using the medium. *Bulletin de l'Office International des Epizooties* 87: 511–513.
15. Ordal, E.J., Earp, B.J., 1956. Cultivation and transmission of the etiological agent of bacterial kidney disease. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine* 92: 85–88.
16. Faisal, M., Eissa, A.E., Starliper, C.E., 2010. Recovery of *Renibacterium salmoninarum* from naturally infected salmonine stocks in Michigan using a modified culture protocol. *Journal of Advanced Research* 1: 95–102.

17. Austin, B., Austin, D., 2007. Bacterial Fish Pathogens. Diseases of Farmed and Wild Fish. Springer Praxis Publishing, Chichester, UK, 552 p.
18. Murray, A.G., Munro, L.A., Wallace, I., Allan, C.E.T., Peeler, E.J., Thrush, M.A., 2012. Epidemiology of *Renibacterium salmoninarum* in Scotland and the potential for compartmentalised management of salmon and trout farming areas. Aquaculture 324–325: 1–13.

2.3. MYCOBACTERIUM SPP.

Stanislav Navrátil

2.3.1. MYKOBACTERIÓZA

Úvod. Bakterie rodu *Mycobacterium* způsobují onemocnění obecně označované jako mykobakteriόza. Mykobakteriální onemocnění, ve starší literatuře označované také jako rybí tuberkulóza, popsali poprvé v roce 1897 Bataillon a kol. (1), kteří našli v dutině tělní u kapra ložisko obsahující acidorezistentní grampozitivní tyčinky nazvané *Mycobacterium piscium*. Tento název je dnes zastaralý (2). Do dnešních dnů byly popsány další druhy mykobakterií patogenních pro ryby (3). Mykobakteriόza je v našich podmínkách diagnostikována zejména v chovech akvarijních ryb. Vyskytuje se po celém světě a častá je i u nás (4). Choroba způsobuje v chovech akvarijních ryb značné ztráty. Závažnost choroby je umocněna jejím chronickým průběhem, při kterém se klinicky zdravé, ale nakažené ryby mohou stát zdrojem šíření do dalších chovů (4).

Původce. Nejčastěji izolovanými druhy z ryb jsou *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum* a *M. chelonae* (3,5). Mykobakterie jsou grampozitivní, acidorezistentní, nepohyblivé, nesporující a nevětví se tyčinky o průměru 0,2–0,6 μm a délce 1,5–3,0 μm (3). Příležitostně mohou být viditelné jako vlákna do 10 μm (2).

Vnímavé druhy. Již v roce 1963 Nigrelli a Vogel (6) uvádí 151 druhů ryb vnímavých k mykobakteriím, což svědčí o tom, že původce není druhově specifický a spektrum vnímavých ryb je velice široké.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Mykobakterie se běžně vyskytují ve vodě i v sedimentech (3). K zavlečení infekce do chovného prostředí dochází nejčastěji vysazením ryb z napadených chovů. Zdrojem infekce mohou být i předměty, písek, kameny, rostliny, vodní plži a voda z infikovaných nádrží (4). Přenos mykobakterií není dosud úplně objasněn (5). Ryby se mohou infikovat pozřením potravy kontaminované výkaly, močí nebo exudátem z nemocných živočichů, jež obsahují mykobakterie (7). Rovněž kontaminované nitěnky měly za následek infekce akvarijních ryb (8). Orální přenos byl potvrzen i u dania pruhovaného (*Danio rerio*) krmeného infikovanými trepkami velkými (*Paramecium caudatum*) (9). Vertikální přenos nebyl dosud zcela zřejmě demonstrován (5) s výjimkou transovariálního přenosu u živorodek (10).

Podmiňující faktory. Vzplanutí epidemii mykobakteriόzy doprovázených ojedinělým nebo hromadným hynutím ryb je podporováno obvyklou teplotou vody v akváriích (22–24 °C), špatnými hygienickými podmínkami (nízký obsah kyslíku, přehuštěné obsádky) a především špatnou, neadekvátní a jednostrannou výživou (4,11). K úhynům nemocných ryb většinou dochází po působení různých stresových faktorů (převoz, přelovení, výměna vody, náhlá změna teploty vody, atd.) (4).

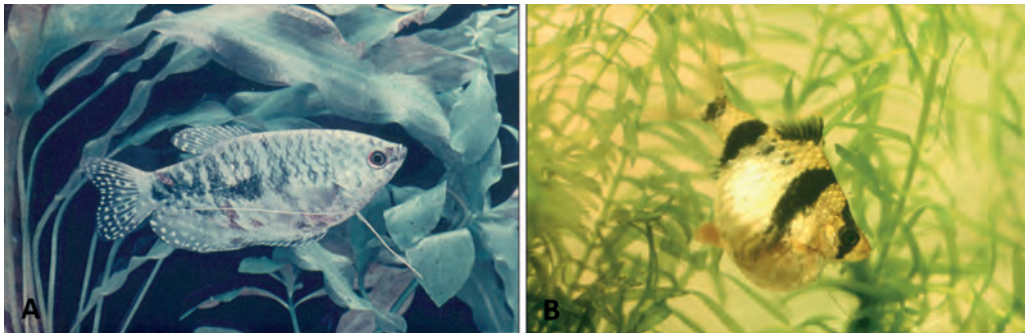
Průběh a vývoj onemocnění. Průběh choroby je obvykle subakutní až chronický (3,4,12). Zřídka je popisována i akutní mykobakteriόza (12). Po proniknutí do organismu mykobakterie způsobují kožní léze nebo se dostávají oběhovým a lymfatickým systémem do ostatních orgánů (13), kde se rozvíjí granulomatózní zánětlivá reakce (5), která má za následek funkční poruchy napadených orgánů vedoucí až ke smrti napadeného jedince (4).

Inkubační doba. Inkubační doba je obvykle dlouhá a její délka závisí na podmiňujících faktorech (4). Granulomy ve tkáních však byly zjištěny již po 4 dnech po experimentální infekci (14, 15).

Klinické příznaky. Charakter a projevy klinických příznaků mykobakterií závisí na rozsahu a lokalizaci patologických změn a stupni funkčního poškození napadených tkání (4). Mnoho rybích druhů může vykazovat nenápadné klinické příznaky, popřípadě klinické projevy onemocnění zcela chybí. V pokročilých stádiích onemocnění může být pozorována kachexie, objevuje se exoftalmus a lordóza. V některých případech může docházet naopak ke zvětšení dutiny tělní (obr. 2.3.1.1). Dochází k poruchám pigmentace (4,16,17). Postižené ryby vykazují letargické chování, plavou netečně u hladiny a současně vykazují anorexii (3). Ke zvýraznění klinických příznaků (a patologicko-anatomických změn) dochází často po stresových a oslabujících situacích, jako je nižší obsah kyslíku a vyšší teplota vody (11).

Patologické změny. Na kůži se vyskytují hemoragické a ulcerózní léze (obr. 2.3.1.1) nebo dochází ke ztrátě šupin. Ryby mají bledší žábry (3). Játra, slezina a ledviny bývají zvětšené a prostoupené četnými šedobílými uzlíky (18). Tyto uzlíky mohou být přítomny i v jiných tkáních (4). V těžkých případech jsou téměř všechny vnitřní orgány zvětšené a navzájem spojené fibrózními srůsty okolo mezenteria. V dutině tělní se zejména při postižení ledvin hromadí tekutina (19,4).

Histologickým vyšetřením postižené tkáně je zjišťována přítomnost granulomů (4). Tyto granulomy mají typickou stavbu. Nekrotický střed často obklopuje vrstva epiteloidně uspořádaných makrofágů s přítomností četných leukocytů i fibroblastů. Obrovské vícejaderné buňky se vyskytují jenom u některých ryb (5). Na povrchu granulomu může být fibrózní pouzdro (3). Granulomy mohou být celulózní nebo s centrální kaseifikační nekrózou. V případě akutní mykobakterií jsou granulomy nekompletní nebo chybí. Zjišťujeme přítomnost velkého množství intracelulárních a extracelulárních acidorezistentních bakterií a rozsáhlou nekrózu tkáně (13). Starší granulomy mohou být pigmentované a bakterie v nich nemusí být již přítomny (4,20).

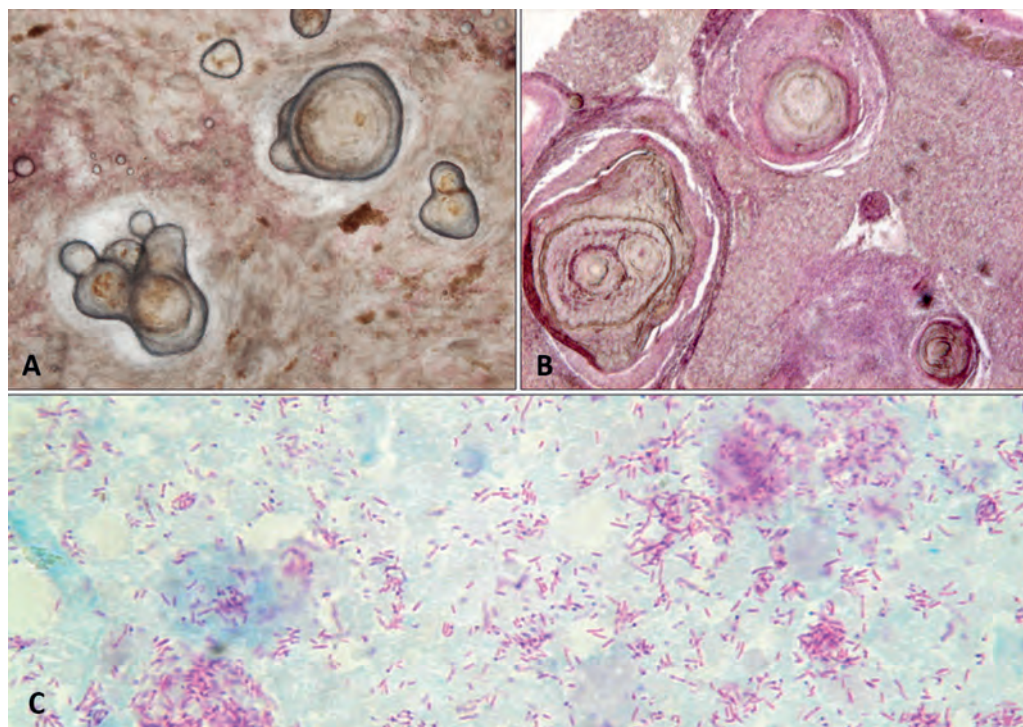


Obr. 2.3.1.1. Různé projevy mykobakterií u akvarijních ryb. Čichavec modrý (*Trichopodus trichopterus*) s hemoragickými lézemi na kůži (A), parmička čtyřpruhá (*Puntius tetrazona*) se zvětšenou dutinou tělní v důsledku ascitu (B). (Foto: S. Navrátil)

Diagnóza. Suspektní diagnózu stanovíme na základě klinických příznaků, makroskopických a patologických změn. Při mikroskopickém vyšetření kompresních preparátů postižených tkání zjišťujeme přítomnost granulomatózních změn (obr. 2.3.1.2). Pro potvrzení diagnózy je potřeba identifikovat původce. První možností je barvení nativních roztěrů nebo histologických preparátů z postižených orgánů metodou podle Ziehl-Neelsena nebo jejími modifikacemi s nálezem červeně zbarvených acidorezistentních bakterií (obr. 2.3.1.2) (3–5).

Jsou však popisovány i případy, zejména při experimentálních infekcích, kdy tyto bakterie nejsou viditelné (21). Rovněž je možné použít fluorescenční barvení (3), imunocytochemickou metodu (22) a imunohistochemii (23). Další možností je kultivace na speciálních půdách, např. na Löwenstein-Jensenově agaru (24) s následnou biochemickou identifikací. Nevýhodou kultivace může být pomalý a relativně špatný růst některých izolátů (5). Protože množení mnoha rybích mykobakterií je inhibováno při teplotě vyšší než 35 °C, a někdy i při 30 °C, doporučuje se provádět kultivaci při 22–24 °C nebo při teplotě prostředí studovaných ryb (5). Pro detekci rybích mykobakterií byly vyvinuty i serologické metody (3) a je rovněž možné použít molekulární metody (PCR, PCR/RFLP, qPCR, LAMP atd.) (25).

Diferenciálně diagnosticky je třeba od mykobakteriózy odlišit především ty choroby, které vyvolávají ve tkáních vznik granulomů, např. ichtyofonózu (viz kapitola 3.11.1), dále infekce bakteriemi z rodu *Francisella*, *Photobacterium* nebo *Nocardia* (5). Bakterie rodu *Francisella* a *Photobacterium* lze odlišit barvením, protože jsou gramnegativní (26,27). *Nocardia* je podobně jako *Mycobacterium* grampozitivní a acidorezistentní, ale liší se morfologicky. Je vláknitá, rozvětvená a dosahuje délky 5–50 μm (3). Granulomatózní změny se vyskytují také u viscerálních granulomatózních amébóz (kapitola 3.5.2), při napadení ryb *Cryptobia iubilans* (kapitola 3.7.2) aj.



Obr. 2.3.1.2. Nativní kompresní preparát jater s přítomností granulomů (A), histologický řez jaterní tkáně s přítomností granulomů (B), (H&E); otiskový preparát obarvený dle Ziehl-Neelsena: přítomnost acidorezistentních červeně se barvících bakterií (C). (Foto: A, B – M. Palíková, C – P. Leščenko)

Terapie. Efekt antibiotické léčby je variabilní. Některá antibiotika uměla redukovat mykobakteriální kolonie, avšak žádné úplně infekci neeliminovalo (3). Přidání tetracyklinu do vody v dávce 30 mg.l⁻¹ bylo efektivní v akutním stádiu onemocnění (2,28). S úmyslem zvýšení účinnosti léčby byly použity kombinace antimikrobiálních látek včetně streptomycinu, ethambutolu, cycloserinu, cortimoxazolu, rifampicinu a tetracyklinů (3). Účinná byla terapie rifampicinem u tropických okrasných ryb, avšak mykobakterie byly po léčbě stejně vykultivovány z infikovaných hostitelů (29).

Prevence. Prevence mykobakteriózy spočívá především v zabránění zavlečení původců do chovu (4). Kontrola mykobakterií je primárně založena na přísné karanténě, na monitorování zdravotního stavu ryb (30) a na eliminaci podmiňujících faktorů. K dezinfekci je možné použít formaldehyd a fenolové sloučeniny (3). Efektivní je 50 a 70% alkohol, benzyl-4-chlorfenol-fenylfenol, chlorid sodný (31) a chloramin B nebo T v koncentraci 10 mg.l⁻¹ po dobu 24 hod. (2). Pokud se týká imunoprolaxe, nejsou komerční vakcíny k dispozici (5). Rekombinantní DNA vakcíny vykazovaly pouze krátkodobou ochranu (32–34).

Poznámka. V případě mykobakterií se často hovoří o možnostech přenosu na člověka (viz kapitola 4).

LITERATURA

1. Bataillon, E., Dubard, L., Terre, L., 1897. Un nouveau type de tuberculose. Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie 44: 446–449.
2. Van Duijn, C., 1981. Tuberculosis in fishes. Journal of Small Animal Practice 22: 391–411.
3. Lewis, S., Chinabut, S., 2011. Mycobacteriosis and Nocardiosis. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). Fish Diseases and Disorders Vol. 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections. CAB International, pp. 397–423.
4. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. VFU, Brno, 155 p.
5. Gauthier, D.T., Rhodes, M.W., 2017. *Mycobacterium* spp. In: Woo, P.T.K., Cipriano, R.C. (Eds). Fish Viruses and Bacteria. Pathobiology and Protection. CAB International, London, UK, pp. 245–257.
6. Nigrelli, R.F., Vogel, H., 1963. Spontaneous tuberculosis in fishes and in other cold-blooded vertebrates with special reference to *Mycobacterium fortuitum* Cruz from fish and human lesions. Zoologica 48: 131–143.
7. Ross, A.J., Johnson, H.E., 1962. Studies of transmission of mycobacterial infections of chinook salmon. Progressive Fish Culturist 24: 147–149.
8. Nenoff, P., Uhlemann, R., 2006. Mycobacteriosis in mangrove killifish (*Rivulus magdalanae*) caused by living fish food (*Tubifex tubifex*) infected with *Mycobacterium marinum*. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift 113: 209–248.
9. Peterson, T.S., Ferguson, J.A., Watral, V.G., Mutoji, K.N., Ennis, D.G., Kent, M.L., 2013. *Paramecium caudatum* enhances transmission and infectivity of *Mycobacterium marinum* and *Mycobacterium chelonae* in zebrafish (*Danio rerio*). Diseases of Aquatic Organisms 106: 229–239.
10. Conroy, D., 1966. A report on the problems of bacterial fish diseases in the Argentine Republic. Bulletin Office International des Epizooties 65: 755–768

11. Lapointe, D., Vogelbein, W.K., Fabrizio, M.C., Gauthier, D.T., Brill, R.W., 2014. Temperature, hypoxia, and mycobacteriosis: effects on adult striped bass *Morone saxatilis* metabolic performance. *Diseases of Aquatic Organisms* 108: 113–127.
12. Ashburner, L.D., 1977. Mycobacteriosis in hatchery-confined chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum) in Australia. *Journal of Fish Biology* 10: 523–538.
13. Talaat, A.M., Reimschuessel, R., Wasserman, S.S., Trucksis, M., 1998. Goldfish, *Carassius auratus*, a novel animal model for the study of *Mycobacterium marinum* pathogenesis. *Infection and Immunity* 66: 2938–2942.
14. Belas, R., Faloon, P. and Hannaford, A., 1995. Potential applications of molecular biology to the study of fish mycobacteriosis. *Annual Review of Fish Diseases* 5: 133–173.
15. Bouley, D.M., Ghorri, N., Mercer, K.L., Falkow, S. and Ramakrishnan, L., 2001. Dynamic nature of host–pathogen interactions in *Mycobacterium marinum* granulomas. *Infection and Immunity* 69: 7820–7831.
16. Tobin, D.M. and Ramakrishnan, L., 2008. Comparative pathogenesis of *Mycobacterium marinum* and *Mycobacterium tuberculosis*. *Cellular Microbiology* 10: 1027–1039.
17. Snieszko, S.F., 1978. Mycobacteriosis (Tuberculosis) of Fishes. Fish Disease Leaflet 55. Washington, DC: US Fish and Wildlife Service, 9 p.
18. Ross, A.J., 1970. Mycobacteriosis among Pacific salmonid fishes. In: Snieszko S.F. (ed.) *Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes*, Washington, DC: American Fisheries Society, Special Publication No. 5 pp. 279–283.
19. Chinabut, S., Limsuwan, C., Chanratchakool, P., 1990. Mycobacteriosis in the snakehead, *Channa striatus* (Fowler). *Journal of Fish Diseases* 13: 513–535.
20. Noga, E.J., Wright, J.F. and Pasarell, L., 1990. Some unusual features of mycobacteriosis in the cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Comparative Pathology* 102: 335–344.
21. Colorni, A., Avtalion, R., Knibb, W., Berger, E., Colorni, B., Timan, B., 1998. Histopathology of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) experimentally infected with *Mycobacterium marinum* and treated with streptomycin and garlic (*Allium sativum*) extract. *Aquaculture* 160: 1–17.
22. Gómez, S., Bernabé, A., Gomez, M.A., Navarro, J.A., Sánchez, J., 1993. Fish mycobacteriosis: morphopathological and immunocytochemical aspects. *Journal of Fish Diseases* 16: 137–141.
23. Puttinaowarat, S., Thompson, K.D., Adams, A., 2000. Mycobacteriosis detection and identification of aquatic *Mycobacterium* species. *Fish Veterinary Journal* 5: 6–21.
24. Kent, P.T., Kubica, G.P., 1985. *Public Health Mycobacteriology. A Guide for the Level III Laboratory*. US Department of Health and Human Services Publication No. (CDC) 86–8230, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia.
25. Kaattari, I., Rhodes, M.V., Kaattari, S.L., Shotts, E.B., 2006. The evolving story of *Mycobacterium tuberculosis* clade members detected in fish. *Journal of Fish Diseases* 29: 509–520.
26. Soto, E., Hawke, J.P., 2017. *Francisella noatunensis*. In: Woo, P.T.K, Cipriano, R.C. (Eds). *Fish Viruses and Bacteria. Pathobiology and Protection*. CAB International, London, UK, pp. 233–244.
27. Hawke, J.P., 2017. *Photobacterium damsela*. In: Woo, P.T.K, Cipriano, R.C. (Eds). *Fish Viruses and Bacteria. Pathobiology and Protection*. CAB International, London, UK, pp. 258–271.
28. Thoen, C.O., Schliesser, T.A., 1984. Mycobacterial Infections in Cold-blooded Animals. In: Kubica, G.P., Wayne, L.G. (Eds). *The Mycobacteria: A Sourcebook Part B*. New York: Marcel Dekker, pp. 1297–1311.

29. Boos, S., Schmidt, H., Ritter, G., Manz, D., 1995. Effectiveness of oral rifampicin against mycobacteriosis in tropical fish. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* 108: 253–255. (V němčině)
30. Astrofsky, K.M., Schrenzel, M.D., Bullis, R.A., Smolowitz, R.M., Fox, J.G., 2000. Diagnosis and management of atypical *Mycobacterium* spp. infections in established laboratory zebrafish (*Brachydanio rerio*) facilities. *Comparative Medicine* 50: 666–672.
31. Mainous, M.E., Smith, S.A., 2005. Efficacy of common disinfectants against *Mycobacterium marinum*. *Journal of Aquatic Animal Health* 17: 284–288.
32. Pasnik, D.J., Vemulapalli, R., Smith, S.A., Schurig, G.G., 2003. A recombinant vaccine expressing a mammalian *Mycobacterium* sp. antigen is immunostimulatory but not protective in striped bass. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 95: 43–52.
33. Pasnik, D.J., Smith, S.A., 2005. Immunogenic and protective effects of a DNA vaccine for *Mycobacterium marinum* in fish. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 103: 195–206.
34. Pasnik, D.J., Smith, S.A., 2006. Immune and histopathologic responses of DNA-vaccinated hybrid striped bass *Morone saxatilis* x *M. chrysops* after acute *Mycobacterium marinum* infection. *Diseases of Aquatic Organisms* 73: 33–41.

2.4. AEROMONAS SPP.

Miroslava Palíková, Stanislav Navrátil

Do rodu *Aeromonas* patří původci závažných nemocí ryb: nepohyblivá *Aeromonas salmonicida*, původce furunkulózy, atypické furunkulózy a ulcerativních onemocnění a pohyblivé aeromonády. Jedná se např. o *Aeromonas hydrophila* a *A. veronii*, které jsou označovány za komplex patogenních organismů vyvolávajících bakteriální hemoragickou septikémii a ulcerativní změny ryb. Zatímco *A. salmonicida* je patogenní pouze pro ryby, pohyblivé aeromonády jsou patogenní i pro jiné obratlovce a bezobratlé (1) a jsou považovány za potenciálně zoonotické (1,2). Aeromonády patří mezi nejběžnější bakterie vyskytující se ubikvitárně ve sladkovodním prostředí, ale vyskytují se i v brakických a mořských vodách a v půdě. Nemoci vyvolané aeromonádami způsobují významné ztráty u chovaných i volně žijících ryb. Aeromonády jsou gramnegativní tyčinky nenáročné na kultivační média.

2.4.1. FURUNKULÓZA

Miroslava Palíková

Úvod. Furunkulóza je závažné onemocnění známé více než 100 let (3). Díky svému všeobecnému rozšíření a vážným ekonomickým ztrátám v chovech lososovitých ryb patří mezi onemocnění, kterým je věnována značná pozornost. Ačkoliv název onemocnění vychází z přítomnosti typických hlubokých kožních vředů – furunklů vznikajících při chronickém průběhu onemocnění, chronický průběh ani tvorba furunklů není nejčastější formou onemocnění (4). Vyskytuje se v intenzivních chovech i ve volných vodách na celém světě s výjimkou Austrálie a Nového Zélandu, kde se vyskytují pouze atypické aeromonády. Problémem souvisejícím s jeho dalším šířením je výskyt skrytých forem onemocnění (5). Od furunkulózy je potřeba odlišovat ulcerativní onemocnění kůže různých druhů ryb včetně lososovitých, které způsobují tzv. atypické aeromonády. Atypické kmeny *A. salmonicida* jsou původci vážných onemocnění charakterizovaných ulcerativními změnami na kůži (např. erythrodermatitida kaprů – kapitola 2.4.2., ulcerativní onemocnění dříve označované jako hemofilóza, aj.). Některé změny mohou připomínat typické změny pro furunkulózu (6). Někteří autoři uvádějí atypické aeromonády jako původce atypické furunkulózy (7).

Původce. Původcem onemocnění je obligátní patogen *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* (8), která je považována za typický poddruh *A. salmonicida* způsobující typickou systémovou furunkulózu. Jedná se o nepohyblivou gramnegativní, fermentativní bakterii tvořící hnědý, ve vodě rozpustný pigment a produkující katalázu a oxidázu (4). Vyhovuje jí zvýšené organické zatížení vody. Ve vodě přežívá v závislosti na teplotě a organickém zatížení 2–19 dnů, v sedimentech minimálně 1 měsíc (4,8). Mezi atypické aeromonády patogenní pro ryby a způsobující tzv. atypickou furunkulózu patří subspecie *Aeromonas salmonicida*: subsp. *achromogenes* a subsp. *masoucida*, které neprodukují pigment, a subsp. *smithia* (9).

Vnímavé druhy. Mezi vnímavé druhy typické furunkulózy patří lososovité ryby. Vnímavost je však různá. Mezi lososovitými druhy je za nejnímavější uváděn pstruh obecný (*Salmo trutta*) a siven americký (*Salvelinus fontinalis*), naopak pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*) je odolnější (10). Vnímavý je i lipan podhorní (*Thymalus thymalus*) a další druhy lososovitých ryb. Vnímavost se liší i mezi druhovými liniemi v závislosti na genetickém původu ryb (11).

K atypickým aeromonádám jsou vnímavé i další druhy sladkovodních, brakických i mořských druhů ryb.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Do vodního prostředí se bakterie dostávají s nemocnými rybami, s kontaminovanou vodou nebo rybolovným nářadím. Významnou úlohu v přenosu původce hrají i nosiči – vektorů, mezi které patří ryby i jiní vodní živočichové včetně parazitů. *Aeromonas salmonicida* byla např. izolována z kapřivce velkého (*Argulus coregoni*) nebo z vejcovky hruškovité (*Tetrahymena pyriformis*) (12,13). Diskutabilní zůstává možnost přenosu původce na povrchu jiker (4,14). Jako možný způsob přenosu je uváděn i aerosol (15). Významným faktorem pro šíření infekce je existence skryté formy onemocnění, kdy se přítomnost patogenu neprojevuje klinickými příznaky (16). Takovéto ryby mohou sloužit jako přenašeči. K propuknutí onemocnění u ryb se skrytou – latentní formou může dojít vlivem stresu. Ani vstup bakterie do organismu není úplně vyjasněn. Vedle perorálního nakažení jsou jako vstupní brána infekce uvažovány i žábry, řitní otvor, postranní čára nebo poškozený povrch těla (17).

Podmiňující faktory. Jako hlavní podmiňující faktor je uváděna vyšší teplota vody (obvykle nad 16 °C), proto se výskyt onemocnění vyznačuje jistou sezónností vrcholící v pozdním jaře a v létě (4,18). Vyšší teplota ovlivňuje nejenom rozvoj původce, ale působí i stresově na ryby. Podobně působí i náhlé změny teploty. Ryby jsou více vnímavé k furunkulóze rovněž v období tření. Mezi další podmiňující faktory je uváděn i věk ryb. U plůdku a mladých věkových kategorií onemocnění probíhá rychleji a může být doprovázeno vysokou mortalitou ryb zejména v akvakulturních chovech (8). U volně žijících lososovitých ryb se onemocnění nejčastěji objevuje u starších věkových kategorií a juvenilní jedinci do stáří jednoho roku se jeví jako odolnější (16,19). Rozvoji onemocnění napomáhá i vyšší organické zatížení vody, vyšší hustota rybí obsádky, přítomnost jiných patogenů, stres.

Průběh a vývoj onemocnění. *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* způsobuje septikémii a akutní mortalitu lososovitých ryb. Onemocnění se vyskytuje v několika formách. Perakutní forma je typická pro plůdek, ryby hynou rychle a ve velkém množství. Akutní forma postihuje juvenilní a dospělé ryby a je charakterizována septikémií, bakterie je krví roznášena do všech orgánů, ryby obvykle hynou za 2–3 dny, mortalita bývá rovněž vysoká. Subakutní a chronický průběh se vyvíjí u starších ryb nebo u ryb vykazujících větší vrozenou rezistenci a je doprovázen vznikem abscesů ve svalovině a jejich provalením navenek ve formě hlubokých kožních vředů podobných furunklům. Mortalita je nízká a ryby mohou onemocnění přežít. U přeživších jedinců se okolí furunklů hojí jizvou (20). Patogeneze u atypické furunkulózy začíná přítomností hemoragií v kůži, pokračuje zánětem kůže a podkoží a nakonec se manifestuje ulceracemi obnažujícími svalovinu.

Klinické příznaky. Perakutní a akutní průběh onemocnění bývá doprovázen ztmavnutím povrchu těla a vysokou mortalitou. Při perakutním průběhu mohou ryby hynout i bez klinických příznaků onemocnění. Postižené ryby jsou apatické a nepřijímají potravu. Při subakutním a chronickém průběhu je mortalita nízká a ryby jsou letargické. Mortalita u atypické furunkulózy (ulcerativní onemocnění) je výrazně nižší oproti systémové furunkulóze (21).

Patologické změny. U plůdku se při perakutní formě vyskytují vedle ztmavnutí kůže pouze nevýrazné změny jako exoftalmus a přítomnost hemoragií při bázi břišních ploutví (22). Při akutní formě onemocnění nacházíme hemoragie u bází ploutví, v ústní dutině, na peritoneu, v tukové tkáni, srdci a v ledvinách. Slezina bývá zvětšená (20). Histologicky detekujeme nekrózu hemopoetické tkáně ledvin a degeneraci ledvinných tubulů a myokardu (23). Subakutní a chronická forma onemocnění je doprovázena exoftalmem, zarudnutím ploutví, zánětem

střeva s přítomností hemoragické tekutiny, množstvím hemoragií ve svalovině a v játrech. Bývá zvětšená slezina a v ledvinách mohou být přítomné nekrotické změny nebo mohou mít ledviny měkkou konzistenci. Ve svalovině mohou být lokalizována nekrotická ložiska nebo abscesy, které mohou být patrné při zevním ohledání ve formě měkkých prominujících boulí. Po provalení abscesů nacházíme hluboké kožní vředy podobné furunklům (8)(obr. 2.4.1.1).

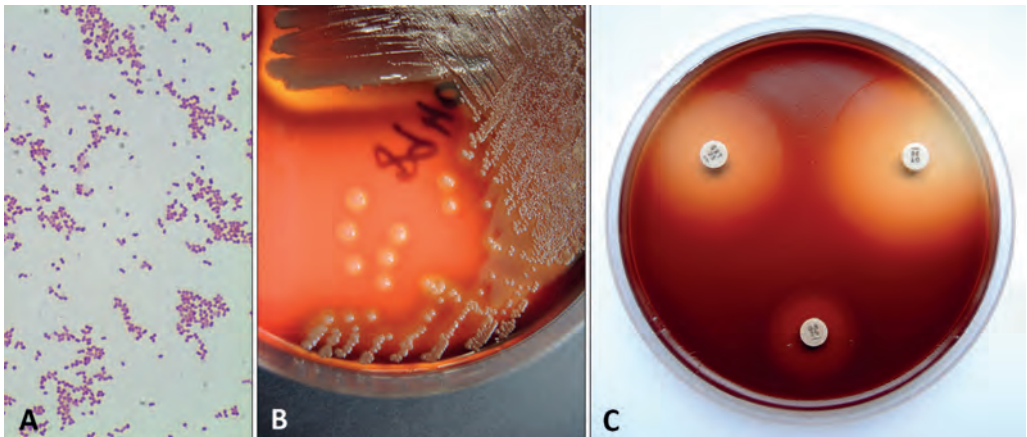


Obr. 2.4.1.1. Patologické změny typické pro subakutní a chronickou formu furunkulózy – pstruh duhový: abscesy ve svalovině ve formě prominujících měkkých vyvýšenin (A, B); řez abscesy – nekrotická ložiska ve svalovině (C, D); kožní ulcerace po provalení abscesů (E, F). (Foto: M. Palíková)

Furunkulózní léze u ryb se odlišují od furunklů teplokrevných obratlovců. Furunkly teplokrevných obratlovců jsou představovány hnisavým ohraničeným intersticiálním zánětem nejčastěji měkkých pojivových tkání. U ryb dochází k degeneraci a rozpadu svalových vláken vedoucí ke kolikvační nekróze svaloviny, přítomnost zánětlivých buněk je poměrně malá (24).

Bakterie mohou kolonizovat i žaberní epitel a způsobovat proliferaci epiteliálních buněk a fúzi žaberních lamel (25). Léze způsobené atypickými kmeny aeromonád nezasahují tolik do hloubky svaloviny, kožní hemoragie a nekrotické změny nedosahují takové intenzity jako u typické furunkulózy a připomínají změny typické pro erythrodermatitidu kaprů (kapitola 2.4.2.). Patologický proces, na rozdíl od typické furunkulózy, probíhá zvnějšku. Dermální léze jsou často kontaminovány oportunními bakteriemi a plísněmi (26).

Diagnóza. Suspektní diagnóza je založena na posouzení podmiňujících faktorů, epizootologické situace, na posouzení klinických a patologických změn. Potvrzení diagnózy vyžaduje izolaci a identifikaci původce. Kultivace se provádí na běžných médiích (KA, MPKA, TSA, BHIA). Identifikace kolonií je založena na posouzení morfologických, růstových a biochemických vlastností původce (obr. 2.4.1.2). Původce se kultivuje přednostně z ledvin, případně z abscesů nebo kožních lézí. Identifikaci lze provést rovněž molekulárními metodami, jako jsou PCR (27) nebo nested PCR (28). Identifikaci atypických kmenů aeromonád komplikují často sekundární kontaminující mikroorganismy.



Obr. 2.4.1.2. *Aeromonas salmonicida*: otiskový preparát barvený dle Grama – kolonie bakterií (A); kultivace na MPKA (B); antibiogram kultury na TSA agaru – charakteristická tvorba hnědého pigmentu (C). (Foto: A. Čížek)

Terapie. K léčbě furunkulózy se používají antimikrobiální látky. V případě potřeby rychlého zákroku lze použít širokospektrá antibiotika. Původce bývá citlivý vůči potencionálním sulfonamidům, tetracyklinům, chinolonům, amoxicilinu a florfenicolu. Vzhledem k existujícím rezistencím je ale vhodné aplikovat antibiotika až po předchozím stanovení citlivosti bakterií.

Prevence. Z preventivního hlediska je nutné udržovat optimální podmínky v chovu, nepřepřelňovat chovnou kapacitu, dodržovat dobrou hygienu a provádět pravidelné kontroly zdravotního stavu ryb. V ohrožených chovech je vhodné nasazovat odolnější lososovité druhy, resp. linie ryb. Použití ozonizace nebo UV záření ničí bakterie a je vhodné zejména v recirkulačních systémech (29,30). Jikry je doporučeno dezinfikovat, aby došlo k usmrcení bakterií na jejich povrchu (31). Pro zvýšení odolnosti ryb, zejména jejich nespecifické imunitní odpovědi, je doporučováno přidávat v kritickém období do krmiva přísady probiotik nebo imunostimulantů. Existuje řada prací, které popisují pozitivní účinek těchto látek po experimentální infekci *A. salmonicida* (např. 32–34). V současné době jsou na trhu

komerční vakcíny obsahující inaktivované bakteriny. Tyto komerční vakcíny jsou určeny pro intraperitoneální vakcinaci a vykazují dlouhodobý protektivní účinek (35). Ačkoliv vakcinaci proti furunkulóze je již věnováno mnoho let, výsledky dosud nejsou jednoznačné a mají různou efektivitu, která souvisí s antigenní diverzitou zejména atypických aeromonád (23). Výzkum je orientován na využití autogenních vakcín, které je možné aplikovat ve formě koupelí, výsledky však nejsou jednoznačné. Výsledná ochrana nebývá dlouhotrvajícího charakteru a nebývá známa ani účinnost proti atypickým kmenům *A. salmonicida*. Vakcíny spíše snižují mortalitu, než působí preventivně. Není znám ani mechanismus jejich účinku, neboť nedochází k vzestupu specifických protilátek (35).

2.4.2. DALŠÍ AEROMONÁDOVÉ INFEKCE

Stanislav Navrátil, Miroslava Palíková

Úvod. V našich podmínkách se často vyskytuje onemocnění známé jako **erythrodermatitida kaprů** (erythrodermatitis cyprinorum, carp erythrodermatitis – **CE**, summer ulcer disease, erythrodermatitida ryb), charakterizované zánětlivými změnami na kůži. Je běžné v chovech ryb v mnoha státech světa (36,37). Kožní ulcerativní změny způsobuje celá řada bakterií z rodu *Aeromonas*. Některé druhy pohyblivých aeromonád jsou uváděny jako původci septikemických forem aeromonádových infekcí (1,2,36,40,41). Tyto septikemické formy bývají označovány také jako motile aeromonad infections – **MAI**. Onemocnění způsobená aeromonádami byla v minulosti řazena do komplexu infekční vodnatelnosti. Z tohoto komplexu byla vyčleněna poté, když byla objasněna virová etiologie jarní viremie kaprů (36–39). Vzhledem k velké podobnosti patologických změn způsobených aeromonádami a nemožnosti jejich odlišení bez identifikace původce jsou tato onemocnění uváděna společně.

Původce. Někteří autoři považují za původce erythrodermatitidy pouze atypické kmeny nepohyblivé bakterie *A. salmonicida* (42). Za původce septikemických forem onemocnění byly dříve považovány pouze pohyblivé formy aeromonád a pseudomonád jako *Aeromonas hydrophila* a *Pseudomonas fluorescens* (36). Závažná onemocnění v akvakultuře vyvolávají ale také jiné pohyblivé druhy jako *A. veronii* biovar *sobria*, *A. bestiarum* a *A. dhakensis* (1,2,40,41). I u infekcí vyvolaných pohyblivými aeromonádami mohou být u postižených ryb zjišťovány kožní změny. Bakterie rodu *Aeromonas* jsou fakultativně anaerobní, produkují oxidázu a katalázu. Rostou dobře na běžných bakteriologických půdách při pokojové teplotě (37). Optimum pro mezofilní kmeny *A. salmonicida* je 22–25 °C, neroste při 37 °C, zatímco *A. hydrophila* při této teplotě roste (9). Vytvářejí šedobílé nebo hnědě pigmentované kruhovitě kolonie (37,43). Při kultivaci na krevním agaru vytvářejí zónu hemolýzy (37).

Vnímavé druhy. Za hlavní vnímavý rybí druh je považován kapr obecný (*Cyprinus carpio*). Vnímavost však byla zjištěna i u jiných druhů ryb, např. karasů (*Carassius* sp.), cejna velkého (*Abramis brama*), štiky obecné (*Esox lucius*), pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), sumečka tečkovaného (*Ictalurus punctatus*), úhoře říčního (*Anguilla anguilla*) a řady dalších (26).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Do chovného prostředí se původce dostane spolu s klinicky nebo latentně nemocnými rybami, infikovanou vodou, sekundárně i rybolovným nářadím. Může přežívat i na mokřím dně vypuštěných, zejména zabahněných a organicky zatížených rybníků (37). Přenáší se horizontálně, vertikální přenos nebyl potvrzen (40,44–47). K infekci ryb dochází především traumaticky nebo parazity poškozenou kůží, bakterie nasedají na mukózní okrsky žaber a kůže nebo zaživačím traktem (26,37,48).

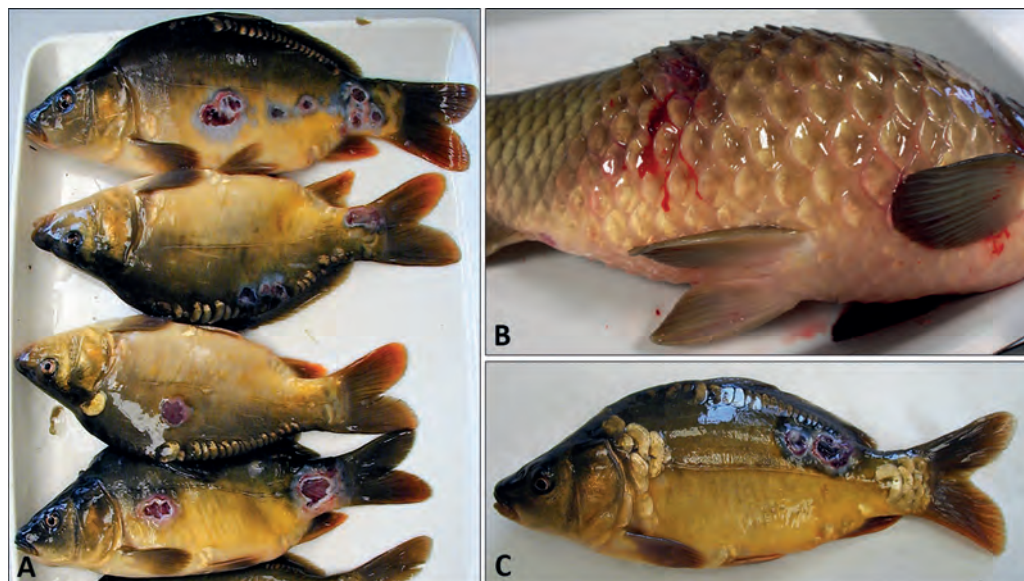
Podmiňující faktory. Nejčastěji onemocní kapři při odrůstání z plůdku na násadu (tj. během druhého vegetačního období). Mohou však onemocnět i starší věkové kategorie (37). Onemocnění je často spojené se špatnými podmínkami prostředí, jako je vysoká hustota obsádek, znečištění, nízká koncentrace kyslíku a zvýšená teplota vody. Manipulační stres, teplé počasí a zvýšená teplota vody jsou obecnými predispozičními faktory při epizootiích spojených s mnoha bakteriálními chorobami kaprovitých. Poranění způsobená predátory nebo lovem jsou ideální pro aeromonádové infekce (36). Významnou roli hraje rovněž virulence původce (26).

Průběh a vývoj onemocnění. V závislosti na virulenci původce a teplotě vody je průběh onemocnění akutní až chronický. Lokální kožní záněty se při vyšších teplotách vody brzy hojí, při nižších teplotách se průběh protrahuje, původce se dostává do ledvin a jiných orgánů, vyvíjí se celková „vodnatelnost“ doprovázená hynutím ryb. Onemocnění může v chovu přetrvávat dlouhou dobu a může se během vegetačního období opakovat (37).

Klinické příznaky. Na rybách v postižených obsádkách jsou zjišťovány zánětlivé kožní změny. Chování ryb není v této fázi onemocnění ovlivněno. Ryby přijímají potravu a mají zachovány reflexy. Teprve v pokročilé fázi onemocnění se nemocné ryby shromažďují u břehu, nepřijímají potravu, jsou nápadně tmavé a postupně, většinou u dna, hynou (37). U akutní formy MAI může k septikémii dojít tak rychle, že ryby hynou bez zjevných příznaků onemocnění (26).

Patologické změny. Pokud jsou u akutní formy MAI vyvinuty příznaky onemocnění, pozorujeme exoftalmus, zarudnutí kůže, akumulaci tekutiny v šupinových pouzdrech, může být zvětšená dutina tělní a na kůži se mohou vyskytovat ulcerativní změny. Systémová infekce je charakterizována přítomností nekrotických změn ve vnitřních orgánech, zejména v ledvinách a játrech (26). Pro chronickou formu aeromonádových infekcí jsou typické ulcerativní změny na kůži. V začátku se objevují ohraničené zánětlivé hyperemické okrsky kůže. Zánět se postupně rozšiřuje do okolí i do hloubky tkáně. Ve středu zánětlivého ložiska dochází k nekrobiotickým procesům, které se šíří od středu k periférii. Vzniká tak obvykle plochý vřed s nekrotickou spodinou a se zánětlivým valem. Vředy mohou obnažit svalovinu, kostru a může dojít i k perforaci do dutiny tělní. Ojedinele může zánětlivý proces probíhat pod kůží. Vznikají tak uzavřené abscesy, které se mohou později provalit do okolí. Otevřené vředy často podléhají sekundární infekci a zaplísnění (36,37). Za příznivých podmínek dochází k vyhojení vředů pigmentovanou jizvou. Při protrahovaném průběhu se většinou onemocnění stává systemickým a objevují se patologické změny i na vnitřních orgánech, zvláště v ledvinách, které jsou edematózní a anemické. Později dochází k projevům celkové „vodnatelnosti“ – ascites, exoftalmus, zjevení šupin, edém vnitřních orgánů i svaloviny. Zjišťuje se také anemie žaber, na kterých se mohou objevit i hemoragie (37).

Diagnóza. Suspektní diagnóza je založena na posouzení podmiňujících faktorů, epizootologické situace, na posouzení klinických a patologických změn s nálezem typických kožních lézí (obr. 2.4.2.1). V nejasných případech je možné laboratorní vyšetření doplnit bakteriologickou kultivací a identifikací původce. K laboratornímu vyšetření se zasílá 5–10 kusů živých ryb (37). Protože bakterie se ve vodách běžně vyskytují a tvoří rovněž součást normální střevní mikroflóry zdravých ryb, je nutné kultivaci potvrdit přímo z kožních změn a z vnitřních orgánů – z ledvin nebo sleziny. Bakterie se kultivují na TSA, BHIA a BA (49–51). K identifikaci původce je možné použít biochemické, serologické, molekulární metody a metody MALDI TOF.



Obr. 2.4.2.1. Typické léze pro erythrodermatidu různého rozsahu a lokalizace, nekrotický střed s obnaženou svalovinou a zánětlivým a hyperemickým valem na periférii léze (A, C); typický nález pro MAI: akumulace tekutiny v šupinových pouzdrech, ulcerativní léze na kůži a zvětšená dutina tělní (B). (Foto: M. Palíková)

Terapie. K terapii se používají antibiotika. V současné době se pro aplikaci antibiotik vzhledem k pracnosti individuální aplikace preferuje aplikace v krmivu ve formě medikované krmné směsi RUPIN SPECIÁL s obsahem oxytetracyklinu, která se podává 4× až 6× v dávce 15 g.kg⁻¹ živé hmotnosti v intervalu tří dnů (při léčebném podávání a trvalé teplotě vody nad 20 °C v intervalu dvou dnů). Podmínkou úspěchu této léčby je (kromě vnímavosti původce vůči zvolenému antibiotiku) přijímání potravy rybami. Vzhledem k časté rezistenci k oxytetracyklinu je vhodné před aplikací této medikované krmné směsi otestovat citlivost daného bakteriálního kmene (obr. 2.4.1.2C). V případě výskytu aeromonádových infekcí v akvarijních chovech je možné aplikovat antibiotika ve formě antibiotických lázní (37). U vzácných ryb (koi kaprů, generačního materiálu) lze použít injekční aplikaci antibiotik na základě zjištěné citlivosti.

Prevence. K preventivním opatřením patří podpora časného rozvoje přirozené potravy, meliorace rybníků a jejich odbahňování, pravidelné zimování, optimalizace obsádek a péče o dobrý výživný stav ryb, dezinfekce krmných míst a lovišť, šetrné zacházení s rybami bránící traumatizaci jejich kůže a tlumení ektoparazitóz (37).

LITERATURA

1. Janda, J.M., Abbott, S.L., 2010. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical Microbiology Reviews* 23: 35–73.
2. Rahman, M., Colque-Navarro, P., Kuhn, I., Huys, G., Swings, J., Möllby, R., 2002. Identification and characterization of pathogenic *Aeromonas veronii* biovar *sobria* associated with epizootic ulcerative syndrome in fish in Bangladesh. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 650–655.
3. Emmerich, R., Weibel, E., 1894. Ueber eine durch Bakterien erengte Seuche unter den Forellen. *Archives für Hygiene und Bakteriologie* 21: 1–21.
4. Austin, B., Austin, D., 2007. *Bacterial Fish Pathogens. Diseases of Farmed and Wild Fish.* Springer Praxis Publishing, Chichester, UK, 552 p.
5. Hiney, M., Smith, P., Bernoth, E.-M., 1997. Covert *Aeromonas salmonicida* infections. In: Bernoth, E.-M., Ellis, A.E., Midtlyng, P.J., Olivier, G., Smith, P. (Eds). *Furunculosis: Multidisciplinary Fish Disease Research.* Academic Press, London, pp. 54–97.
6. Rintamäki, P., Valtonen, E.T., 1991. *Aeromonas salmonicida* in Finland: pathological problems associated with atypical and typical strains. *Journal of Fish Diseases* 14: 323–331.
7. Gudmundsdottir, B.K., 1998. Infections by atypical strains of the bacterium *Aeromonas salmonicida*: a review. *Icelandic Agricultural Sciences* 12: 61–72.
8. McCarthy, D.H., Roberts, R.J., 1980. Furunculosis of fish – the present state of our knowledge. In: Droop, M.A., Jannasch, H.W. (Eds). *Advances in Aquatic Microbiology.* Academic Press, London, pp. 293–341.
9. Martin-Carnahan, A., Joseph, S.W., 2005. *Aeromonas*. In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T., Garrity, G.M. (Eds). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed, vol. 2. New York, Springer, pp. 556–578.
10. Cypriano, R.C., Heartwell, C.M., 1986. Susceptibility of salmonids to furunculosis: differences between serum and mucus responses against *Aeromonas salmonicida*. *Transactions of the American Fisheries Society* 115: 83–88.
11. Marsden, M.J., Freeman, L.C., Cox, D., Secombes, C.J., 1996. Non-specific immune responses in families of Atlantic salmon, *Salmo salar*, exhibiting differential resistance to furunculosis. *Aquaculture* 146: 1–16.
12. Shimura, S., Innoue, K., Kudo, M., Egusa, S., 1983. Studies on effects of parasitism of *Argulus corregoni* (Crustacea: *Branchiura*) on furunculosis of *Oncorhynchus masou* (Salmonidae). *Fish Pathology* 18: 37–40.
13. King, C.H., Shotts, E.B., 1987. Enhancement of *Edwardsiella tarda* and *Aeromonas salmonicida* through ingestion by the ciliated protozoan *Tetrahymena pyriformis*. *FEMS Microbiology Letters* 51: 95–100.
14. Nomura, T., Yoshimizu, M., Kimura, T., 1993. An epidemiological study of furunculosis in salmon propagation in Japanese rivers. *Fisheries Research* 17: 137–146.
15. Wooster, G.A., Bowser, P.R., 1996. The aerobiological pathway of a fish pathogen: survival and dissemination of *Aeromonas salmonicida* in aerosols and its implications in fish health management. *Journal of the World Aquaculture Society* 27: 7–14.
16. Plehn, M., 1911. Die Furunculose der Salmoniden. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, Originale, Abteilung I* 60: 609–624.

17. Effendi, I., Austin, B., 1995. Uptake of *Aeromonas salmonicida* by Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Bulletin of the European Association of Fish Pathologists 15: 115–118.
18. Malnar, L., Teskeredzic, E., Coz-Rakovac, R., 1988. Epizootiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and prophylaxis of furunculosis. Ichthyologia 20: 67–76.
19. Blake, I., Clark, J.C., 1931. Observations on experimental infection on trout by *A. salmonicida*: with particular reference to „carriers“ of furunculosis, and to certain factors influencing susceptibility. Fisheries Board of Scotland, Salmon Fisheries 7: 1–13.
20. McCarthy, D.H., 1975. Fish furunculosis. Journal of the Institute of Fisheries Management 6: 13–17.
21. Austin, B., Austin, D.A., 2012. 5 Aeromonadaceae Representatives (*Aeromonas salmonicida*). In: Austin, B., Austin, D.A. (Eds). Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish. Springer Praxis Publishing, London, UK, pp. 145–212.
22. Davis, H.S., 1946. Care and Diseases of Trout. Research Report, United States Fisheries and Wildlife Service 12: 98.
23. Gudmundsdottir, B.K., Bjornsdottir, B., 2017. *Aeromonas salmonicida* and *A. hydrophila*. In: Woo, P.T.K., Cipriano, R.C. (Eds). Fish Viruses and Bacteria. Pathobiology and Protection. CAB International, London, UK, pp. 173–189.
24. Sakai, D.K., 1978. Colliquative activity of purified protease for muscular tissue in *Aeromonas salmonicida*. Scientific Reports of the Hokaido Salmon Hatchery 33: 55–73.
25. Miyazaki, T., Kubota, S.S. 1975. Histopathological studies of the furunculosis of the Amago.- II. Perbranchial infection. Fish Pathology 9: 203–212.
26. Cipriano R.C., Austin, B., 2011. Furunculosis and other Aeromonad Diseases. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). Fish Diseases and Disorders Vol. 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections. CAB International, pp. 424–483.
27. Høie, S., Heum, M., Thorensen, O.F., 1997. Evaluation of a polymerase chain reaction-based assay for the detection of *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* in Atlantic salmon *Salmo salar*. Diseases of Aquatic Organisms 30: 27–35.
28. Taylor, P.W., Winton, J.R., 2002. Optimization of nested polymerase chain reaction assay for identification of *Aeromonas salmonicida*, *Yersinia ruckeri*, and *Flavobacterium psychrophilum*. Journal of Aquatic Animal Health 14: 216–224.
29. Bullock, G.L., Stuckey, H.M., 1977. Ultraviolet treatment of water to destruction of five Gram-negative bacteria pathogenic to fishes. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 34: 1244–1249.
30. Colberg, P.J., Lingg, A.J., 1978. Effect of ozonation on microbial fish pathogens, ammonia, nitrate, nitrite and biological oxygen demand in simulated reuse hatchery water. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 35: 1290–1296.
31. Bergh, O., Nilsen, F., Samuelsen, O.B., 2001. Diseases, prophylaxis and treatment of the Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus*: a review. Diseases of Aquatic Organisms 48: 57–74.
32. Kim, D. H., Austin, B., 2006. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics. Fish and Shellfish Immunology 21: 513–524.
33. Balcázar, J. L., Vendrell, D., de Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I., Múzquiz, J.L., 2009. Effect of *Lactococcus lactis* CLFP 100 and *Leuconostoc mesenteroides* CLFP 196 on *Aeromonas salmonicida* infection in brown trout (*Salmo trutta*). Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology 17: 153–157.

34. Nikl, L., Evelyn, T.P.T., Albright, L.J., 1993. Trials with an orally and immersion-administered β -1,3 glucan as an immunoprophylactic against *Aeromonas salmonicida* in juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*. *Diseases of Aquatic Organisms* 17: 191–196.
35. Ellis, A.E., 1997. Immunization with bacterial antigens: furunculosis. *Developments in Biological Standardization* 90: 107–116.
36. Hoole, D., Bucke, D., Burgess, P., Wellby, I., 2001. *Diseases of Carp and Other Cyprinid Fishes*. Blackwell Science, 264 p.
37. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. *Choroby ryb*. VFU Brno, 155 s.
38. Fijan, N., Petrinc, Z., Sulimanović, D., Zwillenberg, L. O., 1971. Isolation of the viral causative agent from acute form of infectious dropsy of carp. *Veterinarski Arhiv Zagreb* 41: 125–138.
39. Fijan, N., 1972. Infectious dropsy in carp – a disease complex. *Symposium Zoology Society London* 30: 39–51.
40. Austin, B., Austin, D.A., 2012. 4 Aeromonadaceae Representatives (Motile Aeromonads). In: Austin, B., Austin, D.A., *Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish*, 5th edn. Springer, Dordrecht, The Netherlands/Heidelberg, Germany/New York/London, pp. 119–146.
41. Colston, S.M., Fullmer, M.S., Beka, L., Lamy, B., Gogarten, J.P., Graf, J., 2014. Bioinformatic genome comparisons for taxonomic and phylogenetic assignments using *Aeromonas* as a test case. *Mbio* 5: e02136.
42. Bootsma, R., Fijan, N., Blommaert, J., 1977. Isolation and identification of the causative agent of carp erythrodermatitis. *Veterinarski Arhiv* 47: 291–302.
43. Wiklund, T., Lonnstrom, L., Niiranen, H., 1993. *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* lacking pigment production, isolated from farmed salmonids in Finland. *Diseases of Aquatic Organisms* 15: 219–223.
44. Nomura, T., 1993. The epidemiological study of furunculosis in salmon propagation. *Scientific Reports of the Hokaido Salmon Hatchery (Japan)* 47: 1–99.
45. Wiklund, T., 1995. Survival of atypical *Aeromonas salmonicida* in water and sediment microcosms of different salinities and temperatures. *Diseases of Aquatic Organisms* 21: 137–143.
46. Rusin, P.A., Rose, J.B., Haas, C.N., Gerba, C.P. Risk assesment of opportunistic bacterial pathogens in drinking water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 152: 57–83.
47. Udeh, P.J., 2004. *A Guide to Healthy Drinking Water*. iUniverse Inc., Lincoln, Nebraska.
48. Ferguson, Y., Bricknell, I.R., Glover, L.A., Macgregor, D.M., Prosser, J.I., 1998. Colonisation and transmission of lux-marked and wild-type *Aeromonas salmonicida* strains in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *FEMS Microbiology Ecology* 27: 251–260.
49. Cipriano, R.C., Bertolini, J., 1998. Selection for virulence in the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*, using Coomassie Brilliant Blue agar. *Journal of Wildlife Diseases* 24: 672–678.
50. Wiklund, T., 1990. Atypical *Aeromonas salmonicida* isolated from ulcers of pike, *Esox lucius* L. *Journal of Fish Diseases* 13: 541–544.
51. Gulla, S., Duodu, S., Nilsen, A., Fossen, I., Colquhoun, D.J., 2015. *Aeromonas salmonicida* infection levels in pre- and post-stocked cleaner fish assessed by culture and an amended qPCR assay. *Journal of Fish Diseases* 39: 867–877.

2.5. FLAVOBACTERIUM SPP.

Miroslava Palíková

Do rodu *Flavobacterium* patří tři původci závažných nemocí ryb: *Flavobacterium psychrophilum*, původce cytofagózy a anemického syndromu plůdku pstruha duhového, *Flavobacterium columnare*, původce kolumnarózy ryb a *Flavobacterium branchiophilum*, původce bakteriálního onemocnění žaber. Žádný z těchto původců nevyvolává onemocnění u jiných druhů živočichů. *Flavobacterium psychrophilum* a *F. columnare* jsou ubikvitárně se vyskytující bakterie, které způsobují vážné zdravotní problémy ryb chovaných v akvakultuře i ve volných vodách. Častý je jejich výskyt i ve formě koinfekcí s dalšími rybími patogeny jako jsou motilní aeromonády nebo Oomyceta. *Flavobacterium branchiophilum* způsobuje problémy výhradně v chovech ryb, nikoliv ve volných vodách. Tyto patogeny pravděpodobně postihují nejširší hostitelské spektrum ryb a osidlují největší geografickou oblast ze všech rybích bakteriálních patogenů. Geografické rozšíření daného druhu je ovlivněno teplotou vody optimální pro daný druh. Většina sladkovodních ryb je vnímavá k minimálně jednomu z těchto patogenů. Nemoci vyvolané flavobakteriemi způsobují významné ztráty u chovaných i volně žijících ryb, a to nejenom vlastní mortalitou, ale i přítomností lézí na kůži, které ryby vizuálně znehodnocují a znemožňují jejich prodej. Další ekonomické ztráty způsobuje zpomalení růstu ryb a náklady vynaložené na terapii (1). Flavobakterie jsou pohyblivé gramnegativní tyčinky typické produkcí chromogenů a nesnadnou kultivací, ke které jsou potřeba **speciální půdy**. Na nich flavobakterie rostou ve formě žlutě-oranžových kolonií (2).

2.5.1. CYTOFAGÓZA A ANEMICKÝ SYNDROM PLŮDKU PSTRUHA DUHOVÉHO

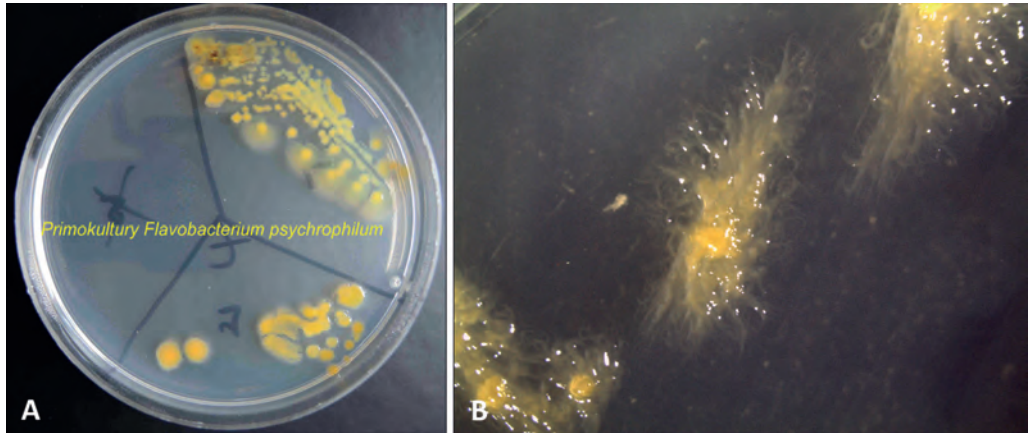
Úvod. Onemocnění se vyskytuje u volně žijících ryb i v akvakultuře. Název cytofagóza pochází ze staršího označení původce. S tímto onemocněním se v zahraniční literatuře setkáme pod názvem bacterial cold water disease – **BCWD** a rainbow trout fry syndrome – **RTFS**. První popis původce pochází z 50. let 20. století z USA (3,4). Onemocnění se vyskytuje v Americe, v Evropě a v Asii.

Původce. Původcem onemocnění je obligátní patogen *Flavobacterium psychrophilum* (dříve popisovaný jako *Cytophaga psychrophila* či *Flexibacter psychrophilum*). Jedná se o gramnegativní tyčinkovitou bakterii s klouzavým pohybem, tvořící žlutě pigmentované kolonie s tenkými rozptylovými okraji (obr. 2.5.1.1)(2). V současnosti je známo minimálně sedm sérotypů (5). V čisté vodě přežívá až 9 měsíců, přítomnost sedimentu přežití dále zvyšuje (6,7).

Vnímové druhy. Mezi vnímavé druhy patří především lososovité ryby: pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*), siven americký (*Salvelinus fontinalis*) a pstruh obecný (*Salmo trutta*) a další druhy rodů *Salmo*, *Oncorhynchus* a *Salvelinus*. Onemocnění se může vyskytnout ale i u jiných druhů ryb, např. u kapra obecného (*Cyprinus carpio*), lína obecného (*Tinca tinca*), karasa stříbřitého (*Carassius gibelio*), úhoře říčního (*Anguilla anguilla*) a dalších (8).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Do vodního prostředí se bakterie dostávají s nemocnými rybami, s kontaminovanou vodou nebo rybolovným nářadím. Bakterie je nacházena i ve vodních bezobratlých (bentos, pijavky), v řasách, a je schopná formovat biofilmy (9–12). Další možný způsob přenosu jsou kontaminované jikry. K jejich kontaminaci dochází přímo z ovariální tekutiny, z mlíčí nebo sekundárně kontaminovanou vodou při manipulaci s neoplozenými

jíčkami (13). Patogen je na povrchu/uvnitř jiker schopen přežít dezinfekci jodovými preparáty (14). Ryby se nakazí přímým kontaktem přes poškozenou kůži.



Obr. 2.5.1.1. *Flavobacterium psychrophilum*: primokultury původce na modifikované půdě dle Ordala (A), detail kolonií s tenkými rozptylovými okraji (B). (Foto: A. Čížek)

Podmiňující faktory. Hlavním podmiňujícím faktorem je teplota vody. Onemocnění se nejčastěji objevuje při teplotě vody 12–15 °C, ale nejvážnější průběh má při teplotě okolo 10 °C a nižší (4–10 °C)(15). Rozvoj onemocnění podporuje zhuštěná rybí obsádka, nižší obsah rozpuštěného kyslíku a zvýšené organické zatížení vody. RTFS postihuje plůdek ryb nejčastěji 6–7 týdnů po přechodu na exogenní potravu (16).

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh onemocnění může být akutní až chronický. U plůdku (RTFS) může onemocnění probíhat velmi rychle a mortalita může dosáhnout 60–90 % (16). Ryby mohou hynout bez výrazných patologických změn na septikémii. Při subakutním a chronickém průběhu se vyvíjejí typické léze na kůži a na žábřích.

Klinické příznaky. Nemocné ryby jsou apatické, přestávají přijímat krmivo, plavou pod hladinou a jsou na nich patrné světlé oblasti okolo ploutví. U plůdku dochází i ke ztmavnutí kůže. Při chronickém průběhu onemocnění se může objevit otáčení okolo podélné osy (spirální plavání), ztmavnutí zadní části ocasního násadce a deformace páteře (17,18).

Patologické změny. Na povrchu nemocných ryb nacházíme kožní léze lokalizované zejména na hlavě, okolo hřbetní ploutve, tukové ploutvičky a na ocasním násadci před ocasní ploutví. Zpočátku jsou léze ploché, šedavé barvy, později podléhají nekróze a mohou ulcerovat (obr. 2.5.1.2). Dochází k roztržení ploutví a vypadávání ploutevnických paprsků, často i k úplné ztrátě ocasní ploutve. Může se vyskytovat exoftalmus, žábry mohou být anemické, ale i překrvené, bývá zvětšená slezina. Mohou být přítomny i hemoragie v dutině tělní, ascites a zduření ledvin (1). Při chronickém průběhu mohou být nacházeny fokální nekrózy v různých orgánech, periostitida, meningitida, ganglioneuritida (17). U plůdku (RTFS) může být nález podobný, ulcerace se vyskytují zejména na hlavě a ocasním násadci. Nejčastěji je zjišťována splenomegalie, která je považována za patognomický nález (19).



Obr. 2.5.1.2. Patologické změny typické pro cytofagózu – siven americký: příklady flavobakteriálních lézí na kůži (A–D); detail povrchové a ulcerující léze (E, F). (Foto: M. Palíková)

Diagnóza. Suspektní diagnóza je založena na posouzení podmiňujících faktorů, epizootologické situace a na posouzení klinických a patologických změn. V kožních seškrabech lze pozorovat mikroskopicky jednotlivé, pomalu klouzavě se pohybující tyčinkovité bakterie o velikosti $1\text{--}5 \times 0,3\text{--}0,5 \mu\text{m}$. Potvrzení diagnózy vyžaduje izolaci a identifikaci původce. Kultivace se provádí na speciálních půdách (Cytophaga agar, půda dle Ordala, TYES)(20). Bakterie roste optimálně při $15\text{--}18^\circ\text{C}$. Bakterie roste pomalu, proto je vhodné do kultivačního média přidávat antimikrobiální látky podporující selektivní růst původce. Identifikace kolonií

je založena na posouzení morfologických, růstových a biochemických vlastností původce. Kolonie jsou světle žluté, za 2–3 dny inkubace dosahují velikosti 3–4 mm v průměru, střed mají lehce vyvýšený a nepravidelné okraje. Neadherují k médiu. Původce se kultivuje z kožních lézí, z ledvin, případně ze sleziny a dalších orgánů (1,16). Identifikaci lze provést rovněž molekulárními metodami, jako jsou PCR, MALDI TOF MS (např. 21,22).

Terapie. K léčbě cytofagózy se používají antimikrobiální látky. Původce bývá citlivý vůči florfenicolu nebo oxytetracyklinu. V chovu lososovitých ryb je využíván zejména registrovaný florfenicol. Vzhledem ke vzrůstající rezistenci *E. psychrophilum* je ale vhodné aplikovat antibiotika až po předchozím stanovení citlivosti bakterií (23).

Prevence. Z preventivního hlediska je nutné udržovat optimální podmínky v chovu, nepřepřplňovat chovnou kapacitu, dodržovat dobrou hygienu, minimalizovat stres, provádět pravidelné kontroly zdravotního stavu ryb, používat vodu z nezarybněných zdrojů, používat kvalitní krmivo. Použití UV záření redukuje nebo eliminuje bakterie a je vhodné zejména v recirkulačních systémech (16). Jikry je doporučeno dezinfikovat a při oplození používat vodu prostou bakterií. Ne vždy je však dezinfekce jiker úspěšná. Pro zvýšení odolnosti ryb, zejména jejich nespecifické imunitní odpovědi, je doporučováno přidávat v kritickém období do krmiva přísady probiotik nebo imunostimulantů. Výsledky použití těchto látek nicméně nemají jednoznačný účinek. U pstruha duhového byla prokázána různá liniová vnímavost vůči *E. psychrophilum* (24,25). Existují selektivní šlechtitelské programy zaměřené na produkci linií rezistentních ryb vůči *E. psychrophilum*, případně i s kombinovanou rezistencí vůči IPN.

2.5.2. KOLUMNARÓZA

Úvod. Onemocnění se vyskytuje u volně žijících ryb, v akvakultuře i u akvariálních ryb. Název kolumnaróza pochází z vlastnosti původce shlukovat se a vytvářet buněčné masy připomínající sloupky. Rovněž v zahraniční literatuře se s onemocněním setkáme pod názvem columnaris disease – **CD**. Onemocnění poprvé popsal H. S. Davis v roce 1922 u volně žijících ryb v USA (26). Původce byl izolován a popsán až o více než 20 let později (27). Onemocnění se vyskytuje celosvětově.

Původce. Původcem onemocnění je obligátní patogen *Flavobacterium columnare* (dříve též *Chondrococcus columnaris* či *Flexibacter columnaris*). Jedná se o gramnegativní, tyčinkovitou bakterii s klouzavým pohybem, tvořící žlutě pigmentované ploché kolonie s roztrženými okraji (2). Původce způsobuje jak povrchové léze, tak systémové infekce. Vyskytuje se v několika sérotypech, které se liší svou virulencí. V čisté vodě přežívá více než 5 měsíců, v rybníční vodě více než 2 roky (28). Bakterie je schopna formovat biofilmy i na inertních površích (29).

Vnímavé druhy. K onemocnění jsou vnímavé téměř všechny druhy sladkovodních (a některé brakické) chladno- a teplomilných ryb včetně akvariálních. Vnímavé jsou i některé studenomilné ryby, např. pstruh duhový (1).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Do vodního prostředí se bakterie dostávají s nemocnými rybami, s kontaminovanou vodou nebo rybolovným nářadím. Ryby přeživší infekci se stávají nosiči a pravidelně bakterie uvolňují (30). Vertikální přenos prokázán nebyl, ale bakterie byla izolována z mlíčí lososovitých ryb (31). Ryby se nakazí přímým kontaktem přes poškozenou kůži a žábry.

Podmiňující faktory. Hlavním podmiňujícím faktorem je teplota vody. Onemocnění se nejčastěji vyskytuje při teplotě vody 20–25 °C a vyšší, ale není neobvyklé jej diagnostikovat

i při teplotě pod 20 °C (12–20 °C). Rozvoj onemocnění podporuje zhuštěná rybí obsádka, nižší obsah rozpuštěného kyslíku a zvýšené organické zatížení vody, manipulace s rybami a stresová zátěž (1).

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh onemocnění je závislý na virulenci původce a na podmiňujících faktorech. Vysoce virulentní kmeny způsobují vysokou akutní mortalitu za nevýrazných patologických projevů, zatímco málo virulentní kmeny se manifestují pomalým rozvojem a způsobují chronickou mortalitu doprovázenou typickým patologickým nálezem (30). Infekce začíná na kůži a žábrách. S progresí onemocnění se rozvíjí celková bakteriémie, na žábrách dochází k epiteliální proliferaci, zánětu, edému a k fúzi lamel, což vede k poškození cirkulace a k poruše respirace. Léze na kůži podléhají ulceraci a nekrotizaci a jsou příčinou osmoregulační dysbalance (1). Za nekrotické změny jsou odpovědné exogenní proteázy, které jsou důležitým faktorem virulence (32). Mortalita u mladých nebo stresovaných ryb může dosahovat až 70 % (33).

Klinické příznaky. Při perakutním průběhu se klinické příznaky nevyvíjí. Ryby hynou za příznaků dušení. Při akutním průběhu jsou patrné šedavé skvrny v okolí ploutví, při subakutním a chronickém průběhu jsou navíc nemocné ryby apatické, přestávají přijímat krmivo a plavou pod hladinou.

Patologické změny. Na povrchu nemocných ryb nacházíme kožní léze lokalizované zejména na hlavě, okolo hřbetní ploutve, tukové ploutvičky a na ocasním násadci před ocasní ploutví. Zpočátku jsou léze ploché šedavé barvy (obr. 2.5.2.1), za nebo bez přítomnosti hemoragií, později podléhají nekróze a mohou ulcerovat. Dochází k roztřepení ploutví a vypadávání ploutevnických paprsků. Na žábrách se objevují bělavé až nahnědlé okrsky, které mohou být překryty žlutavým filmem. Mohou být rovněž přítomny hemoragie a nekrotické změny (30). U akvarijních ryb jsou patologické změny často lokalizovány v dutině ústní. Na vnitřních orgánech nebývají, až na výjimky (34), zjišťovány patologické změny.



Obr. 2.5.2.1. Povrchové šedavé léze na kůži plůdku kapra obecného (A); typické sloupky tvořené shlukováním tyčinkovitých bakterií patrné v seškrabečích z poškozených míst (B). (Foto: M. Palíková)

Diagnóza. Suspektní diagnóza je založena na posouzení podmiňujících faktorů, epizootologické situace a na posouzení klinických a patologických změn. Bakterie lze pozorovat mikroskopicky jednotlivě (velikost 3–10 × 0,3–0,5 μm) pomalu klouzavě se pohybující nebo shlukující se do typických sloupků (obr. 2.5.2.1). Potvrzení diagnózy vyžaduje izolaci a identifikaci původce. Kultivace se provádí na speciálních půdách (viz kapitola 2.5.1). Bakterie roste optimálně při 20–30 °C. Identifikace kolonií je založena na posouzení morfologických, růstových a biochemických vlastností původce. Kolonie jsou světle žluté, za 2 dny inkubace dosahují velikosti 3–4 mm v průměru, jsou rhizoidní a těsně adheřují k médiu. Původce se kultivuje z kožních lézí, z ledvin, případně ze sleziny a dalších orgánů (1,16). Identifikaci lze provést rovněž pomocí molekulárních metod (např. 35,36).

Terapie. K léčbě kolumnarózy se používají podobné antimikrobiální látky jako u cytofagózy. Původce bývá citlivý vůči florfenicolu nebo oxytetracyklinu. V kaprovém rybníkářství je využíváno zejména medikované krmivo RUPIN SPECIÁL. Vzhledem ke vzrůstající rezistenci zejména právě k oxytetracyklinu v našich chovech je vhodné aplikovat antibiotika až po předchozím stanovení citlivosti bakterií. V akvarijních chovech lze využít i další antimikrobiální látky. Z dalších látek lze použít opakovanou koupel v peroxidu vodíku (50 mg.l⁻¹ po dobu 60 minut 3 dny po sobě) nebo Chloramin T (20 mg.l⁻¹ po dobu 60 minut 3 dny po sobě)(16).

Prevence. Preventivní zásady jsou podobné jako u cytofagózy: udržovat optimální podmínky v chovu, nepřepřehňovat odchovnou kapacitu chovů, dodržovat dobrou hygienu, minimalizovat stres, provádět pravidelné kontroly zdravotního stavu ryb, používat vodu z nezarybněných zdrojů, používat kvalitní potravu, používat UV záření k ošetření vody. Jikry je doporučeno dezinfikovat a při oplození používat vodu prostou bakterií. Pro zvýšení odolnosti ryb, zejména jejich nespecifické imunitní odpovědi, je doporučováno přidávat v kritickém období do krmiva přídavek probiotik nebo imunostimulantů. Různá liniová vnímavost vůči *E. columnare* byla prokázána u sumečka tečkovaného (*Ictalurus punctatus*)(37). Bylo zjištěno, že rezistence vůči BCWD u rezistentních linií pstruha duhového koreluje s rezistencí vůči kolumnaróze (38). V některých zemích (USA) jsou registrované různé komerčně vyráběné vakcíny, které se využívají v chovu sumečka tečkovaného a u lososovitých ryb. Výzkum je rovněž orientován do oblasti využití bakteriofágů (39), ale je popisována i možnost rozvoje rezistence vůči fágům (40).

2.5.3. BAKTERIÁLNÍ ONEMOCNĚNÍ ŽABER

Úvod. Ačkoliv se původce bakteriálního onemocnění žaber vyskytuje ubikvitárně ve sladkých vodách, onemocnění je výhradní záležitostí akvakulturních chovů (1). V zahraniční literatuře se nemoc nazývá bacterial gill disease – **BGD** (41). Původce byl izolován a popsán v roce 1989 (42). Onemocnění se vyskytuje celosvětově tam, kde se odchovávají juvenilní lososovité ryby.

Původce. Původcem onemocnění je *Flavobacterium branchiophilum*. Jedná se o gramnegativní, tyčinkovitou nepohyblivou bakterii tvořící světle žluté pigmentované mírně konkávní hladké kolonie s rovnými okraji (1). Původce napadá pouze žábry bez systémové odezvy. Bakterie jsou vysoce kontagiózní, adheřují virulentní i avirulentní kmeny, ale pouze virulentní jsou schopny žábry kolonizovat (43). Podobné změny na žábrách způsobují i jiné druhy flavobakterií.

Vnímavé druhy. K onemocnění jsou vnímavé chladno- a studenomilné ryby. Nejvnímavějšími druhy jsou siven americký (*Salvelinus fontinalis*) a pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*)(1).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Původce se šíří horizontálně. Do chovného prostředí se dostane s napájecí vodou ze zarybněných lokalit. Ryby se nakazí přímo žabrami. Mechanické nebo infekční poškození žaber se významně podílí na vzplanutí choroby.

Podmiňující faktory. Onemocnění se výhradně vyskytuje v intenzivním chovu lososovitých ryb. Významnou úlohu v rozvoji onemocnění hrají faktory prostředí: vysoký krmný koeficient, zhuštěná rybí obsádka, malá výměna vody, nižší obsah rozpuštěného kyslíku a zvýšené organické zatížení vody, stres. Juvenilní ryby jsou vnímavější než dospělci (1,16).

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh onemocnění je závislý na stáří ryb a na podmiňujících faktorech. Na rozdíl od *F. columnare* a *F. psychrophilum*, *F. branchiophilum* vyvolává hyperplazii žaberního epitelu a fúzi sekundárních i primárních lamel, což vede ke značné redukci respiračního povrchu a ovlivňuje jak výměnu plynů, tak osmotickou homeostázu (44). Mortalita může dosahovat v závislosti na věku ryb a podmínkách prostředí 10–50 % během 1–2 dnů (45).

Klinické příznaky. Ryby jsou apatické, ztrácejí únikový reflex, těžko dýchají, mají světlou barvu, široce rozevřené operculum, přestávají přijímat krmivo a plavou pod hladinou nebo se shromažďují u přítoku (46).

Patologické změny. Patologické změny jsou výhradně lokalizovány na žábry. Ty jsou překrvené a zvýšeně zahleněné, při chronickém průběhu mohou být anemické (obr. 2.5.3.1). Můžeme nacházet i nekrotická ložiska a sekundární kontaminaci oomycety. Histologicky zjišťujeme zduření žaberních lístků a hyperplazii žaberního epitelu (obr. 2.5.3.2), často ve formě multifokální (nepravidelně roztroušené) epitelální hyperplazie (44).

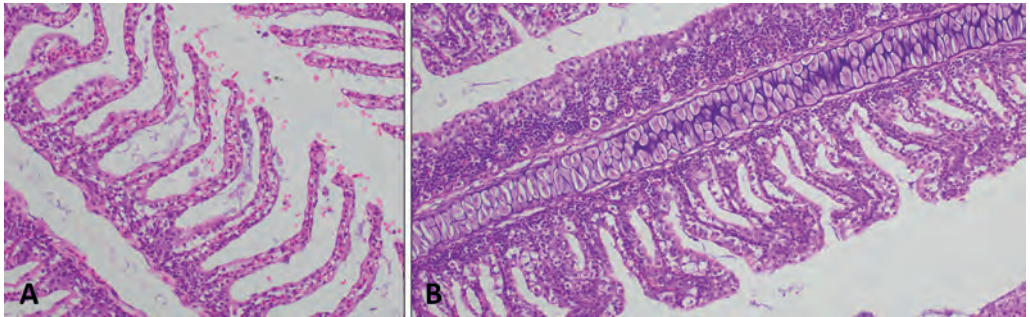
Diagnóza. Suspektní diagnóza je založena na posouzení podmiňujících faktorů, epizootologické situace a na posouzení klinických a patologických změn. V žaberních seškrabech lze v mikroskopu pozorovat tyčinkovité bakterie o velikosti 5–8 × 0,5 μm. Histologickým vyšetřením je možné pozorovat hyperplazii sekundárních lamel a množství tyčinkovitých bakterií. Potvrzení diagnózy izolací a identifikací původce je velmi nesnadné. Kultivace se provádí na speciálních půdách. Bakterie roste optimálně při 18–25 °C. Bakterie roste velmi pomalu (až 12 dní), proto je vhodné do kultivačního média přidávat antimikrobiální látky podporující selektivní růst původce. Identifikace kolonií je založena na posouzení morfologických, růstových a biochemických vlastností původce. Kolonie jsou světle žluté, hladké, lehce vyklenuté s pravidelnými okraji. Původce se kultivuje ze žaber (1,16). Identifikaci lze provést rovněž pomocí molekulárních metod (např. 47,48).

Terapie. K léčbě BGD je možné použít antimikrobiální látky podobně jako u cytofagózy a kolumnarózy. Z dalších látek lze rovněž použít opakovanou koupel v Chloraminu T (20 mg.l⁻¹ po dobu 60 minut 3 dny po sobě) nebo koupel v 5% NaCl po dobu 1–2 minut (49). Lze použít i peroxid vodíku až ve dvojnásobné dávce oproti kolumnaróze. Doporučuje se redukce krmné dávky a minimalizovat organické zatížení vody.

Prevence. Vzhledem k výskytu onemocnění pouze v chovech ryb je nutné hledat příčinu ve vzplanutí onemocnění v souvislosti s podmínkami chovu, vyvarovat se v co největší míře stresovým podmínkám a udržovat optimální podmínky v chovu: nepřepřehňovat odchovnou kapacitu, dodržovat dobrou hygienu, řádně odkalovat nádrže, používat kvalitní krmiva, zajistit dostatečnou obměnu kvalitní vody, provádět pravidelné kontroly zdravotního stavu ryb, používat ozonizaci nebo UV záření.



Obr. 2.5.3.1. Zduření žaberních lístků, zvýšené zahlenění a anémie žaber u pstruha duhového. (Foto: H. Schmidt-Posthaus)



Obr. 2.5.3.2. Histologie žaber: lehká epiteliální hyperplazie a nekróza epiteliálních buněk, přítomnost shluků bakterií mezi žaberními lamelami (A); výrazná hyperplazie žaberního epitelu, fúze až vymizení sekundárních žaberních lamel (B), (barvení H&E). (Foto: H. Schmidt-Posthaus)

LITERATURA

1. Starliper, C.E., Schill, W.B., 2011. Flavobacterial Diseases: Columnaris Disease, Coldwater Disease and Bacterial Gill Disease. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). Fish Diseases and Disorders Vol.3: Viral, Bacterial and Fungal Infections. CAB International, pp. 606–631.
2. Austin, B., Austin, D., 2007. Bacterial Fish Pathogens. Diseases of Farmed and Wild Fish. Springer Praxis Publishing, Chichester, UK, 552 p.
3. Davis, H.S., 1946. Care and Diseases of Trout. U.S. Fish and Wildlife Service, Washington, D.C.
4. Borg, A.F., 1948. Studies of Myxobacteria Associated with Diseases in Salmonid Fishes. University of Washington, Seattle, Washington.
5. Mata, M., Skarmeta, A., Santos, Y., 2002. A proposed serotyping system for *Flavobacterium psychrophilum*. Letters in Applied Microbiology 35: 166–170.
6. Vatsos, I.N., Thompson, K.D., Adams, A., 2003. Starvation of *Flavobacterium psychrophilum* in broth, stream water and distilled water. Diseases of Aquatic Organisms 56: 115–126.
7. Madetoja, J., Dalsgaard, I., Wiklund, T., 2002. Occurrence of *Flavobacterium psychrophilum* in fish-farming environments. Diseases of Aquatic Organisms 52: 109–118.
8. Lehmann, J., Mock, D., Stürenberg, F.J., Bernardet, J.F., 1991. First isolation of *Cytophaga psychrophila* from a systemic disease in eels and cyprinids. Diseases of Aquatic Organisms 10: 217–220.
9. Alvarez, B., Secades, P., Prieto, M., McBride, M.J., Guijarro, J.A., 2006. A mutation in *Flavobacterium psychrophilum tipB* inhibits gliding motility and induces biofilm formation. Applied and Environmental Microbiology 72: 4044–4053.
10. Izumi, S., Fujii, H., Aranishi, F., 2005. Detection and identification of *Flavobacterium psychrophilum* from gill washings and benthic diatoms by PCR-based sequencing analysis. Journal of Fish Diseases 28: 559–564.
11. Amita, K., Hoshino, M., Honma, T., Wakabayashi, H., 2000. An investigation on the distribution of *Flavobacterium psychrophilum* in the Umikawa River. Fish Pathology 35: 193–197.
12. Schulz, C., Faisal, M., 2010. The bacterial community associated with the leech *Myzobdella lugurbi* Leidy 1851 (Hirudinea: Piscicolidae) from Lake Erie, Michigan, USA. Parasite 17: 113–121.
13. Brown, L., Cox, W., Levine, R., 1997. Evidence that the causal agent of bacterial cold-water disease *Flavobacterium psychrophilum* is transmitted within salmonid eggs. Diseases of Aquatic Organisms 29: 213–218.
14. Avendaño-Herrera, R., Houel, A., Irgang, R., Bernardet, J.-F., Godoy, M., Nicolas, P., Duchaud, P., 2014. Introduction, expansion and coexistence of epidemic *Flavobacterium psychrophilum* lineages in Chilean fish farms. Veterinary Microbiology 170: 298–306.
15. Holt, R.A., 1987. *Cytophaga psychrophila*, the causative agent of bacterial cold-water disease in salmonid fish. Ph.D. thesis, Oregon State University, Corvallis, Oregon.
16. Loch, T.P., Faisal, M., 2017. *Flavobacterium* spp. In: Woo, P.T.K., Cipriano, R.C. (Eds). Fish Viruses and Bacteria. Pathobiology and Protection. CAB International, London, UK, pp. 173–189.
17. Kent, L., Groff, J., Morrison, J., Yasutake, W., Holt, R., 1989. Spinal swimming behaviour due to cranial and vertebral lesions associated with *Cytophaga psychrophila* infections in salmonid fishes. Diseases of Aquatic Organisms 6: 11–16.

18. Blazer, V., Stark, K., Starliper, C., 1996. Unusual histologic manifestation of *Flexibacter psychrophila* in hatchery salmonids. In: Cypriano, R.C. (Ed.). 21st Annual Eastern Fish Health Workshop, Gloucester Point, Virginia, p. 10.
19. Rangdale, R., Richards, R., Alderman, D., 1999. Histopathological and electron microscopical observations on rainbow trout fry syndrome. *Veterinary Record* 144: 251–254.
20. Anacker, R.L., Ordal, E.J., 1959. Studies on the myxobacterium *Chondrococcus columnaris*: I. Serological typing. *Journal of Bacteriology* 78: 25–32.
21. Del Cerro, A., Marquez, I., Guijarro, J.A., 2002. Simultaneous detection of *Aeromonas salmonicida*, *Flavobacterium psychrophilum* and *Yersinia ruckeri*, three major fish pathogens, by multiplex PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 5177–5180.
22. Lievens, B., Frans, I., Heusdens, C., Justé, A., Jonstrup, S.P., Loeffrig, F., Willems, K.A., 2011. Rapid detection and identification of viral and bacterial fish pathogens using a DNA array-based multiplex assay. *Journal of Fish Diseases* 34: 861–875.
23. Smith, P., Endris, R., Kronvall, G., Thomas, V., Verner-Jeffreys, D., Wilhelm, C., Dalsgaard, I., 2016. Epidemiological out-off values for *Flavobacterium psychrophilum* MIC data generated by a standard test protocol. *Journal of Fish Diseases* 39: 143–154.
24. Silverstein, J.T., Vallejo, R.L., Palti, Y., Leeds, T.D., Rexroad, C.E., Welch, T.J., Ducrocq, V., 2009. Rainbow trout resistance to bacterial cold-water disease is moderately heritable and is not adversely correlated with growth. *Journal of Animal Science* 87: 860–867.
25. Leeds, T., Silverstein, J., Weber, G., Vallejo, R., Palti, Y., Rexroad, C.E., Evenhuis, J., Hadidi, S., Welch, T.J., Wiens, G.D., 2010. Response to selection for bacterial coldwater disease resistance in rainbow trout. *Journal of Animal Science* 88: 1936–1946.
26. Davis, H.S., 1922. A new bacterial disease of fresh-water fishes. *Bulletin of the United States Bureau of Fisheries* 38: 261–280.
27. Ordal, E.J., Rucker, R.R., 1944. Pathogenic myxobacteria. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 56: 15–18.
28. Kunttu, H.M., Sundberg, L.R., Pulkkinen, K., Valtonen, E.T., 2012. Environment may be the source of *Flavobacterium columnare* outbreaks at fish farms. *Environmental Microbiology Reports* 4: 398–402.
29. Cai, W., De La Fuente, L., Arias, C.R., 2013. Biofilm formation by the fish pathogen *Flavobacterium columnare*: development and parameters affecting surface attachment. *Applied and Environmental Microbiology* 79: 5633–5642.
30. Declercq, A.M., Haesebrouck, F., Van den Broeck, W., Bossier, P., Decostere, A., 2013. Columnaris disease in fish: a review with emphasis on bacterium-host interactions. *Veterinary Research* 44:27.
31. Loch, T.P., Faisal, M., 2016. Flavobacteria isolated from the milt of feral Chinook salmon of the Great Lakes. *North American Journal of Aquaculture* 78: 25–33.
32. Bertolini, J.M., Rohovec, J.S., 1992. Electrophoretic detection of proteases from different *Flexibacter columnaris* strains and assessment of their variability. *Diseases of Aquatic Organisms* 12: 121–128.
33. Shotts, E.B., Starliper, C.E., 1999. Flavobacterial Diseases: Columnaris Disease, Cold-water Disease and Bacterial Gill Disease. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). *Fish Diseases and Disorders*. CABI Publishing, pp. 559–576.

34. Hawke, J.P., Thune, R.L., 1992. Systemic isolation and antimicrobial susceptibility of *Cytophaga columnaris* from commercially reared channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 4: 109–113.
35. Bader, J.A., Shoemaker, C.A., Klesius, P.H., 2003. Rapid detection of columnaris disease in PCR primer for *Flavobacterium columnare*. *Journal of Microbiological Methods* 52: 209–220.
36. Panangala, V.S., Shoemaker, C.A., Van Santen, V.L., Dybvig, K., Klesius, P.H., 2007. Multiplex-PCR for simultaneous detection of 3 bacterial fish pathogens, *Flavobacterium columnare*, *Edwardsiella ictaluri* and *Aeromonas hydrophila*. *Diseases of Aquatic Organisms* 74: 199–208.
37. Beck, B.H., Farmer, B.D., Straus, D.L., Li, C., Peatman, E., 2012. Putative roles for a rhamnose binding lectins in *Flavobacterium columnare* pathogenesis in channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Fish and Shellfish Immunology* 33: 1008–1015.
38. Evenhuis, J.P., Leeds, T.D., Marancik, D.P., Lapatra, S.E., Wiens, G.D., 2015. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) resistance to columnaris disease in heritable and favorably correlated with bacterial cold water disease resistance. *Journal of Animal Science* 93: 1546–1554.
39. Prasad, Y., Arpana, Kumar, D., Sharma, A.K., 2011. Lytic bacteriophages specific to *Flavobacterium columnare* rescue catfish, *Clarias batrachus* (Linn.) from columnaris disease. *Journal of Environmental Biology* 32: 161–168.
40. Castillo, D., Christiansen, R.H., Espejo, R., Middelboe, M., 2014. Diversity and geographical distribution of *Flavobacterium psychrophilum* isolates and their phages: patterns of susceptibility to phage infection and phage host range. *Microbial Ecology* 67: 748–757.
41. Davis, H., 1926. A new gill disease of trout. *Transactions of the American Fisheries Society* 56: 156–160.
42. Wakabayashi, H., Huh, G.J., Kimura, N., 1989. *Flavobacterium branchiophila* sp. nov., a causative agent of bacterial gill disease of freshwater fishes. *International Journal of Systematic Bacteriology* 39: 213–216.
43. Ostland, V.E., Macphree, D.D., Lumsden, J.S., Ferguson, H.W., 1995. Virulence of *Flavobacterium branchiophilum* in experimentally infected salmonids. *Journal of Fish Diseases* 18: 249–262.
44. Wood, E., Yasutake, W. 1957. Histopathology of fish. V. Gill diseases. *The Progressive Fish Culturist* 19: 7–13.
45. Speare, D.J., Ferguson, H.W., Bearmish, F.W.M., Yager, J.A., Yamashiro, S., 1991. Pathology of bacterial gill disease: sequential development of lesions during natural outbreaks of disease. *Journal of Fish Diseases* 14: 21–32.
46. Speare, D.J., Ferguson, H.W., 1989. Clinical and pathological features of common gill diseases of cultured salmonids in Ontario. *The Canadian Veterinary Journal* 30: 882–887.
47. Toyama, T., Kita-Tsukamoto, K., Wakabayashi, H. 1996. Identification of *Flexibacter maritimus*, *Flavobacterium branchiophilum* and *Cytophaga columnaris* by PCR targeted 16S ribosomal DNA. *Fish Pathology* 31: 25–31.
48. Good, C.M., Davidson, J., Wiens, G.D., Weich, T.J., Summerfelt, S., 2015. *Flavobacterium branchiophilum* and *F. fuccinicans* associated with bacterial gill disease in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in water recirculation aquaculture systems. *Journal of Fish Diseases* 38: 409–413.
49. Kudo, S., Kimura, N., 1983. The recovery from hyperplasia in a natural infection. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 49: 1627–1633.

2.6. YERSINIA RUCKERI

Miroslava Palíková

2.6.1. YERSINIOZA LOSOSOVITÝCH

Úvod. *Yersinia ruckeri* způsobuje onemocnění nazývané yersinióza lososovitých nebo také bakteriální hemoragická septikémie lososovitých. V zahraniční literatuře se nemoc nazývá enteric redmouth disease – **ERM**. Původce byl poprvé izolován v roce 1950 v USA a popsán v roce 1966 (1). V současné době se vyskytuje v Severní i Jižní Americe, v Evropě, v Asii, v Africe a v Austrálii. Dá se říci, že se vyskytuje na většině území, kde jsou intenzivně chovány sladkovodní chladnomilné ryby (2).

Původce. *Yersinia ruckeri* je gramnegativní tyčinkovitá bakterie velikosti 1–2 × 3 μm. *Yersinia ruckeri* se vyskytuje ve dvou biotypech: biotyp 1 je pohyblivý a lipáza pozitivní, pohyb je umožněn přítomností 7–8 bičíků (3); biotyp 2 není pohyblivý (nemá bičíky) a je lipáza negativní. Nepohyblivé kmeny jsou významné tím, že mohou vyvolat onemocnění u ryb vakcinovaných pohyblivými kmeny (4). Různé kmeny *Y. ruckeri* se liší hostitelskou specifitou a virulencí. Pro pstruha duhového jsou typické izoláty serotypu O1 (5). Bakterie jsou schopné ve vodě a v sedimentech přežívat více než 100 dnů (6). Zvýšená salinita jejich přežití významně redukuje (7) a podobně snižuje i mortalitu ryb.

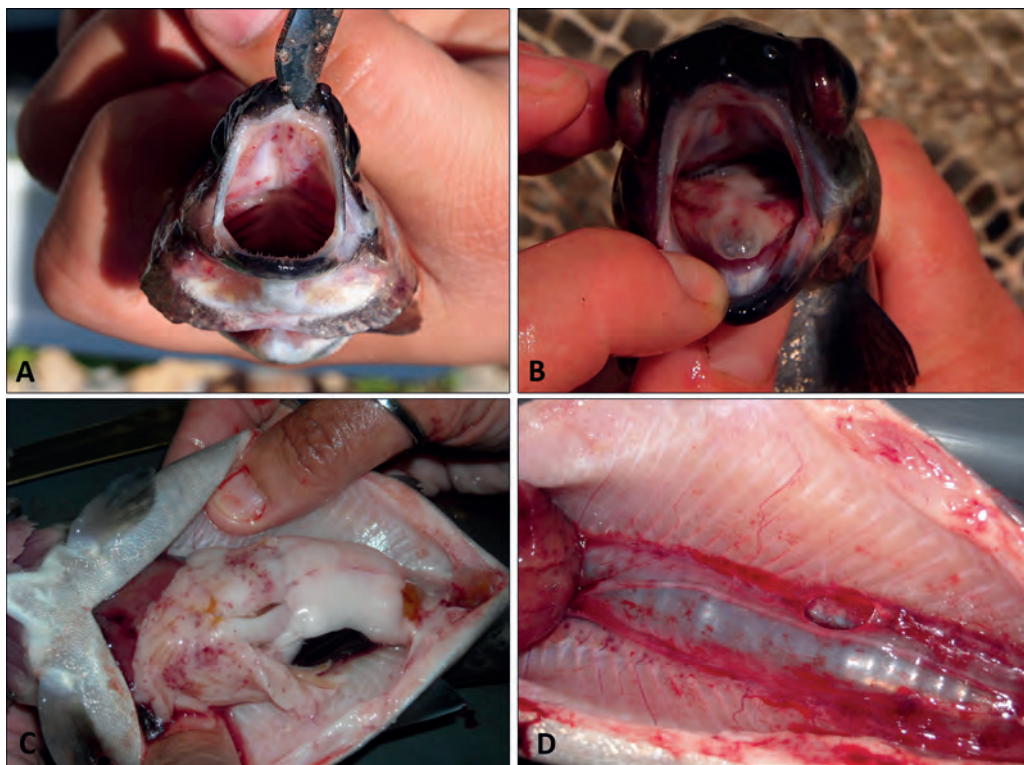
Vnímavé druhy. Onemocnění je typické především pro lososovité ryby včetně síhů. Nejčastěji se vyskytuje u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Bakterie byla ale izolována i z jiných druhů ryb, např. z jesetera sibiřského (*Acipenser baeri*), sumečka tečkovaného (*Ictalurus punctatus*), úhoře říčního (*Anguilla anguilla*) a z různých druhů kaprovitých ryb včetně ryb nevykazujících příznaky onemocnění (2).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Původce se šíří horizontálně. Do chovného prostředí se dostane s napájecí vodou ze zarybněných lokalit, s infikovanými rybami nebo s nosiči. Ryby se nakazí přímo přes žábry nebo přes zažívací trakt (8).

Podmiňující faktory. Onemocnění se vyskytuje především při teplotách 15–18 °C a teploty pod 10 °C ho zastavují. Akutní forma se nejčastěji vyskytuje u mladých ryb o velikosti okolo 7,5 cm, u větších ryb od 12,5 cm probíhá chronicky (3). Významnou úlohu v rozvoji onemocnění hrají faktory prostředí: manipulace s rybami, zhuštěná rybí obsádka, malá výměna vody, nižší obsah rozpuštěného kyslíku a zvýšené organické zatížení vody, stres. Juvenilní ryby jsou vnímavější než dospělé (2).

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh onemocnění je akutní až chronický. Bakterie se z žaberního aparátu nebo trávicího traktu dostávají do krve, vzniká bakteriémie a původce je roznášen do ostatních orgánů. Bakterie produkuje extracelulární produkty jako proteázy a hemolyziny, které poškozují hostitelské tkáně. Běžné ztráty v chovech způsobené tímto onemocněním jsou 10–15%, ale v příznivých podmínkách mohou být několikanásobně vyšší (2). Onemocnění se může pravidelně opakovat díky rybám – nosičům, které vylučují původce s výkaly (9). K vylučování původce dochází zejména po stresové zátěži (10).

Klinické příznaky. U nemocných ryb se objevuje anorexie, malátnost, ztmavnutí těla. U plůdku nebývají patrné žádné klinické příznaky.

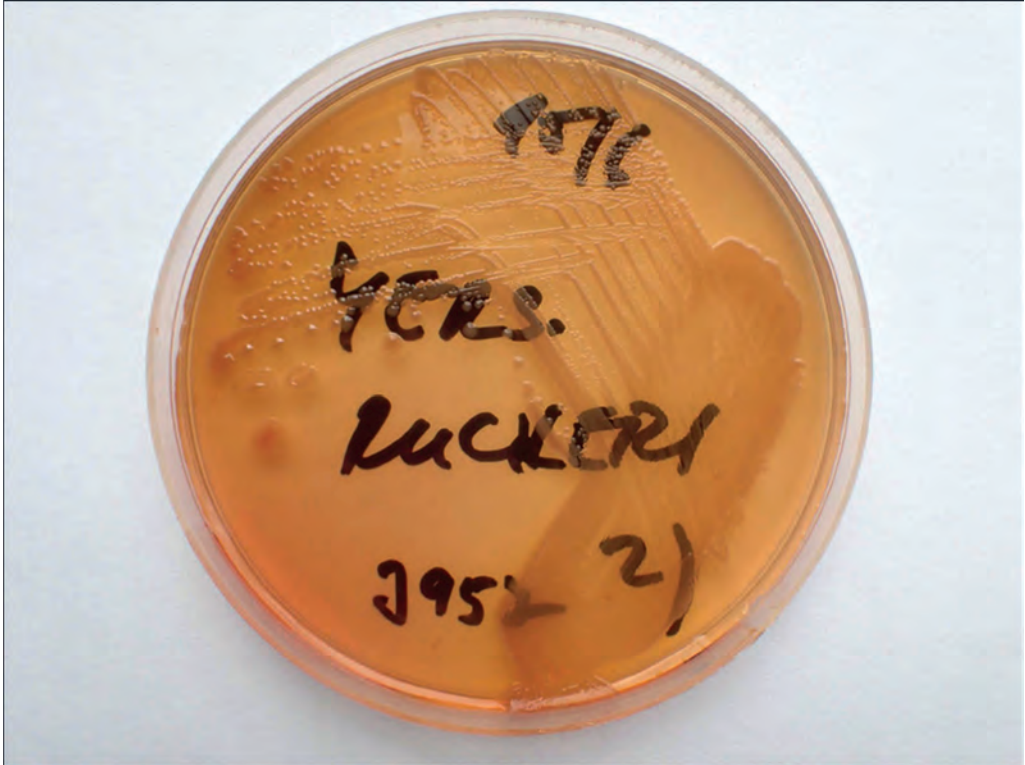


Obr. 2.6.1.1. Přítomnost hemoragií v dutině ústní (A, B); exoftalmus s periokulárními hemoragiemi (B); hemoragie v játrech a v tukové tkáni u pstruha duhového (C); petechie na peritoneu a plynovém měchýři (D). (Foto: M. Palíková)

Patologické změny. Při pitvě ryb je nápadné zarudnutí v okolí dutiny ústní způsobené subkutánními hemoragiemi. Krváceniny jsou přítomné na čelistech a na patře, ale i v okolí ploutví, postranní čáry a na operkulu. Zřídka může docházet k ulceracím. Bývá přítomen jedno- nebo oboustranný exoftalmus s přítomností intraokulárních hemoragií (11). Krváceniny mohou být přítomné i v dutině tělní: v tukové tkáni, v játrech, v pankreatu, na plynovém měchýři, ve svalovině (obr. 2.6.1.1)(12). Ledviny a slezina mohou být zvětšené. V zažívacím traktu bývá nažloutlá mukózní tekutina. V játrech, ledvinách a slezině se mohou vyskytovat fokální nekrózy. Při chronickém průběhu nebývá vyvinut hemoragický syndrom.

Diagnóza. Suspektní diagnóza je založena na posouzení podmiňujících faktorů, epizootologické situace a na posouzení klinických a patologických změn. Potvrzení diagnózy je na základě identifikace původce. Původce lze kultivovat na běžných půdách (TSA, BHIA, McConkey, KA)(obr. 2.6.1.2). Bakterie lze kultivovat z ledvin, sleziny nebo z poškozeného povrchu. U ryb – nosičů lze kultivovat ze zadní části střeva (13). Bakterie narostou za 48 hodin při teplotě 20–25 °C ve formě kulatých, prominujících lesklých šedavých kolonií o průměru 2–3 mm (3). Diagnostiku lze provést rovněž pomocí molekulárních metod (např. 14, 15).

Terapie. K léčbě yersiniózy se používají antimikrobiální látky. Většina evropských izolátů je stále vnímavá k širokému spektru antimikrobiálních látek (16). I přesto je vhodné aplikovat antibiotika až po předchozím stanovení citlivosti bakterií. Rovněž je nutné respektovat použití registrovaných léčiv nebo dalších léčiv, u kterých je možná aplikace na výjimku.



Obr. 2.6.1.2. Kolonie *Yersinia ruckeri* na McConkey agaru. (Foto: A. Čížek)

Prevence. Z preventivního hlediska je nutné udržovat optimální podmínky v chovu, nepřepřehňovat chovnou kapacitu, dodržovat dobrou hygienu, turnusový způsob chovu, provádět pravidelné kontroly zdravotního stavu ryb, použití ozonizace nebo UV záření, dezinfekce jiker, minimalizace stresu. Pro zvýšení odolnosti ryb vůči onemocnění je doporučováno využití probiotik. Existuje řada prací, které popisují pozitivní účinek těchto látek po experimentální infekci *Y. ruckeri* (např. 17,18). V současné době jsou k dostání komerční vakcíny obsahující inaktivované bakteriny. Tyto komerční vakcíny jsou registrované i v ČR a jsou k dispozici pro injekční a perorální použití i ve formě imerze (ponožovací koupele). Vakcíny poskytují dobrou ochranu vůči onemocnění (19). Orální vakcíny poskytují účinnější ochranu než imerzní (20). K dispozici jsou rovněž subjednotkové a DNA vakcíny (21,22).

LITERATURA

1. Ross, A.J., Rucker, R.R., Ewing, W.H., 1966. Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Canadian Journal of Microbiology 12: 763–770.
2. Barnes, A.C., 2011. Enteric Redmouth Disease (ERM) (Enteric Redmouth Disease (ERM) (*Yersinia ruckeri*). In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). Fish Diseases and Disorders Vol. 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections. CAB International, pp. 484–511.
3. Austin, B., Austin, D., 2007. Bacterial Fish Pathogens. Diseases of Farmed and Wild Fish. Springer Praxis Publishing, Chichester, UK, 552 p.
4. Tinsley, J.W., Austin, D.A., Lyndon, A.R., Austin, B., 2011. Novel non-motile phenotypes of *Yersinia ruckeri* suggest expansion of the current clonal complex theory. Journal of Fish Diseases 34: 311–317.
5. Ormsby, M., Davies, R., 2017. *Yersinia ruckeri*. In: Woo, P.T.K., Cipriano, R.C. (Eds). Fish Viruses and Bacteria. Pathobiology and Protection. CAB International, London, UK, pp. 173–189.
6. Romalde, J.R., Barja, J.L., Magarinos, B., Toranzo, A.E., 1994. Starvation-survival processes of the bacterial fish pathogen *Yersinia ruckeri*. Systematic and Applied Microbiology 17: 161–168.
7. Thorsen, B.K., Enger, O., Norland, S., Hoff, K.A., 1992. Long-term starvation survival of *Yersinia ruckeri* at different salinities studied by microscopical and flow cytometric methods. Applied and Environmental Microbiology 58: 1624–1628.
8. Tobback, E., Hermans, K., Decostere, A., Van Den Broeck, W., Haesebrouck, F., Chiers, K., 2010. Interactions of virulent and avirulent *Yersinia ruckeri* strains with isolated gill arches and intestinal explants of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Diseases of Aquatic Organisms 90: 175–179.
9. Bush, R.A., Lingg, A.J., 1975. Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric red-mouth disease (Hagerman Strain) in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of the Fisheries Research Board of Canada 32: 2429–2432.
10. Hunter, V.A., Knittel, M.D., Fryer, J.L., 1980. Stress-induced transmission of *Yersinia ruckeri* infection of carriers to recipient steelhead trout *Salmo gairdneri* Richardson. Journal of Fish Diseases 3: 467–472.
11. Fuhrmann, H., Bohm, K.H., Schlotfeldt, H.J., 1983. An outbreak of enteric redmouth disease in West Fermany. Journal of Fish Diseases 6: 309–311.
12. Wobeser, G., 1973. Outbreak of redmouth disease in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) in Saskatchewan. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 30: 571–575.
13. Busch, R.A., Lingg, A.J., 1975. Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric red-mouth disease in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Journal of the Fisheries Research Board of Canada 32: 2429–2432.
14. Gibello, A., Blanco, M.M., Moreno, M.A., Cutuli, M.T., Domenech, A., Dominguez, L., Fernandez-Garayzabal, J.F., 1999. Development of a PCR assay for detection of *Yersinia ruckeri* in tissues of inoculated and naturally infected trout. Applied and Environmental Microbiology 65: 346–350.
15. Bastardo, A., Ravelo, C., Romalde, J.L., 2012. Highly sensitive detection and quantification of the pathogen *Yersinia ruckeri* in fish tissues by using real-time PCR. Applied Microbiology and Biotechnology 96: 511–520.

16. Calvez, S., Gantelet, H., Blanc, G., Douet, D.G., Daniel, P., 2014. *Yersinia ruckeri* biotypes 1 and 2 in France: presence and antibiotic susceptibility. *Diseases of Aquatic Organisms* 109: 117–126.
17. Raida, M.K., Larsen, J.L., Nielsen, M.E., Buchmann, K., 2003. Enhanced resistance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, against *Yersinia ruckeri* challenge following oral administration of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* (BioPlus2B). *Journal of Fish Diseases* 26: 495–498.
18. Capkin, E., Altinok, I., 2009. Effects of dietary probiotic supplementations on prevention treatment of yersiniosis disease. *Journal of Applied Microbiology* 106: 1147–1153.
19. Kumar, G., Menanteau-Ledouble, S., Saleh, M., El-Matbouli, M., 2015. *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. *Veterinary Research* 46: 1–10.
20. Ghosh, B., Nguyen, T.D., Crosbie, P.B.B., Nowak, B.F., Bridle, A.R., 2016. Oral vaccination of first-feeding Atlantic salmon, *Salmo salar* L., confers greater protection against yersiniosis than immersion vaccination. *Vaccine* 34: 1–10.
21. Scott, C.J.W., Austin, B., Austin, D.A., Morris, P.C., 2013. Non-adjuvanted flagellin elicits a non-specific protective immune response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) towards bacterial infections. *Vaccine* 31: 3262–3267.
22. Ispir, U., Dorucu, M., 2014. Efficacy of lipopolysaccharide antigen of *Yersinia ruckeri* in rainbow trout by intraperitoneal and bath immersion administration. *Research of Veterinary Science* 97: 271–273.

2.7. VIBRIO SPP.

Miroslava Palíková

2.7.1. VIBRIÓZA

Úvod. Bakterie rodu *Vibrio* (resp. čeledi Vibrionaceae díky přeřazení některých druhů) způsobují komplex onemocnění nazývaný vibrióza (vibriosis). Nejčastějšími patogenními druhy jsou ***Vibrio anguillarum*** (dříve též *Listonella anguillarum*, *Vibrio piscium*, *Achromobacter ichthyodermis*, *Pseudomonas ichthyodermis*, aj.), ***Vibrio ordalii*** a ***Aliivibrio salmonicida***. V souvislosti se zoonotickým potenciálem lze k těmto původcům přiřadit i druh *Vibrio vulnificus* (viz kapitola 4. Zoonózy). Původce *V. anguillarum* byl poprvé popsán u úhořů v Baltském moři v roce 1909 (1). Zatímco *V. anguillarum* vykazuje široké geografické rozšíření i hostitelské spektrum, *V. ordalii* a *A. salmonicida* se vyskytují zejména u lososovitých ryb s omezeným geografickým výskytem. *Vibrio ordalii* bylo izolováno z nemocných lososovitých ryb v Americe, Japonsku, Austrálii a na Novém Zélandu. *Aliivibrio salmonicida* způsobuje problémy v chovech lososů v Kanadě, v Norsku a v UK, kde je onemocnění známé rovněž pod jménem Hitra disease nebo cold water vibriosis (2,3). *Vibrio anguillarum* je považováno za původce klasické vibriózy. Onemocnění se vyskytuje celosvětově ve slaných a brakických vodách a způsobuje vážné ekonomické ztráty. Bylo však popsáno i ze sladkovodních intenzivních chovů úhořů a lososovitých ryb, proto je s jeho výskytem za určitých podmínek třeba počítat i u nás (4).

Původce. *Vibrio anguillarum* je nejdůležitějším etiologickým agens vibriózy. Jedná se o gramnegativní zakřivenou tyčinkovitou bakterii velikosti 0,5 × 1,5 μm. Pohyb je umožněn přítomností polárního bičíku. Produkuje oxidázu a katalázu a je fakultativně anaerobní (5). Vyskytuje se v mnoha virulentních i avirulentních sérotypech. Bakterie vyžaduje pro růst přísady NaCl.

Vnímavé druhy. *Vibrio anguillarum* způsobuje onemocnění u pacifických i atlantských lososů, u pstruhů, tilapií (*Tilapia* sp.) a u řady významných mořských druhů ryb. V našich podmínkách je potenciálně nejnámavějším druhem úhoř říční (*Anguilla anguilla*), případně pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*)(3,4).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Původce se šíří horizontálně. Do chovného prostředí se dostane s napájecí vodou ze zarybněných lokalit, s infikovanými rybami nebo s nosiči. Bakterie je normálně přítomna v potravě chovaných nebo volně žijících ryb (6). V mořské vodě je schopna přežít více než 50 měsíců (7). V našich podmínkách spočívá nebezpečí zavlečení původce s dovozem infikovaných ryb ze zamořených lokalit a zejména úhořního monté, které je odlovováno v brakických vodách. Určité nebezpečí představuje i špatně tepelně zpracované krmivo připravené z mořských ryb. Ryby se nakazí přímo přes trávicí ústrojí s potravou, přes žábry nebo poraněnou kůži (4).

Podmiňující faktory. Hlavním podmiňujícím faktorem je vyšší salinita vody. Onemocnění se běžně vyskytuje při vyšší teplotě vody v pozdním létě. V našich podmínkách se může původce nejlépe uplatnit v jarních měsících po oteplení vody. Významnou úlohu v rozvoji onemocnění má i virulence původce, oslabení ryb a stresová zátěž (3,4). *Aliivibrio salmonicida* je psychrofilní bakterie, tudíž se uplatňuje u chladnomilných druhů ryb v pozdním létě, v zimě a na jaře (8).

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh onemocnění probíhá v závislosti na virulenci původce a podmiňujících faktorech perakutně až chronicky. Při perakutním průběhu dochází k celkové bakteriémii a většina ryb hyne bez přítomnosti patologických změn. Při akutním a subakutním

průběhu se rozvíjí typická hemoragická septikémie s přítomností hemoragií a edematózních změn jak na povrchu těla, tak ve vnitřních orgánech a svalovině. Při chronickém průběhu dochází k nekrobiotickým procesům a ke vzniku podkožních abscesů a ulcerativních změn (3,4).

Klinické příznaky. U nemocných ryb se mohou objevit poruchy plavání, ztráta reflexů, „zavěšení“ pod hladinou a hynutí za nervových příznaků. Často se objevuje nechutenství, anorexie a ztmavnutí těla. Vlivem ztráty krve a anémie se objevují příznaky dušení ryb.

Patologické změny. Charakteristickými patologickými změnami pro vibriózu je nález krvácivých projevů v kůži a okolí ploutví, zarudlých okrsků kůže na ventrální straně těla a na bocích, posléze zduření, přítomnost prominujících boulí, kožních erozí a vředů (obr. 2.7.1.1). Rovněž bývá přítomen exoftalmus, zákal čočky, ulcerace a ruptura očních bulbů. Žábry jsou bledé, anemické. Střevo bývá rozšířené a naplněné čirou viskózní tekutinou. Bývá postižena zejména kaudální část gastrointestinálního traktu vzhledem k pH prostředí, které se stává alkalickým, a ke skutečnosti, že původce neroste v kyselém prostředí (9). Ledviny jsou zduřelé, slezina je zvětšená. Hemoragie a nekrotické změny mohou být přítomné i v ledvinách, slezině, játrech a ve svalovině (2). *Vibrio ordalii* má afinitu především ke svalovině a kůži, kde způsobuje hemoragie a nekrózy přilehlé tkáně (9). *Aliivibrio salmonicida* způsobuje u ryb hemoragický syndrom, anémii a generalizovanou septikémii. Hemoragie se nejvíce vyskytují mezi vnitřními orgány (10).



Obr. 2.7.1.1. Přítomnost hemoragií a nekrotických lézí na hlavě a v okolí prsních ploutví. (Foto: O. Haenen)

Diagnóza. Suspektní diagnóza je založena na posouzení podmiňujících faktorů, epizootologické situace a na posouzení klinických a patologických změn. Potvrzení diagnózy je na základě identifikace původce. Původce lze kultivovat na běžných půdách (TSA, BHIA, KA) s přidavkem 1–2% NaCl. Bakterie lze kultivovat z ledvin, sleziny nebo z poškozeného povrchu. *Vibrio anguillarum* roste rychle při teplotě 25–30 °C ve formě kulatých, krémových kolonií. Optimální teplota pro růst *A. salmonicida* je 12–15 °C (2,3). Původce lze následně identifikovat pomocí biochemických testů (11). Diagnostiku lze provést rovněž pomocí molekulárních metod, PCR nebo LAMP (12,13).

Terapie. K léčbě vibriózy se používají antimikrobiální látky. Nejčastěji je používán oxytetracyklin, florfenicol a enrofloxacin (14).

Prevence. V našich podmínkách je zásadním preventivním opatřením veterinární kontrola importů vnímavých druhů ryb z oblastí s výskytem onemocnění. Dále je nutné udržovat optimální podmínky v chovu, nepřepřehňovat odchovnou kapacitu chovů, dodržovat dobrou hygienu chovu a dobrý kondiční a zdravotní stav ryb, minimalizovat stresovou zátěž. Ve státech s výskytem vibriózy jsou dostupné komerční vakcíny obsahující inaktivované bakteriny pro intraperitoneální nebo imerzní aplikaci (15). Současným trendem ve výzkumu je vývoj živých atenuovaných kmenů pro podání v imerzi nebo perorálně (16,17). Pro zvýšení odolnosti ryb vůči onemocnění je doporučováno využití probiotik (např. 18,19).

LITERATURA

1. Bergman, A., 1909. Die rote Beulenkrankheit des Aals. Berichte aus der Koniglichen Bayerischen Biologischen. Versuchsstation 2: 10–54.
2. Toranzo, A.E., Magariños, B., Avendaño-Herrera, R., 2017. Vibriosis: *Vibrio anguillarum*, *V. ordalii* and *Aliivibrio salmonicida*. In Woo, P.T.K., Cipriano, R.C. (eds.). In: Fish Viruses and Bacteria. Pathobiology and Protection. CAB International, London, UK, pp. 314–333.
3. Actis, L.A., Tolmasky, M.E., Crosa, J.H., 2011. Vibriosis. In: Woo, P.T.K., Bruno, D.W. (Eds). Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Pathogens, 2nd edn. CABI, Wallingford, UK, pp. 570–596.
4. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. Vydalo VFU Brno, 155 s.
5. Austin, B., Austin, D., 2007. Bacterial Fish Pathogens. Diseases of Farmed and Wild Fish. Springer Praxis Publishing, Chichester, UK, 552 p.
6. Roberts, R., 1989. The Bacteriology of Teleosts. In: Roberts, R. (Ed.). Fish Pathology. Bailliere Tindall, London, pp. 289–319.
7. Hoff, K.A., 1989. Survival of *Vibrio anguillarum* and *Vibrio salmonicida* at different salinities. Applied and Environmental Microbiology 55: 1775–1786.
8. Egidius, E., Andersen, K., Clausen, E., Raa, J., 1981. Cold-water vibriosis or 'Hitra disease' in salmonid farming. Journal of Fish Diseases 4: 353–354.
9. Ransom, D.P., Lannan, C.N., Rohovec, J.S., Fryer, J.L., 1984. Comparison of histopathology caused by *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii* in three species of Pacific salmon. Journal of Fish Diseases 7: 107–115.
10. Egidius, E., Wiik, R., Andersen, K., Holff, K.A., Hjeltness, B., 1986. *Vibrio salmonicida* sp. nov., a new fish pathogen. International Journal of Systematic Bacteriology 36: 518–520.

11. Toranzo, A.E., Barja, J.L., 1990. A review of the taxonomy and seroepizootology of *Vibrio anguillarum*, with special reference to aquaculture in the northwest of Spain. *Diseases of Aquatic Organisms* 9: 73–82.
12. Kim, D.G., Kim, Y.R., Kim, E.Y., Cho, H.M., Ahn, S.H., Kong, I.S., 2010. Isolation of the *groESL* cluster from *Vibrio anguillarum* and PCR detection targeting *groEL* gene. *Fisheries Science* 76: 803–810.
13. Gao, H., Li, F., Zhang, X., Wang, B., Xiang, J., 2010. Rapid, sensitive detection of *Vibrio anguillarum* using loop mediated isothermal amplification. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 28: 62–66.
14. Rigos, G., Troisi, G.M., 2005. Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: a synopsis of pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 15: 53–73.
15. Colquhoun, D.J., Lillehaug, A., 2014. Vaccination Against Vibriosis. In: Gudding, R., Lillehaug, A., Evensen, Ø. (Eds). *Fish Vaccination*. Wiley-Blackwell, Chichester/Oxford, UK, pp. 172–184.
16. Yu, L.P., Hu, Y.H., Sun, B.G., Sun, L., 2012. C312M: an attenuated *Vibrio anguillarum* strain that induces immunoprotection as an oral and immersion vaccine. *Diseases of Aquatic Organisms* 102: 33–42.
17. Zhang, Z., Wu, H., Xiao, J., Wang, Q., Liu, Q., Zhang, Y., 2012. Immune responses of zebrafish (*Danio rerio*) induced by bath-vaccination with a live attenuated *Vibrio anguillarum* vaccine candidate. *Fish Shellfish Immunol.* 33: 36–41.
18. Brunt, J., Newaj-Fyzul, A., Austin, B., 2007. The development of probiotics for the control of multiple bacterial disease in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 30: 573–579.
19. Sorroza, L., Padilla, D., Acosta, F., Román, L., Grasso, V., Vega, J., Real, F., 2012. Characterization of the probiotic strain *Vagococcus fluvialis* in the protection of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) against vibriosis by *Vibrio anguillarum*. *Veterinary Microbiology* 155: 369–373.

2.8. EDWARDSIELLA SPP.

Stanislav Navrátil

2.8.1. EDWARDSIELÓZY

Úvod. Gramnegativní tyčinkovité bakterie z rodu *Edwardsiella* vyvolávají onemocnění zvané edwardsielózy. Bakterie byly popsány v polovině 60. let 20. století (1). U ryb vyvolávají septikemická onemocnění podobná infekcím vyvolaným pohyblivými aeromonádami (2). *Edwardsiella tarda* byla poprvé zjištěna v chovu sumečka skvrnitého (*Ictalurus punctatus*) v Arkansasu (3) a dnes je rozšířena jako rybí patogen po celém světě (4). U nás byla zjištěna v chovech akvarijních ryb (5) a v chovu pstruha duhového (6). Na základě molekulárních metod a studia genomu byly z tohoto druhu vyčleněny *E. piscicida* a *E. anguillarum* (7). Další druh *E. ictaluri* byl popsán u sumečků počátkem 80. let 20. století (7). *Edwardsiella ictaluri* byla v ČR izolována z nemocného plůdku sumce velkého (*Silurus glanis*) (5).

Původce. *Edwardsiella tarda*, *E. ictaluri*, *E. piscicida*, *E. anguillarum*. *Edwardsiella tarda* je variabilně pohyblivá gramnegativní bakterie velikosti $0,6 \times 2,0 \mu\text{m}$. *Edwardsiella ictaluri* je slabě pohyblivá gramnegativní bakterie velikosti $0,75 \times 1,25 \mu\text{m}$.

Vnímavé druhy. *Edwardsiella tarda* byla zjištěna u 27 druhů ryb včetně zástupců čeledi *Cyprinidae*, *Ictaluridae*, *Salmonidae* a *Anguillidae*, podobně i *E. piscicida* a *E. anguillarum* byla zjištěna u většího počtu rybích druhů (7). *Edwardsiella ictaluri* je nejzávažnější příčinou mortality způsobené bakteriemi v chovech sumečků skvrnitých. Vyvolává tzv. střevní septikemii sumečků (enteric septicaemia of catfish – **ESC**). Bakterie byla zjištěna u 14 druhů ryb (7). U tohoto onemocnění byla experimentálně prokázána vnímavost u sumce velkého. V roce 1999 byla v ČR *E. ictaluri* izolována z nemocného plůdku sumce velkého (5).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Do chovného prostředí se původce dostane spolu s nemocnými rybami nebo infikovanou vodou. K nakažení dochází přes žábry nebo přes střevo (5). U ESC je popisována infekce přes nozdry a migrace bakterie čichovým nervem do mozku s vyvoláním meningoencefalitidy (8,9).

Podmiňující faktory. Na vzplanutí edwardsielóz se podílí špatná hygiena chovu, špatná kvalita vody a velká hustota rybích obsádek. Za podmiňující faktor vzplanutí ESC jsou považovány sezónní změny teploty, zejména její zvýšení nad hodnotu obvyklou pro chov vnímavých druhů ryb (5).

Průběh a vývoj onemocnění. Edwardsielózy mohou způsobit značnou mortalitu ryb. Včasný terapeutický zásah však přináší dobré výsledky. Inkubační doba není známa (5).

Klinické příznaky. Nemocné ryby trpí anorexií a jsou letargické (6). Pro ESC jsou typické pohybové poruchy (vrtohlavost, spirálovité plavání) a poloha nemocných ryb pod hladinou (10).

Patologické změny. ESC se může vyskytovat v akutní, subakutní a chronické formě (11). Akutní průběh má septikemický charakter a před úhynem se nevyskytují téměř žádné klinické příznaky. Subakutní průběh je charakterizován petechiemi a ekchymózami na kůži, přítomností nekrotických změn v játrech a ledvinách a přítomností hemoragií ve střevě. Vyskytuje se čirá až krvavá tekutina v tělní dutině a splenomegálie. V chronických případech mohou být bakterie izolovány jen z mozku a příležitostně z nekrotických jater.

Edwardsiella tarda vyvolává u postižených ryb kožní léze penetrující do podkožní svaloviny ve formě plynem naplněných abscesů (3). Na dorzální straně lebky se mohou vyskytovat

hemoragické vředy (11). Tyto eroze kůže pokrývající čelní kosti, označované jako „díry v hlavě“ (hovorový výraz užívaný pro onemocnění), mohou vést až k meningoencefalitidě. Léze mají nerovné rozrušené okraje na rozdíl od hladkých zřetelných okrajů lézí souvisejících s infekcí *E. tarda* a *E. piscicida* (10). Popisuje se i nález bakterií uvnitř makrofágů (12,13). Řehulka a kol. (6) popisuje u pstruhů duhových překrvení vnitřních orgánů a přítomnost petechií v játrech s chronickou lymfocytární portální hepatitidou, fokální nekrózou, steatózou, rozšířením krevních sinusů a aktivací sinusoidálních buněk. Podobně bývají postiženy také ledviny. Patologický obraz onemocnění může být také charakterizován hemoragickým syndromem. Podobné patologické změny jsou popisovány i u infekcí vyvolaných *E. piscicida* (14).

Diagnóza. Suspektní diagnóza je založena na posouzení podmiňujících faktorů, epizootologické situace, na posouzení klinických a patologických změn. Potvrzení diagnózy vyžaduje izolaci a identifikaci původce. *Edwardsiella tarda* roste na běžných médiích obohacených ovčí krví ve formě malých šedých kolonií. Původce je možné identifikovat na základě biochemických reakcí (11), ale vzhledem k fenotypické nejednoznačnosti s *E. piscicida* a *E. anguillarum* může být pro potvrzení diagnózy použita druhově specifická PCR (15,16) nebo sekvenování relevantních genetických markerů (7). *Edwardsiella piscicida* je synonymická s popsanou typickou, pohyblivou, pro ryby patogenní *E. tarda* (15). Tak mohou být využity stejné komerční fenotypické diagnostické kity jako pro *E. tarda*. Podobně je tomu i u *E. anguillarum*. *Edwardsiella ictaluri* roste na běžných médiích obohacených ovčí krví ve formě malých výrazných šedobílých kolonií. Původce je možné identifikovat na základě biochemických reakcí (11,19) nebo PCR (19) a LAMB (20). V rámci diferenciativní diagnostiky je v případě ESC vzhledem k podobným klinickým příznakům a patologickým změnám nutné vyloučit CCVD (5)(kapitola 1.3.1.).

Terapie. V mnoha literárních pramenech se uvádí pro potlačení edwardsielózy používání různých antibiotik nebo potencovaných sulfonamidů (např. 20,21). Vzhledem k možné rezistenci různých kmenů by měly být tyto antimikrobiální látky použity podle zjištěné citlivosti. Pro léčbu ESC je v USA schválen Romet® a Aquaflor® (7). Pro zmírnění ztrát během vzplanutí ESC je doporučována redukce krmné dávky pro omezení ingesce *E. ictaluri* a zabránit fekálně-orální cestě nakažení (22,23). V akvakultuře je efektivní aplikace různých dezinfekčních prostředků na hladinu (24).

Prevence. Prevence spočívá v udržování dobrých podmínek chovu a v pravidelném sledování zdravotního stavu rybí obsádky (5). Je možná imunoprevence. Vzhledem k velké variabilitě sérotypů původců bylo vyvinuto mnoho různých vakcín (25,26). V případě ESC je popisováno úspěšné použití komerční imerzní vakcíny Aquavak (Merck Animal Health)(27). Pro zvýšení nespecifické odolnosti vnímavých ryb je rovněž doporučováno obohacení krmiva vitamínem C (5).

LITERATURA

1. Ewing, W., McWhorter, A., Escobar, M., Lubin, A., 1965. *Edwardsiella*, a new genus of Enterobacteriaceae based on a new species, *E. tarda*. International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy 15: 33–38.
2. Hoole, D., Bucke, D., Burgess, P., Wellby, I., 2001. Diseases of Carp and Other Cyprinid Fishes. Blackwell Science, Oxford, 264 p.
3. Meyer, F., Bullock, G., 1973. *Edwardsiella tarda*, a new pathogen of channel catfish, (*Ictalurus punctatus*). Applied Microbiology 25: 155–156.

4. Park, S., Aoki, T., Jung, T., 2012. Pathogenesis of and strategies for preventing *Edwardsiella tarda* infection in fish. *Veterinary Research* 43: 67.
5. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. *Choroby ryb*. VFU Brno, 155 s.
6. Řehulka, J., Marejková, M., Petráš, P., 2012. Edwardsiellosis in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research* 43: 1628–1634.
7. Griffin, M.J., Greenway, T.E., Wise, D.J., 2017. *Edwardsiella* spp. In: Woo, P.T.K and Cipriano, R.C. (Eds). *Fish Viruses and Bacteria, Pathobiology and Protection*. Wallingford, Oxford, 190–210.
8. Miyazaki, T., Plumb, J., 1985. Histopathology of *Edwardsiella ictaluri* in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Journal of Fish Diseases* 8: 389–392.
9. Shotts, E., Blazer, V., Waltman, W., 1986. Pathogenesis of experimental *Edwardsiella ictaluri* infections in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 43: 36–42.
10. Thune, R., Stanley, L., Cooper, R., 1993. Pathogenesis of Gram-negative bacterial infections in warmwater fish. *Annual Review of Fish Diseases* 3: 37–68.
11. Hawke, J., Khoo, L. 2004. Infectious Diseases. In: Tucker, C., Hargreaves, J. (eds.). *Biology and Culture of the Channel Catfish*. Elsevier, Amsterdam, 347–443.
12. Petrie-Hanson, L., Romano, C., Mackey, R., Khosravi, P., Hohn, C., Boyle, C., 2007. Evaluation of zebrafish *Danio rerio* as a model for enteric septicaemia of catfish (ESC). *Journal of Aquatic Animal Health* 19: 151–158.
13. Hawke, J., Kent, M., Rogge, M., Baumgartner, W., Willes, J., Shelley, J., Savolainen, L.C., Wagner, R., Murray, K., Peterson, T.S., 2013. Edwardsiellosis caused by *Edwardsiella ictaluri* in laboratory populations of zebrafish *Danio rerio*. *Journal of Aquatic Animal Health* 25: 171–183.
14. Shafei, S., Viljamaa-Dirks, S., Sundell, K., Heinikainen, S., Abayneh, T., Wiklund, T., 2016. Recovery of *Edwardsiella piscicida* from farmed whitefish, *Coregonus lavaretus* (L.), in Finland. *Aquaculture* 454: 19–26.
15. Griffin, M., Ware, C., Quiniou, S, Steadman, J., Gaunt, P., Khoo, L.H., Soto, E., 2014. *Edwardsiella piscicida* identified in the southeastern USA by *gyrB* sequence, species-specific and repetitive sequence-mediated PCR. *Diseases of Aquatic Organisms* 108: 23–35.
16. Reichley, S., Ware, C., Greenway, T., Wise, D, Griffin, M., 2015. Real-time polymerase chain reaction assays for the detection and quantification of *Edwardsiella tarda*, *Edwardsiella piscicida*, and *Edwardsiella piscicida*-like species in catfish tissues and pond water. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 27: 130–139.
17. Hawke, J., McWhorter, A., Steigerwalt, A., Brenner, D., 1981. *Edwardsiella ictaluri* sp. nov., the causative agent of enteric septicaemia of catfish. *International Journal of Systematic Bacteriology* 31: 396–400.
18. Bilodeau, A., Waldbieser, G., Terhune, J., Wise, D., Wolters, W., 2003. A real-time polymerase chain reaction assay of the bacterium *Edwardsiella ictaluri* in channel catfish. *Journal of Aquatic Animal Health* 15: 80–86.
19. Yeh, H., Shoemaker, C., Klesius, P., 2005. Evaluation of a loop-mediated isothermal amplification method for rapid detection of channel catfish *Ictalurus punctatus* important bacterial pathogen *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of Microbiological Methods* 63: 36–44.
20. Waltman, W., Shotts, E., 1986. Antimicrobial susceptibility of *Edwardsiella tarda* from the United States and Taiwan. *Veterinary Microbiology* 12: 277–282.

21. Lo, D., Lee, Y., Wang, J., Kuo, H., 2014. Antimicrobial susceptibility and genetic characterisation of oxytetracycline-resistant *Edwardsiella tarda* isolated from diseased eels. *Veterinary Record* 175: 203–203.
22. Wise, D., Johnson, M., 1998. Effect of feeding frequency and Romet-medicated feed on survival, antibody response, and weight gain of fingerling channel catfish *Ictalurus punctatus* after natural exposure to *Edwardsiella ictaluri*. *Journal of the Aquaculture Society* 29: 169–175.
23. Wise, D., Camus, A., Schwedler, T., Terhune, J., 2004. Health Management. In: Tucker, C., Hargreaves, J. (eds.). *Biology and Culture of the Channel Catfish*. Elsevier, Amsterdam, pp. 444–503.
24. Mainous, M., Smith, S., Kuhn, D., 2010. Effect of common aquaculture chemicals against *Edwardsiella ictaluri* and *E. tarda*. *Journal of Aquatic Animal Health* 22: 224–228.
25. Kawai, K., Liu, Y., Ohnishi, K., Oshima, S., 2004. A conserved 37 kDa outer membrane protein of *Edwardsiella tarda* is an effective vaccine candidate. *Vaccine* 22: 3411–3418.
26. Mohanty, B., Sahoo, P., 2007. Edwardsiellosis in fish: a brief review. *Journal of Biosciences* 32: 1331–1344.
27. Shoemaker, C., Klesius, P., Bricker, J., 1999. Efficacy of a modified live *Edwardsiella ictaluri* vaccine in channel catfish as young as seven days post hatch. *Aquaculture* 176: 189–193.

ONEMOCNĚNÍ PŮSOBENÁ EUKARYOTICKÝMI ORGANISMY

*E. Zusková, I. Papežíková, M. Palíková, T. Scholz, M. Gelnar, I. Dyková,
V. Piačková, E. Řehulková, S. Navrátil, R. Blažek*



ONEMOCNĚNÍ PŮSOBNÁ EUKARYOTICKÝMI ORGANISMY

E. Zusková, I. Papežiková, M. Palíková, T. Scholz, M. Gelnar, I. Dyková, V. Piačková, E. Řehulková, S. Navrátil, R. Blažek

3.1. DINOFLAGELLATA

Stanislav Navrátil

Dinoflagellata (obrněnky) jsou dnes řazeny do skupiny Alveolata. Vyskytují se běžně ve vodním ekosystému a jsou významnými primárními producenty a konzumenty, stejně jako endosymbionty mnoha bezobratlých (1,2). Některé druhy jsou parazity ryb (3). Pro naše podmínky je nejdůležitější obrněnka *Piscinoodinium pillulare*.

3.1.1. PISCINOODINIÓZA

Úvod. Chorobu, česky nazývanou obrněnkovitost, poprvé popsal W. Schäperclaus v roce 1951 (4) u akvarijní ryby čichavec zakrslý (*Trichogaster lalius*), určil původce *Oodinium pillularis* a chorobu nazval oodiniózou. Tento název dosud někdy mezi ichtyopatologi a akvaristy přetrvává, i když byl později překlasifikován J. Lomem (5) na *Piscinoodinium pillulare*. Piscinoodinióza je závažnou ektoparazitózou vyskytující se v našich podmínkách především v chovech akvarijních ryb (6).

Původce. Původcem piscinoodiniózy je obrněnka *Piscinoodinium pillulare*. Přisedlé stádium cizopasníka (trofont) je žlutozelený až hnědý, hruškovitý nebo váčkovitý mikroorganismus dosahující délky do 140 μm (4). Krátká stopka s přichytným diskem vyčnívá ze spodní části a ze stopky se radiálně rozbíhají úzké, pevně držící rhizocysty hřebíkovitého tvaru. Rhizocysty pronikají do cytoplazmy hostitelské buňky (3). V cytoplazmě trofontu byly zjištěny chloroplasty (7), což naznačuje schopnost fotosyntézy (3). Zralý trofont opadáva, ztrácí stopku a mění se v rozmnožovací cystu (tomont), několikrát se asexuálně rozdělí na nová infekční stádia se dvěma bičkami (dinospory), jejichž počet dosahuje až 256. Tato stádia dosahují velikosti do 20 μm (3,6).

Vnímavost. Vnímavých je mnoho druhů tropických ryb (8). Vnímavé jsou také druhy z mírného pásma, např. kapr obecný (*Cyprinus carpio*) a lín obecný (*Tinca tinca*) (9). U nás se tato obrněnka, jak již bylo řečeno, patogenně uplatňuje především v akvarijních chovech, a to hlavně u mladších věkových kategorií (6).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Původce se může do chovného prostředí dostat s vodou nebo živou potravou obsahující volná stádia obrněnek, s předměty, na jejichž povrchu jsou cystózní stádia a vysazením napadených ryb. Cizopasníka lze přenést rovněž akvaristickými pomůckami. Cizopasníci aktivně napadají kůži nebo žábry hostitele (6).

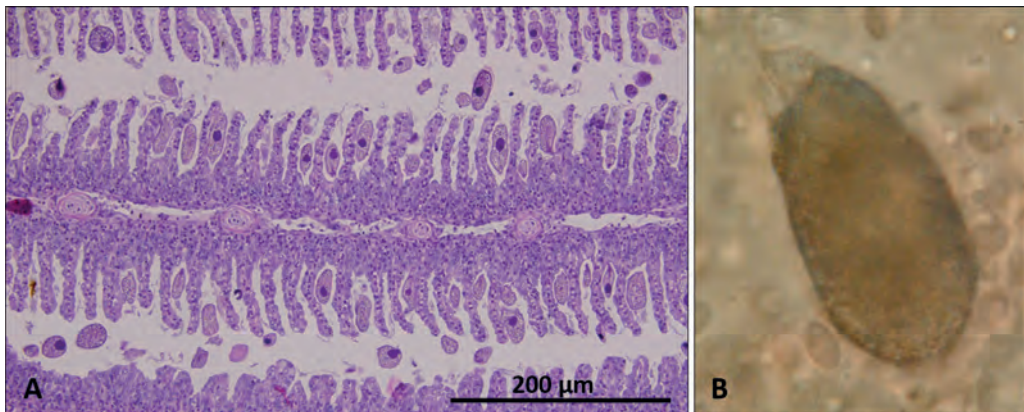
Podmiňující faktory. Optimální teplota pro *P. pillulare* je 23–25 °C, při které tvorba dinospor v tomontu trvá 50–70 hodin. Při teplotě 15–17 °C tento proces trvá 11 dní (10). Rozvoj onemocnění podporuje také nahloučení ryb v nádržích s nízkým sloupcem stojaté vody (6).

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh choroby je závislý především na intenzitě napadení. Bývá obvykle chronický, ale u plůdku akvarijních ryb se můžeme setkat i s průběhem akutním, kdy ryby hynou během 1–2 týdnů, zatímco starší ryby mohou žít měsíce. Rhizocysty upevňují trofont na hostiteli a poškozují epitel. Toto poškození je atraktivní pro další trofonty. V místě

poškození pak vytvářejí shluky (3). V okolí místa fixace dochází k hyperplazii epidermis a žaberního epitelu. Poškození žaberního povrchu může vyvolat poruchy výměny plynů a následné dušení. Poškozená místa kůže a žaber jsou predilekčními místy pro uplatnění sekundárních bakteriálních a plísňových infekcí (6).

Klinické příznaky. Výrazné klinické příznaky se objevují až v pokročilých stádiích onemocnění. Postižené ryby jsou neklidné (6). Objevuje se dráždění kůže (8), což se projevuje otíráním se ryb o předměty (6). Plůdek roste pomalu a hyne v kratším časovém úseku. I u starších ryb se později dostavuje nechutenství a ryby postupně a ojediněle hynou. Hynoucí ryby jsou často vyhublé, ztrácejí přirozenou pigmentaci a na těle a ploutvích jsou potaženy světle šedým sametovým povlakem („velvet disease“), ve kterém je možné pozorovat, zejména při pozorování lupou, drobné bělavé tečky na hranici viditelnosti. Objevují se i příznaky dušení (3,6).

Patologické změny. Jsou dobře patrné při histologickém vyšetření. Na žábrách můžeme pozorovat odlučování epitelu, ale také výraznou hyperplazii (obr. 3.1.1.1)(11). Při histologickém vyšetření kůže jsou často nalézány shluky obrněnek, v jejichž okolí dochází vlivem hyperplazie epidermálních buněk k tvorbě valovitých vyvýšenin. V okrcích kůže pod fixovanými obrněnkami se nacházejí nekrobiotické změny (6) a fokální nekrózy (11). Hyperplastický epitel může obrněnky i pokrývat a parazity usmrtit (11), což naznačuje, že se jedná o úspěšnou obrannou odpověď hostitele (3).



Obr. 3.1.1.1. Histologický řez žábrami ryby napadené *P. pillulare*, barvení H&E (A); detail původce v nativním seškrabu při zvětšení 1000× (B). (Foto: A – I. Dyková, B – M. Palíková)

Diagnóza. Při stanovení diagnózy vycházíme z klinických příznaků a patologických změn, ale rozhodující je mikroskopické vyšetření seškrabu kůže a žaber a nález obrněnek (obr. 3.1.1.1) (6,8). Vzhledem k jejich velikosti postačí k jejich dobré viditelnosti již stonásobné zvětšení (6). Zejména pro vědecké účely je možné použít i serologické (12–15) a molekulární metody (3). Od piscinodiniózy je třeba odlišit všechny choroby projevující se klinicky neklidem ryb a jejich otíráním se o předměty. Rovněž je nutné vyloučit choroby, u nichž se na kůži objevuje zvýšené zahlnění. Z bakteriálních chorob je třeba odlišit především flavobakteriόzy kůže, z parazitárních chorob pak především ichtyoftiriόzu, chilodonelόzu, trichodinόzu a ichtyobodόzu. Vlivem povrchní diagnostiky (bez mikroskopie seškrabu kůže a žaber) je obrněnkovitost na základě

nálezu bělavých teček často zaměněna s ichtyoftiriózou. V tomto případě je, vzhledem k použití jiných terapeutických přípravků, správná diagnóza zvláště důležitá (6).

Terapie. Dobrý terapeutický účinek má zvýšení teploty na 33–34 °C (16), některé druhy ryb však tuto teplotu nesnášejí. I jakékoliv zvýšení teploty nad optimální pro patogen (25 °C) působí negativně na dinospory (3). Nejbezpečnější a neúčinnější léčbou jsou koupele v NaCl. Je možné použít i koupele v KMnO_4 (10). Účinné jsou i dlouhodobé koupele v methylenové modři a akriřavinu (10, 17). Vhodným léčivem všech stádií choroby je rovněž koupel ve skalici modré. Ta však může být pro některé druhy akvarijních ryb toxická. Proto je nutné v případě potřeby provést před hromadnou aplikací zkoušku snášenlivosti. Vzhledem k možnosti uplatnění sekundárních infekcí je vhodné ošetřené ryby podrobit dlouhodobé koupeli v antibiotikách (6).

Prevence. Pro omezení autotrofie původce je doporučováno snížení osvětlení během léčby (10). Účinnost tohoto zásahu však není potvrzena. Základním preventivním opatřením je karanténa nově nakoupených ryb (3, 6). Vzhledem k tomu, že si dinospory udržují infekčnost 48 hodin (10, 17), je vhodné krmit živou potravou získanou ze zarybněných lokalit kvůli možnosti přenosu volných stádií obrněnek až po uplynutí této doby.

LITERATURA

1. Taylor, F.J.R., 1987. General Group Characteristics; Special Features of Interest: Short History of Dinoflagellate Study. In: Taylor, F.J.R. (Ed.). The Biology of Dinoflagellates. Blackwell, Oxford, UK, pp. 1–23.
2. Fensome, R.A., Taylor, F.J.R., Norris, G., Sarjeant, W.A.S., Wharton, D.I., Williams, G.L., 1993. A classification of living and fossil dinoflagellates. Micropaleontological Species Publication 7: 351.
3. Noga, E.J., Levy, M.G., 2006. 2 Phylum Dinoflagellata. In: Woo, P.T.K. (Ed.). Fish diseases and disorders. Vol. 1: Protozoan and metazoan infections. 2nd edn. CABI, Wallingford, UK, pp. 16–45.
4. Schäperclaus, W., 1951. Der Colisa-Parasit, ein neuer Krankheitserreger bei Aquarienfischen. Die Aquarien und Terrarien Zeitschrift 4: 169–171.
5. Lom, J., 1981. Fish invading dinoflagellates: a synopsis of existing and newly proposed genera. Folia Parasitologica (Praha) 28: 3–11.
6. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb, VFU Brno, 155 s.
7. Lom, J., Schubert, G., 1983. Ultrastructural study of *Piscinoodinium pilulare* (Schäperclaus, 1954) Lom, 1981 with special emphasis on its attachment to the fish host. Journal of Fish Diseases 6: 411–428.
8. Noga, E.J., 1996. Fish disease. Diagnosis and treatment. Iowa State University Press, Ames, Iowa, 376 p.
9. Geusa, 1960. Hachträgliche Anmerkungen 24r Biologie des Fische Pathogenen Dinoflagellater *Oodinium pilularis* Schäperclaus. Aquarien Terrarien Zoologica 13: 305–306.
10. Van Duijn, C. Jr., 1972. Diseases of Fishes. 3rd edn. Charles H. Thomas, Springfield, Illinois, 372 pp.
11. Ferraz, E., Sommerville, C., 1988. Pathology of *Piscinoodinium* sp. (Protozoa: Dinoflagellida), parasite of the ornamental freshwater catfishes *Corydoras* spp. and *Brochis splendens* (Pisces: Callichthyidae). Diseases of Aquatic Organisms 33: 43–49.

12. Smith, S.A., Levy, M.G., Noga, E.J., 1992. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibody to parasitic dinoflagellate *Amyloodinium ocellatum* in *Oreochromis aureus*. *Veterinary Parasitology* 42: 145–155.
13. Cobb, C.S., Levy, M.G., Noga, E.J., 1989a. Development of immunity by the tomato clownfish *Amphiprion frenatus* to the dinoflagellate parasite *Amyloodinium ocellatum*. *Journal of Aquatic Animal Health* 10: 259–263.
14. Cobb, C.S., Levy, M.G., Noga, E.J., 1989b. Acquired immunity to amyloodiniosis is associated with an antibody response. *Diseases of Aquatic Organisms* 34: 125–133.
15. Cecchini, S., Saroliglia, M., Terova, G., Albanesi, F., 2001. Detection of antibody response against *Amyloodinium ocellatum* (Brown, 1931) in serum of naturally infected European sea bass by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 21: 104–108.
16. Untergasser, D., 1989. *Handbook of Fish Diseases*. Tropical Fish Hobbyist Publications, Neptune City, New Jersey, 160 p.
17. Jacobs, D.L., 1946. A new parasitic dinoflagellate from freshwater fish. *Transaction of the American Microscopic Society* 65: 1–17.

3.2. CILIOPHORA

Veronika Piačková

Ciliophora (nálevníci) jsou značně vyvinuté eukaryotní organismy, které se pohybují a přijímají potravu pomocí rytmických pohybů řasinek. Většina nálevníků žije samostatně, někteří jsou vázáni na bezobratlé nebo obratlovce jako neškodní symbionti a jenom několik druhů se vyznačuje parazitickým způsobem života. Krátký reprodukční interval, vysoká plodnost, přímý vývoj a celkově nízká hostitelská specifčnost kompenzují potíže parazitických druhů s vyhledáváním vhodných hostitelů ve vodním prostředí rozlehlých jezer a moří. Stísněné podmínky akvárií nebo rybníků jsou pro rychlé pomnožení parazitů ideální, proto v těchto biotopech může být celá obsádka ryb infikována během několika dní. **Obligátní parazité**, invadující povrch kůže a žaber, mají vyvinutý vysoký stupeň kompatibility se svými hostiteli a jsou na nich plně závislí jako na zdroji potravy. Hostitelé se destruktivním potravním aktivitám nálevníků brání hyperplazií epiteliálních buněk. Důsledkem poškození povrchu kůže nebo žaber může být porucha osmotické regulace, respiratorní stres a zhoršení vylučovací funkce žaber. K invazi nálevníků – ektoparazitů se mnohdy přidruží sekundární bakteriální nebo plísňová infekce (1).

Za určitých podmínek může být povrch těla ryb kolonizován i druhy patřícími mezi saprofyty nebo **ektokomensály**. Stává se to, pokud jsou ryby permanentně vystaveny stresu, oslabené nebo nemocné. Tyto druhy nálevníků pak řadíme mezi **oportunní (příležitostné, fakultativní) parazity** (1).

3.2.1. EKTOKOMENSÁLOVÉ

Úvod. Ve vodním prostředí bývá přítomno mnoho druhů volně žijících organismů, které jsou za normálních okolností pro ryby naprosto neškodné. Povrch těla ryb využívají pouze jako pohyblivý substrát, na kterém se přichycují a díky tomu se snadněji dostávají k potravě. Povrch těla ryb nepoškozují a ani jinak rybu negativně neovlivňují. Pokud jsou však ryby oslabené špatnou kvalitou vody, nedostatečnou výživou, nemocí atd., může dojít k přemnožení těchto ektokomensálních organismů, což může sekundárně zhoršovat zdravotní stav ryb.

Nálevníci jsou permanentně přichyceni k povrchu těla pomocí štětičkovité scopoly buď přímo nebo stopkou. Stopka může být jednoduchá nebo rozvětvená (2).

Původci. Mezi ektokomensální prvky patří někteří nálevníci ze skupiny Oligohymenophorea (Peritrichia)(2).

Epistylis lwoffii je kruhobrvý nálevník kolonizující žábry nebo kůži mnoha sladkovodních ryb v Evropě, Asii a Severní Americe. V našich podmínkách se nejčastěji nachází na kůži kapra obecného (*Cyprinus carpio*) a dalších kaprovitých i lososovitých ryb. Má zvonkovitý nebo kuželovitý tvar těla (40–80 × 20–30 μm), podkovovité jádro a malé jádro. Vytváří malé kolonie do 8 jedinců. K substrátu se přichytává pomocí stopky, která může být tvarově velmi variabilní (2,3,4). Při masivním pomnožení může vyvolat proliferaci a následnou destrukci epidermis (5). Tyto léze pak mohou být sekundárně infikovány bakteriemi (6).

Apiosoma piscicola se objevuje na kůži a žábách sladkovodních ryb v Evropě, Severní Americe a Jižní Africe. U nás je nacházena na povrchu těla kapra obecného, karasů (*Carassius* sp.) a dalších druhů kaprovitých i lososovitých ryb. Tělo může být podlouhlé až baculaté (62–110 × 25–40 μm), makronukleus je kónický se základnou směřující k přichytné plošce. K substrátu se fixuje přichytnou ploškou na zúženém konci kuželovitého těla (4,2).

Ambiphrya ameiuri dostala svůj název díky nálezu na žábřách mladých sumečků černých (*Ameiurus melas*) v Severní Americe, ale vyskytuje se i na kůži sumečka tečkovaného (*Ictalurus punctatus*) a kaprovitých ryb v Evropě. Tvar těla je zavalitě kónický nebo cylindrický (50–95 × 40–61 μm). Přichycuje se k substrátu plochým přichytným diskem, často excentrickým a přesahujícím šířku těla nálevníka. Makronukleus je stužkovitý, tvoří orálně situovanou podkovu s konci sestupujícími k aborálnímu konci těla. Kulovitý mikronukleus je umístěn vedle makronukleu. *Ambiphrya ameiuri* nezpůsobuje rybám žádné poranění a živí se organickými částicemi z prostředí, ale při masivním pomnožení může zvláště u plůdku způsobit podráždění kůže a ztěžovat dýchání (2). Při přemnožení nebo za nepříznivých podmínek může vytvářet migratorní stádia (4).

Další ektokomensálové, kteří jsou příslušníky skupiny Phyllopharyngea (Suctorio), mají speciální chapadla sloužící k uchopení a pohlcení potravy. Jednoduchý ústní otvor se může měnit v polystomii. Mohou se vyskytovat ve sladkých i brakických vodách, ale většina jich žije v mořích a oceánech.

Capriniana piscium (syn. *Trichophrya piscium*, *Trichophrya sinensis*, *Trichophrya intermedia*, *Trichophrya micropteri*, *Trichophrya ictalurus*, *Trichophrya salvelinus* a *Capriniana aurantica*) je ektokomensálem na žábřách různých druhů sladkovodních ryb, např. okouna říčního (*Perca fluviatilis*) (7), štiky obecné (*Esox lucius*) (2), sumečka tečkovaného (8) nebo pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) (9). Tělo je oválné nebo nepravidelně protáhlé (40–110 μm). Připojuje se k sekundárním žaberním lístkům pomocí plochého adhezivního scopuloidu. Na druhém konci těla vyčnívá 10–35 savých rourkovitých zatažitelných chapadel dlouhých až 45 μm, kterými zachytávají a nasávají kořist (jiné nálevníky). Rozmnožují se endogenním pučením za vzniku diskovitých migrujících larev, které se obvykle usazují poblíž nebo mohou kolonizovat nového hostitele (3,10,11).

Vnímavé druhy. Ektokomensální nálevníci většinou nemají vyhraněnou hostitelskou specifickou.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem infekce je voda s volnými stádii nebo ryby nesoucí ektokomensály na svém povrchu. K nakažení dochází přímo přichycením nálevníků na povrch kůže nebo žaber.

Podmiňující faktory. Oslabení ryb stresem v důsledku onemocnění, špatné kvality vody atd.

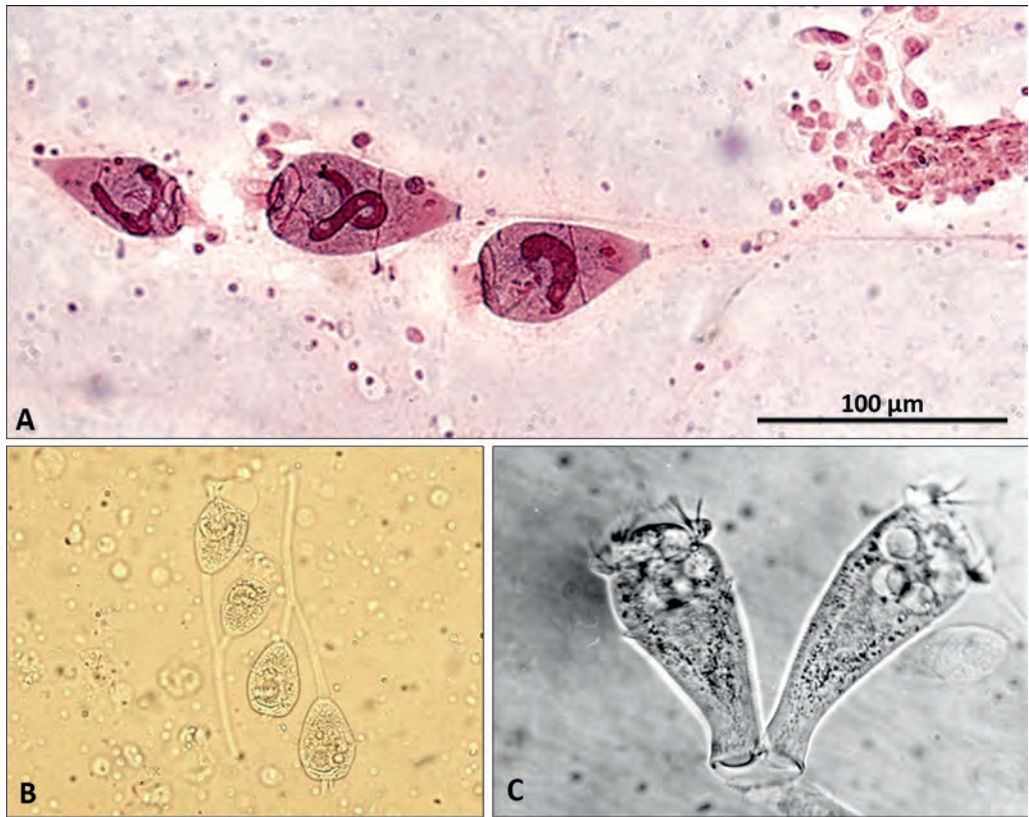
Průběh a vývoj onemocnění. Ke vzniku onemocnění dochází pouze u velmi oslabených ryb. Přichycení nálevníci epidermální nebo epiteliální žaberní buňky nepoškozují, ale při masivním přemnožení je mohou dráždit a zhoršovat primární onemocnění.

Klinické příznaky. Při silném přemnožení ektokomensálů mohou ryby jevit neklid nebo příznaky dušení.

Patologické změny. Nejsou výrazné, při masivní infekci může být patrné zvýšené zahlenění kůže nebo žaber.

Diagnóza. Je založena na mikroskopickém vyšetření seškrabů z kůže a žaber a na identifikaci původců podle jejich morfologie (obr. 3.2.1.1).

Terapie. Při přemnožení ektokomensálních nálevníků je možno aplikovat některou z léčebných koupelí používaných při léčbě ektoparazitóz. U potravinových ryb lze ke koupelím použít pouze chlorid sodný, formalín nebo kyselinu peroctovou, v chovech akvarijních a okrasných ryb může být aplikována i koupel v akriflavinu, manganistanu draselném nebo v přípravcích obsahujících malachitovou zeleň.



Obr. 3.2.1.1. *Epistylis lwoffii* (A, B); *Apiosoma* sp. (C). (Foto: A, C – I. Dyková, B – M. Palíková)

Prevence. Riziko nadměrného pomnožení ektokomensálů na povrchu těla ryb je možno snížit eliminací stresových faktorů, udržováním ryb v dobré kondici, dodržováním obecných pravidel zoohygieny v chovu a pravidelnými veterinárními kontrolami.

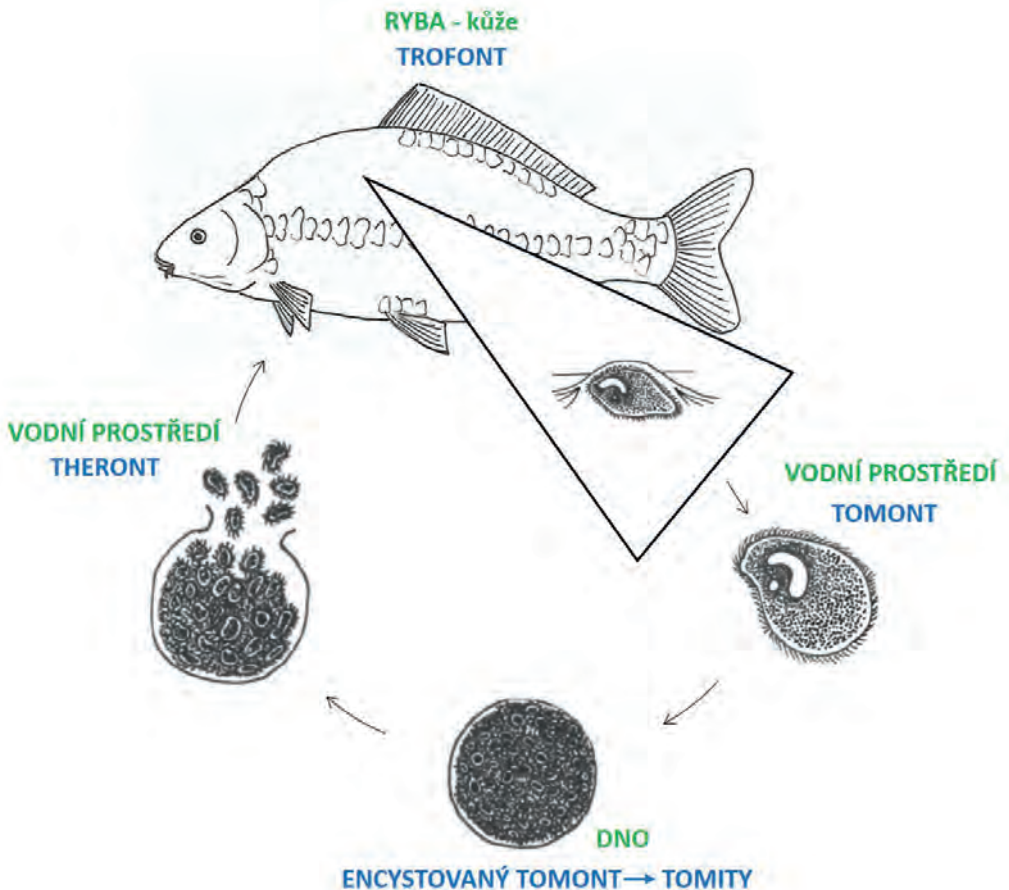
3.2.2. ICHTYOFTIRIÓZA

Úvod. Ichtyoftirióza (kožovcovitost, „krupička“, white spot disease, Ich) je parazitární onemocnění kůže a žaber rozšířené po celém světě, od subarktických až po subtropické oblasti (12). Patří mezi nejčastěji se vyskytující eukaryotická onemocnění sladkovodních ryb. Jeho kosmopolitní rozšíření je výsledkem rozsáhlých a mnohočetných přesunů akvakulturních a okrasných ryb (1). Původce byl poprvé popsán Fouquetem ve Francii v roce 1876, ale onemocnění bylo v Evropě údajně známo již ve středověku (13). Toto onemocnění je nebezpečné zvláště v chovech ryb na oteplené vodě, ale může být příčinou úhynů i volně žijících ryb. Ekonomické ztráty sice nejsou nikde vyčísleny, ale přesto je ichtyoftirióza pokládána za jeden z největších problémů akvakulturních chovů (13).

Původce. Původcem onemocnění je *Ichthyophthirius multifiliis*, česky zvaný „kožovec“. Řasinky rozmístěné po celém povrchu těla mu umožňují typický pomalý otáčivý pohyb. Byly popsány různé variety *I. multifiliis* lišící se morfologií jádra, teplotní tolerancí, okruhem

hostitelů (12) a sérotypem (14), ale žádná z nich nebyla dosud natolik podrobně prostudována, aby bylo možno ji pokládat za samostatný druh.

Ichthyophthirius multifiliis je stejnobrvý (celobrvý) nálevník vybavený velkým podkovovitým jádrem a jedním až čtyřmi kulatými jádřičkami, jejichž počet závisí na teplotě vody (15). Stádium parazitující na kůži a žábřácích ryb se nazývá **trofont**. Dosahuje velikosti 30–1000 μm (vzácně i 1500 μm). Trofont se živí obsahem poškozených epitelálních buněk a zvětšuje svůj objem. V momentě, kdy přestane přijímat potravu a opustí epitel svého hostitele, se mění v **tomont**. Ten padá na dno nádrže a pro svou ochranu kolem sebe vytváří želatinovou cystu. Uvnitř cysty dochází k mnohonásobnému binárnímu dělení, jehož výsledkem jsou stovky **tomitů** (16). Ty pak dozrávají v invazní **theronty** (30–50 μm). Theront má hruškovitý nebo vřetenovitý tvar a celý jeho povrch je pokryt řasinkami. Po opuštění želatinové cysty plavou theronty volně ve vodě a aktivně vyhledávají a napadají nové rybí hostitele (obr. 3.2.2.1)(2).



Obr. 3.2.2.1. Vývojový cyklus kožovce. (Kresba E. Zusková a M. Palíková)

Vnímavé druhy. Předpokládá se, že původně byl *I. multifiliis* parazitem hlavně kapra obecného (*Cyprinus carpio*)(13), ale v současné době se jeví jako hostitelsky zcela nevybíravý, protože může napadat jakýkoliv rybí druh. Ryby, které prodělaly ichtioftiriózu, si vytvářejí protektivní imunitu, která je činí rezistentními vůči reinvazi. Proto jsou ve volně žijících populacích ryb více vnímavé mladší věkové kategorie, které se ještě s tímto parazitem nesetkaly. U naivních populací rozdíly ve vnímavosti mezi různými věkovými kategoriemi nebyly zaznamenány (17,18).

Hlavním faktorem rezistence hostitelů vůči přichycení therontů a jejich dalšímu vývoji je produkce povrchového hľenu, která se při infekci *I. multifiliis* zvyšuje. Tato schopnost ryb je dána geneticky a může se u jednotlivých druhů a plemen ryb lišit. Existuje tedy předpoklad, že některé druhy, plemena nebo kříženci mohou být vůči invazi *I. multifiliis* rezistentnější (19,20,21).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem infekce jsou nakažené ryby. Invazní theronty se mohou do chovu dostat také s přitékající vodou, časté je i zavlečení *I. multifiliis* do chovu rybochovným nářadím a pomůckami.

Podmiňující faktory. Rozvoji infekce v chovu napomáhá vysoká hustota rybí obsádky, malý průtok, vyšší teplota vody, zvýšené organické zatížení vody, nízká koncentrace kyslíku a oslabení ryb stresem nebo jinými chorobami.

Průběh a vývoj onemocnění. Invazní theront se přichytává na povrch epitelu kůže nebo žaber a během 5 minut jej penetruje až k bazální membráně (22,23). Zde prodělává další vývoj, roste a mění se v trofont. Během vývoje se měňavkovitě pohybuje, rotuje, vytváří si prostor a tím poškozují přilehlé epiteliální buňky, jejichž obsahem se živí. Navenek se parazit uvnitř takto vytvořeného měchýřku jeví jako bílá tečka o průměru asi 1 mm. Někdy může být v jednom měchýřku přítomno více parazitů a tečky jsou větší (1). Rychlost dozrávání trofontu uvnitř epitelu a jeho přeměny v tomont je v pozitivní korelaci s teplotou vody. Doba potřebná k dosažení zralosti je při teplotě 27 °C dva dny a při teplotě 22 °C tři dny (24,25). Po přeměně v tomont parazit opouští epitel svého hostitele (někdy může zůstat přichycený na jeho povrchu). Celý vývojový cyklus proběhne za 3–6 dní při teplotě vody 25 °C, za 10 dní při 15 °C a za měsíc a více při teplotě vody 10 °C (26).

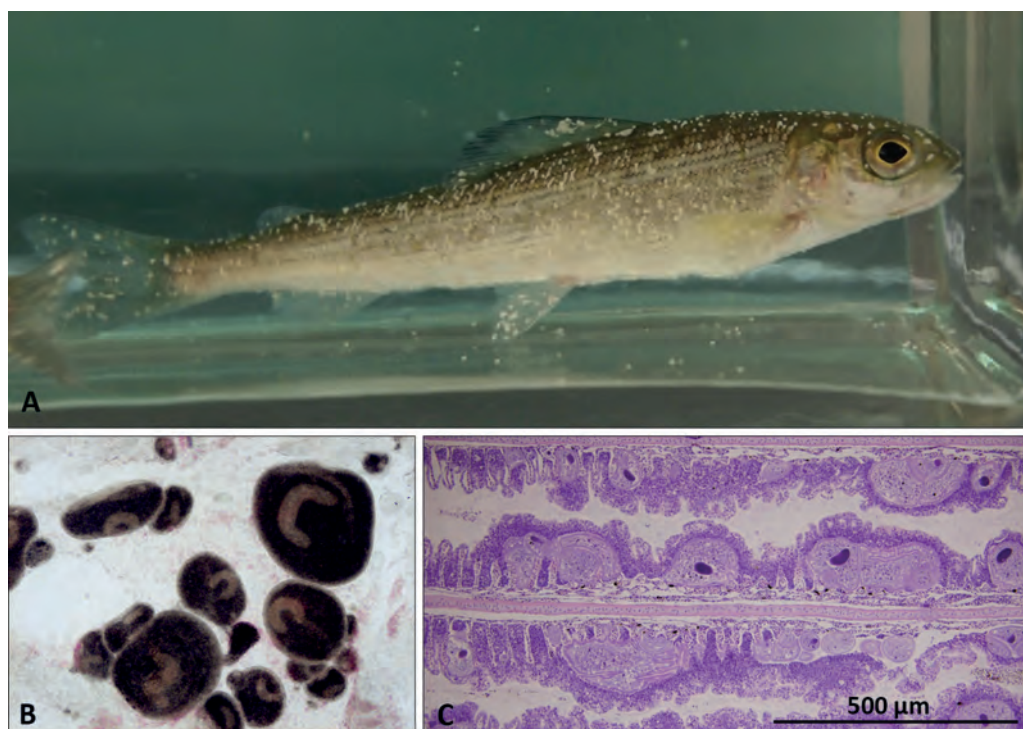
Klinické příznaky. V počátečních fázích infekce se ryby shromažďují u přítoku, aby omezily kontakt s volně plovoucími theronty (27). Často taky v důsledku podráždění kůže pronikajícími theronty narážejí do překážek a otírají se o ně (28), plavou zrychleně a někdy také vyskakují nad hladinu. S rozvojem onemocnění se jejich aktivita snižuje a shromažďují se u dna rybníka nebo akvária (29). V souvislosti s poškozením žaber postávají ryby u břehů a zrychleně dýchají. Při těžkých infekcích jsou ryby letargické a přestávají přijímat potravu.

Patologické změny. Typická je přítomnost bílých teček na povrchu kůže a žaber od několika až po několik set (obr. 3.2.2.2). Při těžkých infekcích se na kůži tvoří eroze, často sekundárně infikované bakteriemi nebo plísněmi. Ploutve jsou roztřepené, zvyšuje se produkce povrchového hľenu. Silně infikovaní kapři mají kůži pokrytou silnou vrstvou hrudkovitého hľenu. U infikovaných ryb bývá zjišťována zvětšená slezina a ledviny a světlá, nepravidelně vybarvená játra. V dutině tělní bývá přítomen exsudát (zánětlivý extravaskulární výpotek), což ale může být důsledkem sekundární bakteriální nebo plísněové infekce. Naplněný žlučový měchýř souvisí s hladověním nemocných ryb (17).

Histologický nález v kůži infikovaných ryb zahrnuje různé stupně poškození epiteliálních buněk: vakuolizaci, nekrózu s pyknotickými jádry (jádra jsou zmenšená s vyšší hustotou jaderné hmoty). Dále je patrná zánětlivá reakce (infiltrace tkáně neutrofilními a eosinofilními

granulocyty a lymfocyty), hyperplazie epiteliálních a hlenových buněk a celkové zesílení epitelu (až čtyřnásobné). Kolem vyvíjejících se trofontů je viditelný prázdný prostor a hydropické, vakuolizované i nekrotické buňky. Na žábřácích, nejčastěji uprostřed nebo u báze primárních žaberních lístků, jsou zaznamenávány trofonty překryté vrstvou tvořenou epiteliálními, hlenovými a chloridovými buňkami (obr. 3.2.2.2). Proliferace epiteliálních buněk je zaznamenávána nejen v bezprostředním okolí parazitů, ale po celé délce žaberních lístků. Hlenové buňky představují 50 % všech buněk v interlamelárních prostorech. Respirační epitel si i během proliferace zachovává dlaždicovitou stavbu. V pozdních stádiích masivních infekcí je patrná celková atrofie primárních žaberních lístků s nekrotickými okrsky sekundárních žaberních lístků (17).

Diagnóza. V případě rozvinutí typických bílých teček na kůži a žábřácích je stanovení diagnózy poměrně jednoduché jen na základě makroskopického vyšetření. V případě nejasností (např. u ryb se světle zabarvenou kůží nebo na počátku infekce) je nutno potvrdit diagnózu pomocí mikroskopického vyšetření nativního seškrabu z kůže a ze žaber při zvětšení 40× a nálezem trofontů s typickým podkovovitým jádrem (obr. 3.2.2.2), nebo menších, hruškovitých obrvených therontů (možno zaměnit za *Tetrahymena* sp.).



Obr. 3.2.2.2. Lipan podhorní s masivním výskytem kožovce na kůži ve formě bílých teček (A); nativní preparát – stěr z kůže (B); histologický řez žaber s masivní invazí kožovce (C) (barvení H&E). (Foto: A, B – M. Palíková, C – I. Dyková)

Terapie. Pro léčbu ichtyoftiriózy se používá mnoho chemických látek, ale žádná z nich není stoprocentně účinná. V minulosti se k likvidaci kožovce používal chlorid sodný, ale ten nebyl dostatečně účinný v koncentracích bezpečných pro ryby. Nicméně použití solné koupele může pomoci rybám částečně obnovit narušenou osmotickou rovnováhu (čímž se sníží osmotická stresová zátěž) a doplnit chybějící sodík v krevním séru (17). Je možno také aplikovat koupel ve formaldehydu, a to krátkodobou opakovaně nebo dlouhodobou (28). V chovech akvarijních a okrasných ryb lze k léčebné koupeli použít také malachitovou zeleň. Mezi akvaristy je oblíbený přípravek známý pod zkratkou FMC (formaldehyd + malachitová zeleň + methylenová modř). Přípravky obsahující malachitovou zeleň nesmí být použity u potravinových ryb!

Výše zmíněné a ještě mnoho dalších chemických látek a přípravků, které byly nebo jsou při léčbě ichtyoftiriózy používány (skalice modrá, manganistan draselný, akriflavin, chinin, sloučeniny rtuti, chloramin T atd.) (29,30,31), působí pouze na stádia volně se pohybující ve vodě. Zatím se nepodařilo najít spolehlivý prostředek, který by hubil také trofonty chráněné hlenovou vrstvou a epitelem svých hostitelů. Koupel v toltrazurilu ($10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 4 h) opakovaná 1× denně po dobu 3 dnů se jevila v tomto směru nadějně, ale zase nebyla účinná proti invazním therontům (32).

Cílem léčby je přerušení vývojového cyklu parazita. Jako nejzranitelnější se jeví volně plovoucí stádium – theront. Kromě chemických látek je možno k tomuto účelu použít i fyzikální prostředky. Ke snížení počtu therontů stačí i pouhé přelovování ryb z jednoho akvária do druhého (čistého). Takováto pěti- až sedmidenní přelovovací kúra by měla být k přerušení vývojového cyklu infekce dostačující (33). Ve větších nádržích lze invazní theronty průběžně redukovat maximálním zvýšením průtoku vody. V recirkulačních systémech může pomoci použití UV lamp. Bylo zjištěno, že použití UV lampy o účinnosti $91\,900 \mu\text{W}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$ významně redukuje množství vývojových stádií *I. multifiliis* distribuovaných mezi nádržemi v rámci uzavřeného recirkulačního systému, a tím i mortalitu zde chovaných ryb (34).

V chovech teplomilných ryb se úspěšně používá likvidace therontů zvýšenou teplotou vody (nad $30\text{ }^{\circ}\text{C}$). Teplotu je nutno zvyšovat pozvolna (cca $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ za den) a poté ryby v dosažené teplotě držet 7 dní. Účinnost se může zvýšit pravidelným přelovováním (viz výše).

Prevence. Nejúčinnější prevencí vzniku ichtyoftiriózy je zabránění zavlečení parazita do chovu důslednou karanténou nově vysazovaných ryb a dodržováním zoohygienických pravidel (dezinfekce nádrží a náradí, dezinfekce přítokové vody UV lampami, kontrolovaný pohyb osob a dopravních prostředků). V rámci karantény nově přivezených ryb je vhodné také aplikovat preventivní antiparazitární koupel.

Vzhledem k vysokým ekonomickým ztrátám v důsledku napadení ryb *I. multifiliis* probíhá už po několik desetiletí vývoj vakcíny. Počáteční studie byly založeny na imunizaci ryb subletální dávkou živých therontů (35) nebo tomontů (36,17). Aplikace živých parazitů (do vody nebo intraperitoneálně) s sebou však vždycky nese riziko rozvinutí infekce. Proto byly testovány imobilizované rekombinantní DNA a v poslední době také subjednotkové vakcíny (37,38). Žádná však zatím není komerčně dostupná.

3.2.3. CHILODONELÓZA

Úvod. Chilodonelóza (chilodonellosis piscium, chilodonellosis of fish, čepelenkovitost) je parazitární onemocnění způsobené nálevníky z rodu *Chilodonella*, kteří jsou celosvětově rozšířeni ve sladkých a brakických vodách (2) od chladných až po tropické oblasti (1). Původce poprvé popsal Zacharias (1894), chorobu známou již více než sto let popsal Hofer (1903, 1906). V chovech ryb může zejména u mladých věkových kategorií způsobit značné ztráty.

Původce. Z velkého množství volně žijících příslušníků rodu *Chilodonella* (Phyllopharyngea) pouze dva druhy parazitují na rybách. Oba mají oválné, mírně asymetricky srdčité, dorzoventrálně zploštělé tělo připomínající svým tvarem čepel listu (odtud byl odvozen český název „čepelenka“). Na ventrální straně mají podél okrajů dva typické pásy tvořené několika paralelními řadami řasinek a skeletními trubičkami vyztužený cytosom (buněčná ústa), kterým poškozují povrch epitelu kůže a žaber ryb. Živí se buněčným obsahem, přičemž způsobují podráždění a následnou hyperplazii epitelu. *Chilodonella piscicola* (dříve *Chilodonella cyprini*) má rozměry 30–80 × 20–62 μm. Pravý (vyklenutý) pás je tvořen většinou 8–11, levý (rovný) 12–13 řadami řasinek. *Chilodonella hexasticha* je o něco menší (30–67 × 20–51 μm) a její ventrální pásy jsou tvořeny menším počtem řad řasinek (pravý 5–7, levý 6–9)(1). Čepelenky mají přímý vývoj bez mezihostitelů. Jsou závislé na svém hostiteli, po jeho opuštění hynou během několika hodin (24 h při 5 °C, 1 h při 20 °C)(11,39). Za nepříznivých podmínek mají schopnost se encystovat a přežít v prostředí poměrně dlouhou dobu (4).

V ojedinělých případech mohou být oslabené ryby ve znečištěné vodě napadeny i některými jinými druhy rodu *Chilodonella*. Popsány byly např. případy onemocnění ryb v důsledku napadení *Ch. cucululus* a *Ch. uncinata* (3).

Vnímavé druhy. Chilodonelózou mohou být postiženy všechny sladkovodní druhy ryb – volně žijící, hospodářské i akvarijní. Nejčastěji se toto onemocnění vyskytuje u kaprovitých ryb (40), sumců (41) a cichlid (42). *Chilodonella piscicola* se vyskytuje při nízkých teplotách (od 4 °C) až po teploty mírně nad 20 °C. *Chilodonella hexasticha* způsobuje onemocnění i při teplotách vyšších (26–31 °C)(43).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem infekce jsou nakažené ryby. Parazit se mohou do chovného prostředí dostat také s přitékající vodou nebo s živou potravou odlovenou v infikované lokalitě. K nakažení dochází přichycením parazitů na kůži nebo na žábrách.

Podmiňující faktory. Onemocnění se často objevuje při nízkých teplotách vody během zimního období a při oslabení ryb stresem (nízká koncentrace kyslíku, vysoké zatížení vody dusíkatými a organickými látkami). Významným podmiňujícím faktorem je také nahloučení ryb.

Průběh a vývoj onemocnění. Za příznivých podmínek (zejména u plůdku oslabeného zimováním a vysokou hustotou obsádky) mohou čepelenky pokrýt celý povrch těla v souvislé vrstvě. Vyztuženým ústním ústrojím nabodávají stěnu epitelálních buněk a vysávají jejich obsah. To vyvolává výraznou hyperplazii epitelu a zvýšenou produkci povrchového hlenu. Stejný proces se odehrává i na žábrách. Rychlost pomnožení parazita na povrchu těla hostitele závisí na teplotě vody.

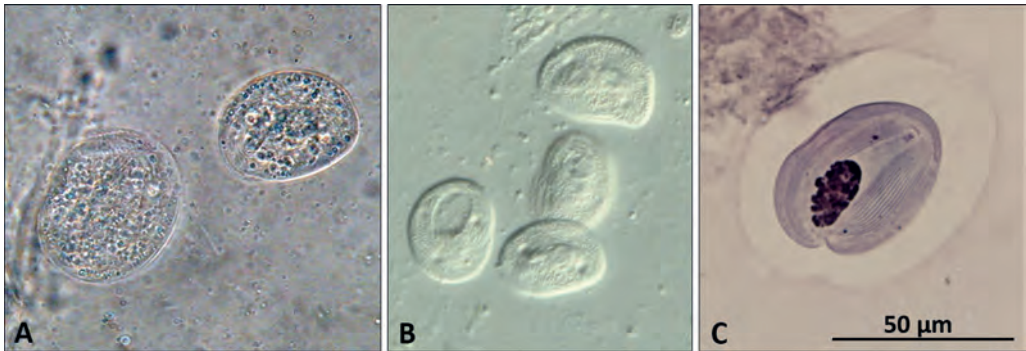
Klinické příznaky. Příznaky masivnějšího napadení ryb se nejčastěji projevují ke konci zimního období. Ryby trpí nedostatkem kyslíku, přestože nasycení vody je dostatečné, shromažďují se u přítoku a u hladiny, nouzově dýchají, případně hynou. Mohou také nekoordinovaně plavat a jsou celkově vyčerpané (2).

Patologické změny. Při těžkých infekcích se zvyšuje produkce hlenu, ryby mají tmavý, oslizlý, skvrnitý nebo nestejně šedavý vzhled. Zmnožený hlen se spolu se zbytky epitelu může odlupovat. Na žábřích proliferující epitelální buňky vyplňují mezilamelární prostory, žaberní lístky se slepují a vytvářejí jednolitou hmotu. Respirační epitel je překryt proliferujícím epitelem, což zásadně zmenšuje respirační povrch žaber. Epitel je infiltrován lymfocyty, eosinofilními granulocyty, zvyšuje se sekrece hlenu a proliferace chloridových buněk. Postupně se žaberní tkáň začíná rozpadat a zůstávají jen chrupavčité paprsky (2).

Diagnóza. Chilodonelóza je diagnostikována na základě mikroskopického vyšetření nativních seškrabů z kůže a ze žaber (obr. 3.2.3.1), v nichž jsou detekovány klouzavě se pohybující čepelenky. Jsou viditelné už při nejmenším zvětšení mikroskopu (40×).

Terapie. Pro léčbu chilodonelózy je u potravinových ryb možné použít terapeutické koupele pouze v chloridu sodném, formaldehydu nebo kyselině peroctové. U akvarijních a okrasných ryb je škála možností širší, ke koupelím je možno použít také akriflavin, malachitovou zeleň nebo přípravky ji obsahující, manganistan draselný a modrou skalici.

Prevence. Výskyt silné invaze ektoparazitárních nálevníků svědčí o snížené obranyschopnosti ryb. Proto k hlavním zásadám prevence chilodonelózy patří zajištění optimálních podmínek chovu, tj. kvalitní zdroj vody odpovídající svými parametry nárokům chovaných druhů ryb, krmivo v adekvátním množství a složení a zabránění působení stresových faktorů v chovu. Cílenými preventivními opatřeními, jako je instalace pískových filtrů na přítoku, dezinfekce přítokové vody UV lampami a karanténa nových ryb, eventuálně jejich preventivní koupel, lze do značné míry předejít zavlečení parazita do chovu. Masivnímu pomnožení a rozšíření chilodonelózy v chovu lze zabránit i pravidelným vyšetřením vzorku ryb a včasnou aplikací léčebné koupele.

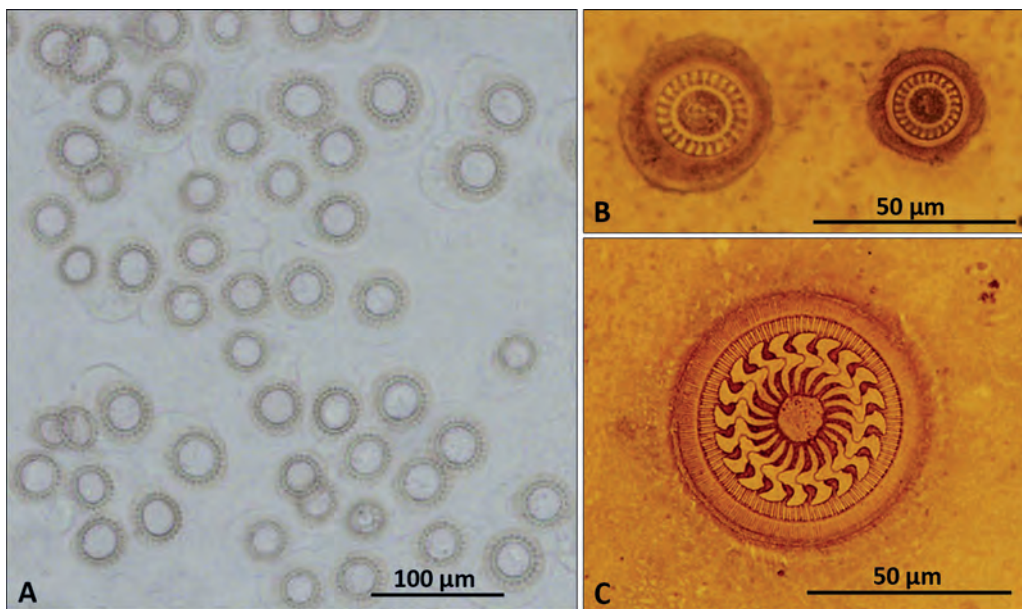


Obr. 3.2.3.1. *Chilodonella piscicola*: nativní preparát (A); Nomarskiho kontrast (B); barvení protargolem (C). (Foto: A, B – M. Palíková, C – I. Dyková)

3.2.4. TRICHODINÓZY

Úvod. Trichodinózy jsou ektoparazitární onemocnění způsobená nálevníky patřícími do skupiny Oligohymenophorea (Peritricha), kterým se díky jejich typickému krouživému pohybu umožňovanému řasinkovým lemem česky říká „brousilky“. Tito parazité jsou ve sladkých i slaných vodách rozšířeni po celém světě ve všech zeměpisných šířkách. Osídlují povrch kůže nebo žaber ryb a lze je primárně považovat za ekto-, případně endokomensály. Velmi často však dochází k jejich přemnožení a mohou být příčinou masivního hynutí zejména plůdku. V souvislosti s rybami bylo dosud popsáno více než 190 druhů zařazovaných do sedmi rodů – *Trichodina*, *Vauchomia*, *Hemitrichodina*, *Trichodinella*, *Paratrichodina*, *Dipartiella* a *Tripartiella* (3).

Původce. Brousilky mají tvar kloboučku a na ventrální straně těla charakteristický adhezivní disk, který je vyztužen pravidelně koncentricky uspořádanými zoubky (jejich počet, tvar a uspořádání jsou druhově specifické) a věncem krátkých tyčinek (obr. 3.2.4.1). Přichytný disk má průměr 50–100 μm (10). Příústní spirála je tvořena 0,5–3 závití řasinek (3). Trichodiny se fixují adhezivním diskem na povrchu kůže nebo žaber ryb a živí se drobným detritem a bakteriemi z vody. Množí se binárním dělením a nebyla u nich pozorována žádná klidová stádia. Původci onemocnění ryb jsou většinou příslušníci rodu *Trichodina* (10). Některé trichodiny osídlují močový měchýř, ledviny, vejcovody a gastrointestinální trakt ryb (44–50).



Obr. 3.2.4.1. Nativní preparát stěru z kůže s masivní intenzitou brousílek (A); *Trichodinella epizootica* (B); *Trichodina acuta* (C) – preparáty impregnované stříbrem. (Foto: A – M. Palíková, B, C – I. Dyková)

Rod *Trichodina*

Zoubky na přichytném disku se skládají z dobře vyvinuté čepele, paprsku a centrální části. Čepele jsou ploché, rovné nebo polokruhovitě, paprsky jsou jehlovité nebo tyčinkovité, různých délek. Příústní spirály jsou různé dlouhé, obvykle 360° až 540°. Příslušníci tohoto rodu byli popsáni ze všech kontinentů kromě Antarktidy. Průměr přichytného disku je 18–80 μm, středový věnec je tvořen 15–55 zoubky.

Trichodina reticulata je většinou nacházena na kůži karasa obecného (*Carassius carassius*), karasa zlatého (*Carassius auratus*), vzácně i kapra obecného (*Cyprinus carpio*). V chovech může způsobit závažné ztráty (3).

Trichodina fultoni je geograficky široce rozšířená, vyskytuje se na kůži lína obecného (*Tinca tinca*), mřenky mramorované (*Barbatula barbatula*), slunečnice pestré (*Gasterosteus aculeatus*) a pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*)(4). Byla popsána také její patogenita v chovech úhoře říčního (*Anguilla anguilla*)(3,51).

Trichodina acuta je hojně rozšířená, osídluje kůži a žábry mnoha druhů sladkovodních ryb (3).

Trichodina jadránica patří k menším druhům, původně byla popsána u mořských ryb, ale v současné době se vyskytuje i u mnoha druhů sladkovodních ryb (3).

Trichodina perforata je nacházena na žábřácích kapra obecného a karasa obecného (3).

Trichodina heterodontata je široce rozšířena, může osídlovat mnoho různých hostitelů. Také morfologicky vykazuje značnou variabilitu (3).

Trichodina mutabilis je typickým parazitem kapra obecného, ale může se vyskytovat i u jiných hostitelů a vykazuje velkou morfologickou variabilitu (3).

Trichodina nobilis byla spolu s amurem bílým (*Ctenopharyngodon idella*) a jinými býložravými druhy ryb zavlečena z Číny do Evropy, kde se adaptovala i na jiné hostitele (např. kapra obecného)(3).

Trichodina urinaria (syn. *T. algonquinensis*) žije v močovém ústrojí okouna říčního (*Perca fluviatilis*) a candáta obecného (*Sander lucioperca*)(3).

Trichodina polycirra žije v močovém ústrojí plotice obecné (*Rutilus rutilus*), cejna velkého (*Abramis brama*) a někdy také kapra obecného (3).

Rod *Paratrichodina*

Tyto brousilky jsou drobné, jejich tělo má tvar ploché polokoule. Zoubky na přichytném disku mají dobře vyvinuté paprsky a jsou spojeny dohromady pouze v centrální části. Příústní spirály tvoří necelou otáčku (150–280°). Přichytný disk má průměr 19–31 μm, vyztužen je 18–31 zoubky. Bylo popsáno celkem 11 druhů, z nichž 8 osídluje kůži a žábry sladkovodních a mořských druhů ryb, 3 byly nalezeny v močovém ústrojí ryb.

Paratrichodina corlissi se vyskytuje na žábřácích různých druhů hrouzků (*Gobio* sp.)(3).

Paratrichodina incissa je nacházena na žábřácích mnoha druhů sladkovodních ryb, především kaprovitých (3).

Rod *Tripartiella*

Tripartiely jsou malé brousilky s polokulovitým tělem. Zoubky mají dlouhé rovné paprsky a střední kónická část tvoří kolenovitý výběžek, který zapadá do výkroju v čepeli sousedního zoubku. Vyskytují se na žábřácích sladkovodních ryb, celkem bylo popsáno 26 druhů. ***Tripartiella copiosa*** je v Evropě široce rozšířená, byla nalezena asi u 40 druhů sladkovodních ryb, zejména kaprovitých. Přichytný disk o průměru 14–31 μm nese 19–33 zoubků.

Rod *Trichodinella*

Trichodinely jsou také menší, jejich příústní spirála opisuje oblouk 180–270°. Zoubky na přichytném disku mají krátké paprsky, zahnuté nebo zploštělé.

Trichodinella epizootica je jedna z nejrozšířenějších, vyskytuje se u mnoha druhů sladkovodních ryb. Na stresovaných rybách se rychle množí a stává se vysoce patogenní. Velikost přichytného disku se pohybuje od 14 do 47 μm , počet zoubků 16–31.

Trichodinella lawleri je původně mořská, ale může být patogenní pro akvarijní ryby.

Vnímavé druhy. Hostitelská specifita trichodin je nízká. Některé sladkovodní druhy (např. *T. acuta*, *T. nigra*) mohou kromě ryb invadovat také pulce a klanonohé korýše (Copepoda) (52), jiné (např. *T. jadratica*) mohou být nalezeny u sladkovodních i mořských druhů ryb (3).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. K šíření dochází rybami, které mají trichodiny na povrchu kůže nebo žaber, a vodou. Některé druhy jsou na svém hostiteli závislé a hynou krátce po jeho opuštění (53), jiné jsou schopny přežít bez hostitele ve vodním prostředí i několik dní (54).

Podmiňující faktory. Hlavním podmiňujícím faktorem je oslabení hostitelských ryb stresem, jinou infekcí atd. Některé trichodiny mohou být ve svém množení podporovány i vhodnou teplotou vody.

Průběh a vývoj onemocnění. Trichodiny jsou považovány za ektokomensály. Pouze při masivním pomnožení mohou u mladších věkových kategorií ryb vyvolat onemocnění končící až úhynem. Obvykle se vyskytují současně s jinými ektoparazity, např. s „žábrolísty“ (Monogenea – viz kapitola 3.12.1)(55). Průběh může být v závislosti na oslabení hostitele a rychlosti pomnožení trichodin akutní až chronický. Ektozoické druhy přecházejí při masivním pomnožení na parazitický způsob života a živí se poškozenými buňkami povrchových epitelů. Endozoické druhy poškozují urogenitální nebo trávicí ústrojí (4).

Klinické příznaky. Při velké intenzitě infekce může být u plůdku pozorován neklid a otírání se o předměty související s drážděním epidermis nebo příznaky dušení (nouzové dýchání, vyhledávání vody bohatší na kyslík) při poškození žaberního epitelu.

Patologické změny. Při masivním napadení může být patrné bělavé zabarvení kůže a žaber způsobené zmnožením povrchového hlenu a odlupováním povrchového epitelu.

Diagnóza. Na základě klinických a patologických příznaků je vhodné provést mikroskopické vyšetření kůže a žaber, eventuálně jiných orgánů (močové cesty). Morfologie trichodin je natolik typická, že je lze jen stěží zaměnit za jiného původce.

Terapie. K léčbě se používají stejné antiparazitární koupele jako při chilodonelóze, tj. u potravinových ryb koupele v chloridu sodném, formaldehydu nebo kyselině peroctové. U akvarijních a okrasných ryb je škála možností širší, ke koupelím je možno použít také akriflavin, malachitovou zeleň nebo přípravky ji obsahující, manganistan draselný a modrou skalici (dávkování viz kapitola 7.).

Prevence. Platí všechny obecné zásady jako u prevence ostatních ektoprotozóz. Základem je udržování ryb v dobré kondici, zabránění jejich nadměrnému stresování, karanténa nově nakoupených ryb, eventuálně preventivní koupele při mírné intenzitě infekce.

LITERATURA

1. Colorni, A., 2008. Diseases Caused by Ciliophora. In: Eiras, J.C., Segner, H., Wahli, T., Kapoor, B.G. (Eds). Fish Diseases vol. 1, Science Publishers, Enfield, New Hampshire, U.S.A., pp. 569–612.
2. Basson, L., van As, J., 2006. Trichodinidae and Other Ciliophorans (phyllum Ciliophora). In: Woo, P.T.K. (Ed.). Fish Diseases and Disorders, vol. 1 Protozoan and Metazoan Infections, 2nd edition. CAB International, Oxfordshire, UK, pp. 154–182.
3. Lom, J., Dykova, I., 1992. Protozoan Parasites of Fishes. Developments in Aquaculture and Fisheries Science, vol. 26, Elsevier, Amsterdam, 315 p.
4. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. Ediční středisko Veterinární a farmaceutické univerzity Brno, 155 s.
5. Rogers, W.A., 1971. Disease of fish due to the protozoan *Epistylis* (Ciliata: Peritricha) in the southeastern US. In: Proceedings of the Southeastern Association of Game Fish Commissioners, 25th Annual Conference, Charleston, Virginia pp: 493–496.
6. Lom, J., 1966. Sessiline peritrichs from the surface of some freshwater fishes. Folia Parasitologica 1: 36–56.
7. Halmetoja, A., Valtonen, E.T., Koskenniemi, E., 2000. Perch (*Perca fluviatilis* L.) parasites reflect ecosystem conditions: a comparison of a natural lake and two acidic reservoirs in Finland. International Journal for Parasitology 30: 1437–1444.
8. Noga, E.J., 1996. Fish Disease Diagnosis and Treatment. C.V. Mosby-Yearbook Inc., St. Louis., 267 pp.
9. Buchmann, K., Bresciani, J., 1997. Parasitic infections in pond-reared rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in Denmark. Diseases of Aquatic organisms 28: 125–138.
10. Corliss, J.O., 1979. The Ciliated protozoa: Characterization, Classification and Guide to the Literature. Pergamon Press, Oxford.
11. Lom, J., 1995. Trichodiniidae and Other Ciliates. In: Woo, P.T.K. (Ed.). Fish Diseases and Disorders, CAB International, Oxon, U.K., Vol.1, pp. 229–262.
12. Nigrelli, R.F., Pokorni, K.S., Ruggieri, G.D., 1976. Notes on *Ichthyophthirius multifiliis*, a ciliate parasitic on freshwater fishes, with some remarks on possible physiological races and species. Transactions of the American Microscopical society 95: 607–613.
13. Hoffman, G., 1999. Parasites of North American Fishes. Comstock Publishing Associates, Ithaca, New York, 539 p.
14. Dickerson, H.W., Clark, T.G., Leff, A.A., 1993. Serotypic variation among isolates of *Ichthyophthirius multifiliis* based on immobilization. Journal of Eukaryotic Microbiology 40: 816–820.
15. Matthews, R.A., 1996. *Ichthyophthirius*: observations on the life-cycle and indications of a possible sexual phase. Folia Parasitologica 43: 203–208.
16. Ewing, M.S., Kocan, K.M., Ewing, S.A., 1983. *Ichthyophthirius multifiliis* morphology of the cyst wall. Transactions of the American Microscopical Society 102: 122–128.
17. Hines, R.S., Spira, D.T., 1974. Ichthyophthiriasis in the mirror carp, *Cyprinus carpio* (L.). V. Acquired immunity. Journal of Fish Biology 6: 373.
18. Burkart, M.A., Clark, T.G., Dickerson, H.W., 1990. Immunization of channel catfish *Ictalurus punctatus* Rafinesque against *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet): killed versus live vaccines. Journal of Fish Diseases 13: 401–410.

19. Clayton, G.M., Price, D.J., 1988. Pleiotrophic effect on scale pattern genes in common carp: susceptibility to *Ichthyophthirius multifiliis* infection. *Heredity* 60: 312.
20. Clayton, G.M., Price, D.J., 1992. Interspecific and intraspecific variation in resistance to ichthyophthiriasis among poecilid and goodeid fishes. *Journal of Fish Biology* 40: 445–453.
21. Clayton, G.M., Price, D.J., 1994. Heterosis in response to *Ichthyophthirius multifiliis* infections in poecilid fish. *Journal of Fish Biology* 44: 59–66.
22. Ventura, M.T., Paperna, I., 1985. Histopathology of *Ichthyophthirius multifiliis* infections in fishes. *Journal of Fish Biology* 27: 185–203.
23. Cross, M.L., Matthews, R.A., 1992. Ichthyophthiriasis in carp, *Cyprinus carpio* L.: fate of parasites in immunized fish. *Journal of Fish Diseases* 15: 497–505.
24. MacLennan, R.F., 1942. Growth in the ciliate *Ichthyophthirius*. Vol. II. *Journal of Experimental Zoology* 91: 1–13.
25. Ewing, M.S., Lynn, M.E., Ewing, S.A., 1986. Critical periods in development of *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora) populations. *Journal of Protozoology* 33: 388–391.
26. Noga, E.J., 2010. *Fish Disease: Diagnosis and Treatment*, 2nd edition. Blackwell Publishing, Iowa, US.: pp. 131–134.
27. Kabata, Z., 1985. *Parasites and Diseases of Fish Cultured in the Tropics*. Taylor and Francis, Philadelphia., Pennsylvania.
28. Brown, E.E., Gratzek, J.B., 1980. *Fish Farming Handbook*. Food, Bait, Tropicals and Goldfish. AVI Publishing, Westport, Connecticut.
29. Hines, R.S., Spira, D.T., 1973. *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet) in the mirror carp, *Cyprinus carpio* L. I. Course of infection. *Journal of Fish Biology* 5: 385–392.
30. Straus, D.L., 1993. Prevention of *Ichthyophthirius multifiliis* infestation in channel catfish fingerlings by copper sulphate treatment. *Journal of Aquatic Animal Health* 5: 152–154.
31. Cross, D.G., 1972. A review of methods to control ichthyophthiriasis. *Progressive Fish-Culturist* 34: 165–170.
32. Mehlhorn, H., Schmahl, G., Haberkorn, A., 1988. Toltrazuril effective against a broad spectrum of protozoan parasites. *Parasitology Research* 75. 64–66.
33. Houghton, G., Matthews, R.A., 1993. *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet): survival within immune juvenile carp, *Cyprinus carpio* L. *Fish and Shellfish Immunology* 3: 157–166.
34. Gratzek, J.B., Gilbert, J.P., Lohr, A.L., Shotts, E.B., Brown, J., 1983. Ultraviolet light control of *Ichthyophthirius multifiliis* in a closed fish culture recirculation system. *Journal of Fish Diseases* 6: 145–153.
35. Parker, J.C., 1965. *Studies on the Natural History of Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet 1876, an Ectoparasitic Ciliate of Fish. University of Maryland, College Park, Maryland.
36. Areerat, S., 1974. The immune response of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafinesque, to *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet. *Doklady Novaia Servia* 93: 377.
37. von Gersdorff Jørgensen, L., G., Kania, P.W., Rasmussen, K.J., Mattson, A.H., Schmidt, J., Al-Jubury, A., Sander, A., Salanti, A., Buchmann, K., 2017. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immune response towards a recombinant vaccine targeting the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*. *Journal of Fish Diseases* 40: 1815–1821.
38. von Gersdorff Jørgensen, L., 2017. The fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis* - Host immunology, vaccines and novel treatments. *Fish and Shellfish Immunology* 67: 586–595.

39. Gratzek, J.B., 1993. Parasites Associated with Freshwater Tropical Fishes. In: Stoskopf, M.K. (Ed.). Fish Medicine, W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp. 573–590.
40. Kazubski, S.L., Migala, K., 1974. Studies on the distinctness of *Chilodonella cyprini* (Morof) and *Ch. hexasticha* (Kiernik) (Clamydodontidae, Gymnostomatida), ciliate parasites of fishes. Acta Protozoologica 13: 9–39.
41. Hoffmann, G.L., Kazubski, S.L., Mitchell, A.J., Smith, C.E., 1979. *Chilodonella hexasticha* (Kiernik, 1909) (Protozoa, Ciliata) from North American warmwater fish. Journal of Fish Diseases 2: 153–157.
42. Paperna, I., van As, J.G., 1983. The pathology of *Chilodonella hexasticha* (Kiernik). Infections in cichlid fishes. Journal of Fish Biology 23: 441–450.
43. Shariff, M., 1984. Occurrence of *Chilodonella hexasticha* (Kiernik, 1909) (Protozoa: Ciliata) on big carp *Aristichthys nobilis* (Richardson) in Malaysia. Tropical Biomedicine 1: 69–75.
44. Khan, R.A., 1972. Taxonomy, prevalence and experimental transmission of a protozoan parasite, *Trichodina oviducti* Polyanskii (Ciliata: Peritrichida), of the thorny skate, *Raja radiata* Donovan. Journal of Parasitology 58: 680–685.
45. Lom, J., Haldar, D.P., 1976. Observations on trichodinids endocomensal in fishes. Transactions of the American Microscopical Society 95: 527–541.
46. Li, L.X., Desser, S.S., 1983. *Trichodina algonquinensis*, a new species of Peritrich ciliate from Ontario freshwater fish, and observations on its transmission. Canadian Journal of Zoology 61: 1159–1164.
47. Basson, L., 1989. An endoparasitic trichodinid (Ciliophora: Peritricha) from the urinary system of *Barbus Trimaculatus* Peters, 1852. South African Journal of Zoology 24: 260–269.
48. Basson, L., van As, J.G., Fishelson, L., 1990. A new species of *Trichodina* (Ciliophora: Peritrichia) from the intestine of surgeon fish *Acanthurus xanthopterus*. International Journal of Parasitology 20: 785–787.
49. van As, J.G., Basson, L., 1996. An endosymbiotic trichodinid, *Trichodina rhinobatae* sp.n. (Ciliophora: Peritrichia) found in the lesser guitarfish, *Rhinobatos annulatus* Smith, 1841 (Rajiformes, Rhinobatidae) from the South African coast. Acta Protozoica 35: 61–67.
50. Karlsbakk, E., Aspholm, P.E., Berg, V., Hareide, N.R., Berland, B., 2002. Some parasites of the small-eyed rabbitfish, *Hydrolagus affinis* (Capello, 1867) (Holocephali), caught in deep waters of SW Greenland. Sarsia 87: 179–184.
51. Markiewicz, F., Migala, K., 1980. Trichodinid invasion (Peritricha, Urceolariidae) on young eels (*Anguilla anguilla* L.) grown in aquaria. Acta Hydrobiologica Kraków 22: 229–236.
52. Chen, C.L., 1963. Studies on ectoparasitic trichodinids from freshwater fish, tadpole and crustacean in China. Acta Hydrobiologica Sinica 3: 99–111.
53. Cheng, T.C., 1986. Ciliophora: The Ciliates. In: Cheng, T.C. (Ed.). General Parasitology, 2nd Edition. Academic Press, Orlando: 234–251.
54. Davis, H.S., 1961. Culture and Diseases of Game Fishes. 3rd edn. University of California Press, Berkeley.
55. Barker, D.E., Cone, D.K., Burt, M.D.B., 2002. *Trichodina murmanica* (Ciliophora) and *Gyrodactylus pleuronecti* parasitizing hatchery-reared winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum): Effects on host growth and assessment of parasite interaction. Journal of Fish Diseases 25: 81–89.

3.3. APICOMPLEXA

Stanislav Navrátil, Miroslava Palíková

Pro organismy patřící do této skupiny živočichů je typická přítomnost sférické buněčné organely zvané apikální komplex včetně struktury zvané conoid (s výjimkou zástupců rodů *Haematractidium* a *Haemohormidium*). Apikální komplex je struktura patrná pouze v elektronovém mikroskopu, a to jen v určité fázi jejich vývoje. Tato struktura ulehčuje invazi do hostitelské buňky. Většina druhů tvoří spory a/nebo oocysty. Životní cyklus zahrnuje merogonii, gamogonii a sporogonii (viz níže). Zástupci vyskytující se u ryb se rozdělují na dvě hlavní skupiny: kokcidie a krevní parazity (kokcidie *sensu lato*)(1).

Apikomplexa se vyskytují u širokého spektra živočichů, od helmintů po savce. Parazitární původci, zejména kokcidie teplokrevných živočichů (savců a ptáků), patří mezi nejvýznamnější živočišné patogeny, kterým je věnována značná pozornost. Výzkumu rybních původců patřících do této skupiny není věnována velká pozornost. I když první oocysty kokcidií byly u ryb popsány již na konci 18. století (2), o vývoji a patogenitě rybních histozoických i krevních parazitárních zástupců existuje pouze limitované množství dat. Je pravděpodobné, že i počet existujících druhů je mnohonásobně vyšší než popsaných (3–5).

Kokcidie i krevní parazité se vyskytují u ryb na celém světě, jak ve sladkých, tak v mořských vodách.

3.3.1. KOKCIDIÓZY

Stanislav Navrátil

Úvod. Určité údaje o rybních kokcidiích uvedl již ve svém kompendiu v roce 1906 B. Hofer (6), podrobnější informace pak uvádí v roce 1924 M. Plehnová (7). Tito buněční cizopasníci a jimi vyvolané choroby jsou i dnes v popředí zájmu ichtyopatologů a ichtyoparazitologů. Kokcidie parazitující u ryb se běžně vyskytují i u nás. Z ekonomického hlediska jsou závažné především střevní kokcidiózy kapra obecného (8).

Původce. Původci kokcidióz ryb jsou intracelulární cizopasníci. Kokcidie cizopasíci u našich ryb patří do čeledi Eimeriidae. Dosud u nás byli bezpečně identifikováni zástupci rodu *Eimeria*, *Goussia* a *Epieimeria* (9). Vývojový cyklus kokcidií se v podstatě neodlišuje od vývojového cyklu kokcidií teplokrevných živočichů. Zahrnuje nepohlavní fázi, tj. merogonii a pohlavní fázi, tj. gamogonii a sporogonii, při které vznikají infekční stádia – sporulované oocysty obsahující sporocysty se sporozoity (1,9–11). Morfologie a morfometrie sporulovaných oocyst je klíčem v praktické determinaci jednotlivých rodů a druhů (8,9,11). Lom a Dyková (9) uvádějí, že celý jejich vývoj včetně sporogonie probíhá uvnitř hostitele. Molnár (1) však podotýká, že sporulace může být i exogenní, tedy mimo hostitele. Převážná většina rybních kokcidií se vyvíjí ve stěně střeva. Velký počet druhů rybních kokcidií se vyvíjí extraintestinálně (9,11). V našich podmínkách mají z hlediska patogenity nebo rozšíření význam především dále uvedené druhy. ***Goussia carpelli*** napadá epitelální buňky střeva kapra, ve kterých prodělává svůj vývoj. Oocysty měří 6,2–12,5 μm a obsahují 4 elipsoidní sporocysty s přihrocenými konci, centrálně uloženým zbytkovým tělískem a dvěma sporozoity. ***Goussia subepithelialis*** napadá střevní epitel a subepitelální vrstvy střeva kapra, zvláště ve středním úseku. Kulaté oocysty měří 16–19 μm, obsahují 4 oválné sporocysty s velkým zrnitým zbytkovým tělískem a dvěma

sporozoity. Tenkostěnné kulovité oocysty *Goussia stankovitchi* měří 8,5–11 μm (9). U *Epieimeria* sp. byla dosud zjištěna pouze stádia merogonie, zralé oocysty nebyly nalezeny. Z druhů kokcií, které se vyvíjejí extraintestinálně, je možné se v našich podmínkách setkat s *Eimeria branchiphila* (9,11).

Vnímavost. Vnímavost jednotlivých druhů ryb vůči různým druhům kokcií je dána jejich více či méně vyhraněnou hostitelskou specifí. *Goussia carpelli* se vyskytuje u kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Morfologicky neodlišitelné oocysty se nalézají u hrouzka obecného (*Gobio gobio*), ježdíka obecného (*Gymnocephalus cernuus*), karasa obecného (*Carassius carassius*), tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix*) a tolstolobce pestrého (*Hypophthalmichthys nobilis*). Podobný druh, *G. cyprinorum*, byl popsán u plotice obecné (*Rutilus rutilus*) a perlína ostrobřichého (*Scardinius erythrophthalmus*) (9). *Goussia subepithelialis* se vyskytuje u kapra. Morfologicky identický druh byl zjištěn u línů (*Tinca tinca*) v Maďarsku (9,11). *Goussia stankovitchi* se vyskytuje u cejna velkého (*Abramis brama*). *Epieimeria* sp. byla zjištěna v epiteliálních buňkách střeva jelce tlouště (*Squalius cephalus*). Sporogonická stádia *E. branchiphila* byla zjištěna v žábrách, ledvinách, slezině, svalech a mozku plotice obecné (9,11).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Do chovného prostředí se infekční oocysty kokcií s intestinálním vývojem většinou dostanou prostřednictvím výkalů, s kterými jsou vylučovány (9). Oocysty kokcií s extraintestinálním vývojem se do prostředí dostanou po rozkladu uhynulých napadených ryb. U *E. branchiphila* se předpokládá uvolňování oocyst do vody z porušeného žaberního epitelu (9). Oocysty kokcií vyvíjejících se v epiteliálních buňkách ledvinných kanálků mohou být do zevního prostředí vylučovány močí. Oocysty kokcií mohou být do chovného prostředí rovněž zaneseny přítokovou nebo transportní vodou (8). Dlouhou dobu se předpokládalo, že se ryby nakazí přímo perorálně pozřením oocyst (1). Nyní bylo prokázáno, že se rybí kokcidie možná vyvíjejí také přes mezihostitele a paratenické hostitele. Například Molnár (12) byl neúspěšný při snaze vyvolat experimentální infekci *G. carpelli* zkrmováním oocyst zamíchaných v krmivu. Intenzivní infekce však byla dosažena při zkrmování nitěnek z přírodního prostředí.

Podmiňující faktory. Rozhodující podmínkou pro vznik a průběh onemocnění je stupeň zamořenosti prostředí. Při intenzivním vyhledávání potravy při vyšší teplotě vody vzrůstá i nebezpečí vyšší intenzity a prevalence infekcí. Obdobně se uplatňuje i vyšší hustota obsádek. Životní cyklus některých kokcií může být ovlivněn střídáním ročních období. Například k naze mladých kaprů *G. subepithelialis* dochází v létě, ale v zimě se pozdní fáze merogonie zastavuje a gamogonie a tvorba oocyst probíhá až na jaře příštího roku (8).

Průběh a vývoj onemocnění. Většina kokcií má relativně malou patogenitu (1). Kokcidiózy probíhají obvykle chronicky. Stupeň poškození zdravotního stavu ryb je odvislý, pomineme-li rozdílnou patogenitu jednotlivých druhů a obranyschopnost napadených ryb (8), především na intenzitě infekce (1). Kokcidie během svého intracelulárního vývoje poškozují napadené buňky, což vede k dystrofickým a nekrotickým změnám a zánětlivým reakcím v napadených orgánech, které mají za následek jejich funkční poškození. Při postižení velké plochy střevní sliznice dochází k poruchám trávení a následné vyhublosti. Klinické příznaky onemocnění se objevují až po dosažení určitého stupně intenzity napadení a poškození napadených orgánů (8).

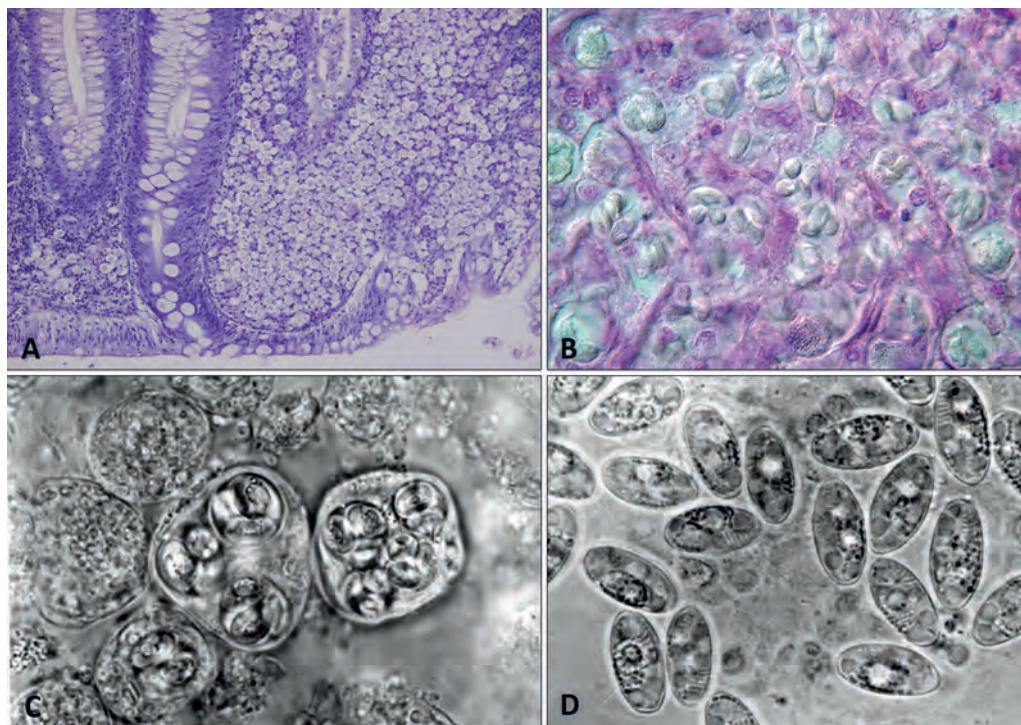
Klinické příznaky. Většinou se objevují až v pokročilém stádiu onemocnění a jsou charakterizovány vyhublostí, malátností a ojedinělým hynutím (8).

Patologické změny. Při zevním ohledání se patologické změny s výjimkou vyhublosti nezjišťují. Po zmáčknutí dutiny tělní se při střevních kokcidiózách vytlačí z řitního otvoru nažloutlý obsah (8). Tento nažloutlý, řídký obsah střeva, někdy i s příměsí krve, se zjišťuje i při pitvě (9). Makroskopické změny na stěně střeva při infekci *G. carpelli* nejsou příliš nápadné. Při napadení *G. subepithelialis* se ve střevní stěně nacházejí zřetelně ohraničená, světlejší, bělavá, oválná ložiska patrná i ze zevní strany střevní stěny (8,9). Makroskopické změny při napadení kokciemi s extraintestinálním vývojem se většinou nezjišťují (8). Histologický obraz infekcí *G. carpelli* je charakterizován dystrofickými změnami střevního epitelu přecházejícími v nekrózu a deskvamaci epitelu. Vytváří se obraz difúzní enteritidy s převážně lymfocytární infiltrací subepiteliální pojivové tkáně, případně i lamina muscularis mucosae. Oocysty se nacházejí uvnitř tzv. žlutých tělísek, která vznikají z alterovaných epiteliálních buněk. Histologický obraz infekcí *G. subepithelialis* se od výše popsaného obrazu poněkud liší. Epitel střevní sliznice v průběhu merogonie a gamogonie podléhá také dystrofickým změnám. V dalším průběhu infekce epitel intenzivně regeneruje, popřípadě dochází k překrytí vzniklých defektů jeho hyperplazií a tvoří se oocysty se hromadí v subepiteliální pojivové tkáni. Rozvíjející se zánětlivé změny mají charakter proliferativní enteritidy, která má většinou ložiskový charakter. V pokročilé fázi infekce často sousední slizniční řasy splývají. Původce tak může výrazně poškodit strukturu střevní stěny, která nemůže dále plnit svou fyziologickou funkci (9). Histologický obraz infekcí *E. branchiphila* v ledvinách a slezině je charakterizován častou lokalizací oocyst v melanomakrofágových centrech. V žábřácích se *E. branchiphila* lokalizuje v prostorách mezi pilířovými buňkami sekundárních lamel, kde působí rozšiřování těchto prostor a městnání krve. Zřejmě dochází i k porušení epitelu sekundárních lamel a uvolňování oocyst do vody (9).

Diagnóza. Diagnostika kokcidiózy vyvolané *G. carpelli* se opírá o nález řídkého, žlutavého obsahu střeva potvrzený mikroskopickým nálezem žlutých tělísek obsahujících oocysty. Diagnostika kokcidiózy vyvolané *G. subepithelialis* vychází z patologického nálezu bělavých skvrn ve střevní stěně potvrzeného mikroskopickým nálezem vysporulovaných oocyst v obsahu střeva nebo střevní stěně (9). Mikroskopickým vyšetřením kompresních nebo histologických preparátů střeva je možné u intestinálních kokcidií zachytit i jejich vývojová stádia (obr. 3.3.1.1). Na mikroskopickém vyšetření kompresních nebo histologických preparátů příslušných tkání je založena i diagnostika extraintestinálních kokcidióz (9). Při mikroskopii preparátů se vychází z velikosti kokcií, a proto se většinou používá větší zvětšení (400×)(1).

Terapie. Bylo zkoušeno jen málo léčiv vyvinutých pro kontrolu kokcidióz teplokrevných živočichů. Terapie se prakticky neprovádí. Léčba kapřího plůdku postiženého kokcidiózou vyvolanou *G. carpelli* se prováděla perorální aplikací furazolidonu v krmivu (8,9). Po zákazu používání furazolidonu v chovech potravinových ryb není propracovaná terapie k dispozici (8). Léčba ostatních kokcidióz, včetně uzlíčkové kokcidiózy vyvolané *G. subepithelialis*, se neprováděla. Tlumení kokcidióz tedy vychází především z preventivních opatření (8,9).

Prevence. Provádí se především v kaprovém rybníkářství. Důležitým preventivním opatřením je zabránění přenosu kokcií z generačních kaprů na jejich plůdek. Proto je třeba, aby v případě přirozeného výtěru byli generační kapři co nejdříve z chovného prostředí odloveni (9). Oocysty kokcií je možné po vypuštění vody likvidovat vysušením dna, případně dezinfekcí páleným nebo chlorovým vápnem v dávce 2,5, resp. 0,5–0,6 t.ha⁻¹. V zamořeném prostředí je vhodné kapří plůdek přikrmovat, aby nevyhledával potravu na dně, kde se nachází větší množství uvolněných oocyst (8). Vzhledem k možné úloze nitěnek jako vektorů oocyst (1) může být důležitým preventivním opatřením i vysušení dna rybníků. Důležité je rovněž pravidelné sledování zdravotního stavu ryb (8).



Obr. 3.3.1.1. *Goussia subepithelialis*: histologický řez střevem (A, B)(H&E); *G. carpeli*: oocysty v nativním preparátu (C); *G. subepithelialis*: sporocysty v nativním preparátu (D). (Foto: A, C, D – I. Dyková, B – M. Palíková)

3.3.2. KREVŇÍ PARAZITĚ

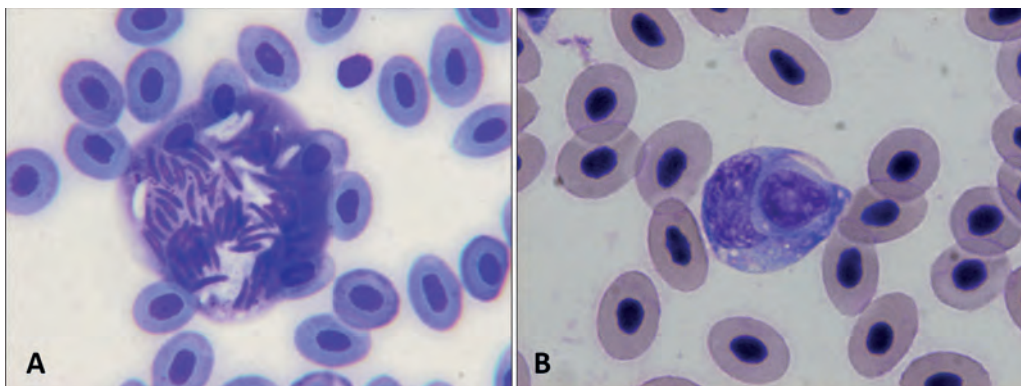
Miroslava Palíková

Zástupci této skupiny parazitují v krevních buňkách hostitele, zejména v erythrocytech, ale i v leukocytech. V literatuře je můžeme najít i pod označením hemogregariny nebo kokcidie *sensu lato*. Jsou to organismy s heteroxenním životním cyklem zahrnujícím ryby a pijavky nebo hmyz. Zatímco většina autorů (např. 13,14) uvádí jako vektory, ve kterých probíhá sporogonie, pouze pijavky, někteří (15,16) uvádějí, že vektorem druhu *Haemogregarina bigemina* může být i stejnonohý koryš *Gnathia maxillaris*. V rybách dochází pouze k merogonii a gamogonii, zatímco sporogonie probíhá v parazitárních zástupcích kroužkovců nebo hmyzu.

Většina druhů hemogregarin se vyskytuje u mořských ryb (4,17). U sladkovodních ryb již bylo popsáno kolem 30 druhů, jejich výskyt však není častý a záchyt různých vývojových stádií bývá spíše náhodným nálezem při hematologickém vyšetření ryb (obr. 3.3.2.1). Zejména z tohoto důvodu je zde tato skupina krevních parazitů uvedena.

O hostitelské specifčnosti hemogregarin je známo jenom málo. Většina druhů hemogregarin se vyskytuje u jednoho rybiho druhu, ale např. *H. bigemina* byla popsána minimálně u 85 druhů mořských ryb. Mezi krevní parazity jsou řazeny zástupci rodů *Cyrtia*, *Desseria*, *Haemogregarina*, *Babesiosoma* a *Dactylosoma*. Zástupci rodů *Haematractidium* a *Haemohormidium* s nejasným systematickým zařazením mají nekompletní apikální komplex a nemají conoid. Jejich životní cyklus nezahrnuje sporogonii.

Neúplné znalosti se týkají i patogenního účinku. Jsou popisovány změny v krevním obraze ryb a jenom zřídka se objevují vážnější poruchy spojené s masivními infekcemi, např. výskyt nádorovitých změn ve svalovině a orgánech platýzovitě ryby pakambaly velké (*Scophthalmus maximus*) infikované *H. sachai* (18).



Obr. 3.3.2.1. Náhodné nálezy krevních parazitů v krevních nátěrech obarvených dle Pappenheima. Krevní nátěr z krve křížence kapra a karasa (A) a z kapra (B). (Foto: A – L. Vetešník, B – M. Palíková)

LITERATURA

1. Molnár, K., 2006. Phylum Apicomplexa. In: Woo, P.T.K. (Ed.). Fish Diseases and Disorders. Vol. 1: Protozoan and Metazoan Infections. 2nd edn. CABI, Wallingford, UK, pp. 183–204.
2. Thélohan, P., 1980. Sur deux coccidies nouvelles, parasites de lépinoche et de la sardine. Comptes Rendus Société Biologique (Paris) 42: 345–348.
3. Lom, J. 1984. Diseases Caused by Protistants. In: Kinne, O. (ed.). Diseases of Marine Animals, vol. 4. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Germany, pp. 114–168.
4. Dyková, I., Lom, J., 1983. Fish coccidia: an annotated list of described species. Folia Parasitologica 30: 193–208.
5. Davies, A.J., 1995. The biology of fish haemogregarines. Advances in Parasitology 36: 118–203.
6. Hofer, B., 1906. Handbuch der Fischkrankheiten. E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung (E. Nägele) in Stuttgart, 359 p.
7. Plehn, M., 1924. Praktikum der Fischkrankheiten. In: Demoll, R., Maier, H.N. (Eds). Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas, Band I., E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung (Erwin Nägele) G.m.b.H., pp. 301–470.
8. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb, VFU Brno, 155 s.
9. Lom, J., Dyková, I., Svobodová, Z., Zajíček, J., 1989. Protozoární paraziti užitkových ryb. ČRS, SZN Praha, 103 s.
10. Ergens, R., Lom, J., 1970. Původci parazitárních nemocí ryb. Academia Praha, 383 s.
11. Lom, J., Dyková, I., 1992. Protozoan Parasites of Fish. Elsevier, The Netherlands, 315 p.
12. Molnár, K., 1979. Studies on Coccidia of Hungarian Pond Fishes and further Prospects of their Control. In: Proceeding of the International Symposium on Coccidia, Prague, pp. 173–183.
13. Khan, R.A., 1980. The leech as a vector of a fish piroplasm. Canadian Journal of Zoology 58: 1631–1638.
14. Barta, J.R., 1991. The Dactylosomatidae. Advances in Parasitology 30: 1–37.
15. Davies, A.J., Johnston, M.R.L., 1976. The biology of *Haemogregarina bigemina* Laveran & Mesnil, a parasite of the marine fish *Blennius pholis* Linnaeus. Journal of Protozoology 23: 315–320.
16. Davies, A.J., 1982. Further studies on *Haemogregarina bigemina* Laveran & Mesnil, the marine fish *Blennius pholis* L., and the isopod *Gnathia maxillaris* Montagu. Journal of Protozoology 29: 576–583.
17. Dyková, I., Lom, J., 1981. Fish coccidia: critical notes on life cycles, classification and pathogenicity. Journal of Fish Diseases 4: 487–505.
18. Kirmse, P., 1980. Observations on the pathogenicity of *Haemogregarina sachai* Kirmse, 1978, in farmed turbot *Scophthalmus maximus* (L.). Journal of Fish Diseases 3: 101–114.

3.4. OOMYCETA

Ivana Papežíková

Oomycety jsou vláknité eukaryotické mikroorganismy, které sdílejí několik společných morfologických rysů s houbami, ale fylogeneticky jsou jim vzdálené. Podobně jako houby vytvářejí vláknité rozvětvené mycelium, ale hyfy jsou, na rozdíl od hyf pravých hub, vždy bez sept (1) a jejich buněčná stěna není tvořena chitinem, ale převážně celulórou a beta-glukany (2). Mnoho druhů oomycetů patří mezi významné patogeny rostlin – např. plíseň bramborová (*Phytophthora infestans*), nebo patogeny živočichů – např. původce račího moru, hnileček račí (*Aphanomyces astaci*) (3). Onemocnění ryb způsobují především zástupci rodů *Saprolegnia*, *Achlya*, *Branchiomyces* a *Aphanomyces*.

3.4.1. SAPROLEGNIOZA

Úvod. Saprolegnióza (povrchové zaplísnění) je onemocnění způsobené oomycety z čeledi Saprolegniaceae. Jde o jedno z nejrozšířenějších onemocnění sladkovodních ryb. Vyskytuje se v chovech potravinových, okrasných a akvarijních ryb i u ryb volně žijících. Saprolegnióza je ve většině případů sekundární onemocnění, které se rozvine na mechanicky poškozených tkáních (4) nebo u jedinců oslabených environmentálními faktory (5). Pro akvakulturu mají význam především rody *Saprolegnia*, *Achlya* a *Aphanomyces*. V intenzivních chovech lososovitých ryb se uplatňuje především druh *Saprolegnia parasitica*. Onemocnění bylo poprvé popsáno v polovině 18. století u volně žijících ryb v řekách v Anglii a ve Skotsku (6).

Původce. Původci saprolegniózy tvoří bohatě rozvětvené mycelium. Hyfy obsahují mnoho jader a společnou cytoplazmu. Nejsou v nich přítomna septa, s výjimkou sept oddělujících sporangia (7). Na zakončení hyf se vytvářejí kyjovitá sporangia, z nichž se uvolňují primární pohyblivé zoospory sloužící k rozšíření původce do okolního prostředí. Tyto spory po krátké době encystují a stávají se nepohyblivými. Z cyst se později uvolňují pohyblivé sekundární zoospory, které aktivně vyhledávají vhodný substrát. Sekundární zoospory jsou považovány za hlavní infekční stádium (5). U některých druhů se proces encystace a uvolňování sekundárních spor může i několikrát opakovat. Tento jev se nazývá polyplanetismus a patrně slouží ke zvýšení pravděpodobnosti kontaktu infekčních spor s vhodným substrátem (6,7). Kromě výše uvedeného způsobu reprodukce jsou u oomycetů z čeledi Saprolegniaceae popsány i další způsoby nepohlavního rozmnožování a rozmnožování pohlavní (5,7,8).

Vnímavé druhy. Oomycety z čeledi *Saprolegniaceae* jsou generalisté (druhy se širokou ekologickou nikou). Jsou schopny infikovat řadu druhů ryb z různých čeledí (9). Napadají všechny věkové kategorie ryb. Velký ekonomický význam má infekce jiker, především v umělých chovech lososovitých ryb (10). Původci primárně napadají neoplozené a uhynulé jikry, z nichž později přerůstají na jikry oplozené, zvláště pokud jsou jikry ve vzájemném kontaktu.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Původci saprolegniózy se ve sladkovodních ekosystémech vyskytují ubikvitně, ryby jsou tedy trvale vystaveny infekčnímu tlaku. U zdravých, dobře živěných ryb s neporušenou kůží je však riziko infekce velmi nízké (7). Původci saprolegniózy patří mezi oportunní patogeny, výskyt a rozvoj onemocnění je závislý především na přítomnosti podmiňujících faktorů (6). Proto je saprolegnióza všeobecně považována za sekundární onemocnění (i když byly popsány i vysoce virulentní kmeny *S. parasitica*, které působí primární infekce u zdravých lososů) (11).

Podmiňující faktory. Nejběžnější primární příčinou saprolegniózy je narušení integrity kůže (případně žaber). K narušení kožní bariéry nejčastěji dochází při manipulaci s rybami anebo v chovech s vysokou hustotou rybí obsádky (6). Další příčinou může být poškození kůže predátory, ektoparazity nebo bakteriální infekcí. U volně žijících lososovitých ryb dochází k poranění kůže v době výtěru při migraci a při vytloukání hnízda v trdlišti. Dalším podmiňujícím faktorem je zhoršená kvalita vody. Rozvoj choroby podporuje vysoká organická zátěž vody (5) a vysoký obsah amoniaku (12).

Citlivost ryb k saprolegnióze se výrazně zvyšuje při stresu, neboť zvýšená hladina kortizolu vede k imunosupresi a ke zvýšenému katabolismu bílkovin (14). Mezi nejčastější příčiny stresu patří častá nebo nešetrná manipulace s rybami, vysoká hustota rybí obsádky a sociální agrese v intenzivních chovech, špatná kvalita vody, nevhodná teplota vody, teplotní šok anebo přítomnost patogenů a parazitů.

K onemocnění jsou více náchylné ryby ve špatném výživném stavu. Podvyživené ryby také hůře reagují na terapii a léze se u nich pomaleji hojí.

Lososovité ryby jsou k saprolegnióze zvláště citlivé v období výtěru. Mezi hlavní příčiny patří hormonální změny (zvýšená hladina kortizolu a pohlavních hormonů), změna morfologie kůže (5) a vyšší pravděpodobnost poranění.

Průběh a vývoj onemocnění. Onemocnění probíhá většinou chronicky, méně často subakutně. Spory se zachytí na poškozené kůži, žábřácích nebo na povrchu jiker. Po vyklíčení spor se začne na místě infekce rozrůstat mycelium. Na počátku infekce se původci žijí saprofytičky – primárně poškozenou tkání hostitele. Později se stávají pravými parazity. Přecházejí na nekrotrofní způsob života, způsobují nekrózu buněk hostitele a živí se odumřelou tkání (6). Systémové infekce nebyly u ryb pozorovány. U většiny ryb také chybí systémová zánětlivá reakce na infekci. U kožní saprolegniózy je příčinou úhynu ryb obvykle selhání osmoregulace (6,16). U rozsáhlých infekcí žaber ryby hynou udušením (7). U infekcí jiker původce odčerpává kyslík z jejich okolí (14), dochází k porušení choriové membrány a ke ztrátě její bariérové funkce (15,16).

Klinické příznaky. Na povrchu napadených jiker nacházíme nárosty plísňe. U ryb nacházíme vatovité nárosty plísňe na povrchu kůže (obr. 3.4.1.1), na ploutvích, případně na žábřácích. Byla popsána i infekce čichových jamek nebo rohovky (6). Nárosty jsou zpočátku šedavé; po určité době mohou měnit barvu dohněda nebo dozelena. U nejtěžších případů může být zasaženo až 80 % povrchu těla (7).

Zaplísňené ryby jsou apatické, nepřijímají potravu, ztrácejí rovnováhu, oddělují se od hejna, případně jsou pasivně unášeny proudem. Jsou-li postiženy žábry, objevují se příznaky dušení.

Patologické změny. Na kůži a na žábřácích nacházíme okrouhlé ložiskové nárosty plísni, které jsou však po vylovení ryb méně nápadné než ve vodě. Často je vidět i primární léze, na kterých se plíseň rozrostla (17). U kožní saprolegniózy se růst plísňe většinou omezuje jen na pokožku. V některých případech však hyfy prorůstají i do škáry a do svaloviny.

Diagnostika. Diagnostika saprolegniózy je snadná, ale často je obtížné odhalit primární příčinu, jejíž odstranění je nezbytné pro úspěšnou terapii a prevenci.

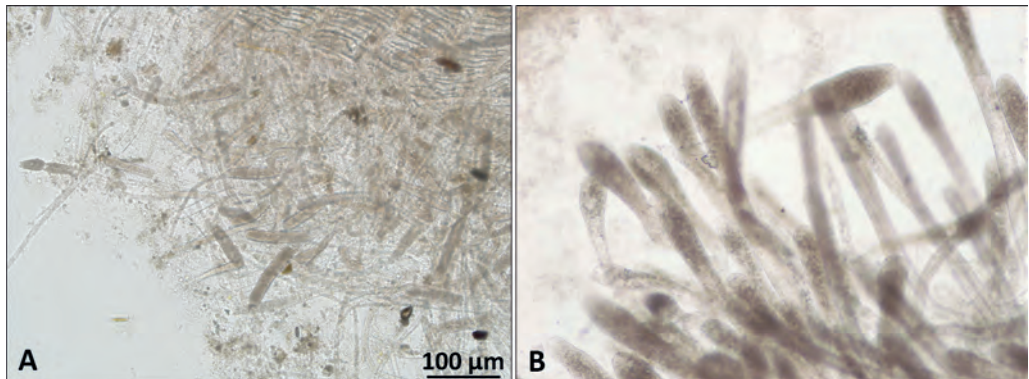
Onemocnění diagnostikujeme na základě typických klinických příznaků. Při pozorování ryb ve vodě jsou na postižených místech dobře viditelné chomáčovité plísňové nárosty bílé, šedé nebo nazelenalé barvy. Pro potvrzení diagnózy provádíme seškraby z kůže (obr. 3.4.1.2) nebo ze žaber, u nejmenšího plůdku zhotovujeme kompresní preparáty z celých ryb. Preparáty prohlížíme pod světelným mikroskopem. Hyfy plísňe jsou dobře viditelné už pod 40násobným zvětšením. Obvykle se používají nativní preparáty. Doplnujeme-li vyšetření o histologické vyšetření, používáme ke zviditelnění plísni barvení PAS anebo barvení dle Grocotta (18).



Obr. 3.4.1.1. Pstruh duhový s masivně zaplísňeným povrchem těla. (Foto: I. Janíček)

Kultivace původců se obvykle neprovádí. Používá se pouze za účelem druhové identifikace. Ta v praxi většinou nebývá potřeba, protože terapie a prevence je shodná u všech tří rodů významných v akvakultuře. Pro kultivaci se odebírá materiál z mladších ložisek, kde je nižší riziko sekundární kontaminace (7). Používají se selektivní média s přidavkem antibiotik pro potlačení růstu bakterií a hub. Příkladem vhodného média je bramboro-dextrózový agar (PDA) (7). Identifikace původce se před příchodem molekulárních metod prováděla na základě morfologie zoospor a oogonií. Některé izoláty však nevytvářejí *in vitro* reprodukční orgány (14), navíc je morfologie mnoha druhů velmi podobná a proměnlivá (19). Metodou volby pro identifikaci původců saprolegniózy je PCR (14) a následné sekvenování ITS oblasti genů pro ribozomální RNA (7, 19).

Jsou-li u ryb postiženy žábry, je potřeba odlišit především branchiomýkózu. Hyfy oomycetů rodu *Branchiomyces* se rozrůstají především v žaberních cévách, zatímco hyfy původců saprolegniózy pozorujeme spíše na povrchu žaberního epitelu (17).



Obr. 3.4.1.2. Kožní saprolegnióza u sivena amerického. Seškrab z kůže, nativní preparát. (Foto: M. Palíková)

Terapie. Pokud jsou léze malé a onemocnění je ve svých počátcích, lze ryby přeléčit a dojde k zotavení. U hlubších a rozsáhlejších lézí je plíseň chráněna před účinky léčiv a terapie je málo účinná. Nejúčinnějším prostředkem k léčbě saprolegniózy je malachitová zeleň, jejíž použití je však zakázáno u potravinových ryb. Dalším účinným prostředkem je formaldehyd. Dále je možné použít peroxid vodíku, kyselinu peroctovou, manganistan draselný nebo bronopol (16). Dalším vhodným prostředkem je chlorid sodný, který je sice méně účinný než malachitová zeleň nebo formaldehyd, ale svým osmotickým účinkem snižuje u nemocných ryb ztráty elektrolytů.

U jiker se osvědčilo ošetření povidon jódem (komplex jódu a polyvinylpyrrolidonu). Doporučeným postupem je třicetiminutová koupel v roztoku o koncentraci 60 mg.l^{-1} ; následuje desetiminutová koupel v roztoku o koncentraci 70 mg.l^{-1} (14).

Prevence. Základem prevence saprolegniózy je odstraňování podmiňujících faktorů podporujících rozvoj choroby. Patří sem především šetrná manipulace s rybami, přiměřená hustota rybí obsádky, kvalitní výživa, kvalitní voda a kontrola zdravotního stavu ryb.

Po manipulaci s rybami lze provést preventivní koupel v roztoku některého z výše uvedených léčiv. Koupel se provádí 2–4 dny po manipulaci (16).

Prevence napadení jiker začíná u správné výživy a péče o generační ryby, neboť ochranné látky (například IgM, lysozym, lektiny nebo složky komplementu) přecházejí z těla matky do jiker a výrazně zvyšují jejich odolnost (15). Důležitá je kvalita vody protékající inkubátorem a pravidelné odstraňování neoplozených, uhynulých nebo napadených jiker. Účinné je také zvýšení průtoku vody přes líhňářský aparát.

3.4.2. BRANCHIOMYKÓZA

Úvod. Branchiomýkóza je onemocnění žaber sladkovodních ryb způsobené oomycety z rodu *Branchiomyces*. Onemocnění bylo poprvé pozorováno v Evropě a na Taiwanu začátkem 20. století. Dnes je jeho výskyt pozorován po celém světě, zvláště v teplejších oblastech. Vyskytuje se v chovech potravinových a okrasných ryb i u volně žijících ryb. U nás se dnes vyskytuje vzácně. (17).

Původce. *Branchiomyces* spp. tvoří rozvětvené mycelium bez sept, v němž jsou dobře viditelné kulovité spory (20). V literatuře jsou jako původci onemocnění popisovány dva druhy – *Branchiomyces sanguinis* a *B. demigrans*, které se liší způsobem růstu, tloušťkou hyf a velikostí spor. Uvádí se, že *B. demigrans* tvoří hyfy o průměru 13–14 μm (které se na koncích mohou rozšiřovat až na 28 μm) a spory o průměru 12–17 μm. *Branchiomyces sanguinis* tvoří hyfy o průměru 8–30 μm a spory o průměru 5–9 μm (17). *Branchiomyces demigrans* má vyšší schopnost prorůstat z cév do extravaskulárního prostoru, zatímco *B. sanguinis* roste především v luminu cév (13,21). Rozlišování oomycetů na základě růstu a morfologie však není zcela spolehlivé. Identifikace původců za pomoci molekulárních metod zatím nebyla prováděna.

Vnímavé druhy. Onemocnění bylo popsáno u řady druhů ryb – u kapra obecného (*Cyprinus carpio*), lína obecného (*Tinca tinca*), karasa zlatého (*Carassius auratus*) a dalších kaprovitých ryb, dále u sumce velkého (*Silurus glanis*), sumečka skvrnitého (*Ictalurus punctatus*), u úhořů (*Anguilla rostrata*, *A. japonica*, *A. anguilla*), u štiky obecné (*Esox lucius*), síha severního (*Coregonus maraena*), pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), pstruha obecného (*Salmo trutta*), u tlamouna nilského (*Oreochromis niloticus*) a u dalších druhů. Nejčastěji je popisováno u kaprovitých ryb. Vzhledem k širokému hostitelskému spektru původce je pravděpodobné, že vnímavých druhů je mnohem více, než je dosud známo.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Infekční spory se do vody uvolňují z napadených nebo uhynulých ryb, případně se do nádrže dostanou s přítokovou vodou. Způsob infekce zatím není znám (21), předpokládá se však, že k infekci dochází přes žábry, případně perorálně (17,21).

Podmiňující faktory. Zásadní úlohu hraje kvalita vody a její teplota. Onemocnění se nejčastěji vyskytuje v nádržích s vysokou organickou zátěží vody. Rozvoj onemocnění také podporuje vysoký obsah amoniaku. Kritickým obdobím jsou letní měsíce, kdy je vysoká teplota vody (nad 20 °C). Dalším faktorem podporujícím propuknutí choroby je vysoká hustota rybí obsádky.

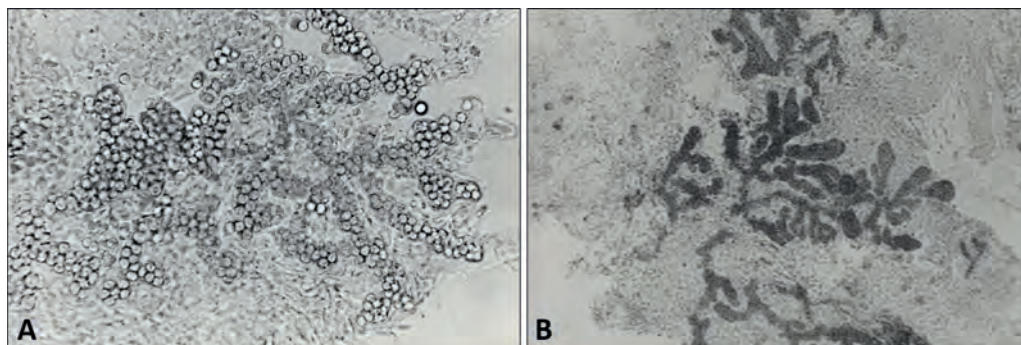
Průběh a vývoj onemocnění. Ve vhodných podmínkách spory vyklíčí a začne se vytvářet mycelium, které se primárně rozrůstá v žaberních cévách. Rozrůstání mycelia vede k cirkulačním poruchám, které později vyústí v ischemickou nekrózu. Ryby hynou udušením anebo v důsledku selhání osmoregulace. Průběh a vývoj onemocnění je závislý na přítomnosti a intenzitě podmiňujících faktorů, především na teplotě vody a obsahu kyslíku. Onemocnění probíhá obvykle akutně (21), méně často subakutně nebo chronicky. Při akutním průběhu ryby hynou hromadně za příznaků dušení (17). Ztráty mohou dosahovat až 50 % (21).

Klinické příznaky. U postižených ryb nacházíme příznaky dušení – nouzové dýchání, shromažďování u přítoku nebo u aerátorů. Ryby často odmítají potravu.

Patologické změny. Rozrůstání plísně v žaberních cévách vede k infarktům a k ischemické nekróze tkáně. Na žábách nacházíme šedobílé ložiskové nekrotické změny a krváceniny, které vznikají v místech, kde plíseň prorostla přes cévní stěnu do extravaskulárního prostoru.

Žábry mívají v důsledku střídání hemoragických a ischemických okrsků a nekrotizovaný vzhled. U akutního průběhu onemocnění bývají často postiženy jen okraje žaberních lístků. Probíhá-li onemocnění chronicky, nekrotické okrsky žaber odpadávají (postižené žábry mají zubaté okraje) a dochází k regeneraci žaber, při níž někdy dochází ke slepování sekundárních lamel (21) a ke snižování plochy respiračního epitelu. Při histologickém vyšetření nacházíme hyfy plísně a tromby v žaberních cévách (21,22). V extravaskulárním prostoru nacházíme hyfy, mononukleární infiltrát a erythrocyty (21).

Diagnóza. Předběžnou diagnózu stanovujeme na základě klinických příznaků a patologicko-anatomického nálezu. Pro potvrzení diagnózy provádíme mikroskopické vyšetření žaber (obr. 3.4.2.1). Zhotovujeme nativní kompresní preparáty, které vyšetřujeme minimálně pod 150násobným zvětšením (22). V žaberních cévách i mimo ně nacházíme hyfy plísně obsahující kulovité spory. V chronické fázi onemocnění chybí mramorování žaber, žaberní lístky jsou nestejně dlouhé a jejich konce jsou zdeformované. Při mikroskopickém vyšetření už většinou nenajdeme hyfy ani spory (17). V případě, že je mikroskopický nález nejednoznačný, provádíme histologické vyšetření. Histologické řezy ze žaber barvíme hematoxylin/eosinem (obr. 3.4.2.2), případně používáme ke zviditelnění původce speciální barvení na plísně (PAS anebo barvení podle Grocotta)(18). Kultivace původce nemá z praktického hlediska význam. Druhá identifikace se provádí pouze na základě morfologie, molekulární ani imunologické metody identifikace zatím nejsou k dispozici. Diferenciálně diagnosticky přicházejí v úvahu všechna onemocnění projevující se dušením a nekrotickými změnami na žábrách, především toxická nekróza žaber, koi herpesvíroza, edémová nemoc kaprů nebo sanguinikolóza (17).

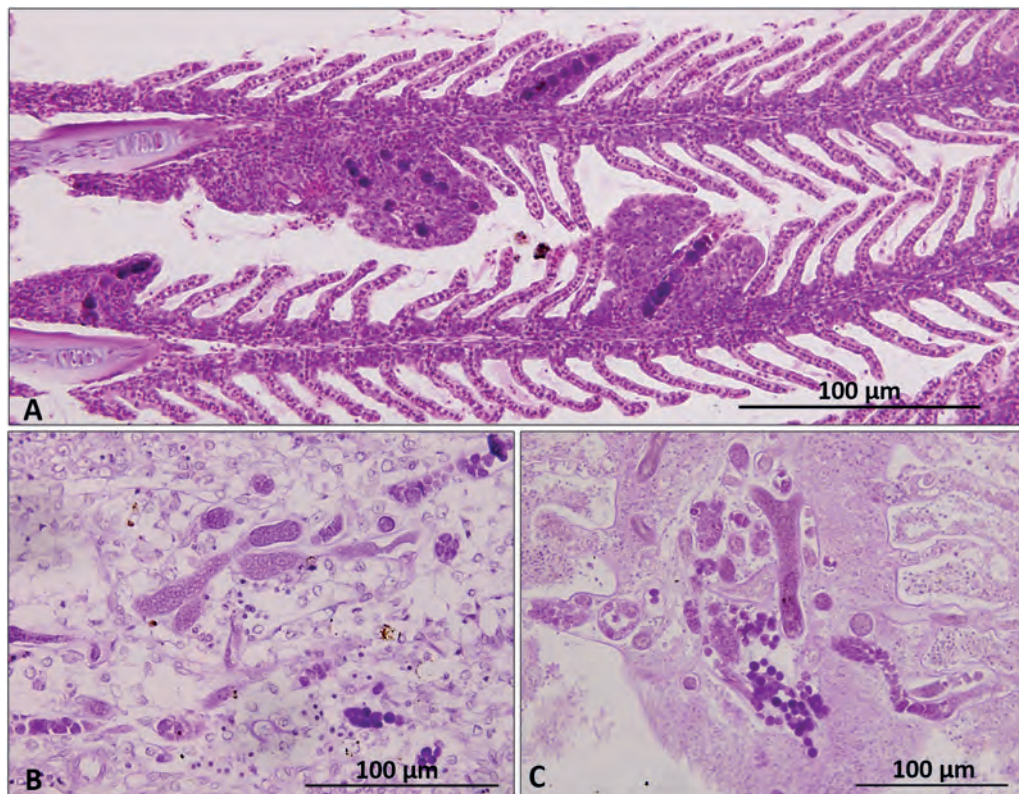


Obr. 3.4.2.1. Žaberní cévy vyplněné sporami (A) nebo vláknitým myceliem se sporami (B) *Branchiomyces* spp, nativní preparát. (Foto: A. Prouza)

Terapie. Terapie je obtížná, neboť plíseň roste převážně v lumen žaberních cév, kde je do značné míry chráněna před účinky léčebných koupelí. Proto je léčba obvykle jen symptomatická. Doporučuje se zastavit krmení ryb a hnojení rybníka, zvýšit přítok vody do nádrže (za účelem okysličení a snížení teploty) a v menších nádržích nainstalovat aerátory. Na hladinu se aplikuje chlorové vápno v dávce 10–15 kg.ha⁻¹ (17). Bylo popsáno rychlé spontánní vymizení původce po přesazení nemocných ryb do průtočných nádrží s pramenitou vodou a s nepřetržitým vzduchováním (21). Jakmile se ryby zotaví a začnou přijímat potravu, je vhodné podat medikované krmivo k prevenci sekundárních bakteriálních infekcí žaber.

Prevence. Důležité je dbát na kvalitu vody, především v lokalitách, kde v létě teploty vody stoupají nad 20 °C. V kritickém letním období se doporučuje zvýšit přítok vody, zastavit přísun

organických látek do nádrže a pravidelně odstraňovat uhynulé ryby. Vhodným preventivním opatřením je letnění rybníků a dezinfekce dna vypuštěných rybníků páleným vápnem v dávce $2,5 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (17).



Obr. 3.4.2.2. Branchiomykóza. Histologický řez žábami. Přítomnost kulovitých spor (A), hyfy plísně v žaberních cévách (B, C)(H&E). (Foto: I. Dyková)

3.4.3. EPIZOOTICKÝ VŘEDOVÝ SYNDROM

Úvod. Epizootický vředový syndrom je onemocnění způsobené oomycetem *Aphanomyces invadans*. Onemocnění bylo poprvé popsáno v roce 1971 v Japonsku u aju východního (*Plecoglossus altivelis*). Od té doby bylo diagnostikováno ve více než dvaceti zemích na čtyřech kontinentech – v Austrálii, Asii, Severní Americe a v Africe. Endemicky se vyskytuje v jižní a jihovýchodní Asii, kde způsobuje značné ekonomické ztráty (23). Vzhledem k tomu, že původce je schopen infikovat široké spektrum ryb a kromě Evropy a Jižní Ameriky se vyskytuje po celém světě, představuje potenciální nebezpečí i pro evropské chovy (24).

Onemocnění je ve starší literatuře popisováno pod různými názvy, např. epizootic ulcer syndrome – **EUS**, red spot disease – **RSD**, mycotic granulomatosis – **MG**, ulcerative mycosis – **UM**. Později bylo zjištěno, že se jedná o jednu a tutéž chorobu. Synonymem pro *A. invadans* je *A. piscicida* (25).

Původce. Zatím byl popsán pouze jediný genotyp *A. invadans* (26). Morfologie *A. invadans* je podobná jako u ostatních oomycetů čeledi Saprolegniaceae. Vytváří bohatě rozvětvené mycelium, v hyfách nejsou přítomna septa, s výjimkou bazálního septa oddělujícího sporangium (1). *Aphanomyces invadans* vytváří tři typy zoospor – primární, které se tvoří uvnitř sporangia a hromadí se na jeho konci, kde encystují. Cysty jsou kulovité a mají průměr 6,5 µm. Encystované primární zoospory se transformují v sekundární zoospory, které jsou považovány za hlavní infekční stádium (26). Sekundární zoospory mají ledvinovitý tvar a dva bičíky o nestejně délce, pomocí kterých aktivně plavou a vyhledávají hostitele. Pokud zoospora nenajde vhodného hostitele, encystuje. U druhu *A. invadans* se z encystovaných sekundárních zoospor někdy může vyvinout další generace (terciární zoospory). Onemocnění v endemických oblastech vzplane každoročně přibližně ve stejnou roční dobu. Zatím není známo, jak dlouho jsou encystované spory schopny přežít ve vnějším prostředí a jakým způsobem se zde původce udržuje. Optimální teplota pro růst původce je 20–30 °C (27).

Vnímavé druhy. Onemocnění bylo popsáno u více než 100 druhů ryb ve sladkých a brakických vodách. Některé druhy ryb, například kapr obecný nebo tlamoun nilský jsou považovány za přirozeně rezistentní. Onemocnění postihuje obvykle juvenilní ryby nebo mladé dospělé ryby. Dosud nebylo popsáno u plůdku (27).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Původce se dostane do chovu s přítokovou vodou anebo s nově vysazenými nemocnými rybami. Onemocnění se přenáší horizontálně, kontaktem ryb anebo kontaktem s kontaminovanou vodou. Většina nakažených ryb uhynie. Přestože některé ryby onemocnění překonají a zotaví se, zatím nebyla popsána existence latentně infikovaných přenašečů (20,24).

Podmiňující faktory. Vzplanutí choroby podporuje teplota vody pohybující se dlouhodobě mezi 18–22 °C. Dalším podmiňujícím faktorem je narušená integrita kůže, oslabení ryb environmentálními faktory (např. nízké pH vody), (23) a napadení dalšími patogeny, případně parazity (23,27).

Průběh a vývoj onemocnění. Spory *A. invadans* se zachytí na kůži, encystují a vyklíčí (28). Rostoucí mycelium prorůstá přes kůži do svalové tkáně. Pokud ryby neuhynou ve fázi, kdy původce proroste do svaloviny a vytvoří se vředy, mohou být napadeny i vnitřní orgány. Ryby hynou v důsledku septikémie a selhání osmoregulace (23). Morbidita a mortalita závisí na druhu ryb, na podmínkách prostředí (především na teplotě vody, která ovlivňuje množství vytvořených a uvolněných zoospor)(1) a na přítomnosti dalších patogenů a parazitů (23).

Klinické příznaky. Napadené ryby přestávají přijímat potravu, drží se pod hladinou a vystrkují hlavu z vody. Kůže je tmavší než u zdravých ryb, na kůži nacházíme červené skvrnky, které se později mění ve vředy.

Patologické změny. Zpočátku se tvoří na kůži červené skvrny o průměru několika milimetrů. Později vznikají hluboké, rozsáhlé vředy, které jsou někdy vyplněné nekrotickou tkání, a v jejichž centru bývají vidět nárosty plísňe. V tomto stádiu většina ryb uhynie. U některých druhů ryb však může dojít až k plošné erozi celé zadní části těla, případně k erozi měkkých tkání i kostního podkladu hlavy. Mikroskopicky nacházíme v kosterní svalovině rozvětvené hyfy plísňe bez sept. (23). Původce vyvolává silnou zánětlivou odpověď. Kolem rostoucích hyf se vytvářejí granulomy a nekrotická ložiska.

Diagnóza. Předběžnou diagnózu stanovíme na základě anamnézy (historie výskytu choroby v dané oblasti), klinických příznaků a patologických změn. Dále provádíme mikroskopické vyšetření. Seškraby z povrchu těla a z vředů nejsou pro diagnostiku vhodné – obvykle odhalíme pouze sekundární bakteriální nebo plísňovou infekci, případně přítomnost

parazitů. Diagnostiku provádíme z kompresních preparátů svaloviny. Z okraje vředu odstraníme nekrotickou tkáň, vypreparujeme kousek svaloviny a zhotovíme kompresní preparát. Pod mikroskopem hledáme hyfy plísně o tloušťce 15–25 μm . Diagnózu definitivně potvrdíme histologickým vyšetřením a izolací, kultivací a identifikací původce. Pro diagnostiku odebíráme ryby s mírnými příznaky onemocnění. Ryby s výraznými patologickými změnami a ryby uhynulé nejsou pro diagnostiku vhodné. Pro histologické vyšetření odebíráme svalovou tkáň z okraje vředu. Řezy barvíme hematoxylinem/eosinem, hyfy plísně zvýrazníme specifickým barvením, např. podle Grocotta (18). Kultivace se provádí ze svaloviny na okraji vředu. Důležité je odebrat svalovinu sterilně, protože vředy bývají kolonizovány oportunními vodními plísněmi včetně jiných druhů rodu *Aphanomyces* (29). Odstraníme nekrotickou tkáň a sterilně odebereme asi 2 mm^3 svaloviny. Vzorek přeneseme na glukózo-peptonový agar s přísadkou penicilinu (100 U.ml^{-1}) a streptomycinu ($100 \mu\text{g.ml}^{-1}$). Kultivujeme při laboratorní teplotě. Vždy, když začne být viditelný růst plísně, přesazujeme na nové misky, abychom eliminovali kontaminující mikroorganismy. Původce nelze spolehlivě identifikovat na základě morfologie (29). Pokud *in vitro* uměle vyvoláme tvorbu zoospor, lze určit pouze příslušnost k rodu *Aphanomyces*. Druhovou identifikaci provádíme pomocí PCR a sekvenace produktu. Pro izolaci DNA používáme 4 dny starou kulturu, odebíráme nárosty mycelia, které mají v průměru cca 0,5–1 cm. Zatím byl popsán pouze jediný genotyp *A. invadans*, což usnadňuje molekulární identifikaci (26).

Terapie. Účinná léčba zatím neexistuje (27). Ztráty se dají snížit aplikací páleného vápna na hladinu rybníka v dávce 200 kg.ha^{-1} . Vápno se aplikuje třikrát během 14 dnů (30).

Prevence. Nejdůležitějším preventivním opatřením je kontrola kvality vody a zabránění přenosu původce do dosud nenapadených chovů. Účinná je dezinfekce vypuštěných nádrží slunečním zářením a páleným vápnem. V napuštěných nádržích je možné preventivně aplikovat na hladinu pálené vápno v dávce 200 kg.ha^{-1} (30). Vápno se aplikuje jednou měsíčně, tři měsíce po sobě. V endemických oblastech je vhodné upustit od chovu vnímavých druhů a vysazovat přirozeně odolné druhy ryb (27).

LITERATURA

1. Sarowar, M., 2014. Infection Strategies of Pathogenic Oomycetes in Fish. In: Gareth Jones, E.B., Hyde, K.D., Pang, K.-L. (Eds). *Freshwater Fungi and Fungal-like Organisms*. De Gruyter, pp. 217–243.
2. Mélida, H., Sandoval-Sierra, J.V., Diéguez-Urbeondo, J., Bulone, V., 2013. Analyses of extracellular carbohydrates in oomycetes unveil the existence of three different cell wall types. *Eukaryot Cell* 12: 194–203.
3. Makkonen, J., Vesterbacka, A., Martin, F., Jussila, J., Diéguez-Urbeondo, J., Kortet, R., Kokko, H., 2016. Mitochondrial genomes and comparative genomics of *Aphanomyces astaci* and *Aphanomyces invadans*. *Scientific Reports* 6, 36089.
4. Singhal, R.N., Jeet, S, Davies, R.W., 1987. Experimental transmission of *Saprolegnia* and *Achlya* to fish. *Aquaculture Volume* 64: 1–7.
5. Noga, E.J., 1993. Water mold infections of freshwater fish: recent advances. *Annual Rev. o/Fish Diseases*, pp. 291–304.
6. Bruno, D.W., Wood, B.P., 1999. *Saprolegnia* and Other Oomycetes. In: Bruno, D.W., Wood, B.P. (Eds). *Fish Diseases and Disorders Volume 3, Viral, Bacterial and Fungal Infections*. CABI, pp. 599–659.
7. Van den Berg, A.H., McLaggan, D., Di Equez-Urbeondo, J., Van West, P., 2013. The impact of the water moulds *Saprolegnia diclina* and *Saprolegnia parasitica* on natural ecosystems and the aquaculture industry. *Fungal Biology Reviews* 27: 33–42.
8. Phillips, A.J., Anderson, V.L., Robertson, E.J., Secombes, C.J., van West, P., 2007. New insights into animal pathogenic oomycetes. *Trends in Microbiology* 16: 13–19.
9. Gozlan, R.E., Marshall, W.L., Lilje, O., Jessop, C.N., Gleason, F.H., Andreou, D., 2014. Current ecological understanding of fungal-like pathogens of fish: what lies beneath? *Frontiers in Microbiology* 5: 1–16.
10. Langvad, F., 1994. *Saprolegnia* in Norwegian fish farming. In: Mueller, G.J. (Ed.). *Salmon Saprolegniasis*. Bonneville Power Administration, Div. Fish and Wildlife, Portland, OR, pp. 188–201.
11. van West, P., 2006. *Saprolegnia parasitica*, an oomycete pathogen with a fishy appetite: new challenges for an old problem. *Mycologist* 20: 99–104.
12. Bernardo, F., 2016. Practical Notions on Fish Health and Production – Microbial and Parasitic Diseases of Fish. pp. 85–86.
13. Ramaiah, H., 2006. A review on fungal diseases of algae, marine fishes, shrimps and corals. *Indian Journal of Marine Sciences* 35: 380–387.
14. Eissa, A.E., Abdelsalam, M., Tharwat, N., Zaki, M., 2013. Detection of *Saprolegnia parasitica* in eggs of angelfish *Pterophyllum scalare* (Cuvier-Valenciennes) with a history of decreased hatchability. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 1: 7–14.
15. Songe, M.M., Willems, A., Sarowar, M.N., Rajan, K., Evensen, Ø., Drynan, K., Skaar, I., van West, P., 2016. A thicker chorion gives ova of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) the upper hand against *Saprolegnia* infections. *Journal of Fish Diseases* 39: 879–888.
16. Ali, S.E., Evensen, R., Skaar, I., 2015. Recent advances in the mitigation of *Saprolegnia* infections in freshwater fish and their eggs. In: Méndez-Vilas, A. (Ed.). *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*

17. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. VFU Brno, 155 s.
18. Wuensch, A., Trusch, F., Iberahim, N.A., West, P., 2018. *Galleria melonella* as an experimental *in vivo* host model for the fish-pathogenic oomycete *Saprolegnia parasitica*. *Fungal biology* 122: 182–189.
19. Liu, S., Song, P., Ou, R., Fang, W., Lin, M., Ruan, J., Yang, X., Hu, K., 2017. Sequence analysis and typing of *Saprolegnia* strains isolated from freshwater fish from Southern Chinese regions. *Aquaculture and Fisheries* 2: 1–7.
20. Noga, E.J., 2010. Branchiomycosis. In: Noga, E.J. (Ed.). *Fish Disease Diagnosis and Treatment*. Wiley & Sons, Inc, pp. 164–165.
21. Khoo, L., Leard, A.T., Waterstrat, P.R., Jack, S.W., Camp, K.L., 1998. *Branchiomyces* infection in farm-reared catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *Journal of Fish Diseases* 21: 423–431.
22. Pereira, W.L.A., de Souza, A.J.S., Gabriel, M., Cardoso, A.M.C., Monger, S.G.B., Seligmann I.C.A., Pereira A.C.A., Querioz D.K.S., 2012. Branchiomycosis in tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier), from the eastern Brazilian Amazon. *Journal of Fish Diseases* 35: 615–617.
23. Devashish, K., 2016. Histopathological, Hematological, Histochemical and Enzymological studies of Epizootic Ulcerative Syndrome. In: Devashish, K. (Ed.). *Epizootic Ulcerative Fish Disease Syndrome*. Academic Press, pp. 177–185.
24. Oidtmann, B., 2012. Review of biological factors relevant to import risk assessments for epizootic ulcerative syndrome (*Aphanomyces invadans*). *Transboundary and Emerging Diseases* 59: 26–39.
25. Vandersea, M.W., Litaker, R.W., Yonish, B., Sosa, E., Landsberg, J.H., Pullinger, C., Butzin, P.M., Green, J., Morris, J.A., Kator, H., Noga, E.J., Tester, P.A., 2006. Molecular Assays for Detecting of *Aphanomyces invadans* in Ulcerative Mycotic Fish Lesions. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 1557–1557.
26. Liley, J.H., Hart, D., Panyawachira, V., Kanchankhan, S., Chinabut, S., Söderhäll, K., Cerenius, L., 2003. Molecular characterization of the fish-pathogenic fungus *Aphanomyces invadans*. *Journal of Fish Diseases* 26:263–75.
27. OIE manual: Infection with *Aphanomyces invadans* (epizootic ulcerative syndrome). 2017 OIE – Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals – 13/07/2017, Chapter 2. 3. 2.
28. Lilley, J.H., Roberts, R.J., 1997. Pathogenicity and culture studies comparing the *Aphanomyces* involved in epizootic ulcerative syndrome (EUS) with other similar fungi. *Journal of Fish Diseases* 20:135–144.
29. Oidtmann, B., Steinbauer, P., Geiger, S., Hoffmann, R.W., 2008. Experimental infection and detection of *Aphanomyces invadans* in European catfish, rainbow trout and European eel. *Diseases of Aquatic organisms* 82: 195–207.
30. Devashish, K., 2016. Control (Treatment) of Epizootic Ulcerative Syndrome. In: Devashish, K. (Ed.). *Epizootic Ulcerative Fish Disease Syndrome*. Academic Press, pp. 233–245.

3.5. AMÉBOIDNÍ ORGANISMY

Iva Dyková

O změnách, které mohou vyvolat améby ve tkáních ryb, se zmínila již v roce 1924 Marianne Plehn, významná postava německé ichtyopatologie, v díle „Praktikum der Fischkrankheiten“ (1). V průběhu dalších desetiletí se hromadily zásadní poznatky o diverzitě volně žijících améb a bylo publikováno několik prací o amébách v roli endokomensálů zaživacího traktu mořských ryb. Toto období vyvrcholilo poznáním amébové etiologie fatálních meningoencefalitid lidí a akceptováním skutečnosti, že některé volně žijící améby jsou schopné za určitých okolností kolonizovat tkáň obratlovců i bezobratlých. Pozornost odborníků celého světa se soustředila na hledání zdrojů infekcí pro člověka. Výskyt volně žijících améb byl testován v plaveckých bazénech, vodních tocích, rybnících, jezerech i termálních lázních. Rybám, představujícím součást vodního prostředí, byla v té době věnována minimální pozornost. K zásadnímu oživení zájmu o volně žijící améby a jejich uplatnění v roli potenciálních patogenů ryb došlo v souvislosti s intenzifikací chovu pstruhů duhových. Z historického hlediska má mimořádný význam publikace, v níž byla za původce změn na žábách pstruhů duhových označena *Thecamoeba hoffmani* (2). Ačkoliv améba nebyla standardně popsána a průvodní dokumentace nedovolila ověřit rodové zařazení původce popsaných změn, publikace vzbudila značný zájem. Následující práce již obsahovala výsledky vyšetření 23 druhů sladkovodních ryb. Taylor (3) diagnostikoval v orgánech 11 druhů ryb tohoto souboru améby rodů *Acanthamoeba*, *Naegleria* a *Vahlkampfia*. Izolovaný kmen rodu *Acanthamoeba* byl schopný vyvolat systemické infekce testovaných ryb. V tomtéž roce Voelker a kol. (4) popsali v orgánech závojnatek čínských (*Carassius auratus auratus* var. *bicaudatus*) granulomatózní zánětlivé změny, jejichž původce zařadili k amébám. Amébové infekce spojené s úhyny ryb v průmyslově oteplených vodách (5) se pak spolu s novými poznatky o ztrátách působených amébami v intenzivních chovech mořských salmonidů (6,7) staly velmi silným impulzem pro studium volně žijících améb a jejich patogenního potenciálu ve vztahu k rybám.

V současné době jsou charakterizována celkem tři onemocnění ryb, jejichž původce řadíme zjednodušeně k amébám. Dvě z nich postihují žáby ryb. Je to amébové onemocnění žaber mořských ryb, pro které je používána zkratka **AGD** (z anglického amoebic gill disease), a nodulární onemocnění žaber sladkovodních lososovitých ryb uváděné pod zkratkou **NGD** (z anglického nodular gill disease). Třetí onemocnění charakterizují granulomatózní změny v orgánech dutiny tělní. Ani jedna z uvedených nosologických jednotek není z dnešního pohledu pojmenována příliš šťastně. Označení první (AGD) vychází z etiologie, ale má příliš široký kauzální záběr, druhé (NGD) vychází z nápadného klinicko-patologického nálezu na žábách, který ale nelze považovat za specifický. Totéž platí i o třetím onemocnění. Viscerální granulomatózní léze jsou u ryb velmi časté a jejich etiologie je i pestrá. Názvy AGD a NGD se během posledních tří desetiletí vžily a není již vhodné je měnit, i když víme, že tzv. nodulární změny na žábách sladkovodních ryb mohou vznikat vlivem působení různých druhů améb, zatímco u AGD s enzootickým průběhem je za jediného původce označována *Neoparamoeba perurans* (8). Ačkoliv se etiologie AGD a NGD liší, onemocnění mají velmi podobný klinický a histopatologický obraz i obdobný vliv na celkový zdravotní stav ryb.

K původcům amébových onemocnění sladkovodních a mořských ryb patří organismy, které se zjednodušeně označují souhrnným názvem améby. Ve skutečnosti jde o eukaryotické mikroorganismy, které sdílejí některé morfologické a biologické charakteristiky, ve většině

znaků se ale zásadně liší. Dokladem diverzity těchto organismů je i skutečnost, že v recentní verzi klasifikačního systému (9), který klade důraz na evoluční vztahy jednotlivých skupin a linií eukaryotických organismů, najdeme améby, resp. améboidní organismy ve většině tzv. superskupin. Nejvíce dat bylo zatím získáno o superskupině Amoebozoa, která zahrnuje Tubulinea, Eudiscosea a Archamoebae, a o superskupině Excavata, do které patří Heterolobosea. Pokud jde o vztah těchto organismů a zdravotních problémů ryb, je třeba zdůraznit, že jde o volně žijící organismy. Mají-li schopnost za určitých okolností kolonizovat žábry, případně vnitřní orgány ryb a působit patologické změny, označujeme je termínem **amfizoické améby** (10). Někteří autoři řadí onemocnění působená amébami mezi tzv. sapronózy, definované jako infekční onemocnění působená volně žijícími organismy, které na rozdíl od parazitů nemají strategii přenosu a patří k tzv. oportunistům (11).

Životní cykly améboidních organismů nejsou uniformní. U některých skupin známe v životním cyklu pouze trofická stádia (trofozoity), která se množí různými typy mitotického dělení. Jiné skupiny améb charakterizuje schopnost trofozoitů tvořit rezistentní cysty (např. druhy rodů *Acanthamoeba*, *Vermamoeba* a *Endolimax*). Tři stádia životního cyklu (trofozoity, cysty a bičíkatá stádia) charakterizují skupinu tzv. améboflagelátů (např. druhy rodů *Naegleria* a *Vahlkampfia*). Jednotlivá stádia životního cyklu nelze chápat jako stádia, která obligátně v pravidelném sledu přecházejí jedno v druhé. Stejně jako množení trofických stádií závisí na vnějších faktorech, které mohou stimulovat dělení nebo jen zajišťují přežívání příslušné populace buněk, i encystace, excystace a tvorba bičíkatých stádií závisí na faktorech vnějšího, případně kultivačního prostředí.

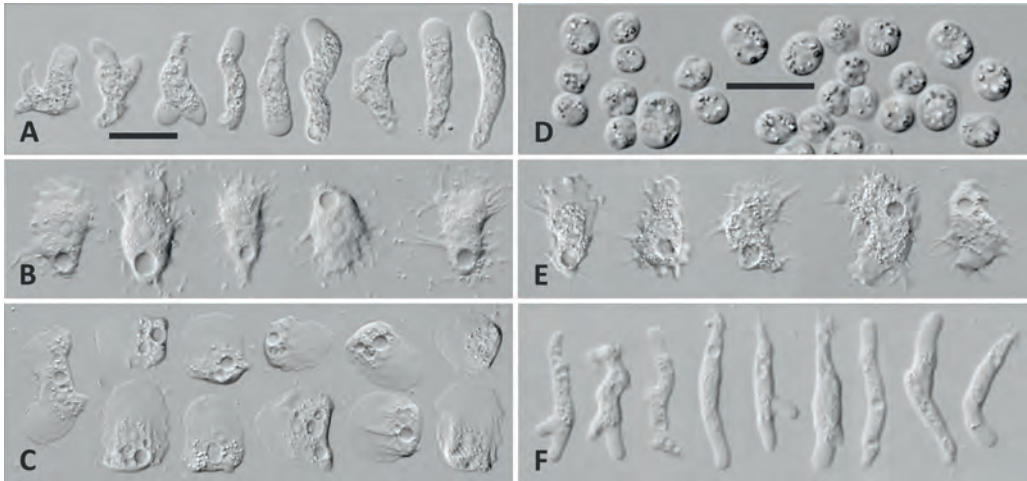
3.5.1. NODULÁRNÍ ONEMOCNĚNÍ ŽABER LOSOSOVITÝCH RYB

Úvod. Amébové etiologii žaberních lézí u sladkovodních lososovitých ryb byla věnována pozornost teprve v souvislosti s intenzifikací chovů a výskytem prvních enzoocí. Multifokální hyperplazii žaberního epitelu spojenou s přítomností améb popsali u pstruha duhového jako první Daoust a Ferguson (12). Za původce označili améby z čeledi Cochliopodidae, ale původce změn nedokumentovali. Později Ferguson (13) zařadil popsané žaberní změny do učebnice patologie ryb jako samostatnou nosologickou jednotku pod označením „nodular gill disease“ (NGD). Je škoda, že se uvedení autoři ani autoři následujících zpráv o žaberních onemocněních lososovitých ryb spojených s výskytem améb (14,15,16) nepokusili o přesnou etiologickou diagnózu a adekvátní dokumentaci původce. Druhy rodu *Cochliopodium* mají na rozdíl od mnoha jiných druhů morfologické znaky, které mohou rodové zařazení usnadnit.

Původci. Dosavadní výsledky podrobného studia améb izolovaných z klinických a subklinických případů NGD (17,18,19) svědčí o tom, že za původce NGD nelze označit jeden druh amfizoické améby. Etiologie tohoto onemocnění není jednotná (obr. 3.5.1.1). Identické histopatologické změny mohou vyvolat různé druhy améb. Na vzniku patologických změn se mohou populace jednotlivých druhů améb podílet i simultánně. V závislosti na fázi vývoje onemocnění se dominující etiologické agens může lišit. Mezi nejčastější izoláty z žaber ryb patří améboflageláti rodu *Naegleria*.

Vnímavé druhy ryb. Améby, které jsou spojovány s enzoociemi NGD byly izolovány z více než 30 druhů asymptomatických sladkovodních ryb (řazených do 13 čeledí) avšak závažný průběh onemocnění spojený s přímými ztrátami byl zaznamenán pouze v intenzivních chovech pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*). Tato skutečnost může být spojována s větší vnímavostí intenzivně a semi-intenzivně chovaných ryb, nesprávně také s hostitelskou specifitou původců

onemocnění. Ve skutečnosti je třeba počítat s tím, že v intenzivních chovech se v důsledku hustoty obsádky a vlivem řady dalších vnějších faktorů mohou optimalizovat podmínky pro množení těch druhů volně žijících améb, které mají schopnost adherovat k žaberní tkáni, intenzivně se v této lokalizaci množit a případně využívat degradovanou žaberní tkáň jako zdroj potravy.



Obr. 3.5.1.1. Trofozoity amfizoických améb izolované z žaber pstruhů duhových reprezentující kmeny rodů *Naegleria* (A), *Protacanthamoeba* (B), *Vannella* (C), *Rhogostoma* (D), *Acanthamoeba* (E), *Vermamoeba* (F). Měřítka = 20 μm , zvětšení je identické u A, B, C, E a F. (Foto: I. Dyková)

Zdroj infekce. Ubikvitní výskyt volně žijících améb v půdě a vodním prostředí byl prokázán a přesvědčivě dokumentován řadou studií, zejména v souvislosti s hledáním zdrojů infekcí pro člověka. Pro ryby v chovných a produkčních zařízeních hraje primární úlohu kvalita vodního zdroje a zejména možnosti, respektive nebezpečí kontaminace těchto zdrojů tzv. půdními amébami. Zobecňování poznatků získaných analýzou možných zdrojů infekce v rámci jednotlivých enzoocí je velmi obtížné. Mělké produkční rybníčky napájené ze zdroje, který může být kontaminován půdou okolního terénu při silných deštích, jsou vždy vystaveny velkému riziku; chovy zásobené vodou z hlubokých vrtů a vybavené sofistikovanými systémy dekontaminace toto riziko minimalizují.

Podmiňující faktory. K faktorům podmiňujícím vznik tohoto onemocnění je třeba počítat ty, které negativně ovlivňují potenciální hostitele améb, přičemž pozitivně ovlivní podmínky vhodné pro množení volně žijících améb schopných amfizoické existence. V řadě případů je to teplota vody. Její zvýšení je obvykle spojeno se snížením obsahu kyslíku, a navíc teplota vody zvýšená nad optimum pro příslušný druh ryby působí jako stresor. Zároveň může urychlit namnožení těch améb, které jsou k obsahu kyslíku méně vnímavé a tolerují změny teploty vody.

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh žaberních onemocnění vyvolaných amébami je obvykle velmi rychlý. Rozvoj změn na zábrách ryb závisí primárně na vnějších podmínkách prostředí, které potencují množení améb adherovaných k žabernímu epitelu. Pokud tyto podmínky trvají, od zaznamenání prvních klinických příznaků se první úhyny mohou objevit během několika dnů.

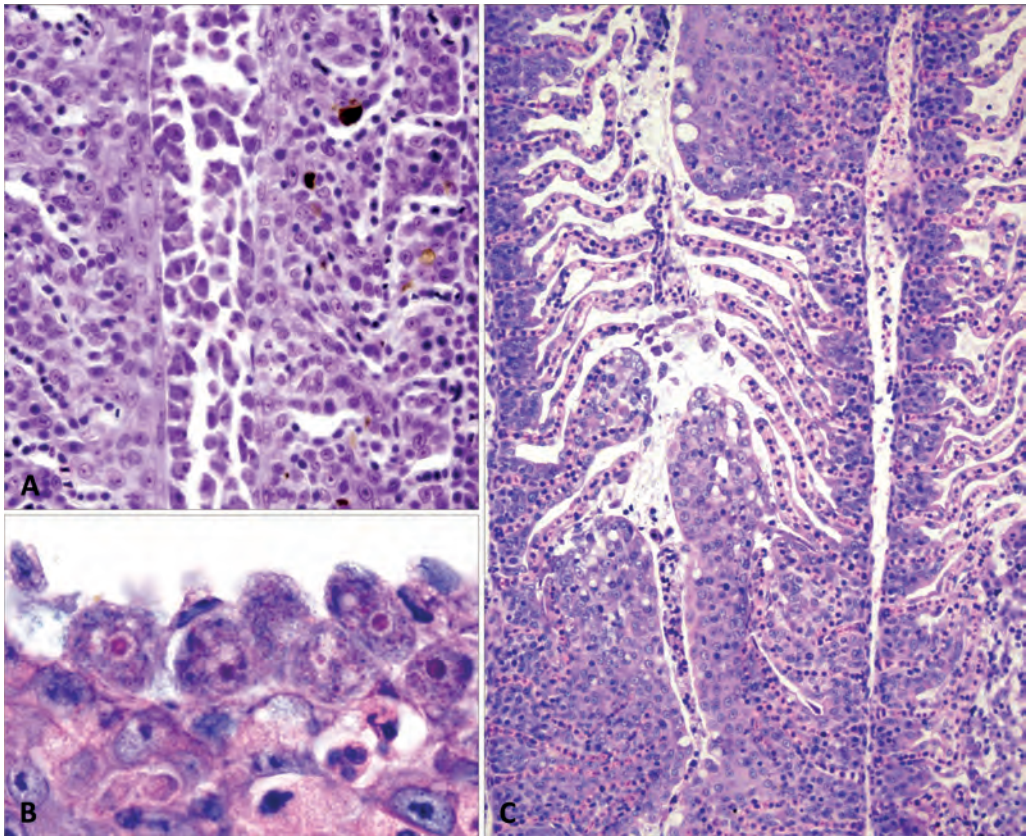
Klinické příznaky. Klinické příznaky onemocnění, zejména v jeho počáteční fázi, nelze označit za specifické. Jsou společné pro zdravotní problémy, které vyvolává akutní nedostatek ve vodě rozpuštěného kyslíku. Nápadné a snadno pozorovatelné mohou být klinické příznaky např. při dávkovaném krmení pstruhů duhových v hustých obsádkách. Nadměrná aktivita ryb spojená s příjmem potravy při nedostatečném zásobení krve kyslíkem krátkodobě vyčerpá ryby a může vyvolat nápadné klinické projevy dušení.



Obr. 3.5.1.2. Makroskopické změny na žábřácích pstruhů duhových charakterizující rozvoj nodulárního onemocnění (NGD). Zduření žaber v počátcích amébových infekcí (A, B); ložiskové změny barvy žaber u moribundních jedinců (C). (Foto: I. Dyková)

Patologické změny. Nespecifické makroskopické změny, které lze pozorovat již v počátcích rozvoje onemocnění (obr. 3.5.1.2), se projevují jako mírné edematózní zduření žaber a zvýšená produkce hlenu. Na vrcholu rozvoje onemocnění jsou za typické změny považovány bílé ložiskové změny žaberní tkáně, které představují ložiska nekrotické tkáně (obr. 3.5.1.2). Mezi histopatologicky detekovatelnými změnami dominují extrémní hyperplazie žaberního epitelu (spojená ve většině fází vývoje změn s hypertrofií epitelálních buněk), adheze a fúze sekundárních lamel spojená s redukcí respirační plochy žaber a porucha mikrocirkulace krve

podmiňující vznik ložiskových nekróz (obr. 3.5.1.3). Hyperplazie epitelu je nápadná zejména na vrcholech žaberních lístků, které transformuje v paličkovité útvary (nodulární formace buněk). Průkaz přítomnosti amébových trofozoitů v histologických řezech závisí na době odběru vzorků žaberní tkáně pro vyšetření, a to ve vztahu k vývoji onemocnění i rychlosti fixace, respektive k odběru materiálu z čerstvě uhynulých nebo moribundních jedinců. V souvislosti s popisem histopatologických změn provázejících NGD upozornil Ferguson (13) na nutnost objasnění možného vztahu NGD a bakteriálního onemocnění žaber (BGD, kap. 2.5.3.), přičemž vycházel z předpokladu, že pro améby může být atraktivní povrch žaber osídlený bakteriemi.



Obr. 3.5.1.3. Histopatologické změny žaber spojené s infekcemi amfizoických améb. Trofozoity améb mezi dvěma žaberními lístky (A), H&E, 280×; detail trofozoitů na povrchu žaberního epitelu (B), H&E, 820×; alterace struktury žaber v důsledku hypertrofie a hyperplazie žaberního epitelu (C), H&E, 150×. (Foto: I. Dyková)

Diagnóza. V případech klinicky rozvinutého onemocnění může být předběžná etiologická diagnóza stanovena na základě nálezů améb při nativním vyšetření šetrně získaných seškrabů hlenu z povrchu žaberní tkáně nebo vyšetřením fixovaných a obarvených otisků změněné žaberní tkáně. Ačkoliv je tato předběžná diagnóza taxonomicky velmi nepřesná, splňuje potřebu rychlé orientace a umožňuje okamžité provedení případného terapeutického zákroku.

Stanovení přesné etiologické diagnózy, tj. determinace původce, je mnohem náročnější a je třeba počítat s velkou pravděpodobností průkazu několika druhů/zástupců různých rodů amfizoických améb. Etiologická diagnóza se provádí izolačními pokusy z žaberní tkáně ryb na agarových plotnách nebo v tekutém mediu (20). Diagnostické metody založené na molekulárních charakteristikách potenciálních původců jsou prakticky využitelné, pokud se předpokládá, že původcem je jedno agens/druh jednoho rodu. Při souběžném nebo střídavém uplatnění několika druhů (z různých superskupin améb) je taková diagnostika mnohem obtížnější a zatím se prakticky neprovádí. Histopatologická diagnóza poskytuje jasný obraz o patogenním působení améb na úrovni orgánu a umožňuje predikci vývoje změn. Podobně jako předběžná etiologická diagnóza založená na vyšetření čerstvého materiálu z žaber ale neumožňuje taxonomické zařazení původce změn.

Terapie. V pokročilé fázi rozvoje onemocnění jsou terapeutické zákroky zaměřené na eliminaci původců množících se na povrchu žaberního epitelu problematické. Racionální jsou pouze terapeutické koupele. Za účinné jsou považovány koupele ve slané vodě, jejich použití ale předpokládá, že tolerance zvolené salinity je předem vyzkoušena u příslušného druhu a váhové kategorie ryb. Vzhledem k souboru faktorů, které se uplatňují při vzniku a rozvoji onemocnění, je experimentální simulace infekcí velmi obtížná a ověřování účinnosti terapeutik je zatím omezeno jen na pokusy s kulturami améb.

Prevence. Prevence zdravotních problémů a ekonomických ztrát, které mohou způsobit améby v chovech ryb, musí vycházet ze znalosti podstaty vztahu ryb a volně žijících améb a významu environmentálních faktorů. V intenzivních chovech se i prevence obvykle řeší koupelemi, vždy s předběžným testováním zvolené koncentrace účinné látky.

3.5.2. VISCERÁLNÍ GRANULOMATÓZNÍ AMÉBÓZY

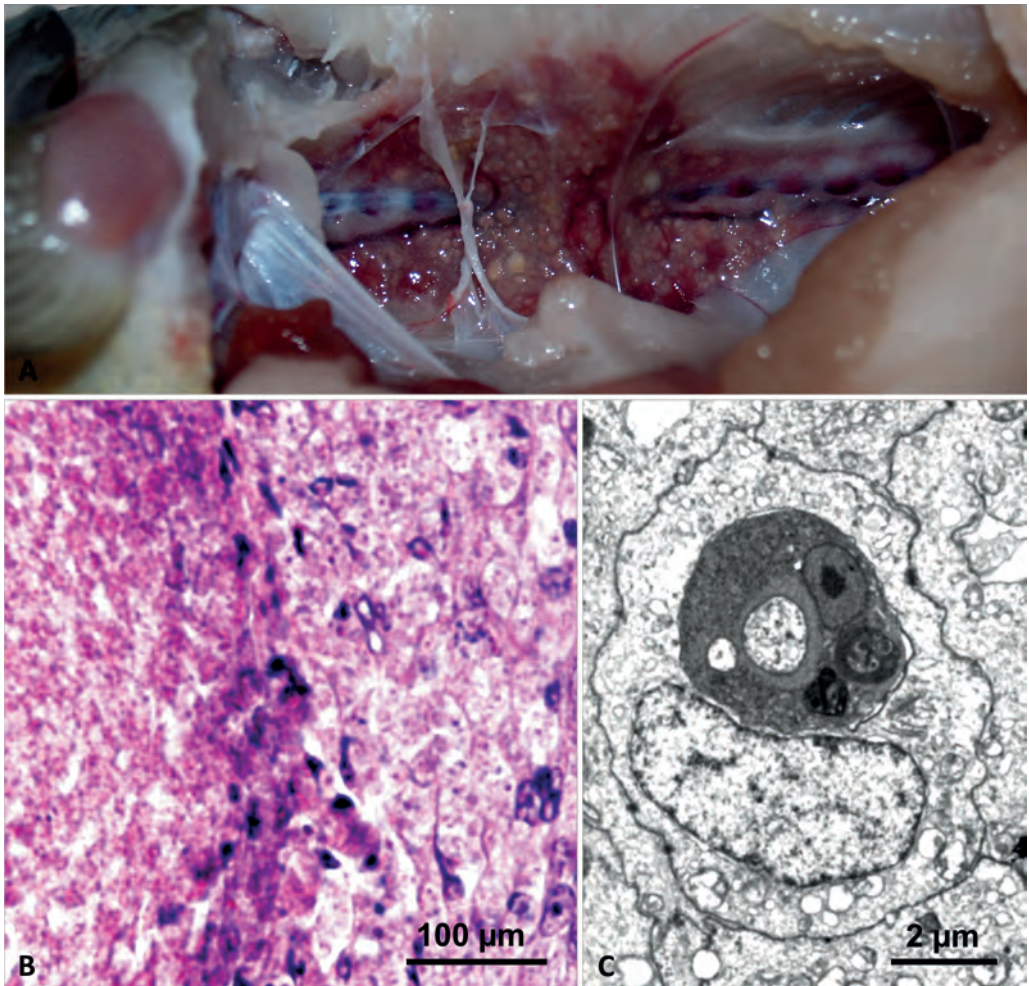
Úvod. Determinace améb v granulomatózních změnách, které byly opakovaně popsány ve vnitřních orgánech závojnatek čínských z laboratorních chovů, má poměrně dlouhou historii. Její součástí je především publikace Voelkera a kol. (4). Uvedený autorský kolektiv zařadil původce na základě studia ultrastruktury do čeledi Hartmannellidae. Tento, z dnešního pohledu nesprávný závěr byl zřejmě ovlivněn tehdejšími klasifikačními systémy zaměřenými především na typy dělení volně žijících améb. Analýza identických nálezů granulomatózních změn v orgánech závojnatek z laboratorních i komerčních chovů (21) posunula determinaci původců ke skupině mikroaerofilních/anaerobních améb, kterým chybí mitochondrie. Ke stejnému závěru dospěli Palíková a kol. (22) při studiu rozsáhlých granulomatózních změn v orgánech línů (*Tinca tinca*) z experimentálního chovného systému s recirkulací (obr. 3.5.2.1). Na výsledky získané studiem granulomatózních změn u sladkovodních ryb navázal výzkum systemického granulomatózního onemocnění u platýzovitě ryby jazyka senegalského *Solea senegalensis* z intenzivního chovu (23). Ultrastruktura původce odpovídala amitochondriálním amébám. Následující studie (24), metodicky rozšířená o fylogenetickou analýzu sekvencí SSU rDNA, umožnila popis nového druhu rodu *Endolimax* (*E. piscium*), který patří do skupiny Archamoebae.

Původce. Poznatky získané studiem původců granulomatózních změn ve vnitřních orgánech sladkovodních a mořských ryb dovolují určité zobecnění, pokud jde o zařazení améboidních organismů. Obrací pozornost k mikroaerofilním/anaerobním amébám, tj. ke skupině Archamoebae ze superskupiny Amoebozoa (recentně k rodu *Endolimax*). Je pravděpodobné, že další nálezy obdobných změn budou již prostudovány s využitím všech

dostupných diagnostických metod včetně molekulárních. Je zřejmé, že teprve fylogenetické analýzy sekvencí 18S rRNA genu mohou podpořit identitu/příbuznost dosud popsaných původců nebo pravděpodobněji objasnit jejich diverzitu.

Vnímavé druhy ryb. Současná úroveň poznání mikroaerofilních améb schopných kolonizovat zažívací trakt ryb a vyvolat patologické změny ve vnitřních orgánech ještě nedovoluje označit některé druhy ryb za vnímavé a jiné za rezistentní.

Zdroj infekce. Mikroaerofilní améby žijí s největší pravděpodobností jako endokomensálové v zažívacím traktu ryb a za určitých, zatím jen obtížně definovatelných podmínek se mohou úspěšně množit a uplatnit jako patogenní agens vyvolávající granulomatózní zánětlivou reakci rybích hostitelů.



Obr. 3.5.2.1. Viscerální granulomatózní infekce vyvolaná amébami rodu *Endolimax* u lína obecného – makroskopický obraz dutiny tělní (A); část periferie granulomu, barvení H&E (B); elektronogram intracelulárně lokalizované améby (C). (Foto: A – M. Palíková, B, C – I. Dyková)

Podmiňující faktory. K podmiňujícím faktorům vzniku onemocnění patří bezpochyby hustota obsádky. Ta zvyšuje pravděpodobnost kontaktu s amébami při úhynu jedinců a případném vylučování améb namnožených ve vnitřních orgánech.

Průběh a vývoj onemocnění. Je pravděpodobné, že pokud je organismus ryby schopen kompenzovat funkci postižených orgánů, onemocnění probíhá více méně skrytě. O časovém průběhu infekce lze jen spekulovat z jednotlivých kazuistik. Chybí data, která by bylo možné v současné době zobecnit.

Klinické příznaky. Nevýrazné klinické příznaky mohou delší dobu unikat pozornosti. Za nápadné příznaky pozorované u infikovaných závojnatek považují Voelker a kol. (4) abdominální distenzi, inapetenci a letargii.

Patologické změny. Ve všech dosud popsaných případech infekcí byly zaznamenány makroskopicky viditelné léze granulomatózního charakteru v orgánech dutiny tělní. Maximální intenzita změn byla zaznamenána v ledvinách u karasa obecného (*Carassius auratus*) a lína obecného (obr. 3.5.2.1). U jazyka senegalského vznikly v průběhu rozvoje infekce patologické změny i na kůži a ve svalovině.

Diagnóza. Granulomatózní zánětlivé léze jsou bez ohledu na jejich etiologii velmi častým, makro- i mikroskopicky poměrně uniformním nálezem ve vnitřních orgánech ryb. Příčinou masivního výskytu granulomů jsou obvykle mikroorganismy, nejčastěji prokaryota. Histopatologický průkaz původce granulomatózních změn, který indikuje zařazení dalších determinačních postupů, závisí do značné míry na stádiu vývoje granulomů. Platí to i pro mikroskopické améby rodu *Endolimax*. Předběžná diagnóza vycházející z histopatologického vyšetření vyžaduje potvrzení založené na studiu ultrastruktury. Pokud je k dispozici adekvátní materiál, je možné zařadit molekulární diagnostické postupy.

Terapie. Specifická terapie není zatím známa.

Prevence. Jednoznačný průkaz infekce vyvolané druhem rodu *Endolimax*, případně jinými amébami příbuzných mikroaerofilních rodů, by měl být signálem k radikálním opatřením v chovu (likvidace rodičovských párů v chovech závojnatek, vyšetření klinicky nemocných i asymptomatických jedinců, dekontaminace nádrží, výměna a úprava vody atd).

LITERATURA

1. Plehn, M., 1924. *Praktikum der Fischkrankheiten*. E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, Germany, pp. 423–424.
2. Sawyer, T.K., Hnath, J.G., Conrad, J.F., 1974. *Thecamoeba hoffmani* sp. n. (Amoebida: Thecamoebidae) from gills of fingerling salmonid fish. *Journal of Parasitology* 60: 677–682.
3. Taylor, P.W., 1977. Isolation and experimental infection of free-living amebae in freshwater fishes. *Journal of Parasitology* 63: 232–237.
4. Voelker, F.A., Anver, M.R., Mc Kee, A.E., Casey, H.W., Brenniman, G.R., 1977. Amebiasis in goldfish. *Veterinary Pathology* 14: 247–255.
5. Nash, G., Nash, M., Schlotfeld, H.J., 1988. Systemic amoebiasis in cultured European catfish, *Silurus glanis* L. *Journal of Fish Diseases* 11: 57–71.
6. Kent, M.L., Sawyer, T.K., Hedrick, R.P., 1998. *Paramoeba pemaquidensis* (Sarcomastigophora: Paramoebidae) infestation of the gills of coho salmon *Oncorhynchus kisutch* reared in sea water. *Diseases of Aquatic Organisms* 5: 163–169.
7. Roubal, F.R., Lester R.J.G., Foster, C.K., 1989. Studies on cultured and gill-attached *Paramoeba* sp. (Gymnamoebae: Paramoebidae) and the cytopathology of paramoebic gill disease in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. from Tasmania. *Journal of Fish Diseases* 12: 481–493.
8. Young, N.D., Crosbie, P.B.B., Adams, M.B., Nowak, B.F., Morrison, R.N., 2007. *Neoparamoeba perurans* n. sp., an agent of amoebic gill disease of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *International Journal for Parasitology* 37: 1469–1481.
9. Adl, S.M., Simpson, A.G.B., Lane, C.E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S.S., Brown, M.W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., le Gall, L., Lynn, D.H., McManus, H., Mitchell, E.A.D., Mozley-Stanridge, S.E., Parfrey, L.W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C.L., Smirnov, A., Spiegel, F.W., 2012. The Revised Classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 59: 429–514.
10. Page, F.C., 1974. *Rosculus ithacus* Hawes, 1963 (Amoebida, Flabellulidae) and the amphizoic tendency in amoebae. *Acta Protozoologica* 13: 143–153.
11. Kuris, A.M., Lafferty, K.D., Sokolow, S.H., 2014. Saprozonosis: a distinctive type of infectious agent. *Trends in Parasitology* 30: 386–393.
12. Daoust, P.Y., Ferguson, H.W., 1985. Nodular gill disease: a unique form of proliferative gill disease in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases* 8: 511–522.
13. Ferguson, H.W., 2006. *Systemic Pathology of Fish: A Text and Atlas of Normal Tissues in teleosts and their Responses in Disease*. 2nd edn, Scotian Press, London, UK, 368 p.
14. Buchmann, K., Nielsen, T., Sigh, J., Bresciani, J., 2004. Amoebic gill infections of rainbow trout in freshwater ponds. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* 24: 87–91.
15. Antychowicz, J., 2007. Study on rainbow trout nodular gill disease detected in Poland. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 51: 547–551.
16. Tubbs, L., Wybourne, B.A., Lumsden, J.S., 2010. Nodular gill disease causing proliferative bronchitis and mortality in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *New Zealand Veterinary Journal* 58: 59–61.

17. Dyková, I., Lom, J., 2004. Advances in the knowledge of amphizoic amoebae infecting fish. *Folia Parasitologica* 51: 81–97.
18. Dyková, I., Kostka, M., Wortberg, F., Nardy, E., Pecková, H., 2010. New data on aetiology of nodular gill disease in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Folia Parasitologica* 57: 157–163.
19. Dyková, I., Tymi, T., 2015. Testate amoeba *Rhogostoma minus* Belar, 1921, associated with nodular gill disease of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 39: 539–546.
20. Dyková, I., Kostka, M., 2013. Illustrated Guide to Culture Collection of Free Living Amoebae. Academia, Praha, 363 p.
21. Dyková, I., Lom, J., Macháčková, B., Sawyer, T., 1996. Amoebic infections in goldfishes and granulomatous lesions. *Folia Parasitologica* 43: 81–90.
22. Palíková, M., Navrátil, S., Dyková, I., Pavlík, I., Slaný, M., Tichý, F., Novotný, L., Zendulková, D., Kříž, P., Laichmanová, M., Mareš, J., 2012. Archamoeba infection manifested by granulomatous inflammatory lesions in European tench, *Tinca tinca* (L.). *Bulletin of European Association of Fish Pathologists* 32: 174–180.
23. Constenla, M., Padrós, F., 2010. Histopathological and ultrastructural studies on a novel pathological condition in *Solea senegalensis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 90: 191–196.
24. Constenla, M., Padrós, F., Palenzuela, O., 2014. *Endolimax piscium* sp. nov. (Amoebozoa), causative agent of systemic granulomatous disease of cultured sole, *Solea senegalensis* Kaup. *Journal of Fish Diseases* 37: 229–240.

3.6. METAMONADA

Ivana Papežiková

Mezi Metamonada patří anaerobní a mikroaerofilní bičíkovci, u nichž v průběhu evoluce došlo k redukci mitochondrií. Redukované mitochondrie nejsou schopny oxidativní fosforylace, ale jsou stále schopny syntetizovat proteiny a lipidy. Někteří zástupci jsou parazité, jiní jsou komensálové anebo patří mezi volně žijící druhy (1). Kmen Metamonada zahrnuje několik řádů; pro akvakulturu jsou významná Diplomonadida, k nimž patří několik druhů, patogenních pro ryby.

3.6.1. SPIRONUKLEÓZY

Úvod. Jako spironukleózy označujeme onemocnění způsobená střevními bičíkovci rodu *Spironucleus*. Zástupci rodu *Spironucleus* se vyskytují celosvětově ve sladké i slané vodě a ve všech klimatických pásmech (2). Spironukleózy jsou nejčastěji popisovány v intenzivních chovech lososovitých ryb, ale byly zjištěny i u kaprovitých a treskovitých ryb a u několika čeledí sladkovodních i mořských tropických ryb (Anabantidae, Belontiidae, Cichlidae, Acanthuridae a Pomacentridae), jejichž někteří zástupci patří mezi ekonomicky významné akvarijní ryby (3). Přestože se v některých regionech jedná o onemocnění velkého ekonomického významu, je o spironukleózách k dispozici málo informací a dodnes není definitivně ujasněna nomenklatura původců. Ve starších studiích, ve kterých byli bičíkovci z řádu Diplomonadida určováni pouze pomocí světelné mikroskopie, jsou diplomonády infikující ryby řazeny do rodů *Hexamita*, *Spironucleus* a *Octomitus*. Novější práce, ve kterých byly použity molekulární metody a ultrastruktura trofozoitů byla detailně studována pomocí transmisní a skenovací elektronové mikroskopie odhalily, že všechny diplomonády parazitující u ryb patří do rodu *Spironucleus*.

Původce. V současné době je známo pět druhů infikujících ryby: *S. salmonicida*, *S. salmonis* (dříve *Hexamita salmonis* nebo *Octomitus salmonis*), *S. barkhanus*, *S. torosa* a *S. vortens* (2). Ve starší literatuře je jako původce spironukleózy akvarijních ryb uváděn druh *Spironucleus elegans*, žijící v rektu různých druhů žab. K těmto zdrojům však neexistuje referenční materiál (2). Poynton a kol. (4) uvádí jako původce spironukleózy akvarijních ryb druh *S. vortens*. Zatím není objasněno, jedná-li se o jeden a tentýž druh. (2).

Pro celý řád Diplomonadida jsou typické dvě sady buněčných organel. Zástupci rodu *Spironucleus* mají oválné nebo hrušičkovité dorsoventrálně zploštělé tělo o velikosti 10–20 × 5–10 μm (2). V přední části těla jsou umístěna dvě jádra. Na přední části těla je šest bičíků, uspořádaných do dvou svazků po třech. Další dva bičíky jsou uzavřeny v cytofaryngeálních kanálech a míří směrem k zadnímu konci těla. Přední bičíky jsou přibližně 1,5× delší než tělo (5). Dva zadní bičíky jsou asi dvakrát delší než tělo.

Spironucleus spp. má přímý vývojový cyklus, rozmnožuje se podélným dělením. Po opuštění těla hostitele vytváří cysty. Primárně kolonizuje střevo (včetně pylorických přívěsků), odkud se může šířit i do žlučových cest, do žlučníku a do dalších orgánů (5). Dnes převládá názor, že diplomonády infikující ryby jsou střevní endokomensálové, kteří se u oslabených ryb stávají pravými parazity (viz podmiňující faktory)(2).

Byly popsány dvě formy onemocnění – střevní spironukleóza (dříve označovaná jako hexamitóza) a systémová spironukleóza. Střevní spironukleóza postihuje převážně oslabený plůdek lososovitých ryb anebo akvarijní ryby (2). Infekce je obvykle omezena na střevo, žlučové

cesty a žlučník. Systémové infekce mohou být způsobeny různými druhy *Spironucleus* spp. Velký ekonomický význam má systémová spironukleóza akvariálních ryb z čeledi Cichlidae, tzv. „děrová nemoc cichlid“ (hole in the head disease), způsobená druhem *S. vortens*.

Vnímavé druhy. Vzhledem k malému počtu studií, ve kterých byla spolehlivě určena druhová příslušnost diplomonád není známá přesná geografická distribuce ani hostitelská specifita jednotlivých druhů (2). Nejčastěji bývají spironukleózy diagnostikovány v intenzivních chovech lososovitých ryb (původci *S. salmonis*, *S. salmonicida*) a v chovech akvariálních ryb čeledi Cichlidae (původce *S. vortens*). Závažné systémové infekce způsobené druhem *S. salmonicida* byly popsány v intenzivních chovech lososa obecného (*Salmo salar*), lososa čavyča (*Oncorhynchus tshawytscha*) a sivena arktického (*Salvelinus alpinus*) (6). „Děrovou nemocí“ jsou nejčastěji postiženy skaláry (*Pterophyllum scalare*), terčovci (*Symphysodon* sp.) a vrubozubci (*Astronotus* sp.) (7). Spironukleózy však byly popsány i u kaprovitých ryb – u amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) (8), kapra obecného (*Cyprinus carpio*) (3) a jelce jesena (*Leuciscus idus*) (9).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Cysty nebo trofozoity se dostanou do chovu s přítokovou vodou anebo s nemocnými či latentně infikovanými rybami. Možný je i přenos rybolovným náčiním (10). Přenos je horizontální, ryby se nakazí perorálně cystami, které jsou vylučovány spolu s výkaly nemocných ryb (5). V trávicím traktu se z cyst uvolní trofozoity, které se množí podélným dělením a kolonizují střevo, odkud potom mohou pronikat do dalších orgánů. Přesný mechanismus a podmínky excystace a encystace druhů infikujících ryby nejsou známy, stejně jako délka přežívání cyst mimo tělo hostitele (2).

Podmiňující faktory. Přestože je *Spironucleus* spp. ve vodách běžný, klinické onemocnění se u volně žijících ryb vyskytuje vzácně. Latentně infikované volně žijící ryby však mohou sloužit jako rezervoár infekce. V intenzivních chovech (u potravinových i akvariálních ryb) choroba vypukne tehdy, jsou-li ryby oslabeny jinými faktory, jako je nevhodné krmivo, nízký obsah kyslíku, špatné hygienické podmínky, prudké výkyvy teplot anebo vysoká hustota obsádky (2). U lososovitých ryb může spironukleóza za přítomnosti vhodných podmiňujících faktorů způsobit ztráty až 75 % (5), zvláště u nejmladších věkových kategorií.

Průběh a vývoj onemocnění. Byly popsány různé průběhy infekcí, od perakutních až po chronické, v závislosti na druhu ryb, druhu původce a na podmiňujících faktorech. Nejčastější je subakutní nebo chronický průběh (8,11). U volně žijících ryb probíhá choroba obvykle subklinicky; původci se vyskytují jen ve střevě, výjimečně ve žlučníku a ve žlučovodech (2). U potravinových a akvariálních ryb vystavených stresu se mohou rozvinout systémové infekce; původce může být kromě střeva přítomen i v játrech, ledvinách, slezině, ve svalovině a v kožních lézích (2,7).

Klinické příznaky. Napadené ryby přestávají přijímat krmivo a zhoršuje se jejich výživný stav (2). Jsou apatické a oddělují se od hejna. Objevují se poruchy plavání, ryby plavou na boku nebo se otáčejí kolem podélné osy (5).

U systémové spironukleózy akvariálních ryb zjišťujeme podobně jako u potravinových ryb poruchy plavání, nechutenství a apatii. Ryby bývají ve špatném výživném stavu. Z řitního otvoru někdy visí bělavé, hlenovité výkaly. Na hlavě a kolem postranní čáry se objevují drobné, ale hluboké léze.

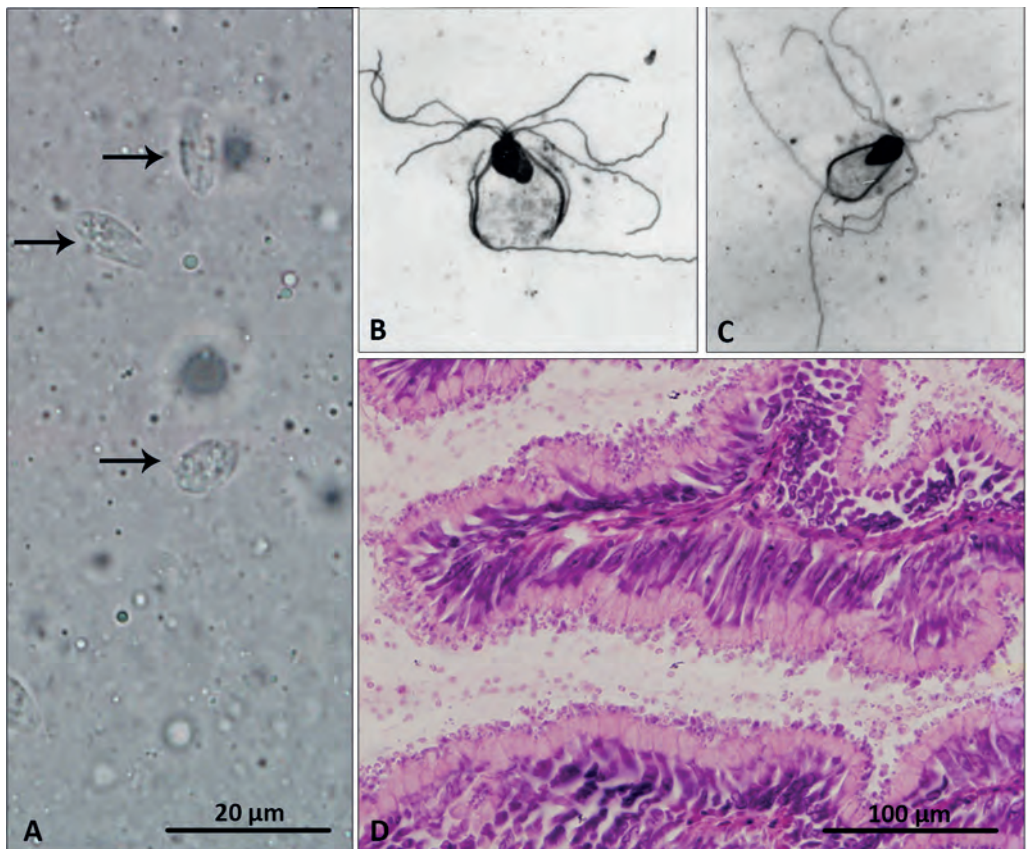
Patologické změny. U masivních infekcí zjišťujeme špatný výživný stav ryb. Ve střevě se nachází nažloutlá tekutina nebo rosolovitá hmota (10,11). Změny na střevní sliznici se různí – od makroskopicky nepoškozené sliznice (12) přes katarální enteritidu (13), hemoragie ve střevní sliznici (14), až po nekrotický zánět. Může dojít až k perforaci střeva. Někdy

nacházíme i exoftalmus a zvětšenou dutinu tělní, v níž může být přítomen serózní exsudát (3). U systémové spironukleózy akvarijních ryb nacházíme navíc drobné, ale hluboké kožní léze – zpočátku na hlavě, později i v okolí postranní čáry. Léze na hlavě bývají zpočátku bilaterálně symetrické. Později se zvětšují, splývají a uvolňuje se z nich nažloutlý hlen. (2).

Histopatologicky nacházíme parazity (ojediněle nebo ve shlucích) ve střešní sliznici i v submukóze (3).

Diagnóza. Onemocnění diagnostikujeme na základě klinických příznaků, patologického nálezu a mikroskopického vyšetření. Pod 200–400násobným zvětšením vyšetřujeme střešní obsah čerstvě usmrcených ryb (obr. 3.6.1.1). Nacházíme velká množství bičíkovců, kteří se čile pohybují. U akvarijních ryb mikroskopicky vyšetřujeme i obsah kožních lézí.

Druhové určení diplomonád je bez použití elektronové mikroskopie anebo molekulárních metod obtížné (15). V praxi však stačí určit příslušnost k řádu Diplomonadida; typické jsou dvě sady buněčných organel (dvě jádra a dvě sady bičíků). Identifikaci usnadňuje zvýraznění bičíků za použití fázového kontrastu nebo Nomarského kontrastu (16). K barvení lze použít například 1% methylenovou modř (17). Dále je možné použít barvení podle May-Grünwolda-Giemsy (18).



Obr. 3.6.1.1. *Spironucleus* sp. ve střešním obsahu skaláry, nativní preparát, zvětšení 400× (A); *S. salmonicida* (B, C); *S. salmonicida* ve střevě, H&E (D). (Foto: A – I. Papežíková, B, C, D – I. Dyková)

Terapie. Základem úspěšné terapie je odstranění faktorů podmiňujících vznik onemocnění. K léčbě se nejčastěji používá metronidazol (není určen pro potravinové ryby), podávaný ve formě medikovaného krmiva. Doporučená dávka pro akvarijní ryby je 10 mg.g⁻¹ krmiva po dobu pěti dní (2,19). Je možné použít i koupel (6,6 mg.l⁻¹ vody po dobu pěti dní)(19), ale aplikace *per os* je účinnější.

Prevence. Vzhledem k častému výskytu *Spiroucleus* spp. v prostředí a vzhledem k existenci subklinických infekcí se prevence choroby zaměřuje na odstraňování podmiňujících faktorů, především na správnou hygienu chovného prostředí, na kvalitní výživu a na prevenci stresu. U akvarijních ryb se kromě odstraňování podmiňujících faktorů snažíme zabránit zavlečení původce do chovu.

LITERATURA

1. Boenigk, J., Wodniok, S., Glücksman, E., 2015. Megasytematics. In: Boenigk, J. (Ed.). Biodiversity and Earth History. Springer-Verlag, pp. 227–365.
2. Williams, C.F, Lloyd, D., Poynton, S.L., Jørgensen, A., Millet, C.O.M., Cable, J., 2011. *Spiroucleus* species: Economically-important fish pathogens and enigmatic single-celled eukaryotes. J Aquac Res Development S2:002.
3. Timur, G., Karataş, S., Akayli, T., Ercan, M.D., Yardimci, R.E., 2009. A histopathological study of Hexamitiasis in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in Turkey. Bulletin of European Association of Fish Pathologists 29: 104–108.
4. Poynton, S.L, Fard, M.R.S., Jenkins, J., Ferguson, H.W., 2004. Ultrastructure of *Spiroucleus salmonis* n. comb. (formerly *Octomitus salmonis* sensu Moore 1922, Davis 1926, and *Hexamita salmonis* sensu Ferguson 1979), with a guide to *Spiroucleus* species. Diseases of Aquatic Organisms 60: 49–64.
5. Lom, J., Dykova, I., 1992. Protozoan parasites of fishes. Developments in Aquaculture and Fisheries Science 26: 65–68.
6. Xu, F., Jerlström-Hultqvist, J., Einarsson, E., Ástvaldsson, Á., Svär, S.G., Andersson, J.O., 2014. The genome of *Spiroucleus salmonicida* highlights a fish pathogen adapted to fluctuating environments. PLoS Genet 10: e1004053.
7. Paull, G.C., Matthews, R.A., 2001. *Spiroucleus vortens*, a possible cause of hole-in-the-head disease in cichlids. Diseases of Aquatic Organisms 45: 197–202.
8. Svobodová, Z., Kolářová, J., Navrátil, S., Veselý, T., Chloupek, P., Tesarčík, J., Čítek, J., 2007. Nemoci sladkovodních a akvarijních ryb. Informatorium Praha, 264 s.
9. Sterud, E., Poynton, S.L., 2002. *Spiroucleus vortens* (Diplomonadida) in the Ide, *Leuciscus idus* (L.) (Cyprinidae): a warm water hexamitid flagellate found in northern Europe. Journal of Eukaryotic Microbiology 49: 137–45.
10. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. VFU Brno, 155 s.
11. Woo, P.T.K., 2006. Cryptobiosis. In: Woo, P.T.K. (Ed.). Fish Diseases and Disorders, Vol. 1: Protozoan and Metazoan Infections. CAB International, pp. 63–94.
12. Uzman, J.R., Paulik, G.J., Hayduk, S.H., 1965. Experimental hexamitiasis in juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and steelhead trout (*Salmo gairdneri*). Transactions of the American Fisheries Society 94: 53–61.

13. Sano, T., 1970. Etiology and histopathology of hexamitiasis and IPN-like disease of rainbow trout. *Journal of the Tokyo University of Fisheries* 56: 23–30.
14. Roberts, R.J., Shepherd, C.J., 1974. Handbook of Trout and Salmon Diseases. In: Roberts, R.J., Shepherd, C.J. (Eds.). Fishing News Books Farnham, UK, 174 pages.
15. Fard, M.R.S., Jørgensen, A., Sterud, E., Bleiss, W., Poynton, S.L., 2007. Ultrastructure and molecular diagnosis of *Spironucleus salmonis* (Diplomonadida) from rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in Germany. *Diseases of Aquatic Organisms* 75: 37–50.
16. Lee, J.J., 1985. Diplomonadida. In: Lee, J.J., Hutner, S.H. and Bovee, E.C. (Eds). *An Illustrated Guide to the Protozoa*. Society of Protozoologists, Lawrence, Kansas, pp. 130–134.
17. Rajurkar, M.N., Lall, N., Basak, S., Mallick, S.K., 2012. A simple method for demonstrating the *Giardia Lamblia* trophozoite. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 6: 1492–1494.
18. Bruno, D.W., Nowak, B., Elliott, D.G., 2006. Guide to the identification of fish protozoan and metazoan parasites in stained tissue sections. *Diseases of Aquatic Organisms* 70: 1–36.
19. Yanong, R.P. ., Curtis, E., Russo, R., Francis-Floyd, R., Klinger, R.E., Berzins, I., Kelley, K., Poynton, S., 2004. *Cryptobia iubilans* infection in juvenile discus. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224: 1644–1650.

3.7. KINETOPLASTEIA

Ivana Papežíková

Mezi Kinetoplastea patří volně žijící, komensální i parazitičtí bičíkovci. Charakteristickým znakem celé skupiny je kinetoplast (modifikovaná mitochondrie produkující energii pro pohyb bičíku), který je u některých druhů téměř stejně dlouhý jako celé tělo (1).

Někteří zástupci patří mezi významné parazity člověka (některé druhy rodu *Trypanosoma* a *Leishmania*). Pro akvakulturu mají význam především zástupci rodů *Ichthyobodo*, *Cryptobia*, *Trypanosoma* a *Trypanoplasma*.

3.7.1. ICHTYOBODÓZA

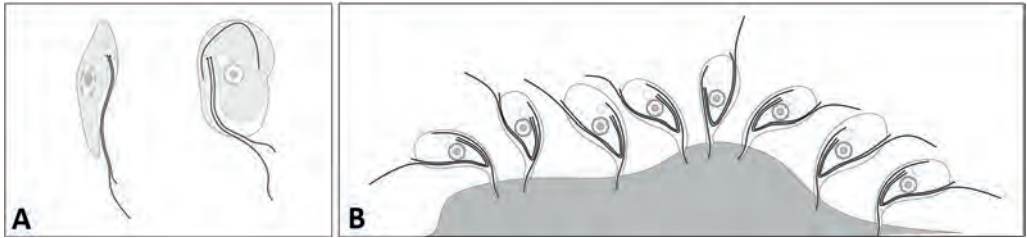
Úvod. Ichthyobodóza je onemocnění kůže a žaber sladkovodních i mořských ryb, způsobené ektoparazitickými bičíkovci rodu *Ichthyobodo*. Patří mezi nejrozšířenější a nejzávažnější onemocnění ryb. Bičíkovci rodu *Ichthyobodo* se vyskytují celosvětově (2). Původně byl do rodu zařazen jediný druh *Ichthyobodo necator*, bičivka rybí (3). Později bylo pomocí molekulárních metod zjištěno, že rod *Ichthyobodo* zahrnuje několik příbuzných druhů (4).

Původce ichthyobodózy byl poprvé popsán v roce 1883 v chovu pstruha potočního (5). Dnes je tento bičíkovec jedním z nejčastějších původců chorob v umělých chovech lososovitých ryb a v rybochovných zařízeních s oteplenou vodou, kde může způsobit značné ztráty. U plůdku se vyskytují hromadné infekce, které nejčastěji vzplanou v prvních týdnech po začátku rozkrmování (4). Starší název parazita je *Costia necatrix* (6).

Původce. Druhy rodu *Ichthyobodo* mají jednoduchý vývojový cyklus. Reprodukují se podélným dělením. Volná stádia jsou plochá, při pohledu shora mají oválný tvar a velikost 5–18 × 3–8 μm (7). Aktivně plavou pomocí dvou bičíků o nestejně délce. Často bývají pozorováni i parazité se čtyřmi bičíky. Ultrastrukturní studie odhalily, že se jedná o dělicí se jedince (podélné dělení začíná rozdělením bičíků) (6). Po přichycení na povrch těla hostitele bičivky znehybní a parazité získávají hruštičkovitý tvar (8,9) (obr. 3.7.1.1). Živí se buněčným obsahem. Živiny přijímají pomocí cytostomu a cytofaryngeálního kanálu pronikajícího do hostitelské buňky. Na povrch těla hostitele se přichycují pomocí přichytného disku tvořeného membránou obklopující cytostom (6). Původce je schopen života ve velkém teplotním rozmezí. Infekce byly popsány v líhních lososovitých ryb, kde se teploty pohybovaly mezi 2–14 °C, ale i v chovech tilapií a živorodek, kde teploty vody dosahovaly až 38 °C (10). Původce se intenzivně množí při teplotě 25 °C (11). Starší prameny uvádějí, že parazit je schopen přežít v sedimentech a je zde i schopen rozmnožování (10,12). Novější informace o schopnosti parazita přežít mimo tělo hostitele však zatím chybějí.

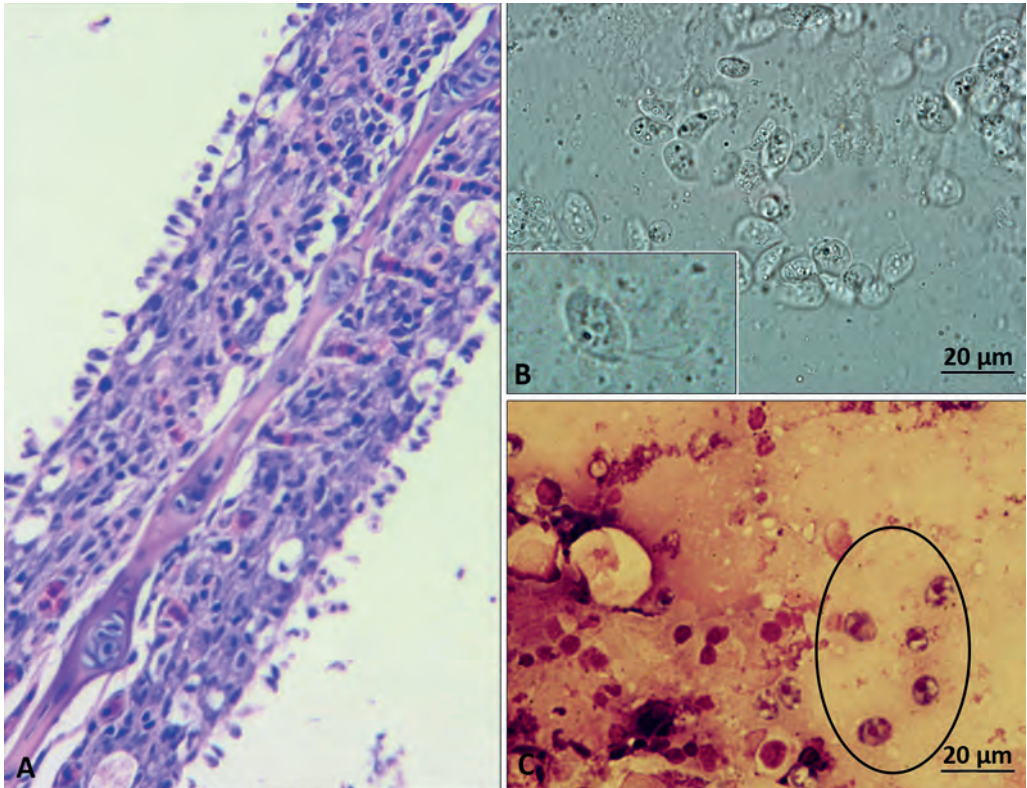
Vnímavost. K ichthyobodóze jsou vnímavé prakticky všechny druhy sladkovodních ryb (6). Původci byli zachyceni i u 25 druhů mořských ryb a u tří druhů anadromních lososů (13). Onemocnění se často vyskytuje i u akvarijních ryb, velmi citlivé jsou mečovky (10).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Původce se dostane do chovu s přítokovou vodou anebo s nově vysazenými napadenými rybami. K infekci kůže a žaber dochází buď přímým kontaktem mezi rybami, anebo je zdravá ryba napadena pohyblivými stádii parazita aktivně plovoucími ve vodě (11). Původce se může dostat do chovu i s přivezenými jikrami, kdy po vykulení může dojít k infekci plůdku (14).



Obr. 3.7.1.1. *Ichthyobodo* spp. (A), *Ichthyobodo* spp. na povrchu těla hostitele (B). (Kresba V. Palík, upraveno podle Loma a Dykové [15])

Podmiňující faktory. K onemocnění jsou zvláště náchylné nejmladší věkové kategorie ryb (plůdek po začátku rozkrmování)(4,16). Dalším podmiňujícím faktorem je zhoršená kondice ryb a vysoká hustota rybí obsádky (3). Původce se intenzivně množí při teplotě 25 °C (11), ale je schopen rozmnožování i při teplotách podstatně nižších (10 °C)(7).



Obr. 3.7.1.2. *Ichthyobodo* sp.: histologický řez žábami, (H&E), zvětšení 200× (A); seškrab ze žaber nativní preparát s detailem původce, zvětšení 1000× (B); otiskový preparát ze žaber, barvení Hemacolor, zvětšení 1000× (C). (Foto: A – H. Schmidt-Posthaus, B – M. Palíková, C – I. Papežíková)

Průběh a vývoj onemocnění. Nejmladší plůdek je náchylný k onemocnění žaber, u staršího plůdku se rozvíjejí spíše infekce kůže (14). U plůdku lososovitých ryb infekce obvykle vrcholí čtyři týdny po začátku rozkrmování, nejvyšší mortalita je pozorována ve 4. až 8. týdnu (16). K úhynu dochází v důsledku narušení osmoregulace, které vede k pronikání vody do těla a k oběhovému selhání (6).

Klinické příznaky. U slabších infekcí kůže pozorujeme neklid a otírání ryb o předměty v nádrži (7). U těžkých infekcí pozorujeme apatii a nechutenství (7,11), objevují se příznaky dušení (11). Na kůži a na ploutvích se objevují skvrnky, které později splývají v šedavé povlaky. Kůže je zahleněná, ploutve bývají roztřepené (7).

Patologické změny. Napadená kůže je pokrytá bělošedými nebo šedomodrými povlaky (3,11). Ploutve jsou roztřepené (7), našedlé a jejich okraje jsou neprůhledné (3,11). Histopatologicky nacházíme hyperplazii Malpighiho buněk (svrchní vrstva epidermálních buněk) a redukci nebo úplné vymizení hlenotvorných buněk (6). V pokročilých fázích onemocnění dochází k narušení kožní bariéry, která vede k edému kůže a následně k degenerativním změnám a odlupování svrchních vrstev pokožky (6, 7).

Napadené žábry mají našedlou barvu (3,11). Histopatologicky nacházíme bičíkovce přichycené na povrchu žaberního epitelu (obr. 3.7.1.2). U těžkých infekcí zjišťujeme hyperplazii sekundárních žaberních lamel (9).

Diagnóza. Předběžnou diagnózu stanovíme na základě klinických příznaků a patologických změn. Definitivně diagnózu potvrdíme mikroskopickým vyšetřením. Parazit se může vyskytovat na kůži celého těla, na žábkách i na oční rohovce. Nejvyšší výskyt parazitů po experimentální infekci byl zaznamenán na hřbetě (především v okolí hřbetní ploutve) a na bříše, dalším nejčastěji napadeným místem jsou ploutve (9). Pod 400násobným zvětšením vyšetřujeme seškraby z kůže a ze žaber (3). Živí parazité jsou dobře viditelní i v nativních preparátech. Můžeme je zvýraznit pomocí barvení, ale parazité jsou křehcí a během fixace a barvení často dojde k jejich destrukci (7). U starších ryb v dobré kondici se někdy vyskytují mírné infekce bez klinických příznaků a mikroskopická diagnostika nemusí být spolehlivá. V těchto případech je vhodné použít PCR (např. k odhalení potenciálních přenašečů při vysazování nových ryb) (17).

Terapie. K terapii ichtyobodózy se používá léčebných koupelí. Lze použít například formaldehyd ve formě krátkodobé koupele (18), 0,4% kyselinu octovou po dobu jedné hodiny (13), manganistan draselný (18), síran měďnatý (7), chlorid sodný (18), perkarbonát sodný (18) nebo kyselinu peroctovou (18). V chovech okrasných ryb lze použít i malachitovou zeleň (7).

Prevence. Nejúčinnějším preventivním opatřením je zajištění kvalitního zdroje vody, její filtrace a UV ošetření (14), a to především při odchovu plůdku. Kromě zajištění optimální kvality vody je nutné udržování dobrého zdravotního stavu ryb, kvalitní výživa, prevence stresu a udržování přiměřené hustoty obsádky. V případě výskytu choroby se před vysazením nových ryb nádrže vypustí a na dno se aplikuje pálené vápno nebo chlorové vápno (7).

3.7.2. KRYPTOBIÓZA

Úvod. Kryptobióza je onemocnění sladkovodních i mořských ryb způsobené bičíkovci rodu *Cryptobia*. Kryptobióza byla popsána u ryb v Evropě, Asii, Severní Americe a v Africe. V rámci rodu *Cryptobia* bylo zatím popsáno 52 druhů; mnoho z nich pod různými názvy. V literatuře se u některých druhů setkáváme s rodovým jménem *Trypanoplasma*, případně s použitím obou názvů, např. *Cryptobia (Trypanoplasma) salmositica*, neboť někteří autoři považují tato rodová jména za synonyma (7). Jiní autoři vyhrazují název *Trypanoplasma* pro druhy parazitující v krvi a název *Cryptobia* pro druhy ostatní (7,20). Mezi nejvýznamnější druhy způsobující onemocnění patří *C. branchialis*, žijící na kůži a žábřácích mnoha druhů sladkovodních ryb (3) a *C. iubilans*, žijící v trávicím traktu a ve vnitřních orgánech některých druhů ryb z čeledi vrubozubcovitých (Cichlidae)(6). Kryptobióza způsobená *C. branchialis* se dnes vyskytuje spíše ojediněle, především v chovech s vysokou organickou zátěží vody. Nejčastěji bývá postižen plůdek. Kryptobióza způsobená *C. iubilans* se vyskytuje v chovech akvarijních ryb. Nejvyšší morbidita a mortalita byla zaznamenána u nejmladších věkových kategorií ryb (21). Vzhledem k výrazným odlišnostem onemocnění působených těmito původci je o každém původci pojednáno zvlášť.

Cryptobia branchialis

Původce. *Cryptobia branchialis* má protáhlý, kapkovitý tvar těla o rozměrech 12–22 × 3,5–4,5 μm (6), okrouhlé nebo oválné jádro, výrazný kinetoplast a dva bičíky – přední (tažný) a zpětný (vlečný), který je ukotven k povrchu buňky a jeho konec je volný a směřuje dozadu (obr. 3.7.2.1). Má jednoduchý vývojový cyklus. Rozmnožuje se podélným dělením, nevytváří cysty. Na povrch těla hostitele se přichycuje pomocí zpětného bičíku (7).



Obr. 3.7.2.1. Schematický náčrt *C. branchialis*. (Kresba V. Palík, převzato podle Loma a Dykové [15])

Vnímavé druhy. Původce napadá široké spektrum sladkovodních ryb. Byl identifikován i u mořských ryb (22), ale potvrzen byl pouze na základě ultrastrukturních studií, ne pomocí molekulárních metod.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. *Cryptobia branchialis* se do chovu dostává s přítokovou vodou a napadenými rybami. Bičíkovci se uvolňují do vody ze žaber napadených ryb. Do žaberní dutiny se dostanou přes ústní dutinu, přichytí se na povrch žaberního epitelu a za příznivých podmínek se rychle množí (7).

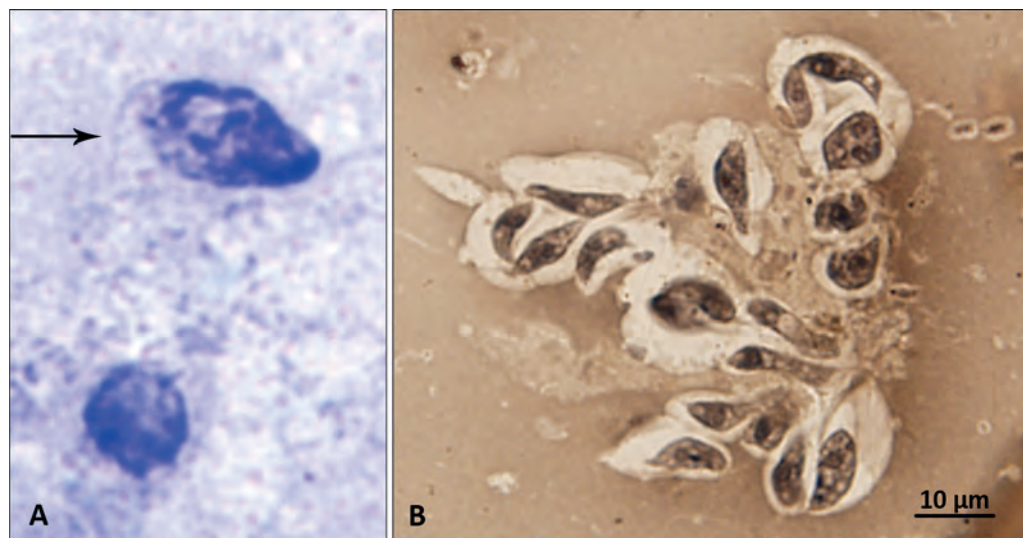
Podmiňující faktory. Mezi nejvýznamnější faktory podmiňující vznik a rozvoj onemocnění patří vysoká organická zátěž vody, zhoršená kondice ryb (11), přítomnost dalších infekcí, vysoká hustota obsádky a nevhodná výživa (21). Důležitým faktorem je také věk – onemocnění má nejhorší průběh u nejmladších věkových kategorií ryb (11,21).

Průběh a vývoj onemocnění. Inkubační doba je závislá na intenzitě napadení, na kondici ryb a na přítomnosti faktorů podmiňujících rozvoj onemocnění (3). Při silném napadení *C. branchialis* pokryjí přichycení bičíkovci povrch žaber a omezují výměnu plynů mezi vodou a žábami. Ultrastrukturní studie napadených žaber odhalily, že *C. branchialis* nepoškozuje buňky hostitele, původce je pouze přichycen na jejich povrchu a živí se organickými částicemi z vody. Jedná se tedy spíše o ektokomensála než o pravého parazita (23).

Klinické příznaky. U napadených ryb pozorujeme příznaky dušení. Ryby přestávají přijímat potravu, hromadí se v místech s vyšší koncentrací kyslíku (u přítoku nebo pod hladinou) a hynou (7,11).

Patologické změny. Patologické změny nejsou příliš nápadné. Při silném napadení jsou žábry překrvené (3), kůže je zahleněná a před úhynem obvykle ztmavne (7).

Diagnóza. Diagnózu kryptobiózy žaber stanovíme na základě mikroskopického vyšetření seškrabu žaber. Preparáty prohlížíme pod 400násobným zvětšením (obr. 3.7.2.2).



Obr. 3.7.2.2. *Cryptobia branchialis*, seškrab ze žaber, barvení Giemsou (A) a protagolem (B). (Foto: A – M. Palíková, B – I. Dyková)

Terapie. K tlumení infekce *C. branchialis* lze použít koupele v chloridu sodném nebo ve formaldehydu (11). U akvarijních a okrasných ryb lze použít i koupel v malachitové zeleni, v kombinaci malachitové zeleně a formaldehydu, anebo v akriřavinu (3).

Prevence. Základem prevence je pravidelná kontrola zdravotního stavu plůdku a zajištění kvalitní výživy a optimální kvality vody (3).

Cryptobia iubilans

Původce. *Cryptobia iubilans* má protáhlé nebo oválné tělo o rozměrech 10–19 × 2–5 μm (6, 21). Přední bičík je 1,5–2× delší než tělo. Zadní bičík je delší než přední. Trojúhelníkovitý kinetoplast a okrouhlé jádro jsou umístěny na předním konci těla (7).

Vnímavé druhy. *Cryptobia iubilans* byla popsána u řady druhů z čeledi vrubozubcovitých (Cichlidae).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. *Cryptobia iubilans* je vylučována výkaly nemocných ryb. Při teplotě 20 °C přežívá bez hostitele minimálně čtyři hodiny. (7). K nákaze dochází *per os*, buď pozřením kontaminované vody, anebo pozřením tkání napadených ryb.

Podmiňující faktory. Mezi nejvýznamnější faktory podmiňující vznik a rozvoj onemocnění patří vysoká organická zátěž vody, zhoršená kondice ryb (11), přítomnost dalších infekcí, vysoká hustota obsádky a nevhodná výživa (21). Důležitým faktorem je také věk – onemocnění má nejhorší průběh u nejmladších věkových kategorií ryb (11,21).

Průběh a vývoj onemocnění. U mírných infekcí se výskyt původce omezuje jen na trávicí trakt, u těžších infekcí bičíkovci pronikají i do jiných tkání – jater, sleziny, žlučníku, ovarii a tukové tkáně (7). Bičíkovci se vyskytují extracelulárně i intracelulárně, intracelulárně především v makrofázích, kde jsou uzavřeni ve vakuolách a jsou zde i schopni rozmnožování (6). Morbidita a mortalita je závislá na věku a kondici ryb, na kvalitě vody a na přítomnosti dalších onemocnění (7). U starších ryb se setkáváme spíše s chronickými infekcemi doprovázenými nízkou mortalitou.

Klinické příznaky. U nemocných ryb pozorujeme tmavší vybarvení těla, nechutenství a pomalé pohyby až letargii (20).

Patologické změny. U ryb napadených *C. iubilans* se vyskytují granulomy v žaludku a ve střevě a u těžkých infekcí i v jiných orgánech a tkáních (např. játra, ledviny, slezina, mezenterální tuk, srdce, žlučník nebo ovaria)(21). U masivně napadených ryb dochází ke ztluštění submukózy a vytvářejí se eroze na sliznici žaludku a střeva.

Diagnóza. Při podezření na gastrointestinální kryptobiózu hledáme při 400násobném zvětšení živé bičíkovce v obsahu žaludku a střeva. Dále prohlížíme pod 100násobným zvětšením kompresní preparáty ze žaludku a ze střeva a pátráme po granulomech. Přítomnost granulomů potvrdíme histopatologickým vyšetřením žaludku – kromě granulomatózní gastritidy můžeme najít i původce uvnitř makrofágů (uzavřené ve vakuolách). U ryb, které překonaly akutní fázi onemocnění, už živé bičíkovce v trávicím traktu nemusíme najít, detekovatelné jsou pouze granulomy. Ryby mívají dlouhodobě zpomalený růst, pravděpodobně v důsledku poškození trávicího traktu (21).

Diferenciálně diagnosticky je potřeba při výskytu granulomů odlišit granulomy jiného původu (mykobakterie, améby aj.). Při nálezů živých bičíkovců v trávicím traktu je třeba odlišit infekci *Spironucleus* spp. s ohledem na zvolenou terapii, neboť *Spironucleus* spp. na rozdíl od *C. iubilans* dobře reaguje na metronidazol. *Spironucleus* spp. má hruštičkovité tělo a osm bičíků (šest předních a dva zadní, viditelné v zástinu nebo pod fázovým kontrastem) a pohybuje se rychle a spíše přímočaře. Nevyvolává tvorbu granulomů. *Cryptobia iubilans* má dva bičíky o nestejně délce a pomalejší, vlnivý pohyb (21).

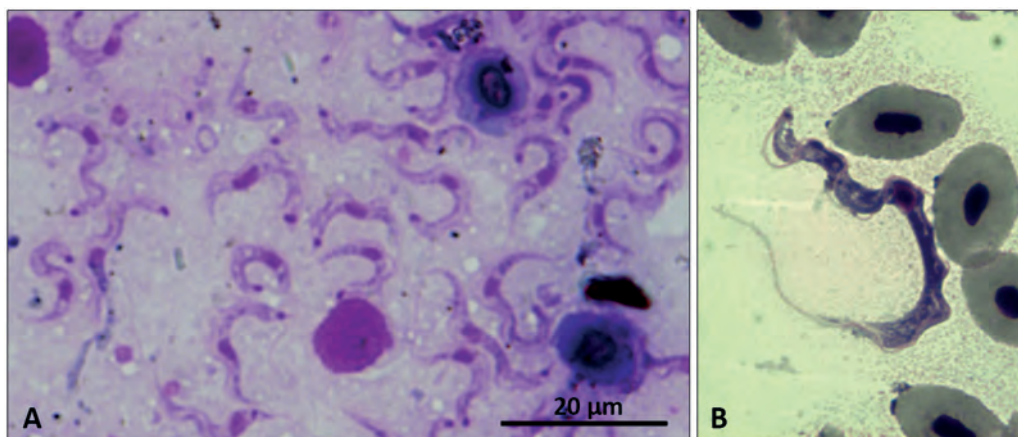
Terapie. Terapie infekcí *C. iubilans* je problematická, neboť původce se vyskytuje i intracelulárně. Zatím neexistuje klinicky ověřené léčivo efektivní proti napadení tímto původcem. V experimentálních studiích se osvědčila koupel v dimetridazolu (80 mg.l⁻¹, tři dny po sobě – vždy po 24 hodinách výměna vody a další aplikace léčiva)(21).

Prevence. Základem prevence je pravidelná kontrola zdravotního stavu plůdku a zajištění kvalitní výživy a optimální kvality vody (3). Tato opatření jsou zvláště důležitá v chovech akvarijních ryb, protože zatím není k dispozici účinná terapie kryptobiózy způsobené *C. iubilans*.

3.7.3. TRYPANOSOMÓZA A TRYPANOPLASMÓZA

Úvod. Bičíkovci rodu *Trypanosoma* a *Trypanoplasma* jsou krevní a tkáňoví parazité. Část jejich životního cyklu probíhá v krvi a ve tkáních obratlovců, část v trávicím traktu bezobratlého hostitele (24). Jako mezihostitelé a vektory druhů parazitujících u ryb slouží různé druhy pijavek (7). Trypanosomózy byly u ryb poprvé popsány už v polovině 19. století. Od té doby bylo popsáno více než 200 druhů trypanosom infikujících ryby, převážně na základě morfologie krevních stádií a na základě toho, z jakého hostitele byly izolovány (předpokládalo se, že jde o druhově specifické parazity, což bylo později vyvráceno) (25, 26). Trypanosomózy ryb jsou rozšířeny celosvětově ve sladkých i ve slaných vodách; původci se mohou vyskytovat všude, kde žijí ryby a současně pijavky, sloužící jako mezihostitelé. V rámci rodu *Trypanoplasma* bylo zatím popsáno 35 druhů infikujících sladkovodní ryby a čtyři druhy infikující mořské ryby (7). Některé druhy rodu *Trypanoplasma* jsou závažnými patogeny, onemocnění má těžší průběh než infekce *Trypanosoma* spp. V evropských chovech má největší význam *Trypanoplasma borreli*, která napadá především plůdek kaprovitých ryb. V chovech lososovitých ryb na západním pobřeží Severní Ameriky je významným patogenem druh *Trypanoplasma salmositica*. (7). V literatuře se někdy u rodu *Trypanoplasma* setkáváme s rodovým jménem *Cryptobia*, případně s použitím obou názvů, např. *Cryptobia (Trypanoplasma) salmositica* (7, 20).

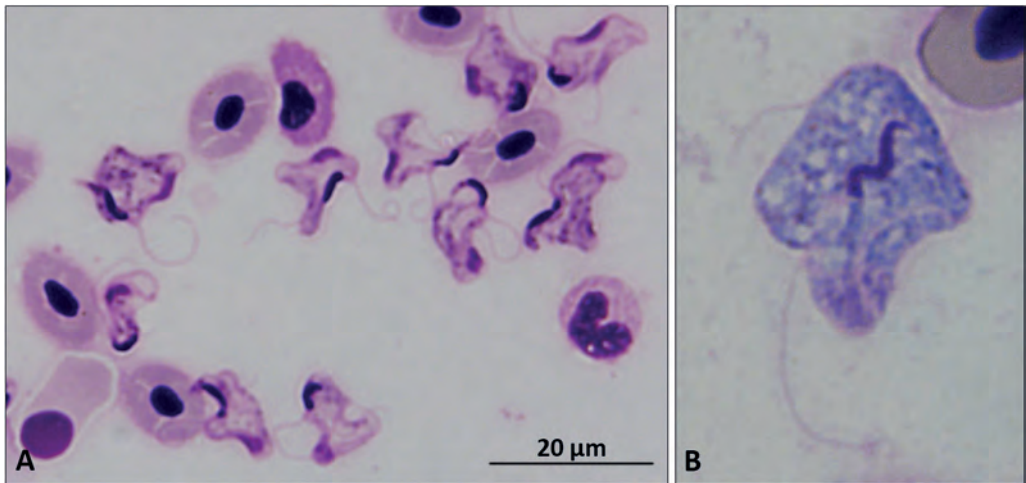
Původci. *Trypanosoma* spp. Evropské trypanosomy ryb lze rozdělit na druhy monomorfní, např. *T. carassii* (syn. *T. danilewskyi*), které mají v průběhu celého životního cyklu stejnou morfologii a liší se jen velikostí a dále na druhy pleomorfní (např. *T. elegans*, *T. percae*), které se během životního cyklu liší nejen velikostí, ale i dalšími morfologickými znaky, např. tvarem těla (27). Morfologie trypanosom se v rámci druhu může lišit i podle toho, v jakém hostiteli parazitují (28). Stádia, která nacházíme v krvi ryb, mají úzké, protáhlé, až několik desítek μm dlouhé tělo se zašpičatělými konci a s jedním bičíkem. Bičík vytváří podél těla undulující membránu, jeho konec je volný (obr. 3.7.3.1).



Obr. 3.7.3.1. *Trypanosoma tincae* (Giemsa)(A); *T. percae* (Pappenheim) v krevním nátěru (B). (Foto: A – I. Dyková, B – M. Palíková)

Zástupci rodu *Trypanoplasma* mají dva bičíky; kratší přední a delší zpětný, který vytváří podél těla undulující membránu (obr. 3.7.3.2). V průběhu životního cyklu se postupně vytváří několik forem lišících se morfologií (7).

Část životního cyklu *Trypanosoma* spp. a *Trypanoplasma* spp. probíhá v krvi a ve tkáních ryb, část v těle různých druhů pijavek, které slouží jako mezhohostitelé a vektory. Po nasátí krve infikované ryby se původci dostanou do trávicího traktu pijavky, kde se rozmnožují. Postupně vzniká několik vývojových stádií a dochází k opakovanému dělení. Nakonec vznikají infekční metacyklické formy, které migrují do chobotku (proboscis) pijavky. Zde se hromadí a mohou zůstat infekční až několik měsíců. Tato stádia se již nedělí (7), k dalšímu rozmnožování dochází až v těle ryby. K nákaze ryby dojde po přísátí pijavky (9).



Obr. 3.7.3.2. *Trypanoplasma borreli* (A); *Trypanoplasma* sp. v krevním nátěru – „dospělá forma“ parazita ve fázi chronické infekce (B). Barvení dle Pappenheima. (Foto: A – I. Dyková, B – M. Palíková)

Vnímavé druhy. Trypanosomózy byly popsány u řady rybích druhů, např. u kapra obecného (*Cyprinus carpio*), lína obecného (*Tinca tinca*), karasa stříbřitého (*Carassius auratus*), okouna říčního (*Perca fluviatilis*) nebo úhoře říčního (*Anguilla anguilla*). Trypanoplasmózy byly popsány u kapra obecného, lína obecného, u amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) (8), u jelce jesena (*Leuciscus idus*), plotice obecné (*Rutilus rutilus*), hrouzka obecného (*Gobio gobio*), karasa stříbřitého a u dalších druhů kaprovitých ryb (7). Infekce způsobené druhem *Trypanoplasma salmositica* byly popsány v severoamerických chovech u mnoha druhů lososovitých ryb – z druhů významných v naší akvakultuře např. u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) (7,9).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Původci se mohou do chovu dostat s nově vysazenými napadenými rybami, případně s pijavkami přivezenými spolu s rybami. Pijavky mohou do chovu proniknout i s přítokovou vodou (3). Ryby se nakazí po přísátí infikované pijavky. U druhu *Trypanoplasma salmositica* byl u dvou hostitelů (pstruh duhový a losos nerka, *Oncorhynchus nerka*) popsán i přímý přenos – u silných infekcí se mohou parazité dostat do kožního slizu na povrchu těla hostitele, odkud se uvolní do vody a mohou infikovat další ryby *per os* nebo přes žábry (7,9).

Podmiňující faktory. Hlavním podmiňujícím faktorem trypanosomóz a trypanoplasmóz je přítomnost pijavek. Dalším podmiňujícím faktorem je věk ryb – k onemocnění jsou nejvímavější mladší věkové kategorie ryb, zejména plůdek (3,8).

Průběh a vývoj onemocnění. Trypanosomózy a trypanoplasmózy probíhají obvykle chronicky. Onemocnění většinou vrcholí koncem zimy, kdy jsou ryby oslabené a kdy se málo pohybují, což usnadňuje napadení pijavkami (3). Prvních několik dní po infekci nejsou parazité detekovatelní v krvi. Po této fázi následuje fáze intenzivního množení parazitů, kdy v krvi nacházíme dělicí se bičíkovce. Toto období trvá několik dnů až několik týdnů, v této fázi dochází nejčastěji k úhynům. Následuje chronická fáze infekce, kdy parazitů v krvi ubývá, dělicí se jedinci se už nevyskytují. Tato fáze trvá několik týdnů. Následuje poslední fáze onemocnění, kdy už původci nejsou zjistitelní v krvi, ale jsou přítomni ve vnitřních orgánech. I když se ryby v této fázi jeví jako zdravé, může u nich dojít k prudkému relapsu infekce (7). U ryb napadených druhem *Trypanoplasma salmositica* byla pozorována opakovaná parazitémie (po poklesu počtu parazitů v krvi následoval druhý, někdy i třetí vrchol infekce, vždy nižší než první) (7).

Klinické příznaky. Napadené ryby přestávají přijímat potravu (9). Zvedají se ze zimního lože, shromažďují se v místech s kyslíkatější vodou, jsou malátné a namáhavě dýchají. Později leží u dna prohnuté do oblouku a hynou (3).

Patologické změny. Ryby mají tmavé vybarvení těla a jsou ve špatném výživném stavu. Žábry jsou anemické (3). U trypanoplasmóz bylo kromě výše uvedených příznaků popsáno i zvětšení tělní dutiny, ascites, exoftalmus, zvětšení sleziny a ledvin a celkový edematózní stav (7,29,30,31).

Diagnóza. V akutní fázi onemocnění lze trypanosomózy a trypanoplasmózy diagnostikovat mikroskopickým vyšetřením kapky čerstvé krve, ve které hledáme živé parazity (9). Dále zhotovujeme krevní nátěry, které barvíme dle Giemsy (9). V chronické fázi infekce, kdy už se parazité v krevních nátěrech obtížně zjišťují, je možné použít centrifugační metodu. Vzorek plné krve zcentrifugujeme (13 000 g po dobu 5 minut) v hematokritové kapiláře. Důležité je při manipulaci a během centrifugace udržovat krev v chladu (5–10 °C), abychom zabránili úhynu parazitů. Kapiláru prohlédneme pod mikroskopem, parazity nacházíme na horní hranici vrstvy leukocytů (29). Hematologickým vyšetřením ryb zjišťujeme anémii – snížení hematokritu, hemoglobinu a počtu erytrocytů. Anémie je nejvýraznější v akutní fázi infekce (32); její stupeň je přímo úměrný množství parazitů přítomných v krvi (33). Pokud ryby překonají akutní infekci a onemocnění přejde do chronické fáze, vrátí se ukazatele červeného krevního obrazu téměř k hodnotám před infekcí (34).

Terapie. Účinná terapie zatím není k dispozici.

Prevence. Preventivní opatření se zaměřují na pravidelnou kontrolu zdravotního stavu ryb, na udržování jejich dobré kondice a na omezování výskytu mezihostitelských pijavek (3) (např. odbahňováním a letněním rybníků). Další možností, jak likvidovat pijavky, je aplikace metrifonátu do vody (2,5 kg.ha⁻¹ při průměrné hloubce 1 m)(35).

LITERATURA

1. Boenigk, J., Wodniok, S., Glücksman, E., 2015. Megasystematics. In: Boenigk, J. (Ed.). Biodiversity and Earth History. Springer-Verlag, pp. 227–365.
2. Isaksen, T.E., Karlsbakk E., Watanabe K., Nylund A., 2011. *Ichthyobodo salmonis* sp. n. (Ichthyobodonidae, Kinetoplastida), an euryhaline ectoparasite infecting Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Parasitology 138: 1164–1175.

3. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. Vydalo VFU Brno, 155 s.
4. Todal, J.A., Karlsbakk, E., Isaksen, T.E., Plarre, H., Urawa, S., Mouton, A., Hoel, E., Koren, C.W.R., Nylund, A., 2004. *Ichthyobodo necator* (Kinetoplastida) – a complex of sibling species. Diseases of Aquatic Organisms 58: 9–16.
5. Henneguy, L.F., 1883. Sur un infusoire flagelle ectoparasite des poissons. Compte Rendu de l'academy des Sciences 96: 658–660.
6. Tavalga, W.N., Nigrelli, R.F., 1947. Studies on *Costia necatrix* Henneguy. Transactions of the American Microscopical Society 66: 366–378.
7. Lom, J., Dykova, I., 1992. Protozoan Parasites of Fishes. Developments in Aquaculture and Fisheries Science 26: 65–68.
8. Svobodová, Z., Kolářová, J., Navrátil, S., Veselý, T., Chloupek, P., Tesarčík, J., Čítek, J., 2007. Nemoci sladkovodních a akvarijních ryb. Informatorium Praha, 264 s.
9. Woo, P.T.K., 2006. Cryptobiosis. In: Woo, P.T.K. (Ed.). Fish Diseases and Disorders, Vol. 1: Protozoan and Metazoan Infections. CAB International, pp. 63–94.
10. Melhorn, H., 2008. *Ichthyobodo necator*. In: Melhorn, H. (Ed.). Encyclopedia of Parasitology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 633 p.
11. Chettri, J.K., Kuhn, J.A., Jaafar, R.M., Kania, P.W., Mølle, r O.S., Buchmann, K., 2014. Epidermal response of rainbow trout to *Ichthyobodo necator*: immunohistochemical and gene expression studies indicate a Th1-/Th2-like switch. Journal of Fish Diseases 37: 771–783.
12. Houghton, G., Bennett, C.E., 1982. *Costia necatrix* (Henneguy, 1883), a lethal parasite of rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). Proceedings of the British Society for Parasitology 85: 217–426.
13. Urawa, S., 2013. Control of the Parasitic Flagellate *Ichthyobodo salmonis*, a Causative Agent of Marine Mortalities of Juvenile Chum Salmon. North Pacific Anadromous Fish Comission Technical Report No 9: 214–215.
14. Isaksen, T.E., Karlsbakk, E., Sundnes, G.A., Nylund, A., 2010. Patterns of *Ichthyobodo necator* sensu stricto infections on hatchery-reared Atlantic salmon *Salmo salar* in Norway. Diseases of Aquatic Organisms 88: 207–214.
15. Lom, J., Dyková, I., Svobodová, Z., Zajíček, J., 1989. Protozoární paraziti užitkových ryb. Vydal Český rybářský svaz ve Státním zemědělském nakladatelství Praha, 98 s.
16. Robertson, D.A., 1979. Host-parasite interactions between *Ichthyobodo necator* (Henneguy 1883) and farmed salmonids. Journal of Fish Diseases 2: 481–491.
17. Isaksen, T.E., Karlsbakk, E., Repstad, O., Nylund, A., 2012. Molecular tools for the detection and identification of *Ichthyobodo* spp. (Kinetoplastida), important fish parasites. Parasitology International 61: 675–683.
18. Jaafar, R.M., Kuhn, J.A., Chettri, J.K., Buchmann, K., 2013. Comparative efficiencies of sodium percarbonate, peracetic acid and formaldehyde for control of *Ichthyobodo necator*-an ectoparasitic flagellate from rainbow trout. Acta ichthyologica et Piscatoria 43: 139–143.
19. Farmer, B., Straus, D.L., Beck, B.H., Mitchell, A.J., Freeman, D., Meinel, T., 2013. Effectiveness of copper sulphate, potassium permanganate and peracetic acid to reduce mortality and infestation of *Ichthyobodo necator* in channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque 1818) Aquaculture Research 44: 1103–1109.

20. Losev, A., Grybchuk-Ieremenko, A., Kostygov, Y.A., Lukeš, J., Yurchenko, V., 2015. Host specificity, pathogenicity, and mixed infections of trypanoplasms from freshwater fishes. *Parasitology Research* 114: 1071–1078.
21. Yanong, R.P.E., Curtis, E., Russo, R., Francis-Floyd, R., Klinger, R.E., Berzins, I., Kelley, K., Poynton, S., 2004. *Cryptobia iubilans* infection in juvenile discus. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224: 1644–1650.
22. Kuperman, B.I., Matey V.E., Barlow S.B., 2002. Flagellate *Cryptobia branchialis* (Bodonida: Kinetoplastida), ectoparasite of tilapia from the Salton Sea. *Hydrobiologia* 473: 93–102.
23. Lom, J., 1980. *Cryptobia branchialis* Nie from fish gills: Ultrastructural evidence of ectocommensal function. *Journal of Fish Diseases* 3:427–436.
24. Minchin, E.A., 2003. *Protozoa Microbiology and Guide to Microscopic Identification*. 520 pp.
25. Borges, A.R., Lemos, M., Morais, D.H., Souto-Padrón, T., D'Agosto, M., 2016. *In vitro* culture and morphology of fish trypanosomes from South American wetland areas. *SOJ Microbiology & Infectious Diseases* 4: 1–5.
26. Figueroa, F., Mayer, W.E., Lom, J., Dyková, I., Weller, M., Pecková, H., Klein, J., 1999. Fish trypanosomes: Their position in kinetoplastid phylogeny and variability as determined from 12S rRNA kinetoplast sequences. *Eukaryotic Microbiology* 46: 473–481.
27. Gibson, W.C., Lom, J., Pecková, H., Ferris, V.R., Hamilton, P.B., 2005. Phylogenetic analysis of freshwater fish trypanosomes from Europe using ssu rRNA gene sequences and random amplification of polymorphic DNA. *Parasitology* 130: 405–412.
28. Woo, P.T.K., 1994. Flagellate parasites of fish. In: Kreier, J.P. (Ed.). *Parasitic Protozoa*. Academic Press, pp. 1–80.
29. Woo, P.T.K., 2012. *Cryptobia (Trypanoplasma) salmositica*. In: Woo, P.T.K., Buchmann, K. (Eds.). *Fish Parasites – Pathobiology and Protection*. CAB International, pp. 30–54.
30. Woo, P.T.K., 2010. Immunological and Therapeutic Strategies against Salmonid Cryptobiosis. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 341783: 9 p.
31. Bunnajirakull, S., Steinhagen, D., Hetzel, U., Körting, W., Drommer, W., 2000. A study of sequential histopathology of *Trypanoplasma borreli* (Protozoa: Kinetoplastida) in susceptible common carp *Cyprinus carpio*. *Diseases of Aquatic Organisms* 39: 221–229.
32. Thomas, P.T., Woo, P.T.K., 1988. *Cryptobia salmositica*: *in vitro* and *in vivo* study on the mechanism of anaemia in infected rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases* 11: 425–431.
33. Ahmed, M.S., Shafiq, K., Ali, H., Ollevier, F., 2011. Pathogenic effects associated with *Trypanosoma danilewskyi* strain FCC1 infection in juvenile common carp, *Cyprinus carpio* L. *The Journal of Animal and Plant Sciences* 21: 800–806.
34. Li, S., Woo, P.T.K., 1991. Anorexia reduces the severity of cryptobiosis in *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Parasitology* 77: 467–471.
35. Melhorn, H., 2016. Protozoan Parasites. In: Melhorn, H. (Ed.). *Animal Parasites: Diagnosis, Treatment, Prevention*. Springer, pp. 33–249.

3.8. MICROSPORIDIA

Iva Dyková

Mikrosporidie jsou velmi malé eukaryotické organismy tvořící spory. Jsou obligátními intracelulárními parazity celé řady živočišných druhů. K jejich nejčastějším hostitelům patří hmyz a ryby. V monografických studiích je uvedeno více než 150 druhů mikrosporidií cizopasících u ryb (1–4). I když byl velký počet druhů popsán z ryb volných vod a často jen z jednotlivých exemplářů, nechybí historické údaje o devastujícím vlivu mikrosporidióz např. na populace sladkovodních lososovitých ryb (5,6). K významným hostitelům mikrosporidií patří tržní druhy ryb, ornamentální a modelové druhy, které dnes využívá laboratorní praxe. V zásadní monografii věnované mikrosporidiím (1) bylo uvedeno více než 200 druhů rybích hostitelů těchto parazitů. Ještě větší počet uvádí katalog popsanych druhů mikrosporidií z roku 2002 (2). Spektrum hostitelů je velmi široké, navíc vzhledem k poměrně obtížné determinaci mikrosporidií je téměř jisté, že řada nálezů nebyla publikována, jiné unikají pozornosti pro nedostatečně rozvinuté klinické/makroskopické změny hostitelů. Pro hodnocení rozdílů ve vnímavosti jednotlivých druhů ryb chybí spolehlivá data. Také posouzení hostitelské specifity může vycházet jen z omezeného počtu studií.

Názor na zařazení mikrosporidií do systému eukaryot se několikrát radikálně změnil. V současné době jsou považovány buď za bazální vývojovou linii houbových organismů, nebo jejich nejbližší sesterskou skupinu (7).

Infekčním stádiem mikrosporidií je zralá **spora** vybavená silným, obvykle dvouvrstevným obalem, sporoplazmou s jedním nebo dvěma jádry a složitým aparátem, který zajišťuje vlastní infekční proces (injikování sporoplazmy do hostitelské buňky). Tento aparát, označovaný také jako vystřelovací, tvoří pólová trubice svinutá pod obalem spory kolem sporoplazmy, případně i zadní vakuoly, kotvící disk pólové trubice a lamely membranózního tělesa (polaroplastu), které vyplňují sporu na apikálním pólu. Infekční proces zahajuje aktivace spory vyvolaná vnějšími podmínkami. Spočívá v účasti polaroplastu a vakuoly na zvýšení osmotického tlaku uvnitř spory. Důsledkem zvýšení osmotického tlaku je everze pólové trubice, její vystřelení a vytlačení sporoplazmy do cytoplazmy nebo jádra hostitelské buňky. Následuje fáze merogonie s tvorbou merontů a plazmodiálních stádií a několik fází sporogonie, v jejímž průběhu vznikají sporoblasty, sporonti s vysokým stupněm buněčné diferenciace a zralé spory. Tato stádia jsou v cytoplazmě hostitelských buněk lokalizována volně, nebo v tzv. parazitoforních vakuolách. Zralá spora je jediné stádium životního cyklu schopné existence mimo buňku hostitele. Naprostá většina popsanych druhů je považována za jednohostitelské (monoxenní) parazity.

Životní cykly byly objasněny jen pro část druhů. Reakce hostitele na buněčné i tkáňové úrovni závisí do značné míry na typu životního cyklu mikrosporidie. Proto je účelné zmínit významné druhy mikrosporidií dvou základních skupin. K první skupině patří druhy, které v průběhu vývoje tvoří tzv. **xenomy** (symbiotické komplexy s hostitelskými buňkami). Jsou to mikrosporidie rodů *Glugea*, *Loma*, *Tetramicra*, *Spraguea* a *Ichthyosporidium*. Do skupiny, která netvoří xenomy, patří druhy rodů *Pleistophora*, *Ovipleistophora*, *Heterosporis*, *Kabatana* a *Nucleospora*. Při infekcích vyvolaných těmito druhy dochází k difúznímu poškození tkání (kapitola 3.8.2).

Obecná etiologická diagnóza mikrosporidiózy je založena na nálezů zralých spor v ložiskových změnách orgánů a tkání. U většiny popsanych druhů jsou spory vejčité, jejich délka se pohybuje v rozmezí 2–12 μm , druhy cizopasících u ryb mají dobře viditelnou velkou

vakuolu. Spory je možné prokázat v komprimovaných vzorcích čerstvých tkání, v procházejícím světle nebo pomocí Nomarského diferenciálního interferenčního kontrastu. Pro otisky nebo roztěry z makroskopicky změněných tkání je možné použít barvení podle Giemsy, toluidinovou modř nebo barvení podle Grama, jehož výsledek je u spor mikrosporidií pozitivní. Efektivní je použití fluorescenčních barviv. Pro zařazení mikrosporidií do rodu a pro případnou druhovou determinaci je nutné kombinovat poznatky získané o sporách a předsporových stádiích pomocí světelné a elektronové mikroskopie (obr. 3.8.1) s molekulárními daty. Vzhledem k nepatrným rozměrům spor mikrosporidií a skutečnosti, že mají velmi málo snadno rozpoznatelných determinačních znaků, je zřejmé, že zavedení molekulárních diagnostických postupů má u této skupiny rybích parazitů velkou perspektivu. Příkladem je využití kvantitativní polymerázové řetězové reakce (qPCR) pro detekci *Pseudoloma neurophilia* v laboratorních chovech dánia pruhoňového (*Danio rerio*) ve vodě, jikrách a mlíčí (14).



Obr. 3.8.1. Spory *Glugea anomala* ve světelném mikroskopu s Nomarského optikou (A); spory *Pleistophora hypnessobryconis* (4×6 µm velké) v procházejícím světle (B); sporoforní váčky *Heterosporis* sp. (C); elektronogram zrající mikrosporidiové spory (D). (Foto: I. Dyková)

Podrobný souhrn terapeutik, která byla použita k experimentálnímu ověření účinnosti a při praktickém zdolávání mikrosporidióz v chovech ryb, publikovali Kent a kol. (8). V souhrnu dominuje fumagilin, úspěšně používaný v případech infekcí včel druhu rodu *Nosema*. Fumagilin se prosadil v terapii mikrosporidióz úhořů působených druhem *Heterosporis anguillarum* i u infekcí salmonidů druhem *Nucleospora salmonis* a *Loma salmonae*. Za perspektivní terapeutikum je považován také analog fumagilinu TNP-470 (Takeda Chemical Industries, Ltd.), toltrazuril (Bayer AG) a nitrofurazon testovaný u infekcí gonád působených mikrosporidií *Ovipleistophora ovariae*. Dávkování fumagilinu doporučené autory jednotlivých studií se liší. V literatuře najdeme dávkování fumagilinu v rozmezí 2–4 mg.kg⁻¹/den, které bylo úspěšné u *Loma salmonae* při podávání po dobu 4 týdnů i dávky 3–10 mg.kg⁻¹/den podávané po dobu 30

až 60 dnů. Fumagilin není stabilní při vyšších teplotách, navíc je výhodnější využít rozpustnosti fumagilinu v alkoholu, sprejovat krmivo fumagilinem rozpuštěným v alkoholu a pak pokrýt krmivo tenkou vrstvou oleje. Použití fumagilinu není povoleno u potravinových ryb.

U mikrosporidióz, které se podařilo simulovat experimentálně, se otevírají možnosti ověření tzv. nefarmakologických terapeutických metod založených např. na změnách teploty vody, které mohou zásadním způsobem ovlivnit životní cyklus některých mikrosporidií.

Patologické změny působené mikrosporidii se liší podle příslušnosti původců k jednotlivým skupinám/rodům, podle toho, která tkáň/orgán rybiho hostitele je místem jejich specifické lokalizace i v závislosti na reakci hostitele.

3.8.1. MIKROSPORIDIÓZY SPOJENÉ S TVORBOU XENOMŮ

Mikrosporidie rodu *Glugea*

Úvod. Druhy rodu *Glugea* jsou nejlépe prostudovanými mikrosporidii ryb. Platí to zejména o druhu *G. anomala*. Životní cyklus tohoto druhu, jeho patogenní působení a reakce hostitele byly odvozeny z přirozených i experimentálních infekcí typového hostitele, kterým je koljuška tříostná (*Gasterosteus aculeatus*) (9,10). Morfologicky identická mikrosporidie s identickým průběhem infekcí byla zaznamenána u halančíků rodu *Nothobranchius*. Ve světovém měřítku patří k původcům ekonomicky významných mikrosporidióz druhu *Glugea plecoglossi*, *G. hertwigi* a *G. stephani*.

Původce. *Glugea anomala*. Zralé spory jsou protáhle oválné, mají nápadnou vakuolu, jejich rozměry se pohybují u jednotlivých populací v rozmezí 3–6 × 1,9–2,7 μm. Xenomy, v nichž se spory vyvíjejí, mohou být lokalizovány ve všech orgánech, masivní výskyt je typický pro zažívací trakt.

Vnímavé druhy ryb. Koljuška tříostná, koljuška devítiostná (*Pungitius pungitius*) a *Nothobranchius* spp.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Přenos infekce je přímý, předpokládá pohlcení zralých spor. Infekce se šíří predací, případně kanibalismem, experimentálně je možné použít koryše jako paratenické hostitele.

Průběh a vývoj onemocnění. Vývoj onemocnění má několik fází, které určuje vývoj mikrosporidie a reakce hostitele. Merogoniální stádia vznikající v buňce hostitele infikované sporoplazmou působí hypertrofií této buňky včetně jádra. Mikrosporidie a hostitelská buňka vytvářejí symbiotický komplex, tzv. xenom, který může být až 200× větší než původní buňka hostitele. Merogoniální stádia vznikají na periferii, v centrální části zrajícího xenomu se hromadí spory (obr. 3.8.1.1).

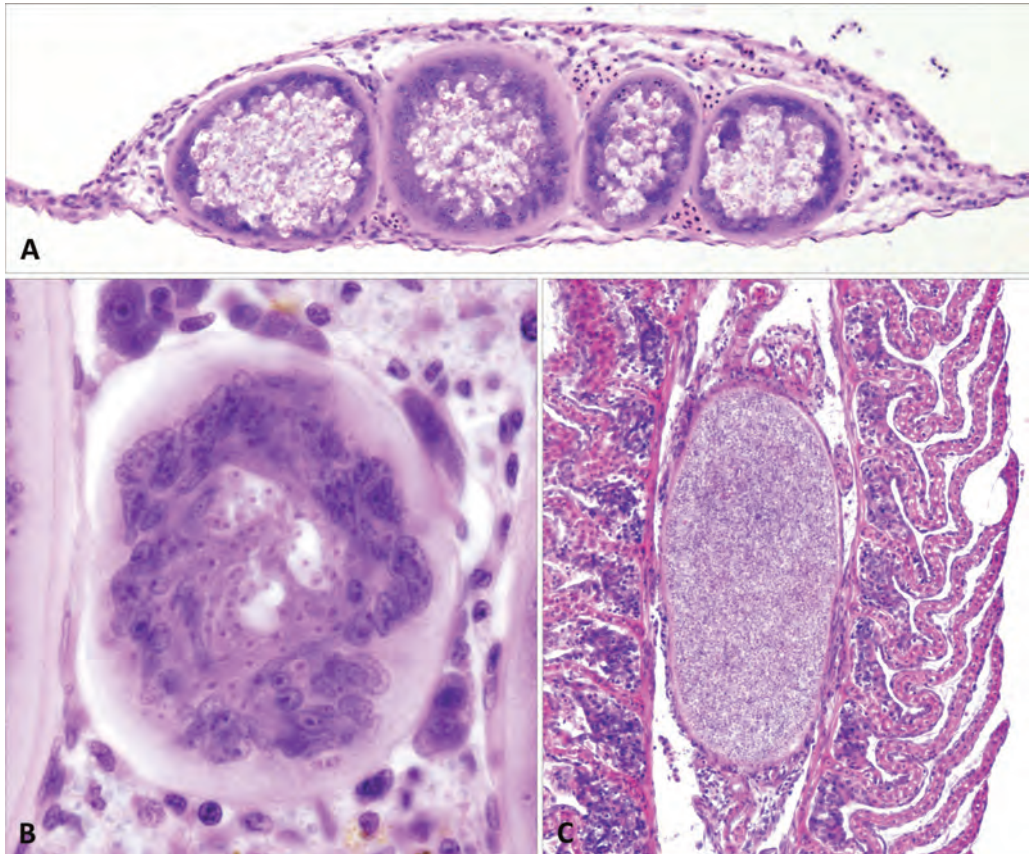
Klinické příznaky. Xenomy extrémních rozměrů (4–5 mm) mohou prominovat na povrchu těla ryby.

Patologické změny. Vývoj xenomu je provázen atrofií okolní tkáně, případně mírnou proliferací pojivové tkáně, která se obvykle koncentricky uspořádá v okolí zvětšujícího se xenomu. Ve fázi, kdy se xenom vyplní zralými spory, symbiotický komplex zaniká, dochází k ruptuře buněčné membrány a po uvolnění zralých spor do okolní tkáně nastupuje intenzivní reakce hostitele. Reakce má charakter proliferativního zánětu, který může zcela eliminovat rezidua xenomu, ale nemůže zajistit funkční restituci postižených orgánů.

Diagnóza. Nález spor odpovídající velikosti a tvaru v xenoparazitárních útvech.

Terapie. Účinnost triazinonu (Toltrazuril, Bayer AG) byla prokázána u předsporových vývojových stádií *G. anomala*. Zralé spory byly rezistentní (11).

Prevence. Základním opatřením je eliminace infikovaných jedinců.



Obr. 3.8.1.1. Zralé xenomy *Glugea anomala* v pojivové tkáni mezi orgány dutiny břišní (A), H&E, 180 \times ; časná merogoniální fáze vývoje xenomu *G. anomala* (B), H&E, 1700 \times ; xenom *Loma branchialis* v ose žaberního lístku (C), H&E, 150 \times . (Foto: I. Dyková)

Mikrosporidie rodu *Loma*

Úvod. Do rodu *Loma* patří více než 17 druhů mikrosporidií včetně druhů, které cizopasí v žábřácích lososovitých ryb. S importy lososovitých ryb se mikrosporidiozá dostala do Evropy, u nás nebyla dosud zaznamenána.

Původce. *Loma salmonae* tvoří xenomy se specifickou lokalizací ve stěnách žaberních cév. Spory jsou pyriformní, 7,5 \times 2,4 μm velké, vyvíjejí se ve sporoforních váčcích. Z jednojaderných merontů vznikají protáhlá plazmodia, která obsahují až 5 jader. Xenomy mají velmi tenkou stěnu. Po vyplnění xenomu zralými spory dochází k jeho desintegraci. Při permanentním kontaktu žaber s vodou se infekce poměrně snadno šíří.

Vnímavé druhy ryb. Všechny druhy pstruhů rodu *Oncorhynchus* a siven americký (*Salvelinus fontinalis*) patří mezi vnímavé hostitele. S onemocněním se setkáváme ve sladkovodní i mořské fázi chovu (12,13).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Onemocnění je přenosné přímo, pohlcením spor nebo infikované tkáně. Existuje i předpoklad vertikálního (transovariálního) přenosu. Experimentálně je možné přenést infekci intramuskulární, intraperitoneální nebo intravaskulární injekcí spor.

Průběh a vývoj onemocnění. Experimentální studie prokázaly, že životní cyklus mikrosporidie zahrnuje iniciální intestinální fázi, transport merontů cirkulujícími leukocyty do buněk cévních stěn (především žaber), vznik xenomů (obr. 3.8.1.1) a jejich rozpad následovaný intenzivní reakcí hostitele. Již za 4–6 týdnů po infekci je možné detekovat xenomy v žábřácích.

Klinické příznaky. Letargie, snížení pravidelných váhových přírůstků, případně ztráty na váze, ztmavnutí kaudální části těla a alterovaný pohyb patří k nejsnadněji rozpoznatelným klinickým příznakům onemocnění.

Patologické změny. K makroskopicky pozorovatelným změnám patří ischemie hyperplastické žaberní tkáně, petechie a výskyt cystám podobných bělavých útvarů na žábřácích. Histopatologické vyšetření může odhalit, v závislosti na fázi rozvoje infekce, systemickou infekci, v ní ale vždy dominuje postižení žaber. K vývoji xenomů dochází obvykle v subendoteliálních buňkách pojivové tkáně žaberních cév. Xenomy působí záněty žaberních cév, jejich trombotizaci, vznik nekrotických změn v osových chrupavkách žaberních lístků. Po dozrání spor a rozpadu xenomů mohou spory uvolněné ze zralého xenomu vyvolat zánětlivé změny v žábřácích, srdci, slezině, ledvinách a pseudobranchiích.

Diagnóza. Nález zralých spor v typických místech lokalizace xenomů.

Terapie. Farmakoterapie může být účinná pouze v intestinální fázi infekce, která je velmi krátká a obtížně prokazatelná. Slibné je využití teploty vody k regulaci a případnému přerušení životního cyklu *Loma salmonae* (12).

Prevence. Platí obecná pravidla, základem je eliminace nakažených jedinců.

3.8.2. MIKROSPORIDIÓZY SPOJENÉ S DIFÚZNÍM POSTIŽENÍM TKÁNÍ RYB

Mikrosporidie rodu *Pleistophora*

Úvod. V rámci rodu *Pleistophora* bylo popsáno více než 30 druhů, osm z nich působí mikrosporidiózy u komerčně významných mořských a sladkovodních druhů ryb. Společným znakem je difúzní postižení tkání hostitele, zejména svaloviny, ovarií a dalších orgánů. Dobře známým, celosvětově rozšířeným a detailně prostudovaným druhem je *P. hyphessobryconis*.

Původce. *Pleistophora hyphessobryconis* tvoří uniformní oválné spory 4 × 6 μm velké, které nacházíme ve sporoforních váčcích v počtu 20–100 ks. Specifickým místem lokalizace infekce je svalovina.

Vnímavé druhy ryb. Mezi vnímavé druhy ryb patří kromě typového druhu, kterým je neonka obecná (*Paracheirodon inessi*), také řada dalších akvarijních ryb několika čeledí, mezi nimi i dánio pruhované.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Podobně jako u ostatních druhů mikrosporidií je infekčním stádiem spora. Svalovina uhynulých jedinců je pravidelným zdrojem infekce pro další jedince.

Průběh a vývoj onemocnění. Úhyny se mohou objevit během 14 dnů od zjištění prvních příznaků onemocnění.

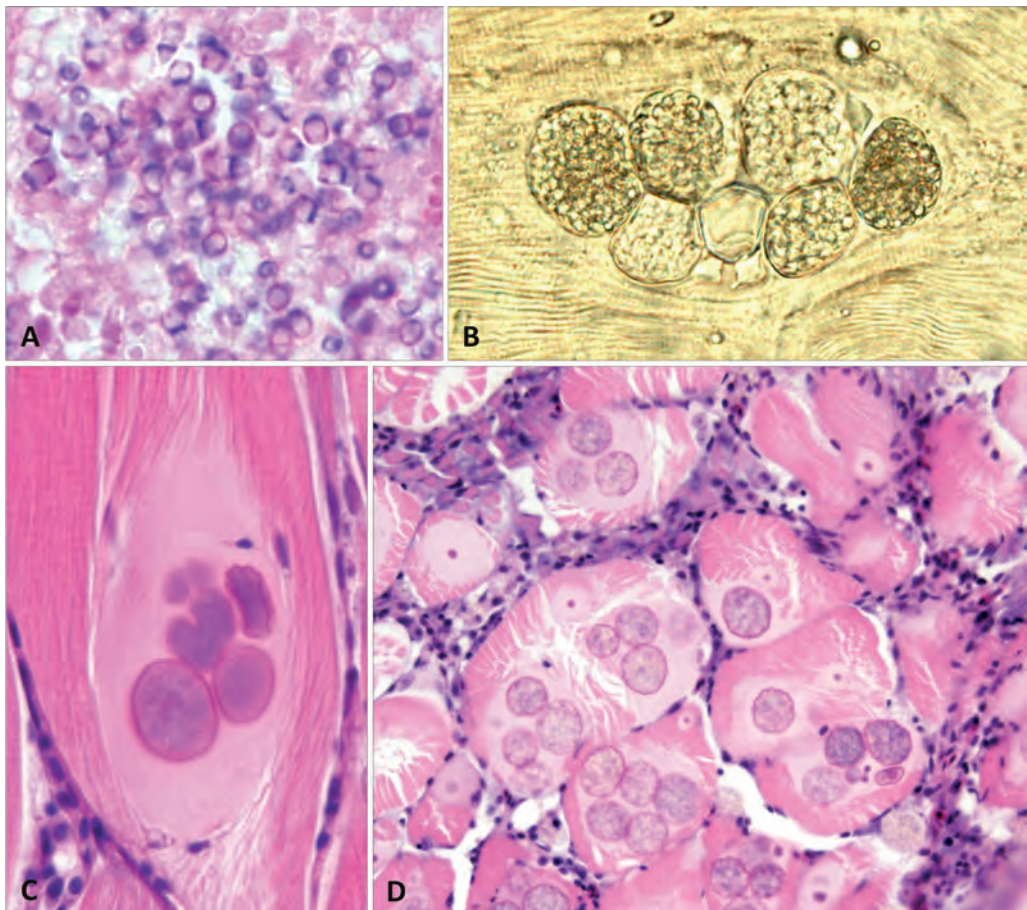
Klinické příznaky. Při infekcích *P. hyphessobryconis* bylo zaznamenáno neobvyklé chování nakažených jedinců, ztráta barvy, zježení šupin, vyhubnutí, deformity páteře a především bělavá ložiska vyvíjejících se mikrosporidií ve svalovině, nápadná zejména u hostitelů s transparentní stěnou těla.

Patologické změny. Makroskopicky pozorovatelné změny v kosterní svalovině představují ložiska dystrofických změn svalové tkáně, v nichž se vyvíjejí mikrosporidie. Vývoj je v iniciální fázi provázen vznikem bezstrukturní zóny s vymizením myofibril. Reakce svalové tkáně hostitele je ve srovnání s reakcemi na vývoj mikrosporidií v jiných orgánech ryb nevýrazná. Převahu mají regresivní patologické procesy (obr. 3.8.2.1).

Diagnóza. Předběžná diagnóza vychází z nálezu vývojových stádií a zralých spor ve svalovině známých hostitelů této mikrosporidie.

Terapie. Experimentální ověřování účinnosti fumagilinu nebylo úspěšné.

Prevence. Preventivní opatření se řídí pravidly obecně platnými pro mikrosporidie. Základem je eliminace jedinců s podezřelými makroskopickými příznaky infekce.



Obr. 3.8.2.1. Difúzní infekce *Pleistophora* sp. v ovariu plotice obecné (A), H&E, 960 \times ; infekce *P. hyphessobryconis* ve svalovině neonky (B), nativní preparát; alterace struktury svalového vlákna neonky (C), H&E, 680 \times ; masivní infekce ve svalovině neonky (D), H&E. (Foto: A, C, D – I. Dyková, B – M. Palíková)

Mikrosporidie rodu *Heterosporis*

Úvod. Do rodu *Heterosporis* patří mimo jiných tři druhy popsané z ornamentálních ryb a *H. anguillarum* považovaná za patogen významný pro chovy úhořů. Typickým místem lokalizace mikrosporidií je svalovina infikovaných jedinců.

Původci. *Heterosporis finki*, *H. schuberti*, *H. cichlidarum*.

Vnímavé druhy ryb. *Pterophyllum scalare* (*H. finki*); *Ancistrus cirrhosus*, *Betta splendens* a *Pseudocrenilabrus multicolor* (*H. schuberti*). Podle předběžných pokusů se sporami *Heterosporis* sp. z okouna žlutého (*Perca flavescens*) lze předpokládat, že vnímavých hostitelů je více.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zralé spory pozřené s infikovanou svalovinou uhynulých jedinců nebo uvolněné z rozložené svalové tkáně.

Průběh a vývoj onemocnění. Závisí na intenzitě infekce. Není přesně časově popsán. Mortalita může dosáhnout až 95 %.

Klinické příznaky. Vyhubnutí nakažených jedinců, abnormální chování ve skupině nakažených a nenakažených jedinců.

Patologické změny. Změny vyvolané v kosterní svalovině infikovaných jedinců se do značné míry podobají změnám, které jsou popsány u infekcí *Pleistophora hypohessobryconis*. V sarkoplazmě se tvoří tzv. sporoforocysty s nápadně silnými stěnami parazitárního původu. Reakce hostitele na vyvíjející se sporoforocysty není příliš intenzivní, ta nastupuje teprve po jejich ruptuře a uvolnění zralých spor, obvykle v podobě granulomatózní zánětlivé reakce (14). Masivní infekce mohou zásadně redukovat objem somatické svaloviny, působit její rozpad a přeměnu v kašovitou hmotu. Velmi intenzivní granulomatózní reakce s dominující fibrotizací byly pozorovány při infekcích úhořů japonských (*Anguilla japonica*) druhem *Heterosporis anguillarum*.

Diagnóza. Nález spor ve svalovině známých hostitelů (v útvech připomínajících cysty) indikuje rodové zařazení původce. Druhová determinace vyžaduje molekulární potvrzení.

Terapie. Po vzniku sporoforocyst v kosterní svalovině jsou terapeutické zákroky neúčinné.

Prevence. Podobně jako u jiných původců mikrosporidiózy je třeba co nejdříve eliminovat všechny nakažené jedince, v tomto případě s podezřelými makroskopicky viditelnými změnami ve svalovině.

Mikrosporidie rodu *Pseudoloma*

Úvod. Dánio pruhované, oblíbený druh akvarijní ryby, se v současné době stává jedním z nejvýznamnějších modelových organismů. V genetických, toxikologických, infekčních aj. experimentálních studiích nahrazuje dříve používané obratlovce. O významu svědčí existence centra pro chov a distribuci jednotlivých linií (Zebrafish International Resource Center, ZIRC), které bylo založeno v roce 2000 na univerzitě v Oregonu (USA). Mikrosporidiózy, zejména infekce působené druhem *Pseudoloma neurophilia*, způsobily v průběhu zavádění modelového druhu obratlovce do výzkumu závažné problémy.

Původce. *Pseudoloma neurophilia* tvoří vejčité, jednojaderné spory o rozměrech $5,4 \times 2,7 \mu\text{m}$, které obsahují velkou zadní vakuolu a 14–17 závitů pólového vlákna. V průběhu vývoje se tvoří sporoforní váčky s 8–16 spory (15).

Vnímavé druhy ryb. Dánio pruhované.

Zdroj infekce. Především uhynulí jedinci, vzácněji spory vyloučené při tření.

Průběh a vývoj onemocnění. Experimenty prokázaly rychlý průběh a vývoj onemocnění. Sporonti vznikají za 4–5 dnů po infekci, zralé spory za 8 dnů. K nakažení dochází perorálně, část vývoje probíhá v epitelálních buňkách střeva, v časně fázi infekce může být postižena svalovina a ledviny, v rozvinutém stádiu infekce je postižena především nervová tkáň.

Klinické příznaky. Vyhubnutí a deformity páteře jsou považovány za hlavní klinické příznaky (8).

Patologické změny. Myopatie a myositidy v časném stádiu vývoje infekce. V pokročilé fázi onemocnění vznikají velké agregáty spor v bazální části zadního mozku, v míše, nervových gangliích a v kořenech míšních nervů, spojené s kolikvací nervové tkáně.

Diagnóza. Kromě nálezu zralých spor ve specifických místech lokalizace (mozku a míše) je možné použít molekulární пробу pro průkaz *in situ*, navíc byla pro laboratorní kolonie mutantních linií vyvinuta diagnostická metoda pro detekci spor ve vodě, jikrách i mlíči (16).

Terapie. Vzhledem k tomu, že dáanio pruhované je modelovým organismem, mají i terapeutické experimenty charakter modelových experimentů s obecným významem pro mikrosporidiiózu.

Prevence. Historie vzniku a udržování SPF chovů dáania pruhovaného je příkladem náročného, moderního, promyšleného přístupu k prevenci zavlečení mikrosporidiové infekce do laboratorního chovu (17).

Mikrosporidie rodu *Nucleospora*

Úvod. Rod *Nucleospora* byl ustaven pro mikrosporidie, které se vyvíjejí výhradně v jádrech hostitelských buněk. K významným druhům patří především *N. salmonis* vyvíjející se v jádrech hematopoetických buněk salmonidů. *Nucleospora secunda* se vyvíjí v jádrech epitelálních buněk zažívacího traktu akvarijní ryby halančíka pestroploutvého (*Nothobranchius rubripinis*). *Nucleospora cyclopteri* byla popsána z hranáče šedého (*Cyclopterus lumpus*). K mikrosporidiím, které se vyvíjejí v jádrech hostitelských buněk, patří i druh *Enterospora nucleophila*, který ohrožuje chovy pražmy královské (*Sparus aurata*).

Původce. *Nucleospora salmonis* tvoří spory o průměru 2–4 μm lokalizované v jádrech hemoblastů.

Vnímavé druhy ryb. Lososovitě ryby v mořských i sladkovodních chovech.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Infikované tkáně ryb. Laboratorně bylo prokázáno, že kohabitací se může šířit infekce ve sladkovodních podmínkách, infekční pokusy nebyly úspěšné v mořské vodě.

Průběh a vývoj onemocnění. Infekce mohou mít subklinický průběh.

Klinické příznaky. Při intenzivních infekcích jsou ryby anemické, mají nápadně světlé žábry.

Patologické změny. Ve všech hematopoetických orgánech a v oku se projevuje masivní proliferace hemoblastů, vyvíjí se reno- a splenomegalie. Také v srdci a stěně zažívacího traktu vznikají infiltráty lymfoblastů a plazmatických buněk. Při masivních infekcích jsou postiženy i fibroblasty, které se účastní proliferativní fáze zánětlivé reakce hostitele.

Diagnóza. Vzhledem k velikosti a intranukleární lokalizaci je průkaz spor obtížný. Spory je možné detekovat v otiscích krvetvorných orgánů. V jádrech hemoblastů se spory jeví jako sférická tělíška (eozinofilní při barvení hematoxylinem/eosinem).

Terapie. Fumagilin a analog fumagilinu TNP-470 (7).

Prevence. Fumagilin a analog fumagilinu TNP-470 byly doporučovány i pro prevenci. Podle stávajících předpisů nelze fumagilin používat u potravinových druhů ryb.

LITERATURA

1. Canning, E.U., Lom, J., 1986. The Microsporidia of Fish. In: The Microsporidia of Vertebrates. Academic Press, London, UK, pp. 17–171.
2. Lom, J., 2002. A catalogue of described genera and species of microsporidians parasitic in fish. *Systematic Parasitology* 53: 81–99.
3. Lom, J., Dyková, I., 1992. *Protozoan Parasites of Fishes*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 315 p.
4. Lom, J., Nilsen, F., 2003. Fish microsporidia: fine structural diversity and phylogeny. *International Journal for Parasitology* 33: 107–127.
5. Putz, R.E., Hoffman, G.L., Dunbar, C.E., 1965. Two new species of *Pleistophora* (Microsporidea) from North American fish with a synopsis of microsporidea of freshwater and euryhaline fishes. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 12: 228–236.
6. Urawa, S., 1989. Seasonal occurrence of *Microsporidium takedai* (Microsporidia) infection in masu salmon, *Oncorhynchus masou*, from the Chinese river. *Physiology and Ecology Japan* 1: 587–592.
7. Capella-Gutiérrez, S., Marcet-Houten, M., Gabaldón, T., 2012. Phylogenomics supports microsporidia as the earliest diverging clade of sequenced fungi. *BMC Biology* 10: 47–60.
8. Kent, M.L., Shaw, R.W., Sanders, J.L., 2014. Microsporidia in Fish. In: Weiss, L.M., Becknel, J.J. (Eds). *Microsporidia, Pathogens of Opportunity*. John Wiley & Sons, Inc., pp. 493–520.
9. Dyková, I., Lom, J., 1978. Tissue reaction of the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. to infection with *Glugea anomala* (Moniez, 1887). *Journal of Fish Diseases* 1: 83–90.
10. Dyková, I., Lom, J., 2007. Lesions due to Microsporidia. In: *Histopathology of Protistan and Myxozoan Infections in Fishes*. Academia, Praha, pp. 120–136.
11. Schmahl, G., Mehlhorn, H., 1989. Treatment of fish parasites. 6. Effects of sym. Triazinone (Toltrazuril) on developmental stages of *Glugea anomala* Moniez, 1887 (Microsporidia). A light and electron microscopic study. *European Journal of Protistology* 24: 252–259.
12. Kent, M.L., Speare, D.J., 2005. Review of the sequential development of *Loma salmonae* (Microsporidia) based on experimental infections of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Chinook salmon (*O. tshawytscha*). *Folia Parasitologica* 52: 63–68.
13. Shaw, R.W., Kent, M.L., Brown, A.M.V., Whipps, C.M., Adamson, M.L., 2000. Experimental and natural host specificity of *Loma salmonae* (Microsporidia). *Diseases of Aquatic Organisms* 40: 131–136.
14. Lom, J., Dyková, I., Körting, W., Klinger, H., 1989. *Heterosporis schuberti* n. sp., a new microsporidian parasite of aquarium fish. *European Journal of Protistology* 25: 129–135.
15. Matthews, J.L., Brown, A.M.V., Larison, K., Bishop-Stewart, J.K., Rogers, P., Kent, M.L., 2001. *Pseudoloma neurophilia* n. g., n. sp., a new genus and species of Microsporidia from the central nervous system of the zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 48: 229–235.
16. Sanders, J.L., Kent, M.L., 2011. Development of a sensitive assay for the detection of *Pseudoloma neurophilia* in laboratory populations of the zebrafish *Danio rerio*. *Diseases of Aquatic Organisms* 96: 145–156.
17. Kent, M.L., Buchner, C., Watral, V.G., Sanders, J.L., LaDu, J., Peterson, T.S., Tanguay, R.L., 2011. Development and maintenance of specific pathogen-free (SPF) zebrafish research facility for *Pseudoloma neurophilia*. *Diseases of Aquatic Organisms* 95: 73–79.

3.9. FUNGI

Veronika Piačková

Houby nedokonalé (*Fungi imperfecti*, Deuteromycota) zahrnují houby stopkovýtrusé (Basidiomycota) a vřeckovýtrusé (Ascomycota). Společným znakem je absence pohlavního rozmnožování. Do skupiny Ascomycota patří např. plíseň *Penicillium* sp., mnoho saprofytních hub a někteří původci mykotických onemocnění rostlin, zvířat a lidí. Některé z nich, jako např. *Exophiala piscifila* (1), *Cephalotheca surfurea* (2) a *Phoma herbarum* (3), byly diagnostikovány jako původci orgánových mykóz ryb.

3.9.1. FOMÓZA PLYNOVÉHO MĚCHÝŘE LOSOSOVITÝCH

Úvod. Toto mykotické onemocnění (phomosis aerocystis salmoninarum, phomosis of swim bladder of salmonids) bylo popsáno u lososovitých ryb z rodu *Oncorhynchus* v USA (3,4). V posledních letech je jedním z hlavních mykotických patogenů diagnostikovaných na lososích farmách na Aljašce (5).

Původce. Vlákničitá plíseň *Phoma herbarum* patřící do řádu Pleosporales je primárně rostlinným patogenem (6). Je kosmopolitní, může být přítomna v půdě, vodě i potravinách. Podrobně ji popsal G.H. Boerema (7). V ojedinělých případech může být fakultativním patogenem ryb. Vlákna plísně jsou 50–100 µm dlouhá a 2–3 µm široká, na jejich koncích se vytvářejí hyalinní nedělené konidie oválného až cylindrického tvaru o rozměrech 4,5 × 2,5 µm. Faisal et al. (8) uvádějí, že plíseň tvoří nejprve vláknité dělené hyalinní až hnědé hyfy o průměru 5–8 µm bez plodnic. Po 10–20 dnech kultivace na kukuřičném agaru se nad povrchem média objevují kulovitá tmavá pyknidia o průměru 50–200 µm, která produkují spóry.

Vnímavé druhy. Vnímavé jsou především lososovité ryby z rodu *Oncorhynchus* (*O. tshawytscha*, *O. kisutch*, *O. mykiss* a *O. nerka*) a lipan sibiřský (*Thymallus arcticus*). Nejvíce ohrožené jsou nejmladší věkové kategorie, zejména do věku 100 dní (3,5). Viscerální mykóza způsobená plísní z rodu *Phoma* byla diagnostikována i v Japonsku u aju východního (*Plecoglossus altivelis*) (9). V experimentálních podmínkách je možné nakazit i jiné druhy ryb, jako např. tlamouna nilského (*Oreochromis niloticus*) (10).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Spory plísně se do chovu dostávají spolu s nakaženými rybami nebo přítokovou vodou (11). Vzhledem k tomu, že se jedná primárně o fytopatogeny, mohou být přítomny také v krmivu obsahujícím rostlinné složky. K nakažení dochází pravděpodobně ve stádiu rozplavání plůdku vdechnutím aerosolu obsahujícího spóry při prvním naplnění plynového měchýře (12).

Podmiňující faktory. Vznik onemocnění je podpořen stresem (manipulace s plůdkem, změna krmiva). Vnímavé jsou především nejmladší věkové kategorie, zejména do věku 100 dní (12). Přenos infekce je podpořen vysokou hustotou obsádky (5).

Průběh a vývoj onemocnění. Postižené ryby mají zvětšenou, ze stran zploštělou dutinu tělní a hemoragie na ventrální části těla, bocích a ocasní ploutvi. Choroba má obvykle chronický průběh. Na začátku je možné nalézt malý chomáč mycelia volně v plynovém měchýři. Plísňová vlákna postupně prorůstají stěnu plynového měchýře a napadají i okolní orgány, zejména ledviny. Žaludek infikovaného potěru může obsahovat vodnatou tekutinu a plynový měchýř je bez tekutiny, zatímco u většího plůdku je to naopak. Oblast kolem *ductus pneumaticus* (dutá spojka mezi jícnem a plynovým měchýřem, jejíž průchodnost zůstává u některých druhů

ryb zachovaná) bývá postižena jako první. V pokročilých stádiích bývá celé lumen plynového měchýře vyplněno vláknou plísň a epitel stěny je hyperplastický (4). Mortalita kulminuje kolem 4. týdne od začátku onemocnění a poté se v průběhu dalších 4 týdnů zase snižuje.

Klinické příznaky. Infikované ryby jsou letargické, plavou na boku nebo ve hřbetní poloze, s ocasní ploutví svěřenou dolů. V terminálních stádiích leží na boku na dně nádrže a hynou (4,5).

Patologické změny. Patognomický je nález vláknité plísně v luminu plynového měchýře. Většinou je nacházena zánětlivá reakce okolních tkání. Ve stěně žaludku a v gonádách mohou být přítomny petechie, v ledvinách hemoragie a nekrotická ložiska. Dorzální aorta bývá často ucpána myceliem (4). Faisal et al. (8) popisují exoftalmus, ložiskové měknutí kůže a svaloviny a změnu zabarvení. V dutině tělní bývají světlá játra a adheze mezi plynovým měchýřem a gastrointestinálním traktem. Plynový měchýř bývá bez vzduchu, vyplněný bílou sýrovitou nekrotickou hmotou, ve stěně plynového měchýře je výrazné překrvení cév. Žaludek bývá zvětšený, obsahuje žlutou tekutinu. Přilehlé části ledvin a svaloviny jsou hemoragické.

V histologických řezech je patrný multifokální nekrotizující a granulomatózní zánět plynového měchýře, ledvin, cév, svaloviny, žaludku a peritonea. Všude jsou přítomny plísňové hyfy.

Diagnóza. Stanovení diagnózy je založeno na nálezů typických patologických změn a především na přítomnosti plísňových vláken v luminu plynového měchýře i v jiných orgánech. Plíseň *Phoma herbarum* je možno kultivovat na Sabouraudově agaru s přidávkem 2% dextrózy, na kukuřičném nebo bramboro-dextrózovém agaru (5,8).

Terapie. Není propracována.

Prevence. Nejlepší prevencí je odchov nejmladších věkových kategorií v prostředí nezamořeném sporami. V chovech s výskytem tohoto onemocnění je doporučována dezinfekce nádrží prováděná 2× až 3× ve dvacetidenních intervalech (bez přítomnosti ryb) přípravky účinnými proti plísním (chlorové preparáty, formaldehyd).

LITERATURA

1. Řehulka, J., Kolarik, M., Hubka, V., 2017. Disseminated infection due to *Exophiala pisciphila* in Cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi*. Journal of Fish Diseases 40: 1015–1024.
2. Řehulka, J., Kubátová, A., Hubka, V., 2016. *Cephalotheca sulfurea* (Ascomycota, Sordariomycetes), a new fungal pathogen of the farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Journal of Fish Diseases 39: 1413–1419.
3. Ross, A.J., Yasutake, W.T., Leek, S., 1975. *Phoma herbarum*, a fungal plant saprophyte, as a fish pathogen. Journal of the Fisheries Research Board of Canada 32: 1648–1652.
4. Wood, J.W., 1968. Diseases of Pacific salmon: their Prevention and Treatment. State of Washington Department of Fisheries, Hatchery Division, 75 p.
5. Burton, T.O., Meyers, T.R., Starkey, N.S., Follet, J.E., 2004. Experimental transmission of the fungus *Phoma herbarum* to Chinook Salmon. Journal of Aquatic Animal Health 16: 251–257.
6. Gozlan, R.E., Marshall, W.L., Lilje, O., Jessop, C.N., Gleason, F.H., Andreou, D., 2014. Current ecological understanding of fungal-like pathogens of fish: what lies beneath? Frontiers in Microbiology, Frontiers Media 5, 62 p.
7. Boerema, G.H., 1964. *Phoma herbarum* westend, the type-species of the *Phoma*-genus. Persoonia 3: 9–16.

8. Faisal, M., Elsayed, E., Fitzgerald, S.D., Silva, V., Mendoza, L., 2007. Outbreaks of phaeohyphomycosis in the chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) caused by *Phoma herbarum*. *Mycopathologia* 136: 41–48.
9. Hatai, K., Fujimaki, Y., Egusa, S., Jo, Y., 1986. A visceral mycosis in ayu fry, *Plecoglossus altivelis* Temminck and Schlegel, caused by a species of *Phoma*. *Journal of Fish Diseases* 9: 111–116.
10. Ali, E.H., Hashem, M., Al-Salahy, M.B., 2011. Pathogenicity and oxidative stress in Nile tilapia caused by *Aphanomyces laevis* and *Phoma herbarum* isolated from farmed fish. *Diseases of Aquatic Organisms* 94: 17–28.
11. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. *Choroby ryb*. Ediční středisko Veterinární a farmaceutické univerzity Brno, pp. 155.
12. Wood, J.W., 1979. *Diseases of Pacific salmon: their prevention and treatment*. Washington Department of Fisheries, Olympia.

3.10. ICHTHYOSPOREA (MESOMYCETOZOA)

Ivana Papežíková

Jde o rozmanitou skupinu osmotrofních organismů, vázaných na různé druhy živočichů (ryby, obojživelníci, ptáci, savci i bezobratlí)(1). Jsou to buď komensálové nebo parazité. Rozmnožují se nepohlavně, uvolňováním pohyblivých zoospor, améboidních zárodků anebo nepohyblivých endospor (2).

3.10.1. ICHTYOFONÓZA

Úvod. Ichtyofonóza (ichthyophoniasis piscium) je systémové granulomatózní onemocnění způsobené původcem *Ichthyophonus hoferi*. Ve starší literatuře bývá označováno také jako ichthyosporidióza. Choroba je známá od konce 19. století. V roce 1893 ji popsal von Hofer (3) a nazval ji „vrtohlavost lososovitých“. Původce byl popsán a pojmenován až v roce 1911 (4). Choroba se vyskytuje u sladkovodních, brakických i mořských druhů ryb. Byla popsána v mnoha oblastech mírného klimatického pásma i v některých tropických oblastech. U nás se v současné době vyskytuje výjimečně a její ekonomický i ekologický význam je malý. V minulosti se u nás choroba vyskytovala v chovech lososovitých ryb, kde byly ke krmení používány nedostatečně tepelně upravené produkty z mořských ryb. Ve starší literatuře je ichtyofonóza často popisována i v chovech akvarijních ryb, ale pravděpodobně byla tehdy zaměňována s mykobakteriózou a s jinými chorobami, projevujícími se podobně jako ichtyofonóza tvorbou granulomů (5).

Původce. Vývoj původce byl studován *in vitro* (6), vývojový cyklus v těle hostitele není dosud dokonale popsán. Nejčastěji pozorovaným vývojovým stádiem parazita je mnohojaderný schizont – kulovitý útvar se silnou stěnou a jemně granulovanou cytoplazmou, opouzdřený hostitelskou tkání. Schizont je někdy popisován i jako spora, klidová spora nebo cysta (2). Po pozření napadených tkání se v trávicím traktu hostitele uvolní ze schizonta améboidní zárodky, které krevní a lymfatickou cestou pronikají do tkání. Jakmile jsou cirkulující zárodky příliš velké na to, aby prošly kapilárami, usazují se ve tkáních a vytváří se další generace schizontů (7), které se postupně zvětšují. Velikost schizontů se pohybuje mezi 10–250 μm (8). V pokusech *in vitro* bylo prokázáno, že v prostředí s pH 7–9 (např. tkáně živých ryb nebo lumen střeva) vznikají ze schizontů améboidní zárodky, zatímco v prostředí s nízkým pH (např. tkáně uhynulých ryb) se vytvářejí germinální vlákna – pseudohyfy (nepravé hyfy, vznikající zřetěžením jednotlivých buněk)(2,7), v jejichž rozšířených koncích se tvoří terminální spory (6).

Vnímavé druhy. Napadení bylo popsáno u mnoha skupin živočichů (korýši, chrupavčité i kostnaté ryby, obojživelníci, plazi a rybožraví ptáci). Hlavními hostiteli jsou ryby. Původce napadá sladkovodní i mořské ryby a byl popsán u více než 80 druhů. Nízká druhová specifita původce však naznačuje, že spektrum vnímavých druhů je pravděpodobně mnohem širší, než bylo dosud popsáno (9).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Onemocnění je nejčastěji pozorováno u mořských ryb. U mnoha popsáných infekcí sladkovodních ryb byla dohledána návaznost na mořské ekosystémy – například krmení ryb v intenzivních chovech tepelně neupravenými produkty z mořských ryb. Ve volných vodách může dojít k zavlečení původce migrujícími anadromními druhy (10). Onemocnění se přenáší horizontálně. Přestože byl v několika případech původce nalezen i v ováriích, vertikální přenos nebyl prokázán. Dosud byly popsány dva způsoby nákazy.

Nejčastější je nákaza *per os* po konzumaci kontaminovaného krmiva anebo nemocných nebo uhynulých ryb, jejichž tkáně obsahují infekční stádia (11). Dále byla popsána nákaza kontaktem s nemocnými rybami nebo s kontaminovanou vodou; způsob nákazy při této cestě přenosu zatím není znám, předpokládá se také cesta *per os*, případně nákaza přes žábry nebo přes poškozenou kůži.

Podmiňující faktory. Mezi hlavní podmiňující faktory patří nízká teplota vody a zhoršená kondice ryb. Původce je schopen růstu při teplotách 0–25 °C a pH 3–9, jeho teplotní optimum je 10 °C. V mořské vodě zůstávají spory životaschopné až dva roky.

Průběh a vývoj onemocnění. V našich podmínkách probíhá onemocnění obvykle chronicky; úhyny bývají sporadické. U atlantických sledů (*Clupea harengus*) byly popsány hromadné akutní infekce s vysokou mortalitou (11), postižené ryby hynuly 30–180 dní po nakažení (8).

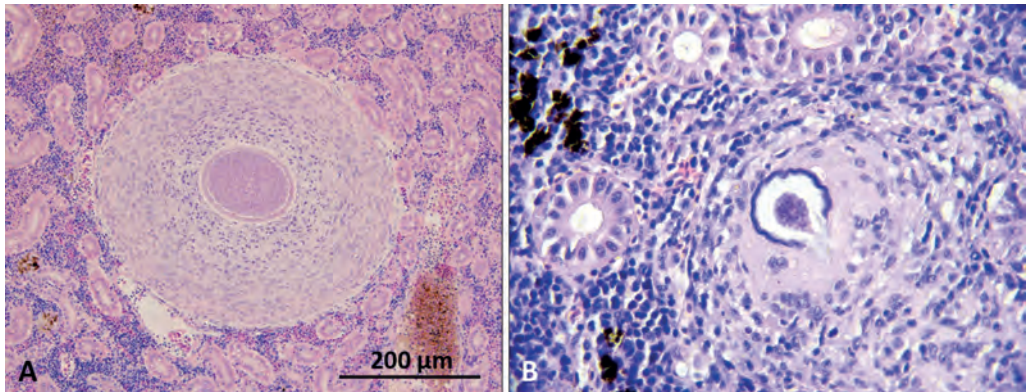
Z pozřených schizontů se v trávicím traktu uvolňují pohyblivé améboidní zárodky (7), které pronikají do krve a do lymfatického systému, kde se usazují v kapilárním řečišti. Hlavním místem, kde původce nacházíme, jsou bohatě prokrvené tkáně (játra, slezina, ledviny a srdce). Zde dochází k proliferaci a infekční stádia se šíří do okolní tkáně a přes krevní a lymfatický systém do celého těla. Typické schizonty nacházíme ve tkáních od 20. až 25. dne po pozření infekčního materiálu (7). Kolem schizontů se zpočátku rozvíjí lokální zánětlivá reakce (8), později dochází k opouzdření původce hostitelskou tkání – vznikají granulomy se schizonty v centru. Po úhynu hostitele dochází k masivní replikaci původce, což pravděpodobně souvisí s poklesem pH ve tkáních uhynulých ryb a s absencí obranných mechanismů. Už několik hodin po úhynu ryby se vytvářejí pseudohyfy, v jejichž rozšířených koncích se tvoří terminální spory (6). Infikované ryby proto představují pro zdravé jedince značné riziko nákazy i dlouhou dobu po úhynu.

Klinické příznaky. Postižené ryby jsou netečné, ztrácejí rovnováhu a nekoordinovaně plavou. Podle těchto příznaků dostala choroba svůj původní název „vrtohlavost“. Ryby jsou často tmavě vybarvené, buď po celém těle, nebo jen lokálně a mívají zvětšenou tělní dutinu a exoftalmus. Na kůži někdy nacházíme drobné eroze.

Patologické změny. Nemocné ryby bývají ve špatném výživném stavu. Ve tkáních (především v srdci, játrech, slezině a ledvinách) nacházíme bělavé uzlíky až o velikosti špendlíkové hlavičky, na povrchu těla se někdy vyskytují eroze, které bývají tmavě pigmentované. Akutní infekce vede k degeneraci a nekróze svaloviny, maso postižených ryb je nevhodné ke konzumaci – má nepříjemný pach (8), je měkké, slizké a v okolí ložisek infekce často tmavě pigmentované. Někdy se ve svalovině vyskytují petechie.

Diagnóza. Při stanovování diagnózy vycházíme z klinických příznaků a z patologického nálezu. Dalším krokem je mikroskopické vyšetření nativních kompresních preparátů z postižených tkání, ve kterých nacházíme tmavě hnědé kulovité útvary (schizonty) o velikosti 10–250 μm (10). Diagnózu potvrdíme histologickým vyšetřením (obr. 3.10.1.1). Ve tkáních s bohatým krevním zásobením (játra, slezina, srdce), případně ve svalovině nacházíme v počátečních stádiích infekce schizonty, později se vytvářejí granulomy (11). V pozdějších stádiích infekce dochází k rozpadu schizontů, takže v centru starších granulomů se už původci nevyskytují. Ke zviditelnění původce lze použít barvení PAS (8), barvení dle Giemsy (5), anebo základní barvení hematoxylinem/eosinem (13). Diagnózu definitivně potvrdíme kultivací. *Ichthyophonus hoferi* je schopen růst na řadě tekutých i pevných médií (např. na Sabouradově agaru s přidavkem 1% fetálního bovinního séra, TGC-10 nebo BM-10 s přidavkem 10% fetálního bovinního séra). Optimální růst byl pozorován na MEM-10 o pH 7 s přidavkem 10% fetálního bovinního séra. Do média se doporučuje přidat antibiotika k potlačení růstu bakterií

(6). Kultivace se provádí z čerstvého nebo zchlazeného materiálu; zamražením jsou schizonty usmrceny. Kultivujeme při teplotě 10 °C po dobu 7–10 dnů. Druhové určení provádíme na základě morfologie a pomocí molekulárních metod (PCR). Doporučuje se provádět druhové určení kultury už po 7 dnech kultivace, protože později ji často přerostou kontaminující kvasinky a plísně (12). Diferenciálně diagnosticky přicházejí v úvahu choroby projevující se makroskopicky tvorbou drobných erozí a uzlíků a choroby, u kterých ve tkáních nacházíme granulomy. Jedná se především o mykobakteriózu, renibakteriózu a myxosporeózu. V případě postižení kůže je třeba kultivaci odlišit furunkulózu a flavobakteriózu (5).



Obr. 3.10.1.1. *Ichthyophonus hoferi*, granulom v ledvinách s kulovitým silnostěnným schizontem ve středu (A); klíčící spora (B)(H&E). (Foto: A – I. Dyková, B – H. Smith-Posthaus)

Terapie. Účinná terapie zatím není k dispozici.

Prevence. Nejdůležitějším preventivním opatřením v intenzivních chovech je pravidelné odstraňování uhynulých ryb a nezkrmování tepelně neupravených produktů z mořských ryb. Původce v infekčním materiálu zlikvidujeme tepelným ošetřením (zahřátím minimálně na 40 °C anebo zmražením na -20 °C (9).

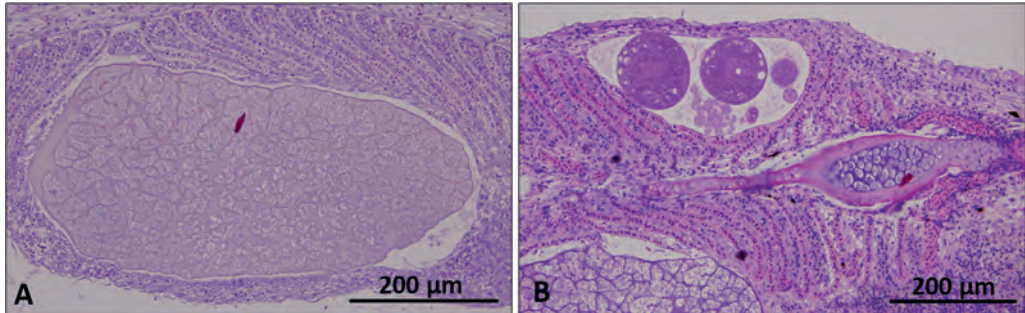
3.10.2. DERMOCYSTIDÓZA

Úvod. Dermocystidóza je onemocnění způsobené organismy rodu *Dermocystidium*.

Původce. Rod *Dermocystidium* zahrnuje několik druhů, které jsou rozděleny do tří skupin na základě rozdílů v morfologii a průběhu infekce (14). Původci vytvářejí cysty, nejčastěji na kůži nebo na žábřácích. Zralé cysty jsou vyplněny endosporami o velikosti 3–6 μm (obr. 3.10.2.1). Endospory mají kulovitý tvar a velké centrální tělíčko obklopené úzkým lemem cytoplazmy, která obsahuje drobné kompaktní jádro (15). U některých druhů *Dermocystidium* spp. mohou mít endospory uvnitř cysty nestejnou velikost (13). Některé druhy (např. *D. koi*) vytvářejí hyfy se sporama uvnitř (16). V pokusech *in vitro* bylo prokázáno, že endospory uvolněné z cyst se mění v pohyblivé zoospory, které aktivně plavou pomocí jediného bičíku a infikují hostitele. Na těle napadené ryby se vytváří cysta, která se postupně zvětšuje; uvnitř cysty vzniká další generace endospor (2).

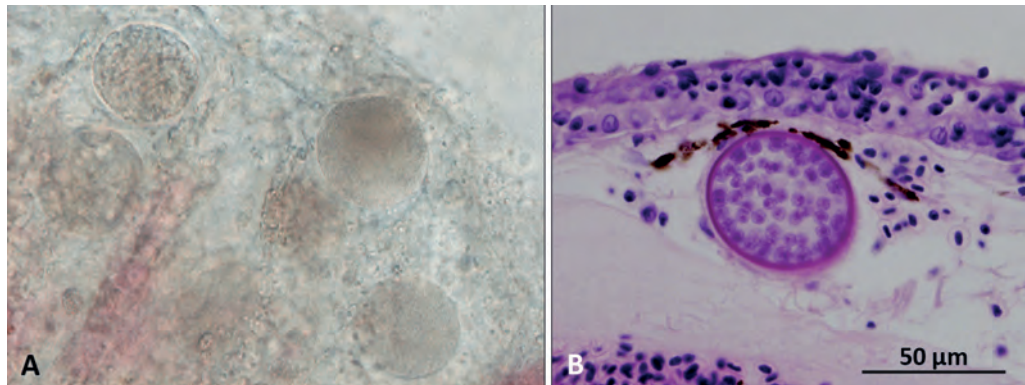
Vnímavé druhy. Dermocystidóza byla popsána u řady druhů ryb, například u kapra obecného (*Cyprinus carpio*), karasa obecného (*Carassius carassius*), úhoře říčního (*Anguilla anguilla*),

okouna říčního (*Perca fluviatilis*), ježdíka obecného (*Gymnocephalus cernua*), pstruha potočního (*Salmo trutta*), pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a lososa obecného (*Salmo salar*). Vyskytuje se i u akvariijních ryb.



Obr. 3.10.2.1. Cysty *Dermocystidium cyprini* na žábrách (H&E). (Foto: I. Dyková)

Zamoření prostředí a nakažení hostitele. K přenosu dochází kontaktem ryb s kontaminovanou vodou (17). Experimentálně byla prokázána nákaza *per os* (18).



Obr. 3.10.2.2. *Dermocystidium* sp., cysty na žábrách, nativní kompresní preparát (A); histologický řez kůže pstruha duhového (B)(H&E). (Foto: A – M. Palíková, B – I. Dyková)

Klinické příznaky. Onemocnění se nejčastěji projevuje tvorbou cyst různých tvarů a velikostí (obr. 3.10.2.2). Cysty jsou kulovité nebo oválné, obvykle mají v průměru 1–10 mm (19) a vystupují nad povrch okolní tkáně. Masivní výskyt původce může být doprovázen příznaky dušení.

Patologické změny. Cysty najdeme většinou na žábrách, na kůži nebo na ploutvích, ale mohou se vyskytovat i na jiných místech, například v oku (20).

Diagnostika. Onemocnění diagnostikujeme na základě patologicko-anatomického nálezu a výsledku mikroskopického, případně histopatologického vyšetření. Pro mikroskopické vyšetření zhotovujeme kompresní preparáty z celých cyst, anebo prohlížíme obsah cyst a hledáme spory. Spory lze zvýraznit barvením, například methylenovou modří nebo hematoxylinem/eosinem (13).

Terapie. Účinná terapie dermocystidózy zatím není k dispozici.

LITERATURA

1. Glockling, S.L., Marshall, W.L., Gleason, F.H., 2013. Phylogenetic interpretations and ecological potentials of the Mesomycetozoea (Ichthyosporea). *Fungal Ecology* 6: 237–247.
2. Mendoza, L., Taylor, J.W., Ajello, L., 2002. The class Mesomycetozoea: a heterogenous group of microorganisms at the animal – fungal boundary. *Annual Review of Microbiology* 56: 315–344.
3. von Hofer, B., 1893. Eine Salmonidenerkrankung. *Allgemeine Fischereizeitung* 18: 168–171.
4. Plehn, M., Mulsow, K., 1911. Der erreger der Taumelkrankheit der sallmoniden. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde Infektionskrankheiten und Hygiene* 59, 63–68.
5. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. Vydalo VFU Brno, 155 s.
6. Franco-Sierra, A., Alvarez-Pelittero, P., 1999. The morphology of *Ichthyophonus* sp. in their mugilid hosts (Pisces: Teleostei) and following cultivation *in vitro*. A light and electron microscopy study. *Parasitology Research* 85: 562–575.
7. Kocan, R., LaPatra, S., Hershberger, P., 2013. Evidence for an amoeba-like infectious stage of *Ichthyophonus* sp. And description of a circulating blood stage: a probable mechanism for dispersal within the fish host. *Journal of Parasitology*, 99: 235–240.
8. Rahimian, H., 1998. Pathology and morphology of *Ichthyophonus hoferi* in naturally infected fishes off the Swedish west coast. *Diseases of Aquatic Organisms* 34: 109–123.
9. McVicar, A.H., 1999. *Ichthyophonus* and related organisms. In: Woo, P.T.K. and Bruno, D. W. (Eds). *Fish Diseases and Disorders, Volume 3, Viral, Bacterial and Fungal Infections*. CABI Publishing, New York, pp. 661–687.
10. McVicar, A.H., 2013. *Ichthyophonus*, a Systemic Mesomycetozoan Pathogen of Fish. ICES Identification Leaflets for Diseases and Parasites of Fish and Shellfish.
11. Kocan, R.M., Hershberger, P., Mehl, T, Elder, N., Bradley, M., Wildermuth, D., Stick, K., 1999. Pathogenicity of *Ichthyophonus hoferi* for laboratory-reared Pacific herring *Clupea pallasii* and its early appearance in wild Puget Sound herring. *Diseases of Aquatic Organisms* 35: 23–29.
12. Hershberger, P., 2014: *Ichthyophonus* disease (Ichthyophoniasis). In: Thoesen, J. C. (Ed.) *Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens Blue Book*. Western Fisheries Research Center, chapter 3. 2. 18.
13. Bruno, D.W., Nowak B., Elliott D.G., 2006. Guide to the identification of fish protozoan and metazoan parasites in stained tissue sections. *Diseases of Aquatic Organisms* 70: 1–36.
14. Lom, J., Dykova, I., 1992. Protozoan parasites of fishes. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 26: 65–68.
15. Eiras, J.C., Silva-Souza, A.T., 2000. A *Dermocystidium* Infection in *Trichomycterus* sp. (Osteichthyes, Trichomycteridae). *Parasite* 7: 323–326.
16. Wildgoose, W.H., 1995. *Dermocystidium koi* found in skin lesions in koi carp (*Cyprinus carpio*). *Veterinary Record* 137:317–318.
17. Olson, R.E., Dungan, C.F., Holt, R.A., 1991. Water-borne transmission of *Dermocystidium salmonis* in the laboratory. *Diseases of Aquatic Organisms* 12: 41–48.
18. McVicar, A.H., Wootten R., 1980. Disease in farmed juvenile Atlantic salmon caused by *Dermocystidium* sp. In: Ahne, W. (Ed.). *Fish Diseases: Third COPRAQ Session*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 165–173.

19. Untergasser, D., 1989. Fungal and Algal Diseases. In: Axelrod, D.R. (Ed.). Handbook of Fish Diseases. T. F. H. Publications, pp. 81-83.
20. Molnár, K., Müller, T., Lefler, K.K., Csorbai, B., 2008. *Dermocystidium* infection in the eye of crucian carp. Magyar Allatorvosok Lapja 130: 53-56.

3.11. METAZOA

Mnohobuněční paraziti ryb představují velkou skupinu organismů, které se přizpůsobily parazitickému způsobu života. Pro zástupce parazitických „červů“ z kmene ploštěnců (Platyhelminthes) se často používá z latiny odvozený termín helminti, nicméně mezi mnohobuněčné parazity patří i zástupci kmene členovců (**Arthropoda**). Mezi helminty jsou zahrnováni zástupci jednorodých (**Monogenea**), tasemnice (**Cestoda**), motolice (**Trematoda**), dále hlístice (**Nematoda**) včetně strunovců (Nematomorpha), vrtejši (**Acanthocephala**) a kroužkovci (**Annelida**) – pijavice (**Hirudinea**).

Metazoa napadají většinu tělesných orgánů ryb, kde parazitují jako larvální stádia nebo dospělci. Někteří z nich jsou známými původci onemocnění ryb. Ovlivňují zdraví a přirozenou reprodukci svých hostitelů, kteří se pak stávají snadnou kořistí pro dravce, a snižují jejich odolnost vůči různým infekcím a nepříznivým podmínkám prostředí. Přemnožení v chovech ryb způsobuje až epidemie s vysokou mírou hostitelské mortality a značnými ekonomickými ztrátami. Někteří rybí paraziti mají rovněž zoonotický potenciál a mohou způsobit onemocnění člověka (1).

Z hlediska evolučního původu i ontogenetického vývoje jsou metazoární parazité velmi variabilní skupinou. Kromě dospělců a vajíček mohou mít i poměrně velký počet morfologicky odlišných larválních stádií, využívajících během ontogeneze i několik typů hostitelů.

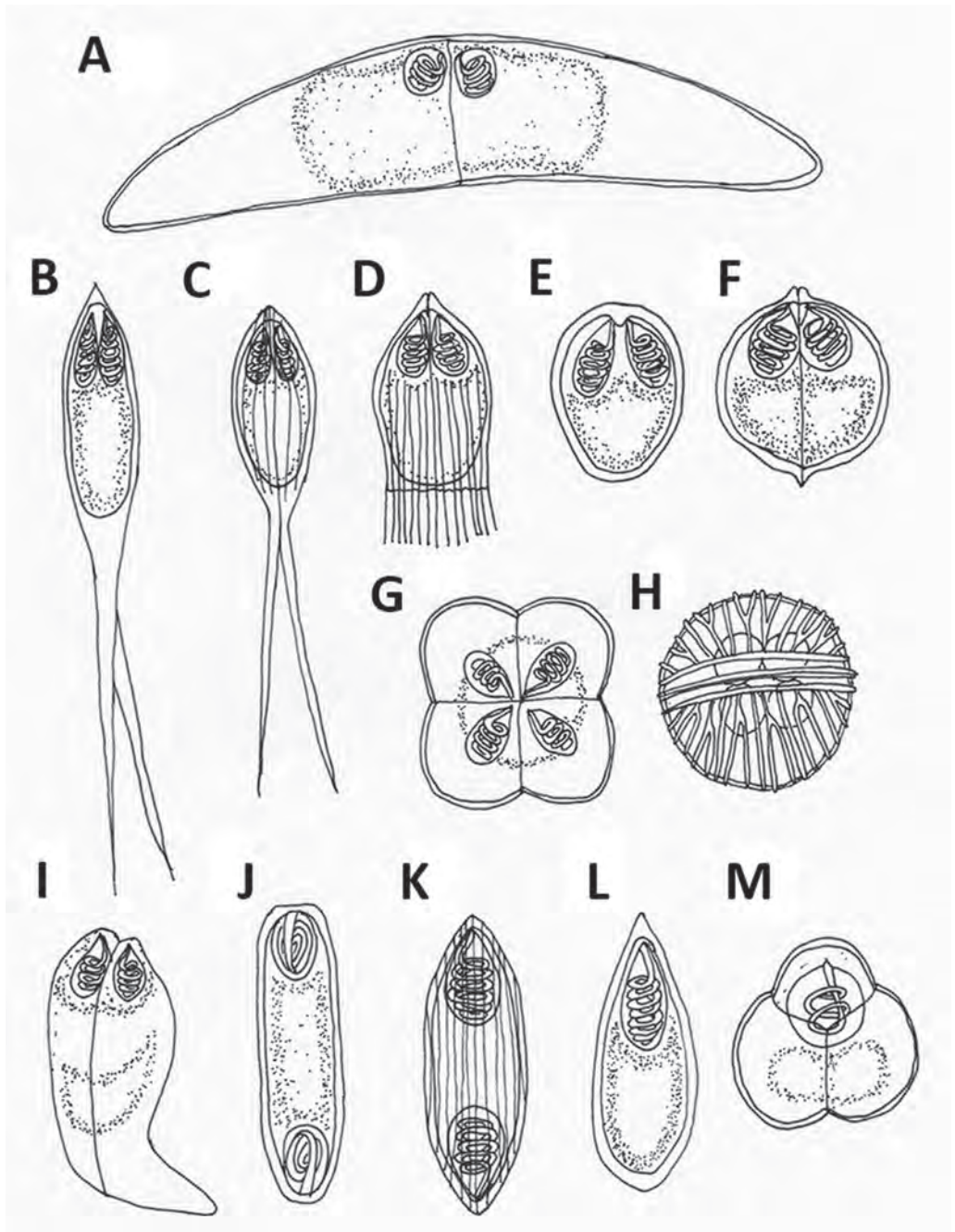
U helmintů se kromě **přímých cyklů** s jedním (definitivním) hostitelem (např. u monogeneí) setkáme i s **vícehostitelskými cykly** (např. u tasemnic), do kterých jsou obvykle zapojeni 1–2 mezihostitelé. **Definitivním hostitelem** rozumíme organismus, ve kterém dochází k pohlavnímu dospívání a sexuální reprodukci helmintů. **Mezihostitelem** je pak živočich, ve kterém dochází k larválnímu vývoji helmintů. Pro efektivnější přenos na další obligátní hostitele mohou helminti využívat i tzv. **paratenické** (transportní) **hostitele**, ve kterých se mohou infekční larvální stádia hromadit, ale nedochází k jejich dalšímu vývoji (2).

Nově byla do této skupiny zařazena i **Myxozoa**, která mají přímý nebo dvojhositelský vývojový cyklus.

3.11.1. MYXOZOA

Miroslava Palíková

Myxozoa jsou řazena podle fylogenetických analýz k žahavcům (Cnidaria)(1). Jsou to cizopasníci se složitými životními cykly. Vyznačují se vysokou orgánovou specifičností a širokým hostitelským spektrem. Jsou rozšířena celosvětově a vyskytují se ve slaných i sladkých vodách. Hostitelská specifičnost není u všech druhů myxozoi stejná, některé druhy se vyznačují vysokou specifičností, jiné specifičností na úrovni čeledi a další vykazují širokou hostitelskou specifičtí. Myxozoa zahrnují velkou škálu původců chorob a někteří vyvolávají závažná onemocnění doprovázená velkými ekonomickými ztrátami. Charakteristickým znakem početné skupiny je tvorba mnohobuněčných spor s pólovými váčky obsahujícími vymrštitelná pólová vlákna. Při kontaktu spory s tkání hostitele (kůže, žábry, epitel zažívacího traktu) se pólové vlákno uvolňuje z pólového váčku a přichytí se k hostitelské tkáni. Chlopně spory se otevírají a uvolňuje se sporoplazma, která proniká do hostitele. Myxozoa tvoří dvě morfologicky odlišné skupiny: **Myxosporea** a **Malacosporea**. Řada druhů má složitý dvojhospitelský vývojový cyklus, ve kterém definitivními hostiteli jsou Annelida (kroužkovci), vzácněji Sipuncula (sumýšovci) u Myxosporea nebo Bryozoa (mechovky) u Malacosporea. Některé druhy nemají bezobratlého hostitele a přenos je přímý, u dalších druhů není vývojový cyklus dosud objasněn. Infekční spory uvolňované z kroužkovců se obecně nazývají **aktinospory**, z mechovek **malakospory**. Spory uvolňované rybami se nazývají **myxospory** (u proliferativního onemocnění ledvin **rybí malakospory**). Taxonomie myxozoi je založena na morfologii spor, na počtu jejich chlopní a pozici pólových váčků (2,3)(obr. 3.11.1.1).

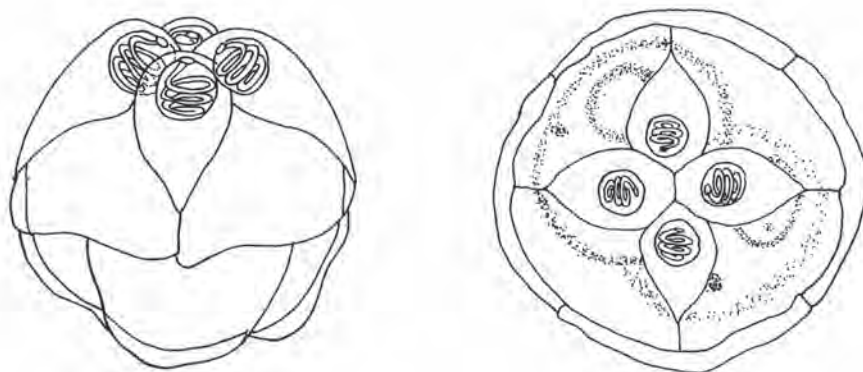


Obr. 3.11.1.1. Schematický náčrt spor významných rodů myxozoi s klíčovými morfologickými znaky (není v měřítku). V ČR se vyskytují zástupci rodů *Henneguya* (B), *Myxobilatus* (C), *Hoferelus* (D), *Myxobolus* (E), *Sphaerospora* (F), *Chloromyxum* (H), *Sphaeromyxa* (I), *Myxidium* (K) a *Thelohanellus* (L). (Kresba: V. Palík, převzato dle Feist a Longshaw [1])

3.11.1.1. PROLIFERATIVNÍ ONEMOCNĚNÍ LEDVIN

Úvod. Proliferativní onemocnění ledvin (proliferative kidney disease – **PKD**) je závažné onemocnění, které může způsobovat vážné ekonomické ztráty v chovech lososovitých ryb. Vyskytuje se v intenzivních chovech i ve volných vodách na celé severní polokouli. V současné době patří v Evropě mezi jedno z nejzávažnějších onemocnění lososovitých ryb. Klimatické změny související se zvýšením teploty zvyšují prevalenci onemocnění a jeho rozšíření (4). V některých zemích je toto onemocnění spojováno se snižováním populace pstruha obecného ve volných vodách. Problémem souvisejícím s jeho dalším šířením je výskyt subklinických forem onemocnění v přirozených podmínkách (5). Velké ekonomické ztráty způsobuje i v Severní Americe. V našich podmínkách bývá morbidita u vnímavé obsádky většinou 100 % a mortalita ryb v intenzivních chovech spojená s PKD se pohybuje kolem 30 % (6). Pokud se přidruží sekundární infekce či stres, může být mortalita mnohem vyšší.

Původce. Původcem onemocnění je *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa, Malacosporea). Jedná se o organismus s dvojhospitelským životním cyklem, v němž mechovky jsou primárními hostiteli a ryby příležitostnými konečnými hostiteli. V mechovkách i v jejich klidových stádiích – statoblastech – je *T. bryosalmonae* přítomna po celý rok, ale k uvolňování infekčních spor dochází zejména na jaře a v létě, kdy je teplota vody vyšší než 12 °C (7). V mechovkách se *T. bryosalmonae* vyskytuje ve formě váčků (350 µm) obsahujících několik tisíc spor. Z mechovek jsou infekční stádia uvolňována do vody. Spory jsou označovány jako malakospory. Jsou krátkověké, přežívají méně než 12 hodin (8). Malakospory jsou tvořeny 8 plášťovými buňkami, 4 polárními kapsulami a obsahují dvě améboidní sporoplazmy. Jejich velikost je kolem 20 µm (obr. 3.11.1.1).



Obr. 3.11.1.1. Schematický náčrt spory *T. bryosalmonae*. (Kresba V. Palík, upraveno podle Feist a Longshaw [1])

Vnímavé druhy. Za vnímavé druhy jsou považovány lososovité ryby: pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*), pstruh obecný (*Salmo trutta*), siven americký (*Salvelinus fontinalis*), lipan podhorní (*Thymalus thymalus*) a další. Je popisována rozdílná mezidruhovná, ale i meziliniová vnímavost (9). Nejvnímavějším druhem se jeví pstruh duhový (10). Onemocnění se vyskytuje i v chovech lososů. Původce byl prokázán i u štiky obecné (*Esox lucius*) (11).

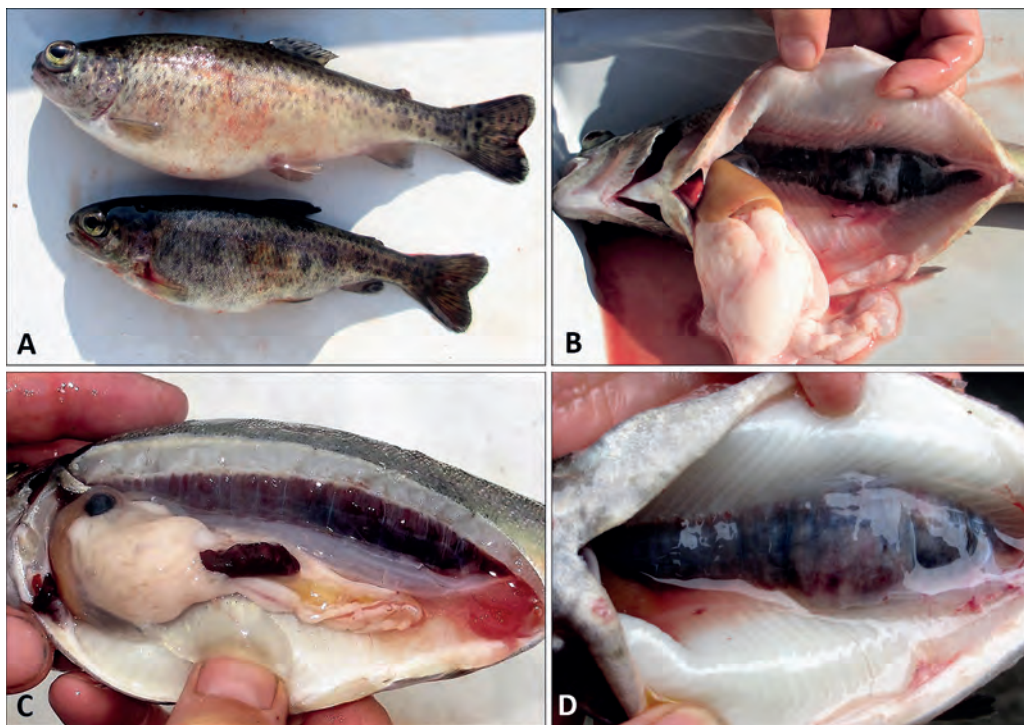
Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem infekce je voda obsahující spory uvolněné z mechovek. Malakospory pronikají do krevního oběhu přes kůži (12) nebo přes žábry (13) a jsou krví roznášeny po těle.

Podmiňující faktory. Mezi podmiňující faktory patří věk ryb: nejnímavější je roček lososovitých ryb. Dalším podmiňujícím faktorem je teplota vody nad 12 °C, která souvisí s uvolňováním spor z mechovek.

Průběh a vývoj onemocnění. Inkubační doba trvá v závislosti na teplotě vody a na dalších faktorech prostředí a stavu rybiho organismu několik týdnů. U ryb jsou popisovány dvě fáze vývoje (14). V první (extrasporogenní) fázi dochází k prudké proliferaci původců, kteří jsou roznášeni krví do všech orgánů (15). V ledvinách a slezině je masivní proliferativní reakce organismu nejdynamičtější. Přítomnost těchto stádií způsobuje proliferaci ledvinného intersticia doprovázenou enormním zvětšením orgánu. Druhá (sporogenní) fáze nastupuje zhruba za 2–3 týdny, kdy původci migrují do ledvinných tubulů a mohou vytvářet sporogenní stadia (16). Přítomnost sporogenních stádií byla experimentálně prokázána pouze u pstruha obecného a pstruha duhového, avšak zralé spory s pólovými váčky byly nalezeny pouze u pstruha obecného. Zpětné infikování mechovek se zdařilo ze pstruha obecného a sivena amerického (17). Spory (rybí malakospory) jsou vylučovány močí (18,19). Za příznivých podmínek dokáže pstruh duhový kompletně regenerovat ledvinnou tkáň a eliminovat většinu parazitů. U pstruha obecného zůstávají parazité přítomni, a tudíž může být nosičem původce PKD (20). Velkou roli v rekonvalescenci hraje imunitní systém a jeho jednotlivé složky. Vedle specifické imunitní složky se silnou humorální odpovědí se významně uplatňuje i imunita nespecifická, zejména zvýšená činnost makrofágů, zvýšení fagocytární aktivity periferních leukocytů, aj. (6,21,22). Ryby přeživší infekci se stávají odolné vůči reinfekci a nedochází u nich opakovaně k rozvoji typických příznaků onemocnění (23).

Klinické příznaky. Postižené ryby jsou apatické a nepřijímají potravu.

Patologické změny. Při makroskopickém vyšetření ryb zjišťujeme zvětšenou dutinu tělní, exoftalmus, přítomnost hemoragií v kůži a anemii žaber. Při pitvě zjišťujeme ascites, zvětšenou slezinu, zvětšení ledvin zejména v jejich kaudální části, anemii jater. V ledvinách, případně ve slezině mohou být přítomny šedavé granulomatózní útvary (obr. 3.11.1.1.2). Histologickým vyšetřením zjišťujeme změny charakterizované masivní proliferací intersticia a granulomatózní nefritidou, atrofií ledvinných tubulů, vaskulární nekrózou a tvorbou trombů. Granulomatózní změny mohou být přítomné i ve slezině, případně dalších orgánech (7).

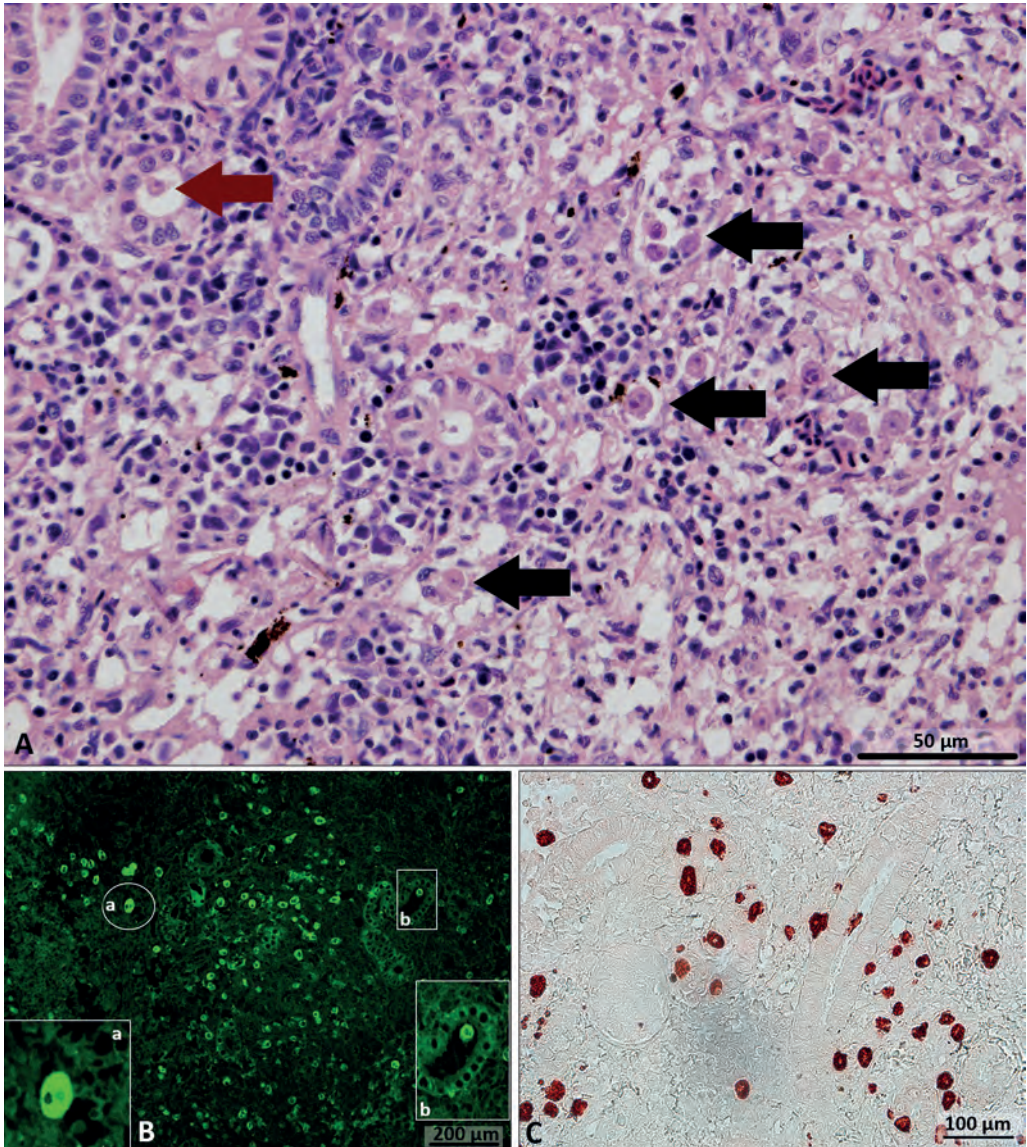


Obr. 3.11.1.1.2. Patologické změny typické pro PKD. Zvětšená dutina tělní, exoftalmus, hemoragie v kůži (A); hemoragická tekutina v dutině tělní, zduření ledvin v kaudální části, anemie jater (B); zduření ledvin, zvětšená slezina s drobnými šedavými ložisky (C); zduření kaudální části ledvin s nápadnými šedavými ložisky (D). (Foto: M. Palíková)

Diagnóza. Diagnóza je založena na posouzení patologických změn a na histologickém průkazu extrasporogenních nebo sporogenních stádií v ledvinách, případně v dalších orgánech. Tato stádia jsou tvořena primární buňkou, v ní se nachází jedna a více sekundárních buněk a v nich někdy buňky terciální. Pro prokázání původce je možné použít komerčně dostupné monoklonální protilátky a histologické řezy obarvit imunohistochemicky (AquaMab-P01, Aquatic Diagnostics; 24)(obr. 3.11.1.1.3). Původce je možné rovněž detekovat pomocí PCR.

Terapie. Účinná terapie není dosud známa. Pro snížení mortality je popisováno postupné zvyšování salinity vody až na 1,2 % během 14 dnů.

Prevence. Z preventivního hlediska je nutné udržovat optimální podmínky v chovu a tím minimalizovat vznik koinfekcí, které zhoršují průběh onemocnění a zvyšují mortalitu, nepoužívat vodu, ve které jsou přítomny infikované mechovky. K eliminaci infekčních stádií myxozoi je doporučováno ošetření vody UV nebo ozonem. V ohrožených chovech je vhodné nasazovat odolnější lososovité druhy, resp. linie ryb. Rovněž lze využít strategie vysazení ryb do infekčního prostředí až v podzimních měsících. Tyto ryby jsou v následujícím roce odolnější vůči PKD (25). Výzkumné aktivity směřují k vývoji DNA vakcín.

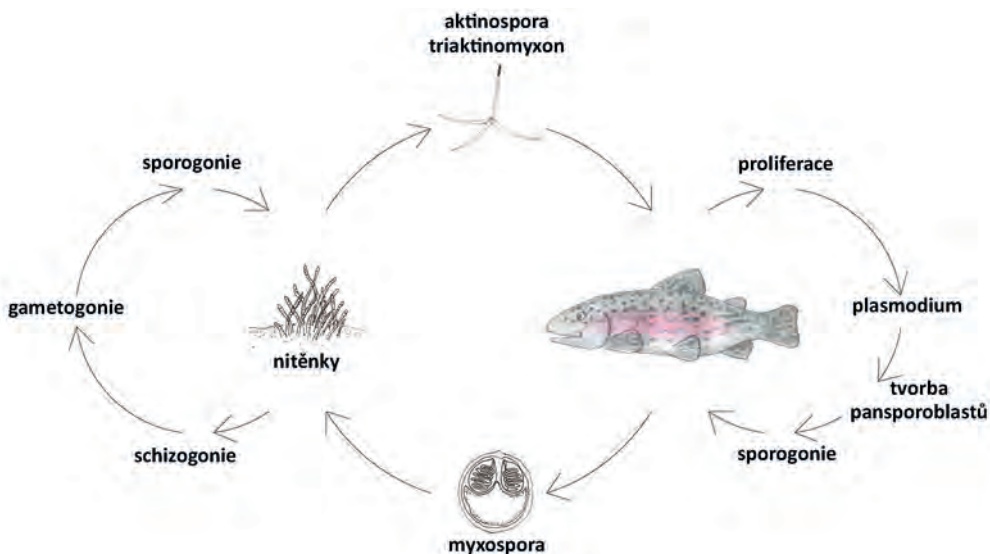


Obr. 3.11.1.1.3. Histologický, imunofluorescenční a imunohistochemický průkaz původce PKD v ledvinách. Extraparogenní stádia v ledvinném parenchymu (modré šipky) a sporogenní stádium v ledvinném tubulu (červená šipka) pstruha duhového, (H&E)(A); fluorescenční barvení původců: (a) původce v intersticiu, (b) původce v ledvinném tubulu (B); původci PKD v ledvinné tkáni pstruha duhového obarvené imunohistochemicky (C). (Foto: M. Palíková)

3.11.1.2. MYXOBOLÓZA LOSOSOVITÝCH

Úvod. Myxobolóza lososovitých (whirling disease – **WD**, vrtohlavost) je závažné onemocnění celosvětově rozšířené v chovech lososovitých ryb. V severní Americe je uváděno jako jeden z faktorů zapříčiňujících pokles volně žijících populací pacifických lososů. U nás se většinou vyskytuje ve slabých infekcích.

Původce. Původcem onemocnění je rybmorka pstruží *Myxobolus cerebralis* (Myxozoa, Myxosporea). Jedná se o dvojhospitelský organismus, bezobratlým hostitelem jsou nitěnky obecné (*Tubifex tubifex*), lososovité ryby jsou druhým hostitelem. Vývoj (obr. 3.11.1.2.1) zahrnuje dvě fáze, v nitěnkách se označuje jako fáze aktinosporeová, v rybách jako fáze myxosporeová. Z ryb jsou uvolňovány myxospory, které jsou pozřeny nitěnkami. V nitěnkách prodělává původce složitý vývoj zahrnující tři fáze: schizogonie, gametogonie a sporogonie. Tento vývoj trvá cca 3 měsíce (26). Výsledkem je vznik infekčních aktinospor – triaktinomyxonů, které jsou uvolňovány do vody s výkaly nebo po smrti hostitele. Aktinospory jsou krátkověké a vnímavé k inaktivaci (27). V rybách probíhá proliferace původce – nejprve intracelulárně v kůži, poté v podkoží a nakonec v nervových tkáních (extrasporogenní fáze). Ke sporogonii dochází v chrupavčité tkáni ryb, kam se původci dostanou dle teploty vody za cca 2–3 týdny po nakažení (28). Sporogonii předchází tvorba mnohojaderných plazmodií. Spory v plazmodiu se vyvíjejí ve dvojicích v tzv. pansporoblastu, v němž může ještě probíhat poslední proliferace (2). Z plazmodia se uvolňují zralé myxospory, které jsou vysoce odolné (zachovávají si infekčnost po zmrazení, vystavení nízkému pH i po průchodu trávicím traktem predátorů, v bahně si uchovávají infekčnost po dobu 4 měsíců)(29). Spory jsou oválné až kulaté, silnostěnné, měří v průměru 7–10 µm. Obsahují dva stejně velké polární váčky.



Obr. 3.11.1.2.1. *Myxobolus cerebralis* – vývojový cyklus. (Kresba: V. Palík)

Vnímavé druhy. Vnímavé jsou lososovité ryby. V našich podmínkách se onemocnění vyskytuje u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), pstruha obecného (*Salmo trutta*), lipana podhorního (*Thymalus thymalus*), sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*) a hlavatky

obecné (*Hucho hucho*). Vnímavost k onemocnění je však druhově specifická a podobně jako u PKD i zde je vnímavost závislá nejenom na druhu ryby, ale i na linii (30,31). Nejvnímavější je pstruh duhový, u něhož se nemoc manifestuje závažným patologickým nálezem (32). Naopak u pstruha obecného probíhá onemocnění obvykle asymptomaticky (27).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. K nakažení hostitele dochází zejména vodou obsahující infekční stádia pro ryby nebo infikovanými nitěnkami. Zavlečení původce je rovněž možné infikovanými rybami (2), v zaživacím traktu dravých ryb nebo rybožravých ptáků. Pro další šíření původce v chovu je nutná přítomnost nitěnek pro uzavření vývojového cyklu. Místem průniku sporoplazmy triaktinomyxonu do ryby jsou kůže, žábry a ústní dutina (33,34).

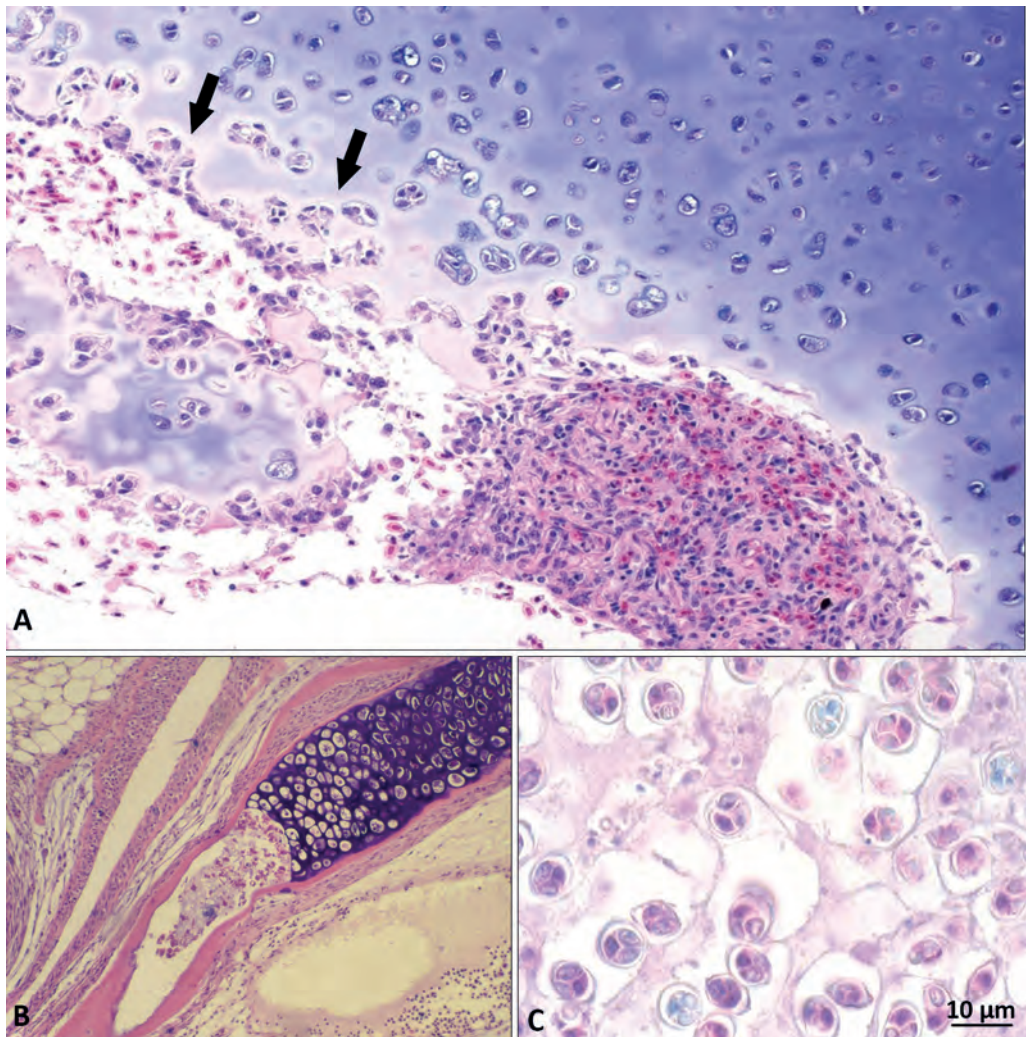
Podmiňující faktory. Hlavním podmiňujícím faktorem je věk ryb, což souvisí s osifikací kostry. Nejvnímavější jsou ryby do velikosti 6–7 cm. Dospělé ryby mohou být infikovány, ale neprojeví se u nich příznaky onemocnění (27). Jikry jsou odolné. Významným faktorem je i teplota vody. Nejvíce aktinospor je z nitěnek uvolňováno při teplotě vody 10–15 °C, při vyšší a nižší teplotě je uvolňování minimální. V chladnější vodě vydrží aktinospory déle životaschopné (28).

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh onemocnění může být perakutní až chronický v závislosti na věku ryb, teplotě vody, intenzitě napadení a lokalizaci původce. Inkubační doba se v závislosti na výše uvedených faktorech pohybuje mezi 12 až 70 dny. Intracelulární stádium proliferace původce a migrace nervovým systémem uniká rozpoznání hostitelským imunitním systémem a v této počáteční fázi onemocnění není patrná žádná buněčná reakce. Množství parazitů podléhá spontánní degeneraci, pravděpodobně díky humorální reakci kůže. Po dosažení chrupavčité tkáně ji vyvíjející se plazmodia destruuji – fagocytují chondrocyty a dochází k rozpadu chrupavky. Tento proces vyvolává silnou buněčnou odpověď hostitele manifestovanou v chrupavčité tkáni. Významnou roli hrají tkáňové makrofágy. Hostitelská imunitní odpověď se liší v závislosti na druhu ryby a teplotě vody (34). Perakutní průběh je vázán na lokalizaci plazmodií v blízkosti životně důležitých center. Při akutním průběhu onemocnění působí patologické procesy probíhající v chrupavčité tkáni na přilehlou nervovou tkáň a vyvolávají pestré klinické projevy a patologické změny (nekoordinované pohyby, poruchy zbarvení kůže, postupné hynutí). Napadení chrupavek se může projevit vznikem různých tvarových deformací. U přeživších jedinců onemocnění přechází do chronické formy charakterizované tvorbou spor. Tito jedinci získávají značnou rezistenci vůči reinfekci (35).

Klinické příznaky. Při akutní formě onemocnění se vyskytují poruchy plavání – nekoordinované pohyby, pohyb do kruhu. Typickým klinickým příznakem je otáčivý pohyb ryb, tzv. vrtohlavost, způsobený zúžením páteřního kanálu a tlakem na páteřní míchu (36). Ryby nepřijímají potravu a postupně hynou.

Patologické změny. Ryby mají často tmavě pigmentovanou kaudální část těla. Při chronickém průběhu se objevují deformace lebky, čelistí, žaberních chrupavek, obratlů, skelového víčka či ploutevních paprsků. Histologickým vyšetřením zjišťujeme nekrózu chrupavčité tkáně zejména na hlavě a páteři (obr. 3.11.1.2.2).

Diagnóza. Diagnóza je založena na posouzení klinických a patologických změn a na laboratorním potvrzení přítomnosti původce. To lze v akutní fázi onemocnění potvrdit histologickým vyšetřením chrupavek s nálezem nekrotických změn v chrupavčité tkáni a přítomností plazmodií. Nález spor je možný až po jejich tvorbě, což je v závislosti na teplotě zhruba za 3 měsíce. Spory se hledají po mechanickém rozmělnění lebečních chrupavek nebo žaberních oblouků, popřípadě po jejich natrávení trypsinem. Tkáňová drť se centrifuguje a v sedimentu se hledají spory při zvětšení 400× (37). Původce je možné rovněž detekovat pomocí PCR.



Obr. 3.11.1.2.2. Myxobolóza lososovitých: histologický řez postiženou chrupavkou: vlevo dole destruovaná a strávená chrupavka, nad ní oblast s plazmodii pronikajícími do chrupavčité tkáně a s úbytkem chondrocytů (šipky)(A); ostře ohraničená oblast destruované chrupavky (B); myxospory v degenerované chrupavce pstruha (C)(H&E). (Foto: H. Schmidt-Posthaus)

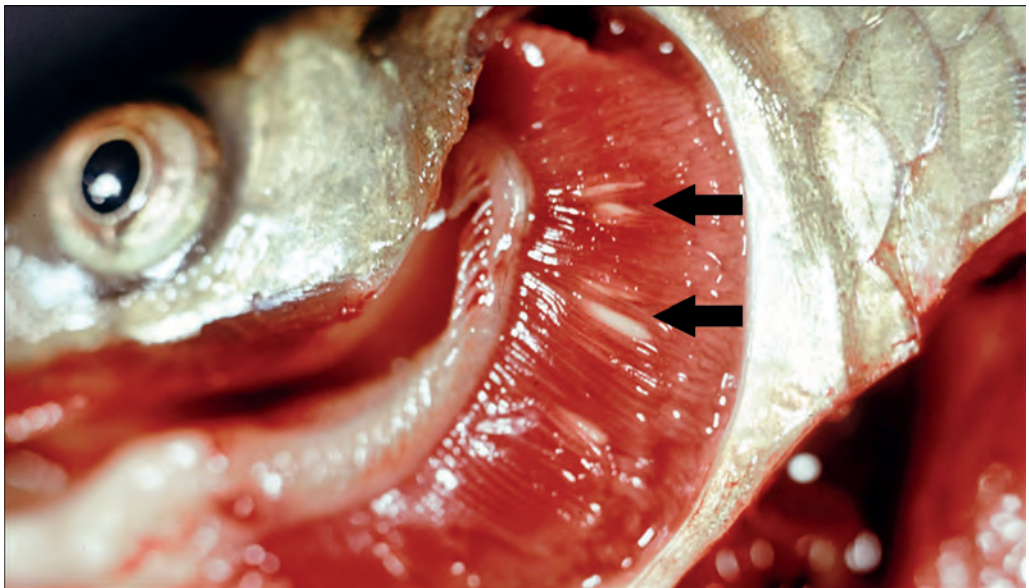
Terapie. Není dosud propracována.

Prevence. Hlavním preventivním opatřením je zabránit kontaktu mladých věkových kategorií odchovávaných ryb s parazitem. Bylo prokázáno, že rezistence k *M. cerebralis* je dědičným znakem a je vázaná i na genetické linie odchovávaných ryb. Lze ji proto využít při selekci (38). Jako efektivní opatření se jeví použití UV záření na aktinosporeová stádia *M. cerebralis*. I poškození parazité UV zářením lépe stimulují imunitní odpověď ryby a jsou rozpoznány a likvidovány imunitním systémem, zejména makrofágy. Tato skutečnost je v současnosti diskutována i pro možné vacinační použití (39,40).

3.11.1.3. DALŠÍ VÝZNAMNÉ MYXOZOÁRNÍ INFEKCE

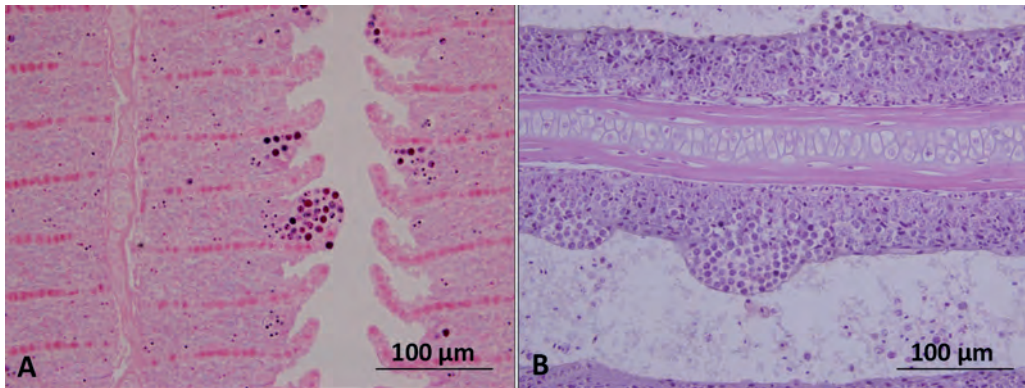
Žábry (případně jiné orgány)

Myxozoární onemocnění žaber mohou při vysoké intenzitě infekce vyvolat závažná onemocnění ryb spojená s poškozením respirační kapacity žaberního aparátu. Při poškození žaberního epitelu se mohou uplatnit i sekundární infekce. Infekce ohrožují zejména plůdek ryb. Patogenně se zde uplatňuje řada druhů, z nichž některé vytvářejí cystám podobné bělavé útvary o velikosti až několika mm. Při masivním napadení žaber se mohou projevovat příznaky dušení. Mezi nejběžnější původce patří např. *Myxobolus basilemellaris*, postihující především chrupavku žaberních oblouků kapra obecného, ve které se vyvíjí až 1 mm velká plazmodia. To vede ke vzniku deformací žaberních oblouků a k cirkulačním poruchám. Rovněž bývá poškozen epitel žaberních lístků, kde dochází až k jeho nekrotickému rozpadu a po prasknutí plazmodia vzniká granulomatózní zánětlivá reakce. Podobně se u kapra obecného a karasa stříbřitého (*Carassius gibelio*) uplatňuje i *Myxobolus dispar*, jehož plazmodia způsobují deformace a adhezi žaberních lístků a později atrofii a související cirkulační poruchy (obr. 3.11.1.3.1). Vedle žaber se může vyskytovat i na kůži a pravděpodobně i v jiných orgánech.

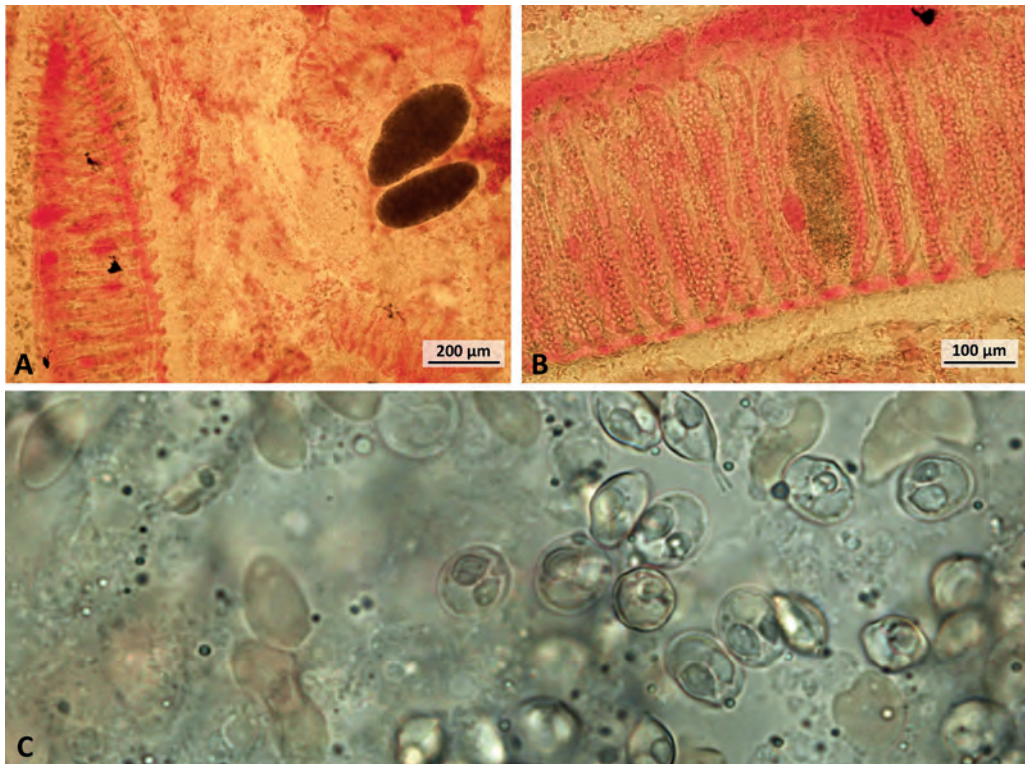


Obr. 3.11.1.3.1. *Myxobolus* sp.: cystické útvary (plazmodia) na žábřách kapra obecného. (Foto: A. Prouza)

Na žábřách kapra obecného a karasa obecného (*Carassius carassius*) se můžeme setkat s druhem *Sphaerospora molnari*. Infekce vyvolává nejprve hyperplazii žaberního epitelu, později dochází ke vzniku dystrofických změn epitelu a k nekrotickému rozpadu tkáně (obr. 3.11.1.3.2). Spory se vytvářejí v epitelu žaber, ale i kůži. Extrasporogenní stádia cirkulují v krvi a dlouhou dobu proliferují. Tato stádia se mohou uplatňovat v etiologii infekčního zánětu plynového měchýře (viz níže). Bezobratlý hostitel není dosud znám.



Obr. 3.11.1.3.2. *Sphaerospora molnari*. Hyperplazie žaberního epitelu, tvorba spor (A); absence sekundárních lamel, rozpad tkáně a uvolňování spor do vody (B)(H&E). (Foto: I. Dyková)



Obr. 3.11.1.3.3. *Myxobolus pavlovskii*. Cystózní útvary na žábřách u tolstolobika bílého (A, B); detail spor původce (C). Nativní preparát. (Foto: I. Papežíková)

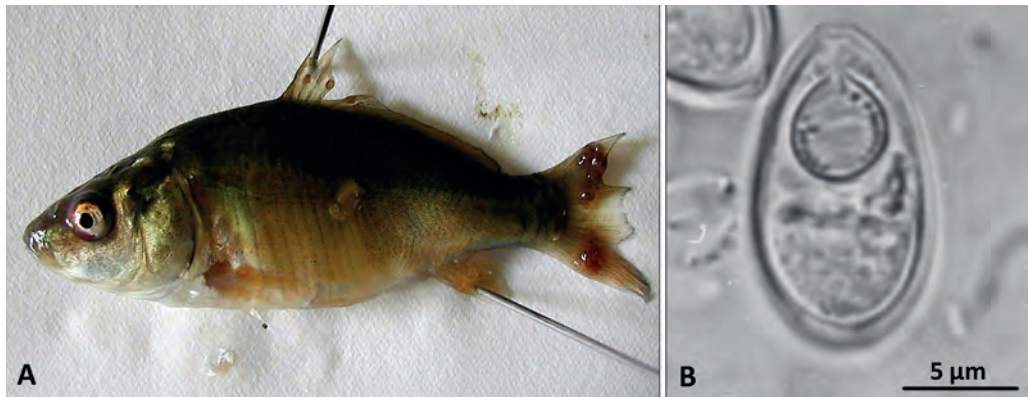
Myxobolus pavlovskii se vyskytuje u tolstolobiků. Při silnějších infekcích dochází k destrukci žaberního epitelu a k redukci respiračního povrchu žaber (obr. 3.11.1.3.3). U *M. pavlovskii* a *M. dispar* je bezobratlým hostitelem niténka obecná (*T. tubifex*). Diagnóza

žaberních infekcí je založena na posouzení klinických a patologických změn a na laboratorním potvrzení přítomnosti původce. V některých případech můžeme makroskopicky detekovat přítomnost bělavých cystózních útvarů na žábrách, někdy jsou cystózní útvary patrné pouze mikroskopicky. Po jejich roztlačení pozorujeme přítomnost typických spor. Původce je možné rovněž detekovat pomocí PCR (2,41).

Kůže a ploutve

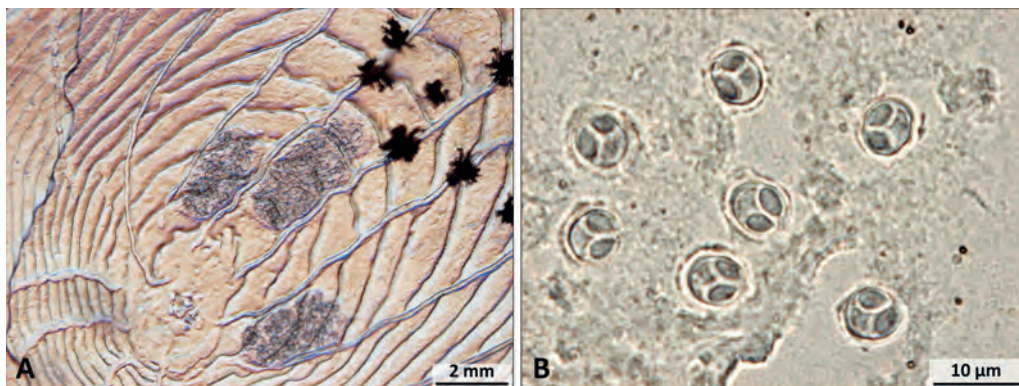
Myxozoární infekce kůže a ploutví většinou nezpůsobují závažné zdravotní problémy ryb, avšak okem viditelné změny znehodnocují ryby z hlediska estetického i konzumního.

V našich podmínkách se můžeme setkat např. s infekcí kapřího plůdku druhem *Thelohanellus nikolskii*. Tento druh vytváří na ploutvích a šupinách pseudocysty, které obsahují plazmodia kulovitěho nebo hroznovitěho tvaru o velikosti až 2 mm (obr. 3.11.1.3.4). Dochází k deformaci chrupavčitých elementů ploutevnických paprsků. Jako vnímavý druh je uváděn kapr obecný (*Cyprinus carpio*), méně vnímavé jsou jeho barevné varianty (koi kapr). Při masivních infekcích dochází k odpadávání ploutevnických paprsků v různém rozsahu, což je nebezpečné zvláště pro plůdek. Bezobratlým hostitelem jsou nitěnky, v nichž se tvoří infekční aurantiaktinomoxon. Myxospory měří $16,5 \times 10 \mu\text{m}$ a mají jednu polární kapsulu (obr. 3.11.1.3.4). Diagnostika je založena na zjištění typických plazmodií a na detekci spor (2,41).



Obr. 3.11.1.3.4. *Thelohanellus nikolskii*. Plůdek kapra s plazmodií na ploutvích (A); myxospora (B). (Foto: A – M. Palíková, B – I. Dyková)

U parem obecných (*Barbus barbus*) se při mikroskopickém vyšetření kůže můžeme setkat s drobnými cystózními útvary (vel. 0,5 mm) vyplněnými spory *Myxobolus squamae* (obr. 3.11.1.3.5). Cystózní útvary jsou většinou lokalizovány pod šupinami.



Obr. 3.11.1.3.5. *Myxobolus squamae*. Cystózní útvary (plazmodia) na spodině šupiny u parmy obecné (A, B); detail spor (B). Nativní preparát. (Foto: M. Palíková)

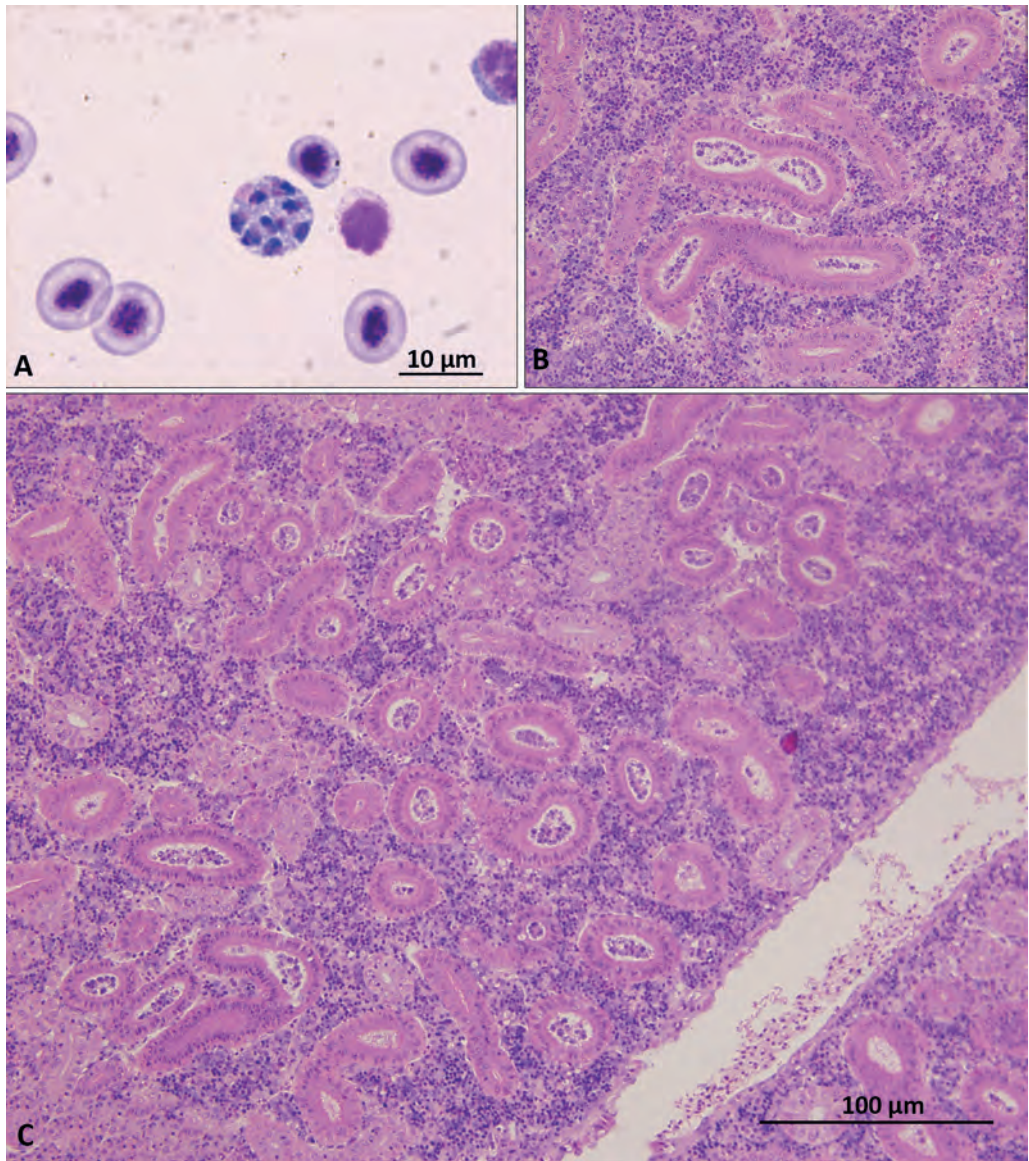
Ledviny a močové cesty, plynový měchýř

Vedle *T. bryosalmonae* – původce PKD, je poměrně rozšířeným druhem ***Sphaerospora dykovae*** (dříve *S. renicola*). Hostitelem je kapr obecný, zejména plůdek. Původce cizopasí v ledvinách a vytváří proliferativní stádia v krvi, plynovém měchýři a v dalších tkáních. Ke tvorbě spor dochází v ledvinných tubulech, spory jsou kulovité o průměru 7,3 µm se dvěma pólovými váčky (obr. 3.11.1.3.6). Vegetativní stádia (pseudoplasmodia) se nacházejí v lumenu ledvinných kanálek i nitrobuněčně v epitelu kanálek. Aktinospory (neoaktinomyxum) se tvoří v nitěnkovitých bezobratlých *Branchiura sowerbyi* (42). Vývoj pseudoplasmodií a vznik spor v lumenech ledvinných kanálek je doprovázen dilatací kanálek a dystrofickými změnami epitelu. Masivní infekce může vyústit až v atrofii a nekrózu epitelu, může ji doprovázet i výskyt drobných granulomů. Původce může poškodit jak vylučovací, tak krvetvornou funkci ledvin. Při silné proliferaci parazita v krvi může být vážně pozměněn krevní obraz.

Proliferace původce v plynovém měchýři je doprovázena poruchami plavání, nekoordinovanými pohyby, zesílením stěny plynového měchýře a změnou jeho barvy, výskytem hemoragií a žlutohnědých nálepu na stěně plynového měchýře. Tyto změny se často vyskytují u plůdku ryb a onemocnění se nazývá **infekční zánět plynového měchýře** (swim bladder inflammation – **SBI**). Paralelně bývá v krvi často detekována přítomnost *S. molnari* a další druhy myxozoi, která jsou uváděna jako důležitý kofaktor uplatňující se v etiologii a patogenezi onemocnění (43). Při diferenciální diagnostice je však potřeba pamatovat na vyloučení virové etiologie. Diagnóza je založena na průkazu parazita v ledvinných tubulech nebo vývojových stádiích z plynového měchýře (v nativních preparátech nebo v histologických řezech), případně na záchytu proliferativních stádií v krvi (nativní nebo obarvený preparát)(2,41).

Terapie. Není dosud propracována.

Prevence. Preventivní opatření by měla být směřována do oblasti likvidace spor, tzn. zejména pravidelné provádění dezinfekce dna letněním, vysoušením a chemickým ošetřením.



Obr. 3.11.1.3.6. *Sphaerospora dykova*. Krevní proliferativní stádium *Sphaerospora* sp. (barveno Pappenheimem): primární buňka s 8 sekundárními buňkami a terciálními buňkami (A); pseudoplasmodia a zralé spory v lumenech ledvinných kanálek (B, C)(H&E). (Foto: M. Palíková)

LITERATURA

1. Nesnidal, M.P., Helmkampf, M., Bruchhaus, I., El-Matbouli, M., Hausdorf, B., 2013. Agent of whirling disease meets orphan worm: Phylogenomic analyses firmly place Myxozoa in Cnidaria. *Plos One* 8: e54576.
2. Feist, S.W., Longshaw, M., 2006. Phylum Myxozoa. In: Woo, P.T.K. (Ed.). *Fish Diseases and Disorders, Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections*. CAB International, pp. 230–296.
3. Lom, J., Dyková, I., 2006. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitologica* 53: 1–36.
4. Mo, T.A., Jørgensen, A., 2017. A survey of the distribution of the PKD-parasite *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Cnidaria: Myxozoa: Malacosporea) in salmonids in Norwegian rivers- additional information gleaned from formerly collected fish. *Journal of Fish Diseases* 40: 621–627.
5. Okamura, B., Hartikainen, H., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T., 2011. Life cycle complexity, environmental change and the emerging status of salmonid proliferative kidney disease. *Freshwater Biology* 56: 735–753.
6. Palikova, M., Papezikova, I., Markova, Z., Navratil, S., Mares, J., Mares, L., Vojtek, L., Hyrsil, P., Jelinkova, E., Schmidt-Posthaus, H., 2017. Proliferative kidney disease in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under intensive breeding conditions: Pathogenesis and haematological and immune parameters. *Veterinary Parasitology* 238: 5–16.
7. Bettge, K., Wahli, T., Segner, H., Schmidt-Posthaus, H., 2009. Proliferative kidney disease in rainbow trout: time- and temperature-related renal pathology and parasite distribution. *Diseases of Aquatic Organisms* 83: 67–76.
8. De Kinkelin, P., Gay, M., Forman, S., 2002. The persistence of infectivity of *Tetracapsuloides bryosalmonae*-infected water for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 25: 477–482.
9. Grabner, D. S., El-Matbouli, M., 2009. Comparison of the susceptibility of brown trout (*Salmo trutta*) and four rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) strains to the myxozoan *Tetracapsuloides bryosalmonae*, the causative agent of proliferative kidney disease (PKD). *Veterinary Parasitology* 165: 200–206.
10. Clifton-Hadley, R.S., Bucke, D., Richards, R.H., 1984. Proliferative kidney disease of salmonid fish: a review. *Journal of Fish Diseases* 7: 363–377.
11. Seagrave, C., Bucke, D., Hudson, E.B., McGregor, D., 1981. A survey of the prevalence and distribution of proliferative kidney disease (PKD) in England and Wales. *Journal of Fish Biology* 4: 437–439.
12. Feist, S.W., Longshaw, M., Canning, E.U., Okamura, B., 2001. Induction of proliferative kidney disease (PKD) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) via the bryozoan *Fredericella sultana*, infected with *Tetracapsula bryosalmonae*. *Diseases of Aquatic Organisms* 45: 61–68.
13. Morris, D.J., Adams, A., Richards, R.H., 2000. *In situ* hybridisation identifies the gill as a portal of entry for PKX (Phylum Myxozoa), the causative agent of proliferative kidney disease in salmonids. *Parasitology Research* 86: 950–956.
14. Hedrick, R.P., Mac Connell, E., de Kinkelin, P., 1993. Proliferative kidney disease of salmonid fish. *Annual Review of Fish Diseases* 3: 277–290.

15. Kent, M. L., Hedrick, R. P., 1985. Transmission of the causative agent of proliferative kidney disease (PKD) with the blood and spleen of infected fish: further evidence that the PKX parasite belongs to the phylum Myxozoa. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 5: 39–42.
16. Tops, S., Baxa, D.V., Mc Dowell, T.S., Hedrick, R.P., Okamura, B., 2004. Evaluation of malacosporea life-cycles through transmission studies. *Diseases of Aquatic Organisms* 60: 109–121.
17. Grabner, D. S., El-Matbouli, M., 2008. Transmission to *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa: Malacosporea) to *Fredericella sultana* (Bryozoa: Phylactolaemata) by various fish species. *Diseases of Aquatic Organisms* 79: 133–139.
18. Kent, M.L., Hedrick, R.P., 1986. Development of the PKX myxosporean in rainbow trout *Salmo gairdneri*. *Diseases of Aquatic Organisms* 1: 169–182.
19. Hedrick, R.P., Baxa, D.V., de Kinkelin, P., Okamura, B., 2004. Malacosporean-like spores in urine of rainbow trout react with antibody and DNA probes to *Tetracapsuloides bryosalmonae*. *Parasitological Research* 92: 81–88.
20. Schmidt-Posthaus, H., Bettge, K., Forster, U., Segner, H., Wahli, T., 2012. Kidney pathology and parasite intensity in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* surviving proliferative kidney disease: time course and influence of temperature. *Diseases of Aquatic Organisms* 97: 207–218.
21. MacConnell, E., Smith, Ch.E. Hedrick, R.P., Speer, C.A., 1989. Cellular inflammatory response of rainbow trout to the protozoan parasite that causes proliferative kidney disease. *Journal of Aquatic Animal Health* 1: 108–118.
22. Clifton-Hadley, R.S., Bucke, D., Richards, R.H., 1987. A study of the sequential clinical and pathological changes during proliferative kidney disease in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases* 10: 335–352.
23. Ferguson, H.W., 1981. Effects of temperature on the development of proliferative kidney disease in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases* 4: 175–177.
24. Adams, A., Richards, R.S., De Mateo, M., 1992. Development of monoclonal antibodies to PK'X', the causative agent of proliferative kidney disease. *Journal of Fish Diseases* 15: 515–521.
25. Longshaw, M., Le Deuff, R.M., Harris, A.F., Feist, S.W., 2002. Development of proliferative kidney disease in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), following short-term exposure to *Tetracapsula bryosalmonae* infected bryozoans. *Journal of Fish Diseases* 25: 443–449.
26. Sarker, S., Kallert, M.D., Hedrick, R.P., El-Matbouli, M., 2015. Whirling disease revisited: pathogenesis, parasite biology and disease intervention. *Diseases of Aquatic Organisms* 114: 155–175.
27. Markiw, M.E., 1992. Experimentally induced whirling disease. I. Dose response of fry and adults of rainbow trout exposed to the triactinomyxon stage of *Myxobolus cerebralis*. *Journal of Aquatic Animal Health* 4: 40–43.
28. El-Mabouli, M., Hoffmann, R.W., Schoel, H., McDowell, T.S., Hedrick, R.P., 1999. Whirling disease: host specificity and interaction between the actinosporean stage of *Myxobolus cerebralis* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms* 35: 1–12.
29. El-Mabouli, M., Hoffmann, R.W., 1991. Effect of freezing, ageing and passage through the alimentary canal of predatory animals on the viability of *Myxobolus cerebralis* spores. *Journal of Aquatic Animal Health* 3: 260–262.

30. Hedrick, R.O., McDowell, T.S., Mukkatira, K., Georgiadis, M.P., MacConnell, E., 2001. Susceptibility of three species of anadromous salmonids to experimentally induced infection with *Myxobolus cerebralis*, the causative agent of whirling disease. *Journal of Aquatic Animal Health* 13: 43–50.
31. Hedrick, R.O., McDowell, Marty, G.D., Fosgate, G.T., Mukkatira, K., Myklebust, K., El-Matbouli, M., 2003. Susceptibility of two strains of rainbow trout (one with suspected resistance to whirling disease) to *Myxobolus cerebralis* infection. *Diseases of Aquatic Organisms* 55: 37–44.
32. O'Grodnik, J.J., 1979. Susceptibility of various salmonids to whirling disease (*Myxosoma cerebralis*). *Trans American Fish Society* 108: 187–190.
33. Markiw, M.E., 1989. Portals of entry of salmonid whirling disease in rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms* 6: 7–10.
34. El-Mabouli, M., Hoffmann, R.W., Mandok, C., 1995. Light and electron microscopic observations on the route of the triactinomyxon sporoplasm of *Myxobolus cerebralis* from epidermis into rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cartilage. *Journal of Fish Biology* 46: 919–935.
35. Hedrick, R.P., El-Matbouli, M., Adkison, M.A., MacConnell, E., 1998. Whirling disease: re-emergence among wild trout. *Immunological Reviews* 166: 365–376.
36. Rose, J.D., Marrs, G.S., Lewis, C., Schisler, G., 2000. Whirling disease behaviour and its relation to pathology of brain stem and spinal cord in rainbow trout. *Journal of Aquatic Animal Health* 12: 107–118.
37. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. *Choroby ryb*. Vydala VFU Brno, 155 s.
38. Fetherman, E.R., Winkelman, D.L., Schisler, G.J., Myrick, C.A., 2011. Genetic basis of differences in myxospore count between whirling diseases-resistant and – susceptible strains of rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms* 102: 97–106.
39. Hedrick, R.O., Petri, B., McDowell, Mukkatira, K., Sealey, L.J., 2007. Evaluation of a range of doses of ultraviolet irradiation to inactivate waterborne actinospore stages of *Myxobolus cerebralis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 74: 113–118.
40. Hedrick, R.O., McDowell, T.S., Adkison, M.A., Myklebust, K.A., Mardones, F.O., Petri, B., 2012. Invasion and initial replication of ultraviolet irradiated waterborne infective stages of *Myxobolus cerebralis* results in immunity to whirling disease in rainbow trout. *International Journal of Parasitology* 42: 657–666.
41. Lom, J., Dyková, I., Svobodová, Z., Zajíček, J., 1989. *Protozoární paraziti užitkových ryb*. Vydal Český rybářský svaz ve Státním zemědělském nakladatelství Praha, 98 s.
42. Molnár, K., El-Mansy, A., Székely, C., Baska, F., 1999. Experimental identification of the actinosporean stage of *Sphaerospora renicola* Dyková & Lom 1982 (Myxosporae: Sphaerosporidae) in oligochaete alternate hosts. *Journal of Fish Diseases* 22: 143–153.
43. Holzer, A., Hartigan, A., Patra, S., Pecková, H., Esterbauer, E., 2014. Molecular fingerprinting of the myxozoan community in common carp suffering Swim Bladder Inflammation (SBI) identifies multiple etiological agents. *Parasites and Vectors* 7: 398–406.

3.11.2. MONOGENEA

Milan Gelnar, Eva Řehulková, Eliška Zusková

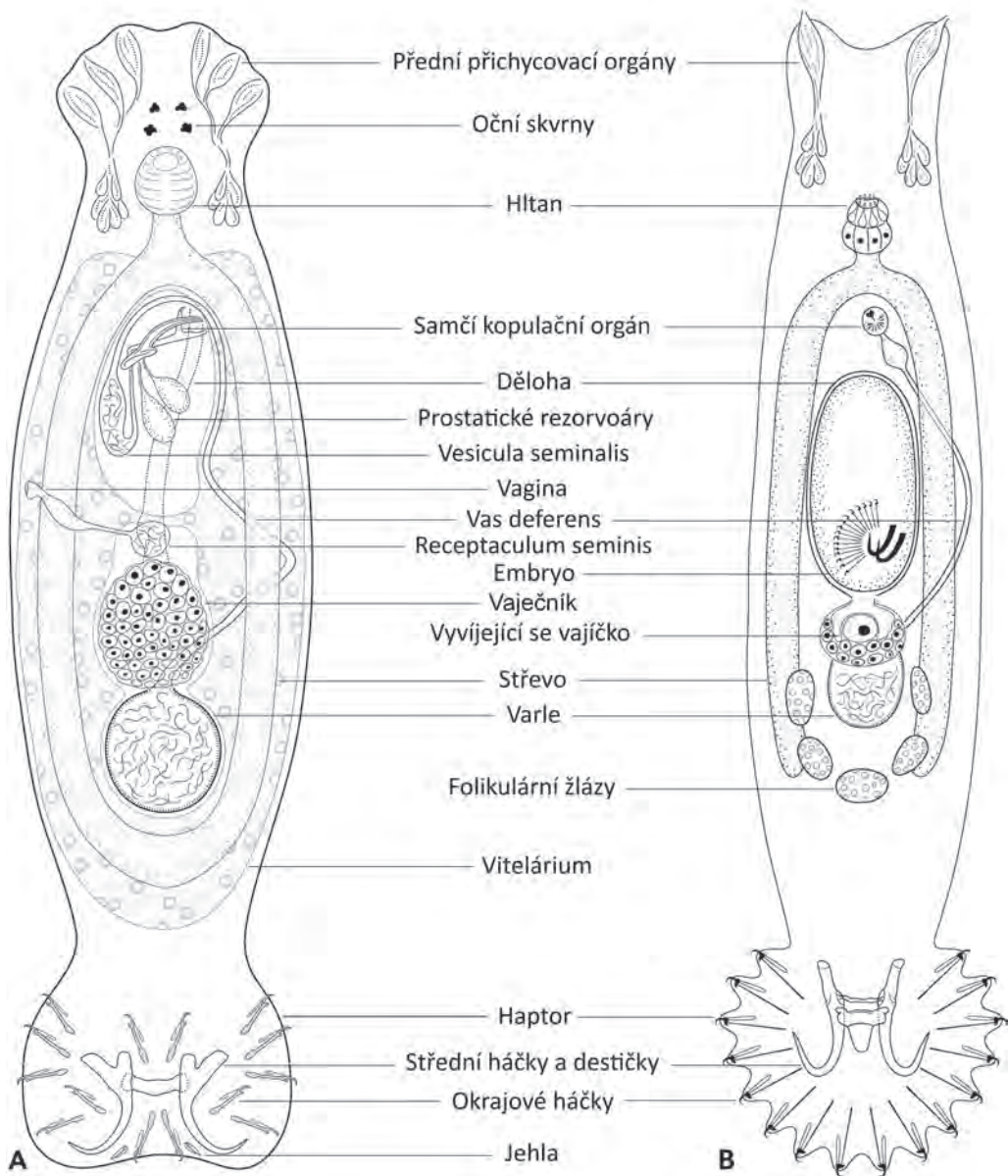
Úvod. Monogenea (jednorodí, žábrolísti) představují třídu parazitických helmintů, kteří jsou většinou ektoparazité a napadají ektotermní/poikilotermní (studenokrevné) obratlovce, především ryby, ale také obojživelníky a plazy (želvy)(3–7). Menší počet těchto cizopasníků parazituje rovněž na korýších, hlavonožcích a savcích (hroch)(8). V případě ryb monogenea parazitují na kůži, ploutvích, žábřácích a v ústní a žaberní dutině svých hostitelů a jen malou část těchto cizopasníků lze označit jako pravé endoparazity (cca 5 %). Lze je nalézt v dutině tělní, ve střevě, v močovodu a dokonce i v krevním řečišti (3,8,9). Dosavadní počet popsanych monogeneí se odhaduje na 5 000 druhů parazitujících přibližně u 3 000 druhů ryb (10). Vzhledem k tomu, že ichtyologové odhadují počet druhů ryb na Zemi přibližně na 30 000, je zřejmé, že doposud známe pouze relativně malou část těchto cizopasníků. Monogenea provázejí své hostitele do všech typů vodních prostředí, nacházíme je tedy na rybách žijících ve vodách sladkých, brakických i slaných. Na území České a Slovenské republiky je evidováno zhruba 200 druhů (11).

Původci. Třída Monogenea patří morfologicky mezi ploštěnce (Platyhelminthes). Jsou to vícebuněční živočichové, jejichž tělo je bilaterálně symetrické a dorsoventrálně zploštělé. Velikost jednorodých se pohybuje od 0,03 do 20 mm, čímž se řadí mezi nejmenší cizopasně červy. Dospělí jedinci mají v přední části těla (prohaptoru) otvor pro příjem potravy a rovněž je zde vyústění hlavových žláz, jejichž sekrety napomáhají přichycení k hostiteli. Někdy zde mohou být přítomny přísavky či přísavné rýhy. Z receptorů jsou u některých zástupců vejcorodých monogeneí (zejména čeledi Dactylogyridae) v přední části patrné oční skvrny. Zadní částí těla dominuje přichycovací orgán – haptor, jehož stavba se liší mezi jednotlivými taxony, a proto se využívá pro klasifikaci a identifikaci. U tzv. nižších (Monopisthocotylea) monogeneí (např. rody *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*) jde o jednoduchý přichytný disk, který je opatřen středními a okrajovými háčky různého počtu a tvaru (obr. 3.11.2.1).

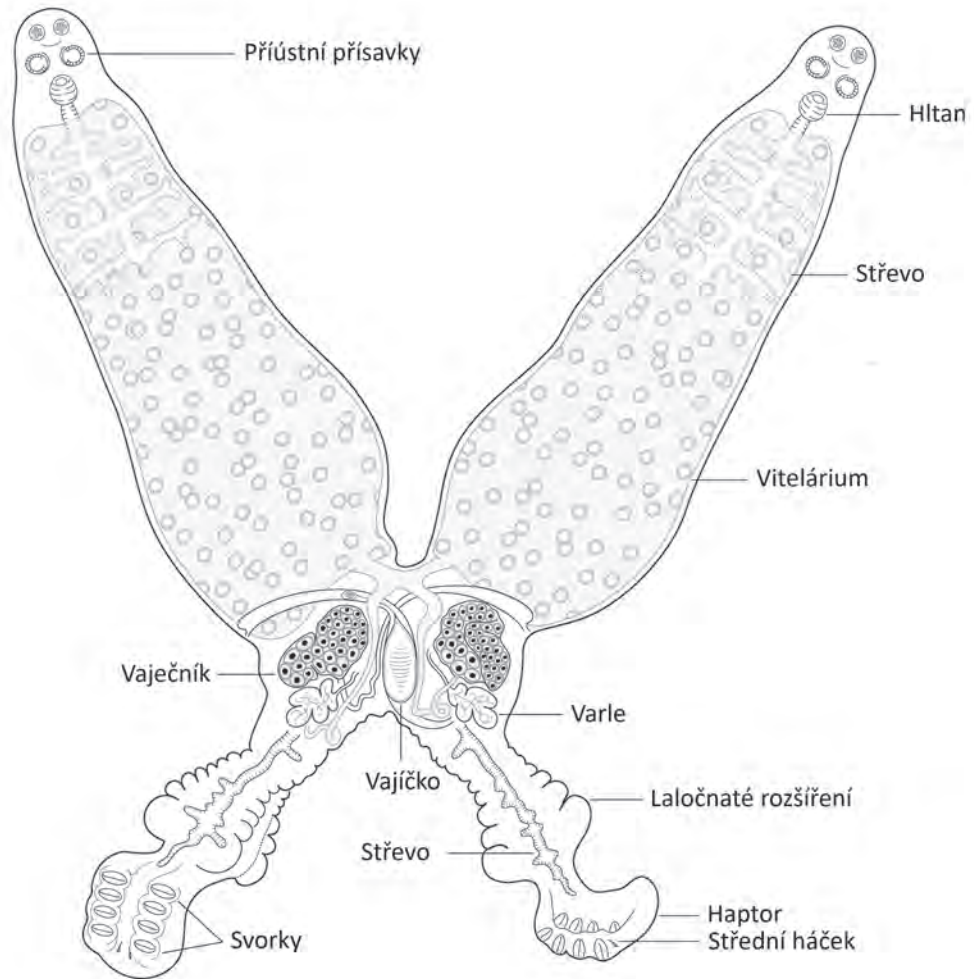
U tzv. vyšších (Polyopisthocotylea) monogeneí (parazitujících u mořských ryb a paryb) bývá haptor složitější stavby; může jít o komplex přísavek, přídatných disků nebo svorek, často vyztužených sklerotizovanými útvary (9,12)(obr. 3.11.2.2).

Zástupci monogeneí jsou hermafrodité – každý jedinec má obě sady reprodukčních orgánů (vaječník i varle/varlata), jejichž vyústění je v přední části těla. Vývoj monogeneí je přímý bez účasti mezihostitelů. Jde obvykle o vejcorodé parazity, nicméně se setkáme i se živorodými zástupci (např. rod *Gyrodactylus*). Po kopulaci hermafroditických dospělců (zkřížená inseminace) jsou tvořena vajíčka, která bývají opatřena víčkem a filamenty. Ve vnějším vodním prostředí se z nich uvolňují obrvené larvy – onkomiracidia, které aktivně vyhledávají dalšího hostitele. Pro hledání nového hostitele využívají receptory včetně očních skvrn (2). Životnost onkomiracidii bez hostitele je méně než 24 hodin. Vývojový cyklus trvá 2–20 dní v závislosti na teplotě vody a druhu (13).

Schématické znázornění životního cyklu vejcorodých monogeneí (např. rod *Dactylogyrus*) je uvedeno na obr. 3.11.2.3.



Obr. 3.11.2.1. Schéma tělní stavby vejcorodých a živorodých monogeneri (Monopisthocotylea). *Dactylogyrus* sp. (Dactylogyridae)(A); *Gyrodactylus* sp. (Gyrodactylidae)(B). (Kresba: E. Řehulková)



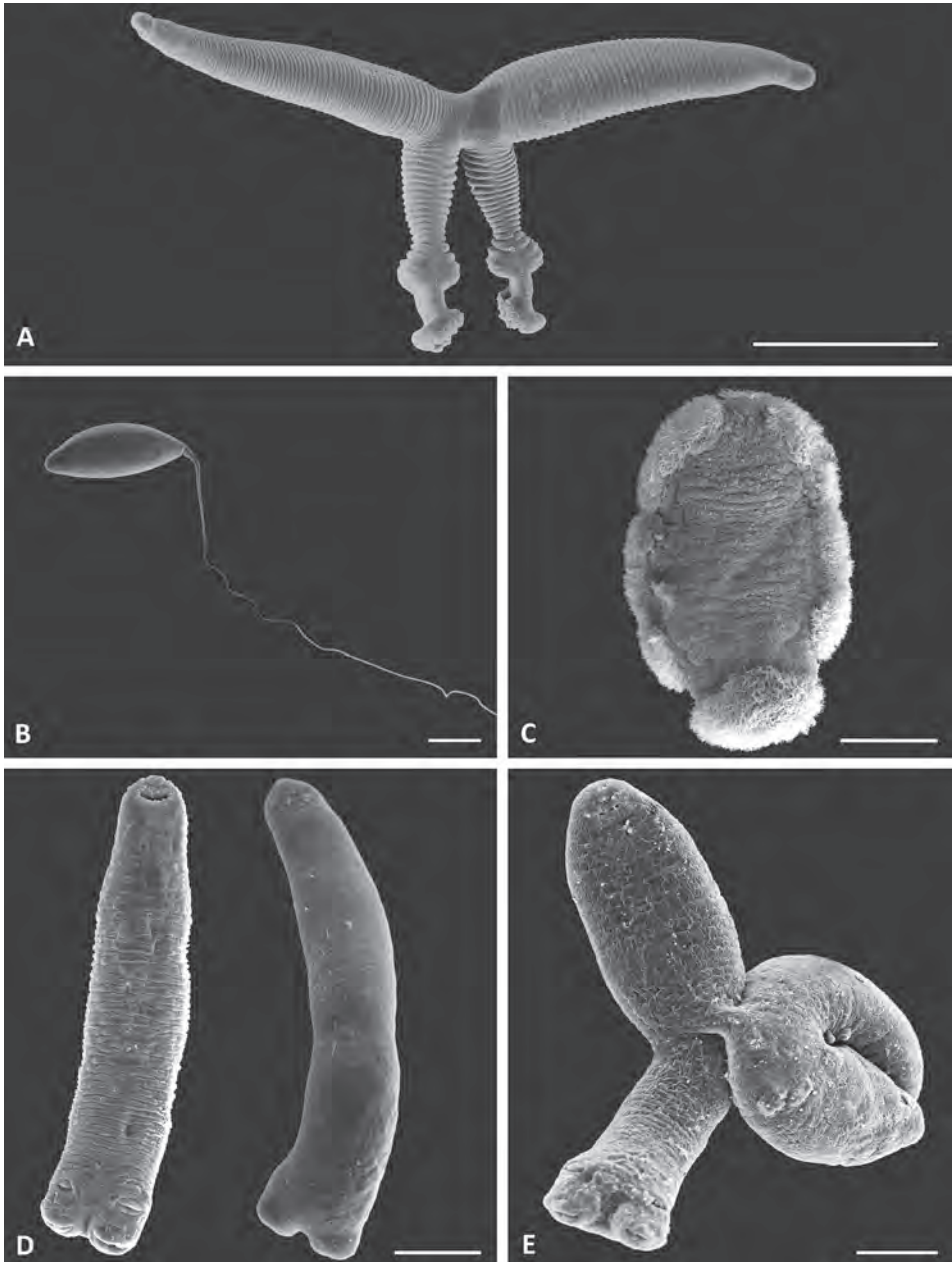
Obr. 3.11.2.2. Schéma tělní stavby druhu *Eudiplozoon nipponicum* (Diplozoidae, Polyopisthocotylea). (Kresba: E. Řehulková)

Určitou modifikací tohoto typu vývoje jsou již zmíněná vyšší monogenea čeledi Diplozoidae. Také v tomto případě žije dospělý cizopasník na žábřácích hostitelské ryby. Z nakladených vajíček se ve vodě líhne obrvená invazní larva – onkomiracidium, která aktivně vyhledává vhodného hostitele a na jeho žábřácích se vyvíjí v další larvální stádium – diporpu. Dvě diporpy se posléze spolu párují a dávají vznik adultnímu cizopasníkovi s charakteristickým tvarem těla připomínajícím písmeno „X“. Tito adultní cizopasníci obvykle na žábřácích napadených ryb zimují a následující rok se vlivem jarního oteplení rozmnožují a dávají vznik další generaci cizopasníka (obr. 3.11.2.4).

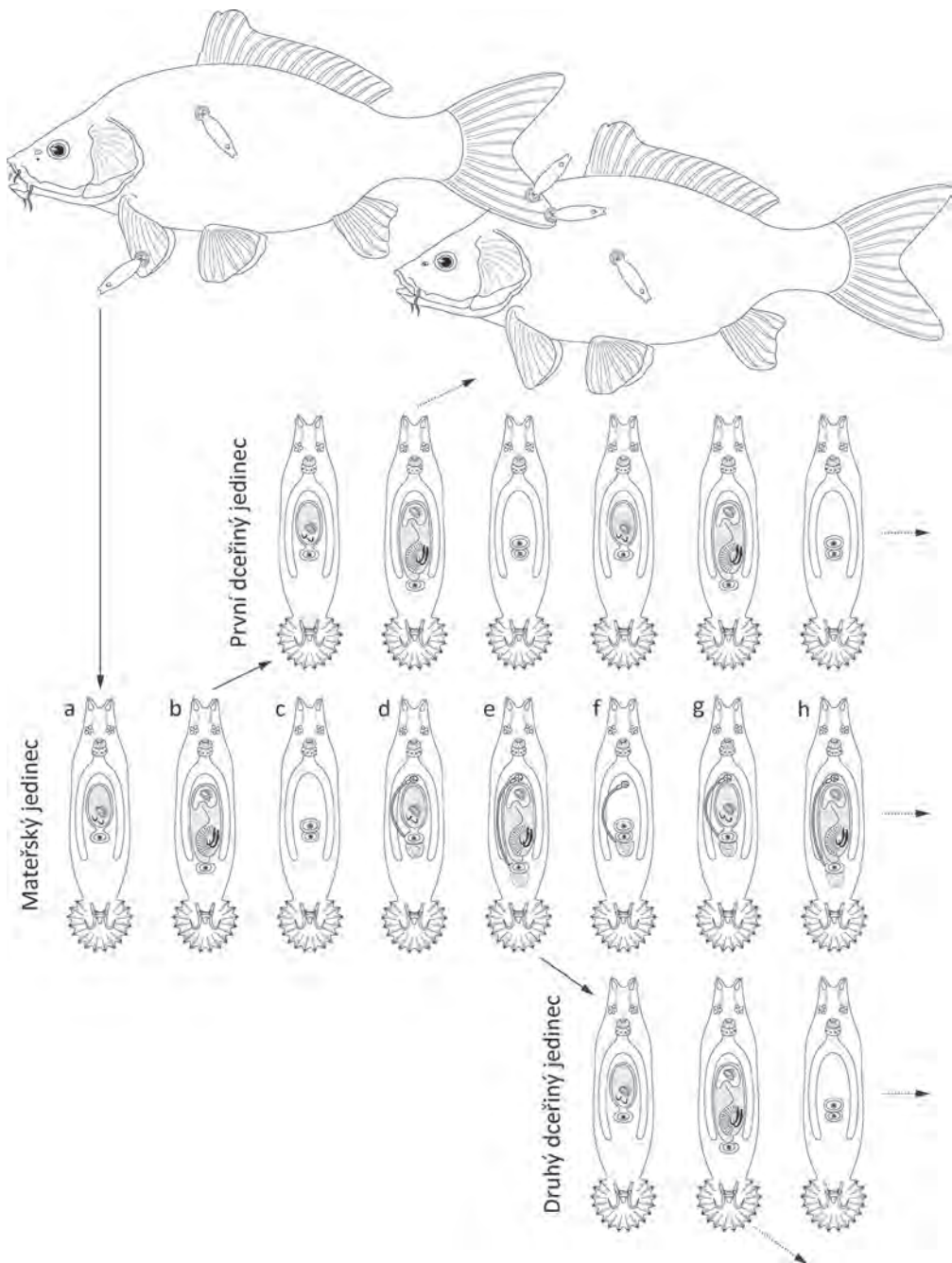


Obr. 3.11.2.3. Schématické znázornění životního cyklu vejcorodých monogeneí rodu *Dactylogyrus*: a – dospělý jedinec produkující vajíčka; b–d – vajíčko s vyvíjejícím se onkomiracidiem ve vodním prostředí; e – líhnutí onkomiracidia; f – volně plovoucí onkomiracidium hledající hostitele; g – juvenilní jedinec (bez povrchových ciliárních destiček) pohybující se po povrchu těla hostitele na místo konečné lokalizace (žaberní aparát). (Kresba: E. Řehulková)

Živorodá monogenea (např. rodu *Gyrodactylus*) se naproti tomu vyvíjejí naprosto odlišným způsobem (obr. 3.11.2.5) Dospělí cizopasnici přímo rodí své potomky, kteří mají v okamžiku svého porodu v děloze obsaženo další vyvíjející se embryo. U těchto cizopasníků tak vajíčko neopouští mateřského jedince, ale postupuje do jeho dělohy, kde se z něj stává embryo první generace (E1). Uvnitř tohoto embrya se po určitém čase začne vyvíjet embryo další generace (E2), takže právě narozený cizopasník (původní E1) v sobě má již nový zárodek (původní E2). Mateřský jedinec po prvním porodu může porodit dalšího potomka a vše se analogicky a relativně rychle opakuje. U části těchto mateřských jedinců se po prvním porodu vyvíjí samčí kopulační orgán. Díky prostorovému uspořádání jednotlivých generací embryí, kde starší vždy v sobě obsahuje mladší, tak připomíná tzv. „ruské panenky, matřičky“.



Obr. 3.11.2.4. *Eudiplozoon nipponicum* – vývojová stádia, snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu. A – dospělý jedinec; B – vajíčko s filamentem; C – volně plovoucí larvální stádium oncomiracidium; D – diporpy, larvální stádia na žábrách hostitelské ryby, diporpa vlevo – ventrální pohled na diporpu s ventrální přísavkou, diporpa vpravo – dorzální pohled na diporpu s dorzální papilou; E – juvenilní jedinec krátce po spárování (spojení v oblasti ventrální přísavky jedné diporpy a dorzální papily druhé diporpy). Měřítka: A = 1 mm; B, D, E = 100 μ m; C = 50 μ m. (Foto: I. Hodová)



Obr. 3.11.2.5 Schématické znázornění životního cyklu živorodých monogeení rodu *Gyrodactylus*: a-h – jednotlivá stádia nově narozeného jedinice; a – jedinec obsahující jedno embryo; b – jedinec obsahující dvě embrya; d – jedinec s již plně vyvinutým samčím kopulačním orgánem; b, e, h – jedinci připraveni k porodu. (Kresba: E. Řehulková)

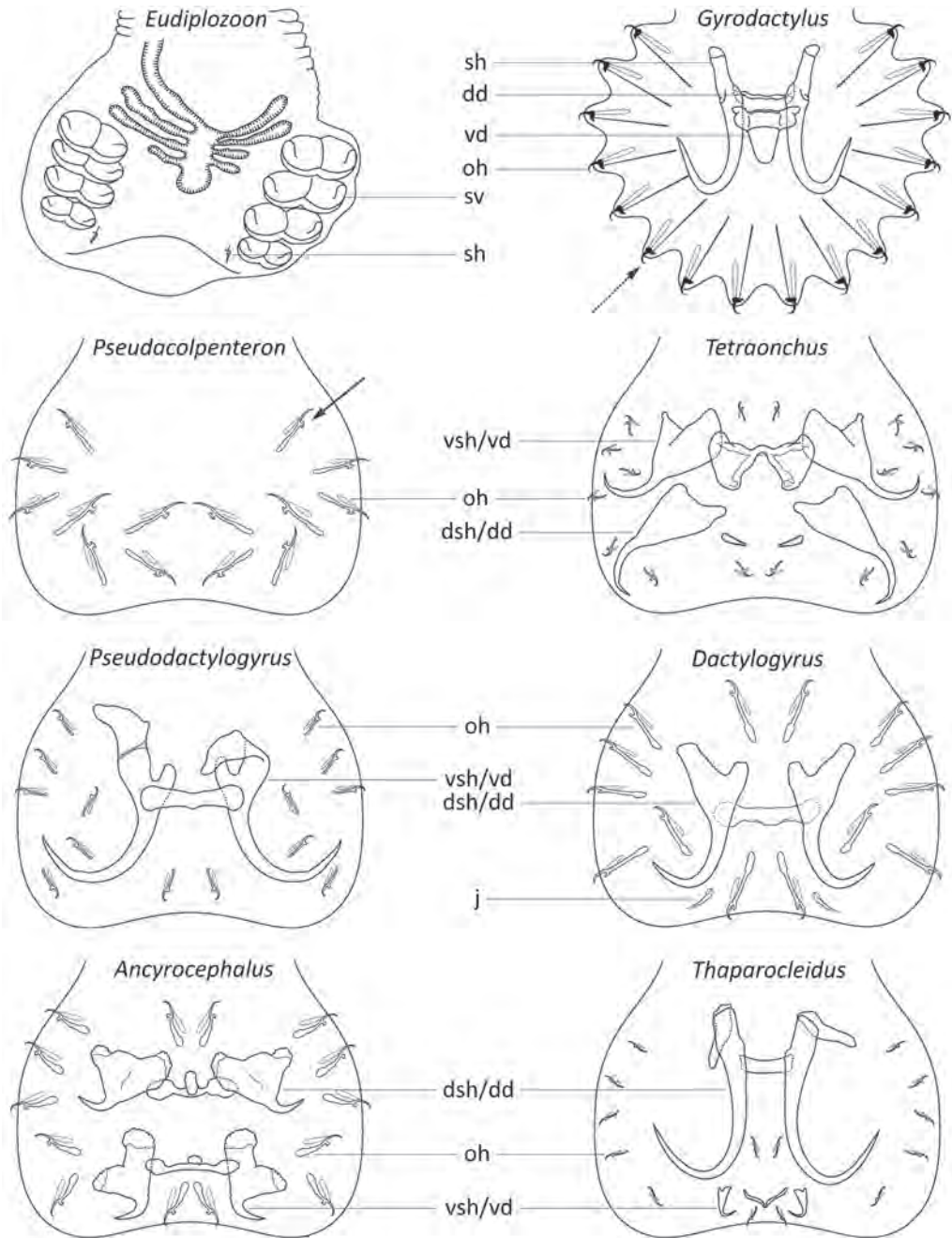
Vzhledem k tomu, že v životním cyklu gyrodaktylů chybí invazní larva, uskutečňuje se přenos těchto parazitů především díky kontaktu mezi hostitelskými rybami, při kterém dochází díky značné pohyblivosti těchto cizopasníků k jejich přenosu a šíření (3,14–17). Způsob rozmnožování gyrodaktylů je velice rychlý, což z těchto cizopasníků činí velmi nebezpečné patogeny schopné rychle reagovat např. na oslabení organismu hostitelských ryb a vyvolat jejich masové hynutí.

Monogena se dělí do dvou hlavních taxonomických skupin: Monopisthocotylea a Polyopisthocotylea. Tyto vývojové linie se liší morfologií, anatomií, výživou, fyziologií a rozmnožováním. Polyopisthocotylea se živí krví, zatímco monopisthocotylea se pohybují na hostiteli a živí se buňkami epitelu, hlenem a v ojedinělých případech i krví nacházející se na hemoragických místech (18).

Do skupiny Polyopisthocotylea patří v našich podmínkách se vyskytující zástupci tří rodů: *Diplozoon*, *Eudiplozoon* a *Paradiplozoon*.

Faunu monogeneí na území České a Slovenské republiky představuje cca 200 druhů náležejících do 16 rodů (11). Z těchto na našich užitkových rybách cizopasí několik desítek druhů monogeneí, příslušníků následujících 8 rodů – *Ancyrocephalus*, *Dactylogyrus*, *Eudiplozoon*, *Gyrodactylus*, *Pseudacolpenteron*, *Pseudodactylogyrus*, *Thaparocleidus*, *Tetraonchus*. Rodovou příslušnost těchto cizopasníků stanovujeme na základě počtu a vzájemného poměru velikostí některých struktur přichycovacího disku (haptoru) podle následujícího klíče, který je sestaven na principu teze-antiteze a jehož součástí je obr. 3.11.2.6.

1.
 - Několik mm velcí cizopasníci; haptor tvořen čtyřmi páry svorek a jedním párem nevýrazných středních háčků; již v juvenilním stádiu dva jedinci (diporpy) spolu trvale srůstají do tvaru písmene X **Eudiplozoon**
 - Cizopasníci dosahující velikosti max. 1 mm; haptor tvořen háčky (střední, okrajové) a podpůrnými destičkami **2**
2. (1)
 - Vejcorodí, obvykle se dvěma páry očních skvrn; haptor s okrajovými háčky daktylogyroidního typu (obr. 3.11.2.6 – plná šipka) bilaterálně rozmístěných v párech; na žábřách (larvy i na kůži a ploutvích) ryb **3**
 - Živorodí, oční skvrny chybí; haptor s 16 vějířovitě rozmístěnými okrajovými háčky gyrodaktyloidního typu (obr. 3.11.2.6 – přerušovaná šipka); na kůži, ploutvích a žábřách ryb **Gyrodactylus**
3. (2)
 - Haptor vybaven pouze okrajovými háčky (7 párů) **Pseudacolpenteron**
 - Haptor vybaven okrajovými háčky a jedním nebo dvěma páry středních háčků **4**
4. (3)
 - Haptor s osmi páry okrajových háčků a dvěma páry středních háčků; dorsální destička je tvořena ze dvou částí **Tetraonchus**
 - Haptor se sedmi páry okrajových háčků a jedním nebo dvěma páry středních háčků **5**
5. (4)
 - Haptor s jedním párem středních háčků **6**
 - Haptor se dvěma páry středních háčků **7**
6. (5)
 - Vnitřní výrůstek (ventrálních) středních háčků je přehnut k ventrální straně haptoru; přítomna jedna (ventrální) destička **Pseudodactylogyrus**
 - Vnitřní výrůstek (dorsálních) středních háčků rovný; přítomna jedna (dorsální) nebo dvě (dorsální a ventrální) destičky a pár jehlovitých struktur **Dactylogyrus**
7. (5)
 - Střední háčky obou párů téměř stejné velikosti, robustní; obě destičky se středovým výrůstkem **Ancyrocephalus**
 - Oba páry středních háčků se vzájemně liší velikostí; dorsální střední háčky nápadně větší, s přidruženými sklerity trojúhelníkovitého tvaru **Thaparocleidus**



Obr. 3.11.2.6. Schématické znázornění stavby haptorů zástupců 8 rodů monogenei parazitujících na našich užitkových rybách: sh – střední háčky, dd – dorsální destička, vd – ventrální destička, oh – okrajové háčky, sv – svorka, dsh/dd – komplex dorsálních středních háčků a destičky, vsh/vd – komplex ventrálních středních háčků a destičky, j - jehla. (Kresba: E. Řehulková).

Vnímavé druhy. Monogenea jsou běžnými parazity sladkovodních i mořských druhů ryb (3). Způsobují značné zdravotní problémy zejména u ryb chovaných v uzavřených systémech (12,19). Jednotliví zástupci jsou různou měrou hostitelsky specifictí. Obecně se však jedná o cizopasníky s poměrně vysokou hostitelskou i orgánovou specifitou (3–5,8). Z tohoto důvodu je následující přehled patogenních druhů monogeneí organizován podle jejich výskytu na hostitelských druzích užitkových ryb. Tyto jsou pak řazeny podle zoologického systému ryb (20).

Nutno na tomto místě připomenout, že tato kapitola je věnována monogeneím parazitujícím u našich užitkových ryb. Mimo ryby chované v tradičních rybochovných zařízeních se u nás velice dynamicky rozvíjí i chovy akvarijních ryb. Je přirozené, že díky častým přímým importům a velice rychlé přepravě z původních geografických oblastí jsou také tyto ryby velice často napadeny mnoha druhy monogeneí, které pak mohou působit nemalé problémy v jejich chovech.

Úhoř říční – *Anguilla anguilla*

Pseudodactylogyrus anguillae

Pseudodactylogyrus bini

Oba druhy napadají volně žijící i chované úhoře na farmách a vyvolávají vážné onemocnění končící nezřídka úhynem napadených ryb (40). Cizopasníci byli popsáni v první polovině 20. století v Japonsku a v Číně, odkud byli v 70. letech při převozech ryb zavlečeni do Evropy (např. 21–26). Dobře se adaptovali na podmínky umělých recirkulačních systémů a vyvolali v těchto intenzivních chovech řadu vážných problémů. V současné době je jejich výskyt doložen rovněž ze Severní Ameriky, Austrálie a jižní Afriky. Monogenea rodu *Pseudodactylogyrus* napadají žaberní aparát hostitelských ryb, jedná se o vejcorodé parazity. Larva – onkomiracidium – se líhne z vajíčka a přichycuje se na žaberní lupínky, kde posléze dospívá. Onemocnění vede k těžkému poškození dýchacího aparátu napadených ryb. Patogenní působení závisí na síle infekce a velikosti napadených ryb. Pro mladé úhoře je infekce často letální.

Gyrodactylus anguillae

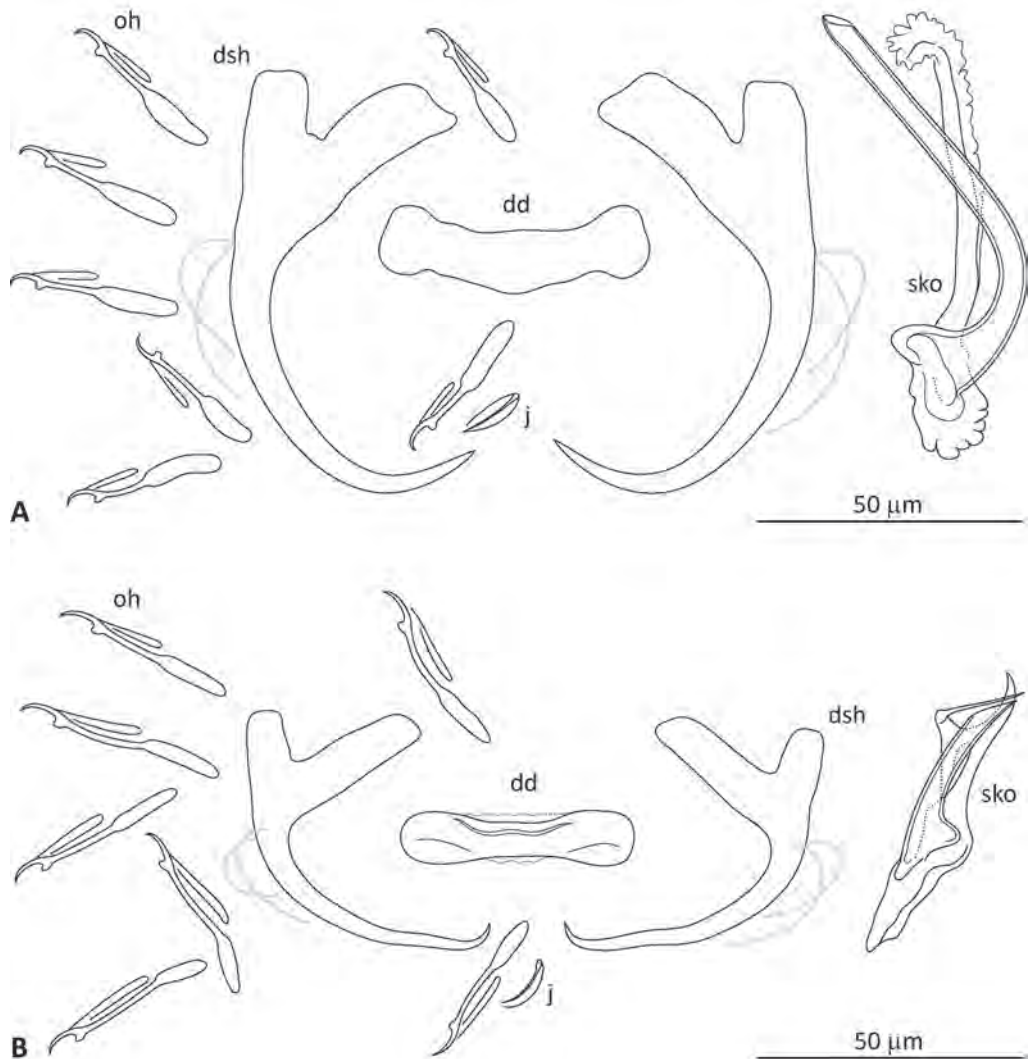
Délka těla se pohybuje v rozmezí 0,4–0,65 mm. Jedná se o živorodý druh. Nachází se na žábřácích a na ploutvích *Anguilla anguilla* a *A. japonica*.

Kapr obecný – *Cyprinus carpio*

Dactylogyrus extensus

Paraziti dosahující relativně velkých rozměrů až 1,5 mm délky a 0,34 mm šířky těla. Cizopasník se vyskytuje na žaberním aparátu kapra obecného a je široce rozšířen v Evropě, Asii a Severní Americe. Z Asie, kde se původně vyskytoval, byl nejdříve zavlečen do úmoří Černého, Kaspického a Aralského moře s amurským sazánem a odtud se při převozech hostitelských ryb rozšířil dále na západ. Mimo kapra je uváděn rovněž jako žaberní cizopasník karasů (4,5). *Dactylogyrus extensus* (obr. 3.11.2.7) je významným patogenem kaprů na farmách, kde dokáže vyvolat závažné onemocnění napadených ryb. Přichycuje se ve střední části žaberních lupínek a svou přítomností provokuje tvorbu nadměrného množství slizu, což vede často k dýchacím problémům invadovaných ryb. Infekce *D. extensus* může být příčinou hynutí jednorokých ryb a těžkých napadení ryb starších ročníků. Pokud jednoroké ryby v důsledku infekcí nehytnou, dochází u nich obvykle ke zpomalení růstu. Optimální teplota pro vývoj *D. extensus* se pohybuje v rozmezí od 13 do 15 °C, což z něj ve srovnání například s druhem *D. vastator* činí spíše chladnomilný druh. Vyskytuje se proto především na jaře a na podzim,

kdy dochází obvykle k růstu početnosti těchto cizopasníků na žábřácích napadených ryb. V teplých letních měsících jsou počty těchto parazitů na žábřácích obvykle nízké. *Dactylogyrus extensus* rovněž netoleruje nízké koncentrace kyslíku rozpuštěného ve vodě. Deficit kyslíku a teplota vody přesahující přes 20 °C vede obvykle k poklesu počtu těchto cizopasníků. Za těchto okolností se cizopasnici přemísťují na konce žaberních lupínek a kladou velké množství vajíček. Paraziti se živí žaberním epitelem a jejich patogenní působení spočívá v tom, že v místě přichycení dochází k nekróze poškozené tkáně. Časté jsou rovněž případy degenerativních změn žaberních lístků (27–29).



Obr. 3.11.2.7. *Dactylogyrus extensus* (A) a *Dactylogyrus vastator* (B) – srovnání sklerotizovaných struktur haptoru (sh – střední háčky, dd – dorsální destička, oh – okrajové háčky, j - jehla) a samčích kopulačních orgánů (sko). (Kresba: E. Řehulková)

Dactylogyrus vastator

Dactylogyrus vastator (obr. 3.11.2.7) je relativně malým žaberním cizopasníkem dosahujícím celkové délky v rozmezí 0,33–0,39 mm. Cizopasí u kapra obecného a karasa stříbřitého (*Carassius gibelio*). Pochází z Asie, odkud byl spolu s převozy hostitelských ryb postupně zavlečen do Ruska, Evropy a Severní Ameriky. Podobně jako u druhu *D. extensus* také v tomto případě není vyvinuto vaginální vyztužení (4,5). *Dactylogyrus vastator* je velmi významný patogen kapřího plůdku chovaného v různých rybochovných zařízeních ve světě. Jeho vývoj je silně ovlivňován teplotou vody. Při teplotách vody v rozmezí od 24 do 28 °C proběhne vývoj nové generace parazita za 12 až 13 dnů, přičemž na embryonální vývoj parazita ve vajíčku připadají 2 až 3 dny a cca 10 dnů trvá dosažení jeho pohlavní zralosti. S poklesem teplot se vývoj zpomaluje a trvá 6 až 7 měsíců v případě zimního období. Masové invaze nastávají obvykle koncem jara anebo počátkem léta, kdy teploty vody dosahují 20 až 25 °C. Napadené ryby jsou letargické, prudce dýchají a mají na žábrách velké množství slizu. Průvodním jevem je rovněž těžká hyperplazie lupínek žaberního aparátu a infekce vede obvykle k úhynu napadených ryb (27).

Dactylogyrus anchoratus

Jedná se o cizopasnika žaber kapra spíše drobných rozměrů, délka těla dosahuje 0,7 mm. Vaginální vyztužení není vyvinuto. Mimo kapra parazituje rovněž na žaberním aparátu karasů (*Carassius carassius*, *C. gibelio*) a hrouzka obecného (*Gobio gobio*).

Z dalších druhů žaberních cizopasníků kapra lze uvést rovněž následující druhy vejcorodých daktylogyrů: *Dactylogyrus baueri*, *D. formosus*, *D. minutus* a *D. intermedius*. Zajímavým druhem je nesporně vzácně se vyskytující *Dactylogyrus yinwenyingae*, který parazituje v nosních jamkách kapra, ale rovněž řady dalších kaprovitých ryb.

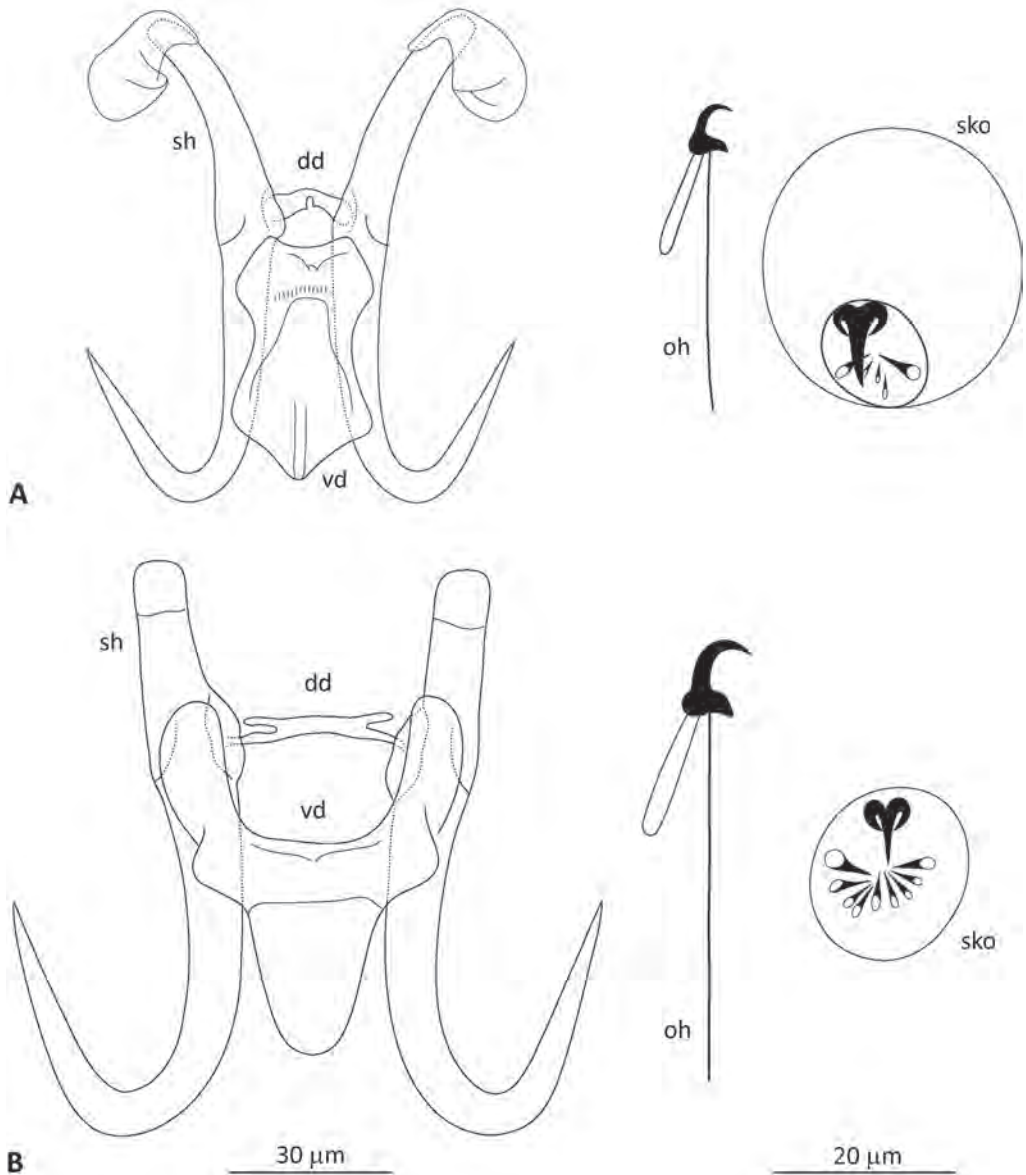
Gyrodactylus katharineri

Délka těla může dosahovat až 0,9 mm, je to tedy relativně velký cizopasník. V důsledku silně vyvinutých postranních výběžků připomíná ventrální spojovací destička svým tvarem písmeno U (4,5)(obr. 3.11.2.8). *Gyrodactylus katharineri* byl doposud nalezen na více než deseti druzích ryb, např. na karasech, parmě obecné (*Barbus barbus*), oukleji obecné (*Alburnus alburnus*), perlinu ostrobříchém (*Scardinius erythrothalmus*) a hrouzku obecném (*Gobio gobio*). Jeho hlavním hostitelem je však kapr obecný. V rybníčních systémech představuje velice nebezpečného ektoparazita kapřího plůdku, u kterého koncem zimy anebo počátkem jara vyvolává onemocnění, které může vyústit v úhyn celých obsádek (27,30–32).

Gyrodactylus cyprini

Robustní cizopasníci, jejichž celková délka těla se pohybuje v rozmezí od 0,5 do 0,9 mm. Ventrální spojovací destička je bez postranních výběžků. Velikost a neobvyklý tvar středních háčků vylučují možnost přehlédnout nebo zaměnit tento druh s jiným druhem (obr. 3.11.2.8). Cizopasí na ploutvích, kůži a při silných invazích (především v jarních a letních měsících) i na žábrách kapra (zejména plůdku a násady). Doložen je rovněž výskyt tohoto cizopasníka na ploutvích a kůži karasů obecných. V našich podmínkách je pravděpodobně zavlečeným cizopasníkem (5,19).

Z dalších druhů gyrodaktylů, které se v našich podmínkách vyskytují na ploutvích, povrchu těla a případně na žaberním aparátu kapra lze uvést těchto několik druhů: *G. shulmani*, *G. stankovici*, *G. sprostonae* a *G. medius*. Uvedené druhy se běžně vyskytují u kapra, případně karasa, v areálu rozšíření svých hostitelů (5,19).



Obr. 3.11.2.8. *Gyrodactylus cyprini* (A) a *Gyrodactylus katharineri* (B) – srovnání sklerotizovaných struktur haptoru (sh – střední háčky, dd – dorsální destička, vd – ventrální destička, oh – okrajový háček, sko – samčí kopulační orgán). (Kresba: E. Řehulková)

Eudiplozoon nipponicum

Velikost těla se pohybuje od 3,0 do 7,0 mm, délka přední části je cca 1,8 až 4,5 mm, délka části zadní cca 1,1–2,9 mm. Zadní část těla tohoto cizopasníka se člení na tři dobře patrné části; přední se vyznačuje výraznými tegumentárními záhyby v počtu 11 až 15, střední pak

typickým rozšířením majícím opět povahu velkých výrazných laloků a konečně třetí část nese 4 páry přichycovacích svorek a pár středních háčků, jejichž velikost dosahuje cca 0,020–0,023 mm (33,34,36). V přední části těla se vyskytuje pár oválných žláznatých útvarů, které leží v blízkosti dobře patrných přísavkovitých struktur (obr 3.11.2.2). Vyskytuje se na žaberním aparátu kapra obecného a dvou druhů karasů (*Carassius carassius*, *C. gibelio*). Původně byl označován jako *Diplozoön nipponicum*. Z oblasti dálného východu se postupně rozšířil do celé Evropy. Vyskytuje se na hostitelských rybách celoročně, avšak v letních měsících (červen až srpen) se vlivem vyšších teplot vody intenzivně rozmnožuje. Z vajíček se ve vodě líhnou invazní onkomiracidia a posléze usedají pravděpodobně na povrch těla a ploutve hostitelských ryb. Odtud pak postupně migrují do žaberní dutiny hostitelských ryb a zde se na žaberním aparátu vyvíjejí v diporpu. Tato již přijímá potravu a migruje na konce žaberních lupínek, kde se dvě diporpy párují a dochází k jejich trvalému srůstu (36–38). Dospělí cizopasnici preferují střední část jednotlivých žaberních oblouků. Potravní nároky *E. nipponicum* jsou velice specifické, neboť potravou jsou jim erytrocyty a v důsledku silnějších invazí dochází u napadených ryb k tzv. hypochromní anémii (39, 40). Jiný způsob patogenního působení nebyl dosud prokázán a cizopasnici jsou díky řadě adaptací k parazitickému soužití s hostitelem dokonale přizpůsobeni. Díky své biologické unikátnosti se tento cizopasník spolu s několika jinými zástupci čeledi Diplozoidea v posledních desetiletích stali intenzivně studovanými modely (41–46).

**Tolstolobik bílý – *Hypophthalmichthys molitrix*
*Dactylogyrus hypophthalmichthys***

Cizopasnici menších rozměrů, celková délka dosahuje cca 0,52 mm a šířka 0,12 mm. Z původní oblasti rozšíření v povodí řeky Amur byl při převozech a umělém vysazování hostitelských ryb zavlečen do nových oblastí. Cizopasnici vyvolávají v místě svého přichycení nevýraznou reakci napadené tkáně a zvýšení produkce slizu. Silné invaze vyvolávají nekrózy žaberních partií a bývají často provázeny saprolegniózou.

**Tolstolobec pestrý – *Hypophthalmichthys nobilis*
*Dactylogyrus lamellatus***

Relativně malí cizopasnici, celková délka dosahuje cca 0,053 mm a šířka 0,013 mm. Do střední Evropy byl zavlečen z východu s umělým vysazením hostitelských ryb. Na farmách může vyvolat silné invaze hostitelských ryb (47). Napadá ryby všech věkových kategorií, avšak největší škody působí na plůdku (48).

**Amur bílý – *Ctenopharyngodon idella*
*Dactylogyrus ctenopharyngodonis***

Cizopasnici menších rozměrů, celková délka dosahuje max. 0,50 mm a šířka 0,10 mm. Parazituje na žaberním aparátu, často se vyskytuje na farmách. Do střední Evropy byl zavlečen z východu s umělým vysazením hostitelských ryb (4,5).

**Lín obecný – *Tinca tinca*
*Dactylogyrus macracanthus***

Relativně velcí červi dosahující délky těla až 1,5 mm a 0,3 mm šířky. Vyskytuje se všude tam, kde jeho hostitel (4,5).

Gyrodactylus tincae

Celková délka těla 0,5 mm. Vyskytuje se na ploutvích, kůži a žábrách lína, rozšířen je všude, kde jeho hostitel (4,5).

Sumec velký - *Silurus glanis****Thaparocleidus siluri******Thaparocleidus vistulensis***

Cizopasníci druhu *T. siluri* dosahují střední velikosti, délka jejich těla je cca 0,8 mm a šířka těla dosahuje 0,22 mm. Cizopasníci se běžně vyskytují na žábrách sumců (5, 19).

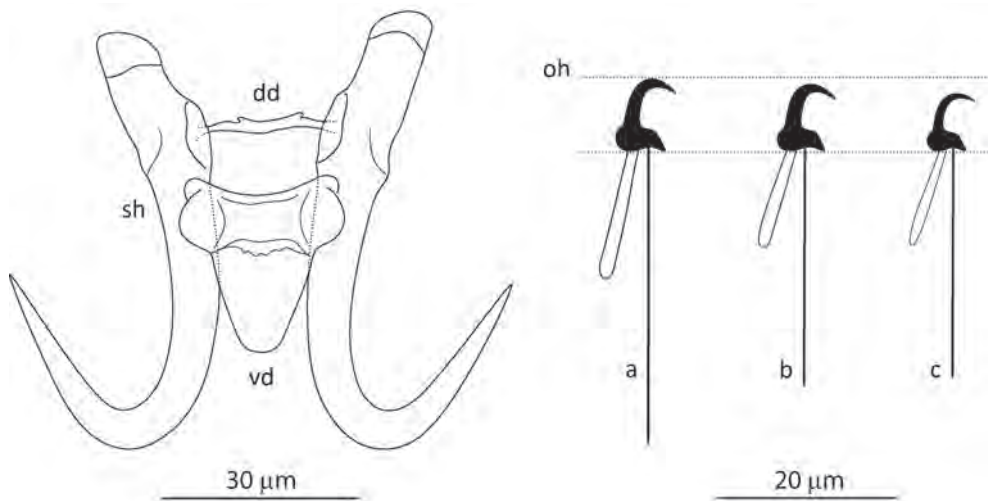
Zástupci druhého druhu *T. vistulensis* dosahují rovněž střední velikosti o délce těla do 0,75 mm a šířce 0,27 mm. Také tito cizopasníci se běžně vyskytují na žábrách sumců a jejich rozšíření se shoduje s výskytem jejich hostitelů (4,5).

Lososovití***Gyrodactylus salaris******Gyrodactylus derjavinoides***

Živorodá monogenea náležející do rodu *Gyrodactylus* se vyskytují na širokém spektru hostitelských ryb a vyznačují se vysokou hostitelskou specificitou (48). Několik druhů těchto cizopasníků se vyskytuje také na lososovitých rybách, kde jsou většinou významnými patogeny (49). Losos obecný (*Salmo salar*), pstruh obecný (*Salmo trutta*) a pstruh duhový (*Onchorhynchus mykiss*) jsou na evropském kontinentě parazitováni několika druhy gyrodaktylů, z nichž nejvýznamnější jsou bezesporu *G. salaris* a *G. derjavinoides*. Oba jsou paraziti uvedených druhů ryb ve sladkovodním prostředí a jejich studiu byla v uplynulých dekádách věnována velká pozornost (50,51).

Zavlečení druhu *G. salaris* z řek náležejících do úmoří Baltického moře s izolovanými populacemi ryb do jiných oblastí (především Norsko), kde se populace lososa nikdy během svého vývoje nesetkaly s tímto cizopasníkem, mělo za následek prudké vzplanutí infekce norských populací lososa. Ukázalo se, že tyto norské subpopulace lososů byly k tomuto parazitovi extrémně citlivé a gyrodaktylus se rychle rozšířil přinejmenším do 46 řek v Norsku, kde způsobil úplné vyhynutí populací tamních lososů. Druh *G. derjavinoides* byl původně popsán z kaspického pstruha *Salmo trutta caspius*. Vyskytuje se i u pstruha obecného (*Salmo trutta*), ale zřídka zde působí silnější infekce divoce žijících ryb (52,53). Zavlečený pstruh duhový (*Onchorhynchus mykiss*) je v této oblasti další z vnímavých hostitelů, který je tímto cizopasníkem invadován. Losos obecný (*Salmo salar*) je v případě tohoto druhu uváděn rovněž jako vnímavý, avšak silnější invaze jsou vzácnější (53,54). Oba druhy cizopasníků dosahují velikosti cca 0,5 mm délky a cca 0,1 mm šířky a jsou si ve svých morfologických charakteristikách podobné (obr. 3.11.2.9).

Jak *G. salaris*, tak *G. derjavinoides* preferují jako místo své lokalizace ploutve, ale mohou být rovněž nacházeni i na těle a hlavě hostitelských ryb, včetně jejich nosních jamek a ústní dutiny. Žábry bývají napadeny výjimečně. Typickým příznakem infekce napadených ryb je v případě napadení druhem *G. salaris* jejich masové hynutí. Napadené ryby jsou letargické, anorektické a vyhledávají úkryty. Na povrchu těla ryb jsou patrné makroskopické léze, které vznikají jak v důsledku přichycení cizopasníků, tak v důsledku jejich příjmu potravy. Podráždění epiteliálních buněk epidermis vede k zánětu a při silných invazích cizopasníků dochází k těžkému poškození pokožky napadených ryb a jejich následnému hynutí (55,56).



Obr. 3.11.2.9. *Gyrodactylus salaris* – ilustrace taxonomicky významných struktur haptoru *G. salaris* (sh – střední háček, dd – dorsální destička, vd – ventrální destička, oh – okrajový háček) a srovnání tvaru a velikosti jeho okrajového háčku (a) s háčky druhů *G. derjavinooides* (b) a *G. truttae* (c). (Kresba: E. Řehulková)

Gyrodactylus truttae

Posledním druhem gyrodaktyla, kterého v souvislosti s losovitými rybami ještě zmíníme, je *G. truttae*. Velikost jeho těla dosahuje 0,6 až 0,85 mm. V našich podmínkách se vyskytuje na ploutvích a kůži pstruha obecného (*Salmo trutta*), pstruha duhového (*Onchorhynchus mykiss*) a sivena amerického (*Salvelinus fontinalis*). Představuje cizopasnika vyskytujícího se ve všech našich povodích, během celého roku a na rybách všech věkových kategorií. Geograficky jeho rozšíření odpovídá areálu rozšíření jeho hostitele.

Štika obecná – *Esox lucius*

Tetraonchus monenteron

Robustní a velcí cizopasnici dosahující až 1,17 mm délky a 0,2 mm šířky. Cizopasnici parazitují na žaberních lupíncích štik (*Esox lucius*). Rozšíření parazita se kryje s areálem rozšíření jeho hostitele (4,5).

Gyrodactylus lucii

Celková délka tohoto cizopasnika dosahuje cca 0,8 mm. U nás se vyskytuje ve všech povodích a všech typech vod. Invaduje ploutve a někdy i žábry. S největšími invazemi (kolem 400 exemplářů na jedné rybě) se setkáváme u jedno- až dvouletých ryb koncem jarního a počátkem letního období. Mimo štiky je uváděn rovněž jako cizopasník ploutví, kůže a žaber okouna říčního a candáta obecného. Rozšíření parazita se kryje s areálem rozšíření jeho hostitelů (4,5).

Okoun říční – *Perca fluviatilis* a Candát obecný – *Sander lucioperca****Ancyrocephalus paradoxus******Ancyrocephalus percae***

Cizopasníci prvního druhu jsou mimořádně robustní, dosahující až 4,7 mm délky a 0,8 mm šířky. *Ancyrocephalus percae* je o poznání menší, celkově měří do délky jen 1,8 mm délky. Oba druhy cizopasníků parazitují na žaberních lupíncích okouna a candáta a vyskytují se všude, kde jejich hostitelé (4,5).

Z dalších druhů monogeneí lze pro tyto hostitelské ryby uvést několik živorodých zástupců: *Gyrodactylus cernuae*, *G. longiradix*, *G. lucii* a *G. luciopercae*.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. V případě živorodých monogeneí jsou zdrojem infekce nakažené ryby, které přichází do kontaktu s rybami zdravými. Mladí jedinci jsou plně vyvinuti k okamžité fixaci na hostitele nebo mohou být přeneseni vodou na jiného hostitele (57,58). K přenosu může dojít rovněž kontaktem ryb s cizopasníky dočasně přichycenými k různým substrátům ve vodě, jako jsou např. kameny, části ponořené vegetace. Gyrodaktylové nemohou sice aktivně plavat, avšak dokáží se krátkou dobu pasivně vznášet ve vodním sloupci a odtud se opětovně přichytit na povrch těla vhodného hostitele. Jsou-li mimo hostitele, dokážou se tyto cizopasníci charakteristickým (tzv. pídalkovitým) způsobem po vhodném substrátu přemísťovat. Přežívání těchto cizopasníků mimo vhodného hostitele může trvat i několik dnů. Rovněž přímý přenos z mrtvých ryb na živé je z hlediska epidemiologie velice významný (55,56).

U vejcorodých zástupců jsou zdrojem infekce onkomiracidia, která se do prostředí dostávají s nakaženými rybami nebo i přítokovou vodou. Bez hostitele jsou monogenea schopna ve vodním prostředí přežít i několik hodin (57).

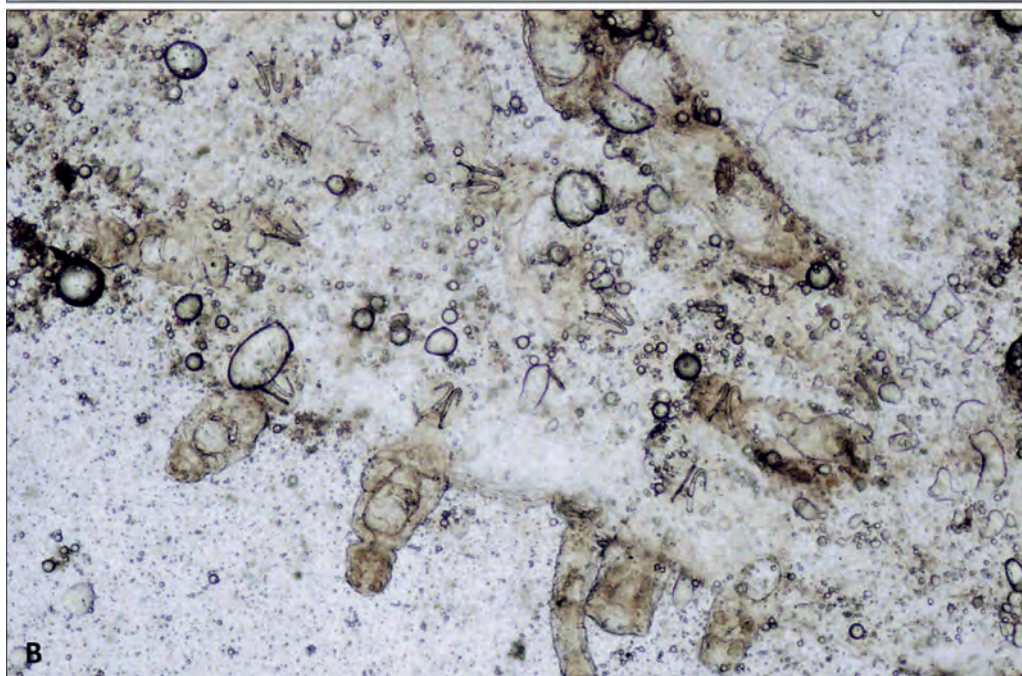
Podmiňující faktory. Vzplanutí monogeneózy podporují optimální podmínky prostředí pro rozmnožování jednotlivých druhů. Vliv má teplota vody a její nasycení kyslíkem, stejně jako velikost a kondice napadených ryb. Například *D. vastator* má teplotní optimum 22–24 °C, přičemž je méně náročný na obsah kyslíku, zatímco *D. extensus* preferuje teplotu 16–17 °C a je náročnější na obsah kyslíku (59). Při nízkých teplotách vody (1–2 °C) trvá vývoj embrya ve vajíčku 5–6 měsíců (9). Rychlejší rozvoj infekce podporuje vysoká hustota obsádek a špatná kondice ryb (58).

Důležitou informací z hlediska sledování průběhu epidemiologie těchto cizopasníků je jejich početnost na napadených rybách. Většina doposud studovaných druhů monogeneí se vyznačuje výraznou sezónní dynamikou své početnosti (59). Důsledkem toho je, že se jednotlivé druhy vyskytují na napadených rybách v průběhu roku ve velice proměnlivých počtech. Početnost cizopasníků na rybách a sezónní dynamika jejího vývoje tak může být hlavním faktorem určujícím průběh, a tedy i závažnost onemocnění. Hlavním faktorem prostředí, který tyto procesy úzce spojené s rozmnožováním monogeneí ovlivňuje, je především teplota vodního prostředí. Nutno si však uvědomit, že jak v přírodních podmínkách, tak v podmínkách různých rybochovných zařízení a akvakultur jsou environmentální vlivy vždy komplexní a zůstávají zatím spíše opomíjenou okolností při sledování průběhu těchto parazitárních onemocnění.

Průběh a vývoj onemocnění. Průběh onemocnění může být akutní až chronický v závislosti na věku ryb, teplotě vody, intenzitě napadení a lokalizaci původce. Akutní průběh mají infekce ve zhuštěných obsádkách za optimálních podmínek pro rozmnožování daného druhu parazita a u nejmladších věkových kategorií ryb, popřípadě ryb ve špatné kondici (58). Při vysokých invazích mladších věkových kategorií ryb koreluje množství parazitů s mortalitou (60). Místa

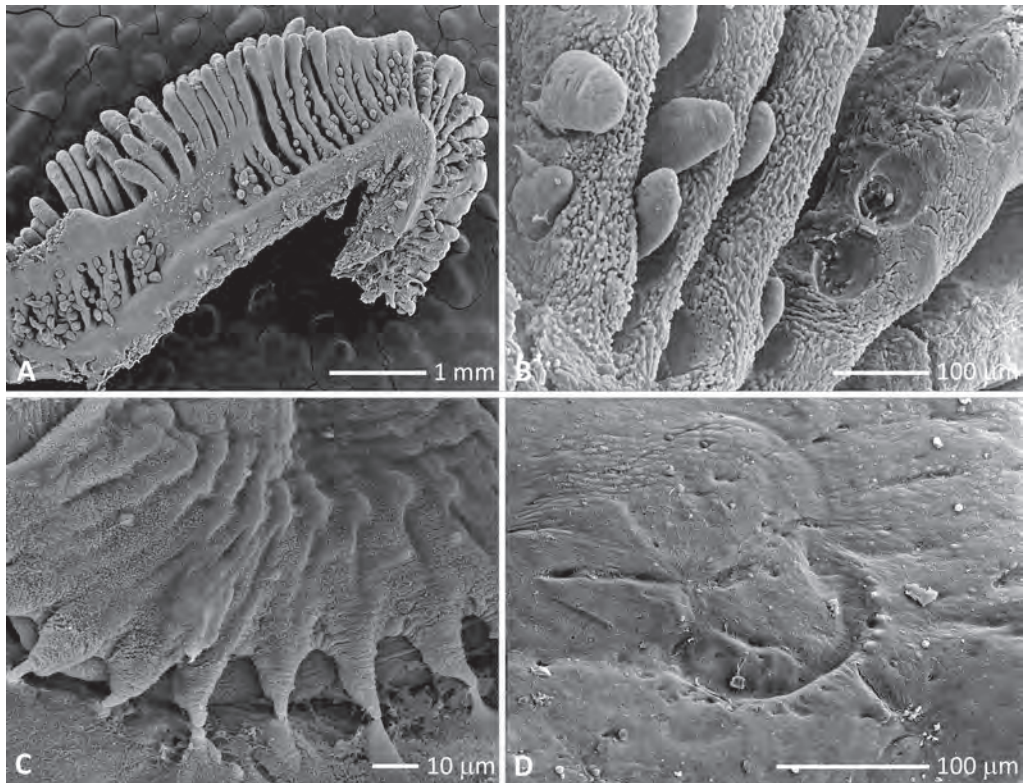
přichycení mohou být vstupní branou sekundárních (zejména bakteriálních a mykotických) infekcí, což prohlubuje špatný zdravotní stav ryb.

Klinické příznaky. Vyskytují se v závislosti na intenzitě napadení a lokalizaci původce. U infekcí žaber bývají ryby letargické, nepřijímají potravu a pohybují se ve vodě bohatší na kyslík, tj. u hladiny nebo přítoku. Při masivních infekcích se zvyšuje rychlost dýchání, ryby jsou nápadně světlé a kaprovité druhy nouzově dýchají (troubí). Napadené ryby hynou za příznaků dušení. Při napadení kůže a ploutví se ryby otírají o dno, stěny nebo předměty v nádrži (57).



Obr. 3.11.2.10. Koi kapr ve špatném výživném stavu s přítomností hemoragií v kůži (A) způsobených masivní intenzitou parazitů *Gyrodactylus* sp. (B); nativní preparát seškrabu z kůže s velkým množstvím původců. (Foto: M. Palíková)

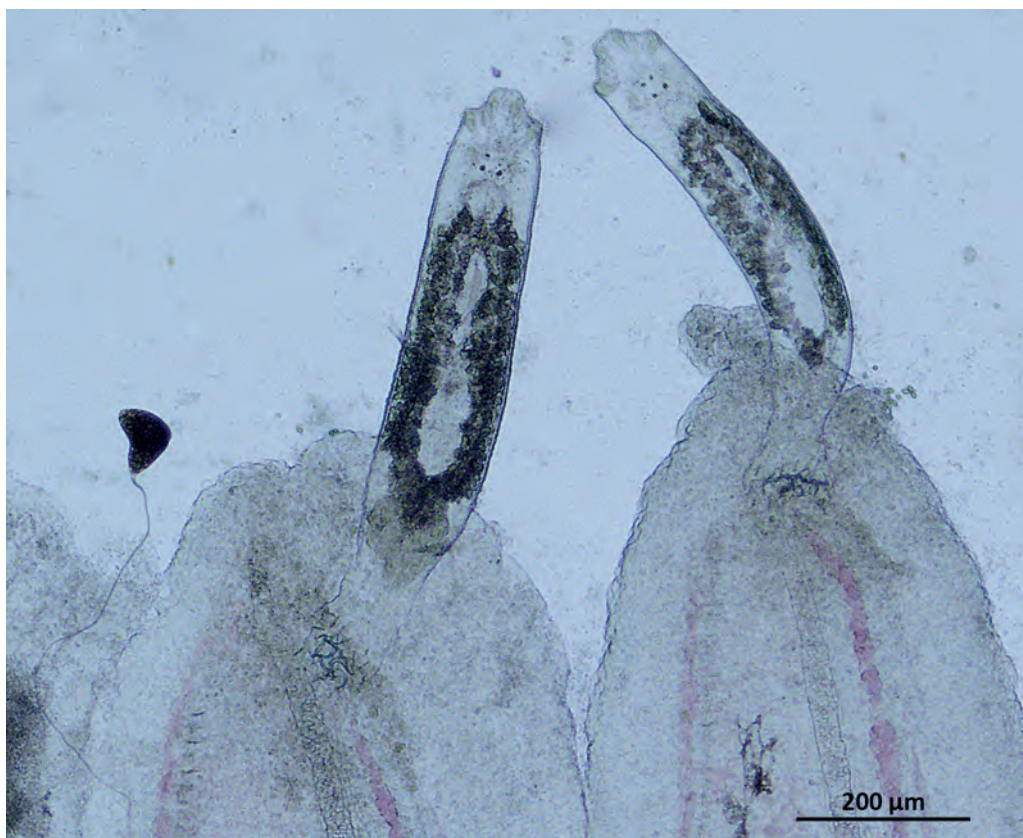
Patologické změny. Parazité patřící do skupiny monopisthocotyleí se žíví povrchními vrstvami kůže a žaber. U kožních parazitů dochází v místě přichycení k narušení integrity kůže projevující se opadáváním šupin, hemoragiemi (obr. 3.11.2.10A), změnami kožního zbarvení (šedavé okrsky) a zmnožením hlenu. Žaberní parazité svým přichycením způsobují hyperplazii žaberního epitelu – žábry jsou makroskopicky zduřelé. V pokročilejších stádiích infekce se na nich vyskytují hemoragická a nekrotická ložiska. Okraje žaberních oblouků jsou nerovné (9,57)(obr. 3.11.2.11). Parazité ze skupiny polyopisthocotylea se žíví hlavně krví a mohou tedy způsobovat anémii (61). Některé druhy monogeneí (např. *G. salmonis*, *Dactylogyrus olfactorius*) se vyskytují v čichových jamkách ryb, kde poškozují strukturu a funkci čichového systému. Toto poškození následně snižuje schopnost ryby najít potravu a vyhýbat se dravcům (63).



Obr. 3.11.2.11. Monogenea přichycená na povrchu žaber čtverzubce zeleného (*Dichotomyctere nigroviridis*) (A, B) a ploutvi bichira kalabárského (*Erpetoichthys calabaricus*) (C, D). Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu. A – žaberní oblouk s masivní invazí vejcorodých monogeneí rodu *Thylacicleidus* (Dactylogyridae) s patrnou hyperplazií žaberních filamentů. B – stopy (vpravo) po zanoření haptoru do žaberní tkáně. C – detail haptoru živorodých monogeneí rodu *Macrogyroductylus* s okrajovými háčky zanořenými do tkáně hostitele. D – podkovovitá stopa po přichycení haptoru na ploutvi hostitele, vnější okraj je lemován otvory po přichycení cizopasníka okrajovými háčky. (Foto: E. Řehulková)

Diagnóza. Pro zachycení všech druhů monogeneí je potřeba nejprve provést pečlivou parazitologickou pitvu orgánů (např. žaber, ploutví) pod stereomikroskopem při odpovídajícím zvětšení (cca 20×)(obr. 3.11.2.12). Vzhledem k tomu, že i značně velcí cizopasníci (např. *D. extensus*, *E. nipponicum*) parazitují ve vnitřním prostoru mezi žaberními lupínky, nejsou při pohledu tzv. seshora viditelní a nemusíme je ani zachytit tzv. seškrabem skalpelem z povrchu žaber.

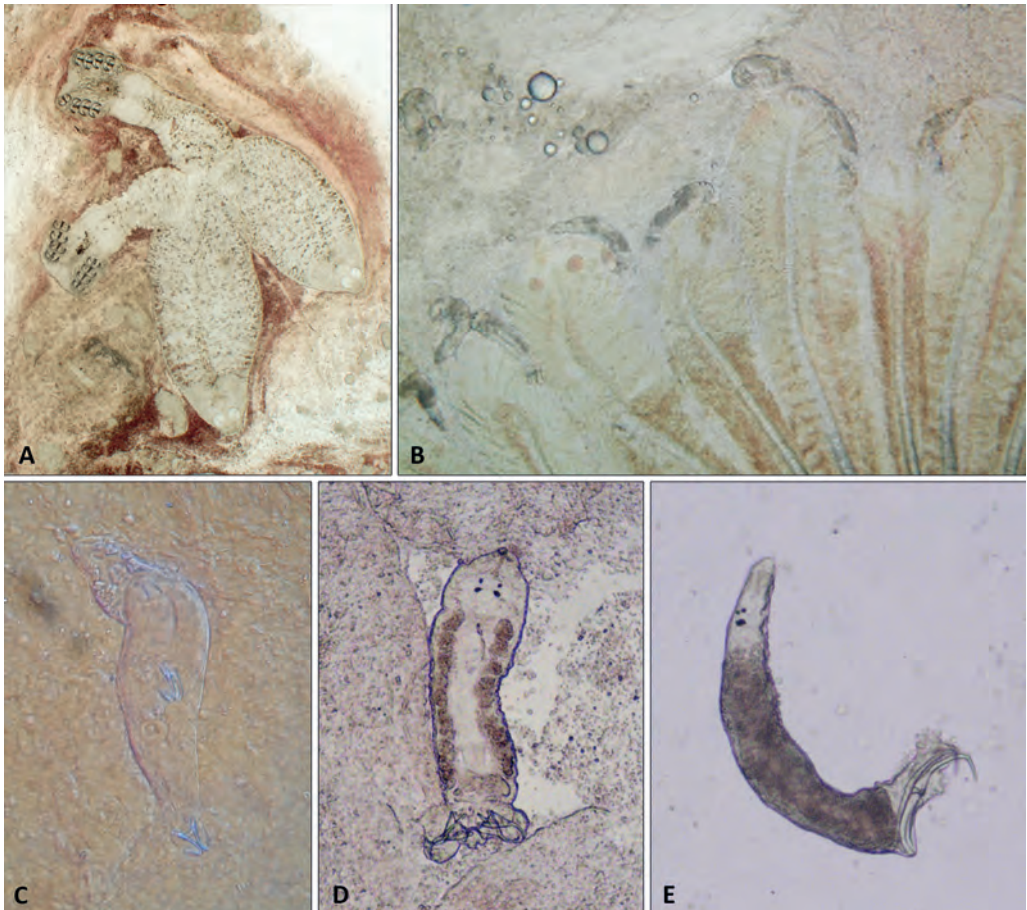
Poté se provádí mikroskopické vyšetření kožních a žaberních stěrů s následnou identifikací původce (obr. 3.11.2.10B, 3.11.2.12, 3.11.2.13, 3.11.2.14). Pro potřeby běžné veterinární praxe není obvykle potřeba zástupce monogeneí identifikovat do druhu, neboť průběh infekce a léčba se u jednotlivých druhů výrazně neliší (57). Zásadní, zejména pro volbu adekvátní terapie, je určení, zda se jedná o vejcorodé nebo živorodé zástupce. Tento aspekt jejich biologie je potřeba mít na vědomí rovněž při navrhování účinných preventivních opatření.



Obr. 3.11.2.12. Monogenea přichycená na povrchu žaber akvarijní ryby čtverzubce zeleného (*Dichotomyctere nigroviridis*) při vyšetření celých žaber stereomikroskopem. Jedná se o vejcorodý druh monogeneí *Thylacicleidus serendipitus* (Dactylogyridae). Vlevo je vidět uvolněné vajíčko s filamentem. (Foto: E. Řehulková)

K vyšetření je v ideálním případě potřeba použít živé nebo čerstvě uhynulé ryby, neboť i životnost monogeneí se po smrti hostitele značně snižuje (9). Živé ryby je potřeba dopravit

a následně držet nejlépe v původní vodě, anebo alespoň ve vodě dostatečně odstáté. Důležité je zde to, aby nebyla příliš výrazně změněna teplota vody, což může vést k rychlému odpadnutí monogeneí z povrchu napadených orgánů a tedy následnému falešně negativnímu výsledku vyšetření.



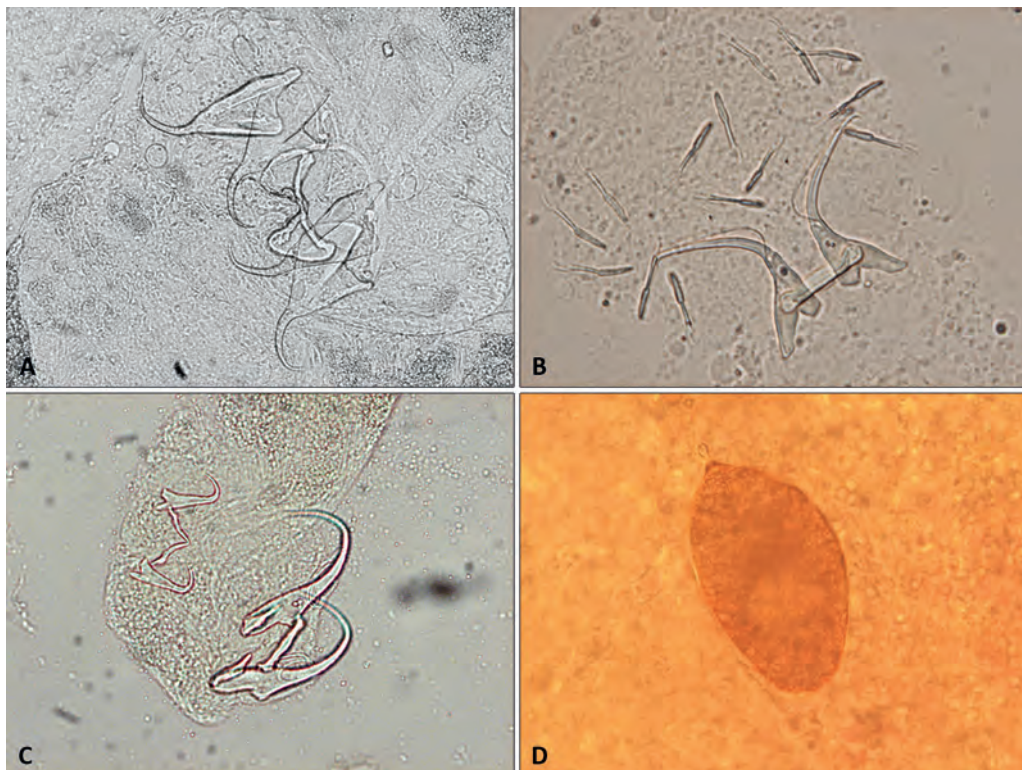
Obr. 3.11.2.13. Nativní kompresní preparáty seškrabů kůže nebo žaber: *Diplozoon* sp. (A); *Sciadicleithrum variabilum* – akvarijní ryba (B); *Gyrodactylus* sp. (C); *Tetraonchus monenteron* (D); *Dactylogyrus* sp. (E). (Foto: M. Palíková)

Přesná determinace parazitů se provádí nejlépe po jejich fixaci v glycerin amonium pikrátů (GAPu), čímž se zvýrazní jejich sklerotizované struktury pro následnou morfometrickou druhovou analýzu (62). Takto fixovaný parazitologický materiál je potřeba studovat pod mikroskopem (ideálně vybaveném fázovým kontrastem) při zvětšení 400 až 1000 \times , a to v závislosti na velikosti studovaných struktur. Fázový kontrast umožňuje rozlišit potřebné detaily v morfologii taxonomicky významných struktur. Pro determinaci vejcorodých monogeneí je potřeba studovat mimo tvar a velikost tzv. tvrdých (sklerotizovaných) částí haptoru rovněž sklerotizované části samčího kopulačního aparátu a vaginálního vyztužení těchto cizopasníků. Kombinace tvaru a velikosti taxonomicky významných struktur je tedy pro identifikaci druhů

monogeneí zásadní. Opět je i zde ale potřeba rozlišit, zda se jedná o cizopasníky živorodé (*Gyrodactylus*) anebo vejcorodé (např. *Dactylogyrus*). V případě živorodých zástupců rodu *Gyrodactylus* je totiž obvykle klíčovým kritériem pro identifikaci druhu tvar a velikost tzv. vlastního okrajového háčku (viz obr. 3.11.2.9), tedy struktury dosahující velikosti jen několika mikrometrů (potřebné zvětšení 1000×). V případě zástupců monogeneí vejcorodých je vlastní identifikace druhu založena na kombinaci tvaru a metrických charakteristik sklerotizovaných částí pohlavních orgánů (samčí kopulační aparát a vaginální vyztužení).

V uplynulých dvou desetiletích bylo dosaženo významného pokroku v aplikaci mnoha molekulárně genetických technik při studiu cizopasníků. Pro mezidruhovou determinaci monogeneí lze využít řadu z nich (63–68). Dostupnost těchto metod pro běžnou veterinární praxi je ale zatím stále překážkou jejich rutinní aplikace. U některých čeledí (např. Gyrodactylidae) byla k tomuto účelu s úspěchem využita metoda PCR–RFLP (18).

Terapie. K léčbě monogeneóz se využívá řada přípravků, nejčastěji ve formě koupelí. Nejužívanější jsou formaldehyd, NaCl a peroxid vodíku; v menší míře lze využít i manganistan draselný (18). U vejcorodých druhů, vzhledem k rezistenci vajčeka vůči léčebným prostředkům, je nutné koupele opakovat.



Obr. 3.11.2.14. Detaily sklerotizovaných struktur haptorů *Tetraonchus monenteron* (A); *Dactylogyrus vastator* (B); *Thaparocleidus siluri* (C) a vajčeka (D) v nativních preparátech. (Foto: M. Palíková)

Existují publikace podporující biologickou léčbu, kdy se do obsádky přisazují tzv. čistící ryby, které se živí ektoparazity, bakteriemi, nemocnou nebo poraněnou kůží svých hostitelů, a tím snižují parazitární napadení cílových hostitelských druhů. Takovéto chování bylo prokázáno u tilapií (69), ve slaných vodách pak u pyskouna rozpůleného (*Labroides dimidiatus*) (70). Pro narušení a zpomalení vývojového cyklu lze přisazovat i drobné korýše (Copepoda), kteří se živí obrvenými larvami – onkomiracidii (18).

Prevence. Spočívá zejména v zamezení průniku původců do chovného prostředí, kam se dostávají s infikovanými rybami nebo přítokovou vodou s infekčními larvami. K minimalizaci rizik se doporučuje používat umělý výtěr ryb, kdy je vyloučen kontakt generačních ryb s plůdkem; nepřisazovat do chovných nádrží infikované ryby; napájet plůdkové výtěžníky ze zdrojů, kde nežijí stejné druhy ryb, popřípadě z nezarybněných nádrží (57). K účinné prevenci patří rovněž důsledné dodržování zoohygieny v chovných systémech spolu s pravidelnými veterinárními kontrolami chovaných druhů ryb, aby se případné vzplanutí monogeneózy dalo včas zachytit a mohla být započata léčba.

LITERATURA

1. Chai, J., Murrell, K.D., Lymbery, A.J., 2005. Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. *International Journal for Parasitology* 35: 1233–1254.
2. Volf, P., Horák, P., Čepička, I., Flegr, J., Lukeš, J., Mikeš, L., Svobodová, M., Vávra J., Votýpka, J., 2007. Paraziti a jejich biologie. Triton, Praha, 318 s.
3. Bychowsky, B.E., 1957. Systematics and Phylogeny of the Monogeneoidea. Izdatelstvo AN SSSR, Moscow – Leningrad, 509 p. (rusky).
4. Ergens, R., Lom J., 1970. Původci parazitárních nemocí ryb. Academia, Praha, 383 s.
5. Gussev, A.V. (Ed.) 1985. Order Dactylogyridea. In: Key for Freshwater Fish Parasites of the USSR. Volume 2. Nauka, Leningrad, pp. 15–250 (rusky).
6. Woo, P.T.K., (Ed.) 1995. Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections. Volume 1. CAB International, Wallingford, UK, 808 p.
7. Hoffman, G.L., 1999. Parasites of North American Freshwater Fishes. Second edition. Comstock Publishing Associates, Ithaca and London, 539 p.
8. Kearn, G.C., 1994. Evolutionary expansion of the Monogenea. *International Journal for Parasitology* 24: 1227–1271.
9. Reed, P., Francis-Floyd, R., Klinger, R.E., 2009. Monogenean Parasites of Fish. Fisheries and Aquatic Sciences. University of Florida UF, IFAS Extension. FA28, USA, pp. 1–4.
10. Gelnar, M., Whittigton, I., Chisholm, L., 1998. Preface – 3rd International Symposium on Monogenea. *International Journal for Parasitology* 28: 1479–1480.
11. Moravec, F., 2001. Checklist of the Metazoan Parasites of Fishes of the Czech Republic and the Slovak Republic (1873–2000). Academia, Prague, 168 p.
12. Eiras, J.C., Segner, H., Wahli, T., Kapoor, B.G., 2008. Fish Diseases, Volume 1. Science Publisher, Plymouth, 612 p.
13. Noga, E.J., 2011. Fish Disease: Diagnosis and Treatment. John Wiley & Sons. 519 p.
14. Braun, F., 1966. Beiträge zur mikroskopischen Anatomie und Forflanzungsbiologie von *Gyrodactylus wagneri* v. Nordmann, 1832. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 28: 142–174.

15. Scott, M.E., 1982. Reproductive potential of *Gyrodactylus bullatarudis* (Monogenea) on guppies (*Poecilia reticulata*). Parasitology 85: 217–236.
16. Harris, P.D., 1984. Asexual and sexual reproduction in viviparous monogenean *Gyrodactylus*. Proceedings of the Spring Meeting of the British Society of Parasitology. Parasitology 89: 17.
17. Harris, P.D., 1985. Observation on the development of the male reproductive system in *Gyrodactylus gasterostei* Glaser, 1974 (Monogenea, Gyrodactylidae). Parasitology 91: 519–529.
18. Buchmann, K., Bresciani, J. 2006. Monogenea (Phylum Platyhelminthes). In: Woo, P.T.K. (Ed.). Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections (2nd edn). Oxfordshire: CABI Publishing, pp. 297–344.
19. Kent, M.L., Fournie, J.W., 2007. Parasites of Fishes. In: Baker, D.G. (Ed.). Flynn's Parasites of Laboratory Animals. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, pp. 69–116.
20. Hanel, L., Andreska, J., 2013. Ryby evropských vod v ilustracích Květoslava Híska. Aventinum, Praha, 352 s.
21. Buchmann, K., 2012. *Pseudodactylogyus anguillae* and *Pseudodactylogyus bini*. In: Woo, P.T.K., Buchmann, K. (Eds). Fish Parasites: Pathology and Protection, pp. 209–224.
22. Molnár, K., 1983. Das Vorkommen von parasitären Hakensaugwürmern bei der Aalaufsucht in Ungarn. Zeitschrift für Binnenfischerei der DDR 30: 341–345.
23. Lambert, A., Le Brun, N., Pariselle, A., 1984. Presence en France de *Pseudodactylogyus anguillae* (Yin et Sproston, 1948) Gussev, 1965 (Monogenea, Monopisthocotyles) parasite branchial de l'anguille européenne, *Anguilla anguilla*, en eau douce. Annales Parasitologie Humaine et Compare 60: 91–92.
24. Gelnar, M., Scholz, T., Matějusková, I., Konečný, R., 1996. Occurrence of *Pseudodactylogyus anguillae* (Yin et Sproston, 1948) and *P. bini* (Kikuchi, 1929), parasites of eel, *Anguilla anguilla* L., in Austria. Annalen Naturhistorischen Museum Wien 98B: 1–4.
25. Matějusková, I., Šimková, A., Sasal, P., Gelnar, M., 2003. Microhabitat distribution of *Pseudodactylogyus anguillae* and *P. bini* among and within gill arches of the European eel (*Anguilla anguilla* L.). Parasitology Research 89: 290–296.
26. Ogawa, K., Egusa, S., 1976. Studies on eel pseudodactylogyrosis. I. Morphology and classification of three eel dactylogyrids with a proposal of a new species, *Pseudodactylogyus microrchis*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries 42: 395–404.
27. Cone, D.K., 1995. Monogenea (Phylum Platyhelminthes). In: Woo P.T.K. (Ed.). Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections. Volume 1. CAB International, Wallingford, UK, pp. 289–327.
28. Prost, M., 1963. Investigation on the development and pathogenicity of *Dactylogyus anchoratus* (Duj., 1845) and *D. extensus* Mueller and van Cleave, 1932 for breeding carps. Acta Parasitologica Polonica 50: 572–578.
29. Paperna, I., 1964. Adaptation of *Dactylogyus extensus* (Mueller and van Cleave, 1932) to ecological conditions of artificial ponds in Israel. Journal of Parasitology 50: 90–93.
30. Hanzelová, V., Žitňan R., 1982. The seasonal dynamics of the invasion cycle of *Gyrodactylus katharineri* Malmberg, 1964 (Monogenea). Helminthologia 19: 257–265.
31. Ergens, R., 1983. A survey of the results of studies on *Gyrodactylus katharineri* Malmberg, 1964 (Gyrodactylidae, Monogenea). Folia Parasitologica 30: 15–26.

32. Ergens, R., Gelnar, M., 1985. Experimental verification of the effect of experimental temperature on the size of hard parts of opisthaptor of *Gyrodactylus katharineri* Malmberg, 1964 (Monogenea). *Folia parasitologica* 32: 377–380.
33. Khotenowsky, I.A., 1985. Fauna of the USSR. Monogenea, suborder Octomacrinae Khotenowsky. Nauka, Leningrad New Series: 260 p. (rusky).
34. Gelnar, M., Svobodová, Z., Vykusová, B., 1989. *Eudiplozoon nipponicum* (Goto, 1891) - nový cizopasník kapra v našich rybnících. *Rybníkářství* 1: 5–12.
35. Gelnar, M., Svobodová, Z., Vykusová, B., 1990. *Eudiplozoon nipponicum* (Goto, 1891) – aklimatizace cizopasníka v našich rybnících. *Rybníkářství* 1: 11–19.
36. Zurawski, T.H., Mousley, A., Mair, G.R., Brennan, G.P., Maule, A.G., Gelnar, M., Halton, D.W., 2001. Immunomicroscopical observations on the nervous system of adult *Eudiplozoon nipponicum* (Monogenea: Diplozoidae). *International Journal for Parasitology* 31: 783–792.
37. Zurawski, T.H., Mair, G.R., Maule, A.G., Gelnar, M., Halton, D.W., 2003. Microscopical evaluation of neural connectivity between paired stages of *Eudiplozoon nipponicum* (Monogenea: Diplozoidae). *Journal of Parasitology* 89: 198–200.
38. Zurawski, T.H., Mousley, A., Maule, A.G., Gelnar, M., Halton, D.W., 2003. Cytochemical studies of the neuromuscular systems of the diporpa and juvenile stages of *Eudiplozoon nipponicum* (Monogenea: Diplozoidae). *Parasitology* 126: 349–357.
39. Kawatsu, H., 1978. Studies on the anemia of fish – IX. Hypochromic microcytic anemia of crucian carp caused by infestation with a trematode, *Diplozoon nipponicum*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 44: 1315–1319.
40. Svobodová, Z., Gelnar, M., Šimová, T., Kočová, A., Vykusová, B., Přikryl, I., 1989. Vliv *Eudiplozoon nipponicum* na změny krevního obrazu kapra. 2. Celostátní hematologická konference, 28 -29 listopadu 1989, Litomyšl. *Sborník přednášek*, s. 25.
41. Pečinková, M., Vollestad, L.A., Koubková, B., Gelnar, M., 2007. Asymmetries in the attachment apparatus of a gill parasite. *Journal of Zoology* 272: 406–414.
42. Valigurová, A., Hodová, I., Sonnek, R., Koubková, B., Gelnar, M., 2011. *Eudiplozoon nipponicum* in focus: monogenean exhibiting a highly specialized adaptation for ectoparasitic lifestyle. *Parasitology Research* 108: 383–394.
43. Konstanžová, V., Koubková, B., Kašný, M., Ilgová, J., Dzika, E., Gelnar, M., 2017. An ultrastructural study of the surface and attachment structures of *Paradiplozoon homoion* (Bychowsky et Nagibina, 1959) (Monogenea, Diplozoidae). *Parasites & Vectors* 10.1: 261.
44. Hodová, I., Sonnek, R., Gelnar, M., Valigurová, A., 2018. Architecture of *Paradiplozoon homoion*: A diplozoid monogenean exhibiting highly-developed equipment for ectoparasitism. *PLOS ONE* 13: e0192285.
45. Ilgová, J., Jedličková, L., Dvořáková, H., Benovics, M., Mikeš, L., Janda, L., Vorel, J., Roudnický, P., Potěšil, D., Zdráhal, Z., Gelnar, M., Kašný, M., 2017. A novel type I cystatin of parasite origin with atypical legumain-binding domain. *Scientific Reports* 7: 17526.
46. Jedličková, L., Dvořáková, H., Dvořák, J., Kašný, M., Ulrychová, L., Vorel, J., Žárský, V., Mikeš, L., 2018. Cysteine peptidases of *Eudiplozoon nipponicum*: a broad repertoire of structurally assorted cathepsins L in contrast to the scarcity of cathepsins B in an invasive species of haematophagous monogenean of common carp. *Parasites & Vectors* 11: 142.

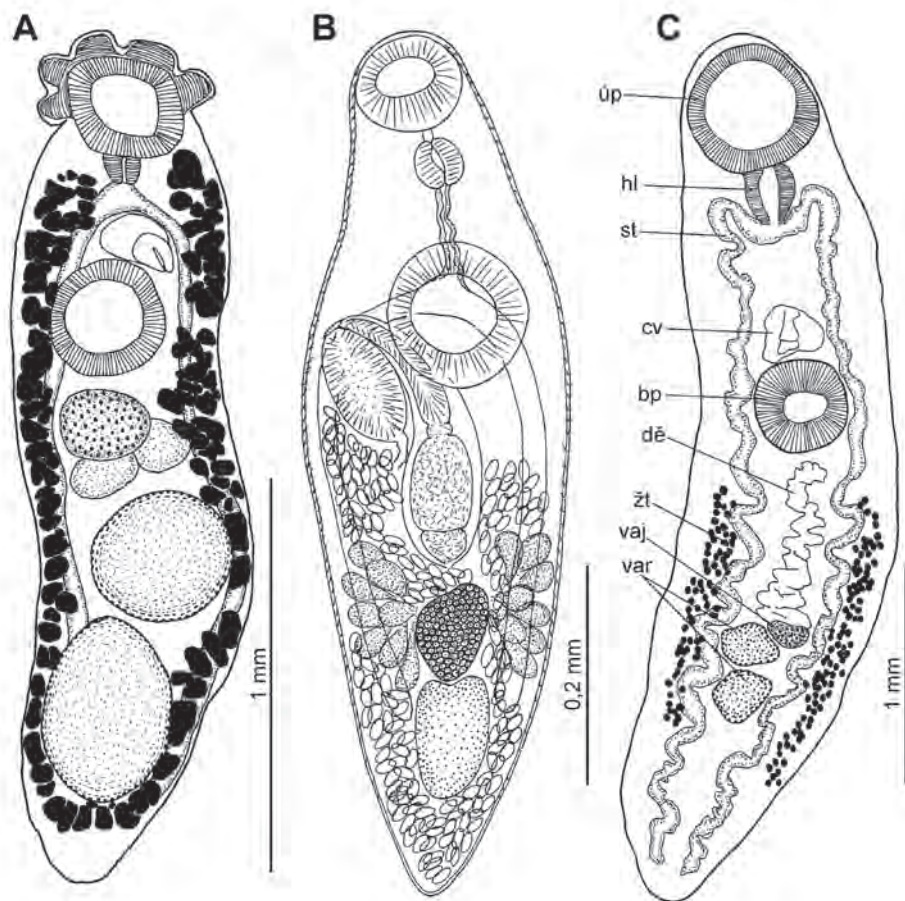
47. Molnár, K., 1976. To the knowledge of the Monogenea fauna in Hungary. *Parasitologica Hungarica* 9: 31–33.
48. Ergens, R., Svobodová, Z., Zajíček, J., 1987. Mnohobuněční cizopasníci našich užitkových ryb. V. Monogenea: rod *Dactylogyrus* Diesing, 1850– charakteristiky druhů ze žaber lína, amura a tolstobika. *Rybníkářství* 4: 133–137.
49. Malmberg, G., 1993. Gyrodactylidae and gyrodactylosis of salmonidae. *Bulletin Franchais de Peche et Pisciculture* 328: 5–46.
50. Malmberg, G., 2004: How the „salmon killer“ *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 was discovered and described in Sweden. Report from the front. In: Buchmann, K. (Ed.). *Diagnosis and Control of Fish Diseases*. Royal Veterinary and Agriculture University, Frederiksberg Bogtrykkeri, Frederiksberg, Denmark, pp. 12–18.
51. Buchmann, K., Lindstrom, T., Nielsen, M.E., Bresciani, J., 2000. Diagnosis and occurrence of ectoparasite infections (*Gyrodactylus* spp.) in Danish salmonids. *Dansk Veterinaertidsskrift* (Danish Veterinary Journal) 83: 15–19.
52. Ergens, R., 1983. *Gyrodactylus* from Eurasian freshwater salmonidae and thymallidae. *Folia Parasitologica* 30: 15–26.
53. Buchmann, K., Udal, A., 1997. *Gyrodactylus derjavini* infections in four salmonids: comparative host susceptibility and site selection of parasites. *Diseases of Aquatic Organisms* 28: 201–209.
54. Jorgensen, L.V.G., Heinecke, R.D., Kania, P., Buchmann, K., 2008. Occurrence of gyrodactylids on wild Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Danish rivers. *Journal of Fish Diseases* 31: 127–134.
55. Buchmann, K., Bresciani, J., 2012. Monogenea (Phylum Platyhelminthes). In: Woo, P.T.K., Buchmann, K. (Eds). *Fish Parasites: Pathobiology and Protection*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 193–208.
56. Buchmann, K., Bresciani, J., Pedersen, E., Ariel, I., Madsen, L., 2009. *Fish Diseases – an introduction*. Biofolia, Frederiksberg, Denmark, 131 pp.
57. Kent, M.L., Fournie, J.W., 2007. Parasites of Fishes. In: Baker, D.G. (Ed.). *Flynn’s Parasites of Laboratory Animals*. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, pp. 69–116.
58. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. *Choroby ryb*. VFU Brno, 155 s.
59. Chubb, J.C., 1977. Seasonal occurrence of helminths in freshwater fishes. Part I. Monogenea. *Advances in Parasitology* 17: 14 –199.
60. Dalgaard, M.B., Nielsen, C.V., Buchmann, K., 2003. Comparative susceptibility of two races of *Salmo salar* (Baltic Lule river and Atlantic Conon river strains) to infection with *Gyrodactylus salaris*. *Diseases of Aquatic Organisms* 53: 173–176.
61. Gussev, A.V., 1978. Collection methods of Monogenea. *Nauka, Leningrad*, 48 p. (rusky).
62. Lari, E., Pyle, G.G., 2017. *Gyrodactylus salmonis* infection impairs the olfactory system of rainbow trout. *Journal of Fish Diseases* 40: 1279–1284.
63. Cunningham, C.O., 1997. Species variation within the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of *Gyrodactylus* (Monogenea: Gyrodactylidae) ribosomal RNA genes. *Journal of Parasitology* 83: 2015–219.
64. Cunningham, C.O., McGillivray, D.M., MacKenzie, K., Malvin, W.T., 1995. Discrimination between *Gyrodactylus salaris*, *G. derjavini* and *G. truttae* (Platyhelminthes: Monogenea) using restriction fragment length polymorphism and an oligonucleotide probe within small subunit ribosomal RNA gene. *Parasitology* 111: 87–94.

65. Cunningham, C.O., Collins, C.M., Malmberg, G., Mo, T.A., 2003. Analysis of ribosomal RNA intergenic spacer (IGS) sequence in species and population of *Gyrodactylus* (Platyhelminthes: Monogenea) from salmonid fish in northern Europe. *Diseases of Aquatic Organisms* 57: 237–246.
66. Huyse, T., Plaisance, L., Webster, B.L., Mo, T.A., Bakke, T.A., Bachmann, L., Littlewood, T. 2007. The mitochondrial genome of *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes: Monogenea) a pathogen of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Parasitology* 134: 739–747.
67. Matějusková, I., Gelnar, M., McBeath, A.J.A., Collins, C.M., Cunningham, C.O., 2001. Molecular markers for gyrodactylids (Gyrodactylidae: Monogenea) from five fish families (Teleostei). *International Journal for Parasitology* 31: 738–745.
68. Zietara, M., Rokicka, M., Stojanovski, S., Lumme, J., 2010. Introgression of distant mitochondria into the genome of *Gyrodactylus salaris*: nuclear and mitochondrial markers are necessary to identify parasite strains. *Acta Parasitologica* 55: 20–28.
69. Khalil, L.F., 1964. On the biology of *Macrogryrodactylus polypteri* Malmberg, 1956, a monogenetic trematode on *Polypterus senegalus* in Sudan. *Journal of Helminthology* 38: 219–222.
70. Grutter, A.S., Deveney, M.R., Whittington, I.D., Lester, R.J.G., 2002. The effect of the cleaner fish *Labroides dimidiatus* on the capsalid monogenean *Benedenia lolo* parasite of the labrid fish *Hemigymnus melapterus*. *Journal of Fish Biology* 61: 1098–1108.

3.11.3. TREMATODA

Eliška Zusková, Tomáš Scholz

Motolice (Trematoda; anglicky flukes nebo trematodes) jsou početnou skupinou parazitických ploštěnců (Platyhelminthes: Neodermata) čítající dnes přes 20 tisíc druhů, z nichž velká část cizopasí u sladkovodních a mořských ryb (1). Motolice mají oválné, dorsoventrálně zploštělé tělo velikosti 1–25 mm (většina našich zástupců jsou malých rozměrů), které je zpravidla opatřeno dvěma přísavkami – ústní a břišní (acetabulum) (obr. 3.11.3.1). U zástupců některých skupin mohou přísavky chybět, jako v případě tzv. rybích krevničků (rod *Sanguinicola*). Kromě motolic dvou čeledí (Schistosomatidae a některých druhů čeledi Didymozoidae) jsou všechny ostatní motolice hermafroditi, tj. jeden jedinec obsahuje samčí i samičí pohlavní orgány (2).



Obr. 3.11.3.1. Schematický náčrt motolic. *Bunodera luciopercae* (A), *Asymphylodora tincae* (B) a *Azygia lucii* (C). Legenda: bp – břišní přísavka, cv – cirový vak, dě – děloha, hl – hltan, st – střevo, úp – ústní přísavka, vaj – vaječník, var – varlata, žt – žloutkové trsy. (Kresba: A, C – T. Scholz, B – V. Našincová)

Vývojový cyklus motolic je nepřímý, což znamená, že k dokončení vývojového cyklu potřebují minimálně jednoho, velmi často dva a výjimečně i tři mezihostitele. Motolice parazitují prakticky ve všech orgánových soustavách, nejčastěji však v trávicím systému, ale i v krevním řečišti nebo v očích. **U ryb parazitují jak dospělí jedinci** (ryba figuruje jako **definitivní hostitel**), tak i **vývojová stádia – metacerkárie** (ryba figuruje jako **2. mezihostitel**).

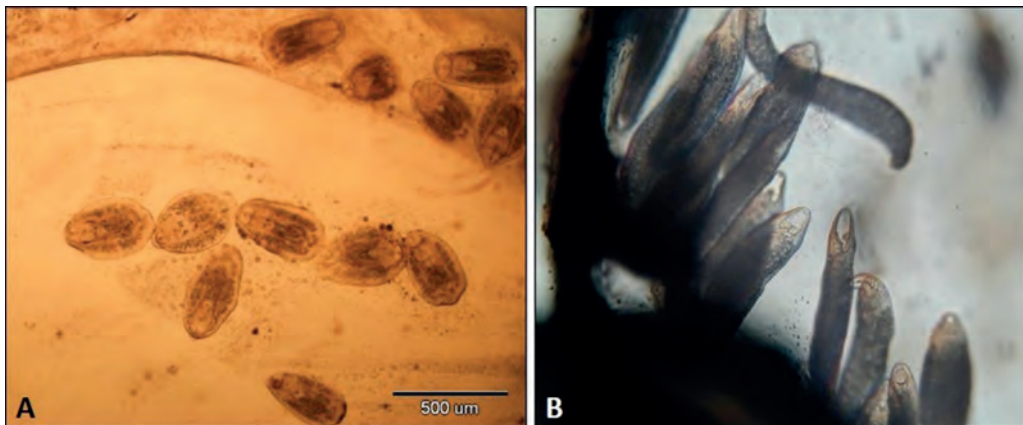
Přestože se u sladkovodních ryb střední Evropy vyskytuje řada druhů motolic (Moravec, 2001 (3) uvádí 37 druhů dospělých motolic jen z území bývalého Československa), jejich veterinární význam je v současné době poměrně malý. Mezi dospělými motolicemi jsou významnějšími patogeny pouze tzv. rybí krevničky (zástupci rodu *Sanguinicola*), zatímco ostatní druhy včetně běžných druhů jako např. *Crepidostomum farionis* a *C. metoecus* u pstruha potočního (*Salmo trutta fario*), *Asymphylogora tincae* u lína obecného (*Tinca tinca*) nebo *Bunodera luciopercae* u okouna říčního (*Perca fluviatilis*) nepředstavují z hlediska zdravotního stavu ryb větší nebezpečí. Patogenita larválních stádií zvaných metacerkárie může být vyšší než v případě dospělých motolic. Patrně nejvýznamnější jsou metacerkárie motolic rodu *Diplostomum*, tzv. oční motolice, které jsou lokalizovány v oční čočce zejména kaprovitých ryb a mohou způsobit i jejich úhyn. U volně žijících ryb, zvláště na jižní Moravě, se poměrně často vyskytují metacerkárie druhu *Posthodiplostomum cuticola*, původci postodiplostomózy neboli černé skvrnitosti.

3.11.3.1. OČNÍ MOTOLIČNATOST

Úvod. V chovech ryb způsobuje přítomnost očních motolic značné problémy, zejména s ohledem na narušenou schopnost vidění a s tím spojené změny chování.

Původce. Larvální stádia, metacerkárie, motolic rodu *Diplostomum* způsobují tzv. diplostomózu (oční motoličnatost) ryb. Jsou to celosvětově rozšíření paraziti vyskytující se u více než sta druhů sladkovodních ryb (4). Přesné určení jednotlivých druhů na základě morfologie metacerkárií je obtížné nebo zcela nemožné. Jediným způsobem bezpečné druhové identifikace je sekvenování vhodných úseků DNA (např. mitochondriální geny *cox1* a *nad3*)(5). Ve starší literatuře jsou paraziti nacházející se v oku ryb jednotně popisováni jako *Diplostomum spathaceum*, ale ve skutečnosti se i ve střední Evropě vyskytuje řada dalších, obtížně odlišitelných druhů (6). V jedné rybě mohou v očích parazitovat desítky až stovky metacerkárií (7).

Metacerkárie motolic příbuzného rodu *Tylodelphys* se vyskytují ve sklivci ryb a způsobují tylodelfózu. U nás je nejčastějším zástupcem druh *T. clavata*, který je hojný zejména u okouna říčního (*Perca fluviatilis*) a v případě vysoké nákazy může působit zdravotní problémy napadených ryb. Od metacerkárií rodu *Diplostomum* se larvy *T. clavata* vyznačují štíhlejším tělem, které se u živých larev rychle natahuje a smršťuje (obr. 3.11.3.1.1B).

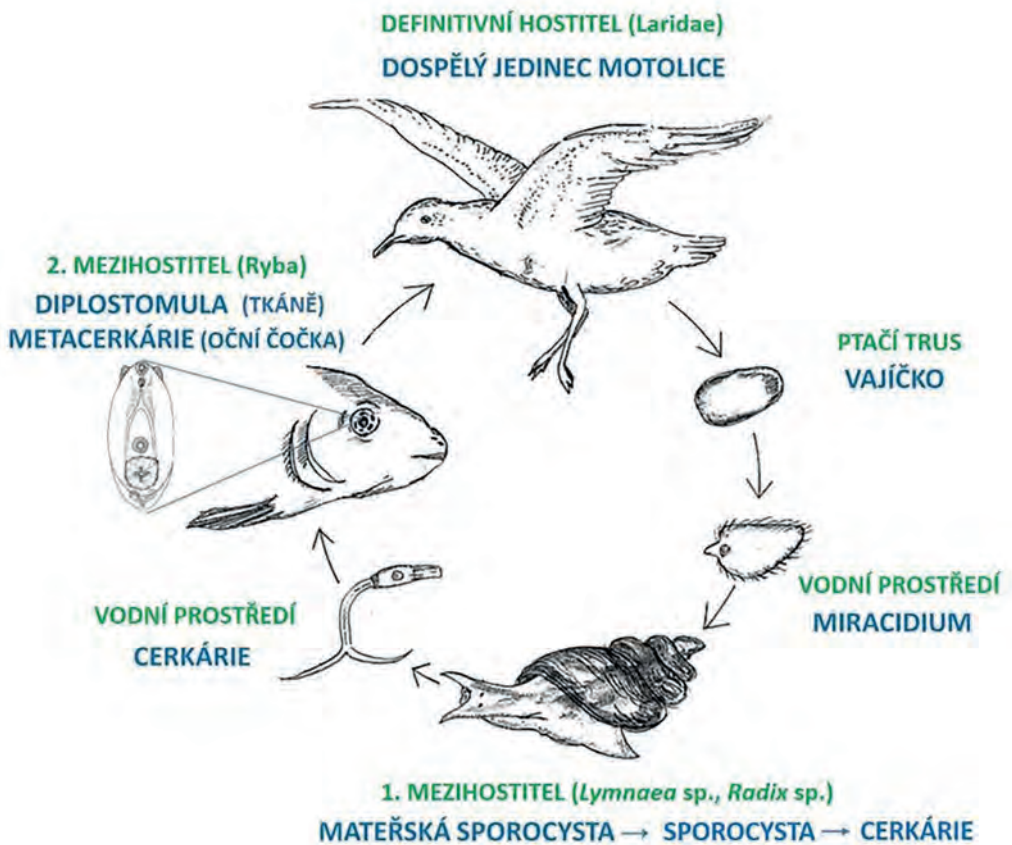


Obr. 3.11.3.1.1. Metacerkárie motolic *Diplostomum spathaceum* (A) a *Tylodelphys clavata* (B) v oku, zvětšení 40×. (Foto: M. Palíková)

Vývojový cyklus (obr. 3.11.3.1.2) očních motolic zahrnuje 3 hostitelské druhy. Ve střevě definitivního hostitele, kterým je rybožravý pták (u rodu *Diplostomum* nejčastěji racke, u rodu *Tylodelphys* potápkovití), probíhá pohlavní rozmnožování. Dospělá motolice produkuje vajíčka, která jsou s trusem uvolňována do vodního prostředí. Vlivem příznivých teplotních, světelných a chemických podmínek se z vajíček líhnou obrvené larvy (miracidia), které přežívají pouze 24–48 hodin, nepřijímají potravu, ale aktivně se pohybují a vyhledávají prvního mezihostitele – vodního plže rodu *Lymnaea* nebo *Radix*. Zde se v hepatopankreatu plže vytváří z miracidia mateřská sporocysta produkující dceřiné sporocysty, které tvoří velké množství cercárií. Cercárie opatřené na konci rozvětveným ocáskem (tzv. furkocercárie) aktivně opouštějí tělo plže a vyhledávají druhého mezihostitele, kterým je sladkovodní ryba (4). Cercárie pronikají povrchem těla do ryby a po odvržení ocásku jsou zaneseny krví do oka a mění se v metacerkárii typu diplostomulum. V oční čočce (ve sklivci u rodu *Tylodelphys*) dochází k postupnému růstu metacerkárií. Při vysoké intenzitě nákazy dochází ke změně chování napadeného hostitele (změna zbarvení, pohyb u hladiny), který se pak může stát přednostní kořistí potenciálního definitivního hostitele – rybožravého ptáka, např. racka. Tento fenomén, kdy parazit mění chování svého hostitele, aby zvýšil pravděpodobnost jeho přenosu do dalšího hostitele, se nazývá parasite-increased trophic transmission (PITT).

Vnímavé druhy. Diplostomóza je významná zvláště v rybníčních chovech, kde způsobuje značné ztráty u mladších věkových kategorií druhů ryb pohybujících se v litorálu (příbřežní zóna s rostlinami). Onemocnění však postihuje i volně žijící ryby. V poslední době jsou největší problémy v souvislosti s diplostomózou zaznamenány při odchovu amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*). Tylodelfóza je významná zejména u okounovitých ryb, ale může se vyskytovat i u řady dalších druhů ryb.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Výskyt infekce je vázán na přítomnost prvního mezihostitele, vodního plže z čeledi plovatkovitých (*Lymnaea*, *Radix*) v prostředí. Z plže se uvolňuje velké množství cercárií, které aktivně pronikají přes žábry nebo kůži do ryby. Jeden infikovaný plž může uvolňovat desítky až tisíce cercárií denně, a to po dobu několika týdnů (8).



Obr. 3.11.3.1.2. Vývojový cyklus motolice oční (*Diplostomum spathaceum*). Zelený text – stanoviště, modrý text – vývojové stádium motolice. (Upravila: E. Zusková podle Karvonena a kol. [20])

Podmiňující faktory. Aktivita a životaschopnost infekčních cercárií je ovlivněna časem a teplotou vody: cercárie jsou schopny aktivně vyhledávat druhého meziphostitele max. 2 dny (8). Cercárie opouštějí plovatky až při teplotě vody nad 10 °C a se zvyšující se teplotou se zvyšuje i počet uvolněných cercárií a jejich aktivita (9). Největší množství cercárií se uvolňuje při teplotě vody nad 18 °C, kdy je popisována i jejich nejvyšší aktivita (v rozmezí 18–22 °C).

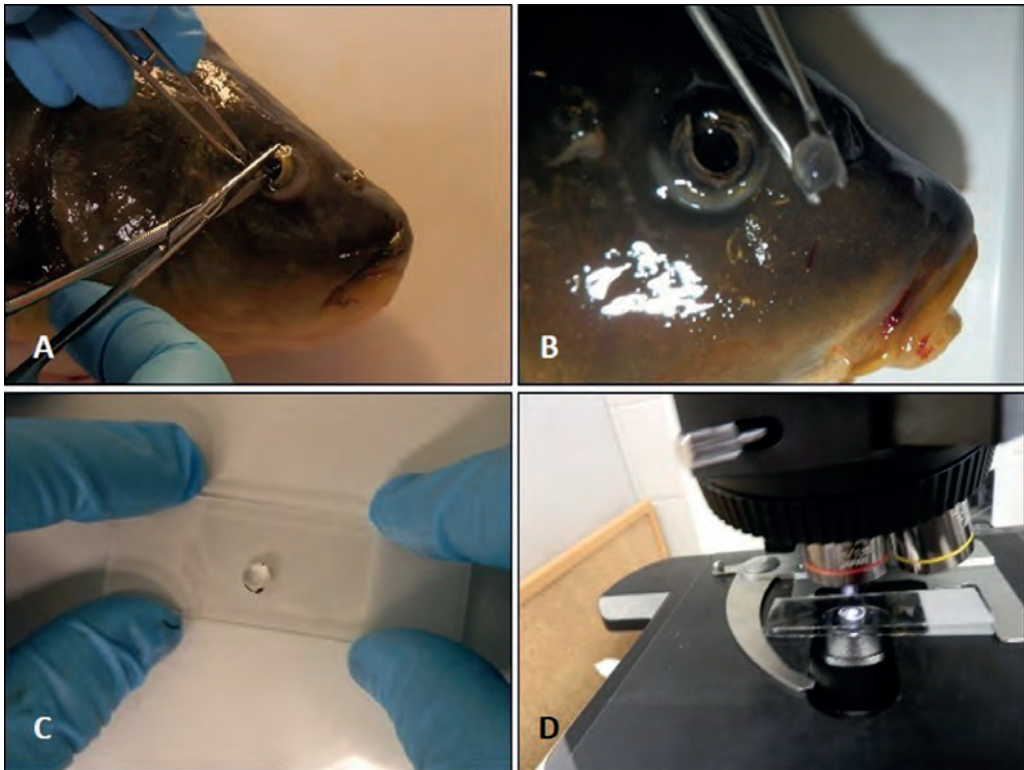
Průběh a vývoj onemocnění. Diplostomóza může probíhat akutně zejména v případech napadení malých ryb velkým počtem cercárií. Při masivních invazích může ojediněle docházet i k jejich úhynům. Onemocnění ryb v důsledku lokalizace metacercárií v oční čočce však většinou mívá chronický průběh. Metacercárie jsou dlouhověké, nejsou encystované (opouzdřené v cystě) a svým výskytem a působením v oční čočce mohou způsobit vznik mléčného zakalení, čímž se čočka stává neprůhlednou. Tento proces může vést až k oslepnutí ryb (10,11). Tylodelfóza se vzhledem k lokalizaci metacercárií v očním sklivci projevuje méně patogenně (18).

Klinické příznaky. V důsledku poruch vidění se u nakažených ryb zhoršuje orientace v prostoru a mění se potravní a antipredační chování, což má za následek snížený příjem potravy, zpomalení růstu a ovlivnění celkové kondice jedince. Ryby jsou tmavší a častěji se

vyskytují u hladiny, jelikož dávají přednost prosvětleným vodám. Ovlivněna je i úniková rychlost v porovnání se zdravými rybami (12).

Patologické změny. Místa průniku cercárií kůží bývají zarudlá s rozvojem petechií (drobných krvácenin). Změny na oční čočce u diplostomózy ryb se odvíjejí od intenzity parazitárního napadení v podobě bělavých teček až po mléčný zákal, odloupenutí sítnice, nadzvednutí pouzdra čočky, změn ve velikosti a povrchu čočky, narušení rohovky až úplného vytlačení oka z ocnice. Metacerkárie *T. clavata* se přednostně lokalizují v těsné blízkosti závěsného aparátu čočky, kde narušují jeho zaostřovací funkci (19).

Diagnóza. Stanovuje se na základě vyšetření oční čočky (obr. 3.11.3.1.3) a sklivce a nálezu metacerkárií (obr. 3.11.3.1.1). Před samotným vyšetřením se ryba usmrtí. Oko se vyšetří adspekci (pohledem) a následně je z oka vyjmuta oční čočka se sklivcem, jenž se umístí mezi dvě podložní sklíčka a postupným zvyšováním tlaku na sklíčko se připraví tzv. kompresní preparát, který se mikroskopuje, popřípadě sleduje pomocí binokulární lupy. Vyšetřují se vždy obě oči a zaznamenává se počet metacerkárií v každém z nich (13).



Obr. 3.11.3.1.3. Vyšetření oční čočky – kompresní preparát. Usmrcené rybě nastříháme rohovku (A), tlakem pinzety pomalu vytlačíme kulatou kolagení čočku (B) a dáme na podložní sklíčko. Druhým podložním sklíčkem preparát překryjeme, opatrně čočku mezi dvěma sklíčky komprimujeme (C) a preparát mikroskopicky vyšetříme (D). (Sestavila: E. Zusková). Tímto způsobem zjistíme pouze přítomnost metacerkárií rodu *Diplostomum*. Pro zjištění přítomnosti metacerkárií rodu *Tylodelphys* je nutné vyšetřit i sklivec.

Terapie. K léčbě diplostomózy je možné využít praziquantel ve formě koupelí nebo aplikovaný v krmivu. Plošné podávání praziquantelu se neprovádí z důvodu možného vzniku rezistence.

Prevence. Prevence spočívá v pravidelných kontrolách zdravotního stavu jedinců. V případě většího množství motolic je žádoucí přerušit vývojový cyklus parazita. Nálety rybožravých ptáků je možné tlumit umístěním ochranných sítí nad hladinu, není tím však zcela eliminována možnost přenosu vajíček parazita trusem. K eliminaci plžů se dají využít mechanické, fyzikální či biologické metody, a to nejlépe v kombinaci.

Mechanická metoda spočívá v pravidelném odstraňování plžů z rybochovných rybníků, nádrží a objektů a zabránění jejich opětovnému návratu. Toto lze provést umístěním uhelony (v případě rybochovných objektů) a sítí z drátěného pletiva (v případě rybníků) na přítok. Tato síta jsou v rybnících umístěna po celou dobu odchovu ryb a je nutné je pravidelně kontrolovat a čistit, neboť i plži zachycení na sítěch jsou schopni uvolňovat cercárie. Pískové filtry a bubnové filtry s mikrosíty používané v rybochovných zařízeních mohou také zmírnit průnik plovatek do systému a výrazně zpomalit průchod cercárií, což následně může vést ke snížení schopnosti nakazit rybiho meziphostitele. Žádný s těchto filtrů však není schopen zachytit 100 % cercárií.

Fyzikální metoda spočívá v důkladném vysušení a vymrznutí dna rybníků a nádrží v zimním období.

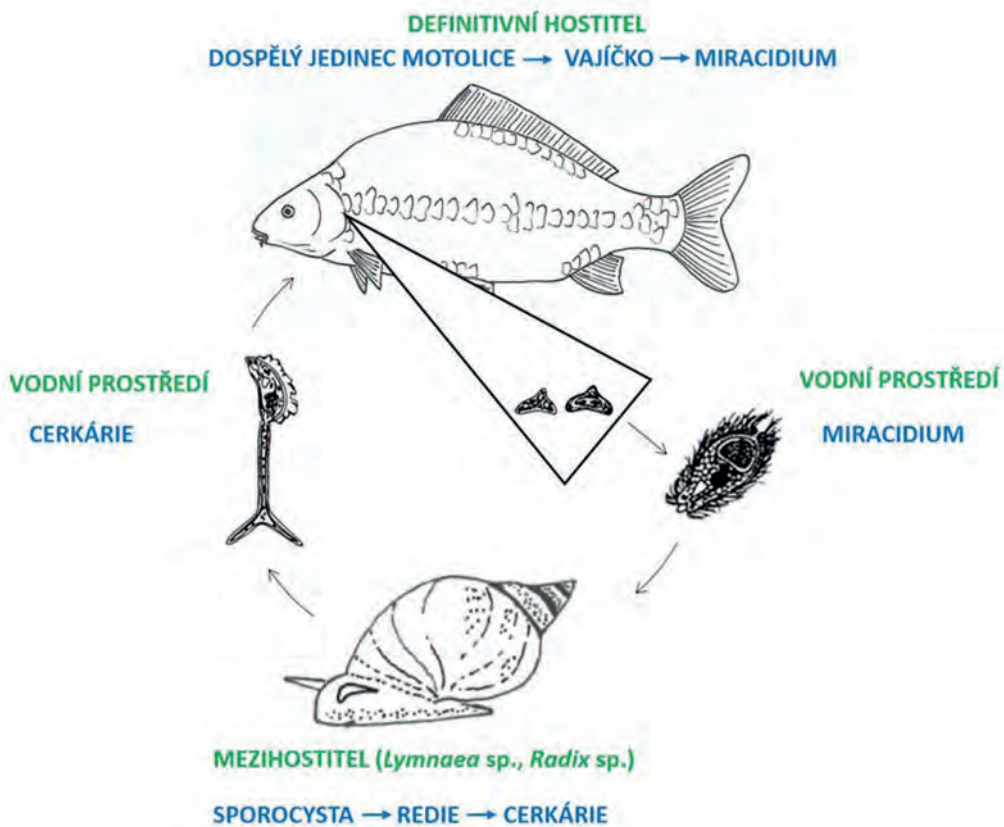
Biologická metoda spočívá ve vysazení moluskofágních druhů ryb – v našich podmínkách lze použít kapra K_2 o hmotnosti nad 500 g nebo lína L_3 při hustotě obsádky 500–600 ks/ha, který je schopen likvidovat nedospělé plovatky. Jako přirozený predátor plžů se osvědčil i amur černý (*Mylopharyngodon piceus*) ve věku tří až pěti let, který je schopný snížit množství plžů až o dvě třetiny v závislosti na množství predátorů a přirozených úkrytů měkkýšů v prostředí (14). Při plánovaném využití tohoto druhu v daném prostředí je však nutné vzít v úvahu jeho značnou invazivitu. U akvarijních ryb spočívá prevence v zamezení přenosu plžů čeledi Lymnaeidae z přírody do akvárií.

Chemický způsob likvidace se již neprovádí, protože moluskocidní preparáty jsou vesměs látky pro zdraví nebezpečné a nakládání s nimi je značně omezeno nebo zcela zakázáno podle ustanovení § 39 zákona č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon).

3.11.3.2. SANGUINIKOLÓZA

Úvod. Motolice rodu *Sanguinicola* způsobují onemocnění ryb označované jako sanguinikolóza. České označení těchto parazitů je krevnička rybí.

Původce. Původcem onemocnění sladkovodních ryb zejména v rybníčních chovech jsou motolice rodu *Sanguinicola* (čeleď Aporocotylidae), které dospívají v krevním systému. Ze tří u nás zjištěných druhů má větší význam pouze druh *S. inermis* cizopasíci u kapra, vzácně zjištěný i u jiných druhů ryb. Krevničky jsou protáhlého tvaru a malých rozměrů (délka těla do 1 mm), nemají ani ústní ani břišní přísavku a jejich střevo tvoří několik (většinou dva páry) slepých výběžků. V těle je přítomno 15 párů varlat a povrch těla (tegument nebo neodermis) je pokryt jemnými trny.



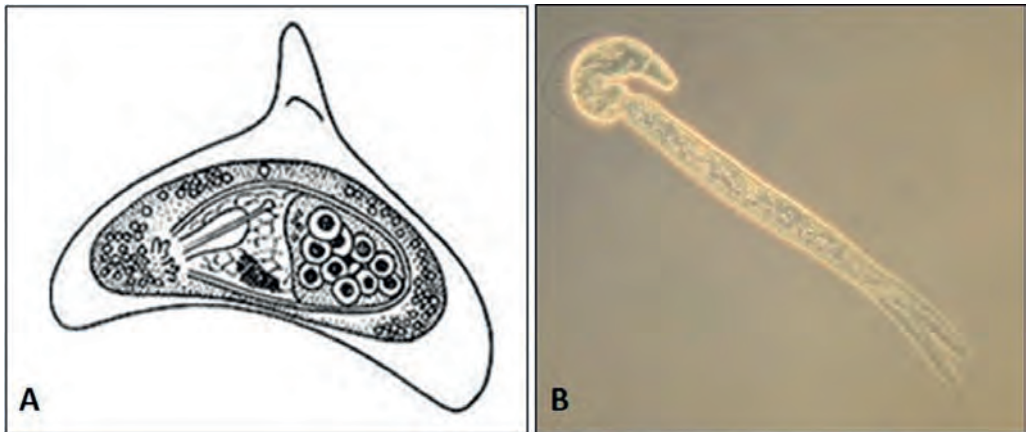
Obr. 3.11.3.2.1. Vývojový cyklus krevničky (*Sanguinicola inermis*). Zelený text – stanoviště, modrý text – vývojové stádium motolice. (Kresba: E. Zusková a M. Palíková)

Životní cyklus krevniček (obr. 3.11.3.2.1) je vždy dvouhostitelský s plžem (plovatky rodu *Lymnaea* nebo uchatky rodu *Radix*) jako jediným mezihostitelem. Ve vajíčku uvolněném do krevního řečiště se vyvíjí obrvená larva, miracidium, která opouští obal vajíčka a po proniknutí žaberní tkáně se dostává do vody. Zde miracidium aktivně hledá vhodného mezihostitele a po jeho nalezení proniká do jeho těla, mění se ve sporocystu, ve které se formují redie. V rediích se vyvíjejí cercárie s rozvětveným ocáskem (furkou), tzv. furkocercárie (obr. 3.11.3.2.2B). Tyto opouštějí mezihostitele, aktivně plavou ve vodě a pomocí chemických stimulů hledají vhodného rybního hostitele, do jehož těla pronikají přes epitel žaber. Po průniku ztrácí cercárie ocásek a z žaber migruje do cévní soustavy, kde pohlavně dospívá.

Vnímavé druhy. Hlavním hostitelem nejvýznamnějšího druhu *S. inermis* je kapr obecný (*Cyprinus carpio*). Zejména u lína obecného (*Tinca tinca*) parazituje *S. armata*, u karasa obecného (*Carassius carassius*), ale také u piskoře pruhovaného (*Misgurnus fossilis*) druh *S. intermedia*, u plotice obecné (*Rutilus rutilus*) a oukleje obecné (*Alburnus alburnus*) *S. volgensis*; posledně uvedený druh u nás však dosud nebyl zjištěn (3).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. K nakažení ryb dochází průnikem cercárií přes žaberní epitel a následnou migrací do krevní soustavy. Zdrojem nákazy jsou tedy volně plovoucí larvy (furkocercárie) uvolněné z plžů.

Podmiňující faktory. Podmínkou úspěšné nákazy ryb je přítomnost plžů sloužících jako mezihostitelé a produkujících cercárie parazita. Vzhledem k současnému silnému znečištění vody v rybnících je u nás výskyt krevniček vzácný a nepředstavují závažnější riziko pro zdravotní stav ryb v rybníčních chovech. U nás byly krevničky zjištěny, byť jen ojediněle, v rybách všech tří hlavních povodí (Labe, Dunaj a Odra)(3).



Obr. 3.11.3.2.2. Vývojová stádia *Sanguinicola inermis*. Schematický nákras vajíčka (A); furkocerkárie (B). (Foto: T. Scholz, kresba převzata z Bauera a kol. [10])

Průběh a vývoj onemocnění. Krevničky mohou způsobit závažné onemocnění plůdku a mladších věkových kategorií kapra. Hlavním patogenním agens jsou trojúhelníkovitá vajíčka, která ucpávají kapiláry žaber a ledvin (obr. 3.11.3.2.2A). U mladých ryb může být průběh onemocnění velmi rychlý, končící úhynem napadených ryb. Vyšší napadení mladých ryb je vysvětlováno snazší průchodností žaberního epitelu pro cercárie ve srovnání se staršími rybami. U těchto ryb má onemocnění často chronickou formu.

Klinické příznaky. Nakažené ryby mohou mít tmavší zbarvení, bývají vyhublé a apatické, s rozšířenými žaberními víčky. Žábry bývají světlejší barvy nebo i mramorovaného vzhledu. Pokud jsou napadeny ledviny, nacházíme i zvětšenou dutinu tělní s ascitem a exoftalmus. Často se objevují poruchy koordinace – tzv. spirální plavání. Z důvodu kompenzace respiračního stresu se ryby shlukují v okysličenějších místech (přítok, aerace) a „troubí“ (15). Tyto příznaky se však nemusí objevovat u všech infikovaných ryb. Například u mladších ryb s nízkou intenzitou infekce nebo u starších ryb s chronickou sanguinikolózou mohou být klinické příznaky minimální (snížený růst, zježené šupiny, exoftalmus), nebo mohou úplně chybět.

Patologické změny. K hlavnímu poškození dochází v oblasti žaber (u plůdku a jednoletých ryb) a ledvin (častější u starších ryb). U žaberní formy, která je častější u mladších ryb včetně plůdku, dochází k postupnému poškození žaberních lístků. Pokud shluky vajíček ucpou kapiláru, dochází k cirkulačním poruchám projevujícím se lokální ischemií, popřípadě odumíráním (nekrózou) neprokrvené části tkáně. Rovněž miracidia svým průchodem mechanicky poškozují žaberní tkáň za vzniku drobných krvácenin. Tato místa jsou pak vstupní branou pro sekundární infekce (15).

V případě těžkého průběhu ledvinové formy (častější u starších ryb ve formě chronického onemocnění) může dojít k poruše funkce ledvin a vzniku „vodnatelnosti“ (laické označení zvětšené dutiny tělní s ascitem). Vajíčka v kapilárách ledvin jsou opouzdřena (kolem imobilizovaných vajíček dochází ke vzniku tzv. periovulárních granulomů) a postupně resorbována.

Diagnóza. Původce onemocnění může být diagnostikován nálezem vajíček typického trojúhelníkovitého tvaru v žaberních cévách nebo na otiskových preparátech ledvin, jater a sleziny sledovaných pod mikroskopem při zvětšení 400–1000×. V období pozdního podzimu až konce jara lze nalézt dospělé parazity v srdci (16).

Terapie. Neprovádí se.

Prevence. Základním profylaktickým opatřením je zabránění nákazy ryb cercáriemi uvolněnými z plžů, tj. likvidace těchto měkkýšů v chovných rybnících – viz prevence oční motolichnatosti. Cercárie přežívají ve vodě v závislosti na teplotě pouze 1–2 dny, ale jsou produkovány ve velkém množství a po dlouhou dobu při teplotě vody vyšší než 12 °C (10). Vysoušení a letnění rybníků nebo dezinfekce jejich dna mohou výrazně omezit počet plžů a tím snížit pravděpodobnost nákazy nové generace ryb po napuštění rybníka.

3.11.3.3. POSTODIPLOSTOMÓZA

Úvod. Původce, *Posthodiplostomum cuticola*, způsobuje onemocnění zvané postodiplostomóza, označované také jako černá skvrnitost (black spot disease) podle výskytu typických patologických změn patrných na kůži.

Původce. Onemocnění je působeno larvami (metacercáriemi) motolice *Posthodiplostomum cuticola* z čeledi Diplostomidae. Metacercárie délky až 1,5 mm označované jako typ „neascus“ jsou lokalizovány v kůži a podkoží ryb, zejména kaprovitých. Tyto metacercárie mají tělo složené ze dvou částí. Přední část těla obsahuje ústní a břišní přísavku a Brandesův orgán (žláznatý orgán podílející se na fixaci dospělých motolic ve střevě definitivního hostitele). V kratší zadní části jsou umístěny základy pohlavních orgánů. Motolice dospívají ve střevě rybožravých ptáků, zejména volavek (řád Ciconiiformes).

Životní cyklus této motolice je tříhostitelský (podobný *D. spathaceum*) a zahrnuje dva mezihostitele. Definitivním hostitelem jsou volavky a kvakoši. V jejich střevě parazit dospívá a produkuje vajíčka, která jsou s trusem uvolňována do vody. Zde se z vajíček líhne obrvená larva zvaná miracidium, která aktivně hledá vhodného prvního mezihostitele, plicnatého plže rodu *Planorbis*. Po průniku do plže se miracidium mění v mateřskou sporocystu, která produkuje dceřiné sporocysty lokalizované v hepatopankreatu napadeného plže. Dceřiné sporocysty produkují velké množství cercárií opatřených rozvětveným ocáskem (furkou). Tyto larvy zvané furkocercárie plavou ve vodě a hledají vhodnou rybu, která může sloužit jako druhý mezihostitel. Po průniku povrchem těla cercárie odhazuje ocásek a přeměňuje se v metacercárii, která je chráněna před účinkem obranného systému hostitele tenkou cystou produkovanou parazitem. Zároveň je tato cysta opouzdřena (enkapsulována) tkání hostitele. Přítomnost larev v těle hostitele stimuluje zvýšenou produkci černého pigmentu melaninu kolem metacercárie. Přítomnost výrazných černých skvrn na těle napadených ryb zvyšuje pravděpodobnost jejich přednostní predace definitivními hostiteli.

Vnímavé druhy. Na úrovni rybího mezihostitele není parazit příliš specifický (vykazuje euryxenní hostitelskou specifickou), neboť se metacercárie vyskytují u širokého spektra zejména kaprovitých ryb. Na území bývalého Československa byly larvy nalezeny v 28

druzích kaprovitých ryb, v sekavcích (*Cobitis* spp.) a v piskořovi (*Misgurnus fossilis*) (3). Mezi jednotlivými rybími hostiteli však existují výrazné rozdíly z hlediska vnímavosti. V rybníčních chovech postodiplostomóza postihuje nejvíce plůdek a jednoleté tolstolobiky (*Hypophthalmichthys molitrix*, *H. nobilis*), u kterých může prevalence dosahovat až 100 % a intenzita infekce až 10 metacerkárií v jedné rybě. Naproti tomu u amura nebo kapra se onemocnění objevuje jen zřídka (10).

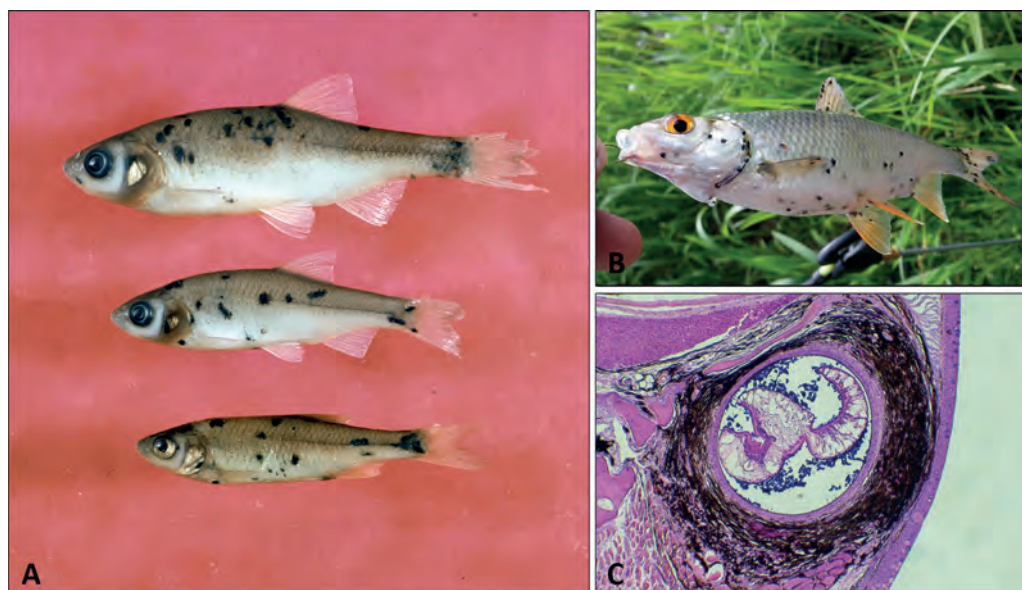
Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem nákazy ryb jsou ve vodě plovoucí furkocerkárie, které aktivně hledají vhodného rybího hostitele. Po jeho nalezení pronikají pod kůži a zde dochází k transformaci (metamorfóze) na metacerkárii (stavbou těla je cercárie velmi odlišná od stavby těla dospělce; naopak metacerkárie se od dospělce liší pouze plně nevyvinutou pohlavní soustavou). Na konci svého vývoje je metacerkárie obklopena cystou (produkovaná parazitem) a opouzdřena kapsulou vytvořenou hostitelem. Po poměrně krátké době (v řádu několika měsíců) mohou metacerkárie hynout a jejich další přenos na definitivního hostitele není možný. Černé skvrny však z takto uzdravených ryb již nezmizí. V některých případech může parazit v rybě přežívat i mnohem delší dobu – až 1,5 roku (10).

Podmiňující faktory. K naze dochází v rybnících nebo volných vodách s výskytem potenciálních mezihostitelských plžů, z kterých jsou uvolňovány cercárie napadající vhodné rybí mezihostitele. Důležitým aspektem je přítomnost, byť jen dočasná, vhodných definitivních hostitelů (volavek), v kterých parazit pohlavně dospívá a produkuje vajíčka uvolňovaná do vody. Vývoj parazita je limitován teplotou 10 °C; proto je výskyt postodiplostomózy vázán na oblasti s vyšší teplotou vody a onemocnění není uváděno ze severních oblastí Evropy a bývalého Sovětského svazu (10). U nás se parazit vyskytuje téměř výhradně v povodí Dunaje (3). Nejvnímavější vůči naze jsou jednoleté ryby, zatímco starší ryby bývají vůči infekci odolnější (10).

Průběh a vývoj onemocnění. Onemocnění je charakterizováno postupným hromaděním melaninu kolem encystovaných metacerkárií. Již v prvních dnech po naze se larvy opouzdřují. Postupně je kolem cysty vylučován melanin, jehož množství se zvyšuje, a to i po odumření metacerkárie v cystě. Melanin je uvolňován při rozpadu pigmentových buněk a chromatoforů, což je reakcí hostitelského organismu na průnik larev parazita do těla a jejich transformaci na metacerkárie. Dalším tmavě hnědým až rezavým pigmentem zjišťovaným v okolí cyst je hemosiderin, vznikající rozpadem krevního hemoglobinu. Poškození ryb a jejich vzhled s černými tečkami v kůži v místě cyst parazita tedy přetrvávají i po odumření larev. První příznaky onemocnění se mohou projevit již po 1–2 týdnech po průniku cercárií do těla ryb (10).

Klinické příznaky. Napadené ryby mohou být vyhublé se sníženou rychlostí růstu. Nakažené ryby se pohybují především u vodní hladiny, kde se mohou stát přednostní kořistí volavek a dalších rybožravých ptáků.

Patologické změny. Na těle, hlavě a ploutvích jsou patrné černé, často mírně prominující skvrny (obr. 3.11.3.3.1.). U mladých ryb způsobuje onemocnění deformace těla včetně pokřivení páteře. Povrch těla, svalovina i chrupavčitá tkáň mohou být přítomností metacerkárií mechanicky poškozeny, což může ve svém důsledku vést ke snížení pohyblivosti silně napadených ryb (10). Patologicky změněny mohou být i krevní parametry (zvýšený hematokrit a počet bílých krvinek a snížený hemoglobin a počet červených krvinek) a zaznamenány byly i dystrofické změny jater a ledvin (17).



Obr. 3.11.3.3.1. Metacerkárie motolice *Posthodiplostomum cuticola* u kaprovitých ryb: přítomnost černých skvrn (A, B); histologický řez opouzdřenou metacerkárií (C). (Foto: A – A. Prouza, B – P. Biskup, C – H. Schmidt-Posthaus)

Diagnóza. Při makroskopickém vyšetření je patrná přítomnost černých skvrn na povrchu ryb. V případě izolování larvy z tenkostěnné cysty lze pozorovat typický tvar těla složeného ze dvou jasně od sebe oddělených částí.

Terapie. Neprovádí se.

Prevence. Základním způsobem zabránění nákazy nebo jejího dalšího šíření v daném místě je přerušení vývojového cyklu, a to především na úrovni prvního mezihostitele (měkkýše). Jde tedy o zamezení vylučování cercarií do vody s chovanými rybami, a tím zabránění nákazy ryb cercáriemi pronikajícími do jejich těla. Zoohygienická opatření jako zimování vypuštěných rybníků a jejich dezinfekce nehašeným vápnem mohou snížit množství vajíček parazita i měkkýšů, potenciálních prvních mezihostitelů.

LITERATURA

1. Gibson, D.I., Bray, R.A., Harris, E.A. (Compilers), 2005. *Host-Parasite Database of the Natural History Museum, London*. World Wide Web electronic publication. <http://www.nhm.ac.uk/research-curation/scientific-resources/taxonomy-systematics/host-parasites/>
2. Volf, P., Horák, P., Čepička, I., Flegr, J., Lukeš, J., Mikeš, L., Svobodová, M., Vávra, J., Votýpka, J., 2007. *Paraziti a jejich biologie*. Praha: Triton, 318 s.
3. Moravec, F., 2001. Checklist of the metazoan parasites of fishes of the Czech Republic and the Slovak Republic (1873–2000). Academia, Praha, 168 p.
4. Chappell, L.H., 1995. The biology of diplostomatid eye flukes of fishes. *Journal of Helminthology* 69: 97–101.

5. Kudlai, O., Oros, M., Kostadinova, A., Georgieva, S., 2017. Exploring the diversity of *Diplostomum* (Digenea: Diplostomidae) in fishes from the River Danube using mitochondrial DNA barcodes. *Parasites & Vectors* 10: 592.
6. Blasco-Costa, I., Faltýnková, A., Georgieva, S., Skirnisson, K., Scholz, T., Kostadinova, A., 2014. Fish pathogens near the Arctic Circle: molecular, morphological and ecological evidence for unexpected diversity of *Diplostomum* (Digenea: Diplostomidae) in Iceland. *International Journal for Parasitology* 44: 703–715.
7. Valtonen, E.T., Holmes, J.C., Koskivaara, M., 1997. Eutrophication, pollution, and fragmentation: effects on parasite communities in roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in four lakes in central Finland. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 572–585.
8. Lyholt, H.C.K., Buchmann, K., 1996. *Diplostomum spathaceum*, effects of temperature and light on cercarial shedding and infection of rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms* 25: 169–173.
9. Valtonen, E.T., Gibson, D.I., 1997. Aspects of the biology of diplostomid metacercarial (Digenea) populations occurring in fishes in different localities of northern Finland. *Annales Zoologici Fennici* 34: 47–59.
10. Bauer O.N., Musselius, V.A., Strelkov, Y.A., 1973. Diseases of pond fishes. Israel Programme for Scientific Translations, Jerusalem, 220 p.
11. Karvonen, A., Seppälä, O., 2008. Eye fluke infection and lens size reduction in fish: a quantitative analysis. *Diseases of Aquatic Organisms* 80: 21–26.
12. Seppälä, O., Karvonen, A., Valtonen, E.T., 2004. Parasite-induced change in host behaviour and susceptibility to predation in an eye fluke-fish interaction. *Animal Behaviour* 68: 257–263.
13. Karvonen, A., Seppälä, O., Valtonen, E.T., 2004. Eye fluke-induced cataract formation in fish: quantitative analysis using an ophthalmological microscope. *Parasitology* 129: 473–478.
14. Ben-Ami, F., Heller, J., 2001. Biological control of aquatic pest snails by the black carp *Mylopharyngodon piceus*. *Biological Control* 22: 131–138.
15. Kirk, R.S., Lewis, J.W., 1998. Histopathology of *Sanguinicola inermis* infection in carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of Helminthology* 72: 33–38.
16. Kirk, R.S., Lewis, J.W., 1996. Migration and development of the blood fluke *Sanguinicola inermis* Plehn, 1905 (Trematoda: Sanguinicolidae) in carp, *Cyprinus carpio* L. *Parasitology* 113: 279–285.
17. Rolbiecki, L., 2004. Distribution of *Posthodiplostomum cuticola* (Nordmann, 1832) (Digenea; Diplostomidae) metacercariae in cyprinids of the Vistula lagoon. *Archives of Polish Fisheries* 12: 93–98.
18. Buchmann, K., Moller, S.H., Uldal, A., Bresciani, J., 1997. Different seasonal infection dynamics of two species of eye-flukes (*Diplostomum spathaceum* and *Tylodelphys clavata*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 17: 165–170.
19. Vivas Muñoz, J.C., Staaks, G., Knopf, K., 2017. The eye fluke *Tylodelphys clavata* affects prey detection and intraspecific competition of European perch (*Perca fluviatilis*). *Parasitology Research* 116: 2561–2567.
20. Karvonen, A., Hakalahti, T., Seppälä, O., Valtonen, E. T., 2005. Sustainable production of healthy fish: tackling parasitic – threats with knowledge on their ecology. In: Jalkanen, A., Nygren, P., (Eds). Sustainable use of renewable natural resources: from principles to practices. University of Helsinki Department of Forest Ecology, Publication 34, Helsinki, 12 p.

3.11.4. CESTODA

Tomáš Scholz, Eliška Zusková

Jednou ze tří skupin parazitických ploštěnců skupiny Neodermata jsou tasemnice (třída Cestoda; anglicky tapeworms nebo cestodes). Zástupci této třídy jsou podobně jako motolice a monogenea výhradně parazity a na rozdíl od nich jsou charakterističtí ztrátou střeva. Jeho funkci nahrazují povrchové útvary zvané mikrotrichy, které se podílejí na příjmu živin. Tasemnice jsou také typické přítomností přichycovacích orgánů na předním konci těla zvaném skolex (hlavička). V současné době jsou tasemnice řazeny do 19 řádů (1). Z více než 5 tisíc popsaných druhů tasemnic cizopasí u sladkovodních a mořských ryb téměř 500 druhů ze 7 řádů (2). U chovaných i volně žijících ryb se můžeme setkat s řadou druhů, parazitujících ve formě dospělců nebo larev, tzv. metacestodů, ale jen některé z nich představují skutečné riziko pro jejich zdraví (3).

Tasemnice cizopasíci u sladkovodních ryb jsou protáhlé, dorsoventrálně zploštělé a na předním konci jsou opatřeny různě vyvinutým skolexem s (nebo bez – u tasemnic řádu Caryophyllidea) přichycovacími orgány ve formě přísavných rýh nebo prohlubní (zvaných botrie) nebo 4 svalnatými přísavkami kruhovitěho tvaru po stranách skolexu (někdy může být přítomna i apikální přísavka); některé tasemnice mají skolex opatřený háčky (např. druhy rodu *Triaenophorus*). S výjimkou květovců, jejichž tělo (strobila) obsahuje jedinou sadu pohlavních orgánů (není strobilizováno), mají ostatní tasemnice strobilu rozdělenou na větší počet opakujících se článků zvaných proglotidy, z nichž každý obsahuje nejméně jeden soubor pohlavních orgánů, postupně se vyvíjejících od skolexu k zadnímu konci těla.

Tvar skolexu a anatomie pohlavní soustavy včetně pozice pohlavních vývodů jsou základními charakteristikami používanými při klasifikaci a druhové identifikaci tasemnic (1,4). Kromě zástupců dvou druhově nepočetných čeledí jsou všechny ostatní tasemnice hermafroditi, tj. jeden jedinec obsahuje samčí i samičí pohlavní orgány. S výjimkou několika málo druhů, u kterých došlo ke zkrácení životního cyklu (*Archigetes sieboldi*, *Hymenolepis nana*), jsou vývojové cykly tasemnic vždy nepřímé, tj. zahrnují nejméně jednoho mezihostitele, většinou bezobratlého. U některých skupin, jako jsou škulovci (rod *Triaenophorus* z řádu Bothriocephalidea nebo zástupci řádu Diphyllbothriidea včetně lidského škulovce širokého *Dibothriocephalus latus*), jsou přítomni dva mezihostitelé: prvním jsou planktonní korýši (buchanky), druhým vodní obratlovci, nejčastěji ryby.

Důležitým fenoménem u všech parazitů včetně tasemnic je hostitelská specifita, tzn. spektrum vhodných hostitelů (i mezihostitelů), ve kterých je daný parazit schopen přežít, růst a dále se vyvíjet včetně produkování vajíček nebo larev v případě definitivního hostitele. Většina tasemnic významných z veterinárního pohledu má poměrně úzkou hostitelskou specifitu, často omezenou na jediný druh rybiho hostitele. Je tomu tak u většiny květovců (řád Caryophyllidea) z kapra, u kterého však cizopasí i druh *Schyzocotyle acheilognathi*, který je opačným extrémem, neboť byl zjištěn v mnoha desítkách často nepříbuzných druhů ryb po celém světě a dokonce i u několika obojživelníků a plazů (5).

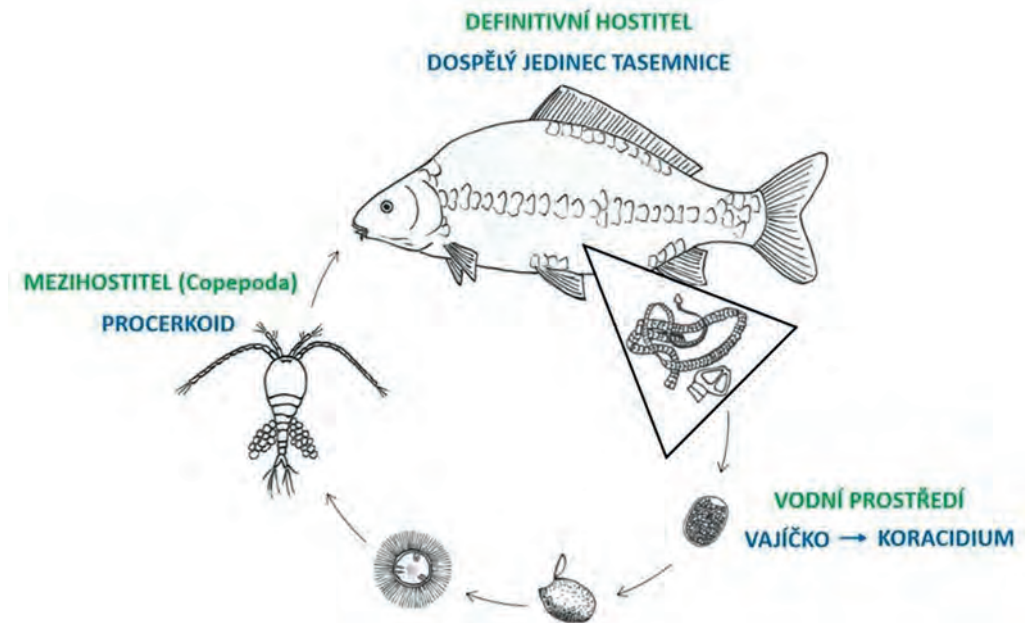
Přestože v minulosti byly některé z tasemnic považovány za významné patogeny ryb včetně kapra (6), v současné době nepatří k významnějším skupinám rybích parazitů. Paradoxně k nejdůležitějším druhům tasemnic s ohledem na jejich patogenitu a rozšíření dnes patří zástupci, kteří se v Evropě původně nevyskytovali, tzv. invazní druhy, téměř výhradně zavlečené spolu se svými rybími hostiteli z východní Asie (7). Ve střední Evropě lze

za významné považovat tzv. Asian fish tapeworm (*Schyzocotyle acheilognathi*) a květovce u kapra, řemenatku u kaprovitých ryb (u kapra se však prakticky nevyskytuje), dále škulovce štičího (patogenní larvy u okounů, případně u lososovitých ryb) a vzácně i larvy gryporhynchidů (řád Cyclophyllidea).

3.11.4.1. BOTRIOCEFALÓZA

Úvod. Původce onemocnění, tasemnice zvaná pro svůj předpokládaný původ „Asian fish tapeworm“ byla známa pod různými druhovými i rodovými jmény, nejčastěji jako *Bothriocephalus acheilognathi* (poprvé popsána z Japonska z malé kaprovité ryby *Acheilognathus rhombeus*) nebo *Bothriocephalus gowkongensis* (druh popsán z kapra v Číně)(8). V 60. letech minulého století byla spolu s kaprem a amurem zavlečena do evropské části bývalého Sovětského svazu a do střední a východní Evropy. Do současné doby se úspěšně rozšířila i na další kontinenty a některé izolované ostrovy a byla zjištěna u 300 druhů ryb téměř 40 čeledí (5). Existují dokonce nálezy u několika obojživelníků a plazů a molekulárně potvrzený výskyt vajíček tohoto parazita v lidské stolici. V posledních desetiletích se však výskyt této tasemnice na území ČR výrazně snížil a současné nálezy jsou ojedinělé.

Původce. Tasemnice *Schyzocotyle acheilognathi* je původcem botriocefalózy a je řazena do řádu Bothriocephalidea. Tasemnice jsou typické srdcovitou hlavičkou s úzkými a hlubokými přísavnými rýhami (botrie) a článkovaným tělem (strobila tvořená četnými proglotidami). U pohlavně dospělých jedinců s tzv. gravidními proglotidami jsou dobře patrné kulovité shluky vajíček v děloze uprostřed proglotid, často tmavší barvy než okolní bílý parenchym strobily. Dosahuje většinou celkové délky těla několika centimetrů.



Obr. 3.11.4.1.1. Vývojový cyklus tasemnice *Schyzocotyle acheilognathi*. Zelený text – stanoviště, modrý text – vývojové stádium tasemnice. (Kresba: E. Zusková a M. Palíková)

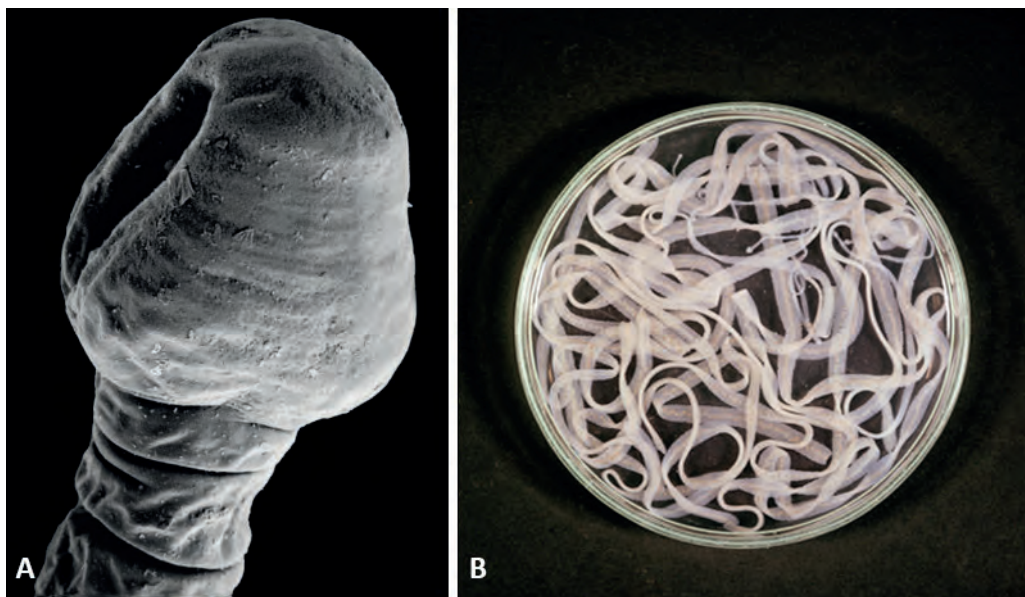
Vývoj probíhá přes jednoho mezihostitele, kterým jsou planktonní korýši, buchanky (Copepoda: Cyclopidae). V jejich tělní dutině se během 1–2 týdnů vyvíjí larva zvaná procerkoid. Po pozření nakažené buchanky se larva ve střevě ryby uvolní, přichytí ke sliznici střeva a postupně roste a pohlavně dozrává (obr. 3.11.4.1.1).

Vnímavé druhy. Botriocefalóza je významná zejména v chovech kapra obecného (*Cyprinus carpio*) nebo amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*), u jehož plůdku může její původce způsobit úhyn silně napadených ryb. Dominantními hostiteli jsou kaprovité ryby, ale parazit byl zjištěn u ryb z dalších 14 řádů. Potenciálně je tato tasemnice nebezpečná i pro akvarijní a okrasné ryby, např. terčovce (rod *Discus*).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem infekce jsou především infikované buchanky, kterými se ryba nakazí při příjmu potravy. Potenciálním zdrojem infekce pro dravé druhy ryb je rovněž infikovaný plůdek (s dospělou tasemnicí ve střevě). Přenos dospělých tasemnic z ryby na rybu v důsledku predace je označován jako „postcyklický přenos“ (9,10).

Podmiňující faktory. Vznik infekce je podmíněn přítomností infikovaných mezihostitelů v prostředí. Vzhledem k potravní preferenci jsou ohroženy zejména mladší věkové kategorie ryb, kde mezihostitelé tvoří největší podíl přirozené potravy.

Průběh a vývoj onemocnění. Závisí zejména na intenzitě napadení. Tasemnice uchycením svou hlavičkou (skolexem – obr. 3.11.4.1.2A) způsobují poškození střevní sliznice, produkují toxické sekrety a blokují průchod natrávené potravy střevem (11).



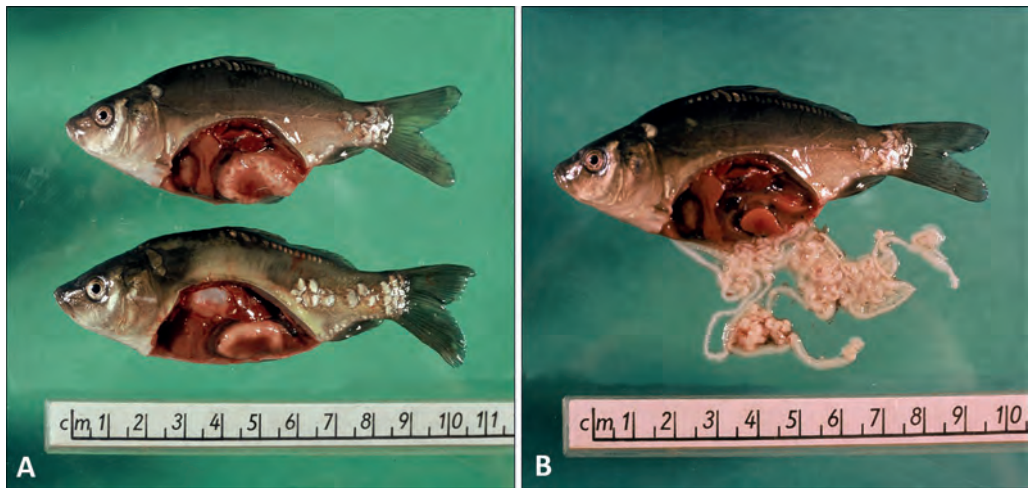
Obr. 3.11.4.1.2. Tasemnice *Schyzocotyle acheilognathi*. Detail skolexu (A), skenovací elektronový mikroskop (SEM); silná nákaza ze střeva kapra (B). (Foto: A – T. Scholz, B – A. Prouza)

Klinické příznaky. Tasemnice *S. acheilognathi* může v důsledku sníženého příjmu potravy zpomalit nebo snížit růst napadených ryb. Infikované ryby mohou mít zpomalené reflexy a zdržovat se u hladiny (12). U plůdku kapra a dalších chovných ryb byly popsány i úhyny u silně napadených ryb, zejména v bývalém Sovětském svazu, ale také v České republice (6,13).

Patologické změny. Svým přichycením způsobuje zánětlivé až nekrotické změny sliznice střevní. Silné nahloučení tasemnic (obr. 3.11.4.1.3) ucpává lumen střeva a znemožňuje tak průchod natrávené potravy střevem, které se v místě blokace rozšiřuje a může dojít až k perforaci do dutiny tělní.

Diagnóza. Původce botriocefalózy je snadno diagnostikován při parazitologické pitvě nálezem tasemnic ve střevě napadené ryby (obr. 3.11.4.1.3).

Terapie. Přestože existují poměrně účinná léčiva (praziquantel, fenbendazol), problémem je nejen jejich dostupnost, ale zejména fakt, že léčivo není možné aplikovat u volně žijících hostitelů. Plošná aplikace praziquantelu s sebou nese rizika vzniku rezistence, která by vzhledem k širokému využití tohoto anthelmintika v humánní medicíně mohla mít dalekosáhlé následky.



Obr. 3.11.4.1.3. Tasemnice *Schyzocotyle acheilognathi*. Obturované střevo u kapřího plůdku (A); velká intenzita tasemnic uvolněná po rozstřížení střeva (B). (Foto: A. Prouza)

Prevence. Mezihostitelem tasemnice jsou planktonní korýši (buchanky – Copepoda), kteří jsou přítomni prakticky všude v dostatečném množství, což parazitovi umožňuje úspěšné dokončení životního cyklu i v geograficky vzdálených oblastech. Navíc některé drobné ryby patrně slouží jako rezervoár tasemnice a umožňují její dlouhodobé přežívání. Je tedy prakticky nemožné eradikovat tuto tasemnici v oblastech, kam již byla zavlečena. Zásadní je proto preventivní vyšetření, případně přeléčení ryb určených k exportu do nových oblastí.

3.11.4.2. DALŠÍ STŘEVNÍ CESTODÓZY

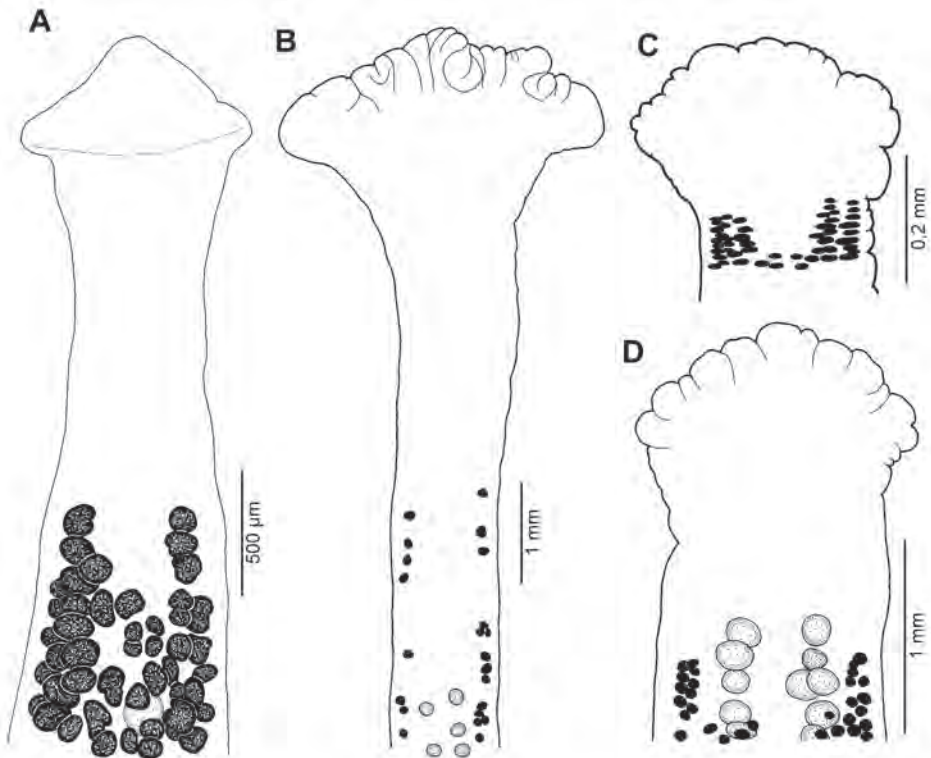
Úvod. Zástupci tasemnic řádu Caryophyllidea zvaní květovci kvůli tvaru vějířovitě rozšířeného skolexu, u některých zástupců s hlubokými zářezy, jsou střevními cizopasníky zejména kaprovitých ryb. Z celkového počtu více než 100 dosud popsanych druhů mají potenciální význam jako škůdci chovných ryb pouze druhy cizopasíci u kapra. Některé z těchto druhů se původně vyskytovaly ve východní Asii a do střední Evropy i na další kontinenty byly zavlečeny se svými rybími hostiteli, nejčastěji kaprem nebo amurem.

Původce. U kapra, případně i amura a některých dalších kaprovitých ryb lze za nejvýznamnější zástupce považovat: *Caryophyllaeus fimbriceps*, který však během posledních desetiletí zcela vymizel, *Khawia sinensis*, invazní druh původem z Číny a Dálného východu, který patrně vytlačil předchozí tasemnici, a *Atractolytocestus huronensis*, který byl sice popsán u kapra v Severní Americe, ale jde o další invazní druh původem z východní Asie. Mezihostiteli všech tří druhů jsou nitěnky (Naididae).

Květovec *C. fimbriceps* byl kolem poloviny 20. století významným patogenem plůdku kapra (6), ale z posledních desetiletí neexistují žádné věrohodné doklady o jeho výskytu (15). Tasemnice *K. sinensis*, která byla popsána u kapra z rybníků v okolí čínského Pekingu, se od 60. let minulého století úspěšně rozšířila do západní části bývalého Sovětského svazu a do východní a střední Evropy, ale také do Severní Ameriky. Od začátku 21. století se však objevuje jen sporadicky a rovněž intenzita nákazy bývá u kaprů většinou nízká ve srovnání s předchozími dekádami. Pravděpodobným důvodem je recentní rozšíření dalšího druhu z kapra, *A. huronensis*, do Evropy. Tento druh byl sice původně popsán u kapra ve Spojených státech, ale jde nepochybně o parazita původem z východní Asie. V Evropě byl poprvé zjištěn v roce 1993 v chovech kapra ve Velké Británii (Anglie), ale dnes se kromě Severní Ameriky vyskytuje v řadě evropských zemí a také v Jižní Africe. Zcela nedávno byl v Evropě včetně České republiky a Slovenska zaznamenán výskyt dalšího invazního druhu kapřích květovců, tasemnice *Khawia japonensis* popsané původně v Japonsku.

Na rozdíl od velké většiny tasemnic, jejichž tělo se skládá ze strobily složené z opakujících se článků zvaných proglotid, mají květovci tělo nestrobilizované s jedinou sadou pohlavních orgánů (14). Podle tvaru skolexu lze jednotlivé druhy cizopasíci u kapra navzájem snadno odlišit, stejně jako podle celkové velikosti těla (obr. 3.11.4.2.1).

Vývojový cyklus květovců je nepřímý, s účastí jednoho mezihostitele, kterým jsou nitěnky (Oligochaeta: Naididae) rodu *Limnodrilus* a *Tubifex*. V jejich tělní dutině se během několika týdnů vyvine larva zvaná plerocerkoid, jejímž pozřením se ryba nakazí.



Obr. 3.11.4.2.1. Schematický náčrt skolexů tasemnic řádu Caryophyllidea. *Atractolytococestus huronensis* (A); *Khawia sinensis* (B); *Caryophyllaeus fimbriceps* (C); *Khawia japonensis* (D). (Kresba: T. Scholz)

Vnímavé druhy. Kapr obecný je jediným definitivním (konečným) hostitelem druhu *A. huronensis*, zatímco dnes patrně vymizelý druh *C. fimbriceps* byl uváděn i u lína obecného (*Tinca tinca*). Tasemnice *K. sinensis* se vyskytuje především u kapra obecného, ale také u amura bílého a u kaprovité ryby *Hemibarbus barbus* v Japonsku.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem nákazy ryb jsou nitěnky (zástupci rodů *Tubifex* a *Limnodrilus*), u kterých se v dutině tělní vyvíjejí larvy zvané plerocerkoidy. Tyto larvy mohou v nitěnkách přežívat řadu měsíců, a to i v bahně přes zimu vypuštěných a vápněných rybníků.

Podmiňující faktory. K nakažení ryb dochází, pokud jsou v prostředí přítomni infikovaní mezihostitelé.

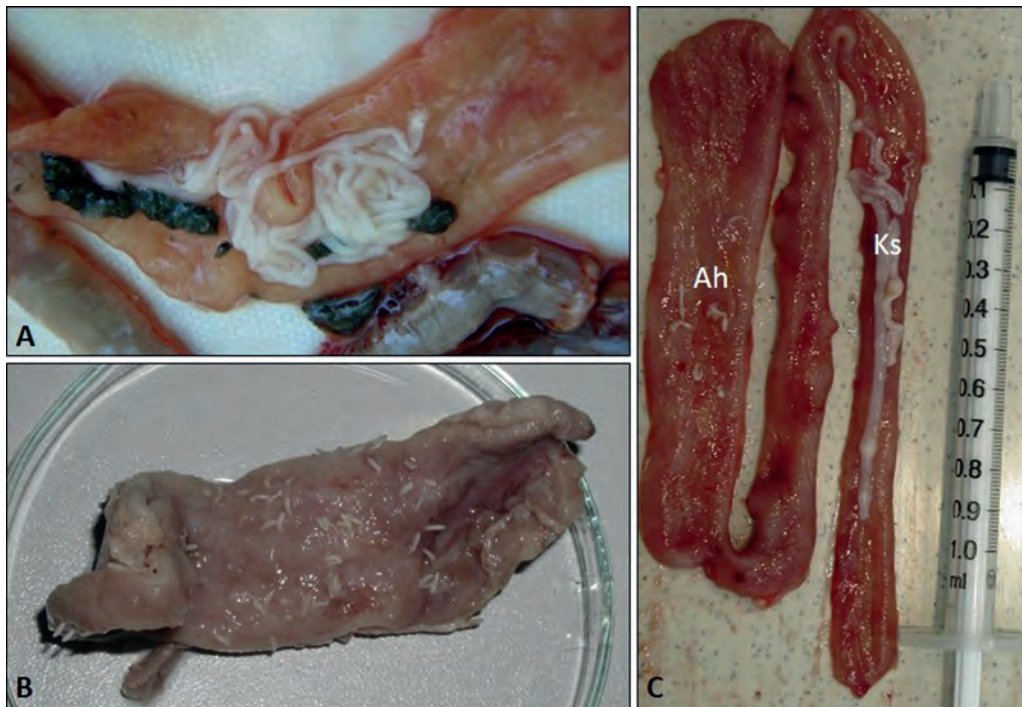
Průběh a vývoj onemocnění. Po pozření mezihostitele se plerocerkoid v trávicím traktu mění v dospělého jedince, který v závislosti na teplotě pohlavně dospívá v rozmezí 2–6 měsíců. Zde tasemnice svým přichycením způsobuje zánětlivé změny.

Klinické příznaky. Projevují se až při masivnějších infekcích u plůdku, kdy ryby přestávají přijímat předkládané krmivo, nekoordinovaně plavou u hladiny, mají zpomalené reflexy a ojedinele může docházet i k úhynům.

Patologické změny. V místě přichycení mohou květovci působit zánětlivou až nekrotickou reakci střevní sliznice. Jejich patogenita byla podrobněji studována jen u dnes velmi vzácného druhu *C. fimbriceps* a u invazní tasemnice *K. sinensis*. U tohoto druhu, který je největším

zástupcem květovců s délkou těla až 11 cm, byl prokázán jeho negativní vliv na růst a kondici napadených ryb, zejména u nejmladších věkových skupin. Ze zemí bývalého Sovětského svazu existují doklady o úhynu silně napadeného kapřího plůdku, ale v současné době tato tasemnice nemá vzhledem k poměrně vzácnému výskytu i nízké intenzitě nákazy větší význam z hlediska zdravotního stavu kapra nebo amura. Podobně je tomu u výrazně menšího druhu *A. huronensis*, který se však dnes vyskytuje hojněji a ve vyšších počtech než *K. sinensis*. O patogenitě této tasemnice existují protichůdné údaje, ale zdá se, že není významným patogenem kapra. O patogenitě další z invazních kapřích tasemnic, *K. japonensis*, není nic známo, ale vzácný výskyt naznačuje, že ani ona nepředstavuje závažnější riziko z hlediska zdravotního stavu kapra v rybnících i volných vodách.

Diagnóza. Parazit je diagnostikován nálezem ve střevě nakažené ryby (obr. 3.11.4.2.2), tj. při jejím parazitologickém vyšetření. U hladovějících ryb mohou být některé tasemnice vypuzeny do vody a zde detekovány. Na rozdíl od původce botriocéfalózy je tělo květovců nečleněné na proglotidy a vajíčka jsou u gravidních jedinců umístěna v trubicovité, nikoliv vakovité děložce v zadní části těla.



Obr. 3.11.4.2.2. Rozstřížené střevo kapra s tasemnicemi *Khawia sinensis* (A) a *Atractolytocestus huronensis* (B) a s kombinací obou druhů (C): vlevo *A. huronensis* (Ah), vpravo *K. sinensis* (Ks). (Foto: A – M. Oros, B – E. Zusková, C – V. Piačková)

Terapie. Vzhledem k nízké patogenitě a intenzitě výskytu květovců se terapie neprovádí. Účinným léčivem je praziquantel, ať už ve formě koupelí, tak i medikovaného krmiva.

Prevence. Mezihostitelem květovců a zdrojem nákazy ryb jsou máloštetinatci (nitěnky), kteří jsou prakticky vždy přítomni v bahně chovných rybníků. Tito bezobratlí včetně nakažených jedinců jsou schopni přežít i na dně vypuštěných a vápněných rybníků přes zimní období a mohou se tedy stát zdrojem nákazy v další vegetační sezóně po napuštění rybníků (16). Nicméně odbahněním rybníků, vysoušením dna a následnou dezinfekcí páleným nebo chlorovým vápnem se výskyt mezihostitelů a vajíček v prostředí alespoň omezí. Jedinou možností prevence dalšího šíření infekce je veterinární vyšetření, popřípadě přeléčení ryb před jejich vysazením do nových rybníků nebo transportem do nových oblastí.

Výskyt květovců u okrasných ryb, jako je koi kapr, není vyloučen, ale v literatuře o podobném výskytu chybí údaje.

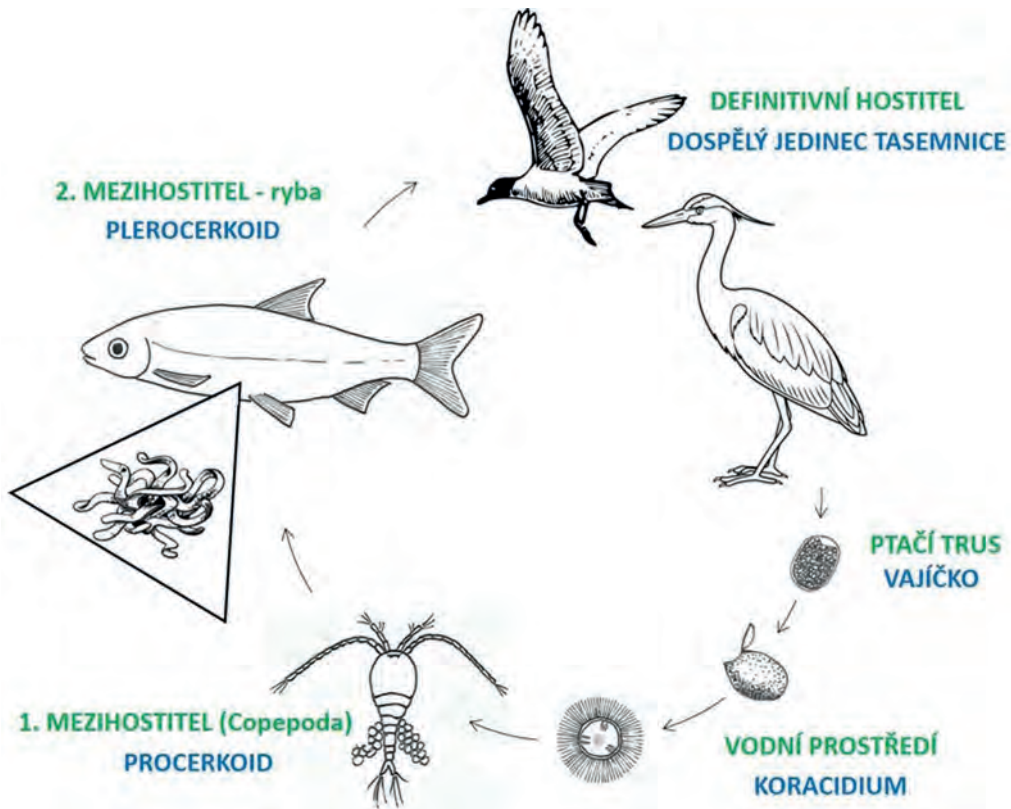
3.11.4.3. MĚNĚ VÝZNAMNÉ RYBÍ TASEMNIC

Níže uvedené tasemnice nemají větší význam z hlediska zdravotního stavu ryb v akvakulturách nebo volných vodách střední Evropy. Tyto druhy jsou zmíněny proto, že z jiných částí Evropy nebo zemí bývalého Sovětského svazu byly popsány jako původci závažnějších onemocnění někdy vedoucích až k úhynu silně napadených ryb. U některých zástupců (např. tasemnice *Proteocephalus longicollis*) byly podobné případy uváděny v 70. letech i z bývalého Československa, ale dnes jde o vzácné parazity, kteří způsobují závažnější ztráty v chovech užitkových ryb jen výjimečně.

Ligula intestinalis

Jednou z největších tasemnic, s kterou se můžeme u ryb setkat, je tzv. řemenatka ptačí, *Ligula intestinalis* (ve skutečnosti se jedná o komplex kryptických druhů, které lze rozlišit jen na základě sekvencí DNA)(17). V rybách parazitují larvální stádia zvaná plerocerkoidy, které se vyvíjejí až několik měsíců v jejich tělní dutině a mohou dorůst délky několika desítek centimetrů, ve výjimečných případech i přes 1 m.

Vývojový cyklus řemenatky je tříhostitelský (obr. 3.11.4.3.1): larvy zvané procerkoidy jsou lokalizovány v tělní dutině buchanek (Copepoda). Po pozření napadených korýšů rybou se v její tělní dutině vyvíjejí plerocerkoidy, u kterých dochází k vývoji pohlavních orgánů s výjimkou produkce vajíček. Vajíčka jsou produkována až ve střevě rybožravého ptáka (jako definitivního hostitele) a uvolňována s jeho stolicí do vody. Vajíčka jsou opatřena víčkem (operkulum), které umožňuje uvolnění plovoucí larvy, koracidia, poté, co se za několik málo dní vyvine ve vodě. Koracidium svým pohybem (má na povrchu řasinky – cilie) přitahuje pozornost dravých planktonních korýšů. Po pozření se ve střevě korýše z koracidia uvolňuje larva zvaná onkosféra, která je vybavena embryonálními háčky, pomocí kterých proniká do tělní dutiny korýše. Zde se během krátké doby vyvíjí (od jednoho do několika týdnů v závislosti na teplotě vody) v procerkoid a cyklus se uzavírá.

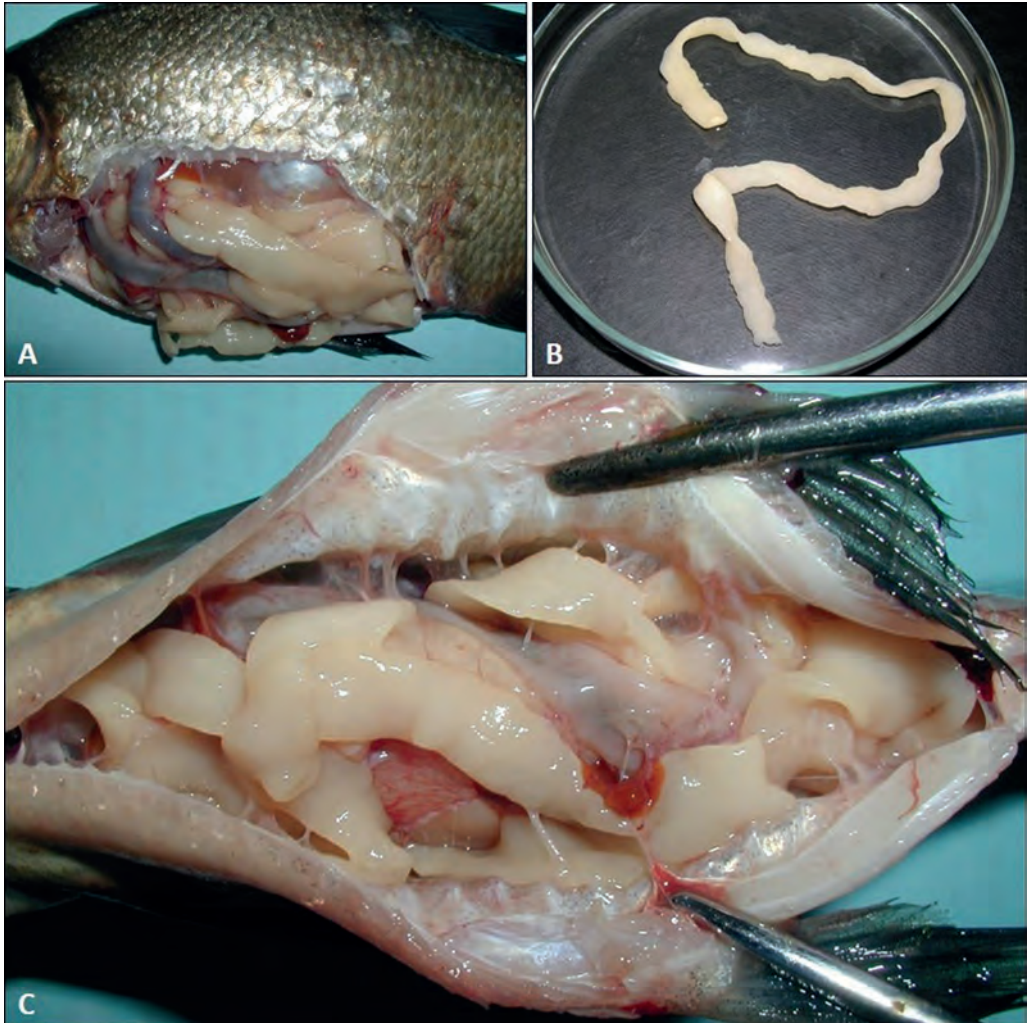


Obr. 3.11.4.3.1. Vývojový cyklus tasemnice *Ligula intestinalis*. Zelený text – stanoviště, modrý text – vývojové stádium tasemnice. (Kresba: E. Zusková a M. Palíková)

Vzhledem k rozměrům plerocerkoidů (obr. 3.11.4.3.2) dochází u napadených ryb k deformaci těla a zhoršení jejich pohyblivosti. V extrémních případech může dojít k protržení tělní dutiny a úhynu rybiho meziphostitele. Napadené ryby mohou být obráceny světlou spodní stranou nahoru, čímž přitahují pozornost predátorů, potenciálních definitivních hostitelů. Tento fenomén se nazývá parasite-increased trophic transmission (PITT). Postupný růst plerocerkoidů v tělní dutině ryb rovněž vede k inhibici tvorby gonadotropního hormonu hostitele a následně k zastavení jeho pohlavního dospívání, tedy parazitární kastraci. Přestože je tento fenomén, kdy parazit manipuluje se svým hostitelem za účelem investice do růstu parazita, nikoliv do jeho reprodukce, znám řadu desetiletí, mechanismy tohoto způsobu kastrace nebyly dosud objasněny.

Nákazy řemenatkou jsou sice časté, ale jsou typické pro doplňkové druhy kaprovitých ryb v rybníčních chovech (cejn velký [*Abramis brama*], plotice obecná [*Rutilus rutilus*], perlín ostrobřichý [*Scardinius erythrophthalmus*]). Řemenatka se vyskytuje nejčastěji v přehradních nádržích (u nás např. u cejnu v Novomlýnských nádržích) nebo mrtvých ramenech řek, zřídka v tekoucích vodách a rybnících. Případy ligulózy spojené s vysokou úmrtností napadených ryb byly popsány ze zemí bývalého Sovětského svazu, např. z nově napuštěných přehradních nádrží na Volze a dalších velkých řekách (18). Ve střední Evropě však ligulóza nemá větší význam z hlediska zdraví ryb v akvakulturách.

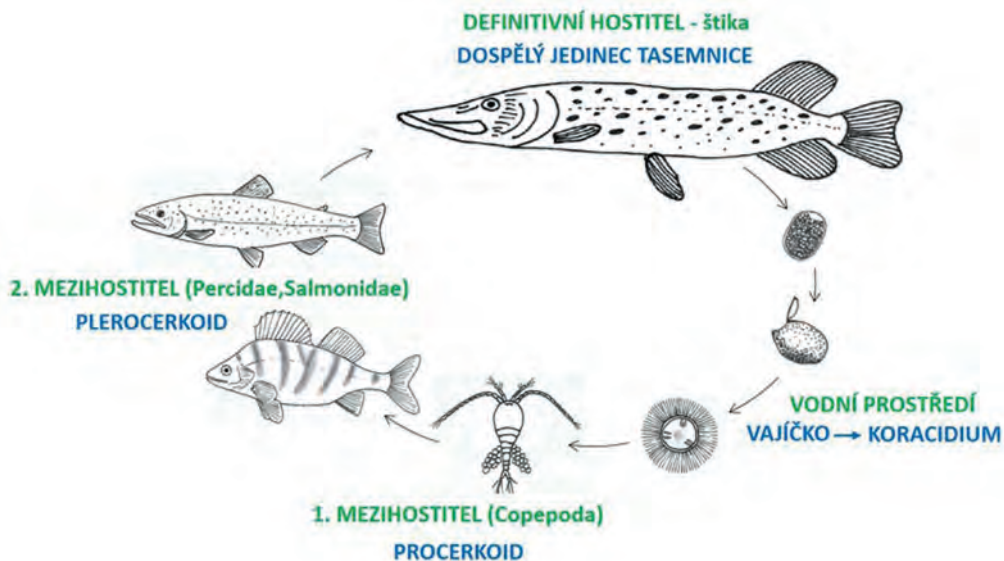
Léčení napadených ryb v podstatě není možné; rovněž možnosti prevence jsou velmi omezené, neboť likvidace prvních mezihostitelů (buchanek) je v praxi obtížně proveditelná. Jedním z mála možných, ale nepříliš účinných preventivních opatření je plašení rybožravých ptáků za účelem zabránění konzumace ryb napadených plerocerkoidy a zamoření rybníků vajíčky parazita uvolněnými se stolicí těchto ptáků.



Obr. 3.11.4.3.2. Plerocerkoidy tasemnice *Ligula intestinalis* v dutině tělní cejna (A, C) a samostatný plerocerkoid na Petriho misce (B). (Foto: A, C – M. Palíková, B – T. Scholz)

Triaenophorus nodulosus a *T. crassus*

Tasemnice rodu *Triaenophorus*, česky zvané škulovec štičí (řád Bothriocephalidea, čeleď Triaenophoridae), dospívají ve střevě štik (oba jmenované druhy se vyskytují v palearktické oblasti, tj. v Evropě a Asii). V Severní Americe se vyskytuje druh *T. stizostedionis*, který dospívá v candátech (19). Nejtypičtějším rysem škulovců štičích je přítomnost 4 mohutných trojzubých háčků na skolexu. Podobně jako u řemenatky ptačí, která je však řazena do řádu Diphyllbothriidea, vývojový cyklus u škulovců zahrnuje tři hostitele. Buchanky (Copepoda) slouží jako první mezihostitelé a hostí ve své tělní dutině procerkoidy. Ryby, zejména okounovité u druhu *T. nodulosus* (larvy však byly nalezeny u 57 druhů ryb, z toho 34 druhů v Evropě) a lososovité u *T. crassus* (tento druh se u nás vyskytuje jen velmi vzácně a pouze v povodí řeky Dunaje), jsou druhými mezihostiteli s plerocerkoidy v játrech, svalovině nebo dalších orgánech. Štika obecná (*Esox lucius*) je konečným (definitivním) hostitelem, ve kterém tasemnice dospívá a uvolňuje do vody vajíčka velmi podobná vajíčkům řemenatky ptačí (obr. 3.11.4.3.3).



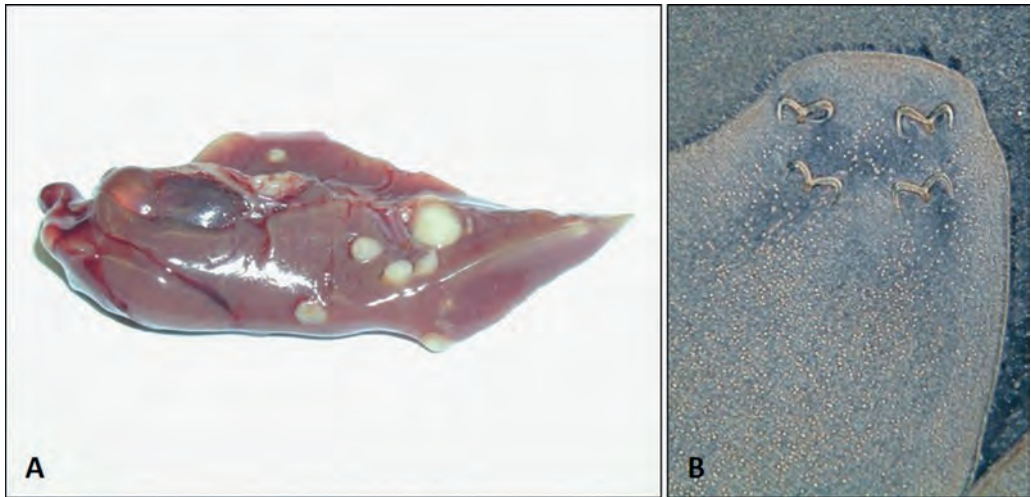
Obr. 3.11.4.3.3. Vývojový cyklus tasemnic rodu *Triaenophorus*. Zelený text – stanoviště, modrý text – vývojové stádium tasemnice. (Kresba: E. Zusková a M. Palíková)

Přítomnost dospělců ve střevě štik nepředstavuje prakticky žádné větší nebezpečí pro zdravotní stav napadených hostitelů, přestože tasemnice jsou přichyceny velmi pevně svým skolexem s velkými háčky ke sliznici střeva.

Hlavním patogenním agens jsou plerocerkoidy v rybích mezihostitelích. Při vyšší nákaze dochází k destrukci jaterního parenchymu (*T. nodulosus* u okouna a pstruha) a svaloviny (*T. crassus* u síhů), což může v druhém případě vést k ekonomickým ztrátám v důsledku snížení obchodní hodnoty napadených lososovitých ryb na trhu. V posledních letech se objevuje vysoké procento síhů infikovaných *T. crassus* v oblasti alpských jezer (20). Případy úhynu silně napadených okounů byly popsány zejména v první polovině 20. století, ale v podmínkách

střední Evropy nebyly v posledních dekádách podobné závažnější případy zaznamenány. Vzhledem k turnusovým podmínkám odchovu ryb v rybnících nepředstavuje škulovec štičí pro takto chované ryby prakticky žádné významnější nebezpečí.

Prevence onemocnění spočívá v omezení výskytu definitivního hostitele, štiky, což je však vzhledem k oblibě této dravé ryby mezi rybáři obtížně proveditelné. Parazit je diagnostikován jen při pitvě nakažených rybích mezihostitelů; cysty obsahující plerocerkoidy v játrech okounů nebo pstruhů jsou bělavé, snadno odlišitelné od jaterní tkáně (obr. 3.11.4.3.4). Diagnostika druhu *T. crassus* je založena na nálezů larev ve svalovině lososovitých ryb, zejména v horní přední části těla, kde může být lokalizováno až 80 % plerocerkoidů (19).

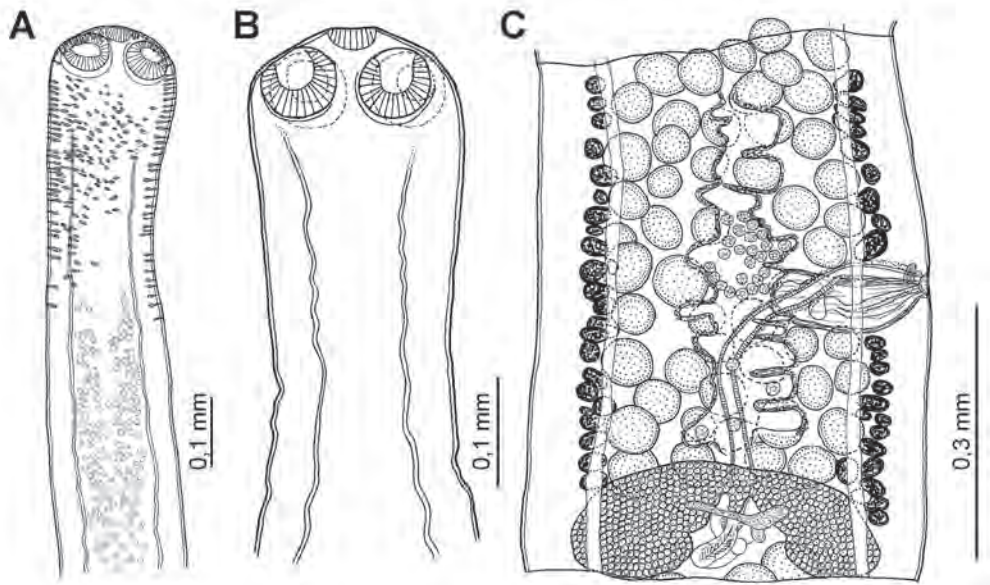


Obr. 3.11.4.3.4. Cysty s plerocerkoidy tasemnice *Triaenophorus nodulosus* v játrech okouna (A), detail hlavové části plerocerkoidu s typickými trojzubými háčky (B). (Foto: M. Palíková)

Proteocephalus longicollis

Proteocephalus longicollis (synonyma *P. exiguus* a *P. neglectus*), zástupce řádu Onchoproteocephalidea (do roku 2014 řád Proteocephalidea), byl v 2. polovině 20. století uváděn jako původce proteocefalózy pstruhů duhových, ale dnes je nalézán prakticky výhradně ve volně žijících lososovitých rybách, hlavně u síhů z alpských jezer nebo ze severní části Evropy. Tasemnice rodu *Proteocephalus* jsou kosmopolitně rozšířenými střevními parazity širokého spektra rybích hostitelů. Jejich tělo je složeno z dobře odlišitelných proglotid a skolex je opatřen čtyřmi svalnatými kruhovitými přísavkami. Někdy je přítomná i apikálně umístěná pátá přísavka, která je však u řady zástupců včetně druhu *P. longicollis*, původce proteocefalózy, redukována (21).

Vývojový cyklus tasemnice *P. longicollis* zahrnuje planktonní korýše (buchanky), ve kterých se vyvíjí během několika dnů larva zvaná plerocerkoid (má plně zformovaný skolex podobný skolexu dospělců). Definitivní hostitelé se nakazí pozřením buchanek s plerocerkoidy. V případě lososovitých ryb včetně pstruha duhového jsou dospělé tasemnice přichycené v apikální části pylorických přívěsků a jejich strobila leží v lumenu střeva. V současné době jsou nákazy chovaných ryb tasemnicí *P. longicollis* výjimečné a parazit nemá v našich podmínkách prakticky zdravotně závažný význam (obr. 3.11.4.3.5).

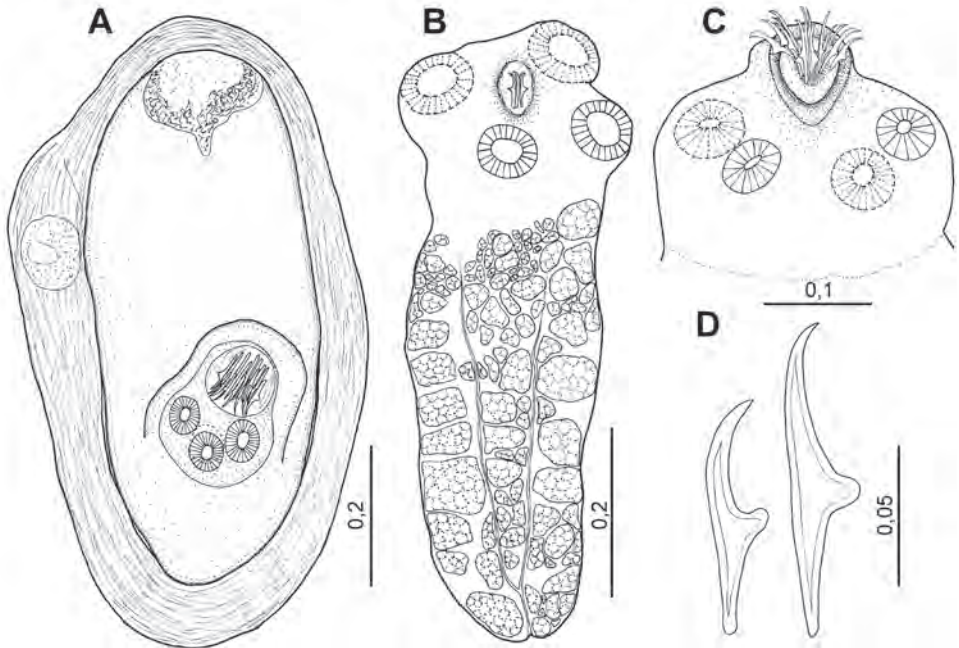


Obr. 3.11.4.3.5. Schematický nákras tasemnice *Proteocephalus longicollis*. Skolex s apikální přísavkou (A, B) a detail článku tasemnice (C). (Kresba: T. Scholz)

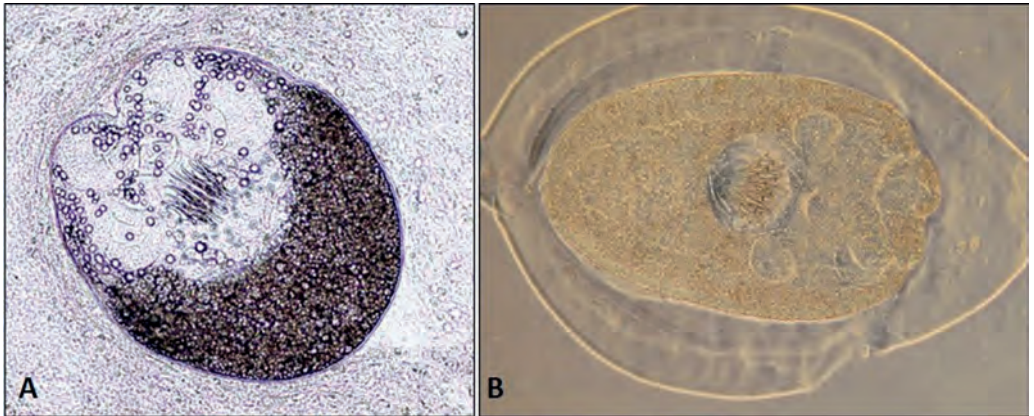
Larvy čeledi Gryporhynchidae

Larvální stádia zvaná merocerkoid (22) tasemnic čeledi Gryporhynchidae (dříve součást druhově velmi bohaté čeledi Dilepididae; řád Cyclophyllidea) se vyskytují v rybách, které slouží jako druzí mezihostitelé (buchanky slouží jako první mezihostitelé). Larvy se vyskytují v různých orgánech svých rybích hostitelů (žlučový měchýř, játra, tělní dutina, lumen střeva nebo jeho stěna apod.), avšak druhy jednotlivých rodů se většinou vyskytují ve stejných orgánech (23). Larvy vyskytující se v mírném pásu jsou velmi malé (celková délka maximálně 1–1,5 mm) a mají dobře vyvinutý skolex opatřený čtyřmi kruhovitými přísavkami a apikálně umístěný zatažitelný svalnatý útvar zvaný rostelum, který je ozbrojen dvěma řadami sklerotizovaných háčků (u evropských zástupců v celkovém počtu 20 háčků dvou velikostí)(obr. 3.11.4.3.6, 3.11.4.3.7). Definitivními hostiteli jsou rybožraví ptáci.

I přes malou velikost larev gryporhynchidních tasemnic vyskytujících se v Evropě a bývalém Sovětském svazu byly zaznamenány případy onemocnění chovaných ryb včetně úhynů silně napadených hostitelů (6). Jako původce onemocnění byly uvedeny larvy druhů *Valipora campylancristrota*, cizopasící ve žlučovém měchýři lína obecného, amura bílého a dalších kaprovitých ryb, a *Neogryporhynchus cheilancristrotus*, které se vyskytují v lumenu střeva kaprovitých ryb a při silné nákaze mohou způsobit jeho zánět (23). Prevence onemocnění je obtížná vzhledem k tomu, že buchanky, sloužící jako potenciální první mezihostitelé, jsou hojně přítomny v chovných rybnících.



Obr. 3.11.4.3.6. Schématický nákres larválních stádií tasemnic čeledi Gryporhynchidae. *Paradilepis scolecina* (A, D); *Valipora campylancristota* (B); *Neogryporhynchus cheilancristotus* (C). (Kresba T. Scholz)



Obr. 3.11.4.3.7. Larvy tasemnic *Neogryporhynchus cheilancristotus* (A), *Paradilepis* sp. (B), nativní preparáty. (Foto: A – M. Palíková, B – M. Kalbe)

LITERATURA

1. Caira, J.N., Jensen, K. (Eds), 2017. Planetary Biodiversity Inventory (2008–2017): Tapeworms from Vertebrate Bowels of the Earth. University of Kansas, Natural History Museum, Special Publication No. 25, Lawrence, KS, USA, 464 p.
2. Scholz, T., Kuchta, R., 2017. A digest of fish tapeworms. *Vie et Milieu* 67: 43–58.
3. Williams, H., Jones, A., 1994. Parasitic Worms of Fish. Taylor and Francis, London and Bristol, UK, 593 p.
4. Khalil, L.F., Jones, A., Bray, R.A. (Eds), 1994. Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates. CAB International, Wallingford, UK, 751 p.
5. Kuchta, R., Choudhury, A., Scholz, T., 2018. Asian fish tapeworm: the most successful invasive parasite in freshwaters. *Trends in Parasitology* 34: 511–523.
6. Bauer O.N., Musselius, V.A., Strelkov, Y.A., 1973. Diseases of Pond Fishes. Israel Programme for Scientific Translations, Jerusalem, 220 p.
7. Kennedy, C.R., 1994. Ecology of Introductions. In: Pike, A.W., Lewis, J.W. (Eds). Parasitic Diseases of Fish. Samara Publishing Limited, Tresaith, pp. 189–208.
8. Scholz, T., Kuchta, R., Williams, C., 2012. *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti, 1934. In: Woo, P.K.K., Buchmann, K. (Eds). Fish Parasites: Pathobiology and Protection. CAB International, Wallingford, pp. 292–307.
9. Odening, K., 1976. Conception and terminology of hosts in parasitology. *Advances in Parasitology* 14: 1–93.
10. Hansen, S.P., Choudhury, A., Cole, R.A., 2007. Evidence of experimental postcyclic transmission of *Bothriocephalus acheilognathi* in bony tail chub (*Gila elegans*). *Journal of Parasitology* 93: 202–204.
11. Bauer, O.N., Musselius V.A., Nikolayeva V.M., Strelkov Y.A., 1977. Ikhtiopatologiya. Izdatel'svo Pishchevaya Promyshlennost, Moscow, 431 p. (V ruštině)
12. Hoole, D., 1994. Tapeworm Infections in Fish: Past and Future Problems. In: Pike, A.W., Lewis, J.W., (Eds). Parasitic Diseases of Fish. Tresaith: Samara Publishing Limited, pp. 119–140.
13. Scholz, T., 1999. Parasites in cultured and feral fish. *Veterinary Parasitology* 84: 317–335.
14. Scholz, T., Oros, M., 2017. Caryophyllidea van Beneden in Carus, 1863. In: J.N. Caira and K. Jensen (Eds), Planetary Biodiversity Inventory (2008–2017): Tapeworms from Vertebrate Bowels of the Earth. University of Kansas, Natural History Museum, Special Publication No. 25, Lawrence, KS, USA, pp. 47–64.
15. Barčák, D., Oros, M., Hanzelová, V., Scholz, T., 2017. A synoptic review of *Caryophyllaeus* Gmelin, 1790 (Cestoda: Caryophyllidea), parasites of cyprinid fishes in the Palaearctic Region. *Folia Parasitologica* 64: 027.
16. Scholz, T., Špeta, V., Zajíček, J., 1990. Life history of the tapeworm *Khawia sinensis* Hsü, 1935, a carp parasite, in the pond Dražský Skaličany near Blatná, Czechoslovakia. *Acta Veterinaria Brno* 59: 51–63.
17. Štefka, J., Hypša, V., Scholz, T., 2009. Interplay of host specificity and biogeography in population structure of a cosmopolitan endoparasite: microsatellite study of *Ligula intestinalis* (Cestoda). *Molecular Ecology* 18: 1187–1206.

18. Dubinina, M.N., 1980. Tapeworms (Cestoda, Ligulidae) of the Fauna of the USSR. Amerind Publishing Company, New Delhi, India, 320 p.
19. Kuperman, B.I., 1981. Tapeworms of the Genus *Triaenophorus*, Parasites of Fish. Experimental Systematics, Ecology. Amerind Publishing Co., New Delhi, India, 222 p.
20. Schahle, Z., Medgyesy, N., Psenner, R., 2016. Infection levels of plerocercoids of the tapeworm *Triaenophorus crassus* and feeding strategy in two fish species from the ultra-oligotrophic Lake Achensee, Austria. *Journal of Helminthology* 90: 54–61.
21. Scholz, T., Hanzelová, V., 1998. Tapeworms of the Genus *Proteocephalus* Weinland, 1858 (Cestoda: Proteocephalidae), Parasites of Fishes in Europe. *Studie AV ČR, No. 2/98*, Academia, Praha, 119 p.
22. Chervy, L., 2002. The terminology of larval cestodes or metacestodes. *Systematic Parasitology* 52: 1–33.
23. Scholz, T., Bray, R.A., Kuchta, R., Řepová, R., 2004. Larvae of gryporhynchid cestodes (Cyclophyllidea) from fish: a review. *Folia Parasitologica* 51: 131–152.

3.11.5. NEMATODA

Eliška Zusková, Tomáš Scholz

Úvod. Hlístice (třída Nematoda; anglicky nematodes nebo roundworms) jsou velmi početnou skupinou živočichů dříve řazenou do kmene Nemathelminthes. V současné době tvoří spolu s členovci, želvuškami, rypečkami a dalšími skupinami taxon (superskupinu) Ecdysozoa. Na rozdíl od ostatních hlavních skupin helmintů, které obsahují výhradně parazitické skupiny, mezi hlístice patří i neparazitičtí zástupci žijící v půdě, sladkovodních i mořských ekosystémech, ale také patogeny rostlin a bezobratlých. Parazitické hlístice jsou velmi početnou skupinou rybích parazitů a některé druhy mohou být významnými patogeny ve stádiu dospělého i jako larvy, a to i v podmínkách rybníčních chovů (1,2).

Většina hlístic má protáhlé, cylindrické tělo s ústním otvorem na předním konci. Zvláštní přichycovací orgány nejsou vyvinuty a pro **přichycení k hostitelské tkáni slouží ústní ústrojí**. Jeho stavba je základem pro klasifikaci hlístic do vyšších taxonomických jednotek jako řády, nadčeledi a čeledi. Všechny parazitické hlístice jsou odděleného pohlaví (**gonochoristi**), přičemž samci jsou menších rozměrů než samice. Samci, zejména u hlístic cizopasícih ve střevě, mají dobře vyvinuty vnější i vnitřní kopulační orgány (ocasní nebo genitální papily, ocasní křídla, kopulační burza, sklerotizované spikuly, gubernakulum apod.). Tyto orgány mají zásadní význam pro druhovou identifikaci hlístic (3).

Klasifikace hlístic prodělala v posledních desetiletích řadu změn, zejména v souvislosti s molekulárně-fylogenetickými studiemi. Základní vyšší taxonomickou jednotkou používanou pro odlišení hlavních skupin jsou nadčeledi, případně řády. Jejich vzájemné odlišení je založeno především na stavbě zažívacího traktu.

Původní druhy parazitických hlístic v současné době nepředstavují, až na vzácné výjimky, závažnější nebezpečí pro zdravotní stav našich ryb. Problémem jsou však některé druhy parazitických hlístic, které byly do střední Evropy zavlečeny se svými hostiteli, především z východní Asie. Podobně jako u tasemnic představují dnes tyto invazní paraziti větší veterinární problém než původní zástupci naší fauny. Patrně nejvýznamnějšími invazními hlísticemi zavlečenými v posledních desetiletích i do střední Evropy jsou *Philometroides cyprini*, napadající šupiny kapra a snižující komerční hodnotu silně napadených ryb, a *Anguillicoloides crassus*, která je specifickým patogenem úhořů schopným způsobit vážné zdravotní problémy a při spolupůsobení dalších negativních vlivů či patogenních činitelů může způsobit i jejich masivní úhyny.

3.11.5.1. FILOMETROIDÓZA

Úvod. Hlístice způsobující filometroidózu je původem z východní Asie. V Japonsku byla známa jako běžný parazit kapra v chovech a později nalezena i v Číně a na ruském Dálném východě. Do východní a střední Evropy byla zavlečena v druhé polovině 20. století. První nález této hlístice uváděné pod názvy *Philometroides lussi* nebo *P. lusiana* pochází z Lotyšska z 60. let minulého století (4). Později se tato hlístice rozšířila i do chovů kapra v Bělorusku, na Ukrajině a v evropské části Ruska. Dnes se *P. cyprini* postupně šíří mezi kapry v rybnících, ale vyskytuje se také ve volných vodách ve střední Evropě včetně České republiky, kde byla poprvé zjištěna v roce 1997 v jižních Čechách (3).

Původce. Původcem onemocnění je invazní hlístice ***Philometroides cyprini***. Podobně jako ostatní zástupci čeledi Philometridae jsou samci *P. cyprini* velmi malí (do 3,5 mm) a jsou loka-

lizování pod serózním pokryvem plynového měchýře. Samice jsou mnohonásobně větší (délka těla až 16 cm, maximální šířka 1 mm), jsou červeně zbarvené a vyskytují se stočené v kůži pod šupinami nebo v šupinových pouzdrech (nezralé samice jsou ve svalovině a v tělní dutině) (obr. 3.11.5.1.1.). Jejich tělo (kutikula) je hustě pokryto malými kulovitými výrůstky. V děloze samic se vyvíjejí larvy 1. stádia (jde o tzv. viviparitu – živorodost), které jsou ve velkém množství uvolňovány do vody. Vývojový cyklus hlístice je nepřímý, s účastí planktonních klanonohých korýšů (buchanek – Copepoda) jako mezihostitelů. Uvolněné larvy se ve vodě stávají jejich snadnou kořistí. V jejich tělní dutině se larvy dvakrát svlékají a vznikají larvy 3. stádia, které jsou již infekční pro kapra. Pozřené larvy pronikají stěnou střeva do tělní dutiny, zde rostou a dvakrát se svlékají. Samice po kopulaci se samci migrují skrz svalovinu pod kůži a usazují se v kůži pod šupinami, zejména v oblasti hlavy, prsních ploutví a za skřelemi, a zde rychle rostou. V současné době se hlístice vyskytuje poměrně často zejména na jižní Moravě a na některých lokalitách jižních Čech, např. na Třeboňsku.



Obr. 3.11.5.1.1. Samice *Philometroides cyprini* uvolněná z šupinového pouzdra kapra obecného. (Foto: T. Stechkina)

Vnímavé druhy. Hlístice *P. cyprini* je specifickým cizopasníkem kapra obecného (*Cyprinus carpio*) (šupinaté i lysé formy) včetně jeho divoké formy sazana (*Cyprinus carpio haematopterus*). Nejvyšší intenzita napadení byla zjištěna u dvou- a tříletých kaprů, zatímco plůdek a jednorokní ryby jsou napadeny jen zřídka. U šupinaté formy kapra bylo zjištěno až 40 hlístic v jedné rybě (4).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. K nákaze definitivního hostitele dochází perorálně, tj. konzumací napadených planktonních korýšů. Ryby se nakazí nejčastěji na začátku léta (konec května až polovina června) pozřením buchanky s larvami 3. stádia.

Podmiňující faktory. Hlístice mají výrazně sezónní cyklus dospívání, kdy samice pohlavně dospívají díky zvýšené teplotě vody (15–20 °C) na konci jara (v našich podmínkách většinou v květnu). V této době samice vystrčí zadní část těla z tkáně hostitele a v důsledku rozdílného osmotického tlaku její kutikula praskne a larvy 1. stádia jsou uvolněny v obrovském množství do vody. Vývoj larev v buchankách je rychlý a během jednoho týdne po dvojnásobném svlékání kutikuly jsou larvy 3. stádia infekční pro definitivního hostitele – kapra.

Průběh a vývoj onemocnění. Hlístice působí toxicky na svého hostitele a živí se jeho krví (3). Onemocnění však jen velmi zřídka vede k úhynu silně napadených ryb, a to jen u mladších věkových kategorií. Tyto případy byly navíc popsány pouze v 60. letech v Lotyšsku. Přítomnost velkých, červeně zbarvených hlístic pod zježenými šupinami však zásadním způsobem snižuje tržní hodnotu napadených kaprů, což má ekonomický dopad na prodej těchto ryb.

Klinické příznaky. Jako klinické příznaky jsou uváděny zhoršení pohyblivosti napadených ryb, zpomalení růstu a hubnutí; mění se také vzhled a zbarvení jejich kůže a šupin. Parazit může způsobit opadávání šupin a přítomnost velkých, červeně zbarvených samic může vizuálně znehodnotit napadené kapry. U plůdku může dojít k narušení funkce plynového měchýře až k úhynu (při přítomnosti nejméně tří hlístic)(4).

Patologické změny. Migrující larvy mohou působit zánětlivé reakce a překrvení tkáně v místech průchodu. Dospělé samice se živí krví svého hostitele a lokalizují se hlavně v přední části těla (okolí hlavy a očí, prsních ploutví, na bocích, atd.). Na těchto místech se často objevují hemoragie a zvednuté šupiny, které mohou postupně opadávat.

Diagnóza. Pohlavně zralé samice jsou velkých rozměrů a tmavě červené barvy. Jsou velmi dobře viditelné v kůži napadených kaprů; proto se onemocnění nejlépe diagnostikuje v období května – června. Naopak nedozralé samice, které jsou světlé barvy, jsou obtížně pozorovatelné.

Terapie. Ve volných vodách ani v rybníčních chovech se neprovádí. Lze předpokládat, že paraziti budou vnímaví k levamisolu.

Prevence. Prevence je značně obtížná vzhledem k tomu, že zdrojem nákazy jsou buchanky tvořící významnou součást zooplanktonu. Příkrmování kaprů může omezit množství konzumované přirozené potravy včetně planktonních korýšů, a tak poněkud snížit pravděpodobnost nákazy ryb i její intenzitu (počet parazitů). V rybnících s výskytem hlístice by neměly být chovány ryby mladších věkových kategorií.

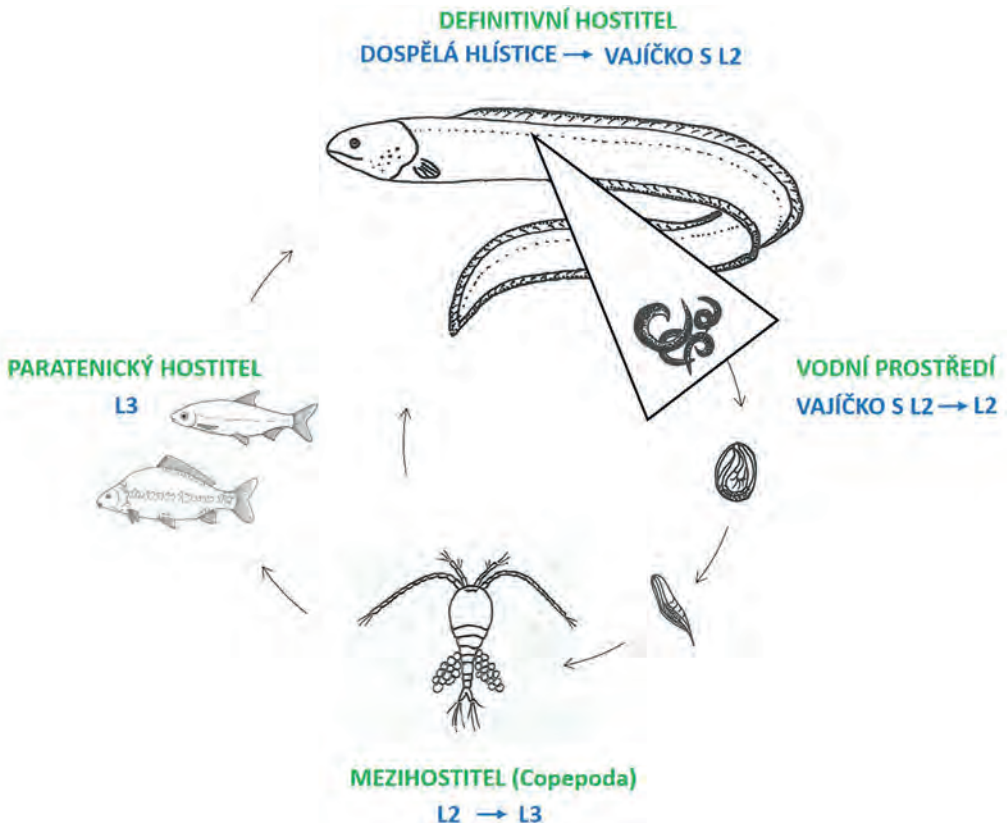
3.11.5.2. ANGUILIKOLÓZA

Onemocnění úhořů zvané anguilikolóza způsobuje hlístice dříve označovaná jako *Anguillicola crassus* (dnes *Anguillicoloides crassus*). Původně se vyskytovala jen ve východní Asii (Japonsko) a u japonského úhoře *Anguilla japonica* nepůsobila větší zdravotní problémy, na rozdíl od importovaných evropských úhořů (*Anguilla anguilla*). Po rozšíření z východní Asie do Evropy na konci 20. století se podílela na masovém hynutí evropského úhoře v řadě zemí včetně České republiky (např. Vranovská přehrada nebo přehradní nádrž Orlík). V současné době se však počet případů úhynu úhořů v důsledku napadení touto hlísticí výrazně snížil, což však může souviset i se současným poklesem populací úhořů, kteří již nejsou pravidelně a v tak velkém množství vysazováni do našich vod. Dnes se *A. crassus* vyskytuje především ve vodárenských nádržích, ale bez větších následků pro populace úhořů. Podobný scénář lze

zaznamenat i v ostatních zemích nového areálu tohoto parazita včetně Velké Británie, kde také působil vážné problémy na konci 20. století, ale dnes je mnohem méně významný (5).

Původce. Původcem onemocnění je hlístice *Anguillicoloides crassus* ze skupiny Spirurida. Tato robustní hlístice délky až 2 cm u samců (maximální šířka téměř 2 mm) a 4,5 cm u samic (šířka až 5 mm) napadá plynový měchýř úhořů v Evropě, Severní Americe, severní Africe a Turecku, kam byla poměrně nedávno zavlečena z Dálného východu s importovanými úhoři (3). Průběh kolonizace nových oblastí touto hlísticí i její přeskok na nové, málo odolné hostitele (evropského a amerického úhoře) je učebnicovým příkladem nebezpečnosti invazních parazitů.

Vývojový cyklus je nepřímý, s účastí jednoho mezihostitele (Copepoda). Oplozené samice uvolňují v plynovém měchýři vajíčka s již vyvinutou larvou 2. stádia. Vajíčka putují přes *ductus pneumaticus* (spojení plynového měchýře s jícnem) do zažívacího traktu a spolu s trusem se dostávají do vodního prostředí, kde se z vajíček líhnou infekční larvy. Jistá část vajíček se může vylíhnout již v plynovém měchýři. Po pozření mezihostitelskou buchankou (Copepoda) se v dutině tělní larvy svlékají a vznikají larvy 3. stádia, které jsou již infekční pro úhoře. Vývoj larvy 3. stádia v těle buchanky trvá 6–12 dní v závislosti na teplotě vody. K nákaze definitivního hostitele dochází perorálně, tj. konzumací napadených planktonních korýšů (obr. 3.11.5.2.1).



Obr. 3.11.5.2.1. Vývojový cyklus hlístice *Anguillicoloides crassus*. Zelený text – stanoviště, modrý text – vývojové stádium hlístice, L – larvální stadium. (Kresba: E. Zusková a M. Palíková)

K úspěšnému rozšiřování hlístice *A. crassus* do nových oblastí nepochybně přispívá kromě širokého spektra buchank jako jejich mezihostitelů i využití plevných ryb, obojživelníků a některých bezobratlých jako paratenických hostitelů, tj. hostitelů, ve kterých se parazit nevyvíjí, ale může se zde delší dobu hromadit. Po konzumaci paratenických hostitelů úhořem může být definitivní hostitel nakažen mnohem vyšším počtem parazitů, než v případě přímého přenosu mezi mezihostitelem (buchanka) a definitivním hostitelem (úhoř). Pozřené larvy 3. stádia pronikají stěnou střeva do tělní dutiny a dále do plynového měchýře, kde se dvakrát svlékají, sají krev a rostou až do dosažení pohlavní zralosti. Prepatentní doba, tj. období od nákazy definitivního hostitele do produkce prvních vajíček, trvá u hlístice *A. crassus* kolem 3 měsíců. Patentní doba, tj. období produkce vajíček s larvami, je kratší, většinou pouze kolem jednoho měsíce; poté samice hynou (3).

Dalším důležitým aspektem, který nepochybně hraje důležitou roli v úspěšném a rychlém šíření hlístice i na nové kontinenty, je její vysoká míra tolerance k environmentálním faktorům včetně vysoké teplotní tolerance (5).

Vnímavé druhy. Výhradními definitivními hostiteli, ve kterých hlístice pohlavně dozrává, jsou úhoři (*Anguilla anguilla*, *A. japonica*, *A. rostrata*, *A. marmorata* a další zástupci rodu *Anguilla*). Larvy 3. stádia se vyskytují v rybách, které slouží jako parateničtí hostitelé; Moravec (3) uvádí z bývalého Československa 37 druhů ryb řady čeledí, zejména kaprovitých. V nich se mohou larvy parazita hromadit a dlouhodobě přežívat.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Mezihostiteli hlístice a jedním ze dvou hlavních zdrojů nákazy úhořů jsou buchanky (Copepoda), které jsou významnou součástí zooplanktonu. Význam dalších mezihostitelů, lasturnatek (Ostracoda), pro přenos parazita na úhoře není dostatečně vyjasněn. Dalším zdrojem nákazy jsou především malé ryby sloužící jako parateničtí hostitelé. V jejich vnitřních orgánech se hromadí invazní larvy 3. stádia. Jako parateničtí hostitelé a zdroj nákazy úhořů však slouží i pulci žab, čolci a řada bezobratlých, např. vodní plži a larvy vodního hmyzu (vážek, střechatek nebo chrostíků)(3). Larvy 3. stádia pronikají přes stěnu střeva do tělní dutiny a plynového měchýře. Vzhledem k tomu, že je znemožněn přirozený návrat mladých úhořů (monté) do našich toků, je populace úhořů závislá na jejich dovozu a vysazování. Mladí úhoři jsou odlovováni v ústích řek a buď přímo distribuováni nebo odkrmováni do větší velikosti. K zavlečení parazita může dojít tedy i s dovozem infikovaného monté.

Podmiňující faktory. Podmiňujícím faktorem je přítomnost planktonu nakaženého invazními larvami hlístice nebo paratenických hostitelů (např. drobných plevných ryb), v jejichž tělní dutině nebo plynovém měchýři se hromadí larvy parazita a přežívají výrazně delší dobu než v planktonních koryších.

Průběh a vývoj onemocnění. Patogenním činitelem jsou prvotně migrující larvy, které v místech průniku způsobují zánětlivé změny. Dospělé hlístice pak sají krev ze stěn plynového měchýře a jimi produkovaná vajíčka nebo larvy ucpávají *ductus pneumaticus*. Uhynulé hlístice při svém rozkladu uvolňují toxické látky, které výrazně zhoršují průběh infekce.

Klinické příznaky. Strukturální a zánětlivé změny významně ovlivňují funkci plynového měchýře. To se může projevit poruchami nebo sníženou intenzitou plavání (6). Masové úhyny úhořů, při kterých se významně uplatnila i tato hlístice, byly zaznamenány ve střední Evropě (Česká republika a Maďarsko), ale také na Taiwanu (3). Napadené ryby jsou vnímavější vůči virovým, bakteriálním a plísňovým infekcím a dalším stresovým faktorům (7), a k hynutí dochází za spolupůsobení více faktorů.



Obr. 3.11.5.2.2. Hlístice *Anguillicoloides crassus* z úhoře říčního. Plynový měchýř úhoře s černou tekutou masou, obsahující rozkládající se těla uhynulých hlístic, hlístice i larvální stádia (A); rozstřížený plynový měchýř s velkým množstvím hlístic (B); detail dospělých a juvenilních stádií hlístic (C). (Foto: A – M. Palíková, B, C – T. Scholz)

Patologické změny. U napadených úhořů dochází tlakem hlístic ke ztenčení a fibrotizaci stěny plynového měchýře, rozšíření cév a zvýšenému ukládání pigmentu. Při masivní infekci bývá následně zvětšena i dutina tělní a řitní otvor může být červený a zduřelý. Plynový měchýř pak obsahuje hlístice různého stáří spolu s černou masou již rozkládajících se uhynulých hlístic a zakalenou tekutinu s obsahem vajíček a vylíhlých larev 2. stádia (obr. 3.11.5.2.2)(8). V pokročilém stádiu dochází vlivem mnohočetného narušení stěny k zánětům až prasknutí. Splasknutý plynový měchýř pak přilne a přiroste k okolním orgánům (7).

Diagnóza. Parazit může být diagnostikován prakticky pouze při pitvě úhořů. Nacházíme patologické změny na plynovém měchýři a uvnitř jsou lokalizovány dospělé hlístice s černým střevem. Nález larev 3. stádia v tkáních paratenických hostitelů (nejčastěji střevo nebo plynový měchýř) dokládá přítomnost parazita na dané lokalitě.

Terapie. Léčení napadených úhořů je vzhledem k lokalizaci hlístic v plynovém měchýři poměrně komplikované. Proti anguilikóze se jako nejefektivnější léčivo jeví levamisol a metrifonát, a to jak ve formě koupelí, tak i injekčně nebo v krmivu (9). Nicméně uhynulá masa hlístic v plynovém měchýři uvolňuje svým rozkladem řadu toxických látek, které rovněž mohou způsobit zhoršení kondice až smrt léčeného úhoře.

Prevence. Díky účasti planktonních klanonohých korýšů ve vývojovém cyklu parazita je prevence nákazy poměrně komplikovaná. Rovněž účast drobných plevných rybek a řady dalších vodních živočichů jako paratenických hostitelů, tj. rezervoárů nákazy v daném vodním ekosystému, komplikuje účinnost profylaktických opatření. Jistou možností prevence v řízených chovech je přidavek soli. Úhoři z farem, kde je udržována vyšší salinita vody, vykazují nižší až nulové napadení touto hlísticí (10).

3.11.5.3. MÉNĚ VÝZNAMNÉ RYBÍ HLÍSTICE

Hlístice stručně zmíněné níže nemají, až na drobné výjimky, větší význam z hlediska zdravotního stavu ryb v akvakulturách nebo volných vodách střední Evropy včetně naší republiky. U těchto druhů byly sice popsány případy nálezů vedoucích až k úhynu silně napadených ryb, ale jedná se o ojedinělé případy téměř vždy mimo území České republiky. Vzhledem k významu akvarijních ryb v České republice, která se řadí mezi jejich přední světové producenty a exportéry, jsou zde však uvedeny i hlístice, které mohou být nebezpečné pro tyto ryby.

Hlístice čeledi *Philometridae*

Kromě výše uvedené invazní hlístice druhu *Philometroides cyprini* se v našich rybách mohou vyskytovat i další, potenciálně patogenní druhy dvou rodů čeledi *Philometridae*. Zástupci rodu *Philometra* mají hladkou kutikulu (bez výrůstků) a dospělé samice jsou lokalizovány v tělní dutině, pod kůží (i v ploutvích) nebo v krevním systému. Naproti tomu druhy rodu *Philometroides* mají kutikulu hustě pokrytou drobnými výběžky a dospělé samice se vyskytují v kůži (pod šupinami nebo v ploutvích). U většiny zástupců čeledi chybí ústní kapsula, ale hlavový konec je často opatřen několika papilami nebo výrůstků.

Zástupci této čeledi mají výrazně vyvinutý pohlavní dimorfismus, neboť jejich samci jsou velmi malých rozměrů a jsou často lokalizováni v jiných orgánech než velké samice (délka až 20 cm). U pohlavně zralých samic jsou vagina a vulva (vnější vyústění samičí pohlavní soustavy) zcela nebo částečně atrofované a larvy jsou z jejich těla uvolňovány poté, co díky rozdílům

osmotického tlaku praskne kutikula. Právě samice mohou v závislosti na své lokalizaci v hostiteli a intenzitě nákazy poškozovat své hostitele. Např. vzácný druh *Philometra obturans*, se samicemi délky až 20 cm, se vyskytuje v žaberních tepnách a ventrální aortě štiky obecné (*Esox lucius*); v případě ucpání těchto cév může dojít k závažnému poškození až úhynu hostitele. Mezihostitelem této hlístice jsou buchanky, zatímco některé ryby jako okoun slouží jako parateničtí hostitelé; larvy jsou u nich přítomny ve sklivci.

Philometroides sanguineus je specifickým parazitem karasů (*Carassius* spp.) a dospělé samice dlouhé až 5 cm se vyskytují mezi ploutevními paprsky především ocasních ploutví. Larvy 3. stádia z pozřených mezihostitelů pronikají stěnou střeva karasa a migrují tělní dutinou do oblasti ledvin, plynového měchýře a gonád. Zde larvy rostou, dvakrát se svlékají a dospívají v samce nebo samice. Po kopulaci oplozené samice migrují hostitelskou tkání do ploutví; tato fáze migrace oplodněných samic působí největší mechanické poškození hostitele a může vést až k jeho úhynu. Největší ekonomické škody působené tímto parazitem byly zaznamenány v chovech karasů ve východní Asii (Čína, Japonsko, Korea, Rusko), zatímco z bývalého Československa existuje jediný záznam patogenního působení parazita na východním Slovensku (3).

Vývojový cyklus všech zástupců čeledi je nepřímý s účastí buchanky jako mezihostitelů. Z tohoto důvodu je obtížné zamezit přenosu larev na rybí hostitele v přírodních podmínkách. Jednou z mála možností prevence těchto nákaz je umělé přikrmování chovaných ryb v rybnících, zejména v období předpokládané nákazy nové generace ryb.

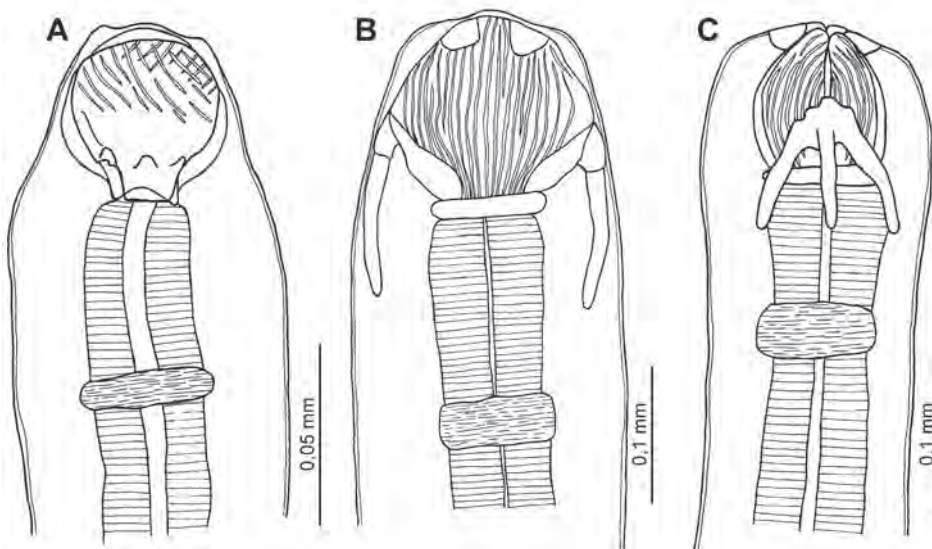


Obr. 3.11.5.3.1. Hlístice *Philometra cyprinirutili* v dutině tělní cejnů. Zvláštností této poměrně velké hlístice (→) je skutečnost, že velké samice s mnoha vajíčky nebo larvami v těle se vyskytují v hostitelské rybě (cejn, plotice) téměř výhradně při současné nákaze řemenatkou (*Ligula intestinalis*), tzn. u oslabených jedinců. V rybách bez řemenatky se vyskytují pouze samce a mladé samice před kopulací, takže je možné se domnívat, že další vývoj samic této hlístice v nich nepokračuje. (Foto: A – M. Palíková, B – E. Zusková)

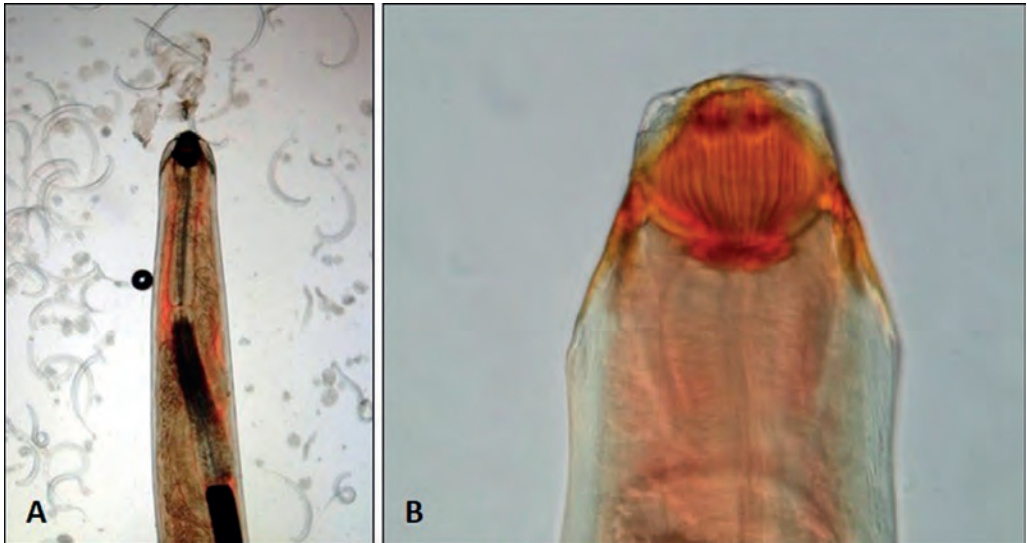
Camallanus spp.

Tyto spiruridní hlístice (čeleď Camallanidae) mají ústa s velkou sklerotizovanou kapsulou a jejich jícen se skládá z přední svalnaté a zadní žláznaté části. Na dorzální a ventrální straně ústní kapsuly jsou vyvinuty dva trojzubce typické pro daný druh (obr. 3.11.5.3.2).

V České republice se v pylorických přívěscích zejména okounovitých ryb (okoun, candát, ježdíci) vyskytují druhy *C. lacustris* a *C. truncatus* (druhý druh se u nás vyskytuje pouze v povodí Moravy). Jejich samice dosahují délky kolem 1 cm, zatímco samci jsou menší (0,5 cm); oba druhy se liší tvarem ústní kapsuly a jejich trojzubců. Nejde o významné patogeny ryb ve volných vodách, ale při vyšší intenzitě nákazy může docházet ke ztrátě krve (hlístice jsou hematofágní) napadených ryb a mechanickému poškození jejich střevní sliznice (3). Potenciálním problémem jsou však zástupci čeledi, kteří cizopasí u akvarijních ryb, zejména druh *Camallanus cotti* (obr. 3.12.4.3.3). U malých ryb mohou způsobit jejich úhyn v důsledku silného poškození střevní sliznice a ucpání (obturace) střeva. Možnou prevencí je zabránění konzumace živého zooplanktonu rybami v akvarijních chovech.



Obr. 3.11.5.3.2. Schematický nákres hlístice *Camallanus lacustris*. Larva 4. stádia (A); dospělec (B, C). (Kresba: T. Scholz)



Obr. 3.11.5.3.3. Hlístice rodu *Camallanus*. Samice *Camallanus cotti* obklopená larvami 1. stádia uvolněnými z dělohy (A); detail přední části hlístice *Camallanus lacustris* (B, C). (Foto: M. Palíková)

Hlístice čeledi Capillariidae

Zástupci této čeledi jsou charakterističtí vlasovitým tělem, které je mnohonásobně delší než širší. Dospělci se vyskytují v zažívacím traktu definitivních hostitelů, téměř výhradně ve střevě nebo žaludku. Klasifikace na rodové úrovni je založena na stavbě zadního konce samce a byla navržena Moravcem (1980)(11). Vývojový cyklus kapilárií je přímý, tj. bez mezihostitele, ale významnou roli v přenosu parazita z jedné generace na druhou hrají parateničtí hostitelé, zvláště máloštetinatí červi (nitěnky rodů *Limnodrilus* a *Tubifex* nebo žížalce pestrá *Lumbriculus variegatus*)(3). Další generace definitivních hostitelů se nakazí pozřením silnostěnného vajíčka obsahujícího invazní larvu 1. stádia. Mezi desítkami popsanych druhů kapilárií se nacházejí i zástupci potenciálně patogenní zejména pro akvarijní nebo okrasné ryby. Naopak zástupci cizopasíci u ryb ve volných vodách jsou převážně bez většího veterinárního významu.

V případech euryxenní (= cizopasíci u širokého spektra hostitelů, tj. hostitelsky málo specifická) kapilárie *Pseudocapillaria tomentosa* existují údaje o její patogenitě u slunečnic (*Lepomis* spp.) nebo dánia pruhovaného (*Danio rerio*) v Severní Americe (parazit zde byl uváděn pod jménem *Capillaria catostomi*). V České republice byla tato hlístice nalezena u 17 druhů zejména kaprovitých ryb včetně kapra, ale vyskytuje se také hojně v chovech akvarijních ryb, například u živorodky duhové (*Poecilia reticulata*) a pamičky čtyřpruhé (*Puntius tetrazona*) (3,12).

Dalším častým parazitem je druh *Pseudocapillaria salvelini*, která se vyskytuje především u sladkovodních a migrujících lososovitých ryb a má podobně jako předchozí druh holarktické rozšíření (vyskytuje se v Severní Americe a palearktické části Eurasie). V České republice byla tato hlístice zjištěna pouze u potočních pstruhů v řece Kamenici v severních Čechách a v chovech pstruhů duhových na severní Moravě (3). Přestože o patogenitě této hlístice nejsou k dispozici prakticky žádné údaje, střevní kapilárie jsou obecně považovány za potenciálně patogenní pro své rybí hostitele (12).

Vzhledem k přímému životnímu cyklu kapilárií, ve kterém chybí mezihostitel, je obtížné zabránit reinfekcím chovaných ryb. Možností prevence je důsledná sanitace akvárií s napadenými rybami a jejich oddělení od nenapadených ryb (obr. 3.11.5.3.4).



Obr. 3.11.5.3.4. Hlístice *Capillaria* sp. Samice ve střevě akvariijní ryby (A); typická vajíčka tvaru citrónu (B). Nativní preparát. (Foto: M. Palíková)

Cystidicola farionis

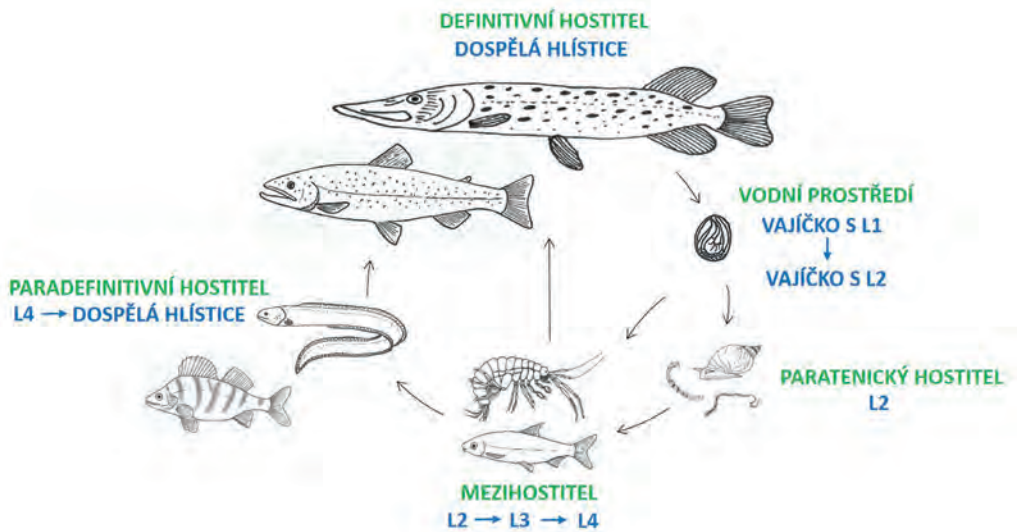
U lososovitých ryb se setkáváme se zástupci čeledi Cystidicolidae, zejména druhem *Cystidicola farionis*. Tyto hlístice mají poměrně krátké vestibulum (úzká trubice spojující ústní otvor s jícnem) a velmi dlouhý jícen rozdělený na svalnatou (přední) a žláznatou (zadní) část. Samice dosahují délky těla téměř 3 cm a jejich vajíčka jsou opatřena filamenti, které slouží k jejich přichycení na vodní vegetaci nebo další předměty. Druh *C. farionis* je jediným naším zástupcem rodu a vyskytuje se jen v povodí Dunaje, kde cizopasí v plynovém měchýři lososovitých ryb, zejména pstruha potočního. U silně napadených ryb byla zaznamenána chudokrevnost a zvýšená citlivost vůči nedostatku kyslíku. Veterinární význam této hlístice je však v našich podmínkách zanedbatelný.

Raphidascaris acus

Původcem onemocnění, tzv. **rafidaskariózy**, je hlístice *Raphidascaris acus* rozšířená prakticky po celé Evropě včetně bývalého Sovětského svazu. Její výskyt byl zaznamenán i v oblasti střední Asie, Sibiře, Dálného východu – Mongolska a Severní Ameriky. Z území bývalého Československa uvádí Moravec (13) 30 druhů rybích hostitelů tohoto parazita u nepříbuzných čeledí jako kaprovité, lososovité, sekavcovité nebo vrankovité. Samci dosahují velikosti téměř 4,5 cm a samice přes 8 cm s průměrnou šířkou 1 mm. Dospělci cizopasí zejména ve střevě, ale i v žaludku a pylorických přívěscích, a to většinou u dravých ryb, např. u pstruha duhového, štiky, mníka či úhoře.

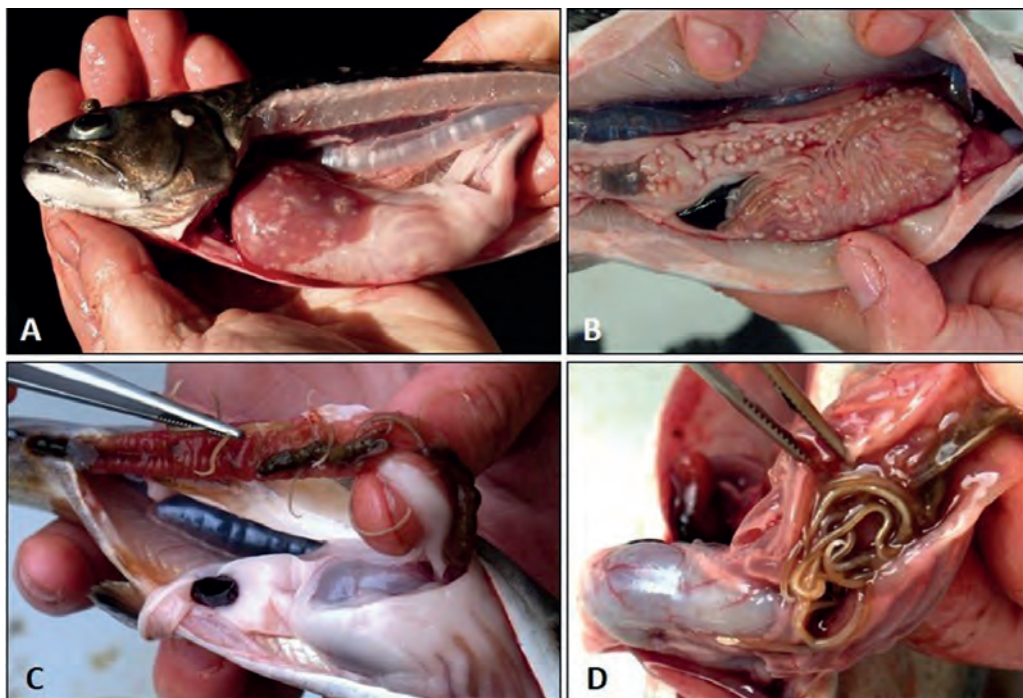
Vývojový cyklus je nepřímý s účastí jednoho mezihostitele, kterým bývá drobná ryba, jako např. piskoř pruhovaný (*Misgurnus fossilis*), střevle potoční (*Phoxinus phoxinus*), jelec tloušť (*Squalius cephalus*) nebo i jiný druh sloužící jako potrava definitivního hostitele; jako možní mezihostitelé jsou některými autory uváděni i blešivci (Gammaridae). Řada druhů ryb (úhoř říční, okoun říční (*Perca fluviatilis*), candát obecný (*Sander lucioperca*), hlavatka obecná

(*Hucho hucho*), lipan podhorní (*Thymalus thymalus*), aj.) je uváděna jako tzv. pardefinitivní hostitel, ve kterém parazit sice pohlavně dospěje, ale není schopný produkovat vajíčka. Vajíčka jsou s trusem vylučována do vody. Jsou vysoce rezistentní vůči nízké teplotě, přežijí i zmražení okolní vody. V závislosti na teplotě se ve vajíčku vyvíjí nejdříve larva 1. stádia a následně i infekční larva 2. stádia. Po pozření vajíčka mezihostitelskou rybou se ve střevě infekční larva uvolní, proniká přes stěnu střeva do dutiny tělní a jater, kde se opouzdřuje (někdy rovněž ve střevě nebo mezenteriu) a dvakrát svléká. Takto vzniklé larvy 4. stádia putují do přední části jícnu. Různé druhy bezobratlých jako žížalice (*Lumbriculus*), nitěnky (*Limnodrilus* a *Tubifex*), larvy pakomárů (Chironomidae) i plži (Planorbidae a Lymnaeidae) slouží jako parateničtí hostitelé (obr. 3.11.5.3.5).



Obr. 3.11.5.3.5. Vývojový cyklus hlístice *Raphidascaris acus*. Zelený text – stanoviště, modrý text – vývojové stádium hlístice, L – larvální stadium. (Kresba: E. Zusková a M. Palíková)

Definitivní hostitel se nakazí konzumací mezihostitelů nebo pardefinitivních hostitelů s infekčními larvami. V definitivním hostiteli paraziti dospívají a začínají produkovat vajíčka. Zatímco u některých definitivních hostitelů (štika obecná) hlístice nepůsobí větší zdravotní problémy, jiné definitivní hostitele (pstruhy duhové a pstruhy obecné) může tento parazit masivně likvidovat. Patogenně působí rovněž larvy pronikající do různých orgánů, zejména jater menších ryb. S poměrně četným výskytem (prevalence až 100 % s průměrnou intenzitou 1000 larev na rybu) této hlístice se setkáváme např. v moravských řekách (3). Závažné zdravotní problémy může však působit i v intenzivních chovech lososovitých ryb v případě, že vzniknou vhodné podmínky pro uskutečnění vývojového cyklu a namnožení parazita (obr. 3.11.5.3.6) (14). Možnou prevencí v hospodářských chovech s výskytem onemocnění je odstranění paratenických hostitelů důsledným vypuštěním a vysušením, popřípadě odbahněním nádrže. U menších nádrží je vhodné dno dezinfikovat páleným vápnem.



Obr. 3.11.5.3.6. Hlístice *Raphidascaris acus* u pstruha duhového. Enkapsulovaná larvární stádia v jaterní tkáni (A); kapsuly na střešní stěně a mezi pylorickými přívěsky (B); dospělci ve střevě (C, D). (Foto: M. Palíková)

LITERATURA

1. Ergens, R., Lom, J., 1970. Původci parazitárních nemocí ryb. Academia, Praha, 384 s.
2. Williams, H., Jones, A., 1994. Parasitic worms of fish. Taylor and Francis, London and Bristol, UK, 593 p.
3. Moravec, F., 2013. Parasitic Nematodes of Freshwater Fishes of Europe. Revised second edition. Academia, Praha, 601 p.
4. Bauer O.N., Musselius, V.A., Strelkov, Y.A., 1973. Diseases of pond fishes. Israel Programme for Scientific Translations, Jerusalem, 220 p.
5. Kennedy, C.R., 1994. Ecology of introductions. In: Pike, A.W., Lewis, J.W. (Eds). Parasitic Diseases of Fish. Samara Publishing Limited, Tresaith, pp. 189–208.
6. Sprengel, G., Lüchtenberg, H., 1991. Infection by endoparasites reduces maximum swimming speed of European smelt *Osmerus eperlanus* and European eel *Anguilla anguilla*. Diseases of Aquatic Organisms 11: 31–35.
7. Van Banning, P., Haenen, O.L.M., 1990. Effects of the Swimbladder Nematode *Anguillicola crassus* in Wild and Farmed Eel, *Anguilla anguilla*. In: F.O. Perkins a T.C. Cheng (Eds). Pathology in Marine Science. Academic Press, New York, pp. 317–330.

8. Kirk, R. S., 2003. The impact of *Anguillicola crassus* on European eels. Fisheries Management and Ecology 10: 385–394.
9. Taraschewski, H., Renner, C., Mehlhorn, H., 1988. Treatment of fish parasites. 3. Effect of levamisole, HCl, metrifonate, fenbendazole, mebendazole, and ivermectin on *Anguillicola crassus* (nematodes) pathogenic in the air bladder of eels. Parasitology Research 74: 281–289.
10. Køie, M., 1991. Swimbladder nematodes (*Anguillicola* spp.) and gill monogeneans (*Pseudodactylogyrus* spp.) parasitic on the European eel (*Anguilla anguilla*). Journal de la Conseil International pour Exploration de la Mer 47: 391–398.
11. Moravec, F., 1980. Revision of ematodes of the genus *Philometra* from European freshwater fishes. Folia Parasitologica 27: 309–324.
12. Moravec, F., 2001a. Trichinelloid Nematodes Parasitic in Cold-blooded Vertebrates. Academia, Praha, 429 p.
13. Moravec, F., 2001b. Checklist of the metazoan parasites of fishes of the Czech Republic and the Slovak Republic (1873–2000). Academia, Praha, 168 p.
14. Palíková, M., Navrátil, S., Čížek, A., Soukupová, Z., Lang, S., Kopp, R., Mareš, J., 2014. Seasonal occurrence of diseases in a recirculation system for salmonid fish in the Czech Republic. Acta Veterinaria Brno 83: 201–207.

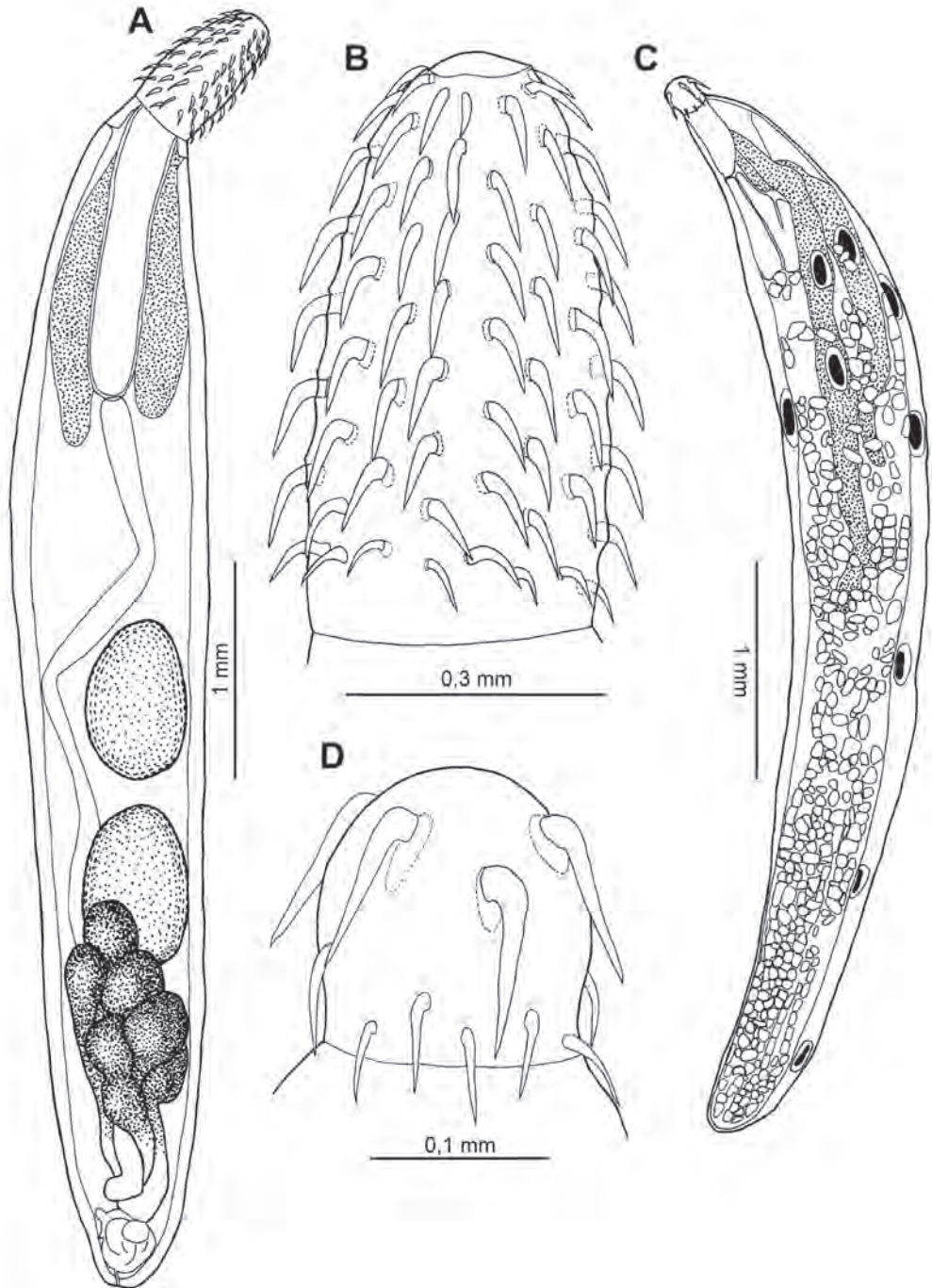
3.11.6. ACANTHOCEPHALA

Eliška Zusková, Tomáš Scholz

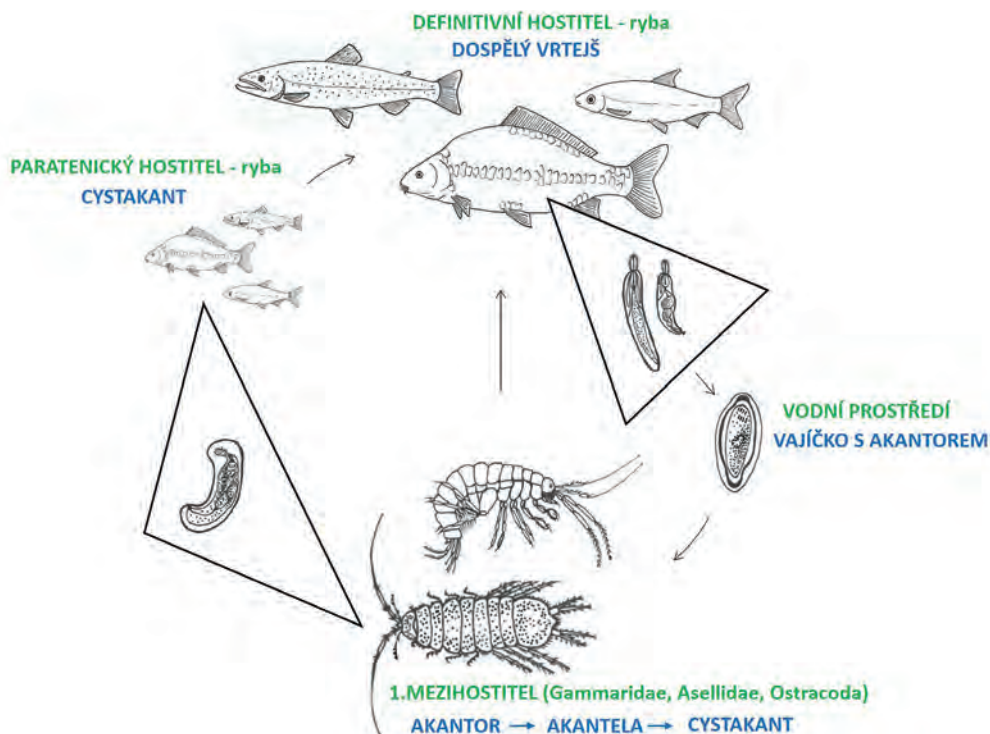
Vrtejší (anglicky spiny- nebo thorny-headed worms nebo acanthocephalans) jsou poměrně malou (dosud popsáno kolem 1300 druhů)(1) a z hlediska humánní i veterinární medicíny v podstatě marginální skupinou helmintů. Dospělci jsou střevními cizopasníky všech hlavních skupin obratlovců s nejvyšším počtem druhů popsaných ze sladkovodních a mořských ryb a z ptáků. Postavení vrtejšů mezi živočichy nebylo dlouho jasné vzhledem k unikátním morfologickým i fyziologickým adaptacím vrtejšů, kteří byli dokonce považováni za samostatný kmen. Teprve poměrně nedávné ultrastrukturální a genetické studie prokázaly, že vrtejší jsou v zásadě parazitickými vířníky (Rotifera; někdy zvaní Syndermata) a společně se zástupci nepočtených skupin Gnathostomulida a Micrognathozoa tvoří taxon Gnathifera v rámci superskupiny Lophotrochozoa, do které řadíme např. všechny kroužkovce, měkkýše, ale také ploché červy (Platyhelminthes) včetně motolic, monogeneí a tasemnic. Vrtejší jsou tedy evolučně bližší těmto skupinám helmintů než hlísticím, které jsou společně s členovci (Arthropoda) součástí superskupiny Ecdysozoa.

Vrtejší jsou odděleného pohlaví (samci jsou vždy menší, s dvěma varlaty a kopulační bursou na konci těla, samice jsou větší). Během evoluce se u vrtejšů v důsledku jejich výhradně parazitického způsobu života vytvořila řada unikátních adaptací, se kterými se nesetkáváme u žádné jiné živočišné skupiny, např. **zatažitelný chobotek** (proboscis) **ozbrojený háčky** (obr. 3.11.6.1), který se společně se silným tegumentem (není však homologický s tegumentem neodermat) podílí na příjmu potravy a metabolismu (vrtejší, podobně jako tasemnice, ztratili střevo), tzv. děložní zvon, který propouští do dělohy pouze zralá vajíčka a nezralá vrací do tělní dutiny, cementové žlázy, kterými samci „přilepí“ samici při kopulaci, lakunární systém, který nahrazuje chybějící cirkulační soustavu, apod.

Vývojové cykly vrtejšů (obr. 3.11.6.2) jsou vždy nepřímé, s účastí nejméně jednoho mezihostitele (členovce); u řady druhů slouží obratlovcům včetně ryb jako druzí mezihostitelé nebo parateničtí hostitelé. Z hlediska zdraví ryb vrtejší nepochybně nepatří mezi důležité skupiny metazoárních parazitů, přestože u několika druhů byly popsány případy onemocnění silně napadených ryb nebo dokonce jejich úhyn (2). Jednalo se však většinou o nepočtené případy a z České republiky neexistují novější doklady o větším významu těchto helmintů z hlediska zdravotního stavu ryb. V následujícím přehledu budou uvedeni dva zástupci, u kterých existují literární údaje o jimi způsobeném onemocnění spojeném s úhynem napadených ryb (*Neoechinorhynchus rutili* u kapra obecného [*Cyprinus carpio*] a pstruha duhového [*Oncorhynchus mykiss*]) nebo u kterých se setkáváme se silnými nákazami (až mnoho desítek jedinců délky až 2–3 cm) u generačních ryb (druhy rodu *Pomphorhynchus* u parem obecných [*Barbus barbus*]).



Obr. 3.11.6.1. Schematický nákrer vrtejšů s chobotkem v detailu. *Acanthocephalus lucii* (A, B); *Neoechinorhynchus rutili* (C, D). (Kresba: T. Scholz)



Obr. 3.11.6.2. Obecný vývojový cyklus vrtejšů. Zelený text – stanoviště, modrý text – vývojové stádium vrtejše. (Kresba: E. Zusková a M. Palíková)

3.11.6.1. NEOECHINORHYNCHÓZA

Úvod. Onemocnění bylo popsáno především ze zemí bývalého Sovětského svazu včetně případů masového úhynu silně napadených pstruhů a kapra. V současné době nemá tento parazit ve střední Evropě prakticky žádný veterinární význam. Nálezy parazita v posledních desetiletích jsou sporadické, což může souviset se zhoršenou kvalitou vody v rybnících, ve kterých chybějí nebo jsou málo početní potenciální mezihostitelé.

Původce. Původcem neoechinorhynchózy je vrtejš *Neoechinorhynchus rutili*, který je poměrně běžným cizopasníkem sladkovodních ryb v Eurasii a Severní Americe. Samci dosahují délky přes 0,5 cm, samice jsou větší, délky i přes 1 cm. Druh je typický přítomností malého kulovitého chobotku s 18 háčky různé velikosti, uspořádanými ve třech spirálních řadách. Typická je také přítomnost 6–7 obřích hypodermálních jader. Potenciálními mezihostiteli jsou planktonní korýši zvaní lasturnatky (Ostracoda). V literatuře se přebírají údaje Villota z roku 1885 o možném zapojení larev střechatek (*Sialis*) jako mezihostitelů vrtejše, ale larvy tohoto hmyzu patrně plní funkci paratenického hostitele (rezervoáru) larev vrtejše.

Vnímavé druhy. Vrtejš *N. rutili* byl dosud zjištěn u více než 70 druhů sladkovodních ryb, především kaprovitých včetně kapra obecného, který je jedním z nejčastějších hostitelů. Parazit je však poměrně hojný i u zástupců jiných skupin ryb včetně lososovitých (častý u pstruha duhového) a okounovitých. Jen v České republice a na Slovensku byl vrtejš zaznamenán u 35 druhů ryb (3).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem nákazy jsou mezihostitelé, lasturnatky (Ostracoda), ve kterých se vyvíjí larva zvaná cystakant, tj. encystovaná akantela. Možným zdrojem nákazy patrně mohou být i larvy střechatek (*Sialis*) nebo plůdek různých druhů ryb s cystakantem lokalizovaným mimo zažívací trakt, sloužící jako parateničtí hostitelé.

Podmiňující faktory. Podmínkou úspěšné nákazy ryb je přítomnost nakažených lasturnatek nebo paratenických hostitelů v prostředí. Závislost výskytu tohoto parazita na čistotě vodního prostředí však nebyla potvrzena (4).

Průběh a vývoj onemocnění. Po požití mezihostitele nebo paratenického hostitele se infekční larva zvaná cystakant aktivuje a přichytává ke stěně tenkého střeva definitivního hostitele. Zde buď rovnou i dospívá nebo putuje střevem dál a fixuje se v jiných částech střeva (5). Svým přichycením způsobuje zánětlivé až nekrotické změny střevní sliznice. Průběh onemocnění závisí na intenzitě napadení a věku hostitele. Při nižších až středních intenzitách probíhá onemocnění spíše chronicky. Při masivním napadení mohou vrtejší odčerpávat živiny a významně oslabit ryby, které jsou pak náchylnější k dalším přidruženým infekcím.

Klinické příznaky. Nemusí být patrné ani u rozvinutých masivních infekcí (5). Hlavním klinickým příznakem při nákaze tímto vrtejšem je pomalejší růst napadených ryb a jejich nižší hmotnost (2).

Patologické změny. Střevní sliznice bývá v místě přichycení parazita nateklá, začervenalá, s výskytem drobných hemoragií až nekrotéz.

Diagnóza. Původce onemocnění je detekován pouze při parazitologické pitvě, kdy jsou nalezeni bělaví vrtejší pevně přichycení ke sliznici střeva. Paraziti jsou častěji lokalizováni v zadní části střeva.

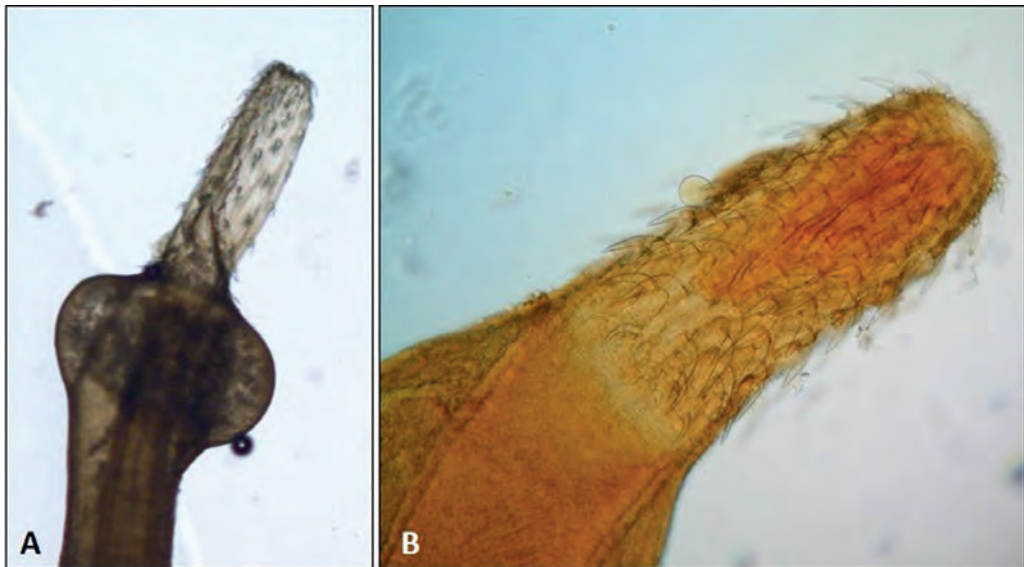
Terapie. Neprovoďá se.

Prevence. Prevence onemocnění je obtížná, neboť zdrojem nákazy jsou zejména planktonní koryši, kteří se vyskytují v rybnících i volných vodách, pokud nejsou příliš znečištěné. Konzumace planktonu chovanými rybami může být alespoň částečně snížena umělým přikrmováním ryb.

3.11.6.2. POMFORHYNCHÓZA

Úvod. Vrtejš *Pomphorhynchus laevis* je poměrně častým střevním parazitem mnoha sladkovodních ryb v tekoucích vodách. Recentní morfologické, genetické i ekologické studie vrtejšů označených jako *P. laevis* prokázaly, že se v Evropě vyskytují dva morfologicky velmi podobné druhy, z nichž druhý, *P. tereticollis*, byl dlouho považován za mladší synonymum druhu *P. laevis*. Oba druhy mohou parazitovat stejné druhy hostitelů a rovněž areály výskytu těchto tzv. sibling species se do jisté míry překrývají (6). V řekách jižní Moravy se však vyskytuje jen druh *P. laevis*, který je velmi častý a početný zejména u plem, včetně generačních ryb určených na výtěr.

Původce. *Pomphorhynchus laevis* je poměrně velký vrtejš (samci délky až 1,5 cm a samice délky až 3 cm a šířky až 3 mm) oranžové barvy. Přední část těla oddělená od zadní části (trunk) dlouhým a tenkým krčkem je tvořena bulbem zakončeným malým chobotkem (obr. 3.11.6.2.1) s 18–20 podélnými řadami háčků. Mezihostitelem jsou blešivci (Amphipoda: Gammaridae), např. *Dikerogammarus roeselii*, *Gammarus fossarum*, *G. lacustris* a *G. pulex*. V jejich tělní dutině se vyvíjí larva (akantela) oranžové barvy, která se opouzdří (encystuje) a vzniká klidové infekční stádium, cystakant. Součástí vývojového cyklu vrtejšů rodu *Pomphorhynchus* jsou však také drobné kaprovité a další ryby sloužící jako parateničtí hostitelé.



Obr. 3.11.6.2.1. Chobotek vrtejšů *Pomphorhynchus laevis* (A) a *Acanthocephalus lucii* (B). (Foto: A – M. Oros, B – M. Palíková)

Vnímavé druhy. Vrtejš *P. laevis* se vyskytuje u velkého počtu sladkovodních, zejména kaprovitých ryb, ale i u jeseterů (*Acipenser* spp.), mnika jednovouseého (*Lota lota*), vranky obecné (*Cottus gobio*), pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) i pstruha obecného (*Salmo trutta*), lipana podhorního (*Thymallus thymallus*), okouna říčního (*Perca fluviatilis*), sumce velkého (*Silurus glanis*) a dalších druhů ryb. Moravec (3) uvádí z bývalého Československa jako hostitele *P. laevis* 48 druhů ryb. U řady z nich však parazit pohlavně nedozrává a tyto ryby plní funkci paratenických hostitelů. V těchto rybách jsou larvy (cystakanty) lokalizovány v tělní dutině nebo na povrchu vnitřních orgánů. Hlavními definitivními hostiteli, ve kterých vrtejši pohlavně dozrávají, jsou parmy, jelci (tloušť a proudník) (*Squalius cephalus*, *Leuciscus leuciscus*), ale také pstruzi.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem nákazy jsou mezihostitelé, blešivci. Napadení blešivci mění své chování, snižuje se jejich pohyblivost a setrvávají delší dobu na nechráněných místech, čímž se stávají snadnější kořistí ryb. Dalším zdrojem infekce jsou drobné ryby různých druhů, sloužící jako parateničtí hostitelé.

Podmiňující faktory. Tento parazit je vázán na tekoucí vody, ve kterých se vyskytují potenciální mezihostitelé, blešivci. Larvy mění chování blešivců a navíc svou oranžovou barvou zvyšují atraktivitu napadených mezihostitelů. Tím dochází k přednostní a intenzivní konzumaci těchto mezihostitelů rybami; tento fenomén manipulace hostitele parazitem se nazývá parasite-increased trophic transmission (PITT).

Průběh a vývoj onemocnění. V tělní dutině paratenických hostitelů a na povrchu vnitřních orgánů se hromadí cystakanty, které se dále vyvíjí jen po pozření paratenického hostitele vhodným definitivním hostitelem (parma, jelec tloušť, jelec proudník). Po pozření mezihostitele se larva uvolní z ochranných obalů, přichytí se ke stěně střeva rybiho hostitele a následně se dále vyvíjí a roste. Larvy vrtejše se však mohou vyskytovat i v těchto rybách společně s pohlavně zralými jedinci v lumenu střeva (7).

Klinické příznaky. Literární údaje o klinických příznacích při nákaze tímto vrtejšem studované zejména u palem, jelce tlouště a pstruha duhového se navzájem liší. Někteří autoři uvádějí snížení růstu nebo i úhyn napadených ryb, zatímco jiné studie žádný vliv parazita na růst ryb ani mortalitu neprokázaly (2).

Patologické změny. Patologické změny jsou pouze lokální, a to v místě přichycení vrtejše a jeho penetrace stěnou střeva. Vrtejši svou přední částí (bulbus s malým chobotkem na jeho předním konci) pronikají všemi vrstvami střevní stěny hostitele. Někdy dochází až k perforaci střeva a proniknutí parazitů do dutiny tělní, kde jsou pak parazité nacházeni zejména v blízkosti jater. Po průniku stěnou střeva je na jeho vnější straně bulbus vrtejše s chobotkem pokryt fibrózní kapsulou (pouzdrém) tvořenou hostitelem. Tyto kulovité útvary na vnější stěně střeva jsou dobře viditelné již při otevření tělní dutiny (obr. 3.11.6.2.2). Literární údaje uvádějí kompresi a abrazi střevní mukózy a velmi intenzivní buněčnou reakci rybiho hostitele na proniknutí přední části parazita stěnou střeva. Zajímavostí je schopnost parazitů vychytávat a kumulovat těžké kovy, jejichž obsah může být i řádově vyšší než v tkáních rybiho hostitele. Obdobný fenomén byl pozorován i u dalších střevních parazitů, například tasemnic, a využívá se pro environmentální monitoring daného ekosystému s výskytem těchto parazitů.



Obr. 3.11.6.2.2. Vrtejš *Pomphorhynchus laevis*. Vnější strana střeva s opouzdřenými chobotky (A); rozstřižené střevo parmy s obsahem vrtejšů (B, C). (Foto: A, C – V. Piačková, B – M. Oros)

Diagnóza. Přítomnost vrtejše je zřejmá již po otevření tělní dutiny, neboť fibrózní kapsuly s bulbem a chobotkem vrtejše jsou dobře viditelné na vnější stěně střeva ryby. Při otevření lumenu střeva jsou vrtejši velmi snadno odlišitelní od ostatních helmintů svou jasně oranžovou barvou (obr. 3.11.6.2.2).

Terapie. Vzhledem k vazbě parazita převážně na volné tekoucí vody se terapie neprovádí. U nakažených palem odlovených pro účely umělého výtěru byl prokázán vliv perorálně podávaného praziquantelu na snížení parazitárního napadení (8).

Prevence. Vzhledem k výskytu vrtejšů v rybách žijících v tekoucích vodách není v podstatě možné přijmout skutečně efektivní preventivní opatření, neboť nelze zabránit konzumaci mezihostitelů (blešivců) rybami ve volných vodách.

3.11.6.3. MÉNĚ VÝZNAMNÍ VRTEJŠI

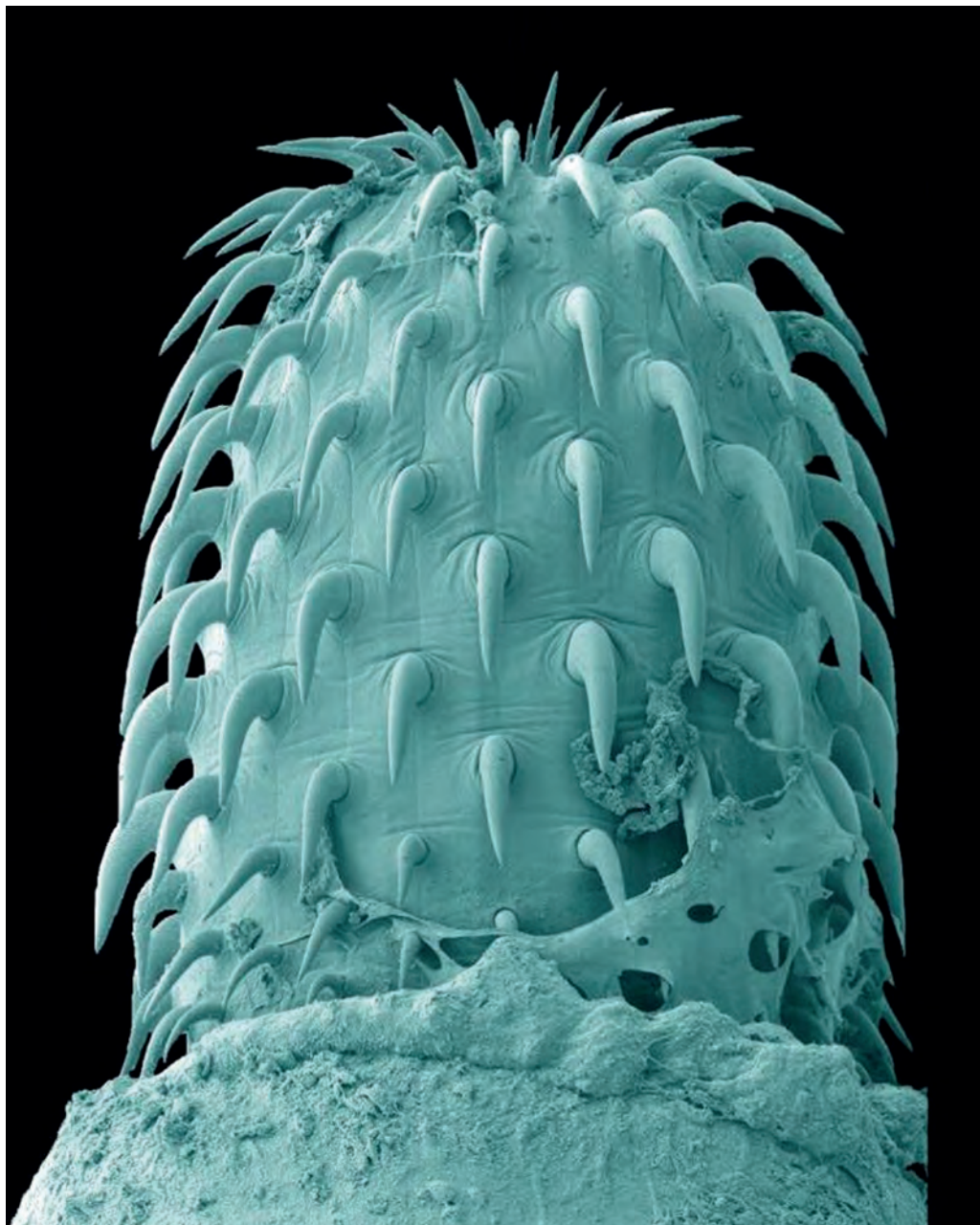
Vrtejši stručně zmíněni níže nemají větší význam z hlediska zdravotního stavu ryb v akvakulturách nebo volných vodách střední Evropy. Jejich výskyt je spíše ojedinělý a zřídka působí rybám vážnější zdravotní problémy, nicméně pro lepší orientaci je zde uvádíme.

Vrtejši rodu *Acanthocephalus*

Jedná se o střevní parazity velikosti 5–20 mm, kdy samice bývají poněkud větší než samci. Mezihostitelem, ve kterém se vyvíjí infekční cystakant, je beruška vodní (*Asellus aquaticus*). Druh *A. anguillae* parazituje u celé řady druhů ryb z čeledí Cyprinidae, Salmonidae a Anguillidae ze všech typů vod. Parazit je svým chobotkem zanořen hluboko do sliznice střeva, čímž vytváří fibrózní kapsuly viditelné již z vnější strany střeva. Druh *A. lucii* se často vyskytuje společně s předchozím, ale jeho fixace ke střevní sliznici není tak hluboká. Parazituje u širokého spektra druhů ryb, ale nejběžnějším hostitelem je okoun říční (5). Onemocnění způsobená těmito druhy se nazývají **akantocefalózy** (obr. 3.11.6.3).

Vrtejši rodu *Echinorhynchus*

Tito vrtejši jsou rozsáhlou a celosvětově rozšířenou skupinou parazitů sladkovodních i mořských ryb. Do současnosti bylo popsáno 52 druhů. Ve střední a severní Evropě se u lososovitých druhů ryb vyskytuje druh *E. truttae*. Samci dosahují velikosti 5–12 mm, samice jsou až o polovinu větší. Mezihostiteli jsou blešivci (Amphipoda: Gammaridae).



Obr. 3.11.6.3.1. Detail chobotku vrtejše *Acanthocephalus lucii*, skenovací elektronový mikroskop (SEM); kolorováno. (Foto: R. Kuchta)

LITERATURA

1. Amin, O., 2013. Classification of the Acanthocephala. *Folia Parasitologica* 60: 273–305.
2. Williams, H., Jones, A., 1994. *Parasitic Worms of Fish*. Taylor & Francis Ltd., London, UK, 593 p.
3. Moravec, F., 2001. Checklist of the Metazoan Parasites of Fishes of the Czech Republic and the Slovak Republic (1873–2000). Academia, Praha, 168 p.
4. Thilakaratne, I.D.S.I.P., McLaughlin, J.D., Marcogliese, D.J., 2007. Effects of pollution and parasites on biomarkers of fish health in spottail shiners *Notropis hudsonius* (Clinton). *Journal of Fish Biology* 71: 519–538.
5. Nickol B.B. 2006. Phylum Acanthocephala. In: Woo P.T.K. (Ed.). *Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections* (2nd edn). Wallingford: CABI Publishing. pp. 444–465.
6. Perrot-Minnot, M.-J., Špakulová, M., Wattier, R., Kotlík, P., Düßen, S., Aydoğdu A., Tougard, C., 2018. Contrasting phylogeography of two Western Palaearctic fish parasites despite similar life cycles. *Journal of Biogeography* 45: 101–115.
7. Moravec, F., Scholz, T., 1991. Observations on the biology of *Pomphorhynchus laevis* (Zoega in Müller, 1776) (Acanthocephala) in the Rokytná River, Czech and Slovak Federative Republic. *Helminthologia* 28: 23–29.
8. Zusková, E., Piačková, V., Máchová, J., Chupani, L., Steinbach, C., Stará, A., Velišek, J., 2018. Efficacy and toxicity of praziquantel in helminth-infected barbel (*Barbus barbus* L.). *Journal of Fish Diseases* 41: 643–649.

3.11.7. HIRUDINEA

Eliška Zusková, Tomáš Scholz

Úvod. Pijavky jsou hematofágové (sají krev) a vyskytují se na různých zástupcích obratlovců. Jako součást skupiny kroužkovci (Clitellata) v rámci supertaxonu Lophotrochozoa jsou příbuznější motolicím, tasemnicím, monogeneím i vrtejšům než parazitickým hlísticím (Nematoda; součást superskupiny Ecdysozoa). Pijavky mají protáhlé, cylindrické tělo různé barvy (nejčastěji zelenavé, šedavé nebo hnědé) s přichycovacími orgány (často různými žlázkami, které napomáhají přichycení i sání krve) na předním konci, kde je i ústní otvor, a svalnatou přísavkou na zadním konci. Na hostiteli se pohybují pídalkovitým pohybem, ale mohou také volně plavat ve vodě.

Na rybách cizopasí jen malý počet druhů a z nich lze v našich podmínkách označit za možné, ale ne příliš významné, zástupce druhy rodů *Piscicola* a *Hemiclepsis*. Význam pijavek jako hematofágů ryb a přenašečů krevních bičíkovců však v posledních desetiletích výrazně poklesl. V současné době jsou pijavky vzácné, což souvisí v první řadě s výrazným zhoršením kvality vody v chovných rybnících, které jsou hnojeny a ryby v nich přikrmovány.

Původce. Původcem piscikolózy je pijavka *Piscicola geometra* (další druh tohoto rodu, *P. terebrans*, dříve řazený do rodu *Cystobranchus*, je mnohem vzácnější), která dosahuje délky těla až 3,5 cm a maximální šířky 3 mm. Dospělci *P. geometra* uvolňují na konci zimy do vody kokony a bezprostředně po naklazení vajec hynou. V průběhu jara a léta se vyvíjejí 3–4 nové generace pijavek, které jsou zhruba do září schopny reprodukce. Poslední generace oplozených dospělců přežívá zimu, aby na jejím konci mohla opět uvolnit do vody kokony s vajíčky (3). Mnohem vzácnější druh *Hemiclepsis marginata* byl zjištěn na povrchu těla a ploutvích 8 druhů kaprovitých i dalších ryb bývalého Československa (1). Spíše než na rybách bychom ji však našli na přibřežní vegetaci, kde tráví krev z hostitelských ryb (3).

Vnímavé druhy. *Piscicola geometra* byla jen v České republice a na Slovensku zjištěna na povrchu těla, ploutví, v ústech a žaberní dutině u 33 druhů zejména kaprovitých ryb (obr. 3.11.7.1). Může se však vyskytovat i u úhoře říčního (*Anguilla anguilla*), sumce velkého (*Silurus glanis*), okouna říčního (*Perca fluviatilis*), candáta obecného (*Sander lucioperca*), pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) a dalších nekaprovitých ryb (1). Hlavními hostiteli jsou u nás kapr obecný (*Cyprinus carpio*), lín obecný (*Tinca tinca*) a další ryby chované v rybnících. Díky širokému spektru hostitelů mohou plevelné ryby sloužit jako zdroj nákazy pro chovné druhy.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Vývojový cyklus pijavek je přímý. Pijavky jsou hermafroditi, tj. každý jedinec má samčí i samičí pohlavní orgány. Oplozená vajíčka jsou shromažďována v opasku (clitellum) a poté jsou uvolněna do vody v kokonu, který se přichytává na vodních rostlinách a předmětech ve vodě. Mladé pijavky uvolněné z vajíček plavou ve vodě a aktivně napadají další rybí hostitele.

Podmiňující faktory. Pijavka *P. geometra* upřednostňuje chladnější a dostatečně okysličené vody s množstvím ryb a zelených rostlin (3). Rozvoj infekce podporuje i vyšší nahloučení ryb a přítomnost vhodného substrátu pro kladení vajíček.

Průběh a vývoj onemocnění. Napadení pijavkami většinou nemá vážný průběh a závisí na velikosti ryby a počtu parazitů; v řadě případů je závažnějším důsledkem nákazy pijavkami **přenos krevních bičíkovců** rodů *Trypanosoma* a *Trypanoplasma*, pro které slouží pijavky jako mezihostitel/vektor umožňující přenos bičíkovců mezi rybami. Úloha pijavek v přenosu

bakterií a virů způsobujících onemocnění ryb není dosud vyjasněná, ale patrně není významná a jedná se nejspíše pouze o mechanický přenos (3).



Obr. 3.11.7.1. Pijavka *Piscicola geometra* na prsní ploutvi kapra. (Foto: V. Piačková)

Klinické příznaky. Při silné nákaze ryby hubnou, jsou chudokrevné a v místě přisání pijavek dochází k lokálnímu krvácení. Komorované ryby mohou v zimním období opouštět lože, pohybují se pod ledem, objevují se v prohlubních, lapají po vzduchu a hynou. Přimrzají také zespodu k ledu.

Patologické změny. Napadení pijavkami se projevuje jen lokálně, a to v místě jejich přichycení. Pijavky uvolňují do rány látky (hirudinin) zamezující sražení krve hostitele. V těchto místech může dojít k porušení tělního pokryvu a lokálnímu krvácení. Závažnou komplikací může být následná infekce bakteriemi a plísněmi.

Diagnóza. Přítomnost pijavek na těle ryb je snadno zjištělná, protože jsou výrazně zbarvené a na těle ryby se aktivně pohybují smršťováním a natahováním nebo pídalkovitým pohybem. Vzhledem k možné lokalizaci pijavek i v žaberní dutině je nutná její pečlivá prohlídka.

Terapie. Léčení silně napadených ryb je možné provádět pomocí koupelí. Pro potravinové druhy ryb lze využít 2,5% roztok NaCl po dobu 1 h, nebo ponořovací koupel ve vápenném mléce v koncentraci 2 g.l⁻¹ CaO po dobu 5–10 s. Pijavky se sice pustí svého hostitele, ale přežívají, takže je třeba dát pozor, aby živé pijavky v lázni nebyly opět přeneseny do chovného prostředí. Mechanické odstranění pijavek je obtížně proveditelné a může mít význam jen

u generačních ryb. Pijavky se odstraňují pinzetou s následnou dezinfekcí místa přichycení 0,1% roztokem KMnO_4 .

Prevence. Zabránění nákazy ryb pijavkami je obtížné, protože mají přímý cyklus a ryby jsou napadány volně žijícími juvenilními jedinci uvolněnými z kokonů s vajíčky nakladenými do vody. Možným způsobem prevence, který je však obtížně proveditelný v provozních podmínkách, je likvidace vodních rostlin v období možného přenosu nové generace pijavek na ryby (léto), neboť kokony pijavek s vajíčky jsou často přichyceny na vodní vegetaci (2). Při výskytu masivních infekcí v rybničním prostředí je důležité nechat dno rybníka dostatečně proschnout a následně vydezinfikovat, aby byly odstraněny i rezistentní kokony. K dezinfekci se využívá pálené vápno (CaO) v koncentraci 2,5 t/ha. Jak však bylo uvedeno v úvodu, v současné době je u nás výskyt pijavek vzácný, zejména v důsledku výrazného zhoršení kvality vody v chovných rybnících a jejich eutrofizace.

LITERATURA

1. Moravec, F., 2001. Checklist of the Metazoan Parasites of Fishes of the Czech Republic and the Slovak Republic (1873–2000). Academia, Praha, 168 p.
2. Bauer O.N., Musselius, V.A., Strelkov, Y.A., 1973. Diseases of Pond Fishes. Israel Programme for Scientific Translations, Jerusalem, 220 p.
3. Burreson, E.M., 2006. Phylum Annelida: Hirudinea as Vectors and Disease Agents. In: Woo P.T.K. (Ed.). Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Metazoan Infections (2nd edn). Wallingford: CABI Publishing, pp. 566–591.

3.11.8. ARTHROPODA

Miroslava Palíková, Milan Gelnar, Eva Řehulková

Příslušníci kmene Arthropoda představují nejpočetnější skupinu organismů na Zemi. Do tohoto kmene náleží řada živočišných tříd, z nichž některé zahrnují parazitické zástupce, např. Crustacea, Insecta, Arachnoidea, Tardigrada a Pentastomida včetně Pycnogonida, u nichž parazitují pouze jejich larvální stádia. Jako původci chorob ryb se uplatňují především cizopasní korýši (Crustacea) ze skupin Copepoda a Branchiura. Patogenně se uplatňují i parazitičtí roztoči (Acarina). U ryb bylo doposud popsáno cca 2000 druhů parazitických členovců, převážně parazitických korýšů. Všichni parazitičtí zástupci ze skupiny Arthropoda uplatňující se v našich podmínkách mají **přímý vývoj** bez střídání mezipřehostitelů. V průběhu vývoje prodělávají složitou metamorfózu a různá **vývojová stádia jsou součástí zooplanktonu**. Proto se uplatňují zejména v prostředí, kde je nízký predanční tlak na zooplankton. Cizopasí většinou na kůži a žábrách ryb. Živí se krví, epiteliálními buňkami a slizem (1) a kromě přímého poškození se mohou uplatňovat i jako přenašeči virových a bakteriálních původců. Kromě toho primárně poškozený povrch může po uvolnění parazita sloužit jako vstupní brána pro sekundární infekce (2,3).

Parazitičtí korýši

Parazitičtí korýši (Crustacea) představují významnou skupinu cizopasníků našich užitkových ryb. V našich vodách bylo doposud zjištěno celkem 23 nominálních druhů těchto cizopasníků, přičemž pouze se šesti z nich se lze setkat na užitkových rybách odchovávaných v různých typech rybochovných zařízení (4).

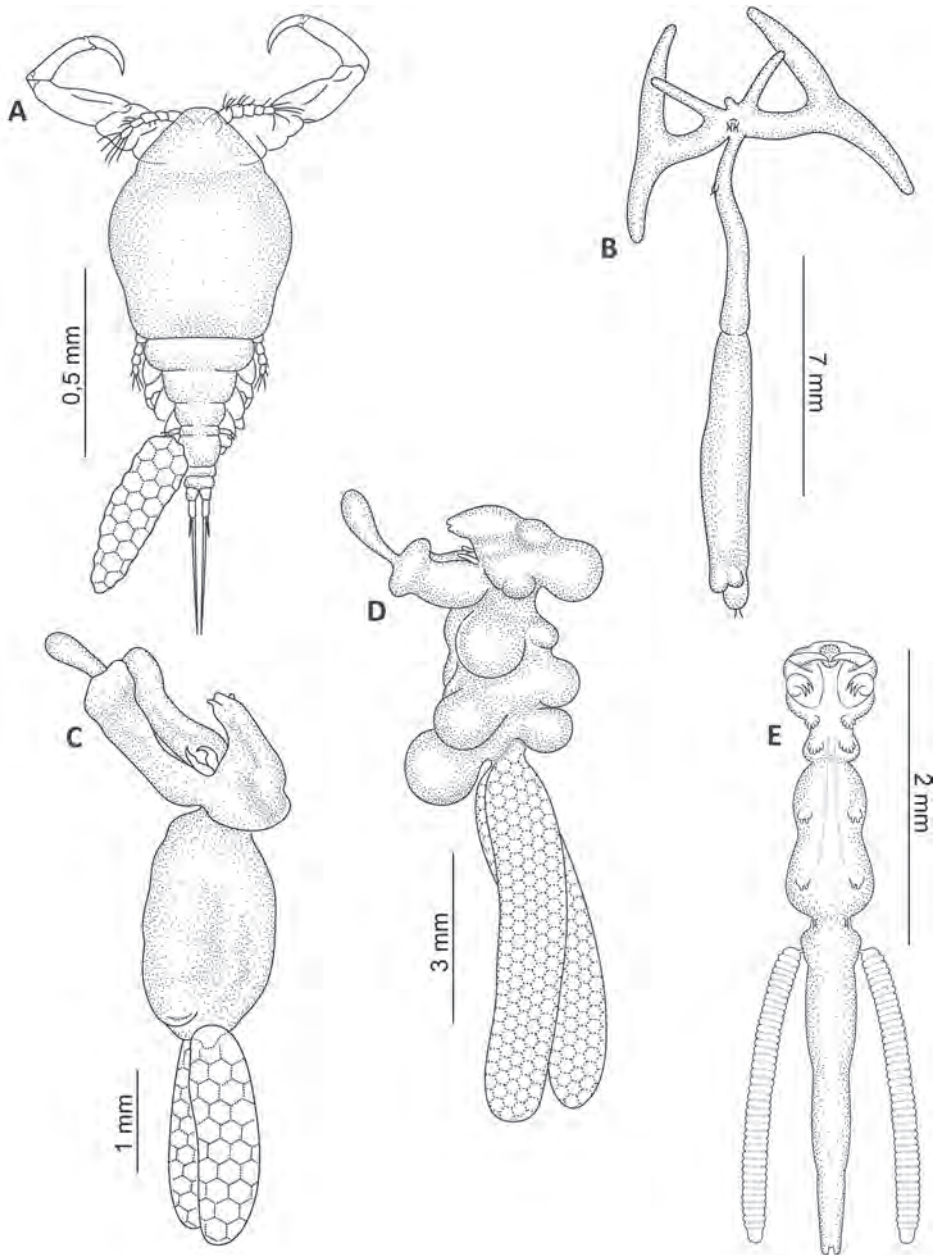
Obecně je tělo parazitických korýšů pokryté pevnou kutikulou a skládá se z různého počtu tělních článků rozdělených do tří základních částí: hlavy, hrudi a zadečku. Původně každý tělní článek korýšů nesl jeden pár rozeklaných končetin. Na hlavě, která u většiny druhů splývá s hrudí v takzvanou hlavohruď, jsou vyvinuty 2 páry tykadel a tři páry příústních končetin (jeden pár kusadel a dva páry čelistí). Hrudní články, kterých je u parazitických korýšů obvykle 6, nesou končetiny rozmanitého tvaru. Charakteristickým orgánem posledního článku zadečku je furka. Parazitičtí korýši jsou odděleného pohlaví a jejich vývoj je přímý. Vzhledem k odlišnostem ve vývoji a rozmnožování těchto cizopasníků vyskytujících se na našich užitkových rybách uvádíme základní údaje o jejich biologii a tudíž i o způsobech prevence a terapie vždy až u jednotlivých druhů.

Patogenita cizopasných korýšů spočívá především v mechanickém poškozování povrchových tkání hostitele, které bývá při silných invazích doprovázeno silným krvácením a nadměrným vylučováním slizu. Stejně jako v případě monogeneí představují rány způsobené těmito cizopasníky vstupní bránu druhotným infekcím, především plísňovým. Ne bez významu je také uplatnění těchto cizopasníků jako přenašečů mnoha závažných virových a bakteriálních chorob ryb a jako mezipřehostitelů některých drakunkuloidních hlístic – tkáňových cizopasníků ryb.

Příznaky onemocnění způsobených cizopasnými korýši nelze označit jako specifické, a proto, podobně jako v případě monogeneí, je pro stanovení správné diagnózy nezbytná především druhová determinace cizopasníků.

Jak jsme již uvedli, na našich užitkových rybách odchovávaných v rybochovných zařízeních parazituje pouze šest druhů cizopasných korýšů náležejících do čtyř rodů. Jejich rodové

zařazení je velice jednoduché a postačí k němu jen základní údaje o tvaru a stavbě těla těchto parazitů (obr. 3.11.8.1).



Obr. 3.11.8.1. Parazitičtí koryši (Crustacea): A – *Ergasilus sieboldi*; B – *Lernaea cyprinacea*; C – *Salmincola thymalli*; D – *Basanistes huchonis*; E – *Lamproglena pulchella*. (Kresba: E. Řehulková, upraveno podle Bauera [5])

Níže uvedený determinační klíč zahrnuje pouze vybrané rody parazitických korýšů vyskytujících se u našich užitkových ryb. Většina zástupců ostatních rodů těchto cizopasníků mezi významné patogeny nepatří.

1.
 - Tělo oválné, velmi zploštělé, na břišní straně vyvinuty dvě výrazné přísavky
..... *Argulus*
 - Tělo jiného tvaru, částečně nebo vůbec nesegmentované, přísavky nejsou vyvinuty
..... 2
2.
 - Tvar těla více méně hruškovitý, podobný tvaru těla volně žijících buchanek, hrud'
zřetelně segmentována, cizopasí na žábrách ryb *Ergasilus*
 - Tělo válcovitého nebo vakovitého tvaru, někdy nečleněné 3
3.
 - Tělo válcovitého tvaru, poměrně dlouhé, v přední části s nápadnými výrůstky
..... *Lernaea*
 - Tělo vakovitého tvaru, hrboлатé, mezi hlavohrudí a ostatním tělem zřetelný krček,
v přední části těla typické rukovité výběžky s kapkovitou bullou. Cizopasí na vnitřní
straně skřelí ryb *Basanistes*

3.11.8.1. ERGASILÓZA

Úvod. Jako ergasilóza je označována nemoc způsobená klanonohými korýši čeledi Ergasilidae. Česky se tyto parazité nazývají chlopce. Onemocnění se vyskytuje poměrně často zejména u ryb ve volných vodách a v některých rybnících. Korýši mají článkované tělo hruštičkovitého tvaru. Většinou parazitují na žábrách, na kterých se fixují pomocí přeměněných tykadel – antenul (2). Vzhledem k tomu, že samci záhy po kopulaci hynou, lze se na rybách setkat pouze se samičkami. Jejich tělo dosahuje délky až 1,5 mm. U pohlavně zralých samic lze pozorovat po stranách zadní části těla dva podlouhlé vaječné vaky, z nichž každý obsahuje až 100 vajíček. Chlopek obecný (*Ergasilus sieboldi*) je častým žaberním parazitem nejen většiny užitkových druhů našich ryb, ale celé řady dalších, žijících jak v rybochovných zařízeních, tak i v rozmanitých typech stojatých vod ve všech povodích.

Původce. Nejznámějším původcem ergasilózy u našich ryb je *Ergasilus sieboldi*. Dosahuje velikosti 1,7 mm. V příznivých podmínkách se mohou během jednoho vegetačního období vyvinout až tři generace. Samice parazitují na žábrách, pouze při velmi silných invazích byl parazit nalezen i na ploutvích (6). Řídce se u nás vyskytuje druh *Ergasilus briani* dosahující velikosti do 1 mm. Pravděpodobně s dovozem býložravých ryb k nám byly zavlečeny i další druhy jako *Sinergasilus major* dosahující velikosti až 3 mm a *Sinergasilus lieni* (velikost 1,7–2,8 mm).

Vývoj chlopka obecného je následující: embryonální vývoj probíhá přímo uvnitř vaječného vaku a jeho délka je asi 6 dnů. Pak následuje líhnutí prvního volně pohyblivého larválního (naupliového) stádia, které se přes další naupliová a pět tzv. kopepoditových stádií vyvíjí v dospělého, pohlavně zralého jedince. Vajíčka jsou uložena ve vaječných vacích. Samci, naupliová a kopepoditová stádia žijí volně ve vodě (5). Samci po kopulaci hynou, oplozené samice napadají žábry ryb a přecházejí na parazitický způsob života. Délka jejich života je až jeden rok. Živí se žaberním epitelem a krví hostitele, přičemž dochází k mechanickému

poškození žaberní tkáně, které je doprovázeno nadměrnou tvorbou slizu. Při silných invazích lze pozorovat i rozsáhlé nekrózy žaber a druhotné zaplísnění. Prokázán byl i přenos virové lymfocystózy těmito cizopasníky.

Vnímavé druhy. Chlopek obecný není druhově specifický, napadá většinu sladkovodních druhů ryb, ale vnímavost různých druhů se od sebe liší. Za nejvnímavější je považován lín obecný (*Tinca tinca*), dále štika obecná (*Esox lucius*), candát obecný (*Sander lucioperca*), ježdík obecný (*Gymnocephalus cernuus*), sumec velký (*Silurus glanis*), cejn velký (*Abramis brama*), síhové (*Coregonus* spp.), kapr obecný (*Cyprinus carpio*), plotice obecná (*Rutilus rutilus*)(7,8). *Ergasilus briani* se vyskytuje zejména u oukleje obecné (*Alburnus alburnus*) a u jelce jesena (*Leuciscus idus*). *Sinergasilus major* parazituje na žábrách amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*)(9) a *Sinergasilus lienii* na žábrách tolstolobika bílého (*Hypophthalmichthys molitrix*)(10).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem infekce je voda obsahující vajíčka a vývojová stádia parazitů nebo napadené ryby. Oplozené samice aktivně napadají hostitele.

Podmiňující faktory. Podmiňujícím faktorem je vyšší teplota vody. Formování vaječných vaků je v jarním období stimulováno zvyšující se teplotou vody. Na podzim při teplotě vody menší než 14 °C se již nelíhne další generace (11). V podzimních měsících však významnou roli hraje fotoperioda (12). Vývoj od vajíčka po volně žijícího dospělého trvá při teplotě 18–20 °C 22 dní (13). Dalším významným faktorem je vyšší hustota rybí obsádky a nízký predační tlak na zooplankton (14).

Průběh a vývoj onemocnění. Onemocnění probíhá zpravidla chronicky. Parazité hostitele poškozují vlastním přichycením a příjmem potravy. Přichytné ústrojí – anteny těsně obepínají žaberní lístky. Mohou tak způsobovat jejich deformace a zamezit průtoku krve. Mechanické dráždění při příjmu potravy parazitem stimuluje hyperplazii žaberního epitelu. Dochází k dystroficko-nekrotickým pochodům a často i ke splynutí sekundárních lamel, což vyústí v redukci žaberního povrchu a k poruše jeho respirační funkce (8). Vývoj onemocnění je závislý na intenzitě infekce. Těžké infekce mohou končit smrtí hostitele. Subletální infekce zpomalují růst a zhoršují kondiční stav hostitele (15). Průběh onemocnění mohou zhoršovat sekundární infekce, např. *Saprolegnia* sp. (11).

Klinické příznaky. Při silných intenzitách infekce se objevují příznaky dušení – vyhledávání kyslíkatějších partií vody, nouzové dýchání. Příznaky se častěji objevují při vyšších teplotách vody a při kyslíkových deficitech. Rovněž může být patrné zaostávání v růstu a zhoršení kondice ryb.

Patologické změny. Patologické změny se nacházejí na žábrách. Kromě přítomnosti původce můžeme detekovat přítomnost hemoragií. Histologickým vyšetřením zjišťujeme hyperplazii žaberního epitelu, atrofii žaberních lístků, zmnožení hlenových buněk a zánětlivou infiltraci (7,16).

Diagnóza. Diagnóza je založena na posouzení klinických a patologických změn a na identifikaci původce. Původce lze vidět i makroskopicky nebo pomocí lupy. Nápadné jsou zejména vaječné vaky ve formě dvou vedle sebe ležících bílých proužků (obr. 3.11.8.1.1).

Terapie. Terapie se vzhledem k výskytu původců zejména ve volných vodách prakticky neprovádí.

Prevence. Preventivní opatření jsou zaměřena na zabránění proniknutí původců do rybochovných zařízení, na odstraňování napadených ryb a na karanténu importovaných ryb. Snížení infekčního tlaku pomůže i redukce či náhrada nejméně vnímavých rybích druhů za méně vnímavé nebo zvýšení predačního tlaku na zooplankton. Určitou prevencí představuje i redukce

otevřených slunných partií vodních ploch, které původcům vyhovují, podporou rozvoje vodní vegetace. Vajíčka a vývojová stádia korýšů lze likvidovat vypuštěním rybníků, vysušením dna a případně jeho dezinfekcí pálením nebo chlorovým vápnem (15,2).



Obr. 3.11.8.1.1. Masivní intenzita napadení jelce tlouště chlopkem obecným (*E. sieboldi*) (A, B); detail původce (C). (Foto: A – M. Palíková, B – V. Piačková, C – E. Zusková)

3.11.8.2. LERNEÓZA

Úvod. Jako lerneóza je označována nemoc způsobená klanonohými korýši rodu *Lernaea* (Copepoda: Lernaeidae). Na rozdíl od chlopka obecného lze u tohoto cizopasníka zastihnout na rybách vedle dospělých samiček také některá vývojová stádia. Vyznačují se vysokou adaptací k parazitickému způsobu života. Tělo dospělých samiček je válcovité, téměř nečleněné o délce kolem 16 mm (bez vaječných vaků). Každý ze dvou vaječných vaků zavěšených opět na zadní části těla obsahuje až 700 vajíček. Dospělé samice červoka kapřího jsou kožními cizopasníky kaprů.

Zástupci rodu *Lernaea* se vyskytují na celém světě a je jim věnována značná pozornost díky jejich ekonomickému významu. Ekonomický význam není dán jenom ztrátami přímým úhynem ryb, ale i vzhledovým znehodnocením napadených ryb (8). Velké ekonomické ztráty toto onemocnění způsobuje zejména v teplých oblastech Severní i Jižní Ameriky (17,18), v Austrálii (19), a velké problémy způsobuje i v Africe (20). V našich podmínkách se onemocnění vyskytuje zejména u ryb ve volných vodách a v některých rybnících.

Původce. Jediným kosmopolitně rozšířeným druhem je *Lernaea cyprinacea* (červokapří). Dosahuje velikosti 12–16 mm, vaječné vaky až 6 mm. Vývoj od vajíčka po dospělé trvá při teplotě 27 °C 8–9 dní. Oplozené samice žijí při teplotě 28–30 °C asi 30 dnů a během této doby opakovaně vytvářejí vaječné vaky s vajíčky v 3–5 denních intervalech (22). *Lernaea esocina* je o trochu menší než předchozí druh.

Vývoj červoka kapřího je přímý a zahrnuje 3 naupliová, 5 kopepoditových a jedno adultní stádium. Podobně jako v případě chlopků přecházejí larvální stádia k parazitickému způsobu života a aktivně se přichycují ke kůži a žábřám nejenom kaprů, ale nejrůznějších druhů ryb. Kopepoditová stádia se usazují většinou na žábřách ryb, kde dochází ke kopulaci, poté samci hynou a samice přechází na parazitický způsob života. Oplozené samice po přichycení na kůži ryb prodělávají morfologickou metamorfózu: vytváří se výrazné hlavové výrůstky a zadní část těla ztrácí segmentaci. Hlavovým koncem jsou fixovány v podkoží a zbytek těla ční do okolního prostoru (21). Optimální teplota pro vývoj těchto cizopasníků je 23–30 °C. Z tohoto důvodu vzniká nová generace lerneí až během letního období, nezralé samičky zimují na rybách a dospívají až na jaře následujícího roku. Jarním oteplením vody jsou přezimující samičky aktivovány k produkci nových vajíček, čímž dochází k uzavření vývojového cyklu cizopasníka. Po napadení povrchu těla ryby se parazit pomocí tvrdých hlavových výrůstků zavrtává do kůže, především kapřího plůdku (do velikosti 3–4 cm). Invaze 2–3 korýšů vyvolá jeho úhyn. Za smrtelnou dávku pro jeden rok staré ryby se považuje intenzita invaze kolem 15 cizopasníků. Násada je těmito parazity ohrožena podstatně méně. Česky se tyto parazité nazývají červoci.

Vnímavé druhy. *Lernaea cyprinacea* není druhově specifická, napadá většinu sladkovodních, zejména kaprovitých druhů ryb, ale byla nalezena i na dalších rybích druzích včetně akvarijních (23,24). *Lernaea esocina* cizopasí u štiky obecné, ale i u jiných druhů ryb.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem infekce je voda obsahující vajíčka a vývojová stádia parazitů nebo napadené ryby. Oplozené samice aktivně napadají hostitele.

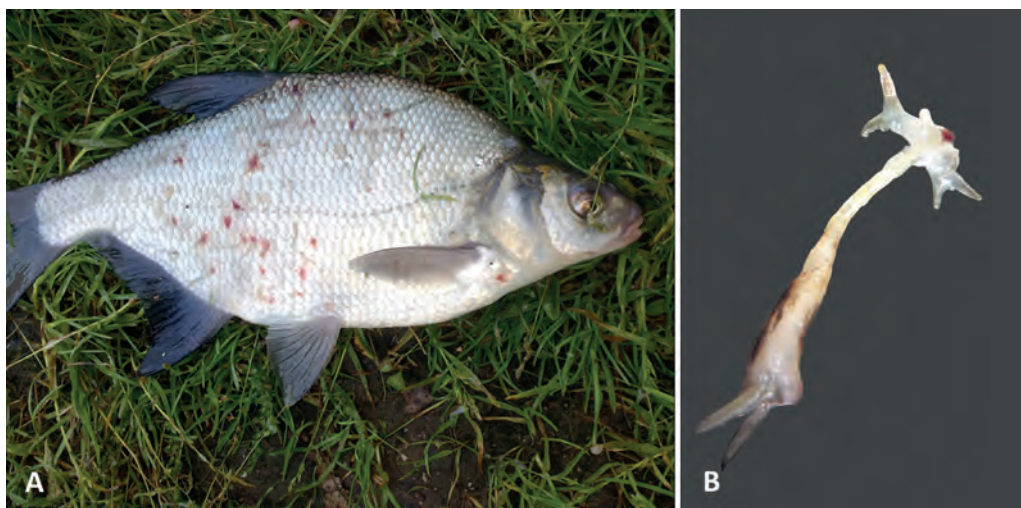
Podmiňující faktory. Podmiňujícím faktorem je vyšší teplota vody. Optimální teplota pro vývoj *Lernaea cyprinacea* je 26–28 °C (25). Nižší teploty vývoj rychle zpomalují.

Průběh a vývoj onemocnění. Kopepoditová stádia na žábřách ryb poškozují žaberní epitel, stimulují jeho hyperplazii a zpomalují krevní cirkulaci. Velké množství larev může způsobit úhyn ryb zejména mladých věkových kategorií (25). Onemocnění způsobené dospělými samicemi

probíhá chronicky. Parazitě hostitele poškozují vlastním přichycením, příjmem potravy a sekrecí histolytických a trávicích enzymů (27). Živí se tkáňovým detritem a erytrocyty (26). V místě penetrace parazita do podkoží vznikají hemoragie, edém, zánětlivá reakce a nekrózy, později dochází k opouzdření parazita vazivovou tkání hostitele. Okolo vnořené hlavové části se vytváří zánětlivý val. U malých ryb do 4–6 cm může hlavový konec parazita penetrovat do dutiny tělní a poškodit játra nebo další vnitřní orgány, jindy může dojít k poškození mozku a míchy. Rovněž ztráta krve způsobená pronikáním parazita může způsobit úhyn mladých věkových kategorií ryb (28). Při silném napadení se mohou objevovat hromadné úhyny zejména plůdku. Pro kapří plůdek mohou být nebezpeční již 2–3 jedinci. Průběh onemocnění mohou zhoršovat sekundární bakteriální a plísňové infekce (26).

Klinické příznaky. Při výskytu kopepoditových stádií na žábrách se objevují příznaky dušení – vyhledávání kyslíkatějších partií vody, nouzové dýchání. Při masivním napadení adultními samicemi může být patrná apatie ryb, zaostávání v růstu a zhoršení kondice ryb.

Patologické změny. Patologické změny na žábrách jsou charakteristické hyperplazií žaberního epitelu a nekrotickými změnami. Na kůži nalézáme zarudlé skvrny nebo zduřelá místa o průměru až 0,5 cm za nebo bez přítomnosti parazita (obr. 3.11.8.2.1). Histologickým vyšetřením zjišťujeme zánětlivá ložiska infiltrovaná leukocyty a někdy přítomnost obrovských buněk (29), nekrózu svaloviny, později přítomnost vazivového pouzdra okolo fixovaného parazita.



Obr. 3.11.8.2.1. Cejn velký s přítomností červoka kapřího (*L. cyprinacea*), v místě fixace kruhovitě eroze (A); detail původce (B). (Foto: A – P. Vrána, B – M. Palíková)

Diagnóza. Diagnóza je založena na posouzení klinických a patologických změn a na identifikaci původce. Adultní samice lze vidět makroskopicky, přítomnost kopepoditových stádií na žábrách potvrdíme mikroskopickým vyšetřením.

Terapie. Terapie se ve volných vodách neprovádí. Použití organofosfátů a dalších chemických látek nezabírá na všechna vývojová stádia a výsledky jsou nejednoznačné. Většinou je potřeba přípravky aplikovat po dobu několika týdnů a v různé kombinaci, aby byla zlikvidována všechna vývojová stádia i dospělci (3). Navíc, použití chemických látek na bázi organofosfátů

je u potravinových ryb zakázáno. Při napadení malého množství cenných ryb lze původce odstranit ručně nebo zlikvidovat odstřížením kaudální části těla cizopasníků. Povrch ryb je možné poté ošetřit dezinfekčními prostředky a ryby přesadit do čisté vody.

Prevence. Preventivní opatření jsou zaměřena na zabránění proniknutí původců do rybochovných zařízení, na odstraňování napadených ryb a na karanténu importovaných ryb. V prevenci je možné použít i biologické metody tlumení. Je např. známo, že korýši *Mesocyclops* loví volně plovoucí larvy *Lernaea* (30). Vajíčka a vývojová stádia korýšů lze likvidovat vypuštěním rybníků, vysušením dna a případně jeho dezinfekcí páleným nebo chlorovým vápnem (2). Vývojová stádia hynou, pokud do 7 dnů při teplotě vody 25–29 °C nenajdou rybiho hostitele (22).

3.12.7.3. ARGULÓZA

Úvod. Jako argulóza je označována nemoc způsobená klanonohými korýši rodu *Argulus* (Crustacea: Branchiura). Česky se tyto parazité nazývají kapřivci (2,3). Většina zástupců je sladkovodních. Onemocnění se vyskytuje celosvětově. V našich podmínkách je to nejčastěji se vyskytující arthropodóza. Vyskytuje se zejména u ryb ve volných vodách a v rybnících, ale můžeme se s ní setkat i v intenzivní akvakultuře a u akvariálních ryb.

Původce. Nejznámějším původcem argulózy u našich ryb je *Argulus foliaceus* (kapřivec plochý). Tělo těchto korýšů je oválné, obvykle o velikosti 6–7 mm, kryté plochým dorsálním štítem, ocasní ploutvička je vzadu zaoblená. Dorsální štít nepřesahuje základní část ocasní ploutvičky. Parazitují na kůži, na kterou se přichycují pomocí dvou kruhovitých přísavkových maxil a hákovitých tykadel – antén. Nejsou fixováni na jednom místě, ale pohybují se po celém povrchu těla ryby. Živí se krví a tkáňovým mokem. Kůži probodávají ostrým chobotkem – stiletem. Po přichycení na rybě kapřivec plochý probodává chobotkem její kůži a saje krev. V místě vpichu dochází ke krvácení a obvykle je invaze doprovázena zvýšenou produkcí slizu, nezřídka i nekrózami. Kapřivec plochý preferuje eutrofní vody nad oligotrofními (31). Larvy se líhnou za 30 dnů při teplotě vody 20 °C. Celý vývoj při této teplotě trvá 55 dní, teplejší voda vývoj urychluje (32). Tento korýš je dočasným cizopasníkem, může svého hostitele opustit a po určitou dobu se volně pohybovat mimo něj. Parazituje na ploutvích a povrchu těla ryb. Samička kapřivce plochého klade vajíčka na různé předměty nacházející se pod vodou – rostliny, kameny apod. V každé snůšce je obvykle kolem 250 až 300 vajíček, jejich embryonální vývoj trvá od 15 do 55 dní. Plůdek kapra o váze 1–2 g hyne při napadení jedním až dvěma kapřivci, jednoletý plůdek při napadení 20 a více kapřivci. Letální pro násadu je napadení cca 120 kapřivci (2,3).

Dalším velmi rozšířeným druhem je *Argulus japonicus* (kapřivec rybníční). Dosahuje velikosti 8 mm. Vyskytuje se na podobných místech jako kapřivec plochý, ale preferuje teplejší vody (33). Naopak chladnější vodu preferuje *Argulus coregoni* (kapřivec velký), dosahující velikosti 12–14 mm. Vyskytuje se zejména v tekoucích vodách nebo chladnějších jezerech (34).

Vývoj kapřivců je přímý, bez naupliových stádií. Délka celého vývoje závisí na teplotě vody, při 10–20 °C činí 70–100 dní, při 20–28 °C jen 50 až 65 dní. Na podzim, když teplota vody klesá pod 8 °C, se vývoj kapřivců zastavuje. Korýši se pokrývají slizem a zimují na rybách. Na jaře se pak aktivizují oteplením vodního prostředí, dokončují metamorfózu, dozrávají a začínají se rozmnožovat. Dospělci mohou přežít několik dní mimo rybu. Samice kladou vajíčka jednotlivě na různé předměty ve vodě v početných koloniích a opětovně napadají hostitele. Z vajíček se líhnou larvy prvního stádia (metanauplia), které volně plavou ve vodě a pokud do 2–3 dnů nenajdou hostitele, hynou. Po přichycení k hostiteli prodělávají řadu svlékání. Parazitují všechna vývojová stádia i dospělci obou pohlaví. Ke kopulaci většinou dochází na hostitelově povrchu. Zimu přežívají vajíčka nebo juvenilní a dospělí jedinci přichycení na povrchu ryb.

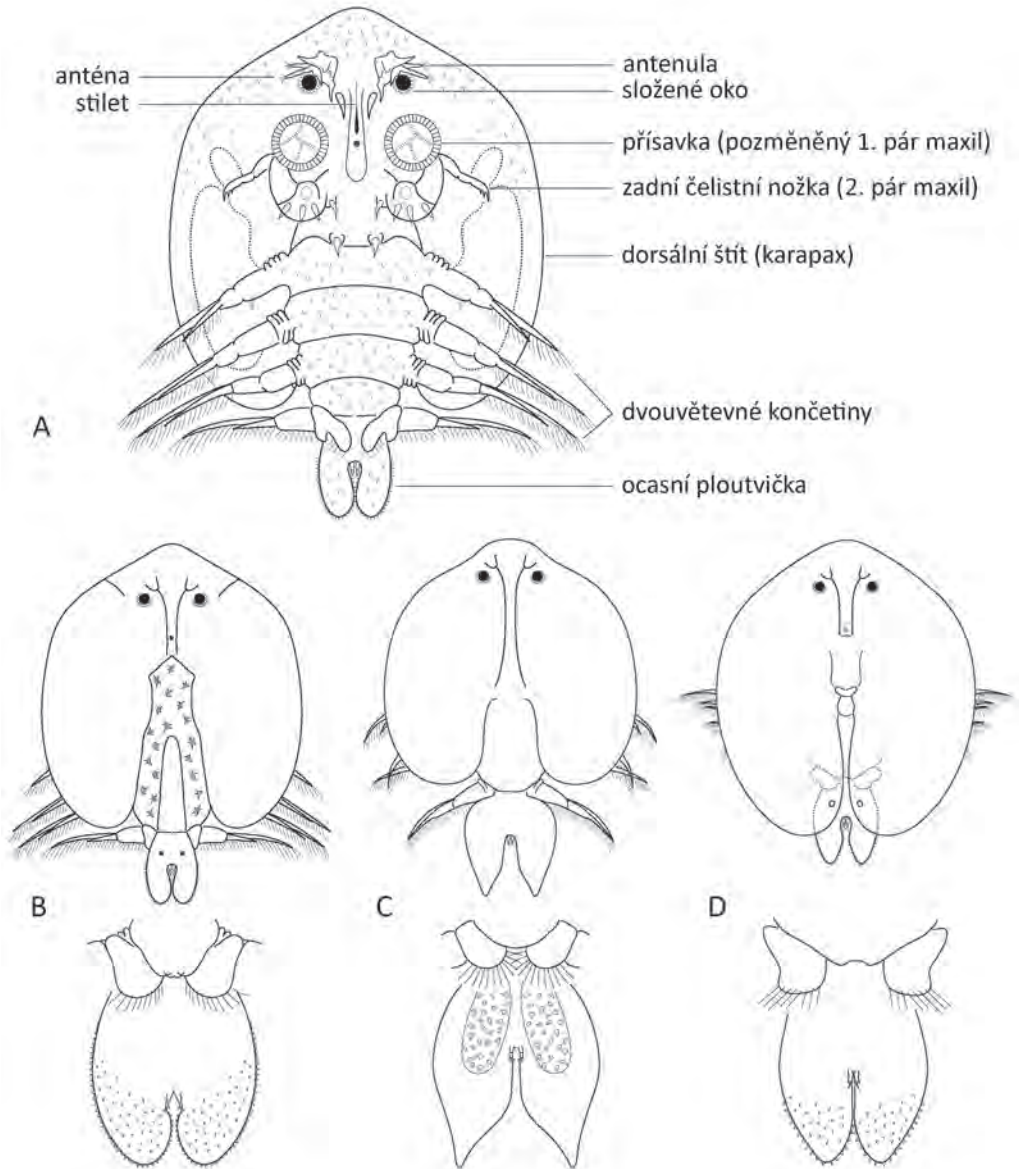
Druhovou příslušnost rodu *Argulus* určujeme na základě stanovení délky zadní části dorsálního štítu a ocasní ploutvičky (obr. 3.11.8.3.1).

1.

- Dorsální štít přesahuje kořen ocasní ploutvičky *A. japonicus*
- Dorsální štít nepřesahuje kořen ocasní ploutvičky 2

2.

- Oba koncové laloky ocasní ploutvičky jsou zaoblené *A. foliaceus*
- Oba koncové laloky ocasní ploutvičky jsou zahrocené *A. coregoni*



Obr. 3.11.8.3.1. Tělní stavba (ventrální pohled) zástupce rodu *Argulus* (kapřivec)(A); celkový tvar těla (dorsální pohled) a detail ocasní ploutvičky u kapřivce plochého (*A. foliaceus*)(B), kapřivce velkého (*A. coregoni*)(C) a kapřivce rybníčního (*A. japonicus*) (D). (Kresba: E. Řehulková, upraveno podle Bauera [5])

Vnímavé druhy. Kapřivec plochý není druhově specifický, napadá většinu sladkovodních druhů ryb (35). Kapřivec rybniční se vyskytuje zejména u karasa stříbřitého (*Carassius gibelio*), ale i u dalších kaprovitých i jiných druhů ryb. Kapřivec velký parazituje primárně u lososovitých ryb, ale může napadat i kaprovité a jiné druhy ryb.

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem infekce je voda obsahující vajíčka a vývojová stádia parazitů nebo napadené ryby. Larvy i dospělci aktivně napadají hostitele.

Podmiňující faktory. Podmiňujícím faktorem je teplota vody vhodná pro daný druh parazita. Vrchol abundance těchto parazitů je v letním období a na podzim. Optimální teplota pro vývoj kapřivce plochého je 25–28 °C. Samice začínají klást na jaře, když teplota vody vystoupí na 10–14 °C a vývoj se zastavuje na podzim při poklesu teplot na 8–10 °C. Zatímco u kapřivce plochého a kapřivce rybničního vzniknou tři generace za rok, u kapřivce velkého pouze dvě (2,36).

Průběh a vývoj onemocnění. Onemocnění probíhá chronicky. Parazité hostitele poškozují přichycením a příjmem potravy. Na místě přichycení je patrné zarudnutí a otok v důsledku zánětlivé reakce. Ve středu léze je kůže tenká bez hlenu, okolo dochází k hyperplazii epidermis a ke zmnožení hlenu (33). Výraznou reakci hostitele mohou vyvolat i sekrety příústních (bukálních) žláz parazitů. Vývoj onemocnění je závislý na intenzitě infekce. Pro plůdek je závažné již napadení několika kusy, velké ryby mohou být hostiteli stovek až tisíců jedinců (2). Těžké infekce mohou končit smrtí hostitele, která souvisí se ztrátou kožní integrity a s poruchou homeostáze (3). Kožní léze jsou vstupní branou pro sekundární bakteriální a plísňové infekce. Bylo rovněž prokázáno, že původci mohou sloužit jako vektor bakteriálních a virových onemocnění (např. viru puchýřnatosti nebo viru jarní virémie)(36,37).

Klinické příznaky. Při silných intenzitách infekce se ryby otírají o předměty v nádržích ve snaze zbavit se parazitů. Objevují se poruchy plavání, oddělování od hejna, nechutenství, malátnost a ztráta kondice ryb (38).

Patologické změny. Na povrchu těla se objevují zarudlé skvrny zejména v okolí ploutví a na spodní straně těla. Později se v místě přichycení parazita vytváří kráterovité prohlubně s hlenovitým valem. Při silném napadení dochází k zašednutí povrchu ryb a ploutve mohou být roztřepené (33). Nemoc může být doprovázena anémií (39). Po vyhojených lézích nalézáme pigmentované jizvy.

Diagnóza. Diagnóza je založena na posouzení klinických a patologických změn a na identifikaci původce. Původce lze vidět makroskopicky nebo pomocí lupy (obr. 3.11.8.3.2). Původci však po vylovení rybu rychle opouštějí.

Terapie. Použití chemických látek na bázi organofosfátů je u potravinových ryb zakázáno. K tlumení argulózy se doporučuje ponořovací koupel v lyzolu nebo krátkodobá koupel v NaCl. Jako další možnost je uváděna i krátkodobá koupel v KMnO_4 , ve formaldehydu nebo dlouhodobá koupel v trypaflavinu.

Prevence. Preventivní opatření jsou zaměřena na zabránění proniknutí původců do rybochovných zařízení, na odstraňování napadených ryb a na karanténu importovaných ryb. Na snížení predančního tlaku je doporučeno vkládat na dno nádrže dřevěný nebo umělý substrát, který bude vhodný pro naklazení vajíček a v pravidelných 1–2 týdenních intervalech ho vyjímát a likvidovat vajíčka vysušením (30,40). Vajíčka a vývojová stádia lze v rybnících likvidovat jejich vypuštěním, vysušením dna a případně jeho dezinfekcí pálením nebo chlorovým vápnem (2,15).



Obr. 3.11.8.3.2. Kapřivec plochý (*Argulus foliaceus*). (Foto: M. Palíková)

3.11.8.4. DALŠÍ VÝZNAMNÉ ARTHROPODÓZY

Závažným problémem v evropských intenzivních chovech lososa atlantského (*Salmo salar*) jsou klanonoží korýši ***Lepeophtheirus salmonis*** (obr. 3.11.8.4.1) a ***Caligus elongatus*** (tzv. sea lice – mořské vši). Tito parazité způsobují značné ekonomické ztráty a v dotčených zemích je jim věnována značná pozornost včetně terapeutických zásahů. Původci parazitují na kůži zejména v okolí hlavy (3). Sporadicky se vyskytujícím zástupcem ve sladkých vodách je přichytka ***Caligus lacustris*** cizopasící na kůži a žábrách různých druhů sladkovodních ryb (41).

U volně žijících i odchovávaných hlavatek obecných (*Hucho hucho*) se můžeme setkat s ***Basanistes huchonis*** (sepnutka hlavatková) (obr. 3.11.8.1). Samice parazitují přichycené na vnitřní straně skřelí a v požerákové dutině. Vyvolávají lokální zánět a proliferaci přilehlé tkáně. Dosahují velikosti 5 mm, s rozvinutými vaječnými vaky až 12 mm. Jsou nacházeny zejména u juvenilních ryb (2,42). Podobně jako u červoka kapřího parazitují u tohoto druhu cizopasníka jak dospělé samičky, tak i larvální stádia. V zadní části těla jsou zavěšeny dva vaječné vaky, z nichž každý obsahuje 300–400 vajíček. Onemocnění vyvolané tímto cizopasníkem označujeme jako basanistózu (42).

Vývoj sepnutky je podobný vývoji červoka tou měrou, že pouze první kopepoditové stádium je volně žijící, zatímco ostatní stádia přecházejí k cizopasnému způsobu života. Dospělí samci jsou co do velikosti zakrnělí a obvykle žijí přichycení k pohlavnímu výrůstku nebo hlavohrudi mnohem větších samic. Podrobné údaje týkající se biologie a ekologických nároků na prostředí nejsou u tohoto cizopasníka dosud přesně známy. Zaznamenán byl případ masového namnožení sepnutek na hlavatkách oslabených předchozím působením vody znečištěné toxickými látkami.



Obr. 3.11.8.4.1. *Lepeophtheirus salmonis* na kůži lososa. (Foto: P. Vrána)

Sepnutka hlavatková je velmi vzácným cizopasníkem, jehož výskyt byl do nedávné doby omezen pouze na hostitelské ryby žijící ve volných vodách. Se zavedením chovu generačního materiálu hlavatky v rybochovných zařízeních může docházet k zavlečení parazita do tohoto prostředí, a jsou-li vytvořeny vhodné podmínky, dochází k masovému namnožení parazita a vzniku onemocnění.

Z parazitických korýšů cizopasících na lososovitých rybách nutno zmínit alespoň červoka druhu *Salmincola salmoneus* (obr. 3.11.8.1), která je v našich podmínkách velice vzácně se vyskytujícím ektoparazitem pstruha obecného. Podobně vzácně se vyskytujícím cizopasníkem řady druhů ryb je rovněž buchanka *Lamproglena pulchella* (obr. 3.11.8.1), která je uváděna ze všech našich povodí (4). Podobně jako ostatní druhy parazitických korýšů způsobuje v místě přichycení zánětlivou reakci. U cejnů velkých se můžeme setkat na kůži s červokem *Tracheliastes maculatus*. Parazit je přichycen na šupinách, které může i proděravět. V místě přichycení je patrné výrazné překrvení a lokální zánětlivá reakce (7). Jikry a ryby mechanicky poškozují roztoč pancířník *Hydrozetes lacustris* (obr. 3.11.8.4.2). Dosahuje velikosti 0,5 mm. Aktivně napadá kůži a žábry ryb, zejména plůdku, a způsobuje zvýšené úhyny. Napadá všechny druhy ryb včetně akvarijních, ale vyskytuje se sporadicky. Žábry a kůži ryb mohou poškozovat i jiné druhy roztočů, např. roztoči rodu *Histiosoma* (obr. 3.11.8.4.3).

Diagnóza. Diagnóza je založena na posouzení klinických a patologických změn a na identifikaci původců. Výše uvedení původci jsou většinou patrní již při makroskopickém ohledání ryb.

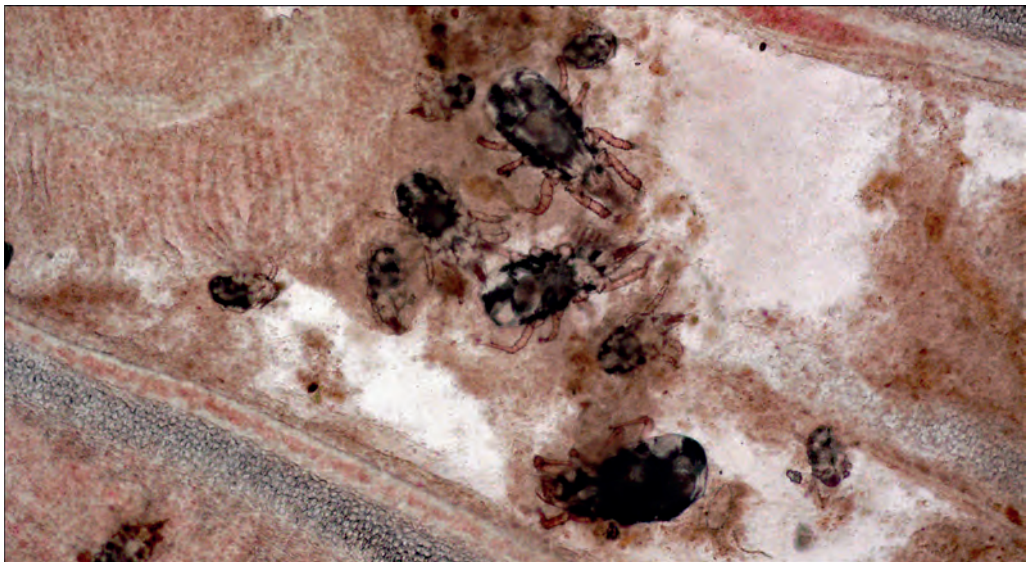
Terapie. V našich podmínkách se terapie ve volných vodách neprovádí. U generačních hlavatek je možné odstranit sepnutky hlavatkové manuálně a následně provést dezinfekci postižených míst roztokem KMnO_4 .

Jinak tomu je v chovech lososů ohrožovaných korýši čeledi Caligidae (mořské vši). Zde se používají chemoterapeutické přípravky (např. Escis sol. obsahující cypermethrin nebo Salmosan plv. obsahující azamethiphos). Přípravky jsou registrované v EU a lze je tudíž na výjimku použít i v našich chovech. Současný trend vzhledem ke zvyšující se rezistenci původců a ke škodlivosti přípravků je směřován na nechemické metody zahrnující vývoj efektivních

vakcín, selekci rezistentních linií ryb, zvyšování odolnosti ryb dietetickými doplňky, likvidaci původců specifickými bakteriemi, vývoj fotochemických pastí a použití ryb – čističů (3).



Obr. 3.11.8.4.2. *Hydrozetes lacustris* ze dna odchovné nádrže. (Foto: R. Kopp)



Obr. 3.11.8.4.3. Invaze roztoců *Histiosoma* sp. na žábrách koi kaprů z rybníčního chovu. (Foto: L. Štěch)

Prevence. Preventivní opatření jsou zaměřena na zabránění proniknutí původců do rybochovných zařízení, na odstraňování napadených ryb a na karanténu importovaných ryb. Vajíčka a vývojová stádia korýšů a roztoců lze v rybnících a nádržích likvidovat jejich vypuštěním, vysušením dna a případně jeho dezinfekcí páleným nebo chlorovým vápnem (2).

LITERATURA

1. Einszporn, T., 1965. Nutrition of *Ergasilus sieboldi* Nordmann. I. Histological structure of the alimentary canal. Acta Parasitologica Polonica 13: 71–80.
2. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. VFU, Brno, 155 s.
3. Lester, R.J.G., Hayward, C.J., 2006. Phylum Arthropoda. In: Woo, P.T.K. (Ed.). Fish Diseases and Disorders: Protozoan and Petazoan Infections. Vol. 1. CAB International, pp. 466–565.
4. Moravec, F., 2001. Checklist of the Metazoan Parasites of Fishes of the Czech Republic and the Slovak Republic, Academia, 168 p.
5. Bauer, O.N. (Ed.), 1987. Crustacea. In: Key for Freshwater Fish Parasites of the USSR. Vol. 3. Nauka, Leningrad, pp. 378–524 (rusky).
6. Kozikowska, Z., 1975. *Ergasilus sieboldi* Nordm., adaptations of the parasite to the morphology and biology of hosts and additional data on the occurrence of other species of parasitic crustaceans in the area of Warmia and Masuria. Acta Universitatis Wratislaviensis 301, Prace Zoologica 7: 3–40 (polsky).
7. Dogiel, V.A., Petrushevski, G.K., Polyanski, Y.I. (Eds), 1961. Parasitology of Fishes. Oliver and Boyd, Edinburgh, UK, 384 p.
8. Piasecki, W., Goodwin, A.E., Eiras, J.C., Nowak, B.F., 2004. Importance of Copepoda in freshwater aquaculture. Zoological Studies 43: 193–205.
9. Bauer, O.N., Babaev, B., 1964. *Sinergasilus major* (Markewitsch, 1940), its biology and pathogenic significance. Izvestiya Akademii Nauk Turkmenistan. SSSR, Biology 3: 63–67 (rusky).
10. Musselius, V.A., 1973. Parasites and diseases of phytophagous fishes of the far-east complex in pond farms of the USSR. Trudy vses. Naučno-issled. Inst. Prud. Ryb Hoz. 22: 4–129 (rusky).
11. Reichenbach-Klinke, H.H., Landolt, M., 1973. Fish Pathology. TFH, Jersey City, New Jersey, 512 p.
12. Kuperman, B.I., Shulman, R.E., 1977. On the influence of some abiotic factors on the development of *Ergasilus sieboldi* (Crustacea, Copepoda). Parazitologia 11: 117–121.
13. Zmerzlaya, E.I., 1972. *Ergasilus sieboldi* Nordmann, 1832, its development, biology and epizootic significance. Izvestiya Gosudarstvennogo Nauchnoissledovatel'skogo Instituta Ozerogo i Rechnogo Rybnog Khozuaistva 80: 132–177.
14. Jelínková, E., Krechler, I., Jurajda, P., Papežíková, I., Navrátil, S., Marková, Z., Palíková, M., 2018. Relationship between seasonal dynamics in zooplankton density and *Ergasilus* infection in two reservoirs. Acta Veterinaria Brno 87: 91–98.
15. Schaperclaus, W., Kulow, H., Schreckenbach, K., 1991. Fish Diseases, 5th edn. Oxion Press, New Delhi, India 1398 p.
16. Dezfuli, B.S., Giari, L., Konecny, R., Jaeger, P., Manera, M., 2003. Immunohistochemistry, ultrastructure and pathology of gills *Abramis brama* from Lake Mondsee, Austria, infected with *Ergasilus sieboldi* (Copepoda). Diseases of Aquatic Organisms 53: 257–262.
17. Goodwin, A.E., 1999. Massive *Lerneae cyprinacea* infestations damaging the gills of channel catfish polycultured with bighead carp. Journal of Aquatic Animal Health 11: 406–408.
18. Pavanelli, G.C., Eiras, J.C., Takemoto, R.M., Ranzani-Paiva, M.J., Magalhaes, A.R.M., 2000. Sanidade de Peixes, Ras, Crustáceos e Moluscos. In: Valenti, W.C., Poli, C.R., Pereira, J.A., Borghetti, J.R. (Eds). Aquicultura no Brasil. Bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pp. 197–245 (portugalsky).

19. Callinan, R.B., 1988. Diseases of Australian Native Fish. In: Fish Diseases. Post Graduate Committee in Veterinary Science University of Sydney, Proceedings 106, Sydney, Australia: pp. 459–474.
20. Oldewage, W.H., 1993. The past, present and future role of piscine parasitic copepods in Africa. Fifth International Conference on Copepoda. University of Maryland Baltimore County, 6-12 June 1993. Baltimore, USA: The World Association of Copepodologists, p: 73.
21. Grabda, J., 1963. Life cycle and morphogenesis of *Lerneae cyprinacea* L. Acta Parasitologica Polonica 11: 169–198.
22. Shariff, M., Sommerville, C., 1986. The Life Cycles of *Lerneae polymorpha* and *L. cyprinacea*. In MacLean, J.L., Dizon, L.B., Hosillos, L.V. (Eds), First Asian Fisheries Forum. Asian Fisheries Society, Manila, pp. 273–278.
23. Kabata, Z., 1979. Parasitic Copepoda of British Fishes. Ray Society, London 468 p.
24. Shariff, M., Kabata, Z., Sommerville, C., 1986. Host susceptibility to *Lerneae cyprinacea* L. and its treatment in a large aquarium system. Journal of Fish Diseases 9: 393–401.
25. Shields, R.J., Tidd, W.M., 1968. Effect of temperature on the development of larval and transformed females of *Lerneae cyprinacea* L. (Lerneidae). Crustaceana 15, suppl. 1: 87–95.
26. Khalifa, K.A., Post, G., 1976. Histopathological effect of *Lerneae cyprinacea* (a copepod parasite) on fish. The Progressive Fish-Culturalist 38: 110–113.
27. Shariff, M., Roberts, R.J., 1989. The experimental histopathology of *Lerneae polymorpha* Yu, 1938 infection in native *Aristichthys nobilis* (Richardson) and a comparison in naturally infected clinically resistant fish. Journal of Fish Diseases 12: 405–414.
28. Tidd, W.M., Shields, R.J., 1963. Tissue damage inflicted by *Lerneae cyprinacea* Linnaeus, a copepod parasitic on tadpoles. Journal of Parasitology 49: 693–696.
29. Daskalov, H., Stoikov, D., Grozeva, N., 1999. A preliminary hygienic view in case of lernaeciosis in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) based on clinical and pathomorphological observations. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine 2: 59–64.
30. Kabata, Z., 1985. Parasites and Diseases of Fish Cultured in the Tropics. Taylor and Francis, London 318 p.
31. Valtonen, E.T., Koskivaara, M., Brummer-Korvenkontio, H., 1987. Parasites of fishes in central Finland in relation to environmental stress. In Lake Paeijaenne Symposium, 1987. Biology Research Report University of Jyvaeskylae, 10: 129–130.
32. Rahman, M.M., 1995. Some aspects of the biology of a freshwater fish parasite, *Argulus foliaceus* (L.) (Argulidae, Branchiura, Crustacea). Bangladesh Journal of Zoology 23: 77–86.
33. Stammer, J., 1959. Beitrage zur Morphologie, Biologie und Bekiimpfung der Karpfenlause. Zeitschrift für Parasitenkunde 19: 135–208.
34. Pasternak, A., Mikheev, V., Valtonen, E.T., 2004. Growth and development of *Argulus coregoni* (Crustacea: Branchiura) on salmonid and cyprinid hosts. Diseases of Aquatic Organisms 58: 203–207.
35. Yamaguti, S., 1963. Parasitic Copepoda and Branchiura of Fishes. Interscience, New York 1104 p.
36. Shimura, S., Inoue, K., Kudo, M., Egusa, S., 1983. Studies on effects of parasitism of *Argulus coregoni* (Crustacea: Branchiura) on furunculosis of *Oncorhynchus masou* (Salmonidae). Fish Parasitology, Tokyo 18: 37–40.

37. Ahne, W., 1985. *Argulus foliaceus* L. and *Piscicola geometra* L. as mechanical vectors of spring viraemia of carp virus (SVCV). *Journal of Fish Diseases* 8: 241–242.
38. Hindle, E., 1949. Notes on the treatment of fish infected with *Argulus*. *Proceedings of the Zoological Society of London* 119: 79–81.
39. Shimura, S., Inoue, K., Kasai, K., Saito, H., 1983. Hematological changes of *Oncorhynchus masou* (Salmonidae) caused by the infection of *Argulus coregoni* (Crustacea: Branchiura). *Fish Pathology, Tokyo* 18: 157–162.
40. Gault, N.F.S., Kilpatrick, D.J., Steward, M.T., 2002. Biological control of the fish louse in a rainbow trout fishery. *Journal of Fish Biology* 60: 226–237.
41. Gusev, A.V., Kabata, Z., 1991. Redescription of, and comments on, *Caligus lacustris* Streenstrup et Lütken, 1861 (Copepoda, Caligidae), a parasite of freshwater fishes. *Folia Parasitologica* 38: 57–61.
42. Gelnar, M., Svobodová Z., Zajíček J., 1988. Mnohobuněční cizopasníci našich užitkových ryb. VII. Parazitičtí korýši: charakteristiky druhů a možnosti omezování jejich výskytu a šíření. *Čs. rybníkářství* 2: 44–50.

3.11.9. MOLLUSCA

Radim Blažek, Milan Gelnar

Mezi adultními měkkýši (Mollusca) je parazitismus relativně vzácný fenomén. Jejich přizpůsobení se k parazitismu jsou ale naprosto jedinečná a díky nim můžeme u tohoto kmene bezobratlých pozorovat pozoruhodné adaptace k parazitismu. Dospělí parazitičtí měkkýši se vyskytují především mezi zástupci třídy Gastropoda (plži) a náleží do čtyř čeledí – Capulidae, Eulimidae, Entoconchidae a Paedophoropodidae. Zástupci těchto parazitických měkkýšů parazitují především u řady skupin mořských bezobratlých, jako jsou např. hvězdice, lilijce a sumýši. Naproti tomu u této skupiny (Mollusca) existuje mezi zástupci sladkovodních mlžů z řádu Unionidea parazitismus larvální, kdy larvy těchto mlžů (Bivalvia) zvané glochidie parazitují na povrchu těla mnoha druhů našich ryb (1).

3.11.9.1. GLOCHIDIÓZA

Úvod. Glochidióza je onemocnění způsobené parazitickými larvami sladkovodních mlžů řádu Unionidae (glochidiami). Výskyt onemocnění je vázán na přítomnost dospělých mlžů a lze se s ním setkat jak ve stojatých, tak v tekoucích vodách. Glochidia mlžů parazitují zejména na žábrách a ploutvích ryb (2). Parazitická fáze vývoje mlže trvá několik týdnů až měsíců, zejména v závislosti na druhu mlže a teplotě vody. Parazitická glochidia metamorfuji na juvenilní jedince, kteří pak z hostitele odpadají do substrátu, kde dorůstají v dospělé (3). Během několika let mladí mlži dospívají a v období rozmnožování produkují obrovská množství glochidií, z nichž jen mizivá část najde své rybí hostitele a úspěšně dokončí metamorfózu (4).

Původce. V našich podmínkách se lze nejčastěji setkat s glochidiózou způsobenou larvami škeble říční (*Anodonta anatina*) a velevrubů tupého a malířského (*Unio tumidus* a *U. pictorum*). Nově byl na naše území zavlečen invazivní druh – škeble asijská (*Synanodonta woodiana*) (5).

Vnímavé druhy ryb. Glochidia zmiňovaných mlžů nejsou striktně vázána na konkrétní druhy ryb a napadají široké spektrum hostitelů (2,5). Glochidia lze nalézt v podstatě na všech rybách v nádrži, pokud jsou přítomni dospělí mlži. Naproti tomu glochidia perlorodky říční (*Margaritifera margaritifera*) vykazují relativně úzkou hostitelskou specifitu (3). Infikovány jsou hlavně juvenilní ryby, neboť předchozí zkušenost s glochidiózou vyvolává u ryb efektivnější imunitní odpověď proti následující infekci (6). Zajímavé je, že drobná ryбка hořavka duhová (*Rhodeus amarus*), která na mlžích parazituje (klade svá embrya do žaber mlžů), je na infekci glochidiami přirozeně rezistentní (1). To ovšem neplatí pro škebli asijskou, kde se role parazita a hostitele obrací. Evropská hořavka se není schopna do asijských škeblí třít, nicméně může fungovat jako hostitel pro jejich glochidia (7).

Zdroj infekce a nakažení hostitele. Zdrojem infekce jsou glochidia vznášející se ve vodním sloupci. Glochidia se ve vodě aktivně nepohybují a napadení ryby je náhodný proces. Jakmile se glochidium jednou přichytí k hostiteli, nedokáže se znovu uvolnit, a proto je přenos infekce mezi rybami vyloučen. Ryba může být infikována na žábrách například při pokusu o konzumaci glochidií nebo vodou proudící přes její žaberní aparát, a také na ploutvích při kontaktu s volnými glochidiami (8).

Podmiňující faktory. Faktory podmiňující vznik infekce jsou na jedné straně hustota populace dospělých mlžů a na druhé straně sezónní dynamika výskytu glochidií ve vodním prostředí. Větší glochidia škeble říční (0,35 mm) můžeme na rybách (zejména na ploutvích) pozorovat v chladnější části roku (zhruba říjen až duben) s maximem v jarních měsících. Menší glochidia velevrubů (0,2 mm) napadají ryby od května do července s tím, že se přichycují hlavně na žábry (2). Škeble asijská uvolňuje glochidia v letních měsících a lze je nalézt na ploutvích i žábrách (5).

Průběh a vývoj onemocnění. Trvání onemocnění je omezeno délkou vývoje glochidií, a to od několika málo týdnů až po několik měsíců v závislosti na druhu mlže a teplotě prostředí. Délka vývoje glochidií škeble asijské v letních měsících může trvat i jeden až dva týdny (9), kdežto u perlorodky říční může trvat v chladné části roku i 8 měsíců (10). Onemocnění začíná přichycením glochidií k ploutvi nebo žábrám hostitelské ryby. Pokud není glochidium v této fázi odvrženo, obrůstá tkání hostitele a je posléze uzavřeno v cystě, ve které prodělává metamorfózu (11,12)(obr. 3.11.9.1.1.).

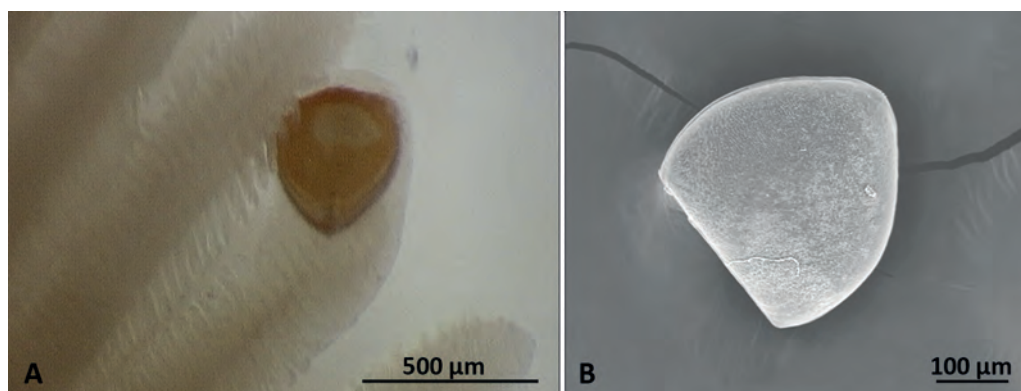
Klinické příznaky. Při vysokých intenzitách infekce se mohou zejména u juvenilních ryb projevit poruchy motoriky způsobené napadením ploutví (13). Výskyt glochidií na žábrách může způsobit funkční omezení žaber, což vede k hyperventilaci. To vše pak může vést ke snížení kondice a zpomalenému růstu plůdku (14).

Patologické změny. Na ploutvích a hlavně na žábrách může při vysoké míře infekce docházet k hyperplazii epitelu (15). Poškození povrchů ryb glochidiemi může v některých případech fungovat jako vstupní brána pro sekundární infekce (16).

Diagnóza. Diagnostika se provádí vyšetřením napadených orgánů pod preparační lupou, kde pozorujeme glochidia uzavřená v cystách. Glochidia na ploutvích mohou být detekovatelná i makroskopicky.

Terapie. Terapie se vzhledem k její zanedbatelné závažnosti v porovnání s jinými patogeny neprovádí.

Prevence. Vzhledem k nízké závažnosti glochidiózy se žádná preventivní opatření neprovádějí.



Obr. 3.11.9.1.1. Glochidium škeble říční (*Anodonta anatina*) encystované na žábrách ryby (A); snímek glochidia škeble říční čerstvě uvolněného z mateřského mlže (B). (Foto: R. Blažek)

LITERATURA

1. Cheng T.C., 1973. General Parasitology, Academic Press, New York and London, 965 p.
2. Blažek, R., Gelnar, M., 2006. Temporal and spatial distribution of glochidial larval stages of European unionid mussels (Mollusca: Unionidae) on host fishes. *Folia Parasitologica* 53: 98–106.
3. Karna, D.W., Millemann, R.E., 1978. Glochidiosis on salmonid fishes. III. Comparative susceptibility to natural infection with *Margaritifera margaritifera*. *Journal of Parasitology* 64: 528–537.
4. Jansen, W.A., Hanson, J.M., 1991. Estimates of the number of glochidia produced by clams (*Anodonta grandis simpsoniana* Lea), attaching to yellow perch (*Perca flavescens*), and surviving to various ages in Narrow Lake, Alberta, *Canadian Journal of Zoology* 69: 973–977.
5. Šlapanský, L., Jurajda, P., Janáč, M., 2016. Early life stages of exotic gobiids as new hosts for unionid glochidia. *Freshwater Biology* 61: 979–990.
6. Bauer, G., Vogel, C., 1987. The parasitic stage of the freshwater pearl mussel (*Margaritifera margaritifera* L.) I. Host response to glochidiosis. *Archiv für Hydrobiologie, Supplement* 76: 393–402.
7. Reichard, M., Vrtílek, M., Douda, K., Smith, C., 2012. An invasive species reverses the roles in a host-parasite relationship between bitterling fish and unionid mussels. *Biology Letters* 8: 601–604.
8. Wooten, R., 1974. The spatial distribution of *Dactylogyrus amphibothrium* on the gills of ruffe *Gymnocephalus cernua* and its relation on the relative amounts of water passing over the parts of the gills. *Journal of Helminthology* 48: 167–174.
9. Dudgeon, D., Morton B., 1984. Site selection and attachment duration of *Anodonta woodiana* (Bivalvia: Unionacea) glochidia on fish hosts. *Journal of Zoology* 204: 355–362.
10. Zjuganov V.V., Nezlin L.P., Zotin A.A., Rozanov A.S., 1990. Host–parasite relationship between glochidia of *Margaritifera margaritifera* (Margaritiferidae, Bivalvia) and mass species of the fishes from the European North of the USSR. *Parazitologia* 24: 315–321.
11. Hoggarth, M.A., Gaunt A.S., 1988. Mechanics of Glochidial Attachment (Mollusca: Bivalvia: Unionidae). *Journal of Morphology* 198: 71–81.
12. Wood, E.M., 1974. Development and morphology of the glochidium larva of *Anodonta cygnea* (Mollusca: Bivalvia). *Journal of Zoology* 173: 1–13.
13. Moles A., 1983. Effect of parasitism by mussel glochidia on growth of coho salmon. *Transactions of the American Fisheries Society* 112: 201–204.
14. Cunjak, R.A., McGladdery, S.E., 1991. The parasite-host relationship of glochidia (Mollusca: Margaritiferidae) on the gills of young-of-the-year Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Canadian Journal of Zoology* 69: 353–358.
15. Fustish, C.A., Millemann, R.E., 1978. Glochidiosis on salmonid fishes. II. Comparison of tissue response of coho and chinook salmon to experimental infection with *Margaritifera margaritifera* (L.) (Pelecypoda: Margaritanidae). *Journal of Parasitology* 64: 155–157.
16. Meyers, T.R., Millemann, R.E., 1977. Glochidiosis of salmonid fishes. I. Comparative susceptibility to experimental infection with *Margaritifera margaritifera* (L.). *Journal of Parasitology* 63: 728–733.

ZOONÓZY

Miroslava Palíková, Tomáš Scholz

4

ZONÓZY

Miroslava Palíková, Tomáš Scholz

V této kapitole jsou uvedeny pouze nejdůležitější stálé zoonózy, tj. infekční onemocnění se stálým zvířecím hostitelem – rybou, které se mohou příležitostně vyskytovat u člověka. Nejsou zde uváděny choroby, kdy je ryba příležitostným hostitelem a slouží jako zdroj infekce pro člověka (salmonelóza, listerióza aj.).

4.1. BAKTERIÁLNÍ NEMOCI RYB VYVOLÁVAJÍCÍ ONEMOCNĚNÍ ČLOVĚKA

Bakteriálním zoonózám je v současnosti věnována zvýšená pozornost související s typizací bakteriálních patogenů molekulárními metodami. Bakteriální zoonózy jsou přenášeny přímým kontaktem nebo konzumací pokrmů připravených z infikovaných ryb. Většina izolátů z ryb a lidí je diagnostikována na základě fenotypového popisu a není jisté, zda infekce lidí a ryb jsou vyvolány stejným kmenem nebo klonem bakteriálního druhu. Na základě fenotypové identifikace izolátů je za potenciální zoonotická bakteriální onemocnění považována celá řada patogenů: *Mycobacterium* spp., *Clostridium botulinum*, *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus agalactiae*, *S. iniae*, *Aeromonas* spp., *Edwardsiella tarda*, *Plesiomonas shigelloides*, *Vibrio damsela*, *V. vulnificus*, *Yersinia ruckeri*. Pouze druhy rodu *Mycobacterium*, *C. botulinum*, *S. iniae* a *V. vulnificus* byly s využitím molekulárních metod potvrzeny jako skuteční původci zoonóz. Ryby často nevykazují příznaky onemocnění, ale mohou vyvolat onemocnění u člověka. Původci se uplatní zejména u imunodeficientních nebo chronicky nemocných pacientů nebo u gravidních žen. Uplatnění patogenu usnadní vysoká virulence kmenu nebo vysoká dávka patogenu, hluboké kožní léze jako vstupní brána infekce, případně kombinace více faktorů (1,2). Nejrizikovější skupinou jsou lidé zaměstnaní v akvakultuře a rybáři, kteří jsou v přímém kontaktu s rybami (1).

Clostridium botulinum je střevním komensálem mořských i sladkovodních ryb. Onemocnění ryb touto bakterií není běžné, dochází k němu, když ryby požírají uhynulé, rozkládající se jedince. Člověk se intoxikuje konzumací infikovaných, zejména uzených ryb. Onemocnění se relativně často vyskytuje v severských oblastech (3,4). Neurotoxiny produkované bakterií způsobují u člověka paralýzu, botulismus. V souvislosti s konzumací nakažených ryb se většinou uplatňuje botulotoxin typu E, příležitostně typu A a B (5).

Nejznámějšími a rovněž v našich podmínkách nejčastěji se uplatňujícími původci rybích bakteriálních zoonóz jsou zástupci rodu *Mycobacterium* spp. Mykobakteriíza ryb je chronické progresivní onemocnění ryb s kosmopolitním rozšířením, nicméně mnohem častěji touto nemocí trpí akvarijní ryby než ryby ve volné přírodě. Rizikovou skupinu představují proto zejména profesionální či amatérští akvaristé (6,7). K infekci lidí dochází při manipulaci s rybami nebo kontaktem s akvarijní vodou či pomůckami. Rozvinutí infekce napomáhají kožní traumata a imunodeficience různé etiologie. Infekce se projevuje lokalizovanými nebo sporotrichoidními kožními lézemi granulomatózního charakteru lokalizovanými obvykle na rukou (obr. 4.1.1). Zánět se může rozšířit i hlouběji a může způsobit tendosynovitidu, artritidu a osteomyelitidu. U imunodeficientních lidí se může rozvinout lymfadenitida a pulmonální onemocnění podobné tuberkulóze (1,2,6). Diagnostika nebývá často jednoduchá a špatná terapie může vyvolat další komplikace. Byl dokonce popsán případ epididymoorchitidy vyvolané hematogenním šířením *M. marinum* (8). V patogenezí onemocnění se uplatňuje

nejčastěji bakterie *M. marinum*. Zoonotický potenciál mají však i jiné druhy mykobakterií: *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. abscessus*, *M. interjectum*, *M. scrofulaceum*, *M. peregrinum*, *M. haemophilum*, *M. szulgai*, *M. similiae* a *M. triplex* (1,2).



Obr. 4.1.1. Sporotrichoidní kožní léze u akvaristy. (Foto: I. Pavlík)

Mezi nejzávažnější původce bakteriálních zoonóz patří zástupci rodu *Vibrio*. Ti jsou hojně rozšířeni v mořských a brakických vodách, podobně jako ve sladkých vodách *Aeromonas* spp. (2). U některých druhů je zoonotický význam nevyjasněn, ale např. *Vibrio vulnificus* patří mezi prokázané původce zoonóz. Jsou popsány tři biotypy a za potenciálně zoonotický je považován zejména serovar E biotypu 2 (9). U ryb je biotyp 2 známý jako původce vibriózy japonských (10) a evropských úhořů (11), projevující se přítomností hemoragií a nekrotickými změnami kůže i jiných orgánů (12). Biotyp 3 se vyskytuje u tilápií a byl izolován z pacientů v Izraeli (13). U lidí původce způsobuje nekrotizující fasciitidu a sepsi; onemocnění může končit i fatálně (14,15). Mezi rizikové skupiny patří zejména lidé přicházející do kontaktu s rybami a imunodeficientní jedinci (16).

Mezi druhy rodu *Streptococcus* vyvolávající infekce ryb patří *S. agalactiae* a *S. iniae*. Tyto patogeny se uplatňují zejména u teplomilných druhů ryb, vážné ekonomické ztráty jsou popisovány zejména v chovech tilápií. Způsobují hemoragickou septikémií často doprovázenou neurologickými příznaky (17). *Streptococcus agalactiae* může u člověka způsobit neonatální sepsi, zatímco *S. iniae* může u člověka způsobit celulitidu, artritidu, endokarditidu a meningitidu (18). K infekci většinou dochází přes poraněnou kůži při manipulaci s rybami. Zoonotické infekce byly potvrzeny v Severní Americe a jihovýchodní Asii. Zatímco u *S. agalactiae* byla genetická podobnost rybičích a lidských izolátů potvrzena pouze jednou (19), u *S. iniae* byla genetická shoda prokázána opakovaně (18,20,21).

Druhy rodu *Aeromonas* jsou bakterie, které se vyskytují kosmopolitně, zejména ve sladkovodním prostředí. Někteří autoři je považují za původce nosokomiálních infekcí u lidí (22,23,24), nicméně shoda humánních a rybích izolátů nebyla dosud potvrzena. Podobně je tomu i s dalšími bakteriemi, jako např. *Lactococcus garvieae* nebo *Edwardsiella tarda*. *Lactococcus garvieae* způsobuje v chovech teplomilných ryb závažné onemocnění charakterizované jako akutní hemoragická septikémie (25). U člověka tato bakterie způsobuje endokarditidu, cholecystitidu a diskospondylitidu (26,27). Shodnost rybích a humánních kmenů ani přímý přenos však nebyly prokázány. *Edwardsiella tarda* způsobuje hemoragická a nekrotická onemocnění mořských i sladkovodních ryb a u člověka vyvolává gastroenteritidu, ale rovněž septikemii a meningitidu (28,29). Molekulární analýzy lidských a rybích izolátů však ukazují jisté odlišnosti (30,31).

4.2. METAZOÁRNÍ ONEMOCNĚNÍ RYB VYVOLÁVAJÍCÍ ONEMOCNĚNÍ ČLOVĚKA

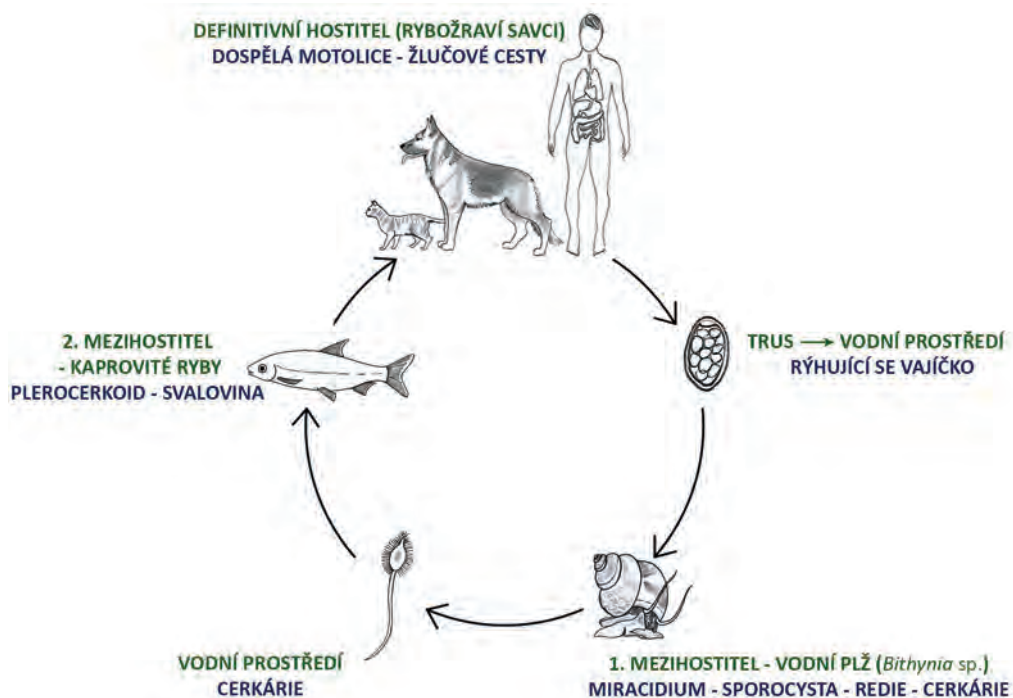
V minulosti se metazoární onemocnění člověka pocházející z ryb vyskytovala zejména v oblastech, kde lidé konzumují syrové rybí maso nebo rybí produkty. V současnosti se používání syrového rybiho masa v různých pokrmech (carpaccio, sushi, sashimi, ceviche apod.) stává celosvětově populární. Proto se zvyšuje i nebezpečí rozšíření těchto onemocnění. Riziko většího rozšíření ale ovlivňuje i řada dalších faktorů, jako je vzrůstající mezinárodní obchod, transport ryb a pohyb lidských populací. Ryby hrají v případě těchto parazitóz roli mezipřenositelů nebo paratenických hostitelů larválních stádií. Člověk může být definitivním hostitelem nebo příležitostným hostitelem, kdy jsou larvální stádia přítomna ve tkáních pouze po určitou dobu a neprodělávají zde další vývoj (32). Mezi nejdůležitější původce onemocnění přenosných na člověka patří zástupci skupin Trematoda, Nematoda a Cestoda.

Trematoda

Zoonózy vyvolané motolicemi, tzv. fish-borne trematodoses (33), jsou časté v oblastech jihovýchodní Asie a Dálného Východu, kde je běžná konzumace syrového nebo nedostatečně tepelně upraveného rybiho masa. Původci mohou u člověka vyvolat vážné zdravotní problémy, v některých případech mohou dokonce vést ke karcinomu jater (*Opisthorchis viverrini* v jihovýchodní Asii). Zoonotické motolice se dají rozdělit do dvou skupin, první jsou tzv. malé jaterní motolice, kam patří výhradně zástupci čeledi Opisthorchiidae, a druhou skupinu tvoří tzv. střevní motolice.

Mezi zástupce tzv. malých jaterních motolic patří *Clonorchis sinensis*. Klonorchíáza je pravidelně diagnostikována v severním Vietnamu, v Číně, Taiwanu a v Jižní Korei (33); ohniskově se vyskytuje na Dálném Východě v Poamuří (34). Dospělci dosahují velikosti 8–15 mm. Prvním mezipřenositelem jsou sladkovodní plži. Ryby, zejména z čeledi Cyprinidae, jsou druhým mezipřenositelem. Metacerkárie se vyvíjejí v jejich svalovině a v podkoží. Definitivními hostiteli jsou savci: kočky, psi, prasata, krysy, ale i člověk. U definitivního hostitele se motolice lokalizují ve žlučovodech (32). U pacientů přítomnost motolic vyvolává pyogenní cholangitidu (35), cholangiohepatitidu (36), ale může vyvolat také pankreatitidu (37) nebo vznik cholangiokarcinomu. Lehčí a akutní onemocnění většinou probíhají asymptomaticky, jindy pacienti popisují nevolnost, bolesti břicha, průjem, zvýšenou teplotu a bývá u nich diagnostikována eosinofilie, zvětšení jater a žloutenka. Těžké a chronické infekce jsou doprovázené ztrátou váhy, únavou, depresemi, nechutenstvím, tachykardií, bolestmi hlavy, křečemi a celkovou toxemií (38).

Dalšími druhy nebezpečnými pro člověka jsou *Opisthorchis felineus* a zejména *O. viverrini*, který je dnes po schistosomách a motolici jaterní (*Fasciola hepatica*) patrně nejintenzivněji studovanou lidskou motolicí. Zatímco *O. viverrini* se vyskytuje v jihovýchodní Asii, zejména v Thajsku, Laosu, Kambodži a v jižní Vietnamu, *O. felineus* se vyskytuje i v Evropě (Španělsko, Itálie, Albánie, Řecko, Francie, Makedonie, Švýcarsko, Německo, Polsko, Rusko, Ukrajina, Turecko), ale nejčastější je na Sibiři (33). Obě motolice mají podobný vývoj (obr. 4.2.1). Prvním mezihostitelem jsou vodní plži (*Bithynia* spp.), druhým kaprovité ryby, kde se ve svalovině vyvíjejí metacerkárie. Definitivním hostitelem jsou masožraví savci, zejména kočky a psi. Motolice se lokalizují ve žlučových cestách, případně ve žlučovém měchýři a slinivce. Způsobují, podobně jako *C. sinensis*, poškození jater. Oba původci patří k menším motolicím, neboť dosahují velikosti 6–12 mm (32,34).



Obr. 4.2.1. Vývojový cyklus jaterní motolice *Opisthorchis felineus*. (Kresba: M. Palíková)

V Severní Americe jsou masožraví savci častým hostitelem zoonotické jaterní motolice *Metorchis conjunctus*. Člověk se nakazí konzumací syrových sladkovodních ryb. Infekce probíhá většinou asymptomaticky, ale mohou se vyskytnout i akutní horečnaté stavy s žaludečními bolestmi doprovázené eosinofilií (39). Jiný druh stejného rodu, *M. orientalis*, je zoonotickou motolicí vyskytující se v oblasti východní Asie. Definitivními hostiteli jsou rybožraví ptáci. Zdrojem nákazy člověka je konzumace syrových kaprovitých ryb. V Evropě se u rybožravých ptáků a savců vyskytuje *M. bilis*. Tato motolice se často vyskytuje ve smíšených infekcích s *O. felineus* (40). Prvním mezihostitelem jsou bahňavky rodu *Bithynia*. V České republice byla přítomnost této motolice potvrzena zejména u kormoránů (41,42). V definitivních hostitelích ji nacházíme ve žlučovém měchýři a v játrech (34). Rovněž další druh,

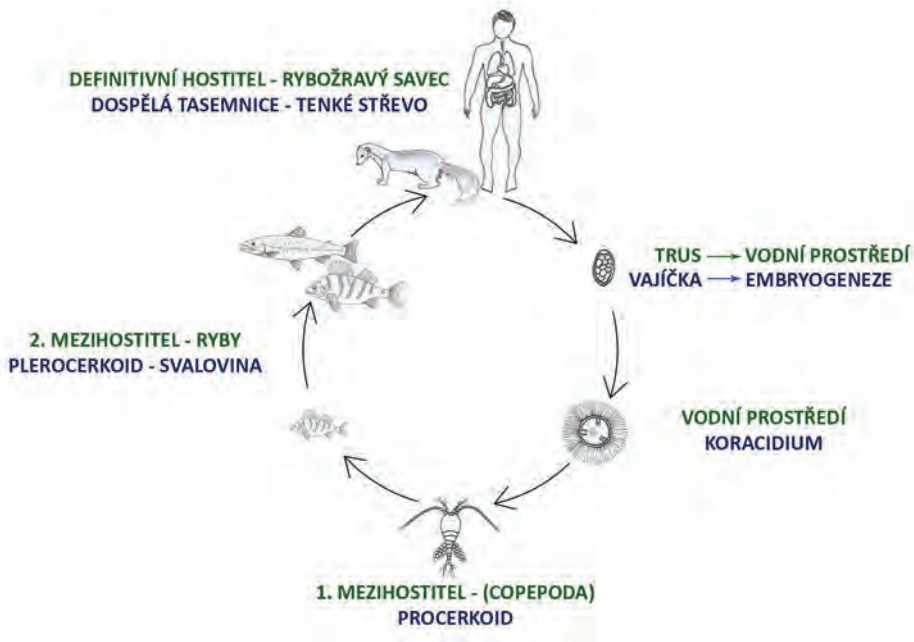
Pseudamphistomum truncatum, je jaterní motolice vyskytující se v Evropě (Dánsko, Irsko, Finsko) a v Asii, zejména v Rusku, odkud byly popsány případy náhodné nákazy lidí. Druhým mezihostitelem jsou kaprovité ryby, v Evropě zejména plotice obecná, u níž se metacerkárie vyvíjejí ve svalovině (43,44).

Ryby mohou být zdrojem dalších zoonotických, tzv. malých střevních motolic z rodů *Haplorchis*, *Stellantchasmus*, *Procerovum*, *Heterophyes*, *Metagonimus*, *Echinostoma*, *Echinochasmus* aj. Druhými mezihostiteli jsou různé druhy sladkovodních a brakických druhů ryb, v dospělce dospívají v trávicím traktu definitivního hostitele – rybožravých ptáků a savců. Člověk může být hostitelem celkem cca 50 druhů malých motolic. Mezi druhy vyskytujícími se kromě jihovýchodní Asie (zejména v Thajsku, Laosu a Koreji) i v Evropě patří *Metagonimus yokogawai* (Španělsko, Rusko) a *Echinochasmus perfoliatus* (Maďarsko, Itálie, Rumunsko, Rusko)(33). Infekce nebývají doprovázeny závažnými zdravotními problémy, většinou se vyskytuje průjem, nevolnost a zvracení, bolesti břicha (32).

Cestoda

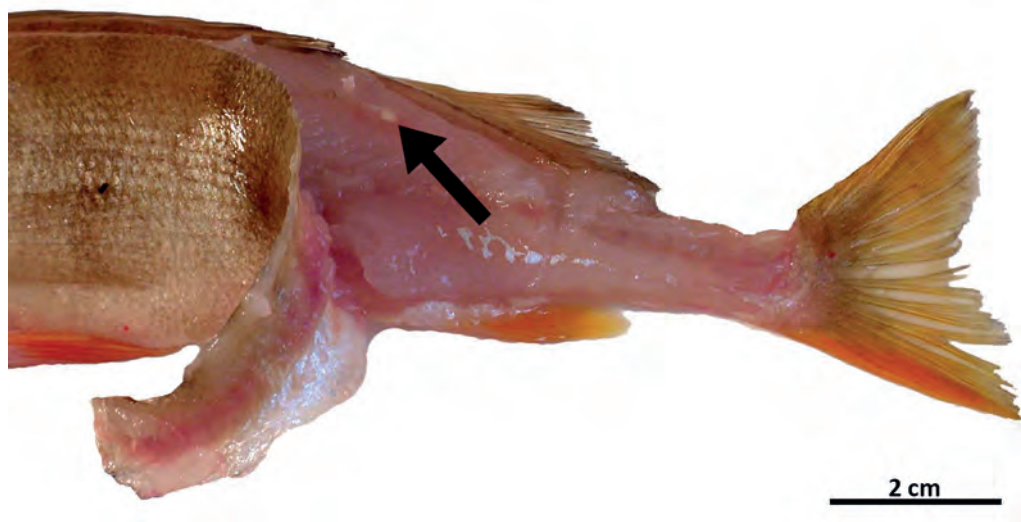
Tasemnice dospívají v tenkém střevě definitivních hostitelů včetně člověka. Nevykazují velkou patogenitu a onemocnění nekončí nikdy fatálně (32). Většinu zoonotických cestodóz vyvolávají tzv. škulovci širocí, tasemnice z rodu *Dibothriocephalus* (dříve v rodu *Diphyllobothrium*), které dosahují délky až několika metrů. Definitivními hostiteli jsou rybožraví savci, případně ptáci. Prvními mezihostiteli jsou planktonní koryši (buchanky – Copepoda), druhým mezihostitelem jsou sladkovodní nebo mořské ryby. Nejčastějšími rybími mezihostiteli jsou zástupci lososovitých, okounovitých nebo štikovitých ryb. Obecně se častěji uplatňují chladnomilné ryby, ale sporadické záchyty jsou i z teplých oblastí. Často jsou drobné ryby konzumovány rybími predátory a dochází tak k přenosu plerocerkoidů. V rybách se vyvíjí plerocerkoid s lokalizací v závislosti na druhu tasemnice (obr. 4.2.2)(32,33).

V poslední době se i v rozvinutých zemích objevují jak původní, tak importované případy difylobotriózy, lidského onemocnění způsobeného škulovcem širokým (***Dibothriocephalus latus***), dříve v rodu *Diphyllobothrium* jako *Diphyllobothrium latum* (45). Přestože toto onemocnění není většinou provázeno závažnými příznaky, je považováno za jednu z tzv. emerging diseases, tedy nově se objevujících lidských onemocnění. Důvodem nárůstu nových případů difylobotriózy je současná obliba konzumace syrových nebo tepelně nedostatečně upravených pokrmů z ryb jako carpaccio di perca, nebo ceviche. Nejbližší ohniska výskytu difylobotriózy jsou v alpských jezerech v Itálii (např. Lago di Como) nebo Švýcarsku (Ženevské jezero), kde se stalo populárním pokrmem v restauracích carpaccio di perca, tedy syrové maso okouna připravené podobně jako tatarský biftek. Tato ryba spolu se štikou a mníkem slouží jako hlavní druhý mezihostitel škulovce širokého. Mezihostiteli jiného druhu původem z oblasti severního Pacifiku (Japonsko, Dálný východ, tichomořské pobřeží Kanady a USA), ***D. nihonkaiensis***, jsou lososovité ryby. Díky dovozu tichomořských lososů na ledu, nikoliv zmražených ryb, byly detekovány případy lidských nálezů touto tasemnicí v řadě zemí Evropy a Severní Ameriky (46). Další druh, *D. dendriticus*, se rovněž vyskytuje i v Evropě, i když u lidí poměrně vzácně (46). Druh *Adenocephalus pacificus* (syn. *Diphyllobothrium pacificum*) se vyskytuje na tichomořském pobřeží Jižní Ameriky, zejména v Peru.



Obr. 4.2.2. Vývojový cyklus tasemnice *Dibothriocephalus latus* (mezihostitelem okoun) a *D. dendriticus* (mezihostitel lososovitá ryba). (Kresba: M. Palíková)

Plerocerkoidy jednotlivých druhů jsou lokalizovány buď enkapsulované v dutině tělní (*D. dendriticus*) nebo ve svalovině (*D. latus* a *D. nihonkaiensis*); z epidemiologického hlediska jsou pochopitelně mnohem významnější druhy s larvami ve svalovině (obr. 4.2.3). Plerocerkoidy nejčastějšího lidského parazita, *D. latus*, jsou lokalizovány zejména ve svalovině okounů, ježdíků, štik a mníků (z Chile jsou uváděny larvy i z lososovitých ryb). Většina nálezů člověka škulovci je bez příznaků nebo pouze s mírnými zažívacími problémy. V učebnicích tradované perniciózní anémie a silný deficit vitamínu B₁₂ byly prokázány pouze u pacientů ve Finsku po 2. světové válce; v současné době seriózní doklady o těchto následcích nákazy škulovci neexistují (47). Prevence onemocnění je jednoduchá a spočívá v tepelné úpravě, případně v předchozím zmrazení ryb a rybích pokrmů před konzumací (48).

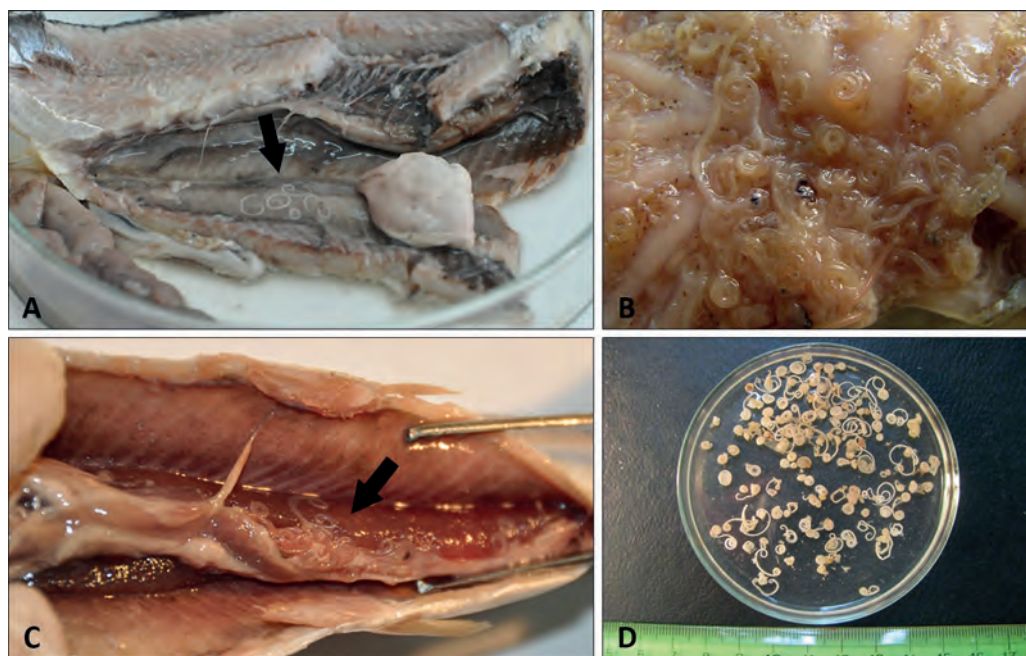


Obr. 4.2.3. Plerocerkoid tasemnice *Dibothriocephalus latus* ve svalovině okouna. (Foto: R. Kuchta)

Nematoda

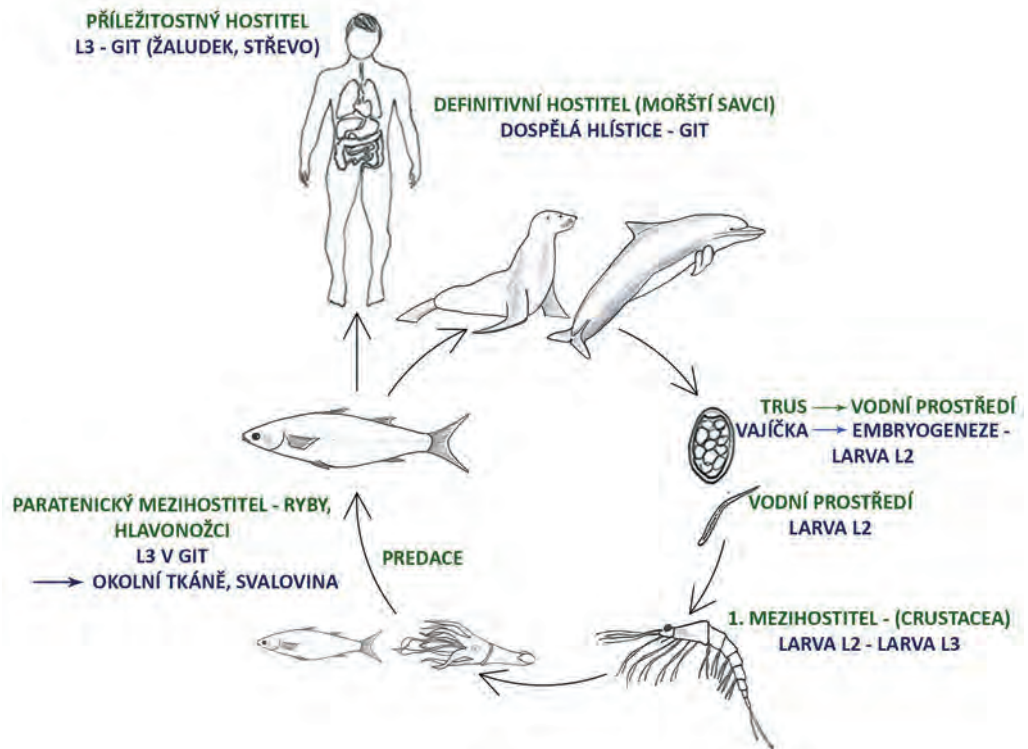
Hlístice čeledi Anisakidae (řád Ascaridida, nadčeleď Ascaridoidea) jsou poměrně velkou skupinou škrkavek, které se odlišují od zástupců jiných čeledí se zástupci cizopasíci u člověka (škrkavka dětská, *Ascaris lumbricoides*) nebo domácích mazlíčků (druhy rodů *Toxocara* a *Toxascaris*) morfologií zažívací soustavy, ale především nepřímým životním cyklem. Vývojový cyklus hlístic čeledi Anisakidae zahrnuje planktonní korýše (buchanky) jako první mezihostitele, zatímco ryby nebo vodní bezobratlí slouží jako druzí mezihostitelé nebo parateničtí hostitelé.

Infekce lidí způsobené larválními stádii hlístic rodů *Anisakis* (obr. 4.2.4), *Pseudoterranova* a *Contracaecum* se nazývají **anisakiáza**. Toto onemocnění je rozšířeno celosvětově (hlavně v přímořských oblastech) a k nakažení dochází pozřením syrových, nedostatečně tepelně upravených nebo marinovaných ryb. Definitivními hostiteli jsou mořští savci (kytovci, ploutvonožci), u nichž se hlístice nacházejí v gastrointestinálním traktu. Vajíčka se dostávají do vody, kde probíhá embryogeneze a vývoj larvy. Tyto larvy jsou pozřeny korýši a v jejich hemocoelu se vyvíjí larva 3. stádia. V rybách a hlavonožcích, kteří slouží jako parateničtí hostitelé, larvy pronikají stěnou střeva do tělní dutiny a migrují do okolních tkání a svaloviny. Dravé ryby mohou akumulovat velké množství larev. Jako parateničtí hostitelé slouží velké množství rybích druhů (makrely, tresky, sledi, lososi, aj.). Definitivní hostitel, i člověk, který je jen náhodným hostitelem, se nakazí pozřením infikovaných paratenických hostitelů obsahujících infekční larvu L3 (obr. 4.2.5). Člověk je nevhodným hostitelem, u něhož se paraziti většinou dále nevyvíjí, larvy mohou zůstat přichyceny v jícnu, žaludku nebo ve střevě, případně penetrují sliznici a působí eosinofilní granulomatózní syndrom. Nákaza se projevuje bolestmi břicha, nevolností a zvracením. Anisakiáza je často doprovázena silnou alergickou reakcí od otoků až po anafylaktický šok (32,33,49).



Obr. 4.2.4. Přítomnost larev hlístice *Anisakis simplex* v tělní dutině mořských ryb (A–C); vypreparované larvy (D). (Foto: A, C – M. Oros, B, D – A. Prouza)

Nejvíce případů pochází z jihovýchodní Asie, ale současná módní vlna požívání syrových ryb (sushi, sashimi, carpaccio, ceviche, apod.) je příčinou zvýšeného počtu těchto onemocnění i v Evropě a Severní Americe. Poměrně velké larvy, které jsou časté v konzervách nebo mražených rybích produktech (často jde v tomto případě o larvy hlístic rodu *Contracaecum*), nejsou sice z hlediska lidského zdraví závažnějším rizikem, ale mohou působit značné ekonomické škody, protože snižují obchodní hodnotu těchto produktů, které nejsou prodejné a musejí se často likvidovat. Naopak potenciálně nebezpečné jsou mořské ryby, které jsou dováženy pouze zchlazené (na ledu), nikoliv zmražené. Mezi nejčastější původce tohoto lidského onemocnění patří larvy hlístic rodů *Anisakis* a *Pseudoterranova* (33).



Obr. 4.2.5. Vývojový cyklus hlístice *Anisakis simplex*. (Kresba: M. Palíková)

Závažnou, i když poměrně vzácnou zoonózou v oblasti jihovýchodní Asie s vyšším počtem lidských případů na Filipínách, v Thajsku a na Taiwanu je **kapilarióza** způsobená hlísticí *Paracapillaria philippinensis*. Definitivními hostiteli jsou rybožraví ptáci, kde se hlístice lokalizují v tenkém střevě. Sladkovodní nebo brakické druhy ryb slouží jako mezihostitelé. Infekční larvy se nacházejí ve střevě. Životní cyklus není dosud uspokojivě objasněn. Ryby hrají klíčovou roli v přenosu parazita na člověka, ale není jasné, zda jsou mezihostiteli (tedy obligátní součástí vývojového cyklu) nebo paratenickými hostiteli. Není ani vyloučeno, že vývojový cyklus je přímý, bez účasti mezihostitele. Rovněž byla prokázána možnost autoinfekce, kdy je parazit schopen dokončit svůj vývojový cyklus v těle nakaženého hostitele včetně člověka. Díky tomu se může počet parazitů ve střevě dramaticky zvýšit během několika týdnů a výrazně poškodit funkci střeva. Spolu s produkovanými toxiny dochází k typickým projevům, jako jsou průjemy, ztráta váhy, bolesti břicha, celková slabost a srdeční poruchy. Neléčená parazitóza může během několika týdnů až měsíců končit fatálně (32).

Dalšími zoonotickými hlísticemi jsou zástupci rodu *Gnathostoma*. Onemocnění se vyskytuje v jihovýchodní Asii, v Číně, Japonsku, Koreji, Indii, na Středním východě a v Mexiku. Definitivními hostiteli jsou prasata, kočkovité a lasicovité šelmy. Dospělci jsou lokalizováni v nádorovitých útvech v jícnu a žaludku. Vajíčka se dostávají do vnějšího prostředí, kde prodělávají embryogenezi. Pro další vývoj potřebují dva mezihostitele, prvním jsou buchanky (Copepoda), druhým sladkovodní ryby a obojživelníci, u nichž se vyvíjí larva třetího stádia,

kteřá je infekční pro definitivního hostitele. Do cyklu se mohou zapojit i parateničtí hostitelé (ryby, obojživelníci, plazi, myši, potkani, kuřata), u nichž je larva encystována ve svalovině. Člověk se nakazí pozřením infekční larvy. Larva prodělavá viscerální migraci a usídluje se v různých tkáních. Migrace je doprovázena poškozením okolní tkáně. V patogenezi onemocnění se uplatňují i uvolňované toxiny. Projevy onemocnění závisí na intenzitě parazita a na jeho lokalizaci. Zcela výjimečně může onemocnění končit fatálně (32).

LITERATURA

1. Haenen, O.L.M., Evans, J.J., Berthe, F., 2013. Bacterial infections from aquatic species: potential for and prevention of contact zoonoses. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* 32: 497–507.
2. Gauthier, D.T. 2015. Bacterial zoonoses of fishes: a review and appraisal of evidence for linkages between fish and human infections. *Veterinary Journal* 203: 27–35.
3. Hielm, S., Björkroth, J., Hyytiä, E., Korkeala, H., 1998. Prevalence of *Clostridium botulinum* in Finnish trout farms: pulsed-field gel electrophoresis typing reveals extensive genetic diversity among type E isolates. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 4161–4167.
4. Fagan, R.P., McLaughlin, J.B., Castrodale, L.J., Gessner, B.D., Jenkerson, S.A., Funk, E.A., Hennessy, T.W., Middaugh, J.P., Butler, J.C., 2011. Endemic foodborne botulism among Alaska native persons – Alaska 1947–2007. *Clinical Infectious Diseases* 52: 585–592.
5. Barrett, D.H., Eisenberg, M.S., Bender, T.R., Burks, J.M., Hatheway, C.L., Dowell, V.R., Jr., 1977. Type A and type B botulism in the North: first reported cases due to toxin other than type E in Alaskan Inuit. *Canadian Medical Association Journal* 117: 483–489.
6. Novotný, L., Mátlová, L., Pavlík, I., 2004. Mykobakteriůza ryb jako zoonůza. *Praktický lékař* 84: 247–249.
7. Pavlík, I., Mrlík, V., Bodnářová, M., Novotný, L., 2008. Mykobakteriůza ryb a rizika infekce člověka. *Česko-slovenská dermatologie* 83: 310–314.
8. Macek, P., Bodnarova, M., Zavada, J., Jezek, P., Pavlik, I., Slany, M., Havelkova, M., Stork, J., Duskova, J., Hanus, T., Kocvara, R. 2011. *Mycobacterium marinum* epididymoorchitis: case report and literature review. *Urologia Internationalis* 87: 120–124.
9. Sanjuán, E., Amaro, C., 2007. Multiplex PCR assay for detection of *Vibrio vulnificus* biotype 2 and simultaneous discrimination of serovar E strains. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 2029–2032.
10. Muroga, K., Jo, Y., Nishibuchi, M., 1976. Pathogenic *Vibrio* isolated from cultured eels. I. Characteristics and taxonomic status. *Fish Pathology* 11: 141–145.
11. Biosca, E.G., Amaro, C., Esteve, C., Alcaide, E., Garay E., 1991. First record of *Vibrio vulnificus* biotype 2 from diseased European eel, *Anguilla anguilla*, L. *Journal of Fish Diseases* 14: 103–109.
12. Austin, B., Austin D.A., 2007. *Bacterial Fish Pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish*, 4th Edn. Springer Praxis Publishing, Chichester, UK, 552 p.
13. Bisharat, N., Agmon, V., Finkelstein, R., Raz, R., Ben-Dror, G., Lerner, L., Soboh, S., Colodner, R., Cameron, D.N., Wykstra, D.L., Swerdlow, D.L. & Farmer, J.J., 1999. Clinical, epidemiological, and microbiological features of *Vibrio vulnificus* biogroup 3 causing outbreaks of wound infection and bacteraemia in Israel. *Israel Vibrio Study Group. Lancet* 354: 1421–1424.

14. Bock, T., Christensen, N., Eriksen, N.H., Winter, S., Rygaard, H., Jorgensen, F., 1994. The first fatal case of *Vibrio vulnificus* infection in Denmark. *Acta Pathologica Microbiologica Immunologica Scandinavica* 102: 874–876.
15. Weis, K.E., Hammond, R.M., Hutchinson, R., Blackmore, C.C.M., 2011. *Vibrio* illness in Florida, 1998–2007. *Epidemiology and Infection* 139: 591–598.
16. Koenig, K.L., Mueller, J., Rose, T., 1991. *Vibrio vulnificus*. Hazard on the half shell. *Western Journal of Medicine* 155: 400–403.
17. Evans, J., Klesius, P., Shoemaker, C., 2006. An overview of *Streptococcus* in warmwater fish. *Aquaculture Health International* 7: 10–14.
18. Weinstein, M.R., Litt, M., Kertesz, D.A., Wyper, p., Rose, D., Coulter, M., McGeer, A., Facklam, R., Ostach, C., Willey, B.M., Borczyk, A., Low, D.E., 1997. Invasive infections due to a fish pathogen, *Streptococcus iniae*. *New England Journal of Medicine* 337: 589–594.
19. Evans, J.J., Bohnsack, J.F., Klesius, P.H., Whiting, A.A., Garcia, J.C., Shoemaker, C.A., Takakashi, S., 2008. Phylogenetic relationships among *Streptococcus agalactiae* isolated from piscine, dolphin, bovine and human sources: a dolphin and piscine lineage associated with a fish epidemic in Kuwait is also associated with human neonatal infections in Japan. *Journal of Medical Microbiology* 57: 1369–1376.
20. Lau, S.K., Woo, P.C., Tse, H., Leung, K.W., Wong, S.S., Yuen, K.Y., 2003. Invasive *Streptococcus iniae* infections outside North America. *Journal of Clinical Microbiology* 41: 1004–1009.
21. Koh, T.H., Kurup, A., Chen, J., 2004. *Streptococcus iniae* discitis in Singapore. *Emerging Infectious Diseases* 10: 1694–1696.
22. Cremonesini, D., Thomson, A., 2008. Lung colonization with *Aeromonas hydrophila* in cystic fibrosis believed to have come from a tropical fish tank. *Journal of the Royal Society of Medicine* 101: S44–S45.
23. Janda, J.M., Abbott, S.L., 2010. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity and infection. *Clinical Microbiology Reviews* 23: 35–73.
24. Weir, M., Rajic, A., Dutil, L., Cernicchiaro, N., Uhland, F.C., Mercier, B., Tusevliak, N., 2012. Zoonotic bacteria, antimicrobial use and antimicrobial resistance in ornamental fish: a systematic review of the existing research and survey of aquaculture-allied professionals. *Epidemiology and Infection* 140: 192–206.
25. Vendrell, D., Balcázar, J.L., Ruiz-Zarzuela, I., de Blas, I., Gironés, O., Múzguiz, J.L., 2006. *Lactococcus garvieae* in fish: a review. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* 29: 177–198.
26. Chan, J.F.W., Woo, P.C.Y., Teng, J.L.L., Lau, S.K.P., Leung, S.S.M., Tam, F.C.C., Yuen, K.Y., 2011. Primary infective spondylodiscitis caused by *Lactococcus garvieae* and a review of human *L. garvieae* infections. *Infection* 39: 259–264.
27. Kim, J.H., Go, J., Cho, C.R., Kim, J.I., Lee, M.S., Park, S.C., 2013. First report of human acute acalculous cholecystitis caused by the fish pathogen *Lactococcus garvieae*. *Journal of Clinical Microbiology* 51: 712–714.
28. Clarridge, J.E., Musher, D.M., Fainstein, V., Wallace, R.J., Jr., 1980. Extraintestinal human infection caused by *Edwardsiella tarda*. *Journal of Clinical Microbiology* 11: 511–514.
29. Janda, J.M., Abbott, S.L., 1993. Infections associated with the genus *Edwardsiella*: the role of *Edwardsiella tarda* in human disease. *Clinical Infectious Diseases* 17: 742–748.

30. Abayneh, T., Colquhoun, D.J., Sørum, H., 2012. Multi-locus sequence analysis (MLSA) of *Edwardsiella tarda* isolates from fish. *Veterinary Microbiology* 158: 367–375.
31. Yang, M., Shao, S., Xiao, J., Wang, Q., Zhang, Y., 2013. Phylogenetic investigation of *Edwardsiella tarda* with multilocus sequence typing (MLST) and pulsed field gel electrophoresis (PFGE) typing methods. *Aquaculture* 410: 79–85.
32. Ko, R.C., 2006. Fish-borne Parasitic Zoonoses. In: Woo, P.T.K. (Ed.). *Fish Diseases and Disorders, Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections*. CAB International, pp. 592–628.
33. Chai, J.Y., Murrell, K.D., Lymbery, A.J., 2005. Fish-borne parasitic zoonose: status and issues. *International Journal for Parasitology* 35: 1233–1254.
34. Davydov, O.N., 2004. Ryba a onemocnění člověka. *Edice Metodik, VÚRH, Vodňany*, č. 74, 23 p.
35. Cook, J., Hou, P.C., Ho, H.C., Mcfadzean, A.J.S., 1954. Recurrent pyogenic cholangitis. *British Journal of Surgery* 42: 188–203.
36. Fung, J., 1961. Liver fluke infestation and cholangio-hepatitis. *British Journal of Surgery* 48: 404–451.
37. Hou, P.C., 1955. The pathology of *Clonorchis sinensis* infestation of the liver. *Journal of Pathology and Bacteriology* 70: 53–64.
38. Kim, M.S., Lee, J.S., Rim, H.J., 1982. Studies on the clinical aspects of clonorchiasis in Korea. *Korea University Medical Journal* 19: 107–121.
39. MacLean, J.D., Arthur, J.R., Ward, B.J., Gyorkos, T.W., Curtis, M.A., Kokoskin E., 1996. Common-source outbreak of acute infection due to the North American liver fluke *Metorchis conjunctus*. *Lancet* 347: 154–158.
40. Kuznetsova, V.G., Naumov, V.A., Belov, G.F., 2000. Metorchiasis in the residents of Novosibirsk area, Russia. *Cytobios* 102: 33–34.
41. Našincová, V., Moravec, F., Scholz, T., 1993. Trematodes of the common cormorant (*Phalacrocorax carbo*) in the Czech Republic. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 57: 31–46.
42. Sitko, J., Bizos, J., Sherrard-Smith, E., Stanton, D., Komorová, P., Heneberg, P., 2016. Integrative taxonomy of European parasitic flatworms of the genus *Metorchis* Loos, 1899 (Trematoda: Opisthorchidae). *Parasitology International* 65: 258–267.
43. Neimanis, A.S., Moraes, C., Bergman, A., Bignert, A., Höglund, J., Lundström, K., Strömberg, A., Bäcklin, B.M., 2016. Emergence of the zoonotic biliary trematode *Pseudamphistomum truncatum* in grey seals (*Halichoerus grypus*) in the Baltic sea. *PLoS ONE* 11: e0164782.
44. Näreaho, A., Eriksson-Kallio, A.M., Hekkinen, P., Snellman, A., Sukura, A., Koski, P., 2017. High prevalence of zoonotic trematodes in roach (*Rutilus rutilus*) in the Gulf of Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica* 59: 75–78.
45. Waeschenbach, A., Brabec, J., Scholz, T., Littlewood, D.T.J., Kuchta, R., 2017: The catholic taste of broad tapeworms – multiple routes to human infection. *International Journal for Parasitology* 47: 831–843.
46. Scholz, T., Kuchta, R., 2016: Fish-borne, zoonotic cestodes (*Diphyllobothrium* and relatives) in cold climates: a never-ending story of neglected and (re)-emergent parasites. *Food and Waterborne Parasitology* 4: 23–28.

47. Moravec, F., 2004. Metazoan Parasites of Salmonid Fishes of Europe. Academia Praha, 510 p.
48. Kuchta, R., Scholz, T., Brabec, J., Wicht, B., 2015: *Diphyllobothrium*, *Diplogonoporus* and *Spirometra*. In: L. Xiao, U. Ryan and Y. Feng (Eds). Biology of Foodborne Parasites. Food Microbiology Series (series editor: D. Liu), Section III Important Foodborne Parasites. CRC, Boca Raton, Florida Chapter 17, pp. 300–326.
49. Shimamura, Y., Muwanwella, N., Chandran, S., Kandel, G., Marcon, N., 2016. Common symptoms from an uncommon infection: gastrointestinal anisakiasis. Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology 2016: 5176502.

NÁKAZY RYB POVINNÉ HLÁŠENÍM

Miroslava Palíková



NÁKAZY RYB POVINNÉ HLÁŠENÍM

Miroslava Palíková

Seznam nákaz ryb povinných hlášením (nebezpečné náказы zvířat) je definován **veterinárním zákonem č. 166/1999 Sb.** (1) ve znění pozdějších předpisů jako nemoci, u kterých je zákonem stanovena ohlašovací povinnost. Tyto náказы jsou při výskytu ve vodách EU intenzivně řešeny. Výčet nebezpečných nákaz ryb je pravidelně aktualizován na základě aktuálních vědeckých poznatků a analýz (2). Základním právním předpisem upravujícím oblast akvakultury z hlediska nákaz ryb a jejich tlumení je **směrnice Rady 2006/88/ES** (3), která byla implementována do české legislativy v podobě **vyhlášky č. 290/2008 Sb.**, o veterinárních požadavcích na živočichy pocházející z akvakultury a na produkty akvakultury, o opatřeních pro předcházení a zdolávání některých nákaz vodních živočichů, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „**vyhláška č. 290/2008 Sb.**“) (4).

Náказы ryb označené jako nebezpečné (dále NN) jsou ve vyhlášce č. 290/2008 Sb. (5) rozděleny na základě vyhodnocení kritérií pro zařazení na seznam (výskyt v akvakultuře EU, produkční ztráty, dopad na životní prostředí) na exotické a neexotické.

Za **exotické** náказы ryb se považují takové náказы, které splňují kritéria pro zařazení na seznam exotických nákaz ryb uvedená v písmenu A části I přílohy č. 3 vyhlášky č. 290/2008 Sb. a jsou uvedeny na seznamu exotických nákaz v části II přílohy č. 3 vyhlášky č. 290/2008 Sb. Kritériem pro zařazení náказы ryb mezi exotické je podmínka, že se náказа nevyskytuje ve vodách EU a o patogenním původci není známo, že by se vyskytoval ve vodách EU. V případě, že by došlo k zavlečení této náказы do vod EU, mohla by mít značný hospodářský dopad a ničivý vliv na životní prostředí. Mezi exotické náказы patří v ČR pouze jediná náказа ryb, a to **epizootická nekróza krvetvorné tkáně (EHN)** – kap.1.2.2.

Za **neexotické** náказы ryb se z pohledu EU považují náказы, které splňují kritéria pro zařazení na seznam neexotických nákaz ryb uvedená v písmenu B části I přílohy č. 3 vyhlášky č. 290/2008 Sb. a jsou uvedeny na seznamu neexotických nákaz v části II přílohy č. 3 vyhlášky č. 290/2008 Sb. Kritériem pro zařazení náказы ryb mezi neexotické je podmínka, že několik členských států EU nebo regionů je prostých dané náказы a v případě zavlečení této náказы do členského státu EU náказы prostého by mohla mít značný hospodářský dopad nebo ničivý dopad na životní prostředí. Na úrovni hospodářství lze neexotickou náказu jen obtížně tlumit a bránit jejímu šíření bez použití přísných opatření pro tlumení. Mezi neexotické náказы v ČR patří **virová hemoragická septikémie (VHS), infekční nekróza krvetvorné tkáně (IHN), nakažlivá chudokrevnost lososů (ISA) a herpesvíroza koi (KHV)**.

Česká republika je jedním z mála států EU, které chovatelům při splnění určitých podmínek proplácení náhrady nákladů a ztrát vzniklých v souvislosti s výskytem ohniska nebezpečné náказы ryb. Postup likvidace ohnisek NN ryb upřesňuje právní předpis **prováděcí rozhodnutí Komise (EU) 2015/1554** (6).

V České republice je vypracován interní metodický návod Státní veterinární správy (SVS) pro potřeby úředních veterinárních lékařů krajských veterinárních správ Státní veterinární správy (KVS SVS), který je pravidelně aktualizován. V něm jsou uvedeny povinnosti chovatele a postupy KVS SVS – v případě podezření na výskyt NN, v případě potvrzení výskytu NN a principy pravidelného dozoru (7). Území a oblasti členských států EU s ohledem na výskyt neexotických nákaz se dle směrnice Rady 2006/88/ES dělí na pět kategorií: I – oblast prostá náказы, II – program dozoru, III – nedefinovaný status, IV – program eradikace a V – zamořená oblast. Celé

území ČR se považuje za **prosté ISA na základě historických podkladů** a s **nedefinovaným nálezovým statusem VHS, IHN a KHV**. V případě potvrzení nákazy se mění nálezový status na **zamořený**. Pravidelně se provádí dozor a odběr vzorků v rámci monitoringu na KHV, VHS a IHN (1,2).

Preventivní opatření proti zavlečení nákazy do chovu

Nejčastěji dochází k zavlečení nákazy v důsledku obchodování s rybami. Z tohoto důvodu je nutné znát nálezový status hospodářství, ze kterého jsou ryby nakupovány. Nesmí se přemísťovat ryby do oblastí s lepším nálezovým statusem. Dalším možným způsobem zavlečení nákazy do chovu je vodou nebo materiálním a přístrojovým vybavením.

Povinnosti chovatele v případě podezření na výskyt NN

Povinností chovatele, a potažmo všech dalších osob s profesním vztahem k vodním živočichům, je okamžitě nahlásit podezření na výskyt NN na místně příslušnou KVS SVS. Zároveň je povinen zamezit možnému šíření nákazy z chovu. Po příchodu úředního veterinárního lékaře je povinen postupovat podle jeho pokynů a poučení.

Postup KVS SVS v případě podezření na výskyt neexotické NN

Postup se řídí dle vyhlášky č. 290/2008 Sb. – §19. Po nahlášení provede příslušná KVS SVS místní šetření a odběr vzorků. Přednostně jsou odebírány živé ryby s příznaky onemocnění nebo čerstvě uhynulé ryby. Vzorky jsou zasílány do Národní referenční laboratoře (NRL) a v chovu jsou vydána předběžná opatření ve smyslu uzávěry lokality, zákaz přemísťování jiker, mlíčí a ryb z a do podezřelé oblasti, zákaz vstupu nepovolaných osob. Chovateli je nařízeno vypracovat soupis všech druhů a kategorií ryb živých, nemocných a uhynulých a neškodné odstranění uhynulých ryb. Při odběru vzorků vyhodnotí úřední veterinární lékař KVS SVS klinické příznaky a míru hytnutí ryb.

Postup KVS SVS v případě potvrzení výskytu neexotické NN

Postup se řídí dle vyhlášky č. 290/2008 Sb. – §27. Příslušná KVS SVS vydá mimořádná veterinární opatření (MVO) – rozhodnutí pro ohnisko a nařízení pro uzavřená pásma. Ryby v ohnisku vykazující klinické příznaky nákazy musí být utraceny a neškodně zpracovány; ryby tržní hmotnosti bez klinických příznaků nákazy mohou být na místě usmrceny a použity ke konzumu. Živé ryby nesmí být přemísťovány z a do ohniska, s výjimkou přímého zpracování klinicky zdravých ryb ve schválených zpracovatelských zařízeních a se souhlasem KVS SVS. Provede se mechanická očista a dezinfekce pomůček a zařízení v ohnisku. Nádrže se nechávají 6 týdnů ladem. Stanoví se pozorovací doba, během níž je prováděn odběr vzorků a kontrola zdravotního stavu ryb (5,7).

Odběry vzorků v rámci pravidelného monitoringu na NN Herpesvíroza Koi (KHV)

KHV se vyšetřuje u kapra obecného a kapra koi (*Cyprinus carpio*)(8). Vyšetření se provádí na celém území České republiky. Na **vybraných hospodářstvích** se odebere 30 kusů ryb. Výběr hospodářství je prováděn na základě vyhodnocení rizika KVS SVS. Monitoring je prováděn u věkové kategorie K1 a K2. Odběr ryb se provádí **1 x ročně** v období **od června do září** nebo **v období květen a říjen**, pokud jsou ryby chovány dva až tři týdny při teplotě **15–26 °C** nebo v období mimo teplotní optimum pro působení viru v souvislosti s výlovem nebo během jiné

manipulace s rybami – je však nutné odebrat vzorky v rozmezí 24 až 72 hodin po manipulaci s rybami. Ryby se zasílají na vyšetření živé, nejlépe v plastických pytlích s kyslíkovou atmosférou.

Virová hemoragická septikémie (VHS) a infekční hematopoetická nekróza (IHN)

Odběr vzorků na VHS a IHN se provádí u vnímavých ryb. Dle vyhlášky č. 290/2008 Sb. se za vnímavé druhy na VHS považují: sled' (*Clupea* spp.), síh (*Coregonus* sp.), štika obecná (*Esox lucius*), treska skvrnitá (*Gadus aeglefinus*), treska (*Gadus macrocephalus*), treska obecná (*Gadus morhua*), *Oncorhynchus* spp., pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*), treska hlubinná (*Onos mustelus*), pstruh obecný (*Salmo trutta*), pakambala velká (*Scophthalmus maximus*), šprot (*Sprattus sprattus*), lipan podhorní (*Thymallus thymallus*), platýs druhu *Paralichthys olivaceus*. Vnímavé ryby k IHN jsou losos keta (*Oncorhynchus keta*), losos kisuč (*Oncorhynchus kisutch*), losos masu (*Oncorhynchus masou*), pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*), losos nerka (*Oncorhynchus nerka*), losos pacifický rodurus (*Oncorhynchus rhodurus*), losos čavýča (*Oncorhynchus tshawytscha*) a losos obecný (*Salmo salar*).

Dvakrát ročně se na všech hospodářstvích schválených produkčních podniků akvakultury a na hospodářstvích registrovaných zařízení pro chov živočichů pocházejících z akvakultury chovajících odpovídající množství vnímavých druhů ryb odebírání ryba ve věku kategorie plůdek až do stáří 18 měsíců v období vzdálených od sebe minimálně čtyři měsíce s tím, že musí být při odběru teplota vody méně nebo rovna 14 °C (8). Jsou-li v hospodářství vytírány generační ryby, je nutné v jednom z termínů nahradit odběr ryb odběrem **ovariální tekutiny**. K vyšetření se odebírání 30 kusů ryb nebo ovariální tekutina od 30 kusů generačních ryb. Pokud je na hospodářství chován pstruh duhový, celý vzorek je přednostně tvořen pouze tímto druhem, i když jsou zároveň na hospodářství chovány další vnímavé druhy ryb. V případě, že na hospodářství není chován pstruh duhový, odebírání se poměrně vzorky ostatních vnímavých druhů do celkového počtu 30 kusů ryb. Pro vyšetření se přednostně zasílají ryby slabé, či vykazující změny v chování. Ryby se zasílají na vyšetření živé, nejlépe v plastických pytlích s kyslíkovou atmosférou (7).

Při pozitivním výsledku vyšetření jsou vzorky zasílány ke confirmaci do Národní referenční laboratoře pro virové choroby ryb.

Seznam SVÚ provádějících vyšetření na NN

SVÚ Praha a Olomouc – pouze vyšetření na KHV

SVÚ Jihlava a detašované pracoviště SVÚ České Budějovice a NRL VÚVeL v Brně – vyšetření na VHS, IHN, KHV

Potvrzená ohniska nebezpečných nákaz ryb v ČR v období let 2008–2018 (9).

	VHS	IHN	KHV
2008	3	0	nesledováno
2009	0	0	5
2010	2	1	1
2011	1	1	0
2012	0	0	0
2013	5	0	0
2014	12	4	0
2015	1	0	0
2016	3	0	2
2017	0	0	3
2018	0	0	2

Nákazová situace v Evropě v období let 2015–2017. Ohniska ISA se vyskytovala pouze ojediněle (v roce 2015 jedno ohnisko v Norsku, v roce 2017 dvě ohniska v Norsku a jedno ohnisko na Faerských ostrovech)(9).

Stát	Počet ohnisek VHS			Počet ohnisek IHN			Počet ohnisek KHV		
	2015	2016	2017	2015	2016	2017	2015	2016	2017
Belgie	2	2	0	1	0	0	0	0	3
Česká republika	1	3	0	0	0	0	0	2	2
Dánsko	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Faerské ostrovy	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Finsko	0	0	0	0	0	4	0	0	0
Francie	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Chorvatsko	0	0	0	1	0	0	0	4	0
Island	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Itálie	3	1	0	9	0	0	0	0	3
Litva	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Lucembursko	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Maďarsko	0	0	0	0	0	0	0	4	2
Německo	14	15	12	21	5	5	67	60	156
Norsko	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Polsko	11	5	1	1	9	4	2	2	1
Rakousko	5	5	2	0	0	0	1	1	0
Rumunsko	0	1	0	0	0	0	0	1	2
Slovensko	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Slovinsko	0	0	0	0	2	3	0	0	1
Velká Británie	0	0	0	0	0	0	11	35	23
Švýcarsko	1	0	1	2	0	0	0	0	0
Celkem	39	33	17	35	16	16	81	112	194

LITERATURA

1. Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů.
2. Vágnerová, M. 2016. Přesuny živých ryb v rámci Evropské unie. Atestační práce. 128 s.
3. Směrnice Rady 2006/88/ES o veterinárních požadavcích na živočichy pocházející z akvakultury a produkty akvakultury a tlumení některých nákaz vodních živočichů.
4. Filášová, L., Kouba, F., 2017. Tlumení nebezpečných nákaz ryb v souladu s legislativou EU. Rybářské sdružení České republiky. 4. ročník odborné konference. Sborník referátů. S. 23–25.
5. Vyhláška č. 290/2008 Sb., o veterinárních požadavcích na živočichy pocházející z akvakultury a na produkty akvakultury, o opatřeních pro předcházení a zdolávání některých nákaz vodních živočichů, ve znění pozdějších předpisů.
6. Provděcí rozhodnutí Komisie (EU) 2015/1554, kterým se stanoví prováděcí pravidla ke směrnici 2006/88/ES, pokud jde o požadavky na metody dozoru a diagnostické metody.
7. Revize MN SVS č.1/2013 ze dne 27.7.2015, kterým sa stanoví schvalování a registrace produkčních podniků akvakultury, postupy dozoru nad nebezpečným nákazami ryb a opatření při podezření a potvrzení těchto nákaz.
8. Metodika kontroly zdraví zvířat a nařízené vakcinace na rok 2018. SVS, dokument č.j. 63193/2017-MZE-17210, 72 s.
9. Webové stránky SVS ČR <http://eagri.cz/public/web/svs/portal/>

CHROBNÉ STAVY NEINFEKČNÍHO PŮVODU

*Zdeňka Svobodová, Stanislav Navrátil, Veronika Piačková,
Jan Mareš, Helena Modrá*



CHOROBNÉ STAVY NEINFEKČNÍHO PŮVODU

Zdeňka Svobodová, Stanislav Navrátil, Veronika Piačková, Jan Mareš, Helena Modrá

6.1. PORUCHY SOUVISEJÍCÍ SE ZMĚNAMI ZÁKLADNÍCH FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÝCH PARAMETRŮ VODY

Stanislav Navrátil, Zdeňka Svobodová

Kvalita vodního prostředí a hodnoty základních abiotických faktorů významně ovlivňují zdravotní stav ryb. Základními abiotickými ukazateli jsou teplota vody a obsah kyslíku ve vodě. Tyto dva faktory spolu se slunečním svitem ovlivňují intenzitu metabolismu ryb. Kvalitu vodního prostředí dále významně ovlivňují hodnoty pH, koncentrace amoniaku, dusitanů, dusičnanů a pufrovací schopnost vody představovaná různými formami CO₂ ve vodě.

6.1.1. POŠKOZENÍ RYB ZMĚNAMI TEPLoty, TEPLOTNÍ ŠOK

Úvod. Významným abiotickým faktorem uplatňujícím se na zdraví ryb a vzplanutí chorob je teplota vody. Ta v našich podmínkách, tedy podmínkách mírného pásma, kolísá během roku v rozmezí 0–30 °C (1,2). Všechny životní pochody ryb jako poikilotermních živočichů jsou pod výrazným vlivem teploty vody, protože teplota jejich těla je v podstatě shodná s teplotou vody (1).

Příčiny. Pobyt ryb ve vodě s nevhodnou teplotou, náhlá změna teploty vody (1,2).

Vnímavé druhy. Vnímavé jsou všechny druhy a kategorie ryb. Stupeň vnímavosti však může být různý. Například optimální teplota vody pro vývoj a růst kaprovitých ryb je v rozmezí 18–28 °C, lososovitých ryb 8–16 °C. Pro všechny druhy a ročníky ryb je nebezpečná náhlá změna teploty. K teplotnímu šoku dochází při přesazení ryb, kdy teplotní rozdíly vody jsou větší než 12 °C. U raných stádií plůdku ryb je třeba se vyvarovat náhlých změn teploty větších než 3 °C. V praxi tento problém nastává při vysazování raných stádií plůdku, která jsou odchovávána při teplotě kolem 20 °C a za nepříznivého počasí v měsíci květnu mají být vysazována do vody o teplotě kolem 15 °C. V těchto případech je třeba plůdek na nižší teplotu pozvolna adaptovat. U akvarijních druhů ryb z tropických a subtropických oblastí je zvlášť nebezpečný pokles teploty vody. Při dlouhodobém působení nízkých teplot vody (pod 18 °C) dochází u těchto druhů ryb ke snížení odolnosti a k následnému onemocnění (1).

Průběh a vývoj onemocnění. Při teplotním šoku ryby hynou za příznaků ochrnutí dýchacích a srdečních svalů. Při náhlém přesazení nakrmených ryb do chladnější vody (o 8 °C a více) dochází k poruchám nebo úplnému zastavení procesu trávení. Nestrávená nebo částečně natrávená potrava v trávicím ústrojí ryb plyne a nahromadění plynů způsobuje zvětšení tělní dutiny, ztrátu rovnováhy a úhyn ryb. U kaprů nakrmených krmivem s vysokým obsahem dusíkatých látek dochází v těchto případech v důsledku snížení intenzity metabolismu i ke snížení vylučování amoniaku přes žaberní ústrojí a následkem toho k velkému zvýšení koncentrace amoniaku v krevní plazmě, k autointoxikaci amoniakem a k úhynu (1,3).

Klinické příznaky. Při pobytu ryb v chladné vodě se zastavuje příjem krmiva, snižují se přírůstky a zvyšuje se vnímavost vůči chorobám. Při pobytu ve vodě s vysokou teplotou se mohou objevovat klinické příznaky dušení.

Patologické změny. Při teplotním šoku se může objevit křečovitě rozevření tlamy a odchlípení škeřelí. Tyto změny však mohou být u některých druhů nevýrazné. Může se objevit i hemolýza. V případě autointoxikace amoniakem dochází k silnému překrvení a otoku žaber (3).

Diagnóza. Stanoví se na základě posouzení teploty vody, případných změn teploty vody a klinických a patologických změn. V případě podezření na autointoxikaci amoniakem se provádí stanovení amoniaku v krevní plazmě (3). Diferenciální diagnóza není většinou nutná. Ochrnutí dýchacích svalů se může objevit rovněž při dušení ryb (1).

Prevence. Spočívá v optimalizaci teploty vody pro daný druh a kategorii. Je třeba se vyvarovat náhlých změn teploty, zejména u plůdku (1,4).

6.1.2. POŠKOZENÍ RYB VYSOKÝMI NEBO NÍZKÝMI HODNOTAMI pH

Úvod. Hodnota pH je velmi významným faktorem. V chovném prostředí je ovlivněna kvalitou napájecí vody (např. nízké pH vody z rašeliníšť)(1) nebo světlem. V případě bouřlivého rozvoje zelených řas a rostlinstva a jejich intenzivní asimilace může dojít k velkým výkyvům v chemismu vody a pH vody (1). Ve stojatých povrchových vodách dochází k vertikální stratifikaci koncentrace volného CO₂ vlivem fotosyntetické asimilace a disimilace planktonu. Zejména v období letní stagnace svrchní vrstvy (epilimnion) obsahují méně volného CO₂ než spodní vrstvy (hypolimnion). V důsledku spotřeby CO₂ může dojít ke vzrůstu hodnoty pH nad 8,3 (5). Rostliny při asimilaci odnímají z vody nejen volný CO₂, ale také vázaný v hydrogenuhličitanech, které představují ve vodě významný pufrovací systém. Odčerpají-li rostliny oxid uhličitý z hydrogenuhličitanu vápenatého, vznikne hydroxid vápenatý, který dále prudce zvedne hodnotu pH. Vysoké hodnoty pH negativně působí na zdraví ryb přímo, nebo podmiňují přeměnu amoniaku obsaženého ve vodě z pro ryby netoxické iontové formy na vysoce toxickou formu molekulární (1,3). Z hlediska toxikologie ryb není hodnota pH vody významná pouze jako taková. Je významná i z toho důvodu, že výrazně ovlivňuje toxicitu celé řady dalších látek (amoniaku, sulfanu, kyanidů, kovů a dalších)(1,8). Vysoké pH vody spolu s vysokým obsahem amoniaku ve vodě zamezuje vylučování konečného produktu dusíkatého metabolismu ryb – amoniaku žábry do vodního prostředí a je tedy důležitým faktorem pro vznik autointoxikace amoniakem (1,6,7). Hodnoty pH ovšem působí i na původce chorob ryb. U některých závažných rybích patogenů je dobře známa optimální hodnota pH pro jejich uplatnění. Například ektoparazitický bičíkovec *Ichthyobodo necator* se nejlépe uplatňuje při pH 4,5–5,8. V mírně kyselé vodě se dobře uplatňuje i čepelenka *Chilodonella piscicola*. Obecně je možné konstatovat, že mírně kyselá voda vytváří příznivé podmínky pro rozvoj ektoparazitůz (1).

Příčiny. Pobyt ryb ve vodě s nevhodným pH. V praxi se s nízkým pH vody setkáváme nejčastěji v jarním období při tání sněhu, zejména v oblastech rašeliníšť. Vysoké hodnoty pH vody jsou zjišťovány v eutrofizovaných nádržích (rybnících), kdy zelené organismy (fytoplankton, řasy a vyšší vodní rostliny) odčerpávají při intenzivní fotosyntetické asimilaci velké množství CO₂. Dochází tím k poruše neutralizační kapacity vody a ke zvýšení hodnoty pH na 9,0–10,0, výjimečně i nad 10,0. Ke změnám hodnoty pH vody dochází také při havarijním úniku kyselin nebo hydroxidů a jiných látek, které silně ovlivňují pH vody v recipientech (1,8). Nízké hodnoty pH vody se objevují rovněž v recirkulačních systémech v důsledku probíhajících nitrifikačních procesů (13).

Vnímavé druhy. Vnímavé jsou všechny druhy a kategorie ryb. Stupeň vnímavosti však může být různý. Optimální hodnota pH vody pro ryby se pohybuje v rozmezí 6,5–8,5. K poškození a k úhynu ryb dochází u lososovitých ryb (zejména pstruha obecného (*Salmo trutta*) a pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*)) při pH nad 9,2 a pod 4,8 a u kaprovitých ryb (zejména u kapra obecného [*Cyprinus carpio*] a lína obecného [*Tinca tinca*]) při pH nad 10,8 a pod 5,0. Lososovité ryby jsou citlivější na vysoké pH a odolnější k působení nízkého pH ve srovnání s kaprovitými rybami (1,8).

Průběh a vývoj onemocnění. Organismus ryb se proti působení nízkého nebo vysokého pH vody chrání zvýšeným vylučováním hlenu na kůži a na žábřácích (hlenové buňky jsou především na vnitřní straně skřelí). V případě mimořádně vysokých nebo nízkých hodnot pH dochází k poškození tkání zejména žaber (3).

Klinické příznaky. U ryb se objevuje neklid a následný útlum se snížením frekvence dýchacích pohybů (3).

Patologické změny. Typické je zvýšené zahlenění kůže, vnitřní strany skřelí a žaber, často s příměsí krve. Na žábřácích a na spodině těla se mohou vyskytovat hemoragie. Hlen je sklovitý, vodnaté konzistence (3).

Diagnóza. Stanoví se na základě posouzení pH vody, klinických a patologických změn. K záchytu nejvyšších hodnot pH vyvolaných fotosyntetickou asimilací je třeba provádět měření v odpoledních hodinách (3). Diferenciální diagnóza není při správném určení příčiny nutná (1).

Terapie. Zajištění dostatečného přívodu kvalitní vody nebo přelovení ryb do kvalitní vody, úprava pH vody (3,13).

Prevence. Optimalizace pH podle požadavků jednotlivých druhů ryb. Významným preventivním opatřením na pstruhárnách je monitorování hodnot pH přítokové vody a následná úprava pomocí hydrogenuhličitanu sodného (sody). Je to významné zejména v jarním období při tání sněhu, a to na lokalitách s přítokovou vodou z rašelinišť (3). Rovněž na recirkulačních systémech je potřeba hodnoty pH vody pravidelně sledovat a vhodným způsobem upravovat, např. přidávkem vápence nebo hydrogenuhličitanu sodného (13).

6.1.3. POŠKOZENÍ RYB NEDOSTATKEM KYSLÍKU

Úvod. Kyslíkatost vody úzce souvisí s dalšími abiotickými faktory, jako je teplota vody, světlo, atmosférický tlak, organické znečištění, a je velmi důležitým abiotickým faktorem ovlivňujícím zdravotní stav ryb (1). Kyslík se dostává do vody difúzí z atmosféry a voda je kyslíkem obohacována také při fotosyntetické asimilaci vodních rostlin. Kyslík se naopak spotřebovává při aerobním biologickém rozkladu organických látek, disimilaci fotoautotrofních organismů, respiraci vodních živočichů, nitrifikaci, oxidaci železa, manganu a sulfidů (9). Koncentrace kyslíku rozpuštěného ve vodě se vyjadřuje v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ nebo v procentech nasycení při dané teplotě a atmosférickém tlaku (8). Spotřeba kyslíku rybami závisí také na teplotě vody, pH, obsahu CO_2 , stresu, intenzitě metabolismu (po intenzivním nakrmení stoupá 2–4×), druhu a velikostní kategorii ryb. Nedostatek kyslíku rozpuštěného ve vodě vyvolává poruchy metabolismu a samostatný chorobný stav – dušení, který může vést až k úhynu ryb (1,3,8).

Hodnoty rozpustnosti kyslíku uvedené v tabulce 6.1.3.1 odpovídají 100% nasycení vody kyslíkem za dané teploty a atmosférického tlaku. Jestliže je naměřená koncentrace rozpuštěného kyslíku nižší, než by odpovídalo 100% nasycení, jedná se o kyslíkový deficit. Kyslíkový deficit je tedy koncentrace kyslíku chybějící při dané teplotě k jejímu nasycení (9).

Tab. 6.1.3.1. Rozpustnost kyslíku ve vodě při tlaku 101 325 Pa (9).

Teplota °C	Rozpustnost mg.l ⁻¹	Teplota °C	Rozpustnost mg.l ⁻¹
0	14,63	18	9,46
2	13,84	20	9,08
4	13,11	22	8,74
6	12,45	24	8,42
8	11,84	26	8,12
10	11,28	28	7,84
12	10,77	30	7,57
14	10,29	35	6,98
16	9,86	40	6,47

Příčiny. Pobyt ryb v prostředí s nedostatkem kyslíku, tedy tzv. kyslíkový deficit. Příčinou snížené koncentrace kyslíku ve vodě bývá nejčastěji znečištění vod organickými látkami (zemědělské, potravinářské a jiné odpadní vody, komunální vody (1,8).

Vnímavé druhy. Vnímavé jsou všechny druhy a kategorie ryb. Stupeň vnímavosti však může být různý. Velmi náročné jsou lososovité ryby s požadavkem na optimální koncentraci kyslíku ve vodě v rozmezí 8–10 mg.l⁻¹, příznaky dušení u těchto ryb lze pozorovat při poklesu kyslíku pod 3 mg.l⁻¹. Optimální koncentrace kyslíku ve vodě pro méně náročné kaprovité ryby se pohybuje v rozmezí 6–8 mg.l⁻¹, příznaky dušení u těchto ryb pozorujeme při poklesu kyslíku na 1,5–2 mg.l⁻¹ (1,8).

Průběh a vývoj onemocnění. K úhynu ryb udušením dochází nejčastěji v zimním období ve znečištěných komorových rybnících a v letním období ve znečištěných tocích při vysoké teplotě a nízkém průtoku vody. V silně eutrofizovaných rybnících vzniká velmi často kyslíkový deficit v pozdním letním období v časných ranních hodinách, a to v důsledku zvýšené spotřeby kyslíku při bakteriálním rozkladu organických látek a při disimilaci vodních organismů. V měsíci květnu a v červnu na silně úživných rybnících (např. stabilizačních) se stálým přítokem lehce rozkladných organických látek dochází k deficitu kyslíku také v důsledku nadměrného rozvoje zooplanktonu. Vedle vlastní vysoké spotřeby kyslíku zooplankton predacním tlakem silně redukuje producenty kyslíku (fytoplankton). V důsledku kvantitativního snížení fytoplanktonu dochází ke zvýšení průhlednosti vody často až na několik metrů (1,8).

Klinické příznaky. Při deficitu kyslíku dochází k příznakům dušení a k hynutí ryb postupně podle jejich náročnosti na kyslík. Ryby nepřijímají potravu, pohybují se pod hladinou, nouzově dýchají (kaprovité), v rybnících se shromažďují u přítoku, jsou malátné, nereagují na podráždění, ztrácejí únikový reflex a hynou (3).

Patologické změny. Z patologicko-anatomických změn je nápadná výrazně světlá barva kůže. Žábry jsou překrvené až cyanotické, žaberní lístky spleené, v přední oční komoře i v kůži skřelí jsou drobné hemoragie. U většiny dravých druhů ryb je tlama křečovitě rozevřená a víčka skřelí jsou výrazně odchlípnutá. Tento příznak je markantní zejména pokud jsou ryby v *rigor mortis* (3).

Diagnóza. Stanoví se na základě posouzení koncentrace kyslíku ve vodě stanovené na místě úhynu a potřeb jednotlivých druhů a kategorií ryb. V případě, že při místním šetření nebyla koncentrace kyslíku změřena, je možno diagnózu určit na základě hodnot CHSK (chemická spotřeba kyslíku) a BSK₅ (biochemická spotřeba kyslíku za 5 dnů) stanovených ve vzorcích

vody zaslaných k laboratornímu vyšetření. V chovu kaprovitých ryb se obvykle požadují ve vodě hodnoty CHSK stanovené Kubelovou metodou (CHSK_{Mn} do 20–30 mg.l^{-1} a hodnoty BSK_5 do 8–15 mg.l^{-1}). Vyšší kvalitu vody vyžaduje chov lososovitých ryb, kde má být CHSK_{Mn} do 10 mg.l^{-1} a BSK_5 do 5 mg.l^{-1} (3). Tato diagnóza není zcela přesná, neboť hodnoty CHSK a BSK_5 vyjadřují pouze schopnost organických látek odnímat vodě kyslík. Diferenciálně diagnosticky je třeba na základě komplexního vyšetření vyloučit jiné příčiny dušení ryb (poškození žaber, anémie, methemoglobinémie, otrava kyanidy).

Terapie. Okamžité odstranění kyslíkového deficitu provzdušňováním nebo prokysličováním vody (1).

Prevence. Péče o rybníční prostředí, zábrana organického zatížení, v kritických obdobích instalace aeračních systémů. Také v chovech akvarijních ryb je potřeba věnovat pozornost množství rozpuštěného kyslíku ve vodě, a to i přesto, že druhy pocházející z tropických a subtropických oblastí jsou k nedostatku kyslíku méně citlivé. Je to z důvodu nižšího množství nasycení vody kyslíkem při vyšších teplotách vody. Na druhé straně z důvodu vyššího metabolismu při vyšších teplotách vody mají tyto ryby i vyšší spotřebu kyslíku. Udržení dostatečného množství kyslíku ve vodě je možno zajistit pečlivou čistotou, pravidelným odkalováním detritu ze dna, dokonalou filtrací, cirkulací a provzdušňováním vody (1).

6.1.4. POŠKOZENÍ RYB PŘEKYSLIČENOU VODOU

Úvod. Za určitých okolností může dojít k přesycení vody kyslíkem a poškození ryb.

Příčiny. Přesycení vody kyslíkem. K poškození ryb překysličenou vodou může dojít např. při přepravě ryb v polyetylenových vacích pod kyslíkovou atmosférou nebo při prokysličování přepravní vody z kyslíkových láhví. Kritická hodnota nasycení vody kyslíkem z hlediska bezpečnosti pro ryby je 250–300 %. Při překročení této hodnoty dochází k poškození ryb (1).

Vnímavé druhy. Vnímavé jsou všechny druhy a kategorie ryb, zejména však raná stádia plůdku (1).

Průběh a vývoj onemocnění. Vysoká koncentrace kyslíku poškozuje buňky žaberního epitelu, což vede k rozvoji nekrobiotických procesů, poškození funkce žaber, sekundárním infekcím a rozvoji klinických příznaků dušení.

Klinické příznaky. Ojedinelé hynutí za příznaků dušení.

Patologické změny. Postižené ryby mají žábry nápadně světle červené a okraje žaberních lístků roztřepené. Po vysazení těchto ryb dochází k sekundárnímu zaplísnění.

Diagnóza. Stanoví se na základě posouzení anamnestických údajů (přeprava ryb pod kyslíkem), klinických a patologických změn a stanovení nasycení přepravní vody kyslíkem. Diagnosticky je třeba vyloučit všechny příčiny vedoucí k poškození žaber, rozvoji nekrobiotických procesů a sekundárních infekcí žaber (1).

Terapie. Úprava kyslíkatosti vody.

Prevence. Kontrola nasycení vody kyslíkem, zejména při výše uvedených způsobech přepravy ryb. To je zvláště důležité při přepravě ryb určených k dalšímu chovu (1).

6.1.5. POŠKOZENÍ RYB NADBYTKEM ROZPUŠTĚNÝCH PLYNŮ

Úvod. Toto onemocnění označované také jako plynová embolie (gas bubble disease, kesonová choroba) se vyskytuje spíše výjimečně. Pokud se však vyskytne, způsobuje značné ztráty (1).

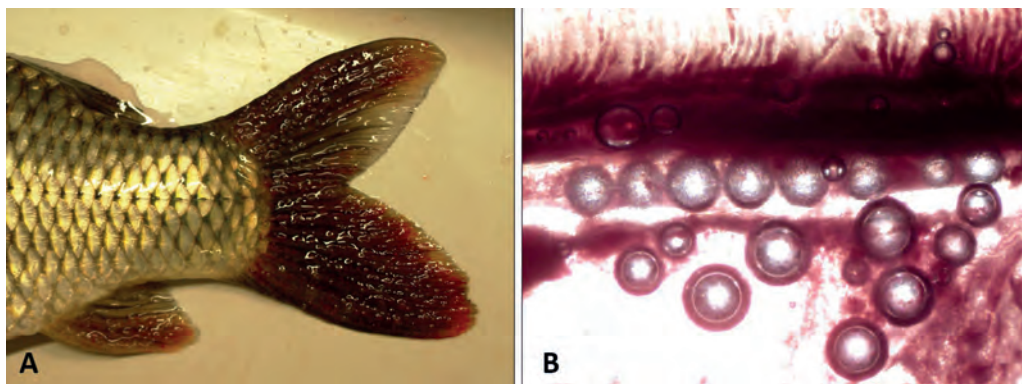
Příčiny. Onemocnění se vyskytuje u ryb žijících delší dobu ve vodě přesycené plyny. Plyny rozpuštěné v krvi vytvoří drobné bublinky, které mohou embolizovat krevní cévy a způsobit poškození různých orgánů. Větší množství plynů (vzduchu) se může ve vodě rozpustit při stlačení vody v přírodním potrubí zásobujícím odchovné nádrže při současném přísávání vzduchu (1). Přesycení vody plyny může rovněž způsobit zvýšení napětí povrchové blanky vody, které potom zapříčiní nenaplnění plynového měchýře raných stádií ryb.

Vnímavé druhy. Onemocnění se vyskytuje především u plůdku lososovitých, ale i jiných druhů ryb. V praxi byl zaznamenán úhyn pstruhů a sivenů téměř tržní velikosti (19).

Průběh a vývoj onemocnění. V důsledku embolizace dochází k cirkulačním poruchám, které mohou vést až k úhynu ryb.

Klinické příznaky. V případě embolizace žaber se mohou vyskytovat příznaky dušení.

Patologické změny. Na kůži ryb se nacházejí drobné hrbolky vyplněné plynem (obr. 6.1.5.1). V důsledku cirkulačních poruch vyvolaných embolizací cév dochází k ischemii a nekróze postižených tkání (1,11).



Obr. 6.1.5.1. Bublinky plynu jsou patrné jako množství hrbolků na ploutvích ryb (kapr obecný)(A); při mikroskopickém vyšetření žaber nacházíme bublinky plynu v cévách (B). (Foto: M. Palíková)

Diagnóza. Stanoví se na základě anamnestických údajů, klinických a patologických změn a stanovení nasycení vody plyny. Je třeba si uvědomit, že standardně měříme pouze obsah rozpuštěného kyslíku. I mírné přesycení vody kyslíkem může však signalizovat přesycení vody plyny.

Terapie. Terapie se neprovádí. Je potřeba provést úpravy vedoucí k odplynění vody včetně rozstříku.

Prevence. Prevence spočívá v zábraně vzniku podmínek pro tvorbu plynových embolií.

6.1.6. POŠKOZENÍ RYB SVĚTLEM

Úvod. Světlo je důležitým faktorem ovlivňujícím stav životního prostředí. Vysoká intenzita osvětlení může negativně ovlivnit vývoj jiker a raných stádií plůdku některých druhů ryb. Vývoj jiker těchto druhů v přírodních podmínkách obvykle probíhá v příšeří nebo ve tmě (1).

Příčiny. Prudké osvětlení vyvíjejících se jiker.

Vnímavé druhy. Vnímavé jsou především jikry lososovitých ryb a ryb citlivých na světlo. Intenzita osvětlení nad 1600 luxů vyvolává jejich poškození. Intenzita denního světla se pohybuje okolo 3000 luxů (1).

Průběh a vývoj onemocnění. Vysoká intenzita osvětlení se projevuje vyšší úmrtností jiker a embryí ryb a poškozením plůdku.

Klinické příznaky. Vyšší ztráty jiker.

Patologické změny. Dystrofické změny jaterního parenchymu raných stádií plůdku, deformace páteře, vývoj zmenšeného počtu paprsků v ploutvích apod.

Diagnóza. Je založena na anamnestických údajích a posouzení klinických příznaků a patologických změn. Je třeba vyloučit další možné příčiny poruch vývoje jiker a plůdku.

Terapie. Neprovádí se.

Prevence. Spočívá v zajištění vhodných světelných poměrů při líhnutí jiker a odchovu raných stádií plůdku (1).

6.1.7. POŠKOZENÍ RYB AMONIAKEM

Úvod. Amoniak je v našich podmínkách jednou z nejčastějších příčin poškození ryb (12). Znečištění recipientů amoniakem může být organického původu (komunální vody, bodové a plošné zemědělské znečištění, biochemická redukce dusičnanů a dusitanů obsažených ve vodě) nebo anorganického původu (průmyslové odpadní vody z plynáren, koksáren a generátorových stanic, splachy průmyslových hnojiv). Ve vodě nebo v biologických tekutinách se amoniak nachází jednak ve formě molekulární – nedisociované (NH_3) a jednak ve formě amonného iontu – disociované (NH_4^+). Vzájemný poměr těchto dvou forem závisí na hodnotě pH a na teplotě prostředí (tab. 6.1.7.1)(5). Z hlediska toxického účinku je důležité, že stěna buněk je poměrně nepropustná pro amonný iont NH_4^+ , zatímco molekulární amoniak NH_3 proniká přes tkáňové bariéry velmi snadno a je tedy pro ryby jedovatý. Zvláštní afinitu má amoniak k mozku. Také v průběhu otravy ryb amoniakem vystupují do popředí nervové poruchy (3). Při sledování kvality vody v recipientech a v rybochovných zařízeních je stanovována koncentrace veškerého amoniaku. Z hlediska toxikologického působení je třeba znát koncentraci nedisociovaného toxického amoniaku (NH_3). Tato koncentrace je zjišťována z naměřených hodnot veškerého amoniaku ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$), teploty a hodnoty pH vody (13). Toxicita amoniaku je vedle teploty a hodnoty pH vody ovlivněna koncentrací rozpuštěného kyslíku ve vodě. Se snižující se koncentrací kyslíku ve vodě stoupá toxicita amoniaku. Ryby mohou být poškozeny jednak amoniakem exogenním (otrava ryb amoniakem) a jednak amoniakem endogenním (autointoxikace ryb amoniakem)(1,3).

Tab. 6.1.7.1. Závislost podílu obsahu NH_3 v celkovém amoniaku na pH a teplotě vody (5).

pH vody	Podíl obsahu NH_3 (%)				
	5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C
7	0,12	0,175	0,26	0,37	0,55
8	1,19	1,73	2,51	3,62	5,21
9	10,73	14,95	20,45	27,32	35,46
10	54,59	63,74	71,99	78,98	84,6
11	92,32	94,62	96,26	97,41	98,21

6.1.7.1. Otrava ryb amoniakem

Příčiny. Toxická koncentrace nedisociovaného amoniaku ve vodním prostředí.

Vnímavé druhy. Vnímavé jsou všechny druhy a kategorie ryb. Stupeň vnímavosti však může být různý (1).

Průběh a vývoj onemocnění. Amoniak má afinitu k mozku. V průběhu otravy ryb amoniakem do popředí vystupují nervové poruchy (3).

Klinické příznaky. Při otravě amoniakem ryby zpočátku jeví mírný neklid, zvyšuje se frekvence pohybů skřelí, ryby se zvedají k hladině, u kaprovitých lze pozorovat nouzové dýchání. Postupně se zvyšující neklid způsobuje zrychlené pohyby, pohyby skřelí jsou nepravidelné a nastupuje fáze excitace. Ryby silně reagují na podněty z vnějšího prostředí, ztrácejí rovnováhu, vyskakují nad hladinu, je možné pozorovat tonicko-klonické křeče svaloviny. Ryby se položí na bok, mají křečovitě rozevřenou tlamu a skřele. Poté následuje krátké období zdánlivého zotavení. Ryba zaujme normální polohu a jeví mírný neklid. Tato fáze je vystřídána novou silnou excitací, zblednutím povrchu těla a následuje úhyn ryb (3).

Patologické změny. Kůže ryb otrávených amoniakem je světlé barvy, silně až velmi silně zahleněná. V některých případech je možné pozorovat drobné hemoragie, zejména při bázi prsních ploutví a i v přední oční komoře. Žábry jsou silně překrvené a silně zahleněné, u ryb z prostředí s vysokými koncentracemi amoniaku dochází ke krvácení ze žaber. Hlen na kůži a žábrách je matný. Orgány tělní dutiny jsou překrvené, parenchymatózní orgány jeví dystrofické změny (3).

Diagnóza. Stanoví se na základě klinických příznaků, patologických změn a koncentrace toxického amoniaku ve vodě. Objektivní diagnózu, tj. průkaz zvýšené koncentrace amoniaku v krevní plazmě a v mozku, lze provést pouze u ryb živých s příznaky otravy. Koncentrace amoniaku se zvyšuje v tomto případě 5–10×. Fyziologická koncentrace amoniaku v krevní plazmě kaprů se ve vegetačním období pohybuje v rozmezí 500–700 $\mu\text{mol.l}^{-1}$, v zimním období 50–100 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ (1,3). Analýzu mozkové tkáně za účelem diagnostiky otravy ryb amoniakem lze provést u uhynulých ryb. Platí to pouze za předpokladu, že mozek bude odebrán bezprostředně po úhynu nebo u ryb zmrazených, které byly zmrazeny opět bezprostředně po úhynu. Diferenciálně diagnosticky je třeba odlišit jiné choroby a chorobné stavy charakterizované nervovými příznaky a autointoxikací amoniakem (3).

Terapie. Okamžité přesazení ryb do kvalitní vody.

Prevence. Zábрана znečištění vodního prostředí amoniakem.

6.1.7.2. Autointoxikace ryb amoniakem

Příčiny. Amoniak je výsledným produktem dusíkatého metabolismu u ryb a je z převážné části vylučován přes žaberní ústrojí do vodního prostředí. V případě, že je jeho vylučování z nějaké příčiny omezeno (náhlý pokles teploty vody, náhlý pokles koncentrace kyslíku, vysoké hodnoty pH vody, poškození žaber), dochází i k výraznému zvýšení koncentrace amoniaku v krvi a k tzv. autointoxikaci. Hlavními příčinami jsou náhlý pokles teploty a náhlý pokles koncentrace kyslíku ve vodě. Ve většině případů došlo k autointoxikaci amoniakem po přesazení nakrmených kaprů do vody s nižší teplotou (o 5 až 8 °C). Jako příklad je možné uvést letní odlov tržních kaprů na krmných místech v rybníce a jejich následné přesazení do sádek, kde teplota vody je výrazně nižší (dáno rozdílem teplot v rybničním chovu a na sádkách, nezdědky využívajících vodu z obecně chladnějších vodních toků). Byl diagnostikován i případ autointoxikace u plůdku kapra v rybníce v podzimním období. Teplota vody v rybníce se pohybovala kolem 14–18 °C, plůdek byl přikrmován krmnou směsí s vysokým obsahem N-látek. Následovalo prudké ochlazení, pokles teploty v rybníce na 8 °C a úhyn plůdku v důsledku autointoxikace amoniakem (1,3,8). K autointoxikaci ryb amoniakem v důsledku náhlého poklesu koncentrace kyslíku dochází v jarním období na eutrofních rybnících. Na těchto rybnících dochází v jarním období k silnému rozvoji fytoplanktonu. Vlivem intenzivní fotosyntetické asimilace dochází k odčerpání oxidu uhličitého z hydrogenuhličitanového komplexu, a tím ke snížení pufrací kapacity vody. Následkem toho se hodnota pH zvyšuje až nad 10. Koncentrace veškerého amoniaku ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$) v rybniční vodě bývá rovněž vysoká a v důsledku vysokých hodnot pH je vysoká i koncentrace nedisociovaného amoniaku (NH_3). Předpokládáme, že v důsledku příznivého působení přesycení vody kyslíkem, které je pro časná jarní období typické, nedochází k výraznému akutnímu poškození ryb. Ale v důsledku vysoké hodnoty pH a vysoké koncentrace NH_3 ve vodě dochází k poškození žaber. Sníží se příjem potravy (hrubý zooplankton). Tento fenomén a zvyšující se teplota vody vede k prudkému rozvoji hrubého zooplanktonu. Vedle vlastní vysoké spotřeby kyslíku, zooplankton vyžíráním tlakem silně redukuje producenty kyslíku (fytoplankton) a dochází k poklesu koncentrace chlorofylu a ke zvýšení průhlednosti vody. Následkem toho dochází z původního přesycení k prudkému poklesu koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě během 1–2 dnů na 80–40% i méně. Toto je kritický okamžik pro projevení se autointoxikace ryb amoniakem, dříve nazývané toxická nekróza žaber (1,3,8).

Vnímavé druhy. Vnímavé jsou všechny druhy ryb. U nás se vyskytuje především v chovech kaprů. Podmiňujícím faktorem je zpomalení metabolismu (3,14). Akutní letální koncentrace (48hLC50) NH_3 pro lososovité ryby se pohybují v rozmezí 0,5–0,8 mg.l⁻¹, pro kaprovité v rozmezí 1–1,5 mg.l⁻¹. Nejvyšší přípustná koncentrace (tj. taková koncentrace látky a jejich metabolitů ve vodách, která nemá při chronickém působení negativní účinky na organismus – NPK) je pro lososovité ryby 0,0125 mg.l⁻¹ a pro kaprovité 0,05 mg.l⁻¹ (8).

Průběh a vývoj onemocnění. V důsledku zpomalení metabolismu dojde i ke zpomalení Krebsova cyklu, což vede k deficitu mediátoru (kyselina 2-oxoglutarová) transportujícího amoniak do žaber. To vede ke zvýšení koncentrace amoniaku v krvi a následně k autointoxikaci. Koncentrace amoniaku v krevní plazmě se zvyšuje 5–10x (3,14).

Amoniak koncentrující se v žaberních cévách působí toxicky na endotel těchto cév. Tím dochází k cirkulačním poruchám a rozvoji nekrobiotických procesů na žábrách.

Klinické příznaky. Z klinických příznaků autointoxikace ryb amoniakem kaprů vystupuje do popředí shlukování ryb v hlubších a stinných částech rybníka, v sádkách se ryby shromažďují u stěn nádrží, ojediněle je možno pozorovat trhavé pohyby, vyskakování nad hladinu, křeče

svaloviny. V pokročilém stádiu onemocnění pak ztmavnutí povrchu těla, ztráta nebo snížení únikové reakce a nouzové dýchání. Ryby nepřijímají krmivo (1,8).

Patologické změny. Postižené ryby mají tmavší barvu těla. Typickým příznakem je silné překrvení, tmavě červené zbarvení a edematózní zduření žaber s následnou nekrózou respiračního epitelu a jeho odlupováním (1,8).

Diagnóza. Diagnóza se stanoví na základě posouzení možných příčin, klinických příznaků, patologických změn a stanovení koncentrace amoniaku v krevní plazmě. Je třeba zejména odlišit prostou otravu amoniakem vyvolanou zvýšenou koncentrací toxického amoniaku ve vodě a autointoxikaci amoniakem. Pro diagnózu je dále rozhodující podrobné hydrochemické a hydrobiologické vyšetření rybníční vody (1).

Terapie. Neprovádí se.

Prevence. Prevencí výskytu těchto případů autointoxikace amoniakem je nevystavovat ryby s plným trávicím traktem (zejména krmiv s vysokým obsahem N-látek) stresovým faktorům (např. náhlému poklesu teploty vody nebo poklesu koncentrace kyslíku rozpuštěného ve vodě)(3). Preventivní opatření k omezení frekvence výskytu autointoxikace kaprů v silně eutrofních rybnících jsou zaměřena na optimalizaci hydrobiologických a hydrochemických poměrů, na zajištění dobrého zdravotního stavu obsádky, na regulaci přikrmování atd. Významným konkrétním preventivním opatřením je stanovení vhodné doby jarního vysazování ryb a zabránění deficitu kyslíku. Ke stanovení vhodné doby jarního vysazování násad (K_2) do rybníků s opakovaným výskytem autointoxikace amoniakem kaprů byl navržen jednoduchý biologický klecový test. Princip testu záleží v určení schopnosti kaprů v daných fyzikálně-chemických podmínkách rybníční vody vyloučit z krve amoniak, jehož zvýšená koncentrace byla vyvolána perorální aplikací amoniaku ve škrobovém gelu s obsahem amoniaku v dávce 300 mg na 100 ml. Jestliže v průběhu 6 hodin po aplikaci dojde k poklesu koncentrace amoniaku v krevní plazmě na původní hodnotu, je možné provést vysazení ryb. V opačném případě, kdy koncentrace amoniaku v krevní plazmě kaprů zůstává zhruba 3× vyšší ve srovnání s původní hodnotou, je nutné vysazení rybníka přeložit na období, kdy fyzikálně-chemické vlastnosti rybníční vody rybám umožní vylučovat metabolický amoniak (1,8).

6.1.8. POŠKOZENÍ RYB DUSITANY A DUSIČNANY

Úvod. Dusitany zpravidla doprovázejí dusičnany a amoniak v povrchových vodách. Vyskytují se jen v malých koncentracích, protože jsou málo stálé. Snadno oxidují nebo se chemicky i biochemicky redukují. Dusičnany jsou konečným stupněm rozkladu organických dusíkatých látek v aerobním prostředí. V nízkých koncentracích jsou obsaženy ve všech povrchových vodách. V půdě nejsou téměř vůbec zadržovány a jsou vyplavovány do recipientů. Hlavním zdrojem znečištění povrchových vod dusičnany je hnojení zemědělsky obdělávané půdy dusíkatými hnojivy. Dusičnany jsou látky pro ryby velmi slabě jedovaté. Toxické a letální účinky se projevují až v koncentracích nad 1000 mg.l⁻¹. Jako NPK (nejvyšší přípustná koncentrace) dusičnanů pro kapra se udává hodnota 80 mg.l⁻¹, pro pstruha duhového 20 mg.l⁻¹ (1,8). Závažným problémem jsou vysoké koncentrace dusitanů v recirkulačních systémech při nesprávné funkci biofiltru.

Příčiny. V recirkulačních systémech probíhá odbourávání amoniaku, jako hlavního produktu dusíkatého metabolismu ryb, v biofiltrech v procesu nitrifikace. V tomto procesu dochází k biologické oxidaci amoniakálního dusíku na dusitany a následně na dusičnany. Pokud je druhá fáze nitrifikace pomalá, dochází k hromadění dusitanů ve vodě.

Vnímavé druhy. Toxicita dusitanů pro ryby značně kolísá a závisí na mnoha vnitřních i vnějších faktorech (druh a věk ryb, kvalita vody a další). Významný vliv na toxicitu dusitanů má koncentrace chloridů ve vodě. Nízká koncentrace chloridů ve vodě zvyšuje toxicitu dusitanů. Pro odhad toxicity se doporučuje sledovat váhový poměr (označovaný jako chloridové číslo) koncentrací chloridů a dusitanů (Cl⁻/N-NO₂⁻) optimálně tento váhový poměr má být ≥ 100 (20).

Průběh a vývoj onemocnění. Dusitanové ionty se dostávají do organismu ryb především přes žábry pomocí chloridových buněk. V krvi se vážou na hemoglobin a vytváří methemoglobin, čímž se snižuje transportní kapacita krve pro kyslík. Zvýšené množství methemoglobinu v krvi bývá doprovázeno hnědým zbarvením krve a žaber. Pokud množství methemoglobinu v krvi nepřesáhne 50 % z celkového množství hemoglobinu, nedochází zpravidla k úhynům ryb. Vyšší obsah methemoglobinu v krvi (70–80 %) je doprovázen změnou chování ryb, ryby jsou malátné. Při dalším zvýšení obsahu methemoglobinu v krvi ztrácejí ryby orientaci a schopnost reagovat. Úhyny však nemusí nastat, protože červené krvinky ryb obsahují enzym reduktázu, který přeměňuje methemoglobin na hemoglobin. Tímto způsobem lze dosáhnout normální koncentrace hemoglobinu během 24–48 hodin, jsou-li ryby převedeny do vody bez přítomnosti dusitanů (1,8).

Klinické příznaky. Malátnost, ztráta orientace, ztráta reflexů, úhyn (1,3,8).

Patologické změny. Hnědé zbarvení žaber a krve (1,3,8).

Diagnóza. Diagnóza se stanoví na základě klinických příznaků, patologických změn, hydrochemického vyšetření a stanovení methemoglobinu v krvi. Diferenciální diagnóza při pozitivním hydrochemickém a hematologickém vyšetření není nutná (1,8).

Terapie. Přesazení ryb do vody bez dusitanů, úprava hmotnostního poměru Cl⁻/N-NO₂ přidáním NaCl do vody.

Prevence. Sledování ukazatelů organického zatížení vody, zábrana splachů z polí, pravidelné hydrochemické vyšetření zaměřené na stanovení poměru chloridových a dusitanových iontů (1,8).

Na rybochovných objektech s recirkulací vody je nutno:

- při zahájení provozu nasazovat obsádku ryb postupně, v souladu s aktuální účinností biologického filtru. Plné nasazení je možné provést až po dokonalém zapracování filtru.

- v objektu průběžně kontrolovat hodnoty pH, kyslíku, amoniaku, dusitanů, dusičnanů, chloridů a poměr chloridů a dusitanů.
- v léčbě ryb nepoužívat antibiotika nebo dezinfekční látky, které negativně ovlivňují činnost biofiltru (15).

6.1.9. POŠKOZENÍ RYB OXIDEM UHLIČITÝM

Příčiny. Oxid uhličitý je ve vodě rozpuštěn v molekulární formě, jen asi 10 % tvoří kyselinu uhličitou H_2CO_3 . Obě tyto formy výskytu tvoří tzv. volný CO_2 . Iontové formy, tj. vázaný oxid uhličitý, představují ionty hydrogenuhlíčanové HCO_3^- a uhličitanové CO_3^{2-} . Jejich přítomnost ve vodě je významná z hlediska neutralizační kapacity vody. V tekoucích povrchových vodách je volný CO_2 obvykle přítomen jen v jednotkách $mg.l^{-1}$ a nepřesahuje 20–30 $mg.l^{-1}$. Ve stojatých povrchových vodách dochází ke stratifikaci obsahu CO_2 vlivem fotosyntetické asimilace fytoplanktonu, vrchní vrstvy obsahující obvykle méně volného CO_2 než vrstvy spodní. V povrchových vrstvách může být spotřeba CO_2 při fotosyntéze tak značná, že může dojít i k úplnému vyčerpání obsahu volného CO_2 , a tím ke vzrůstu pH vody nad 8,3. Prosté podzemní vody obsahují obvykle několik desítek $mg.l^{-1}$ volného CO_2 (1,8).

Vnímavost a podmiňující faktory. Vliv oxidu uhličitého na ryby je přímý a nepřímý. Nepřímý účinek volného i vázaného CO_2 na ryby se projevuje v jeho vlivu na pH vody. Přímý negativní účinek vzniká při nadbytku nebo nedostatku volného CO_2 . Za nejvyšší přípustnou koncentraci pro pstruha duhového se pokládá hodnota 20 $mg.l^{-1}$ volného CO_2 , pro kapra 25 $mg.l^{-1}$ volného CO_2 (při kyselinové neutralizační kapacitě $KNK_{4,5}$ 0,5 $mmol.l^{-1}$). Se zvyšující se kyselinovou kapacitou vody klesá citlivost ryb k volnému oxidu uhličitému (1,8).

Průběh a vývoj onemocnění. Ve vodách s nedostatkem kyslíku a s intenzivními mikrobiálními rozkladnými pochody při sádkování a transportu ryb a také při používání nedostatečně provzdušněné podzemní vody mohou vysoké koncentrace volného CO_2 ohrozit obsádku ryb. Ryby v těchto případech nejsou schopny vyloučit dostatečné množství CO_2 , dojde k poruše acidobazické rovnováhy krve a vzniká acidóza. Výměna CO_2 a O_2 v krvi je omezena. Daleko častější jsou však případy nedostatku volného oxidu uhličitého ve vodě. Vznikají následkem silného odčerpání volného CO_2 fotosyntetickou asimilací fytoplanktonu, umělým změkčováním vody z elektráren, vytěsňováním CO_2 při intenzivním provzdušňování vody a v dalších případech. Koncentrace volného oxidu uhličitého pod 1 $mg.l^{-1}$ vede opět k poruše acidobazické rovnováhy u ryb a k alkalóze. Zvláště nebezpečný je tento stav u plůdku kaprovitých ryb v období přechodu z endogenní na exogenní výživu. Tento plůdek dýchá povrchem těla a není schopen žádné respirační regulace acidobazické rovnováhy. Nízký parciální tlak volného CO_2 ve vodě má za následek vysoký výdej CO_2 z organismu, vznik alkalózy a následný úhyn (1,8).

Klinické příznaky. Při vysoké koncentraci CO_2 a vývoji acidózy ryby zintenzivňují dýchání, zneklidní, ztrácejí rovnováhu a může nastat až úhyn. Plůdek kaprovitých ryb se při nedostatku volného CO_2 shlukuje při hladině a ačkoliv koncentrace kyslíku ve vodě je dostatečná, jeví příznaky dušení (1,8).

Patologické změny. Nejsou specifické. Někteří autoři popisují (11,16) výskyt nefrokalcinózy (obr. 6.1.9.1) u ryb vystavených zvýšeným koncentracím oxidu uhličitého, jiní (18) poškození očí. Nízká koncentrace CO_2 vedla k úhynu štičího plůdku (19).



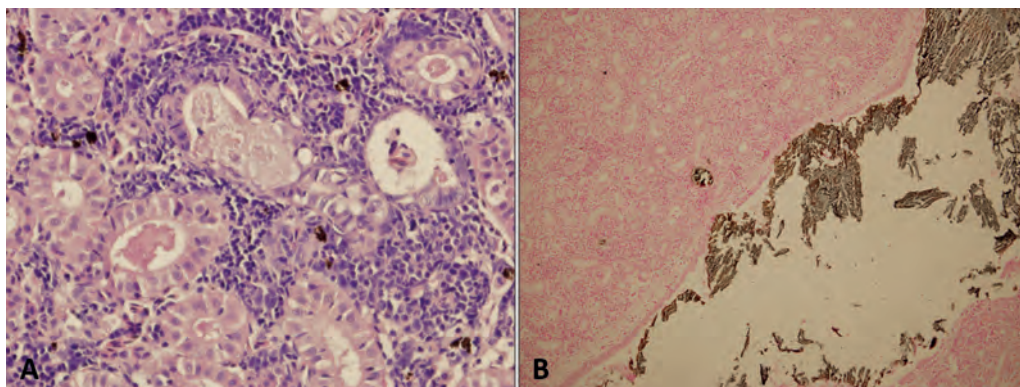
Obr. 6.1.9.1. Při zvýšených koncentracích CO_2 mohou vznikat drobné léze na povrchu těla (A); rovněž může docházet k ukládání vápenatých kalcifikátů do ledvin, což se projeví jejich zduřením (B, C) a mramorováním (B). (Foto: M. Palíková)

Diagnóza. Stanoví se na základě klinických příznaků, posouzení koncentrace CO_2 a O_2 ve vodě a případně i na základě vyšetření acidobazické rovnováhy krve (zejména u větších ryb). Nefrokalcinózu lze prokázat histologicky (obr. 6.1.9.2).

Terapie. Přesazení ryb do vhodného prostředí.

Prevence. Pravidelná kontrola hydrochemických ukazatelů, zejména při přechodu plůdku kaprovitých ryb z endogenní na exogenní výživu. Doporučuje se nenapájet líhně vodou z eutrofizovaných rybníků (1,8).

Poznámka. Vysoké koncentrace CO_2 mají sedačnické a anestetické účinky. Pro sedaci a anestézii ryb je možné využít koncentrace od 200 do 400 mg.l^{-1} získané probubláváním CO_2 do vody. Anestézie se objeví obvykle během 5 minut. Probublávání CO_2 je možné využít i k eutanázii ryb, když v sycení vody CO_2 pokračujeme, dokud ryby neuhynou. K úhynu ryb dochází za více než 10 minut po zástavě dýchání (1,8).



Obr. 6.1.9.2. V histologických řezech ledvin nacházíme při nefrokalcinóze ledvinné tubuly vyplněné kalcifikáty (A)(barvení H&E); že se jedná o soli vápníku, prokážeme specifickým barvením dle Kossy (B). (Foto: F. Tichý)

LITERATURA

1. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. Choroby ryb. VFU Brno, 155 s.
2. Svobodová, Z., Lloyd, R., Máchová, J., Vykusová, B., 1993. Water quality and fish health. EIFAC Technical Paper 54, FAO, Rome, 59 p.
3. Svobodová, Z., Modrá, H. (Eds.), 2017. Veterinární toxikologie v klinické praxi. Profi Press, Praha, 279 s.
4. Máchová, J., Svobodová, Z., 2014. Teplota vody. In: Vodní toxikologie pro rybáře. FROV JU, České Budějovice, s. 151–160.
5. Pitter, P., 1981. Hydrochemie. SNTL, Praha, 376 s.
6. Svobodová, Z., Máchová, J., Faina, R., 1984. Vliv krmiva s různým obsahem dusíkatých látek na ukazatele bílkovinného metabolismu u kapra obecného. Živočišná výroba 29: 991–1000.
7. Svobodová, Z., Máchová, J., Faina, R., 1985. The diurnal pattern of N-ammonia levels in the blood of carp given feeds containing different amounts of crude protein. Práce VÚRH Vodňany 14: 53–62.
8. Svobodová, Z., a kol., 1987. Toxikologie vodních živočichů. SZN, Praha, 232 s.
9. Pitter, P., 2009. Hydrochemie. VŠCHT, Praha, 579 s.
10. Gultepe, N., Ates, O., Hisar, O., Beydemir, S., 2011. Carbonic anhydrase activities from the rainbow trout correspond to the development of acute gas bubble disease. Journal of Aquatic Animal Health 23: 134–139.
11. Vatsos, I.N., Agnelidis, P., 2010. Water quality and fish diseases. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society 61: 40–48.
12. Svobodová, Z., Sehonová, P., Kaut, J., Pazourová, M., 2011. Analýza příčin havarijního znečištění povrchových vod a následných úhynů ryb v České republice v období 1989 až 2010. Bulletin VÚRH Vodňany 47: 47–56.
13. Velíšek, J., Svobodová, Z., Blahová J. a kol., 2014. Vodní toxikologie pro rybáře. FROV JU České Budějovice, 600 s.

14. Smutná, M., Vorlová, L., Svobodová, Z., 2002. Pathobiochemistry of ammonia in the internal environment of fish (Review). *Acta Veterinaria Brno* 71: 169–181.
15. Kocour Kroupová, H., Máchová, J., Svobodová, Z., Valentová, O., 2014. Dusitany. In: *Vodní toxikologie pro rybáře*. FROV JU, České Budějovice, s. 192–205.
16. Good, C., Davidson, J., Welsh, C., Snekvik, K., Summerfelt, S., 2010. The effect of carbon dioxide on performance and histopathology of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in water recirculation aquaculture systems. *Aquacultural Engineering* 42: 61–56.
17. Moran, D., Tubbs, L., Stottrup, J.G., 2012. Chronic CO₂ exposure markedly increases the incidence of cataracts in juvenile Atlantic cod *Gadus morhua*. *Aquaculture* 367: 212–216.
18. Svobodová, Z., a kol., 2003. *Veterinární toxikologie. Praktická cvičení část I*. VFU Brno, s.74–76.
19. Máchová, J., Faina, R., Randák, T., Valentová, O., Steinbach, C., Kocour Kroupová, H., Svobodová, Z., 2017. Fish death caused by gas bubble disease: a case report. *Veterinarni Medicina* 62: 231–237.
20. Kocour Kroupová, H., Valentová, O., Svobodová, Z., Sauer, P., Máchová, J., 2018. Toxic effects of nitrite freshwater organism: a review. *Reviews in Aquaculture*, 10: 525–542.

6.2. PORUCHY VYVOLANÉ TOXICKÝM PŮSOBENÍM POLUTANTŮ

Zdeňka Svobodová

Mezi nejvýznamnější kontaminanty vodního prostředí, které způsobují poškození a otravy ryb patří chlór, vybrané kovy (měď, zinek, železo, hliník) a řada organických polutantů. Z organických polutantů jsou to především fenoly, ropné látky, tenzidy a pesticidy.

6.2.1. POŠKOZENÍ RYB CHLÓREM

Příčiny. Aktivní chlór (pod pojmem aktivní chlór se rozumějí všechny formy chlóru, které oxidují jodidy v kyselém prostředí na jód, tj. molekulární chlór, chlornany, chloraminy, ClO_2) se dostává do recipientů s odpadními vodami textilního a papírenského průmyslu. Chlór a sloučeniny uvolňující aktivní chlór se používají jako dezinfekční prostředky v humánní a veterinární medicíně. Chlórové vápno se využívá k totální dezinfekci dna rybníků (v dávce 500–600 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$), sádek a jiných zařízení k chovu a převozu ryb. Při žaberním onemocnění ryb (branchiomýkóze) se doporučuje aplikace chlórového vápna na hladinu rybníka v dávce 10–15 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ při průměrné hloubce 1 m. Chloramin B a Chloramin T jsou využívány k léčebnému antibakteriálnímu ošetření ryb. Při předávkování nebo nesprávném postupu aplikace chlóru a sloučenin uvolňujících aktivní chlór dochází k poškození až k úhynu ryb. S poškozením ryb chlórem se setkáváme také při přechovávání konzumních ryb ve vodních nádržích prodejen s intenzivním přítokem vodovodní chlorované pitné vody, která obsahuje 0,05–0,3 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ aktivního chlóru. Aktivní chlór je látka pro ryby velmi silně jedovatá. Stupeň toxicity je významně ovlivněn teplotou vody. Koncentrace 3,5 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ aktivního chlóru při teplotě vody 3–7 °C působí na kapra subletálně, stejná koncentrace při teplotě 15–20 °C způsobí úhyn kaprů za 1 až 2 hodiny (1,5,10,24).

Vnímavé druhy. Obecně je možno říci, že koncentrace 0,04–0,2 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ aktivního chlóru při dlouhodobém působení je toxická pro většinu druhů ryb (5,10,24).

Mechanismus účinku. Působení aktivního chlóru na ryby je místní (na kůži a žábry) a celkové (po vstřebání chlóru do krve). Při celkovém působení se projevují především poruchy nervové soustavy (5,10,24).

Klinické příznaky. Projevují se počátečním silným neklidem, ryby vyskakují nad hladinu, objevují se u nich svalové křeče, ryby se pokládají na bok a lze u nich pozorovat křečovitě pohyby tlamy, ploutví a ocasu. Křeče tlamy porušují dýchací rytmus, ryby se dusí, upadají do útlumu a hynou.

Patologické změny. Kůže a žábry otrávených ryb jsou pokryty silnou vrstvou hlenu, při působení vysokých koncentrací aktivního chlóru dochází k překrvení až ke krvácení ze žaber. Povrch těla ryb je světlejší barvy, na okrajích žaberních lístků a ploutví je zřetelný šedobílý povlak. Histologicky zjišťujeme výraznou dystrofii až nekrózu a deskvamaci respiračního epitelu žaber a epidermis kůže (5,10,24).

Diagnóza. Stanoví se na základě posouzení klinických příznaků a patologických změn podpořených anamnestickými údaji a stanovením koncentrace aktivního chlóru ve vodě (5,10,24). Případné klinické a patologické projevy otravy chlórem je třeba odlišit především od příznaků dušení (5,10,24).

Terapie. Přesazení ryb do vhodného prostředí.

Prevence. Před vysazením ryb do prostředí s potenciálním výskytem aktivního chlóru provést jeho stanovení nebo biologickou zkoušku toxicity vody. Při použití chlorované pitné vody nechat chlór před vysazením ryb vyprchat. Je nutno upozornit, že při použití chlornanu sodného k dezinfekci pitné vody je přetrvávání chloru dlouhodobější (1,5,10,24).

6.2.2. POŠKOZENÍ RYB KOVY

Kovy, pokud se nacházejí ve vodách ve stopových množstvích, jsou přirozeného původu. Hlavním zdrojem znečištění recipientů kovy jsou odpadní vody z těžby a zpracování rud, hutí, válcoven, z povrchové úpravy kovů, fotografického, textilního, kožedělného průmyslu aj. Dalším zdrojem mohou být atmosférické srážky znečištěné exhalacemi vznikajícími při spalování fosilních paliv a výfukovými plyny motorových vozidel.

Mechanismus toxického působení kovů na ryby je různý. Převážná většina kovů má velkou afinitu pro vazbu s aminokyselinami a SH-skupinami bílkovin a působí tak jako enzymové jedy. Toxicita kovů pro ryby je významně ovlivněna formou jejich výskytu ve vodě. Anorganické a organické nerozpustné nebo méně rozpustné komplexy jsou zpravidla méně toxické než jednoduché ionty. Při hodnocení toxicity kovů pro ryby je proto důležité znát speciaci kovů v daném prostředí, která je ovlivněna fyzikálně-chemickými parametry vody a sedimentů dna (1). Další významnou negativní vlastností mnohých kovů je jejich značná schopnost akumulovat se v sedimentech a ve vodní flóře a fauně (bioakumulace). Tuto schopnost kvantitativně vystihuje akumulární (koncentrační) koeficient (hodnota udávající, kolikrát je obsah cizorodé látky v dané složce vodního ekosystému větší než ve vodě). Hodnoty akumulárních koeficientů se pohybují od několika set až do statisíců. Významnou bioakumulární schopnost mají rtuť, arzén aj. Ukazatelem celkového skutečného znečištění vodního prostředí není tedy koncentrace těchto kovů ve vodě, ale obsah kovů v sedimentech a především v dravých rybách, které představují konečný článek potravního řetězce ve vodním prostředí (2). Pro detoxikaci kovů v organismu jsou důležité metalothioneiny. Jsou to polypeptidy, které obsahují vysoký podíl cysteinu, na který se kovy vážou. Syntéza metalothioneinů může být indukována např. zinkem, kadmíem nebo rtuť (3), proto se metalothioneiny dají využít jako markery kontaminace prostředí kovy. Nejvýznamnějšími kovy, které se v praxi nejčastěji podílejí na akutních otravách ryb, jsou měď, zinek, železo a hliník.

6.2.2.1. Poškození ryb mědí

Příčiny. I když je měď pro ryby silně toxická, její sloučeniny se používají ve vodním hospodářství a v rybářství jako algicidní a moluskocidní prostředky a při prevenci a terapii některých onemocnění ryb. V letním období se sloučeniny mědi hojně využívají jako algicidní prostředky pro úpravu vody v rekreačních bazénech. Také v zemědělství se používají přípravky na bázi mědi jako fungicidy (např. Kuprikol s účinnou látkou oxichlorid mědi).

Vnímavost a podmiňující faktory. Obecně lze konstatovat, že z našich ryb jsou nejcitlivějšími na působení mědi lososovité ryby. Letální koncentrace rozpuštěných iontů mědi ve vodě pro pstruha duhového je v závislosti na parametrech vody až 0,09 mg.l⁻¹, pro jiné druhy ryb se pohybuje tato hodnota v jednotkách mg.l⁻¹ (4).

Toxicitu mědi pro ryby silně ovlivňují fyzikálně-chemické vlastnosti vody jako je pH a množství organických látek. Ve vodě s vyšší koncentrací organických látek vytváří měď nerozpustné komplexní sloučeniny, ve vodě s vyšší hodnotou pH málo rozpustné sloučeniny

zásaditého charakteru (hydroxidy) a ve vodě s vyšší kyselinovou neutralizační kapacitou $\text{KNK}_{4,5}$ (alkalitou) se měď vysráží ve formě málo nebo zcela nerozpustného uhlčitanu měďnatého. Málo rozpustné nebo nerozpustné sloučeniny mědi nesnadno pronikají do organismu ryb a jsou proto méně toxické (1). Jako příklad vlivu kvality vody na toxicitu mědi lze uvést rozdílné hodnoty 48hLC_{50} $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ pro kapra obecného. Zatímco hodnota 48hLC_{50} byla v rybniční vodě $8,1 \text{ mg.l}^{-1}$, ve studniční vodě dosáhla $1,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Charakter rybniční vody byl následující: pH 7,6; $\text{KNK}_{4,5}$ $2,2 \text{ mmol.l}^{-1}$; CHSK_{Mn} 32 mg.l^{-1} . Studniční voda byla charakterizována následujícími parametry: pH 6,2; $\text{KNK}_{4,5}$ $0,6 \text{ mmol.l}^{-1}$; CHSK_{Mn} $2,2 \text{ mg.l}^{-1}$. Z uvedených parametrů kvality vody vyplývá, že v rybniční vodě byly přítomny komplexotvorné látky ve vyšších koncentracích než ve studniční vodě, což se projevilo nižší toxicitou mědi pro ryby (5, 6). Dalším významným faktorem ovlivňujícím toxicitu mědi je koncentrace vápníku ve vodě. Se zvyšující se koncentrací vápníku se snižuje toxicita mědi. Mechanismus účinku je vysvětlován především obsazením vazebných míst v proteinových molekulách vápníkem (7).

Mechanismus účinku. Měď se váže na SH-skupiny aminokyselin, především dýchacích enzymů.

Klinické příznaky. Klinické příznaky odpovídají mechanismu toxického účinku mědi spočívajícím v blokaci dýchacích enzymů a jsou charakteristické dýchacími potížemi. U kaprovitých ryb dochází k nouzovému dýchání u hladiny (5).

Patologické změny. Pro patologicko-anatomický obraz otravy je typické silné zahlenění povrchu těla, vnitřní strany skřelí a žaber (5).

Diagnóza. Provádí se průkazem mědi ve vodě a v tkáních ryb. Pro posouzení toxického účinku mědi je nutno ve vodě stanovit další ukazatele (pH, $\text{KNK}_{4,5}$, CHSK_{Mn} , $\Sigma \text{Ca+Mg}$). Diagnózu akutní otravy mědí je možno stanovit na základě chemické analýzy žaber ryb, kde se koncentrace mědi několikanásobně zvyšuje. Obsah mědi v žábrách ryb z recipientů nekontaminovaných mědí se pohybuje do 10 mg.kg^{-1} sušiny (5).

Prevence. Obdobně jako u jiných otrav spočívá prevence v dodržování předpisů a v zabránění kontaminace vodního prostředí. V případě použití mědi jako algicidu do vodního prostředí je potřeba dodržovat předepsané technologické postupy.

6.2.2.2. Poškození ryb zinkem

Příčiny. Zdrojem je kontaminace prostředí zinečnatými sloučeninami. Zinek se dostává do přítokové vody rybochovných objektů v případě používání pozinkovaného potrubí. Dalším antropogenním zdrojem zinku je atmosférický spad. Do atmosféry se dostává při spalování fosilních paliv (1).

Vnímatost a podmiňující faktory. S otravami ryb zinkem se setkáváme nejčastěji v chovech pstruha. Pstruh duhový, pstruh obecný a především jejich plůdek je mimořádně citlivý k zinku a jeho sloučeninám. Letální koncentrace se pohybují okolo $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ u lososovitých ryb a $1-10 \text{ mg.l}^{-1}$ u kaprovitých ryb (5).

Toxicitu zinku pro ryby, podobně jako u mědi, ovlivňují chemické vlastnosti vody (pH, $\text{KNK}_{4,5}$, CHSK_{Mn} , $\Sigma \text{Ca+Mg}$) (1,7,8).

Mechanismus účinku: Zinek se váže na SH-skupiny aminokyselin, především dýchacích enzymů.

Klinické příznaky. Jsou obdobné jako při působení mědi.

Patologické změny. Patologicko-anatomický obraz otravy ryb zinkem je podobný jako při působení mědi.

Diagnóza. Průkazem letálních koncentrací zinku ve vodě a průkazem zinku ve tkáních ryb. Pro diagnostiku je vždy potřeba porovnat tento nález s obsahem zinku v tkáních ryb stejného druhu nezasazených kontaminací zinkem. Pro posouzení toxického účinku zinku je nutno ve vodě stanovit další ukazatele (pH, $\text{KNK}_{4,5}$, CHSK_{Mn} , $\Sigma \text{Ca+Mg}$).

Prevence. Základním preventivním opatřením často se vyskytujících otrav sloučeninami zinku v chovech pstruhů je nepoužívat pro vedení přítokové vody pozinkované potrubí, nepoužívat pozinkované nářadí a nádoby, zejména při koupelích v NaCl, kde se uvolňuje toxický ZnCl_2 (tato sloučenina je velmi dobře rozpustná ve vodě, a proto velmi rychle rybám dostupná). V současné době je pro vedení přítokové vody do pstruháren ve většině případů používán plast, a tak případy otrav ryb zinkem jsou méně časté.

6.2.2.3. Poškození ryb železem

Příčiny. V posledním období se vyskytlo několik případů havarijních úhynů ryb způsobených železem. V povrchových vodách se železo vyskytuje ve druhém (rozpustné sloučeniny) a ve třetím (převážně nerozpustné sloučeniny) oxidačním stupni. Poměr výskytu těchto dvou forem železa je závislý na koncentraci kyslíku, na hodnotě pH a na dalších chemických vlastnostech vody (1,5). Pro vodní organismy je železo nebezpečné ve dvojmocné formě Fe^{2+} (9).

Vnímavost a podmiňující faktory. S poškozením ryb sloučeninami železa se setkáváme především v zimním období v komorových rybnících s nízkou koncentrací kyslíku a s nízkými hodnotami pH, kdy železo je převážně ve formě rozpustných sloučenin. Rovněž byl popsán případ úhynu pstruhů duhových, kdy v jarním období došlo k náhlému roztátí sněhu, k poklesu pH (kolem 5,0) v přítokové vodě do pstruhárny, a tím ke zvýšení koncentrace rozpustné formy železa ve vodě (10). Vnímavé jsou všechny druhy ryb, zvýšeně vnímavé jsou ryby vyžadující vyšší příjem kyslíku (lososovité ryby). Letální koncentraci a hodnotu nejvyšší přípustné koncentrace železa pro ryby nelze jednoznačně stanovit, protože je silně ovlivněna fyzikálně-chemickými vlastnostmi vody.

Mechanismus účinku. Železo v oxidačním stupni II se na alkalicky reagujících žábrách oxiduje na nerozpustné sloučeniny ve třetím oxidačním stupni, které pokrývají žaberní lístky a omezují dýchání. Při nízké teplotě vody se již při nízkých koncentracích železa na žábrách intenzivně pomnoží železité bakterie, které se podílejí na oxidaci sloučenin železa v oxidačním stupni II. Jejich vláknité kolonie pokrývající žábry jsou nejdříve bezbarvé, později hnědou vysráženými sloučeninami železa. Vysrážené kousky železa a chomáčky železitých bakterií snižují respirační plochu žaber, poškozují respirační epitel a způsobují úhyn ryb (11,12). Podobně jako na žaberní aparát působí sloučeniny železa na jikry ryb, které pak pro nedostatek kyslíku odumírají (13). Část železa se navíc vstřebává do organismu a způsobuje poškození vnitřních tkání díky tvorbě volných radikálů a lipoperoxidaci (14,15).

Klinické příznaky. Postižené ryby vykazují příznaky dušení (5,16).

Patologické změny. Změny jsou patrné zejména na žábrách, které dostávají hnědé zabarvení. Histologicky je možné zjistit dystrofické změny žaberního epitelu. Speciálními barvicími metodami (Perlsova reakce, v níž jsou sloučeniny železa modře zbarvené) lze prokázat železo v oxidačním stupni III (5,16).

Diagnóza. Diagnózu úhynu ryb v důsledku poškození železem lze provést stanovením obsahu železa v žábrách (10). Obsah železa v žábrách těchto ryb je několikanásobně zvýšený (zhruba 10×), obsah železa ve slezině a v ledvinách se zvyšuje zhruba 4–5×. Pro diagnostiku je vždy potřeba porovnat tento nález s obsahem železa v žábrách ryb stejného druhu nezasazených kontaminací železem.

Prevence. Obecným předpokladem pro chov kaprovitých ryb je, aby koncentrace železa v rozpustné formě nebyly vyšší než $0,2 \text{ mg.l}^{-1}$, pro lososovité ryby $0,1 \text{ mg.l}^{-1}$ (5). Významným preventivním opatřením na pstruhárnách je monitorování hodnot pH přítokové vody a v případě nízkých hodnot následná úprava pomocí hydrogenuhličitanu sodného (sody). Je to potřebné zejména v jarním období při tání sněhu, a to zejména na lokalitách s přítokovou vodou z rašelinišť. Do rybníků je nutno zamezit přítoku neupravených důlních vod nebo vod z kamenolomů s nízkým pH (10).

6.2.2.4. Poškození ryb hliníkem

Příčiny. Také poškození a otravy ryb hliníkem jsou v poslední době velmi časté příčiny úhynu ryb. Zdrojem kontaminace povrchových vod hliníkem může být havarijný únik kalů ze sedimentačních nádrží úpraven pitné vody (při úpravě pitné vody se používá síran hlinitý) (17). K akutní otravě ryb hliníkem může také docházet při zanesení cementových směsí do vody, při kterém spolupůsobí vysoké hodnoty pH (18,19).

Vnímavost a podmiňující faktory. Koncentrace rozpustných forem hliníku ve vodě se zvyšuje se stoupající (nad 9,0) a klesající hodnotou pH (pod 5,5). Ve většině případů dochází k otravě ryb hliníkem po náhlém poklesu hodnoty pH, kdy ve vodním prostředí převažují remobilizační procesy (rozpuštění sloučenin hliníku a jejich přechod ze sedimentů do vodní fáze) (1,12). Vnímavé jsou všechny druhy ryb, zvýšeně vnímavé jsou ryby vyžadující vyšší příjem kyslíku, a to ryby lososovité.

Mechanismus účinku. Hliník rozpuštěný ve vodě se s nízkým pH váže a akumuluje na alkalickém povrchu žaber ryb. Tyto sloučeniny pokrývají žaberní lístky a omezují dýchání. Nejedná se však pouze o mechanické zabránění procesu dýchání, ale dochází k silné alteraci respiračního epitelu žaber (20,21). Poškození ryb hliníkem a železem se často doprovázejí.

Klinické příznaky. Postižené ryby vykazují příznaky dušení (20,21).

Patologické změny. Změny jsou patrné zejména při histologickém vyšetření. Histopatologický obraz na žábrách je charakterizován výraznými reaktivními pochody a těžkými regresivními změnami vyúsťujícími v nekrózu žaberní tkáň. Rovněž v ledvinách a v játrech byly zjištěny výrazné dystrofické změny (20,21).

Diagnóza. Diagnózu otravy ryb hliníkem lze provést stanovením obsahu hliníku v žábrách, ledvinách a v játrech. Obsah hliníku u otrávených ryb se ve srovnání s rybami nezasaženými hliníkem zvyšuje v žábrách až 100×, v ledvinách zhruba 10× a v játrech zhruba 3× (21,22). Pro diagnostiku je vždy potřeba porovnat tento nález s obsahem hliníku v žábrách ryb stejného druhu nezasažených kontaminací hliníkem.

Prevence. Je třeba zabránit výrazné alteraci pH vody, jak ve smyslu snížení (pod 5,4) tak i zvýšení (nad 9,0). Významným preventivním opatřením je také zamezení úniku cementových směsí do vodního prostředí při provádění stavebních úprav (10).

6.2.3 POŠKOZENÍ RYB ORGANICKÝMI POLUTANTY

Vodní prostředí je kontaminováno celou řadou organických polutantů. Kontaminována je vodní fáze, sedimenty dna, ryby, makrovegetace, fyto- a zooplankton. Jedná se o kontaminaci látkami, jejichž používání je v současné době zakázáno (např. pesticidy na bázi chlorovaných uhlovodíků, pesticidy na bázi triazinů, polychlorované bifenyly) a o kontaminaci tzv. emergent polutanty (např. ftaláty, léčiva, musk sloučeniny, přípravky s UV filtry). Tyto látky se vyskytují ve vodním prostředí ve stopových koncentracích a tak ovlivňují vodní organismy svým subchronickým účinkem a rovněž negativně ovlivňují hygienickou kvalitu masa ryb. Mezi látky, které ohrožují vodní prostředí akutním havarijním znečištěním, patří především fenoly, ropné produkty, tenzidy a některé pesticidy.

6.2.3.1. Poškození ryb fenoly

Příčiny. Znečištění recipientů fenoly je způsobováno průmyslovými odpadními vodami, zejména z tepelného zpracování uhlí, z rafinérií ropy, z výroby syntetických tkanin a z dalších průmyslových odvětví. V povrchových vodách se dále setkáváme se silně páchnoucími chlorfenoly, které vznikají chlorací fenolů (1).

Vnímavost a podmiňující faktory. Koncentrace fenolů 0,1 mg.l⁻¹ a chlorfenolů 0,02 mg.l⁻¹ ve vodě již vyvolává senzorycké změny rybiho masa (23). Při dlouhodobém působení koncentrace fenolů 0,2 mg.l⁻¹ bylo pozorováno i vystěhování ryb z povodí. Podle letálních koncentrací pro ryby lze jednotlivé sloučeniny fenolu seřadit v tomto pořadí: hydrochinon (0,2 mg.l⁻¹), naftoly (2–4 mg.l⁻¹), fenol, krezol, pyrekatechol a xylenol (2–20 mg.l⁻¹), rezorcín a pyrogallol (10–50 mg.l⁻¹), floroglucin (400–600 mg.l⁻¹) (5).

Mechanismus účinku. Fenoly jsou typické nervové jedy, které poškozují centrální nervovou soustavu (5). Mohou však působit i v periferním nervovém systému. Účinek fenolů pravděpodobně souvisí s poškozením funkce a degenerací axonů nervových buněk (24).

Klinické příznaky. Klinické příznaky otravy jsou charakterizovány silným neklidem, zvýšenou dráždivostí, výskoky nad hladinu, ztrátou rovnováhy a svalovými křečemi (5,23).

Patologické změny. V pitevním obrazu ryb po otravě fenoly vystupuje do popředí nápadné vyblednutí a mírné zahlnění povrchu těla, při působení vysokých koncentrací fenolů nacházíme hemoragie na spodině těla. Při dlouhodobém působení nízkých koncentrací jsou zjišťovány dystrofické až nekrotické změny v mozku, parenchymatózních orgánech, cévní soustavě a na žábřácích (5,23).

Diagnóza. Diagnostiku otravy ryb fenoly je možno provést průkazem fenolů fotometrickou metodou s 4-amino-antipyrinem v redestilátu získaném z kůže a svaloviny uhynulých ryb (23,25).

Prevence. Obdobně jako u jiných otrav spočívá prevence v dodržování předpisů a zabránění kontaminace vodního prostředí.

6.2.3.2. Poškození ryb ropnými produkty

Příčiny. Zdrojem znečištění recipientů ropnými produkty je zejména petrochemický průmysl, dále průmysl strojírenský a hutní, odpady z autoopraven a havarijní úniky topných olejů. Mezi ropné látky patří produkty zpracování ropy jako benzín, motorová nafta, petrolej a minerální oleje. Únik těchto látek do vodního prostředí patří mezi nejčastější příčiny havarijního znečištění mořských i kontinentálních vod (1).

Vnímavost a podmiňující faktory. Ve vodě jsou tyto látky všeobecně málo rozpustné. Toxicita ropy a různých ropných produktů pro ryby je velmi rozdílná, hodnoty LC50 jsou v rozmezí 0,5–200 mg.l⁻¹. Všeobecně se uvádí, že lehčí frakce ropy (petrolej, benzín) jsou značně toxičtější než těžší frakce (oleje).

Mechanismus účinku. Při znečištění recipientů pokrývají ropné produkty hladinu zejména stojatých vod a omezují přechod kyslíku z atmosféry do vody. Při znečištění tekoucích vod se většinou nevytvářejí ucelené pokrvy na hladině, ale dochází k tvorbě emulze, k mechanickému znečištění žaber ryb a ke snížení jejich dýchací kapacity (5). Navíc ropné produkty obsahují různé vysoce toxické a ve vodě rozpustné složky, které pronikají do organismu ryb a vyvolávají přímé otravy. Jde především o kyseliny naftenové, které jsou prudkými nervovými jedy a na ryby působí letálně již v koncentracích 2,5–5,0 mg.l⁻¹ (26).

Dalším negativním důsledkem působení ropných produktů je zhoršení sensorických vlastností masa ryb, které se projeví v přítomnosti těchto látek ve vodě již od koncentrace 0,02–0,1 mg.l⁻¹. Ropné produkty se ve vodním prostředí velmi pomalu odbourávají, kumulují se v sedimentech toků a nádrží a přecházejí do potravního řetězce ryb. Tímto způsobem mohou také negativně ovlivňovat sensorické vlastnosti rybiho masa. K odstranění pachových a chuťových změn je nezbytné držet ryby několik týdnů v čisté tekoucí vodě (5,27). Některé prameny dokonce uvádějí poločas vylučování těchto látek z těla ryb 400–700 dnů.

Klinické příznaky. V důsledku zabránění difúze kyslíku do vody nebo znečištění žaber se objevují především příznaky dušení. Mohou se objevit i nervové příznaky (excitace, nekoordinované plavání)(5).

Patologické změny. Jsou většinou nespecifické. Šupiny uhynulých ryb jsou matné, pokryté hlenem, kůže je místy překrvená. Uhynulé ryby mají silný „ropný“ zápach. Následkem poškození rohovky oka může vzniknout slepota. Při dlouhodobém působení ropných látek vznikají v játrech a ledvinách degenerativní změny (5,28).

Diagnóza. Stanoví se na základě klinických příznaků, patologických změn, posouzení situace, potvrzení přítomnosti ropných produktů ve vodním prostředí a potvrzení přítomnosti ropných látek ve tkáních ryb pomocí organoleptického posouzení. Odběr vody se provádí do skleněných lahví. Otrava je potvrzena stanovením hodnoty NEL (nepolární extrahovatelné látky) ve vodě. Stanovená hodnota NEL zahrnuje kromě ropných uhlovodíků i další nepolární látky neropného původu, které se vyskytují v nízkých koncentracích (1).

Prevence. Obdobně jako u jiných otrav spočívá prevence v dodržování předpisů a zabránění kontaminace vodního prostředí především při přepravě a skladování ropy a ropných produktů.

6.2.3.3. Poškození a otravy ryb tenzidy

Příčiny. Tenzidy jsou přirozené nebo synteticky vyrobené povrchově aktivní látky. Z přirozených povrchově aktivních látek se ve vodách mohou vyskytovat saponiny z odpadních vod z cukrovarnictví. Synteticky vyrobené povrchově aktivní látky se využívají v nejrůznějších oblastech hospodářství. Kromě klasických pracích a čisticích účinků se využívají jejich účinky emulgační, dispergační aj. Jejich spotřeba neustále stoupá. Z chemického hlediska se tenzidy dělí na iontové (podléhají elektrolytické disociaci) a neiontové (ve vodě nedisociují). Iontové tenzidy se dělí na aniontové (disociují na povrchově aktivní anion a neaktivní kation), kationtové (disociují na povrchově aktivní kation a neaktivní anion) a amfolytické (nabývají buď aniontový, nebo kationtový charakter podle podmínek prostředí). V praxi se nejvíce využívají tenzidy aniontové (1).

Vnímavost a podmiňující faktory. Toxicita jednotlivých tenzidů pro ryby je různá. Hodnoty 96hLC50 se pohybují od 1 do 100 mg.l⁻¹. Nejvyšší toxicitu vykazují tenzidy kation aktivní (10,29). V odpadních vodách s obsahem kationtových i aniontových tenzidů dochází k podstatnému snížení jejich toxicity. Souvisí to s tvorbou nerozpustného komplexu mezi aniontovými a kationtovými tenzidy.

Mechanismus účinku. Při otravě ryb tenzidy dochází především k poškození respiračního epitelu žaber (zvětšování a vakuolizace, dystrofické až nekrotické změny buněk). Pokud jde o mechanismus toxického účinku tenzidů na ryby a ostatní vodní organismy, uvádí se, že vedle toxicity dané chemickou strukturou tenzidu se uplatňuje i fyzikálně-chemický vliv. V důsledku snižování povrchového napětí vody dochází k hydrataci a zvětšování objemu buněk respiračního epitelu. Toto zvětšování objemu je při nižších koncentracích tenzidů reverzibilní, při vyšších koncentracích jsou potlačovány metabolické pochody v buňkách. Při dlouhotrvajícím působení dochází k poškození a k následné nekróze buněk. Tyto změny se projevují zejména narušením respiračního epitelu žaber (5,30,31). Kromě toho při působení některých tenzidů na ryby dochází ke změně aktivity dýchacích enzymů, zejména cytochromoxidázy. Tenzidy rovněž poškozují ochrannou slizovou vrstvu kůže, podporují její uvolňování, a tím snižují odolnost ryb k infekcím. Subletální množství tenzidů vede k poškození mlíčí a jiker (5).

Vedle uvedených přímých účinků na ryby a na vodní organismy tenzidy negativně působí na proces čištění odpadních vod. Vytvářejí pěnu, zpomalují přestup kyslíku do vody, způsobují dispergaci nerozpuštěných látek a emulgaci tuků a olejů, a tím negativně ovlivňují samočisticí pochody v povrchových vodách a snižují účinnost mechanického a biologického čištění odpadních vod. Navíc používání tenzidů velmi významně přispělo k eutrofizaci povrchových vod, a to dotací fosforu. V současné době je používání přípravků na bázi tenzidů s obsahem fosforu velmi omezeno. V posledním období byl prokázán negativní účinek degradačních produktů tenzidů (alkyfenoly, především nonylfenol). Tyto látky působí jako silně endokrinní disruptory s estrogenním účinkem (1,28).

Klinické příznaky. Klinické příznaky otravy jsou charakterizovány poruchami dýchání (zrychlené, u kaprovitých ryb nouzové dýchání) a dále převahou útlumových fází (5).

Patologické změny. Pro patologicko-anatomický obraz otravy ryb tenzidy je charakteristické zvýšené zahlnění kůže a žaber, překrvení až edematózní zduření žaberního aparátu. Hlen z povrchu těla a ze žaber ryb se velmi snadno odlučuje (5).

Diagnóza. Stanoví se na základě klinických příznaků, patologických změn a výsledků stanovení tenzidů ve vzorcích vody (32).

Prevence. Obdobně jako u jiných otrav spočívá prevence v dodržování předpisů a zabránění kontaminace vodního prostředí. V současnosti je snaha produkovat převážně biologicky odbouratelné tenzidy, které by méně zatěžovaly životní prostředí (1).

6.2.3.4. Poškození ryb pesticidy

V 60. až 80. letech 20. století byly u nás pesticidy poměrně častou příčinou otrav ryb (jednalo se o 3–6 % případů)(5). V 90. letech došlo z důvodu snížení spotřeby pesticidů a používání přípravků šetrnějších k životnímu prostředí ke snížení počtu otrav pesticidy (2 %). V posledním období již nezaznamenáváme případy havarijního úhynu ryb způsobených pesticidy (33). Avšak problematika vlivu pesticidů na vodní ekosystém stále přetrvává. Pesticidy v subletálních koncentracích mohou negativně ovlivňovat přirozenou potravní základnu ryb. Organismy tvořící přirozenou potravní základnu ryb jsou ve většině případů citlivější ve srovnání s rybami (např. vůči pesticidům na bázi organofosfátů triazinů a kovů)(5, 24). Navíc některé účinné látky pesticidů a jejich metabolity dlouhodobě přetrvávají v povrchových i spodních vodách. Nejčastěji jsou nalézána rezidua pesticidů na bázi triazinů (např. atrazin a jeho metabolity) a chloracetanilidů (metolachlor,alachlor)(34). Metabolity pesticidních látek mohou být v některých případech toxičtější pro vodní organismy než samotné účinné látky. (24).

Do vodního prostředí se pesticidy dostávají přímo a nepřímo. Přímé vstupy zahrnují nesprávnou aplikaci (zasažení recipientu při použití pesticidu) nebo při likvidaci nepoužitých zbytků. Nepřímými vstupy jsou splachy pesticidů z okolních ošetřovaných kultur (10). Rybářství a vodní hospodářství v současné době využívá k likvidaci makrovegetace ve vodních ekosystémech herbicidní přípravek Roundup Biaktiv (účinná látka glyfosát)(viz Seznam registrovaných přípravků na ochranu rostlin 2018, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský).

Nejzávažnější problémy ve vodním prostředí způsobují pesticidy na bázi organofosfátů, karbamátů a thiokarbamátů, triazinů a pyrethroidů.

6.2.3.4.1. Poškození ryb pesticidy na bázi organofosfátů

Příčiny. Kontaminace vodního prostředí pesticidy na bázi organických sloučenin fosforu.

Vnímavost a podmiňující faktory. Toxicita těchto přípravků pro ryby je rozdílná. Podle hodnot 96hLC50 jsou přípravky zařazeny mezi látky škodlivé až silně jedovaté pro ryby (0,1–100 mg.l⁻¹). Velmi citlivé na pesticidy s obsahem organických sloučenin fosforu jsou ryby lososovité. Nejcitlivějšími vodními organismy k organofosforečným pesticidům jsou perloočky *Daphnia magna*. Provedená sledování dokonce ukázala shodnou citlivost perlooček a plynového chromatografu na rezidua těchto látek. Perloočky *D. magna* lze pokládat za nejcitlivější indikátory znečištění vodního prostředí organofosforečnými pesticidy (5).

Mechanismus účinku. Mechanismus toxického účinku pesticidů s obsahem organických sloučenin fosforu pro ryby je shodný s účinkem na homoiotermní organismy. Jde o inhibici některých hydrolytických enzymů, zejména acetylcholinesterázy. Stupeň inhibice mozkové acetylcholinesterázy u ryb, vyvolaný různými organofosforečnými látkami, je rozdílný. Pesticidy na bázi fenitrotonu vyvolávají snížení aktivity enzymu na 60 %, pesticidy na bázi dichlorvosu a imidanu způsobují snížení až na 22 % fyziologické aktivity (5).

Klinické příznaky. Pro klinický obraz otravy ryb pesticidy na bázi organofosfátů je typické ztmavnutí povrchu těla v období počínající nekoordinovanosti pohybu (5).

Patologické změny. Patologicko-anatomický obraz otravy těmito látkami je charakterizován zvýšeným zahleněním povrchu těla a žaber. Žábry jsou silně překrvené, ve vysokých koncentracích pesticidu s drobnými tečkovitými hemoragiemi. Histologickým vyšetřením ryb po působení organofosforečných pesticidů se zjišťuje velmi silné poškození žaber a parenchymatózních orgánů. Změny se zjišťují i v nervové soustavě (5).

Diagnóza. Stanoví se na základě klinických příznaků, patologických změn, posouzení situace a potvrzení přítomnosti pesticidů ve vodním prostředí. Významným diagnostickým prostředkem je stanovení inhibice acetylcholinesterázy zejména v mozku ryb nebo stanovení inhibice butyrylcholinesterázy v krevní plazmě. Vysokou vypovídací diagnostickou hodnotu má pozitivní biologický test na *D. magna*.

Prevence. Obdobně jako u jiných otrav spočívá prevence v dodržování předpisů a zabránění kontaminace vodního prostředí.

6.2.3.4.2. Poškození ryb pesticidy na bázi karbamátů a thiokarbamátů

Příčiny. Kontaminace vodního prostředí pesticidy na bázi karbamátů a thiokarbamátů.

Vnímavost a podmiňující faktory. Toxicita těchto pesticidů pro ryby je rozdílná. Hodnoty 96hLC50 se pohybují v rozmezí 1–1000 mg.l⁻¹. V současné době jsou velmi časté otravy zvířat, hlavně ptáků, karbofuranem, a to i přesto, že jeho použití bylo v roce 2008 v ČR zakázáno. Také pro ryby je karbofuran silně jedovatý, hodnoty 96hLC50 se pohybují od 0,2 do 1,2 mg.l⁻¹. Nejcitlivější vůči karbofuranu jsou lososovité ryby (35,36).

Mechanismus účinku. Přípravky na bázi karbamátů a thiokarbamátů vyvolávají inhibici acetylcholinesterázy. Na rozdíl od organických sloučenin fosforu zde však velmi rychle dochází k regeneraci inhibovaného enzymu.

Klinické příznaky. Klinický obraz otravy je nespecifický. Je pozorována zvýšená pohybová aktivita, výskoky nad hladinu, zrychlené dýchání, ztráta rovnováhy, nekoordinované pohyby, ryby se pokládají na bok a hynou (17,35).

Patologické změny. Patologicko-anatomický obraz otravy ryb pesticidními přípravky s obsahem karbamátů není specifický. Zjišťujeme zvýšené zahlenění povrchu těla, ztrátu pigmentace, přítomnost hemoragií v očích a zvýšený nástřik cév vnitřních orgánů (35,37).

Diagnóza. Stanoví se na základě posouzení situace a potvrzení přítomnosti pesticidů ve vodním prostředí, případně inhibice mozkové acetylcholinesterázy nebo inhibice butyrylcholinesterázy v krevní plazmě.

Prevence. Obdobně jako u jiných otrav spočívá prevence v dodržování předpisů a zabránění kontaminace vodního prostředí.

6.2.3.4.3. Poškození ryb pesticidy na bázi triazinů

Příčiny. Kontaminace vodního prostředí pesticidy na bázi triazinů. V současné době je používání triazinových pesticidů zakázáno, používají se pouze přípravky s účinnou látkou terbutylazin.

Vnímavost a podmiňující faktory. Přípravky na bázi triazinů jsou pro ryby škodlivé až jedovaté (96hLC50 v rozmezí 1–100 mg.l⁻¹). Nejcitlivějšími druhy jsou lososovité ryby. Negativní vlastností triazinových herbicidů je jejich velmi nízká biologická rozložitelnost a tím dlouhodobé přetrvávání reziduí ve vodním prostředí (5,24). Koncentrace terbutylazinu v povrchových vodách ČR se pohybuje v rozmezí 0,1–2,8 µg.l⁻¹ (34). V povrchových vodách světa se koncentrace pohybuje ve stejném množství (38).

Mechanismus účinku. Triaziny jsou antimetabolity pyrimidinových bází jako součástí nukleových kyselin a kyseliny listové a inhibují proteosyntézu. Jednotlivé triaziny ovlivňují i další metabolické procesy. Atrazin např. poškozuje detoxikační funkci jater, prometryn, atrazin a simazin způsobují aplazii kostní dřeně a útlum hematopoézy u vyšších obratlovců. Metribuzin vyvolává poškození jater a kaudální části ledvin (32). Navíc atrazin působí jako endokrinní disruptor a teratogen ovlivňující reprodukci obojživelníků a ryb (40).

Klinické příznaky. Klinické příznaky otravy ryb přípravky na bázi triazinů se vyznačují převážně útlumovými fázemi (5,41).

Patologické změny. Velmi charakteristickým patologicko-anatomickým příznakem otravy triaziny je tvorba transudátu v dutině tělní a v trávicím ústrojí, zejména u pstruhů duhových. Přítomnost transudátu vyvolává zřetelné zvětšení dutiny tělní, u plůdku pstruha duhového docházelo v některých případech až k ruptuře stěny tělní. Hematologickým vyšetřením dvouletých kaprů držených v koncentraci 0,5–1 mg.l⁻¹ atrazinu byly zjištěny změny svědčící o snížení nespecifické odolnosti organismu, charakteristický je i úbytek hemoglobinu (5,41).

Diagnóza. Stanoví se na základě klinických příznaků, patologických změn, posouzení situace a potvrzení přítomnosti pesticidů ve vodním prostředí a ve tkáních ryb, zejména v játrech (10).

Prevence. Obdobně jako u jiných otrav spočívá prevence v dodržování předpisů a zabránění kontaminace vodního prostředí.

6.2.3.4.4. Poškození ryb pesticidy na bázi pyrethroidů

Příčiny. Kontaminace vodního prostředí pesticidy na bázi syntetických pyrethroidů. Syntetické pyrethroidy jsou využívány jako insekticidy a jako antiparazitika. K léčebným koupelím u ryb je využíván cypermethrin k likvidaci ektoparazita *Lepeophtheirus salmonis*, který parazituje u lososů (21,42).

Vnímavost a podmiňující faktory. Podle hodnot 96hLC50 jsou tyto pesticidy řazeny mezi látky silně jedovaté (menší než 0,1 mg.l⁻¹) pro ryby (21,24). Toxicita pesticidů na bázi pyrethroidů se v přírodním prostředí výrazně snižuje především adsorpcí na organický substrát (např. sediment, makrovegetace).

Mechanismus účinku. Tyto přípravky působí jako nervové jedy. Podobně jako u savců pyrethroidy typu I (T) reverzibilně blokují sodíkové kanály nervových vláken, tím prodlužují fázi jejich depolarizace, což má za následek tremor. Pyrethroidy typu II (CS) působí stejným mechanismem jako pyrethroidy typu I a navíc ovlivňují chloridové kanály řízené GABA (projevem jsou taneční pohyby)(10).

Klinické příznaky. Jsou charakterizovány ztrátou koordinace pohybů, objevují se trhavé pohyby, výjezdy k hladině a boční poloha. Následuje velmi dlouhá fáze útlumu, ryby leží na boku a hynou.

Patologické změny. Nejsou specifické.

Diagnóza. Stanoví se na základě posouzení situace, klinických příznaků a potvrzení přítomnosti pesticidů ve vodním prostředí.

Prevence. Obdobně jako u jiných otrav spočívá prevence v dodržování předpisů a zabránění kontaminace vodního prostředí.

LITERATURA

1. Pitter, P., 2009. Hydrochemie. VŠCHT, Praha, 592 s.
2. Svobodová, Z., Máchová, J., Vykusová, B., Piačka, V., 1996. Kovy v ekosystémech povrchových vod. Edice Metodik, VÚRH, Vodňany, 49, 18 s.
3. Luoma, S. N., Rainbow, P. S., 2008. Metal Contamination in Aquatic Environments. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 573 p.
4. Sparling, D. W. Linder, G., Bishop, C. A., 2000. Ecotoxicology of Amphibians and reptiles. SETAC Pensacola, USA, 877 p.
5. Svobodová, Z., Gelnarová, J., Justýn, J. a kol., 1987. Toxikologie vodních živočichů. SZN Praha, 231 s.
6. Di Giulio R. T., Hinton., D. E., 2008. The Toxicology of Fishes. CR Press, Boca Raton, USA, 1071 p.
7. Lloyd, R., 1992. Pollution and Freshwater Fish. Fishing News Books, Oxford, UK, 176 p.
8. Alabaster, J. S., Lloyd, R., 1980. Water Quality Criteria for Freshwater Fish. Butterworths, 297 p.
9. Davidson, W., 1993. Iron and manganese in lakes. Earth-Science Reviews 34: 119–163.
10. Svobodová, Z., Máchová, J., Kroupová, H., 2017. Otravy ryb. In: Svobodová Z., Modrá, H. (Eds), Veterinární toxikologie v klinické praxi. Profi Press, Praha, s. 217–237.
11. Teinen, H. C., Garmo, O. A., Atland, A., Salbu, B., 2008. Transformation of iron species in mixion zones and accumulation on fish gills. Environmental Sciences and Technology 42: 1780–1786.
12. Slaninová, A., Máchová, J., Svobodová, Z., 2014. Fish kill caused aluminium and iron contamination in a natural pond used for fish rearing: a case report. Veterinarni Medicina 11: 573–581.
13. Van Anholt, D. R., Spanings, F. A. T., Knol, A. H., van der Velden, J. A., Wendelaar Bonga, S. E., 2002. Effects of iron sulfate dosage on the water flea (*Daphnia magna* Straus) and early development of carp (*Cyprinus carpio* L.). Archives of Environmental Contamination and Toxicology 42: 197–212.
14. Baker, R.T.M., Martin, P., Davies, S.J., 1997. Ingestion of sublethal levels of iron sulphate by African catfish affects growth and tissue lipid peroxidation. Aquatic Toxicology 40: 51–61.
15. Lappivaara, J., Kiviniemi, A., Oikari, A., 1999. Bioaccumulation and subchronic physiological effects of waterborne iron overload on whitefish exposed in humic and nonhumic water. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 37: 196–204.
16. Dalzell, D.J.B., MacFarlane, N.A.A., 1999. The toxicity of iron to brown trout and effects on the gills - a comparison of two grades of iron sulphate. Journal of Fish Biology 55: 301–3015.
17. Paule, B., Svobodová Z., Hejtmánek M., 2003. Případ negativního vlivu chemické úpravy pitné vody na ryby v řece Teplé. Veterinární toxikologie, Praktická cvičení, část 1., VFU Brno, s. 81–84.
18. Svobodová, Z., Máchová, J., 2003. Havarijní úhyn ryb na Bezděkovském potoce v souvislosti se stavebními úpravami. Veterinární toxikologie, Praktická cvičení, část 1., VFU Brno, s. 85–87.
19. Vajcová, V., Svobodová, Z., 2003. Diagnostika otrav ryb cementovými směsmi. Veterinární toxikologie, Praktická cvičení, část 1., VFU Brno, s. 88–89.
20. Dietrich, D., Schlatter, Ch., 1989. Aluminium toxicity to rainbow trout at low pH. Aquatic Toxicology 15: 197–212.

21. Svobodová, Z., Kolářová, J., Navrátil, S. a kol., 2007. Nemoci sladkovodních a akvarijských ryb. Informatorium Praha, 264 s.
22. Azmat, H., Javed, M., Jabeen, G., 2012. Acute toxicity of aluminium to the fish (*Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhina mrigala*). Pakistan Veterinary Journal 32: 85–87.
23. Gangolli, S., 1999. The Dictionary of Substances and their effects. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 998 p.
24. Velíšek, J., Svobodová, Z., Blahová J. a kol., 2014. Vodní toxikologie pro rybáře. FROV JU České Budějovice, 600 s.
25. Svobodová, Z., Piačka, V., 2003. Případ otravy ryb fenoly. Veterinární toxikologie, Praktická cvičení, část 1., VFU Brno, s. 79–80.
26. Dorn, P. B., 1992. Case histories the petroleum industry. In: Ford, D. L. (Ed.). Toxicity Reduction: Evaluation and Control. Water Quality Management Library. Technomic Publishing Company, Lancaster, UK, pp. 183–223.
27. Míšek, E., Havránek, M., Koktavý, F., 2003. Zkušenosti s odstraňováním důsledků ropné havárie nad objektem pstruhařství Ujčov. In: Svobodová, Z. (Ed.). Veterinární toxikologie, Praktická cvičení, část 1., VFU Brno, s. 105–107.
28. Albers, P.H., 2003. Petroleum and individual polycyclic aromatic hydrocarbons. In: Hoffman, D.J. (Ed.). Handbook of Ecotoxicology. Lewis Publishers, Boca Raton, USA, pp. 341–371.
29. Ostroumov, S.A., 2006. Biological effects of surfactants. Taylor and Francis, Boca Raton, USA, 279 p.
30. Abel, P.D., 1974. Toxicity of synthetic detergents to fish and aquatic invertebrates. Journal of Fish Biology 6: 279–298.
31. Rosen, M.J., Li, F., Morrall, S.V., Versteeg, D.J., 2001. The relationship between the interfacial properties of surfactants and their toxicity to aquatic organism. Environmental Science and Technology 35: 954–959.
32. Honzlová, J., 2014. Úhyn kaprů v rybníce Brnouš. In: Velíšek, J. a kol., 2014. Vodní toxikologie pro rybáře, FROV JU České Budějovice, s. 335–336.
33. Svobodová, Z., Sehonová, P., Kaut, J., Pazourová, M., 2011. Analýza příčin havarijního znečištění povrchových vod a následných úhynů ryb v České republice v období 1989–2010. Bulletin VÚRH Vodňany 47: 47–56.
34. Sehonová, P., Kodeš, V., Leontovyčová, D., Svobodová, Z., 2012. Zhodnocení výskytu reziduí pesticidů v povrchových vodách České republiky. Bulletin VÚRH Vodňany 48: 5–19.
35. Dobšíková, R., 2003. Acute toxicity of carbofuran to selected species of aquatic and terrestrial organisms. Plant Protection and Science 39: 103–108.
36. Munn, M. D., Gilliom, R. J., Moran, P. W., Nowell, L. H., 2006. Pesticide toxicity index for freshwater aquatic organisms. Scientific investigations report 2006–5148, U.S. Geological Survey, Virginia, USA, 81 p.
37. Hejduk, I., Svobodová, Z., 1980. Acute toxicity of carbamate-based pesticides for fish. Acta Veterinaria Brno 49: 251–257.
38. Pintoa, A. P., Serranoa, C., Piresa, T., Mestrinhóa, E., Diasa, L., Teixeiraa, D. M., Caldeira, A. T., 2012. Degradation of terbuthylazine, difenoconazole and pendimethalin pesticides by selected fungi cultures. Science of the Total Environment 435/436: 402–410.

39. Štěpánová, S., Doleželová, P., Plhalová, L., Prokeš, M., Maršálek, P., Skoric, M., Svobodová, Z., 2012. The effects of metribuzin on early life stages of common carp (*Cyprinus carpio*). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 103: 152–158.
40. Storek, E. T., Kavlock, R., 2010. Pesticides as endocrine-disrupting chemicals. In: Kriger, R. (Ed.). *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*. Volume 1, Elsevier, Amsterdam, the Netherlands, pp. 551–569.
41. Velíšek, J., Stará, A., Svobodová, Z., 2011. The effects of pyrethroid and triazine pesticides on fish physiology. In Stoytcheva, M. (Ed.). *Pesticides in the Modern World-pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment*. InTech Open Acces Publisher, Rijeka, Croatia, pp. 377–402.
42. Boxaspen, K., Holm, J. C., 2001. The development of pyrethrum-based treatments against the ectoparasitic salmon lice *Lepeophtheirus salmonis* in sea a cage rearing of Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture Research* 32: 701–707.

6.3. PORUCHY ALIMENTÁRNÍHO PŮVODU

Veronika Piačková, Helena Modrá

6.3.1. MYKOTOXIKÓZY

Helena Modrá

Mykotoxikóza je onemocnění způsobené akutní nebo chronickou otravou mykotoxiny – sekundárními metabolity mikroskopických hub (plísňí). Plísně rostou při vhodných podmínkách (zvýšené vlhkosti a teplotě) na různých plodinách, které se používají jako komponenty pro výrobu krmných směsí pro ryby. Plísně však mohou následně kontaminovat i krmiva v průběhu nevhodných podmínek skladování. Přítomnost plísně v krmivech nebo krmných surovinách neznamena ve všech případech i přítomnost mykotoxinu, avšak pravděpodobnost výskytu mykotoxinu je vysoká. Plísně také mění sensorické vlastnosti krmiv, které se tak stávají pro ryby méně atraktivní. Plísně a mykotoxiny znamenají riziko především pro akvakulturní chovy ryb. Snižují produkci ryb nejen v důsledku negativního ovlivnění různých orgánových systémů a zvýšením mortality, ale také v důsledku sníženého příjmu a konverze krmiv (1,2).

Technologické postupy při výrobě krmiv koncentraci mykotoxinů nesnižují, protože většina nebezpečných mykotoxinů je termostabilní. Například při výrobě sušených lihovarnických výpalků, které se používají do krmných směsí pro ryby, se koncentrace mykotoxinů naopak zvyšují (2,3).

Mykotoxiny způsobují u ryb v závislosti na dávce a délce příjmu různě závažné příznaky zahrnující poškození orgánů, karcinogenitu, reprodukční a vývojovou toxicitu a snížení produkčních ukazatelů (4). Chronické otravy nízkými koncentracemi mykotoxinů jsou běžnější než akutní nebo subakutní otravy.

Zdroj toxinu. Nejčastějšími producenty mykotoxinů jsou plísně rodu *Claviceps*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium* a *Aspergillus*. Výskyt plísňí a produkci mykotoxinů ovlivňuje řada faktorů, mezi které patří klimatické podmínky, typ a složení substrátu, napadení škůdci, délka a podmínky skladování surovin a krmiv apod. Vliv některých faktorů lze minimalizovat dodržováním zásad správné zemědělské praxe a optimálními podmínkami při skladování, řadu faktorů však ovlivnit nelze. Plísně mohou produkovat více mykotoxinů současně. Je tak větší pravděpodobnost, že na toxickém působení se bude podílet více mykotoxinů současně (5).

Ze surovin používaných v krmných směsích pro ryby kontaminují plísně nejčastěji pšenici, kukuřici, sóju, podzemnici a produkty z nich vyráběné. Mykotoxiny, na rozdíl od plísňí, nejsou pro člověka sensoricky rozpoznatelné a lze je prokázat jen pomocí analytických metod. Riziko přítomnosti mykotoxinů v surovinách živočišného původu (rybí moučka) je, s výjimkou aflatoxinu, nízké.

Vnímavé druhy. Dravé ryby jsou obecně k účinkům mykotoxinů citlivější než herbivorní nebo omnivorní druhy. Z běžně chovaných ryb je nejcitlivějším druhem na většinu mykotoxinů pstruh duhový (*Oncorhynchus mykiss*). Raná vývojová stádia a juvenilní ryby jsou citlivější než dospělí jedinci (4).

Průběh a vývoj onemocnění.**Aflatoxiny (AFs)**

Aflatoxikóza (onemocnění vyvolané působením aflatoxinů) se vyskytuje v subakutní, subchronické nebo chronické formě. Akutní otrava aflatoxiny je málo pravděpodobná, protože AFs vyvolávají u ryb regurgitaci žaludečního obsahu (6). Krátkodobé vysoké dávky aflatoxinu B₁ (AFB₁) mají hemato- a hepatotoxické účinky. Subakutní letální koncentrace aflatoxinu B₁ v krmivu se pohybuje od 0,5 mg.kg⁻¹ (pstruh duhový) do 100 mg.kg⁻¹ (tlamoun nilský *Oreochromis niloticus*). Při chronickém a subchronickém působení se projeví karcinogenní a genotoxické účinky AFB₁, protože tento mykotoxin je jedním z nejsilnějších přírodních karcinogenů. Jeho působení spočívá v tvorbě aduktů (tj. kovalentní vazba AFB₁ s makromolekulami DNA)(7). Karcinogenní účinek AFB₁ se u juvenilních pstruhů duhových projeví při dlouhodobém příjmu krmiva obsahujícího koncentrace vyšší než 0,001 mg.kg⁻¹ (8).

Ochratoxiny

Nejvíce toxickým ochratoxinem je ochratoxin A (OTA). Tento mykotoxin má nefrotoxické a imunosupresivní účinky. Protože je poločas vylučování OTA u ryb kratší než u savců (9), je riziko kontaminace rybího masa menší. Na základě experimentu u juvenilních sumečků tečkovaných (*Ictalurus punctatus*) lze očekávat, že nežádoucí chronické účinky u ryb vyvolají koncentrace OTA v krmivech vyšší než 0,5 mg.kg⁻¹ (10). K akutním otravám dochází, pokud obsah OTA v krmivu překračuje hodnotu 8,0 mg.kg⁻¹ (10), případně 0,3 mg.kg⁻¹ ž. hm. (15).

Fuzáriové mykotoxiny

Mezi nejvíce rizikové mykotoxiny, které produkují plísňe rodu *Fusarium*, patří trichoteceny (T-2 toxin, HT-2 toxin, deoxynivalenol, nivalenol), fumonisiny a zearalenon. Hlavním účinkem trichotecenů je inhibice proteosyntézy, snížení produkčních ukazatelů a oxidační stres (11). Deoxynivalenol (DON) v krmivu má negativní chronické působení v koncentracích od 0,3 mg.kg⁻¹ (pstruh duhový, kapr obecný) do 20 mg.kg⁻¹ (sumeček tečkovaný). Fumonisin negativně ovlivňují metabolismus tzv. sfingolipidů. Sfungolipidy jsou důležité součásti plazmatických membrán, kde mají strukturální i funkční úlohu. Sfungolipidy obsahují ceramid – sloučeninu sfingosinu s dlouhou nebo velmi dlouhou mastnou kyselinou. Jsou obsaženy hojně v nervové tkáni. Nežádoucí účinky fumonisinů byly popsány u sumečků a tilápií v koncentracích od 5 do 150 mg.kg⁻¹ krmiva (12). Estrogenní účinky zearalenonu popsané u savců byly dosud experimentálně potvrzeny u dánia pruhovaného (*Danio rerio*) a lososa obecného (*Salmo salar*)(13,14).

Klinické příznaky.**Aflatoxiny (AFs)**

Klinické příznaky aflatoxikózy souvisí s poškozením jater, narušením srážení krve, imunosupresí a karcinogenitou. Je pozorováno zpomalení pohybu ryb a snížení nebo odmítání příjmu krmiva. V některých případech akutní nebo subakutní otravy dochází k náhlému nevysvětlitelnému úhynu bez jakýchkoli předchozích klinických příznaků. Hlavní klinické příznaky při chronické otravě zahrnují apatii, odmítání krmiva, narušení jaterních funkcí, snížení konverze krmiva, úbytek hmotnosti a častý výskyt sekundárních infekčních onemocnění. Ryby hynou v důsledku celkového selhání organismu (4).

Ochratoxiny

Při chronické otravě ochratoxiny dochází ke snížení přírůstků hmotnosti (10). Při akutní otravě lze pozorovat zpomalení pohybu, narušení rovnovážné polohy a zrychlený pohyb skřelemi v důsledku poruch respirace. Těsně před úhynem se objevují záškuby svalů (15).

Fuzáriové mykotoxiny

Účinky fuzáriových mykotoxinů jsou nespecifické a zahrnují snížení příjmu a konverze krmiva (4).

Patologické změny.

Aflatoxiny

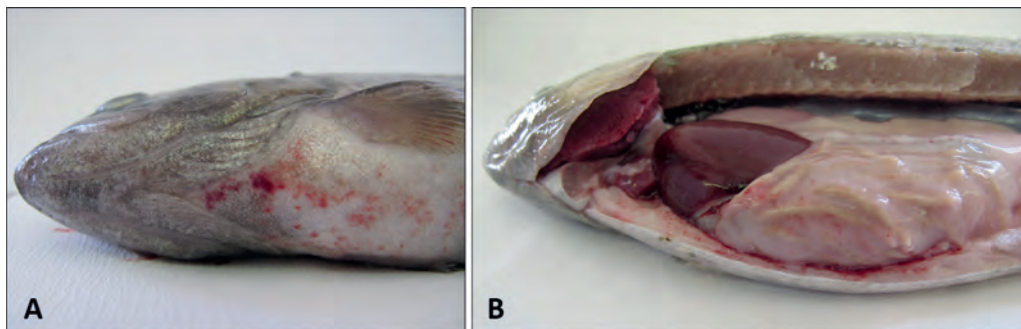
Subletální dávky AFs způsobují anémii, bledost žaber, nažloutlé zbarvení očí a kůže, snížení hodnot hematokritu, edémy, častý je výskyt hemoragií. U subakutní aflatoxikózy se zjišťují kromě předchozích změn hepatomegalie (zvětšení jater), nekrotické a vaskulární změny na játrech, ledvinách, slezině a dalších orgánech. U chronické aflatoxikózy je typickým nálezem primární hepatocelulární karcinom (7).

Ochratoxiny

U pstruhů duhových byly popsány bledé ledviny a zvětšená játra, histologicky degenerace a nekrózy ledvin a jater. U sumečků byl mimo uvedených nálezů při histologickém vyšetření zjištěn zvýšený počet melanomakrofágových center v hepatopankreatu a zadní ledvině (10).

Fuzáriové mykotoxiny

Po působení trichotecenových mykotoxinů mohou být při pitvě pozorovány hemoragie v různých orgánech i dutině tělní (obr. 6.3.1.1). Může docházet ke zvýšenému ukládání tuku a hyperémii jater (16) a degeneraci tubulárních epiteliálních buněk v ledvinách (17). Ve většině případů jsou různým způsobem ovlivněny biochemické a hematologické parametry krve, dochází k hypoproteinémii, snížení množství hemoglobinu, panleukopenii, ale i lymfocytóze (17,18).



Obr. 6.3.1.1. Petechie na ventrální straně těla (A); hemoragie na játrech a nápadné nastříknutí cév v dutině tělní (B) u pstruha duhového po 28 denním podávání krmiva s obsahem deoxynivalenolu v koncentraci 2,0 mg.kg⁻¹. (Foto: H. Modrá)

Diagnóza. Diagnóza se provádí na základě posouzení patologických změn, případně histologickým vyšetřením tumorů. Diagnóza je rovněž potvrzena průkazem zvýšených koncentrací mykotoxinů v krmivu. Využívá se moderních chromatografických metod, které umožňují stanovení velkého spektra mykotoxinů současně. V případě menšího počtu vzorků lze také využít komerční kity na stanovení jednotlivých mykotoxinů založené na principu imunochemických metod.

Terapie. Terapie se v případě mykotoxikóz neprovádí. Kontaminované krmivo je potřeba okamžitě nahradit kvalitním nezávadným krmivem. V případě fuzáriových mykotoxinů se zdravotní stav ryb upraví do několika týdnů, v případě otrav aflatoxiny je poškození organismu ryb zpravidla nevratné. Možnost úpravy zdravotního stavu vždy závisí na koncentraci a délce příjmu toxinu.

Prevence. Riziko kontaminace plodin při pěstování, sklizni i skladování lze výrazně snížit vhodnými preventivními opatřeními. Při pěstování plodin lze použít preventivně fungicidní přípravky. Důležité je také zabránit narušení plodin škůdci. Sklizeň se musí provádět v době optimální zralosti. Plodiny a následně i krmiva mají být skladovány při nízké teplotě a vlhkosti. Balené krmné směsi je vhodné pokládat na palety, které umožňují proudění vzduchu tak, aby se zabránilo vzniku vlhkosti kontaktem s chladným povrchem. Důležité je nepřekračovat datum spotřeby krmiv. Plísní napadená krmiva jsou vizuálně i čichem rozpoznatelná a neměla by být v žádném případě rybám podána. Krmné směsi určené pro ryby, které obsahují nadlimitní koncentrace mykotoxinů (tab. 6.3.1.1) nesmí být v žádném případě podány vnímavým druhům ryb.

Tab. 6.3.1.1. Limity obsahu mykotoxinů v krmných surovinách a kompletních krmných směsích.

Mykotoxin	Typ krmiva/suroviny	Limit (mg.kg ⁻¹)	Legislativní úprava
Aflatoxin B1	Doplňková a kompletní krmiva	0,01	Nařízení Komise (EU) č. 574/2011
Námel (<i>Claviceps purpurea</i>)	Krmné suroviny a krmné směsi obsahující nemleté obiloviny	1 000	Nařízení Komise (EU) č. 574/2011
Deoxynivalenol (DON)	Doplňková a kompletní krmiva	5,0	Doporučení Komise 2006/576/ES
Suma T-2 a HT-2 toxinu	Krmné směsi	0,25	Doporučení Komise 2013/165/EU
Zearalenon	Krmné suroviny: Obiloviny a produkty obilovin Vedlejší produkty kukuřice	2,0 3,0	Doporučení Komise 2006/576/ES
Ochratoxin A	Obiloviny a produkty obilovin	0,25	Doporučení Komise 2006/576/ES
Fumonisin B ₁ +B ₂	Doplňková a kompletní krmiva pro ryby	10,0	Doporučení Komise 2006/576/ES

Použití sorbentů vyvazujících mykotoxiny z krmiv je u ryb málo prozkoumáno a zřejmě má jen omezenou účinnost (19). Sorbenty navíc nesnižují nízkou chuťovou atraktivitu zaplísňeného krmiva.

6.3.2. CEROIDNÍ DEGENERACE JATER

Veronika Piačková

Úvod. Produkce ryb tradičním způsobem rybníčního chovu je limitována úživností rybníků a mnohdy i ochranou přírody. Proto se stále více rozvíjí intenzivní akvakultura, v níž jsou ryby zcela závislé na přísunu uměle vyrobených krmných směsí. Úspěšnost chovu tedy závisí na technologii chovu, schopnosti chovaných ryb přizpůsobit se tomuto intenzivnímu chovu, ale především na kvalitě granulovaných krmiv a zacházení s nimi.

Příčiny. V intenzivních chovech zejména lososovitých ryb se používají krmiva, jejichž nedílnou složkou jsou živočišné (obvykle rybí) moučky a rostlinné tuky. Ty obsahují relativně vysoké koncentrace polynenasycených mastných kyselin (polyunsaturated fatty acids – PUFA), které jsou lehce stravitelné, ale také velmi snadno podléhají peroxidaci, zvláště při nedostatečné antioxidační ochraně. Čím vyšší je stupeň nenasycenosti, tím snadněji tuky oxidují. V procesu oxidace vznikají aldehydy, epoxidy, ketony, diglyceridy, monoglyceridy a polymery. Tyto oxidativní produkty vznikající v krmivech nebo v tkáních mohou reagovat s dalšími složkami výživy (vitamíny, proteiny a tuky) a způsobovat tak snížení výživové hodnoty krmiv a poškození tkání ryb (20,21).

Vnímavé druhy. Ke vzniku lipidní degenerace jater v důsledku konzumace krmiv obsahujících oxidované tuky jsou náchylní zejména lososovití (21). Porucha postihuje ryby v intenzivních chovech.

Podmiňující faktory. Dlouhodobé skladování krmiv v nevhodných podmínkách (na světle, při vyšší teplotě), přítomnost peroxidáz, peroxidů a stopových prvků (železo a měď) může vyvolat peroxidaci tuků v krmivu (20), což se projeví zvyšováním kyselosti tuků a peroxidového čísla. Oxidační produkty zároveň snižují antioxidační působení vitamínů E a A. Zvýšený výskyt ceroidu v játrech byl také zaznamenán u pstruhů duhových při zkrmování diety tvořené z 53 % rýžovým koncentrátem (22).

Průběh a vývoj onemocnění. Ceroidní degenerace jater se vyskytuje pouze u ryb krmných výhradně umělým krmivem. Kromě zkrmování nevhodně skladovaných granulí obsahujících oxidované tuky může být ceroidní degenerace vyvolána i používáním krmiv s nevhodným poměrem esenciálních (nepostradatelných) aminokyselin, vitamínů A, E a C a s převahou glycidové složky. Takto nevhodně nutričně vyvážené krmivo způsobuje u ryb nežádoucí ztučnění jater. V důsledku nahromadění tuku v jaterních buňkách zde stoupá i množství polynenasycených mastných kyselin, které při nedostatku antioxidantů (hlavně vitamínu E) snadno podléhají autooxidaci za vzniku ceroidu (23). Ceroid je jedním z autogenních lipopigmentů, vzniká jako produkt metabolismu nenasycených mastných kyselin. Špatně se rozpouští ve vodě, v alkoholu, v tukových rozpouštědlech i ve zředěných kyselinách a zásadách. V histologických řezech se jeví jako žlutý granulární pigment barvitelný metodou dle Ziehl-Nielsen, PAS a černým Sudanem B (23,24). Oxidace PUFA, které jsou zároveň esenciálními mastnými kyselinami, může zapříčinit mimo jiné také snížení tvorby erythropoetinu v játrech a s tím související anémii a vysokou mortalitu (25,26).

Klinické příznaky. Snížení až zastavení příjmu potravy, ztmavnutí postižených ryb, které bývají ve velmi dobrém výživném stavu (20,23).

Patologické změny. Hlavními patologickými změnami jsou svalové dystrofie, ztučnění jater, zvětšení dutiny tělní, hemolytická anémie a ukládání ceroidu v tukové tkáni a v játrech (20). Játra postižených ryb jsou pískově žlutě zbarvená, v histologických řezech je ve zvýšené míře patrný ceroid. Žlučník je naplněn průzračnou tekutinou, střevo je šedobílé, jeho stěna ztenčená

a ochablá. Žaludek je prázdný nebo obsahuje malé množství bělavé tekutiny. Žaberní aparát je výrazně anemický v důsledku těžkých změn v krevním obrazu (snížení počtu erytrocytů a množství hemoglobinu)(23). Některé práce v souvislosti se zkrmováním žluklých tuků uvádějí ještě exoftalmus, celkové ztučnění, hemosiderózu sleziny a skeletální myopatie (27–30).

Diagnóza. U postižených ryb se vyvíjí anémie, kterou je možno odhalit vyšetřením krve a stanovením základních parametrů červeného krevního obrazu (počet erytrocytů, koncentrace hemoglobinu a hodnota hematokritu)(31). Za alarmující můžeme považovat snížení počtu erytrocytů na $0,7 \text{ T.l}^{-1}$, hematokritu pod $0,3 \text{ l.l}^{-1}$ a koncentrace hemoglobinu na 50 g.l^{-1} . Při těžkých stavech spojených s úhynem ryb mohou hodnoty hemoglobinu klesnout až k 7 g.l^{-1} , hematokrit k $0,04 \text{ l.l}^{-1}$ a počet erytrocytů na $0,4 \text{ T.l}^{-1}$. Při biochemickém vyšetření krevní plazmy je zjišťována výrazná hypoproteinémie (5 g.l^{-1}) a vzestup aktivity aspartátaminotransferázy a alaninaminotransferázy (23). V histologických preparátech jater barvených Sudanovou černí je patrná přítomnost ceroidu v hepatocytech a v okolí cév.

Terapie. Zásadní je okamžitá změna krmiva, změna skladovacích podmínek a dotace vitamínů E, A a C. Ryby jsou většinou schopny částečné regenerace, ale v důsledku nevratného poškození jaterní tkáně už není možný návrat k původní schopnosti využití krmiva (21).

Prevence. Obecnou prevencí je zkrmování nutričně správně vyvážených krmných směsí a jejich skladování na tmavém, suchém a chladném místě. Riziko žluknutí a toxicitu oxidovaných tuků snižuje přidavek antioxidantů do krmiv (20). Z vitamínů má prokazatelně nejvyšší antioxidační účinek vitamín E (32). Vitamín E (tokoferol) může být dodáván ve čtyřech formách (tokoferol α – δ). Tokoferol α je přítomen v rybím tuku, nemá schopnost antioxidačního působení v krmivech, ale je biologicky aktivní a funguje jako tkáňový antioxidant. Naproti tomu další formy tokoferolu (β , γ a δ), které jsou obsaženy v rostlinných olejích, nejsou příliš biologicky aktivní, ale jsou velmi účinnými antioxidanty v krmivech. Další látky přidávané do krmiv jako antioxidanty (kyselina askorbová, EDTA) brání oxidaci tuků vyvázáním kovových kationtů, které mohou přispívat k tvorbě volných radikálů (21).

6.3.3. DYSBALANCE NUTRIENTŮ, VITAMÍNŮ A MINERÁLŮ

Veronika Piačková

Úvod. Celosvětový chov ryb pro lidskou výživu se v posledních několika desetiletích stále více ubírá cestou intenzifikace a průmyslového chovu. Je to dáno zvyšující se poptávkou v důsledku nárůstu počtu obyvatel, uvědomění si dietetických předností rybiho masa a zhoršujících se podmínek mořského rybolovu. V Evropě pravděpodobně hraje hlavní roli především druhý jmenovaný faktor, spolu s tlakem organizací a institucí ochrany přírody na snížení intenzity využívání přírodních zdrojů pro rybochovné účely. V intenzivních chovech většinou nemají ryby přístup k přirozené potravě a jsou plně odkázány na předkládaná granulovaná krmiva. Cena krmiv představuje při výrobě rybiho masa klíčový náklad, proto je ze strany výrobců i chovatelů pochopitelná snaha o její snížení. Někdy však může mít využití levnějších nebo méně kvalitních surovin za následek zhoršené dietetické vlastnosti krmiva, což může způsobit v lepším případě pouze zhoršení jeho využití rybami a snížení přírůstků, v horším pak přímo poškození zdravotního stavu ryb. V posledních letech jsou v intenzivních chovech využívány i „netradiční“ druhy ryb, pro které zatím není komerčně dostupné adekvátní nutričně vyvážené krmivo. Přistupuje se tedy k využití krmiv určených pro jiné druhy, čímž může docházet k deficitům některých složek, přestože krmivo samotné je kvalitní.

6.3.3.1. Absolutní potravní deficit – celkové hladovění

Příčiny. U volně žijících ryb prakticky nepřichází v úvahu. V chovech ryb by mohlo být zapříčiněno absolutním nedostatkem krmiva, neadekvátním krmením nebo nějakými technickými či jinými překážkami bránícími rybám v přístupu ke krmivu. Někdy mohou ryby hladovět, přestože jejich přístup ke krmivu je v pořádku. Bývá to v případech, kdy ryby nejsou adaptovány na příjem umělého krmiva a odmítají je, jako je přesun volně žijících ryb do rybochovného zařízení nebo první krmení larev či plůdku. Tato fáze je pro umělý odchov raných stádií některých druhů ryb zcela klíčová (21).

Vnímavé druhy. Všechny druhy ryb.

Podmiňující faktory. Kromě absolutního nedostatku potravy nebo nedostatečné adaptace ryb na umělé krmivo bývá hladovění v důsledku zástavy příjmu potravy doprovodným procesem při mnoha infekčních chorobách.

Klinické příznaky. Po delší době hladovění mohou být ryby malátné, se zhoršenými reflexy.

Patologické změny. Hladovějící ryby bývají tmavší a mají měkčí svalovinu. Na první pohled mají viditelně větší hlavu v poměru ke zbytku těla. Žábry mohou být světlé. Při pitvě je evidentní absence abdominálního tuku, zvětšený a naplněný žlučový měchýř a celkově špatný stav vnitřních orgánů (21). Změny způsobené hladověním mohou být zjišťovány i pomocí morfologických ukazatelů, např. podle hepato-somatického indexu, střevně-somatického indexu nebo podle kondičního koeficientu. Játra a střevo hladovějících ryb se zmenšují už po 30 dnech hladovění (33). Poslední tkáň, která je během hladovění katabolizována, je kosterní svalovina. U tučnějších ryb (makrela, tolstolobik) je nejdříve spotřebováván svalový tuk, který je nahrazován vodou. U méně tučných ryb (pstruh duhový, kapr obecný) podobný proces probíhá v játrech (34,35).

6.3.3.2. Deficit nebo dysbalance hlavních živin

Proteiny a aminokyseliny

Příčiny a podmiňující faktory. Ryby mají na obsah proteinů v potravě vysoké nároky. Potřebují je nejen jako zdroj aminokyselin (AK), ale také pro glukoneogenezi a metabolickou energii. Větší nároky na proteiny ve výživě mají ryby karnivorní oproti herbivorním a omnivorním, které jsou schopny využívat jako zdroj energie i cukry. Většina herbivorních a omnivorních ryb vyžaduje krmiva s 25–35 % bílkovin, zatímco karnivorní 40–50 % (36). Proteiny jsou nezbytné pro růst, vývoj a rozmnožování. Jsou nedílnou součástí stavebních a ochranných tkání (kosti, šlachy, šupiny a kůže), měkkých tkání (orgány, svaly) a tělesných tekutin. Z hlediska výživové hodnoty jsou nejdůležitější esenciální AK, tj. takové, které si organismus sám neumí syntetizovat (arginin, histidin, isoleucin, leucin, lysin, methionin, phenylalanin, threonin, tryptofan, valin). Ryby mohou trpět nedostatkem esenciálních AK i v případech, kdy je jich v krmivu dostatek, protože pokud je celkový příjem AK v krmivu nedostatečný, mohou být i esenciální AK metabolizovány do podoby neesenciálních. Někdy také úspěšnému využití esenciálních AK brání poruchy trávení nebo jejich špatná biologická dostupnost.

Průběh a vývoj onemocnění, klinické příznaky a patologické změny. Nejčastějším indikátorem deficitu AK je zhoršení růstu a využití krmiva. Při nedostatku aminokyselin byly zaznamenány i další poruchy, především v chovech lososovitých ryb. Deficit methioninu a histidinu může vyústit v oboustranný zákal čočky, nedostatek tryptofanu může být

příčinou skoliózy a lordózy, deficit lysinu může způsobit rozpad ocasní nebo hřbetní ploutve. V komerčních chovech byly zaznamenány i další změny, jako jsou eroze hřbetní ploutve, deformity páteře a zákal čočky (37–41).

Sacharidy (glycidy)

Příčiny a podmiňující faktory. Ryby nemají žádné zvláštní nároky na obsah sacharidů v dietě. Tato složka výživy může představovat poměrně levný zdroj energie, ale schopnost využívat sacharidy z potravy jako energetický zdroj se u různých druhů ryb značně liší. Například karnivorní ryby mají tuto schopnost velmi omezenou (42). Proto bývá obsah sacharidů v krmivech pro karnivorní ryby většinou nižší než 20 %, zatímco ostatní druhy ryb jsou schopny využít i krmiva s 25–45 % rozpustných sacharidů (43).

Průběh a vývoj onemocnění, klinické příznaky a patologické změny. Nadměrný přísun sacharidů v krmivu může u lososovitých nebo okrasných ryb způsobit degeneraci hepatocytů a nadměrné ukládání glykogenu (44).

Tuky a esenciální mastné kyseliny

Příčiny a podmiňující faktory. Tato součást výživy působí u ryb nejvíce dietních problémů. Aktivní složkou tuků jsou mastné kyseliny (MK). Většinou se nevyskytují samostatně, ale jsou vázány ve formě triglyceridů nebo fosfolipidů. Tuková složka výživy musí poskytnout dostatek esenciálních mastných kyselin (EMK) a zároveň dostatek energie. EMK jsou polynenasycené MK, které jsou obsaženy v tuku mořských ryb a v rostlinách. Mají dvě a více dvojných vazeb a jsou velmi náchylné k oxidaci. Oxidace tuků je při zkrmování umělých krmiv velmi častým problémem a může způsobovat nutriční poruchy destrukcí EMK, vyčerpáním tkáňových antioxidantů a produkcí toxických sloučenin (viz kapitola 6.3.2). Současný trend používání vysoce tučných krmiv, zejména v chovech lososovitých ryb, k výskytu těchto problémů velmi přispívá (21).

Průběh a vývoj onemocnění, klinické příznaky a patologické změny. Většina ryb není schopna syntetizovat polynenasycené MK řady n-3 (k. linolenová) a n-6 (k. linolová). Při jejich nedostatku v krmivu může dojít ke vzniku myokarditidy, zpomalení růstu, snížení konverze krmiva a zvýšené mortalitě. U generačních ryb je ovlivněna jejich reprodukční schopnost, dochází ke snížení oplozenosti a líhivosti jiker, výskytu embryonálních deformit a snížení přežití potomstva (20).

6.3.3.3. Hypovitaminózy

Úvod. Vitamíny tvoří komplex organických látek obvykle nízké molekulární hmotnosti, které jsou nezbytné pro mnoho metabolických procesů. Ryby jich potřebují pouze malá množství, ale jejich potřeba může během růstu nebo výtěru stoupat. Vitamíny se dělí do dvou skupin – rozpustné v tucích a rozpustné ve vodě (tab. 6.3.3.3.1). Vitamíny rozpustné v tucích jsou součástí buněčných membrán a některé mají také funkci podobnou hormonům. Vitamíny rozpustné ve vodě působí jako koenzymy urychlující enzymatické reakce a často také plní roli nosičů určitých chemických látek.

Vzhledem k tomu, že vitamíny rozpustné v tucích jsou uloženy v tělesném tuku, je doba, za kterou se projeví jejich nedostatek v potravě ryb, poměrně dlouhá a při nadměrném přísunu hrozí dokonce předávkování (34). Na rozdíl od nich, vitamíny rozpustné ve vodě nejsou ukládány do zásoby, takže jejich nedostatek se projeví podstatně dříve. U mladých, rychle rostoucích ryb je to otázka týdnů.

Příčiny a podmiňující faktory. Nedostatečný přísun vitamínů přichází v úvahu zejména v intenzivních chovech, kde ryby nemají přístup k přirozené potravě, především při umělém odchovu nejranějších věkových kategorií.

Význam vitamínů pro ryby, klinické a patologické změny vyvolané jejich nedostatkem:

Vitamín A

Jsou známy tři aktivní formy vitamínu A: retinol, retinal a kyselina retinová. V rostlinách jsou obsaženy prekurzory – karotenoidy, které jsou na retinol přeměněny ve střevní sliznici. Nejvyšší biologickou aktivitu vykazuje beta-karoten.

Vitamín A je nezbytný pro správné vidění, embryonální vývoj, ochrannou funkci sliznic, permeabilitu buněčných membrán, vývoj kostí a syntézu kortikosteronu.

Hypovitaminóza A se projevuje zhoršením růstu, keratomalácií (měknutím rohovky), exoftalmem, hemoragiemi u základěn ploutví, zkrácením žaberních oblouků a skřelových víček (43–45).

Vitamín D

Jsou známy dvě přírodní formy vitamínu D: ergokalciferol (D_2), který je rostlinného původu, a cholekalciferol (D_3), který je nacházen ve tkáních živočichů. Většina zvířat včetně ryb je schopna si cholekalciferol syntetizovat ze 7-dihydrocholesterolu za přítomnosti UV záření. V mnoha situacích je však tato syntéza nedostatečná a je potřeba doplňovat vitamín D potravou. Hlavní funkcí vitamínu D je regulace homeostázy vápníku a fosforu, jejich vstřebávání sliznicí střevní, mineralizace kostí a vylučování. Ryby jsou schopny přijímat vitamín D i žábry (18).

Hypovitaminóza D se u lososovitých ryb projevuje tetanickými křečemi svalstva, zhoršením růstu, zvýšeným ukládáním tuku v játrech a lordózou. Nejsou pozorovány změny ve stavbě kostí (46).

Vitamín E

Působí jako biologický antioxidant, brání peroxidaci polynenasycených mastných kyselin. Nejčastějšími příznaky hypovitaminózy E jsou svalové dystrofie včetně atrofie a nekrózy bílých svalových vláken, intersticiální edém myokardu, kosterních svalů a dalších tkání v důsledku zvýšené permeability kapilárních stěn, porucha erythropoézy, anémie, hromadění zeleného exsudátu v dutině tělní (v důsledku rozkladu hemoglobinu), depigmentace a přítomnost ceroidu v játrech (viz kap. 6.3.2) (49).

Vitamín K

Vitamín K je důležitý pro správnou srážlivost krve.

Hypovitaminóza K se projevuje zpomalením koagulace krve, krvácivými projevy, anémií a přítomností hemoragických okrsků na žábách. Příznaky chronické hypovitaminózy K jsou velmi podobné virové hemoragické septikémii (20). Důsledkem nedostatku vitamínu K může být také abnormálně pomalý růst a snížená pevnost kostí (50).

Vitamín B₁

Thiamin je koenzymem mnoha esenciálních enzymů, které se účastní metabolismu sacharidů. Má vliv na trávení, reprodukci a činnost centrální i periferní nervové soustavy. K deficitu může dojít mimo jiné při zkrmování tepelně neupravených ryb (např. kaprovitých), které ve svých tkáních obsahují velké množství thiaminázy (51). Hypovitaminóza B₁ se u ryb projevuje změnou zbarvení, hemoragiemi u základěn ploutví, ale zejména hyperexcitabilitou a paralýzou nebo zhoršeným plaváním. Histologické vyšetření mozku odhaluje mnohočetné hemoragie a degeneraci tkáně (52,53).

Vitamín B₂

Riboflavin je aktivní jako koenzym v oxidázových systémech. Je důležitý pro dýchání málo prokrvených tkání, jako je např. rohovka oka. Je přítomen v mnoha rostlinných a živočišných tkáních, ale je snadno destruován UV zářením.

Při hypovitaminóze B₂ jsou u kapra popisovány petechie ve svalovině a v orgánech (54). Nejčastějším příznakem však bývá zánět oka charakterizovaný neprůhledností rohovky s prorůstáním limbálních kapilár a s hemoragiemi. Bývá také pozorován oboustranný šedý zákal (55).

Vitamín B₅

Kyselina pantothenová zastává funkci koenzymu v metabolismu bílkovin, tuků i cukrů.

Hypovitaminóza B₅ vede k nechutenství, k hyperplazii primárních a ke slepování sekundárních žaberních lamel (56,57). Bývá pozorována nekróza, poškození povrchu a atrofie buněk žaberních lístků (61). Lamelární hyperplazie spojená s vyšší produkcí hlenu na povrchu žaberních lístků často vyúsťuje v sekundární flavobakteriální infekci (21).

Vitamín B₆

Pyridoxin je pro ryby zvláště významný vzhledem k jejich vysoké potřebě bílkovin, neboť hraje klíčovou roli jako koenzym při deaminaci aminokyselin. Čím vyšší je procento bílkovin v krmivu, tím vyšší je tedy potřeba vitamínu B₆. Je obsažen v kvasnicích, obilí a živočišných tkáních. Jeho nedostatek v potravě většinou nehrozí, ale je velmi citlivý na destrukci UV zářením. Jeho aktivní forma, pyridoxal fosfát, je při nedostatečném přísunu z rybích tkání rychle vyčerpána.

Příznaky hypovitaminózy B₆ jsou při zkrmování deficientního krmiva u plůdku patrné během 3–4 týdnů. U lososů byly popsány degenerativní změny ledvin, jater a ovarií a hyperplazie krvetvorné tkáně (59). Klinicky se nedostatek pyridoxinu manifestuje hyperexcitabilitou, zhoršeným růstem a paralýzou ryb projevující se svěšenou ocasní ploutví (60).

Vitamín B₁₂

Cyanokobalamin je nezbytný pro vývoj a dozrávání erytrocytů, pro metabolismus mastných kyselin, některých aminokyselin a kyseliny listové. Je produkován střevní sliznicí, proto jeho deficit, zvláště u kaprovitých ryb, je velmi ojedinělý (21). U lososovitých ryb byla pozorována makrocytární megaloblastová hypochromní anémie s fragmentací a poruchou dozrávání erytrocytů (58).

Niacin

Zdrojem niacinu jsou kyselina nikotinová a nikotinamid obsažené v potravě. Niacin zastává funkci koenzymu v mnoha enzymatických reakcích metabolismu bílkovin, tuků i cukrů (19).

Při nedostatku byly popsány hemoragie, svalové křeče a edém sliznice gastrointestinálního traktu (61–63). Často se objevují zánětlivé změny na kůži způsobené zvýšenou citlivostí kůže vůči působení UV záření (64).

Biotin

Vzhledem k hojnému zastoupení biotinu v různých složkách potravy a ke schopnosti střevních bakterií jej syntetizovat je hypovitaminóza téměř vyloučena (65,66).

Při experimentálně indukované hypovitaminóze bylo u lososovitých ryb zaznamenáno zaostávání v růstu, snížení konverze krmiva, ztmavnutí kůže a nechutenství (67).

Cholin

Absence cholinu v krmné dávce způsobuje ukládání tuku v játrech a vakuolizaci jaterních buněk (58). U jeseterů bylo zaznamenáno ztenčení svalové vrstvy střevní stěny a fokální degenerace exokrinní tkáně pankreatu (68).

Kyselina listová

Nedostatek kyseliny listové způsobuje u ryb nechutenství, zpomalení růstu, zhoršení konverze živin, ztmavnutí kůže a makrocytární normochromickou megaloblastickou anémií (58), která se navenek projevuje světlou barvou žaber. Erytrocyty jsou velké, s abnormálně segmentovaným a zúženým jádrem. V krvevorné tkáni přední ledviny je přítomno velké množství megaloblastických proerytrocytů.

Vitamín C

Kyselina askorbová působí jako kofaktor při biosyntéze kolagenu, který je součástí všech pojivových tkání (kosti, kůže, šlachy, chrupavky, povázky atd.). Proto je vitamín C pro ryby důležitý zejména pro správnou stavbu kostí a hojení ran (36). Je taky významným antioxidantem. Ryby, na rozdíl od většiny savců, nejsou schopny si vitamín C syntetizovat (20). V přirozeném prostředí jsou jeho jediným zdrojem vodní řasy. V intenzivních chovech je třeba saturovat potřebu vitamínu C krmivem.

Při hypovitaminóze C je v obsádkách ryb častější výskyt pokřivení páteře (lordóza, skolióza), zlomenin, deformit žaberních oblouků a skřelového víčka (69,70). Bývají pozorovány také hemoragie na vnitřních orgánech, letargie a nechutenství (71,72). Vitamín C má také vliv na reprodukci a imunitní systém ryb (73,74). Nejvyšší potřebu vitamínu C vykazují ryby během embryonálního a larválního vývoje, proto by měl být kladen důraz zvláště na kvalitu krmení generačních ryb.

Diagnóza. Bývá většinou obtížná, protože téměř nikdy se neprojevují příznaky hypovitaminózy izolovaně. Může být stanovena na základě klinických a patologických změn, anamnestických údajů, stanovení obsahu vitamínů v krmivu a vyloučení působení jiných patogenních činitelů.

Prevence. Spočívá v zajištění dostatku přirozené potravy, respektive krmiva s optimálním zastoupením všech vitamínů. Doporučené hodnoty jsou uvedeny v tabulce 6.3.3.3.1.

Tab. 6.3.3.3.1. Doporučené zastoupení vitamínů v 1 kg krmiva pro ryby (podle firmy Roche, 1999)(23).

	Vitamín	Kapr a kaprovité ryby	Pstruh a ostatní lososovité ryby
Rozpuštěné v tucích	Vit. A (axeroftol)	8 000–11 000 m.j.	4 000–8 000 m.j.
	Vit. D (cholecalciferol)	1 500–2 000 m.j.	2 000–2 500 m.j.
	Vit. E (tokoferol)	100–300 mg	200–400 mg
	Vit. K	5–10 mg	8–12 mg
Rozpuštěné ve vodě	Vit. B ₁ (thiamin)	10–20 mg	10–20 mg
	Vit. B ₂ (riboflavin)	15–20 mg	20–30 mg
	Vit. B ₅ (kys. pantothenová)	40–50 mg	40–60 mg
	Vit. B ₆ (pyridoxin)	8–12 mg	15–25 mg
	Vit. B ₁₂ (cyanokobalamin)	0,02–0,05 mg	0,03–0,05 mg
	Vit. PP (niacin)	80–120 mg	150–200 mg
	Vit. H (biotin)	0,5–1,0 mg	0,8–1,0 mg
	Cholin	600–1 000 mg	500–1 000 mg
	Kys. listová	4–7 mg	6–10 mg
	Vit. C (kys. askorbová)	150–250 mg	150–300 mg

6.3.3.4. Nedostatek minerálů

Potřeba minerálních prvků je u ryb obdobná jako u suchozemských živočichů – jsou nezbytné pro stavbu tkání, pro různé metabolické funkce a pro osmoregulaci (36,75).

Minerály se dělí podle jejich kvantitativní potřeby a zastoupení v organismu na makroprvky (vápník, fosfor, hořčík, chlór, sodík, draslík a síra) a mikro- nebo stopové prvky (kobalt, chrom, měď, jód, železo, mangan, selen, zinek aj.).

Na rozdíl od terestrických živočichů mohou ryby přijímat minerály nejen v potravě, ale také je resorbovat přes kůži a žábry z vodního prostředí. Z toho důvodu je v přirozeném prostředí deficit některých makroprvků, např. **vápníku**, téměř vyloučen. Naproti tomu **fosfor** je nutno dodávat v krmivu, protože jeho využití z vody je velmi omezené. Fosfor vylučovaný rybami se podílí na zvyšování eutrofizace vod. Snaha o snížení množství vylučovaného fosforu může vést až k mírnému deficitu tohoto prvku v potravě ryb, což se projeví zhoršením růstu a konverze krmiva, snížením mineralizace tkání a různými deformacemi kostry, zejména u juvenilních ryb (36). U kaprů trpících nedostatkem fosforu byla zaznamenána zvýšená aktivita glukoneogenních enzymů v játrech, zvýšené ztučnění, snížená koncentrace fosfátů v krevní plazmě a deformity hlavy (76).

Hořčík je důležitý pro metabolismus kostí, osmoregulaci a neuromuskulární přenos. Je součástí mnoha enzymů. Nedostatek hořčíku se projevuje nechutenstvím, letargií a zpomalením růstu. U pstruha duhového může vzniknout kalcinóza ledvin, deformity obratlů a degenerace svalových vláken, epiteliálních buněk v pylorických přívěscích a epitelu žaber. U kaprů krměných krmivem s nedostatkem hořčíku se mohou projevit křeče (20).

Sodík, draslík a **chlór** jsou základními živočišnými elektrolyty. **Sodík** je extracelulární kationt důležitý pro osmoregulaci, acidobazickou rovnováhu a aktivní transport přes buněčné membrány. **Chlór** je extracelulární aniont obsažený zejména v žaludeční šťávě. **Draslík** je intracelulární kationt zodpovědný zejména za neuromuskulární přenos vzruchů. Vzhledem k jejich dostatečnému zastoupení v přírodě nebývá s nedostatkem těchto prvků u ryb problém.

Při experimentálně vyvolaném deficitu draslíku bylo u lososů pozorováno nechutenství, svalové křeče a úhyny (77).

Železo se účastní buněčného dýchání, je součástí hemoglobinu a myoglobinu i dalších látek bílkovinné povahy. Hlavním zdrojem železa pro ryby je potrava, částečně je vstřebáváno přes žábry. Při nedostatku vyvolaném zkrmováním granulí s nízkým obsahem železa je zjišťován snížený hematokrit v důsledku mikrocytární anémie, snížená koncentrace hemoglobinu a nažloutlá játra (78). Při příjmu krmiva s obsahem železa vyšším než 1380 mg.kg^{-1} může u pstruhů dojít k projevům intoxikace, a sice ke zhoršení růstu, špatnému využití krmiva, odmítání krmiva, průjmům, poškození jaterních buněk a ke zvýšené mortalitě (79).

Mangan je součástí mnoha enzymů zapojených do metabolismu tuků a cukrů. Je také součástí kostí a má vliv na mozkové funkce. Nedostatek se u pstruhů duhových projevuje zpomalením růstu, deformacemi kostry a špatnou líhivostí jiker (80).

Zinek je také součástí mnoha metalo-enzymů zapojených do metabolismu cukrů, tuků i bílkovin. Rybami je přijímán přes žábry i sliznicí střeva (76). Přebytečný zinek je vylučován žlučí, výkaly a žábry (81). Nedostatek zinku způsobuje nechutenství, zhoršení růstu, vysokou mortalitu, zákaly čočky, kožní eroze, rozpad ploutví a zkrácení trupu. Nedostatečná koncentrace zinku ve výživě má za následek také sníženou produkci a líhivost jiker (80).

Jód potřebují ryby pro syntézu tyroidních hormonů (tyroxin a trijodtyronin). Tyroidní hormony regulují buněčnou oxidaci a v interakcích s ostatními hormony ovlivňují celkový růst a metabolismus. Jód je rybami přijímán z potravy a přes žábry v iontové podobě (jodid). Výsledkem nedostatku jódu je hypotyroidismus, který je ale u ryb vzhledem k bohatému zastoupení jódu v krmivech velmi vzácný (20). Problémem bývá nedostatek jódu při odchovu mořských akvarijních ryb, kde udržení správné koncentrace solí je pro chov limitující faktor. Nedostatek jódu se projeví zvětšením štítné žlázy (obr. 6.3.3.4.1), které rychle vymizí po jeho dodání.



Obr. 6.3.3.4.1. Zduření štítné žlázy (šipka) u žraloka z důvodu deficitu jódu ve vodě (naskenovaná pohlednice).

Měď je součástí mnoha enzymů účastnících se oxidačně-redukčních reakcí, ochrany buněk před volnými radikály, syntézy kolagenu a produkce melaninu. Prostřednictvím ceruloplazminu přítomného v buňkách a krevní plazmě ovlivňuje využití železa. Rybami je přijímána přes sliznici střevní i přes žábry (82). Nadbytečná měď z krmiva není sliznicí střeva vstřebávána

a je vyloučena výkaly spolu s odloupanými epitelii (83). Měď je dostatečně zastoupena v krmivech i ve vodě, proto u ryb nebývají zaznamenány žádné příznaky deficiencie. Naopak, vyšší koncentrace mohou vyvolat intoxikaci projevující se těžkým poškozením žaber a nekrotickými změnami v játrech a ledvinách. U pstruha duhového byly zaznamenány příznaky intoxikace (snížení růstu a konverze krmiva a zvýšený obsah mědi v játrech) při 730 mg.kg⁻¹ krmiva (84).

Potřeba **selenu** je závislá na přítomnosti vitamínu E, polynenasycených mastných kyselin a některých dalších složek výživy. Příjem selenu přes žábry je velmi účinný i při jeho nízkých koncentracích ve vodě. Nedostatek selenu vyvolává u pstruhů zhoršení růstu, ale nebyly pozorovány žádné patologické změny. Selen spolu s vitamínem E působí proti vzniku svalových dystrofií u lososů a proti exudativní diatéze u pstruhů. Při vyšších koncentracích v krmivu (10 mg.kg⁻¹ a více) se u pstruhů duhových objevují příznaky intoxikace, např. nefrokalcinóza (85,86). Selen snižuje toxicitu metylrtuti, tudíž deficit selenu zvyšuje toxicitu těžkých kovů (20).

Biologická funkce **chromu** úzce souvisí s inzulínem. Přídavek chromu do krmné dávky kaprů obecných a tlamounů nilských zvýšil využití glukózy, ale tento efekt nebyl u jiných druhů ryb prokázán. Patologické změny jako důsledek deficitu chromu u ryb nebyly zaznamenány, avšak toxicita šestimocného chromu prokázána byla (20).

Prevence. V přirozených podmínkách se dysbalance minerálů nevyskytují. V umělých a intenzivních chovech je třeba zohledňovat potřeby minerálů podle druhů a věkových kategorií ryb a dbát na dostatečnou dotaci vitamínů v krmivu.

LITERATURA

1. Hoofft, J.M., Elmor, A.E.H.I., Encarnação, P., Bureau, D.P., 2011. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is extremely sensitive to the feed-borne Fusarium mycotoxin deoxynivalenol (DON). *Aquaculture* 311: 224–232.
2. Manning, B.B., Abbas, H.K., 2012. The effect of Fusarium mycotoxins deoxynivalenol, fumonisin, and moniliformin from contaminated moldy grains on aquaculture fish. *Toxin Reviews* 31: 11–15.
3. Wu, F., Munkvold, G.P., 2008. Mycotoxins in ethanol co-products: modeling economic impacts on the livestock industry and management strategies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 3900–3911.
4. Matejova, I., Svobodova, Z., Vakula, J., Mares, J., Modra, H., 2017. Impact of mycotoxins on aquaculture fish species: A review. *Journal of the World Aquaculture Society* 48: 186–200.
5. Greco, M., Pardo, A., Pose, G., 2015. Mycotoxigenic fungi and natural co-occurrence of mycotoxins in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feeds. *Toxins* 7: 4595–4609.
6. Bauer, D.H., Lee, D.J., Sinnhuber, R.O., 1969. Acute toxicity of aflatoxins B1 and G1 in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Toxicology and Applied Pharmacology* 15: 415–419.
7. Santacroce, M.P., Conversano, M.C., Casalino, E., Lai, O., Zizzadoro, C., Centoducati, G., Crescenzo, G., 2008. Aflatoxins in aquatic species: metabolism, toxicity and perspectives. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 18: 99–130.
8. Ashley, L.M., Halver, J.E., 1963. Multiple metastasis of rainbow trout hepatoma. *Transactions of the American Fisheries Society* 92: 365–371.

9. Hagelberg, S., Hult, K., Fuchs, R., 1989. Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasma-binding properties. *Journal of Applied Toxicology* 9: 91–96.
10. Manning, B.B., Ulloa, R.M., Li, M.H., Robinson, E.H., Rottinghaus, G.E., 2003. Ochratoxin A fed to channel catfish (*Ictalurus punctatus*) causes reduced growth and lesions of hepatopancreatic tissue. *Aquaculture* 219: 739–750.
11. Modra, H., Sisperova, E., Blahova, J., Enevova, V., Fictum, P., Franc, A., Mares, J., Svobodova, Z., 2018. Elevated concentrations of T-2 toxin cause oxidative stress in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition* 24: 842–849.
12. Anater, A., Manyes, L., Meca, G., Ferrer, E., Luciano, F.B., Pimpão, C.T., Font, G., 2016. Mycotoxins and their consequences in aquaculture: A review. *Aquaculture* 451: 1–10.
13. Arukwe, A., Grotmol, T., Haugen, T.B., Knudsen, F.R., Goksøyr, A., 1999. Fish model for assessing the *in vivo* estrogenic potency of the mycotoxin zearalenone and its metabolites. *Science of the Total Environment* 236: 153–161.
14. Bakos, K., Kovács, R., Staszny, Á., Sipos, D.K., Urbányi, B., Müller, F., Csenki, Z., Kovács, B., 2013. Developmental toxicity and estrogenic potency of zearalenone in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology* 136–137: 13–21.
15. El-Sayed, Y.S., Khalil, R.H., Saad, T.T., 2009. Acute toxicity of ochratoxin A in marine water-reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Chemosphere* 75: 878–882.
16. Pietsch, C., Schulz, C., Rovira, P., Kloas, W., Burkhardt-Holm, P., 2014. Organ damage and hepatic lipid accumulation in carp (*Cyprinus carpio*) after feed-borne exposure to the mycotoxin deoxynivalenol (DON). *Toxins* 6: 756–778.
17. Matejova, I., Modra, H., Blahova, J., Franc, A., Fictum, P., Sevcikova, M., Svobodova, Z., 2014. The effect of mycotoxin deoxynivalenol on haematological and biochemical indicators and histopathological changes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *BioMed Research International* 2014: 310680.
18. Matejova, I., Faldyna, M., Modra, H., Blahova, J., Palikova, M., Markova, Z., Franc, A., Vicenova, M., Vojtek, L., Bartonkova, J., Sehonova, P., Hostovsky, M., Svobodova, Z., 2017. Effect of T-2 toxin-contaminated diet on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish and Shellfish Immunology* 60: 458–465.
19. Hooft, J.M., Bureau, D.P., 2017. Evaluation of the efficacy of a commercial feed additive against the adverse effects of feed-borne deoxynivalenol (DON) on the performance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 473: 237–245.
20. Lall, S.P., 2010. Disorders of Nutrition and Metabolism. In: Leatherland, J.F., Woo, P.T.K. (Eds), *Fish Diseases and Disorders, Volume 2: Non-infectious Disorders*, 2nd edn. CABI, Oxfordshire, UK: 202–237.
21. Hardy, R.W., 2012. The Nutritional Pathology of Teleosts. In: Roberts, R.J. (Ed.). *Fish Pathology*, 4th edn. Blackwell Publishing, Chichester, UK: 402–424.
22. Gai, F., Gasco, L., Dapra, F., Palmegiano, G.B., Sicuro, B., 2012. Enzymatic and histological evaluations of gut and liver in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed with rice protein concentrate-based diets. *Journal of the World Aquaculture Society* 43: 218–229.
23. Navrátil, S., Svobodová, Z., Lucký, Z., 2000. *Choroby ryb*. Ediční středisko Veterinární a farmaceutické univerzity Brno, 155 p.

24. Wood, E.M., Yasutake, W.T., 1956. Ceroid of fish. *American Journal of Pathology* 32: 591–603.
25. Castell, J.D., Sinnhuber, R.O., Wales, J.H., Lee, D.J., 1972. Essential fatty acids in the diet of rainbow trout: growth feed conversion and some gross deficiency symptoms. *Journal of Nutrition* 102: 77–86.
26. Takeuchi, T., Watanabe, T., 1982. Effect of various polyunsaturated fatty acids on growth and fatty acids compositions of rainbow trout, coho salmon and chum salmon. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish* 48: 1754–1752.
27. Soliman, A.K., Roberts, R.J., Jauncey, K., 1983. The pathological effect of feeding rancid lipid in diets for *Oreochromis niloticus* (Trewavas). In: Fishelson, L. (Ed.). *Proceedings of International Symposium Tilapia in Aquaculture*. Tel Aviv University Press, pp. 193–199.
28. Murai, T., Andrews, J.W., 1974. Interactions of dietary α -tocopherol oxidized menhaden oil and ethoxyquin on channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Journal of Nutrition* 104: 1416–1431.
29. Park, S.I., 1978. Nutritional liver disease in cultured yellow tail *Seriola quinqueradiata* caused by feed deficiency. *Bulletin of Korean Fisheries Society* 11: 1–4.
30. Moccia, R.D., Hung, S.S.O., Slinger, S.J., Ferguson, H.W., 1984. Effect of oxidised fish oil, vitamin E and ethoxyquin on the histopathology and haematology of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Diseases* 7: 269–282.
31. Řehulka, J., 1990. Effect of hydrolytically changed and oxidized fat in dry pellets on the health of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Richardson). *Aquaculture and Fisheries Management* 21: 419–434.
32. Smith, C.E., 1979. The prevention of liver lipid degeneration (ceroidosis) and microcytic anaemia in rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson fed rancid diets: a preliminary report. *Journal of Fish Diseases* 2: 429–437.
33. Love, R.M., 1980. *The Chemical Biology of Fishes*, Vol. 2. Academic Press, London and New York, 943 p.
34. Jezierska, B., Hazel, J.R., Gerking, S.D., 1982. Lipid mobilization during starvation in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, with attention of fatty acids. *Journal of Fish Biology* 21: 681–692.
35. Mazeaud, M.M., Mazeaud, F., Donaldson, E.M., 1977. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. *Transactions of the American Fisheries Society* 106: 201–212.
36. NRC (National Research Council), 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. National Academy Press, Washington, US, 128 p.
37. Walton, M.J., Cowey, C.B., Andron, J.W., 1982. Methionine metabolism in rainbow trout fed diets of differing methionine and cystine contents. *Journal of Nutrition* 112: 1525–1535.
38. Akiyama, T., Aria, S., Murai, T., Nose, T., 1985. Threonine, histidine and lysine requirements of chum salmon fry. *Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish* 51: 635–639.
39. Ketola, H.G., 1983. Requirement for dietary lysine and arginine by fry of rainbow trout. *Journal of Animal Sciences* 56: 101–107.
40. Halver, J.E. Shanks, W.E., 1960. The nutrition of salmonid fishes 8: Indispensable amino acids for sock-eye salmon. *Journal of Nutrition* 72: 340–348.

41. Breck, O., Bjerkås, E., Campbell, P., Rhodes, J.D., Sanderson, J., Waagbø, R., 2005. Histidine nutrition and genotype affect cataract development in Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases* 28: 357–371.
42. Lovell, R.T., 1998. *Nutrition and Feeding of Fish*, 2nd edn. Springer, US, 248 p.
43. Gatlin, D.M.III, 2008. Non-infectious Diseases: Nutritional Factors. In: Eiras, J.C., Segner, H., Wahli, T., Kapoor, B.G. (Eds). *Fish Diseases, Volume 2*. Science Publisher, Enfield, USA, pp. 1201–1224.
44. Hemre, G.I., Mommsen, T.P., Krogdahl, A., 2002. Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture Nutrition* 8: 175–794.
45. Kitamura, S., Suwa, T., Ohara, S., Nakagawa, K., 1967. Studies on vitamin requirements of rainbow trout. 3. Requirements for vitamin A and deficiency symptoms. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 33: 1126–1131.
46. Hosokawa, H., 1989. The vitamin requirements of fingerling yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. Ph.D. dissertation, Kochi University, Japan.
47. Moren, M., Opstad, I. Berntssen, M.H.G., Infante, J.L.Z., Hamre, K., 2004. An optimum level of vitamin A supplements for Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) juveniles. *Aquaculture* 235: 587–599.
48. Barnett, B.J., Cho, C.Y., Slinger, S.J., 1982. Relative bioponency of ergocalciferol and cholecalciferol and the role of an requirement for vitamin D in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Nutrition* 112: 2011–2019.
49. Roberts, R.J., 2002. Nutritional Pathology. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds). *Fish Nutrition*, 3rd edn. Academic Press, San Diego, California, pp. 454–504.
50. Roy, P.K., Lall, S.P., 2007. Vitamin K deficiency inhibits mineralization and enhances deformity in vertebrae of haddock (*Melanogrammus aeglefinus* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology* 148B: 174–183.
51. Brown, S.B., Fitzsimons, J.D., Honeyfield, D.C., Tillit, D.E., 2005. Implications of the thiamin deficiency in Great Lakes salmonids. *Journal of Aquatic Animal Health* 17: 133–134.
52. Hashimoto, Y., Arai, S., Nose, T., 1970. Thiamine deficiency symptoms experimentally induced in the eel. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 36: 791–797.
53. Blaxter, J.H.S., Roberts, R.J., Balbontin, F., McQueen, A., 1974. B-group vitamin deficiency in cultured herring. *Aquaculture* 3: 387–394.
54. Ogino, C., 1967. B-vitamin requirements of carp. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 33: 351–354.
55. Barash, H., Poston, H.A., Rumsey, G.L., 1982. Differentiation of soluble proteins in cataracts caused by deficiencies of methionine, riboflavin or zinc in diets fed to Atlantic salmon, *Salmo salar*, rainbow trout, *Salmo gairdneri* and lake trout, *Salvelinus namaycush*. *Cornell Veterinarian* 72:361–371.
56. Karges, R.G., Woodward, B., 1984. Development of lamellar hyperplasia in pantothenic acid deficient rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson). *Journal of Fish Biology* 25: 57–62.
57. Wen, Z.P., Zhou, X.Q., Feng, L., Jiang, J., Jiu, Y., 2009. Effect of dietary panthotenic acid supplement on growth, body composition and intestinal enzyme activities of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture Nutrition* 15: 470–476.

58. Halver, J.E., 2002. The Vitamins. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds). Fish Nutrition, 3rd edn, Academic Press, San Diego, USA: pp. 61–141.
59. Herman, R.L., 1985. Pyridoxin deficiency in Atlantic salmon. *Aquaculture* 46: 173–177.
60. Kissil, J.W., 1981. Pyridoxin requirements of the head bream *Sparus aurata*. *Aquaculture* 23: 234–255.
61. Halver, J.E., 1957. Niacin deficiency in trout. *Progressive Fish-Culturist* 19: 112–118.
62. Poston, H.A., Di Lorenzo, R.N., 1973. Tryptofan conversion to niacin in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 144: 110–112.
63. Shiau, S.Y., Suen, G.S., 1992. Estimation of the niacin requirements for tilapia fed diets containing glucose or dextrin. *Journal of Nutrition* 122: 2030–2036.
64. De Long, D.C., Halver, J.E., Yasutake, W.T., 1958. Niacin supplementation and „black-peel” in salmonids. *Progressive Fish-Culturist* 20: 111–113.
65. Castledine, A.J., Cho, C.Y., Slinger, S.J., Hicks, B., Bayley, H.S., 1978. Influence of biotin dietary level on growth, metabolism and pathology of rainbow trout. *Journal of Nutrition* 108: 698–711.
66. Lovell, R.T., Buston, J.C., 1984. Biotin supplementation of practical diets for channel catfish. *Journal of Nutrition* 114: 1092–1096.
67. Poston, H.A., Page, J.W., 1982. Gross and histological signs of dietary deficiencies of biotin and pantothenic deficiency in lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Cornell Veterinarian* 72: 242–261.
68. Hung, S.S.O., 1989. Choline requirement of hatchery-produced juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture* 78: 183–194.
69. Kitamura, S., 1965. Studies on vitamin requirements of rainbow trout, *Salmo gairdneri* 1. On the ascorbic acid. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 31: 818–826.
70. Soliman, A.K., Jauncey, K., Roberts, R.J., 1986. The effect of dietary ascorbic acid supplementation on hatchability, survival rate and fry performance in *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Aquaculture* 59: 197–208.
71. Hilton, J.W., Hodson, F.V., 1983. Effect of increased dietary carbohydrate on selenium metabolism and toxicity in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Nutrition* 113: 1241–1248.
72. Sato, M., Kondo, T., Yoshinaka, R., Ikeda, S., 1983. Effect of water temperature on the skeletal deformity in ascorbic acid deficient rainbow trout. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 49: 443–446.
73. Gabaudan, J., Verlhac, V., 2001. Critical Review of the Requirements of Ascorbic Acid in Cold and Cool Water Fishes (Salmonids, Percids, Plecoglossids, and Flatfishes). In: Dabrowski, K. (Ed.). *Ascorbic Acid in Aquatic Organisms*, CRC Press, Boca Raton, pp. 33–38.
74. Gatlin, D.M. III, 2002. Nutrition and Fish Health. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds). Fish Nutrition, 3rd edn. Academic Press, San Diego, California, pp. 672–702.
75. Schwarz, F.J., 1995. Determination of mineral requirements of fish. *Journal of Applied Ichthyology* 11: 164–174.
76. Lall, S.P., 2002. The Minerals. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds). Fish Nutrition, 3rd edn. Academic Press, San Diego, California, pp. 259–308.
77. Shearer, K.D., 1988. Dietary potassium requirements of juvenile Chinook salmon. *Aquaculture* 73: 119–130.

78. Gatlin, D.M. III, Wilson, R.P., 1986. Characterisation of iron deficiency and the dietary iron requirement of fingerling channel catfish. *Aquaculture* 52:191–198.
79. Desjardins, L.M, Hicks, B.D., Hilton, J.W., 1987. Iron catalyzed oxidation of trout diets and its effect on the growth and physiological response of rainbow trout. *Fish Physiology and Biochemistry* 3: 173–182.
80. Takeuchi, T., Watanabe, T., Ogino, C., Saito, M., Nishimura, K., Nose, T., 1981. Effect of low protein-high calorie diets and detection of trace elements from fish meal diet on reproduction of rainbow trout. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 47: 645–654.
81. Handy, R.D., 1996. Dietary Exposure to Trace Metals in Fish. In: Taylor, E.W. (Ed.). *Toxicology of Aquatic Pollution*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 26–60.
82. Taylor, L.N., McGreer, J.C., Wood, C.M., McDonald, D.G., 2007. Physiological effects of chronic copper exposure to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in hard and soft water: Evaluation of chronic indicators. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19: 2298–2308.
83. Clearwater, S.J., Baskin, S.J., Wood, C.M., McDonald, D.G., 2000. Gastrointestinal uptake and distribution of copper in rainbow trout. *Journal of Experimental Biology* 203: 2455–2466.
84. Lanno, R.P., Slinger, S.J., Hilton, J.W., 1985. Maximum tolerable and toxicity levels of dietary copper in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquaculture* 49: 257–268.
85. Hilton, J.W., Cho, C.Y., Slinger, S.J., 1978. Effect of graded levels of supplemental ascorbic acid in practical diets fed to rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 35: 431–436.
86. Gatlin, D.M. III, Wilson, R.P., 1984. Dietary selenium requirement of fingerling channel catfish. *Journal of Nutrition* 114: 627–633.

6.4. STRES U RYB

Jan Mareš

Úvod. Pro vysvětlení pojmu stres se používá celá řada definic. Velmi často je stres definován jako soubor reakcí organismu na vnější nebo i vnitřní podněty (stresory), které narušují homeostázi organismu nebo dokonce ohrožují jeho vlastní existenci. Cílem těchto reakcí či odpovědí je udržet nebo obnovit homeostázi organismu. To platí pro všechny živé organismy, a tedy i pro ryby. Nutno zdůraznit, že tyto reakce jsou pro organismus energeticky velmi náročné. Stresové reakce, nebo odezva organismu na podněty stresorů, patří mezi zvláštní adaptační mechanismy, které umožňují, kromě jiného, možné přizpůsobení organismu měnícím se podmínkám. Toho je využíváno i v procesu domestikace a v dlouhodobé selekci na snížení citlivosti vůči některým stresorům (1,2).

Nepříznivé faktory (stresory) se v životě ryb vyskytují jak v přirozeném prostředí, tak i (a to zejména) v různých akvakulturních systémech. Mezi stresory patří změny v kvalitě prostředí, zejména změny teploty vody, kyslíkové deficity, zákaly vody nebo její znečištění různými kontaminanty, včetně havarijních stavů, dále ulovení ryby nebo výskyt predátorů. Uvedené faktory se vyskytují zejména v tekoucích vodách a nádržích různého typu, a to včetně rybníků. Kromě havarijního znečištění a kyslíkových deficitů, které mohou způsobit až úhyn ryb, působí tyto faktory spíše dlouhodobě na subletální úrovni. Zpravidla se tedy jedná o dlouhodobé působení vyvolávající chronický stres (3–5).

V podmínkách chovu ryb, dnes běžně označovaného termínem akvakultura, se jedná o manipulaci s rybami, jejich třídění, převozy (6), případně vysazování do nádrží s odlišnými podmínkami prostředí (zejména odlišný chemismus vody a nejčastěji zdůrazňované výkyvy teploty), výlovy rybníků (7,8) nebo výskyt predátorů (9,10). Při manipulaci s velkými rybami přibývá použití anestezie, při umělém výtěru pak i hormonální stimulace. Použití anestetika umožňuje bezpečnou manipulaci s rybami a snižuje intenzitu působení stresu, ale zároveň vyvolává reakci shodnou v některých ukazatelích s působením stresoru. V chovu ryb ve speciálních zařízeních, ať už v průtočných nebo recirkulačních systémech (RAS), jsou ryby chovány ve vysokých hustotách s použitím kompletních krmných směsí, v optimalizovaných podmínkách často s řízeným světelným režimem. V takovýchto chovech se zejména zvyšuje počet manipulací s rybami, jejich třídění, vysoká hustota obsádky (řádově přes 100 kg·m⁻³), zatížení prostředí zplodinami látkové výměny (CO₂ a NH₃), případně nevhodná rychlost průtoku vody chovnými nádržemi nebo nevhodný světelný režim. Objevuje se nebezpečí deficitu některých živin v použité krmné směsi (vitaminů a minerálních látek, esenciálních aminokyselin nebo mastných kyselin), kontaminace krmných směsí polutanty (dnes často uváděné mykotoxiny) nebo degradační produkty komponentů (např. oxidace tukové složky). Za stresory označujeme i preventivní a léčebné zásahy v chovu ryb spojené s jejich manipulací, aplikací koupelí nebo léčiv (1,5,11–13).

Působení nepříznivých vlivů na organismus ryb vyvolává stresové reakce, jejichž důsledkem mohou být závažné metabolické a osmoregulační poruchy. Dochází k vyčerpání energetických rezerv organismu a při dlouhodobém intenzivním působení stresoru může toto zatížení organismu ryb způsobit i úhyn (3,4). Častěji však ovlivňuje rezistenci organismu k dalším faktorům nebo působení patogenů (1,5,11,14–16). V řadě případů působí zejména v intenzivních chovech na organismus ryb několik faktorů současně.

S ohledem na typ stresu, jeho intenzitu a délku působení je stres rozdělován na akutní a chronický.

Pro potřeby této publikace se v dalším textu budeme zabývat působením stresoru a odpovědí na něj zejména na úrovni organismu.

Průběh a příznaky stresu. V reakci na působení stresoru dochází v organismu k řadě biochemických a fyziologických změn, kterými se organismus pokouší kompenzovat působení stresoru a udržet homeostázi.

Všeobecný syndrom adaptace – GAS (general adaptation syndrom), popisovaný od poloviny minulého století, je souhrn fyziologických a biochemických reakcí organismu na působení stresoru. Průběh stresové reakce je rozdělen na tři fáze, a to poplachovou (alarmovou), stádium odolnosti (rezistence) a stádium vyčerpání (exhaustivní) (2,17).

V první fázi je cílem mobilizace organismu, dochází k uvolnění velkého množství energie a k optimalizaci rozdělení krve mezi orgány: je upřednostněno zásobení mozku, srdce a svalů. Důležitou roli má centrální nervová soustava, stimulující produkci katecholaminů a glukokortikoidů prostřednictvím hypotalamu a hypofýzy. Dochází ke zvýšení krevního tlaku, zrychlí se činnost srdce.

Ve fázi rezistence se organismus přizpůsobil působení stresoru, došlo k adaptaci. To však platí jen pro mírný stres, při dlouhotrvajícím působení silného stresoru dochází k vyčerpání organismu, tedy ke stádiu třetímu.

Fáze vyčerpání zpravidla končí smrtí zvířete. Postupně dochází k vyčerpání všech rezerv včetně zásob kortikoidů a substrátu nutného k jejich syntéze, objevují se těžké metabolické poruchy.

Změny, které probíhají v organismu ryb (ale i ostatních živočichů), označujeme jako odpověď organismu na působení stresorů. Tyto odpovědi jsou zpravidla rozděleny na primární, sekundární a terciální (3,4). V první fázi (primární reakci) se objevují endokrinní změny, dochází k vyplavování stresových hormonů. Tyto změny se v průběhu stresové reakce podílejí na řízení organismu. V organismu dochází k metabolickým, osmotickým a dalším změnám, které jsou označovány za sekundární. Mezi terciální patří např. porucha reprodukce a zvýšení vnímavosti vůči patogenům.

Primární odpověď. V první fázi stresové odpovědi dochází ke zvýšení obsahu adrenalinu a noradrenalinu v krevním oběhu, které jsou uvolněny z chromafinní tkáně hlavové části ledvin. Právě tyto hormony jsou zodpovědné za připravenost organismu ke zvýšenému výkonu. Dochází ke zvýšení krevního tlaku a zvýšení obsahu glukózy (jako zdroje pohotovostní energie) v krevní plazmě prostřednictvím glykogenolýzy nebo glukoneogeneze. Následuje zvýšené vyplavování glukokortikoidů z interrenální tkáně ledvin (lokalizované v hlavové části ledvin), která je stimulována několika hormony hypofýzy, zejména adrenokortikoidním hormonem (ACTH). Ta stimuluje u lososovitých ryb produkci adrenalinu a kortisolu. Hypofýza reaguje na podráždění hypotalamu stresorem a ten působí na hypofýzu prostřednictvím kortikotropního spouštěcího hormonu (CRF – corticotropin releasing factor). Jako odpověď na působení stresoru je tedy rychlá změna koncentrace katecholaminů a kortikosteroidů v krevní plazmě. Koncentrace se zvyšuje v průběhu několika minut. S ohledem na původ stresu a druh ryby je z katecholaminů dominantní buď adrenalin (Salmonidae), nebo noradrenalin (Cyprinidae). Jejich exkrece u ryb je velmi rychlá, ke zvýšení koncentrace v krvi dochází řádově v minutách po působení stresoru. Jako hlavní kortikosteroid ryb je uváděn kortisol. V souvislosti se zvýšenou syntézou uvedených hormonů v ledvinách ryb klesá současně obsah kyseliny askorbové a cholesterolu. Vzhledem k tomu, že chromafinní tkáň a interrenální tkáň

ledvin leží u ryb v těsné blízkosti, lze předpokládat, že existuje parakrinní kontrola stresových hormonů. Pro porovnání obsahu adrenalinu a kortizolu v krevní plazmě lososovitých ryb lze použít průměrné hodnoty zaznamenané v klidovém stavu a po působení stresu. Působením stresu došlo ke zvýšení hladiny adrenalinu z hodnoty <3 na $20\text{--}70$ nmol.l^{-1} , u kortizolu pak z 10 na $150\text{--}1500$ nmol.l^{-1} (3). Úroveň zvýšení adrenalinu a kortizolu v krevní plazmě, resp. jejich dosažené koncentrace, je ovlivněna řadou faktorů – kondicí ryb, druhovými rozdíly, podmínkami chovu, genetickou charakteristikou chovaných ryb a lokálními podmínkami, které ovlivňují zjištěné hodnoty. Hladina adrenalinu se zvýší velmi rychle s krátkým účinkem, hladina kortizolu se zvyšuje pomaleji, ale má dlouhodobější účinek.

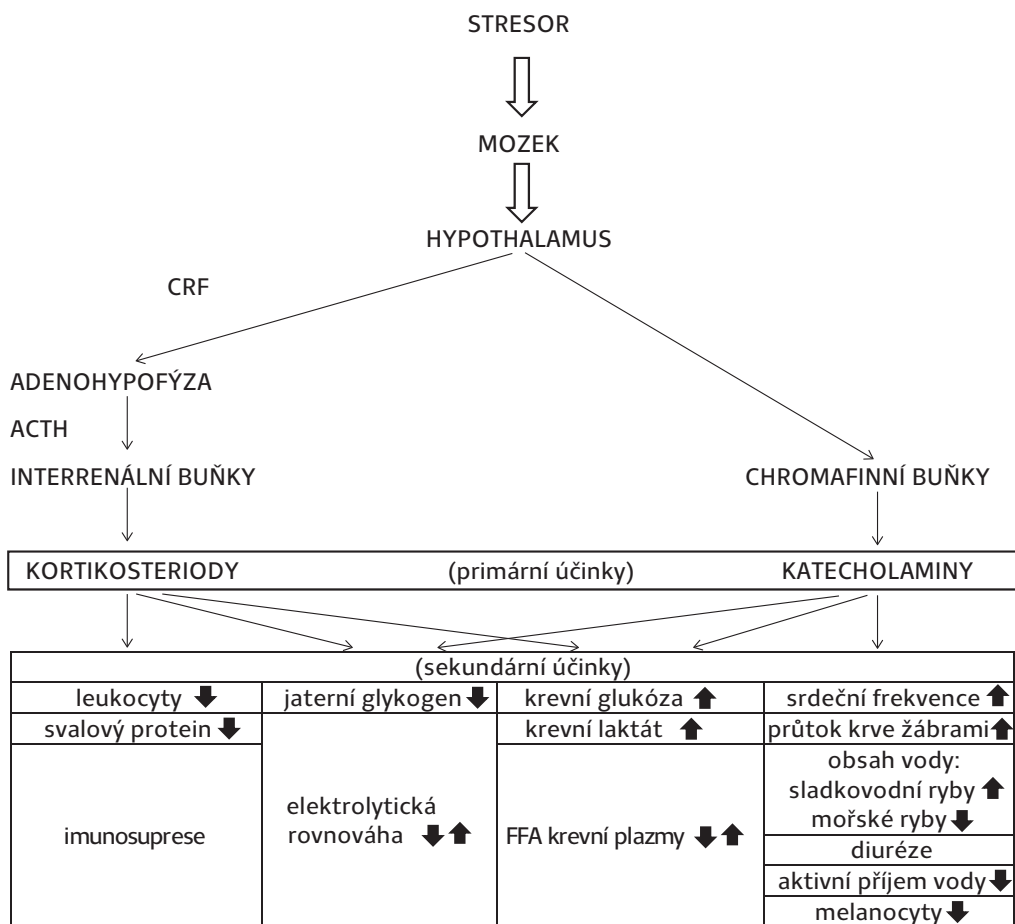
Sekundární odpověď. Tato odpověď obsahuje celou řadu biochemických, fyziologických a imunologických změn iniciovaných stresovými hormony. Metabolické a osmoregulační změny (poruchy) jsou vyvolány změnami neurohumorálními. Stresové hormony aktivují řadu metabolických procesů, které způsobují změny hematologických a biochemických parametrů. Jako indikátor sekundární (metabolické) odpovědi rybiho organismu na působení stresoru bývá často využívána změna koncentrace krevní glukózy. Stres je energeticky velmi náročný proces a živočišný organismus v jeho průběhu mobilizuje energetické zdroje pro jeho pokrytí. Uvolnění glukózy do krevního oběhu umožňuje organismu dodávat energii do tkání a orgánů jako je mozek, žábry a svaly, aby zvládly zvýšené energetické nároky. Hlavním orgánem pro tvorbu glukózy jsou játra. Adrenalin a kortizol zvyšují produkci glukózy v játrech a hrají důležitou roli při zvyšování její koncentrace v krevní plazmě. Protože hladina adrenalinu po stresu velmi rychle klesá, zatímco zvýšený obsah glukózy v krevní plazmě je zachován po delší dobu, hraje významnou roli při udržování hladiny glukózy kortizol, jehož obsah se zvyšuje postupně. Hyperglykémie způsobuje pokles obsahu glykogenu v játrech až v hodinách, ve svalové tkáni řádově v sekundách (4,18). To může dokonce způsobit úhyn migratorních salmonidů vyčerpaných dlouhou migrací.

Adrenalin způsobuje změny v krevním oběhu ryb, v osmoregulaci a energetickém metabolismu (uvádí se rozšíření arterií žaberních oblouků, zvýšení objemu srdce, zeslabení imunitní reakce a zvýšený metabolismus glykogenu). Dochází ke zvýšení propustnosti žaber pro vodu, což vede u sladkovodních ryb ke zvýšení jejího obsahu ve tkáních a k dehydrataci u ryb mořských; obdobně ovlivňuje i přenos některých iontů. Zatížení organismu stresem rovněž negativně ovlivňuje tkáňovou regeneraci, fagocytózu, průběh zánětlivých procesů a další specifické i nespecifické reakce, může způsobit i poškození gastrického epitelu a vznik vředů v trávicím traktu. Uvádí se, že stres u ryb (stejně jako u savců) vede k lymfocytopenii a neutrofilii, je ovlivněna i produkce kožního slizu (4). Nicméně v návaznosti na stres spojený s výskytem predátorů, s poškozením kůže ryb a se zvýšeným výskytem vnějších parazitů byla zjištěna vyšší koncentrace lysozymu (15).

Terciální odpověď. Projevy terciálních účinků stresu jsou závislé na délce jeho působení. Při dlouhodobém chronickém stresu dochází k významnému ovlivnění procesu reprodukce (gametogeneze, kvalita gamet, zrání oocytů, ovulace a spermiace, výtěr), včetně migračního chování, takže kromě jedince samotného ovlivňuje stres i celou populaci ryb (abundance, diverzita)(2,4). Zároveň dochází ke zvýšení vnímavosti k onemocněním. Může dojít i k hyperplazii a hypertrofií buněk interrenální tkáň ledvin a kortikotropní tkáň adenohipofýzy (2). Pro znázornění vzájemných vazeb mezi primárními a sekundárními účinky stresu u ryb je využíváno schéma uvedené v obrázku 6.4.1 (4).

Působení stresorů tedy negativně ovlivňuje řadu životních funkcí na úrovni jedince i populace. Díky snížené imunitě dochází ke zvýšení vnímavosti vůči onemocněním. Jako

konkrétní případy lze uvést např. snížení odolnosti u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) vůči *Trypanoplasma borreli* v důsledku časté manipulace nebo snížení fagocytární aktivity a množství imunoglobulinu M u tilapie (*Oreochromis* sp.) následkem teplotního šoku (3). Ovlivnění reprodukčních schopností je uváděno např. u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), kdy působení anestézie snižuje motilitu spermatu, akutní stres inhibicí ovariální steroidogeneze (3). Vnímavější ke stresu jsou ryby ve špatném kondičním stavu z důvodu nedostatečné výživy, nevhodných podmínek nebo zacházení (1,5,14).



Obr. 6.4.1. Schéma vazeb mezi primárními a sekundárními účinky stresu u ryb (4). Upraveno podle Mazeaud et al. (19). CRF – kortikotropní spouštěcí faktor (corticotropin releasing factor), ACTH – adrenokortikotropní hormon (adrenocorticotropic hormone).

Reakce organismu na buněčné úrovni je charakterizována výskytem skupiny proteinů označovaných jako HSPs (heat shock proteins). Jedná se o buněčné proteiny vyskytující se ve všech organismech včetně ryb. U nestresovaných buněk jsou produkovány podle potřeby zajištění homeostáze buňky. V současnosti jsou popsány tři typy těchto proteinů. Jejich možná funkce je v různých oblastech fyziologie ryb, včetně vývoje a stárnutí, fyziologie

stresu a endokrinologie, imunologie, adaptace a odolnosti vůči stresu (3). Většina studií je orientována na různé aspekty teplotního šoku a na ochrannou funkci proti environmentálnímu stresu. Byla např. zjištěna zvýšená úroveň těchto HSPs po kontaminaci prostředí těžkými kovy, odpadními vodami i pesticidy, ale i po působení bakteriálních patogenů. Hodnocení působení stresoru na organismus ryb nelze odložit od oblasti imunologie, od imunitního systému ryb a jeho odpovědi na působení nepříznivých podmínek prostředí či působení patogenů.

Nicméně stres hraje v životě i pozitivní roli, např. soustřeďuje síly na záchranu života, většinou je však vnímán negativně. Přestože jsou stresory různorodé, průběh stresové reakce je shodný. Působení stresoru je zaznamenáno v centrální nervové soustavě, hypothalamus aktivuje hypofýzu, ta prostřednictvím kortikotropního hormonu stimuluje nadledviny k produkci kortikoidních hormonů, je aktivován sympatikus a zvýší se hladina adrenalinu. Smyslem stresu je maximalizovat podmínky pro záchranu organismu – „utíkej nebo bojuj“. Jsou podpořeny nezbytné činnosti – srdeční činnost, krevní tlak, zvýšení obsahu glukózy, tlumení bolesti a omezeny činnosti zbytečné včetně imunity. Stres tedy tlumí imunitní reakce organismu (20).

Monitorované parametry. Pro sledování působení stresoru nebo pro vyhodnocení úrovně stresu se v minulosti využívala a dodnes využívá celá řada parametrů. S ohledem na reakci organismu je k hodnocení akutního stresu využíváno zjištění koncentrace plazmatického kortizolu a množství jeho katabolitů ve žluči a moči. Pro chronický stres jsou využitelné spíše histopatologické ukazatele. K testování závažnosti stresu a doby potřebné pro návrat do fyziologického stavu bylo doporučeno sledovat koncentrace stresových hormonů – katecholaminy a kortizol a hematologické a biochemické parametry krevní plazmy (koncentraci krevní glukózy, laktátu a z elektrolytů zejména chloridy)(2).

Podle práce Albrechtové z roku 1977 (14) dochází v průběhu reakce na působení stresoru k „vypuzení“ krve ze sleziny, takže dochází ke snížení její hmotnosti. K vyjádření se používá hodnota její relativní hmotnosti, v současnosti označované jako SSI (spleen somatic index) (9,10,14,). Podle citované autorky dochází ke snížení tohoto parametru o více než 50 % při působení různých stresorů. Nicméně v řadě publikací nebyla změna SSI při působení stresoru na významné úrovni prokázána (6,10).

Z hematologických parametrů je v současnosti k hodnocení nejčastěji využívána hematokritová hodnota, obsah hemoglobinu a celkový počet červených krvinek, a to včetně vypočítaných hodnot středního objemu erytrocytu a hemoglobinu erytrocytu. Dále pak celkový počet leukocytů a diferenciální rozpočet (leukogram). Z krevní plazmy je stanovována koncentrace krevní glukózy, laktát, laktátdehydrogenáza, celkové proteiny krevní plazmy a zejména hladina kortizolu. V případě zúženého výběru hodnocených parametrů je pak zpravidla stanovována koncentrace glukózy a hladina kortizolu (1,3,5,6,8). Pokud není možné stanovit hladinu kortizolu v krvi, využívá se stanovení ve žluči, případně v tělních tkáních ryb (1). Po ukončení působení stresoru se zpravidla uvedené hodnoty vrací do fyziologického rozpětí v průběhu hodin a po 24 hodinách jsou na původních hodnotách, a to včetně koncentrace glukózy, která má nejdůležitější význam pro pokrytí nezbytné energie.

Různé druhy stresu ovlivňují u konkrétních druhů ryb jejich zdravotní stav, reprodukční parametry a osmotickou a iontovou regulaci (1,3,5). Jsou popisovány odlišné úrovně nárůstu obsahu kortizolu v krevní plazmě v závislosti na druhu ryb nebo na pohlaví. Pro efektivní vyhodnocení působení stresoru na rybí organismus je nutné porovnání zjištěných hodnot s hodnotami nestresovaných ryb, tedy s kontrolní skupinou. To je často metodicky velmi komplikované, a proto jsou hodnoty často porovnávány s hodnotami zjištěnými u ryb před

působením stresoru. Vždy je tedy nutno porovnávat hodnoty daného druhu, velikosti a pohlaví v konkrétních podmínkách. S ohledem na skutečnost, že reakce organismu, resp. intenzita odpovědi je ovlivněna kromě jiného i kondičním stavem ryb, je vhodné doplnit sledované parametry i charakteristikou kondičního stavu ryb.

LITERATURA

1. Branson, E.J. (Ed.). 2008: Fish Welfare. Blackwell Publishing Ltd., 300 p.
2. Palíková, M., Svobodová, Z., 1995: Biologické indikátory stresu u ryb (review). Bulletin VÚRH JU Vodňany 31: 17–27.
3. Iwama, G.K., Afonso, L.O.B., Vijayan, M.M., 2006: Stress in Fish. In: Lutz, P.L. (Ed.). The physiology of Fishes, 3rd edn, CRC Press, Taylor&Francis, USA, pp. 319–342.
4. Spurný, P., 1998: Ichtyologie (obecná část). Skripta MZLU Brno, 146 s.
5. Barton, B.A., 2000. Stress. In Stickney, R.R. (Ed.). Encyclopedia of Aquaculture. John Wiley & Sons, USA, pp. 892–989.
6. Svobodová, Z., Kaláb, P., Dušek, L., Vykusová, B., Kolářová, J., Janoušková, D., 1999: The effect of handling and transport on the concentration of glucose and cortisol in blood plasma of common carp. Acta Veterinaria Brno 68: 265–274.
7. Albrechtová, M.L., 1977: Die Bedeutung von Stressfolgen für Fischorganismus. Zeitschrift für die Binnenfischerei, DDR, 24: 247–250.
8. Spurný, P., Jirásek, J., Mareš, J., 1987: Vliv manipulací při výlovu a krátkodobého transportu na stresové reakce organismu kapřího plůdku. Živočišná Výroba 32: 877–883.
9. Kortan, J., Adámek, Z., Flajšhans, M., Piačková, V., 2008: Indirect manifestation of cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis* L.) predation on pond fish stock. Knowledge Management Aquatic Ecosystems, Number: 389.
10. Kortan, J., Blahova, J., Kruzikova, K., Adamek, Z., 2010: Stress responses of carp pond fish stock upon hunting activities of the great cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis* L.). Aquaculture Research, 42: 322–330.
11. Svobodová, Z. a kol., 2007: Nemoci sladkovodních a akvariálních ryb. Informatium, 264 s.
12. Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds), 2002: Fish Nutrition. Academic Press, Elsevier Science, USA, 824 p.
13. Timmons, M.B., Ebeling, J.M. (Eds), 2013: Recirculating Aquaculture. Ithaca Publishing Company LLC, 3rd edn, USA, 788 p.
14. Lucký, Z., 1986: Péče o zdraví a prevence chorob ryb. MZe ČR, 190 s.
15. Ondračková, M., Valová, Z., Kortan, J., Vojtek, L., Adámek, Z., 2012: Consequent effects of the great cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis*) predation on parasite infection and body condition of common carp (*Cyprinus carpio*). Parasitology Research 110: 1487–1493.
16. Palíková, M., Navrátil, S., Navrátil, L., Mareš, J., 2015: Preventive and prophylactic measures in intensive salmonid fish breeding - a review. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis. 2015, 64: 1409–1416.
17. Seyle, H, 1956: The Stress of Life. McGraw-Hill Book Co., Inc., NewYork, Toronto, London, 328 p.
18. Fernandes, M.N., Rantin, F.T., Glass, M.L., Kapoor, B.G. (Eds), 2007: Fish Respiration and Environment. Science Publishers, Enfield, USA, 392 p.

19. Mazeaud, M.M., Mazeaud, F., Donaldson, E.M., 1977: Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. Transactions of the American Fisheries Society 106: 201–212.
20. Jílek, P., 2014: Imunologie: stručně, jasně, přehledně. Grada Publishing a.s., 96 s.

**DEZINFEKČNÍ, TERAPEUTICKÉ
A PREVENTIVNÍ MOŽNOSTI
V CHOVECH RYB**

Jitka Kolářová

DEZINFEKČNÍ, TERAPEUTICKÉ A PREVENTIVNÍ MOŽNOSTI V CHOVECH RYB

Jitka Kolářová

Zákon o veterinární péči (166/1999 Sb., ve znění pozdějších předpisů) ukládá chovatelům povinnost sledování zdravotního stavu chovaných ryb a v odůvodněných případech jim zajistit odbornou veterinární péči. Tentýž zákon definuje zásady aplikace léčivých přípravků, které se liší s ohledem na skutečnost, zda se jedná o chov zájmový (chov akvarijních a okrasných ryb) nebo produkční, spadající do kategorie produkce potravinových zvířat. Tato kapitola obsahuje obecný přehled zásad a konkrétní možnosti aplikace léčivých, dezinfekčních a preventivních látek u ryb v ČR na základě dominantních zdrojů (1–3).

7.1. OBECNÉ ZÁSADY LÉČBY U RYB

7.1.1. Léčba v chovech potravinových ryb

Používání léčivých přípravků při poskytování veterinární péče je upravováno zákonem č. 378/2007 Sb., o léčivech (4), dále ZoL, §§ 5 a 9 (následně §§ 46–48) v platném znění a zákonem č. 166/1999 Sb., o veterinární péči § 19 (5). U ryb určených k lidskému konzumu (potravinových ryb) je možné v rámci celé EU použít k léčbě pouze veterinární léčivé přípravky, jejichž farmakologicky účinné látky jsou klasifikovány z pohledu **maximálních reziduálních limitů (MRL)** podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009 (6). To znamená, že lze použít pouze látky, které jsou zařazeny do tabulky 1 přílohy nařízení Komise (EU) č.37/2010 (7). Na základě MRL je stanovena **ochranná lhůta (OL)**, po dobu které nelze potravinová zvířata (tedy ani ryby) dodat pro lidský konzum. Jednorázově lze dovést a použít v množství potřebném k léčbě jednoho případu u nás neregistrovaná léčiva, která jsou však registrována pro ryby nebo jiné druhy zvířat v jiných státech EU a dalších zemích. Pro dovoz ze zemí EU (§ 48 ZoL) se žádá o výjimku Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL), pro dovoz ze třetích zemí (USA, Kanada atd.) (§ 46 ZoL) je nutné žádat o výjimku Státní veterinární správu (SVS) ČR. Dále, v odůvodněných případech, mohou veterinární lékaři postupovat podle pravidel § 3 a § 4 vyhlášky č. 344/2008 Sb., o používání, přepisování a výdeji veterinárních léčivých přípravků (VLP)(8) a na vlastní odpovědnost aplikovat „off label“ léčivý přípravek určený pro jiný druh zvířete či pro jinou indikaci nebo léčivo humánní, případně léčivo připravené v lékárně dle receptu „*magistraliter*“. Pokud takovýto přípravek bude použit pro chov potravinových ryb, je nutné dodržet **minimální ochrannou lhůtu (OL) nejméně 500 denních stupňů** (jeden denní stupeň = d° je představován průměrnou teplotou 1 °C po dobu 1 dne, tj. 24 hodin; např. 100 denních stupňů = 10 dní při průměrné teplotě vody 10 °C nebo 500 denních stupňů = 28 dní při teplotě kolem ideálních 18 °C). Při aplikaci „off label“ se doporučuje posoudit jednotlivé léčivé přípravky individuálně a případně OL prodloužit na více než 500 denních stupňů (např. když při volbě léčiva „off label“, které je určeno pro savce, je OL uvedená výrobcem u savců vyšší než zákonem stanovená minimální OL pro maso; např. viz mebendazol kap. 7.3.5).

7.1.2. Léčba v zájmových chovech ryb

Jednodušší situace je při aplikaci léčebných postupů v zájmových chovech ryb (akvariijní a okrasné ryby). Za účelem léčby je zde možné použít léčivé přípravky, které nemají stanoven MRL, a tudíž u nich není stanovena OL. Pro léčbu je také možné použít některé schválené veterinární přípravky, dostupné chovatelské veřejnosti. Výrobce takových přípravků musí zajistit jejich schválení u ÚSKVBL. I když se jedná pouze o veterinární přípravky, je před aplikací takového přípravku doporučena konzultace s veterinárním lékařem. Léčivé přípravky, vázané na předpis veterinárního lékaře, veterinární lékař používá podle návodu v příbalové informaci a podle vlastního úsudku. V odůvodněných případech může využít i jiná veterinární, případně humánní léčiva a léčivé přípravky připravené v lékárně podle konkrétního rozpisu veterinárního lékaře „*magistraliter*“. Plnou zodpovědnost za takovouto aplikaci nese veterinární lékař. Chovatel může dle pokynů veterinárního lékaře provádět léčbu sám.

7.1.3. Možnosti léčby ryb v ČR

Ideálně jako první volbu by měl veterinární lékař pro léčbu ryb zvolit VLP registrovaný pro ryby. V ČR je k dispozici jen úzké spektrum registrovaných léčivých přípravků pro ryby (aktuálně 3 antibiotické VLP pro perorální použití). Proto je často využívána druhá volba: použití VLP registrovaného v ČR pro jiný druh nebo kategorii zvířat nebo pro jinou indikaci u stejného druhu zvířat. Pokud veterinární lékař nenalezne ani touto cestou vhodný přípravek, může použít veterinární léčivý přípravek registrovaný pro potravinové druhy zvířat v jiném státě (kapitola 7.1.1). Léčivem třetí volby je lék humánní nebo předepsaný veterinárním lékařem „*magistraliter*“ (kapitola 7.1.1). Pro výrobu medikovaných krmiv je třeba podle § 73 ZoL používat pouze registrovaný premix podle podmínek popsanych v SPC (souhrn informací o přípravku), popřípadě v příbalové informaci. Nicméně pokud veterinární lékař odpovědný za léčbu zažádá SVS ČR o výjimku dle § 46 ZoL o možnost zamíchání medikovaného premixu registrovaného v ČR pro jiný druh zvířat s odůvodněním, že na našem území není dostupný jiný vhodný registrovaný premix, je tato cesta možná a jeví se z pohledu současných podmínek dostupnosti léčiv pro ryby jako jedna z nevhodnějších pro možnou perorální léčbu.

Litera zákona však umožňuje použití nejrůznějších látek (přípravků), které nespádají do kategorie léčivých přípravků a mají také prokázaný léčivý účinek pro ryby. Jedná se zejména o nejrůznější dezinfekční látky, které se používají formou koupele (kuchyňská sůl, jodové preparáty, kyselina peroctová, peroxid vodíku apod.), v případě potravinových druhů ryb je však vždy třeba ověřit, jak jsou klasifikovány z hlediska farmakologické aktivity a setrvávání možných reziduí v tkáních ošetřených ryb (tzn., musí být uvedeny v tabulce 1 přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7). Bezpečnost jejich podání rybám a jejich ekotoxikologické efekty musí veterinární lékař dohledat sám v literatuře nebo konzultovat (např. Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno, Fakulta rybářství a ochrany vod, Vodňany JU v ČR).

7.2. APLIKACE LÉČIV U RYB

Léčebnou dávku přípravku je třeba přesně vypočítat na objem vody pro léčebnou koupel nebo na živou hmotnost ryb (ž. hm.) pro perorální nebo injekční aplikaci. Při předávkování by mohlo dojít k otravě ryb, anebo naopak při poddávkování by mohlo dojít ke snížení účinnosti léčiva, které vede nejen k neefektivní léčbě, ale také ke vzniku rezistence původců onemocnění vůči léčivu. Pokud je koncentrace léčivé látky určena ve dvou mezních hodnotách, pak se nižší dávka aplikuje u ryb oslabených nebo u mladých věkových kategorií, vyšší u ryb v dobré kondici a u vyšších věkových kategorií. Před vlastní aplikací je nutné zohlednit i různé výrobní šarže přípravku, zejména u neregistrovaných přípravků, které se mohou lišit ve svých léčebných a toxických účincích. Proto se doporučuje, zejména u krátkodobých koupelí, vždy provést před aplikací léčivé látky **test snášenlivosti** na několika rybách za aktuálních podmínek (druh ryb, věková kategorie ryb, stupeň poškození ryb, vegetační období, fyzikálně-chemické parametry vody - především teplota vody, aktuální šarže léčivého přípravku apod.) a teprve po takto zjištěné bezpečnosti pro ryby provést léčebný zásah na celém hejnu. Pokud test snášenlivosti ukáže negativní účinek na ryby, zvažuje se možnost snížení dávky, změny podmínek aplikace nebo veterinární lékař zvolí jiný léčivý přípravek.

U nově zaváděných léčivých látek se vždy provádí **test toxicity na rybách**, jehož výsledek je důležitý pro stanovení **terapeutického indexu (TI)** léčivé látky. Terapeutický index udává, kolikrát je hodnota letální koncentrace (LC) dané látky pro ryby vyšší ve srovnání s hodnotou LC pro původce onemocnění (tj. léčebnou dávkou). Pro bezpečnou aplikaci léčiva je požadován dostatečný rozdíl mezi LC pro původce onemocnění (léčebnou dávkou) a LC pro ryby, který by měl být alespoň $TI = 4$ nebo vyšší, optimální $TI = 10$.

7.2.1. Léčebné koupele ryb

Aplikace léčebných látek do vodního prostředí (léčebná koupel) je léčebný postup, při kterém léčebná látka působí zevně na žábry a kůži, ale léčivo se může zároveň vstřebávat žábrami i kůží do těla ryby a působit tak i vnitřně. Při léčebné koupeli je dobře zajištěno dávkování, léčebná látka se dostane ke všem kusům ryb v hejně stejně, a to i v případě, že oslabené ryby již nepřijímají krmivo. Koupel lze provádět v nádržích o známém objemu vody (ve skleněných akváriích, v laminátových vaničkách, kádích nebo žlabech, v přepravních bednách, v betonových nebo zemních sádkách nebo přímo v rybnících). Doporučená hustota ryb v koupeli je 5–10 kg ž. hm. na 100 litrů léčebné lázně (tzn. ve 100 litrech se koupe maximálně 10 kg ryb). Nižší hustota se používá u delších koupelí. Pro ryby je zajištěn volný pohyb v lázni a vzduchování. Vždy je třeba mít připravenou možnost rychlého přesazení ryb do čisté vody pro případ havarijní situace. Při přípravě léčebné koupele je nutné použít vždy čistou, nezávadnou vodu (sledovat teplotu vody, pH, kyslík, přítomnost organických látek). Léčebný přípravek se nejprve rozpustí v malém množství vody a teprve pak se aplikuje do nádrže, ve které je koupel prováděna. Pro dávkování léčebných koupelí je nutné mít k dispozici váhy s přesností vážení na 0,1 g, odměrný válec, pipetu nebo plastovou injekční stříkačku. Z hlediska délky trvání se léčebné koupele klasifikují jako koupel:

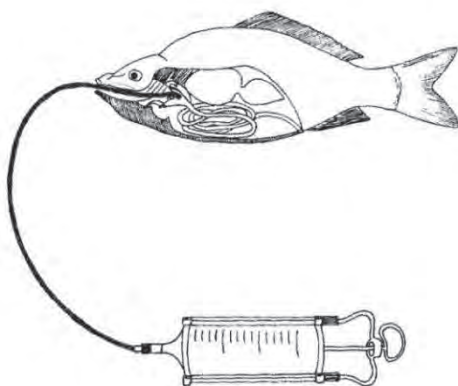
- ponořovací (do 5 min)
- krátkodobá (5 min – 2 hod)
- dlouhodobá (2 hod – neomezené trvání)

Při provádění léčebné koupele je třeba dodržovat základní zásady **bezpečnosti práce** (především ochrana očí, rukou a proti výparům).

Problémem ve vztahu k životnímu prostředí je **likvidace léčebných koupelí**. Pomocí účinného přítoku čisté vody je zajištěno rychlé naředění koupelového roztoku. Při vypouštění naředěných použitých léčebných roztoků mimo rybářský objekt je třeba respektovat všechna zákonná opatření k ochraně jakosti povrchových vod – zákon č. 254/2001 Sb., o vodách (9) a nařízení vlády č. 61/2003 Sb. (10). Použité koupelové roztoky lze likvidovat i mimo vodní prostředí např. jejich zneškodněním sorpcí na aktivním uhlí, které se následně předá firmě oprávněně k likvidaci odpadů a voda se vypustí do kanalizace.

7.2.2. Perorální aplikace léčiv

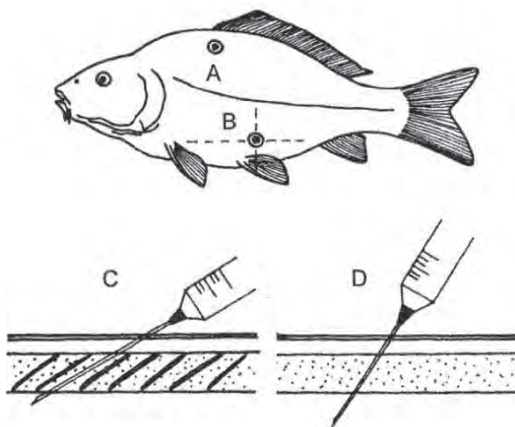
Aplikace léčiv dutinou ústní (*per os*) se u ryb provádí podáváním léčebných látek v krmivu (komerčně vyráběná medikovaná krmiva dle veterinárního předpisu nebo dle pokynů veterinárního lékaře připravené medikované krmivo pro konkrétní individuální případ). Při tomto způsobu aplikace není zajištěno stejné dávkování jednotlivým rybám. Přesné dávkování lze zajistit pouze v případě použití jícnové sondy, viz níže. Často se stává, že nemocné ryby již potravu nepřijímají. Výrazně spolehlivější aplikace léčiv v krmivu je u lososovitých ryb, které přijímají aplikované krmivo ihned u hladiny, na rozdíl od ryb kaprovitých, které sbírají potravu ležící na dně nádrže. Při dávkování na kg živé hmotnosti (**kg ž. hm.**) je nutné spočítat (odhadnout) celkovou hmotnost obsádky ryb a spočítat dávku krmiva na celou obsádku. Vypočítané množství léčebného přípravku pak aplikovat do denní krmné dávky. Perorální aplikaci je možné provést ve výjimečných případech individuálně pomocí sondy zavedené do jícnu ryby (obr. 7.2.2.1). Pro tento způsob aplikace je léčivá látka rozpuštěna v polotekutém škrobovém gelu (60g potravinářského škrobu se povaří s 1 litrem vody) a pomocí plastové hadičky a injekční stříkačky je vpravena do jícnu ryby. Objem aplikované medikované kaše by měl být maximálně 0,5ml na 100g ž. hm. ryby. Pro použití jícnové sondy je nutno znát anatomii jednotlivých druhů ryb a tomu přizpůsobit způsob zavedení sondy.



Obr. 7.2.2.1. Perorální aplikace léčiva pomocí sondy zavedené do jícnu kapra. Kresba: J. Gelnarová – převzato (1)

7.2.3. Injekční aplikace léčiv

Injekční aplikace (obr. 7.2.3.1) je nejpřesnější, ale zároveň nejkomplikovanější vzhledem k nutné manipulaci s rybami, která je pro ně stresující. U ryb se provádí injekční aplikace do dutiny tělní (intraperitoneálně, **i.p.**) nebo do hřbetní svaloviny (intramuskulárně **i.m.**).



Obr. 7.2.3.1. Injekční aplikace léčiva u kapra: A – místo vpichu pro i.m. aplikaci; B – místo vpichu pro i.p. aplikaci; C – sklon injekční jehly u šupinaté ryby, D – sklon injekční jehly u bezšupinaté ryby. Kresba: J. Gelnarová – převzato (1)

7.3. PŘEHLED LÉČEBNÝCH LÁTEK A PŘÍPRAVKŮ POUŽÍVANÝCH V CHOVECH RYB

V této kapitole jsou uvedeny nejdůležitější informace o konkrétních účinných látkách, které jsou řazeny abecedně. Podrobnější informace lze získat v mnoha literárních zdrojích (např. 1,2, 3,12,11,13).

7.3.1. Akriflavin (acriflavin, trypaflavin, angl.: acryflavine)

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Barvivo.

Indikace: Povrchové bakteriální a ektoparazitární infekce u akvarijních ryb; koupel jiker akvarijních (nepotravinových) druhů ryb při plísňových a bakteriálních infekcích.

Forma aplikace: Léčebná koupel dlouhodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.1.1.

Toxicita: Doporučované léčebné koncentrace akriflavinu jsou několikanásobně nižší ve srovnání s letálními koncentracemi pro ryby. Z toho důvodu je možno akriflavinové koupele považovat pro ryby za bezpečné. **TI:** okolo 5.

MRL: Není stanoven, **nelze použít u potravinových ryb.**

OL: **Nelze použít u potravinových ryb.**

Pozn.: Akriflavin je dobře rozpustný ve vodě, lze použít **pouze v zájmových chovech ryb.**

Tab. 7.3.1.1. Dávkování akriflavinu.

Dávka akriflavinu	Způsob aplikace	Poznámka
5–10 mg.l ⁻¹	koupel 10 h	ektoparazitózy (protista) akvarijních ryb
0,5 g.l ⁻¹	koupel 20–30 min	koupel jiker akvarijních ryb

7.3.2. Anestetika (anaesthetica, angl.: anaesthetics, anesthetics)

Farmakoterapeutická skupina: Anestetika.

Indikace: Sedace nebo celkové znečítlivění ryb jako prevence manipulačního stresu a mechanického poškození při provádění různých veterinárních či chovatelských zákroků dle požadavku zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání (14). Anestezie se u ryb používá při umělém výtěru, při injekční aplikaci léčiv a hormonálních přípravků, při odběrech krve, při mechanickém odstraňování parazitů, při měření, vážení, fotografování apod (15).

Forma aplikace: Koupel krátkodobá, u velkých ryb sprejování žaber roztokem anestetika ve stejných koncentracích jako se provádí anestetická koupel.

Dávkování: Anestezii ryb lze řídit koncentrací anestetika a dobou působení anestetické koupele podle požadavku, v jaké fázi anestezie je třeba mít ryby pro konkrétní manipulaci. Velmi důležité je zohlednit druh a věkovou kategorii ryb a jejich citlivost vůči zvolenému anestetiku, tzn. provést vždy test snášenlivosti (viz kapitola 7.2) pro konkrétní látku, koncentraci a teplotu vody anestetické koupele. Dávky anestetik jsou uvedeny v tab. 7.3.2.1.

Toxicita: U anestetik se jejich vyšší dávky nebo prodloužení doby působení používají k eutanázii ryb, takže i jejich toxicita je vysoká. Při provádění anestezie je nutné sledovat teplotu anestetické koupele – vyšší teplota vody zpravidla zvyšuje účinek anestetika, a také jeho toxicitu (15). Výrobce přípravku MS 222 výslovně nedoporučuje jeho použití u některých druhů tropických ryb.

TI: 10minLC50/doporučená dávka anestetika:

TI: 2-*phenoxyethanol*: kapr 1,3; pstruh 1,53

TI: *hřebíčkový olej*: kapr 2,5; pstruh 2,7

MRL:

Tricain methanosulfonát (MS 222) je zařazen do tabulky 1 přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7) – pro ryby není nutné stanovit MRL.

Isoeugenol (významná složka hřebíčkového oleje) byl klasifikován z hlediska MRL (přípravek AQUI S – **OL:** 2 d°).

Benzokain je zařazen do tabulky 1 přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7) – pro všechny druhy potravinových zvířat a konkrétně i pro lososovité ryby, a není pro něj nutno stanovit MRL.

2 – phenoxyethanol není zařazen v tabulce 1 přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7) a není možné jej použít u potravinových ryb.

OL: Min. 500 d°.

Pozn.: U savců se používá pojem **anestezie** (anestésie, *anaesthesia*) ve smyslu ztráty lokální citlivosti. Pro stav bezvědomí, v němž pacient účinkem narkotik (látky uspávající, tlumící bolest a omamující) nevnímá bolest útlumem vyšších nervových funkcí mozkových, se používá pojem **narkóza** (*narcosis*). Ve veterinární medicíně je pojem **anestezie ryb** (fáze 3b a 4, viz níže) chápán jako celkové znecitlivění ryb (tedy stav odpovídající narkóze savců).

Průběh nástupu anestezie u ryb se skládá ze 4 fází (15):

1. fáze = klidné chování (fyziologická poloha těla, normální pohybová aktivita, při plavání se ryba bez námahy vyhýbá překážkám, pravidelné dýchací pohyby)

2. fáze = excitace (fyziologická poloha těla, neklid, rychlé plavání, při plavání se ryba nevyhýbá překážkám, silné reflexy, nepravidelné dýchací pohyby)

3a. fáze = celkové povrchní znecitlivění (tělo se naklání na bok, snížená pohyblivost, ztráta obranného a únikového reflexu, zachována jen reakce na akustický podnět, ocasní reflex přítomen, dýchací pohyby již pravidelné, klidné, hluboké, zpomalující se)

3b. fáze = celkové úplné znecitlivění (tělo v boční poloze, úplná ztráta pohyblivosti, ztráta obranného, ocasního a únikového reflexu, bez reakce na akustický podnět, dýchací pohyby jsou pravidelné, klidné, hluboké, zpomalené)

4. fáze = zástava dýchání (tělo v boční poloze, bez reflexů, bez reakce na akustický podnět, dýchací pohyby povrchní nebo téměř zastavené)

Tab. 7.3.2.1. Dávkování anestetik.

Anestetikum	Dávka pro sedaci	Dávka pro anestezii	Poznámka
trikain, tricaine	10–40 mg.l ⁻¹	50–250 mg.l ⁻¹	tricain methansulfonát, MS 222
hřebíčkový olej	2–10 mg.l ⁻¹	30–40 mg.l ⁻¹	rostlinný extrakt z <i>Eugenia</i> sp.
eugenol	(16)	0,03–0,04 ml.l ⁻¹	(eugenol 85–95% +
clove oil		(1g odpovídá 1 ml)	+ isoeugenol + methyleugenol)
benzokain, benzocaine	10–40 mg.l ⁻¹	50–500 mg.l ⁻¹	ethyl aminobenzoát
2- phenoxyethanol	0,1–0,3 ml.l ⁻¹	0,3–0,4 ml.l ⁻¹	ethylen glycol monophenyl ether
2 PE			

7.3.3. Antibiotika a sulfonamidy (angl.: antibiotics)

Farmakologická skupina: Antimikrobika.

Indikace: Bakteriální infekce ryb. Výběr a volbu nejvhodnějšího léčiva s antimikrobním účinkem usnadní určení původce bakteriologickým vyšetřením a výsledky testu citlivosti původce vůči antibiotikům. Pro ryby tyto testy provádějí Státní veterinární ústavy ČR a Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně. Je nutné počítat s tím, že výsledky těchto vyšetření jsou k dispozici nejdříve za 5 dní.

Forma aplikace: Léčebná koupel dlouhodobá, perorálně, injekčně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.3.1.

MRL: Všechna níže uvedená antimikrobika (tab. 7.3.3) mají stanoven MRL pro ryby, tzn., že jsou uvedena v tabulce 1 přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7) pro všechny potravinové druhy zvířat, včetně ryb.

OL: Obecně pro každé ATB min 500 d^o, neuvádí-li výrobce konkrétního VLP jinak.

Tab. 7.3.3.1. Dávkování vybraných antibiotik a sulfonamidů.

Antibiotikum	Dávka	Způsob aplikace
amoxicilin	40–80 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	p.o. 10 dní
ampicilin	50–80 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	p.o. 10 dní
enrofloxacin	2 mg.l ⁻¹	koupel 5 dní
	10 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	p.o. 10 dní
	10 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	inj.: i.p., i.m. 1× za 3 dny
erythromycin	100 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	p.o. 10 dní
	10–20 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	inj.: i.p., i.m. 12–20 dní před výtěrem
florfenikol	10 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	p.o. 10 dní
flumechin	250–100 mg.l ⁻¹	koupel 3 hod.
	10 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	p.o. 10 dní
	30 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	inj.: i.p., i.m.; 1× → depotní na 10 dní
kys. oxolinová	25 mg.l ⁻¹	koupel 15 min 2× denně, celkem 3 dny
	1 mg.l ⁻¹	koupel 24 hod
	10 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	p.o. 10 dní
neomycin	66 mg.l ⁻¹	koupel 1× za 3 dny, celkem 3×
oxytetracyklin	10–50 mg.l ⁻¹	koupel 1 hod
	10–100 mg.l ⁻¹	koupel 1–3 dny
	55–83 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	p.o. 10 dní
	25–50 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	inj.: i.m. → depotní na několik dní
sarafloxacin	10 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	p.o. 5 dní
sulfadimidin	500 mg.l ⁻¹	kombinovaná koupel sulfadimidinu a trimethoprimu; 72 hod
trimethoprim	100 mg.l ⁻¹	

Pozn.: V současnosti jsou v ČR pro ryby registrované antibiotické přípravky: Rupin Special gran. ad us. vet. (kompletní krmivo medikované oxytetracyklinem pro kaprovité ryby, OL:

378 d°; Aquaflor premix a Florocol premix (premixy medikované florfenikolem pro pstruha duhového, OL: 135 d°). V některých zemích EU jsou pro ryby registrované další antibiotické přípravky, které lze na základě výjimky ÚSKVBL dovézt a aplikovat u potravinových ryb v našich podmínkách (viz kapitola 7.1.1).

7.3.4. Azamethiphos

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika.

Charakteristika: Insekticid, organofosfát.

Indikace: Ektoparazitární infekce ryb, při nálezů korýše třídy Copepoda: *Lepeophtheirus salmonis*.

Forma aplikace: Léčebná koupel krátkodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.4.1.

Toxicita: Organofosfát toxický pro ryby a vodní prostředí; bezpečnost pro lososa v doporučeném dávkování zaručena registrací VLP (Salmosan plv.).

MRL: Není nutné stanovit.

OL: 24 hod při použití VLP Salmosan plv. u lososa; min. 500 d° při použití VLP Salmosan plv. u jiných druhů ryb než lososa.

Pozn.: V současnosti je registrovaný v některých zemích EU VLP Salmosan plv. (50% w/w, tj. 500 mg azamethiphosu v 1 g přípravku), který lze na základě výjimky ÚSKVBL dovézt a aplikovat u potravinových ryb v našich podmínkách (viz kapitola 7.1.1).

Tab. 7.3.4.1. Dávkování azamethiphosu.

Dávka azamethiphosu	Způsob aplikace	Poznámka
0,1 mg.l ⁻¹	koupel 30–60 min	dávka VLP Salmosan plv. 0,2 mg.l ⁻¹

7.3.5. Bronopol

Farmakoterapeutická skupina: Antimykotika.

Charakteristika: Biocid, germicid, fungicid.

Indikace: Mykotické infekce ryb; koupel jiker při mykotických a bakteriálních infekcích.

Forma aplikace: Léčebná koupel krátkodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.5.1.

Toxicita: Bezpečnost pro ryby a jikry v doporučeném dávkování zaručena registrací VLP (Pyceze sol.).

MRL: Není nutné stanovit.

OL: Ryby min 500 d° ; jikry nelze použít pro lidskou spotřebu.

Pozn.: V současnosti je v EU pro ryby registrovaný VLP Pyceze sol. (500 mg bronopolu v 1 ml VLP), který lze na základě výjimky ÚSKVB dovézt a aplikovat u potravinových ryb v našich podmínkách (viz kapitola 7.1.1).

Tab. 7.3.5.1. Dávkování bronopolu.

Dávka bronopolu	Způsob aplikace	Poznámka
20 mg.l ⁻¹	koupel 30 min	denně po dobu 14 dní dávka VLP Pyceze 0,04 ml.l ⁻¹
50 mg.l ⁻¹	koupel jiker 30 min	24 hod po fertilizaci a pak denně dávka VLP Pyceze 0,1 ml.l ⁻¹

7.3.6. Cypermethrin

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika, ektoparazitika.

Charakteristika: Insekticid, patří do skupiny pyrethrinů a pyrethroidů, syntetický pyretroid.

Indikace: Ektoparazitární infekce ryb, při nálezů korýše třídy Copepoda: *L. salmonis*.

Forma aplikace: Léčebná koupel krátkodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.6.1.

Toxicita: Syntetický pyrethroid, pro ryby a vodní organismy vysoce toxický, bezpečnost pro lososovité ryby v doporučeném dávkování zaručena registrací VLP (Betamax vet., Excis sol.). Vstup cypermethrinu do vodních ekosystémů může být příčinou dlouhotrvajících negativních změn v životním prostředí. **TI:** nízký.

MRL: Stanoven pro lososovité ryby.

OL: 24 hod při použití VLP Excis sol. u lososa; 20 d° při použití přípravku Betamax vet. u lososa; min. 500 denních stupňů při použití obou VLP u jiných druhů ryb než losos.

Pozn.: Cypermethrin je účinnou látkou VLP Excis sol. (10 mg cypermethrinu v 1 ml VLP) a VLP Betamax vet. (50 mg cypermethrinu v 1 ml VLP), které jsou v současnosti registrované v některých zemích EU a na základě výjimky ÚSKVBL je lze dovézt a aplikovat u potravinových ryb v našich podmínkách (viz kapitola 7.1.1).

Tab. 7.3.6.1. Dávkování cypermethrinu.

Dávka cypermethrinu	Způsob aplikace	Poznámka
5 µg.l ⁻¹	koupel 30 min	dávka VLP Betamax vet. 0,3 µg.l ⁻¹
5 µg.l ⁻¹	koupel 30 min	dávka VLP Excis sol. 0,1 µl.l ⁻¹

7.3.7. Deltamethrin

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika, ektoparazitika s prodlouženým repelentním účinkem.

Charakteristika: Insekticid, patří do skupiny pyrethrinů a pyrethroidů, syntetický pyretroid.

Indikace: Ektoparazitární infekce ryb, při nálezů korýše třídy Copepoda: *L. salmonis*.

Forma aplikace: Léčebná koupel krátkodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.7.1.

Toxicita: Syntetický pyrethroid, pro ryby vysoce toxický. **TI:** nízký; bezpečnost pro lososa v doporučeném dávkování zaručena registrací VLP (Alpha Max). Negativní účinek byl prokázán na vodní bezobratlé živočichy.

MRL: Stanoven pro ryby.

OL: 5 d° při použití VLP Alpha Max u lososů; min. 500 d° při použití u jiných druhů ryb než losos.

Pozn.: V současné době je deltamethrin účinnou látkou VLP Alpha Max (10 mg deltamethrinu v 1 ml VLP), který je registrovaný v některých zemích EU a na základě výjimky ÚSKVBL jej lze dovézt a aplikovat u potravinových ryb v našich podmínkách (viz kapitola 7.1.1).

Tab. 7.3.7.1. Dávkování deltamethrinu.

Dávka deltamethrinu	Způsob aplikace	Poznámka
2 µg.l ⁻¹	koupel 30 min	dávka VLP Alpha Max 2 µl.l ⁻¹

7.3.8. Diflubenzuron

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika.

Charakteristika: Insekticidy, derivát močoviny.

Indikace: Ektoparazitární infekce ryb, při nálezu korýše třídy Copepoda: *L. salmonis*.

Forma aplikace: Perorálně (medikované krmivo); léčebná koupel dlouhodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.8.1.

Toxicita: Bezpečnost pro lososa v doporučeném dávkování zaručena registrací VLP (Releeze vet.); diflubenzuron se špatně degraduje a ve vodě přetrvává dlouho.

MRL: Stanoven pro lososovité ryby.

OL: 105 d° při použití VLP Releeze vet. medik. pelety u lososa; min. 500 denních stupňů při použití u jiných druhů ryb než losos.

Pozn.: V současnosti je registrovaný v některých zemích EU VLP Releeze vet. medik. pelety (0,6 g diflubenzuronu v 1 kg pelet) a na základě výjimky ÚSKVBL jej lze dovést a aplikovat u potravinových ryb v našich podmínkách (viz kapitola 7.1.1).

Tab. 7.3.8.1. Dávkování diflubenzuronu.

Dávka diflubenzuronu	Způsob aplikace	Poznámka
0,03 mg.l ⁻¹	dlouhodobá koupel	přetrvává dlouho ve vodním prostředí
75 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně denně po dobu 14 dní	
3 - 6 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně denně po dobu 14 dní	dávka doporučená výrobcem VLP Releeze pelety (odpovídá 5-10 g pelet.kg ⁻¹)

7.3.9. Dimetridazol (angl. dimetridazole)

Použití dimetridazolu je zásadně regulováno legislativou. Dimetridazol je uveden v tabulce 2 (ZAKÁZANÉ LÁTKY) přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7), což znamená, že **nesmí být v žádném případě použit pro léčbu potravinových zvířat a je zakázáno jej pro potravinová zvířata používat i v rámci kaskády.**

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika, chemoterapeutika.

Charakteristika: Patří do skupiny nitroimidazolů.

Indikace: Bakteriální a ektoparazitární infekce (infekce *I. multifiliis*).

Forma aplikace: Perorálně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.9.1.

Toxicita: Derivát imidazolu, toxický pro ryby, **TI:** nízký, vždy provést zkoušku snášenlivosti!

MRL: Není stanoven, **zakázaná látka pro potravinová zvířata.**

OL: **Zakázaná látka pro potravinová zvířata.**

Pozn.: V současné době není registrovaný žádný veterinární ani humánní přípravek s účinnou látkou dimetronidazolem v zemích EU i v ČR. Aplikace dimetridazolu by připadala v úvahu **pouze v naléhavých případech u zvířat v zájmových chovech.**

Tab. 7.3.9.1. Dávkování dimetronidazolu.

Dávka dimetronidazolu	Způsob aplikace	Poznámka
56 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	po dobu 10 dní	infekce <i>I. multifiliis</i> , <i>Spironucleus</i> sp., <i>Hexamita</i> sp.

7.3.10. Emeaktin (emamectin benzoate, angl.: emamectin)

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika, endektoparazitika.

Charakteristika: Insekticidy, patří do skupiny makrocyclických laktonů, avermektinů.

Indikace: Ektoparazitární infekce ryb, při nálezů korýše třídy Copepoda: *L. salmonis*.

Forma aplikace: Perorálně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.10.1.

Toxicita: Bezpečnost pro lososa a pstruha duhového v doporučeném dávkování zaručena registrací VLP (SLICE premix).

MRL: Stanoven pro ryby.

OL: SLICE premix pro lososa 60 dní po poslední aplikaci pro lososa, SLICE premix pro pstruha duhového 372 d° pro pstruha. Při použití těchto VLP u jiných druhů ryb než je uváděno výrobcem je třeba dodržet OL min. 500 d°.

Pozn.: Emeaktin je účinnou látkou VLP SLICE premix pro lososa a VLP SLICE premix pro pstruha duhového (oba přípravky obsahují 2 mg emamectin-benzoátu v 1 g premixu), které jsou registrovány v současné době pro ryby v některých zemích EU a na výjimku ÚSKVBL jej lze dovézt a aplikovat potravinovým rybám v našich chovech (viz kapitola 7.1.1).

Tab. 7.3.10.1. Dávkování emamektinu.

Dávka emamektinu	Způsob aplikace	Poznámka
50 µg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně denně po dobu 7 dní	0,025 g.kg ⁻¹ ž. hm. VLP SLICE premix pro lososa a SLICE premix pro pstruha duhového

7.3.11. Fenbendazol (fenbendazolium, angl.: fenbendazole)

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika, anthelmintika se širokospektrálním účinkem.

Charakteristika: Patří mezi benzimidazolové deriváty.

Indikace: Endektoparazitární infekce ryb (nematoda, trematoda, monogenea).

Forma aplikace: Léčebná koupel dlouhodobá; perorálně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.11.1.

Toxicita: Při toxikologických testech na embryích *Danio rerio* (modifikovaný FET-test OECD, 2006) byl stanoven velmi nízký NOEC (no effect concentration = koncentrace, která nevyvolá sledovaný toxický efekt): 0,02 mg.l⁻¹, který dokladuje negativní účinek fenbendazolu na ryby (17).

MRL: Stanoven pro jiná potravinová zvířata než ryby (přezvýkavci, prasata, koňovití).

OL: Min. 500 d°.

Tab. 7.3.11.1. Dávkování fenbendazolu.

Dávka fenbendazolu	Způsob aplikace	Poznámka
20 mg.l ⁻¹	dlouhodobá koupel (6 dní nebo 1× týdně celkem 3×)	nematoda, trematoda, monogenea
25 mg.l ⁻¹	koupel 12 h	monogenea
25 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně denně po dobu 3 dny	nematoda, trematoda
50 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně 1× týdně celkem 2×	nematoda, trematoda

Pozn.: V současné době je v ČR registrovaný VLP s účinnou látkou fenbendazol pro ovce a kozy Panacur 25 mg/ml p.o. susp. (25 mg fenbendazolu v 1 ml VLP). V rámci kaskády volby léčiv může veterinární lékař použít tuto specialitu na vlastní odpovědnost za dodržení OL min. 500 d° jako léčivo určené pro jiná potravinová zvířata.

7.3.12. Flubendazol (angl.: flubendazole)

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika, anthelmintika.

Charakteristika: Patří mezi benzimidazoly a příbuzné substance.

Indikace: Endoparazitární infekce způsobené helminty.

Forma aplikace: Léčebná koupel dlouhodobá; perorálně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.12.1.

Toxicita: Nízká akutní toxicita při perorálním podání u savců.

MRL: Stanoven pro jiná potravinová zvířata než ryby (drůbež, prasata).

OL: Min. 500 d°.

Pozn.: V současné době je v ČR VLP Flimabend 100 mg/g suspenze pro podání v pitné vodě pro kura domácího a prasata a VLP Flumixan 50 mg/g premix pro medikaci krmiva prasat. V rámci kaskády volby léčiv může veterinární lékař použít tyto speciality na vlastní odpovědnost za dodržení OL min. 500 d° jako léčivo určené pro jiná potravinová zvířata.

Tab. 7.3.12.1. Dávkování flubendazolu.

Dávka 5% flubendazolu	Způsob aplikace	Poznámka
2 mg.l ⁻¹	koupel dlouhodobá	

7.3.13. FMC (kombinovaná koupel ve formaldehydu, methylenové modři a malachitové zeleni)

Použití malachitové zeleně, která je jednou složkou FMC, je zásadně regulováno legislativou. Od roku 2000 je její použití striktně zakázáno u všech věkových kategorií potravinových ryb včetně jiker a **nesmí být v žádném případě použita pro léčbu potravinových zvířat a je zakázáno ji pro potravinová zvířata používat i v rámci kaskády.**

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Kombinace barviv a dezinfekční látky.

Indikace: Infekce ektoparazitů, při nálezu rodů *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Ichthyophthirius*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Thaparocleidus*.

Forma aplikace: Léčebná koupel dlouhodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.13.1.

Příprava zásobního roztoku FMC:

3,5 g methylenové modři

3,5 g malachitové zeleně

1 l formaldehydu (36–38 %)

Toxicita: Vysoká akutní toxicita pro ryby, letální koncentrace je velmi blízká doporučené léčebné koncentraci. **TI:** nízký. Je nutné počítat s rozdílnou toxicitou u různých šarží malachitové zeleně. Aplikaci FMC je nutné provádět s ohledem na teplotu vody koupele (viz formaldehyd v kapitole 7.3.14). Před aplikací vždy ověřit testem snášenlivosti!

Bezpečnost pracovníků provádějících léčebnou koupel: zvýšenou pozornost je třeba věnovat ochraně kůže (rukou) a očí obsluhujícího personálu a dostatečnému větrání, pokud se koupel provádí v uzavřeném prostoru.

MRL: Není stanoven, **nelze použít u potravinových ryb.**

OL: **Nelze použít u potravinových ryb.**

Pozn.: Z důvodu přísného zákazu použití malachitové zeleně u potravinových ryb není možné doporučit její aplikaci. Zákaz je přísně sledován zejména při exportech ryb z naší republiky. Koupel je možné aplikovat **pouze v chovech okrasných a akvariálních ryb**. Významným problémem používání FMC je likvidace léčebné lázně z těchto koupelí (viz kapitola 7.1.1).

Tab. 7.3.13.1. Dávkování zásobního roztoku FMC.

Dávka zásobního roztoku FMC	Způsob aplikace	Poznámka
0,01 ml.l ⁻¹ = 1 ml.100 l ⁻¹	koupel 24 h	po 2 dnech přidat do koupele 0,005 ml.l ⁻¹ = 0,5 ml.100 l ⁻¹
0,025 ml.l ⁻¹ = 2,5 ml.100 l ⁻¹	koupel 2 h	zopakovat 2–3×

7.3.14. Formaldehyd (36 až 38% vodný roztok formaldehydu se nazývá formalín, HCHO, angl.: formaldehyde)

Farmakoterapeutická skupina: Není zařazen do kategorie léčivých přípravků, ale pokud je použit k léčbě, je třeba k němu přistupovat jako k léčivému přípravku.

Charakteristika: Dezinfekční látka, karcinogen 1B.

Indikace: Povrchové mykotické infekce; infekce ektoparazitů při nálezů rodů *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Trichodinella* a monogeneí rodů *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Traparocleidus*; koupel jiker při plísňových a bakteriálních infekcích; dezinfekce akvárií a nástrojů.

Forma aplikace: Léčebná koupel krátko- i dlouhodobá; koupel jiker.

Dávkování: Podle tab. 7.3.14.1.

Toxicita: Používat pouze čirý roztok bez usazenin paraformaldehydu, který vzniká při skladování při nízkých teplotách nebo při zmražení a je pro ryby toxický (bílá usazenina na dně). Do vody aplikovat s ohledem na teplotu vody koupele. Vždy provést zkoušku snášenlivosti, výsledek nutno posuzovat až za 24 hodin po ukončení koupele. Formaldehydová koupel často způsobuje poškození a úhyn ryb až v delším časovém odstupu. Formaldehyd může poškodit žábry, proto je nutné zajistit během léčebné koupele dostatečnou aeraci. Nekombinovat s aplikací manganistanu draselného.

Bezpečnost pracovníků provádějících léčebnou koupel: formaldehyd je zařazen mezi kancerogenní látky. Zvýšenou pozornost je třeba věnovat ochraně kůže (rukou) a očí obsluhujícího personálu a dostatečnému větrání, pokud se koupel provádí v uzavřeném prostoru.

MRL: V současné době uveden v seznamu látek, u kterých není nutné stanovovat MRL (Tab. 1 Přílohy Nařízení Komise (EU) č.37/2010) a lze je použít u všech potravinových zvířat na doporučení veterinárního lékaře.

OL: Není stanovena, min. 500 d°.

Pozn.: Formaldehyd je nutné uchovávat v temnu při teplotě nad 4 °C.

Tab. 7.3.14.1. Dávkování formaldehydu.

Teplota vody	Dávka 36–38% formaldehydu (= formalínu)	Způsob aplikace	Poznámka
do 10 °C	0,25 ml.l ⁻¹	koupel 30–60 min	
10–15 °C	0,20 ml.l ⁻¹	koupel 30–60 min	
nad 15 °C	0,17 ml.l ⁻¹	koupel 30–60 min	
25 °C	0,25 ml.l ⁻¹	koupel 30 min	raná stádia plůdku kapra a sumce
	0,025–0,030 ml.l ⁻¹	koupel časově neomezená	jednorázově do přítoku
	0,05–0,35 ml.l ⁻¹	koupel 10 min 1× za 2 h	koupel jiker
≥ 5 °C	30 ml.l ⁻¹	2 h	dezinfekce akvárií a nástrojů

7.3.15. Fumagilin (ang.: fumagillin)

Použití fumagilinu u potravinových ryb nelze provést, protože není zhodnocena jeho bezpečnost pro potravinové druhy zvířat a chybí jeho klasifikace v tab. 1 přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7).

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika.

Charakteristika: Acyklický polyenový makrolid produkovaný plísní *Aspergillus fumigatus*.

Indikace: Infekce mikroorganismy ze skupin Microsporidia a Myxozoa.

Forma aplikace: Perorálně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.15.1.

Toxicita: Byla zaznamenána při vyšší než doporučené dávce a při dlouhodobé aplikaci (30–40 dní). **TI:** nízký.

MRL: Není stanoven, **není určen pro potravinové ryby.**

OL: Není určen pro potravinové ryby.

Pozn.: Původně byl fumagilin používán pro léčbu včel při nákaze mikrosporidii (*Nosema* sp.), byla však prokázána přítomnost reziduí v medu. V současné době není v ČR registrovaný žádný přípravek s účinnou látkou fumagilinem.

Tab. 7.3.15.1. Dávkování fumagilinu.

Dávka fumagilinu	Způsob aplikace	Poznámka
5–50 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	20 dní perorálně	(18)
5 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	42 dní perorálně	PKD
15 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	56 dní perorálně	<i>Sphaerospora</i>

7.3.16. Chloramin T (angl.: chloramine-T)

Farmakoterapeutická skupina: Nespádá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Dezinfekční látka.

Indikace: Bakteriální infekce.

Forma aplikace: Léčebná koupel krátkodobá, dezinfekce rukou, předmětů a nádrží.

Dávkování: Podle tab. 7.3.16.1.

Toxicita: Přípravek Chloramin T obsahuje cca 25 % aktivního chloru (rozdíl bývá u jednotlivých šarží), který je pro ryby velmi silně jedovatý, stupeň toxicity stoupá se zvyšující se teplotou vody. **TI:** nízký.

MRL: Nemá stanoven, nezanechává rezidua.

OL: Nemá stanovena.

Pozn.: Rozdílný obsah aktivního chloru v jednotlivých šaržích přípravku může mít za následek poškození ryb, nebo naopak nižší účinek léčebné koupele. Vždy provést zkoušku snášenlivosti!

Tab. 7.3.16.1. Dávkování chloraminu T.

Dávka chloraminu T	Způsob aplikace	Poznámka
20 mg.l ⁻¹	koupelel 20 min	preventivně 2–3× týdně
20 mg.l ⁻¹	koupelel 1 h	léčebně – denně po dobu 1 týdne
30 g.l ⁻¹	několik min	dezinfekce malých předmětů
30 g.l ⁻¹	3 h	při ohniskové dezinfekci předmětů
0,5% roztok	oplach	dezinfekce rukou

7.3.17. Chlorid sodný (NaCl, kuchyňská sůl, angl.: salt)

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Chemická sloučenina.

Indikace: Povrchové mykotické infekce; ektoparazitární infekce při nálezu rodů *Cryptobia*, *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Trichodinella*; s nižší účinností při nálezu rodů *Dactylogyrus*, *Gyrodactylus*, *Piscicola*, *Argulus*; koupelel jiker při plísňových a bakteriálních infekcích.

Forma aplikace: Léčebná koupelel krátko- i dlouhodobá, koupelel lze opakovat.

Dávkování: Podle tab. 7.3.17.1.

Toxicita: Rozdíl mezi letálními koncentracemi kuchyňské soli pro ryby a pro parazity není příliš velký, **TI:** nízký. Vždy provést test snášenlivosti! Pro aplikaci solné koupelel zásadně nepoužívat pozinkované nádoby (NaCl působí agresivně na zinkový povrch a pomáhá uvolnění pro ryby toxického ZnCl₂ do koupelel).

MRL: Je uveden v tabulce 1 přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7), není nutné stanovovat MRL a lze jej použít u všech potravinových zvířat.

OL: Nemá stanovena.

Tab. 7.3.17.1. Dávkování chloridu sodného.

Dávka NaCl	Způsob aplikace	Poznámka
10 g.l ⁻¹	koupelel 30 min	raná stádia plůdku při 20–25 °C
20 g.l ⁻¹	koupelel 15 min	slabší plůdek kapra a lososovité ryby
30 g.l ⁻¹	koupelel 25–30 min	silnější plůdek kapra
20–50 g.l ⁻¹	ponořovací koupelel	koupelel jiker, zejména lososovitých a síhovitých ryb
1–2 g.l ⁻¹	koupelel 1–2 dny	ryby v sádkách, v manipulačních rybníčcích

7.3.18. Chlorové vápno (chlornan vápenatý, ang.: calcium hypochlorite, chlorinated lime)

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Dezinfekční látka, chlornan vápenatý $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, pro dosažení požadované účinnosti musí obsahovat nejméně 25 % aktivního chloru.

Indikace: Dezinfekce chovného prostředí, léčba bakteriálních infekcí a infekce *Branchiomyces* sp.

Dávkování: Podle tab. 7.3.18.1.

Toxicita: Toxický pro vodní organismy, nebezpečný pro životní prostředí.

Pozn.: Chlorové vápno je bělavý prášek, silně páchnoucí chlorem, málo rozpustný ve vodě, je hygroskopický, tvoří s vodou suspenzi mléčné barvy. Při míšení s vodou je bezpečnější přidávat chlornan do vody, jinak může dojít k ohřevu a rychlému rozpadu, který je doprovázen uvolněním toxického plynného chloru. Chlorové vápno je nestálá látka, na vzduchu rychle větrající. Chlorové preparáty není vhodné používat na kovové předměty.

OL: Není stanovena, dle současné legislativy minimálně 500 d°.

Tab. 7.3.18.1. Dávkování chlorového vápna.

Dávka chlorového vápna	Způsob aplikace	Poznámka
0,3–0,6 t.ha ⁻¹	jednorázově	ochranná dezinfekce vypuštěných chovných nádrží
200–400 mg.l ⁻¹	12 h	dezinfekce betonových a laminátových žlabů
15 kg.ha ⁻¹ při průměrné hloubce rybníka 1m	3× týdně	aplikace na plnou vodu rybníka při branchiomykóze a bakteriózách ryb

7.3.19. Ivermektin (angl.: ivermectin)

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika.

Charakteristika: Endektoparazitikum, insekticid, patří do skupiny makrocyclických laktonů, avermektinů.

Indikace: Antiparazitární infekce (širokospektrý účinek).

Forma aplikace: Léčebná koupel; perorálně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.19.1.

Toxicita: Přípravky na bázi ivermektinu, jsou **toxické pro ryby a vodní organismy**, a proto není možné s ivermektinem jako léčebnou látkou pro ryby počítat nejen z hlediska bezpečnosti pro cílový organismus, ale i vzhledem k jeho ekotoxicitě ve vodním prostředí.

MRL: Stanoven pro jiná potravinová zvířata než ryby.

OL: Zákonem předepsanou OL (min. 500 d°) je nutné prodloužit, protože VLP pro savce mají dle výrobce OL až 48 dnů (minimální OL dle nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7) je pro maso 28 dní, které odpovídají 500 d° při teplotě okolo 18 °C).

Tab. 7.3.19.1. Dávkování ivermektinu.

Dávka ivermektinu	Způsob aplikace	Poznámka
0,031 ml.l ⁻¹	koupel 60 min	(19)
0,1 ml.l ⁻¹	koupel 3 h	(19)
50 µg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně 1× týdně celkem 2×	korýš tř. Copepoda <i>L. salmonis</i> u lososů

Pozn.: V současné době je v ČR registrovaná řada léčebných přípravků s účinnou látkou ivermektin určených pro potravinová zvířata ve formě injekčního roztoku nebo přípravků pro perorální aplikaci. Účinnost ivermektinu již byla u některých parazitárních onemocnění ryb prokázána, např. při infekci chlopka (*Ergasilus sieboldi*), ale vzhledem k negativním účinkům na ryby a vysoké ekotoxicitě **není použití ivermektinu bezpečné pro cílový organismus a pro životní prostředí.**

7.3.20. Jodové preparáty

Farmakoterapeutická skupina: Nespádají do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Dezinfekční látky.

Indikace: Lokální dezinfekce kůže, léčebná koupel jiker při plísňových a bakteriálních infekcích.

Dávkování: Podle tab. 7.3.20.1.

Toxicita: Jod spolehlivě ničí širokou škálu mikroorganismů při celkem nízké toxicitě; jod vazbou na polyvinylpyrrolidon ztrácí své mírně dráždivé a toxické účinky.

MRL: Není stanoven.

OL: Bez ochranných lhůt.

Pozn.: Vzhledem k malé rozpustnosti jodu ve vodě se používají jeho sloučeniny s různými typy nosičů, např. jod + povidon (PVP, polyvinylpyrrolidon), které jsou ve vodě dobře rozpustné. V současné době jsou v ČR k dispozici veterinární dezinfekční přípravky obsahující sloučeniny jodu: Alfadin, Jodouter, případně humánní Jodisol, Betadine.

Tab. 7.3.20.1. Dávkování jodových preparátů.

Dávka	Způsob aplikace	Poznámka
koncentrovaný	lokálně na kůži, ránu	Alfadin, Jodisol, Betadine
2–50 ml.l ⁻¹	koupel 2–5 min, 1–2× denně	Jodisol – koupel jiker

7.3.21. Kyselina peroctová (KPO, CH₃CO₃H, kyselina peroxyethanová, acidum peraceticum, angl.: peracetic acid, PAA)

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Dezinfekční látka ze skupiny organických peroxidů.

Indikace: Dezinfekce prostředí – antimikrobiální a germicidní účinek; povrchové mykotické infekce ryb při nálezu *Saprolegnia parasitica*, povrchové bakteriální infekce, ektoparazitární infekce při nálezu rodu *Piscinoodinium*, *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Epistylis*, invazivní stádia *Ichthyophthirius multifiliis*, a monogenei rodu *Gyrodactylus* (20).

Forma aplikace: Léčebná koupel krátkodobá.

Dávkování: podle tab. 7.3.21.1.

Toxicita: Přípravek Persteril i jeho rozkladné produkty jsou lehce biologicky odbouratelné. Při práci s KPO je nutné přísně dodržovat bezpečnostní pravidla pracovníků provádějících léčebnou koupel. Zvýšenou pozornost je třeba věnovat ochraně kůže (rukou) a očí obsluhujícího personálu a dostatečnému větrání, pokud se koupel provádí v uzavřeném prostoru. **TI:** nízký, letální koncentrace pro ryby je velmi blízká účinné léčebné koncentraci.

MRL: Není nutné stanovit, KPO nespadá do kategorie léčivých přípravků, ale byl prokázán její léčivý účinek pro ryby. Koupel se provádí na základě doporučení jen veterinárního lékaře.

OL: Min. 500 d°.

Pozn.: V současné době je na českém trhu dostupný biocidní přípravek Persteril, obsahující KPO jako hlavní účinnou látku v kombinaci s peroxidem vodíku, kyselinou octovou a sírovou. Přípravek je dodáván ve třech koncentracích, označených podle obsahu KPO. Složení jednotlivých Persterilů je následující:

Persteril 4%: KPO 3–5 %; H₂O₂ 26–28 %; kys. octová max. 20 %, kys. sírová max. 1%

Persteril 15%: KPO 14–17 %; H₂O₂ 20–25 %; kys. octová max. 20 %, kys. sírová max. 1%

Persteril 36%: KPO 32–36 %; H₂O₂ 5–12 %; kys. octová max. 25 %, kys. sírová max. 1%.

Tab. 7.3.21.1. Dávkování kyseliny peroctové.

Dávka KPO	Způsob aplikace	Poznámka
0,5 ml.l ⁻¹ KPO	koupel 30 s	ektoparazitární infekce (protista): opakovat každý druhý den, celkem 4x
2 ml.l ⁻¹ KPO	koupel 30 s	ektoparazitární infekce (metazoa – monogenea, nematoda, artropoda): opakovat každý druhý den, celkem 4x
4% roztok KPO	15 min	dezinfekce předmětů
0,15% roztok KPO	60–80 min	dezinfekce nádrží
2,9 µl. l ⁻¹ Persterilu 36%	koupel	ektoparazitární infekce (protista a monogenea): 2x denně
2,4–4 µl.l ⁻¹ Persterilu 36%	koupel	profylaxe: 3x denně až 1x týdně
6,6 µl.l ⁻¹ Persterilu 15%	koupel	ektoparazitární infekce (protista a monogenea): 2x denně
25 µl.l ⁻¹ Persterilu 4%	koupel	ektoparazitární infekce (protista a monogenea): 2x denně

7.3.22. Levamisol (levamisolum, angl.: levamisole)

Indikace: Ektoparazitární infekce při nálezu monogeneí rodu *Gyrodactylus* a nematod rodu *Anguillicoloides*.

Forma aplikace: Léčebná koupel dlouhodobá; perorálně – medikace krmiva.

Dávkování: Podle tab. 7.3.22.1.

Toxicita: Při dlouhodobé aplikaci má negativní vliv na játra ryb; **TI:** nízký.

MRL: Stanoven pro jiná potravinová zvířata než ryby (drůbež, prasata).

OL: Min. 500 d°.

Pozn.: V ČR jsou v současné době registrovány 3 přípravky s účinnou látkou levamisol pro jiná potravinová zvířata než ryby: Levamisole hydrochloride 80% (v 1 g prášku je 800 mg levamisolhydrochloridu = 678 mg levamisolu) určený pro prasata, Chemisole 200 mg/ml perorální roztok pro brojlerů kura domácího a krůty a Chemisole 300 mg/g prášek pro podání v pitné vodě pro prasata. Všechny přípravky se podávají cílovým druhům v pitné vodě, takže jsou v ní dobře rozpustné. V rámci kaskády volby léčiv může veterinární lékař použít tyto speciality na vlastní odpovědnost.

Tab. 7.3.22.1. Dávkování levamisolu.

Dávka levamisolu	Způsob aplikace	Poznámka
50 mg.l ⁻¹ levamisolu	koupelel 2 h	nematoda, trematoda
1–2 mg.l ⁻¹ levamisolu	koupelel 24 hod	anquilikulóza úhořů (21)
10 mg.l ⁻¹ levamisol hydrochloridu	koupelel dlouhodobá	ornamnetální ryby (22)
2,5–10 mg.kg ⁻¹ ž. hm. levamisol hydrochloridu denně	perorálně denně po dobu 7 dní	nematoda, trematoda
8 mg.kg ⁻¹ ž. hm. levamisol hydrochloridu denně	perorálně denně po dobu 7 dní	anquilikulóza úhořů

7.3.23. Malachitová zeleň (angl.: malachite green)

Použití malachitové zeleně je zásadně regulováno legislativou. Od roku 2000 je její použití striktně zakázáno u všech věkových kategorií potravinových ryb včetně jiker a **nesmí být v žádném případě použita pro léčbu potravinových zvířat a je zakázáno ji pro potravinová zvířata používat i v rámci kaskády.**

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Zásadité barvivo, dobře rozpustné ve vodě.

Indikace: Ektoparazitární infekce: protista rodu *Piscinoodinium*, *Ichthyobodo*, *Chilodonella*, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Epistylis*, invazivní stádia *Ichthyophthirius multifiliis*, koupelel jiker při plísňových a bakteriálních infekcích; **pouze u okrasných a akvarijních ryb.**

Forma aplikace: Léčebná koupelel ponořovací, krátkodobá i dlouhodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.23.1.

Toxicita: Vysoká akutní toxicita pro ryby, letální koncentrace je velmi blízká doporučené léčebné koncentraci. **TI:** nízký. Je nutné počítat s rozdílnou toxicitou u různých šarží malachitové zeleně. Před aplikací vždy provést test snášenlivosti!

MRL: Není stanoven, **zakázaná látka, nelze použít u potravinových ryb.**

OL: **Zakázaná látka, nelze použít u potravinových ryb.**

Pozn.: Z důvodu přísného zákazu použití malachitové zeleně u potravinových ryb není možné doporučit její aplikaci. Zákaz je přísně sledován zejména při exportech ryb z naší republiky. Malachitová zeleň je součástí některých přípravků/pomocných látek používaných v zájmových chovech zvířat, tedy v akvaristice a v chovu okrasných ryb. Vzhledem k odlišným vlastnostem jednotlivých výrobních šarží je nutné vždy provést zkoušku snášenlivosti. Významným problémem používání malachitové zeleně je likvidace léčebné koupelel.

Tab. 7.3.23.1. Dávkování malachitové zeleně.

Dávka malachitové zeleně	Způsob aplikace	Poznámka
50–60 mg.l ⁻¹	koupeľ 10–30 s	akvarijní a okrasné ryby
1 mg.l ⁻¹	koupeľ 30–60 min	akvarijní a okrasné ryby
0,1 mg.l ⁻¹	koupeľ 24 hod	na 24 hod přerušit průtok vody a zajistit provzdušňování → po 24 hod provést výměnu lázně a nechat průtok vody 1 h → zopakovat celý postup celkem 3–6×
5–10 mg.l ⁻¹	5–30 min, 1–2× denně	koupeľ jiker okrasných druhů ryb s krátkou inkubační dobou
5–10 mg.l ⁻¹	5–30 min, 1× za 1–2 dny	koupeľ jiker okrasných druhů ryb s dlouhou inkubační dobou

7.3.24. Manganistan draselný (KMnO₄, hypermangan, angl.: potassium permanganate)

V současnosti použití hypermanganu u potravinových ryb nelze provést, protože není zhodnocena jeho bezpečnost pro potravinové druhy zvířat a chybí jeho klasifikace v tab. 1 přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7).

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Chemická sloučenina.

Indikace: Povrchové mykotické infekce; ektoparazitární infekce (protista); **pouze u okrasných a akvarijních ryb.**

Forma aplikace: Léčebná koupeľ ponořovací, krátko- i dlouhodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.24.1.

Toxicita: Léčebné koncentrace manganistanu draselného jsou velmi blízké letálním koncentracím pro ryby, a proto se musí ošetření provádět zvlášť uvážene, zejména u akvarijních ryb. **TI:** nízký. Vždy provést zkoušku snášenlivosti! V letním období při vyšší teplotě vody jsou tyto koupele pro ryby nebezpečné.

MRL: Není stanoven, **nelze použít u potravinových ryb.**

OL: **Nelze použít u potravinových ryb.**

Tab. 7.3.24.1. Dávkování manganistanu draselného.

Dávka KMnO ₄	Způsob aplikace	Poznámka
1 g.l ⁻¹	koupeľ 30–45 s	krátké ponoření, okrasné a akvarijní ryby
0,1 g.l ⁻¹	koupeľ 5–10 min	okrasné a akvarijní ryby
0,01 g.l ⁻¹	koupeľ 60–90 min	okrasné a akvarijní ryby
0,3–0,6 mg.l ⁻¹	koupeľ 12 hod	okrasné a akvarijní ryby

7.3.25. Mebendazol (MBZ, mebendazolum, angl. mebendazole)

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika, anthelmintika.

Charakteristika: Patří do skupiny benzimidazolů.

Indikace: Ekto- i endoparazitární infekce.

Forma aplikace: Léčebná koupeľ dlouhodobá; perorálně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.25.1.

Toxicita: Léčebné dávky nezpůsobují úhyn ryb, ale při koncentraci MBZ 10 mg.l⁻¹ byly zaznamenány histologické změny na žábrách (23).

MRL: Stanoven pro jiná potravinová zvířata než ryby.

OL: Min. OL 500 d° prodloužit! (VLP pro savce mají OL až 60 dnů).

Pozn.: V ČR je registrovaný kombinovaný VLP s účinnou látkou mebendazol pro jelení, daňčí, mufloní, srnčí a kamzičí zvěř Rafendazol plv. (v 1 g plv. 8 mg mebendazolu + 10 mg rafoxanidu), který se předkládá v krmivu a je ve vodě hůře rozpustný. V rámci kaskády volby léčiv může veterinární lékař použít tuto specialitu jako léčivo určené pro jiná potravinová zvířata. V tomto případě je třeba předepsanou OL (min. 500 d°) prodloužit, protože VLP pro savce mají dle výrobce stanovenou OL až 60 dnů (minimální OL dle nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7) je pro maso 28 dnů).

Tab. 7.3.25.1. Dávkování mebendazolu.

Dávka mebendazolu	Způsob aplikace	Poznámka
10 mg.l ⁻¹	koupel 10 min	Monogenea
1 mg.l ⁻¹	koupel 24 h	Monogenea
20 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně 1× týdně, celkem 3×	Nematoda

7.3.26. Methylenová modř (angl. methylene blue)

Farmakoterapeutická skupina: Barvivo; nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Indikace: Léčba a prevence bakteriálních, mykotických a ektoparazitárních (protista) infekcí okrasných a akvarijních ryb.

Forma aplikace: Léčebná koupel dlouhodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.26.1.

Toxicita: Může být ovlivněna kvalitou vody, vždy provést test snášenlivosti!

MRL: Není stanoven.

OL: Nelze použít u potravinových ryb.

Pozn.: Methylenová modř je dobře rozpustná ve vodě; je součástí FMC; není vhodná pro biologickou filtraci vod, protože ničí nitrifikační bakterie.

Tab. 7.3.26.1. Dávkování methylenové modři.

Dávka methylenové modři	Způsob aplikace	Poznámka
2 mg.l ⁻¹	koupel obden celkem 3×	preventivně u akvarijních ryb
1–3 mg.l ⁻¹		léčebně u akvarijních ryb

7.3.27. Metronidazol (metronidazolium, angl.: metronidazole)

Použití metronidazolu je zásadně regulováno legislativou. Metronidazol je uveden v tabulce 2 (ZAKÁZANÉ LÁTKY) přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7), což znamená, že **nesmí být v žádném případě použit pro léčbu potravinových zvířat a je zakázáno jej pro potravinová zvířata používat i v rámci kaskády.**

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika, antiprotozoika.

Charakteristika: Patří do skupiny nitroimidazolových chemoterapeutik.

Indikace: Bakteriální a endoparazitární (protista) infekce.

Forma aplikace: Léčebná koupel dlouhodobá; perorálně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.27.1.

Toxicita: Následné mutagenní a karcinogenní účinky.

MRL: Není stanoven, **zakázaná látka pro potravinová zvířata.**

OL: Zakázaná látka pro potravinová zvířata.

Pozn.: V současné době jsou registrované veterinární přípravky s účinnou látkou metronidazolem v zemích EU i v ČR určeny **jen pro zvířata v zájmových chovech**. Přípravek Metrozol 200 mg/g perorální prášek se používá pro aplikaci v pitné vodě u sportovních holubů. Humánní přípravek Entizol tbl., obsahuje v 1 tabletě 250 mg metronidazolu. V rámci kaskády volby léčiv může veterinární lékař použít nouzově tyto speciality na vlastní odpovědnost **pouze pro akvarijní a okrasné druhy ryb** s obezřetností vzhledem ke kontaminaci vody a prostředí (viz kapitola 7.1.1).

Tab. 7.3.27.1. Dávkování metronidazolu.

Dávka metronidazolu	Způsob aplikace	Poznámka
5 mg.l ⁻¹	koupel 3 hod 1× denně 3 dny	spironukleózy akvarijních a okrasných ryb
25 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně denně po dobu 5–10 dní	spironukleózy akvarijních a okrasných ryb
100 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně denně po dobu 3 dny	spironukleózy, akvarijních a okrasných ryb

7.3.28. Modrá skalice (CuSO₄ · 5 H₂O, angl.: copper sulfate, bluestone)

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Barvivo.

Indikace: Bakteriální infekce, ektoparazitární infekce (protista) rodu *Piscinoodinium*, *Ichthyobodo*, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Chilodonella* u akvarijních ryb a okrasných ryb.

Forma aplikace: Léčebná koupel ponořovací, krátko- i dlouhodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.28.1.

Toxicita: Toxicita koupele, ale i její terapeutická účinnost pro ryby je ovlivněna fyzikálně-chemickými vlastnostmi vody. Vysoký obsah organických látek, vyšší pH a vyšší kyselinová neutralizační kapacita způsobují vznik málo rozpustných nebo zcela nerozpustných sloučenin mědi, které jsou pro ryby méně toxické, ale i méně terapeuticky účinné. Vždy nutné provádět u jednotlivých druhů, zejména akvarijních ryb, test snášenlivosti.

MRL: Není stanoven, **nelze použít u potravinových ryb.**

OL: Nelze použít u potravinových ryb.

Pozn.: Modrá skalice je dobře rozpustná ve vodě.

Tab. 7.3.28.1. Dávkování modré skalice.

Dávka modré skalice	Způsob aplikace	Poznámka
1,5 mg.l ⁻¹	koupel 12 hod	piscinoodinióza akvarijních ryb
2 mg.l ⁻¹	koupel 2 hod	ichthyobodóza akvarijních ryb, zopakovat za 2 dny
0,1 µg.l ⁻¹	koupel neomezeně	infekce protisty akvarijních ryb
500 mg.l ⁻¹	koupel 1 min	bakteriózy, infekce protisty akvarijních ryb

7.3.29. Pálené vápno (nehašené vápno, oxid vápenatý, CaO, ang.: burned lime)

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Dezinfekční látka, oxid vápenatý (CaO).

Indikace: Dezinfekce chovného prostředí (dna chovných nádrží po výlovu ryb) a rybolovných prostředků.

Dávkování: Podle tab. 7.3.29.1.

Toxicita: Používá se mimo rybí obsádku.

Pozn.: Pálené vápno se získává z vápence (CaCO₃) při vysokých teplotách (nad 1000 °C), tento proces se nazývá kalcinace nebo také pálení vápna. Pálené vápno při styku s vodou reaguje (hasí se) za vzniku hydroxidu vápenatého Ca(OH)₂, tzv. vápenného mléka, které také působí dezinfekčně (viz kapitola 7.3.38).

Tab. 7.3.29.1. Dávkování páleného vápna.

Dávka páleného vápna	Způsob aplikace	Poznámka
1,5 až 3 t.ha ⁻¹	posyp práškové formy	ničí spolehlivě většinu původců rybích nemocí
5 t.ha ⁻¹	posyp práškové formy	výjimečně při zvláště nebezpečných infekcích

7.3.30. Peroxid vodíku (H₂O₂, angl.: hydrogen peroxide)

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Dezinfekční látka.

Indikace: Povrchové bakteriální, mykotické a parazitární infekce; dezinfekce akvárií a předmětů.

Forma aplikace: Léčebná koupel krátkodobá – peroxid vodíku se rychle rozkládá na vodu a kyslík.

Dávkování: Podle tab. 7.3.30.1.

Toxicita: Peroxid vodíku není vhodný pro aplikaci do rybníků a volných vod z důvodu prokázané toxicity pro vodní organismy. Vodami odtékajícími z bazénů, ve kterých je aplikován peroxidu vodíku, vodní prostředí ohroženo není, protože jeho koncentrace ve vodě po aplikaci velmi rychle klesá.

TI: Není nutné stanovit MRL.

OL: Není stanovena.

Pozn.: Peroxid vodíku je účinnou látkou různých komerčně vyráběných přípravků, např. BioCareSPC, při jeho aplikaci se peroxid vodíku uvolní z hydrogen peruhličitanu sodného. Peroxid vodíku je také jednou z účinných složek desinfekčního přípravku Persteril.

Tab. 7.3.30.1. Dávkování peroxidu vodíku.

Dávka peroxidu vodíku	Způsob aplikace	Poznámka
17,5 ml.l ⁻¹ 3% H ₂ O ₂	koupel 10 min	
10 ml.l ⁻¹ 3% H ₂ O ₂	koupel 10–15 min	
19 ml.l ⁻¹ 3% H ₂ O ₂	koupel 4 min	
60 mg.l ⁻¹ Biocare SPC	koupel 25 min	zastavit průtok v nádrži, v betonových nádržích

7.3.31. Piperazin (angl.: piperazine)

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika, anthelmintika.

Charakteristika: Patří do skupiny phenotiazinů.

Indikace: Endoparazitární infekce gastrointestinálního traktu (helmintózy).

Forma aplikace: Perorálně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.31.1.

MRL: Stanoven pro jiná potravinová zvířata než ryby (prasata, kur domácí).

OL: Min. 500 d°.

Tab. 7.3.31.1. Dávkování piperazinu

Dávka piperazinu	Způsob aplikace	Poznámka
10 mg.kg ⁻¹ ž. hm. denně	3 dny	

7.3.32. Prazikvantel (PRQ, angl.: praziquantel)

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika, širokospektrální anthelmintika.

Charakteristika: Syntetický isochinolin-pyrazinový derivát.

Indikace: Endoparazitární infekce (monogenea, cestoda a při likvidaci vývojových stadií motolic rodu *Diplostomum*).

Forma aplikace: Léčebná koupel; perorálně.

Dávkování: Podle tab. 7.3.32.1.

Toxicita: 96hLC50 byla stanovena u amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) 60 mg.l⁻¹ (24) a u parmy obecné (*Barbus barbus*) 28,6 mg.l⁻¹ (25). Z těchto údajů vyplývá příznivý **TI**.

MRL: Není nutné stanovit (pro ovce a koně).

OL: Min. 500 d° (koně: 30 dnů).

Pozn.: Prazikvantel je slabě rozpustný ve vodě. V žádné zemi EU ani v ČR není pro ryby ani pro jiná potravinová zvířata registrovaný VLP s účinnou látkou prazikvantel. Aplikaci u potravinových ryb může provést veterinární lékař v rámci kaskády volby léčiv na vlastní odpovědnost za dodržení OL min. 500 d°.

Tab. 7.3.32.1. Dávkování prazikvantelu.

Dávka prazikvantelu	Způsob aplikace	Poznámka
1 mg.l ⁻¹	koupel 90 hod	metacerkárie <i>Diplostomum spathaceum</i>
1 mg.l ⁻¹	koupel 24 hod	tasemnice <i>Schyzocotyle acheilognathi</i>
2 mg.l ⁻¹	koupel 24 hod	metacerkárie motolic
2 mg.l ⁻¹	koupel 1–3 hod	tasemnice
10 mg.l ⁻¹	koupel 48 hod	monogenea
50 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně jednorázově	cestoda, metacerkárie <i>Diplostomum spathaceum</i>

7.3.33. Přejídné zvýšení teploty vody

Využití přejídného zvýšení teploty vody jako léčebné metody spočívá v tom, že se teplota vody s infikovanými rybami postupně po dobu 3 dnů zvyšuje na 31 až 32 °C, a pak se opět postupně snižuje na původní výši. Předpokladem úspěšného zásahu je snášenlivost ošetřovaných ryb k vyšší teplotě vody. V praxi se tato metoda používá k likvidaci infekce *I. multifiliis*, především v chovech akvarijních ryb a ve speciálních rybochovných zařízeních s oteplenou vodou. Přejídné zvýšení se osvědčilo také při odchovu raných stadií plůdku kaprovitých ryb a sumce.

7.3.34. Přelovování

Principem přelovování jako léčebné metody v chovu ryb je přerušování vývojového cyklu parazitů odstraněním jejich volných vývojových stadií ve vodě. Obdobný efekt má také přejídné držení ryb v silném průtoku vody po dobu 3 dnů. Tyto postupy se osvědčily při léčbě infekce *I. multifiliis* a *Piscioodinium* sp.

7.3.35. Teflubenzuron

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika.

Charakteristika: Insekticid, patří do skupiny derivátů močoviny.

Indikace: Ektoparazitární infekce, při nálezů korýše třídy Copepoda: *L. salmonis* v chovech lososů.

Forma aplikace: Perorálně (medikované krmivo).

Dávkování: Podle tab. 7.3.35.1.

Toxicita: Vysoce toxický pro necílové korýše, pomalá degradace – dlouho přetrvává ve vodním prostředí.

MRL: Stanoven pro lososovité ryby.

OL: 96 d° při použití VLP Ektobann pelety nebo VLP Calicide premix u lososa; min. 500 d° při použití u jiných druhů ryb než losos.

Pozn.: Teflubenzuron je účinnou látkou v některých zemích EU registrovaných VLP pro ryby: Calicide premix (1000 g telubenzuronu na 1 kg premixu), Calicide medikované krmivo (2 g teflubenzuronu v 1 kg krmiva) a Ektobann pelety (2 g teflubenzuronu v 1 kg pelet). Na základě výjimky ÚSKVBL jej lze dovézt a aplikovat potravinovým rybám v našich chovech (viz kapitola 7.1.1).

Tab. 7.3.35.1. Dávkování teflubenzuronu.

Dávka teflubenzuronu	Způsob aplikace	Poznámka
10 mg.kg ⁻¹ ž. hm.	perorálně denně po dobu 7 dní	5 g.kg ⁻¹ ž. hm. VLP Ectobann pelety 2 kg.t ⁻¹ VLP Calicide premix, krmít 0,5% ž. hm. obsádky denně

7.3.36. Toltrazuril (toltrazurilum)

Farmakoterapeutická skupina: Antiparazitika.

Charakteristika: Patří do skupiny triazinů.

Indikace: Infekce mikrosporidii a kokciidii.

Forma aplikace: Léčebná koupel krátko- až dlouhodobá.

Dávkování: Podle tab. 7.3.36.1.

Toxicita: Triaziny obecně jsou pro ryby škodlivé až jedovaté. Vždy provést zkoušku snášenlivosti! **TI:** nízký.

MRL: Stanoven pro jiná potravinová zvířata než ryby (všechny druhy savců určené k produkci potravin, drůbež).

OL: Min OL 500 d^o prodloužit! (OL pro maso skotu a prasat je 77 dnů).

Pozn.: V současné době jsou v ČR registrovány VLP s obsahem toltrazurilu pro drůbež (Baycox 2,5%) a savce, např. pro selata (Baycox 5%). V rámci kaskády volby léčiv může veterinární lékař použít tyto speciality jako léčiva určená pro jiná potravinová zvířata v dávkách uvedených v tab. 7.3.36.1. V tomto případě je třeba předepsanou OL (min. 500 d^o) prodloužit, protože VLP pro savce mají dle výrobce stanovenou OL až 77 dnů (minimální OL dle nařízení Komise (EU) č. 37/2010 (7) je pro maso 28 dní, což odpovídá 500 d^o při teplotě okolo 18 °C).

Tab. 7.3.36.1. Dávkování toltrazurilu.

Dávka toltrazurilu	Způsob aplikace	Poznámka
5–20 mg.l ⁻¹	koupel 1–4 hod obden po dobu 6 dní	2,5% toltrazuril (Baycox 2,5%): 2 ml.l ⁻¹ pro získání roztoku 5 mg.l ⁻¹

7.3.37. Vakcíny (imunoprophylaktické přípravky)

Vakcinace je v chovech ryb využívána v rámci preventivních opatření a je ji možné provádět registrovanými imunoprophylaktickými přípravky. Pokud není registrovaná vakcína dostupná, lze postupovat podle pravidel kaskády „off label“ ve smyslu dovozu léčivého přípravku z jiného státu EU (viz kapitola 7.1.1). V případě mimořádné nálezové situace lze použít veterinární autogenní vakcínu připravenou z patogenů či antigenů z konkrétního chovu ryb, pro který je autogenní vakcína následně použita. Výroba autogenní vakcíny je podmíněna předpisem veterinárního lékaře a oznámením výroby ÚSKVBL a krajské veterinární správě (KVS) v příslušné lokalitě, kde bude vakcína aplikována.

Indikace: Prevence bakteriálních (případně virových) infekcí lososovitých ryb: furunkulózy (*Aeromonas salmonicida*), ERM (*Yersinia ruckeri*), vibriózy (*Vibrio anguillarum*), hemoragicko-septikemickému onemocnění označovanému jako Hitra disease nebo cold water vibriosis (*Vibrio salmonicida*).

OL: Bez ochranných lhůt.

Forma aplikace: Koupel (ponoření do suspenze); perorálně; injekčně (i.p.).

Pozn.: Doba potřebná k nastolení imunity závisí na teplotě vody, u některých vakcín výrobce nedoporučuje vakcinovat pstruhy při teplotě vody pod 5 °C a lososy pod 1 °C. Přehled vakcín v současné době registrovaných v ČR je uveden v tab. 7.3.37.1.

Tab. 7.3.37.1. Vakcíny v současné době registrované v ČR.

Název vakcíny	Prevence infekce	Způsob aplikace	Poznámka
AquaVac ERM oral	<i>Y. ruckeri</i>	perorálně	perorální emulze pro pstruha duhového
AquaVac ERM	<i>Y. ruckeri</i>	koupel	koncentrát k smáčecí suspenzi pro pstruha duhového
AquaVac relera	<i>Y. ruckeri</i>	koupel, injekčně	koncentrát suspenze pro pstruha duhového
AquaVac FNM PLUS.	<i>A. salmonicida</i>	injekčně	injekční emulze pro lososa atlantského

7.3.38. Vápenné mléko (hašené vápno, vápenný hydrát, vápno, hydroxid vápenatý, $\text{Ca}(\text{OH})_2$), angl.: lime milk)

Farmakoterapeutická skupina: Nespadá do kategorie léčivých přípravků.

Charakteristika: Dezinfekční látka, hydroxid vápenatý $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Indikace: Dezinfekce chovného prostředí (břehových partií rybníků, výpustních zařízení, kádišť, přepravních nádob apod.) a rybářského nářadí.

Dávkování: Podle tab. 7.3.38.1.

Toxicita: Používá se mimo rybí obsádku.

Pozn.: Vápenné mléko se připravuje hašením 2 dílů páleného vápna (CaO , viz kapitola 7.3.29) s 1 dílem vody. Při hašení vápna se uvolňuje velké množství tepla, proto vždy sypeme vápno do vody. Vzniklý, bílý roztok se dále ředí vodou na 2% nebo 20% roztok, který se používá k dezinfekci.

Tab. 7.3.38.1. Dávkování vápenného mléka.

Dávka vápenného mléka	Způsob aplikace	Poznámka
20% roztok	ponoření na 15 min	mechanicky očištěné nářadí a přepravní nádoby
2% roztok	10–12 hod	mechanicky očištěné velké přepravní nádoby

LITERATURA

1. Svobodová, Z., Kolářová, J., Navrátil, S., Veselý, S., Chloupek, P., Tesarčík, J., Čítek, J., 2007. Nemoci sladkovodních a akvarijních ryb. Informatorium Praha. 264 s.
2. Kolářová, J., Svobodová, Z., 2009. Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 88, 29 s.
3. Kolářová, J., Nepejchalová, L., 2015. Možnosti léčby parazitóz v chovech ryb v ČR. In: Sborník konference ochrana zdraví ryb, Vodňany 1. – 2. 4. 2015: s. 70–72.
4. Zákon č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech) ve znění pozdějších předpisů.
5. Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon) ve znění pozdějších předpisů.
6. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 470/2009 ze dne 6. května 2009, kterým se stanoví postupy Společenství pro stanovení limitů reziduí farmakologicky účinných látek v potravinách živočišného původu.

7. Nařízení Komise (EU) č. 37/2010 ze dne 22. prosince 2009, o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí v potravinách živočišného původu.
8. Vyhláška č. 344/2008 Sb., o používání, přepisování a výdeji veterinárních léčivých přípravků (VLP) při poskytování veterinární péče
9. Zákon o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon) č.254/2001 Sb.
10. Nařízení vlády č. 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech.
11. Stoskopf, M.K. ,1993. Fish medicine. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 882 p.
12. Noga, E.J., 2010. Fish disease, diagnosis and treatment. Blackwell Publishing, Inc., Iowa, USA, 519 p.
13. Kolářová, J., Zusková, E., Steinbach, Ch., Velíšek, J., 2017. Praktické návody k provádění léčebných postupů u vybraných parazitárních onemocnění ryb. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 166, 53 s.
14. Zákon č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání.
15. Kolářová, J., Velíšek, J., Nepejchalová, L., Svobodová, Z., Kouřil, J., Hamáčková, J., Máchová, J., Piačková, V., Hajšlová, J., Holadová, K., Kocourek, V., Klimánková, E., Modrá, H., Dobšíková, R., Groch, L., Novotný, L., 2012. Anestetika pro ryby (aktualizované vydání metodiky z roku 2007). Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 77, 25 s.
16. Neiffer, D.I., Stamper, M.A., 2009. Fish Sedation, Analgesia and Euthanasia: Consideration, Methods and Types of Drugs. ILAR Journal 50: 343–360.
17. Carlsson, G., Parting, J., Kreuger, J., Norrgren, L., Oskarsson, A., 2013. Toxicity of 15 veterinary pharmaceuticals in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. Aquatic Toxicology 126:30-41.
18. Brown, L., 1993. Aquaculture for Veterinarians, Fish Husbandry and Medicine. Pergamon Press Oxford, New York, Seoul, Tokyo, 447 p.
19. Santamarina, M.T., Tojo, J., Ubeira, F.M., Quinteiro, P., Sanmartin, M.L., 1991. Anthelmintic treatment against *Gyrodactylus* sp. infecting rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Diseases of Aquatic Organisms 10: 39–43.
20. Zusková, E., Máchová, J., Velíšek, J., Gela, D., 2011. Možnosti využití kyseliny peroctové v rybářské praxi. Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 109, 28 s.
21. Schmahl, G., Taraschewski, H., Mehlhorn, H., 1989. Chemotherapy of fish parasites. Parasitology Research 75: 503–511.
22. Scott, P., 1993. Therapy in Aquaculture. In: Brown, L. (Ed.), Aquaculture for Veterinarians. Pergamon Press, New York, pp. 131–152.
23. Führ, F., Pereira, J.Jr., Romano, L.A., Almeida, F., 2012. Gill injury after treatment with mebendazole on mullets *Mugil liza*. Bulletin European Association of Fish Pathologists 32: 151–158.
24. Mitchel, A. J., Hobbs, M. S., 2007. The acute toxicity of praziquantel to grass carp and golden shiners. North American Journal of Aquaculture 71: 203–206.
25. Zusková, E., Piačková, V., Máchová, J., Chupani, L., Steinbach, C., Stará, A., Velíšek, J., 2018. Efficacy and toxicity of praziquantel in helminth-infected barbel (*Barbus barbus* L.). Journal of Fish Diseases 41: 643–649.

REJSTŘÍK PŮVODCŮ

A

Acanthamoeba, 171, 172, 173
Acanthocephalus anguillae, 308
Acanthocephalus lucii, 303, 306, 308, 309
Adenocephalus pacificus, 341
Aeromonas, 98, 102, 337
Aeromonas bestiarum, 102
Aeromonas dhakensis, 102
Aeromonas hydrophila, 98, 102
Aeromonas salmonicida, 98, 99, 101, 102, 445
Aeromonas salmonicida: subsp. *achromogenes*, 98
Aeromonas salmonicida subsp. *masoucida*, 98
Aeromonas salmonicida subsp. *salmonicida*, 98, 99
Aeromonas salmonicida: subsp. *smithia*, 98
Aeromonas sp., 337, 338
Aeromonas veronii, 98
Aeromonas veronii biovar. *sobria*, 102
Achlya sp., 160
Achromobacter ichthyodermis, 124
Aliivibrio salmonicida, 124, 125, 126
Alphavirus, 73
Alternaria, 390
Ambiphrya ameiuri, 140
Ancyrocephalus paradoxus, 249
Ancyrocephalus percae, 249
Anguillicoloides crassus, 288, 290, 291, 293
Anguillid perhabdovirus, EVA, 56
Anisakis, 343, 344
Anisakis simplex, 344, 345
Anodonta anatina, 331
Aphanomyces invadans, 166, 167
Apiosoma piscicola, 139
Aquabirnavirus, 49, 52
Argulus coregoni, 99, 322, 323
Argulus foliaceus, 61, 322, 325
Argulus japonicus, 322, 323
Archigetes sieboldi, 272
Arthrobacter davidanieli, 89
Aspergillus fumigatus, 433
Aspergillus sp., 390
Asymphylogdora tincae, 260, 261
Atractolytcestus huronensis, 276, 277, 278
Azygia lucii, 260

B

Babesiosoma, 158
Barbel circovirus, BaCV, 49

Basanistes huchonis, 315, 325
Batrachovirus, 37
Bothriocephalus acheilognathi, 273
Bothriocephalus gowkongensis, 273
Branchiomyces demigrans, 164
Branchiomyces sanguinis, 164
Bunodera luciopercae, 260, 261

C

Caligus elongatus, 325
Caligus lacustris, 325
Camallanus, 295
Camallanus cotti, 296, 297
Camallanus lacustris, 295, 296, 297
Camallanus truncatus, 295
Capillaria catostomi, 298
Capillaria sp., 298
Capriniana piscium, 140
Carp edema virus, CEV, 25
Carp sprivivirus, SVCV, 56, 61
Caryophyllaeus fimbriceps, 276, 277
Catfish circovirus, CfCV, 49
Cephalotheca surfurea, 206
Claviceps purpurea, 393
Claviceps sp., 390
Clavochlamydia salmonicola, 81
Clonorchis sinensis, 339, 348
Clostridium botulinum, 337
Cochliopodium, 172
Contraecaecum, 343
Crepidostomum farionis, 261
Crepidostomum metoecus, 261
Cryptobia branchialis, 14, 189, 190, 196
Cryptobia iubilans, 94, 189, 190, 191
Cryptobia (Trypanoplasma) salmositica, 189, 192
Cyprinid herpesvirus 1, 39
Cyprinid herpesvirus 3, 41
Cyprinivirus sp., 37, 39, 41
Cyrlia, 158
Cystidicola farionis, 298
Cytophaga psychrophila, 108

D

Dactylogyus anchoratus, 244
Dactylogyus baueri, 244
Dactylogyus ctenopharyngodonis, 246
Dactylogyus extensus, 242, 243, 244, 249, 252
Dactylogyus formosus, 244
Dactylogyus hypohthalmichthys, 246

Dactylogyrus intermedius, 244
Dactylogyrus lamellatus, 246
Dactylogyrus macracanthus, 246
Dactylogyrus minutus, 244
Dactylogyrus olfactorius, 251
Dactylogyrus vastator, 242, 243, 244, 254, 249
Dactylogyrus yinwenyingae, 244
Dactylosoma, 158
Dermocystidium koi, 213
Desseria, 158
Dibothriocephalus dendriticus, 341, 342
Dibothriocephalus latus, 272, 341, 342, 343
Dibothriocephalus nihonkaiensis
Dipartiella sp., 148
Diphyllobothrium, 341
Diphyllobothrium pacificum, 341
Diplostomum, 261, 262, 264, 443
Diplostomum spathaceum, 261, 262, 268
Diplozoon, 239, 253

E

Edwardsiella, 128
Edwardsiella anguillarum, 128, 129
Edwardsiella ictaluri, 118, 128, 129
Edwardsiella piscicida, 128, 129, 130
Edwardsiella tarda, 128, 129, 337, 339
Eel circovirus, EeCV, 49
Eel virus Europe, EVE, 49
Echinochasmus perfoliatus, 341
Echinorhynchus truttae, 308
Echinostoma, 341
Eimeria, 154
Eimeria branchiphila, 155, 156
Endolimax piscium, 176
Enterospora nucleophila, 204
Epieimeria sp., 154, 155
Epistylis lwoffii, 139
Epizootic haematopoietic necrosis virus, 30
Ergasilus briani, 316, 317
Ergasilus sieboldi, 315, 316, 318, 436
Eudiplozoon nipponicum, 235, 237, 245, 246, 252
European catfish virus, ECV, 30
Exophiala piscifila, 206

F

Flavobacterium, 108
Flavobacterium branchiophilum, 108, 113, 114
Flavobacterium columnare, 38, 108, 111, 114
Flavobacterium psychrophilum, 108, 109, 111, 114

Flexibacter columnaris, 111
Flexibacter psychrophilum, 108
Francisella, 94
Fusarium sp., 390, 391

G

Glugea anomala, 198, 199, 200
Glugea hertwigi, 199
Glugea plecoglossi, 199
Glugea stephani, 199
Gnathostoma, 345
Goussia, 154
Goussia carpelli, 154, 155, 156, 157
Goussia cyprinorum, 155
Goussia stankovitchi, 155
Goussia subepithelialis, 154, 155, 156, 157
Grass Carp Rhabdovirus, GCRV, 63
Gyrodactylus anguillae, 242
Gyrodactylus cernuae, 249
Gyrodactylus cyprini, 244, 245
Gyrodactylus derjavinoidea, 247, 248
Gyrodactylus katharineri, 244, 245
Gyrodactylus longiradix, 249
Gyrodactylus lucii, 248, 249
Gyrodactylus luciopercae, 249
Gyrodactylus medius, 244
Gyrodactylus salaris, 247, 248
Gyrodactylus salmonis, 251
Gyrodactylus shulmani, 244
Gyrodactylus sprostonae, 244
Gyrodactylus stankovici, 244
Gyrodactylus tincae, 247
Gyrodactylus truttae, 248

H

Haematractidium, 154, 158
Haemogregarina, 158
Haemogregarina bigemina, 158
Haemogregarina sachai, 158
Haemohormidium, 154, 158
Haplorchis sp., 341
Hemiclepsis marginata, 311
Hemitrichodina, 148
Henneguya, 217
Herpesvirus ictaluri, 37
Heterophyes, 341
Heterosporis anguillarum, 198, 203
Heterosporis cichlidarum, 203
Heterosporis finki, 203

Heterosporis schuberti, 203
Hirame novirhabdovirus, HIRV, 56
Histiosoma, 326, 327
Histiosoma sp., 326, 327
Hoferelus, 217
Hydrozetes lacustris, 326, 327
Hymenolepis nana, 272

Ch

Chilodonella hexasticha, 146
Chilodonella piscicola, 146, 147, 362
Chondrococcus columnaris, 111

I

Ictalurivirus, 37
Ichthyobodo necator, 186, 362
Ichthyophonus hoferi, 209, 210, 211, 213
Ichthyophthirius multifiliis, 14, 141, 436, 438
Ichthyosporidium sp., 197
Isavirus, ISAV, 69

K

Kabatana, 197
Khawia japonensis, 276, 277, 278
Khawia sinensis, 276, 277, 278

L

Lactococcus garvieae, 337, 339
Lamproglena pulchella, 315, 326
Leishmania sp., 186
Lepeophtheirus salmonis, 69, 325, 326, 386, 427, 428, 429, 430, 435, 444
Lernaea cyprinacea, 315, 319, 320
Lernaea esocina, 319
Ligula intestinalis, 279, 280, 281, 295
Listonella anguillarum, 124
Loma salmonae, 198, 200, 201
Lymphocystis disease virus, LCDV, 30
Lymphocystivirus, 30

M

Macrogyrodactylus sp., 251
Malacosporea, 216, 218
Margaritifera margaritifera, 331
Megalocytivirus, 30
Metagonimus, 341
Metagonimus yokogawai, 341
Metorchis bilis, 340
Metorchis conjunctus, 340
Metorchis orientalis, 340
Mycobacterium, 92, 337
Mycobacterium abscessus, 338
Mycobacterium fortuitum, 92, 338

Mycobacterium haemophilum, 338
Mycobacterium chelonae, 92
Mycobacterium interjectum, 338
Mycobacterium marinum, 92, 337
Mycobacterium peregrinum, 338
Mycobacterium piscium, 92
Mycobacterium scrofulaceum, 338
Mycobacterium similiae, 338
Mycobacterium sp., 337
Mycobacterium szulgai, 338
Mycobacterium triplex, 338
Myxidium, 217
Myxobilatus, 217
Myxobolus, 217
Myxobolus basilamellaris, 225
Myxobolus cerebralis, 222
Myxobolus dispar, 225, 226
Myxobolus pavlovskii, 226
Myxobolus sp., 225
Myxobolus squamae, 227, 228
Myxosporea, 216, 222
Myxozoa, 216, 218, 222

N

Naegleria sp., 14, 171, 172, 173
Neoechinorhynchus rutili, 302, 303, 304
Neogryporhynchus cheilancristrotus, 284, 285
Neochlamydia, 81
Neoparamoeba perurans, 14, 171
Nocardia sp., 94
Novirhabdovirus, 56, 58
Nucleospora cyclopteri, 204
Nucleospora salmonis, 198, 204
Nucleospora secunda, 204

O

Opisthorchis felineus, 340
Opisthorchis viverrini, 339, 340
Ovipleistophora ovariae, 198

P

Paracapillaria philippinensis, 345
Paradilepis sp., 285
Paradiplozoon sp., 239
Paratrichodina corlissi, 149
Paratrichodina incissa, 149
Penicillium sp., 206, 390
Perch perhabdovirus, PRV, 56
Philometra cyprinirutili, 295
Philometra obturans, 294, 295

Philometroides cyprini, 288, 289, 294
Philometroides lusiana, 288
Philometroides lussi, 288
Philometroides sanguineus, 295
Phoma herbarum, 14, 206
Photobacterium sp., 94
Pike sprivivirus PFRV, 56, 61, 63
Piscicola geometra, 61, 311, 312
Piscicola terebrans, 311
Piscichlamydia, 81
Piscichlamydia salmonis, 81
Piscine novirhabdovirus, VHSV, 56, 58
Piscinoodinium, 441, 443
Piscinoodinium pillulare, 135, 136
Piscirickettsia salmonis, 80
Pleistophora hypheobryconis, 198, 201, 202, 203
Plesiomonas shigelloides, 337
Pomphorhynchus, 302
Pomphorhynchus laevis, 305, 306, 307
Pomphorhynchus tereticollis, 305
Posthodiplostomum cuticola, 261, 268, 270
Procerovum sp., 341
Protacanthamoeba, 173
Proteocephalus, 283
Proteocephalus longicollis, 279, 283, 284
Protochlamydia, 81
Pseudacalpenteron, 239, 240
Pseudamphistomum truncatum, 341
Pseudocapillaria salvelini, 297
Pseudocapillaria tomentosa, 297
Pseudodactylogyrus anguillae, 242
Pseudodactylogyrus bini, 242
Pseudoloma neurophilia, 198, 203
Pseudomonas fluorescens, 102
Pseudomonas ichthyodermis, 124
Pseudoterranova, 343, 344

R

Ranavirus, 30, 32
Raphidascaris acus, 298, 299, 300
Renibacterium salmoninarum, 17, 87, 89
Rhogostoma, 173

S

Salmincola salmoneus, 326
Salmincola thymalli, 315
Salmonid alphavirus, SAV, 73
Salmonid novirhabdovirus, IHNV, 56
Salmon isavirus ISAV, 69

Salmonivirus, 37
Sanguinicola, 260, 261, 265
Sanguinicola armata, 266
Sanguinicola inermis, 265, 266, 267
Sanguinicola intermedia, 266
Sanguinicola volgensis, 266
Santee-Cooper ranavirus, 30
Saprolegnia parasitica, 160, 436
Sciadicleithrum variabilum, 253
Sea trout perhabdovirus, LTRV, 56
Schyzocotyle acheilognathi, 272, 273, 274, 275, 443
Sinergasilus lienii, 316, 317
Sinergasilus major, 316, 317
Snakehead novirhabdovirus, SHRV, 56
Sphaeromyxa, 217
Sphaerospora, 217
Sphaerospora dykova, 228, 229
Sphaerospora molnari, 225, 226, 228
Sphaerospora renicola, 228
Spironucleus barkhanus, 181
Spironucleus elegans, 181
Spironucleus salmonicida, 181, 182
Spironucleus salmonis, 181, 182
Spironucleus torosa, 181
Spironucleus vortens, 181, 182
Spraguea sp., 197
Sprivivirus, 56, 61, 63
Stellantchasmus, 341
Streptococcus agalactiae, 337, 338
Streptococcus iniae, 337, 338
Synanodonta woodiana, 331

T

Tench rhabdovirus, TRV, 63
Tetracapsuloides bryosalmonae, 218
Tetrahymena pyriformis, 99
Tetramicra sp., 197
Tetraonchus monenteron, 248, 253, 254
Thaparocleidus siluri, 247
Thaparocleidus vistulensis, 247
Thecamoeba hoffmani, 171
Thelohanellus, 217
Thelohanellus nikolskii, 227
Thylacicleidus serendipitus, 251, 252
Tilapia lake virus, TiLV, 69, 70
Tracheliastes maculatus, 326
Triaenophorus, 272, 282
Triaenophorus crassus, 282

Trienophorus nodulosus, 282, 283
Trienophorus stizostedionis, 282
Trichodina acuta, 149
Trichodina fultoni, 149
Trichodina heterodentata, 149
Trichodina jadránica, 149
Trichodina mutabilis, 149
Trichodina nobilis, 149
Trichodina perforata, 149
Trichodina polycirra, 149
Trichodina reticulata, 149
Trichodina urinaria, 149
Trichodinella epizootica, 148, 150
Trichodinella lawleri, 150
Tripartiella copiosa, 149
Trypanoplasma borreli, 192, 193, 412
Trypanoplasma (Cryptobia) salmositica, 192, 193, 194
Trypanosoma carassii, 192
Trypanosoma elegans, 192
Trypanosoma percae, 192
Tylodelphys, 261, 262
Tylodelphys clavata, 261, 262, 264

U

Unio pictorum, 331
Unio tumidus, 331

V

Vahlkampfia sp., 171, 172
Valipora campylancristrota, 284, 285
Vannella, 173
Vauchomia, 148
Vermamoeba, 172, 173
Vibrio, 124, 338
Vibrio anguillarum, 124, 126, 445
Vibrio damsela, 337
Vibrio ordalii, 124, 125
Vibrio piscium, 124
Vibrio vulnificus, 124, 338, 346

W

White sturgeon iridovirus, WSIV, 30

Y

Yersinia ruckeri, 119, 121, 337, 445

REJSTŘÍK DEZINFEKČNÍCH A TERAPEUTICKÝCH LÁTEK A PŘÍPRAVKŮ

viz kapitola 7 str. 415

akriflavin, 424
 Alfadin, 436
 Alpha Max, 428
 amoxicilin, 426
 ampicilin, 426
 AquaVac, 445
 azamethiphos, 427
 Baycox, 444
 Benzokain, 425
 Betadine, 436
 Betamax, 428
 Biocare SPC, 442
 Bronopol, 427
 Calicide, 444
 clove oil, 425
 cypermethrin, 428
 deltamethrin, 428
 diflubenzuron, 429
 dimetridazol, 429
 Ektobann, 444
 emamektin, 430
 enrofloxacin, 426
 Entizol, 440
 erythromycin, 426
 eugenol, 425
 Excis, 428
 Fenbendazol, 430, 431
 Flimabend, 431
 florfenikol, 426
 flubendazol, 431
 flumechin, 426
 Flumixan, 431
 FMC, 431, 432, 440
 formaldehyd, 431, 432, 433
 fumagillin, 433
 hašené vápno, 445
 hypermangan, 439
 hřebíčkový olej, 425
 Chemisole, 437
 chloramin T, 433, 434
 chlorid sodný, 434
 vložit chlornan vápenatý, 435

chlorové vápno, 435
 isoeugenol, 425
 ivermektin, 435, 436
 Jodisol, 436
 Jodouter, 436
 jodové preparáty, 420, 436
 kuchyňská sůl, 420, 434
 kyselina oxolinová, 426
 kyselina peroctová, 420, 436
 levamisol, 437, 438
 Levamisole hydrochlorine, 437
 malachitová zeleň, 438
 manganistan draselný, 439
 mebendazol, 419, 439, 440
 methylenová modř, 440
 metronidazol, 440, 441
 Metrozol, 440
 modrá skalice, 441
 MS 222, 424, 425
 neomycin, 426
 oxid vápenatý, 441
 oxytetracyklin, 426
 Panacur, 431
 pálené vápno, 441
 peroxid vodíku, 420, 442
 Persteril, 436, 437, 442,
 phenoxyethanol, 425
 piperazin, 442
 prazikvantel, 443
 Pyceze, 427
 Rafendazol, 439
 Releeze, 429
 Salmosan, 427
 sarafloxacin, 426
 SLICE premix, 430
 sulfadimidin, 426
 teflubenzuron, 444
 toltrazuril, 444
 tricain methanosulfonát, 425
 trimethoprim, 426
 tricain methanosulfonát, 425
 vápenné mléko, 445

SEZNAM LATINSKÝCH A ČESKÝCH NÁZVŮ RYB VYSKYTUJÍCÍCH SE V KNIZE

<i>Abramis brama</i>	cejn velký
<i>Acheilognathus rhombeus</i>	hořavka kosočtverečná
<i>Acipenser baerii</i>	jeseter sibiřský
<i>Acipenser transmontanus</i>	jeseter bílý
<i>Alburnus alburnus</i>	ouklej obecná
<i>Ameiurus melas</i>	sumeček černý
<i>Ameiurus nebulosus</i>	sumeček americký
<i>Ancistrus cirrhosus</i>	krunýřovec skvrnitý
<i>Anguilla anguilla</i>	úhoř říční
<i>Anguilla japonica</i>	úhoř japonský
<i>Anguilla marmorata</i>	úhoř mramorovaný
<i>Anguilla rostrata</i>	úhoř americký
<i>Apistogramma ramirezi</i>	cichlidka Ramirezova
<i>Aristichthys nobilis</i>	tolstolobec pestrý
<i>Astronotus sp.</i>	vrubozubec
<i>Balantiocheilos melanopterus</i>	parmička žraločí
<i>Barbatula barbatula</i>	mřenka mramorovaná
<i>Barbus barbus</i>	parma obecná
Belontiidae	labyrintkovití
<i>Betta splendens</i>	bojovnice pestrá
<i>Bidyanus bidyanus</i>	
<i>Blicca bjoerkna</i>	cejnek malý
<i>Carassius auratus</i>	karas zlatý
<i>Carassius auratus auratus</i>	závojnátka čínská
<i>Carassius auratus gibelio</i>	karas stříbřitý
<i>Carassius carassius</i>	karas obecný
<i>Clarias batrachus</i>	keříčkovec žabí
<i>Clarias gariepinus</i>	sumeček africký
<i>Clupea harengus</i>	sleď obecný (atlantický)
<i>Clupea pallasii</i>	sleď pacifický
<i>Colisa lalia</i>	čichavec zakrslý
<i>Coregonus lavaretus maraena</i>	síh severní maréna
<i>Cottus gobio</i>	vranka obecná
<i>Ctenopharyngodon idella</i>	amur bílý
<i>Cyclopterus lumpus</i>	hranáč šedý
<i>Cyprinus carpio</i>	kapr obecný
<i>Cyprinus carpio haematopterus</i>	amurský sazan
<i>Cyprinus rubrofuscus</i>	amurský sazan (starší název)

<i>Danio rerio</i>	dánio pruhované
<i>Dichotomyctere nigroviridis</i>	čtverzubec zelený
<i>Erpetoichthys calabaricus</i>	bichir kalabarský
<i>Esox lucius</i>	štika obecná
<i>Etroplus suratensis</i>	skvrnivec proužkovaný
<i>Gadus aeglefinus</i>	treska skvrnitá
<i>Gadus macrocephalus</i>	treska velkohlavá
<i>Gadus morhua</i>	treska obecná
<i>Galaxias olidus</i>	galaxie australská
<i>Gambusia affinis</i>	gambusie komáří
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	koljuška tříostná
<i>Gobio gobio</i>	hrouzek obecný
<i>Gymnocephalus cernua</i>	ježdík obecný
<i>Hemibarbus barbus</i>	
<i>Hucho hucho</i>	hlavátka obecná
<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	tolstolobik bílý
<i>Hypophthalmichthys nobilis</i>	tolstolobec pestrý
<i>Ictalurus furcatus</i>	sumeček velký
<i>Ictalurus punctatus</i>	sumeček tečkovaný (skvrnitý)
<i>Labroides dimidiatus</i>	pyskoun rozpůlený
<i>Lateolabrax japonicus</i>	(japonský mořčák)
<i>Lepomis macrochirus</i>	slunečnice velkoploutvá
<i>Leuciscus idus</i>	jelec jesen (gold – jesen zlatý)
<i>Leuciscus leuciscus</i>	jelec proudník
<i>Lota lota</i>	mník jednovousý
<i>Macquaria ambigua ambigua</i>	(okoun zlatý)
<i>Macquaria australasica</i>	
<i>Melanotaenia maccullochi</i>	duhovka australská
<i>Misgurnus fossilis</i>	piskoř pruhovaný
<i>Monodactylus argenteus</i>	okatec stříbřitý
<i>Nothobranchius rubripinnis</i>	halančík pestroploutvý
<i>Oncorhynchus keta</i>	losos keta
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	losos kisuč
<i>Oncorhynchus masou</i>	losos masu
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	pstruh duhový
<i>Oncorhynchus nerka</i>	losos nerka
<i>Oncorhynchus rhodurus</i>	losos pacifický rodurus
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	losos čavyča (královský)
<i>Onos mustelus</i>	treska hlubinná

REJSTŘÍKY

<i>Oreochromis niloticus</i>	tilápie nilská (tlamoun nilský)
<i>Paralichthys olivaceus</i>	(japonský halibut)
<i>Perca flavescens</i>	okoun žlutý
<i>Perca fluviatilis</i>	okoun říční
<i>Phenacogrammus interruptus</i>	tetra konžská
<i>Phoxinus phoxinus</i>	střevle potoční
<i>Pimephales promelas</i>	jeleček velkohlavý
<i>Plecoglossus altivelis</i>	aju východní
<i>Poecilia reticulata</i>	živorodka duhová
<i>Pseudambassis ranga</i>	okouníček sklovitý
<i>Pseudocrenilabrus multicolor</i>	tlamovec pestrobarevný
<i>Pseudorasbora parva</i>	střevlička východní
<i>Pterophyllum scalare</i>	skalára amazonská
<i>Pungitius pungitius</i>	koljuška devítiostrná
<i>Puntius tetrazona</i>	parmička čtyřpruhá
<i>Rhodeus amarus</i>	hořavka duhová
<i>Rutilus rutilus</i>	plotice obecná
<i>Salmo salar</i>	losos obecný (atlantský)
<i>Salmo trutta</i>	pstruh obecný
<i>Salmo trutta caspius</i>	pstruh kaspický
<i>Salmo trutta fario</i>	pstruh potoční
<i>Salvelinus alpinus</i>	siven severní (arktický)
<i>Salvelinus fontinalis</i>	siven americký
<i>Sander lucioperca</i>	candát obecný
<i>Scatophagus argus</i>	
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	perlín ostrobřichý
<i>Scophthalmus maximus</i>	pakambala velká
<i>Silurus glanis</i>	sumec velký
<i>Solea senegalensis</i>	jazyk senegalský
<i>Sparus aurata</i>	mořan zlatý (pražma královská, mořský cejn)
<i>Sprattus sprattus</i>	šprot obecný
<i>Squalius cephalus</i>	jelec tloušť
<i>Symphysodon</i> sp.	terčovec
<i>Thymallus arcticus</i>	lipan severní (arktický)
<i>Thymallus thymallus</i>	lipan podhorní
<i>Tilapia</i> sp.	tilápie
<i>Tinca tinca</i>	lín obecný
<i>Trichopodus trichopterus</i>	čichavec modrý (šedý)
<i>Xiphophorus</i> sp.	mečovka

ABSTRAKT**Nemoci a chorobné stavy ryb**

Zdravotní problematika ryb, podobně jako jiných zvířat, je dynamický proces, který se neustále vyvíjí: objevují se nová onemocnění, vyvíjí se diagnostické metody, terapeutická i preventivní opatření, upřesňují se informace o původcích nemocí. Tato kniha je určena především jako výukový materiál určený zejména pro vysokoškolské studenty a posluchače veterinárních a rybářských oborů. Jako zdroj informací ji lze využít i pro studenty středních odborných škol se zaměřením na rybářství a pro odbornou veřejnost věnující se chovu ryb. Kniha, napsaná šestnácti autory z šesti institucí, představuje ucelený přehled a komplexní charakteristiku nemocí a chorobných stavů u ryb vyskytujících se v našich chovech, ve volných vodách a v zájmových chovech sladkovodní akvaristiky včetně diagnostických postupů, preventivních a terapeutických možností. Vlastní problematika nemocí a chorobných stavů ryb je rozdělena do šesti kapitol: Virová onemocnění; Bakteriální onemocnění; Onemocnění působená eukaryotickými organismy; Zoonózy; Nákazy ryb povinné hlášením; Chorobné stavy neinfekčního původu. Dávkování preventivních, dezinfekčních a terapeutických léčiv je uvedeno v samostatné kapitole 7. Jsou zde uvedena onemocnění a chorobné stavy ryb vyskytující se zejména v klimatických podmínkách střední Evropy. Navíc jsou zmíněna i některá onemocnění, která nebyla dosud v našich podmínkách diagnostikována nebo neohrožují závažným způsobem zdravotní stav ryb, ale vzhledem k rozrůstajícímu se obchodu a ke zvyšujícím se exportům a importům ryb je nutno počítat s jejich možným zavlčením a patogenním uplatněním i v našich podmínkách. Vlastní zdravotní problematice předchází kapitoly Úvod a Zásady odběru vzorků ryb. Posledně zmíněná kapitola stručně popisuje obecné zásady odběru vzorků, kterými je potřeba se řídit, aby mohla být správně stanovena příčina zdravotních problémů ryb. Odborný text je doplněn rozsáhlou fotodokumentací.

ABSTRACT

Fish diseases and pathological conditions

As in other animals, the topic of fish health is a dynamic process that keeps on evolving: new diseases are being discovered, diagnostic methods as well as therapeutic and preventive measures are being developed, and data on disease causative agents are being specified. This book is intended mainly as a teaching material especially for university students and undergraduates of veterinary and fishery subjects. It may be used as a source of information for students of secondary technical schools specialized in fishery, and for relevant specialists in fish breeding. Written by sixteen authors from six institutions, the book provides a comprehensive review and complex characteristics of diseases and pathological states in fish occurring on our fish farms, in open waters and in pet fresh water fish keeping including the diagnostic procedures, prevention and therapeutic possibilities. The issue of diseases and pathological states in fish is divided into six chapters: Viral Diseases, Bacterial Diseases, Diseases Caused by Eukaryotic Organisms, Zoonoses, Mandatory Reporting of Fish Infections, and Pathological States of Non-infectious Origin. The dosage of preventive, antiseptic and therapeutic medications is presented in a separate chapter at the end of the book. The book reports on fish diseases and pathologies occurring mainly in the Central European climate. Furthermore, it mentions several diseases that have not been diagnosed in our conditions so far or that do not pose a serious threat to the health condition of fish, but which nevertheless need to be considered in terms of being introduced and pathogenically established in our conditions due to the developing trade and increasing fish exports and imports. The issue of health itself is preceded by the chapter Introduction and Principles of Fish Sampling. This chapter briefly describes the general sampling principles which need to be followed in order to correctly determine the cause of health problems in fish. The text is supplemented with extensive photographic documentation.

