



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

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

Nové postupy léčby parazitóz vyvolaných motolicemi a tasemnicemi u ryb v ČR

E. Zusková, A. Stará, J. Velíšek





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

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

Nové postupy léčby parazitóz vyvolaných motolicemi a tasemnicemi u ryb v ČR

E. Zusková, A. Stará, J. Velíšek

Vodňany, 2024

Vydání publikace bylo uskutečněno za finanční podpory projektů:

Rozšíření spektra léčivých přípravků v akvakultuře v ČR a sledování výskytu jejich reziduí v mase ryb (MZe ČR QK21010113)

Obsahová část publikace byla zpracována za finanční podpory následujících projektů:

Rozšíření spektra léčivých přípravků v akvakultuře v ČR a sledování výskytu jejich reziduí v mase ryb (MZe ČR QK21010113) – 85 %

Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech PROFISH (MZe ČR CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000869) – 10 %

Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz CENAKVA (LM2023038) – 5 %



č. 206

ISBN 978-80-7514-208-5

1. Cíl metodiky	7
2. Vlastní popis metodiky	7
2.1. Úvod	7
2.2. Parazitární infekce	7
2.2.1. Motolice oční	7
2.2.2. Tasemnice ryb	11
2.3. Možnosti léčby – praziquantel (PZQ)	14
2.3.1. Obecné principy aplikace léčiv u ryb	14
2.3.2. Praziquantel (PZQ)	16
2.3.3. Formy aplikace PZQ a dávkování	17
2.3.4. Farmakokinetika a tkáňová rezidua	24
2.3.5. Toxicita	28
2.3.6. Možné vlivy na životní prostředí	30
3. Srovnání „novosti postupů“	31
4. Popis uplatnění certifikované metodiky	31
5. Ekonomické aspekty	31
6. Seznam použité související literatury	32
7. Seznam publikací, které předcházely metodice	33

1. Cíl metodiky

Cílem této metodiky je předložit stručný návod použití účinného anthelmintika v boji s motolicí oční (*Diplostomum pseudospathaceum*) a střevními tasemnicemi v rybářské praxi včetně výčtu ověřeného spektra účinnosti a možností aplikace u jednotlivých vývojových kategorií (plůdek, násada, dospělec) a druhů ryb (kapr obecný (*Cyprinus carpio*)), amur bílý (*Ctenopharyngodon idella*), parma obecná (*Barbus barbus*).

2. Vlastní popis metodiky

Metodika popisuje preventivní a terapeutické možnosti eliminace motolic a tasemnic v rybářské praxi a shrnuje základní principy, které je nutno dodržovat při provádění léčebných zásahů.

2.1. Úvod

Odchov ryb často stěžuje výskyt specifických parazitárních onemocnění vázaných na přítomnost mezihostitelských organismů v prostředí. V ČR jsou při běžném parazitárním vyšetření ryb často nacházeny motolice oční a ve střevech různé druhy tasemnic. Tato pozorování se týkají zejména kaprovitých ryb. Zmínění parazité mohou v závislosti na intenzitě významně ovlivňovat růst a vývoj ryb, a tím negativně ovlivňovat jejich odchovný cyklus. Možnosti prevence a léčby těchto onemocnění jsou pak klíčovým prvkem úspěšného odchovu ryb.

2.2. Parazitární infekce

2.2.1. Motolice oční

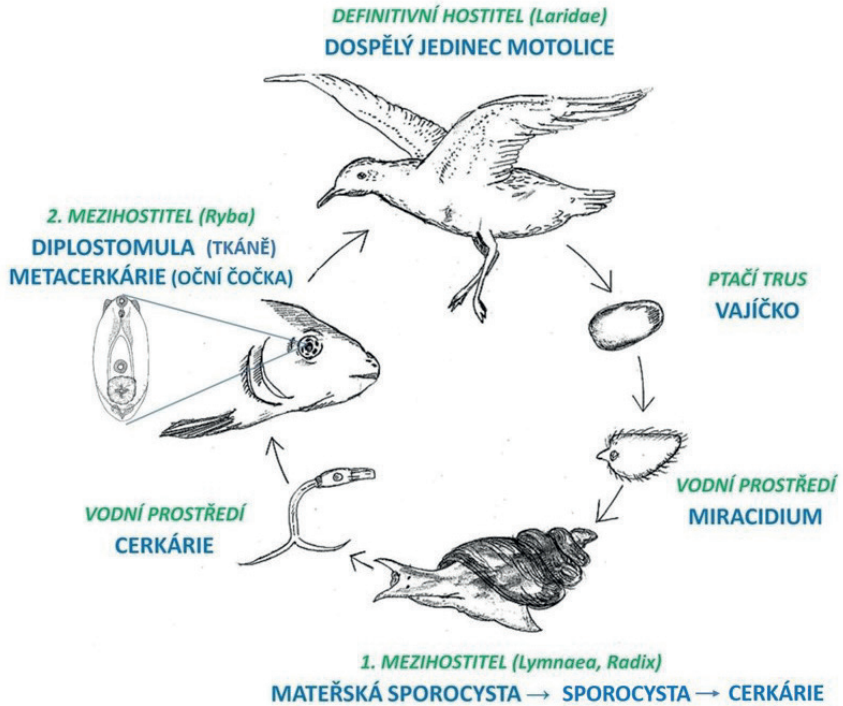
Motolice (Trematoda) jsou početnou skupinou parazitických helmintů (Platyhelminthes: Neodermata) čítající dnes přes 20 tisíc druhů, z nichž velká část cizopasí u sladkovodních a mořských ryb (Gibson a kol., 2005). Původcem tzv. motolice rybníků je motolice oční (*Diplostomum pseudospathaceum*), která má nepřímý vývojový cyklus, což znamená, že k dokončení vývojového cyklu potřebuje mezihostitele, kterým jsou někteří vodní plži (obr. 1).

Ve střevě definitivního hostitele, kterým je rybožravý pták (u rodu *Diplostomum* nejčastěji racek, 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 jeden až dva dny. Larvy nepřijímají potravu, ale aktivně se pohybují a vyhledávají první meziphostitele – vodní plže – plovatky (*Lymnaea* sp.) nebo uchatky (*Radix* sp.). V hepatopankreatu plže se následně vytváří z miracidia mateřská sporocysta produkující dceřiné sporocysty, které vedou k produkci velkého množství cercárií. Cercárie mající na konci svého těla rozvětvený ocásek (tzv. furkocercárie) aktivně opouštějí tělo plže a vyhledávají druhého meziphostitele, kterým je sladkovodní ryba. Cercárie pronikají do těla ryby a po odvržení ocásku jsou zanášeny krví do oka. Zde metamorfují v metacercárii typu diplostomulum. V oční čočce (či ve sklivci u rodu *Tylodelta*) dochází k postupnému růstu metacercárií. Při vysoké intenzitě nákazy dochází ke změně chování napadených ryb (pohyb u hladiny) a ke změně jejich zbarvení (ryby jsou tmavší, jelikož regulují své zbarvení na podkladě očního vjemu). Nemocné ryby se tak mohou stát přednostní kořistí potenciálních definitivních hostitelů – racků a potápek. Tento fenomén, kdy parazit mění chování svého hostitele, aby zvýšil pravděpodobnost jeho přenosu do dalšího hostitele, se anglicky nazývá *Parasite-Increased Trophic Transmission* (zvýšený přenos parazita trofí) (Palíková a kol., 2019).

2.2.1.1. Vliv infekce na ryby

Vývojová stadia (furkocercárie) uvolňující se z vodních plžů pronikají do ryb přes kůži nebo žábry. V místech průniku rybu poškozují a zanechávají léze, které jsou možným místem uplatnění sekundárních infekcí (obvykle bakteriálních nebo mykotických). Jeden infikovaný plž může uvolňovat desítky až tisíce cercárií denně, a to po dobu několika týdnů. Cercárie se hromadně uvolňují při vyšších teplotách vody a při mnohočetné invazi způsobují u větších ryb tzv. cercariovou dermatitidu, obzvláště patrnou u nešupinatých forem. U mladších věkových kategorií ryb (plůdek) může masivní invaze způsobit i smrt. Metacercárie v oku svým pohybem způsobují dystrofické změny vedoucí k šedému zákalu, slepotě až vypadnutí čočky.



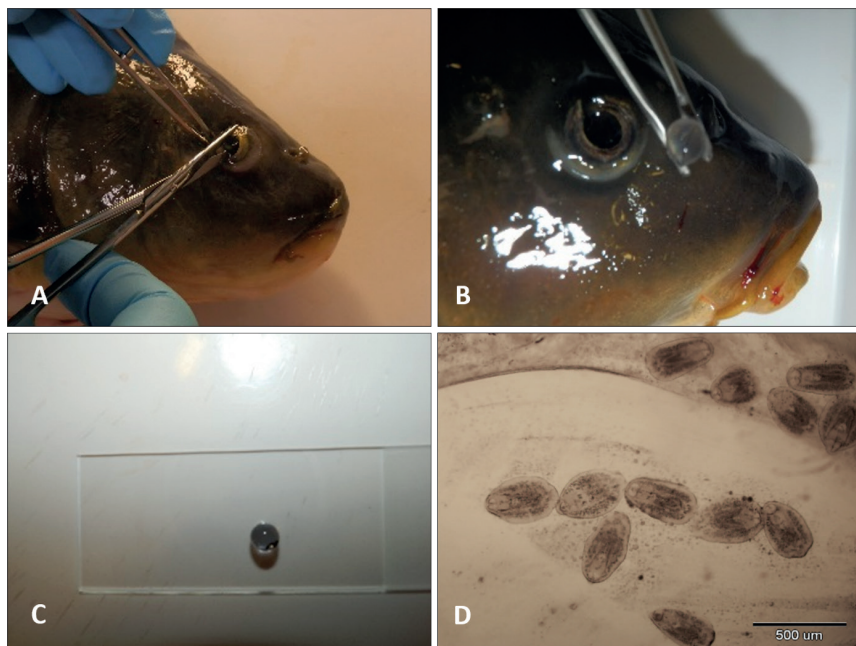
Obr. 1. Vývojový cyklus motolice oční (*Diplostomum pseudospathaceum*). Zelený text – stanoviště, modrý text – vývojové stadium motolice (Palíková a kol., 2019).

2.2.1.2. Diagnóza

Provádí se vyšetřením oční čočky a nálezem metacercárií (obr. 2). Někteří autoři upřednostňují vyšetření sledovaných ryb bodovým prosvícením oka v tmavém prostředí. K sedaci (zklidnění) ryb (kapr, pstruh duhový) lze využít přípravek MS 222 v dávce 20 mg.l⁻¹. Během 1–15 minut dojde ke ztrátě základních reflexů. Návrat do původního stavu po přelovení ryb do čisté vody může trvat 1–30 min. Takové vyšetření sice informuje o nákaze jako takové, ale nedává jasný přehled o její intenzitě. Nízké intenzity nákazy navíc mohou zůstat nezaznamenány. Výhodou je nicméně skutečnost, že takové vyšetření není pro ryby letální. Toto vyšetření je upřednostňováno u ekonomicky hodnotnějších ryb (okrasné, generační).

Přesnější vyšetření naopak začíná usmrcením ryby. Oko se vyšetří adspekci (pohledem) a následně je z oka vyjmuta oční čočka se sklívcem, jež se umístí

mezi dvě podložní sklíčka a postupným zvyšováním tlaku na sklíčko se připraví tzv. kompresní preparát. Ten je následně prohlédnut pod mikroskopem nebo binokulární lupou. Vyšetřují se vždy obě oči a zaznamenává se počet metacerkárií v každém z nich (obr. 2).



Obr. 2. Vyšetření oční čočky – kompresní preparát. Usmrcené rybě nastříháme rohovku a tlakem pinzety z obou stran střihu pomalu vytlačíme kulatou kolagenní čočku (A, B). Tu dáme na podložní sklíčko (C) a dalším podložním sklíčkem čočku komprimujeme (ideálně palcem), dokud se nerozmáčkne. Preparát mikroskopujeme pod 40x zvětšením a sledujeme počet metacerkárií (D) (Foto E. Zusková).

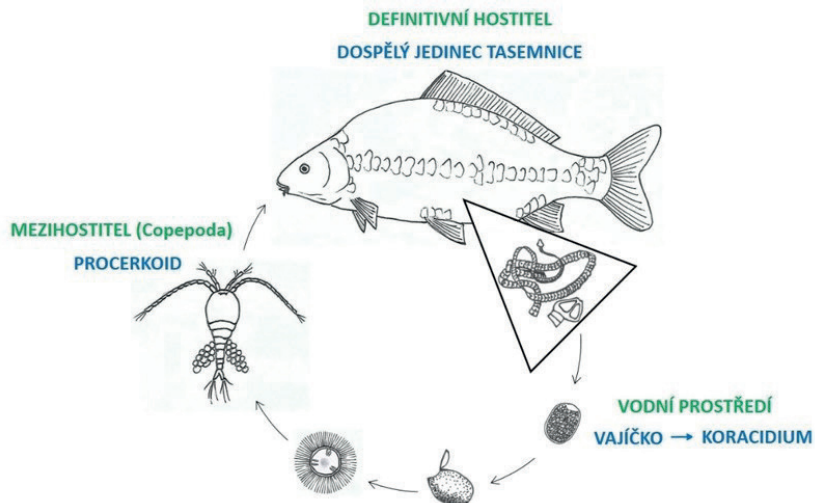
2.2.1.3. Prevence

Obecně prevence spočívá v pravidelných kontrolách zdravotního stavu jedinců. V případě většího množství motolic je žádoucí přerušit vývojový cyklus parazita. Nálety rybožravých ptáků, jako definitivních hostitelů, kteří svým trusem s vajíčky motolic infikují prostředí, je možné tlumit umístěním ochranných sítí nad hladinu. Není tím však zcela vyloučena možnost přenosu vajíček parazita trusem či zprostředkovaně skrze přítokovou vodu.

K eliminaci plžů lze využít mechanické, fyzikální či biologické metody, a to nejlépe jejich kombinací. **Mechanická metoda** spočívá v pravidelném odstraňování plovatek z rybochovných rybníků, nádrží a objektů a zabránění jejich opětovnému návratu. Toto lze provést umístěním uhelonu s velikostí ok 2 mm na přítok. Tato síta jsou na přítoku rybníků umístěna po celou dobu odchovu ryb a je nutné je pravidelně kontrolovat a čistit, neboť i plovatky zachycené na sítích jsou schopné 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 rybího meziphostitele. Žádné z těchto řešení však není schopno průchod cercárií zcela eliminovat. **Fyzikální metoda** spočívá v důkladném vysušení a vymrznutí dna rybníků a nádrží v zimním období, popř. během letnění. **Biologická metoda** spočívá ve vysazení moluskofágních druhů ryb – v našich podmínkách lze použít násadu kapra K_2 nebo lína L_3 o hmotnosti nad 500 g při hustotě obsádky 500–600 ks.ha⁻¹, který je schopen likvidovat nedospělé plovatky (Palíková a kol., 2019).

2.2.2. Tasemnice ryb

Tasemnice jsou jednou z hlavních skupin parazitických plochých červů (Platyhelminthes: Neodermata). U ryb jako definitivních hostitelů parazituje téměř 500 druhů tasemnic. Dospělé tasemnice jsou endoparazity zažívacího traktu, převážně tenkého střeva, zatímco larvální stadia se u ryb mohou vyskytovat v různých orgánech a tělních dutinách (Scholz a kol., 2021). Vývojový cyklus nejčastějších tasemnic kaprovitých ryb je nepřímý, s účastí alespoň jednoho meziphostitele (obr. 3). Mezi často se vyskytující tasemnice se řadí asijské druhy *Khawii sinensis* a *K. japonensis* působící tzv. kaviózu kaprů, a dále *Atractolytocestus huronensis*. Zmiňované tasemnice mají stejného meziphostitele, kterým je nitěnka obecná (*Tubifex tubifex*). Z toho důvodu se ve střevě kaprovitých ryb často vyskytují společně. V omezeném množství se u kaprů objevuje i *Schyzocotyle acheilognathi*, jejíž výskyt bývá spjat s rozsáhlejším poškozením hostitele. Meziphostitelem *Schyzocotyle acheilognathi* jsou buchanky (Cyclopoida) (obr. 3).



Obr. 3. Vývojový cyklus tasemnice *Schyzocotyle acheilognathi*. Zelený text – stanoviště, modrý text – vývojové stadium tasemnice (Kresba E. Zusková a M. Palíková).

2.2.2.1. Vliv infekce na ryby

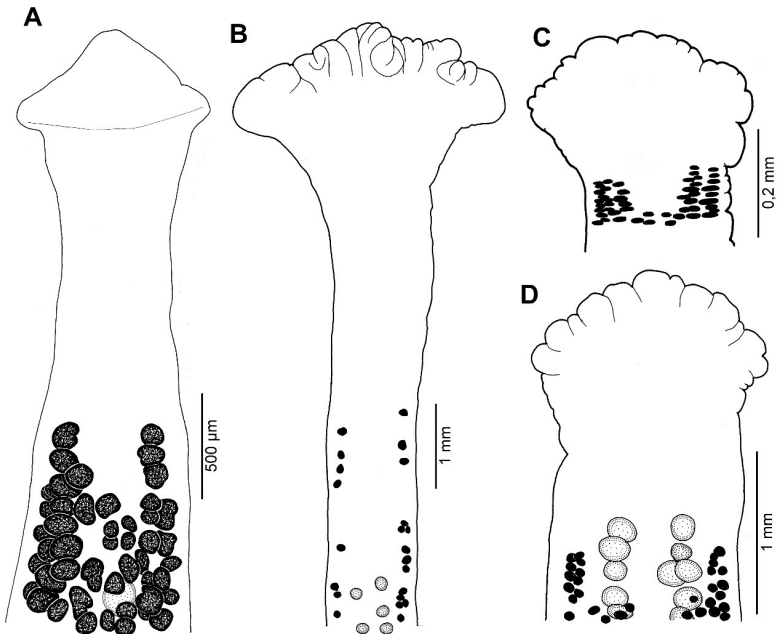
Projevy onemocnění se mohou u konkrétních rybích jedinců značně lišit. Klinické a patologické příznaky nemusí být zjevné s výjimkou silně infikovaných ryb. Přichycení tasemnic ve střevě způsobuje změny střevní výstelky zasahující do rozdílné hloubky dle morfologie hlavičky tasemnice. Obecně velké napadení tasemnicemi způsobuje až zneprůchodnění střeva. Postižení tasemnicí je spojeno s výskytem rozdílně závažných patologických změn vedoucích k nechutenství, vyhublosti, anémii, sníženému růstu, zhoršené kondici a sníženému přežití. Asijská rybí tasemnice *Schyzocotyle acheilognathi* způsobující bothriocefalózu (syn. schyzocotylózu) je spojována se snížením tělesné hmotnosti a úmrtností až 100 % obsádky v násadových rybnících. Masová mortalita spojená s infekcí ryb tasemnicemi je však vzácná, ale mortalita kapřího plůdku infikovaného *K. sinensis* byla evidována, zejména z důvodu úplné obstrukce střevního traktu (Scholz a kol., 2021).

2.2.2.2. Diagnóza

Začíná se usmrcením ryby. Poté se vyjme zažívací trakt, který se celý podélně rozstříhne, a sleduje se přítomnost tasemnic (obr. 4). Druhové určení se provádí na podkladě morfologie scolexu (hlavičky) tasemnice sledované binolupou (obr. 5), její délky a popřípadě článkování těla.



Obr. 4. Rozstříhnutí vyjmutého zažívacího traktu s výskytem tasemnic *Khawia sinensis* (Foto E. Zusková).



Obr. 5. Schématický náčrt skolexů tasemnic řádu Caryophyllidea. *Atractolytocestus huronensis* (A); *Khawia sinensis* (B); *Khawia japonensis* (C); *Caryophyllaeus fimbriceps* (D). (Kresba T. Scholz).

2.2.2.3. Prevence

Obecně prevence spočívá v pravidelných kontrolách zdravotního stavu jedinců. V případě většího množství tasemnic je žádoucí přerušit vývojový cyklus parazita. Mezihostitelem tasemnic jsou planktonní koryši a máloštětinatci (Oligochaeta, např. nitěnky), kteří jsou přítomni prakticky všude v dostatečném množství, což parazitovi umožňuje úspěšné dokončení životního cyklu i v geograficky vzdálených oblastech. Tito bezobratlí včetně nakažených jedinců jsou schopni přežívat i na dně vypuštěných a vápněných rybníků přes zimní období a mohou se tedy stát zdrojem nákazy v další vegetační sezoně po napuštění rybníků. Odbahněním rybníků, vysoušením dna a následnou dezinfekcí pálením nebo chlorovým vápnem lze nicméně výskyt mezihostitelů a vajíček v prostředí významně omezit. Navíc některé drobné druhy ryb patrně slouží jako rezervoár tasemnic a umožňují jejich dlouhodobé přežívání. Je tedy prakticky nemožné zcela eradikovat tasemnice z oblastí, kam již byly zavlečeny. Zásadní je proto preventivní vyšetření, případně přeléčení ryb určených k převozu do nových oblastí.

2.3. Možnosti léčby – praziquantel (PZQ)

2.3.1. Obecné principy aplikace léčiv u ryb

Dle zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči, ve znění pozdějších předpisů, je každý chovatel povinen sledovat zdravotní stav chovaných zvířat a v odůvodněných případech jim včas poskytnout odbornou veterinární pomoc. To se týká i chovatelů ryb, kteří dle zákona mohou rybám podávat léčivé přípravky, jejichž výdej je vázán na předpis veterinárního lékaře, popřípadě léčiva jen se souhlasem veterinárního lékaře a podle jeho pokynů.

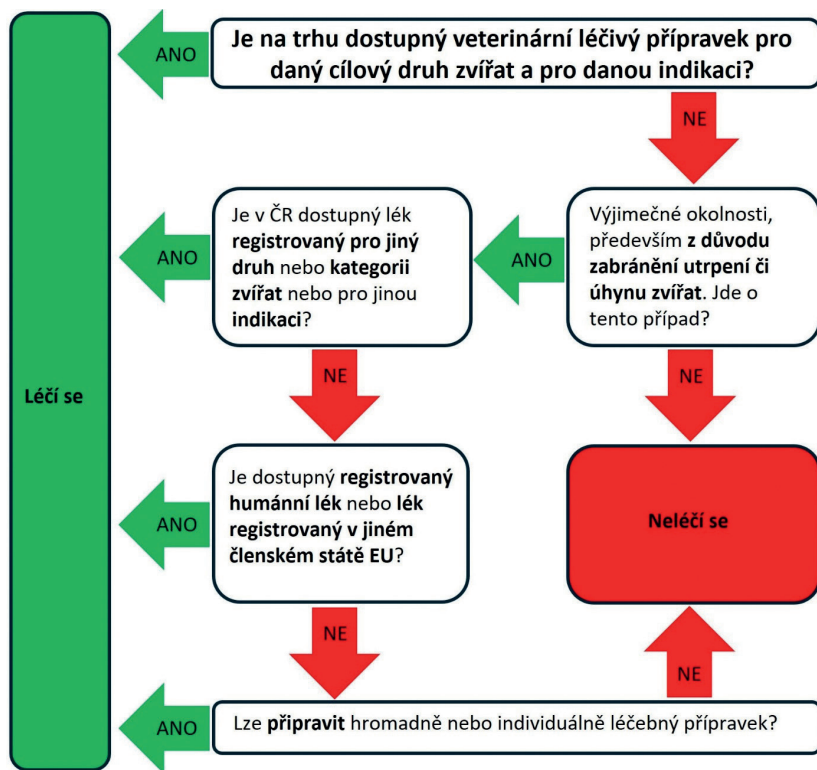
U potravinových zvířat nelze aplikovat léčivo, u kterého nebyl stanoven maximální reziduální limit (MRL). MRL je maximální množství účinné látky, které lze v požitelné tkáni (u ryb jde hlavně o svalovinu, resp. podle nařízení Komise (EU) č. 37/2010 „svalovinu a kůži v přirozeném poměru“) akceptovat u cílového druhu zvířat, pro který je daná farmakologicky účinná látka určena. Na základě MRL je stanovena ochranná lhůta (OL), po kterou nelze potravinová zvířata (v našem případě ryby) využít k lidskému konzumu. Dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/6 ze dne 11. prosince 2018, o veterinárních léčivých přípravcích, a o zrušení směrnice 2001/82/ES se ochranné lhůty pro vodní druhy zvířat, která produkují maso určené k lidské spotřebě, stanovují následovně:

NOVÉ POSTUPY LÉČBY PARAZITÓZ VYVOLANÝCH MOTOLICEMI A TASEMNICEMI U RYB V ČR

- 1) Pokud léčivý přípravek není registrován pro druhy zvířat určené k produkci potravin, použije se ochranná lhůta minimálně 500 denních stupňů (stupňodnů) pro maso ryb, kdy jeden denní stupeň je představován průměrnou teplotou vody 1 °C po dobu 1 dne (24 h) – např. 50 denních stupňů = 5 dní při průměrné teplotě vody 10 °C.
- 2) Pokud je léčivý přípravek registrován pro suchozemské druhy zvířat určené k produkci potravin, pak nejdelší ochranná lhůta pro jakékoli druhy zvířat určené k produkci potravin uvedenou v souhrnu údajů o přípravku je nutné vynásobit koeficientem 50 a vyjádřit ve stupňodnech, nejvýše však 500 stupňodnů.
- 3) Pokud je nejdelší ochranná lhůta pro jakýkoli živočišný druh určena jako nulová, pak je ochranná lhůta stanovena minimálně na 25 stupňodnů.
- 4) Pokud je ochranná lhůta uvedená pro jakýkoli z druhů vodních živočichů uvedených v souhrnu údajů o přípravku, ale nikoliv pro námi ošetřovaný druh ryby určený k lidské spotřebě, pak se použije nejdelší uvedená ochranná lhůta, která se vynásobí koeficientem 1,5 a vyjádří jako stupňodny.

Důležitou informací pro rozhodování o ochranné lhůtě mohou být farmakokinetické vlastnosti léčivé látky obsažené v léčivu, cesta podání, množství podané na jedno místo atd.

U potravinových ryb je možné aplikovat pouze léčiva registrovaná Ústavem pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL) se sídlem v Brně. Jelikož jsou ryby minoritní chovnou skupinou zvířat, je množství registrovaných léčiv pro použití u ryb minimální a zahrnuje preparáty s obsahem antibiotik (oxytetracyklinu a flumechinu) a jeden hormonální preparát (gonazon). Další postup léčby se tak řídí dle tzv. předpisové kaskády (obr. 6), kterou má možnost za výjimečných podmínek veterinární lékař využít. Výjimečnými podmínkami se pak rozumí takový stupeň rozvoje nemoci, který bezprostředně ohrožuje život nebo užitkovost ryb, nebo kdy se předpokládá ohrožení ryb v následném období. Léčebné zásahy by měly být opatřením nouzovým, které nastupuje až v případě neúčinné prevence. Odpovědnost za jejich případné použití v dané indikaci nese ten, kdo aplikaci provádí (Kolářová a Nepejchalová, 2014).

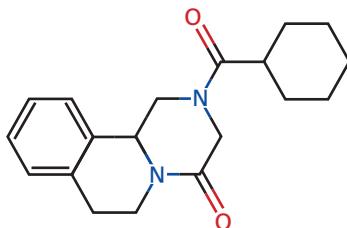


Obr. 6. Schématická předpisová kaskáda pro veterinární lékaře (převzato a upraveno z oficiálních stránek ÚSKVBL (<https://www.uskvbl.cz/cs/informace/proveterinaremen/kaskadamen>)).

2.3.2. Praziquantel (PZQ)

Praziquantel (2-(cyklohexankarbonyl)-1,2,3,6,7,11b-hexanhydro-4H-pyrazino [1,2-a]isochinolin-4-on), $C_{19}H_{24}N_2O_2$, obr. 7) je antiparazitikum patřící mezi chinolinové deriváty. Je účinný proti široké škále plochých červů (Platyhelminthes), mezi něž patří tasemnice a motolice. V humánní i veterinární medicíně je ve formě bílého prášku významnou součástí antiparazitárních léků.

Mechanismus účinku tohoto léku spočívá v narušení neuromuskulárního systému parazita a zabránění případného přichycení k epitelu hostitele. Taktéž mění propustnost tegumentu (tělního pokryvu) parazita, což způsobuje nadměrné ztráty glukózy a umožňuje působení proteolytických enzymů (Bader a kol., 2019).



Obr. 7. Struktura (*R*)-praziquantelu, enantiomerní aktivní forma praziquantelu (převzato z Bader a kol., 2019).

V roce 2022 byl praziquantel začleněn mezi povolené látky do přílohy nařízení Komise (EU) č. 37/2010. Nařízení specifikuje MRL praziquantelu pro potravinové druhy ryb = 20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, zde specificky nastaveno pro rybí svalovinu a kůži v přirozeném poměru. V ČR lze tedy PZQ použít veterinárním lékařem v odůvodněných případech i u potravinových zvířat (ryb) v rámci kaskády volby léčiv na vlastní odpovědnost za dodržení minimální OL 500 stupňodnů.

2.3.3. Formy aplikace PZQ a dávkování

U suchozemských obratlovců se praziquantel aplikuje perorálně nebo parenterálně. V systémech akvakultury se často jedná o hromadnou léčbu stovek až vyšších tisíců jedinců najednou. Zde je pak preferována aplikace perorální (v krmivu) nebo formou léčebných koupelí. Výhody a nevýhody jednotlivých forem jsou uvedeny níže. Při výběru formy aplikace je vždy třeba zohlednit hostitele (druh ryby), prostředí a technologii odchovu daného druhu i lokalizaci cílového parazita.

2.3.3.1. Perorální aplikace

Jedná se zejména o aplikaci formou tzv. medikovaného krmiva, kdy je účinná látka zapracována do krmiva. Pro individuální léčbu větších kusů ryb lze využít i perorální aplikaci sondou, kdy je sledované rybě podána přesná dávka léčiva přímo do jícnu. Tuto aplikaci však může provádět jen veterinární lékař. Perorální podání praziquantelu je žádoucí zejména při léčbě helmintů, kteří se zdržují v gastrointestinálním traktu, jako jsou například tasemnice.

Výhody:

- Vysoká účinnost při léčbě parazitů zažívacího traktu vzhledem k rychlé distribuci do cílové tkáně.
- Vhodné pro léčbu většího množství ryb ve formě medikovaného krmiva.

Nevýhody:

- Nerovnoměrná konzumace medikovaného krmiva, kdy se do jedinců dostanou nestejně dávky účinné látky. To je obzvláště problematické u infikovaných ryb se sníženým příjmem krmiva, kdy nemusí být výsledná koncentrace aplikované látky terapeuticky účinná. Ryby si navíc vytvářejí potravní hierarchii, což rovněž přispívá k nerovnoměrnému rozdělení léčebné dávky. Při podávání subterapeutických dávek může docházet ke vzniku rezistence parazitů vůči léčivu.
- Delší aklimatizace ryb na nové krmivo. Není praktické provádět léčbu medikovaným krmivem, pokud ryby nejsou aklimatizovány na granulovanou stravu.
- Hořká chuť praziquantelu, která může vést ke snížené konzumaci předkládaného krmiva.

Přestože s léčbou v krmivu jsou spojeny určité problémy, je tento způsob podávání obzvláště atraktivní díky možnosti léčit celou populaci ryb bez nutnosti manipulace s jednotlivými zvířaty. Komerčně bohužel nejsou pro ryby k dispozici žádné medikované směsi, ale je možnost přípravy medikovaného krmiva na zakázku. Efektivní je jako základ využít krmnou směs, na kterou jsou ryby zvyklé, tuto rozdtit a přimíchat léčebné látky v požadované koncentraci. Pro maskování hořké chuti je vhodné do směsi přidat rybí olej. Vytvořené, velikostně vhodné a vysušené krmné peletky je nakonec nutné postříkat abdukční želatínou chránící medikované krmivo před rychlým rozpadem ve vodním prostředí. Další vhodnou strategií pro stimulaci konzumace je krátké zadržení krmiva nebo vynechání jedné krmné dávky před podáním medikovaných pelet.

Tab. 1. Dávky praziquantelu aplikované přes dutinu ústní (per os). Zpracováno na podkladě publikací Sudová a kol. (2010), Zusková a kol. (2018) a Zusková a Velíšek (2024).

Helmint	Dávka	Opakování	Účinnost	Druh ryby	Forma
tasemnice	50 mg.kg ⁻¹	1x	100%	kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>)	sonda
	35 mg.kg ⁻¹	3x	100%	amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)	krmivo
motolice	30 mg.kg ⁻¹	7x	47%	amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)	krmivo
		7x	84%		
	50 mg.kg ⁻¹	6x – pauza 14 dní – 6x	100%		
		100 mg.kg ⁻¹	7x		

Příklad přípravy medikovaného krmiva pro aplikaci účinné dávky 50 mg PZQ.kg⁻¹ ž.hm. za předpokladu, že rybám předložíme medikované krmivo v množství 2 % hmotnosti obsádky: K přípravě medikovaného krmiva lze použít práškový praziquantel (PZQ). Komerční kontrolní krmivo se rozdrtí a ochutí rybím olejem v dávce 5 ml.kg⁻¹ krmiva k zamaskování hořké chuti anthelmintika. Následně se matrice promíchá s 2,5 g PZQ na kg krmiva. Směs se dále zformuje v standardním peletovači krmiv a studeném extrudéru (příprava struktury krmiva dle metodiky Roy a Mráz, 2021). Vzniklé vytvarované a vysušené pelety se nastříkají želatinou, která pelety chrání před rychlým rozpadem ve vodě.

Případová studie testování účinnosti PZQ aplikovaného v krmivu u amura bílého:

Celkem 300 ks plůdku amura bílého o průměrné hmotnosti 6,7 ± 2,4 g bylo aklimatizováno po dobu jednoho měsíce v akvariijní místnosti Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického Fakulty rybářství a ochrany vod JU ve Vodňanech. Po dobu aklimatizace byly ryby denně krmeny krmivem Premium Select. Po aklimatizaci byly ryby přemístěny do akvária s objemem vody 40 l. Ryby byly řízeně infikovány cercáriemi *D. pseudospathaceum*, získanými z infikovaných plžů *Stagnicola* sp. Metodicky bylo postupováno dle Zusková a Velíšek (2024). Po řízené infekci bylo parazitologicky vyšetřeno 12 ks ryb, u kterých byla vyhodnocena intenzita a prevalence infekce. Ryby byly rozděleny po 24 ks do 12 akvárií s objemem vody 200 l. Test proběhl ve třech opakováních. Teplota vody během testu byla 16,0–17,5 °C, nasycení kyslíkem 87–95 %, a pH 7,1–7,8. Parametry kvality vody byly měřeny denně v každém akváriu. Rybám bylo následně denně po dobu jednoho týdne předkládáno krmivo v množství 2 % jejich tělesné hmotnosti. Rozdělení skupin v testu bylo následující:

- Skupina K: kontrolní krmivo Premium Select
- Skupina PZQ30: praziquantelem medikované krmivo – denní dávka 30 mg.kg⁻¹ ž.hm.
- Skupina PZQ50: praziquantelem medikované krmivo – denní dávka 50 mg.kg⁻¹ ž.hm.
- Skupina PZQ100: praziquantelem medikované krmivo – denní dávka 100 mg.kg⁻¹ ž.hm.

Medikovaná směs byla připravena rozdrčením komerční kontrolní krmné směsi Premium Select a následným přimícháním léčebné látky v požadované koncentraci. Následně vytvořené a vysušené krmné peletky byly postříkány abdukční želatinou chránící peletky před rychlým rozpadem ve vodním prostředí. K přípravě krmiva byl využit práškový praziquantel v množství 1,5 g, 2,5 g a 5 g na kg krmiva. Kontrolní krmivo bylo připraveno stejným postupem, avšak bez přidání léčebné látky.

Parazitologické vyšetření bylo u všech skupin prováděno po týdenní aplikaci medikovaného krmiva, a dále pak 2, 8 a 23 dnů od ukončení aplikace medikovaného krmiva. Pro parazitologické vyšetření bylo odebráno vždy 18 ks ryb ze skupiny (6 ks z každého akvária). U amura bílého byla vyhodnocena prevalence (%), abundance pohyblivých a nepohyblivých metacerkárií a intenzita (průměrný počet nalezených parazitů na rybu) infekce *D. pseudospathaceum*. Dále byla u všech léčených skupin vypočtená účinnost léčby podle vzorce:

$$\text{účinnost} = 100 - \left(100 \times \frac{\text{průměrný počet pohyblivých metacerkárií u léčené skupiny}}{\text{průměrný počet pohyblivých metacerkárií u kontrolní skupiny}} \right)$$

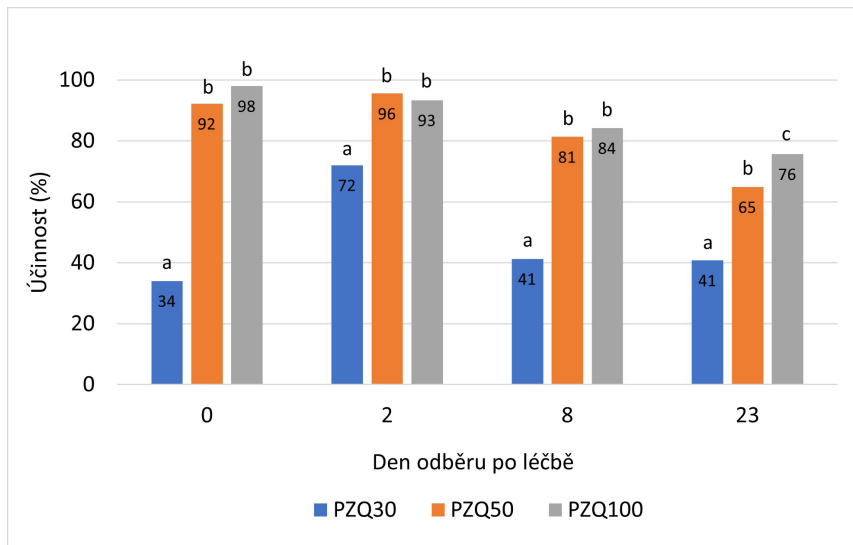
Výsledky vyhodnocení parazitární prevalence a průměrné abundance pohyblivých a nepohyblivých metacerkárií u amura bílého jsou uvedeny v tab. 2. U kontrolních skupin se prevalence pohybovala v rozmezí 78–89%, s průměrnou intenzitou infekce 3,2 metacerkárie na rybu.

Tab. 2. Prevalence a průměrný počet pohyblivých a nepohyblivých metacerkárií *Diplostomum pseudospathaceum* stanovených u ryb bezprostředně po týdenní aplikaci medikovaného krmiva (0) a 2, 8, a 23 dní po jejím ukončení. Data jsou prezentována jako průměr ± směrodatná odchylka.

Čas (dny)	Parametr	K (n = 18)	PZQ30 (n = 18)	PZQ50 (n = 18)	PZQ100 (n = 18)
0	prevalence (%)	78	89	67	67
	počet pohyblivých metacerkárií	2,2 ± 1,6	1,5 ± 1,8	0,2 ± 0,4	0,1 ± 0,2
	počet nepohyblivých metacerkárií	0	1,2 ± 1,7	1,5 ± 1,7	2,3 ± 3,0
2	prevalence (%)	83	67	78	67
	počet pohyblivých metacerkárií	4,1 ± 3,6	1,3 ± 2,0	0,1 ± 0,5	0,2 ± 0,4
	počet nepohyblivých metacerkárií	0	0,8 ± 1,5	1,7 ± 2,0	1,5 ± 2,0
8	prevalence (%)	83	83	78	67
	počet pohyblivých metacerkárií	2,2 ± 1,5	1,3 ± 1,5	0,4 ± 0,5	0,3 ± 0,7
	počet nepohyblivých metacerkárií	0	0,6 ± 0,9	1,6 ± 1,0	2,2 ± 2,2
23	prevalence (%)	89	94	61	72
	počet pohyblivých metacerkárií	3,0 ± 2,3	1,8 ± 1,3	1,1 ± 1,2	0,7 ± 0,8
	počet nepohyblivých metacerkárií	0	2,5 ± 4,3	1,4 ± 2,4	1,3 ± 2,3

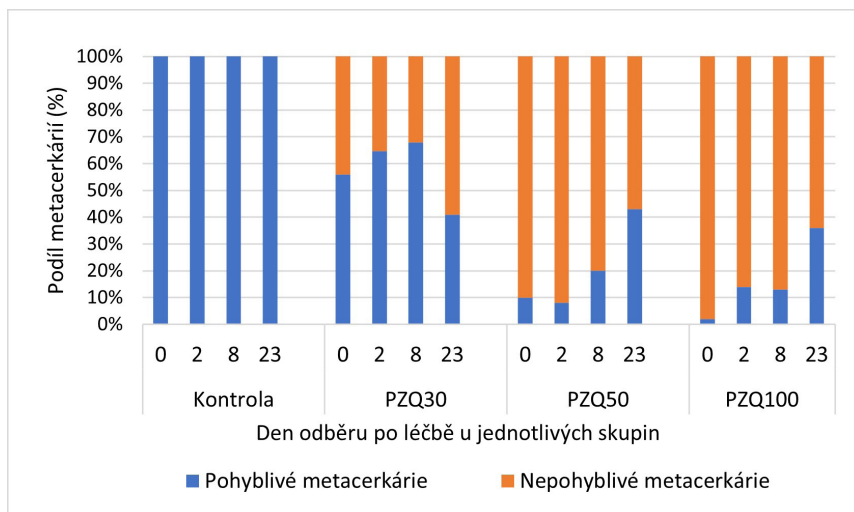
NOVÉ POSTUPY LÉČBY PARAZITÓZ VYVOLANÝCH MOTOLICEMI A TASEMNICEMI U RYB V ČR

Průměrná účinnost léčby vypočtená ze všech odběrů byla 47 % pro skupinu PZQ30, 84 % pro skupinu PZQ50 a 88 % pro skupinu PZQ100. Účinnost léčby PZQ byla statisticky významně vyšší ($P < 0,05$) ve skupinách PZQ50 a PZQ100 ve srovnání s PZQ30 první až osmý den. Statisticky významný rozdíl ($P < 0,01$) v účinnosti byl zaznamenán mezi všemi experimentálními skupinami v poslední odběrový den (obr. 8).



Obr. 8. Účinnost léčby PZQ v dávce 30 (PZQ30), 50 (PZQ50) a 100 (PZQ100) mg.kg⁻¹ tělesné hmotnosti po dobu 7 dnů. Různá písmena představují statisticky významné rozdíly ($P < 0,01$) mezi skupinami pro každý den odběru (0, 2, 8 a 23).

Statisticky významný pokles ($P < 0,01$) pohyblivých metacerkárií a významný vzestup ($P < 0,01$) nepohyblivých metacerkárií byl zjištěn ve všech experimentálních skupinách PZQ30, PZQ50 a PZQ100 ve srovnání s kontrolou pro každý odběr (obr. 9). Nepohyblivost metacerkárií neznamená vždy jejich úhyn. Nicméně vzhledem k reinfekcím v přirozeném prostředí je i efektivní snížení parazitárního napadení pro následnou přežitelnost ryb velice žádoucí.



Obr. 9. Procentuální podíl pohyblivých a nepohyblivých metacerkárií v kontrolní a experimentálních skupinách PZQ30, PZQ50 a PZQ100.

V testu perorální aplikace byl prokázán léčebný efekt praziquantelu. Neefektivněji, i co do přetrvání efektu léčby, se jeví skupina PZQ50 (50 mg PZQ na kilogram tělesné hmotnosti), která má téměř shodné výsledky s dvojnásobně vyšší koncentrací PZQ ze skupiny PZQ100.

2.3.3.2. Koupele

Další nejfrekventovanější terapeutickou cestou jsou koupele. Dlouhodobá koupel se koncipuje na nízkou koncentraci léčiva po delší dobu, zatímco u ponořovacích či krátkodobých koupelí se používá vysoká koncentrace léčiva po zkrácenou dobu. Oba typy koupelí poskytují rovnoměrné ošetření každé ryby.

Výhody:

- Vysoká účinnost při léčbě parazitů lokalizovaných na kůži a žábrách.
- Rovnoměrná distribuce a působení na ryby. Léčba formou koupele je účinná i pro některé helminty žijící v tkáních. Předpokládá se, že k tomu dochází tím, že se praziquantel vstřebává hlavně žábrami, přičemž malé množství se vstřebává i kůží (Kim a kol., 2001).

NOVÉ POSTUPY LÉČBY PARAZITÓZ VYVOLANÝCH MOTOLICEMI A TASEMNICEMI U RYB V ČR

Nevýhody:

- Vysoká spotřeba PZQ při ošetření velkoobjemových nádrží.
- Náročné na manipulaci s rybami.
- Zatížení prostředí při likvidaci léčebné koupele.

Při provádění léčebných koupelí je třeba zohlednit délku expozice vzhledem k systému, kde koupel provádíme. V recirkulačním systému při odstavení filtrů lze koupel provádět jen po omezenou dobu a úměrně k tomu je potřeba zvolit vhodnou koncentraci PZQ. Obecně platí, že čím delší je koupel, tím nižší účinnou koncentraci lze použít – viz tab. 3. Dávku u kaprovitých ryb lze navyšovat až na koncentraci cca 20 mg.l⁻¹, která odpovídá 96hLC0 (nejvyšší koncentrace PZQ, při které nedošlo k úhynu během 96 hodin) u nejcitlivějšího testovaného druhu – parmy obecné. Důležitá je v tomto případě i maximální délka koupele, která by neměla přesáhnout 96 hodin odpovídající maximální době expozice v provedeném standardizovaném testu toxicity.

Tab. 3. Dávky praziquantelu aplikované formou koupele. Zpracováno na podkladě publikací Zusková a kol. (2018), Bader a kol. (2019).

Helminth	Dávka	Délka expozice (hodiny)	Účinnost	Druh ryby
tasemnice	0,5 mg.l ⁻¹	24	100%	amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)
	3 mg.l ⁻¹	12	100%	
	12 mg.l ⁻¹	6	90%	
motolice	2 mg.l ⁻¹	24	100%	kapr obecný (<i>Cyprinus carpio</i>)
				amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)
	4 mg.l ⁻¹	4	90%	sumeček tečkovaný (<i>Ictalurus punctatus</i>)
	5 mg.l ⁻¹	4	80%	parma obecná (<i>Barbus barbus</i>)
	10 mg.l ⁻¹	96	100%	

Příklad přípravy léčebné koupele: K přípravě koupele lze použít prášek praziquantelu (PZQ), který navážíme do požadované koncentrace a rozpustíme v 96% etanolu (maximální objem rozpouštědla je 1 ml.l⁻¹). Pro léčebnou koupel v 1 m³ nádrží při požadované koncentraci 2 mg.l⁻¹ PZQ rozpustíme 2g PZQ v cca 200ml etanolu. Výsledkem je mléčně zakalený roztok, který následně rovnoměrně aplikujeme do velkoobjemové nádrže a promísíme pomocí rybolovného náčiní. Po provedené koupeli likvidujeme koupel naředěním.

Případová studie testování účinnosti PZQ aplikovaného formou koupele:

30 ks amurů bílých o průměrné hmotnosti 20,1 g bylo aklimatizováno po dobu jednoho týdne v akvarijní místnosti Výzkumného ústavu rybářského a hydrobiologického Fakulty rybářství a ochrany vod JU ve Vodňanech, kde jim bylo 2 x denně předkládáno krmivo KP1. Jeden den před začátkem testu bylo krmení zastaveno a ryby byly rozděleny do 6 akvárií o objemu lázně 20 l po 5 kusech při konstantní aeraci. Léčebné lázně byly připraveny takto:

- 2x kontrolní skupina (K): odstátá kohoutková voda bez přídavku léčiv,
- 2x pokusná skupina (PZQ2): praziquantel v koncentraci 2 mg.l⁻¹,
- 2x pokusná skupina (PZQ10): praziquantel v koncentraci 10 mg.l⁻¹.

Ryby byly po dobu 24 hodin exponovány praziquantelu a následně bylo provedeno parazitologické vyšetření očí na přítomnost metacerkárií motolice oční.

Prevalence metacerkárií motolice oční v kontrole dosahovala 50 %, zatímco u ošetřených ryb ze skupin PZQ2 a PZQ10 byla nalezena nižší prevalence, a to 20 % a 10 % s patrným procentuálním nárůstem nepohyblivých metacerkárií (tab. 4).

Tab. 4. Prevalence a intenzita infekce a pohyblivé metacerkárie motolice oční zjištěné parazitárním vyšetřením po provedených koupelích v PZQ.

Skupina	Prevalence (%)	Intenzita infekce (min. - max.)	Pohyblivé metacerkárie (%)
K	50	1-4	100
PZQ2	20	1-3	30
PZQ10	10	7	0

Vzhledem k nízké prevalenci infekce lze z výsledků parazitologického vyšetření pouze hodnotit trendy, kdy u obou léčebných koupelí došlo k prokazatelnému nárůstu nepohyblivých (potenciálně mrtvých) metacerkárií v oční čočce studovaných ryb. Výsledky naznačují léčebný potenciál obou testovaných koupelí s větším úspěchem ve vyšší koncentraci účinné látky.

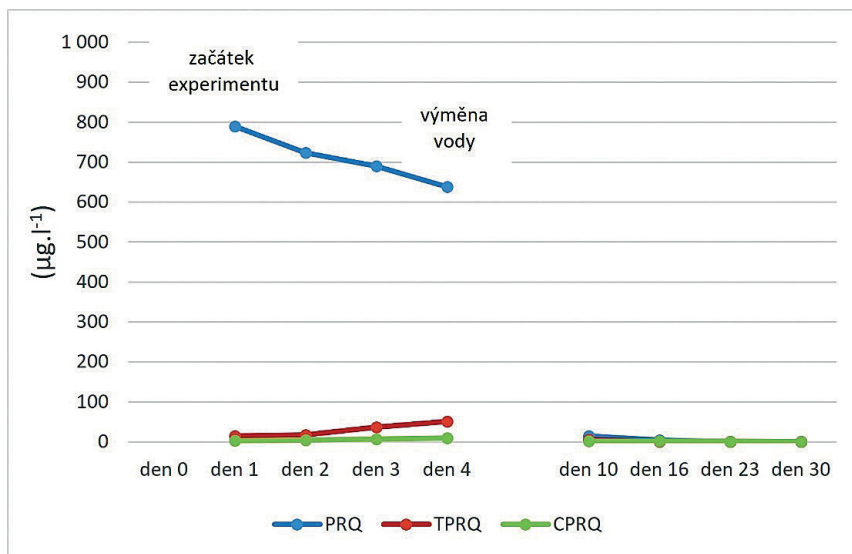
2.3.4. Farmakokinetika a tkáňová rezidua

Při podávání antiparazitik obecně je důležité vzít v úvahu tkáňovou distribuci a metabolizaci navrhované léčby organismem. Helminti se mohou vyskytovat v různých tkáních a je třeba zajistit, aby se k nim anthelmintikum efektivně dostalo. Po perorálním podání rybám je praziquantel distribuován

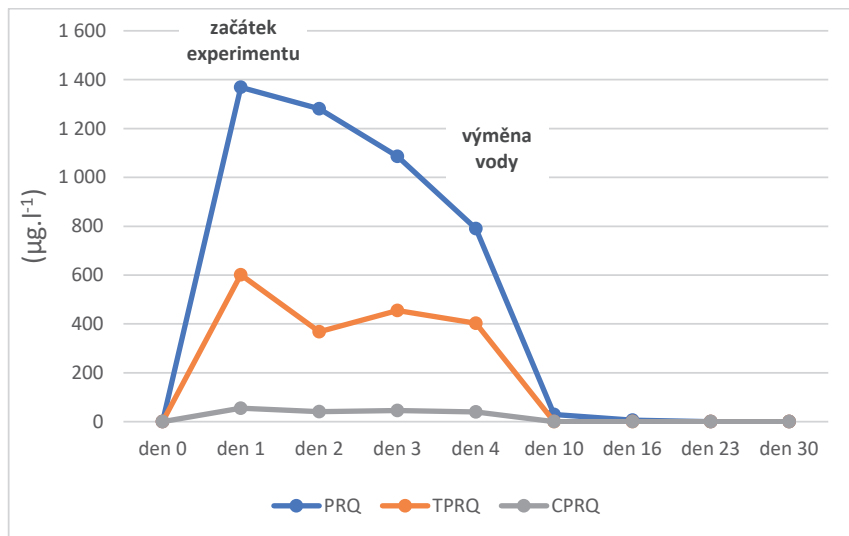
do celého zvířete, včetně svaloviny, ledvin, plazmy a jater. Praziquantel se metabolizuje na *cis*- a *trans*-hydroxypraziquantel (*cis*-4-OH-PZQ a *trans*-4-OH-PZQ), které mají určité antiparazitární vlastnosti. Část léčiva se vylučuje v původní formě, zatímco ostatní metabolity se primárně vylučují ledvinami. Praziquantel ve vodě se vstřebává hlavně žábrami, přičemž malé množství se vstřebává kůží, načež se šíří do zbytku těla (Kim a kol., 2001).

2.3.4.1. Farmakokinetika po perorální aplikaci

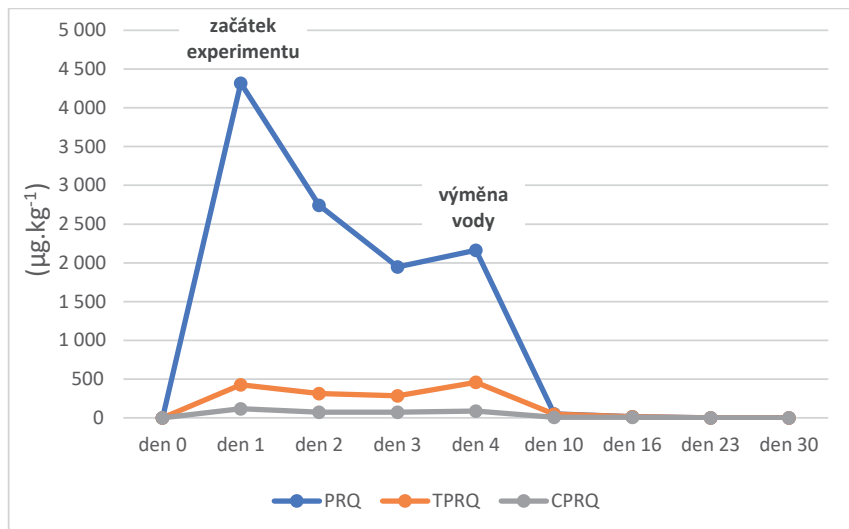
Byla sledována rychlost degradace praziquantelu a jeho distribuce do jednotlivých tkání amura bílého o průměrné hmotnosti 90,5 g po jednorázové perorální aplikaci (den 0) PZQ sondou v dávce 50 mg.kg⁻¹ živé hmotnosti. Průměrná teplota vody v průběhu pokusu byla 20,2 ± 0,6 °C. V odebraných vzorcích vody (obr. 10), krevní plazmy (obr. 11), hepatopankreatu (obr. 12), ledviny (obr. 13) a svaloviny (obr. 14) byla pomocí kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS) stanovena koncentrace praziquantelu a jeho metabolitů *cis*- a *trans*-hydroxypraziquantelu (Dobsikova a kol., 2024).



Obr. 10. Časový průběh koncentrace reziduí praziquantelu (PRQ), *cis*-hydroxypraziquantelu (CPRQ) a *trans*-hydroxypraziquantelu (TPRQ) ve vodě.

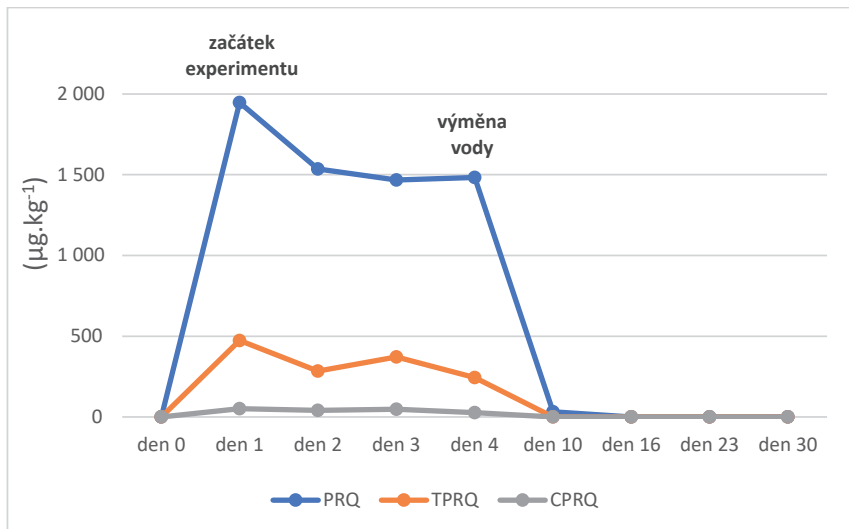


Obr. 11. Časový průběh koncentrace reziduí praziquantelu (PRQ), cis-hydroxypraziquantelu (CPRQ) a trans-hydroxypraziquantelu (TPRQ) v krevní plazmě.

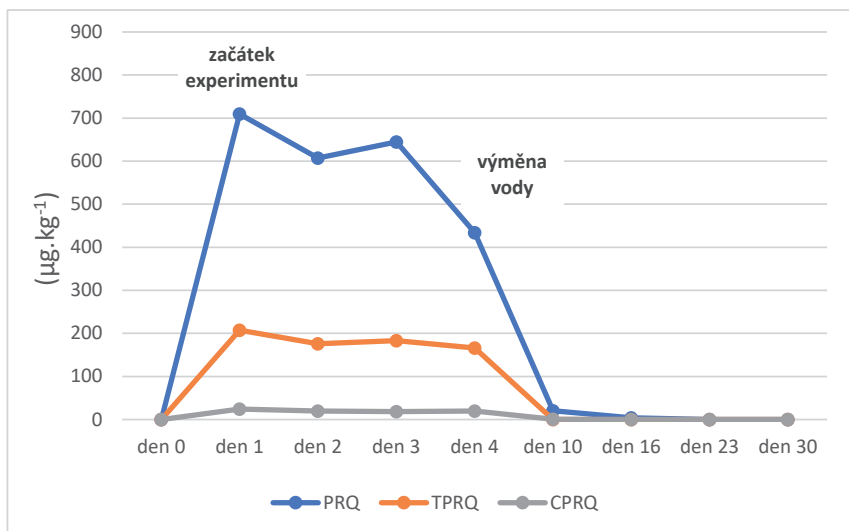


Obr. 12. Časový průběh koncentrace reziduí praziquantelu (PRQ), cis-hydroxypraziquantelu (CPRQ) a trans-hydroxypraziquantelu (TPRQ) v hepatopankreatu.

NOVÉ POSTUPY LÉČBY PARAZITÓZ VYVOLANÝCH MOTILICEMI A TASEMNICEMI U RYB V ČR



Obr. 13. Časový průběh koncentrace reziduí praziquantelu (PRQ), cis-hydroxypraziquantelu (CPRQ) a trans-hydroxypraziquantelu (TPRQ) v ledvinách.



Obr. 14. Časový průběh koncentrace reziduí praziquantelu (PRQ), cis-hydroxypraziquantelu (CPRQ) a trans-hydroxypraziquantelu (TPRQ) v hřbetní svalovině.

Rezidua PZQ byla v obou tkáních (tj. ve svalovině a kůži) amura stanovena pod MLR ($20 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) až 16 dní po expozici. Dalším důležitým zjištěním je, že metabolity PZQ (cis-hydroxypraziquantel a trans-hydroxypraziquantel) byly ve svalovině a kůži přítomny v detekovatelném množství po kratší dobu než mateřská sloučenina (praziquantel).

2.3.4.2. Farmakokinetika po koupeli

Z hlediska farmakokinetiky byla Kim a kol. (2001) zkoumána léčba praziquantelem formou ponořovací koupele, kde byli okouníci Schlegelovi (*Sebastes schlegelii*) ponořeni do lázně o koncentraci $100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ na dobu 4 minut, po níž následovalo stanovení praziquantelu ve vzorcích plazmy a svaloviny. Průměrná teplota vody v průběhu pokusu byla $20\text{--}21^\circ\text{C}$. Maximální koncentrace byly dosaženy v plazmě po 12 hodinách a po 96 hodinách od ošetření byly nedetekovatelné. Maximální koncentrace ve svalu byly dosaženy po 3 hodinách a byly nedetekovatelné po 48 hodinách od ošetření.

2.3.5. Toxicita

Perorální aplikace PZQ má široké bezpečnostní rozpětí s malým počtem nežádoucích účinků (Sudová a kol., 2009). Dokonce ani vysoké perorální dávky PZQ nevedly k toxicitě pro ryby. U pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), kterému byl podán PZQ v dávce $500\text{--}800 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ tělesné hmotnosti, nebyly zaznamenány žádné nežádoucí účinky (Tojo a Santamarina, 1998). Zdá se tedy, že dávky relevantní pro léčbu (viz tab. 1) jsou mnohem nižší než dávky potřebné k vyvolání nežádoucích účinků. Není známo, zda existují druhy ryb se zvýšenou náchylností k nežádoucím účinkům způsobeným PZQ (Bader a kol., 2019).

Koupele ryb jsou z hlediska toxicity problematictější. Každá léčebná koupel má různou míru toxicity v závislosti na ošetřovaném druhu a věku ryb. Pokud je koncentrace léčivé látky určena ve dvou mezních hodnotách, nižší se aplikuje u ryb oslabených nebo u mladých věkových kategorií, vyšší u ryb v dobré kondici a u vyšších věkových kategorií. Základním předpokladem pro aplikaci formou léčebné koupele je dobrá rozpustnost přípravku ve vodě. PZQ se vodě rozpouští velmi špatně, a pro jeho dobré rozpuštění je tedy nutné použít 96% etanol v maximálním výsledném objemu do $1 \text{ ml}\cdot\text{l}^{-1}$ léčebné lázně. Osvědčené bezpečné množství rozpouštědla-etanolu je až 100 ml na rozpuštění 1 g PZQ.

Pro přesné zhodnocení efektů léčebných přípravků se provádějí testy toxicity. U ryb je hlavním cílem stanovit pro danou látku tzv. terapeutický index (TI). TI udává, kolikrát je hodnota letální koncentrace (LC) dané látky pro ryby vyšší ve srovnání s hodnotou LC pro původce onemocnění. Přijatelný TI pro ryby

NOVÉ POSTUPY LÉČBY PARAZITÓZ VYVOLANÝCH MOTOLICEMI A TASEMNICEMI U RYB V ČR

je vyšší než 4, ale optimální jsou hodnoty okolo 10 (Kolářová a Svobodová, 2009). Vzhledem k možným mezidruhovým rozdílům v citlivosti k testované látce je vhodné testy toxicity provést hlavně u druhů ryb (*Barbus barbus*) následně léčených.

Test toxicity byl proveden na parmě obecné o průměrné hmotnosti 12,5 g. Ryby byly po dobu 96 hodin vystavené koncentracím 5, 10 a 20 mg.l⁻¹ PZQ. Ve všech koncentracích vykazovaly ryby typické chování a nulovou mortalitu v průběhu testování. Když byly po shodnou dobu vystavené koncentracím 30 a 40 mg.l⁻¹, vykazovaly již respirační potíže, ztrátu reflexů a nepravidelný pohyb. Vypočtené hodnoty 96hodinové LC0 (nejvyšší koncentrace, při které neuhyne žádná ryba) a 96hodinové LC50 (letální koncentrace, při které uhynie přesně polovina ryb) u parmy byly 20,2 mg.l⁻¹ a 28,6 mg.l⁻¹ (Zusková a kol., 2018).

V testech toxicity provedených na zebříčkách pruhovaných (*Danio rerio*) byla 24hodinová a 96hodinová LC50 39,9 mg.l⁻¹ a 30,4 mg.l⁻¹. Nejvyšší 24hodinová a 96hodinová LC0 byla 21,7 mg.l⁻¹ a 21,2 mg.l⁻¹ (Zusková a kol., 2022).

Hodnoty 24hodinové a 96hodinové LC50 pro amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) o průměrné hmotnosti 9,1 g byly 55,1 mg.l⁻¹ a 49,7 mg.l⁻¹. Hodnoty 24hodinové a 96hodinové LC0 byly 60,0 mg.l⁻¹ a 60,0 mg.l⁻¹. Testované ryby se v předběžném 24hodinovém testu po přibližně 2 hodinách působení PZQ v koncentraci 20 mg.l⁻¹ jeví poněkud letargicky a při koncentraci 40 mg.l⁻¹ u nich byla pozorována ztráta rovnováhy (Mitchell a Hobbs, 2007).

Třicetipětidenní embryolarvální test na kapru obecném (*Cyprinus carpio* L.) neprokázal v koncentracích 1–4 mg.l⁻¹ žádné významné nepříznivé účinky na mortalitu, ranou ontogenezi a lokomoční chování (aktivita, uražená vzdálenost a rychlost pohybu) kaprů. Koncentrace 3 a 4 mg.l⁻¹ způsobily významně ($P < 0,01$) nižší růst, celkovou aktivitu superoxid dismutázy a katalázy ve srovnání s kontrolami. Pro raná vývojová stadia kapra je PZQ bezpečný v koncentraci ≤ 2 mg.l⁻¹ (Velíšek a kol., 2022).

Účinné dávky PZQ používané k léčbě infekcí způsobených plochými červy u ryb jsou mnohem nižší než dávky, které způsobují nežádoucí účinky. Zatímco některé vysoké dávky, které jsou uváděny jako účinné, vedou k nežádoucím účinkům, v mnoha případech se ukázalo, že stejně nebo více účinná je léčba při nižších koncentracích po delší dobu. Pro terapeutické účely je významná zejména hodnota LC0, kdy ryby nevykazují mortalitu a danou koncentraci snášejí bez obtíží. **Na podkladě testování uvedených druhů lze doporučit terapeutické koupele PZQ do maximální koncentrace 20 mg.l⁻¹ po dobu 0,5–96 hodin.** U raných vývojových stadií kapra obecného pak koncentrace ≤ 2 mg.l⁻¹.

Test inhibice mobility hrotnatky velké (*Daphnia magna*), jakožto organismu, který je součástí planktonu, stanovil 48hEC50 (efektivní koncentrace, při které dojde k imobilizaci poloviny testovaných jedinců) na 42,7 mg.l⁻¹ (Zusková a kol., 2022). Z toho plyne, že PZQ v doporučených koncentracích koupelí do 20 mg.l⁻¹ pravděpodobně negativně neovlivňuje koryše, kteří jsou součástí potravního řetězce ryb. Některé druhy ryb mohou být k toxickým účinkům PZQ náchylnější, a proto by měli veterinární lékaři dbát zvýšené opatrnosti při jeho používání u dosud netestovaných druhů ryb.

Na podkladě provedených testů toxicity má PZQ široké rozpětí bezpečnosti s relativně malým počtem nežádoucích účinků. Terapeutický index (TI) se u nejfrekventovanějších účinných koupelových koncentrací PZQ (viz tab. 3) pohybuje v rozmezí 4–20, což je z hlediska bezpečnosti pro ryby přijatelné až optimální pro léčbu.

2.3.6. Možné vlivy na životní prostředí

Existuje poměrně málo studií zabývajících se osudem PZQ v životním prostředí. Existuje však obecná obava, že anthelmintika přítomná v malém množství mohou vést ke vzniku rezistence nebo k ničení jiných necílových organismů ve vodním prostředí. Hlavním problémem kontaminace životního prostředí PZQ je neúmyslné usmrcení volně žijících neparazitických plochých červů (Bader a kol., 2019) a následná změna potravního řetězce. Přestože perorálně ošetřené ryby mohou vylučovat aktivní PZQ, není jasné, zda mohou být výsledné koncentrace relevantní pro narušení životního prostředí. Ačkoli koncentrace v životním prostředí pravděpodobně závisí na užití dávce a hustotě obsádky, nebyly zaznamenány příklady vysokých koncentrací PZQ, které by se po léčebném zásahu dostaly do životního prostředí. U rákosu obecného (*Phragmites australis*) nebyly prokázány nežádoucí reakce na všechny studované dávky, ale byla potvrzena schopnost metabolizovat PZQ, což naopak představuje přirozený prostředek fyto Remediacie (metoda využívající zelené rostliny k odstranění znečišťujících látek z prostředí) (Marsik a kol., 2017). Selektce parazitů rezistentních k léčivu je problémem, nicméně existuje poměrně málo zpráv o parazitech rezistentních k PZQ. V humánní medicíně byly zaznamenány již první případy rezistence v souvislosti s hromadnou léčbou lidské schistosomózy (onemocnění způsobené krevními motolicemi rodu *Schistosoma* – krevničky). V akvakulturních systémech by likvidace PZQ mohla být problematická, pokud by rezistence vznikla v důsledku expozice subterapeutickým dávkám. Zbytky PZQ mohou být přítomny ve vodě použité k ponořovací, krátkodobé či dlouhodobé koupeli a v rybách, kterým byl PZQ podán perorálně nebo parenterálně. Ryby mohou vylučovat léčivo do vody i několik dní po ošetření. K eliminaci PZQ lze použít UV fotokatalytický rozklad,

avšak není jasné, zda je to nutné nebo praktické. Do budoucna je třeba zkoumat osud PZQ v akvakulturních systémech, aby bylo možné přesněji posoudit obavy z možné rezistence cílových parazitů nebo kontaminace prostředí.

3. Srovnání „novosti postupů“

V metodice je popsáno možné využití praziquantelu pro léčbu tasemnicovitosti a motoličnatosti ryb. Na trhu nejsou dostupná komerčně vyráběná anthelmintika pro použití u ryb, tudíž přehledný návod pro přípravu účinného terapeutika v boji proti výše zmíněným infekcím na trhu dlouhodobě chybí. Při nepřesném dávkování se pak zvyšuje riziko vzniku rezistence a neadekvátního zatížení životního prostředí. S uceleným přehledem využití efektivního antiparazitika se eliminuje jeho nadužívání a zefektivní se případný terapeutický zásah. Využívání přesně definovaných účinných a pro životní prostředí bezpečných terapeutických metod přispívá k omezení aplikace terapeuticky nebezpečných, nedostatečně odzkoušených látek, při jejichž použití mohou rizika převažovat nad přínosy.

4. Popis uplatnění certifikované metodiky

Metodika je určena všem rybářským subjektům, které se v chovných subjektech potýkají se zvýšenou mortalitou a zpomaleným růstem ryb v důsledku výskytu tasemnicovitosti a motoličnatosti ryb. Metodika je určena zejména pro veterinární lékaře jako příručka pro přípravu a medikaci účinných terapeutik. Možnou cílovou skupinou jsou rovněž drobnochovatelé a akvaristé. Předložená metodika může také vhodným způsobem doplnit studijní materiály škol, jejichž výuka je zaměřena na problematiku chovu a onemocnění ryb.

5. Ekonomické aspekty

Účinné začlenění efektivního terapeutika do chovného procesu, kde se vyskytují výše popsané infekce, výrazně zvýší přežitelnost a efektivitu odchovu. Např. při výskytu motolice oční je léčba mladších věkových kategorií amura bílého limitní pro jejich odchov. Infikovaní roční amura mají při vysazení do rybníka se smíšenou obsádkou téměř 100% ztráty v důsledku zvýšené predace po oslabení parazitem. Po terapii PZQ se výrazně zvyšuje procento přeživších jedinců dané jejich schopností úniku před predátory. Pro podnik s ročním objemem produkce amura bílého na úrovni 50 tun to může představovat až 400 tisíc korun ročně (i více), v závislosti na intenzitě výskytu dané infekce v chovu ryb.

6. Seznam použité související literatury

- Bader, C., Starling, D.E., Jones, D.E., Brewer, M.T., 2019. Use of praziquantel to control platyhelminth parasites of fish. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 42: 139–153.
- Dobsikova, R., Blahova, J., Marsalek, P., Doubkova, V., Zuskova, E., Velisek, J., 2024. Pharmacokinetics of praziquantel and its metabolites in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) following the oral administration of a single bolus. *Veterinarni Medicina* 69: 52–60.
- 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/>
- Kim, K.H., Kim, C.S., Kim, J.W., 2001. Depletion of praziquantel in plasma and muscle tissue of cultured rockfish *Sebastes schlegeli* after oral and bath treatment. *Diseases of Aquatic Organisms* 45: 203–207.
- Kolářová, J., Svobodová, Z., 2009. Léčebné a preventivní postupy v chovech ryb. *Edice Metodik, FROV JU, Vodňany, č. 88, 30 s.*
- Kolářová, J., Nepejchalová, L., 2014. Terapeutické možnosti v chovech ryb ČR – přehled. *Veterinářství* 64: 532–537.
- Marsik, P., Podlipna, R., Vanek, T., 2017. Study of praziquantel phytoremediation and transformation and its removal in constructed wetland. *Journal of Hazardous Materials* 323: 394–399.
- Mitchell, A.J., Hobbs, M.S., 2007. The acute toxicity of praziquantel to grass carp and golden shiners. *North American Journal of Aquaculture* 69: 203–206.
- 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.
- Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/6 ze dne 11. prosince 2018, o veterinárních léčivých přípravcích a o zrušení směrnice 2001/82/ES.
- Palíková, M., Piačková, V., Navrátil, S., Zusková, E., Papežiková, I., Kolářová, J., Pojezdal, L., Dyková, I., Scholz, Z., Gelnar, M., Svobodová, Z., Řehulková, E., Mareš, J., Modrá, H., Blažek, R., Veselý, T., 2019. Nemoci a chorobné stavy ryb. *FROV JU, Vodňany, 462 s.*
- Roy, K., Mráz, J., 2021. Digestibility of protein feeds for Tilapia. Edition of Methodics, University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Fisheries and Protection of Waters, Vodňany, Czech Republic, no. 186, 38 pp. (in English)
- Sudová, E., Piačková, V., Kroupová, H., Pijáček, M., Svobodová, Z., 2009. The effect of praziquantel applied per os on selected haematological and biochemical indices in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Physiology and Biochemistry* 35: 599–605.
- Sudová, E., Piačková, V., Velíšek, J., Pijáček, M., Svobodová, Z., 2010. Efficacy testing of orally administered praziquantel to common carp naturally infected by caryophyllidean tapeworms (Platyhelminthes: Eucestoda). *Acta Veterinaria Brno* 79: S73–S78.
- Scholz, T., Kuchta, R., Oros, M., 2021. Tapeworms as pathogens of fish: A review. *Journal of Fish Diseases* 44: 1883–1900.

NOVÉ POSTUPY LÉČBY PARAZITÓZ VYVOLANÝCH MOTOLICEMI A TASEMNICEMI U RYB V ČR

- Tojo, J.L., Santamarina, M.T., 1998. Oral pharmacological treatments for parasitic diseases of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. II. *Gyrodactylus* sp. Diseases of Aquatic Organisms 33: 187–193.
- Velisek, J., Zuskova, E., Kubec, J., Sandova, M., Stara, A., 2022. Effects of praziquantel on common carp embryos and larvae. Scientific Reports 12: 17290.
- Zákon č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon) ve znění pozdějších předpisů.
- Zuskova, E., Velisek, J., 2024. In-feed Praziquantel treatment of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) infected with eye flukes. Veterinarni Medicina 69: 1–7.
- Zusková, E., Piačková, V., Máchová, J., Chupani, L., Steinbach, Ch., Stará, A., Velíšek, J., 2018. Efficacy and toxicity of praziquantel in helminth-infected barbel (*Barbus barbus* L.). Journal of Fish Diseases 41: 643–649.
- Zusková, E., Piačková, V., Valentová, O., Záhlová, K., Velíšek, J., 2022. Acute toxicity of praziquantel to fish *Danio rerio* and planktonic crustacean *Daphnia magna*. Veterinarni Medicina 67: 579–584.

7. Seznam publikací, které předcházely metodice

- Dobsikova, R., Blahova, J., Marsalek, P., Doubkova, V., Zuskova, E., Velisek, J., 2024. Pharmacokinetics of praziquantel and its metabolites in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) following the oral administration of a single bolus. Veterinarni Medicina 69: 52–60.
- Sudová, E., Piačková, V., Kroupová, H., Pijáček, M., Svobodová, Z., 2009. The effect of praziquantel applied per os on selected haematological and biochemical indices in common carp (*Cyprinus carpio* L.). Fish Physiology and Biochemistry 35: 599–605.
- Sudová, E., Piačková, V., Velíšek, J., Pijáček, M., Svobodová, Z., 2010. Efficacy testing of orally administered praziquantel to common carp naturally infected by caryophyllidean tapeworms (Platyhelminthes: Eucestoda). Acta Veterinaria Brno 79: 573–578.
- Velisek, J., Zuskova, E., Kubec, J., Sandova, M., Stara, A., 2022. Effects of praziquantel on common carp embryos and larvae. Scientific Reports 12: 17290.
- Zuskova, E., Velisek, J., 2024. In-feed Praziquantel treatment of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) infected with eye flukes. Veterinarni Medicina 69: 1–7.
- Zuskova, E., Machova, J., Piackova, V., 2019. Praziquantel treatment of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) infecting with eye fluke (*Diplostomum* sp.) in field conditions. In: Book of abstracts. 19th Diseases of Fish and Shellfish EAFP 2019. 9–12 September 2019. Porto, Portugal, p. 522.
- Zusková, E., Piačková, V., Máchová, J., Chupani, L., Steinbach, Ch., Stará, A., Velíšek, J., 2018. Efficacy and toxicity of praziquantel in helminth-infected barbel (*Barbus barbus* L.). Journal of Fish Diseases 41: 643–649.
- Zusková, E., Piačková, V., Valentová, O., Záhlová, K., Velíšek, J., 2022. Acute toxicity of praziquantel to fish *Danio rerio* and planktonic crustacean *Daphnia magna*. Veterinarni Medicina 67: 579–584.

Dedikace

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum QK21010113 Rozšíření spektra léčivých přípravků v akvakultuře v ČR a sledování výskytu jejich reziduí v mase ryb – 85 %, projektu PROFISH MZe ČR CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000869 Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech – 10 % a Jihočeského výzkumného centra akvakultury a biodiverzity hydrocenóz CENAKVA (LM2023038) – 5 %.

Externí odborný oponent

doc. MVDr. Radka Dobšíková, Ph.D.

Veterinární univerzita Brno, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Ústav chovu zvířat, výživy zvířat a biochemie, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno

Interní odborný oponent

Prof. MVDr. Zdeňka Svobodová, DrSc.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybnářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický, Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany

Oponent za státní správu

MVDr. Aneta Pierzynová

Státní veterinární správa, Slezská 100/7, 120 00 Praha 2

Osvědčení o uplatněné certifikované metodice č. SVS/2024/135324-G ze dne
18. 9. 2024

Státní veterinární správa

Adresa autorského kolektivu

MVDr. Eliška Zusková, Ph.D. – 80 %

Ing. Alžběta Stará, Ph.D. – 10 %

dr hab. Ing. Josef Velíšek, Ph.D. – 10 %

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybnářství a ochrany vod,
Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz,
Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický, Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany,
www.frov.jcu.cz

V edici Metodik (technologická řada) vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybnářství a ochrany vod, Vodňany, www.frov.jcu.cz; přidělený editor: doc. Ing. Antonín Kouba, Ph.D.; redakce: Zuzana Dvořáková; náklad: 200 ks, 1. vydání; metodika uplatněna v roce 2024; vytištěna v roce 2024; grafický design a technická realizace: Jesenické nakladatelství Jena Šumperk.



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

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



ISBN 978-80-7514-208-5



v y d á v á

OSVĚDČENÍ

SVS/2024/135324-G

o uznání metodiky v souladu s podmínkami Metodiky hodnocení výzkumných organizací a programů účelové podpory výzkumu, vývoje a inovací, schválené usnesením vlády dne 8. února 2017, číslo 107 a její samostatné přílohy č. 4 schválené usnesením vlády dne 29. listopadu 2017 č. 837.

Název metodiky: **Nové postupy léčby parazitóz vyvolaných motolicemi a tasemnicemi u ryb v ČR**

Autor / autoři: **E. Zusková, A. Stará, J. Velišek**

Název organizace/cí:

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybnářství a ochrany vod, Jihočeské výzkumné centrum akvakultury a biodiverzity hydrocenóz, Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický, Zátíší 728/II, 389 25 Vodňany, www.frov.jcu.cz, ISBN 978-80-7514-208-5

Místo vydání: **v Praze**

Rok vydání: **2024**

Metodika byla vypracována v rámci výzkumného projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum na rozvoj výzkumné organizace č. QK21010113 Rozšíření spektra léčivých přípravků v akvakultuře v ČR a sledování výskytu jejich reziduí v mase ryb – 85%, projektu PROFISH MZe ČR CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000869 Udržitelná produkce zdravých ryb v různých akvakulturních systémech – 10% a Jihočeského výzkumného centra akvakultury a biodiverzity hydrocenóz CENAKVA (LM2023038) – 5%.

Využívá projekt „Pravidla pro odvětví zemědělství, lesnictví, rybolov“? **ANO** ~~x~~ ~~NE~~

V případě, že projekt využívá „Pravidla pro odvětví zemědělství, lesnictví a rybolov“, je výsledek typu N_{met} zdarma k dispozici všem zájemcům na webové stránce:

https://www.frov.jcu.cz/images/FROV/veda-a-vyzkum/metodiky/206_metodika.pdf

V Praze dne 18. 9. 2024

.....
Razítko odborného orgánu státní správy

Jméno zástupce odborného útvaru státní správy:

MVDr. Zbyněk Semerád

Funkce zástupce odborného útvaru státní správy:

ústřední ředitel Státní veterinární správy

.....
Podpis zástupce odborného útvaru státní správy

Souhlas ředitelky Odboru vědy, výzkumu a vzdělávání MZe:

V dne