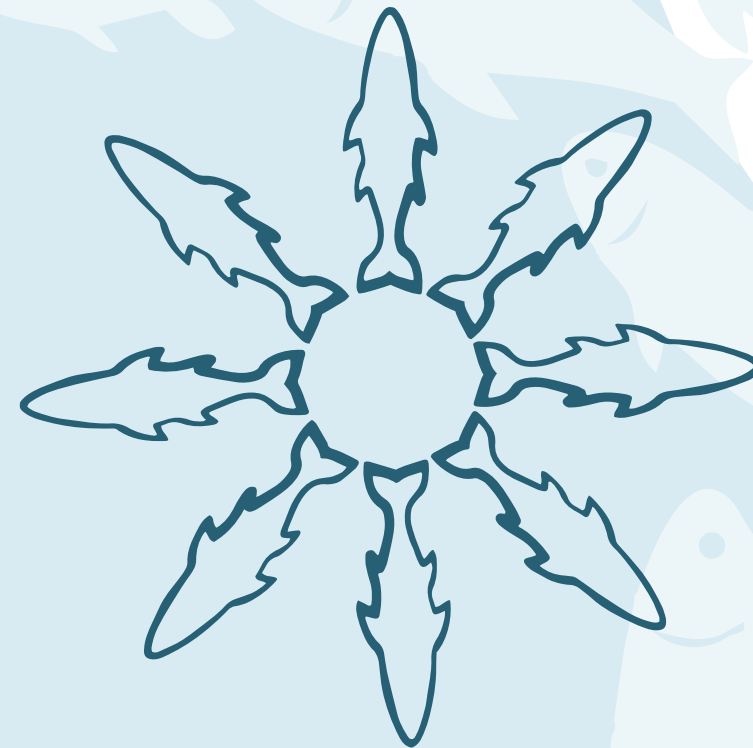


51. SZKOLENIE KONFERENCJA HODOWCÓW RYB ŁOSOSIOWATYCH



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Ślad antybiotykowy w środowisku wodnym związanym z akwakulturą

Agnieszka Pękała-Safińska,
Przemysław Racewicz, Marta Rybska, Aleksandra Biegniewska
Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauko o Zwierzętach
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu



Tło zagadnienia

Narastająca lekooporność bakterii izolowanych z przypadków klinicznych obserwowanych u ryb słodkowodnych



Tło zagadnienia

Analiza występowania barwników farmakologicznie czynnych w środowisku wodnym

Chemosphere 313 (2023) 137432



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Chemosphere

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemosphere



Occurrence and ecotoxicological risk assessment of pharmacologically active dyes in the environmental water of Poland

Angelika Tkaczyk-Wlizio^{a,b}, Kamila Mitrowska^{a,*}

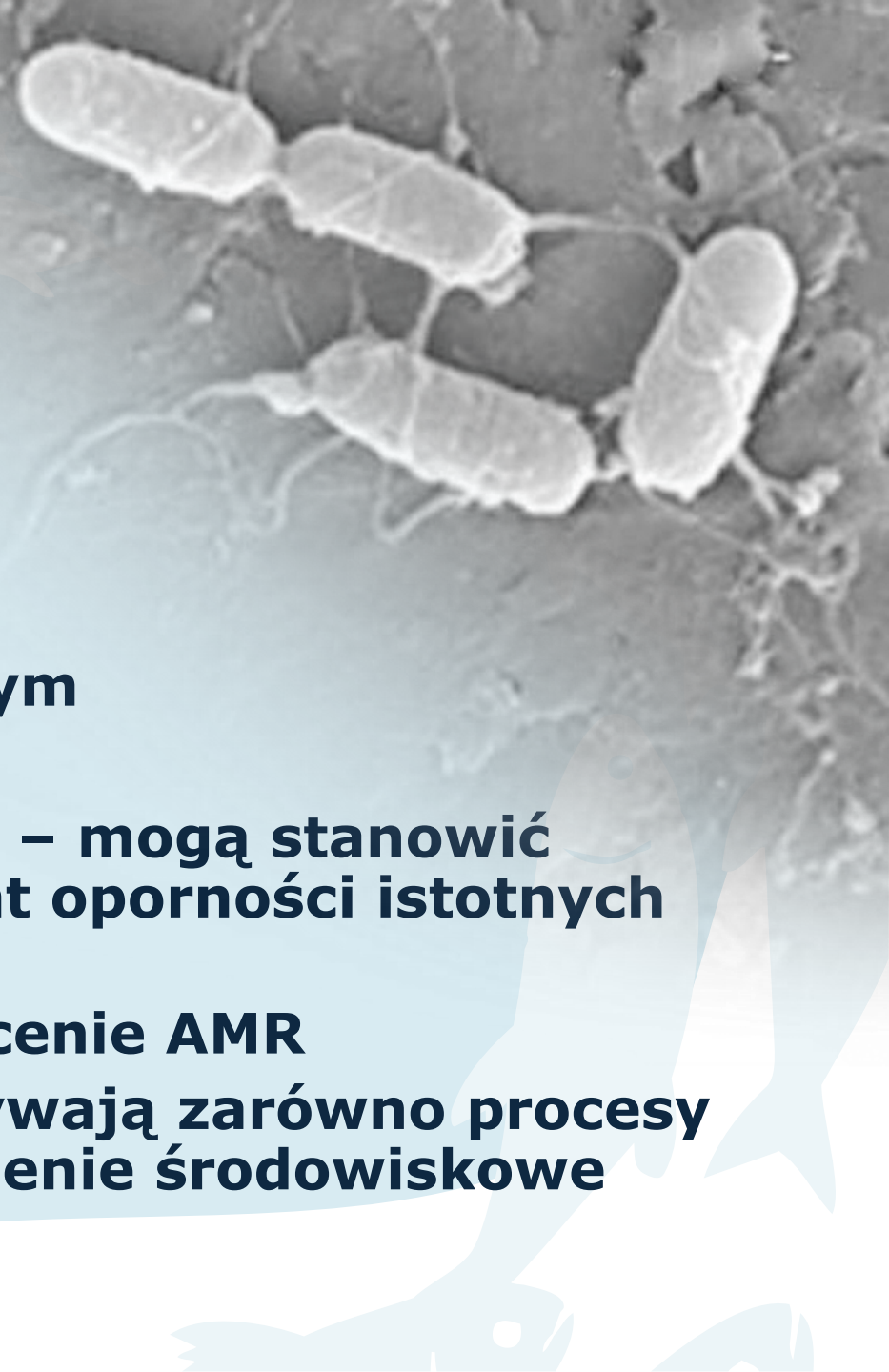
^a Department of Pharmacology and Toxicology, National Veterinary Research Institute (PIWet), Al. Partyzantów 57, 24-100, Puławy, Poland

^b Institute of Biological Bases of Animal Production, University of Life Sciences in Lublin, Akademicka 13, 20-950, Lublin, Poland

Tło zagadnienia

***Aeromonas* spp.:**

- powszechnie obecne w środowisku wodnym
- związane z hodowlą ryb
- oportunistyczne patogeny ryb i człowieka – mogą stanowić rezerwuar bakterii opornych i determinant oporności istotnych w ujęciu One Health
- rola drobnoustrojów wskaźnikowych w ocenie AMR
- na obraz lekooporności tych bakterii wpływają zarówno procesy zachodzące w gospodarstwie, jak i obciążenie środowiskowe wody doprowadzanej do systemu

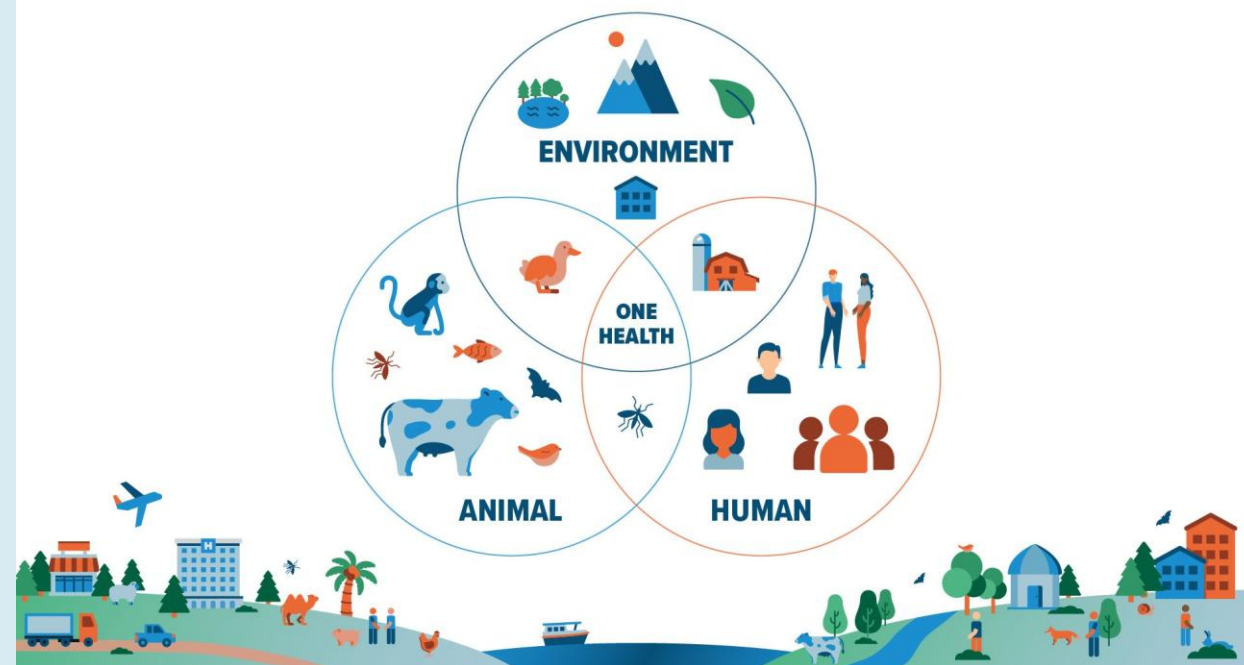


Tło zagadnienia

**Rozpoznanie lokalnych wzorców
lekooporności u wybranych
drobnoustrojów środowiskowych**

Monitoring i działania zaradcze

**Ograniczenie ryzyka związanego
z antybiotykoopornością**



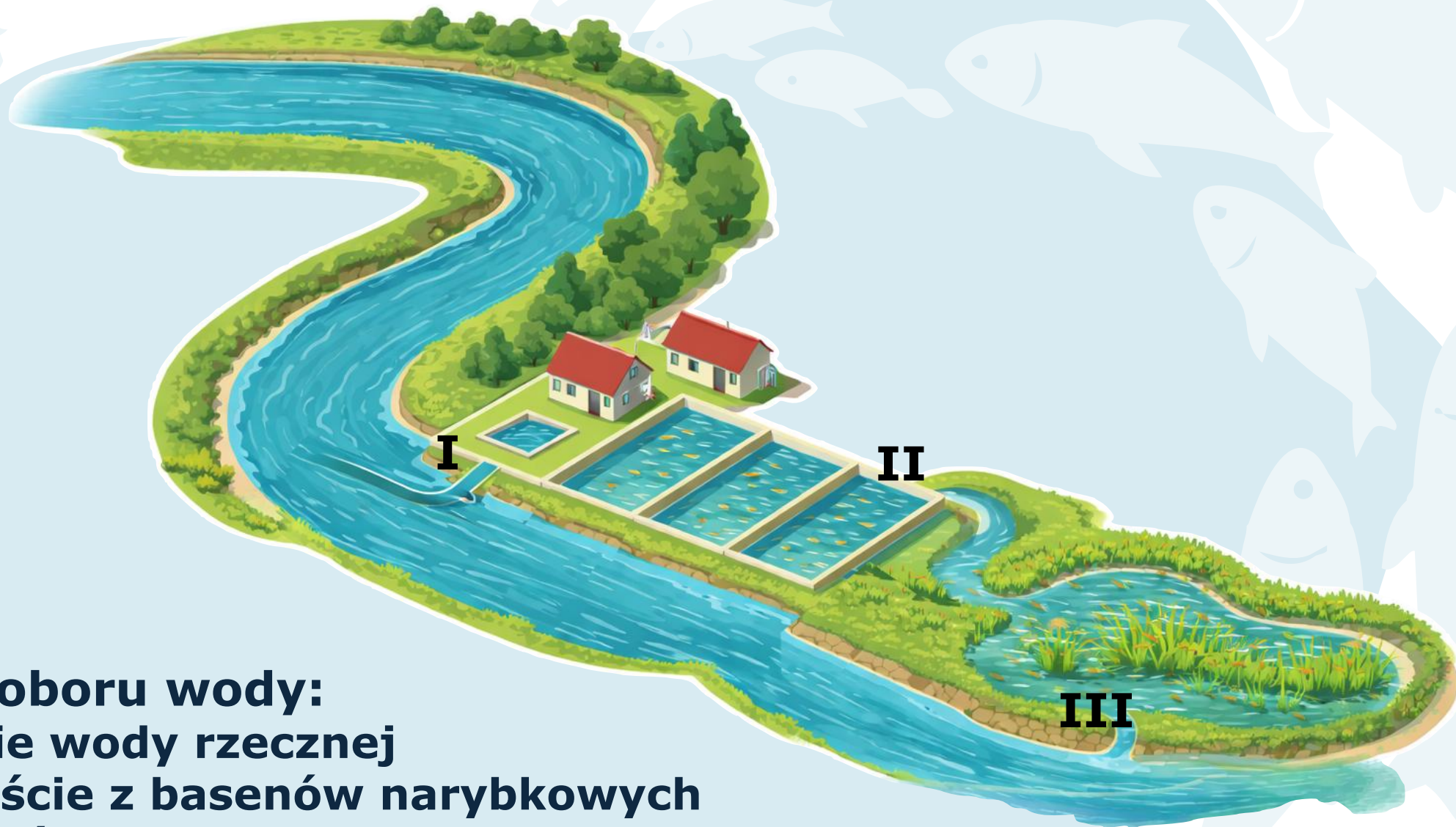
<https://prezode-initiative.org/en/one-health/>

CEL BADAŃ

**Określenie profili
lekooporności bakterii
Aeromonas spp. izolowanych
ze środowiska wodnego
towarzyszącego hodowli ryb
łososiowatych**

- **2 hodowle zlokalizowane w różnych częściach Polski**
- podobny profil produkcji (ikra → ryba towarowa)
 - podobna technologia produkcji (woda głębinowa / rzeczna)





3 punkty poboru wody:

I - ujęcie wody rzecznej

II - wyjście z basenów narybkowych

III - wyjście z gospodarstwa do rzeki za laguną

Woda i osady

Posiew i izolacja
bakterii

Rozcieńczenia:
1:1; 1:10; 1:100
Agar odżywczy z dodatkiem
5% krwi końskiej

Identyfikacja
bakterii
Aeromonas spp.

Barwienie Grama,
API 20NE

Lekooporność
metoda
dyfuzyjno-
krażkowa

Metoda dyfuzyjno-krażkowa, Mueller Hinton
OT (oskytetracyklina), FFC (florfenikol)
ENR (enrofloksacyna), UB (flumechina)
S3 (sulfonamidy), SXT (sulfonamidy trimetoprim)

Materialy i metody

Izolacja
genomowego DNA

Izolacja
plazmidowego
DNA

Metoda dyfuzyjno-krażkowa: kryteria interpretacji

Oporność fenotypową klasyfikowano na podstawie przyjętych punktów odcięcia:

OT ≤ 23 mm

FFC ≤ 25 mm

ENR ≤ 28 mm

UB ≤ 28 mm

S3 ≤ 28 mm

SXT ≤ 20 mm

Aeromonas spp.

Expert Rules and Expected Phenotypes

Guidance documents

EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 16.0, valid from 2026-01-01

For abbreviations and explanations of breakpoints, see the Notes sheet

MIC determination (broth microdilution according to ISO standard 20776-1)

Medium: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth

Inoculum: 5×10^5 CFU/mL

Incubation: Sealed panels, air, $35 \pm 1^\circ\text{C}$, 18±2h

Reading: Unless otherwise stated, read MICs at the lowest concentration of the agent that completely inhibits visible growth. See "EUCAST Reading Guide for broth microdilution" for further information.

Quality control: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. For agents not covered by this strain, see EUCAST QC Tables.

Disk diffusion (EUCAST standardised disk diffusion method)

Medium: Mueller-Hinton agar

Inoculum: McFarland 0.5

Incubation: Air, $35 \pm 1^\circ\text{C}$, 18±2h

Reading: Unless otherwise stated, read zone edges as the point showing no growth viewed from the back of the plate against a dark background illuminated with reflected light. See "EUCAST Reading Guide for disk diffusion" for further information.

Quality control: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. For agents not covered by this strain, see EUCAST QC Tables.

Cephalosporins	MIC breakpoints (mg/L)			Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)			Notes
	S ≤	R >	ATU		S ≥	R <	ATU	
Cefepime	1	4		30	27	24		Numbered notes relate to general comments and/or MIC breakpoints. Lettered notes relate to the disk diffusion method.
Ceftazidime	1	4		10	24	21		

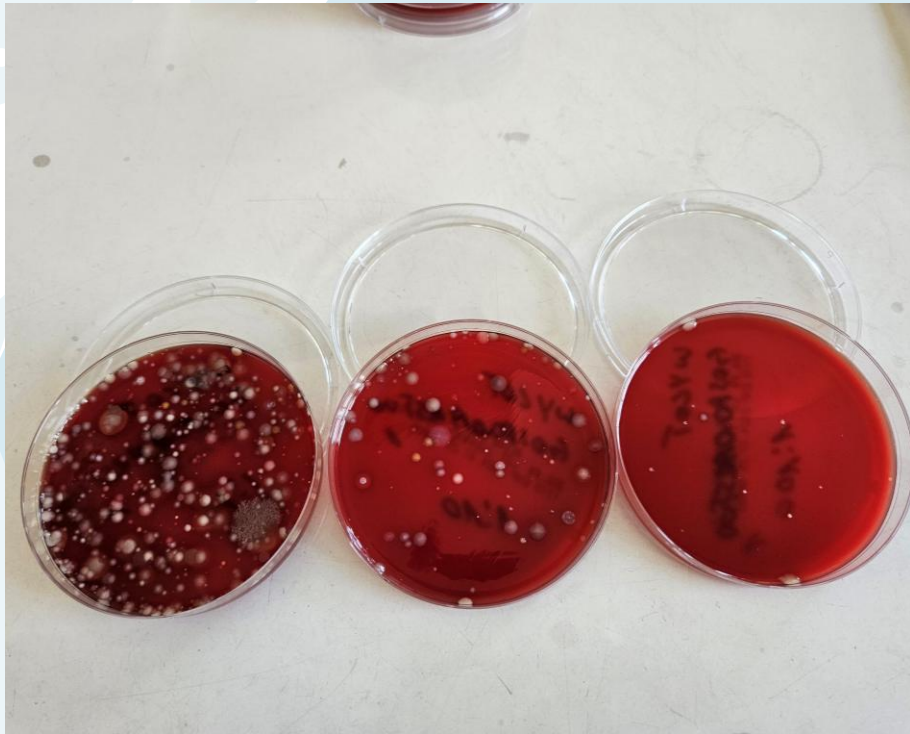
Monobactams	MIC breakpoints (mg/L)			Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)			Notes
	S ≤	R >	ATU		S ≥	R <	ATU	
Aztreonam	1	4		30	29	26		Numbered notes relate to general comments and/or MIC breakpoints. Lettered notes relate to the disk diffusion method.

Fluoroquinolones	MIC breakpoints (mg/L)			Disk content (µg)	Zone diameter breakpoints (mm)			Notes
	S ≤	R >	ATU		S ≥	R <	ATU	
Ciprofloxacin	0.25	0.5		5	27	24		Numbered notes relate to general comments and/or MIC breakpoints. Lettered notes relate to the disk diffusion method.
Levofloxacin	0.5	1		5	27	24		

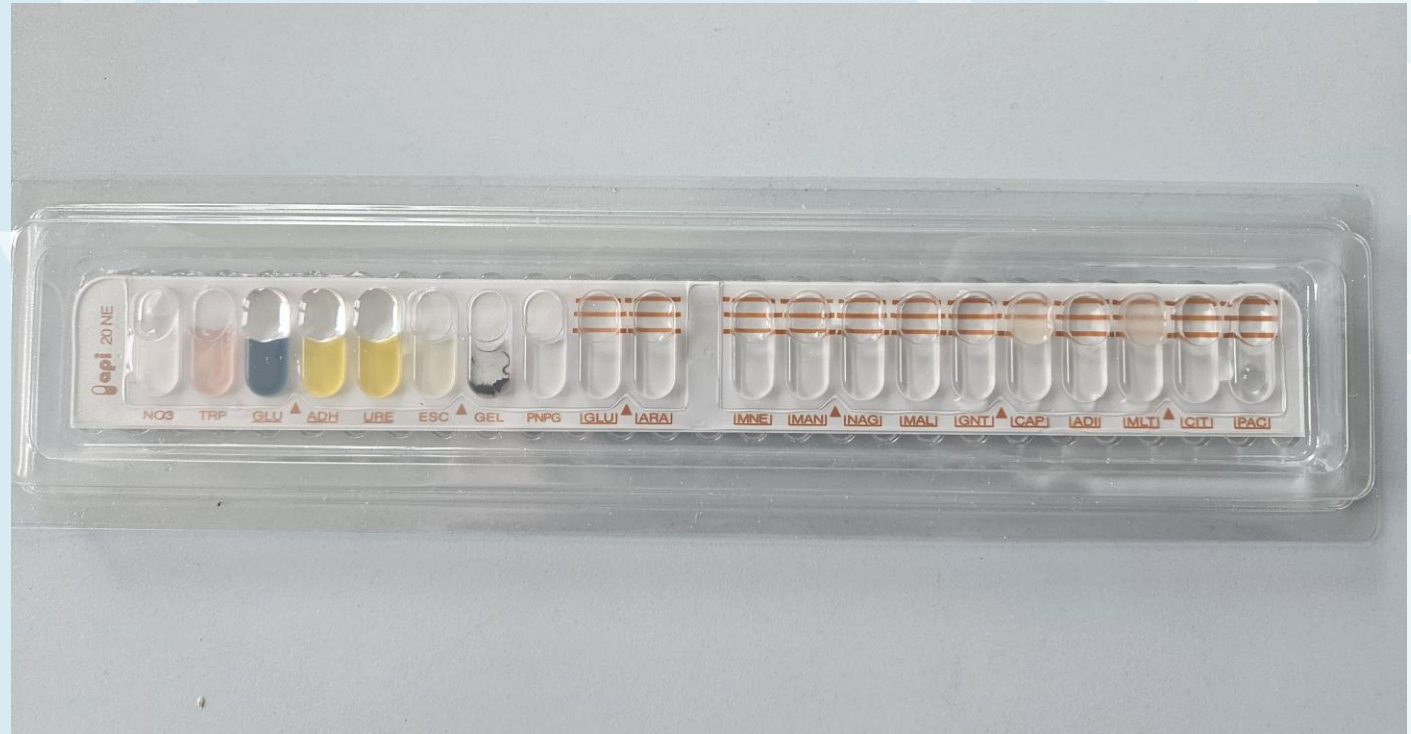
Izolacja genomowego DNA

Obecność wybranych genów oporności w DNA genomowym związanych z wybranymi substancjami przeciwbakteryjnymi analizowano metodą *real-time* PCR przy użyciu EvaGreen qPCR Mix (Solis BioDyne)

Skrót	ENR	UB (FLU)	OT (OXT)	FFC (FLO)	S3 (SUL)	STX
Nazwa antb.	fluorochinolony	flumechina (chinolony)	tetracykliny	amfenikole	sulfonamidy	sulf +trimetroprim
Nazwa genu	qnrA	qepA	tetA	floR	sul1	dfrA1
	qnrB	aac(6')lb-cr	tetB		sul2	dfrA12
	qnrC	qnrA	tetD		sul3	
	aac(6')lb-cr	qnrB	tetM			



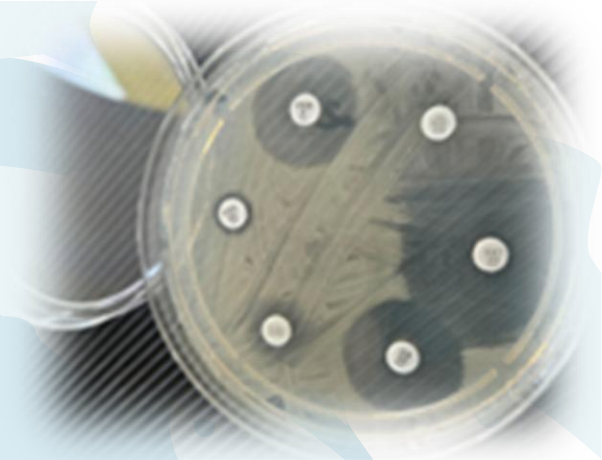
Rozcieńczenia:
1:1; 1:10; 1:100



API 20NE

WYNIKI

Izolacja bakterii *Aeromonas* spp.



Gospodarstwo I

n=63

ABR: 41/63 (65,1%)

MDR: 9/63 (14,3%)

Gospodarstwo II

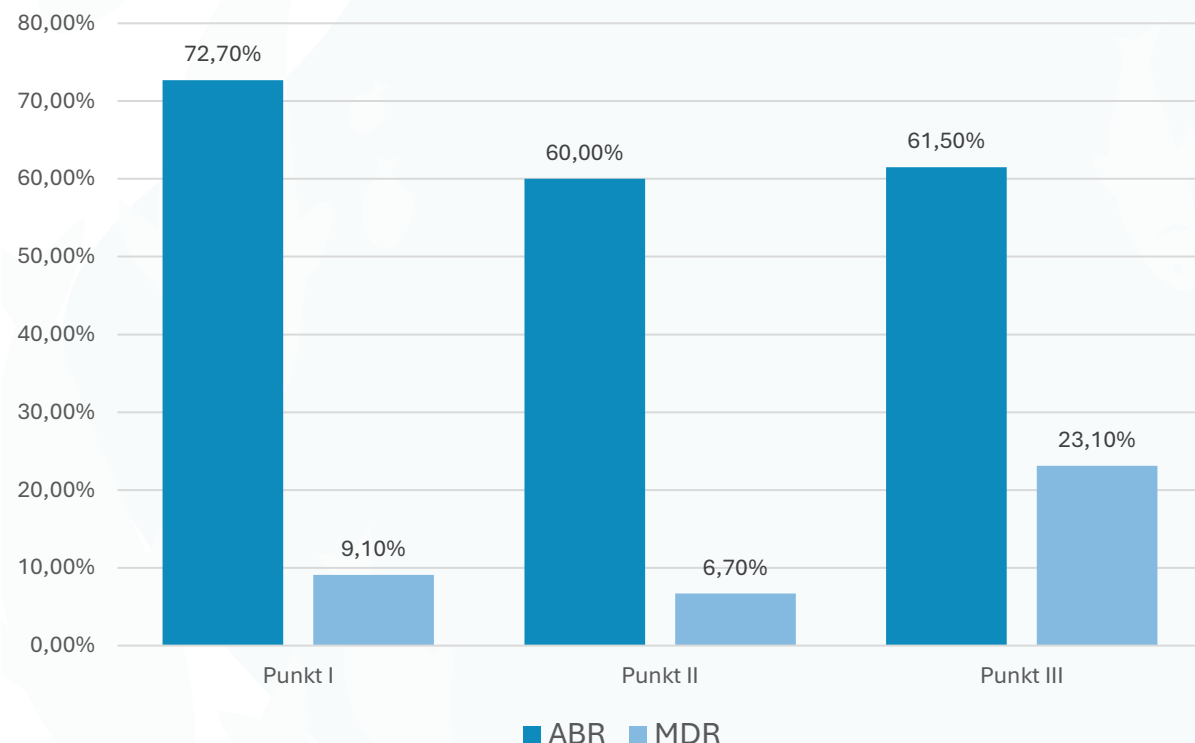
n=35

ABR: 17/35 (48,6%)

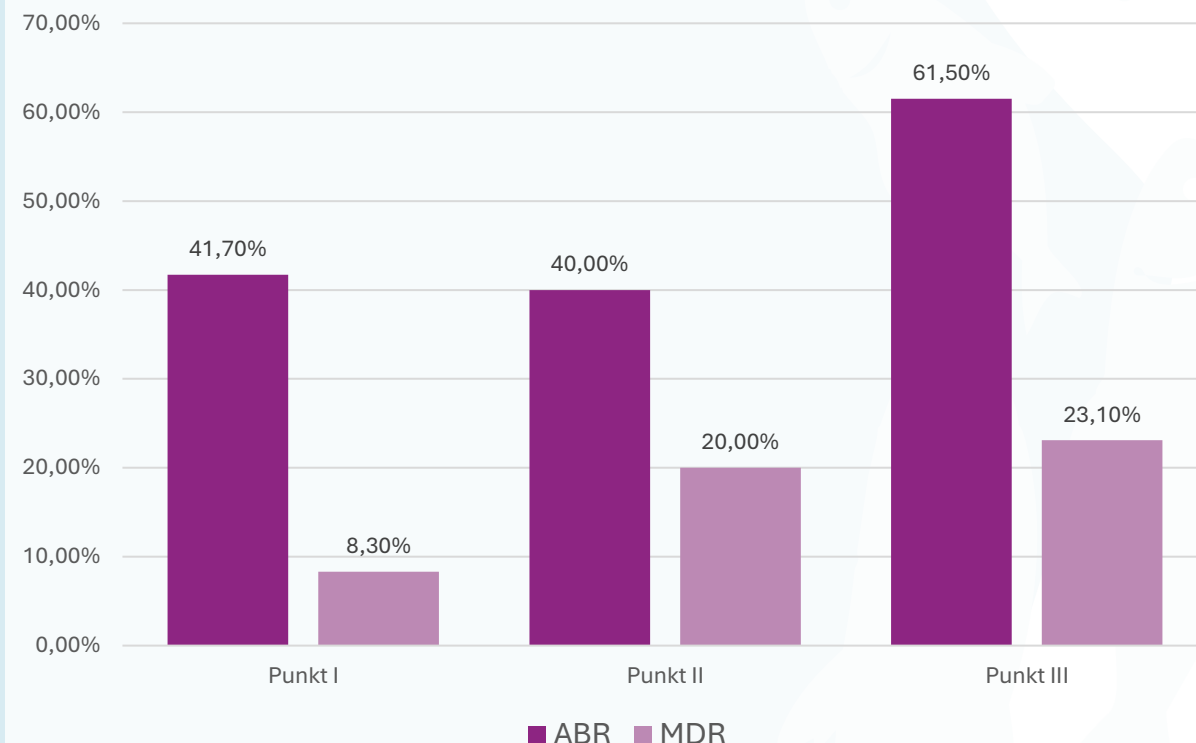
MDR: 6/35 (17,1%)

ABR - Antibiotic-Resistant - oporność na ≥ 1 substancję
MDR - Multidrug-Resistant - oporność na ≥ 3 substancji

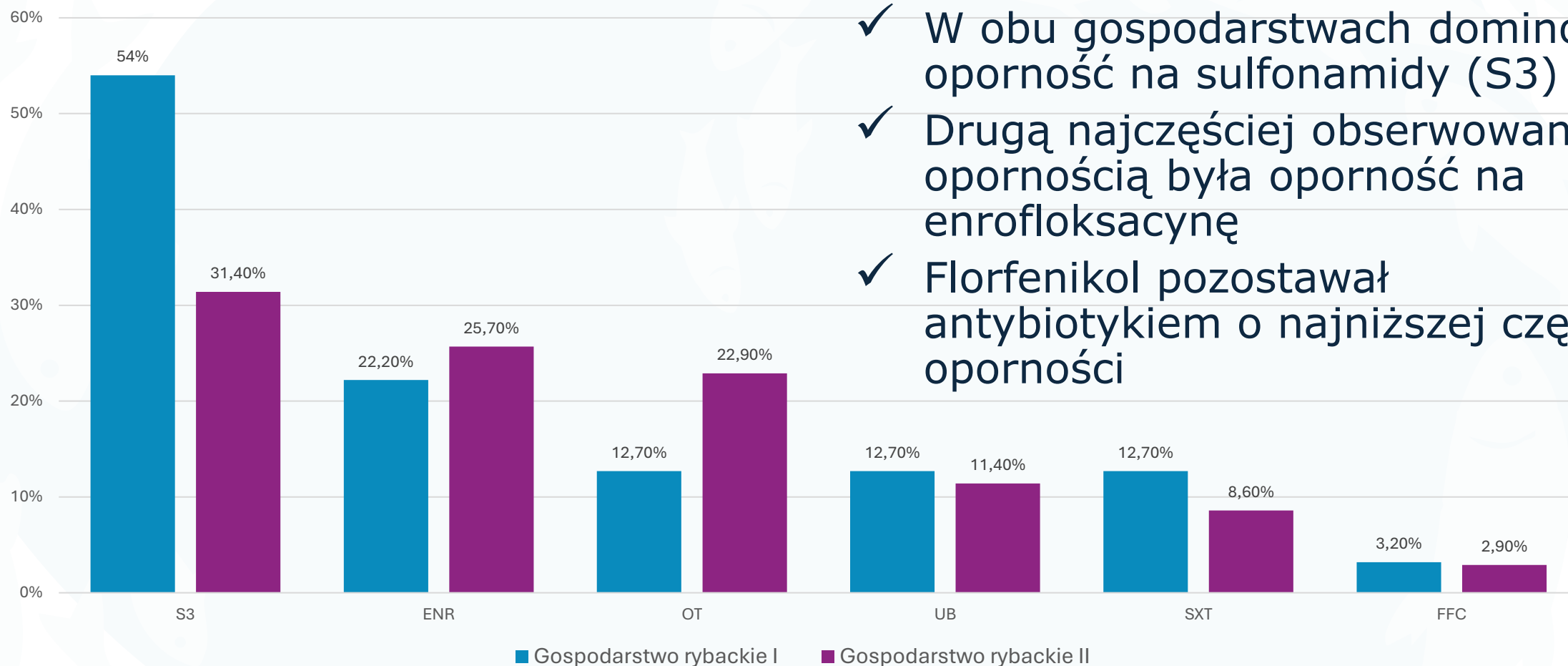
Gospodarstwo I



Gospodarstwo II



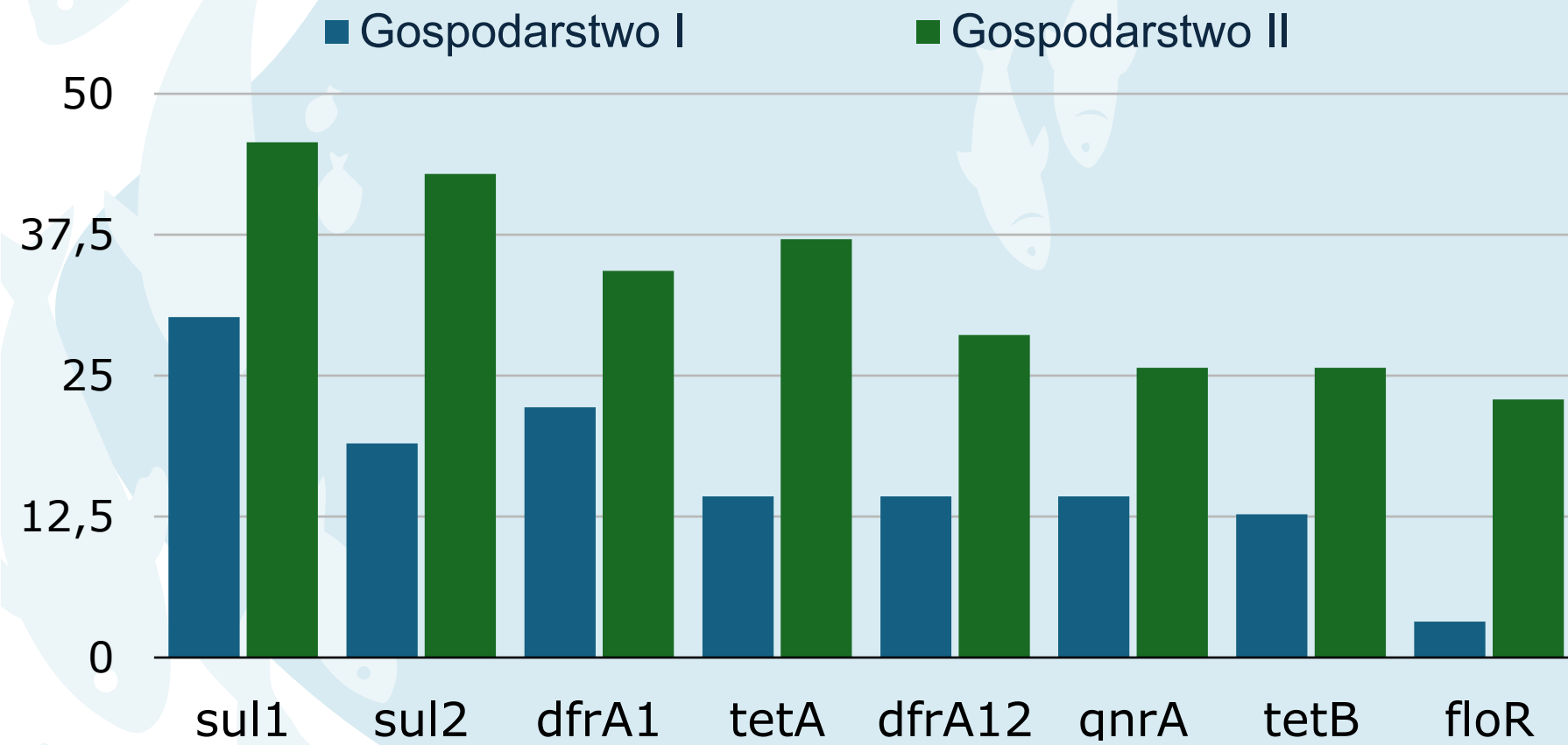
**Zestawienie lekooporności wyizolowanych bakterii *Aeromonas* spp.
w punktach poboru prób**



- ✓ W obu gospodarstwach dominowała oporność na sulfonamidy (S3)
- ✓ Drugą najczęściej obserwowaną opornością była oporność na enrofloksacynę
- ✓ Florfenikol pozostawał antybiotykiem o najniższej częstości oporności

Odsetek izolatów wykazujących oporność fenotypową
w poszczególnych gospodarstwach (%)

Oporność genotypowa *Aeromonas* spp.



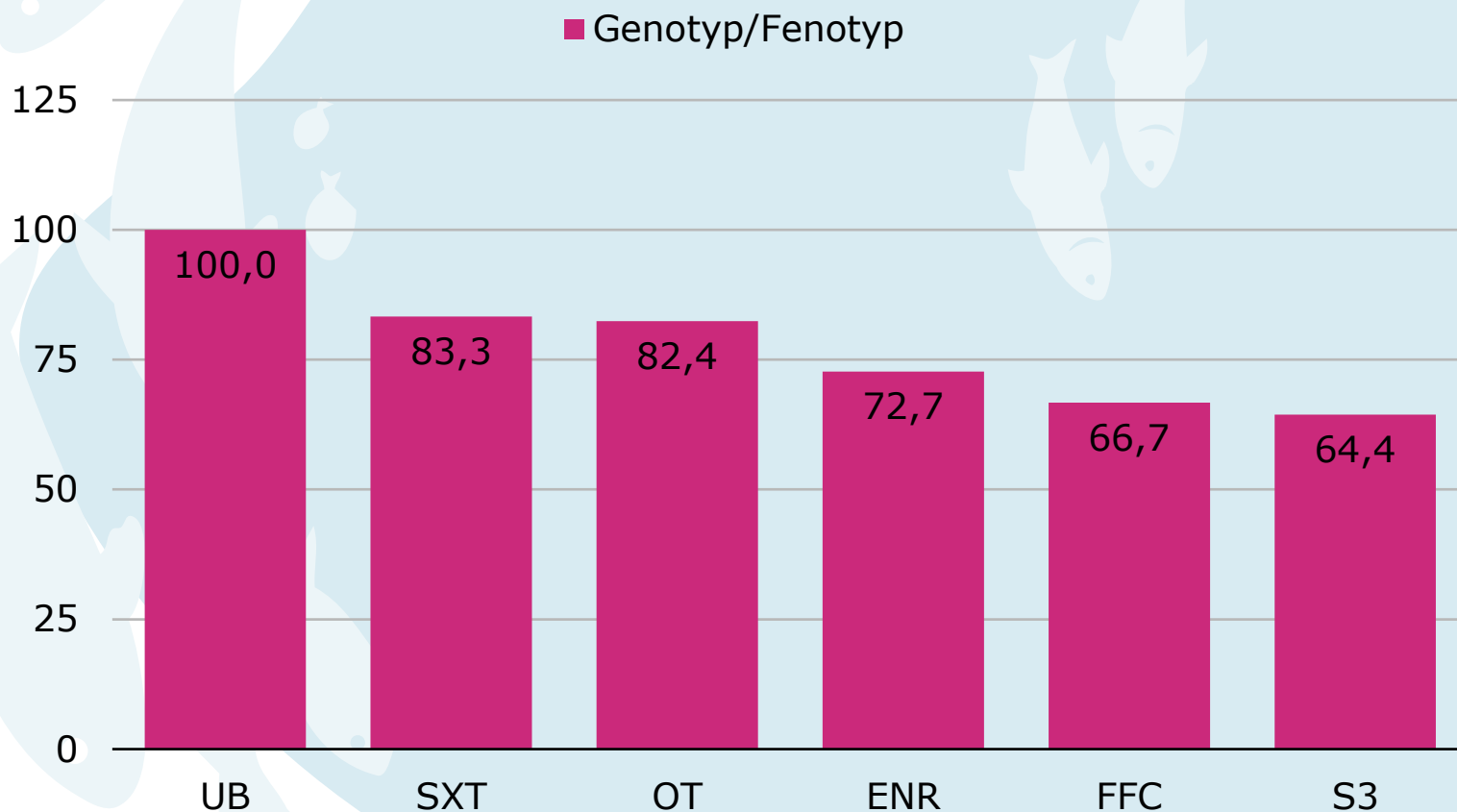
✓ Najczęściej wykrywano geny *sul1*, *sul2*, *dfrA1*, *tetA*, *qnrA* oraz *dfrA12*

✓ Gospodarstwo II charakteryzowało się większym nagromadzeniem ARG mimo niższego udziału izolatów fenotypowo opornych

Częstość występowania wybranych genów oporności w izolatach *Aeromonas* spp. w dwóch gospodarstwach (%)

Porównanie oporności genotypowej i fenotypowej badanych izolatów

WYNIKI



- ✓ Najwyższą zgodność stwierdzono dla flumechiny oraz trimetoprimu z sulfametoksazolem (100 i 83,3%)
- ✓ Najniższą zgodność ogółem obserwowano dla sulfonamidów (64,4%)

Zgodność między opornością fenotypową a obecnością odpowiadających genów oporności wśród izolatów *Aeromonas* spp. (%)

Zgodność między opornością fenotypową a profilem genotypowym

74,8 %

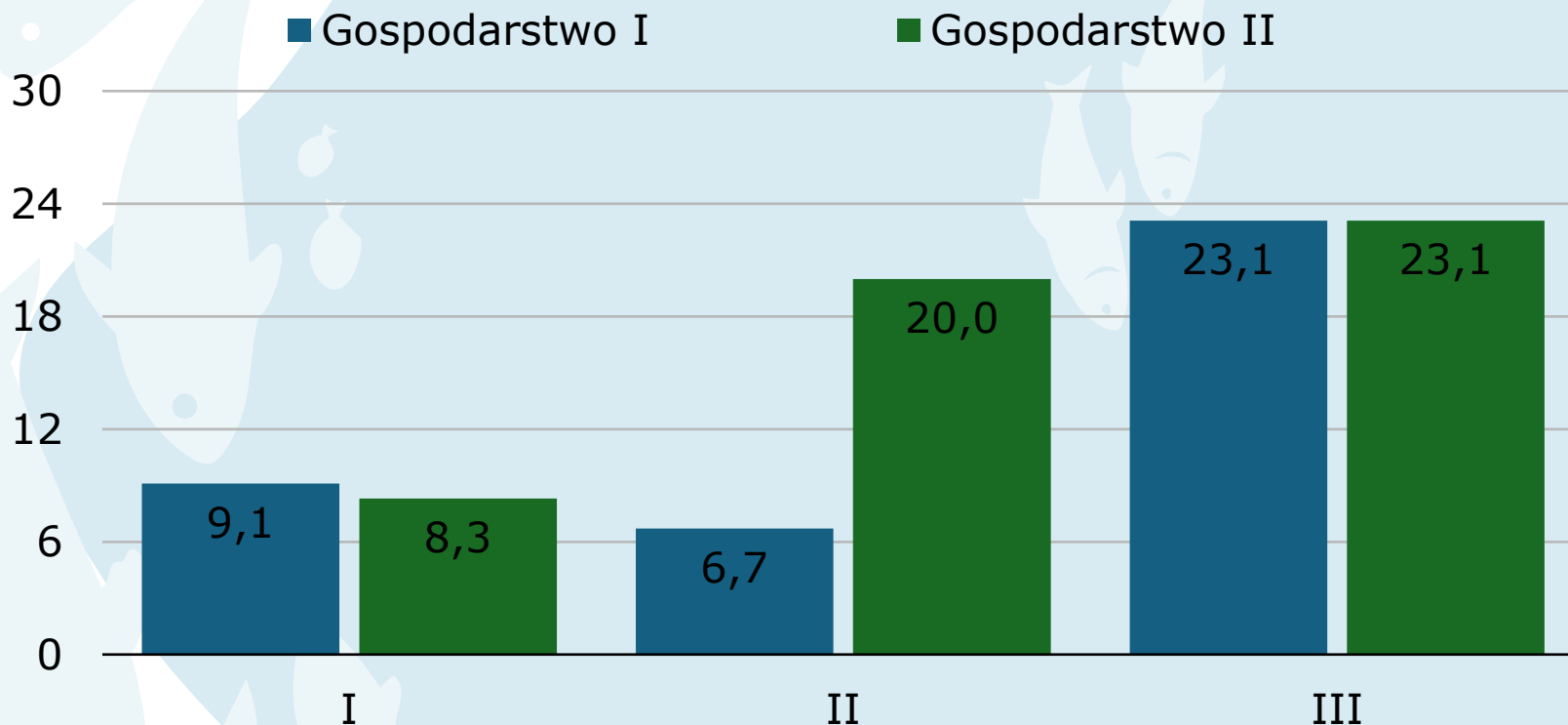
łączna zgodność
genotyp/fenotyp

100 %

łączna zgodność
genotyp/fenotyp wśród
izolatów MDR

Odsetek izolatów MDR *Aeromonas* spp. w poszczególnych miejscach próbkobrania

WYNIKI



- ✓ Odsetek MDR na wlocie i wylocie wody z obydwu gospodarstw są takie same
- ✓ Końcowy odcinek systemu produkcji może być miejscem kumulacji bakterii wielolekoopornych
- ✓ W Gospodarstwie II widoczny jest wzrost odsetka izolatów MDR u wyjścia z basenów narybkowych.

Odsetek izolatów MDR w poszczególnych punktach poboru prób (%)

I - Ujęcie wody rzecznej

II - Wyjście z basenów narybkowych

III - Odpływ wód poprodukcyjnych do rzeki za laguną

WNIOSKI

- ❑ W każdym punkcie poboru stwierdzono znacznie większy udział szczepów ABR niż MDR
- ❑ Najwyższy udział szczepów MDR odnotowano przy odpływie wody, poniżej laguny, co wskazuje, że w lagunach może dochodzić do kumulacji lekooporności
- ❑ Częste występowanie lekooporności na sulfonamidy może odzwierciedlać powszechność tego zjawiska w środowiskach wodnych i sugerować jego egzogenne pochodzenie w systemie akwakultury
- ❑ Obecność determinant oporności nie zawsze przekładała się na ujawniony fenotyp lekooporności

WNIOSKI

- Ocena AMR u *Aeromonas* spp. powinna łączyć badania fenotypowe i molekularne oraz obejmować krytyczne punkty systemu wodnego gospodarstwa, które mogą stanowić miejsca kumulacji bakterii opornych i genów oporności
- Każde gospodarstwo rybackie wymaga indywidualnej oceny z uwzględnieniem warunków środowiskowych i jakości mikrobiologicznej wody.

Projekt MINIATURA 8



„Ocena zjawiska antybiotykooporności wśród bakterii *Aeromonas* spp., obecnych w środowisku wodnym akwakultury pstrąga tęczowego w Polsce”

2024/08/X/NZ7/01594

dr Przemysław Racewicz



51 SZKOLENIE
KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB
ŁOSOSIOWATYCH



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



**Dziękuję
Hodowcom
za współpracę,
otwartość i możliwość
wykonania badań**



51 SZKOLENIE
KONFERENCJA
HODOWCÓW RYB
ŁOSOSIOWATYCH



Fundusze Europejskie
dla Rybactwa



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

