

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



Využití terapie za pomoci ryb *Garra rufa* pro humánní léčbu

Bakalářská práce

Autor práce: Tomáš Nacvalač

Vedoucí práce: Mgr. Vladimír Vrabc, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Využití terapie za pomoci ryb *Garra rufa* pro humánní léčbu" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 15.4.2017

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval Mgr. Vladimíru Vrabcovi, Ph.D., který ochotně vedl a konzultoval mou bakalářskou práci. Dále bych poděkoval Bc. Nikole Pfauserové za cenné rady a odborný dohled při psaní této práce. A v neposlední řadě děkuji Ing. Jaroslavu Macenauerovi, který mi poskytl cenné informace ohledně terapie v České republice.

Využití terapie za pomoci ryby *Garra rufa* pro humánní léčbu

Garra rufa obývá biotopy řek, malých vodních toků, nádrží a jezer a jedná se o málo dotčený druh. Její původní výskyt je v Íránu, Iráku, Sýrii a Turecku. Žije na dně potoků a řek, kde se pomocí adhezivního orgánu přisává ke dnu a kamenům. Jelikož má *Garra rufa* malý pohlavní dimorfismus, je její rozmnožování v zajetí složitější. Pro efektivní rozmnožení je důležité připravit třecí nádrž tak, aby se vytvořily podmínky co nejvíce podobné těm v přirozeném prostředí, jako je například období dešťů.

Garra rufa se stává v poslední době velmi oblíbenou, a to díky svému využití v ichtyoterapii a v zařízeních, kde se provádí takzvaná „rybí pedikúra“. V některých zemích jsou dokonce terapie za pomoci této ryby zakázány a to z důvodu nedostatečné hygieny a často špatných chovných podmínek.

Bakalářskou práci na toto téma jsem si zvolil proto, abych soustředil a posbíral co nejvíce vědecky podložených informací ke zlepšení názoru na tento druh terapie. V práci uvádím použití vhodné techniky pro použití v nádržích, která zvyšuje bezpečnost a kvalitu prováděných procedur jak pro ryby, tak pro osoby, které podstupují celkovou, či lokální terapii pomocí ryby *Garra rufa*.

Z hlediska rizika léčby jsem vycházel ze zdrojů, při kterých vědecké týmy testovaly vodu v nádržích na přítomnost bakterií, jako jsou například *Mycobacterium marinum*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* či *Staphylococcus aureus*. A uvedl možné druhy přenosu infekcí na osoby podstupující terapii.

Ne všechny způsoby využití této ryby jsou pouze negativní. Některé mohou naopak být velmi užitečné. Například při ichtyoterapii, léčbě osob, trpících lupénkou, atopickým ekzémem, či akné. Výsledky těchto terapií jsou velmi dobré a při dodržování nezbytných hygienických a bezpečnostních doporučení jsou bezpečné. V oboru akvaristiky je tato ryba také přínosem, a to zejména pro odstraňování řasy a podle jedné studie pozitivně ovlivňuje léčení ostatních druhů ryb v případě propuknutí infekce v nádrži.

Práce pojednává i o současném stavu v chovu a bezpečnosti výše zmíněných procedur v České republice. Tuto problematiku jsem zpracoval podle Ing. Jaroslava Macenauera, který mi poskytl informace o původu ryb k nám dovážených, správném výběru vybavení nádrže a o péči, kterou je nutné provádět při zmiňovaných procedurách.

Klíčová slova: Ichthyoterapie, *Garra rufa*, aplikace, rizika, humánní medicína

Use of therapy with *Garra rufa* fish for human treatment

Garra rufa inhabits the biotopes of the rivers, small streams, reservoirs and lakes and it does not belong to the popular ones. Its original occurrence is in Iran, Iraq, Syria and Turkey. The fish lives at the bottom of streams and rivers, where the adhesive body sticks to the tissue to the bottom and rocks. Due to its low sexual dimorphism, its reproduction in captivity is more complicated. For its more effective reproduction, it is appropriate to prepare the spawning tank and induce suitable conditions (similar to conditions in the natural environment), like for example the rainy season.

Garra rufa has currently become very popular, thanks to its use in ichthyotherapy and also that it is performed in so-called "fish pedicure". In some countries, this therapy is prohibited due to insufficient hygiene and poor rearing conditions.

I have chosen the topic of my Bachelor thesis to focus and collect scientific evidence of information to improve the opinion of this type of therapy. In the work I cite use of the appropriate technical equipment used in the tanks, which increase the safety and quality of procedures for the fish as well as for people who pass through the general or local therapy with the help of *Garra rufa* fish.

I processed the study also from the point of view of the risk of treatment when scientific teams tested the water in the tanks for the presence of bacteria, such as *Mycobacterium marinum*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli* or *Staphylococcus aureus*. And said possible modes of transmission of infection to the person undergoing the therapy.

Not all uses of this fish are the only negative. Some may on the contrary be very useful. For example: Ichthyotherapy, the treatment of persons suffering from Psoriasis, Atopic Dermatitis, or Acne. The results of these therapies are very good and in compliance with the necessary health and safety recommendations are safe

This fish is also beneficial in the field of aquarium hobby, especially for removing algae. According to one study, mentioned in my Bachelor thesis, *Garra rufa* positively affects the treatment of different species of fish in case of an outbreak of infection in the tank.

The work discusses about the current situation in the breeding and safety of the above-mentioned procedures in the Czech Republic. I processed this issue based on Ing. Jaroslav Macenauer experiences. He has provided me with the information about the origin of the imported fish, proper selection of tank equipment and about the level of care that is necessary to carry out during the procedures.

Keywords: ichthyotherapy, *Garra rufa*, application, risks, human medicine

Obsah

1. Úvod	7
2. Cíl práce.....	8
3. Přehled literatury.....	9
3.1 Garra rufa.....	9
3.1.1 Taxonomické zařazení:	9
3.1.2 Popis.....	10
3.1.3 Rozšíření	11
3.1.4 Způsob život a potrava.....	12
3.1.5 Využití	13
3.1.6 Rozmnožování	14
3.1.7 Karyotyp	15
3.1.8 Chov v zajetí	16
3.1.9 Technické vybavení	17
3.1.10 Kritéria kvality vody pro chov <i>Garra rufa</i>	20
3.1.11 Rybí pedikúra ve světě.....	22
3.2 Ichtyoterapie	23
3.2.1 Léčená onemocnění	23
3.2.2 Ryby <i>Garra rufa</i> v ČR.....	24
3.2.3 Proces terapie	25
3.2.4 Technické vybavení pro tyto procedury podle Takáce (2014).	26
3.2.5 Rizika léčby	27
3.2.6 Výzkum kvality léčby	30
3.2.7 Enzym dithranol v léčbě	30
4. Diskuse	32
5. Závěr	33
6. Seznam literatury.....	34
7. Přílohy.....	40

1. Úvod

Podnětem pro zpracování tohoto tématu byla má dlouhodobá praxe v oboru akvaristiky a snaha sjednotit dostupné vědecké informace týkající se ryby *Garra rufa* a jejího vlivu na člověka. Tuto rybu zná mnoho lidí díky její celosvětové popularitě, a to ve spojení s rybí pedikúrou. Během této kosmetické procedury ponořuje klient nohy do nádrže s živými rybami a zažívá odlišný pocit od pedikúry klasické.

V této práci je ryba systematicky zařazena, popsána a je zde poukázáno na mnohem efektivnější možnosti, než je pouze „rybí pedikúra“, a to na ichtyoterapii. Tato metoda může pomoci lidem, trpícím lupénkou, atopickým ekzémem, akné a dalšími zdravotními problémy. Práce je také zaměřena na celkovou bezpečnost a současnou praxi při takto prováděných terapiích.

Vzhledem k tomu, že se o rybě *Garra rufa* šíří mnoho populárních článků, které poukazují na nebezpečí přenosu chorob a infekcí na straně druhé nás majitelé kosmetických salónů lákají k využití služeb s touto rybou spojených. V této práci jsou shromážděny informace z několika vědeckých prací, díky kterým se čtenář může dozvědět nové informace zpracované vědeckými pracovníky a osobami, které se s rybou setkávají i v praxi. Na základě toho si může každý vytvořit komplexní náhled na situaci v této oblasti.

2. Cíl práce

Cílem mé bakalářské práce bylo shromáždit veškeré již publikované informace, které se věnují rybě *Garra rufa* a ichtyoterapii. Jelikož se i v České republice „rybí pedikúra“ stává stále více populární záležitostí, tak bych rád shrnul veškeré informace, týkající se bezpečnosti a způsobu terapie a obecných informací o rybě. Dále bych chtěl poukázat na úspěšnost léčby lupénky, atopického ekzému a dalších nemocí za pomoci této rybí terapie.

3. Přehled literatury

3.1 *Garra rufa*

Gara rudohnědá *Garra rufa* (Heckel, 1843) je velmi rozšířený druh ryby a obývá širokou škálu stanovišť (Freyhof, 2014). Často obývá biotopy řek, malý toků, malých nádrží a jezer (Froese, 2010). Podle IUCN (International Union for Conservation of Nature) se jedná o málo dotčený druh (Freyhof, 2014).



Obrázek 1: *Garra rufa*

Zdroj: <http://www.briancoad.com/species%20accounts/Cyprinidae%20Garra%20to%200Vimba.htm>

3.1.1 Taxonomické zařazení:

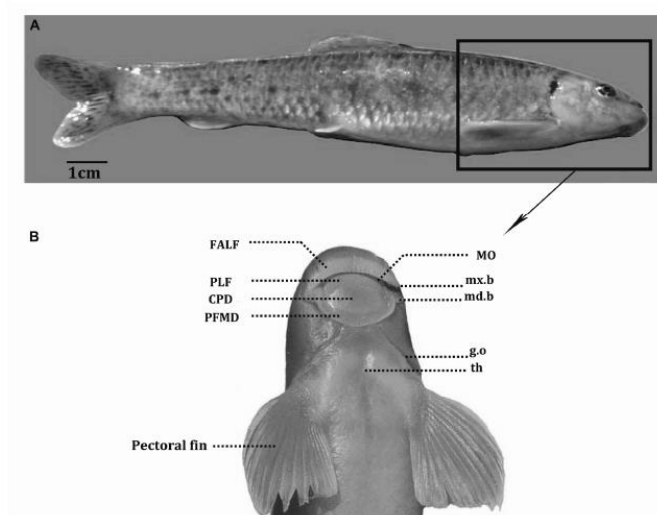
Říše:	<i>Animalia</i>	živočichové
Kmen:	<i>Chordata</i>	strunatci
Třída:	<i>Actinopterygii</i>	paprsoploutví
Řád:	<i>Cypriniformes</i>	máloostní
Čeleď:	<i>Cyprinidae</i>	kaprovití
Rod:	<i>Garra</i>	gara

(Hanel et Novák, 2002)

3.1.2 Popis

Garra rufa je jeden z nejmenších zástupců z čeledi Cyprinidae a je jedním ze 73 druhů rodu *Garra*. Základními charakteristickými znaky je hlava bez šupin, dva páry vousků a ventrálně postavená ústa. Tělo má úzké a protáhlé. Typická barva je od hnědozelené, přes tmavě zelenou až po žluté jedince s bílým břichem. Velikost ryby se liší dle výskytu, v průměru však dosahuje velikosti 13-24 cm (Coad, 2014). *Garra rufa* žije na dně potoků a řek, kde se pomocí adhezivního orgánu přisává ke dnu a kamenům. Adhezivní orgán se skládá ze 4 částí:

- A. Třásňovitý/vroubkovaný přední retní ohyb (FALF)
- B. Zadní retní ohyb (PLF)
- C. Tvrdá část disku (CPD)
- D. Zadní volný lem disku (PFMD)



Obrázek 2: Adhezivní orgán

Zdroj: Micro-structure Consideration of the Adhesive Organ in Doctor Fish, *Garra rufa* (Teleostei; Cyprinidae) from the Persian Gulf Basin

U všech druhů *G. ruffy* lze nalézt adhezivní orgán, který se skládá ze čtyř základních jednotek. Spletitý povrch adhezivního orgánu postrádá na jeho hranicích výrůstky. Morfologicky zahrnují přední a zadní retní složky. Vpředu jsou ústa obklopena FALF, která nese velký počet zadně orientovaných vroubků. Kromě toho že jsou vroubky součástí adhezivního orgánu, kryjí ústa a pravděpodobně zajišťují filtraci potravy. Nekrytá část FALF má několik malých sférických a cylindrických výrůstků a některé z nich mohou být

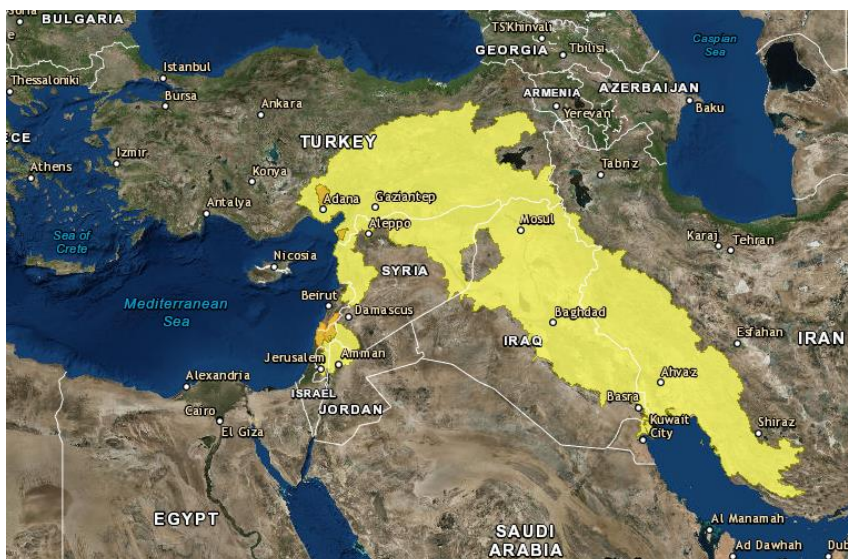
prodloužené. Hned za ústy se nachází drtící talíř, který je krytý PLF. PLF také obsahuje určitý počet semisférických výrůstků podobné jako má FALF, ale do jisté míry větší. Nejvíce objevující se část adhezivního orgánu je oválná oblast s hladkým povrchem, která se nazývá CPD a navazuje na PLF. V této části se nenachází žádné šupiny, ale jsou tam malé sférické výrůstky. Všechny okrajové části CPD kromě předního lemu mají PFMD a jsou napevno přichyceny k CPD, ale vnější okraje PFMD jsou volné. V PFMD je mnoho oblých a sférických výrůstků, ale v zadní lemové části je tvar výrůstků prodloužený. Mezi těmito výrůstky jsou póry, které se otevírají a sekretují adhezivní hmotu. „Otevírání tlamy“ je lokalizováno mezi FALF a PLF. Každý výrůstek nese počet sekrečních žlázových ústrojí a eventuálně keratinizované ostny. V přední části FALF je několik otevírajících se pórů, které sekretují sliz, za účelem shromáždění částic potravy a jejich přilepení k lemu adhezivního orgánu (Teimori et al., 2011).

Garra rufa má různé druhy smyslových orgánů k detekci a využití mnoha druhů informací ve vnějším prostředí. Nejvíce citlivým orgánem jsou rty, čelo, prsní a řitní ploutev (Cinar et al. 2008).

Důležitou součástí gastrointestinálního traktu *G. rufy* jsou gastrointestinální endokrinní buňky, které jsou rozšířeny skrz celý epitel zažívacího traktu a syntetizují různé druhy gastrointestinálních hormonů a mají důležitou úlohu ve fyziologických funkcích zažívacího traktu (Bell, 1979). Bylo detekováno 8 typů endokrinních buněk, pomocí protilátek proti VIP, substance-P, histaminu, glukagonu, gastrinu, CCK-8, somatostatinu a serotoninu. Distribuce těchto zmíněných vzorků a frekvence endokrinních buněk v gastrointestinálním traktu *G. rufy* byla odlišná pro jednotlivé vzorky. Hodnoty se měřily v částech: prodloužená část jícnu, přední část střeva, střední část střeva a zadní část střeva (Kuru et al., 2010).

3.1.3 Rozšíření

Garra rufa je subtropický druh a její původní výskyt je v Íránu, Íráku, Sýrii a Turecku. Vyskytuje se například v řekách Ceyhan, Jordan, Orontes, Quwayq, Tigris či Eufrat (Coad, 2014). Jedná se o bentopelagickou rybu, která nemigruje. Jsou vysoce přizpůsobivé k vnějším podmínkám (teplota, hodnota kyslíku, čistota). *G. rufa* je často označovaná jako “Doctor fish” díky svému využití v humánní medicíně a kosmetických salónech (Freyhof, 2014).



Obrázek 3: Výskyt

Zdroj: <http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=19086922>

3.1.4 Způsob život a potrava

G. rufa tvoří hejna v poměru 1:1 (samci: samice) a vyhledává tekoucí toky s velkým množstvím úkrytů. Jako úkryty využívá kameny a vegetaci (Coad, 2014). Její potravu tvoří převážně rozsivky, řasy, malí členovci, prvoci a vířníci (Yalcin-Özdilek et Ekmekci, 2006).

Oksala et al. (2014) provedl výzkum, kdy zkoumal přítomnost proteinů teplotního šoku (Heat Shock Proteins – HSPs) u ryb *G. rufa*. Provedl srovnání jedinců žijících ve vodě s relativně vysokou teplotou – 34°C (±0,6 °C) a jedinců žijících v řece s průměrnou teplotou vody 25 °C (±4,7 °C). Zjistil, že hodnoty HSPs byly vyšší u ryb žijících ve vodách se zvýšenou teplotou, ve srovnání s jedinci žijícími ve vodě s teplotou nižší.

Proteiny tepelného šoku (HSPs) jsou detekovány ve všech buňkách, prokaryotických i eukaryotických. *In vivo* a *in vitro* studie ukázaly, že různé stresory přechodně zvyšují produkci HSP jako ochranu před škodlivými faktory. Ke zvýšení hladiny HSPs dochází působením vlivů okolního prostředí, infekcích, ale i při normálních fyziologických procesech. Většina z interakcí HSPs s jinými proteiny v buňkách může měnit jejich funkci (Kiang et Tsokos, 1998).

3.1.5 Využití

Jako potrava

Garra rufa může být příležitostně lovena ke konzumaci člověkem (Coad 2010). Dále také hraje důležitou roli v potravním řetězci, protože je významným zdrojem potravy pro některé sumce a úhoře (Yalcin-Özdilek et Ekmekçi, 2006).

Využití v akvaristice

Garra rufa je často využívána jako akvariijní ryba (Anses, 2013). Odstraňuje nežádoucí řasy v akváriu a je schopna zbavovat ostatní druhy ryb od ektoparazitů (Michel et al., 2013).

Cojocarú et Cojocarú (2015) uvádí, že se *G.rufa* dá využít na léčbu ostatních ryb. Pro tuto studii autoři použili 6 Karasů stříbřitých *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758), kteří byli napadeni *Favobacterium* sp. a *Gyrodactylus* sp. Karasi byli umístěni do akvárií společně s několika jedinci *G.rufa*. Pokus potvrdil pozitivní vliv *G. rufa* na napadené jedince. *Garra rufa* požírala nekrotizované tkáně ploutví a tím urychlila uzdravovací proces. Na základě těchto poznatků můžeme říci, že *G. rufu* je možné využít jako nástroj pro léčbu rozkladu ploutví u sladkovodních ryb.

Využití v kosmetických salónech

Peeling pokožky, který je prováděn pomocí ryb, neodpovídá obsahové náplni živnosti v oboru kosmetičky, jelikož nejsou v daném případě užívány kosmetické prostředky (látky ani přípravky), ale jedná se o procesy za působení živých zvířat, a to obratlovců (konkrétně ryb). Legislativa udává kosmetické prostředky, které jsou vymezeny právními předpisy.

Rybí pedikúru je možné považovat za týrání zvířat ve smyslu zákona č.246/1992 Sb., o ochraně zvířat proti týrání. A to zejména proto, že se v těchto procedurách využívá živých zvířat, kterým nemůžeme z hygienického hlediska umožnit život v přirozených neboli fyziologických podmínkách. Za nefyziologické podmínky můžeme považovat například nedostatek přirozené stravy v prostředí. Tento způsob chovu ryb nemůžeme nazývat ani pokusem, který je v zákoně č.246/1992 Sb. definován jako „použití zvířete pro pokusné nebo jiné vědecké účely se známým nebo neznámým výsledkem nebo pro vzdělávací účely“ (Jírová et al., 2010).



Obrázek 4: Rybí pedikúra

Zdroj: http://www.garrarufa.cz/images/garrarufa_salon/garrarufa_individual2.jpg

Využití v lékařství

V okolí města Sivas se schopnosti *Garra rufy* využívaly již od středověku. První veřejné středisko s termálními bazény „Kangal fish Health Spa“ zde bylo otevřeno v roce 1963. První léky na psoriázu byly pacientům poskytnuty až v roce 1980. Toto středisko bylo tureckým ministerstvem zdravotnictví v roce 1993 uznáno jako léčebného centrum (viz.příloha č.1) (Ozcelik et Akyol, 2011).

3.1.6 Rozmnožování

Mezi samcem a samicí je pouze malý pohlavní dimorfismus. Samci jsou mírně větší (Coad, 2014). Abedi et al. (2011) uvádí, že maximální délka života volně žijících jedinců jsou 4 roky, zatímco chovaní jedinci se dožívají až 7 let (Garra rufa Europe, 2016). U tohoto druhu se nevyskytuje péče o jikry, ani o potomstvo. Jikry kladou na substrát, rostliny, dřeviny i volně do vodního sloupce. U této ryby se setkáváme s požíváním vlastních vajec.

Plodnost (množství jiker) je ovlivněna velikostí a stářím ryby. V řece Kanger v západním Íránu zkoumané samice produkovaly v průměru od 2500 do 9000 jiker (Patimar et al., 2010). V řece Zajiran byl v roce 2005 prováděn obdobný výzkum, kde byly průměrné hodnoty od 180 – 2400 vajec na samici (Yazdanpanah, 2005). V řece Armand byla průměrná hodnota od 280-3800 vajec na samici (Abedi et al., 2011). Tyto rozdíly mohou být způsobeny geografickými podmínkami (Patimar et al., 2010).

Bardakci et al. (2000) zkoumal ovogenezi u ryby *G. rufa* žijící v nádržích s termálními prameny, ve kterých má voda konstantní teplotu 35°C a v řekách, kde se teplota vody mění dle ročních období. Zaznamenávala se délka ryby a váha vaječníku a data byla dosazována do vzorce:

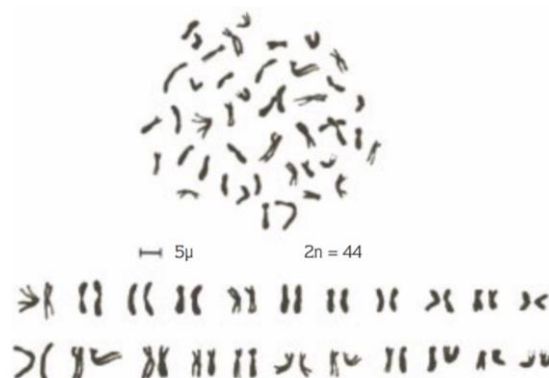
$$\text{GSI (gonado somatic index) [\%]} = \frac{\text{Váha vaječníku [g]}}{\text{Váha ryby [g]}} \times 100.$$

Hodnoty gonadosomatického indexu u ryb zkoumaných v termálních pramenech byly nižší, než u ryb v řekách, nicméně hodnoty GSI byly nejvyšší v červenci v obou lokalitách (různých životních podmínkách). Obě zkoumané lokality se nacházejí v provincii Sivas ve střední Anatolii (**Bardakci et al., 2000**).

3.1.7 Karyotyp

Garra rufa je diploidní organismus, který má 44 chromozómů. Celý karyotyp sestává z 11 metacentrických, 10 submetacentrických chromozómů a akrocentických chromozómů, nesoucí satelity (**Gözükara et Çavaş, 2004**).

Studie **Gözükara et Çavaş (2004)** se posunula v poznacích dále oproti informacím, které publikoval **Post (1965)**, který uváděl, že *G. rufa* je haploidní a má 22 až 26 chromozómů. Autoři této studie svým výzkumem toto tvrzení vyvrátili a zároveň doplnili chybějící informace o raménkách chromozomu. A proto je možné tuto studii považovat za první, která popsala celý karyotyp *G. rufy* (**Gözükara et Çavaş, 2004**).



Obrázek 5: Karyotyp

Zdroj: A Karyological Analysis of *Garra rufa* (Heckel, 1843)

3.1.8 Chov v zajetí

Pro chov ryb *Garra rufa* a možné navození přirozených podmínek pro rozmnožování je důležité rozlišovat pohlaví jedinců. Jelikož se jedná o druh bez výrazného sexuálního dimorfismu, je celý proces poměrně složitý. Jediný způsob, jak rozlišovat mezi pohlavími je tvar genitální papily, který je znatelný pouze v době tření. Samci *Garra rufa* jsou větší, než samice. Dalším nepatrným rozdílem mezi pohlavími je tvar břicha. Břicho samice bývá mírně zakulacené (**Garra rufa Europe, 2016**).

Výběr vhodných jedinců pro chov se odvíjí od několika důležitých rysů, čímž může být vitalita, celková kondice, barva či morfologické znaky. Výběr je nutný pro udržení zdravé populace. Při chovu je důležité dbát na křížení jedinců jednoho druhu, tím předejdeme hybridním potomkům, kteří jsou sterilní. *Garra rufa* je ryba s vnějším oplozením bez následné parentální péče (**Garra rufa Europe, 2016**).

Třecí nádrž

Garra rufa je možné snadno množit i v akváriu, ale jikry či potěr často nepřežijí, z důvodu kanibalismu ze strany rodičů. Lepších výsledků tedy dosáhneme použitím speciálních třecích nádrží. Tato nádrž je vybavena chráněným topítkem, filtrem s menším průtokem (vnitřní molitanový filtr), čímž předejdeme možnému nasátí jiker. Dno nádrže se skládá ze dvou vrstev, substrátu a nylonové mřížky. Po vytření jikry propadnou mřížkou, klesnou na dno a jsou tak chráněny před možným kanibalismem. Po vytření jsou rodiče přemístěni z nádrže (**Garra rufa Europe, 2016**).

Stimulace výtěru

Jedním z nejlepších způsobů jak vyvolat tření ryb *Garra rufa* je simulace přirozených podmínek, životní prostředí, potrava, navození klimatických změn (bouře, období dešťů), užití úkrytů, třecích míst, osvětlení a proudy vody. Pro podporu tření užíváme živého krmení, jako jsou například komáří larvy, octomilky (**Garra rufa Europe, 2016**).

V přirozeném prostředí se ryby třou v období dešťů, čehož můžeme využít i při umělém odchovu. Deště mají vliv na chemické složení vody, výšku hladiny a teplotu vody. Pro simulaci období dešťů, musí být hladina v nádrži snížena na polovinu své normální výšky. Každý den se přidává asi 5 % objemu nádrže. Přidaná voda by měla mít nižší hodnotu pH a nižší teplotu, než je teplota vody v nádrži (**Garra rufa Europe, 2016**).

Pro zvýšení stimulace tření je možné využít komerčně vyráběný Ovaprim (Syndel Co., Kanada). Tato alternativa je však z finančního hlediska neefektivní (Vazirzadeh et al., 2015).

3.1.9 Technické vybavení

UV sterilizace vody

Ultrafialová (UV) sterilizace je metoda pro sterilizaci, kdy je voda vystavena záření o vlnové délce v ultrafialové oblasti. UV záření ničí řasy, bakterie, parazity, kvasinky, plísně a jiné nežádoucí organismy ve vodě a z tohoto důvodu je užitečná zejména pro akvária a rybníky, kde je důležité udržovat bezpečné prostředí pro ryby. Vlnová délka UV záření se pohybuje v rozmezí od 400 nm do 10 nm, a může být dále rozdělena do pásem UV-A, UV-B a UV-C. Faktory ovlivňující účinnost UV sterilizace jsou síla UV lampy a doba účinku. Aby byla sterilizace úspěšná, musíme použít výkon UV lampy vhodný pro danou velikost akvária. V akvaristice se nejčastěji používají UV sterilizéry 9 W a 24 W. Doba expozice neboli doba, ve které je voda vystavena UV záření v průběhu léčby, je přímo úměrná účinnosti. Obecně platí, že je výhodné prodloužit dobu expozice, na maximální možnou dobu. Toto je často dosaženo prodloužením (užitím delší) UV lampy, spolu s omezením rychlosti vody protékající UV záření (Lam, 2010).



Obrázek 6: UV-sterilizer (Eheim)

Zdroj: https://www.eheim.com/en_GB/products/technology/uv-sterilizer/reeflexuv

Filtrace

Filtrace v akváriu navozuje přírodní podmínky v nádrži, čistí, obohacuje vodu o kyslík a udržuje rovnováhu ekosystému. Mezi rozhodující faktory při výběru filtrace patří výkon (l/h), hlučnost (dB), spotřeba el. Energie (w) a velikost filtračního objemu (l).

Typy filtrů:

Vnější

Vnější filtry jsou vhodné pro nádrže od 100 l do 1500 l. Filtry jsou umístěny vně nádrže a s akváriem jsou propojeny pomocí dvou hadic. Vnější filtr, se skládá z filtrační nádoby a vrchního krytu. Ve vrchním krytu je uložen motor, který zajišťuje průtok vody. U některých filtrů může být regulován manuálně, některé filtry již řídí průtok elektronicky. Některé vnější filtry jsou vybaveny topnou spirálou na dně nádoby, díky tomu vodu filtrují a zároveň i ohřívají. Do filtrační nádoby se dávají filtrační média, která odstraňují hrubé a jemné částice a umožňují biologický rozklad škodlivých látek. Druh filtračního média je nejdůležitější částí filtru.



Obrázek 7: Externí filtr

Zdroj: https://www.eheim.com/en_GB/products/technology/external-filters

Filtry upravují vodu několika způsoby:

Mechanicky

V první části procesu filtrace se z vody odebírají větší částice

Biologicky

Díky pomnožení bakterií ve filtru dochází díky nim k přirozené přeměně toxických látek na méně škodlivé.

Chemicky

Například může ovlivňovat pomocí vhodného filtračního média upravovat hodnotu pH, pokud použijeme speciálně upravený rašelinový substrát.

Absorpčně

Jako absorpční filtrační médium se často využívá aktivní uhlí, které z vody odstraňuje škodlivé látky, jako jsou chlór, čisticí prostředky, léky či barviva. Aktivní uhlí se dá používat maximálně po dobu 2 týdnů, jelikož po delší době by se škodlivé látky mohly vracet zpět do akvária a tak zamořit celou vodní nádrž. Toto absorpční médium se nejčastěji používá při zakládání akvária, nebo po léčbě nemocných ryb (**Noeren et. al., 2016**).

Osvětlení

Většině živočichů v akváriu stačí málo světla. Někteří využívají světlo pro lepší vyhledání potravy a k reprodukci, avšak pár druhů ryb potřebuje světlo třeba i k růstu. Ve sladkovodním akváriu bychom měli udržovat denní rytmus světla o délce 8-10 hodin. Nejlepší variantou je použít časový spínač, abychom mohli svítit vždy ve stejnou dobu. Pokud je zapotřebí nádrž osvětlit v nočních hodinách, je ideální během dne přerušit světlo na 2-4 hodiny v polovině dne. Tato světelná pauza inhibuje růst řas. V ideálním případě by akvárium nemělo být vystaveno přímému dennímu světlu, jelikož v kombinaci s umělým osvětlením způsobuje růst řas.

Nejvhodnějším barevným spektrem pro akvária je modré a červené a to z důvodu vlnové délky, která je schopna nejefektivněji absorbovat chlorofyl. Intenzitu světla udáváme v Luxech a jedná se o množství světla, které dopadne na povrch. Například úplněk v noci má intenzitu 25 lx a letní den 10 000 – 20 000 lx.

Nejběžnějším typem osvětlení jsou zářivkové trubice. Nejčastěji se využívají trubice s označením T8 (průměr 26 mm) a trubice s označením T5, které jsou modernější a mají průměr 16 mm. Dále se používají HQI lampy se rtuťovými výbojkami s kovovým halogenidem, které jsou umístěny a nejčastěji se používají na mořská akvária (**Luczkowski, 2016**).

Reverzní osmóza

Nejdůležitější částí reverzní osmózy je speciální membrána, která je tvořena drobnými póry. Tato membrána zachycuje větší molekuly vody, které obsahují škodlivé látky, které ovlivňují tvrdost vody, množství soli, ale i látky které podporují růst řa. Přes membránu se nedostanou ani viry a bakterie. Díky reverzní osmóze bude voda v akváriu čistá a měkká (**Dennerle, 2016**).

3.1.10 Kritéria kvality vody pro chov *Garra rufa*

Ryby *G. rufa* potřebují pro chov ideální podmínky a některé z hodnot nesmějí překročit danou hranici (viz. dále) (**Ornamental Aquatic Trade Association, 2008**).

Amoniak

V akváriích jsou hlavním zdrojem amoniaku produkty metabolismu. Je proto nezbytné včas a pravidelně obměňovat část vody a provádět čištění nádrže. Bezpečná hodnota volného amoniaku je 0,02mg/l ve sladké vodě. Překročením této hodnoty jsou ryby vystaveny stresu a při vyšších hodnotách může poškodit vnitřní orgány a žábry. V extrémních případech může končit i smrtí. Pro snížení hodnot amoniaku musíme upravit krmné dávky, častěji měnit vodu a přizpůsobit množství ryb kapacitě nádrže (**Ornamental Aquatic Trade Association, 2008**).

Dusitany NO_2^-

NO_2^- produkují bakterie rodu *Nitrosomonas spp.* Koncentrace ve sladké vodě by neměla překročit hranici 0.2mg/l. Dusitan se váže na hemoglobin v krvi a tím brání přenosu kyslíku, následkem toho se ryby dusí. Charakteristickým znakem je hnědá barva. Ve sladké vodě může být toxicita dusitanu snížena přidáním malého množství chloridu soli. Redukce dusitanu je stejná jako u amoniaku (**Ornamental Aquatic Trade Association, 2008**).

Dusičnany NO_3^-

Dusičnany jsou produkovány bakterií *Nitrobacter spp.* V některých zemích hodnota překračuje 130mg/l, avšak podle OATA by hodnoty neměly překročit 50 mg/l. Vysoké hodnoty dusičnanů mohou negativně ovlivňovat zdraví ryb. Hodnoty můžeme redukovat přidáním rostlin do akvária a používáním denitrifikační biologické filtrace (**Ornamental Aquatic Trade Association, 2008**).

pH

Ve většině zemí je zdroj vody s hodnotou pH neutrální (7,5). *Garra rufa* je velmi odolná ryba a dokáže snášet i lehce zásadité, tak i mírně kyselé prostředí. Je-li hodnota pH vody příliš vysoká nebo příliš nízká, vodu upravíme pomocí přípravků pro úpravu pH. Hydrogenuhličitan sodný se používá pro zvýšení hodnoty pH a kyselina chlorovodíková pro její snížení. Pro zjištění aktuální hodnoty pH se používá pH tester (**Garra rufa Europe, 2016**).

Oxid uhličitý CO_2

CO_2 se do vody dostává přes rybí výkaly, biologickou filtraci, nebo díky rostlinám, které produkují CO_2 v noci. Přes den je CO_2 spotřebováváno rostlinami, které jej potřebují na fotosyntézu. Oxid uhličitý můžeme odstranit promícháváním vody. CO_2 je vysoce rozpustný plyn, přibližně 1000 krát více, než kyslík. Pokud je v akváriu nadbytek oxidu uhličitého, ryby se začnou dusit. Voda v akváriu by měla poskytovat dobré podmínky pro výměnu plynů, a to díky provzdušňování a prouděním vody. A to z důvodu nasycení vody kyslíkem a zbavení přebytečného množství CO_2 (**Ornamental Aquatic Trade Association, 2008**).

Kyslík O_2

Ideální množství kyslíku v akváriu je 6 mg/l, což odpovídá 73% nasycení při 25 °C. Pokud v nádrži teplota vzroste, množství kyslíku ve vodě klesá. Při nízké hodnotě kyslíku ve vodě je nutné provést výměnu vody a použít vhodné vzduchovací zařízení v závislosti na velikosti nádrže a množství ryb. Spotřeba kyslíku závisí na počtu a druhu ryb v nádrži, ale také na teplotě vody (**Ornamental Aquatic Trade Association, 2008**).

3.1.11 Rybí pedikúra ve světě

Evropa

Všechny evropské země zatím zkoumají rizika ve spojitosti s užitím ryb *Garra rufa*, jak pro terapeutické účely, tak i pro kosmetické účely. Spojené království vydalo seznam zdravotních rizik v rámci zařízení poskytující "rybí pedikúru", který byl vypracován pro zjištění možného nebezpečí. Průzkum provedený v roce 2011 evidoval ve Spojeném Království 279 center, které se zabývají "rybí pedikúrou", a jejich počet se stále zvyšuje. Agentura Health Protect Agency vypracovala studii, která poukazuje na rizika a doporučuje bezpečnostní opatření. Tato studie poukazuje na velmi nízké riziko infekcí, pokud jsou dodrženy veškeré hygienické opatření, avšak pro osoby se sníženou imunitou se tato procedura nedoporučuje.

Centrum pro životní prostředí, rybolov a akvakulturu, při vládě Spojeného království (Centre for Environment, Fisheries & Aquaculture Science) uvádí, že dochází k importu ryb v počtu od 15 do 20 tisíc jedinců *Garra rufa*. Ryby jsou dováženy z Indonésie a dalších asijských zemí prostřednictvím mezinárodního letiště London Heathrow. Inspekce provedla vyšetření 6 tisíc kusů ryb *Garra rufa*, které byly dovezeny z Indonésie do Spojeného království pro účel rybí pedikúry. Pitva těchto ryb prokázala přítomnost *Streptococcus agalactiae*. Další mikroorganismy byly zjištěny při náhodných kontrolách. Byl potvrzen výskyt patogenů pro člověka, jako *Aeromonas sp.*, *Mycobacterium*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholerae* a *Streptococcus agalactiae* (**Health Protection Agency, 2011**).

Severní Amerika

V Kanadě, je rybí pedikúra zakázána ve čtyřech státech: Ontario, Britská Kolumbie, Alberta a Manitoba. Zákaz je podobný jako ve Spojených státech a je založena na nemožnosti dokonalé desinfekce zařízení mezi jednotlivými klienty. Podle dokumentu z odboru Státního zdravotnictví ve městě Ontario byla provedena analýza vody ze vzorků z nádrží, kde se provádí rybí pedikúra. Byl prokázán výskyt některých bakterií (*Escherichia coli*, stafylokoky a patogenní *Pseudomonas aeruginosa*). Nádrže nebyly dříve použity pro rybí pedikúru a je tedy pravděpodobné, že zdrojem nákazy byly samotné ryby (**Garigliany et al., 2012**).

3.2 Ichtyoterapie

Jedná se o využití malých druhů ryb, které pomáhají odstraňovat dermatologické problémy, jako je například lupenka (**Grassberger et Sherman, 2013**). Pomocí ryby *Garra rufa* se kromě lupenky léčí i atopický ekzém a akné (**Sayili et al., 2007**). Název této terapie pochází z řeckého slova *ichthys*, což znamená ryby.

3.2.1 Léčená onemocnění

Lupenka

Psoriáza, česky lupenka, je nejčastější kožní onemocnění, které je geneticky podmíněno. V minulosti bylo toto onemocnění označováno především jako porucha epidermálních keratinocytů. Podle nových poznatků se jedná o onemocnění zapříčiněné poruchou imunitního systému. Existuje mnoho druhů lupenky, avšak nejběžnější druh této nemoci bývá *psoriasis vulgaris*, která je diagnostikována v 90 % případů. U zbývajících deseti procent se jedná o jiné druhy lupenky. Tato nemoc zhoršuje pacientům kvalitu jejich života a u mnohých z nich tuto nemoc doprovází i depresivní onemocnění, kardiovaskulární onemocnění a séronegativní artritida, známá jako psoriatická artritida (**Griffiths et Barker, 2007**).

Lupenka je chronické onemocnění a je pro ni charakteristické neúplné dozrávání a diferenciace buněk pokožky. Postihuje asi 2 až 4 % populace. Zajímavostí je, že u Eskymáků a jihoamerických indiánů se lupenka nevyskytuje. Mezi faktory spouštějící lupenku řadíme infekce, kožní choroby či nesprávnou životosprávu. Dalším faktorem mohou být i léky, a to například: Betablokátory, ACE inhibitory, lithium, antimalarika a nesteroidní antiflogistika (**Šimaljaková, 2008**).

Psoriáza je nemocnění kůže, které lidé znali již od pravěku, ale nazývaly ho malomocenstvím. Postihuje asi 25 milionů lidí v Severní Americe a Evropě, a je pravděpodobně nejvíce převládající imunitní zprostředkované kožní onemocnění u dospělých (**Lowes et al., 2007**).

Léčba lupenky je prováděna lokálně za pomoci salicylátů, dehtů, dithranolu a steroidů. Dále je možné podstoupit fototerapii UVB nebo PUVA. Na celkovou léčbu se používají antibiotika, cyklosporin, acitretin a metotrexát. Například acitretin působí na diferenciaci,

proliferaci a keratinizaci epidermálních buněk. Toto léčivo se aplikuje 0.5-1 mg/den (**Szép, 2005**).

Atopický ekzém

Atopický ekzém je nejčastější zánětlivé kožní onemocnění v dětství (postihuje 15-20% dětí v Evropě). Dospělí tvoří zhruba třetinu všech případů. Atopický ekzém může mít hluboký dopad na kvalitu života jak pro nemocné, tak pro jejich rodiny. Nepříjemnosti spojené s touto nemocí jsou: nezvladatelné svědění, poškození kůže, bolest, ztráta spánku a sociální stigma viditelného onemocnění kůže, časté návštěvy lékaře, potřeba speciálních oděvů a aplikace lokálních léčiv. Příčina atopického ekzému není známa, ale s největší pravděpodobností jde o genetickou predispozici a kombinaci alergických a nealergických faktorů (**Hoare et Williams, 2000**).

Akné

Akné je chronické zánětlivé onemocnění pilosebaceózních folikulů podmíněné nadbytkem androgenu a následným zvýšením produkce mazu, změny keratinizace, zánětu a bakteriální kolonizace vlasových folikulů na obličeji, krku a hrudníku. Onemocnění může být ovlivněno i genetickými predispozicemi. Dalším faktorem vzniku akné může být i výživa. Akné postihuje až 20% teenagerů a může přetrvávat až do dospělosti. Neexistuje ideální léčba akné. Při větším rozsahu pacient užívá antibiotika, či kombinaci různých medikamentů. Pozitivní vliv u žen na akné může mít hormonální antikoncepce (**Williams et al., 2012**).

3.2.2 Ryby *Garra rufa* v ČR

Tato kapitola popisuje základní principy a správný postup při zakládání akvária pro ichtyoterapii a import Gary rudohnědé do ČR na základě poskytnutých informací od p. Ing. Macenauera (**2016, pers. comm.**).

Ryby jsou do České republiky dováženy z Indonésie. Pochází ze specializovaných chovných zařízení. Chovné zařízení musí mít veškeré veterinární certifikace platné v EU (viz.příloha č. 4). Ryby jsou transportovány letecky ve speciálních pytlích naplněných kyslíkem (v pytli musí být méně vody než kyslíku, asi v poměru 2:1 kyslík: voda) a polystyrenových přepravních boxech. Tento box udržuje stálou teplotu vody a tím zajišťuje rybě komfortní převoz. Cesta může trvat maximálně 48hodin. Jakmile ryby dorazí do ČR,

musí podstoupit 14denní nucenou karanténu. Karanténa slouží k předejití možného přenosu nemocí, zbavení ryb veškerých parazitů a k aklimatizaci.

Zakládání akvária pro účely ichtyoterapie je finančně nákladná záležitost, pokud se dodržují veškerá doporučená bezpečnostní opatření. Z důvodu bezpečnosti je užívána nádrž s vyztuženým dnem a v nádrži se nesmí nacházet žádné elektrické zařízení. Přístroje musí splňovat požadovanou normu IP (odolnost elektrospotřebiče proti vniknutí cizího tělesa či vniknutí kapalin). V nádržích se používá externí filtrace (např. filtry značky EHEIM GmbH & Co KG, Německo) a filtrační média by měla být uzpůsobena zejména na mikrofiltraci. Dále musí být na filtraci napojen UV-sterilizér, kde musí být prováděna řádná výměna zářivky, a to v intervalu jednoho roku. Při překročení tohoto intervalu se výrazně snižuje její životnost. Pro udržení stále teploty v akváriu je nutné k nádrži připojit externí topítko vyráběné společností Hydor, alternativou může být použití vyšší řady filtru Eheim, které je zároveň vybaven topnou spirálou. Nádrž musí být vybavena intenzivním vzduchováním, aby byl zajištěn dostatek kyslíku a dobré chovné podmínky. Dále musíme nádrž osvětlit nízkonapěťovým LED osvětlením, simulující přirozené světelné podmínky (režim den/noc). Výsledná cena nádrže může překročit částku 100 tisíc Kč. Cena se odvíjí dle velikosti a použitého materiálu nádrže.

Postup údržby těchto nádrží je náročnější z důvodu udržení hygienických požadavků. Na jedné nádrži může být provedeno pouze 6 procedur za jeden den. Více procedur by mohlo ryby vystavovat většímu stresu. Výměna vody a odkalování viditelných částic se provádí denně. Ryby jsou dokrmovány 2x denně kvalitním krmivem např. Hikari®, Japonsko. Krmivo má také podíl na množství stresu (**Macenauer, 2016, pers. comm.**).

3.2.3 Proces terapie

Stále větší počet zařízení nabízí "rybí pedikúru". Tato procedura zahrnuje ponoření nohou, rukou, či celého těla do nádrže. Ryby okusují odumřelou a ztvrdlou kůži z těla pacientů. Tato procedura pochází z Turecka a Indie. V Turecku je léčebné centrum v blízkosti města Kangal. Centrum je schopné pojmout až 1000 lidí za den. Jelikož se jedná o terapii za přítomnosti ryb, není možné vodu dostatečně desinfikovat, z důvodu úhynu ryb. Toto vede k obavám z přenosu infekce. Z tohoto důvodu je terapie v některých zemích zakázaná (**Health Protection Agency, 2011**).

Grassberger et Hoch (2006) ve své studii popisují efektivnost a bezpečnost ichtyoterapie v kombinaci s krátkodobým působením UV zářením. Tuto proceduru

podstoupilo 67 pacientů s diagnostikovanou psoriázou. Léčebný cyklus trval 3 týdny, kdy ichtyoterapie probíhala denně po dobu 2 hodin. Terapie probíhala ve vanách o obsahu 1100 l, které byly napuštěny do 80% své velikosti. Ve vaně bylo 250-400 jedinců *G. rufa* a byla užívána pouze jedním pacientem po dobu terapie (viz.příloha č.2). Množství se odvíjelo od velikosti a počtu lézí. Voda ve vanách byla průběžně filtrována a sterilizována, obohacována o kyslík a byla kompletně vyměněna 3-4x denně. Termostat udržoval stálou teplotu mezi 36-37 °C. Velikost ryb byla 5-10 cm při průměrném stáří 1,5 roku. Ryby byly dokrmovány denně komerčním krmivem TetraMin[®] (Tetra GmbH, Melle, Německo), vždy po skončení procedury. Vzorky vody byly testovány na přítomnost bakterií. Pro předejítí možným zoonotickým nákazám byly ryby testovány na přítomnost *Aeromonas spp.*, *Mycobacterium spp.* Po skončení celé terapie (ichtyoterapie spojená s léčbou pomocí UV záření) 87,5 % pacientů potvrdilo lepší výsledek ve srovnání se zkušeností s jinými způsoby terapie (viz. Příloha č.3).

3.2.4 Technické vybavení pro tyto procedury podle Takáce (2014).

Nádrž (vana)

Nádrž by měla být z plastového sklolaminátového materiálu. Objem nádrží je 1000 l. Hladina vody by měla být 20cm pod okrajem vany. Do této vany lze použít 300 ryb o velikosti 5 cm. Nádrž by měla být řádně izolována, aby bylo možné udržet vyšší teploty.

Pro pokrytí horní části nádrže se používají průhledné polykarbonátové desky z důvodu přísunu denního světla.

Příprava vody ke koupeli

Vodu připravujeme ve speciálních nádržích. Studenou vodovodní vodu filtrujeme přes aktivní uhlí, které účinně eliminuje chemické látky a plyny. Dále vodu necháme protékat přes reversní osmózu, která vodu zbaví těžkých kovů.

Výměna vody

Voda v nádrži se mění jednou týdně, a to i po skončení cyklu lékařského zákroku, který trvá 2-3 týdny. Délka léčby závisí na pacientovi. Každý pacient by měl mít přiděleny vlastní ryby. Po ukončení dvou až tří týdnů léčby jsou ryby umístěny do karantény, kde tráví

dva až tři týdny. Nádrž by měla být dezinfikována a následně připravena s čistou vodou pro dalšího pacienta. Voda je filtrována přes výkonnou filtraci za pomoci UV lampy.

Filtrace vody

Každá léčebná nádrž má dva velké externí filtry (s průtokovou rychlostí až 1700 l / h), se zabudovaným topítkem o výkonu 500 W. Teplota van je nastavena na 34 ° C. Tyto filtry jsou zapojeny v sérii. V prvním filtru se nachází pěnová filtrace, která zachycuje hrubé mechanické nečistoty. V další vrstvě filtru se voda vyčistí z jemných částic nečistot. Voda prochází dále přes dvě vrstvy siporaxu (Sera GmbH, Německo) (filtrační médium tvořené malými keramickými dutými válci), kde jsou přítomny nitrifikační bakterie, které zajišťují biologické čištění vody.

UV-C sterilizace

Voda v nádržích je upravována také pomocí UV-C sterilizátoru, který produkuje ultrafialové záření s výkonem 36 W, v kombinaci s ultrazvukovými vlnami. Tyto filtry společně s dezinfekcí vody zabíjí bakterie, viry a ostatní jednoduché organismy a zabraňují jejich množení.

3.2.5 Rizika léčby

Největším rizikem je přenos infekcí a chorob.

Existují 3 možnosti přenosu infekcí:

1. Z ryby na člověka
2. Z člověka na člověka
3. Z vody na člověka

Přenos z ryby na člověka

Bakterie *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, způsobují granulomatózní záněty. Největší hrozbu tvoří tyto bakterie při koupelích nohou. Riziko významně stoupá, pokud má člověk otevřené rány. Z tohoto důvodu se nedoporučuje holení před procedurou. Nejvíce náchylní jsou pacienti s poruchou imunity (pacienti s lupenkou) (**Vanhootehem et al., 2015**). Tyto patogenní organismy představují největší riziko při ichtyoterapii (**Health Protection Agency, 2011**). *Mycobacterium marinum* u ryb způsobuje

granulomatózní efekty kůže. **Ježek et al. (2009)** studoval tuto bakterii u člověka. Měl k dispozici 4 pacienty, kteří byli v kontaktu s rybami nebo akvárii. Nemoc se projevovala granulomatózními efekty kůže. Většinou se infikovali poraněním. Prvním pacientem byla žena ve věku 53let. Byla poraněna ploutví pancéřníčka. Během 2-3týdnu ji zrudl distální článek poraněného prstu. Byla zahájena léčba Deoxymykoinem po dobu 2 měsíců a Augmentinem po dobu jednoho měsíce, avšak bez výsledku. Nakonec vyléčena Ciproflaxinem, a Ethambutolem. Druhý pacient se poranil o akvárium. Pacient byl vyléčen pomocí Clarithromycinu.

Bakterie *Aeromonas spp.* vyvolává infekce u poškozené kůže. Infekce je hrozbou pro osoby se sníženou imunitou a osoby s diabetem. *Aeromonas spp.* také často zapříčiňuje zvýšenou úmrtnost ryb. Infekce se u ryb projevuje furunkulózou, hemoragickými a vředovitými onemocněními a septikémií. (**Austin et Adams, 1996; Gosling, 1996**). U lidí mohou tyto bakterie způsobit extraintestinální infekce a tak mají velikou spojitost s onemocněními gastrointestinálního traktu. Mezi gastrointestinální onemocnění patří infekce ran, meningitidy, oftalmitidy, septikémie, peritonidy a další. (**Janda et Abbott, 1996; Kelly et al., 1993**). *Aeromonas hydrophila* je nejrozšířenější patogen a nejčastěji způsobuje infekci měkkých tkání, která je způsobena kontaktem pacienta se sladkovodním prostředím. Ojedinele může způsobit sepse nebo septické artritidy. (**Elwitigala et al., 2005**).

Bakterie *Salmonellae spp.* může vyvolat dermatitidy, infekce, abscesy (**Vanhooteghem et al., 2015**).

Bakterie *Escherichia coli* a *Salmonella sp.* mohou v rybách přežívat dlouhou dobu a tvoří nebezpečí sekundární nákazy orální cestou (**Vanhooteghem et al., 2015**). Nákaza požitím je značně vyšší při celotělových koupelích, či koupelích rukou. Riziko se podstatně sníží umytím rukou po proceduře (**Health Protection Agency, 2011**).

Bakterie *Streptococcus sp.* představují nízké riziko ve spojitosti s ichtyoterapií. Ryby nakažené *S. iniae* vykazují vysokou úmrtnost (**Vanhooteghem et al., 2015**). Zatím byl pouze jeden potvrzený případ infekce nohou bakterií *Staphylococcus aureus*, která se objevila po rybí pedikúře (odstranění staré kůže za pomoci ryby *G. rufa*). Jednalo o ženu, která podstoupila „rybí pedikúru“ na ostrově Karpathos v Řecku. Klinický obraz se vyznačoval macerací, hnisavým výtokem, krustami, svěděním a pálením. Testy na přítomnost bakterií byly pozitivní na *Staphylococcus aureus*. Mykologické zkoušky byly negativní. Pacientka

byla léčena koupelí v chloranu sodném 0,05% a ústním podáním Ciproflaxinu 500 mg/den. Následná kontrola po 9 měsících byla negativní (**Veraldi et al, 2014**).

Možný přenos zoonotických druhů parazitů (např. *Giardia spp.*, *Cryptosporidium spp.*) nebyl potvrzen (**Health Protection Agency, 2011**).

Přenos z člověka na člověka

Mnoho patogenů (např. houby, papillomavirusy) může být přeneseno přímým kontaktem dvou osob či přes infikovaný povrch (např. podlaha). Tato cesta přenosu není vázána na rybí proceduru, ale je spojena s nedostatečnou hygienou (**Health Protection Agency, 2011**).

Viry přenášené krví, jako je Hepatitida B virus (HBV), virus hepatitidy C (HCV) nebo HIV, mohou být přeneseny krví, či jinou biologickou tekutinou. Klient, který podstupuje léčbu a má otevřenou ránu, může infikovat dalšího klienta přes povrch (stejná vana), avšak ne přes ústa ryby. Riziko virové infekce přenášené krví tak můžeme považovat za nízké, ale nemůžeme jej vyloučit. (**Vanhootehem et al., 2015**).

Přenos z vody na člověka

Atypické mykobakterie jsou všudypřítomné ve vodě, včetně vody z vodovodu. Holení a depilace voskem před lázní zvyšují riziko pro takové infekce. Byly popsány mnohé kožní infekce způsobené atypickými mykobakteriemi z teplé vodní lázně.

Pseudomonas aeruginosa využívají biofilm na povrchu vany k rozmnožování stejně, jako jiné druhy bakterií (např. *Pseudomonas folliculitis*). Ryby biofilm požírají, čímž jejich koncentrace omezují (**Vanhootehem et al., 2015**).

3.2.6 Výzkum kvality léčby

Schets et al. (2015) zkoumal přítomnost bakterií v léčebných nádržích. Jejich průzkum zahrnoval wellness centra, beauty salony a léčebná zařízení. V průzkumu bylo celkem 16 pozorovaných subjektů. Průměrná teplota vody byla 28,4 °C, ale v zařízení pro koupele celého těla byla teplota vyšší. Průměrné pH vody bylo 8,1. Voda byla testována na přítomnost bakterií *Aeromonas spp.*, *Vibrio spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* a dalších střevních enterokoků. Ve všech vzorcích byla přítomna bakterie *E. coli*. Výskyt těchto bakterií byl prokázán ve všech zkoumaných nádržích, v různých koncentracích. Zjištěná koncentrace byla v takové míře, která představuje pouze nízké zdravotní riziko. Pro osoby s onemocněním ovlivňujícím imunitní systém, jako je například diabetes, lupenka či ekzémy, představuje tato míra kontaminace vyšší riziko, než u jedince zdravého.

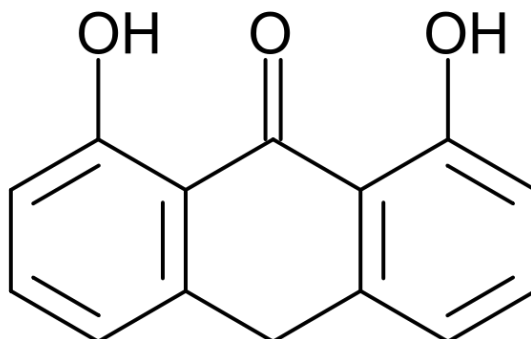
Garra rufa je často využívána pro estetické účely a při lékařském ošetření u pacientů (ichtyoterapie). Pro tento druh terapie je nezbytné zajistit odpovídající hygienické podmínky a to jak pro člověka, tak pro rybu. **Sirri et al. (2014)** Ve své studii testovali dvě koncentrace desinfekčních přípravků chloraminu T a kyseliny peroctové ve vodě, s cílem zjistit možné poškození epidermis a žaber ryb *G. rufa*. Ryby byly vystaveny 2 mg/l a 10 mg/l chloraminu T a 15 µl/l a 45 µl/l kyseliny peroctové. Lázeň se aplikovala po dobu jednoho týden, 6krát denně ve čtyřiceti minutové statické koupeli. Epidermis a žábry byly kontrolovány z důvodu histologických změn a počtu epidermálních buněk sliznice. Dále byly sledovány chuťové pohárky a buňky sliznice. V rámci studie se zjistilo, že nedošlo k závažným histologickým změnám ani k úhynu testovaných ryb (**Sirri et al., 2014**).

3.2.7 Enzym dithranol v léčbě

Mnoho zařízení, které provozují ichtyoterapii vyzdvihují fakt, že *G. rufa* vylučuje jedinečný enzym zvaný dithranol (zabraňuje proliferaci epitelu). Tento argument však nebyl dosud vědecky prokázán. Látka byla nalezena v kůře stromu Araroba z Jižní Ameriky, ze které byla také původně získávána. Dnes je dithranol vyráběn synteticky. (**Grassberger et Sherman, 2013; Benáková et al., 2007**).

Dithranol (chemický název 1,8-dihydroxy 9-antron) se v léčbě lupénky využívá již 120 let a účinkuje sekundárně přes blokádu mitochondriální buněčné oxidace a vznik volných kyslíkových radikálů, čímž snižuje energii buněk s intenzivní mitochondriální aktivitou (keratinocyty, T lymfocyty či Langerhansovy buňky) (**Berends et al., 2006**).

Dithranol je vysoce efektivní při léčbě psoriázy. Léčivo inhibuje keratinocytovou hyperproliferaci, funkci granulocytů a, kromě toho, může působit imunopresivně (**Kameny et al., 1990**).



Obrázek 8: Chemická struktura Dithranolu

Zdroj: https://en.wikipedia.org/wiki/Dithranol#/media/File:Dithranol_structure.svg

4. Diskuse

Na základě poskytnutých informací od pana Ing. Jaroslava Macenauera (2016, pers. comm.), můžeme zhodnotit situaci prováděných terapií v České republice. Z důvodu bezpečnosti má používaná nádrž na rybí pedikúru nohou vyztužené dno, aby nemohlo dojít k poškození nádrže a tím ohrozit osobu, která se účastní terapie. Z mnou odpozorovaných zařízení je však evidentní, že mnoho zařízení takto upravenou nádrž nemá, zejména kvůli vyšší pořizovací ceně. Dalšími faktory ovlivňujícími bezpečnost terapie je kvalitní externí topítko, externí filtrace a UV-sterilizér, kde je nutné provést výměnu zářivky v intervalu jednoho roku (Takác, 2014; Macenauer, 2016, pers. comm.). Pokud však zvolíme tuto techniku, musíme počítat s vyššími náklady, a to se snaží někteří majitelé zařízení zredukovat z důvodu větší rentability nabízené služby. V české republice se v mnoha zařízeních dokonce používá topítko uvnitř nádrže a následně je osoba účastnící se procedury vystavena velikému nebezpečí, kdy může poškodit topítko a následně se zranit o úlomky topítka a přijít k újmě na zdraví v důsledku zasažení elektrickým proudem.

Pan Macenauer (2016, pers. comm.) uvádí, že následná péče o nádrž, kde je prováděna terapie by měla splňovat kritéria určená pro výměnu vody a odkalování pevných částic (každodenní interval) a ryby by měly být denně dokrmovány kvalitním krmivem. Dalším faktorem ovlivňujícím kvalitu péče je počet osob, které se za den účastní procedury, ten nesmí přesáhnout 6 osob za den. Z mé akvaristické zkušenosti však vím, že tyto zásady nejsou také dodržovány a to z hlediska časové a finanční náročnosti. Jelikož se snaží majitelé zařízení zaujmout nízkou cenou těchto procedur, tak není možné zajistit správný postup, kvalitní techniku a dodržet limit osob na den.

Aktuální situaci by výrazně pomohlo, kdyby každá osoba se zájmem o tuto terapii, konzultovala celou situaci se svým lékařem, který dle zdravotního stavu může posoudit rizika. Dále by měl být přítomen odborný personál v zařízení nabízejících rybí pedikúru, který by alespoň vizuálně zhodnotil stav kůže pacienta, zda není nakažen přenosnými onemocněními, jako jsou například bradavice, mykózy a další. (Health Protection Agency, 2011). Z tohoto důvodu je spíše bezpečnější ichtyoterapie (Grassberger et Hoch, 2006; Ozelik et Akyol, 2011), která je prováděna v doprovodu se zdravotnickým personálem, který obstarává výměnu ručníků, desinfekci podlahy, vizuální kontrolu každého pacienta a desinfekci nádrží a vhodná je i přítomnost specialisty v oboru akvaristiky, který dokáže rybám zajistit co nejlepší podmínky chovu a zajistí kontrolu a čištění veškeré akvarijské techniky.

5. Závěr

V práci se mi podařilo zpracovat dostupné informace a vytvořit tak komplexní souhrn informací týkajících se chovu a využití ryby *Garra rufa*. V práci jsem popsal způsob života ryby, její rozmnožování, chov a potřebné vybavení. Hlavní část práce tvoří bezpečnost terapie a možná rizika související s kontaktem s rybou. Jedná se o velké rozdíly ve využití ryb ve zdravotnictví a pro kosmetické účely. Terapie v kosmetických salónech je pro rybu často stresující a v důsledku toho můžeme mluvit dokonce i o týrání zvířat. V některých zemích je tato služba dokonce zakázaná zákonem. Často dochází k problémům, kvůli nedostatečné odbornosti personálu v kosmetických salónech, díky čemuž následně nejsou dodržována veškerá hygienická doporučení a není zajištěna kvalitní a odborná péče o ryby. Z dostupných informací v této práci vyplívá, že rizika související s užitím ryby jsou vysoce závislá na provedení a na celkovém přístupu k terapii.

6. Seznam literatury

Abedi, M., Shiva, A. H., Mohammadi, H., Malekpour, R. (2011). Reproductive biology and age determination of *Garra rufa* Heckel, 1843 (Actinopterygii: Cyprinidae) in central Iran. *Turkish Journal of Zoology*, 35(3), 317-323.

Anses (2013). Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'analyse des risques sanitaires liés à la pratique d'immersion des pieds dans un bac d'eau contenant des poissons de l'espèce *Garra rufa*. Maisons-Alfort, le 1er février.

Austin B., Adams C. (1996). Fish pathogens. In Austin B., Altwegg M., Gosling P. J., Joseph S. W. (eds.), *The Genus Aeromonas*. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester. 197-243.

Bardakci, F., Ozanso, U., Koptagel, E. (2000). A comparison of oogenesis under constant and fluctuating temperatures in Doctor fish, *Garra rufa* Heckel, 1843 (Teleostei: Cyprinidae). *The World Wide Web Journal of Biology*, 5(3).

Bell, F. R. (1979). The relevance of the new knowledge of gastrointestinal hormones to veterinary science. *Vet. Sci. Commun.* 2, 305–314.

Benáková N., Ettler K., Štork J. (2007). Psoriáza nejen pro praxi. Praha: Triton, 190 s. ISBN: 8072549669.

Cinar, K., Şenol, N., Kuru, N. (2008). The distribution of taste buds in *Garra rufa*. *Anatomia, histologia, embryologia*, 37(1), 63-66.

Coad, B. W. (2014). Freshwater Fishes of Iran [online]. Brian W.Coad. 2014. [cit. 2015-12-15] Dostupné z <<http://www.briancoad.com/species%20accounts/Cyprinidae%20Garra%20to%20Vimba.htm>>

Cojocar, Cl., Cojocar, Cd. (2015). Using Of *Garra rufa* for Treatment of Fin Rot in Goldfish (*Carassius auratus*). *Aquac Mar Biol* 3(1).

Dennerle. (2016) Reverzní osmózy [online]. Dennerle GmbH. 2016. [cit. 2016-12-3] Dostupné z <http://www.dennerle.eu/global/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=51&Itemid=94&lang=cs>

Elwitigala J. P., Higgs D. S., Namnyak S., White J. W., Yaneza A. (2005). Septic arthritis due to *Aeromonas hydrophila*: case report and review of the literature. *Int. J. Clin. Pract. Suppl.* 147: 121-124.

Freyhof, J. (2014). *Garra rufa*. The IUCN Red List of Threatened Species 2014: e.T19086922A19223063[online]. 2014.[cit. 2015-12-28]. Dostupné z <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2014-1.RLTS.T19086922A19223063.en>>

Froese, R. (2010). *Garra rufa*. Fish base [online]. 2010. [cit. 2015-12-15] Dostupné z <http://www.fishbase.se/summary/garra-ruffa.html>

Garra rufa Europe (2016) Breeding [online]. *Garra rufa Europe 2016* [cit. 2016-12-3] Dostupné z <<http://www.garrarufa.com/research/breeding/>>

Garigliany, M. M., Hoffmann, B., Dive, M., Sartelet, A., Bayrou, C., Cassart, D., Desmecht, D. (2012). Zoonotic disease pathogens in fish used for pedicure. *Emerg Infect Dis*, 18, 469-72.

Gözükara, S. E., Çavaş, T. (2004). A karyological analysis of *Garra rufa* (Heckel, 1843) (Pisces, Cyprinidae) from the Eastern Mediterranean River basin in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(3), 497-500.

Grassberger, M., Sherman, R. A. (2013). Ichthyotherapy. In *Biotherapy-History, Principles and Practice* (pp. 147-176). Springer Netherlands.

Griffiths, C. E., Barker, J. N. (2007). Pathogenesis and clinical features of psoriasis. *The Lancet*, 370(9583), 263-271.

Hanel L., Novák J. (2002): České názvy živočichů V. Ryby a rybovití obratlovci (Pisces), 3. Páprskoploutví (Actinopterygii), kostnatí (Neopterygii) – máloústí (Gonorynchiformes), máloostní (Cypriniformes), Národní muzeum, (zoologické odd.), Praha, 120 s., ISBN: 8070361395.

Health Protection Agency. (2011). Guidance on the management of the public health risks from fish pedicures. Health Protection Agency. Available online: <http://www.hpa.org.uk/Publications/InfectiousDiseases/InfectionControl/1110Fishspaguidance>

Hoare, C., Williams, H. (2000). Systematic review of treatments for atopic eczema. *Health Technol Assess*, 4(37), 1-191

Janda J. M., Abbott S. L. (1998). Evolving concepts regarding the genus *Aeromonas*: an expanding panorama of species, disease presentations, and unanswered questions. *Clin. Infect.* 27: 332-344.

Ježek, P., Fišerová, V., Bodnárová, M., Štork, J., Kojanová, M., Pavlík, I., & Havelková, M. (2009). Zkušenosti s diagnostikou a léčbou infekcí člověka vyvolaných *Mycobacterium marinum*. Kongres klinické mikrobiologie a infekčních onemocnění, Olomouc.

Jírová, D., Kožíšek, F., Špačková, M., Fabiánová, K. (2010). Informace SZÚ k možnosti používat ryby rodu *Garra rufa* v relaxačním zařízení pro veřejnost [online]. Státní zdravotní ústav. 21. dubna 2010 [cit. 2016-10-3]. Dostupné z < <http://www.szu.cz/informace-szu-k-moznosti-pouzivat-ryby-rodu-garra-rufa-v>>.

Noeren, K.H., Kauer, E., Luczkowski, A., Kouotou, I., Müller B. (2016) Aquarium Guide, Introduction into a fascinating hobby [online]. EHEIM GmbH & Co. KG. 2016. [cit.2016-12-2]. Dostupné z <https://www.eheim.com/media/documents/downloads/eheim_ratgeber_aquarium_gb_0513.pdf>

Kemeny, L., Ruzicka, T., Braun-Falco, O. (1990). Dithranol: a review of the mechanism of action in the treatment of psoriasis vulgaris. *Skin Pharmacology and Physiology*, 3(1), 1-20.

Kiang, J. G., Tsokos, G. C. (1998). Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology. *Pharmacology & therapeutics*, 80(2), 183-201.

Kuru, N., Çınar, K., Şenol, N., Demirbağ, E., & Diler, D. (2010). Endocrine cells in the gastrointestinal tract of *Garra rufa*. *Kafkas Univ. Vet. Fak*, 16, 235-241.

Lam, K. D. Ultraviolet water sterilizer. Hong Kong. US7727406 B2. 1. červen 2010

Lowes, M. A., Bowcock, A. M., Krueger, J. G. (2007). Pathogenesis and therapy of psoriasis. *Nature*, 445(7130), 866-873.

Luczkowski, A., Wagenblast, B., Noeren, K. H., Müller, B. (2016). Guide Light in the Aquarium With the latest results from EHEIM research light lab hobby [online]. EHEIM GmbH & Co. KG. 2016. [cit.2016-12-2]. Dostupné z <
https://www.eheim.com/media/documents/downloads/eheim_ratgeber_licht_gb.pdf>

Macenauer, J. 16. března 2016. pers. comm.

Michel, C., Penninckx, M., Simon, A., Vanhooetghem, O., Sainte, E., Volckaert, F. (2013). Conseil superieur de la sante belge: Fish pédicure – Ichthyothérapie. Publication officielle, Bruxelles.

Oksala, N. K., Ekmekçi, F. G., Özsoy, E., Kirankaya, Ş., Kokkola, T., Emecen, G., Atalay, M. (2014). Natural thermal adaptation increases heat shock protein levels and decreases oxidative stress. *Redox biology*, 3, 25-28.

Ornamental Aquatic Trade Association (2008). Water quality criteria. Ornamental Aquatic Trade Association (OATA). United Kingdom. 19.

Özcelik, S., & Akyol, M. (2011). Kangal hot spring with fish (kangal fishy health spa) & psoriasis treatment. *La presse thermale et climatique*, 148, 141-147.

Patimar, R., Chalanchi, M. G., Chamanara, V., Naderi, L. (2010). Some life history aspects of *Garra rufa* (Heckel, 1843) in the Kangir River, Western Iran: (Osteichthyes: Cyprinidae). *Zoology in the Middle East*, 51(1), 57-66.

Post A, (1965). Vergleichende Untersuchungen der Chromosomenzahlen bei Susswasser Teleosteen. *Z. Zool. Evol. Frosch.* 3: 47-93.

Sayili, M., Akca, H., Duman, T., Esengun, K. (2007). Psoriasis treatment via doctor fishes as part of health tourism: A case study of Kangal Fish Spring, Turkey. *Tourism Management*, 28(2), 625-629.

Sirri, R., Zaccaroni, A., Di Biase, A., Mordenti, O., Stancampiano, L., Sarli, G., Mandrioli, L. (2013). Effects of two water disinfectants (chloramine T and peracetic acid) on the epidermis and gills of *Garra rufa* used in human ichthyotherapy. *Polish journal of veterinary sciences*, 16(3), 453-461.

Szép, Z. (2005). Psoriáza – Novinky v patogenéze a terapii. *Via practica*. 2 (3): 126–128

Šimaljaková, M. (2008). Psoriáza-etiopatogenéza, klinický obraz a súčasné možnosti terapie. *Dermatológia pre prax*, 2(2), 50-55.

Takác, P. (2014). Ichthyotherapy-biotherapeutic treatment method for patients with skin diseases using *Garra rufa* fish. *Acupuncture and Natural Medicine= Akupunktúra a Naturálna Medicína*, (2), 46.

Teimori, A., Esmaeili, H. R., Ansari, T. H. (2011). Micro-structure consideration of the adhesive organ in Doctor Fish, *Garra rufa* (Teleostei; Cyprinidae) from the Persian Gulf Basin. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(3).

Vanhooteghem, O., Anseeuw, D., Michel, C., Penninckx, M., Pironnet, A. M., Simon, A., Beele, H. (2015). Fish Pedicure-induced *Aeromonas sobria* Superficial Necrotic Bullous Dermatitis in a Previously Undiagnosed Diabetes Patient. What are the Risks of Fish Pedicure for Public Health?. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 10(12).

Vazirzadeh, A., Zahedinejad, S., Bahri, A. (2015). Spawning induction in doctor fish, *Garra rufa* (Heckel, 1843) by Ovaprim and captive rearing of larvae. *Iranian Journal of Ichthyology*, 1(4), 258-265.

Veraldi, S., Nazzaro, G., Çuka, E. (2014). *Staphylococcus aureus* infection of the feet following fish pedicure. *Infection*, 42(5), 925-926.

Williams, H. C., Dellavalle, R. P., Garner, S. (2012). Acne vulgaris. *The Lancet*, 379(9813), 361-372.

Yalcin-Özdilek, S., Ekmekci, F. G. (2006). Preliminary data on the diet of *Garra rufa* (Cyprinidae) in the Asi basin (Orontes), Turkey. *Cybium*, 30(2), 177-186.

Yazdanpanah, M. (2005). Reproductive biology of *Garra rufa* (Heckel, 1843) (Cypriniformes, Cyprinidae) in a spring-stream system, Zanjiran, Fars province. Thesis (M.Sc.) Shiraz University, Shiraz, Iran. 136p.

7. Přílohy



Příloha 1: Proces ichtyoterapie



Příloha 2: Příkladné zařízení pro účely ichtyoterapie



Příloha 3: Výsledky ichtyoterapie



REPUBLIC OF INDONESIA
MINISTRY OF MARINE AFFAIRS AND FISHERIES
FISH QUARANTINE AND INSPECTION AGENCY

KI-D1 **140050475**

HEALTH CERTIFICATE FOR FISH AND FISH PRODUCTS

Number : PB/KI-D1/01.0/VI/2015/007241

I. DESCRIPTION ON THE CONSIGNMENT

Name and Quantity of the Product :

NO.	FISH/FISH PRODUCTS*		QUANTITY (hds/pcs/kg/gr/L/mL)
	Latin Name	Common Name	
1	<i>Garra nufa obtusa</i>	Doctor Fish	4560 hds 5 BOX
Total : 4560 hds 0 pcs 0 kg 0 gr 0 L 0 ml			

Name and Address of the Exporter :

SAMPLE FISH CERTIFICATE

Name and Address of the Consignee : Spain

Country of Destination : Spain / Bilbao

Identification of means of transport : Lufthansa / -

Date of Exportation : 21/06/2015

Wild Stocks Cultured Stocks

II. SANITARY DECLARATION

I, the undersigned, certify that the fish fish larvae fish products ova fertilized eggs in the present consignment have been inspected according to the appropriate procedures and subsequently found, at the time of inspection :

- to be free from the following disease :

- to show no clinical signs of disease

No Clinical Signs Of Fish Diseases

The consignment is therefore considered to conform with the fish health, quality, and safety requirements of the importing country.

III. ADDITIONAL INFORMATION

Stamp  Issued at Tangerang on 21 June 2015

Name and Address of Fish Quarantine and Inspection Agency Office : Balai Besar KIPM Jakarta I

Signature  Signatu Delfinal Rachmatullah; S.Pi

198112252003121002

M/E/01.0/20150621/009181

Important note :
 *) Appendix, when required.

Příloha 4: Certifikát pro dovoz ryb

Seznam příloh

Příloha 1: Proces ichtyoterapie

Zdroj: **(Grassberger et Sherman, 2013)**

Příloha 2: Příkladné zařízení pro účely ichtyoterapie

Zdroj: **(Grassberger et Sherman, 2013)**

Příloha 3: Výsledky ichtyoterapie

Zdroj: **(Grassberger et Sherman, 2013)**

Příloha 4: Certifikát pro dovoz ryb

Zdroj: **Ing. Jaroslav Macenauer**