

Nawozy naturalne i organiczne jako źródło zanieczyszczenia środowiska substancjami przeciwbakteryjnymi

© ZBIGNIEW OSIŃSKI, © EWELINA PATYRA

Zakład Higieny Pasz, Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 08.12.2021

Zaakceptowano 27.01.2022

Osiński Z., Patyra E.

Natural and organic fertilizers as a source of environmental contamination with antimicrobial substances

Summary

Veterinary antibiotics (VAs) are widely used worldwide to treat and prevent infectious diseases, as well as to promote growth and improve the feeding efficiency of food-producing animals in livestock activities. Research indicates that animals can excrete up to 90% of VAs through their droppings. Agriculture, especially industrial animal breeding, is among the main sources of environmental pollution with antimicrobials. The intensive breeding of farm animals is excessively loading the environment with excrements. Environmental pollution is caused, among others, by the use of antibacterial substances on a large scale, excretion of unchanged forms of antibiotics with feces and urine, as well as fertilization of arable land with manure. The paper outlines problems resulting from the excretion of antibacterial substances by farm animals and the introduction of these substances in the form of natural or organic fertilizers into arable soils. It reviews the available publications on the presence of such substances in fertilizers and soil, as well as methods of their degradation and their influence on soil and the environment.

Keywords: natural fertilizers, organic fertilizers, antibacterial substances, environmental pollution, soil, bacterial resistance

Odkrycie antybiotyków w pierwszej połowie XX w. i wprowadzenie ich do terapii chorób zakaźnych było jednym z największych historycznych osiągnięć medycyny, które legło u podstaw opracowania sposobów ratowania życia i ochrony zdrowia (68).

Odkrycie penicyliny przez A. Flemminga w 1928 r. rozpoczęło „złotą erę” antybiotyków, która trwała do końca XX w. Antybiotyki były najbardziej skutecznymi chemioterapeutykami wprowadzonymi do leczenia w XX w. Jednak już w latach czterdziestych ubiegłego wieku wyizolowano pierwszy szczep bakteryjny produkujący enzym rozkładający penicylinę, a w 1963 r. wyizolowano szczep *E. coli* produkujący klasyczną β -laktamazę o szerokim spektrum substratowym (TEM-1) (60). Odkrycie erytromycyny i jej stosowanie w leczeniu chorób bakteryjnych, przy których penicylina okazała się nieskuteczna doprowadziło do pojawienia się szczepów bakterii opornych na makrolidy. W ogniskach epidemicznych czerwonki w Japonii w latach pięćdziesiątych XX w., wykazano, że nawet 80% przypadków *Shigella dysenteriae* była niewrażliwa na sulfonamidy (10).

Od momentu odkrycia penicyliny poszukiwano i odkrywano nowe antybiotyki, jak również modyfikowano znane antybiotyki naturalne, otrzymując w ten sposób ich półsyntetyczne pochodne. Jednak już w latach osiemdziesiątych XX w. amerykańska Agencja Żywności i Leków (FDA – The Food and Drug Administration) zatwierdziła o 90% mniej nowych ogólnoustrojowych antybiotyków niż w latach wcześniejszych (55).

Obecnie znane antybiotyki to związki pochodzenia naturalnego lub otrzymane na drodze syntezy chemicznej posiadające w cząsteczce różne grupy funkcyjne, które podzielono na kilka klas w zależności od wykazywanego mechanizmu działania. Wyróżniamy antybiotyki blokujące syntezę ściany komórkowej, zaburzające funkcjonowanie błony komórkowej, hamujące syntezę białek lub kwasów nukleinowych oraz działające na zasadzie antagonizmu konkurencyjnego lub zakłócające procesy metaboliczne zachodzące w komórce bakteryjnej (25). Odkrycie i stosowanie antybiotyków w głównej mierze przyczyniło się do obniżenia śmiertelności i zachorowalności. Jednak wraz

Tab. 1. Główne klasy antybiotyków, mechanizm ich działania, przykłady związków i najważniejsze obszary ich wykorzystania (16, 38)

Klasa antybiotyku	Mechanizm działania	Przykłady	Główne zastosowanie
Aminoglikozydy	inhibicja syntezy białek (inhibicja translacji)	amikacyna apramycyna gentamycyna neomycyna streptomycyna	lecznictwo weterynaryjne lecznictwo weterynaryjne medycyna, lecznictwo weterynaryjne medycyna, lecznictwo weterynaryjne lecznictwo weterynaryjne, produkcja roślinna
Glikopeptydy	działanie na ścianę lub błonę komórkową, inhibicja syntezy peptydoglikanu	bleomycyna polimyksyna teikoplanina wankomycyna	medycyna medycyna, lecznictwo weterynaryjne lecznictwo weterynaryjne medycyna, lecznictwo weterynaryjne
β -laktamy	inhibicja syntezy ściany komórkowej	amoksycylina kloksacylina cefuroksym oksacylina	lecznictwo weterynaryjne lecznictwo weterynaryjne medycyna lecznictwo weterynaryjne
Makrolidy	inhibicja syntezy białek poprzez odwracalne wiązanie z podjednostką rybosomu 50S	azytromycyna klarytromycyna erytromycyna roksytromycyna tylozyna	medycyna medycyna medycyna, lecznictwo weterynaryjne medycyna lecznictwo weterynaryjne
Linkozamidy	inhibicja syntezy białek poprzez odwracalne wiązanie z podjednostką rybosomu 50S	klindamycyna linkomycyna	medycyna lecznictwo weterynaryjne
Chinolony i fluorochinolony	inhibicja replikacji i transkrypcji DNA	ciprofloksacyna enrofloksacyna flumechina ofloksacyna	medycyna lecznictwo weterynaryjne medycyna lecznictwo weterynaryjne
Sulfonamidy	inhibicja syntezy kwasu foliowego	sulfachloropirydazyna sulfadiazyna sulfametazyna sulfametoksazol sulfapirydyna	medycyna, lecznictwo weterynaryjne lecznictwo weterynaryjne lecznictwo weterynaryjne lecznictwo weterynaryjne medycyna
Tetracykliny	inhibicja syntezy białek	chlorotetracyklina doksycyklina oksytetracyklina tetracyklina	lecznictwo weterynaryjne medycyna, lecznictwo weterynaryjne medycyna, lecznictwo weterynaryjne, ochrona roślin medycyna, lecznictwo weterynaryjne

z rosnącą, a następnie masową produkcją antybiotyków oraz powszechnym ich stosowaniem w medycynie oraz w celach niemedycznych szybko zaczął narastać problem antybiotykooporności bakterii. Rozwój farmakologii oraz coraz szersze i bardziej intensywne stosowanie antybiotyków skutkowało rozprzestrzenianiem się oporności na te farmaceutyki oraz rozwojem tzw. superbakterii (superbugs), tj. mikroorganizmów opornych na antybiotyki, które były stosowane w celu leczenia wywołanych przez nie chorób. Po superbakteriach pojawiły się szczepy wielooporne (MDR – multidrug-resistant) i wyjątkowo lekooporne (XDR – extremely drug-resistant), a nawet szczepy oporne na wszystkie dostępne antybiotyki (TDR – totally drug-resistant) (10). Rokrocznie na świecie odnotowuje się ok. 700 000 zgonów spowodowanych przez antybiotykooporne patogeny i szacuje się, że do 2050 r. liczba ta może wzrosnąć do 10 milionów (28).

W krajach europejskich dopuszczonych do użycia jest szereg klas antybiotyków, z których wiele stosowanych jest zarówno w medycynie jak i leczeniu weterynaryjnym, a w niektórych przypadkach (tetracykliny) także w uprawie roślin. Z wymienionych względów antybiotyki są szczególną klasą związków

chemicznych rozpowszechnionych w środowisku naturalnym. W tabeli 1 przedstawiono klasyfikację głównych klas antybiotyków na podstawie ich mechanizmu działania, przykłady reprezentatywnych związków w obrębie każdej klasy oraz ich najważniejsze zastosowania (16, 38).

Antybiotyki w profilaktyce i terapii zwierząt gospodarskich

Antybiotyki zaczęto stosować w chowie i hodowli zwierząt w latach pięćdziesiątych XX w. i miały one za zadanie przede wszystkim profilaktykę chorób powodujących największe straty w hodowli zwierząt oraz poprawę wykorzystania składników pokarmowych paszy i obniżenie kosztów żywienia, dzięki czemu zyskały one nazwę antybiotyków stymulatorów wzrostu (AGP – antibiotic growth promoters) (41). Po raz pierwszy problem antybiotykooporności powiązanej ze stosowaniem antybiotyków w chowie i hodowli zwierząt został opisany w 1969 r. w tzw. Raporcie Swanna (51). Raport ten zawierał propozycje uporządkowania stosowania antybiotyków jako dodatków paszowych i zalecenie ograniczenia ich stosowania w hodowli zwierząt. W raporcie zwrócono też uwagę

na konieczność wydzielenia tzw. antybiotyków paszowych, czyli takich, które byłyby traktowane bardziej liberalnie od antybiotyków zarezerwowanych wyłącznie do celów leczniczych i dostępnych na podstawie recepty. Rekomendacje te doprowadziły do wycofania jako AGP penicyliny, streptomycyny i tetracykliny w wielu krajach europejskich (6). Od tego czasu przeprowadzono wiele badań oraz ukazało się wiele prac opisujących możliwy wpływ stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu na powstawanie zjawiska lekooporności. W 2003 r. Parlament Europejski i Rada przyjęły rozporządzenie nr 1831/2003 dotyczące dodatków paszowych, które z dniem 1 stycznia 2006 r. wprowadziło całkowity zakaz stosowania w żywieniu zwierząt gospodarskich preparatów o charakterze antybiotykowych stymulatorów wzrostu innych niż histomonostatyki i kokcydiostatyki (46).

Antybiotyki u zwierząt gospodarskich mogą być aplikowane w postaci iniekcji (leczenie pojedynczych zwierząt, szczególnie przeżuwaczy oraz koni) lub też drogą *per os*, poprzez ich podanie w paszy leczniczej lub po rozpuszczeniu w wodzie do pojenia zwierząt. Drugi sposób aplikacji leku jest stosowany w przypadku leczenia całych grup zwierząt (głównie trzody chlewnej i drobiu). Popularność tego sposobu podawania substancji przeciwbakteryjnych wynika z tego, że lek jest aplikowany jednocześnie całej grupie zwierząt, co zmniejsza nakłady czasu i pracy.

Niezależnie od drogi podania substancji przeciwbakteryjnych zwierzętom gospodarskim, związki te wydalone są z organizmu w ilości od 30% do 90% podanej dawki początkowej, w postaci niezmetabolizowanej lub w postaci aktywnych i/lub nieaktywnych metabolitów z kałem lub moczem, które wykorzystywane są następnie jako nawozy naturalne do nawożenia pól uprawnych lub użytków zielonych (1). Nawozy te nie podlegają obecnie kontroli laboratoryjnej w kierunku obecności substancji przeciwbakteryjnych, przez co mogą stać się potencjalnym zagrożeniem dla środowiska naturalnego. Z tego względu staje się oczywiste, że każdego roku wraz z wydaliniami zwierząt odprowadzanych jest do środowiska kilka tysięcy ton substancji przeciwbakteryjnych stosowanych w lecznictwie weterynaryjnym. Celem opracowania jest przedstawienie problemu związanego z obecnością substancji przeciwbakteryjnych w nawozach naturalnych i organicznych oraz ich wpływu na środowisko naturalne.

Nawozy naturalne i nawozy organiczne

Zgodnie z definicją zawartą w Ustawie z dn. 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu, do nawozów naturalnych zaliczany jest obornik, gnojówka i gnojowica oraz pochodzące od zwierząt gospodarskich odchody (z wyjątkiem odchodów pszczoł) bez dodatków innych substancji, a także guano, które są przeznaczone do rolniczego wykorzystania (54). Obornik czy gnojowica są bardzo dobrymi nawozami naturalnymi sto-

sowanymi w uprawie roślin. Ciekły odpad z produkcji trzody chlewnej, czyli tzw. gnojowica, stanowi cenny nawóz o wysokiej zawartości składników mineralnych. Gnojowica jest nawozem płynnym, stanowiącym mieszaninę kału, moczu, resztek pokarmu i wody stosowanej do usuwania odchodów z pomieszczeń inwentarskich (50). W rolnictwie oprócz gnojowicy świńskiej wykorzystywana jest gnojowica bydłęca oraz bogaty w azot pomiot z ferm drobiu. Obowiązujące prawodawstwo dotyczące nawozów naturalnych obejmuje wymagania, co do ich składowania, terminu zastosowania na gruntach ornych, w uprawach trwałych i na trwałych użytkach zielonych oraz dopuszczalnej ilości azotu wprowadzanej na hektar uprawy zgodnie z Dyrektywą 91/676/EWG (13). Nie reguluje natomiast kwestii związanych z występowaniem w tych nawozach substancji chemicznych wydalanych z organizmu zwierząt, w tym antybiotyków i ich metabolitów.

Według danych GUS w sezonie gospodarczym 2017/18 zużyto w Polsce ok. 43,84 mln ton obornika, 6,8 mln m³ gnojówki i 13,74 mln m³ gnojowicy. Najwięcej obornika w przeliczeniu na hektar użytków rolnych zużyto w województwie podlaskim i wielkopolskim, najmniej w dolnośląskim i zachodniopomorskim. Gnojówka i gnojowica wykorzystywana była głównie w gospodarstwach województw podlaskiego, wielkopolskiego i mazowieckiego. Województwa, w których wykazano największe zużycie nawozów naturalnych, charakteryzują się największą obsadą bydła i świń na 100 ha użytków rolnych (44).

Oprócz nawozów naturalnych pod uprawę roślin stosowane są również nawozy organiczne, do których zgodnie z Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 z dnia 21 października 2009 r. (48), zaliczany jest obornik, który definiowany jest jako kał lub mocz zwierząt gospodarskich, innych niż ryby hodowlane, ze ściółką lub bez. Ponadto w rozporządzeniu zdefiniowano pojęcie „nawozu organicznego” i „polepszacza gleby”, które oznaczają materiały pochodzenia zwierzęcego stosowane oddzielnie lub łącznie do utrzymywania lub poprawiania odżywiania roślin, a także właściwości fizycznych i chemicznych oraz aktywności biologicznej gleb. Mogą one zawierać obornik, niezmineralizowane guano, treść przewodu pokarmowego, kompost i pozostałości pofermentacyjne. Obornik, nawozy organiczne i polepszacze gleby stanowią materiał kategorii 2. Oznacza to, że mogą być to produkty uboczne zawierające pozostałości zatwierdzonych substancji lub zanieczyszczeń w ilościach przekraczających dozwolone poziomy, w tym antybiotyków, sulfonamidów i chinolonów, które powinny być monitorowane u żywych zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego (47). Nawozy organiczne oraz polepszacze gleby podlegają obowiązkowi rejestracji oraz kontroli laboratoryjnej pod kątem mikrobiologicznym i parazytologicznym oraz obciążenia metalami ciężkimi. Nie podlegają jed-

nak kontroli w kierunku obecności substancji przeciwbakteryjnych, a rolnicze wykorzystanie wymienionych nawozów może być przyczyną skażenia środowiska naturalnego tymi związkami.

Substancje przeciwbakteryjne w nawozach

Antybiotyki wykrywane są w postaci niezmienionej w oborniku, gnojowicy czy pomiole drobiowym z gospodarstw hodowlanych w stężeniach od kilku $\mu\text{g}/\text{kg}$ do kilkuset mg/kg . Różnice w poziomach substancji przeciwbakteryjnych w wymienionych nawozach zależą od gatunku zwierząt, klasy antybiotyku oraz lokalizacji geograficznej i rodzaju gospodarstwa hodowlanego. Ich zawartość zależna jest od zastosowanego antybiotyku ponieważ niektóre substancje, takie jak amoksycylina lub tetracyklina metabolizowane są tylko w 10-20%, podczas gdy inne, np. sulfametoksazol, w ok. 85% (20). Substancje czynne mogą być metabolizowane do nieaktywnych koniugatów, które po wydaleniu z organizmu zwierzęcia mogą zostać przekształcane do aktywnej postaci leku. Ponadto niektóre wydalane związki mogą wykazywać podobną, a nawet większą szkodliwość niż związki macierzyste (20). Najwyższe stężenia antybiotyków wykrywane są w nawozach pochodzących z gospodarstw wielkotowarowych w porównaniu z małymi gospodarstwami rodzinnymi (70). Oprócz tego częstość wykrywania, jak i stężenia antybiotyków są zwykle wyższe w nawozach pochodzących od trzody chlewnej w porównaniu do nawozów pochodzących od drobiu i bydła. Wynika to głównie z faktu, że antybiotyki podaje się w wyższych dawkach i częściej świniom niż innym zwierzętom gospodarskim (66).

W przeprowadzonych w Holandii badaniach 680 próbek kału pochodzącego z 20 ferm trzody chlewnej i 20 ferm bydła, stwierdzono obecność antybiotyków, odpowiednio: w 55% i 75% próbek (1). Ponadto aż w 34% badanych próbek wykryto więcej niż jeden antybiotyk. Najczęściej wykrywanymi związkami były: oksytetracyklina, doksyicyklina i sulfadiazyna, tetracyklina, flumechina, linkomycyna i tylozyna. Wszystkie zidentyfikowane antybiotyki dopuszczono do stosowania u trzody chlewnej i/lub cieląt, ale ciprofloksacyna i enrofloksacyna (których obecność również potwierdzono w badanych próbkach) oraz flumechina uważane są za antybiotyki o krytycznym znaczeniu, które powinny być stosowane szczególnie ostrożnie. Stężenia substancji przeciwbakteryjnych w próbkach wynosiły od 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ do 95 mg/kg kału. W przypadku niektórych związków ich stężenia wskazywały na użycie w celach terapeutycznych. Możliwe, że antybiotyki zastosowano nielegalnie i/lub niezgodnie z przeznaczeniem. Inną przyczyną obecności substancji przeciwbakteryjnych mogą być zanieczyszczenia paszy lub wody w gospodarstwie (1). Podobne wyniki otrzymano w pilotażowych badaniach przeprowadzonych w Polsce i Hiszpanii dla próbek pomiotu kurzego,

gnojowicy oraz kału świń (40). Najczęściej stwierdzanymi antybiotykami w wymienionych nawozach były tetracykliny, głównie doksyicyklina, a oznaczone poziomy substancji przeciwbakteryjnych wynosiły od 200 μg do 175 mg/kg nawozów. Wyższe stężenia oznaczanych związków stwierdzono w próbkach pochodzących z Hiszpanii i podobnie jak w wymienionych wyżej badaniach holenderskich w próbkach kału świńskiego potwierdzono obecność dwóch, a nawet trzech substancji przeciwbakteryjnych w jednej próbce (1, 40).

Wyniki badań przeprowadzonych w Austrii na 66 próbkach gnojowicy oraz pomiotu kurzego i indyczego wykazały obecność antybiotyków należących do kilku grup chemicznych (37). Tetracyklina (TC) została oznaczona w 22 z 30 próbek gnojowicy w zakresie stężeń od 0,36 do 23 mg/kg , co było porównywalne z wynikami uzyskanymi przez badaczy niemieckich (61). W wynikach badań opisanych przez Wincklera i wsp. (61) TC była obecna w pięciu z sześciu analizowanych próbek gnojowicy, chociaż u świń od których pochodziły próbki nie został zastosowany ten antybiotyk. Otrzymane wyniki były zaskakujące ze względu na fakt, że tylko w jednej z sześciu ferm ten antybiotyk został zastosowany w celach terapeutycznych u świń, a 73% wszystkich poddanych analizie próbek gnojowicy było zanieczyszczonych tym konkretnym antybiotykiem. Z przedstawionych wyników badań przez Wincklera i wsp. (61) oraz Martinez-Carballo i wsp. (37) można wyciągnąć następujący wniosek: TC jest wykrywana tylko wtedy, gdy u zwierząt stosowana jest chlorotetracyklina (CTC) lub oksytetracyklina (OTC) oraz nie obserwuje się jej obecności, gdy żadna z powyższych substancji nie jest stosowana. Jednak degradacja tych dwóch antybiotyków – OTC i CTC do TC, według naszej wiedzy, jest nieznana w literaturze. Stosowanie leków nieprzepisanych na receptę jest mało prawdopodobne, ponieważ te same wyniki uzyskano w dwóch niezależnych badaniach w dwóch różnych krajach, w różnym czasie.

Oprócz tetracykliny, badacze austriaccy wykryli oksytetracyklinę zwłaszcza w próbkach gnojowicy (w 22 z 30 próbek) w stężeniach od 0,21 do 29 mg/kg (37). Badania wykonane w Niemczech przez Wincklera i wsp. (61) również potwierdziły obecność oksytetracykliny w gnojowicy świńskiej w 5,1% ($n = 176$) poddanych analizie próbek. Natomiast stężenia oznaczone przez niemieckich badaczy były wyższe w porównaniu do wyników austriackich i wynosiły od 1,6 do 136 mg/kg . Ponadto Martinez-Carballo i wsp. (37) analizie poddali liofilizowany pomiot kurzy, w którym OTC obecna była w jednej próbce pochodzącej z fermy brojlerów kurzych w maksymalnym stężeniu 1,1 mg/kg , przy czym antybiotyk ten został zlecony przez lekarza weterynarii na krótko przed pobraniem próbek pomiotu. Chlorotetracyklinę w najwyższych stężeniach autorzy stwierdzili w gnojowicy świńskiej (zakres stę-

żeń od 0,1 do 46 mg/kg). Cztery z sześciu ferm trzody chlewnej, z których pobrane zostały próbki stosowały CTC, a ogółem 17 z 30 poddanych analizie próbek było zanieczyszczonych chlorotetracykliną (37). Natomiast w badaniach niemieckich potwierdzono obecność CTC w gnojowicy świńskiej na poziomie od 1 do 26 mg/kg oraz 1,7 mg/kg w pomoci kurzym i indycznym (61). Ponadto próbki pochodzące z Austrii poddano analizie w kierunku obecności sulfonamidów i fluorochinolonów. Wykazano wysokie poziomy stężenie sulfadymidyny w gnojowicy świńskiej oraz sulfadiazynę w pomoci kurzym i indycznym. Sulfadymidynę oznaczono w gnojowicy w maksymalnym stężeniu wynoszącym 20 mg/kg, natomiast sulfadiazynę w maksymalnym stężeniu 51 mg/kg u kurcząt i 91 mg/kg u indyków (37). Stosowany łącznie z sulfonamidami trimetoprim (TMP), został stwierdzony wyłącznie w pomoci kurcząt i indyków w stężeniu do 17 mg/kg. Wyniki te wskazują, że TMP nie jest stabilny w gnojowicy, co zostało również wykazane przez innych badaczy (17). Natomiast enrofloksacynę i ciprofloksacynę stwierdzono zarówno w oborniku pochodzącym z ferm trzody chlewnej, jak i w pomoci indycznym i kurzym w maksymalnych stężeniach od 2,8 do 8,3 mg/kg (37).

W badaniach przeprowadzonych przez Zhao i wsp. (69) analizie poddano 143 próbki odchodów pochodzących z ośmiu chińskich prowincji, w których wykazano obecność ciprofloksacyny, enrofloksacyny, oksytetracykliny oraz chlorotetracykliny w odchodach trzody chlewnej i bydła w stężeniach wynoszących od 21 do ponad 59 mg/kg. Natomiast w pomoci kurzym wykryto fleroksacynę, norfloksacynę, ciprofloksacynę i enrofloksacynę w stężeniach od 45,6 mg/kg do ponad 1420 mg/kg dla enrofloksacyny. W żadnej z analizowanych próbek odchodów nie stwierdzono znaczących stężeń sulfonamidów (poniżej 10 mg/kg), a w pomoci kurzym zaobserwowano jedynie sulfadimidynę w maksymalnym stężeniu 6,04 mg/kg. Stwierdzone przez autorów pozostałości dla większości antybiotyków wykazywały znaczące różnice statystyczne pomiędzy prowincjami, z których zostały pobrane próbki oraz gatunkami zwierząt (69). W innych badaniach, przeprowadzonych przez Hu i wsp. (23) analizowano gnojowicę świńską pochodzącą z ferm w prowincji Tianjin. Autorzy poddali badaniu gnojowicę zebraną od zwierząt w okresie zimowym i letnim. Opracowana metoda analityczna obejmowała 11 substancji przeciwbakteryjnych: oksytetracyklinę, tetracyklinę, chlorotetracyklinę, sulfametazynę, sulfadoksynę, sulfachloropirydazynę, chloramfenikol, linkomycynę, ofloksacynę, ciprofloksacynę i pefloksacynę. Badacze wykazali, że w gnojowicy pochodzenia zimowego obecne są wyższe stężenia substancji przeciwbakteryjnych, co zostało wyjaśnione przez większą zachorowalność zwierząt w okresie zimowym. W analizowanych próbkach gnojowicy

wykazano obecność wszystkich wymienionych związków w stężeniach od 0,1 mg/kg dla sulfadioksyny do 183,5 mg/kg dla OTC. Ponadto przeanalizowano stosowanie antybiotyków w czterech fermach i wykazano, że OTC, TC i CTC były powszechnie stosowane jako dodatki paszowe, a sulfadoksynę, ofloksacynę i linkomycynę wykorzystywano zarówno w celach leczniczych jak również profilaktycznych (23).

Wyniki badań próbek pomiotu kurzego z ferm wielkotowarowych w Chile potwierdziły obecność w wysokich stężeniach enrofloksacyny i OTC, przy czym najwyższe stężenia dotyczyły enrofloksacyny (67). Jest to zgodne z wcześniejszymi badaniami przeprowadzonymi w Brazylii, które potwierdziły, że enrofloksacyna jest najczęściej wykrywanym chinolonem i osiąga najwyższe średnie stężenia w próbkach pomiotu drobiowego (31). Wyniki badań w wielkotowarowych stadach drobiu wskazują, że pomiot stanowi jedno z potencjalnych źródeł rozprzestrzeniania się pozostałości substancji przeciwbakteryjnych w środowisku.

Wolters i wsp. (62) poddali badaniom obornik pochodzący z ośmiu tuczarni i sześciu ferm hodowlanych trzody chlewnej oraz produkty pofermentacyjne (pofermenty) powstałe na bazie obornika z ośmiu biogazowni w Dolnej Saksonii w Niemczech. Następnie ocenili zależność pomiędzy stosowaniem antybiotyków, a występowaniem ich pozostałości w nawozach oraz przeanalizowali występowanie w nawozach bakterii niosących geny oporności na antybiotyki i ruchome elementy genetyczne. W badanym materiale autorzy stwierdzili 11 różnych antybiotyków należących do sześciu klas. Analiza pozostałości antybiotyków wykazała maksymalne stężenie TC dochodzące do 300 mg/kg suchej masy (s.m.) w oborniku świńskim oraz doksycykliny w stężeniu do 10,1 mg/kg s.m. w pofermentach, tym samym potwierdzając, że beztlenowy rozkład substancji organicznych przez drobnoustroje nie powoduje całkowitej degradacji leków. Patyra i wsp. (40) również potwierdzili, występowanie substancji przeciwbakteryjnych w osadach pofermentacyjnych uzyskiwanych po produkcji biogazu z obornika, w których potwierdzili obecność enrofloksacyny i tiamuliny w stężeniu kilkudziesięciu mikrogramów na kilogram pofermentu w 2 z 14 poddanych analizie chromatograficznej próbek.

W dostępnej literaturze brak jest danych na temat występowania substancji przeciwbakteryjnych w polepszaczach gleby. W badaniach przeprowadzonych w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym w Puławach (wyniki niepublikowane) wykazano, że polepszacze gleby wytworzone z udziałem mączek mięsno-kostnych mogą zawierać śladowe ilości substancji przeciwbakteryjnych. W przeanalizowanych próbkach wykryto obecność enrofloksacyny i ciprofloksacyny. Uzyskane wyniki mogą wskazywać, że mączkę użytą do produkcji polepszacza glebowego

wytworzono z padłego w trakcie leczenia drobiu. Takie stwierdzenie wysunięto na podstawie analizy rejestru produktów leczniczych weterynaryjnych, w którym enrofloksacyna dopuszczona jest jako substancja lecznicza do stosowania w wodzie do pojenia drobiu, a ciprofloksacyna to powstający w organizmie metabolit enrofloksacyny. Według oceny autorów, należy podjąć badania nad występowaniem substancji przeciwbakteryjnych w polepszaczach gleby, pofermentach i nawozach organicznych wytwarzanych na bazie ubocznych produktów pochodzenia zwierzęcego (UPPZ), ponieważ procesy technologiczne stosowane do przetwarzania UPPZ nie zapewniają całkowitej degradacji zawartych w nich substancji przeciwbakteryjnych.

Berendsen i wsp. (1) wskazują, że analiza występowania antybiotyków w nawozach naturalnych pochodzących od zwierząt gospodarskich umożliwi osiągnięcie kilku celów. Po pierwsze, pozwala pozyskać informacje na temat możliwej selekcji drobnoustrojów lekoopornych w przewodzie pokarmowym zwierząt, a tym samym uzyskać wiedzę na temat związku pomiędzy pozostałościami substancji chemicznych, a opornością bakterii. Po drugie, pozwala ocenić stopień rozpowszechnienia antybiotyków w środowisku i możliwych skutków ich ekotoksykologicznego oddziaływania. Po trzecie, pozwala monitorować trendy w stosowaniu antybiotyków w gospodarstwach przy użyciu nieinwazyjnego pobierania próbek, a tym samym wspomaga egzekwowanie prawidłowego stosowania antybiotyków i zapobiegać nielegalnemu i niezgodnemu z przeznaczeniem ich stosowaniu. Analiza nawozów naturalnych może być w przyszłości wykorzystana jako metoda badania wiarygodności np. gospodarstw ekologicznych. Pobór próbki odchodów zwierząt może dać jednoznaczny wynik, co do zastosowania zakazanych w rolnictwie ekologicznym lub nie zarejestrowanych w książce leczenia zwierząt produktów leczniczych weterynaryjnych.

Stosowanie nawozów naturalnych i organicznych, a obecność substancji przeciwbakteryjnych w glebie

Przypuszcza się, że wiele milionów ton farmaceutyków zostało wprowadzonych do biosfery w przeciągu ostatnich 50 lat, w rezultacie stosowania leków w chowie i hodowli zwierząt, medycynie, lecznictwie weterynaryjnym, w przemyśle i badaniach naukowych, a także wraz z odpadami trafiającymi na wysypiska oraz ze ściekami odprowadzanymi do wód powierzchniowych i gleby (52).

Stosowanie nawozów naturalnych pochodzących od zwierząt gospodarskich lub nawozów organicznych wytwarzanych na bazie UPPZ, szczególnie z ferm wielkotowarowych, w których utrzymanie zwierząt wymaga stosowania leków weterynaryjnych, jest jedną z głównych dróg wprowadzania substancji przeciw-

bakteryjnych do środowiska, w tym do gleby oraz wód powierzchniowych i gruntowych. Szacuje się, iż zawartość antybiotyków dostających się do gleby wraz z nawozami naturalnymi wynosi kilkaset gramów na hektar, a ich stężenia przekraczają często poziom kilkuset $\mu\text{g}/\text{kg}$ gleby, przy czym największy udział mają tutaj tetracykliny, powszechnie wykorzystywane w hodowli trzody chlewnej (27). Jest to szczególnie ważne wobec narastania obciążeń środowiskowych na terenach rolniczych, na których nie tylko obciążenie środowiska biogenami, ale także metalami, czy pozostałościami farmaceutyków i leków weterynaryjnych stanowi poważne wyzwanie.

Obecnie w Unii Europejskiej nie istnieją przepisy dotyczące maksymalnych poziomów pozostałości dla antybiotyków w glebie oraz wodach powierzchniowych. W 1996 r. Europejska Agencja Oceny Leków (EMA – European Medicines Evaluation Agency) ustaliła wartości progowe dla pozostałości leków weterynaryjnych i dodatków paszowych w glebach i wodach gruntowych odpowiednio na: 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 0,1 $\mu\text{g}/\text{l}$ (14). Jednak wartości te dotyczą substancji zatwierdzanych po 2000 r., przez co nie odnoszą się do antybiotyków, sulfonamidów i chinolonów. W badaniach przeprowadzonych na terenie Niemiec w latach 2000-2001 (18) potwierdzono obecność tetracyklin w glebie w stężeniu do 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$, wykazując, że ta wykorzystywana na całym świecie klasa antybiotyków jest trwała i może gromadzić się w glebie nawożonej obornikiem pochodzącym z intensywnej hodowli zwierzęcej. Badania nie dały jednak dowodów wskazujących, że tetracykliny przemieszczają się do głębszych warstw ziemi lub wód gruntowych ze względu na silną sorpcję wymienionych antybiotyków przez sorbent glebowy. W przeprowadzonych we Włoszech i Stanach Zjednoczonych badaniach terenowych również potwierdzono obecność tetracyklin w glebie nawożonej gnojowicą (29). Także w Turcji stwierdzono obecność OTC w maksymalnym stężeniu wynoszącym 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ gleby nawożonej gnojowicą pochodzącą z ferm trzody chlewnej (26). W badaniach przeprowadzonych Chinach, a dotyczących obecności w glebach nawożonych gnojowicą świńską TC, OTC, CTC, ciprofloksacyny, enrofloksacyny, i ofloksacyny w badanych próbkach znaleziono wszystkie wymienione substancje przeciwbakteryjne, przy czym najwyższe stężenia odnotowano dla enrofloksacyny – 637,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i chlorotetracykliny – 2668,9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (24). Przeprowadzone w Niemczech wstępne badania przesiewowe próbek gleby na obecność sulfonamidów, wykazały obecność sulfametazyny na poziomie ok. 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$, w czterech z czternastu pobranych próbek gleby (22). Schlüsener i wsp. (49) używając techniki chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas, wykryli śladowe stężenia tiamuliny (0,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$) w próbkach gleby rolniczej, a Li i wsp. (33) obecność chinolonów w glebach uprawnych w średnich stęże-

niach, nie przekraczających 195,3 µg/kg. W badaniach próbek gleb nawożonych obornikiem pozyskanych z upraw warzyw w szklarniach wielkoprzemysłowych oraz pól uprawnych w rejonie Pekinu (Chiny) wykryto 11 substancji przeciwbakteryjnych. We wszystkich próbkach pochodzących ze szklarni wykryto antybiotyki na poziomie od 28 µg/kg do 1051 µg/kg, co wskazuje na duże zanieczyszczenie użytego do nawożenia obornika (32).

Wu i wsp. (63) stwierdzili obecność chinolonów w stężeniach do 42 µg/kg w próbkach gleby z ekologicznych upraw warzyw w prowincji Guangdong w Chinach. Obecność chinolonów potwierdzono również w próbkach gleby rolniczej w Malezji i Austrii, odpowiednio w stężeniach od 36 do 378 µg/kg (enrofloksacyna) i do 370 µg/kg (ciprofloksacyna) (21, 37).

Badania przeprowadzone przez Xiang i wsp. (64) w kierunku obecności tetracyklin w glebach wykorzystywanych rolniczo w chińskiej prowincji Guangdong wykazały ich występowanie w zakresie od 0,04 do 184,4 µg/kg, przy czym najwyższe stężenia wynoszące odpowiednio: 161,5 i 184,8 µg/kg uzyskano dla CTC i DC. Średnie wartości (n = 69) dla CTC i DC wynosiły, odpowiednio: 14,50 i 21,87 µg/kg i były kilkakrotnie (4-9 ×) wyższe niż średnie stężenia OTC i TC. Badania te wykazały, że antybiotyki mogą pozostawać przez długi czas w środowisku po uwolnieniu z obornika do gleby.

Obecność antybiotyków została potwierdzona w wodach powierzchniowych i gruntowych, osadach i mułach rzecznych, w glebie, ściekach surowych z gospodarstw domowych i zakładów przemysłowych, a w szczególności ze szpitali oraz ferm hodowlanych (włączając stawy rybne), w odpływach z oczyszczalni często wykorzystywanych do irygacji pól, w osadzie oraz oborniku stosowanym jako nawóz. Utrzymujące się stale na poziomach poniżej inhibicyjnych, stężenia antybiotyków w środowisku mogą powodować zmiany w obecnej tam mikrobiocenozie i w konsekwencji prowadzić do powstania rezerwuarów oporności oraz dominacji mikroorganizmów antybiotykoopornych. Rozprzestrzenianie się oporności na antybiotyki jest uznawane za coraz większe zagrożenie zarówno dla równowagi środowiska, jak i możliwości leczenia licznych chorób zwierząt i ludzi (9).

W związku z koniecznością zapewnienia właściwych warunków do produkcji bezpiecznej żywności istnieje potrzeba ochrony gruntów rolnych. Należy rozważyć bardziej restrykcyjne podejście do ustalania dopuszczalnych zawartości substancji powodujących ryzyko na tych grupach gruntów oraz do oceny zagrożenia dla zdrowia ludzi. Obecnie obowiązujące normatywy w odniesieniu do substancji stwarzających ryzyko dla środowiska glebowego nie zostały wyznaczone w oparciu o jednolite metodyki oceny ryzyka zdrowotnego i ekologicznego.

Procesy technologiczne obniżające zawartość substancji przeciwbakteryjnych w nawozach

Przechowywanie, kompostowanie lub fermentacja tlenowa są stosowane w procesach przetwarzania obornika i/lub gnojowicy i mogą być skuteczne w częściowej eliminacji pozostałości antybiotyków, dzięki czemu prowadzą do zmniejszenia uwalniania tych związków do gleby. Skuteczność tych procesów w eliminacji pozostałości antybiotyków zależy od wielu czynników. W przypadku przechowywania stopień zanikania antybiotyków zależy od klasy antybiotyku i czasu przechowywania nawozu, który bywa różny i wynosi do 50 miesięcy (średnia 9 miesięcy) dla gnojowicy i do 48 miesięcy (średnia 6 miesięcy) dla obornika (2).

Skuteczność degradacji antybiotyków podczas kompostowania zależy od temperatury, wilgotności, rodzaju użytego podłoża, obecności innych zanieczyszczeń, czasu oraz początkowego stężenia i właściwości fizykochemicznych (15). Kompostowanie jest w stanie obniżyć poziom niektórych antybiotyków w nawozach nawet o ponad 90%. Jednak pomimo uzyskiwanego w trakcie kompostowania wysokiego stopnia mineralizacji materiału organicznego, proces ten redukuje mniej niż 1% antybiotyków, podczas gdy sorpcja jest uważana za główną drogę ich eliminacji. Dlatego w przypadku nawożenia gleby kompostem, produktami pofermentacyjnymi lub nawozami naturalnymi, antybiotyki zawarte w tych produktach mogą zostać zaabsorbowane przez glebę (5).

Mimo że niektóre techniki obróbki wstępnej zmniejszają stężenie antybiotyków w nawozach naturalnych i organicznych, w większości przypadków nawozy naturalne trafiają na pola uprawne w postaci nieprzetworzonej. Wynika to z braku przepisów prawnych nakazujących przetworzenie nawozów naturalnych przed ich rolniczym wykorzystaniem. Ponadto nie ustanowiono żadnych limitów dla pozostałości antybiotyków w nawozach naturalnych i organicznych. W konsekwencji większość antybiotyków wykorzystywanych w produkcji zwierzęcej jest uwalniana do środowiska poprzez zastosowanie wymienionych nawozów na gleby uprawne (30).

Wpływ antybiotyków na środowisko gleby

Pomimo niewątpliwych korzyści, które wniosły i nadal posiadają substancje przeciwbakteryjne do leczenia ludzi i zwierząt, niepokojące jest ciągłe ich uwalnianie do środowiska oraz ich potencjalny negatywny wpływ na żywe organizmy. Wynika to z faktu niepełnego ich metabolizowania w organizmach ludzi i zwierząt. Wprowadzanie antybiotyków do gleby prowadzi do selekcji bakterii antybiotykoopornych, które mogą powodować zmiany w całej populacji drobnoustrojów glebowych (9). Niskie, poniżej minimalnego stężenia hamującego (MIC – minimum inhi-

bitory concentration) stężenia antybiotyków w glebie mogą prowadzić do zmian w genomach bakteryjnych i przenoszenia pomiędzy drobnoustrojami oraz populacjami drobnoustrojów (nawet niespokrewnionymi) genów oporności na antybiotyki (ARG – antibiotic resistance genes) oraz związanych z nimi ruchomych elementów genetycznych (MGE – mobile genetic elements), takich jak plazmidy, transpozony i wyspy genomowe (16, 59). Bakterie autochtoniczne zasiedlające gleby mogą stanowić środowiskowy rezerwuuar genów oporności na antybiotyki, które następnie mogą zostać przeniesione na drobnoustroje kolonizujące ludzki organizm (19). Takie bakterie kodujące geny oporności na tetracyklinę zidentyfikowano w próbkach gleby pochodzących z chińskich prowincji Yunnan, Syczuan i Tybetańskiego Regionu Autonomicznego (58). Oprócz selekcjonowania mikroorganizmów lekoopornych i wspomagania rozprzestrzeniania genów oporności w środowisku glebowym, antybiotyki mogą również wpływać na ogólną i enzymatyczną aktywność drobnoustrojów glebowych, na ich liczebność oraz mineralizację węgla i obieg azotu (34, 36, 42, 45).

W środowisku glebowym antybiotyki mogą podlegać różnym procesom abiotycznym i/lub biotycznym, w tym transformacji/degradacji, desorpcji/sorpcji (11, 39), a także pobieraniu wraz z wodą i solami przez rośliny (3) oraz migracji do wód gruntowych (39).

Uważa się, że specyficzna aktywność enzymatyczna jest użytecznym wskaźnikiem odpowiedzi mikroorganizmów na stres wywołany obecnością antybiotyków w glebie (36). Aktywność enzymatyczna wskazuje na potencjał populacji drobnoustrojów do przeprowadzania niezbędnych do utrzymania jakości gleby procesów biochemicznych. Każde zastosowanie substancji toksycznej, która może wpływać na wzrost mikroorganizmów glebowych, może wywołać zmiany w ogólnej aktywności enzymów, w tym dehydrogenazy, fosfatazy i ureazy (8). Hamowanie aktywności enzymów w glebach poddanych działaniu antybiotyków może być związane z hamowaniem wzrostu lub śmierci wrażliwych mikroorganizmów (9).

Badania wykazały, że nawet niskie (poniżej MIC) stężenia antybiotyków wpływają na różne procesy glebowe, w których uczestniczą mikroorganizmy. Dotyczy to m.in. obniżenia respiracji gleby (tzn. oddychania całego systemu glebowego) pod wpływem obecności substancji przeciwbakteryjnych. Znaczący spadek respiracji odnotowano w glebach zawierających sulfametoksazol, sulfametazynę, sulfadiazynę i trimetoprim (35).

Obecność substancji przeciwbakteryjnych wpływa również na tempo nityfikacji i/lub denityfikacji, a efekty są zależne od klasy antybiotyku i czasu ekspozycji. Badania DeVries i wsp. (12) wykazały, że stężenie sulfametoksazolu, sulfadiazyny, narazyny lub gentamycyny na poziomie 500 µg/kg gleby hamowały

denityfikację, a stężenia < 1 µg/kg gleby stymulowały ten proces.

Należy również wziąć pod uwagę, że obecne w nawozach naturalnych i organicznych substancje przeciwbakteryjne po wprowadzeniu do środowiska naturalnego podlegają wielu procesom biotycznym (tj. biodegradacji pod wpływem mikroflory autochtonicznej) i abiotycznym (hydrolizie, fotodegradacji oraz procesom utleniania i redukcji) przez co ich wprowadzona do gleby początkowa dawka ulega obniżeniu. Jednak należy zauważyć, że produkty biodegradacji mogą wykazywać podobną lub większą toksyczność dla organizmów obecnych w środowisku niż pierwotny związek, jak wykazano w przypadku kilku metabolitów fluorochinolonów i tetracyklin (5).

Niejednoznaczne wyniki badań w tym obszarze sprawiają, że ocena ryzyka środowiskowego (ERA – environmental risk assessment) związana z występowaniem antybiotyków nie jest wiarygodna, gdyż zależy od wielu różnych czynników. Wpływ antybiotyków na aktywność i różnorodność populacji drobnoustrojów zależy od parametrów fizykochemicznych gleby, mechanizmu działania przeciwdrobnoustrojowego oraz aktywności i zawartości antybiotyku oraz czasu jego oddziaływania. Mikroorganizmy wrażliwe na różne antybiotyki są uśmiercane lub hamowane w rozwoju w obecności antybiotyków, co może powodować rozrost populacji drobnoustrojów opornych na działanie leków (9).

Wytyczne dotyczące obecności substancji przeciwbakteryjnych w nawozach naturalnych i organicznych oraz środowisku

Farmaceutyki zaliczane są do tak zwanych „nowo pojawiających się” (emerging contaminants) zanieczyszczeń środowiska, przede wszystkim ze względu na powszechne stosowanie w medycynie i lecznictwie weterynaryjnym. Różnymi drogami przedostają się do środowiska, na które oddziałują już w niskich stężeniach. Dzieje się tak dlatego, iż substancje lecznicze z natury rzeczy zostały tak zaprojektowane, aby posiadać określoną aktywność biologiczną odpowiadającą za właściwy efekt terapeutyczny. W środowisku mogą one jednak wywoływać nietypowe skutki toksykologiczne, pomimo niskiego, liczonego w ng/l, µg/l lub kg stężenia dostającego się do środowiska. Wynika to ze stałego dopływu tych substancji, z ich właściwości fizykochemicznych oraz aktywności biologicznej. Prowadzone od dwudziestu lat badania znacząco poszerzyły stan wiedzy na temat obecności pozostałości leków w środowisku. W opublikowanym raporcie niemieckiego Federalnego Urzędu Ochrony Środowiska podsumowano wyniki ponad 1000 prac oryginalnych i przeglądowych z tego zakresu (53). Jedną z konkluzji tego raportu jest wskazanie obecności 631 aktywnych środków farmaceutycznych (lub ich metabolitów i produktów degradacji) w różnorod-

nych próbkach środowiskowych. Obraz ten wydaje się jednak niepełny, gdyż na rynku dostępnych jest ok. 4000 tego typu substancji. Brakuje również rzetelnych danych pozwalających na dokonanie pełnej oceny ryzyka środowiskowego dla tych substancji. Biorąc pod uwagę obecnie obowiązujące wytyczne dotyczące ERA dla wprowadzanych na rynek nowych produktów farmaceutycznych, podobnie jak dla innych substancji chemicznych, konieczne jest dostarczenie miarodajnych informacji zarówno na temat stopnia narażenia (oceny stopnia zanieczyszczenia środowiska oraz charakterystyk i losu środowiskowego) jak i faktycznego zagrożenia (charakterystyki ryzyka ekotoksykologicznego). Obecnie stosowane procedury ERA różnią się nie tylko w zależności od kraju, ale także od tego, czy dany lek stosowany jest w lecznictwie weterynaryjnym [w krajach Unii Europejskiej (UE): CVMP (7), VICH GL 6 (56), VICH GL 38 (57)] czy w medycynie [w krajach UE: CHMP (4)]. Jedynie dla leków weterynaryjnych obowiązują te same wytyczne w krajach UE, USA i Japonii. Niezależnie od istniejących różnic w szczegółowych rozwiązaniach zalecanych procedur, ocena ryzyka środowiskowego produktów leczniczych może przebiegać w dwóch fazach. W fazie I (wstępna ocena narażenia) obliczana jest wartość przewidywanych stężeń zanieczyszczeń (PEC – predicted environmental concentrations) w glebie (PEC_{soil}) – dla farmaceutyków stosowanych w lecznictwie weterynaryjnym i w wodach powierzchniowych (PEC_{sw}) dla tych farmaceutyków stosowanych w medycynie. Wyjątkiem są leki wykorzystywane w hodowlach ryb, dla których obliczane jest stężenie wprowadzane do środowiska, $EIC_{aquatic}$ (environmental introduction concentration). Powyższe wytyczne zawierają formuły matematyczne umożliwiające obliczenie wartości wymienionych parametrów. Niemniej jednak, poza pewnymi wyjątkami, analiza losu środowiskowego i skutków ekotoksykologicznych – Faza II – jest wymagana tylko wtedy, gdy obliczona wartość PEC będzie większa niż ustalone wartości progowe (action limits). Uwzględniając wytyczne obowiązujące w krajach UE badania fazy II oceny bezpieczeństwa podejmowane są, gdy wartości wyliczone we wstępnej fazie oceny narażenia (Faza I) przekroczą: $PEC_{soil} \geq 100 \mu\text{g/kg}$, $PEC_{sw} \geq 0,01 \mu\text{g/l}$ lub $EIC_{aquatic} \geq 1 \mu\text{g/l}$. Natomiast w Stanach Zjednoczonych takie działania są brane pod uwagę, gdy wartość $PEC_{sw} \geq 1 \mu\text{g/l}$, co wyraźnie pokazuje na znaczące różnice w podejściu do ERA leków w różnych krajach. W przypadku antybiotyków sulfonamidów i chinolonów wartości PEC nie zostały oszacowane i nie jest wiadomym w jakich stężeniach, w jakim czasie i do jakich niepożądanych skutków może doprowadzać ich obecność w glebach, wodach powierzchniowych oraz osadach dennych.

Na wymienione aspekty zwrócono uwagę w Rezolucji Parlamentu Europejskiego z dn. 13 września 2018 r. w sprawie europejskiej strategii działania

„Jedno Zdrowie” (One Health) na rzecz zwalczania oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (43). Autorzy wymienionej rezolucji wezwali Komisję Europejską i państwa członkowskie do opracowania unijnej strategii na rzecz walki z pozostałościami leków w środowisku naturalnym, kładąc jednocześnie nacisk na monitorowanie, gromadzenie danych i analizę skutków oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe dla zasobów i ekosystemów wodnych oraz podkreślając przydatność zintegrowanego podejścia do pozostałości leków i antybiotykooporności drobnoustrojów w środowisku naturalnym. W strategii „Jedno Zdrowie” wskazano, że problemem jest zanieczyszczenie wód i gleb przez stosowane u ludzi i zwierząt antybiotyki oraz, że samo środowisko jest potencjalnym źródłem nowych opornych na leki mikroorganizmów.

Z tego powodu strategia działania „One Health” wzywa Komisję Europejską i państwa członkowskie do określenia norm jakości (wartości progowych) lub warunków dla oceny ryzyka, w taki sposób, aby zagwarantować bezpieczne dla środowiska poziomy pozostałości antybiotyków w oborniku, osadach ściekowych i wodzie przeznaczonych do rolniczego wykorzystania.

Podsumowanie

Podsumowując należy zwrócić uwagę na problem nadmiernego stosowania antybiotyków oraz pojawiania się ich w środowisku produkcji rolniczej. Intensywny chów zwierząt nierozzerwalnie związany jest ze stosowaniem leków weterynaryjnych, w tym antybiotyków. Ich stosowanie jest rutynową praktyką hodowlaną służącą utrzymaniu wysokiej produktywności zwierząt w warunkach intensywnego chowu. W UE w tym celu stosowanych jest kilka tysięcy ton antybiotyków rocznie, które wydalone z odchodami zanieczyszczają wody i gleby oraz przyczyniają się do powstawania opornych na farmaceutyki szczepów drobnoustrojów. Problemem wydaje się być także, niewystarczający poziom świadomości na temat zagrożeń płynących z zanieczyszczenia środowiska antybiotykami oraz zmian w populacjach bakterii środowiskowych i chorobotwórczych, wywołanych podprogowymi dawkami tych preparatów. Konieczne wydaje się więc prowadzenie badań nad występowaniem w środowisku substancji leczniczych wykorzystywanych w produkcji zwierzęcej oraz nad możliwościami zagospodarowania i przetwarzania nawozów naturalnych w taki sposób, aby zminimalizować masę wprowadzanych do środowiska leków weterynaryjnych.

Piśmiennictwo

1. Berendsen B. J. A., Wagh R. S., Memelink J., Zuidema T., Stolker L. A. M.: The analysis of animal faeces as a tool to monitor antibiotic usage. *Talanta* 2015, 132, 258-268.
2. Boxall A. B. A. L.: Fate of veterinary medicines applied to soils, [w:] Kümmerer K. (red.): *Pharmaceuticals in the Environment*. Springer-Verlag, Germany 2008, s. 165-180.

3. Carter L. J., Harris E., Williams M., Ryan J. J., Kookana R. S., Boxall A. B. A.: Fate and uptake of pharmaceuticals in soil-plant systems. *J. Agric. Food Chem.* 2014, 62, 5955-5963.
4. CHMP (Committee for Medical Products for Human Use), Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medical Products for Human Use, EMEA/CHMP/SWP/4447/00, Londyn 2006.
5. Conde-Cid M., Núñez-Delgado A., Fernández-Sanjurjo M. J., Álvarez-Rodríguez E., Fernández-Calviño D., Arias-Estévez M.: Tetracycline and sulfonamide antibiotics in soils: presence, fate and environmental risks. *Processes* 2020, 8, 1479, doi: 10.3390/pr8111479.
6. Corpet D. E.: Microbiological hazard for humans of antimicrobial growth promoter used in animal production. *Rev. Med. Vet.* 1996, 147, 851-862.
7. CVMP (Committee for Medical Products for Veterinary Use), Revised Guideline on the Environmental Risk Assessment for Veterinary Medicinal Products in Support of the VICH GL6 and GL 38, EMEA/CVMP/ERA/418282/2005-Rev.1, Londyn 2008.
8. Cycoń M., Borymski S., Zolnierczyk B., Piotrowska-Seget Z.: Variable effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on selected biochemical processes mediated by soil microorganisms. *Front. Microbiol.* 2016, 7, 1969, doi: 10.3389/fmicb.2016.01969.
9. Cycoń M., Mrozik A., Piotrowska-Seget Z.: Antibiotics in the soil environment – degradation and their impact on microbial activity and diversity. *Frontiers in Microbiology* 2019, 10, 338, doi: 10.3389/fmicb.2019.00338.
10. Davis J., Davis D.: Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2010, 74, 417-433.
11. Davis J. G., Truman C. C., Kim S. C., Ascough J. C., Carlone K.: Antibiotic transport via runoff and soil loss. *J. Envir. Qual.* 2006, 35, 2250-2260.
12. DeVries S. L., Loving M., Li X., Zhang P.: The effect of ultralowdose antibiotics exposure on soil nitrate and N₂O flux. *Sci. Rep.* 2015, 5, 16818, doi: 10.1038/srep16818.
13. Dyrektywa Rady z dnia 12 grudnia 1991 r. dotycząca ochrony wód przed zanieczyszczeniami powodowanymi przez azotany pochodzenia rolniczego (91/676/EWG) – Dz. Urz. L 375 z 31.12.1991, s. 1.
14. EMEA/CVMP/055/96. Note for Guidance: Environmental Risk Assessment for Veterinary Medical products other than GMO-containing and Immunological Products. The European Agency for the Evaluation of medicinal Products (EMA), Veterinary medicines Evaluation Unit, London 1996.
15. Ezzariai A., Hafidi M., Khadra A., Aemig Q., Fels L. E., Barret M., Merlina G., Patureau D., Pinelli E.: Human and veterinary antibiotics during composting of sludge or manure: Global perspectives on persistence, degradation, and resistance genes. *J. Hazard. Mater.* 2018, 359, 465-481.
16. Grenni P., Ancona V., Barra Caracciolo A.: Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: a review. *Microchem. J.* 2018, 136, 25-39.
17. Haller M. Y., Muller S. R., McArdell C. S., Alder A. C., Suter M. J. F.: Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2002, 952, 111-120.
18. Hamscher G., Szesny S., Höper H., Nau H.: Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2002, 74, 1509-1518.
19. He Y., Yuan Q., Mathieu J., Stadler L., Senéhi N., Sun R., Alvarez P. J. J.: Antibiotic resistance genes from livestock waste: occurrence, dissemination, and treatment. *Clean Water.* 2020, 3, 4, doi: 10.1038/s41545-020-0051-0.
20. Hirsch R., Ternes T., Haber K., Krat K. L.: Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.* 1999, 225, 109-118.
21. Ho Y. B., Zakaira M. P., Latif P. A., Saari N.: Occurrence of veterinary antibiotics and progesterone in broiler manure and agricultural soil in Malaysia. *Sci. Total Environ.* 2014, 488-489, 261-267.
22. Hoper H., Kues J., Nau H., Hamscher G.: Eintrag und Verbleib von Tierarzneimittelwirkstoffen in Boden. *Bodenschutz.* 2002, 7, 141-148.
23. Hu X., Zhou Q., Luo Y.: Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetable and groundwater from organic vegetable bases, northern China. *Environ. Poll.* 2010, 158, 2992-2998.
24. Huang X., Liu Ch., Li K., Liu F., Liao D., Liu L., Zhu G., Liao J.: Occurrence and distribution of veterinary antibiotics and tetracycline resistance genes in farmland soils around swine feedlots in Fujian Province, China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2013, 20, 9066-9074.
25. Kapoor G., Saigal S., Elongavan A.: Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *J. Anaesthesiol. Clin. Pharmacol.* 2017, 33, 300-305.
26. Karci A., Balcioglu A. A.: Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey. *Sci. Tot. Envir.* 2009, 407, 4652-4664.
27. Kemper N.: Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators.* 2008, 8, 1-13.
28. Kraker de M. E. A., Stewardson A. J., Harbarth S.: Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? *PLoS Med.* 2016, 13, doi: 10.1371/journal.pmed.1002184.
29. Kumar K., Gupta S. C., Baidoo S. K., Chander Y., Rosen C. J.: Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. *J. Environ. Qual.* 2005, 34, 2082-2085.
30. Kuppasamy S., Kakarla D., Venkateswarlu K., Megharaj M., Yoon Y.-E., Lee Y. B.: Veterinary antibiotics (VAs) contamination as a global agro-ecological issue: A critical view. *Agric. Ecosyst. Environ.* 2018, 257, 47-59.
31. Leal R. M. P., Figueira R. F., Tornisiello V. L., Regitano J. B.: Occurrence and sorption of fluoroquinolones in poultry litters and soils from São Paulo State, Brazil. *Sci. Total Environ.* 2012, 432, 344-349.
32. Li Ch., Chen J., Wang J., Ma Z., Ha P., Luan Y., Lu A.: Occurrence of antibiotics in soils and manures from greenhouse vegetable production bases of Beijing, China and associated risk assessment. *Sci. Total Environ.* 2015, 521-522, 101-107.
33. Li Y. W., Wu X. L., Mo Ch., Tai Y. P., Huang X. P., Xiang L.: Investigation of sulfonamide, tetracycline, and quinolone antibiotics in vegetable farmland soil in the Pearl River Delta area, southern China. *J. Agric. Food Chem.* 2011, 59, 7268-7276.
34. Liu B., Li Y., Zhang X., Wang J., Gao M.: Effects of chlortetracycline on soil microbial communities: comparisons of enzyme activities to the functional diversity via Biolog EcoPlates™. *Eur. J. Soil Biol.* 2015, 68, 69-76.
35. Liu F., Ying G. G., Tao R., Zhao J. L., Zhao L. F.: Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities. *Environ. Pollut.* 2009, 157, 1634-1642.
36. Ma T., Pan X., Chen L., Liu W., Christie P., Luo Y.: Effects of different concentrations and application frequencies of oxytetracycline on soil enzyme activities and microbial community diversity. *Eur. J. Soil Biol.* 2016, 76, 53-60.
37. Martinez-Carballo E., Gonzalez-Barreiro C., Scharf S., Gans O.: Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environ. Pollut.* 2007, 162, 56-62.
38. Ozumchelouei E. J., Hamidian A. H., Zhang Y., Yang M.: Physicochemical properties of antibiotics: A review with an emphasis on detection in the aquatic environment. *Water Environ. Res.* 2020, 92, 177-188.
39. Pan M., Chu L. M.: Leaching behavior of veterinary antibiotics in animal manure-applied soils. *Sci. Total Environ.* 2017, 579, 466-473.
40. Patyra E., Kwiatek K., Nebot C., Gavilán R. E.: Quantification of veterinary antibiotics in pig and poultry feces and liquid manure as a non-invasive method to monitor antibiotic usage in livestock by liquid chromatography mass-spectrometry. *Molecules* 2020, 25, 3265, doi: 10.3390/molecules25143265.
41. Patyra E.: Wykrywanie i oznaczanie tetracyklin w paszach technikami chromatograficznymi. Rozprawa doktorska, Puławy 2014.
42. Pinna M. V., Castaldi P., Deiana P., Pusino A., Garau G.: Sorption behavior of sulfamethazine on unamended and manure-amended soils and short-term impact on soil microbial community. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2012, 84, 234-242.
43. Rezolucja Parlamentu Europejskiego z dnia 13 września 2018 r. w sprawie europejskiego planu działania „Jedno Zdrowie” na rzecz zwalczania oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (2017/2254(INI))(2019/C 433/20).
44. Rolnictwo w 2019 r. – Główny Urząd Statystyczny. <https://stat.gov.pl> › rolnictwo_w_2019_14082020.
45. Rosendahl L., Siemens J., Kindler R., Groeneweg J., Zimmermann J., Czerwinski S.: Persistence of the fluoroquinolone antibiotic difloxacin in soil and lacking effects on nitrogen turnover. *J. Environ. Qual.* 2012, 41, 1275-1283.
46. Rozporządzenie (WE) Nr 1831/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) 1831/2003 z dnia 22 września 2003 r. w sprawie dodatków stosowanych w żywieniu zwierząt. *Dz. Urz. L* 268 z 18.10.2003, s. 29.
47. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2017/625 z dnia 15 marca 2017 r. w sprawie kontroli urzędowych i innych czynności urzędowych przeprowadzanych w celu zapewnienia stosowania prawa żywnościowego i paszowego oraz zasad dotyczących zdrowia i dobrostanu zwierząt, zdrowia roślin i środków ochrony roślin, zmieniające rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 999/2001, (WE) nr 396/2005, (WE) nr 1069/2009, (WE) nr 1107/2009, (UE) nr 1151/2012, (UE) nr 652/2014, (UE) 2016/429 i (UE) 2016/2031, rozporządzenia Rady (WE) nr 1/2005 i (WE) nr 1099/2009 oraz dyrektywy Rady 98/58/WE, 1999/74/WE, 2007/43/WE, 2008/119/WE i 2008/120/WE, oraz uchylające rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 854/2004 i (WE) nr 882/2004, dyrektywy Rady 89/608/EWG, 89/662/EWG, 90/425/EWG, 91/496/EWG, 96/23/WE, 96/93/WE i 97/78/WE oraz decyzję Rady 92/438/EWG (rozporządzenie w sprawie kontroli urzędowych). *Dz. Urz. L* 95 z 7.04.2017.
48. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 z dnia 21 października 2009 r. określające przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego, nieprzeznaczonych do spożycia przez

- ludzi i uchylające Rozporządzenie (WE) nr 1774/2002 (rozporządzenie o produktach ubocznych pochodzenia zwierzęcego) – Dz. Urz. L 300 z 14.11.2009, s. 1.
49. *Schlusener M. P., Bester K., Spitteller M.*: Determination of antibiotics from soil by pressurized liquid extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2003, 1003, 21-28.
 50. *Suersh A., Choi H. L., Lee J. H.*: Swine slurry characterization and prediction equations for nutrients on South Korean farms. *American Society of Agricultural and Biological Engineers* 2009, 52, 267-273.
 51. *Swann M. M.*: Use of antibiotics in animal husbandry and veterinary medicine (Swann Report). HC 1969, 791, 1525-1531.
 52. *Ślipko K.*: Antybiotykowy koktajl dla osadu. *Antybiotyki, osad czynny, oczyszczalnie ścieków. BioLetyn* 21/IV/2016.
 53. Umweltbundesamt, <https://www.umweltbundesamt.de/en/database-pharmaceuticals-in-the-environment-0>, Database – Pharmaceuticals in the environment, 2014.
 54. Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu. *Dz. U.* 2007, nr 147, poz. 1033.
 55. *Ventola C. L.*: The Antibiotic Resistance Crisis Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics* 2015, 40, 277-283.
 56. VICH (International Cooperation on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medical Products), Guideline GL 6 on Environmental Impact Assessment (EIAs) for Veterinary Medicinal Products – Phase I, CVMP/VICH/592/98-FINAL, Londyn 2000.
 57. VICH (International Cooperation on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medical Products), Guideline GL 38 on Environmental Impact Assessment for Veterinary Medicinal Products – Phase II, CVMP/VICH/790/03-FINAL, Londyn 2005.
 58. *Wang S., Gao X., Gao Y., Li Y., Cao M., Xi Z.*: Tetracycline resistance genes identified from distinct soil environments in China by functional metagenomics. *Front. Microbiol.* 2017, 8, 1406, doi: 10.3389/fmicb.2017.01406.
 59. *Wellington E. M. H., Boxall A. B. A., Cross P., Feil E. J., Gaze W. H., Hawkey P. M.*: The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Lancet Infect. Dis.* 2013, 13, 155-165.
 60. *Werner G., Coque T. M., Franz C. M. A. P., Grohmann E., Hegstad K., Jensen L., van Schaik W., Weaver K.*: Antibiotic resistant enterococci-tales of a drug resistance gene trafficker. *Int. J. Med. Microbiol.* 2013, 303, 360-379.
 61. *Winckler C., Engels H., Hund-Rinke K., Luckow T., Simon M., Steffens G.*: Verhalten von Tetracyclinen und anderen Veterinärantibiotika in Wirtschaftsdünger und Boden. UFOPLAN 20073 248, Berlin 2003.
 62. *Wolters B., Widayarsi-Mehta A., Kreuzing R., Smalla K.*: Contaminations of organic fertilizers with antibiotic residues, resistance genes, and mobile genetic elements mirroring antibiotic use in livestock? *Applied Microbiol. Biotech.* 2016, 100, 9343-9353.
 63. *Wu X. L., Xiang L., Yan Q. Y., Jiang Y. N., Li Y. W., Huang X. P., Li H., Cai Q. Y., Mo C. H.*: Distribution and risk assessment of quinolone antibiotics in the soils from organic vegetables farms at a subtropical city, Southern China. *Sci. Total Environ.* 2014, 487, 399-406.
 64. *Xiang L., Wu X.-L., Jiang Y.-N., Yan Q.-Y., Li Y.-W., Huang X.-P., Cai Q.-Y., Mo C.-H.*: Occurrence and risk assessment of tetracycline antibiotics in soil from organic vegetable farms in a subtropical city, south China. *Environ. Sci. Pol. Res.* 2016, 23, 13984-13995.
 65. *Xie W. Y., Shen Q., Zhao F. J.*: Antibiotics and antibiotic resistance from animal manures to soil: A review. *Eur. J. Soil Sci.* 2018, 69, 181-195.
 66. *Xin C. Y., Li G. J., Qiu H. P. Z., Chen R., Xu J., Kong X. J., Shan Z. J., Wang N.*: Pollution characteristics of 23 veterinary antibiotics in livestock manure and manure-amended soils in Jiangsu province. *J. Environ. Sci. Health* 2016, 51, 383-392.
 67. *Yévenes K., Pokrant E., Trincado L., Lapierre L., Galarce N., Martin B. S., Maddaleno A., Hidalgo H., Cornejo J.*: Detection of antibacterial Residues in poultry liter: monitoring a risk through a selective and sensitive HPLC-MS/MS method. *Animals* 2021, 11, 1399, doi: 10.3390/ani1105139.
 68. *Zablotni A., Jaworski A.*: Źródła antybiotyków w środowiskach naturalnych i ich rola biologiczna. *Postępy Hig. Med. Dosw.* 2014, 68, 1040-1049.
 69. *Zhao L., Dong Y. H., Wang H.*: Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China. *Sci. Tot. Envir.* 2010, 408, 1069-1075.
 70. *Zhi S., Shen S., Zhou J., Ding G., Zhang K.*: Systematic analysis of occurrence, density and ecological risks of 45 veterinary antibiotics: Focused on family livestock farms in Erhai Lake basin, Yunnan, China. *Environ. Pollution.* 2020, 115539, doi: 10.1016/j.envpol.2020.115539.

Autor korespondencyjny: dr hab. Ewelina Patyra, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: ewelina.patyra@piwet.pulawy.pl