

Antimikrobiální rezistence v půdě

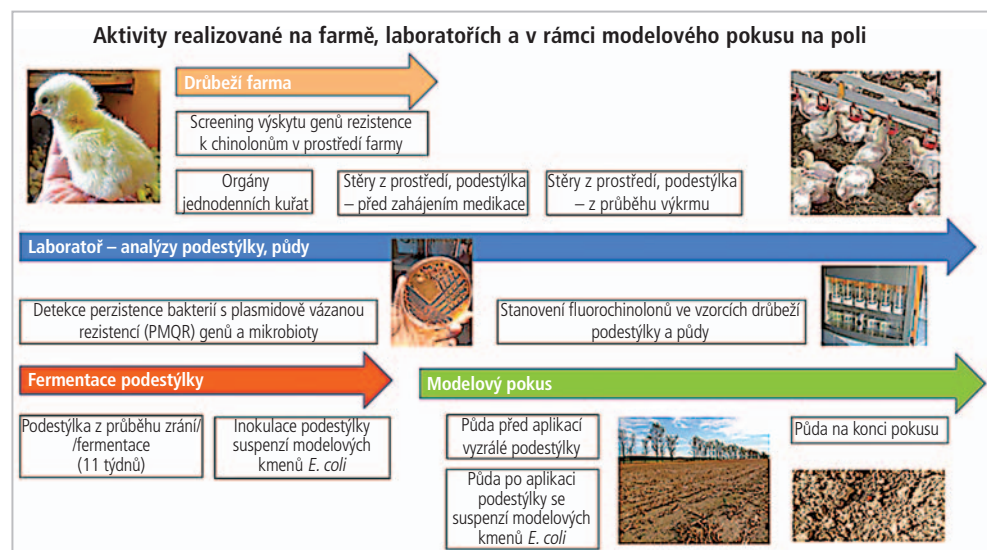
Existence antimikrobiálních látek a jejich používání je dnes naprostou samozřejmostí. S jejich používáním však souvisí také jejich výskyt v životním prostředí, včetně půdy. Kontaminace životního prostředí antimikrobiálními látkami představuje jak environmentální, tak zdravotní rizika, a to z hlediska vzniku rezistence bakterií k antimikrobikům a zároveň potenciálního šíření těchto bakterií a látek prostřednictvím kontaminovaných potravin, vody apod.

Ztráta účinnosti antimikrobiálních látek jak v humánní, tak ve veterinární medicíně je celosvětově velkým problémem. Česká republika bojuje s rezistencí k antimikrobikům prostřednictvím úkolů definovaných v Akčním plánu Národního antibiotického programu. Jedním z nich je parciální cíl I.1.5 Antimikrobiální rezistence v půdě a jeho náplní je zformulovat rámec pro sledování environmentální zátěže půdy v důsledku rezistence bakterií k antimikrobikům a reziduí antimikrobiálních léčivých látek používaných v chovech hospodářských zvířat. Tento cíl je postupně naplňován za spolupráce čtyř institucí, nad rámec jejich standardních úkolů – Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského, Fakulty chemické Vysokého učení technického, Ústavu pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity.

Dosud provedeno

V roce 2019 byla provedena analýza používaných antimikrobiků, a to jak s ohledem na cílové organismy / potravinová zvířata, tak s ohledem na výši spotřeby a chemické vlastnosti těchto látek, přičemž byly do úvahy vzaty také možné cesty přenosu antimikrobiků do zemědělské půdy. Pro další sledování tak byly navrženy tyto skupiny látek (a preferovaných analytů): tetracykliny (chlortetracyklin), sulfonamidy (sulfadiazin, sulfamethoxazol, sulfadiazin), polypeptidy (kolistin), fluorochinolony (enrofloxacin a jeho metabolit ciprofloxacin) a makrolidy (tylosin).

Jako první se projekt v roce 2020 zaměřil na kolistin, jeho použití u prasat, výskyt rezistentních bakterií v kejdech v chovech prasat, kterým byl podán kolistin, a možný přenos reziduí kolistinu do půdy, do níž byla zpracovávána kontaminovaná kej-



da. Další látkou, na kterou se upřela pozornost, byl enrofloxacin (ENR) používaný u brojlerů kura domácího. V roce 2021 byla vyvinuta metodika analytického stanovení ENR ve vodě, drůbeží podestýlce a v půdě a byly sledová-

ny změny obsahů ENR a jeho metabolitu ciprofloxacinu (CIP) v půdě po aplikaci drůbeží podestýlky z chovu, kde byl podán enrofloxacin. O výsledcích byli čtenáři informováni v tomto periodiku přibližně před dvěma lety.

Úkol 2023

V roce 2022 nebyl úkol financován, ale rok na to bylo téma ENR rozšířeno o mikrobiologickou část. Úkol byl v roce 2023 zaměřen na sledování výskytu

genů rezistence enterobakterií k enrofloxacinu a na zpřesnění informací k obsahům reziduí této látky v různých maticích v celém řetězci zvíře-podestýlka-půda (viz obrázek). Pro tyto účely byl vybrán chov kura domácího – brojlerů chovaných na maso, kde byl v počátku výkrmu aplikován léčivý přípravek s obsahem ENR prostřednictvím napájecí vody.

Následující text je zaměřen na výsledky sledování obsahů ENR a výskytu genů rezistence v drůbeží podestýlce a v půdě.

Období fermentace drůbeží podestýlky

Počátkem března 2023 byla po ukončení výkrmu odebrána z výkrmové haly drůbeží podestýlka, která byla poté zaočkována suspenzí obsahující kmeny *E. coli* s vybranými typy rezistence. Zrání trvalo úhrnem 11 týdnů.

(Pokračování na str. 30)

Antimikrobiální ...

(Dokončení ze str. 28)

Během zrání byly odebrány celkem čtyři vzorky podestýlky za účelem stanovení obsahu ENR a CIP a výskytu genů rezistence k enrofloxacinu. První vzorek byl odebrán z nezaočkované podestýlky – v tomto vzorku nebyly přítomny žádné bakterie s podobnou rezistencí jako modelové kmeny. Po zaočkování počet modelových kmenů *E. coli* prudce

hů enrofloxacinu (i ciprofloxacinu) přibližně o 80 %, v dalších týdnech (vzorcích) však zůstala koncentrace sledovaných analytů téměř konstantní. Stejně jako geny rezistence, ovlivňuje proces fermentace i obsah léčivých látek, resp. dynamiku degradace léčiv, kdy zejména v prvních týdnech fermentace se koncentrace sledovaných látek významně snížily a následně již spíše stagnovaly.

Přítomnost kmenů s podobnou charakteristikou jako byly modelové *E. coli* nebyla v půdním vzorku odebraném před aplikací podestýlky (vzorek č. 30. 5. 2023-0 na grafu) potvrzena. Poté docházelo k víceméně rovnoměrnému úbytku počtu KTJ (kolonií tvořících jednotku) modelových kmenů. V 9. týdnu byl patrný mírný nárůst počtu KTJ/g, pravděpodobně z důvo-

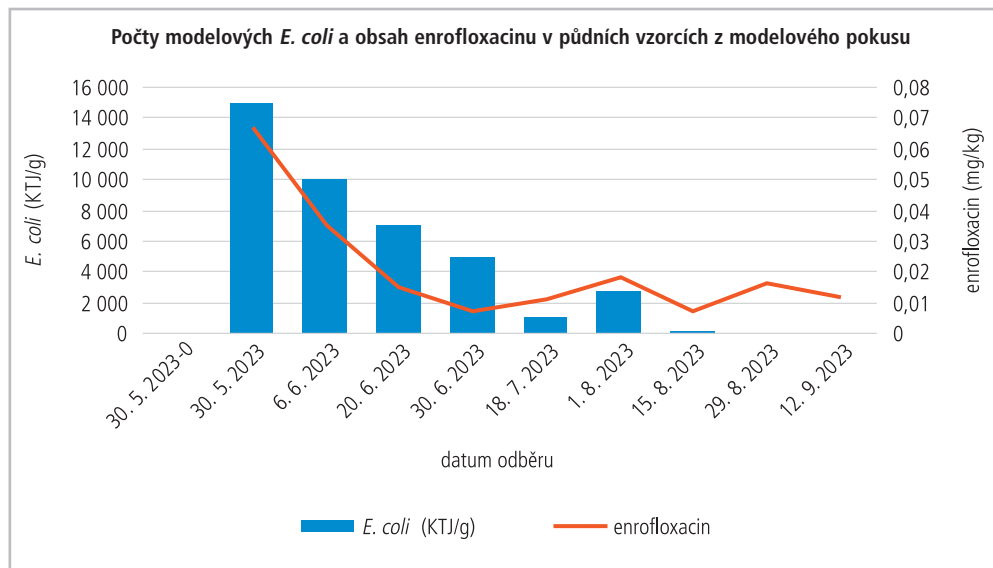
grafu). Po aplikaci podestýlky se koncentrace ENR v půdě zvýšila téměř na 0,070 mg/kg. Už po jednom týdnu však klesla zhruba o polovinu, po dalších dvou týdnech (vzorek č. 20. 6. 2023) opět koncentrace poklesla přibližně o polovinu a podobně i v následujícím vzorku (vzorek č. 30. 6. 2023). Bohužel, v dalších vzorcích již obsah ENR zůstává na přibližně stejné úrovni (viz graf). Ačkoli tedy nebyl ENR do podestýlky spikován (dodatečně přidáván) a jedná se pouze o důsledky aplikace léčiva v chovu a aplikace podestýlky, pohybují se výsledné koncentrace ENR v půdě po 15 týdnech kolem hodnoty 0,01 mg/kg.

Závěr

Jednotlivé dílčí části úkolu I.1.5 definovaného v AP NAP přináší významné poznatky ohledně setrvání reziduí vybraných antimikrobik ve velké části řetězce koloběhu látek v životním prostředí a zároveň i přežívání modelových bakterií rezistentních k antimikrobiálním látkám a následně i persistenci genů rezistence v půdě. Údaje jsou o to cennější, že představují určitou sondu, která adekvátně rozsahu pokusů reflektuje podmínky v České republice.

Závěrečná zpráva z úkolu za rok 2023 obsahuje také analýzu dostupných dat o spotřebách antimikrobik, včetně enrofloxacinu v ČR za období 2018 až 2022. Všechny zprávy lze dohledat na webu ÚKZÚZ v části Půda a výživa rostlin a na webových stránkách Ministerstva zemědělství <https://bezpecnostpotravin.cz>. V roce 2024 bude úkol zaměřen na rezidua vybraných antibiotik používaných u dojného skotu.

Mgr. Šárka Poláková, Ph.D.
Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský



vzrostl, aby v posledním, čtvrtém vzorku podestýlky (po osmi týdnech od inokulace) opět nebyly žádné modelové kmeny ani geny rezistence prokázány. Fermentace tedy výskyt a přetrvávání genů rezistence ovlivňuje. Významným faktorem, jak dokládají i recentní studie, je zde dosažená teplota podestýlky, tato však v naší studii nebyla předmětem zkoumání.

Ve stejných vzorcích zrající podestýlky byly stanoveny také obsahy ENR a CIP. Mezi prvním a druhým vzorkem podestýlky došlo k výraznému snížení obsa-

Modelový polní pokus

Ke sledování změn výskytu genů rezistence a obsahů ENR v půdě byl koncem května 2023 založen malý modelový pokus na území zkušební stanice ÚKZÚZ v Chrlicích. Na pokusné poličko byla aplikována vyzrálá drůbeží podestýlka, která byla inokulována vybranými bakteriálními kmeny *E. coli* s určitými typy rezistence. Přežívání kmenů bylo sledováno po dobu 15 týdnů. Každé dva týdny byl odebrán vzorek půdy.

du dešťových srážek. Od tohoto týdne však kultivačně prokazatelný počet KTJ/g klesal strmě a od 13. týdne se pohyboval pod mezí detekce zvolené metody.

Geny rezistence typické pro modelové kmeny byly v půdě detekovány až do 11. týdne od zahájení pokusu. Bakteriální kmeny nesoucí geny rezistence tedy v půdě přežívají po dobu několika týdnů.

V půdním vzorku před aplikací podestýlky byla koncentrace ENR i CIP pod mezí detekce (vzorek č. 30. 5. 2023-0 – na