

Studiu preliminar privind reziduurile și preparatele antimicrobiene în hrană, furaje și în mediu

efectuat în cadrul proiectului *Abordarea bioeconomică a
agenților antimicrobieni – utilizare și rezistență*

(cod - PN-III-P1-1.2-PCCDI-2017-0361).

Coordonator: **Prof Alexa Ersilia**

Colectiv de redacție: **Prof.dr.ing.ALEXA ERSILIA, Prof.dr.ing. RADULOV ISIDORA, sef lucr. BERBECEA ADINA, med.vet.dr. OBISTIOIU DIANA, asist.NEGREA MONICA**

Membri: **Prof.dr.ing.ALEXA ERSILIA, Prof.dr.ing. RADULOV ISIDORA, sef lucr. BERBECEA ADINA, med.vet.dr. OBISTIOIU DIANA. Conf. dr. Camelia Tulcan**

Data finalizării: 2.12.2018.

Acknowledgements

Activities under this work were carried out in the *Research Laboratory Complex "Horia Cernescu"* - financed by project *"A bio-economical approach of the antimicrobial agents - use and resistance"*, in the frame of contract PCCDI 7/19.03.2018, code: PN-III P1-1.2-FPRD-2017.

1. Introducere

Utilizarea preparatelor antimicrobiene în medicina veterinară și umană joacă un rol esențial în tratamentul anumitor tipuri de boli ale animalelor și ale oamenilor, contribuind totodată asigurarea sursei de proteine animale accesibile populației umane aflate într-o continuă creștere. Utilizarea preparatelor antimicrobiene provoacă inevitabil dezvoltarea bacteriilor rezistente la antibiotice. În consecință, rezistența la antibiotice a devenit o amenințare gravă și în creștere pentru medicina modernă și a apărut ca una dintre preocupările majore de sănătate ale secolului XXI (OMS, 2014). S-a estimat că o creștere continuă a rezistenței antimicrobiene (AMR) până în 2050 va duce la 10 milioane de persoane care mor anual și o reducere de 2 până la 3,5% a produsului intern brut (PIB) ([http:// amr- review.org /](http://amr-review.org/)). Tot în Europa, problema rezistenței antimicrobiene a fost atribuită ca subiect de interes prioritar în următorii ani (CE, 2015).

Rezistența antimicrobiană a evoluat odată cu creșterea numărului, volumului și diversității aplicațiilor antimicrobiene utilizate la om și la animale (Levy, 2002, Kumar, 2005). Utilizarea antibioticelor în producția animală contribuie în mod semnificativ la dezvoltarea și răspândirea rezistenței la antibiotice la animale și la alimentele de origine animală (EFSA 2015). În special, s-a constatat că utilizarea subterapeutică larg răspândită a antibioticelor ca promotor de creștere animală (AGP) favorizează selecția, răspândirea și stabilirea de tulpini rezistente în mediu (Levy, 2002, Kumar, 2005) și, prin urmare, nu mai este acceptată în cadrul UE (CE 2003).

Efectele utilizării antibioticelor în producția animală asupra dezvoltării rezistenței la antibiotice, precum și originea și diferitele căi de transmisie prin care reziduurile de antibiotice intră în mediul înconjurător au fost studiate în mod extensiv. Cu toate acestea, cercetarea cu privire la efectul prezenței reziduurilor de antibiotice în mediul înconjurător a primit puțină atenție până acum.

Până în prezent, atenția științifică s-a concentrat în principal asupra apariției și răspândirii bacteriilor și genelor rezistente în mediul înconjurător, ca urmare a tratamentului veterinar, în special prin gunoi de grajd, dar și prin produse alimentare și contact direct cu animalele. Cu toate acestea, contaminarea mediului cu reziduuri de antibiotice ar putea fi, de asemenea, un factor important în selecția și diseminarea bacteriilor rezistente la antibiotice.

Persistența antibioticelor în mediul înconjurător depinde de factori precum tipul de sol și climă, dar și de caracteristicile fizico-chimice ale diferitelor tipuri de antibiotice. Studiile de monitorizare au arătat că pot apărea concentrații substanțiale de reziduuri de antibiotice în sol și apă, în special în locuri apropiate de creșterea intensivă a animalelor.

Datele de literatură cu privire la concentrațiile care vor exercita o presiune selectivă asupra microorganismelor din mediu și vor promova persistența sau chiar îmbogățirea fondului genetic al rezistenței mediului sunt limitate. În mod tradițional, s-a presupus că rezistența este indusă doar la concentrații mai mari decât concentrația minimă inhibitorie (MIC). Cu toate acestea, recent, se acumulează dovezi că pot apărea medii selective la

concentrații de până la câteva sute de ori mai mici decât MIC. Prin urmare, este nevoie de mai multe studii cu privire la relația dintre concentrațiile reziduurilor de antibiotice din mediul înconjurător și prevalența și persistența rezistenței la antibiotice din mediul înconjurător (Pikkemaat M.G., 2016).

În primul rând, sunt necesare cercetări suplimentare pentru a determina ce concentrații de antibiotice încă exercită presiune asupra bacteriilor și pot provoca persistența sau îmbogățirea bacteriilor rezistente. În plus, ar trebui să se studieze transferul antibioticelor din principalele surse (gnoi de grajd, sol, apă), inclusiv metaboliții activi antimicrobieni în lanțul trofic și biodisponibilitatea acestora.

2. Reziduuri de antibiotice și derivate din preparate antimicrobiene în furaje și producția animală

În producția animală, antibioticele sunt utilizate pentru terapie, prevenirea bolilor bacteriene sau ca agenți de îmbunătățire a performanței. Pentru combaterea infecțiilor, animalele pot fi tratate individual, dar în situații în care tratamentul individual nu este fezabil, se obișnuiește tratarea grupurilor întregi cu medicamente prin administrarea lor în hrană sau apă.

Tratamentul terapeutic se bazează pe generarea unei concentrații active de antibiotice care depășește concentrația minimă inhibitorie (MIC) a agentului patogen pentru o perioadă de timp eficientă. Terapia veterinară pentru infecții este în principal empirică, ghidată de prezentarea clinică și care nu se bazează pe identificarea speciilor patogene. Tipul și cantitatea de antibiotice administrate la animale variază între speciile de animale.

Tratamentul antibiotic al animalelor de fermă poate determina prezența reziduurilor de antibiotice în alimentele de origine animală. Pentru a proteja sănătatea publică, Comisia Europeană a stabilit o legislație privind stabilirea limitelor reziduale acceptabile ale substanțelor farmacologic active în alimentele de origine animală [Regulamentul (CE) nr. 470/2009]. "Limitele maxime ale reziduurilor (LMR) trebuie să fie stabilite într-o evaluare a siguranței, luând în considerare riscurile toxicologice, contaminarea mediului, precum și efectele microbiologice și farmacologice ale reziduurilor" (CE, 2009).

Stabilirea perioadei de așteptare, perioada necesară între ultima administrare a unui produs medicamentos veterinar și utilizarea producției de produse alimentare de la animal, pentru a se asigura că produsele de origine animală nu conțin reziduuri care depășesc LMR, reprezintă o parte esențială a (Directiva 2001/82 / CE) (CE, 2001). LMR pentru reziduurile de antibiotice pot fi găsite în Regulamentul (UE) nr. 37/2010 al Comisiei (CE, 2010). Respectarea acestor LMR este monitorizată în cadrul Planului național de monitorizare al reziduurilor, în conformitate cu un program armonizat la nivelul UE privind frecvența de eșantionare și gama de substanțe și matrici care urmează să fie testate (CE, 1996).

Studiu privind reziduurile și preparatele antimicrobiene în hrană, furaje și în mediu

Rezultatele acestor planuri naționale de monitorizare ale reziduurilor sunt publicate anual în documentul de lucru al serviciilor *Comisiei privind punerea în aplicare a planurilor naționale de monitorizare a reziduurilor* în statele membre (http://ec.europa.eu/food/ood/chemicalsafety/residues/control_en.htm). Aceste date arată că procentul rezultatelor neconforme pentru reziduurile de antibiotice din produsele alimentare este foarte scăzut. Metodele aplicate sunt concepute, în general, pentru a discrimina eșantioanele compatibile din cazurile de încălcare a LMR și, prin urmare, este posibil ca reziduurile prezente sub LMR -urile stabilite să nu fie detectate.

LMR sunt derivate din aporturi zilnice acceptabile (Acceptable Daily Intakes-ADI) din punct de vedere toxicologic sau microbiologic (ADI), iar în cazul antibioticelor prevalează ADI microbiologic. Procedura include testarea *in vitro* a bacteriilor reprezentative pentru flora intestinală umană, iar ADI se calculează pe baza valorilor MIC observate.

În mod remarcabil, LMR-urile din țesuturile comestibile au fost stabilite la un nivel mai ridicat ($50 \mu\text{g kg}^{-1}$), care corespund sensibilității testului cu patru plăci utilizat în determinările cerute de UE (EMA, 2008). În plus, expunerea *Staphylococcus aureus* la nivelele LMR de ampicilină, dihidrostreptomycină, eritromicină, neomicină, oxitetraciclină și sulfametazină în lapte s-a dovedit în aceste condiții a avea un potențial puternic pentru selecția populațiilor bacteriene rezistente la antibiotice (Brady, 1993).

Antibioticele au fost de asemenea utilizate ca promotori ai creșterii antimicrobiene (AGP), aplicându-le în furaje sau apă la o doză subterapeutică pentru o perioadă mai lungă de timp, pentru a îmbunătăți eficiența furajelor și a promova producția (McEwen și Fedorka-Cray, 2002). Cu toate acestea, riscul asociat de dezvoltare al rezistenței bacteriene la antibiotice, compromițând tratamentul infecțiilor atât umane, cât și animale, a făcut ca Comisia Europeană să decidă să elimine și, în cele din urmă, să interzică comercializarea și utilizarea antibioticelor ca promotori de creștere în hrana animalelor începând cu 1 ianuarie 2006 (Regulamentul CE nr. 1831/2003, CE, 2003). Trebuie remarcat totuși că în multe părți ale lumii utilizarea AGP-urilor este încă o practică obișnuită.

Chiar dacă antibioticele sunt utilizate pe scară largă în producția animală, datele fiabile privind cantitatea exactă, doza și frecvența aplicării sunt limitate. Cantitatea de antibiotice administrată animalelor variază foarte mult între speciile de animale și țările care le utilizează. În țările europene, utilizarea totală a antibioticelor a fost estimată între 20 și 188 mg kg^{-1} de animal produs (Grave, 2010). Estimările recente sugerează că utilizarea globală a antimicrobienelor pe kilogram de animale produse în 2010 a fost de 45 mg kg^{-1} pentru bovine, 148 mg kg^{-1} pentru pui și respectiv 172 mg kg^{-1} pentru porci. Se preconizează că această utilizare globală a antimicrobienelor pentru creșterea animalelor va crește cu încă 67%, de la 63 de tone la 105 de tone până în 2030 (Van Boeckel, 2015). Această creștere se datorează în principal țărilor cu venituri mici și mijlocii care trebuie să răspundă unei cereri tot mai mari de proteine animale.

În Europa, pe de altă parte, există o conștientizare crescândă a riscurilor asociate cu utilizarea nelimitată a antibioticelor în producția animalieră. Politica activă privind reducerea consumului de antibiotice din Olanda a dus la o reducere cu 63% a vânzărilor de antibiotice între 2007 și 2013 (Maran, 2015; Speksnijder, 2015).

Ori de câte ori un animal primește o doză de antibiotice, există posibilitatea ca bacteriile să dezvolte rezistență la antibiotic. Bacteriile pot prezenta două tipuri de rezistență: **rezistență intrinsecă și dobândită**. Rezistența intrinsecă se referă la caracteristicile naturale ale bacteriilor, făcându-le imune la mecanismul de acțiune al antibioticului. Aceasta este o proprietate naturală (intrinsecă) pentru toți membrii unei specii și nu are nici o legătură cu folosirea excesivă / abuzivă a antibioticelor.

Rezistența dobândită apare atunci când un anumit microorganism obține capacitatea de a rezista la activitatea unui agent antimicrobian special la care acesta a fost anterior susceptibil și devine capabil să prolifereze și să se răspândească sub presiunea selectivă a utilizării acestui agent. În acest proces, bacteriile rezistă la antibiotice prin luarea de noi caracteristici. Rezistența la antibiotice apare la agenții patogeni zoonotici, cum ar fi Salmonella și Campylobacter spp., precum și la bacteriile comensale.

O tendință deosebit de îngrijorătoare este creșterea apariției multirezistenței la medicamente. De exemplu, în 2012 mai mult de 60% din tulpinile comensale de E. coli provenite de la puii broiler din Olanda au dovedit că prezintă rezistență la două sau mai multe clase de antibiotice (Maran, 2015).

Rezistența antimicrobiană formată în efectivele de animale poate fi transmisă oamenilor. Față de modelul de evaluare directă a riscului, FDA a elaborat orientări pentru a determina riscul a reziduurilor de antibiotice rămase pe produsele alimentare. Această recomandare menționează stabilirea impactului de reziduuri de antibiotice pe flora intestinală umană normală și prezența rezistenței în aceste tulpini. Aceasta oferă linii directoare pentru calculul Acceptabil Consumul zilnic (ADI) pentru reziduurile de antibiotice care prezintă un risc semnificativ pentru sănătatea umană.

3. Reziduuri de antibiotice si derivate din preparate antimicrobiene în alimente

Intoxicația alimentară este considerată una dintre cele mai frecvente cauze de boală și de deces în țările în curs de dezvoltare. Cele mai multe otrăviri alimentare rapoartele sunt asociate în special cu contaminarea bacteriană membri ai bacteriilor Gram negative cum ar fi Salmonella typhi, Escherichia coli și Pseudomonas aeruginosa (Pandey și Singh, 2011). Alte bacterii gram pozitive, inclusiv Staphylococcus aureus și Bacillus cereus au fost de asemenea identificate ca agenți cauzali ai bolilor provocate de alimente sau a alterării alimentelor (Braga et al., 2005). Prevenirea alterării alimentelor și a agentului lor etiologic este în mod tradițional realizat prin utilizarea de conservanți chimici (Shan și colab., 2007). În ciuda celor dovedite eficiența acestor conservanți chimici în prevenirea și focalizarea controlul bolilor de intoxicații alimentare, aplicațiile lor repetate a condus la acumularea de reziduuri chimice în alimente și furaje, dobândirea rezistenței microbiene la substanțele chimice aplicate și efectele secundare neplăcute ale acestor substanțe chimice asupra sănătății umane.

În scopul protecției alimentelor împotriva acumulării de compusi chimici de sinteză, tendințele actuale sunt orientate spre utilizarea preparatelor naturale de tip uleiuri și extracte din plante, a caror efect antimicrobian este dovedit. Promovarea acestor produse în industria alimentară conduce la o reducere a riscului contaminării alimentelor cu compusi chimici de sinteză, concomitent cu creșterea percepției senzoriale a produselor.

4. Reziduuri de antibiotice și derivate din preparate antimicrobiene în mediu

4.1. Reziduurile și preparatele antimicrobiene în ingrasamintele organice

Utilizarea antibioticelor în tratamentul veterinar contribuie la expunerea mediului înconjurător la reziduurile de medicamente, în principal prin îngrășămintele de origine animală.

Majoritatea antibioticelor sunt absorbite de organism după administrare și pot fi metabolizate. Eliminarea medicamentului de bază și / sau a metaboliților se produce în principal prin urină și / sau fecale. Antibioticele cu absorbție orală redusă (de exemplu, aminoglicozide și colistină, utilizate pentru infecții intestinale) vor fi eliminate prin fecale. Măsura în care este metabolizat un antibiotic este un factor important în expunerea mediului la acesta, deoarece pentru majoritatea compușilor, metaboliții prezintă o activitate antibacteriană redusă sau nulă.

O excepție notabilă este enrofloxacină, care este metabolizată *in vivo* în ciprofloxacina, care este un antibiotic important pentru medicina umană. Pentru unele antibiotice, metaboliții pot reveni, de asemenea, înapoi în compusul parental și își recapătă activitatea antibacteriană după eliberare în mediu. De exemplu, sulfonamidele vor fi eliminate parțial ca și conjugați ai acidului acetic, care pot fi transformați înapoi în compușii lor inițiali (Heuer, 2008).

Gradul de metabolizare *in vivo* al unui antibiotic depinde de modul de aplicare, de tipul animalului și de vârsta animalului (Toutain, 2010).

Rapoartele privind concentrațiile de reziduuri de antibiotice din gunoiul de grajd prezintă variații mari. Concentrațiile în gunoiul de grajd depind de tratamentul individual / grup (diluția potențială), durata tratamentului și momentul prelevării eșantionului legat de perioada de tratament.

Cele mai mari și cele mai frecvente concentrații raportate de reziduuri de antibiotice din gunoile de grajd aparțin grupului de antibiotice tetraciclinice. Nivelurile raportate depășesc în mod regulat 100 mg kg⁻¹ (Massé, 2014), cu extreme de până la 764 mg kg⁻¹ clorotetraciclină în gunoi de grajd provenit de la porc (Pan, 2011). Concentrațiile observate pentru sulfonamide sunt, de asemenea, considerabile: Martínez-Carballo (2007) a raportat niveluri de concentrație de până la 20 mg kg⁻¹ pentru sulfadimidină și până la 91 mg kg⁻¹ pentru sulfadiazină (Martínez-Carballo, 2007).

Studiu privind reziduurile și preparatele antimicrobiene în hrană, furaje și în mediu

Rapoartele privind concentrațiile de fluorochinolonă în gunoi de grajd sunt relativ rare, cu toate acestea, Zhao și colab. (2010) a arătat că și acest tip de tratament cu antibiotice poate duce la concentrații mari de reziduuri în gunoi de grajd și au fost observate concentrații de reziduuri de până la 45 mg/kg-1 ciprofloxacina, 1420 mg enrofloxacină kg-1, 99 mg/kg-1 fleroxacină și 225 mg/kg-1 norfloxacină.

Datele pentru antibioticele macrolidice se referă în principal la tilozină, cu concentrații maxime de 8,1 mg/kg-1 (Dolliver, 2008) și 7 mg/kg-1 (Berendsen, 2015). Cel din urmă autor a constatat, de asemenea, că în cazul tilmicosinului, tiamulina și lincomicina în studiul lor, nivelurile pentru aceste reziduuri fiind în zona $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Penicilinele prezintă o stabilitate slabă în gunoi de grajd (Berendsen, 2015), posibil datorită prezenței bacteriilor producătoare de ESBL, explicând absența rezultatelor de supraveghere pentru acest grup de antibiotice. Pentru aminoglicozide lipsesc datele privind apariția în gunoi de grajd, dar acest lucru ar putea fi atribuit și faptului că acest grup de reziduuri este dificil de inclus în metodele LC / MS de rutină pentru analiza antibiotică.

Au fost raportate concentrații reziduale considerabile de antibiotice în solurile agricole (Thiele-Bruhn, 2003), de la 450 până la 900 $\mu\text{g/kg}^{-1}$ pentru tetracicline (Winckler și Grafe, 2001), de la 13 la 67 $\mu\text{g/kg}^{-1}$ pentru macrolide și de la 6 până la 52 $\mu\text{g/kg}^{-1}$ pentru fluorochinolone. În cazul solurilor fertilizate convențional cu gunoi de grajd, au fost găsite concentrații medii de până la 199 $\mu\text{g/kg}^{-1}$ tetraciclină, 7 $\mu\text{g/kg}^{-1}$ clortetraciclină și 11 $\mu\text{g/kg}^{-1}$ sulfadimidină.

4.2 Reziduurile și preparatele antimicrobiene în apă

O altă cale veterinară importantă pentru diseminarea reziduurilor de antibiotice în mediu este prin acvacultură sau piscicultură. Acvacultura este sectorul cu cea mai rapidă creștere a producției de alimente de origine animală și se estimează că acvacultura reprezintă aproape jumătate din cantitatea totală de produse alimentare pe bază de pește.

În acvacultură, antibioticele sunt, de obicei, administrate ca hrană cu adaos de medicamente, dar și printr-o îmbăiere terapeutică, dând o expunere la mediu prin contaminarea apei și contaminarea sedimentelor din iaz cu excremente de pește și furaje neutilizate.

Probele de apă de suprafață din Germania au fost frecvent contaminate cu sulfonamide și macrolide și, într-o mai mică măsură, cu fluorochinolone (Christian, 2003). Concentrațiile observate au fost totuși scăzute ($<0,2 \mu\text{g/L}^{-1}$).

Au fost raportate concentrații mult mai mari într-un studiu chinez care a investigat prezența mai multor reziduuri de antibiotice în apele uzate și în apele de suprafață din jurul fermelor. În acest studiu, concentrațiile maxime au fost cuprinse între 0,63 $\mu\text{g L}^{-1}$ și 211 $\mu\text{g L}^{-1}$ pentru sulfonamide diferite și între 3,67 $\mu\text{g L}^{-1}$ și 72,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ pentru tetracicline (Wei, 2011).

5. Transportul reziduurilor și a preparatelor microbiene în mediul inconjurător

Atunci când reziduurile de antibiotice intră în mediul inconjurător, principalele procese care determină persistența lor sunt sorbția particulelor organice și degradarea / transformarea. Ambele procese depind de o serie de factori diferiți: proprietățile fizico-chimice ale reziduurilor, caracteristicile solului și factorii climatici, cum ar fi temperatura, precipitațiile și umiditatea (Kemper, 2008).

Mobilitatea și transportul antibioticilor în mediul inconjurător depind de comportamentul lor de sorbție. Sorbția antibioticilor în sol poate reduce mobilitatea și, în consecință, potențiala eliminare în sol și apa de suprafață. Sorbția poate afecta, de asemenea, reactivitatea și biodisponibilitatea pentru degradarea microbiană (Jensen, 2001).

Parametrii solului care sunt considerați cei mai importanți pentru adsorbție sunt: conținutul de carbon organic, conținutul de argilă și textura solului și pH-ul pentru compușii ionizabili.

Modelele de sorbție presupun în general că coeficientul de distribuție solului-apă este legat de conținutul de carbon organic al solului: $K_d = K_{oc} \times FOC$, în care K_{oc} este coeficientul de partiție normalizat cu carbon organic iar FOC este conținutul de carbon organic. Valoarea K_{oc} poate fi, la rândul său, calculată din coeficientul K_{ow} de repartiție octanol-apă. Cu toate acestea, K_{ow} reflectă numai interacțiunile hidrofobe și nu reflectă cu exactitate alte proprietăți fizice și chimice ale reziduurilor de antibiotice, cum ar fi interacțiunile electrostatice, legăturile de hidrogen și schimbul de cationi, care pot varia semnificativ în funcție de modificările pH-ului, materiei organice și rezistenței ionice.

Pentru majoritatea antibioticilor, valoarea constantă a disociației de acid (pK_a) este în intervalul valorilor pH-ului solului, indicând faptul că starea lor de protonare / ionizare depinde de valoarea pH-ului tipului de sol. Atât caracteristicile solului, cât și proprietățile fizico-chimice ale reziduurilor de antibiotice joacă un rol esențial în sorbția solurilor și sedimentelor (Tolls, 2001; Sarmah, 2006). Evident, având în vedere varietatea potențială a tuturor factorilor menționați mai sus, gradul de adsorbție al antibioticilor în sol variază foarte mult.

Coeficienții de sorbție ai antibioticilor au fost raportați la o valoare cuprinsă între 0,61 L kg⁻¹ și 6000 L kg⁻¹ (Boxall, 2004). Aplicarea gunoierului de grajd mărește conținutul de carbon organic și, prin urmare, este o practică importantă care influențează potențialul de sorbție al solului. În general, se presupune că potențialul de sorbție pentru tetraciline este ridicat, iar macrolidele și fluorochinolonele prezintă o sorbție semnificativă, în timp ce sulfonamidele prezintă doar sorbție slabă pe sol (Figuerola-Diva, 2010).

6. Degradarea și metabolizarea preparatelor antimicrobiene în mediul inconjurător

Degradarea antibioticelor în sol poate apărea prin procese abiotice și biotice. Hidroliza este, în general, considerată o cale importantă de degradare abiotică.

Beta-lactamele, macrolidele și sulfonamidele sunt teoretic susceptibile la hidroliză. Cu toate acestea, în condițiile de mediu, numai β -lactamele sunt hidrolizate la o rată semnificativă, deoarece hidroliza macrolidelor și sulfonamidelor la pH-ul neutru este foarte lentă (Volmer și Hui, 1998).

Un alt proces important de degradare abiotică este foto-degradarea. Foto-degradarea poate contribui la reducerea generală a concentrațiilor de reziduuri în medii acvatice deosebite și la aplicarea antibioticelor pe solul pe care se află gunoi de grajd, aplicat în zilele cu intensitate mare a luminii și evaporare ridicată a apei (Thiele-Bruhn and Peters, 2007).

Chinolonele și tetraciclonele în special, au fost raportate ca fiind susceptibile la fotodegradare. S-a constatat că degradarea foto-sulfonamidelor variază față de sulfonamide, produse care au demonstrat că nu au activitate antibacteriană (Zessel, 2014).

Degradarea biotică sau transformarea reziduurilor de antibiotice va fi efectuată în primul rând prin populațiile microbiene native ale solului, dar, în mod evident, aplicarea gunoierului de grajd, cu conținutul microbial ridicat, poate stimula degradarea microbială a reziduurilor de antibiotice.

În multe studii privind degradarea antibioticului în mediu, a fost imposibil să se facă distincția între rata de degradare biotică și abiotică. Cu toate acestea, un experiment care a comparat degradarea cloramfenicolului în solul sterilizat vs nesterilizat a arătat în mod convingător rolul major al populației microbiene native în degradarea acestui reziduu antibiotic (Berendsen, 2013).

Măsura, cinetica și procesul de degradare sunt influențate în principal de proprietățile fizico-chimice ale antibioticelor cum ar fi structura, concentrația, solubilitatea, capacitatea de adsorbție a solului, capacitatea de fixare a porilor de matricea solului și condițiile de mediu cum ar fi temperatura, precipitațiile și umiditatea (Tolls, 2001; Sarmah, 2006). După cum s-a menționat anterior, sorpția poate afecta biodisponibilitatea pentru degradarea microbială (Jensen, 2001).

O serie de studii au sugerat că compostarea are ca rezultat o scădere semnificativă a concentrațiilor de antibiotice extrase în gunoiul de animale (Dolliver, 2008, Selvam, 2012). Compostarea a fost sugerată ca o opțiune practică și economică pentru reducerea concentrațiilor de antibiotice în gunoi de grajd înainte de aplicarea lui pe teren (Dolliver, 2008). De exemplu, un studiu realizat de Kim (2012) a arătat că compostarea a redus concentrațiile de tetraciclone, sulfonamide și macrolide care pot fi extrase cu 96%, 99% și respectiv 95%. De asemenea, a fost sugerată o digestie anaerobă ca o metodă eficientă de degradare și eliminare a antibioticelor (Massé, 2014).

Eliminarea antibioticelor în timpul acestor procese este în principal atribuită proceselor abiotice dependente de temperatură, cum ar fi adsorbția și degradarea. Este totuși clar că mulți dintre factorii care determină persistența reziduurilor de antibiotice sunt strâns legate între ele.

În plus, trebuie să se țină cont de faptul că metodele analitice utilizate nu pot fi întotdeauna capabile să diferențieze între degradare și absorbție: adică dacă procedura de extracție este insuficientă, o scădere a concentrației de reziduuri de medicament ar putea fi interpretată eronat legată de degradare. Aceste considerente trebuie luate în considerare în ceea ce privește prezentarea de mai jos a persistenței antibioticului individual și a grupurilor de antibiotice.

7. Concluzii

Apariția și răspândirea bacteriilor și genelor rezistente ca urmare a tratamentului antibiotic veterinar este o problemă bine recunoscută și relevanța sa este în general recunoscută. Tratamentul animalelor are ca rezultat, de asemenea, eliberarea de reziduuri de antibiotice în mediu. Persistența antibioticelor în gunoi de grajd și în sol depinde de factori precum tipul de sol (de exemplu, conținutul organic) și caracteristicile fizico-chimice ale antibioticelor. Se cunosc foarte puține despre concentrațiile de antibiotice care generează presiune selectivă și promovează persistența și răspândirea rezistenței la antibiotice în mediul înconjurător. Cu toate acestea, medii selective pot apărea la concentrații cu mult sub MIC, care a fost în mod tradițional considerată ca fiind concentrația minimă care provoacă rezistență la antibiotice. Concentrațiile substanțiale de reziduuri de antibiotice apar în sol și apă, în special în locații apropiate de agricultura intensivă. Pe baza comparației rezultatelor raportate în studiile individuale, este de așteptat ca concentrațiile de reziduuri de antibiotice în mediu să contribuie la persistența și să promoveze răspândirea în continuare a rezistenței la antibiotice.

Pentru a permite evaluarea riscurilor și dezvoltarea programelor de management, cercetarea privind definirea concentrațiilor minime prag care induc sau susțin propagarea rezistenței la antibiotice este foarte importantă. Mai mult, este critică determinarea biodisponibilității antibioticelor in situ pentru a clasifica antibioticele în funcție de profilul lor de caracterizare a riscurilor. Dezvoltarea unor tehnici analitice sensibile și precise, care să poată măsura aceste concentrații de reziduuri de antibiotice în toate matricile relevante, este, de asemenea, obligatorie. Prin urmare, un studiu de urgență cuprinzător este necesar pentru a examina soarta reziduurilor de antibiotice și efectul lor asupra rezistenței în toate rezervoarele relevante (gunoi de grajd, sol, apă și plante).

8. Bibliografie:

1. Berendsen, B.J.A., M.G. Pikkemaat, P.F.A.M. Romkens, R. Wegh, M. van Sisseren, A.A.M. Stolker, and
2. W.M.F. Nielen. 2013. Occurrence of chloramphenicol in crops through natural production by bacteria in soil. *J. Agric. Food Chem.*, 61: 4004 - 4010.
3. Boxall, A.B.A., L.A. Fogg, P. Blackwell, P. Kay, E.J. Pemberton, and A. Croxford. 2004. Veterinary medicines in the environment. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 182:1-91.
4. Braga, L.C., Shupp, J.W., Cummings, C., Jett, M., Takahashi, J.A., Carmo, L.S., 2005. Pomegranate extract inhibits *Staphylococcus aureus* growth and subsequent enterotoxin production. *J. Ethnopharmacol.* 96, 335–339
5. Christian, T., R.J. Schneider, H.A. Färber, D. Skutlarek, M.T. Meyer, and H.E. Goldbach. 2003. Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 31 (1):36–44.
6. Dolliver, H., S. Gupta, and S. Noll. 2008. Antibiotic degradation during manure composting. *J. Environ. Qual.*, 37(3):1245-1253.
8. EC, 2001. DIRECTIVE 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to veterinary medicinal products. Official J. of the EU L 311/1.
9. EC, 2003. REGULATION (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. Official J. of the EU L 268/29.
10. EC, 2009. REGULATION (EC) No. 470/2009 of the European Parliament and of the Council 6 May 2009 laying down Community procedures for the establishment of residue limits of pharmacologically active substances in foodstuffs of animal origin, repealing Council Regulation (EEC) No. 2377/90 and amending Directive 2001/82/EC of the European Parliament and of the Council and Regulation (EC) No. 726/2004 of the European Parliament and of the Council. Official J. of the EU L 152/11.
11. EC, 2015. Commission staff working document Progress report on the Action plan against the rising threats from Antimicrobial Resistance. SANTE/10251/2015.
12. EFSA, 2015. EU Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2013. *EFSA Journal* 2015, 13(2):4036.
13. Figuer Diva R.A., D. Vasudevan, and A.A. MacKay. 2010. Trends in soil sorption coefficients within
14. common antimicrobial families. *Chemosphere*, 79(8):786-93.
15. Grave, K., J.A.J. Torren-Edo, and D. Mackay. 2010. Comparison of the sales of veterinary antimicrobial agents between 10 European countries. *J. Antimicrob. Chemother.*, 65:2037-2040.
16. Heuer, H., A. Focks, M. Lamshöft, K. Smalla, M. Matthies, and M. Spiteller. 2008. Fate of sulfadiazine administered to pigs and its quantitative effect on the dynamics of

- bacterial resistant genes in manure and manured soil. *Soil Biol. Biochem.*, 40:1892-1900.
17. Jensen, J., C.G. Daughton, and T. Jones-Lepp. 2001. Veterinary Medicines and Soil Quality: The Danish Situation as an example. ACS Symposium Series. 791:282-302.
 18. Kemper, N. 2008. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecol. Indicators*, 8:1-13.
 19. Kim, K.R., G. Owens, Y.S. Ok, W.K. Park, D.B. Lee, and S.I. Kwon. 2012. Decline in extractable antibiotics in manure-based composts during composting. *Waste Manag.*, 32(1):110-6.
 20. Kumar, K., S.C. Gupta, Y. Chander, and A. Singh. 2005. Antibiotic use in agriculture and its impact on the terrestrial environment. *Adv. Agron.*, 87:1-54.
 21. Landers Timothy F., Bevin Cohen, Thomas E. Wittum, Elaine L. Larson, FAAN, 2012, A Review of Antibiotic Use in Food Animals: Perspective, Policy, and Potential, Public Health Reports / January-February Volume 127
 22. Levy, S.B. 2002. The antibiotic paradox. How the misuse of antibiotics destroys their curative powers, Book review 2nd edn *Int Microbiol*, 5: 155-156.
 23. Maran, 2015. Monitoring of Antimicrobial Resistance and Antibiotic Usage in Animals in the Netherlands in 2014. Retrieved from <http://www.wageningenur.nl/nl/Expertises-Central-Veterinary-Institute/Publicaties-CVI/MARAN-Rapporten>.
 24. Martinez-Carballo, E., C. Gonzalez-Barreiro, S. Scharf, and O. Gans. 2007. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environ. Pollut.*, 148:570-9.
 25. Massé, D.I., N.M.C. Saady, and Y. Gilbert. 2014. Potential of biological processes to eliminate antibiotics in livestock manure: an overview. *Animals*, 4:146-163.
 26. Mostafa Ashraf A., Abdulaziz A. Al-Askar, Khalid S. Almaary, Turki M. Dawoud, Essam N. Sholkamy, Marwah M. Bakri, 2018, Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases Saudi Journal of Biological Sciences 25, 361-366
 27. Pan, X., Z. Qiang, W. Ben, and M. Chen. 2011. Residual veterinary antibiotics in swine manure from concentrated animal feeding operations in Shandong Province, China. *Chemosphere*, 84(5): 695-700.
 28. Pikkemaat M.G., Yassin H., van der Fels-Klerx H.J. and Berendsen B.J.A., 2016 Antibiotic Residues and Resistance in the Environment, RIKILT Wageningen UR Wageningen,
 29. Pandey, A., Singh, P., 2011. Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (Clove) with metal ion effect against food borne pathogens. *Asian J. Plant Sci. Res.* 1 (2), 69-80.
 30. Sarmah, A.K., M.T. Meyer, and A.B.A. Boxall. 2006. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, 65(5): 725-759.
 32. Shan, B., Cai, Y., Brooks, J.D., Corke, H., 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int. J. Food Microbiol.* 117, 112-119.
 34. Selvam, A., D. Xu, Z. Zhao, and J.W. Wong. 2012. Fate of tetracycline, sulfonamide and

- fluoroquinolone resistant genes and the changes in bacterial diversity during composting of swine manure. *Bioresource Technol.*,126:383-90.
35. Speksnijder, D.C., D.J. Mevius, C.J. Brusckhe, and J.A. Wagenaar. 2015. Reduction of veterinary antimicrobial use in the Netherlands. The Dutch success model. *Zoonoses Public Health*, 62, Suppl 1:79-87.
 36. Thiele-Bruhn, S., and D. Peters. 2007. Photodegradation of pharmaceutical antibiotics on slurry and soil surfaces. *Landbauforschung Völkenrode* 1(57):13-23.
 37. Tolls, J. 2001. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environ. Sci. Technol.* 35(17): 3397-3406.
 38. Toutain, P.-L., A. Ferran, and A. Bousquet-Me'lou. 2010. Species differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. In: *Comparative and Veterinary Pharmacology, Handbook of Experimental Pharmacology* 199, F. Cunningham *et al.* (eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, DOI 10.1007/978-3-642-10324-7_2.
 39. Van Boeckel, T.P., C. Brower, M. Gilbert, B.T. Grenfell, S.A. Levin, T.P. Robinson, A. Teillant, and R. Laxminarayan. 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112 (18): 5649–5654.
 41. Volmer, D.A., and J.P.M. Hui. 1998. Study of erythromycin A decomposition products in aqueous solution by solid-phase microextraction/Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 12: 123-129.
 42. Wei, R.C., F. Ge, S.Y. Huang, M. Chen, and R. Wang. 2011. Occurrence of veterinary antibiotics in animal wastewater and surface water around farms in Jiangsu Province, China. *Chemosphere*, 82:1408–1414.
 43. Winckler, C., and A. Grafe. 2001. Use of veterinary drugs in intensive animal production – evidence for persistence of tetracycline in pig slurry. *J. Soils Sediments*, 1: 66–70.
 44. Zessel, K., S. Mohring, G. Hamscher, M. Kietzmann, and J. Stahl. 2014. Biocompatibility and antibacterial activity of photolytic products of sulfonamides. *Chemosphere*, 100:167-174.
 45. Zhao, L., Y.H. Dong, and H. Wang. 2010. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China. *Sci. Total Environ.*, 408(5): 1069-1075.

Responsabil proiect component 4

Conf.dr.ing. Tulcan Camelia

Responsabil etapa 4.1.1.

Prof.dr.ing. Radulov Isidora