

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra chemie



**Rezidua veterinárních antimikrobik v mase a masných
výrobcích**

Bakalářská práce

Autor práce: Kristýna Petričáková

Obor studia: Výživa a potraviny ATZD

Vedoucí práce: Ing. Miloslav Šulc, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Rezidua veterinárních antimikrobik v mase a masných výrobcích" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 18.4.2019

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Miloslavu Šulcovi, Ph.D. za čas, trpělivost a rady, které mi při zpracování bakalářské práce poskytl. Dále bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za rady a slova podpory, kterých se mi od nich během psaní dostávalo.

Rezidua veterinárních antimikrobik v mase a masných výrobcích

Souhrn

Tato bakalářská práce shrnuje informace o reziduích antimikrobiálních léčiv v potravinách; zejména v mase a masných výrobcích, jelikož právě tato komodita je veřejností mnohdy vnímána s obavami. Jde o důsledek nejrůznějších afér, například v souvislosti s kontaminací masa bakteriemi. Přítomnost antimikrobiálních reziduí v konzumované potravě totiž může ohrožovat lidské zdraví, a to hned několika způsoby. Nejvíce diskutovaným rizikem je ovšem možnost šíření rezistence bakterií k antimikrobiálním léčivům u lidí, což v dnešní době představuje globální hrozbu. Pozornost je také zaměřena na aktuální situaci v České republice související s touto problematikou.

Práce nejdříve seznamuje čtenáře s výskytem reziduí antimikrobiálních léčiv a jejich působením na lidské zdraví. Zároveň jsou čtenáři představeny druhy těchto léčivých přípravků a jejich metabolismus v těle zvířete.

Druhá polovina práce se zabývá bakteriální rezistencí k antimikrobikům a jejím šířením v životním prostředí. Dále jsou zde popsána vybraná léčiva, která se v posledních pěti letech objevila v souvislosti s překročením maximálních limitů.

Závěrečná část práce se věnuje příslušné české i evropské legislativě, možnostem detekce reziduí antimikrobik v mase a masných výrobcích a dozorovým orgánům, které působí v oblasti kontroly potravin.

Klíčová slova: veterinární léčivo, antimikrobikum, maso, masný výrobek, legislativa, toxikologie, analýza potravin, lidské zdraví, reziduum, životní prostředí

Residues of veterinary antimicrobials in meat and meat products

Summary

This bachelor thesis summarises informations about antimicrobial drug residues in food. Especially in meat and meat products, because this commodity is often perceived by the public with concern as a result of various affairs, such as bacteria contaminations of meat. Any presence of antimicrobial residues in consumed food can pose a threat to human health in several ways. The most discussed risk is the possibility of spreading bacterial resistance to antimicrobial drugs in human population, which nowadays is a global threat. Attention is also paid to the current situation in the Czech Republic related to this issue.

The first part of the thesis introduces readers to the occurrence of antimicrobial residues and their effects on human health. Readers are also acquainted with types of these antimicrobial products and their metabolism in the animal's body.

The second part of the thesis deals with bacterial resistance to antimicrobials and its spread in the environment. In addition, there will be described selected drugs that have emerged in the past five years in connection with exceeding of maximum levels.

The final part of the thesis is devoted to the legislation of the Czech Republic and European Union to this problem. The last chapters focus on the detection of antimicrobial residues in meat and meat products and on the supervisory authorities involved in food supervising.

Keywords: veterinary drug, antimicrobials, meat, meat product, legislation, toxikology, food analysis, human health, residue, environment

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Cíl práce	2
3	Problematika výskytu reziduí v potravinách	3
3.1	Druhy reziduí v potravinách	3
3.2	Ochranná lhůta pro živočišné produkty	4
3.3	Výskyt reziduí veterinárních léčiv v potravinách	4
3.3.1	Definice pojmů antimikrobikum a antibiotikum	6
3.4	Působení reziduí veterinárních antimikrobik na lidské zdraví	6
3.4.1	Hypersenzitivita	7
3.4.2	Narušení střevního mikrobiomu	7
3.4.3	Další negativní účinky na lidské zdraví	8
3.4.4	Negativní vliv přítomnosti reziduí antimikrobik na kvalitu masa	8
3.5	Hodnocení bezpečnosti reziduí veterinárních antimikrobik v potravinách	8
3.5.1	Přijatelný denní příjem.....	9
3.5.2	Maximální limit rezidua.....	9
4	Metabolismus veterinárních antimikrobik v těle zvířat.....	11
4.1	Absorpce léčiva	12
4.2	Distribuce léčiva	12
4.3	Eliminace léčiva	12
4.4	Exkrece léčiva	13
5	Základní rozdělení antimikrobik.....	15
5.1.1	Rozdělení antimikrobik podle typu účinku.....	15
5.1.2	Rozdělení antimikrobik podle vztahu farmakokinetiky a farmakodynamiky	15
5.1.3	Rozdělení antimikrobik podle fyzikálně-chemických vlastností.....	15
5.1.4	Rozdělení antimikrobik podle spektra účinnosti	16
5.1.5	Rozdělení antimikrobik podle místa a mechanismu působení.....	16
5.1.6	Rozdělení antimikrobik podle chemické struktury	17
6	Rezistence k antimikrobikům a její druhy	24
6.1	Historie používání veterinárních antimikrobik u hospodářských zvířat..	24
6.2	Distribuce antimikrobiální rezistence v životním prostředí.....	25
6.3	Multirezistentní a panrezistentní bakterie.....	27
6.3.1	Přirozená rezistence	30
6.3.2	Získaná rezistence	30
7	Organizace zajišťující bezpečnost potravin v rámci výskytu reziduí veterinárních antimikrobik.....	32
7.1	Legislativa uplatňující se v ČR v problematice bezpečnosti potravin	32

7.1.1	Legislativa v rámci Evropské unie.....	32
7.2	Dozorové orgány.....	33
7.2.1	Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI).....	33
7.2.2	Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL)	33
7.2.3	Státní veterinární správa (SVS ČR).....	33
7.3	Antimikrobiální politika v ČR.....	34
7.4	Organizace EU.....	34
7.4.1	EFSA.....	35
7.4.2	EMA.....	35
7.4.3	EPRUMA.....	35
7.5	Surveillance antimikrobik.....	36
7.5.1	EARS-Net.....	36
7.5.2	ESAC-Net.....	36
7.5.3	Spotřeba veterinárních antimikrobik.....	37
7.6	Organizační systémy zajišťující bezpečnost potravin v EU.....	38
7.6.1	HACCP.....	38
7.6.2	RASFF.....	38
7.7	Nejčastěji se vyskytující rezidua veterinárních antimikrobik v mase a masných výrobcích.....	39
7.7.1	Tetracykliny.....	40
7.7.2	Sulfonamidy.....	41
7.7.3	Nitrofurany.....	42
8	Druhy analýz využívané ke specifikaci reziduí antimikrobiálních látek v mase a masných výrobcích.....	44
8.1	Screeningové metody.....	44
8.1.1	Mikrobiologické metody.....	45
8.1.2	Imunologické metody.....	46
8.1.3	Biosenzory používané k detekci antimikrobik.....	47
8.1.4	Fyzikálně-chemické metody.....	47
8.2	Potvrzovací metody.....	50
9	Řešení problematiky rezistence bakterií k antimikrobikům.....	51
10	Závěr.....	53
	Přehled literatury a použitých zdrojů.....	54
	Seznam tabulek, obrázků a grafů.....	72
	Seznam použitých zkratk.....	73

1 Úvod

Potraviny živočišného původu patří v České republice k nejvíce konzumovaným potravinám (ČSÚ 2017). Ve výživě člověka hrají významnou roli co do obsahu esenciálních živin, ale zároveň představují i zdroj možných zdravotních rizik – například v podobě kontaminace cizorodými látkami, mezi které patří i rezidua antimikrobiálních látek (Jalal et al. 2015). Výskyt reziduí těchto léčiv je podmíněn jejich využitím při léčbě zvířat učených k produkci potravin, popřípadě v některých zemích při prevenci vzniku onemocnění nebo pro stimulaci růstu (Nisha 2008).

Jako reziduum veterinárního antimikrobika je podle Codex alimentarius označována jak původní sloučenina podaného léčiva, tak i její metabolity, které se nachází v jakémkoli živočišném produktu určenému k lidské spotřebě.

Rezidua veterinárních antimikrobik v potravinách představují významnou problematiku z důvodu možných zdravotních rizik vyvolaných konzumací kontaminované potraviny, například alergických reakcí u senzitivních osob. Rezidua antimikrobiálních léčiv mohou mít také negativní vliv na střevní mikrobiom člověka (Botsoglou & Fletouris 2001). Nejdiskutovanějším tématem je stále narůstající rezistence mikrobů – především bakterií – vůči těmto léčivům z důvodu snížení účinnosti antimikrobik při léčbě infekcí (Phillips et al. 2003).

Na žebříčku 10 největších zdravotních hrozeb, který zveřejnila Světová zdravotnická organizace v lednu 2019, je rezistence mikrobů k antimikrobikům na pátém místě (WHO 2019). Tuto skutečnost podtrhuje fakt, že v EU každoročně zemře 33 tisíc lidí na nemoci způsobené těmito rezistentními bakteriemi (Cassini et al. 2019). V současné době se tato situace řeší v ČR mj. zavedením tzv. akčního plánu Národního antibiotického programu na období 2019–2022, který si klade za cíl především zlepšit informovanost o stavu antimikrobiální rezistence či o zodpovědném užívání antimikrobiálních léčiv.

Tato bakalářská práce popisuje bakteriální rezistenci způsobenou přítomností reziduí veterinárních antimikrobik v mase a masných výrobcích. Nejen proto, že se veřejnost často obává o bezpečnost těchto živočišných produktů (McEachern & Warnaby 2007), ale i z toho důvodu, že právě u této komodity byl v posledních letech zaznamenán nejvyšší výskyt reziduí antimikrobik oproti jiným živočišným produktům (mléko a mléčné výrobky, vejce a med). Další část práce je pak zaměřena na legislativu a organizace, které dohlížejí na bezpečnost potravin v ČR. Posledním dílčím tématem práce jsou různé druhy analýz, které se v dnešní době využívají pro detekci možných reziduí veterinárních léčiv v potravinách.

2 Cíl práce

Cílem práce je:

1. představení nejnovějších poznatků o reziduích veterinárních antimikrobiálních léčiv v potravinách, zejména pak v mase a masných výrobcích,
2. popis jednotlivých chemických analýz, které se v současné době používají pro detekci případných reziduí veterinárních léčiv v potravinách,
3. popis fyziologických a toxikologických účinků vybraných léčiv, která se v posledních pěti letech objevila v souvislosti s překročením svých maximálních limitů,
4. představení legislativy České republiky a Evropské unie zabývající se zamezením transferu veterinárních léčiv do potravin.

3 Problematika výskytu reziduí v potravinách

Pojem reziduum se v souvislosti s problematikou bezpečnosti potravin používá pro označení zbytku cizorodé látky (tj. chemického prvku nebo sloučeniny, která se vyskytuje v přírodě nebo je získávána synteticky) v potravine. Také se používá pojem xenobiotikum či kontaminující látka (nařízení č. 315/93/EHS). Souhrnně jde tedy o látku, která není do potraviny přidána záměrně a vyskytuje se v ní jako důsledek produkce.

3.1 Druhy reziduí v potravinách

Potravinovými kontaminanty mohou být například těžké kovy (kadmium, olovo, rtuť) nebo pesticidy, jmenujme např. kyselinu 4-chlor-2-methylfenoxycetovou, známou jako nejběžněji používaný selektivní herbicid (Demirezen & Uruc 2006; Santilio et al. 2009).

Mezi rezidua, která se mohou objevovat v potravinách, patří i dezinfekční prostředky. Jsou to mj. přípravky na bázi jódu nebo peroxidu vodíku používané v dojárnách. Tyto prostředky se tak z důvodu možného výskytu v kravském mléce řadí k inhibičním látkám (Van der Reijden 2017).

V neposlední řadě se jako rezidua v souvislosti s bezpečností potravin uvádí i dioxiny (patří mezi chlorované uhlovodíky vznikající jako nežádoucí složky při chemických reakcích v průmyslové výrobě, např. při spalovacích procesech dřeva či uhlí za přítomnosti chlóru) a dioxinům podobné látky, anglicky označované jako dioxin-like, např. PCB – polychlorované bifenylly (Marinković et al. 2010). Tyto látky nepředstavují riziko pro zdraví člověka z hlediska akutní toxicity, avšak v důsledku bioakumulace v tkáních mohou způsobovat chronickou toxicitu, bude-li docházet k dlouhodobému příjmu těchto látek v potravine. Chronická toxicita působení PCB se může projevat jako oslabení funkce imunitního a nervového systému, dále může docházet ke změnám endokrinního systému (zejména štítné žlázy) a reprodukčních funkcí (Ferrante et al. 2017).

Mezi rezidua se řadí rovněž mykotoxiny – specifické skupiny sekundárních metabolitů, které mohou být produkovány houbami. Ty představují riziko pro zdraví člověka a jiné obratlovce v důsledku svých karcinogenních účinků, stejně jako reprodukční a vývojové toxicity, a to při požití již v malých množstvích (Pizzolato et al. 2018).

Jako rezidua se označují i tzv. rezidua inhibičních látek (RIL). RIL představují zbytky léčivých přípravků s antimikrobiálním účinkem. Mezi tyto léčivé přípravky řadíme převážně antibiotika (léčiva s antibakteriálním účinkem), dále např. antimykotika (léčivo používané

k léčbě mykóz způsobených houbami, včetně plísní a kvasinek) nebo také léčiva působící proti prvokům, tzv. antiprotozoika (Navrátilová 2002; Lozzano & Trujillo 2012).

Užší definici rezidua týkající se veterinárních léčivých přípravků (VLP) pak představuje směrnice Rady č. 96/23/ES, o kontrolních opatřeních u některých látek a jejich reziduí v živých zvířatech a živočišných produktech. Ta definuje reziduum jako látku s farmakologickým účinkem, jakož i jiné látky přecházející do živočišných produktů a způsobilé poškodit lidské zdraví.

Za rezidua farmakologicky účinných látek lze považovat i jejich produkty rozkladu a metabolity, které zůstávají v potravinách získaných ze zvířat (Lincová 2007).

3.2 Ochranná lhůta pro živočišné produkty

Výskyt reziduí veterinárních léčiv v potravinách živočišného původu nejčastěji nastává při nedodržení tzv. ochranné lhůty. Dle směrnice č. 2001/82/ES, je ochranná lhůta definována jako období mezi posledním podáním léčivého přípravku zvířeti za běžného používání a okamžikem, kdy lze od tohoto zvířete získávat živočišné produkty určené k výživě člověka. Tak má být zajištěno, že potraviny neobsahují rezidua veterinárních léčiv přesahujících maximální limity stanovené zvláštními právními předpisy a předpisy Evropských společenství (bude popsáno dále). Jinými slovy, maso či jiné živočišné produkty, které byly získány ještě před uplynutím ochranné lhůty, mohou obsahovat rezidua veterinárních léčiv, která následně mohou mít negativní vliv na zdraví člověka (Tilahun et al. 2016).

Pokud u léčivého přípravku není uvedena ochranná lhůta, mohou být zvířata využívána pro lidskou spotřebu až po uplynutí 28 dní v případě, pokud jde o maso drůbeže a savců, včetně vnitřností a tuků. Pokud se jedná o vejce a mléko, musí být dodržena nejméně sedmidenní lhůta (zákon č. 166/1999 Sb. o veterinární péči). Jedná-li se navíc o živočišné produkty pocházející z ekologického zemědělství, musí být tato lhůta dvojnásobná oproti zákonné ochranné lhůtě pro konvenční chovy (nařízení Komise č. 889/2008/ES).

3.3 Výskyt reziduí veterinárních léčiv v potravinách

Rezidua veterinárních léčiv se obvykle očekávají v potravinách živočišného původu, a to z důvodu jejich přímé distribuce do tkání a jednotlivých orgánů zvířete, které se následně zpracovávají pro lidskou spotřebu. Tato zvířata se podle nařízení č. 767/2009/ES označují jako zvířata určená k produkci potravin (vedle této skupiny zvířat existuje i druhá kategorie neurčená

k produkci potravin, pod níž spadají např. laboratorní zvířata, zvířata ze zájmových chovů nebo ze zoologických zahrad).

K detekci možných reziduí veterinárních léčiv (jakož i dalších cizorodých látek) v potravinách se využívá tzv. monitoring (tj. sběr informací, který se děje systematicky a v určitém čase). Z výsledků monitoringu je pak v rámci ČR každoročně sestavován elektronický informační bulletin „Kontaminace potravních řetězců cizorodými látkami“, který je zveřejňován na webových stránkách Státní veterinární správy (jeden z dozorových orgánů Ministerstva zemědělství) a jehož prostřednictvím je odborná i laická veřejnost informována o výsledcích monitoringu. Ten se vedle potravin zabývá také krmivý a jinými surovinami živočišného původu.

Výsledky monitoringu jsou zpracovány formou tabulek a grafů s krátkými komentáři k obsahu reziduí a kontaminantů u jednotlivých druhů vzorků, pochopitelně se zvláštním zřetelem na záchyty nevyhovujících vzorků.

V bulletinu jsou rovněž na mapách ČR vyznačeny lokality s nadlimitními nebo závažnými nálezy, které byly zjištěny v rámci běžného monitoringu nebo cílených vyšetření (Poustková 2018).

Na základě těchto poznatků lze v rámci domácích i dovezených potravin konstatovat, že se situace každým rokem zlepšuje, a to i v porovnání s ostatními členskými státy EU. Samozřejmě za to může zlepšující se systém kontroly bezpečnosti potravin. Ten je neustále zdokonalován z důvodu opakovaných skandálů v minulosti, které souvisely právě s výskytem reziduí VLP, jako tomu bylo např. u výskytu reziduí nitrofuránů v drůbežím mase (McCracken & Kennedy 2013).

Nicméně i přes zlepšující se situaci se mnohdy objevují případy výskytu těchto reziduí. Ve většině případů se jejich přítomnost vysvětluje nedodržením ochranné lhůty u VLP.

Podle údajů Státní veterinární správy, která má na starost mj. kontrolu bezpečnosti potravin, je z pohledu reziduí VLP nejvíce ohroženou skupinou maso a výrobky z něj. Dle vyhlášky č. 69/2016 Sb. se masem rozumí výsekové maso, kosti, krev, droby, syrové sádlo a lůj, mleté maso, maso zvěře ve farmovém chovu a zvěřina.

Tyto údaje potvrzují aktuální výsledky monitoringu za posledních pět let. Časový úsek posledních pěti let totiž představuje dobu bez většího zaznamenaného případu kontaminace masa nebo výrobků z něj rezidui VLP. Poslední takový případ nastal právě v roce 2013, kdy došlo k trojnásobnému překročení MRL u doxycyklinu v kuřecím mase dovezeném z Polska (ECDC 2019).

Během tohoto časového úseku obstály ostatní živočišné produkty (tj. vejce, mléko či med) až na malé výjimky (např. antihelmentika v mléce nebo kokcidostatika ve vejcích) velmi dobře. I proto je zřejmé, že maso a masné výrobky představují nejvíce ohroženou komoditu, co se týče možného výskytu reziduí VLP.

3.3.1 Definice pojmů antimikrobikum a antibiotikum

Jednou ze skupin detekovaných veterinárních léčiv byla i antimikrobika, kterým bude v této práci věnována zvýšená pozornost nejen kvůli častému výskytu v mase a masných výrobcích, ale i z důvodu problematiky narůstající rezistence bakterií k těmto léčivům (WHO 2017).

Antimikrobikum je definováno jako chemická látka přírodního, polosyntetického či syntetického charakteru (někdy též nazývaná jako chemoterapeutika), která zabíjí nebo potlačuje růst mikroorganismů, jako jsou bakterie, viry, prvoci a houby (Pokludová et al. 2016; UNEP 2017).

Pojmem antibiotikum se označuje léčivo, která má stejné účinky jako antimikrobikum. Na rozdíl od antimikrobiálních léčiv však antibiotika představují látky, které jsou přirozeně produkovány bakteriemi nebo houbami (UNEP 2017).

Díky této skutečnosti, totiž podobnosti mezi oběma skupinami léčiv, dochází často k vzájemné záměně obou termínů. Pokud se tedy mluví obecně o antibiotikách, míní se tím ve většině případů všechna antimikrobiální léčiva (Lochmann 1999). S touto skutečností se lze setkat např. u Národního antibiotického programu, který rovněž zahrnuje všechny antimikrobiální látky.

Pro správnost je tedy v práci nadále uváděn pojem antimikrobikum, nezávisle na tom, zda se jedná o látku přírodního, polosyntetického nebo syntetického původu.

3.4 Působení reziduí veterinárních antimikrobik na lidské zdraví

Vedle negativního působení reziduí veterinárních antimikrobik na samotnou potravinu (jako je třeba negativní ovlivnění jejích technologických vlastností), zůstává hlavním problémem samotná konzumace potravin kontaminovaných těmito rezidui. Důvodem je existence mnoha rizik pro lidské zdraví (Beyene 2015). Mezi nejčastější symptomy patří alergické reakce nebo narušení střevního mikrobiomu (Botsoglou & Fletouris 2001). Kromě zmíněných nežádoucích vlastností se ve spojitosti s výskytem veterinárních antimikrobik

v potravinách mluví o možném riziku šíření rezistence mikrobů k antimikrobikům, jak bude zmíněno dále (Beyene 2015).

Na druhou stranu řada studií (Khan et al. 2016; Vivienne et al. 2018) prokazuje, že je možné do určité míry zredukovat množství reziduí různých druhů antimikrobik v mase, a sice tepelnou úpravou. Například Khan et al. (2016) analyzovali kuřecí maso, které bylo vystaveno různým tepelným úpravám. Sledovalo se, která z nich bude mít největší vliv na snížení koncentrace reziduí různých chinolonových a tetracyklinových antimikrobik v mase. Nejvýrazněji se podařilo zredukovat množství reziduí u těchto antimikrobik pečením, až o 69 %. Druhou nejúčinnější úpravu představovalo vaření, kdy se množství reziduí antimikrobik v mase snížilo o 68 %. Naopak nejméně účinné bylo grilování masa, kdy ubylo pouze 33 % reziduí (Khan et al. 2016). Studie Vivienne et al. (2018) se zabývala přítomností oxytetracyklinu v mase brojlerů a dospěla při různých záhřevech masa k podobným výsledkům. Navíc bylo testováno i mražení kontaminovaného masa, které ovšem na koncentraci antimikrobika ve zkoumaném vzorku nemělo žádný efekt (Vivienne et al. 2018).

Nicméně i přes tepelnou úpravu masa nemusí být vždy množství antimikrobiálního léčiva sníženo až na povolený limit pro dané antimikrobikum, pokud nějaký existuje (Vivienne et al. 2018). Navíc v některých případech může negativně ovlivnit lidské zdraví i kontaminace potravy menším množstvím, než jaké udává MRL (EMA 2008).

3.4.1 Hypersenzitivita

K alergickým reakcím dochází zejména u osob senzibilizovaných k určitému druhu antimikrobika. Například velmi častá je alergie na penicilin, kterou dnes trpí 10 % lidské populace (Botsoglou & Fletouris 2001). Evropská léková agentura (EMA 2008) uvádí, že už 6 µg penicilinu dokáže vyvolat u alergických osob reakci. Toto množství lze nalézt např. ve 120 g masa, pokud by bylo dosaženo MRL pro penicilin ve svalovině, jenž činí 50 µg/kg (viz tabulka 1).

Dalšími hojně zastoupenými alergeny ze skupin antimikrobiálních léčiv jsou sulfonamidy s třináctiprocentním zastoupením alergiků v populaci a tetracykliny s pěti procenty (Botsoglou & Fletouris 2001).

3.4.2 Narušení střevního mikrobiomu

Střevní mikrobiom u člověka hraje důležitou roli pro zachování lidského zdraví (Jeong et al. 2010). Mezi jeho hlavní funkce patří fermentace (pomocí bakterií rodu *Bacteroides*, *Roseburia*, *Bifidobacterium*, *Fecalibacterium* a *Enterobacteria*) nestrávených organických

látek z potravy, např. celulózy, na krátké řetězce mastných kyselin, které pak mohou být využity jako zdroj energie (Jandhyala et al. 2015).

Ve střevním mikrobiomu také dochází k syntéze vitamínu K a několika vitamínů ze skupiny B. Dále bylo prokázáno, že bakterie rodu *Bacteroides* syntetizují konjugovanou kyselinu linolovou (CLA), která je známá pro své antidiabetické, antiaterogenní a hypolipidemické vlastnosti (Jandhyala et al. 2015).

Chronický příjem reziduí antimikrobik často vede k narušení rovnováhy střevního mikrobiomu a zároveň k oslabení stimulace jeho bariérové funkce, která chrání lidský organismus před proniknutím patogenních mikrobů ze slizničního povrchu střeva do vnitřního prostředí organismu (Guarner & Malagelada 2003). Lidský organismus se tak stává náchylnějším ke vzniku infekcí (Nisha 2008). Navíc pro střevní mikrobiom může opakovaný příjem reziduí antimikrobik znamenat podnět ke vzniku rezistence (Singh et al. 2014).

3.4.3 Další negativní účinky na lidské zdraví

Mezi další – méně pravděpodobné – avšak hypoteticky možné nežádoucí účinky při příjmu reziduí antimikrobik v potravinách patří negativní vliv na reprodukci nebo narušení vývoje plodu v průběhu těhotenství (Singh et al. 2014). Dále jsou známy toxické účinky chloramfenikolu na kostní dřeň (Bacanli & Başaran 2019), karcinogenní účinky, např. při dlouhodobém užívání reziduí sulfamethazinu či oxytetracyklinu (Okocha et al. 2018), onemocnění ledvin a poškození jater (Nisha 2008).

3.4.4 Negativní vliv přítomnosti reziduí antimikrobik na kvalitu masa

Přítomnost veterinárních antimikrobik může mít vliv i na samotnou potravinu. Konkrétně u masa dochází k nadprodukcí pojivové tkáně a zvýšení nerozpustné frakce intramuskulárního kolagenu. Kvůli těmto vlastnostem se maso stává tvrdším (Shankar et al. 2010). Rezidua antimikrobiálních léčiv mohou v mase negativně ovlivnit i jeho technologické vlastnosti, zejména pak narušují fermentační procesy masa (Shareef et al. 2009).

3.5 Hodnocení bezpečnosti reziduí veterinárních antimikrobik v potravinách

Bezpečnost reziduí veterinárních antimikrobik v potravinách je určena pomocí dvou hodnot, a to přijatelného denního příjmu a maximálního limitu rezidua (Beyene 2015).

3.5.1 Přijatelný denní příjem

Přijatelný denní příjem (angl. acceptable daily intake, ADI) představuje takové množství látky, které lze požívat denně bez zdravotního rizika (Okocha et al. 2018).

Pro výpočet ADI určil Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (angl. Food and drug administration, FDA) rovnici, jejíž výsledek udává bezpečnou koncentraci pro dané léčivo a pro každou požitelnou tkáň za použití ADI, hmotnosti v kilogramech průměrné dospělé osoby (60 kg) a množství potravin v gramech za den (Beyene 2015).

Bezpečná koncentrace = $[\text{ADI } (\mu\text{g/kg/den}) \times 60 \text{ kg}] / [\text{zkonzumované množství v g/den}]$.
(Beyene 2015).

3.5.2 Maximální limit rezidua

Maximální reziduální limit (MRL) je definován dle nařízení č. 470/2009/ES jako maximální koncentrace léčiva v potravinách živočišného původu, který vzniká v důsledku používání veterinárního léčivého přípravku. MRL je tedy taková koncentrace veterinárního léčiva, která nepředstavuje pro člověka žádné toxikologické riziko vyjádřené na základě přijatelného denního příjmu.

Dle nařízení č. 470/2009/ES je v zájmu ochrany veřejného zdraví, aby maximální limity reziduí byly stanoveny v souladu s obecně uznávanými zásadami hodnocení bezpečnosti a s přihlédnutím k toxikologickým rizikům a k mikrobiologickým a farmakologickým účinkům reziduí.

Pojem maximální limit je poměrně novodobou záležitostí. Dokazuje to názor, který převládal v polovině minulého století – že by se v potravinách neměla vyskytovat žádná potenciálně škodlivá rezidua veterinárních léčiv. Jak se uvádí v nařízení č. 470/2009/ES s ohledem na tehdejší stav vědeckého poznání a technického pokroku je nutno dodat, že v této době bylo možné sledovat rezidua pouze v jednotkách $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

V současné době se díky vědeckému a technickému pokroku možnosti detekce reziduí výrazně zvýšily, tudíž dnešní metody a technické vybavení umožňují v řadě případů stanovení reziduí řádově v jednotkách $\text{pg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

3.5.2.1 Rozdělení farmakologicky účinných látek dle maximálních limitů reziduí

Farmakologicky účinné látky se rozdělují podle nařízení č. 37/2010/ES na čtyři podskupiny podle toho, zda je pro danou účinnou látku stanoven maximální limit rezidua či nikoliv. MRL se ve většině případů uvádí v jednotkách $\mu\text{g.kg}^{-1}$, v některých případech i v mg.kg^{-1} . Úplný seznam farmakologicky účinných látek je uveden v již zmíněném nařízení č. 37/2010/ES.

Rezidua jsou látky:

1. toxikologicky významné, u kterých se uvádí MRL – v této skupině jsou zahrnuty antiinfekční látky, jako jsou antibiotika a chemoterapeutika (souhrnně antimikrobika), dále antiparazitika, látky s účinky na nervový systém (např. anestetika nebo neuroleptika), protizánětlivé nesteroidní látky, kortikoidy a látky působící na reprodukční systém,
2. bezpečné, u kterých není stanoven MRL – tuto skupinu zastupují anorganické látky (např. chloridy, sírany nebo fosfáty) dále organické látky (např. alkoholy), dále léčivé rostliny, tinktury a homeopatika a další látky, které jsou všeobecně považovány za bezpečné pro daný způsob užití na základě dostatečných vědeckých důkazů,
3. s dočasnou platností MRL v EU – dočasný limit se stane konečným po jeho vyhlášení ve směrnici ES, do té doby totiž není přijato rozhodnutí ES o začlenění dané látky do skupiny 1 či 2 v tomto rozdělení (to nyní platí např. pro isofluran),
4. nebezpečné, které je zakázáno používat, jelikož jejich rezidua představují v jakémkoli množství riziko pro lidské zdraví – jsou to např. chloramfenikol, metronidazol či ronidazol.

4 Metabolismus veterinárních antimikrobik v těle zvířat

V potravinách živočišného původu nejsou přítomna rezidua veterinárních antimikrobik pouze v původní podobě, tj. tak jak byla zvířatům podána. Rezidua antimikrobik se v těchto produktech mohou objevovat ve více formách, a to buď jako původní nemetabolizovaná antimikrobika, nebo jejich metabolity (Botsoglou & Fletouris 2001). V tomto ohledu záleží na druhu použitého antimikrobika při léčbě zvířat, protože některá z nich se v organismu zvířete metabolizují efektivněji (např. sulfonamidy) a jsou tak rychleji vyloučena. Naproti tomu jiná antimikrobika nejsou metabolizována vůbec (např. aminoglykosidy), a proto zůstávají v organismu zvířete i po delší dobu vysazení a fakticky se stávají součástí potravinového řetězce (Singh et al. 2014).

V následující tabulce (Tabulka 1) je patrný rozdíl v MRL u různých kategorií antimikrobik mezi vnitřnostmi a svalovinou (pokud se nejedná o zakázané látky). Vyšší tolerovaná hranice MRL ve vnitřnostech oproti MRL u svaloviny reflektuje metabolismus antimikrobik v organismu zvířete.

Tabulka 1: Přehled MRL vybraných antimikrobik ve svalovině, tuku a vnitřnostech různých druhů zvířat určených k produkci potravin (převzato: nařízení Komise č. 37/2010/ES)

Pozn.: označení *všechny** představuje vnitřnosti, svalovinu a tuk získané ze všech druhů zvířat určených pro produkci potravin.

Antimikrobikum	Svalovina	MRL ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			Druh zvířete
		Tuk	Játra	Ledviny	
Penicilin	50	50	50	50	všechny*
Streptomycin	500	500	500	1000	všichni přežvýkavci, prasata, králíci
Kolistin	150	150	150	200	všechny*
Kyselina oxolinová	100	50	150	150	všechny*
Erytromycin	200	200	200	200	všechny*
Sulfadiazin	100	100	100	100	všechny*
Linkomycin	100	50	500	1500	všechny*
Doxycyklin	100	300	300	600	všechny*

Účinek léčiva na organismus závisí na vzájemném působení léčiva a organismu. Organismus může různými mechanismy ovlivňovat jeho absorpci, distribuci či eliminaci. V důsledku těchto procesů dochází ke koncentraci léčiva v místě cílových struktur specifického působení antimikrobika (antimikrobika mohou působit i nespecifickým účinkem, např. polymyxiny, ale většina těchto léčiv působí účinkem specifickým), přičemž koncentrace závisí mj. na velikosti dávky podaného léčiva (Lincová 2007).

4.1 Absorpce léčiva

Metabolismus veterinárního antimikrobika v těle zvířete lze popsat následovně. Po podání medikamentu dochází nejprve k jeho absorpci. Ta je ovlivněna mnoha faktory, jako jsou např. fyzikálně-chemické činitele, které mají vliv na transport přes membrány.

Rovněž závisí na rozpustnosti léčiva, jelikož léčiva podávaná ve vodním roztoku jsou absorbována mnohem rychleji než ta, která jsou podávána v olejovém roztoku, popř. v pevné lékové formě (Lincová 2007).

Absorpci léčiva definujeme jako biologickou dostupnost léčiva, která je popsána coby procento dávky léčivého přípravku, jež se dostane do krevního oběhu. Medikament může být podáván zvířeti více způsoby, ovšem nejčastějšími jsou metody intravenózní a perorální. Přitom platí, že při podání léčiva perorálním způsobem nemusí vždy dojít k dostatečné absorpci; výjimku tvoří např. fluorochinolony nebo tetracykliny (Levison & Levison 2009).

4.2 Distribuce léčiva

Po absorbování antimikrobika dochází k jeho distribuci do jednotlivých částí těla. Distribuce je proces, při kterém lék přechází z prostoru intravaskulární tekutiny do extravaskulárního prostoru. Nejlépe je tento děj popsán tzv. distribučním objemem léčiva. Distribuční objem představuje objem tělesných tekutin, v nichž je rozpuštěná dávka léčiva. Jde tedy o důležitý faktor pro určení koncentrace léčivého přípravku ve tkáni (Levison & Levison 2009).

4.3 Eliminace léčiva

V poslední fázi dochází k eliminaci antimikrobika z organismu, která je charakterizována jako biotransformace a exkrece. Biotransformace neboli metabolizace představuje proces,

při kterém se lipofilní látky pomocí enzymů mění na látky hydrofilnější, které jsou z organismu lépe vylučovány (Zamoner et al. 2016).

Eliminace bývá popisována dvěma parametry, tzv. clearancí a eliminačním (nebo také biologickým) poločasem. Clearance představuje teoretický objem plazmy prostý daného léčiva za jednotku času. Biologickým poločasem ($t_{1/2}$) se rozumí interval potřebný k poklesu koncentrace daného léčiva v krevní plazmě na polovinu počáteční hodnoty. Těchto hodnot se v praxi využívá především pro určení dávky antimikrobika (Lees & Toutain 2012).

Při biotransformaci může docházet ke dvěma rozdílným přeměnám léčiva. Zaprvé je to biodeaktivace, při které nemá nově vytvořený metabolit léčiva žádný farmakologický účinek. Zadruhé může docházet k bioaktivaci, při níž vzniká z léčiva metabolit s farmakologickým účinkem, přičemž tento účinek může být i toxický (Levison & Levison 2009).

4.4 Exkrece léčiva

Posledním krokem působení léčiva v organismu je jeho exkrece, při níž je léčivo vylučováno buď v nezměněné formě, nebo jako metabolity. Jak již bylo uvedeno, polární sloučeniny se vylučují exkrečními látkami mnohem lépe, než lipofilní látky (Botsoglou & Fletouris 2001).

Nejvýznamnějším exkrečním orgánem jsou ledviny, v nichž dochází ke glomerulární filtraci. Tento proces charakterizují póry v glomerulech o velmi malém průměru, v jednotkách nanometrů. Těmi mohou procházet pouze volné účinné látky, nevázané na plazmatické proteiny (Botsoglou & Fletouris 2001). Zbytek léčiva včetně jeho metabolitů je pak krví zanesen do peritubulárních kapilár proximálního tubulu nefronu. Z tubulů může být poté transportován do moči aktivním transportem – tubulární sekrecí (Martínková 2018).

Antimikrobiální léčiva se mohou vylučovat také pomocí žluče a stolice. V játrech se tvoří mnoho metabolitů léčiv; ty následně přechází do žluče, která poté pomocí *ductus hepaticus* a *ductus choledochus* přechází do dvanáctníku (Dostálek 2006).

V tenkém střevě může docházet k reabsorpci těchto metabolitů do krve (a tedy následnému vyloučení močí), nebo mohou setrvat ve střevech a být vyloučeny stolicí (Lincová 2007).

Dalším exkrečním orgánem jsou plíce, které jsou kromě běžně vydechovaných plynů (CO_2 či N_2O) schopné vydechovat také některá léčiva, především jde o inhalační anestetika, např. isofluran (Dostálek 2006).

A konečně, léčiva mohou být vylučována také určitými žlázami, např. potními či mléčnými. U mléčné žlázy existuje potenciální riziko přenosu léčiv do mléka (Ito & Lee 2003).

5 Základní rozdělení antimikrobik

5.1.1 Rozdělení antimikrobik podle typu účinku

Existuje mnoho způsobů, jak lze rozdělovat antimikrobiální léčiva. Jedním z nich je kategorizace podle mechanismu účinku antimikrobik. Rozčlenění těchto léčiv je posuzováno z hlediska jejich primárního efektu, při němž dochází k zasažení mechanismu, jenž je nezbytný pro růst a množení bakterií (Kohanski et al. 2010a).

Podle mechanismu účinku antimikrobik se tedy rozlišují za prvé antimikrobika primárně bakteriostatická, která pouze brání růstu a množení bakterií; řadíme sem například chloramfenikol nebo tetracyklinová antimikrobika (Kohanski et al. 2010b). Za druhé to jsou primárně bakteriocidní antimikrobika, která rovnou ničí bakterie, např. peniciliny a aminoglykosidy (Lochmann 1999).

Dále se také zohledňuje sekundární efekt, který je specifický pro bakteriostatická antimikrobika. Při tomto efektu dochází k ovlivnění více mechanismů, které mají schopnost nejen utlumit růst bakterií, ale dokonce bakterii zničit (Lochmann 1999). K sekundárnímu efektu dochází při příjmu vyšší koncentrace, než je tzv. inhibiční koncentrace daného antimikrobika (angl. minimum inhibitory concentration, MIC). MIC představuje jednu z farmakodynamických vlastností antimikrobika a stanovuje spodní hranici nutnou pro zastavení růstu bakterie (Martínková 2018). Ve výsledku tedy mají bakteriostatická antimikrobika schopnost působit i bakteriocidním účinkem (Lochmann 1999).

5.1.2 Rozdělení antimikrobik podle vztahu farmakokinetiky a farmakodynamiky

Antimikrobika lze třídit podle vztahu farmakokinetiky (vstřebávání léčiv v organismu) a farmakodynamiky (mechanismus účinku léčiv) na:

1. látky s účinkem závislým na čase, jejichž cílem je zajištění co nejdélejší doby, po kterou je bakterie exponována účinné koncentraci antimikrobika,
2. látky s účinkem závislým na koncentraci, jejichž cílem je dosažení maximální koncentrace antimikrobika, která je ještě bezpečná pro léčený makroorganismus (Lochmannová 2004).

5.1.3 Rozdělení antimikrobik podle fyzikálně-chemických vlastností

Podle svých fyzikálně-chemických vlastností (mj. se k nim řadí např. rozpustnost antimikrobik ve vodě či tucích) se antimikrobika mohou dělit na hydrofilní (beta-laktamy,

aminoglykosidy a glykopeptidy) a lipofilní (fluorochinolony, makrolidy, tetracykliny a další). Toto rozdělení je důležité z hlediska jejich prostupnosti do bakteriální buňky (Roberts & Lipman 2009).

Hydrofilní antimikrobika nejsou schopna procházet cytoplazmatickými membránami eukaryotických buněk, jejich distribuce tedy probíhá pouze pomocí krevní plazmy a ve většině případů jsou eliminována renálně v nezměněné formě (tj. nejsou metabolizována). Lipofilní antimikrobika naopak volně procházejí membránou eukaryotických buněk, jejich distribuce tedy probíhá v intracelulárním prostoru tkání (Jindrák et al. 2014).

Od fyzikálně-chemických vlastností antimikrobik se odvíjí i jejich účinek na různé druhy bakterií. Z tohoto hlediska je klíčová klasifikace bakterií podle stavby jejich buněčné stěny. Hydrofilní antimikrobikum totiž nepronikne přes zevní fosfolipidovou cytoplazmatickou membránu u gramnegativních bakterií (G-). Naproti tomu existují i grampozitivní bakterie (G+), které touto membránou nedisponují. Obecně lze proto konstatovat, že vytvoření rezistence k antimikrobikům je jednodušší pro G- bakterie, a to v důsledku vyšší odolnosti vůči těmto léčivům (Spížek 1999).

5.1.4 Rozdělení antimikrobik podle spektra účinnosti

Dalším možným východiskem kategorizace antimikrobiálních léčiv je spektrum jejich účinku. Zde rozlišujeme tři základní typy. Jsou to antimikrobika:

1. úzkospektrá, která působí jen na některé druhy bakterií, např. oxacilin působící pouze na stafylokoky,
2. středněspektrá, která účinkují na G+ bakterie, např. aminoglykosidy,
3. širokospektrá, která účinkují proti G+ i G- bakteriím a zároveň jsou dne nejvíce využívána, např. tetracykliny (Jindrák et al. 2014).

5.1.5 Rozdělení antimikrobik podle místa a mechanismu působení

5.1.5.1 Inhibice syntézy buněčné stěny

Buněčná stěna je nezbytná pro přežití bakterie z mnoha důvodů, jako jsou např. zachování tvaru bakterie či udržení stálého intracelulárního prostředí. Buněčná stěna bakterií je z velké části tvořena peptidoglykanem mureinem, jehož součástí je mj. kyselina glutamová. Právě začlenění této kyseliny představuje poslední fázi syntézy mureinu. Tomuto kroku zabraňují např. beta-laktamová antimikrobika (peniciliny, cefalosporiny). Bakterie s takto narušenou

stěnou jsou pak zlikvidovány imunitními buňkami hostitele nebo dochází přímo k jejich rozpadu (Kohanski et al. 2010b).

5.1.5.2 Narušení syntézy cytoplazmatické membrány

Cytoplazmatická membrána tvoří především osmotickou bariéru buňky. Dále umožňuje transport látek potřebných pro přežití bakterie. Při narušení této membrány dochází k omezení její propustnosti, tím se destabilizuje iontová rovnováha a dochází k zániku bakteriální buňky. Příkladem antimikrobik, která poškozují cytoplazmatickou membránu, jsou např. polymyxiny (Lochmann 1999).

5.1.5.3 Inhibice syntézy bakteriálních proteinů

Antimikrobika, která využívají mechanismus inhibice syntézy proteinů se vážou na bakteriální ribozomální podjednotku a tím inhibují bakteriální proteosyntézu. Tento mechanismus působení antimikrobik funguje na principu zablokování přístupu aminokyselin k ribozomům, kde tak nedochází k jejich spojování. Pracují takto např. tetracykliny nebo makrolidová antimikrobika (Kohanski et al. 2010b).

5.1.5.4 Inhibice syntézy nukleových kyselin

Působení antimikrobik využívající inhibice syntézy nukleových kyselin spočívá např. v zabránění produkci kyseliny listové, která je u bakterií potřebná k syntéze nukleotidů. Takovýmto způsobem působí např. sulfonamidy (Lochmann 1999).

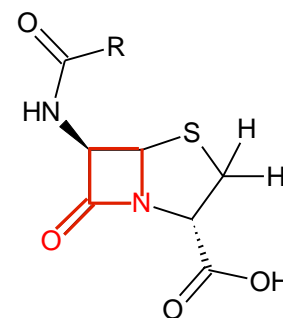
5.1.6 Rozdělení antimikrobik podle chemické struktury

Z medicínského hlediska se při léčbě bakteriálních infekcí nejčastěji používá klasifikace antimikrobiálních léčiv podle jejich chemické příbuznosti, protože antimikrobika s podobným chemickým složením mívají např. obdobné spektrum účinnosti k bakteriím, stejný mechanismus účinku či shodné nežádoucí účinky (Lochmann 1999).

Dle Cháfer-Pericase (2010) jsou ve veterinární medicíně nejčastěji používána následující antimikrobika.

1. Beta-laktamová antimikrobika

Beta-laktamová antimikrobika jsou nejčastěji užívanými antimikrobiky v praxi. Mají ve strukturálním jádru čtyřčlenný beta-laktamový kruh (viz obrázek 1, zvýrazněná část vzorce na obrázku). Beta-laktamový kruh je důležitý z hlediska inaktivace těchto antimikrobik. Ta je způsobena produkcí hydrolytických enzymů beta-laktamázy, které narušují amidovou vazbu v beta-laktamovém kruhu.



Obrázek 1: Penicilin

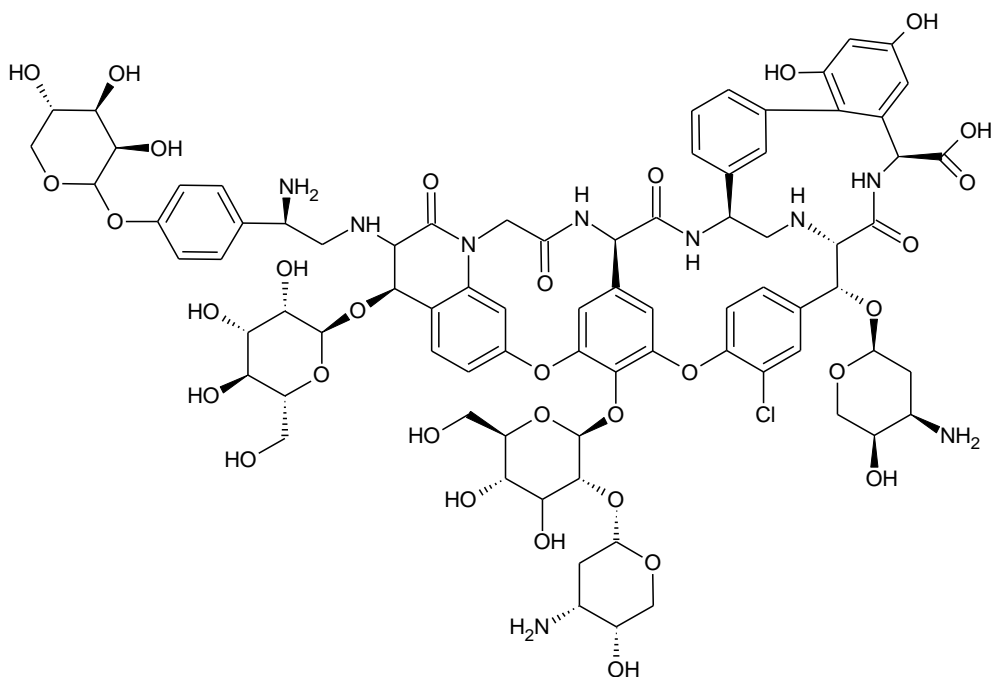
Funkce těchto antimikrobik spočívá v navázání na cílové enzymy, které se účastní výstavby stěny bakteriálních buněk, využívají tedy již zmíněný mechanismus inhibice buněčné stěny bakterií.

Beta-laktamová antimikrobika se obvykle rozdělují do čtyř hlavních skupin; jsou to peniciliny, cefalosporiny, karbapenemy a monobaktamy. Skupina cefalosporinů se pak dále dělí do čtyř generací podle svých vlastností, jako jsou např.: antimikrobiální spektrum, odolnost vůči beta-laktamázám nebo schopnost průniku těchto antimikrobik bakteriální buněčnou stěnou. (Lüllmann et al. 2002).

2. Glykopeptidová antimikrobika

Jako glykopeptidová antimikrobika označujeme sloučeniny obsahující aminokyseliny, které jsou kovaletně vázány na sacharidovou složku (Botsoglou & Fletouris 2001).

Glykopeptidy se řadí mezi baktericidní antimikrobika. Účinkují pouze na G⁺ bakterie pomocí inhibice buněčné stěny bakterií. V současné době se ve veterinární medicíně nepoužívá žádný zástupce z této skupiny léčiv. Dříve se používal avoparcin (viz Obr. 2) jako růstový stimulant, ten byl ale zakázán z důvodu obav ze zkřížené rezistence, což je schopnost bakterií si získat rezistenci k chemicky podobným látkám, jak bude popsáno dále (Spížek 2007).

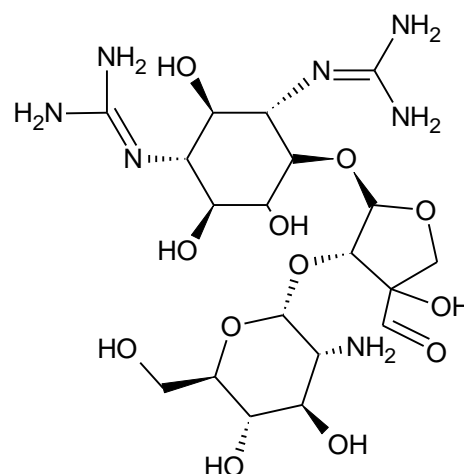


Obrázek 2: Avoparcin

3. Aminoglykosidy

Základní strukturou těchto antimikrobik bývá složení dvou a více sacharidů, většinou aminosacharidů (Botsoglou & Fletouris 2001).

Aminoglykosidy patří mezi širokospektrá antimikrobika s rychlým baktericidním účinkem především na G- bakterie, z kategorie G+ působí pouze na stafylokoky. Mechanismem účinku těchto antimikrobik je inhibice proteosyntézy v bakteriích. Spadá sem např. streptomycin (viz Obr. 3).

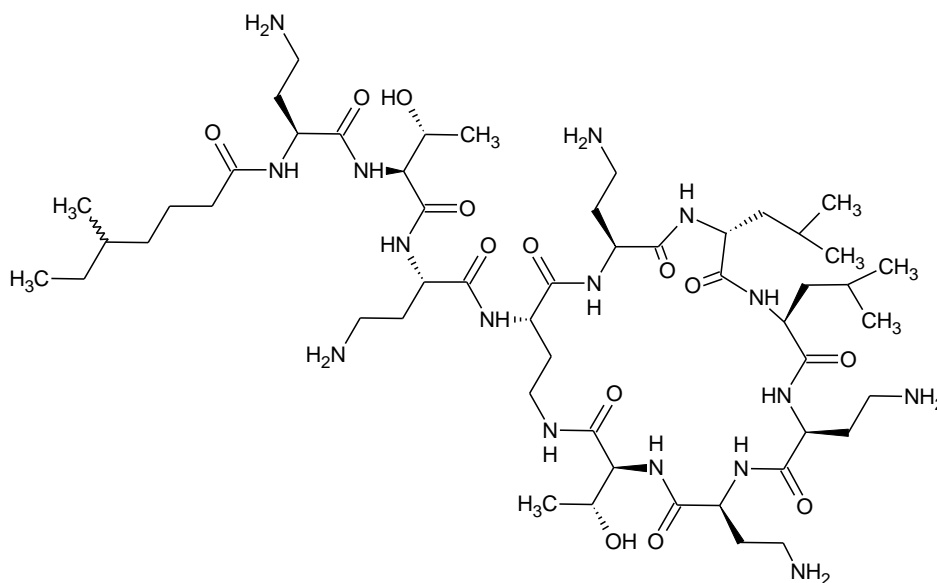


Obrázek 3: Streptomycin

4. Polymyxinová antimikrobika

Základní strukturou polymyxinových antimikrobik představuje cyklický peptid s postranním řetězcem (Botsoglou & Fletouris 2001).

Tato antimikrobika se dělí na dvě skupiny, a to na polymyxiny (působí na G+ bakterie) a bacitraciny (působí na G- bakterie). Jsou baktericidní a pro člověka značně toxické, zejména pro ledviny a nervový systém. Příkladem polymyxinového antimikrobika používaného ve veterinární medicíně je kolistin (viz Obr. 4).



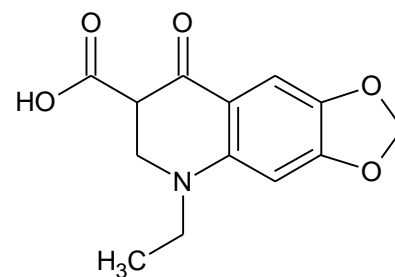
Obrázek 4: Kolistin

5. Chinolony

Chinolony jsou tvořeny převážně heterocyklickými dusíkatými karboxylovými kyselinami (Botsoglou & Fletouris 2001).

Tato antimikrobika jsou primárně baktericidní. Mechanismus účinku chinolonů je inhibice syntézy DNA zablokováním gyrázy (tj. enzymu zodpovědného za správné splétání a rozplétání řetězců bakteriální nukleové kyseliny). Jsou účinné proti G⁺ kokům, anaerobním bakteriím, velmi dobrou účinnost mají také proti enterobakteriím a G⁻ kokům.

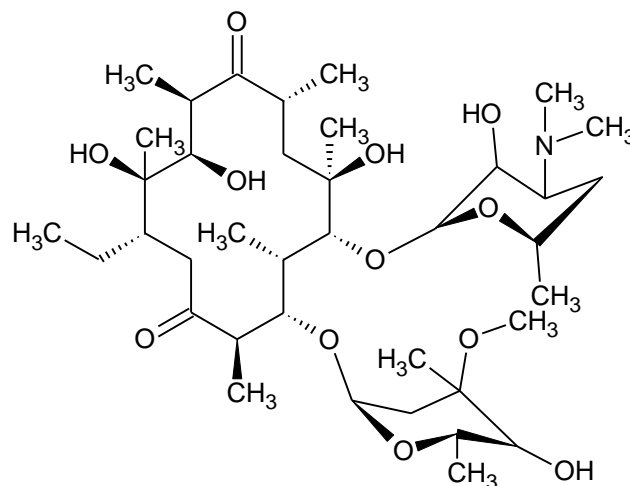
Patří sem i fluorochinolony, což je druhá generace těchto antimikrobik. Hlavní rozdíl mezi klasickými chinolony a fluorochinolony je, že fluorochinolony navíc obsahují atom fluoru na třetím uhlíku, což zvyšuje aktivitu těchto antimikrobik proti G⁺ patogenům. Příkladem chinolonů je kyselina oxolinová (viz Obr. 5).



Obrázek 5: Kyselina oxolinová

6. Makrolidy

Základní strukturu makrolidových antimikrobik tvoří makrocyclické sloučeniny, které mají společný 14-, 15- nebo 16členný makrocyclický laktonový kruh spojený glykosidovou vazbou s jedním nebo více sacharidy, většinou amino-sacharidy (Botsoglou & Fletouris 2001).

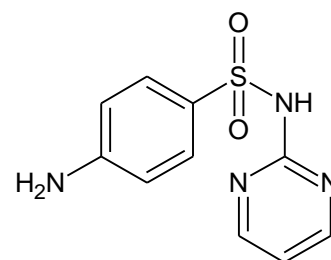


Obrázek 6: Erytromycin

Makrolidy mají široké antimikrobiální spektrum účinku a působí primárně bakteriostaticky. Mechanismus účinku spočívá v inhibici syntézy proteinů v bakteriích. Nejznámější makrolidové antimikrobikum je erytromycin (viz Obr. 6).

7. Sulfonamidy a pyrimidiny

Všechna antimikrobika ze skupiny sulfonamidových antimikrobik obsahují sulfonamidovou skupinu (Botsoglou & Fletouris 2001).



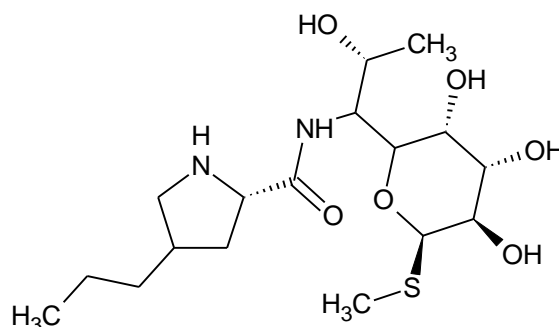
Obrázek 7: Sulfadiazin

Před rokem 2006, kdy ještě bylo povoleno podávat antimikrobika jako stimulanty růstu u zvířat, byly sulfonamidy v tomto směru hojně používány.

Tato antimikrobika působí primárně bakteriostaticky, a to inhibicí syntézy kyseliny listové. Účinkují proti G⁺ i G⁻ bakteriím. Mezi sulfonamidy se řadí např. sulfadiazin (viz Obr.7) nebo trimethoprim.

8. Linkosamidy

Linkosamidy jsou podobné makrolidům. Všechna jsou tvořena prolinem vázaným amidovou skupinou na pyranosid (Botsoglou & Fletouris 2001).



Obrázek 8: Linkomycin

Účinkují primárně bakteriostaticky proti G⁺ bakteriím. Dále se vyznačují výrazným účinkem na anaerobní bakterie.

Mechanismus působení spočívá stejně jako u makrolidů v inhibici syntézy proteinů v bakteriích. Z této skupiny jsou významnými antimikrobiky linkomycin (viz Obr. 8) a klindamycin.

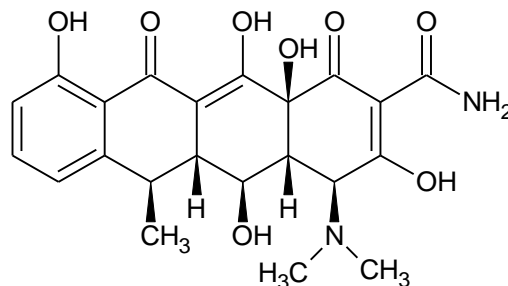
9. Tetracykliny

Všechna tetracyklinová antimikrobika obsahují čtyři lineárně sousedící cyklické uhlovodíkové sloučeniny (Botsoglou & Fletouris 2001).

Tetracykliny inhibují proteolýzu v bakteriích.

V současné době jsou kvůli vysokému výskytu

nežádoucích účinků většinou nahrazována beta-laktamovými antimikrobiky. Zástupcem této skupiny léčiv je např. doxycyklin (viz Obr. 9).

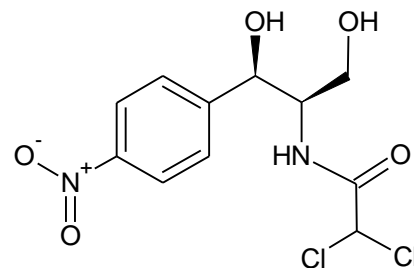


Obrázek 9: Doxycyklin

10. Amfenikoly

Skupina amfenikolových antimikrobik je typická přítomností nitrobenzenové skupiny v molekule (Botsoglou & Fletouris 2001).

Do této skupiny patří chloramfenikol (viz Obr. 10), který je znám pro své toxické účinky na krvetvorné tkáně. V dnešní době je indikován pouze tehdy, kdy nelze podat jiné méně toxické antimikrobikum. Mechanismus jeho účinku spočívá v inhibici proteosyntézy u bakterií.

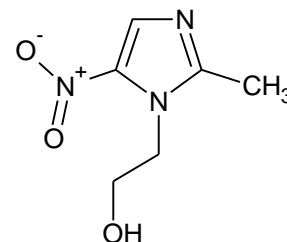


Obrázek 10: Chloramfenikol

11. Nitroimidazoly

Chemická struktura těchto antimikrobik sestává z izomerů imidazolu obsahujících jednu nitroskupinu na pátém uhlíku (Botsoglou & Fletouris 2001).

Nitroimidazoly inhibují syntézu nukleových kyselin. Účinkují na anaerobní bakterie a na protozoa. Mezi nitroimidazolová antimikrobika patří např. metronidazol (viz Obr. 11).

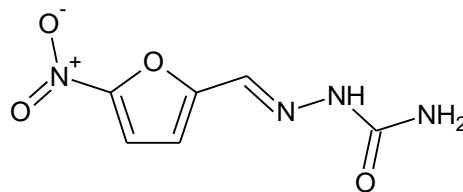


Obrázek 11: Metronidazol

12. Nitrofurany

Struktura nitrofuranových antimikrobik je charakteristická pětičlenným nitrofuranovým kruhem (Botsoglou & Fletouris 2001).

Tato antimikrobika jsou primárně bakteriocidní, fungují stejně jako nitroimidazoly, tedy inhibují syntézu nukleových kyselin u G⁺ a G⁻ bakterií. Příkladem nitrofuranů je nitrofurazon (viz Obr. 12) (Beneš 2009).



Obrázek 12: Nitrofurazon

6 Rezistence k antimikrobikům a její druhy

Rezistenci k antimikrobikům definuje Světová zdravotnická organizace (angl. World Health Organisation, WHO) jako schopnost bakteriální populace přežít účinek minimální inhibiční koncentrace příslušného antimikrobiálního léčiva (WHO 2001).

V současné době představuje bakteriální rezistence k antimikrobikům celosvětový problém z důvodu zvýšeného výskytu infekcí u člověka, které jsou vyvolány rezistentními bakteriemi (Nisha 2008).

6.1 Historie používání veterinárních antimikrobik u hospodářských zvířat

Antimikrobika se podávají hospodářským zvířatům více než půl století. Jejich prospěšnost, hlavně co se týče podpory růstu, byla objevena již ve 40. letech minulého století, konkrétně díky podávání subterapeutických dávek těchto léčiv zvířatům (Laxminarayan et al. 2013). Od té doby se používání (nejen těchto) antimikrobik v krmivech stalo celosvětovým trendem, jelikož je v souvislosti s výrobou potravin stále větší důraz kladen na intenzivní zemědělství, tj. zemědělství, ve kterém jde především o maximalizaci zisků (von Nussbaum et al. 2006).

Podávání antimikrobik zvířatům pro podporu růstu se ale začalo zpochybňovat přibližně před 30 lety, kdy se vědecká a lékařská komunita začala zajímat o to, zda je vhodné podávat antimikrobika zvířatům, která jsou určena pro produkci potravin. Hlavní otázkou byla možnost rozšíření rezistence k antimikrobikům, která se již vyskytovala u zvířat, do lidské populace (Companyó et al. 2009).

V důsledku této hypotézy vznikl experiment, jehož součástí byl zákaz veškerých antimikrobik, která podporují růst. V roce 1986 byl zaveden ve Švédsku a o dva roky později také v Dánsku. Následně bylo publikováno mnoho studií (Grave et al. 2006; Hammerum et al. 2007), kde se ve většině případů jejich autoři shodli a došli k závěru, že po vysazení preventivních dávek antimikrobik z krmiv zvířat vzrostla spotřeba těchto léčiv při jejich terapii (což mělo negativní ekonomický dopad na chovatele a farmáře). Avšak tento nárůst spotřeby opět klesl přibližně po dvou až třech letech.

Na tento krok reagovala v roce 1997 EU tzv. principem předběžné opatrnosti vydáním zákazu používání avoparcinu (glykopeptidové antimikrobikum dříve používané pro podporu růstu). Dále pak vydala nařízení č. 1831/2003/ES o doplňkových látkách používaných ve výživě zvířat, které zakazuje používání veškerých antimikrobik jakožto doplňkových látek v krmivech (mezi doplňkové látky se řadí např. zchutňovadla, barviva, ale i právě antimikrobika) kromě

kokcidiostatik a histomonostatik (podle zmíněného nařízení jsou tyto látky určeny ke zneškodnění nebo zastavení růstu prvoků). Plně v platnost vešlo nařízení až k 1. lednu 2006, jelikož se bralo v potaz postupné omezení těchto léčiv.

V současné době se tedy v rámci EU nepovolují jako krmná aditiva jiná antimikrobika, než kokcidiostatika či histomonostatika (Companyó et al. 2009). V krmivech se tak mohou antimikrobika objevovat pouze formou medikovaného krmiva k léčbě zvířat, nebo k profylaxi (tj. preventivnímu použití) či metafylaxi (tj. léčba zvířat, která nevykazují klinické příznaky onemocnění, ale jsou v kontaktu s nemocnými jedinci) (Lees & Toutain 2012). Ve všech případech se musí jednat o léčiva předepsaná veterinárním lékařem (vyhláška č. 54/2008 Sb.)

Pohotová reakce Švédska a Dánska na hypotézu o možném problému rezistence bakterií k antimikrobikům se zasloužila o to, že v těchto skandinávských státech mají dlouhodobě minimální problémy s antimikrobiální rezistencí (ECDC 2019). Zasloužil se o to nejen zmíněný program na vyloučení antimikrobik podporujících růst z krmných dávek hospodářských zvířat, ale i zavedení tzv. antibiotického programu, který dodnes zajišťuje bezpečné zacházení s antimikrobiky. Po vzoru těchto států pak začaly postupně vznikat národní antibiotické programy v jednotlivých státech. V České republice vznikl takový program v roce 2009 a bude o něm pojednáno dále.

6.2 Distribuce antimikrobiální rezistence v životním prostředí

Rezidua veterinárních antimikrobik se mohou objevovat i v životním prostředí, tj. v rostlinném materiálu, v půdě, ve vodě apod., ve třech různých formách.

První formou jsou antimikrobika, která se přirozeně vyskytují v životním prostředí díky produkci některých půdních druhů bakterií a vláknitých mikroskopických hub. Je nutné připomenout, že právě půdní mikroorganismy byly prvními zdroji antimikrobik. Některé druhy těchto mikroorganismů totiž přirozeně vytvářejí antimikrobika, jmenujme např. aktinomycety *Streptomyces venezuelae* (G+ bakterie), které produkují chloramfenikol (Berendsen et al. 2013) nebo *Streptomyces rimosus* produkující tetracyklin. Dalším příkladem může být vláknitá mikroskopická houba *Cephalosporium acremonium*, v níž má svůj původ penicilin (Nwosu 2001).

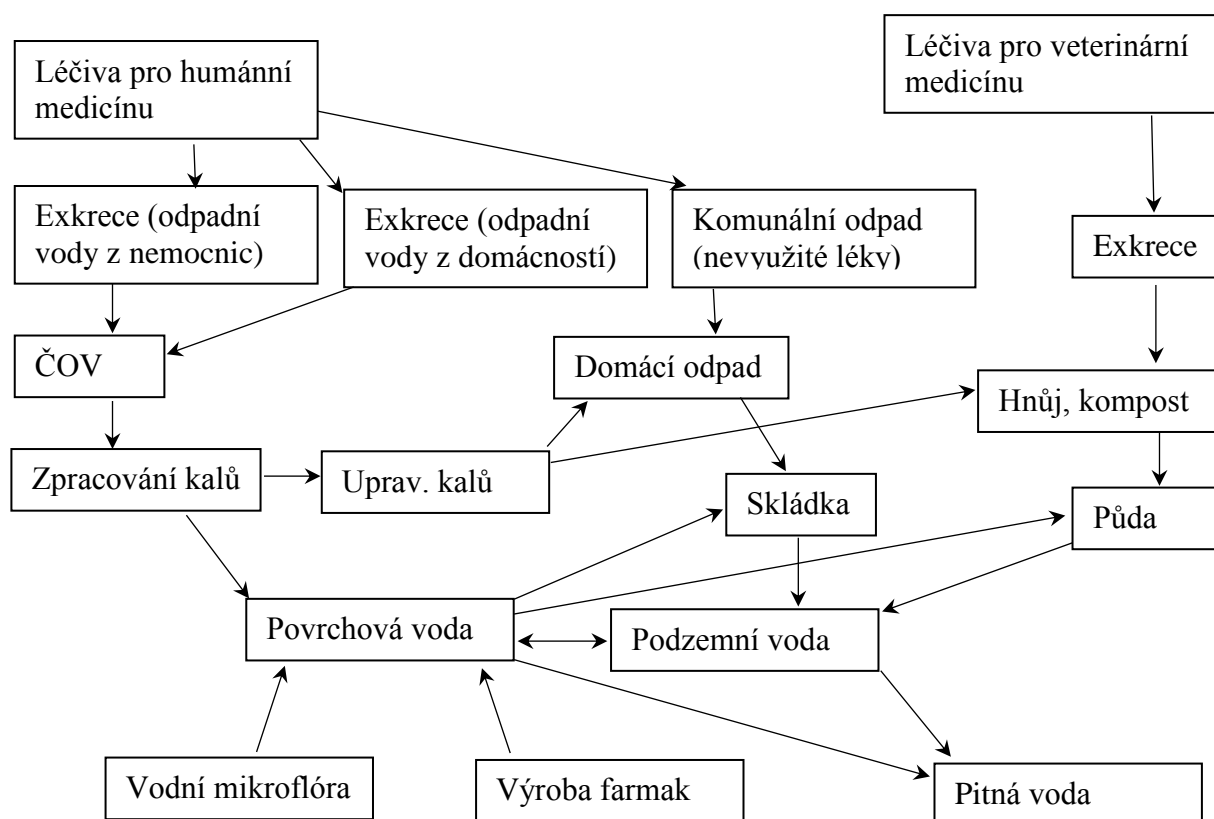
Dalším možným zdrojem antimikrobik v životním prostředí je přímé použití těchto léčiv v rostlinné produkci. Tetracykliny a aminoglykosidy (nejčastěji se jedná o streptomycin) se používají k prevenci onemocnění bakteriální spály růžovitých rostlin (Phillips et al. 2003). Tento postup ovšem neplatí pro EU, kde je používání antimikrobik v rostlinné produkci

zakázáno. V boji proti patogenním mikroorganismům se tak využívají například antagonistické kmeny bakterií (de la Cruz-Quiroz et al. 2011).

A konečně mohou antimikrobika v životním prostředí pocházet z hnoje od zvířat, kterým bylo v daném časovém úseku podáno antimikrobikum. Do půdy se tak formou moči nebo výkalů léčeného zvířete dostávají antimikrobika v nezměněné formě, či formou aktivních metabolitů (Hanna et al. 2018). Metabolity se ovšem mohou po exkreci transformovat zpět do původní podoby léčiva (Tasho & Cho 2016). Některá antibiotika se například po metabolizaci na konjugáty (jako jsou acetylované metabolity), stávají neaktivními. Při vstupu metabolitu antimikrobika do hnoje je acetylová skupina rozštěpena, čímž se může uvolnit léčivo v původní formě (Christian et al. 2003). Z půdy jsou následně absorbovány pomocí kořenů do rostlin (viz Obr. 13) nebo se vyplavují do povrchových vod (Chung et al. 2017).

K hnojení polí se také využívá čistírenský kal z čistíren odpadních vod, jenž může obsahovat rezistentní kmeny bakterií pocházející z odpadních vod z domácností, nemocnic nebo průmyslu. V čistírnách odpadních vod dochází k mísení veškeré odpadní vody, a proto jsou čistírenské kaly bohatým zdrojem rezistentních mikroorganismů. V odpadní vodě se nachází nejen rezistentní bakterie, ale také antimikrobika, která podněcují jejich selekci, tudíž dochází k rozšiřování genů rezistence mezi bakteriemi (Vittecoq et al. 2016). Při hnojení čistírenským kalem konkrétně dochází ke sdílení genů rezistence mezi bakteriemi z kalu a půdními bakteriemi. Následně tak zvyšuje počet rezistentních bakterií, které se mohou dále rozšiřovat do životního prostředí nebo na rostliny pěstované v kontaminované půdě (Su et al. 2015).

Sorpce antimikrobik kořeny rostlin závisí na fyzikálně-chemických vlastnostech těchto léčiv, typu půdy, množství organické hmoty apod. Příkladem mohou být sulfonamidy, které vykazují nejslabší půdní sorpci na kořeny rostlin a zároveň jsou nejvíce mobilními antimikrobiky v půdě. Z toho plyne, že u nich existuje vyšší riziko pro následnou kontaminaci vyplavováním do podzemních a povrchových vod a současně se zvyšuje i pravděpodobnost šíření sulfonamidů do potravního řetězce (Tasho & Cho 2016).



Obrázek 13: Distribuce antimikrobik používaných v humánní a veterinární medicíně do životního prostředí (převzato: Heberer 2002)

6.3 Multirezistentní a panrezistentní bakterie

Česká republika patří mezi evropské státy s nejvyšším výskytem tzv. multirezistentních kmenů bakterií (Jindrák et al. 2014). Právě kvůli výskytu multirezistentních či panrezistentních bakterií vznikají obtížně léčitelná onemocnění. Jako multirezistentní se označují takové kmeny bakterií, které jsou rezistentní současně ke třem a více antimikrobikům z různých skupin antimikrobiálních léčiv. Panrezistentní bakterie pak představují takové kmeny, proti nimž neúčinkuje žádné antimikrobikum (Basak et al. 2016).

Mezi světově nejrozšířenější multirezistentní bakterie (tzv. superbugs) patří skupiny patogenů jako: methicilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA, z angl. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), vankomycin-rezistentní enterokoky (VRE, z angl. vancomycin-resistant *Enterococci*) nebo rezistentní kmeny *Escherichia coli* (Khan & Siddiqui 2014).

V České republice jde především o bakterie, které způsobují tzv. nozokomiální infekce, tj. onemocnění související s pobytem v nemocnici, a to především *Pseudomonas aureginosa* a *Klebsiella pneumoniae* (Jindrák et al. 2014).

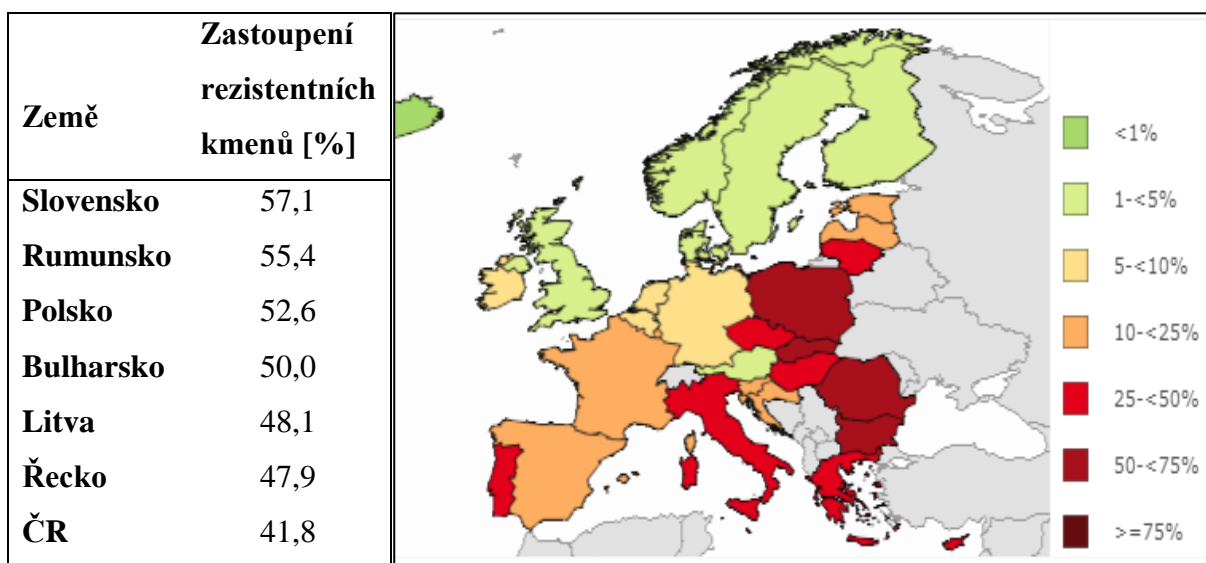
Jako příklad uvedme právě některé kmeny bakterie *Klebsiella pneumoniae* (původce nozokomiálních nákaz, včetně infekce močových cest či pneumonie), jejichž výskyt je především na Slovensku velmi vysoký, nad 57 % (viz Obr. 14). V podobné situaci je i Česká republika, která se v současné době řadí ke „špičce“ mezi Evropskými státy ve výskytu multirezistentních kmenů této bakterie. Procentuální zastoupení těchto kmenů u *Klebsielly* činí téměř 42 % (ECDC 2019). Úroveň rezistence bakterií je označována podle podílu rezistentních kmenů bakteriální populace, jak je uvedeno v Tabulce 2.

Dále je na Obr. 14 jasně zřetelné pásmo (červené odstíny) tvořené státy bývalého Sovětského svazu, které vykazuje vyšší výskyt rezistentních kmenů bakterií. Tato situace je způsobena tím, že v této oblasti byla v minulosti hojně předepisována antimikrobika (Bonnet et al. 2005).

Tabulka 2: Úroveň rezistence bakterií podle počtu jejich rezistentních kmenů (převzato: Jindrák et al. 2014)

Úroveň rezistence	Zastoupení rezistentních kmenů [%]
Vzácná	<0,1
Velmi nízká	0,1-1
Nízká	>1-10
Střední	>10-20
Vysoká	>20-50
Velmi vysoká	>50-70
Extrémně vysoká	>70

Konkrétně v případě infekcí močových cest můžeme mluvit o alarmujícím stavu bakteriální rezistence. Jedná se o běžné infekční onemocnění, jehož původcem je ve většině případů patogenní bakterie *Escherichia coli*. Běžně se pro léčbu těchto infekcí používá beta-laktamové antibiotikum amoxicilin (Alanazi et al. 2018). V současné době je úroveň antimikrobiální rezistence (viz Tabulka 2) k amoxicilinu v některých zemích až extrémně vysoká. V Bulharsku činí podíl rezistentních kmenů *Escherichia coli* k amoxicilinu 73 %, v České republice dosahuje zastoupení rezistentních kmenů této bakterie 53 % (ECDC 2019).



Obrázek 14: Situace v Evropě: Procentuální zastoupení multirezistentních kmenů bakterie *Klebsiella pneumoniae* k cefalosporinům 3. generace, fluorochinolonům a aminoglykosidům (převzato: ECDC 2019)

Neméně častým problémem, který souvisí s rezistencí k antimikrobikům je zkřížená rezistence. Ta se projevuje jako schopnost bakterií si získat rezistenci k látkám chemicky podobným těm, vůči nimž jsou již rezistentní (Lochmann 1999). Typickým příkladem jsou sulfonamidy. Pokud u bakterie dojde k rezistenci k jednomu druhu antimikrobika ze skupiny sulfonamidů, pak je bakterie rezistentní ke všem druhům z této řady (Sköld 2001).

Rezistence k antimikrobikům se dělí na přirozenou (primární) a získanou (sekundární). Obě tyto rezistence jsou geneticky podmíněné, tudíž se dědí stejným způsobem jako kterákoli jiná genetická informace (Beneš 2018).

Rozlišují se dva druhy přenosů genů mezi bakteriemi, a to klonální a horizontální. Klonální šíření přenáší genetickou informaci vertikálním způsobem, tzn. z mateřské buňky na dceřinou. Horizontální šíření spočívá v přenosu genetické informace mezi bakteriemi různých druhů či rodů (Beneš 2018).

Přenos horizontální rezistence se uskutečňuje třemi mechanismy, jimiž jsou:

- a) konjugace (děj, při kterém se přenáší genetická informace z jedné bakteriální buňky do druhé prostřednictvím specializovaného výběžku cytoplazmy, tzv. sex pilus),
- b) transdukce (při tomto ději je přenos genetické informace mezi bakteriemi uskutečňován pomocí viru čili bakteriofágem),
- c) transformace (v tomto případě mohou bakterie získávat genetickou informaci přímo z okolního prostředí, zdroji těchto informací bývají nejčastěji uhynulé bakterie, ale mohou to být i nepříbuzné druhy mikrobu) (Chaguza et al. 2015).

6.3.1 Přirozená rezistence

Vlastnost přirozené rezistence některých druhů bakterií vyplývá z jejich stavby či metabolismu. Znamená to, že celá populace bakterií je vždy rezistentní k určitému antimikrobu (Blair et al. 2014). Navíc ve většině kmenů určitého druhu existuje také rezistence k dalším antimikrobikům, např. *Enterococcus faecium* je rezistentní ke všem beta-laktamům (Beneš 2018).

6.3.2 Získaná rezistence

Získaná rezistence vzniká v průběhu dlouhodobé antimikrobiální terapie, případně jako důsledek nevhodné medikace zvířete bez předchozího vyšetření na citlivost mikrobu vůči danému antimikrobu. Ve výsledku se pak z citlivé mikrobiální populace stává populace rezistentní. Bylo popsáno celkem pět hlavních mechanismů vzniku, přičemž u některých mikroorganismů se mohou tyto mechanismy navzájem kombinovat (Beneš 2009).

6.3.2.1 Enzymatická inaktivace antimikrobika

Při tomto mechanismu dochází ke vzniku enzymů, které jsou schopny destruovat nebo modifikovat antimikrobika např. tím, že substituují jeho molekuly a činí je tak neúčinnými. Patří sem mj. různé beta-laktamázy, které štěpí jádro beta-laktamových antimikrobik (Cag et al. 2016).

6.3.2.2 Změna místa působení antimikrobika

Jedním z předpokladů účinnosti antimikrobika v buňce je přítomnost receptorového místa, na které se antimikrobikum váže. Příkladem může být modifikace enzymu PBP (z angl. penicilin-binding proteins), který za normálních okolností umožňuje tvorbu peptidoglykanu

v buněčné stěně bakterií. Při jeho modifikaci však dochází k inaktivaci beta-laktamových antimikrobik, která za normálních podmínek účinkují právě na PBP, což vede k narušení buněčné stěny a zániku bakterie. Tento mechanismus opět není vlastní pouze bakteriím, objevuje se např. i u herpetických virů (Beneš 2009).

6.3.2.3 Zábрана přístupu antimikrobika k místu cílového působení

Zábрана vstupu antimikrobika do buňky se uskutečňuje především u gramnegativních bakterií (např. rodu *Pseudomonas*) z důvodu přítomnosti dvojité membrány. Vnější membrána totiž obsahuje otvory neboli poriny, které umožňují vstup do buňky pouze některým molekulám. Změnou jejich vlastností tak může docházet k zamezení penetrace antimikrobika do buňky. Tento mechanismus se objevuje i u některých prvoků např. u *Plasmodium falciparum* na chlorochin, tj. fluorochinolinové léčivo užívané především jako antimalarikum (Beneš 2009).

6.3.2.4 Eflux

Plazmatická membrána bakterií obsahuje řadu proteinových kanálů, které se podílejí na přenosu velkého množství živin (cukrů, aminokyselin, solí atd.) nebo škodlivých sloučenin (metabolitů, léků, biocidů atd.). Mezi těmito proteiny se nachází i efluxní pumpy, které rozpoznávají pro buňku toxické látky, jako jsou antimikrobika a následně je vytlačují aktivním transportem z cytoplazmy do vnějšího prostředí buňky. Tím se snižuje intracelulární koncentrace daného léčiva v bakteriální buňce, a tedy i jeho účinnost (Mahamoud et al. 2007).

6.3.2.5 Zapojení alternativní metabolické dráhy

Typickým příkladem antimikrobik, jichž se týká uváděný mechanismus rezistence, jsou sulfonamidy a trimethoprim. Tato skupina antimikrobik blokuje syntézu kyseliny listové, která u bakterií působí jako růstový faktor (Lüllmann et al. 2002). Rezistentní bakterie však využívají alternativní metabolickou dráhu, čímž blokovanou část syntézy obejdou (Beneš 2009).

7 Organizace zajišťující bezpečnost potravin v rámci výskytu reziduí veterinárních antimikrobik

Monitoring reziduí antimikrobiálních léčiv v potravinách je v České republice prováděn odborníky z dozorových organizací Ministerstva zemědělství. Získané údaje se pak prezentují na jednání Stálého výboru pro potravinový řetězec a zdraví zvířat (angl. Standing Committee on the Food Chain and Animal Health, SCFCAH), který spadá pod řídicí výbory Evropské komise (Pisanello 2014).

Kontrola bezpečnosti potravin se provádí v souladu s Codex Alimentarius, což je sbírka mezinárodně uznávaných standardů, směrnic a doporučení, vztahujících se k bezpečnosti potravin. Sbíрка byla vypracována v roce 1963 organizacemi FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations; Organizací pro potraviny a zemědělství při Spojených národech) a WHO. Hlavním účelem Codexu je ochrana zdraví konzumenta a ochrana spotřebitele, např. zajištění čestných praktik v mezinárodním obchodu, (Codex Alimentarius 2018).

7.1 Legislativa uplatňující se v ČR v problematice bezpečnosti potravin

V České republice, stejně jako v ostatních členských státech Evropské unie platí národní právní předpisy (především zákony, vyhlášky, nařízení vlády). Současně s nimi existuje legislativa EU, která je té národní nadřazena.

7.1.1 Legislativa v rámci Evropské unie

Součástí legislativy, podle níž se mj. řídí bezpečnost a kvalita potravin v Evropské unii, tvoří výše popsany Codex Alimentarius. Základní sbírkou předpisů EU pak je Úřední věstník EU (angl. Official Journal of European Union).

Za nejdůležitější předpis v oblasti potravinového práva lze pokládat Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002, kterým se stanovují obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanovují se postupy týkající se bezpečnosti potravin. V souladu s tímto rámcovým právním předpisem, pokrývajícím kompletní potravinový řetězec, jsou poté přijímány právní předpisy upravující dílčí oblasti potravinového práva.

Česká republika se po svém vstupu do EU podílí na tvorbě a harmonizaci právních předpisů Unie. Legislativními orgány EU spravujícími tyto předpisy jsou Evropská komise, Rada EU a Evropský parlament.

7.2 Dozorové orgány

Dozorové orgány vznikly mj. za účelem kontroly bezpečnosti potravin v České republice. Tyto složky jsou přímo podřízené Ministerstvu zemědělství. Pouze některé z nich však přímo souvisí s monitoringem reziduí veterinárních antimikrobik (viz níže).

7.2.1 Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI)

SZPI je organizační složka státu, jejímž úkolem je dozor nad bezpečností, jakostí a řádným označováním potravin. Její činnost spočívá v kontrole fyzických a právnických osob, které uvádějí do oběhu zemědělské výrobky, potraviny nebo suroviny k jejich výrobě a tabákové výrobky. SZPI byla zřízena zákonem č. 146/2002 Sb., o Státní zemědělské a potravinářské inspekci a o změně některých souvisejících zákonů. Pojetí a realizace kontroly dle zmíněného zákona SZPI odpovídá principům kontroly potravin v Evropské unii.

7.2.2 Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL)

ÚSKVBL se zabývá vývojem veterinárních léčiv a hodnocením rizik spojených s jejich užíváním. Dále pak sleduje účinnost, kvalitu a bezpečnost veterinárních přípravků. Co se týče používání antimikrobik u zvířat v České republice, ÚSKVBL monitoruje jejich spotřebu antimikrobik v oblasti veterinární medicíny.

7.2.3 Státní veterinární správa (SVS ČR)

Státní veterinární správa byla zřízena na základě zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně souvisejících zákonů (veterinární zákon). Je nejvyšším orgánem veterinární správy s celorepublikovou působností. SVS se stará o welfare zvířat, o veterinární hygienu a bezpečnost potravin a o kontrolu vývozu a dovozu potravin.

V roce 2013 vznikla pod SVS ČR organizace s názvem Pracovní skupina pro antimikrobika, jejímž hlavním úkolem je zachování účinnosti antimikrobik pro léčbu lidí i zvířat, zajištění bezpečných potravin a minimalizace dopadů na životní prostředí (SVS ČR 2017).

7.3 Antimikrobiální politika v ČR

Antimikrobiální politika je definována jako souhrn opatření, jejichž cílem je vysoká kvalita používání antimikrobik ve smyslu účinné, bezpečné a nákladově efektivní léčby a profylaxe infekcí, při maximálním omezení rizika vzestupu antimikrobiální rezistence (Jindrák et al. 2008).

Za zrod antimikrobiální politiky v ČR lze považovat založení prvních tzv. penicilinových stanic ve 40. letech 20. století. Tyto stanice primárně vznikaly z důvodu tehdy nedostatkového penicilinu. Zároveň se jednalo o první racionální přístup k používání antimikrobiálních léčiv, protože se prováděla mikrobiologická vyšetření, zda je dané antimikrobikum v daném případě potřebné (Jindrák et al. 2008).

Důležitý mezník představuje rok 2001, kdy WHO zahájila globální strategii proti vzniku a šíření antimikrobiální rezistence; ta je podrobně popsána v dokumentu *Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance*.

Dalším významným krokem v antimikrobiální politice bylo zahájení činnosti Evropského centra pro prevenci a kontrolu nemocí (angl. *European Center for Disease Prevention and Control, ECDC*) v roce 2006, kdy zároveň vznikl program zaměřený na oblast antimikrobiální rezistence. Na tento krok reagovala ČR v roce 2009 Národním antibiotickým programem (NAP).

NAP byl oficiálně ustanoven rozhodnutím vlády ČR ze dne 4. května 2009 č. 595. Koordinací NAP byl pověřen Státní zdravotnický ústav (Jindrák et al. 2014). Hlavní cílem NAP je zachování účinnosti antimikrobik v ČR v součinnosti s ECDC a WHO. Dalším cílem NAP je udržovat spolupráci České republiky na mezinárodních projektech, jakými jsou např. EARS-Net (Evropský systém surveillance antimikrobiální rezistence) a ESAC (Evropská surveillance spotřeby antimikrobik) (Jindrák et al. 2008). O obou těchto institucích bude pojednáno v kapitole 7.6.

7.4 Organizace EU

Organizace EU, do jejichž kompetence spadá monitoring potravin v souvislosti s výskytem veterinárních antimikrobik v potravinách, představují ty zmíněné v následujících kapitolách. Nejdůležitější z nich je EFSA, neboť právě ta koordinuje propojení členských států. Partnerskou organizací EFSA v ČR je Úřad pro potraviny Ministerstva zemědělství.

Úřad EFSA také spolupracuje s dalšími agenturami, jako je například EMA a další (Nařízení č. 178/2002/ES).

7.4.1 EFSA

Evropský úřad pro bezpečnost potravin (angl. European Food Safety Authority, EFSA) byl založen v roce 2002. Vydává upozornění o existujících i nových rizicích souvisejících s potravinami, která představují zdroj informací pro tvůrce evropských předpisů, pravidel a strategií, a tak pomáhají chránit spotřebitele před možným nebezpečím v potravinovém řetězci. Činnost EFSA dále zahrnuje výživu, ochranu a zdraví rostlin, shromažďování vědeckých údajů a informací o kontrole potravin v EU (nařízení č. 178/2002/ES).

EFSA každoročně vydává zprávu o antimikrobiální rezistenci bakterií působících u lidí, zvířat a v potravinách.

7.4.2 EMA

Evropská léková agentura (angl. European Medicines Agency, EMA) byla založena v roce 1995. EMA chrání zdraví lidí a zvířat ve 28 členských státech EU i v zemích Evropského hospodářského prostoru tím, že zajišťuje bezpečnost všech léků na trhu EU, stejně jako jejich dostupnost, účinnost a kvalitu (nařízení č. 726/2004/ES).

EMA zodpovídá za hodnocení žádostí o registraci nových léčiv a poskytuje poradenství a podporu společnostem, které provádějí výzkum a vývoj veterinárních léčivých přípravků.

Pod tento orgán patří také několik subjektů zabývajících se přímo veterinárními léčivy, jako je např. Výbor pro posuzování rizik veterinárních léčivých přípravků.

7.4.3 EPRUMA

Evropský soubor zásad pro odpovědné užívání léčiv u zvířat (angl. European Platform for the Responsible Use of Medicines in Animals, EPRUMA) byl zřízen v roce 2005 pro podporu odpovědného užívání léčivých přípravků u zvířat v EU (léčivé přípravky ve smyslu směrnice 2001/82/ES ve znění směrnice 2004/28/ES), aby byla zachována jak účinnost a prevence, tak minimalizace nežádoucích účinků (nařízení č. 726/2004/ES).

7.5 Surveillance antimikrobik

Surveillance antimikrobik je definována jako systematický a trvalý sběr dat o antimikrobiální rezistenci či spotřebě antimikrobik. Analýzou těchto údajů poskytuje podklady pro antimikrobiální politiku. Pro surveillance antimikrobik existují dvě sítě, přičemž obě spravuje ECDC (Jindrák et al. 2014).

Dále v oblasti surveillance antimikrobik působí program ESVAC (Evropská surveillance spotřeby veterinárních antimikrobik, angl. European Surveillance of Veterinary Antimicrobials Consumption), který zavedla EMA v roce 2010. Tento program sbírá informace o spotřebě antimikrobik podávaných hospodářským zvířatům na území EU. Získané informace jsou dále vyhodnocovány a vznikají díky nim nové strategie pro následující roky (ÚSKVBL 2018).

7.5.1 EARS-Net

EARS-Net (angl. European Antimicrobial Resistance Surveillance Network) je mezinárodní síť národních systémů surveillance antimikrobiální rezistence u nejčastěji se vyskytujících invazivních bakterií na území Evropy. EARS-Net shromažďuje a analyzuje údaje, získané při rutinním vyšetřování citlivosti bakterií na antimikrobika (Jindrák et al. 2014).

EARS-Net mimo jiné sleduje antimikrobiální rezistenci bakterií, které nejčastěji způsobují již zmíněné nemocniční infekce. Do sledování tak byly zařazeny druhy *Streptococcus pneumoniae* a *Staphylococcus aureus*, v roce 2001 bylo zahájeno sledování u bakterií *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* a *Enterococcus faecium* a od roku 2005 u *Klebsiella pneumoniae* a *Pseudomonas aeruginosa*. V roce 2013 pak bylo zahájeno sledování bakterií z rodu *Acinetobacter* (ECDC 2019).

Výsledky těchto sledování jsou dostupné ve formě tabulek, grafů či map na webové stránce www.ecdc.europa.eu.

7.5.2 ESAC-Net

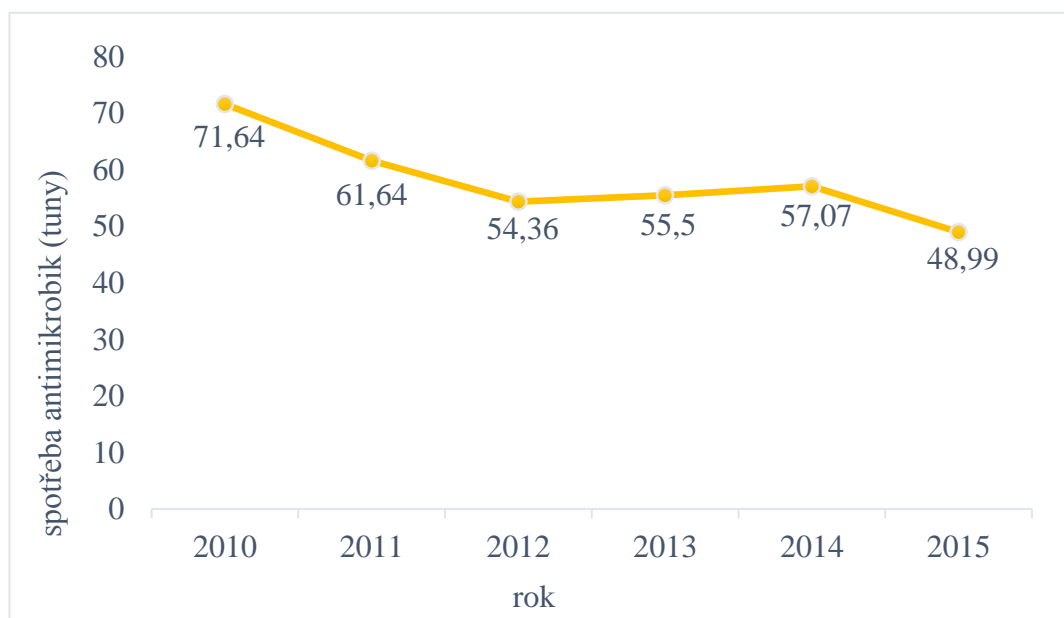
ESAC-Net představuje celoevropskou síť vnitrostátního systému monitoringu spotřeby antimikrobiálních léčiv. Shromážděné údaje pak slouží k poskytování včasných informací a zpětné vazby o ukazatelích antimikrobiální spotřeby. Tyto ukazatele poskytují základ pro sledování možného pokroku v jednotlivých zemích EU směrem k obezřetnému používání antimikrobiálních léčiv (Jindrák et al. 2014).

7.5.3 Spotřeba veterinárních antimikrobik

Na celém světě se každoročně spotřebuje průměrně 63 151 tun veterinárních antimikrobik. Téměř polovina z tohoto množství, uvádí Van Boeckel et al. (2015), se využije pouze ve čtyřech zemích, a to v Číně (23 %), USA (13 %), Brazílii (9 %) a Indii (3 %).

Pro srovnání, v ČR se roce 2015 spotřebovalo téměř 49 tun antimikrobik pro léčbu zvířat. Největší zastoupení přitom měly tetracykliny, peniciliny a sulfonamidy. Světová spotřeba antimikrobik má v současné době podobné zastoupení s tím rozdílem, že sulfonamidy jsou na druhém místě (Tasho & Cho 2016).

V důsledku aktuálního řešení problematiky rezistence bakterií k antimikrobikům narůstá zejména v posledních letech tlak na sledování spotřeby antimikrobik. Obecně lze říci, že v chovech hospodářských zvířat tato spotřeba každoročně klesá (viz Graf 1), a to díky většímu povědomí o problematice bakteriální rezistence. Svou zásluhu na tom má např. již zmiňovaný program ESVAC nebo nově zavedený projekt, který funguje v rámci OIE (Světová organizace pro zdraví zvířat, fr. Office International des Épizooties). Tento program vznikl v roce 2016 a klade za cíl shromáždit a analyzovat data o spotřebách antimikrobik – včetně těch, která se používají jako stimulanty růstu, což se stále děje v řadě zemí mimo EU (OIE 2017).



Graf 1: Trendy v celkové spotřebě veterinárních antimikrobik v ČR, 2010-2015 (převzato: ÚSKVBL 2018)

7.6 Organizační systémy zajišťující bezpečnost potravin v EU

7.6.1 HACCP

Systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů (Hazard Analysis and Critical Control Points) je povinně vytvářen u všech výrobců potravin na základě Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 852/2004 ze dne 29. dubna 2004, o hygieně potravin. HACCP je určen pro takové typy podniků, které vyrábějí, distribuují nebo jinak zpracovávají potraviny. Platí také pro podniky, které svými produkty vstupují do potravinového řetězce (tj. zemědělství, výroba obalů apod.).

Ve zkratce lze konstatovat, že úkolem HACCP je určit kritické kontrolní body, sledovat je a stanovit nápravu (nařízení č. 852/2004/ES).

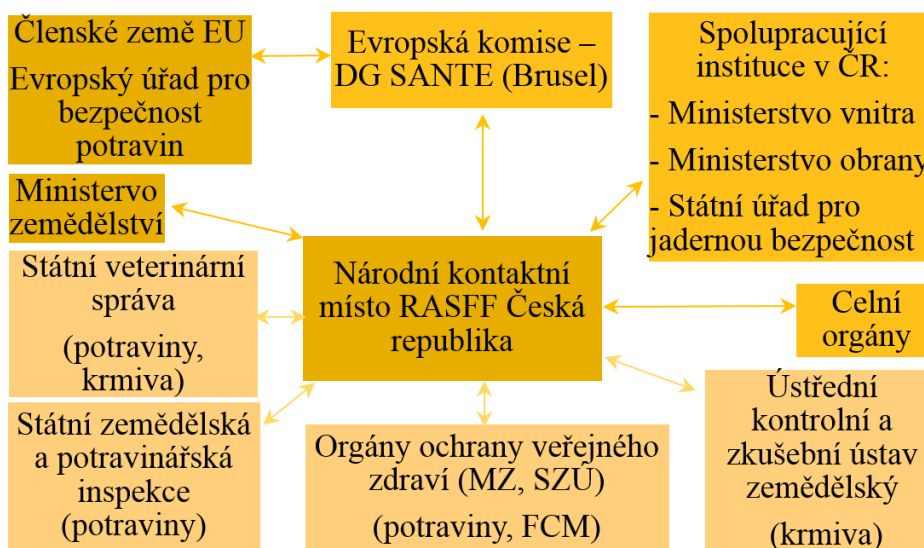
7.6.2 RASFF

Systém rychlého varování pro potraviny a krmiva byl založen v roce 1978 za účelem zajištění rychlého a účinného sdílení informací o nebezpečných potravinách nebo krmivech mezi členskými státy EU a EFTA – Evropského sdružení volného obchodu. Systém RASFF byl zřízen na základě článku 50 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002, viz výše.

Ve členských státech RASFFu jsou vytvořena kontaktní místa, která v případě potřeby mají povinnost informovat Evropskou komisi. Ta následně vyhodnocuje jednotlivá hlášení a předává je dalším členům RASFF (viz Obr. 15) pomocí čtyř typů hlášení, jak je klasifikuje nařízení č. 178/2002/ES:

1. varování (předmětem tohoto oznámení je rizikový výrobek, tj. potravina, krmivo nebo materiál a předmět určený pro styk s potravinami - angl. Food Contact Materials, FCM), který představuje vážné přímé nebo nepřímé riziko pro zdraví lidí nebo zvířat),
2. informace (předmětem oznámení je rizikový výrobek, který nesplňuje některé chemické, fyzikální nebo biologické požadavky na zdravotní nezávadnost, jedná se o výrobek, u kterého není pravděpodobný vznik akutních nepříznivých zdravotních následků, a tudíž se nevyžaduje bezprostřední zásah, jelikož se výrobek nedostal na trh anebo se na trhu již nevyskytuje),
3. odmítnutí na hranicích (předmětem oznámení jsou potraviny anebo krmiva, které byly zamítnuty při vstupu do EU z důvodu možného rizika),

4. novinka (toto oznámení představuje všechny druhy informací vztahující se k bezpečnosti výrobků, které nebyly oznámeny členským státem EU jednou z předešlých možností, ale které jsou zároveň považovány za důležité pro dozorové orgány členských států).



Obrázek 15: Schéma systému RASFF (převzato: Zpráva o činnosti systému RASFF v ČR za rok 2016, 2017)

Pozn.: DG Sante je generální ředitelství Evropské komise pro zdraví a ochranu spotřebitele, distribuuje data a informace o zdraví a zdravotnictví.

7.7 Nejčastěji se vyskytující rezidua veterinárních antimikrobik v mase a masných výrobcích

Jak již bylo zmíněno, v posledních pěti letech nebyl v ČR zaznamenán závažnější případ kontaminace masa nebo masných výrobků antimikrobiálními rezidui. Naposledy se jednalo o kuřecí maso z Polska, které bylo kontaminováno antimikrobikem doxycyklinem. Při analýze odebraných vzorků bylo zjištěno dokonce trojnásobně vyšší než povolené množství tohoto antimikrobika (ECDC 2019).

Od roku 2013 byla prostřednictvím systému RASFF přijata hlášení, která upozorňovala na nadlimitní nálezy reziduí v mase a masných výrobcích, a to z následujících antimikrobiálních skupin: tetracykliny, sulfonamidy a nitrofurany (více viz níže).

Některým z těchto skupin bude věnována zvláštní pozornost z důvodu narůstající rezistence některých kmenů bakterií k příslušným antimikrobikům.

Studie prokazují (Kohanski et al. 2010a), že i velmi nízké koncentrace antimikrobik (tj. pod minimální inhibiční koncentrací), které se mohou vyskytovat v mase, jsou schopny způsobit vznik rezistence u různých kmenů bakterií (Gullberg et al. 2011). Jako příklad lze uvést studii z roku 2010 (Kohanski et al. 2010a), v níž bylo zjištěno, že z testovaných antimikrobiálních léčiv vykazuje nejvýraznější navýšení minimální inhibiční koncentrace skupina fluorochinolonových antimikrobik. Jinými slovy, velmi nízké koncentrace antimikrobik způsobují navýšení hodnoty minimální inhibiční koncentrace daného antimikrobika – a to způsobuje vznik bakteriální rezistence.

7.7.1 Tetracykliny

Tetracykliny jsou díky minimálním vedlejším účinkům často používány veterinárními lékaři (Chopra & Roberts 2001). V dnešní době je však u tetracyklinů omezena jejich účinnost kvůli stále narůstající rezistenci bakterií.

Skupina tetracyklinových antimikrobik je podle WHO řazena mezi vysoce důležité antimikrobiální látky (tzv. Highly important antimicrobials). Představuje jednu z mála možností léčby patogenů *Chlamydia spp.* nebo *Brucella spp.* Z tohoto důvodu je kladen vyšší důraz na omezení používání těchto antimikrobik (WHO AGISAR 2016).

Přesto byl za posledních pět let v ČR zaznamenán výskyt reziduí dvou zástupců léčiv z této skupiny. V prvním případě se jednalo o doxycyklin. Jeho přítomnost v mase byla zaznamenána od roku 2013 pouze jednou, a to v roce 2016. Jednalo se o chlazené vepřové maso pocházející z Polska. V tomto produktu bylo detekováno až 1500 µg/kg, přičemž MRL pro svalovinu prasat je stanoven na 100 µg/kg (ECDC 2019). V druhém případě šlo o výskyt reziduí oxytetracyklinu. Ten byl za posledních pět let zjištěn v ČR pouze jednou, v roce 2016. Jednalo se o informaci ohledně chlazeného hovězího masa pocházejícího z Nizozemska (ECDC 2019).

S příjmem subterapeutického nebo reziduálního množství tetracyklinových antimikrobik jsou spojeny určité hrozby pro lidské zdraví. Mezi ně patří např. gastrointestinální poruchy, alergické reakce nebo vývoj rezistentních patogenů pro člověka i zvířata (Abbasi et al. 2012). Rezidua tetracyklinových antimikrobik navíc mohou způsobovat depozici kostí a poškozovat zuby u malých dětí. Příčinou je tvorba chelátů tetracyklinů s dvoumocnými kationty – mj. kationt vápníku, který je přítomný v kostní tkáni (Zhao et al. 2010).

V současnosti je doxycyklin nejvíce účinným tetracyklinovým antimikrobikem. Toto léčivo řadíme mezi širokospektrá antimikrobika, používá se např. při léčbě infekcí močových cest a dýchacího ústrojí (Yuan et al. 2007), ale také u kožních infekcí (Sánchez et al. 2009). Zároveň má z této skupiny léčiv nejdelší biologický poločas léčiva (tj. čas potřebný k poklesu koncentrace daného léčiva v krevní plazmě na polovinu počáteční hodnoty), a to 15–22 hodin (Botsoglou & Fletouris 2001). Ve srovnání s ostatními tetracyklinovými antimikrobiky, je vysoce lipofilní, což představuje velmi dobrou absorpci po perorálním podání a distribuci do různých tělesných tkání (Yang et al. 2012)

U bakterií rezistentních k doxycyklinu byly dosud zjištěny čtyři různé mechanismy rezistence, konkrétně enzymatická inaktivace antimikrobika, efflux, změna místa působení antimikrobika a zapojení alternativní metabolické dráhy (Mohr 2016).

Oxytetracyklin patří k jednomu z prvních izolovaných tetracyklinových antimikrobik (Mohr 2016). Má tedy dlouhou historii jak v humánní medicíně, kde se používá jako širokospektré antimikrobikum, tak v medicíně veterinární, kde byl v minulosti hojně indikován pro podporu růstu (Botsoglou & Fletouris 2001).

Z tetracyklinových antimikrobik je oxytetracyklin nejméně lipofilní a zároveň se nejhůře vstřebává. Přesto se snadno distribuuje v celém těle a během krátké doby dosahuje terapeutických hladin ve většině tkání (Botsoglou & Fletouris 2001).

7.7.2 Sulfonamidy

Skupina sulfonamidových antimikrobik má ve veterinární medicíně široké využití. Používají se pro léčbu infekčních onemocnění trávicího ústrojí a dýchacích cest, mastitidy, metritidy či hniloby paznehtů (Botsoglou & Fletouris 2001).

Antimikrobiální léčiva ze skupiny sulfonamidů jsou podle WHO řazeny mezi vysoce důležité antimikrobiální látky z důvodu možného přenosu rezistence bakterií, která se konkrétně vyskytuje u *Enterobacteriaceae* u zvířat (WHO AGISAR 2016).

Za posledních pět let byla v ČR zjištěna rezidua dvou zástupců ze skupiny sulfonamidů. Zprv šlo o sulfadimethoxin, který se nacházel v mase pouze jednou, a sice v roce 2018 – šlo o chlazené vepřové maso z Itálie. Tento produkt vykazoval více než trojnásobné překročení povoleného MRL, které pro všechny sulfonamidy činí 100 µg/kg ve svalovině. Konkrétně bylo ve vzorku detekováno 309.6 µg/kg sulfadimethoxinu. Zadruhé byl zaznamenán výskyt reziduí sulfadiazinu, a to v roce 2016, přičemž se jednalo o varování ohledně chlazeného vepřového masa pocházejícího z Belgie. V tomto případě maso obsahovalo 241 µg/kg sulfadiazinu,

tedy výrazně více než 100 µg/kg, MRL stanoveném pro všechny sulfonamidy ve svalovině (nařízení Komise č. 37/2010/ES; ECDC 2019).

Metabolismus sulfonamidových antimikrobik je důležitý z hlediska ovlivnění antimikrobiální aktivity daného léčiva. Konkrétně metabolismus sulfadimethoxinu probíhá acetylací, oxidací, konjugací se sulfátem nebo kyselinou glukuronovou a štěpením v různých stupních jejich heterocyklických kruhů. Obecně acetylované, hydroxylované a konjugované formy sulfonamidů totiž vykazují výrazný pokles v antimikrobiální aktivitě ve srovnání s původními formami antimikrobika (Botsoglou & Fletouris 2001).

Sulfadiazin má oproti jiným sulfonamidům relativně krátkou dobu působení v organismu (pro názornost biologický poločas sulfadiazinu u skotu je přibližně tři hodiny). Používá se především při léčbě infekčních onemocnění dýchacího a gastrointestinálního ústrojí (Cheong et al. 2010). Zároveň je často podáván v kombinaci s trimethoprimem (tj. dalším sulfonamidovým antimikrobikem) z důvodu rychlejší absorpce z gastrointestinálního traktu (Botsoglou & Fletouris 2001).

Podle Czanderlové a Kelnerové (2005) je sulfadiazin nejméně účinným antimikrobikem k patogenní bakterii *Escherichia coli* (asi 69,1 % rezistentních kmenů této bakterie u prasat). Ačkoliv zmíněná bakterie vykazuje velmi nízkou citlivost k sulfadiazinu, je toto antimikrobikum stále hojně používáno bez předchozího mikrobiologického vyšetření, které by mělo dopředu detekovat citlivost bakterie k danému antimikrobiku. Zvýšený počet rezistentních kmenů *Escherichia coli* se týká i dalších skupin antimikrobik, např. tetracyklinů (Czanderlová & Kellnerová 2005).

7.7.3 Nitrofurany

Mezi nitrofurany, které se v posledních desetiletích používaly v oblasti veterinární medicíny, patří furazolidon, furaltadon, nitrofurantoin a nitrofurazon. Všechna tato léčiva obsahují azomethinovou funkční skupinu ($-\text{CH}=\text{N}-$) v postranním řetězci (Radovnikovic et al. 2011). Použití těchto léčiv u zvířat určených k produkci potravin je v EU od roku 1995 zakázáno z důvodu negativních účinků na lidské zdraví. Konkrétně byly zjištěny karcinogenní a mutagenní účinky (Woodward 2013).

Bylo prokázáno, že nitrofurany se ve zvířatech velmi rychle rozkládají. Vzhledem k tomu, že je velmi obtížné zachytit rezidua původních léčiv, zaměřuje se kontrola bezpečnosti potravin na stanovení jejich metabolitů, které zůstávají v těle zvířat po dobu několika týdnů. Analýzy spočívají ve stanovení sloučenin označených jako AOZ – metabolit furazolidonu,

AMAZ – metabolit furaltadonu, AHD – metabolit nitrofurantoinu a SEM – metabolit nitrofurazonu (Radovnikovic et al. 2011).

Ze skupiny nitrofuranových antimikrobik se v ČR za posledních pět let vyskytovala rezidua nitrofurazonu a furazolidonu. Výskyt reziduí nitrofurazonu v mase a masných výrobcích byl zaznamenán od roku 2013 dvakrát, a to v letech 2016 a 2017. V obou případech šlo o informaci týkající se solených ovčích střívek. Roku 2016 pocházel tento produkt z Afghánistánu a obsahoval 1,2 µg/kg nitrofurazonu. O rok později pocházel produkt z Číny a bylo v něm detekováno 1,4 µg/kg (ECDC 2019). Rezidua furazolidonu byla během posledních pěti let zjištěna dvakrát, v obou případech v roce 2014. V prvním případě šlo o varování ohledně mraženého králičího masa z Číny s obsahem 8,1 µg/kg furazolidonu. V druhém případě se varování týkalo telecího masa, které pocházelo z Nizozemska a bylo u něj detekováno 41 µg/kg furazolidonu (ECDC 2019).

Nitrofurazon je širokospektré antimikrobikum, které bylo v minulosti hojně používáno u prasat, skotu, ovcí, koz, drůbeže a ryb k preventivním i léčebným účelům (Takegawa et al. 2000). V současnosti je kvůli výše zmíněným negativním účinkům uveden v nařízení č. 37/2010/ES jako zakázaná látka.

Vzhledem k tomu, že se nitrofurazon stále v některých případech používá v humánní medicíně (především při léčbě popálenin a u pacientů po transplantaci kůže), je důležité toto antimikrobikum charakterizovat ve spojitosti s šířením bakteriální rezistence (Race et al. 2005).

Další komplikací, která může nastat ve spojitosti s výskytem reziduí nitrofurazonu v mase, je akutní hemolýza. Dochází k ní u osob trpících nedostatkem enzymu glukózy-6-fosfátdehydrogenázy (tzv. fabismem), která v pentosovém cyklu katalyzuje NADP⁺ na NADPH – který chrání buňky před oxidačním stresem. Deficit glukózy-6-fosfátdehydrogenázy tudíž zvyšuje citlivost erytrocytů k oxidačnímu stresu, který se klinicky projevuje hemolýzou červených krvinek. Při podání nitrofurazonu právě k tomuto jevu dochází (Cappellini & Fiorelli 2008; Francis et al. 2013).

Furazolidon je širokospektré antimikrobikum s antiprotozoálními účinky. Do roku 1997, než bylo na území EU používání furazolidonu ve veterinární medicíně zakázáno (ze stejného důvodu jako u nitrofurazonu v roce 1995), se používal u prasat jako krmné aditivum podporující růst i jako prevence proti gastrointestinálním a respiračním onemocněním (Kennedy et al. 2000).

8 Druhy analýz využívané ke specifikaci reziduí antimikrobiálních látek v mase a masných výrobcích

V ČR jsou prováděny laboratorní analýzy vzorků masa a masných výrobků pro zjištění obsahu RIL třemi státními veterinárními ústavy (SVÚ Praha, Jihlava a Olomouc) a Ústavem pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv (ÚSKVBL) v Brně. Analytické metody, které se využívají při monitoringu RIL v potravinách a následné způsoby interpretace výsledků, jsou stanoveny v rozhodnutí Komise 2002/657/ES.

Vzorky potřebné pro analýzy na RIL musí splňovat určité parametry. Základními vyšetřovanými vzorky u velkých jatečných zvířat je kostka svalu (o hraně nejméně 8 cm), ledvina (nebo její část o délce alespoň 10 cm) a kostka jater (o hraně 6–8 cm). U malých jatečných zvířat se k vyšetření odebírají celá těla a u mláďat velkých jatečných zvířat se odebírají celá játra. U drůbeže, králíků a zvěře z farmového chovu se odebírají vzorky svaloviny a jater ve stejném množství jako u velkých jatečných zvířat (dle vyhlášky č. 289/2007 Sb. O veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty, které nejsou upraveny přímo použitelnými předpisy Evropských společenství).

Obecně se analytické metody pro detekci RIL v mase a masných výrobcích dělí na screeningové a potvrzovací (rozhodnutí Komise č. 2002/657/ES).

8.1 Screeningové metody

Screeningové metody jsou primárně určeny pouze k detekci antimikrobika ve vzorku. Při podezření na přítomnost rezidua daného léčiva je vzorek dále testován potvrzovacími metodami, které pak přesně identifikují cizorodou látku v potravíně (rozhodnutí Komise č. 2002/657/ES).

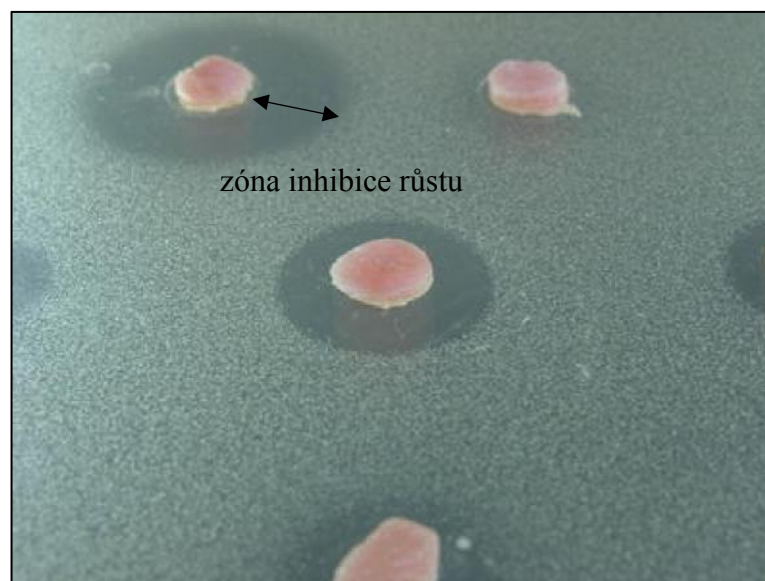
Tyto metody se provádí v analýze potravin využívají kvůli úspoře času a také z ekonomických důvodů. Hlavní výhodou screeningových metod je většinou (oproti potvrzovacím) krátký čas analýzy vzorku, snadnost použití a především nízké náklady (Cháfer-Pericás 2010).

Mezi screeningové metody se řadí mikrobiologické metody (Pažout et al. 2017), imunologické metody, biosenzory a fyzikálně-chemické metody (Botsoglou & Fletouris 2001; Reig & Toldrá 2008).

8.1.1 Mikrobiologické metody

Mikrobiologické analýzy jsou jedny z prvních metod, které se začaly používat při detekci reziduí v potravinách (Gaudin 2016). Dodnes se používají zejména jako metody screeningové pro vyloučení negativních vzorků (tj. vzorků které nevykazují přítomnost reziduí antimikrobik). Jak již bylo zmíněno, mikrobiologické metody mají mnoho výhod oproti potvrzovacím metodám. Na druhou stranu ale neexistuje žádný jednotný test pro detekci všech reziduálních antimikrobik (Kirbiš 2007).

Mikrobiologické analýzy pro stanovení reziduí antimikrobik v mase se provádí zejména metodou šesti ploten. Plotnový test se skládá z vrstvy zaočkovaného živného agaru (tj. bakterií, které jsou citlivé k určitým skupinám antimikrobik) s testovanými vzorky aplikovanými na vrchní vrstvě anebo v jamkách agaru. Vzorky mohou představovat buď část analyzované tkáně (masa či masného výrobku) nebo papírový kotouč namočený v tkáňové kapalině (Kirbiš 2007). Pokud vzorek obsahuje reziduum antimikrobiální látky, bakteriální růst změní agar na neprůhlednou vrstvu, která v okolí vzorku vytvoří jasnou oblast inhibující růst bakterií (tzv. zónu inhibice růstu, vyznačeno na Obr. 16). Zóna inhibice se považuje za pozitivní, je-li větší než 2 mm (Ibrahim et al. 2009).



Obrázek 16: Zóna inhibice růstu u plotnové metody se vzorkem masa (převzato: Pikkemaat 2009)

Využitím různých druhů testovaných mikroorganismů a rozdílného pH v testovaných plotnách (viz Tabulka 3) lze po vzniku inhibiční zóny zjistit, z jaké skupiny antimikrobik dané reziduum pocházelo (Pikkemaat 2009).

Tabulka 3: Referenční plotnová metoda v ČR: přehled ploten, testovacích kmenů, pH půd a inkubačních podmínek (převzato: Navrátilová et al. 2014)

Pozn. TMP* značí trimethoprim, který se přidává k bakterii *Bacillus subtilis* v plotně č. 4 pro navýšení citlivosti k sulfonamidovým antimikrobikům (Pikkemaat 2009).

Plotna	Druh bakterie	pH	Detekce	Inkubace
č. 1	<i>Bacillus subtilis</i>	6,0	tetracykliny	30 °C, 18–24 h
č. 2	<i>Bacillus subtilis</i>	8,0	aminoglykosidy	30 °C, 18–24 h
č. 3	<i>Kocuria rhizophila</i>	8,0	makrolidy, betalaktamy	37 °C, 18–24 h
č. 4	<i>Bacillus subtilis</i> + TMP*	7,2	sulfonamidy	30 °C, 18–24 h
č. 5	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	8,0	betalaktamy, aminoglykosidy	64 °C, 5 h
č. 6	<i>Escherichia coli</i>	8,0	chinolony	37 °C, 18–24 h

8.1.2 Imunologické metody

Imunologické metody jsou technicky nenáročné, v praxi se používají komerčně dostupné sady. Imunologické metody využívají interakce antigenu se specifickými protilátkami za tvorby imunokomplexu antigen–protilátka. Stanovení vzniklého komplexu je následně umožněno navázáním vhodně značeného analytu. Značení bývá nejčastěji provedeno pomocí enzymu (metoda ELISA) fluorescenční látky nebo radioaktivního izotopu (metoda RIA) (Reig & Toldrá 2008).

8.1.2.1 ELISA

Při detekci antimikrobiálních léčiv v mase a masných výrobcích má z imunologických metod největší význam metoda ELISA (angl. Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). ELISA využívá ke značení enzym (nejčastěji peroxidázu, β -D-galaktosidázu nebo alkalickou fosfatázu) katalyzující přeměnu původně bezbarvého substrátu přidaného do reakční směsi (v tzv. mikrotitrační destičce) za vzniku barevného produktu. Barevná změna se následně vyhodnotí spektrofotometricky při příslušné vlnové délce (Tilahun et al. 2016).

V současné době existuje mnoho komerčně dostupných souprav ELISA, a to buď pro konkrétní antimikrobikum, např. pro sulfametazin, nebo pro celou skupinu příbuzných

antimikrobik, např. pro sulfonamidy (Reig & Toldrá 2008). Tyto soupravy jsou vysoce spolehlivé při detekci reziduí tetracyklinu, chloramfenikolu, nitroimidazolu (Huet et al. 2005) nebo i sulfonamidů (Mahmoudi et al. 2014).

8.1.3 Biosenzory používané k detekci antimikrobik

Biosenzory jsou poměrně novou a v současné době hojně využívanou v oblasti bezpečnosti potravin (Mungroo & Neethirajan 2014; Bhalla et al. 2016). Hlavní výhodou biosenzorů je, že jsou na rozdíl od předchozích metod plně automatické. Skládají se ze dvou částí, a to bioreceptoru a transduktoru (Gaudin 2016).

Bioreceptorová část obsahuje biologický prvek (enzym, bílkovinu, nukleovou kyselinu, buňku nebo celý organismus), který je schopen rozpoznat analyzovaný vzorek. Transduktor je následně schopen převést tento biochemický signál např. na elektrický nebo optický signál (Patel 2002), který je následně zpracován pomocí vhodných zařízení (Bhalla et al. 2016).

Biosenzory se liší v interakci mezi rozpoznávací molekulou a analytem a v typu detekce. Příkladem mohou být buněčné biosenzory. Ty k detekci antimikrobik využívají optické transduktory, které pro výsledný signál používají změnu intenzity světla (Gaudin 2016). Příkladem může být biosenzor v podobě geneticky modifikované bakterie *Escherichia coli*, která při výskytu reziduí tetracyklinových antimikrobik v mase zeleně fluoreskuje (Bahl et al. 2005).

8.1.4 Fyzikálně-chemické metody

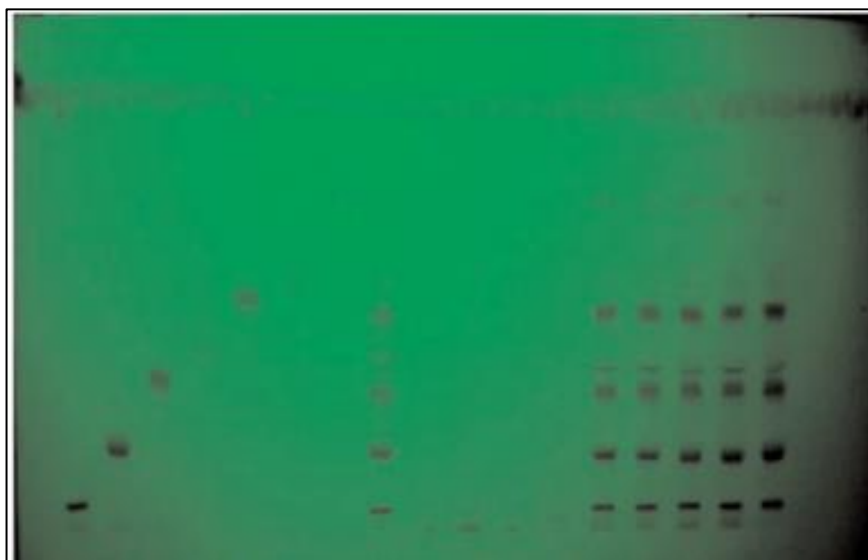
8.1.4.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie na tenké vrstvě – HPTLC

Pojem chromatografie představuje separační a současně analytickou metodu, tzn., že poskytuje kvalitativní i kvantitativní informace o vzorku. Obecným principem chromatografických metod je distribuce látky mezi dvě fáze, stacionární (nepohyblivou) a mobilní (pohyblivou) – přičemž mobilní fáze vztlíná a unáší vzorek (tím rychleji, čím méně se jeho složky poutají ke stacionární fázi). Složky testovaného vzorku s vyšší afinitou se zachycují a zpožďují, a tím nastává dělení (Aguilar et al. 2003). Vysokoúčinná kapalinová chromatografie na tenké vrstvě (angl. High performance thin-layer chromatography, HPTLC) je také schopná ze vzorku detekovat více reziduí najednou (viz Obr. 17).

Stacionární fáze u HPTLC nejčastěji představuje silikagel na inertní podložce (sklo nebo aluminiová fólie). Tenké vrstvy silikagelu (obsahující částice o průměru 4,5 μm) mohou obsahovat fluorescenční indikátor UV 254 nm k usnadnění detekce analyzovaných látek. Mobilní vrstvy se dodávají na tenkou vrstvu pomocí mikročerpadel pro zajištění jejich

rovnoměrného toku po stacionární fázi (Srivastava 2011). Princip HPTLC spočívá v unášení vzorku mobilní fází přes fázi stacionární, kde se jednotlivé složky vzorku více či méně zpožďují interakcí (rozpuštění nebo adsorpce) se stacionární fází, a tím se dělí (Reig & Toldrá 2008).

HPTLC je aplikována zejména při detekci reziduí v mase u nitroimidazolu a sulfonamidových antimikrobik (Reig & Toldrá 2008).



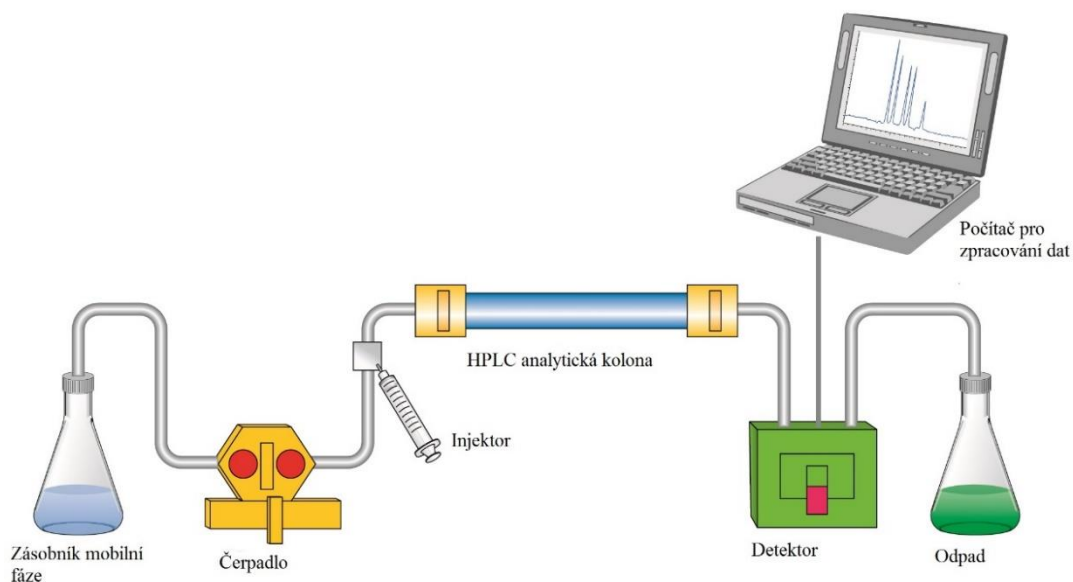
Obrázek 17: Ukázka HPTLC analýzy. Porovnání skvrn různých skupin antimikrobik a vzorků vody (převzato: Opriş, et al. 2012)

8.1.4.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie – HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (angl. High performance liquid chromatography, HPLC) je vysoce citlivá a specifická metoda detekce širokého spektra analytů. HPLC funguje na stejném principu jako všechny chromatografické metody a tím je distribuce analyzované látky mezi dvě fáze, stacionární a mobilní (Aguilar et al 2003). Nevýhodou této metody je ovšem nutnost přípravy vysoce čistého vzorku (Mungroo & Neethirajan 2014). Před samotným provedením analýzy je potřeba předběžné vyčištění vzorku pomocí filtrace před injekcí do analytické kolony (viz Obr. 18) s reverzní fází (tzn. že mobilní fáze je polární směs vody a organického rozpouštědla).

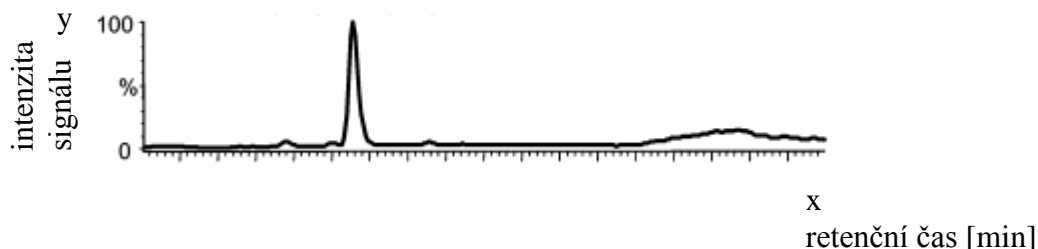
Obecně se přístrojové vybavení kapalinové chromatografie skládá ze zásobníku mobilní fáze, čerpadla, injektoru, analytické kolony, detektoru (může být fotometrický, fluorescenční, hmotnostní...) a záznamníku dat nebo datového systému (viz Obr. 18; Töppner 2014).

Důležitou součástí systému je vysokotlaké čerpadlo, které umožňuje průtok mobilní fáze analytickou kolonou. Kolona je z celé HPLC nejdůležitější, protože zde dochází k separaci vzorku. V koloně se rovněž nachází stacionární fáze, která má pórovitou strukturu, a tak umožňuje separaci složek vzorku na základě rozměrů jeho molekul. (Botsoglou & Fletouris 2001).



Obrázek 18: Schéma HPLC analýzy (převzato: Töppner 2014)

Výsledkem chromatografické separace je chromatogram (viz Obr. 19), zobrazený na monitoru počítače. Na ose x je zobrazen retenční čas, tedy doba, kterou analyt stráví v koloně. Na ose y je znázorněna odezva detektoru. Zóně analytu v chromatogramu odpovídá tzv. pík, který charakterizuje koncentrační profil analytu v zóně. Plocha vymezená píkem je přímo úměrná koncentraci analyzovaného léčiva ve vzorku (Nielsen 2010).



Obrázek 19: Příklad chromatogramu: Výsledky analýzy svalové tkáně prasat kontaminované oxytetracyklinem (převzato: Bogialli et al. 2006)

HPLC byla prozatím aplikována při detekci reziduí v mase u následujících kategorií antimikrobik: chinolony (Kirbiš et al. 2005), sulfonamidy (Pecorelli et al. 2004), betalaktamy, makrolidy (Nagata et al. 2004) a tetracykliny (Samanidou et al. 2005).

Rozvoj v oblasti kapalinové chromatografie zahrnuje vývoj nových, užších kolon s menšími obaly a pracující za použití vyšších tlaků. Příkladem může být UPLC neboli ultraúčinná kapalinová chromatografie (Reig & Toldrá 2008).

8.2 Potvrzovací metody

Potvrzovací metody lze označit jako kvalitativní i kvantitativní, tzn. že při daných analýzách můžeme určit druh antimikrobika i jeho množství (dle rozhodnutí Komise č. 2002/657/ES). Na druhou stranu provedení těchto metod zabírá více času než u screeningových analýz. Zároveň je u potvrzovacích metod kladen vyšší nárok na přístrojové vybavení laboratoře a jsou ekonomicky nákladné. S ohledem na tyto faktory je vhodné, aby byly potvrzovací metody prováděny pouze proškoleným personálem (Mungroo & Neethirajan 2014).

Mezi potvrzovací metody se řadí především analýzy kombinující kapalinovou chromatografii s technikami, které umožňují přesnější detekci reziduí antimikrobik v analyzovaném vzorku. Mezi techniky, které se používají společně s kapalinovou chromatografií patří hmotnostní spektrometrie (angl. mass spectrometry, MS).

MS je metoda analytické chemie, jejíž podstatou je detekce nabitých částic (iontů), které vznikají z původně neutrálních molekul vzorku při ionizaci (Urban 2016). Existuje několik různých iontových zdrojů, které jsou vhodné pro různé typy analytů a různé techniky hmotnostně spektrometrické analýzy. Pro detekci antimikrobik v mase jsou podle studií z roku 2008 a 2010 (Reig & Toldrá 2008; Shankar et al. 2010) často používanými iontovými zdroji elektrosprejová ionizace (angl. electrospray ionisation, ESI) nebo chemická ionizace za atmosférického tlaku (angl. atmospheric pressure chemical ionisation, APCI), (rozhodnutí Komise č. 2002/657/ES; Reig & Toldrá 2008).

Po ionizaci molekul vzorku dochází k rozdělení iontů v analyzátoru podle poměru jejich hmotnosti a počtu nábojů bez ohledu na jejich polaritu. Následně dochází ke kvantitativní detekci iontů detektorem. Poté přístroj zaznamená elektrické signály do podoby hmotnostních spekter (Urban 2016).

9 Řešení problematiky rezistence bakterií k antimikrobikům

Budoucnost používání antimikrobiálních léčiv závisí na přístupu více zúčastněných stran, především spotřebitelů, zdravotníků, veterinářů, vládních orgánů nebo farmaceutických společností (Laxminarayan et al. 2013).

Problém narůstající rezistence bakterií k antimikrobikům řeší v rámci ČR především Národní antibiotický program. Jeho úkolem je, aby si antimikrobika, která jsou v dnešní době používána, udržela účinnost proti patogenům co nejdéle. Jako příklad přijatých opatření uveďme snahu o zastavení zbytečného používání antimikrobik či omezení používání antimikrobik s širokým spektrem účinku, a to jak v humánní, tak ve veterinární medicíně. Program tak zároveň poukazuje na provázanost humánní a veterinární medicíny. Nabádá, aby oba sektory navzájem spolupracovaly a zajistily odpovědný přístup k používání antimikrobik za účelem omezení navyšování spotřeby těchto léčiv a z toho plynoucího šíření bakteriální rezistence.

Hlavními body programu jsou:

1. zlepšení informovanosti o stavu antimikrobiální rezistence a spotřeby antimikrobik (pro odbornou i laickou veřejnost),
2. kontrola a prevence antimikrobiální rezistence,
3. podpora vědy a výzkumu.

Poslední bod je zaměřen na objasnění příčin vzniku a šíření antimikrobiální rezistence a možnosti jejího zmírnění, stejně jako na vývoj nových metod a rychlých diagnostických testů pro její detekci. V poslední řadě se podpora vědy v rámci Akčního plánu NAP zabývá vývojem alternativních strategií pro prevenci a terapii infekcí (AP NAP 2019).

Jednou z možností může být návrat k antimikrobikům, která se používala v minulosti. Tato antimikrobika se přestala používat buď z důvodu nástupu modernějších léčiv na trh, či pro své negativní vedlejší účinky. Proto jsou dnes označována jako antimikrobika poslední volby (Chaudhary 2016). Podle Nyče (2017) je jednou z možných alternativ při léčbě bakteriálních infekcí u lidí, návrat k používání kolistinu, fosfomycinu nebo nitrofurantionu.

Jako další možnost se nabízí vývoj nových antimikrobik. Syntéza molekul těchto léčiv je však obtížná a finančně náročná (Harbarth et al. 2015). Proto farmaceutický průmysl již nepovažuje vývoj antimikrobik za ekonomicky rozumnou investici. Vzhledem k tomu, že jsou antimikrobika podávána relativně krátkou dobu, nejsou tak rentabilní jako léčiva používaná při chronických onemocněních, např. při diabetu nebo astmatu (Ventola 2015). I proto se za posledních dvacet let farmaceutickým firmám podařilo vyvinout pouze dvě nové skupiny

antimikrobik (lipopeptidy a oxazolidinony), které byly schváleny mezinárodními léčebnými agenturami. Obě tyto skupiny antimikrobik působí proti grampozitivním bakteriím (Stubbings & Labischinski 2009).

V tomto směru dochází především k úpravě struktur již známých antimikrobik. Příkladem může být zkombinování linkomycinu s celesticetinem (obě léčiva patří mezi linkosamidová antimikrobika), již v poslední době testuje tým českých vědců. Nově syntetizované antimikrobikum, které dostalo název celin, má být účinné proti G⁺ bakteriím (Kadlčík et al. 2017).

Naproti tomu poslední novou skupinou antimikrobiálních léčiv působících proti G⁻ bakteriím zůstávají fluorochinolony, které byly objeveny již v roce 1962 (Tacconelli et al. 2018).

Jednou z možných alternativ pro léčbu infekcí způsobených G⁻ bakteriemi je rovněž úprava struktur již používaných antimikrobik. Příkladem může být strukturálně atypický tetracyklin chelokardin. Toto antimikrobikum je produkováno aktinobakteriemi *Amycolatopsis sulfurea*. Přesný způsob působení chelokardinu není dosud znám, nicméně některé studie (Stepanek et al. 2016) prozatím přisuzují antimikrobiální účinek chelokardinů jejich schopnosti narušovat syntézu buněčné stěny bakterií a bakteriálních proteinů. Podle studie z roku 2015 (Lešnik et al. 2015) se dají chelokardiny v budoucnu využít prostřednictvím úpravy jejich struktury. Konkrétně výzkumníci (Lešnik et al. 2015) k chelokardinu připojili karboxamidovou skupinu z tetracyklinového antimikrobika (což je struktura důležitá pro bioaktivitu těchto antimikrobik). Tímto způsobem bylo generováno širokospektré antimikrobikum s významně zlepšenou antibakteriální aktivitou, které současně působilo proti všem G⁻ bakteriím tzv. panelu ESKAPE, tedy bakterie způsobující nozokomiální infekce: *Enterococcus faecium*, *Streptococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*) (Mohr 2016; Santajit & Indrawattana 2016). Lešnik et al. (2015) dále uvádí, že je možné v tomto směru pokračovat díky tomu, že struktura chelokardinu je přístupná i dalším chemickým modifikacím. Chelokardin by se tak mohl stát základem pro další rozvoj v oboru genetického inženýrství (Lešnik et al. 2015).

Podle Nyče (2017) zůstává zásadním předpokladem pro úspěšné řešení problematiky bakteriální rezistence omezení celkové spotřeby antimikrobik a zároveň navýšení podílu cílené léčby, u které je samozřejmostí mikrobiologické vyšetření s určením původce infekce.

10 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo vypracování literární rešerše o problematice reziduí veterinárních antimikrobik v mase a masných výrobcích. Podle studií, jejichž výsledky byly v práci prezentovány, mají rezidua těchto léčiv negativní vliv na lidské zdraví. Mezi nejčastější problémy vznikající při příjmu subterapeutických dávek antimikrobik patří hypersenzitivita, narušení střevního mikrobiomu, v některých případech dokonce narušení vývoje plodu či jiné toxické účinky.

Nejvíce diskutovaným problémem, který je spojen s příjmem reziduí antimikrobik v potravinách, je možný vznik rezistence bakterií k těmto léčivům. Bakteriální rezistence se může nadále šířit prostřednictvím životního prostředí, zvířat a lidí. K šíření bakteriální rezistence dochází především pomocí horizontálního přenosu rezistentních genů, který umožňuje přenos rezistence mezi bakteriemi různých kmenů i rodů.

V současné době představuje bakteriální rezistence globální hrozbu. Důvodem je nedostatek funkčních antimikrobik pro léčbu infekcí, které tyto bakterie způsobují. Nejčastěji se jedná o infekce močových cest a další nozokomiální infekce.

Jednou z možností, jak omezit šíření rezistence bakterií k antimikrobikům je zamezení transferu těchto léčiv do potravin. Tuto problematiku řeší v ČR dozorové orgány Ministerstva zemědělství. Některé z nich současně zajišťují i detekci těchto léčiv v potravinách pomocí různých chemických analýz.

Velkou roli hraje při šíření bakteriální rezistence nejen nevhodná indikace antimikrobiálních léčiv, ale také jejich spotřeba. Množství užívaných veterinárních antimikrobik díky činnosti dozorových orgánů každoročně klesá. Nicméně je nezbytné nadále podporovat informovanost veřejnosti o stavu antimikrobiální rezistence a její prevenci (např. v podobě cílené léčby) pro delší účinnost antimikrobik.

Přehled literatury a použitých zdrojů

- Abbasi MM, Nemati M, Babei H, Ansarin M, Nourdadgar AOS. 2012. Solid-Phase Extraction and Simultaneous Determination of Tetracycline Residues in Edible Cattle Tissues Using an HPLC-FL Method. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* **11**: 781-787.
- Aguilar MI. 2003. *HPLC of Peptides and Proteins: Methods and Protocols*. Humana Press. Totowa, New Jersey.
- Alanazi MQ, Alqahtani FY, Aleanizy FS. 2018. An evaluation of *E. coli* in urinary tract infection in emergency department at KAMC in Riyadh, Saudi Arabia: retrospective study. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* **17**.
- Bacanli M, Başaran N. 2019. Importance of antibiotic residues in animal food. *Food and Chemical Toxicology* **125**: 462-466.
- Bahl MI, Hansen LH, Sarensen SJ. 2005. Construction of an extended range whole-cell tetracycline biosensor by use of the tet (M) resistance gene. *FEMS Microbiology Letters* **253**: 201-205.
- Basak S, Singh P, Rajurkar M. 2016. Multidrug Resistant and Extensively Drug Resistant Bacteria: A Study. *Journal of Pathogens* **2016**: 1-5.
- Beneš J. 2009. *Infekční lékařství*. Galén. Praha.
- Beneš J. 2018. *Antibiotika: systematika, vlastnosti, použití*. Grada Publishing. Praha.
- Berendsen B, Pikkemaat M, Römkens P, Wegh R, van Sisseren M, Stolker L, Nielen M. 2013. Occurrence of Chloramphenicol in Crops through Natural Production by Bacteria in Soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**: 4004–4010.
- Beyene T. 2015. Veterinary Drug Residues in Food-animal Products: Its Risk Factors and Potential Effects on Public Health. *Journal of Veterinary Science & Technology* **07**: 1-7.

- Bhalla N, Jolly P, Formisano N, Estrela P. 2016. Introduction to biosensors. *Essays in Biochemistry* **60**: 1-8.
- Bogialli S, Curini R, Di Corcia A, Lagana A, Rizzuti G. 2006. A Rapid Confirmatory Method for Analyzing Tetracycline Antibiotics in Bovine, Swine, and Poultry Muscle Tissues: Matrix Solid-Phase Dispersion with Heated Water as Extractant followed by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Journal of agriculture and food chemistry* **2006**: 1564-1570.
- Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. 2014. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology* **13**: 42–51.
- Bonnet M, et al. 2005. Does one size fit all? Drug resistance and standard treatments: results of six tuberculosis programmes in former Soviet countries. *International Journal of Tuberculosis and Lung Disease* **9**: 1147-1154.
- Botsoglou NA, Fletouris DJ. 2001. Drug residues in foods: pharmacology, food safety, and analysis. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Cag Y, Caskurlu H, Fan Y, Cao B, Vahagoblu H. 2016. Resistance mechanisms. *Annals of Translational Medicine*. **4**: 326-326.
- Cappellini MD, Fiorelli G. 2008. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *The Lancet* **371**: 64–74.
- Cassini A, et al. 2019. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect Dis* **19**: 56-66.
- Companyó R, Granados M, Guiteras J, Prat MD. 2009. Antibiotics in food: Legislation and validation of analytical methodologies. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **395**: 877-891.

- Czanderlová L, Kellnerová D. 2005. Přehled citlivosti nejvýznamnějších patogenů prasat k vybraným antibiotikům. *Veterinářství* **55**: 276-279.
- Česko. 1999. Zákon č. 166 ze dne 13. července 1999 o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů. Pages 3122-3150 in *Sbírka zákonů České republiky, 1999, částka 57*. Česká republika.
- Česko. 2002. Zákon č. 146/2002 ze dne 20.3.2002 o Státní zemědělské a potravinářské inspekci a o změně některých souvisejících zákonů. Pages 3285-3294 in *Sbírka zákonů České republiky, 2002, částka 61*. Česká republika.
- Česko. 2007. Zákon č. 378/2007 ze dne 6. prosince 2007 o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech). Pages 5342-5436 in *Sbírka zákonů České republiky, 2007, částka 115*. Česká republika.
- ČSÚ. 2017. Spotřeba potravin a nealkoholických nápojů. Český statistický úřad, Praha 10. Available from: <https://www.czso.cz/documents/10180/61565936/2701391801.pdf/e7d7123e-b288-4336-92b2-f8be22ebdae8?version=1.1> (accessed March 2018).
- de la Cruz-Quiroz RA, Chavez CB, Hernandez MB, Rodriguez RA, Hernandez DC, Aguilar CN. 2011. Antagonist capacity of newly isolated strains of pseudomonas fluorescens against three important phytopathogenic bacteria. *American Journal of Agricultural and Biological Science* **6**: 267-272.
- Demirezen D, Uruc K. 2006. Comparative study of trace elements in certain fish, meat and meat products. *Meat Science* **74**: 255–260.
- Dostálek M. 2006. *Farmakokinetika*. Grada, Praha.
- ECDC. 2019. Surveillance and disease data. ECDC. Available from: <https://ecdc.europa.eu/en/surveillance-and-disease-data> (accessed January 2019).

- EMA. 2008. Committee for veterinary medicinal products: Penicillins: Summary report. EMA, London. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/penicillins-summary-report-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf (accessed March 2019).
- EP, Rada EHS. 2001. Směrnice č. 2001/82/ES ze dne 6. listopadu 2001 o kodexu Společenství týkajícím se veterinárních léčivých přípravků. Pages 3-68 in Úřední věstník Evropské unie, Brusel.
- EP, Rada EHS. 2002. Nařízení č. 178/2002 ze dne 28. ledna 2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin. Pages 1-24 in Úřední věstník Evropské unie, Brusel.
- EP, Rada EHS. 2003. Nařízení č. 1831/2003 ze dne 22. září 2003 o doplňkových látkách používaných ve výživě zvířat. Pages 29-42 in Úřední věstník Evropské unie, Brusel.
- EP, Rada EHS. 2004. Nařízení č. 726/2004 ze dne 31. března 2004, kterým se stanoví postupy Společenství pro registraci humánních a veterinárních léčivých přípravků a dozor nad nimi a kterým se zřizuje Evropská agentura pro léčivé přípravky. Pages 1-33 in Úřední věstník Evropské unie, Brusel.
- EP, Rada EHS. 2004. Nařízení č. 852/2004 ze dne 29. dubna 2004 o hygieně potravin. Pages 1-54 in Úřední věstník Evropské unie, Brusel.
- Etebu E, Arikekpar I. 2016. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research* **4**: 90-101.
- FAO, WHO. 2018. Codex Alimentarius: Understanding Codex. WHO, Rome. Available from [www.](http://www.codexalimentarius.org/) (accessed March 2019).

- Ferrante MC, Fusco G, Monnolo A, Saggiomo F, Guccione J, Mercogliano R, Clausi MT. 2017. Food contamination by PCBs and waste disposal crisis: Evidence from goat milk in Campania (Italy). *Chemosphere* **186**: 396-404.
- Francis RO, Jhang JS, Pham HP, Hod EA, Zimring JC, Spitalnik SL. 2013. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in transfusion medicine: the unknown risks. *Vox Sanguinis* **105**: 271-282.
- Grave K, Jensen VF, Odensvik K, Wierup M, Bangen M. 2006. Usage of veterinary therapeutic antimicrobials in Denmark, Norway and Sweden following termination of antimicrobial growth promoter use. *Preventive Veterinary Medicine* **75**: 123-132.
- Gravey F, Loggia G, de la Blanchardiere A, Cattoir V. 2017. Bacterial epidemiology and antimicrobial resistance profiles of urinary specimens of the elderly. *Médecine et Maladies Infectieuses* **47**: 271-278.
- Guarner F, Malagelada JR. 2003. Gut flora in health and disease. *The Lancet* **361**: 512–519.
- Gullberg E, Cao S, Berg OG, Ilbäck C, Sandergren L, Hughes D, Andersson DI, Lipsitch M. 2011. Selection of Resistant Bacteria at Very Low Antibiotic Concentrations. *PLoS Pathogens* **7**: 1-9.
- Hammerum AM, Heuer OE, Lester CH, Agerso Y, Seyfarth AM, Emborg HD, Frimodt-Moller N, Monnet DL. 2007. Comment on: withdrawal of growth-promoting antibiotics in Europe and its effects in relation to human health. *International Journal of Antimicrobial Agents* **30**: 466-468.
- Hanna N, Sun P, Sun Q, et al. 2018. Presence of antibiotic residues in various environmental compartments of Shandong province in eastern China: Its potential for resistance development and ecological and human risk. *Environment International* **114**: 131-142.
- Harbarth, S, Theuretzbacher U, Hackett J, et al. 2015. Antibiotic research and development: business as usual? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **70**: 1604-1607.

- Heberer T. 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters* **131**: 5-17.
- Huet AC, Mortier L, Daeseliere E, Fodey T, Elliott C, Delahaut P, 2005. Development of an ELISA screening test for nitroimidazoles in egg and chicken muscle. *Analytica Chimica Acta* **534**: 157-162.
- Chaguza Ch, Cornick JE, Everett DB. 2015. Mechanisms and impact of genetic recombination in the evolution of *Streptococcus pneumoniae*. *Computational and Structural Biotechnology Journal* **13**: 241-247.
- Chaudhary AS. 2016. A review of global initiatives to fight antibiotic resistance and recent antibiotics' discovery. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **6**: 552-556.
- Cháfer-Pericás C, Maquieira Á, Puchades R. 2010. Fast screening methods to detect antibiotic residues in food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **29**: 1038-1049.
- Chopra I, Roberts M. 2001. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **65**: 232–260.
- Christian T, Schneider RJ, Färber HA, Skutlarek D, Meyer MT, Goldbach HE. 2003. Determination of Antibiotic Residues in Manure, Soil, and Surface Waters. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica* **31**: 36–44.
- Chung HS, Lee YJ, Rahman MM, et al. 2017. Uptake of the veterinary antibiotics chlortetracycline, enrofloxacin, and sulphathiazole from soil by radish. *Science of the Total Environment* **605-606**: 322-331.
- Ibrahim A, Junaidu A, Garba M. 2009. Multiple antibiotic residues in meat from slaughtered cattle in Nigeria. *The Internet Journal of Veterinary Medicine* **8**: 1-5.
- Ito S, Lee A. 2003. Drug excretion into breast milk—Overview. *Advanced Drug Delivery Reviews* **55**, 617-627.

- Jalal H, Para PA, Ganguly S, Gogai M, Bhatl MM, Praveen PK, Bukharil SA. 2015. Chemical residues in meat and meat products: A review. *World Journal of Pharmaceutical and Life Sciences* **1**: 106-122.
- Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam Ch, Vuyuru H, Sasikala M, Reddy DN. 2015. Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology* **21**: 8787–8803.
- Jeong SH, Kang D, Lim MW, Kang CS, Sung HJ. 2010. Risk Assessment of Growth Hormones and Antimicrobial Residues in Meat. *Official Journal of Korean Society of Toxicology* **26**: 301-313.
- Jindrák V, Urbášková P, Bergerová T, Buchta V, Hanslianová M, Horníková M, Chmelík V, Nyc O, Vanis V; Working Group on Monitoring Antimicrobial Resistance. 2008. Hospital antibiotic management in the Czech Republic – results of the ABS maturity survey of the ABS International group. *Wiener klinische Wochenschrift* **120**: 289-293.
- Jindrák V, Hedlová D, Urbášková P. 2014. Antibiotická politika a prevence infekcí v nemocnici. *Mladá fronta, Praha*.
- Kadlčík S, Kameník Z, Vasek D, Nedved M, Janata J. 2017. Elucidation of salicylate attachment in celesticetin biosynthesis opens the door to create a library of more efficient hybrid lincosamide antibiotics. *Chemical Science* **8**: 3349-3355.
- Kennedy DG, Cannavan A, McCracken RJ. 2000. Regulatory problems caused by contamination, a frequently overlooked cause of veterinary drug residues. *Journal of Chromatography A* **882**: 37-52.
- Khan AA, Randhawa MA, Butt MS, Nawaz H. 2016. Impact of Various Processing Techniques on Dissipation Behavior of Antibiotic Residues in Poultry Meat. *Journal of Food Processing and Preservation* **40**: 76-82.
- Khan NA, Siddiqui R. 2014. War on terror cells: killing the host that harbours ‘superbugs’ is an infection control strategy in our fight against infectious diseases. *Pathogens and Global Health* **108**: 4-10.

- Kirbiš A, Marinsek J, Flajs VC. 2005. Introduction of the HPLC method for the determination of quinolone residues in various muscle tissues. *Biomedical Chromatography* **19**: 259–265.
- Kirbiš A. 2007. Microbiological screening method for detection of aminoglycosides, β -lactams, macrolides, Tetracyclines and quinolones in meat samples. *Slovenian Veterinary Research* **44**: 11-18.
- Kohanski MA, DePristo MA, Collins JJ. 2010a. Sublethal Antibiotic Treatment Leads to Multidrug Resistance via Radical-Induced Mutagenesis. *Molecular Cell* **37**:311-320.
- Kohanski MA, Dwyer DJ, Collins JJ. 2010b. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature Reviews Microbiology* **8**: 423–435.
- Komise ES. 2008. Nařízení č. 429/2008 ze dne 25. dubna 2008 o prováděcích pravidlech k nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1831/2003, pokud jde o vypracování a podávání žádostí a vyhodnocování a povolování doplňkových látek. Pages 1-65 in *Úřední věstník Evropské unie*, Brusel.
- Komise ES. 2008. Nařízení č. 889/2008 ze dne 5. září 2008, kterým se stanoví prováděcí pravidla k nařízení Rady (ES) č. 834/2007 o ekologické produkci a označování ekologických produktů, pokud jde o ekologickou produkci, označování a kontrolu. Pages 173-256 in *Úřední věstník Evropské unie*, Brusel.
- Komise ES. 2009. Nařízení č. 767/2009 ze dne 13. července 2009 o uvádění na trh a používání krmiv, o změně nařízení (ES) č. 1831/2003 a o zrušení směrnice Rady 79/373/EHS, směrnice Komise 80/511/EHS, směrnic Rady 82/471/EHS, 83/228/EHS, 93/74/EHS, 93/113/ES a 96/25/ES a rozhodnutí Komise 2004/217/ES. Pages 181-208 in *Úřední věstník Evropské unie*, Brusel.

- Komise EU. 2009. Nařízení č. 470/2009 ze dne 6. května 2009, kterým se stanoví postupy Společenství pro stanovení limitů reziduí farmakologicky účinných látek v potravinách živočišného původu, kterým se zrušuje nařízení Rady (EHS) č. 2377/90 a kterým se mění směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/82/ES a nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 726/2004. Pages 11-22 in Úřední věstník Evropské Unie, Štrasburk.
- Komise EU. 2010. Nařízení č. 37/2010 ze dne 22. prosince 2009 o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí v potravinách živočišného původu. Pages 1-72 in Úřední věstník Evropské unie, Brusel.
- Laxminarayar R, Duse A, Wattal C, et al. 2013. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *The Lancet Infectious Diseases* **13**: 1057-1098.
- Lees P, Toutain PL. 2012. The role of pharmacokinetics in veterinary drug residues. *Drug Testing and Analysis* **4**: 34-39.
- Lešnik U, Lukežič T, Podgoršek A, et al. 2015. Construction of a New Class of Tetracycline Lead Structures with Potent Antibacterial Activity through Biosynthetic Engineering. *Angewandte Chemie International Edition* **54**: 3937-3940.
- Levison ME, Levison JH. 2009. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Antibacterial Agents. *Infectious Disease Clinics of North America* **23**: 791-815.
- Lincová D. 2007. *Základní a aplikovaná farmakologie*. Galén, Praha.
- Lochmann O. 1999. *Základy antimikrobní terapie*. Triton, Praha.
- Lochmannová J. 2004. Antibiotická léčba bakteriálních infekcí z pohledu klinika, mikrobiologa a farmakologa. *Interní Medicína* **6**: 15-20.
- Lozano MC, Trujillo M. 2012. Chemical Residues in Animal Food Products: An Issue of Public Health. Pages 163-188 in Maddock J editor. *Public Health – Methodology, Environmental and System Issues*. InTech, Rijeka, Croatia.

- Lüllmann H, Mohr K, Wehling M. 2002: Farmakologie a toxikologie. Grada, Praha.
- Mahamoud A, Chevalier J, Alibert-Franco S, Kern WV, Pages JM. 2007. Antibiotic efflux pumps in Gram-negative bacteria: the inhibitor response strategy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **59**: 1223-1229.
- Mahmoudi R, Gajarbeygi P, Norian R, Farhoodi K. 2014. Chloramphenicol, sulfonamide and tetracycline residues in cultured rainbow trout meat (*Oncorhynchus mykiss*). *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* **17**: 147-152.
- Marinković N, Pašalić D, Ferenčak G, Gršković B, Stavljenić Rukavina A. 2010. Dioxins and human toxicity. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* **61**: 445-453.
- McCracken RJ, Kennedy DG. 2013. Furazolidone in chicken: case study of an incident of widespread contamination. *British Poultry Science* **54**: 704-712.
- McEarchen MG, Warnaby G. 2004. Retail 'Quality Assurance' Labels as a Strategic Marketing Communication Mechanism for Fresh Meat. *The International Review of Retail, Distribution and Consumer Research* **14**: 255-271.
- Ministerstvo zdravotnictví České republiky. 2008. Vyhláška č. 54 ze dne 6.2.2008 o způsobu předepisování léčivých přípravků, údajích uváděných na lékařském předpisu a o pravidlech používání lékařských předpisů. Pages 829-839 in *Sbírka zákonů České republiky, částka 16*.
- Ministerstvo zdravotnictví České republiky. 2019. Akční plán Národního antibiotického programu České republiky (AP NAP) na období 2019-2022. Available from: www.szu.cz/uploads/documents/NAP/AP_NAP/2019/AP_NAP_2019_2022_textova_cast.pdf (accessed February 2019).
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2007. Vyhláška č. 289 ze dne 14. listopadu 2007 o veterinárních a hygienických požadavcích na živočišné produkty, které nejsou upraveny přímo použitelnými předpisy Evropských společenství. Pages 3970-3986 in *Sbírka zákonů České republiky, částka 95*.

- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2014. Strategie bezpečnosti potravin a výživy 2014-2020. Available from: http://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/StrategieBP_cs.pdf (accessed February 2019).
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2015. Zpráva o činnosti systému rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF) v ČR za rok 2014. Ministerstvo zemědělství, Odbor bezpečnosti potravin, Praha. Available from: http://www.svscr.cz/wp-content/files/zivocisne-produkty/Zprava_RASFF_2014.pdf (accessed February 2019).
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2016. Zpráva o činnosti systému rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF) v ČR za rok 2015. Ministerstvo zemědělství, Odbor bezpečnosti potravin, Praha. Available from: http://eagri.cz/public/web/file/484593/RASFF_2015.pdf (accessed February 2019).
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2016. Vyhláška č. 69 ze dne 17. února 2016 o požadavcích na maso, masné výrobky, produkty rybolovu a akvakultury a výrobky z nich, vejce a výrobky z nich. Pages 714-758 in Sběrka zákonů České republiky, částka 26.
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2017. Zpráva o činnosti systému rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF) v ČR za rok 2016. Ministerstvo zemědělství, Odbor bezpečnosti potravin, Praha. Available from: http://eagri.cz/public/web/file/549316/Zprava_o_cinnosti_RASFF_FINAL.pdf (accessed February 2019).
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2018. Zpráva o činnosti systému rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF) v ČR za rok 2017. Ministerstvo zemědělství, Odbor bezpečnosti potravin, Praha. Available from: <http://eagri.cz/public/web/file/598248/RASFF2017.pdf> (accessed February 2019).
- Ministerstvo zemědělství České republiky. 2018. Zpráva o výsledcích sledování a vyhodnocování cizorodých látek v potravních řetězcích v rezort zemědělství v roce 2017. Praha.

- Mohr KI. 2016. History of Antibiotics Research. *Current Topics in Microbiology and Immunology* **398**: 237-272.
- Nagata T, Ashizawa E, Hashimoto H. 2004. Simultaneous determination of residual fourteen kinds of beta-lactam and macrolide antibiotics in bovine muscles by high performance liquid chromatography with a diode array detector. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan* **45**: 161–164.
- Navrátilová P. 2002. Problematika reziduí inhibičních látek v syrovém kravském mléce. *Veterinářství* **2002**: 478-481.
- Navrátilová P, Vyhnálková J, Jeřábková J. 2014. Plotnová difuzní metoda pro stanovení reziduí inhibičních látek v mléce. *Mlékařské listy* **146**: 522-528.
- Nielsen. 2010. *Food analysis laboratory manual*. Springer, New York.
- Nisha AR. 2008. Antibiotic Residues-A Global Health Hazard. *Veterinary World* **1**: 375-377.
- Nwosu VC. 2001. Antibiotic resistance with particular reference to soil microorganisms. *Research in Microbiology* **152**: 421-430.
- Nyč O. 2017. Novinky a trendy v antibiotické léčbě. *Interní medicína pro praxi* **19**: 142-144.
- OIE. 2017. Annual report on antimicrobial agents intended for use in animals. World Organisation for Animal Health (OIE), Paris. Available from: www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/AMR/Annual_Report_AMR_2.pdf (accessed February 2019).
- Okocha RCh, Olatoye IO, Adedeji OB. 2018: Food safety impacts of antimicrobial use and their residues in aquaculture. *Public Health Reviews* **39**: 1-22.
- Oprış O, Coman V, Copaciu F, Vlassa M. 2012. Solid Phase Extraction and High-Performance Thin-Layer Chromatography Quantification of Some Antibiotics from Surface Waters. *Journal of Planar Chromatography* **25**: 516–522.

- Patel PD. 2002 (Bio)sensors for measurement of analytes implicated in food safety: a review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **21**: 96-115.
- Pažout V, Novák P, Malá G. 2017. Stanovení inhibičních látek ve vybraných surovinách živočišného původu. Výzkumný ústav živočišné výroby v.v.i, Praha.
- Pecorelli I, Bibi R, Fioroni L, Galarini R. 2004. Validation of a confirmatory method for the determination of sulphonamides in muscle according to the European Union regulation 2002/657/EC. *Journal of Chromatography A* **1032**: 23–29.
- Phillips I, Casewell M, Cox T, de Groot B, Friis Ch, Jones R, Nightingale Ch, Preston R, Waddel J. 2003. Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **53**: 28-52.
- Pikkemaat MG. 2009. Microbial screening methods for detection of antibiotic residues in slaughter animals. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **395**: 893-905.
- Pisanello D. 2014. *Chemistry of Foods: EU Legal and Regulatory Approaches*. Springer, New York.
- Pizzolato FM, Anater A, Burchard JF, Luciano FB, Meca G, Manyes L, Pimpão CT. 2018. Mycotoxins in dry-cured meats: A review. *Food and Chemical Toxicology* **111**: 494-502.
- Pokludová L, Bureš J, Hera A. 2016. Rezistence k antimikrobikum. *Zemědělec* **35**: 13.
- Race PR, Lovering AL, Green RM, Oссор A, White SA, Searle PF, Wrighton ChJ, Hyde EI. 2005. Structural and Mechanistic Studies of Escherichia coli Nitroreductase with the Antibiotic Nitrofurazone. *Journal of Biological Chemistry* **280**: 13256-13264.
- Rada EHS. 1993. Nařízení č. 315/93 ze dne 8. února 1993, kterým se stanoví postupy Společenství pro kontrolu kontaminujících látek v potravinách. Pages 204-206 in *Úřední věstník Evropské unie*, Brusel.

- Radovnikovic A, Moloney M, Byrne P, Danaher M. 2011. Detection of banned nitrofurans metabolites in animal plasma samples using UHPLC–MS/MS. *Journal of Chromatography B* **879**: 159–166.
- Reig M, Toldrá F. 2008. Veterinary drug residues in meat: Concerns and rapid methods for detection. *Meta Science* **78**: 60-67.
- Roberts JA, Lipman J. 2009. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Critical Care Medicine* **37**: 840–851.
- Samanidou VF, Nikolaidou SI, Papadoyannis IN. 2005. Laboratory of Analytical Development and validation of an HPLC confirmatory method for the determination of tetracycline antibiotics residues in bovine muscle according to the European Union regulation 2002/657/EC. *Journal of Separation Science* **28**: 2247–2258.
- Santajit S, Indrawattana N. 2016. Mechanism of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. Hindawi Publishing Corporation **2016**: 1-8.
- Santilio A, Stefanelli P, Dommarco R. 2009. Fast determination of phenoxy acid herbicides in carrots and apples using liquid chromatography coupled triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* **44**: 584-590.
- Sánchez J, Valentin S, Morales A, Rivera A. 2009. Safety and efficacy of doxycycline in the treatment of rosacea. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* **2009**: 129-140.
- Shareef AM, Jamel ZT, Yonis KM. 2009: Detection of antibiotic residues in stored poultry products. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences* **23**: 45-48.
- Singh S, Shukla S, Tandia N, Kumar N, Paliwa R. 2014. Antibiotic residues: A global challenge. *Pharma Science Monitor* **5**: 184-197.
- Sköld O. 2001. Resistance to trimethoprim and sulfonamides. *Veterinary Research. BioMed Central* **32**: 261-273.

- Spížek J. 1999. Rezistence na antibiotika: Je třeba hledat nové látky a nové postupy. *Vesmír* **78**: 29-32.
- Spížek J. 2007. Rezistence na antibiotika trochu jinak: Vztahy mezi antibiotiky, bakteriemi a člověkem. *Vesmír* **86**: 455-458.
- Srivastava MM. 2011. *HPTLC: High-Performance Thin-Layer Chromatography*. Springer, Heidelberg.
- Stepanek JJ, Lukežič T, Teichert I, Petkovic H, Bandow JE. 2016. Dual mechanism of action of the atypical tetracycline chelocardin. *Biochimica et Biophysica Acta* **1864**: 645-654.
- Stubbings W, Labischinski H. 2009. New antibiotics for antibiotic-resistant bacteria. *F1000 Biology Reports* **1**: 40.
- Su JQ, Wei B, Ou-Yang WY, Huang FY, Zhao Y, Xu HJ, Zhu YG. 2015. Antibiotic Resistome and Its Association with Bacterial Communities during Sewage Sludge Composting. *Environmental Science & Technology* **49**: 7356-7363.
- SVS ČR. 2017. Národní program sledování rezistencí k antimikrobikům u veterinárně významných patogenů. Praha. Informační bulletin č. 4/2017.
- Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, et al. 2018. A crucial list of pathogens. *The Lancet Infectious Diseases* **18**: 234-236.
- Tasho RP, Cho JY. 2016. Veterinary antibiotics in animal waste, its distribution in soil and uptake by plants: A review. *Science of the Total Environment* **563-564**: 366-376.
- Tilahun A, et al. 2016. Review on Chemical and Drug Residue in Meat. *World Journal of Agricultural Sciences* **12**: 196-204.
- Töppner K. 2014. HPLC Analysis with Water as Mobile Phase. *G.I.T. Laboratory Journal*. Available from: <https://www.laboratory-journal.com/applications/analytics/hplc-analysis-water-mobile-phase> (accessed March 2019).

- UNEP. 2017. *Frontiers: Antimicrobial Resistance: Investigating the Environmental Dimension*. United Nations Environment Programme, Nairobi. Available from: https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/22255/Frontiers_2017_EN.pdf?sequence=1&isAllowed=y (accessed February 2019).
- Urban PL. 2016. Quantitative mass spectrometry: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **374**: 1-5.
- ÚSKVBL. 2018. *Spotřeba antimikrobik ve veterinární medicíně v ČR*. ÚSKVBL, Brno. Available from: http://www.uskvbl.cz/attachments/1121_Spot%C5%99eba%20antibiotik%20%C4%8CR%20obdob%C3%AD%202010-2015_leden%202018-final.pdf (accessed February 2019).
- Van der Reijden OL, Zimmermann MB, Galetti V. 2017. Iodine in dairy milk: Sources, concentrations and importance to human health **31**: 385-395.
- Ventola CL. 2015 The Antibiotic Resistance Crisis. Part 1: Causes and Threats. *P&T* **40**: 277-283.
- Vivienne EE, Josephine OO, Anaelom NJ. 2018. Effect of temperature (cooking and freezing) on the concentration of oxytetracycline residue in experimentally induced birds. *Veterinary World* **11**: 167-171.
- Von Nussbaum F, et al. 2006. Antibacterial natural products in medicinal chemistry – exodus or revival? *Angewandte Chemie – International Edition* **45**: 5072–5129.
- WHO. 2001. *Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance*. WHO, Geneva, Switzerland. Available from: www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf (accessed March 2019).

- WHO. 2017. Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections including tuberculosis. World Health Organization, Geneva, Switzerland. Available from: https://www.who.int/medicines/areas/rational_use/PPLreport_2017_09_19.pdf?ua=1 (accessed March 2019).
- WHO. 2019. Ten threats to global health in 2019. WHO, Geneva, Switzerland. Available from: www.who.int/emergencies/ten-threats-to-global-health-in-2019 (accessed March 2019).
- WHO, AGISAR. 2016. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine. WHO, Geneva, Switzerland. Available from: apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255027/9789241512220-eng.pdf?sequence=1 (accessed March 2019).
- Woodward K. 2013. Toxicological effects of veterinary medicinal products in humans. *Issues in Toxicology* **1**: 1-415.
- Yang F, Liu HW, Li M, Ding HZ, Huang XH, Zeng ZL. 2012. Use of a Monte Carlo analysis within a physiologically based pharmacokinetic model to predict doxycycline residue withdrawal time in edible tissues in swine. *Food Additives & Contaminants: Part A* **29**: 73-84.
- Yuan Z, Yang C, Huang WX, Jia J, Zhong BL, Liu ZX, Chen W. 2007. A multi-center randomized controlled clinical trial of doxycycline versus azithromycin for injection in the treatment of acute bacterial infections. *Chinese Journal of Antibiotics* **32**: 37-42.
- Zamoner W, de Freitas FM, Garms DSS, de Oliveira MG, Balbi AL, Ponce D. 2016. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in critically ill acute kidney injury patients. *Pharmacology Research & Perspectives* **4**(6): e00280. DOI:10.1002/prp2.280.

Zhao Y, Cheong JMK, Lee W, Wastney M, Martin BR, Weaver CM. 2010. Tetracycline and Calcium Kinetics Are Comparable for Estimating Bone Resorption in Rats. *The Journal of Nutrition* **140**: 1704–1709.

Seznam tabulek, obrázků a grafů

Tabulka 1: Přehled MRL vybraných antimikrobik ve svalovině, tuku a vnitřnostech různých druhů zvířat určených k produkci potravin.....	11
Tabulka 2: Úroveň rezistence bakterií podle počtu jejich rezistentních kmenů	28
Tabulka 3: Referenční plotnová metoda v ČR: přehled ploten, testovacích kmenů, pH půd a inkubačních podmínek	46
Obrázek 1: Penicilin.....	18
Obrázek 2: Avoparcin.....	19
Obrázek 3: Streptomycin	19
Obrázek 4: Kolistin.....	20
Obrázek 5: Kyselina oxolinová.....	20
Obrázek 6: Erytromycin.....	21
Obrázek 7: Sulfadiazin.....	21
Obrázek 8: Linkomycin	21
Obrázek 9: Doxycyklin.....	22
Obrázek 10: Chloramfenikol	22
Obrázek 11: Metronidazol	22
Obrázek 12: Nitrofurazon	23
Obrázek 13: Distribuce antimikrobik používaných v humánní a veterinární medicíně do životního prostředí	27
Obrázek 14: Situace v Evropě: Procentuální zastoupení multirezistentních kmenů bakterie <i>Klebsiella pneumoniae</i> k cefalosporinům 3. generace, fluorchinolonům a aminoglykosidům	29
Obrázek 15: Schéma systému RASFF	39
Obrázek 16: Zóna inhibice růstu u plotnové metody se vzorkem masa	45
Obrázek 17: Ukázka HPTLC analýzy. Porovnání skvrn různých skupin antimikrobik a vzorků vody	48
Obrázek 18: Schéma HPLC analýzy	49
Obrázek 19: Příklad chromatogramu: Výsledky analýzy svalové tkáně prasat kontaminované oxytetracyklinem	49
Graf 1: Trendy v celkové spotřebě veterinárních antimikrobik v ČR, 2010-2015	37

Seznam použitých zkratek

AGISAR	Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance – Poradní skupina pro integrovaný dohled nad antimikrobiální rezistencí
AHD	1-aminohydantoin (metabolit nitrofurantoinu)
AMOZ	3-amino-5-morpholinomethyl-2-oxazolidinone (metabolit furaltadonu)
AOZ	3-amino-2-oxazolidinon (metabolit furazolidonu)
AP	Akční plán
APCI	Atmospheric pressure chemical ionisation – Chemická ionizace za atmosférického tlaku
ADI	Acceptable Daily Intake – Přijatelná denní dávka
CLA	Conjugated linoleic acid – Konjugovaná kyselina linolová
ČR	Česká republika
ČSÚ	Český statistický úřad
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control – Evropské středisko pro prevenci a kontrolu nemocí
EFTA	European Free Trade Association – Evropské sdružení volného obchodu
EHS	Evropské hospodářské společenství
EMA	European Medicines Agency – Evropská léková agentura
ESI	Electrospray ionisation – Elektrosprejová ionizace
EU	Evropská unie
EFSA	European Food Safety Authority – Evropský úřad pro bezpečnost potravin
ELISA	Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay – Enzymově spojený imunosorbentní test
EPRUMA	European Platform for the Responsible Use of Medicines in Animals - Evropský soubor zásad pro odpovědné užívání léčiv u zvířat
ES	Evropské společenství
FCM	Food contact materials – předměty a materiály určené pro styk s potravinami
FDA	Food and Drug Administration – Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
G+	Gram-pozitivní bakterie
G-	Gram-negativní bakterie
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points – Systém analýzy rizika a stanovení kritických kontrolních bodů

HPLC	High performance liquid chromatography – Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HPTLC	High performance thin-layer chromatography – Vysokoúčinná kapalinová chromatografie na tenké vrstvě
MRL	Maximální reziduální limit
MS	Mass spectrometry – Hmotnostní spektrometrie
NADP+	Nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NADPH	Redukovaná forma NADP+
NAP	Národní antibiotický program
OIE	The Office International des Épizooties – Světová organizace pro zdraví zvířat
PBP	Penicilin-binding proteins – Protein vážící penicilin
PCB	Polychlorované bifenily
RASFF	Rapid Alert System for Food and Feed – Systém rychlého varování pro potraviny a krmiva
RIA	Radioimmunoassay – Radioimunoanalýza
RIL	Rezidua inhibičních látek
SCFCAH	Standing Committee on the Food Chain and Animal Health – Stálý výbor pro potravinový řetězec a zdraví zvířat
SEM	Semikarbazid: metabolit nitrofurazonu
SVS ČR	Státní veterinární správa České republiky
SZPI	Státní zemědělská a potravinová inspekce
USA	United States of America – Spojené státy americké
ÚSKVBL	Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv
UV	Ultraviolet – Ultrafialové záření
VLP	Veterinární léčivé přípravky