

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Rezidua antibiotik v půdě, jejich charakteristika a rizika

Bakalářská práce

Tereza Majerová

Ochrana krajiny a využívání přírodních zdrojů

Prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Rezidua antibiotik v půdě, jejich charakteristika a rizika" jsem vypracoval(a) samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor(ka) uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 05.04.2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Jiřině Szákové, CSc. za cenné rady, díky nimž jsem mohla tuto práci dokončit.

Rezidua antibiotik v půdě, jejich charakteristika a rizika

Souhrn

V humánní i veterinární léčbě bakteriálních infekcí se stále v hojné míře používají antibiotika. Ať už se jedná o antibiotika širokospektrá či méně selektivní, bylo prokázáno, že bez ohledu na cílový organismus se uvolňují a různými cestami se dostávají do životního prostředí, jehož složky kontaminují. Antibiotika se dostávají do půdních ekosystémů, do povrchových i podzemních vod několika cestami. V této práci byla zmíněna kontaminace čistírenským kalem, chlévským hnojem a odpadní vodou použitou na zavlažování zemědělských půd. Tato práce se zabývala především charakteristikou tetracyklinů a rizikem jejich použití, nicméně nebylo možné zcela se vyhnout zmínce jiných druhů antibiotik. Zároveň jsem se snažila nejen nastínit možná doporučení do budoucna jak pro detekci antibiotik v životním prostředí, tak pro odstraňování z jeho různých složek, ale také důvody k omezení jejich nadměrného využívání. Nejzávažnějším důvodem pro omezení užívání antibiotik je schopnost vytvoření rezistence cílového organismu na daná antibiotika, což pak vede k nutnosti neustálého výzkumu nových léčivých přípravků.

Klíčová slova: humánní antibiotika, půda, kontaminace, čistírenský kal

Residues of antibiotics in soils, their sources and risks

Summary

Antibiotics are still widely used in human and veterinary treatment of bacterial infections. Whether they are either of broad-spectrum effect or of selective activity, antibiotics have been shown to be released irrespective of the target organism and to enter the environment through various routes, contaminating the environment. Antibiotics enter soil ecosystems, surface water and groundwater through several routes. Contamination by sewage sludge, manure and wastewater used for irrigation of agricultural soils has been mentioned. This work has mainly dealt with the characteristics of tetracyclines and the risks of their use, but it has not been possible to avoid mentioning other types of antibiotics entirely. Finally, I have tried not only to outline possible recommendations and the future needs; for the detection of antibiotics in the environment, for their removal from its various components, but also reasons to limit their overuse. The most serious reason for limiting the use of antibiotics is the development of resistance of the target organism to the antibiotic, which then leads to the need for continuous research into new drugs.

Keywords: human antibiotics, soil, contamination, sewage sludge

Obsah

1. Úvod.....	1-1
2. Cíl práce.....	2-1
3. Charakteristika a rozdělení antibiotik	1
3.1. Klasifikace antibiotik	2
3.1.1. Veterinární antibiotika	3
3.2. Tetracykliny.....	4
4. Metody stanovení reziduí antibiotik v půdě	6
5. Zdroje a chování antibiotik v půdě	9
5.1. Aplikace čistírenských kalů na půdu	10
5.2. Chlévský hnůj	12
5.3. Aplikace odpadní vody na zavlažování	14
6. Chování antibiotik v půdním prostředí.....	16
6.1. Adsorpce, desorpce a akumulace antibiotik v půdě.....	16
6.2. Vazba antibiotik na půdní komponenty	18
6.3. Biodegradace antibiotik.....	19
6.4. Transport antibiotik do půdy a povrchové vody	20
7. Ekotoxikologické dopady antibiotik na suchozemské prostředí.....	21
7.1. Vliv antibiotik na rozklad organické hmoty a dostupnost živin.....	21
7.2. Bakterie rezistentní na antibiotika	23
7.3. Fytotoxicita antibiotik	24
7.4. Bioakumulace antibiotik v zemědělských plodinách	24
7.5. Potenciální dopad na lidské zdraví	28
8. Nejnovější poznatky o chování tetracyklinů v životním prostředí.....	29
9. Závěr	32
10.Literatura.....	9

1. Úvod

Objev a využití antibiotik vychází ze dvou původně nezávislých vědeckých proudů, které se později spojily. Jeden z těchto proudů je možné označit jako německo-židovskou školu; vědci, kteří pracovali na tomto poli, se hodně zabývali teoretickými úvahami. Druhý proud pak představovala francouzsko-anglická pozitivistická škola, která kladla důraz na popis a pozorování přírodních jevů (Beneš, 2018).

Význam selektivního antibakteriálního účinku si poprvé jasně uvědomil německý chemik a lékař Paul Ehrlich (1854-1915). Do té doby se v léčbě infekčních nemocí používaly neselektivní, tedy málo účinné a zároveň značně toxické medikamenty, jejichž základem byly sloučeniny síry, rtuti nebo arsenu. Ehrlich snil o přípravku, který by dokázal zabít patogenní mikroby v lidském organismu bez nebezpečí pro pacienty. Po několikaletém zkoumání různých sloučenin arsenu objevil nakonec spolu se svým žákem S. Hatou arsfenamin – přípravek, který bylo možné využít v léčbě tehdy značně rozšířené syfilidy. Arsfenamin pod obchodním názvem Salvarsan se pak stal prvním moderním antibakteriálním lékem. S využitím podobného principu zavedl jiný německý lékař, Gerhard Domagk, o 25 let později do léčebné praxe ještě účinnější přípravky – sulfonamidy (Beneš, 2018).

Mezitím, již od konce 19. století, několik mikrobiologů nezávisle zaznamenalo inhibiční působení některých mikroorganismů proti patogenním bakteriím. Avšak teprve v roce 1940 se podařilo skupině vědců vycházejících z objevu Alexandra Fleminga připravit z mikrobiálních kultur první celkově použitelný antibakteriální lék – penicilin. Tím započala éra intenzivního hledání dalších podobně působících substancí, a skutečně byla v rychlém sledu nalezena celá řada různých antibakteriálně účinných produktů, které dostaly souhrnné jméno antibiotika.

Název antibiotika pro nově vznikající skupinu léčiv zavedl americký mikrobiolog židovského původu Selman Abraham Waksman, který je také znám jako objevitel streptomycinu v roce 1943. První antibiotika byla tisíckrát účinnější než sulfonamidy, proto se zdálo přirozené a logické rozlišovat mezi chemickými antibakteriálními sloučeninami (chemoterapeutiky) a přírodními antibakteriálními produkty (antibiotiky). Toto striktní dělení platilo zhruba do poloviny 70. let minulého století. V současné době je toto dělení považováno za překonané, protože s vývojem semisyntetických přípravků se hranice mezi těmito dvěma skupinami začala stále více stírat (Beneš, 2018).

Antibiotika se využívají se nejen v léčení lidských onemocnění, ale jsou také podávána zvířatům, často jen jako prevence. Kromě rezistence je toto problémem pro okolní krajinu – půdní ekosystémy – do nichž se dostávají antibiotika humánní i veterinární. Antibiotika se dostávají do půdy především aplikací čistírenských kalů na půdu, či z chlévského hnoje. V rozvojových zemích pak z aplikace odpadní vody na zavlažování – tato technologie v našich podmínkách není povolena (Britannica, 2022).

2. Cíl práce

Cílem této práce je porovnat a zhodnotit dostupné informace o zdrojích humánních antibiotik v půdě, chování těchto látek v půdním prostředí a jejich případný dopad na půdní biotu. Humánní antibiotika mohou představovat riziko pro půdní ekosystémy, přestože se dostávají do půdy v nižších koncentracích než antibiotika veterinární. Bude vypracován literární přehled zaměřený na zdroje a obsahy humánních antibiotik v půdě. Bude provedeno srovnání výskytu humánních a veterinárních antibiotik v půdě a bude odhadnuto případné riziko zvýšených obsahů humánních antibiotik na půdní organismy.

3. Charakteristika a rozdělení antibiotik

Antibiotika jsou nejčastěji produkty různých půdních mikroorganismů, které selektivním účinkem napomáhají či umožňují přežívání druhů v jejich prostředí. Výzkum a vývoj antibiotik je charakterizován jejich izolací z kultur mikroorganismů nejrůznějších druhů, biosyntézou až čistě chemickou syntézou. V současné době prakticky není rozdíl mezi antibiotiky a synteticky připravenými chemoterapeutiky (Schindler, 2009). Specifika antibiotik ve srovnání s jinými léky shrnuje Tabulka 1.

Tabulka 1: Podstata odlišnosti antibiotik od ostatních léků (Beneš, 2018)

Většina léků	Antibiotika (ATB)
Léky působí na buňky lidského těla.	ATB působí na bakterie přítomné v tkáních.
Léky ovlivňují funkci cílových buněk, ale neničí je.	ATB zabíjejí cílové buňky (patogenní bakterie).
Cílové buňky jsou v lidském organismu vždy lokalizovány na témže místě.	Cílové buňky (patogenní bakterie) se mohou nacházet v různých orgánech či tkáních.
Lidská populace je geneticky velmi homogenní, účinek léku je dobře predikovatelný.	Bakteriální populace je velmi různorodá, účinek empiricky podaného ATB často nelze predikovat.
Léky mají na pacienty stejný účinek, ať jsou léčeni kdekoli.	Účinek antibiotik závisí na místním stavu rezistence; ten může
Účinek léku se v čase nemění.	Účinek ATB se může během léčby změnit v důsledku adaptace bakterií. Čím déle ATB léčba trvá, tím větší je pravděpodobnost jejího selhání.
Léky působí jen na léčené osoby.	ATB mohou ovlivnit mikroflóru okolních osob.
Léková politika nemá vliv na terapeutický efekt léku.	Léková politika může podstatně ovlivnit účinnost ATB léčby.

Asi nejdůležitějším rozdílem je ten, že běžné léky nemají za cíl buňky nijak poškodit. Oproti tomu antibiotika mají cílové buňky, jimiž jsou bakterie, usmrtit. Bakterie se proti tomu mohou bránit a zapojují k tomu různé mechanismy k přežití. Přitom mohou měnit svoje původní vlastnosti, především se stávají rezistentními k použitému antibiotiku. Dalším významným rozdílem je ten, že běžné léky působí stejně kdekoli na světě a budou tak působit i za sto let. U antibiotik tomu však právě kvůli rezistentnosti bakterií na ně není.

Antibiotika lze definovat několika způsoby. Stavba a metabolismus bakterií se v mnohých ohledech liší od stavby a metabolismu eukaryotních buněk. Jednou z možných definic je, že se jedná o látky, které selektivně poškozují struktury nebo metabolismus prokaryotních buněk, a přitom neovlivňují buňky eukaryotní. Toto platí teoreticky, v praxi je to přeci jen složitější a antibiotika často působí i na některé buňky lidského organismu (Beneš, 2018).

Antibiotika se také liší původem. Produktem hub jsou přirozené peniciliny a cefalosporiny, ale většinu ostatních přirozených antibiotik tvoří bakterie. Bakteriální producenti antibiotik většinou pocházejí z rodu *Streptomyces*, který patří do kmene Actinobacteria (Beneš, 2018).

3.1. Klasifikace antibiotik

Každá skupina antibiotik nese podle své povahy skupinové jméno. Penicilin je ze skupiny příbuzných beta-laktamů, kam patří i cefalosporiny zdokonalované v několika dalších generacích (Schindler, 2009).

Antibiotika lze dělit dle několika kritérií.

- Podle způsobu vzniku – chemická syntéza nebo přírodní produkty
- Podle razance (mechanismu) účinku – baktericidní a bakteriostatické
- Podle rozsahu působení – úzkospektrá vs. širokospektrá antibiotika
- Podle nejvýznamnější bakterie, proti které jsou používána – protistafylokoková, protipseudomonádová, makrocyclická atd.
- Podle chemické struktury (peptidová, glykopeptidová, lipoglykopeptidová, heterocyclická, makrocyclická atd.)
- Podle rozpustnosti v různých prostředích – hydrofilní vs. lipofilní (Beneš, 2018)

Dělení podle mechanismu účinku na antibiotika bakteriostatická a baktericidní nemusí být vždy přesné, neboť existují bakteriostatické třídy antibiotik, které ve vyšších koncentracích mohou působit baktericidně (chloramfenikol), naopak některá baktericidní antibiotika zase nemají inhibiční účinek na bakterie ani ve vysokých koncentracích (penicilin). (WikiSkripta, 2022). Peniciliny stejně jako ostatní beta-laktamová antibiotika inhibují syntézu peptidoglykanu čili klíčové komponenty buněčné stěny grampozitivních i gramnegativních bakterií. Jejich účinek je baktericidní a stejně jako u ostatních beta-laktamů závisí na době působení (Beneš, 2018).

V úvodu této práce a částečně také v této kapitole byla popsána historie a vlastnosti penicilinu, ale tato práce bude zaměřená na jinou skupinu antibiotik, která je i přes veliký počet různých tříd antibiotik na trhu jsou některé z těch nejstarších a nejvíce populárních stále mezi pěti nejpoužívanějšími k léčbě nejběžnějších infekcí na světě. Jsou to peniciliny, cefalosporiny, macrolidy, quinolony a **tetracykliny** (Pan & Chu, 2017). Tetracyklinům je věnována samostatná část, kapitola 1.2.

Jednou z dalších možností rozdělení antibiotik je podle cílového organismu, kterému jsou podávána – humánní a veterinární. Rozdělení veterinárních antibiotik do tříd je podobné jako u antibiotik humánních, ale existují určitá specifika. Závisí na jejich farmakokinetice a specifických transformačních procesech v těle zvířat. Mezi příklady veterinárních antibiotik lze uvést například sulfadiazin (SDZ) a fluoroquinolon difloxacin (DIF) (Jechalke, 2014). Tyto dvě

skupiny antibiotik budou v této práci rozlišovány pouze ve vztahu k životnímu prostředí – k tomu, jakými cestami se dostaly do půdy, podzemní vody a dalších složek životního prostředí. Vzhledem k tomu, že riziko výskytu veterinárních antibiotik v půdním prostředí je vyšší, než je tomu v případě těch humánních, je jim věnována následující kapitola.

3.1.1. Veterinární antibiotika

Zdraví hospodářských zvířat je předpokladem pro kvalitní život a vysokou užitkovost těchto zvířat. Převážná část skupin antibiotik se dá využít jak v humánní medicíně, tak při léčbě bakteriálních onemocnění hospodářských zvířat, nicméně existují také skupiny antibiotik, jejichž využití je pouze veterinární (Pavlata, 2022; Kumar et al., 2005). Veterinární antibiotika (VA) jsou důležitá léčiva používaná k léčbě chorob zvířat (Sapkota et al. 2008) a ke zlepšení jejich růstu (Li et al. 2011). Antibiotika používána pro podporu růstu hospodářských zvířat, zejména na prasečích farmách, byla v roce 2006 Evropskou Unií zakázána (Bousek et al. 2018).

V Evropské unii mezi nejpoužívanější VA patří tetracykliny (TC) (33,4 %), peniciliny (25,5 %) a sulfonamidy (11,0 %) (European Medicines Agency, 2016). Antibiotika podávaná hospodářským zvířatům se ve střevě zvířat špatně vstřebávají nebo rozkládají, což vede k vylučování původní sloučeniny v rozmezí 30 % až 90 % původní dávky (Sarmah et al. 2006). Tato antibiotika se dostávají do různých složek životního prostředí různými cestami, přičemž primárním zdrojem je aplikace hnoje a kejdy na půdu (Hamscher et al. 2002).

Jakmile se VA dostanou do půdy, procházejí řadou fyzikálních a biologických procesů. Z nich je právě interakce antibiotik s půdními mikroorganismy nesmírně důležitá, protože půdní mikroorganismy hrají zásadní roli v mnoha půdních procesech, jako je např. přeměna organické hmoty a koloběh živin. Znečištění půdy způsobené antibiotiky může ovlivnit půdní mikrobiální společenstva a změnit nejen jejich složení, strukturu a funkci (Aminov & Mackie, 2007; Urrea et al. 2019), ale také jejich aktivitu (Rousk et al. 2008, 2009; Caban et al. 2018).

Pro veterinární antibiotika také platí, že jsou na předpis (veterinárního lékaře). Jejich použití musí být evidováno jak ze strany veterináře, tak ze strany chovatele. Evidence je pak pravidelně kontrolována příslušnými regulačními úřady, jakými jsou například Státní veterinární správa nebo Ústav pro státní kontrolu a biopreparátů léčiv. Po podání či pravidelném užívání antibiotik u hospodářských zvířat je pro každý lék stanovena tzv. ochranná lhůta, během níž není možné od těchto zvířat používat produkty k potravinářským účelům. Výkaly a moč hospodářských zvířat se buď jako hnůj kompostují, nebo jako kejda skladují.

U skotu stále mezi nejvíce využívaná antibiotika k léčbě infekcí (která se ale užívají také v humánní medicíně) patří penicilin či sulfonamidy, u prasat například chlortetracykliny, u kuřat tetracykliny, u ryb sulfonamidy či oxytetracykliny a u ovcí peniciliny, chlortetracykliny či oxytetracykliny. Penicilin, oxytetracykliny či chlortetracykliny se také využívaly k podpoře růstu a vyšší účinnosti krmných dávek (Kumar et al. 2005).

Obecně v České republice dochází k výraznému snižování spotřeby antibiotik. Již se tolik nepodávají preventivně a používají se pouze k léčebným účelům. Také se již nepodávají jako součást krmiva za účelem zvýšení užitkovosti. Podávají se pouze tehdy, když už se nemoc vyskytuje, nebo tam, kde by se mohla rozšířit (už tam některá nemocná zvířata jsou) (Pavlata, 2022). Konkrétní dávky antibiotik se liší v závislosti na druhu zvířete a jeho stáří. Často se používají kombinace dvou nebo více antibiotik. Některá z těchto antibiotik mají ochrannou

lhůtu, ale některá mohou být podávána nepřetržitě až do doby porážky. Způsoby účinku těchto antibiotik se liší způsobem inhibice syntézy bílkovin, syntézy buněčných stěn, a dokonce i způsobem replikace DNA (Kumar et al. 2005).

Mezi rozšířená veterinární antibiotika patří tetracykliny; jejich vliv na znečištění půdy a povrchové i podzemní vody je středem zájmu mnohých výzkumů (Giger et al. 2003; Kumar et al. 2005). Významná část těchto antibiotik se vylučuje z organismu zvířat v původní formě v moči a výkalech. Tato antibiotika mohou zůstat účinná po dlouhou dobu v hnoji během skladování. Když je hnůj aplikován na půdu, mohou tato antibiotika rovněž dlouhodobě přetrvávat v půdě, a to v závislosti na typu antibiotika a dalších edafických faktorech. Jedním z možných způsobů, jak snížit koncentraci antibiotik v hnoji, je prodloužení doby zrání hnoje před aplikací na půdu. Například některé údaje ukazují, že >1200 mg/kg oxytetracyklinu přítomného v čerstvých výkalech a podestýlce se snížil na <20 mg/kg a <1 mg/kg po 30 dnech zrání. To však bude mít minimální vliv na šíření rezistence vůči antibiotikům v životním prostředí (Kumar et al. 2005). Struktura, výroba a využití tetracyklinů je tedy věnována v následující kapitole větší pozornost než ostatním typům antibiotik.

3.2. Tetracykliny

Tetracykliny (TC) představují skupinu širokospektrých bakteriostatických antibiotik. Příznivé antimikrobiální vlastnosti těchto látek a absence závažných nežádoucích vedlejších účinků vedly k jejich širokému používání v terapii infekcí u lidí i zvířat (Chopra & Roberts, 2001). Právě tetracykliny byly v roce 2013 vyhodnoceny jako druhá nejvíce vyráběná třída antibiotik na světě, v Číně obsadila dokonce prvenství nejen ve výrobě, ale i v užívání (Pan & Chu, 2017). Toto trvá až dodnes, kdy se pohybují na druhém až třetím místě nejvíce využívaných antibiotik v humánní i veterinární medicíně. Mezi třemi nejvíce využívanými antibiotiky je penicilin, na přední příčky se dostaly také cefalosporiny.

Základní kostru vzorce tetracyklinů tvoří dva spojené naftaleny. Obecný vzorec tetracyklinu je uvedený na obr. 1. Jsou málo rozpustné ve vodě a jsou nerozpustné v organických rozpouštědlech. Specifické vlastnosti TC jsou dány fenolickou hydroxylovou skupinou (C-OH), dimethylaminoskupinou (-N(CH₃)₂), acylaminoskupinou (-CONH₂), aminoskupinou (-N(CH₃)₂) a keto-enolovým systémem konjugovaných dvojných vazeb (Dai et al. 2020).

Podle částic navázaných místo R1 – R4 se rozlišují:

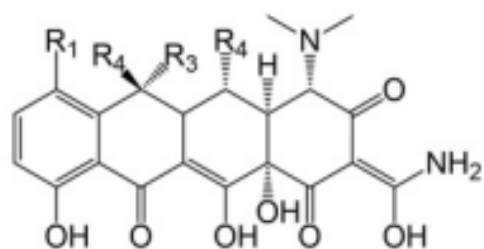
Tetracykliny = TC

Oxytetracykliny = OTC

Chlortetracykliny = CTC

Doxycykliny = DC

Demeklocykliny



Látka	R1	R2	R3	R4
Tetracyklin	H	CH ₃	OH	H
Oxytetracyklin	H	CH ₃	OH	OH
Chlortetracyklin	Cl	CH ₃	OH	H
Doxycyclin	H	CH ₃	H	OH
Demeklocyclin	Cl	H	OH	H

Obrázek 1: Typy tetracyklinu a jejich vzorce (Sollic et al. 2016)

4. Metody stanovení reziduí antibiotik v půdě

K extrakci a kvantifikování reziduí veterinárních antibiotik (a produktů jejich degradace) jsou nezbytné robustní analytické metody. Přítomnost organických sloučenin a velké množství dvojmocných kationtů může výrazně snížit intenzitu odezvy. (Dams et al. 2003; O'Connor & Aga 2007). Dostatečně robustní metodou je analýza pomocí kapalinové chromatografie. (Sollicet et al. 2016)

Interakce těchto látek s matricí biologickou či matricí z životního prostředí mohou mít výrazný dopad na selektivitu a sensitivitu těchto metod, když jsou použité na detekci stopových množství organických kontaminantů. Aby bylo možné se těmto problémům vyhnout, je třeba před vlastní analýzou odstranit nežádoucí látky ze vzorku, ale zároveň zachovat sloučeniny, které chceme detekovat. Tyto metody jsou založené na sonikaci nebo extrakci kapalinou podporované tlakem (PLE). (Blackwell et al. 2004; Jacobsen & Halling-Sørensen 2006; Yang et al. 2004).

TC se vyrábějí biosynteticky a jako takové obsahují malé procento nečistot. Nicméně je známo, že se za určitých podmínek izolace tvoří degradační analogy, které jsou zdrojem kontaminace produktu. Tyto kontaminanty mohou být zdrojem interferencí při extrakci antibiotik z půdy i při vlastním stanovení a jsou to např.:

- epiTC
- anhydroTC

EpiTC, u nichž dochází k epimerizaci na C-4, mohou vznikat ve vodném prostředí, které je mírně kyselé (pH 2-6). Bylo zjištěno, že tento izomer nevzniká ve významném množství při pH 4 ani když se ponechá v roztoku po dobu až 3 dnů při teplotě -20 °C za nepřítomnosti světla. EpiTC se mohou přeměnit zpět na aktivní formu při specifickém alkalickém působení za přítomnosti komplexujícího kovu (Sollicet et al. 2016).

Za silně kyselých podmínek vznikají anhydroTCs ztrátou vody (H na C-5a, HO na C-6) a přenosem protonu (O-11/O-12). Zatímco většina anhydroTC je stabilní, anhydroOTC je nestabilní z důvodu přítomnosti C-5hydroxyly a rychle se z něj tvoří α - a β -apoOTC prostřednictvím Bringovy intramolekulární reakce. CTC je obzvláště citlivý na alkalický rozklad a za alkalických podmínek tvoří isoCTC. (Anderson, 2005; Sollicet et al. 2016)

Výše uvedené kontaminanty mohou také epimerizovat na C-4 za vzniku epi- analogů. Bez identifikace specifických produktů, Onji et al. (1984) uvádějí významnou degradaci (> 90 % ztráty) TC v kyselém prostředí (HCl) v průběhu 4 dnů. Za stejných podmínek dochází k mírné degradaci OTC (40% úbytek) a CTC zůstává převážně neporušený (6% úbytek). Zkoumání výše uvedeného je důležité při zvažování analytických podmínek od extrakce přes chromatografii a detekci. (Sollicet et al. 2016)

Rozpustnost TC je největší v alkoholech, jako jsou např. methanol (MeOH) a ethanol (EtOH), zatímco v ostatních organických látkách, jako jsou ethylacetát (EtOAc), aceton a acetonitril (ACN), je různá. Vodné roztoky, které se často používají k extrakci, poskytují nízkou rozpustnost. TC jsou nerozpustné v nasycených uhlovodících, jako je hexan. (Sollicet et al. 2016)

Tabulka 2: Hodnoty pKa pro OTC, TC, CTC a DC (Anderson, 2005)

	pKa1	pKa2	pKa3
Oxytetracyklin-HCl	3,2	7,5	8,9
Tetracyklin-HCl	3,3	7,8	9,6
Chlortetracyklin-HCl	3,3	7,6	9,3
Doxycyklin-HCl	3,0	8,0	9,2

Hodnoty disociačních konstant pK_a (Tab. 2) souvisejí s rozpustností látek, respektive s jejich kyselostí. U kyselin obecně platí, že čím nižší je jejich hodnota pK_a , tím je kyselina silnější. První hodnota pK_a souvisí s deprotonací hydroxyly C3. Jak naznačují jejich kyselé disociační konstanty, TC obsahují lokalizované náboje při všech hodnotách pH a dosahují pouze dosahují celkového neutrálního stavu jako zwitterionty. Za alkalických podmínek tetracykliny zaujímají konformaci, která umožňuje vodíkovou vazbu mezi N4 a OH12a. Za neutrálních a kyselých podmínek se poloha N4 stává protonizována, čímž se naruší předchozí konformace a dojde k interakci vodíkové vazby s O3. TC jsou také schopny zaujmout několik dalších konformací v závislosti na jejich prostředí (Anderson, 2005; Sollicet et al. 2016). Metodám extrakce antibiotik z různých matric je tedy třeba věnovat značnou pozornost, protože může snadno dojít ke zkreslení výsledku.

Například Sollicet et al. (2015) vyvinuli následující metodu extrakce půdy a použili ji ke stanovení tetracyklinů. Pro extrakci byl použit tzv. McIlvainův pufr (0,1 M kyselina citronová + 0,2 M Na_2HPO_4) při pH 5 s přídavkem 0,1 M EDTA. Reakční směs byla homogenizována a pro zvýšení účinnosti extrakce byla použita ultrazvuková lázeň po dobu 15 min při 25 °C. Poté byla reakční směs centrifugována a pro přečištění extraktu byla použita metoda extrakce na tuhé fázi (SPE, solid phase extraction), kdy pro eluci analytu bylo použito 5 mL MeOH s obsahem 0,1 % HCOOH. Eluáty byly pak odpařeny do sucha proudem dusíku a odparek byl rozpuštěn ve vodě. Tato extrakční metoda byla použita při pH 5, aby se zabránilo degradaci tetracyklinu. Přídavek EDTA má zabránit chelataci s přítomnými dvojmocnými kationty ve vzorcích a učinit tyto kationty dostupnější. EDTA jako chelatační činidlo tyto ionty na sebe dokáže navázat. Pro zvýšení účinnosti extrakce je možno použít například některou z automatizovaných technik, jako je zrychlená extrakce rozpouštědlem (ASE).

Identifikace a kvantifikace antibiotik v extraktech je možná pomocí několika základních metod či jejich kombinací, kdy se jedná zejména o spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie s některou ze známých metod detekce. V případě veterinárních antibiotik se jedná nejčastěji o spojení s UV-Vis spektrofotometrií, detektorem s diodovým polem (DAD) nebo s hmotnostním spektrometrem s trojitým kvadrupólem (Blackwell et al. 2004; Kim & Carlson 2007; Mamani et al. 2009). UV-Vis detekce je stále nejrozšířenější metodou a dosahuje relativně nízkých hodnot detekčních limitů, ale má nízkou selektivitu. Trojitý kvadrupol (QqQ) je upřednostňovaný přístroj k analýze složitých matric díky své citlivosti a selektivitě. Nicméně se ukazuje, že by mohlo docházet k falešně pozitivním výsledkům, zejména u QqQ kvůli nízké rozlišovací schopnosti kvadrupólů (Kaufmann et al. 2015). Využití hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (HRMS) může zabránit právě velkému množství falešně pozitivních výsledků díky vysoké rozlišovací schopnosti metody (Sollicet et al. 2016).

Důležitým závěrem je skutečnost, že citlivost přístrojů na principu QqQ se za posledních patnáct let nesmírně zvýšila, zatímco selektivita detekce zůstala prakticky nezměněna. To si uvědomila také řada výrobců přístrojů, kteří aktivně prosazují zařízení zvyšující selektivitu (např. mobilitu iontů). Méně náročnou alternativou, je použití již zmíněné HRMS metody. V budoucnu nejenže bude HRMS technologie více citlivá, ale také selektivnější díky dostupnosti ještě většího množství dat z hmotnostních spektrometrů s vyšší rozlišovací schopností. (Jechalke, 2014).

Důležitým aspektem hodnocení dopadů antibiotik na půdní prostředí je také posouzení bakteriální rezistence vůči antibiotikům. V tomto případě je k dispozici několik převážně biologických metod. Tyto metody lze rozdělit podle závislosti na dané bakteriální kultuře na:

- a) **Metody závislé na kultuře** jako je profilování izolátů bakterií, jsou omezeny účinností extrakce z půdních bakterií, a jejich nízkou kultivovatelností. Znalost mechanismů rezistence však není nutná a fenotypy rezistence lze snadno spojit s taxonomickou příslušností.
- b) **Metody nezávislé na kultuře** jako je detekce a kvantifikace genů rezistence pomocí PCR nebo metagenomické přístupy, závisí na účinnosti extrakce DNA z půdy a také na tom, zda se podaří získat kvalitní a čisté extrahované DNA. Kromě toho jsou metody založené na PCR omezeny našimi znalostmi mechanismů rezistence, databází genů rezistence a specifičností primerů. Detekce genu rezistence v půdě také nemusí být nutně důkazem jeho exprese a aktivity. Uvolněná DNA z mrtvých buněk nebo vylučováním z půdních bakterií může přetrvávat v půdě a její perzistence je ovlivněna půdními vlastnostmi a může se tedy mezi jednotlivými typy půd lišit (Jechalke, 2014).

Z dalších možností by pak mohly být použity například testy na bázi RNA pro analýzu genové exprese a biologického fungování mikrobů v environmentálních maticích. Nicméně ribonukleázy, které jsou v životním prostředí všudypřítomné, způsobují, že RNA má velmi krátkou životnost a obtížně se s ní manipuluje. Přenositelnost rezistence vůči antibiotikům a hojnost mobilních genetických prvků mohou být dalšími ukazateli selektivní v prostředí (Jechalke, 2014).

5. Zdroje a chování antibiotik v půdě

Půdu lze definovat podle různých úhlů pohledu na ni. Kombinací několika dostupných definic lze, že se jedná o povrchovou vrstvu souše, vyvíjející se v důsledku půdotvorných faktorů a podmínek. Jiný systémový pohled říká, že půda je komplexní, polyfunkční, otevřený, polyfázový strukturní systém tvořící povrchovou část litosféry (Kozák, 2010).

Jedná se o složitý přírodní útvar, který umožňuje skladování a distribuci vody, skladování živin, fixaci rostlin a jejich výživu – tedy růst rostlin, které jsou základem naší výživy a na jejichž produkci je dnes lidstvo stále závislé. Kromě toho je také ale zdrojem organismů, které jsou jako celek označovány jako edafon. Ten zahrnuje jak půdní mikroorganismy, tak půdní bezobratlé živočichy. Patří sem tedy také bakterie, archea a některé skupiny eukaryot. (Šimek, Elhottová, & Pižl, 2021).

Nejdůležitější funkcí bakterií v půdě je rozklad organických sloučenin. Další významnou funkcí některých rodů bakterií je pak produkce bioaktivních látek, z nichž nejvýznamnější jsou humánní a veterinární antibiotická léčiva. K nejznámějším producentům antibiotik patří rod *Streptomyces*, který je známý jako antibiotikum proti tuberkulóze, streptomycin. Streptomycety ale produkují i další významné třídy antibiotik, jimiž jsou např. chloramfenikol, erytromycin, **tetracyklin**, vankomycin či neomycin. (Šimek, Elhottová, & Pižl, 2021). Problémem může být skutečnost, že v půdě a hnojiivu mohou bakterie přeměnit metabolity zpět na původní antibiotikum (Jechalke, 2014).

Půdní bakterie jsou zdrojem potravy pro mnoho dalších půdních organismů, např. prvoky nebo hlístice. Snížením počtu některých mikrobů v důsledku výskytu reziduí antibiotik může dojít k poklesu množství potravy pro jiné půdní organismy, čímž by se mohla jejich populace. Narušení rovnováhy mikroorganismů pak může ovlivnit procesy koloběhu živin, jako je rozklad a mineralizace (Kumar et al. 2005).

Výskyt různých tříd veterinárních antibiotik v různých oblastech životního prostředí, především v půdách, povrchových i podzemních vodách a sedimentech byl již podrobně sledován v mnoha studiích (Hu et al. 2010; Jia et al. 2009; Kemper, 2008; Kim et al. 2011; Kümmerer, 2009; Solliec et al. 2016). Pronikání biologicky aktivních substancí (kterými antibiotika beze sporu jsou) do prostředí vede k otázkám o jejich potenciálním negativním (ekotoxikologickém) vlivu na zdraví a životní prostředí. Kromě toho ale mohou všechny tyto sloučeniny přispět k bakteriální rezistenci – například geny rezistentní na tetracykliny byly nalezeny v bakterii *Escherichia coli* izolované z chlévského hnoje (Chee-Sanford et al. 2001; Sengeløv et al. 2003). Mobilita, sorpce a degradace těchto látek v životním prostředí nejsou dobře známé právě z důvodu jejich velice odlišných fyzikálně-chemických vlastností (Solliec et al. 2016).

V trávicím traktu zvířat i následně v prostředí mohou molekuly antibiotik projít významnými změnami. Existuje několik produktů jejich biotransformací – metabolitů (Kuhne et al. 2000; Søbørg et al. 2004). Všechny tyto metabolity ale i původní sloučeniny, z nichž vznikly, mohou proniknout do prostředí a poté být přeměněny na primární produkty degradace. Bylo prokázáno, že v životního prostředí se organické kontaminanty, jakými jsou i veterinární antibiotika, degradují mnoha různými fyzikálně-chemickými cestami, například oxidací, hydrolýzou, světelným rozkladem a redukčními reakcemi (Fenner et al. 2013; Kim et al. 2011).

Rozklad těchto látek ovlivňují faktory, jakými jsou vlhkost, teplota, obsah organické hmoty v půdě a její další složení (Ingerslev et al. 2001; Kim et al. 2011; Sollicec et al. 2016).

K rozkladu organických kontaminantů v půdě mohou také přispět organické sloučeniny s obsahem síry, popřípadě kovové částice v půdě, a to přímou redukcí či přenosem elektronů. Aromatické nitrosloženiny (kam se řadí například pesticidy) mohou být redukovány přímým přenosem elektronů za přítomnosti sirných sloučenin (po navázání do půdní organické hmoty) (Fenner et al. 2013). V takovém případě funguje organická hmota jako sorbent a iniciátor degradačního procesu redukcí a přenosem elektronů (Zeng et al. 2012; Sollicec et al. 2016).

5.1. Aplikace čistírenských kalů na půdu

Ve Vyhlášce č. 273/2021, Sb. jsou uvedeny analýzy kalů využívaných na zemědělské půdě za rok a jejich četnost dle tun sušiny kalů za rok. Sledují se mikrobiologická kritéria, mezní hodnoty některých rizikových prvků a stanovují se agrochemické parametry (Tabulka 3-5): pH, obsah sušiny, obsah organických látek (vyjádřený jako ztráta žíháním), celkový dusík, amoniakální dusík, dusičnanový dusík, fosfor, draslík, vápník, hořčík. Dále rizikové prvky a látky, mikrobiologické parametry (enterokoky nebo *E. coli*) a organické kontaminanty (PCB = polychlorované bifenyly, AOX = halogenované organické sloučeniny, PAU = polycyklické aromatické uhlovodíky). Obsahy reziduí antibiotik ale mezi sledované parametry zařazeny nejsou.

Tabulka 3: Limitní hodnoty daných mikroorganismů sloužící jako ukazatele pro hodnocení čistírenských kalů I. a II. kategorie (Zákony pro lidi, 2022)

	Indikátorový mikroorganismus	Jednotky	Limitní hodnota (nález/KTJ)
Kal I. kategorie	Salmonella spp.	Nález v 50 g	Negativní
	E. coli nebo Enterokoky	KTJ	<10 ³
			<5.10 ³
	Salmonella spp.	Nález v 1 g sušiny	negativní
	Termotolerantní koliformní bakterie	KTJ v 1 g sušiny	<10 ³
Enterokoky	KTJ v 1 g sušiny	<10 ³	
Kal II. kategorie	Termotolerantní koliformní bakterie	KTJ v 1 g sušiny	<10 ³ -10 ⁶
	Enterokoky	KTJ v 1 g sušiny	<10 ³ -10 ⁶

KTJ – kolonie tvořící jednotku

Tabulka 4: Mikrobiologická kritéria pro použití kalů v zemědělské půdě (Zákony pro lidi, 2022)

Kategorie kalu	Salmonella spp. v 50 g	Enterokoky	Termotolerantní koliformní bakterie
I.	Negativní	<10 ³ KTJ/g (4 vzorky z 5)	Nehodnotí se
		<5.10 ³ KTJ/g (1 vzorek z 5)	
II.	Nehodnotí se	<10 ⁶ KTJ/g sušiny (5 vzorků)	<10 ⁶ KTJ/g sušiny (5 vzorků)

Poznámka: V případě kalů kategorie I lze místo enterokoků stanovit přítomnost *Escherichia coli*.

Mercl et al. (2020) pomocí kapalinové chromatografie (UHPLC, LC-MS/MS) analyzovali čistírenský kal, v němž identifikovali také čtyři druhy antibiotik (Clindamycin, Sulfadoxin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim – Tabulka 5). Pouze v případě clindamycinu byly nalezené hodnoty vyšší než mez detekce stanovení použité analytické metody.

Tabulka 5: Mezní hodnoty koncentrací vybraných rizikových látek a prvků v kalech pro jejich použití na zemědělské půdě a obsahy čtyř druhů antibiotik detekovaných v čistírenském kalu (Mercl et al. 2020; Zákony pro lidi, 2022):

Riziková látka	Mezní (maximální) hodnoty koncentrací v kalech (mg.kg ⁻¹ sušiny)
As – arzen	30
Cd – kadmium	5
Cr – chrom	200
Cu – měď	500
Hg – rtuť	4
Ni – nikl	100
Pb – olovo	200
Zn – zinek	neuvedeno
AOX – halogenované organické sloučeniny	500
PCB (suma 7 kongenerů – 28+52+101+118+138+153+180)	0,6
PAU (suma antracenu, benzo(a) antracenu, benzo(b) fluoranthenu, benzo(k) fluoranthenu, benzo(a) pyrenu, benzo(ghi) perylenu, fenantrenu, fluoranthenu, chrysenu, indeno(1,2,3-cd)pyrenu, naftalenu a pyrenu)	100
Antibiotika (data převzata z práce Mercl et al. 2020)	Detekovaný obsah (ng.g⁻¹ sušiny)
Clindamycin	28,9 ± 5,23
Sulfadoxin	<MDL _{0,3}
Sulfamethoxazol	<MDL _{1,3}
Trimethoprim	<MDL _{2,4}

<MDL = koncentrace pod limitem detekce dané metody

5.2. Chlévský hnůj

Chlévský hnůj patří mezi organická hnojiva statková, stájová. Je to vlastně fermentovaná chlévská mrva, což je nezušlechtěná směs podestýlky, s tuhými a tekutými výkaly zvířat. Jak již bylo výše, antibiotika podávaná hospodářským zvířatům v dietě se takto dostávají do půdy (Neuerburg & Padel 1994, Richter & Římovský 1996).

Pravidelné hnojení půd chlévským hnojem je však pro udržení půdní úrodnosti nezbytné nejen pro udržení žádoucích půdních vlastností, ale také obsahu humusu. Ke hnojení se používá hnůj dobře vyžrálý, obvykle 1x za 3-4 roky v průměrné dávce 30 – 35 t.ha⁻¹. Má-li být optimálně využit, je nutné, aby byl rovnoměrně aplikován na pozemek a ihned orbou zapraven do půdy, jinak dochází ke ztrátám. Zaorávka se provádí na těžkých půdách mělčeji, na lehkých hlouběji.

Hněj se používá hlavně k plodinám s delší vegetační dobou, které jsou náročné na živiny a organickou hmotu. Jedná se zejména o okopaniny (cukrovka, brambory), jednoleté píce, některé druhy olejnin, zeleniny (zejména košťáloviny a plodová zelenina) a vytrvalé kultury (vinice a ovocné sady). Při zvýšené koncentraci obilovin v osevním postupu (nad 50 %) je možno použít nižší dávky chlévského hnoje (kolem 20 t. ha⁻¹) i k obilovinám, zejména v horších půdně klimatických podmínkách.

Při hnojení je na lehčích půdách doporučován cyklus 2-3 letý, na těžších 3-4 letý. K plodinám vysévaným brzy na jaře je nutno hnojit chlévským hnojem na podzim (cukrovka). Pozdní hnojení ochuzuje půdu o vláhu a dochází k dusíkové depresi, která vede ke stagnaci růstu a vývoje mladých rostlin cukrovky. Relativně nejmenší problémy činí jarní aplikace chlévského hnoje k bramborám na lehkých půdách s vysokými srážkami. Ideální je zaorávat chlévský hnůj na podzim s celou dávkou P a K hnojiv. Lehké půdy, hlavně v humidních podmínkách, je vhodnější hnojit na jaře, v suchých podmínkách na podzim (Hlušek, 2004).

Aplikace chlévského hnoje obsahujícího antibiotika (ale také bakterie rezistentní vůči antibiotikům a geny rezistence) může mít krátkodobý i dlouhodobý vliv na kolonie půdních bakterií. Krátkodobě ovlivňují hojnost, diverzitu a schopnost přenosu genů rezistence. Dále se jedná o zvýšení obsahu uhlíku a dusíku, je ovlivněna také hodnota pH. Takové procesy vedou ke změnám složení bakteriálních kolonií v půdě, avšak ne vždy jsou tyto změny patrné také na první pohled, například na listech rostlin (Jechalke, 2014).

Vzhledem k tomu, že antibiotika začala být do krmiva hospodářským zvířatům přidávána ve větším rozsahu až koncem minulého století, nejsou ještě dlouhodobé vlivy na půdu dostatečně prokázány. Hong et al. (2013) řadí do této kategorie například zvýšené množství genů rezistentních na tetracyklin po dobu několika měsíců až let. Také Huang et al. (2013) zmiňují potenciální migraci rezistentních genů do hlubších vrstev půdy a do podzemní vody vertikálním transportem v závislosti na množství genů pro tetracyklin, detekovaného tetracyklinu a hloubkových profilech. Lze shrnout, že zkoumaná antibiotika aplikovaná s hnojem do půdy přinejmenším přechodně zvýšila výskyt a přenositelnost rezistence vůči antibiotikům. (Jechalke, 2014). Obecně je na půdu jako takovou nahlíženo jako na rezervoár bakterií rezistentních vůči antibiotikům.

Ne vždy je ale vliv antibiotik na půdu negativní, jak bylo zjištěno u sulfadiazinu, který se řadí mezi sulfonamidy. Sulfadiazin aplikovaný spolu s hnojem může obohatit určité bakteriální taxony v půdě a zároveň potlačit jiné. Ačkolí environmentální koncentrace antibiotik jsou obvykle hluboko pod inhibičními koncentracemi, tyto subinhibiční koncentrace antibiotik mohou pro bakterie fungovat jako prostředek vnitrodruhové komunikace a regulace (Jechalke, 2014).

Chlévský hnůj znečištěný veterinárními antibiotiky může mít vliv na celou síť půdního mikrobiomu a tyto nežádoucí látky mohou být snadno distribuovány, což má vliv na řadu procesů v ekosystému. Těmi jsou například koloběh živin, rozklad znečišťujících látek (kontaminantů) nebo podpora růstu rostlin. Nicméně biologicky přípustné koncentrace antibiotik v půdě se po aplikaci většinou rychle snižují (Jechalke, 2014).

Záleží ale nejen na druhu antibiotik, kterým jsou hospodářská zvířata léčena, ale také na druhu zvířat, jejich stravě a střevní mikroflóře. Kyselková et al. (2013) tuto skutečnost prokázali na analýze exkrementů krav, kterým byl do krmiva přidán oxytetracyklin, nicméně pak nebyl pozorován zvýšený obsah genů rezistentních na tetracyklin.

Teprve začínáme chápat účinky veterinárních antibiotik aplikovaných spolu s hnojem do zemědělské půdy, na strukturu a funkci půdních bakteriálních společenstev. Antibiotika, která mohou být bakteriemi využívána v subinhibičních koncentracích pro signalizaci a udržování složitých regulačních sítí, mohou mít silné krátkodobé a dlouhodobé dopady na strukturu a funkci půdních společenstev, pokud jsou aplikovány s hnojem ve vysokých koncentracích. Ačkoli zvýšení množství a přenos genů rezistentních na antibiotika v prostředí v reakci s hnojem se předpokládá, že je přechodné, pravděpodobně ovlivňuje lidský mikrobiom, a mohl by tak přispět ke zvýšení hrozby multirezistentních lidských patogenů.

Zatím je však známo jen málo o vztazích mezi dávkou a odezvou a o potenciálních prahových koncentracích antibiotik aplikovaných do půdy s hnojem a tyto parametry by měly být stanoveny v budoucích studiích pro různé půdní typy, systémy chovu zvířat a střídání plodin, aby bylo možné umožnit posouzení krátkodobých a dlouhodobých rizik na lidské zdraví. Za tímto účelem by měla být provedena sofistikovanější analýza chování a účinků různých antibiotických tříd a od nich odvozených látek zohledňující časoprostorovou variabilitu antibiotik a mikroorganismů v ohniscích výskytu v půdě (Jechalke, 2014).

5.3. Aplikace odpadní vody na zavlažování

O možnostech využití odpadních vod pro zavlažování polí se hovoří již od přelomu milénia, dokazuje to například článek z prosince roku 2019 České technologické platformy pro zemědělství, který pojednává mimo jiné také o účincích odpadních vod na půdu. Při experimentu, kdy byly po dobu jednoho roku plodiny zavlažovány odpadní vodou, bylo zjištěno, že parametry kvality půdy a plodin byly významně ovlivněny zavlažováním odpadními vodami. Pozitivním dopadem aplikace odpadních vod bylo zvýšení výnosů plodin na této půdě v porovnání se závlahou studniční vodou. Zvýšil se také celkový obsah N, P, K a organického uhlíku v půdě. Vyšší koncentrace ukazují, že zavlažování odpadními vodami pomáhá zlepšit úrodnost půdy po sklizni. Možným rizikem tohoto způsobu zavlažování může vést k hodnotám koncentrací nad úroveň tolerance plodin. Může docházet k hromadění solí a těžkých kovů, které jsou toxické jak pro zvířata, tak pro lidi. K zajištění bezpečného dlouhodobého opětovného použití odpadních vod k zavlažování je nutné pravidelné sledování úrodnosti a kvalitativních parametrů půdy (Hubáčiková, 2019).

Nedostatek vody na celém světě je dobře zdokumentován (Xie & Lark 2021). Měníci se klima a zvyšující se urbanizace nadále vytvářejí nepřiměřený tlak na životní prostředí, pokud jde o zásoby sladké vody (Bailey et al. 2018). Nedostatek zdrojů sladké vody pro zavlažování není novinkou. Byly vyvinuty alternativy, jak těmto tlakům čelit, včetně odsolování, regenerace vody z dešťového odtoku, sběr dešťové vody a čištění odpadních vod (Cao et al. 2009; Radcliffe, 2006).

Zavlažování odpadní vodou by v suchých oblastech bohatých na úrodnou půdu mohlo pomoci s nedostatkem vodních zdrojů. Vzhledem k tomu, že se tento trend dlouhodobě zhoršuje, zemědělské využití regenerovaných vod by mohlo být vhodným ekologickým řešením. Rizik spojených s touto technologií je několik. Mohou to být patogeny, které se mohou v odpadní vodě vyskytovat, nicméně na ty je třeba pohlížet nejen z hlediska jejich virulence (pravděpodobnost vyvolání onemocnění), ale také na jejich spojení se zavlažovací vodou a

následnou spotřebou produktů. I když existuje velké množství potenciálně patogenních organismů, které lze nalézt v odpadní vodě (USEPA, 2012), relativně malý počet z nich byl v minulosti spojen s výskytem onemocnění z potravin v souvislosti s produkty, a ještě méně jich bylo spojeno s kontaminovanými zavlažovacími zařízeními (Partyka & Bond 2022).

Dalším problémem mohou být bakterie vyskytující se v odpadní vodě, nejběžnější je *E. coli*, různě závažná onemocnění trávicího traktu však také mohou způsobit *Salmonella spp.* či *Listeria spp.* Dále pak různé viry (noroviry, adenoviry) a protozoa – v povrchové vodě jsou nejběžnějšími parazity *Giardia* a *Cryptosporidium*. Tito vodní parazité mohou ležet v cystách (*Giardia*) nebo oocystách (*Cryptosporidium*) týdny až měsíce. *Giardia duodenalis* je střevní parazit způsobující průjemová onemocnění, *Cryptosporidium parvum* způsobuje kryptosporidiosis. Oba parazité se však snadno přenášejí z člověka na člověka a nakažený jedinec může i nemusí vykazovat příznaky, takže nelze s jistotou určit původce onemocnění – nelze takové případy jednoznačně přičítat nákaze z potravin či produktům spojenými se zavlažováním odpadní vodou (Partyka & Bond 2022).

Ještě v roce 2022 neexistovaly žádné přesvědčivé důkazy o tom, že by terciárně upravená voda pro opětovné použití byla rizikovým faktorem pro výskyt onemocnění nebo vypuknutí epidemie v souvislosti s obsahem patogenních organismů a následnou kontaminací plodin (Orlofsky et al. 2016). Dále, se zdá, že údaje naznačují, že – za předpokladu, že jsou dodržovány regulační normy a postupy – používání upravené vody k opětovnému použití k zavlažování plodin nepředstavuje pro spotřebitele větší riziko než jiné zdroje závlahové vody (Partyka & Bond 2022).

Mara et al. (1989) doporučili následující pravidla pro opětovné použití odpadní vody. Ač byla studie provedena v devadesátých letech minulého století, jsou tato doporučení stále aktuální:

- 1) Kritéria kvality vody a monitorování musí být zavedena tak, aby bylo zajištěno zdraví a bezpečnost nejen spotřebitelů produktů, ale i pracovníků v zemědělství.
- 2) Musí být zapojena veřejnost, aby se zvýšila podpora projektů opětovného využívání odpadních vod, včetně plné transparentnosti a přístupu k informacím v reálném čase.
- 3) Posouzení rizik by mělo být dokončeno v místních, případně regionálních podmínkách, aby se zlepšily odhady expozice a pravděpodobnosti onemocnění.

Zemědělské prostředí je však nesmírně složité a s nově se objevujícími nemocemi, novými technologiemi a rychle rostoucím počtem tlaků na životní prostředí musí vědci zjednodušit diskusi o rizicích tak, aby tvůrci zásad používání odpadních vod na zavlažování, pěstitele produktů a spotřebitelé mohli správně rozhodovat o tom, zda tuto technologii použít či nikoliv (Mara et al. 2007; Partyka & Bond 2022).

6. Chování antibiotik v půdním prostředí

Vzhledem k neustále měnícím se podmínkám jsou organismy v půdě vybaveny určitou mírou adaptability. Každý organismus má svoje vlastní ideální podmínky, za nichž může v půdě bez problému existovat (teplota, pH apod.), ale takový stav není pokaždé dosažitelný. Proto si pro přežití musí vytvořit schopnosti, které jim pomohou s nepříznivými podmínkami. Těmi jsou dočasná nepřístupnost kyslíku, malá dostupnost zdroje anorganického uhlíku, energie, živin, a nedostatek vody. Pestrost organismů v půdě předurčuje také různorodé množství mechanismů, kterými se proti takovým podmínkám brání. Je to snížení aktivity daného organismu, změna typu metabolismu, tvorba rezervních látek, a další procesy. Adaptabilita na takové podmínky vede také k rezistenci těchto půdních mikroorganismů na silné účinky toxických látek, jimiž jsou např. organické polutanty, těžké kovy, ale také léčiva s antibiotickými účinky (Šimek, Elhottová, & Pižl, 2021).

Mezi další procesy, jimiž se půdní mikroorganismy brání nepříznivým podmínkám prostředí, je schopnost tvorby biofilmu.

6.1. Adsorpce, desorpce a akumulace antibiotik v půdě

Adsorpce a desorpce antibiotik v půdě závisí také na druhu této půdy a jejích vlastnostech. Podle zrnitosti se rozlišují tři základní typy půd, které vychází z velikosti částic v ní obsažených:

- Lehké – dále se dělí na písčité a hlinitopísčité
- Středně těžké – hlinité a písčitolhinité
- Těžké – jílovohlinité, jílovité a jíly (Kozák, 2010).

Další dělení je možné dle složení, které ovlivňuje jejich pH – kyselé (pH 3-6,6), neutrální (pH 6,7-7,3), zásadité půdy (pH 7,4-7,5). Fernández-Calvino et al. (2015) se zabývali právě stabilitou tří druhů antibiotik – tetracyklinu, oxytetracyklinu a chlortetracyklinu v kyselých půdách. Ukazuje se například, že antibiotika jsou více stabilní v kyselých půdách (pH 3) a jejich rozklad je relativně rychlejší v zásaditém prostředí. Je třeba ale vzít v úvahu skutečnost, že rozklad antibiotik může vést ke změně hodnoty pH půdy (Chen et al. 2014).

Rezidua antibiotik se liší odolností, způsobem přeměny a hodnotami v zemědělských půdách, jakými jsou vstřebávání či degradace. Například půdní adsorpční koeficient K_d tetracyklinu má hodnoty v rozmezí 400-1147 $l \cdot kg^{-1}$ v jílovohlinitých půdách. Z tetracyklinů prokázal nejvyšší adsorpční schopnost chlortetracyklin, tedy hodnoty K_d v rozmezí 1280-2386 $l \cdot kg^{-1}$. Důsledkem toho je delší doba degradace, od 9 do 180 dní (Pan & Chu, 2017).

Proto se při použití odpadní vody, chlévského hnoje nebo čistírenských kalů v systému půda-rostlina mohou antibiotika hromadit v půdě a mohou být přijímána plodinami. Většina antibiotik přítomných v půdě jsou polární sloučeniny s ionizovatelnými funkčními skupinami a předpokládá se, že příjem kořeny je důležitou cestou expozice rostlin, pokud jsou tyto rostliny pěstovány v půdě kontaminované antibiotiky. Předchozí studie ukázaly, že antibiotika a další léčiva se mohou hromadit v různých rostlinných tkáních (Pan & Chu, 2017).

Pokud jde o cílené používání antibiotik na rostliny, v roce 2005 byla v USA registrována pouze dvě antibiotika, streptomycin a oxytetracyklin americkou agenturou pro ochranu životního prostředí (US EPA = United States Environment Protection Agency) pro použití v ochraně rostlin. Asi 53 000 ha ovocných a zeleninových plodin je ročně postřikováno antibiotiky. V informačních listech US EPA (1992 a 1993) bylo uvedeno, že streptomycin i oxytetracyklin nejsou toxické pro ptáky, sladkovodní bezobratlé a včely medonosné. Nicméně streptomycin je však mírně toxický pro ryby a velmi toxický pro řasy (Kumar et al. 2005).

Vývoj a používání transgenních rostlin k produkci levných antibiotik může být také důvodem k obavám o životní prostředí z důvodu přítomnosti antibiotik ve sklizňových zbytcích těchto plodin a v kořenových exudátech v půdě. Tato rezidua mohou fungovat jako dlouhodobá zásobárna antibiotik pro půdní faunu a flóru (Kumar et al. 2005).

Antibiotika se liší v jejich molekulární struktuře, molární hmotnosti a dalších fyzikálně-chemických vlastnostech. Ionizace většiny antibiotik závisí na pH média a hodnotách pKa antibiotik, zatímco antimikrobiální aktivita antibiotik souvisí s různými funkčními skupinami molekul. Stručně řečeno, tetracykliny jsou amfoterní sloučeniny stabilní v kyselinách, ale ne v zásadách. Tyto sloučeniny tvoří chelátové komplexy s ionty dvojmocných kovů a beta-diketony, které jsou silně chelátové, vážou se na proteiny a jsou náchylné k fotodegradaci (Kumar et al. 2005).

Po uvolnění antibiotik do půdního prostředí jsou pro určení jejich antimikrobiální aktivity důležité dva procesy:

a) Chemická komplexace:

Chemická komplexace nebo chelatace antibiotik s různými organickými nebo anorganickými sloučeninami nebo ionty může způsobit, že antibiotika jsou v půdě nebo hnoji neúčinná. Je to dobře známo, že tetracykliny chelatují s dvojmocnými a trojmocnými kovy, jako jsou Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} a Al^{3+} . To naznačuje, že přítomnost těchto specifických kovů v půdě nemusí mít vliv pouze na účinnost antibiotik, ale také na jejich degradační produkty. V půdách a hnoji se vyskytují vysoké koncentrace těchto kovových iontů, takže lze očekávat, že tetracykliny a jejich biodegradační produkty budou ztrácet svou účinnost poměrně rychle. Železo blokuje akumulaci a aktivitu tetracyklinů v bakteriích (Kumar et al. 2005).

b) Produkty rozkladu:

Dalším faktorem, který ovlivňuje účinnost antibiotika na nativní bakterie jsou jeho degradační produkty. Ukazuje se, že produkty degradace tetracyklinu, chlortetracyklinu a oxytetracyklinu měly podobnou účinnost na kalové i půdní bakterie jako mateřské sloučeniny. Jiné degradační produkty naopak vykazují jiný účinek, než je tomu u mateřského antibiotika. Míru degradace antibiotik porovnávali ve své přehledné práci Kumar et al. (2005). Zaznamenali, že účinnost oxytetracyklinu klesala s časem jak za aerobních, tak za anaerobních podmínek u aktivovaného kalu a vybraných půdních bakterií, což naznačuje nedostatečnou sílu degradačních produktů. Účinnost ciprofloxacinu však zůstala vysoká, takže degradační produkty pravděpodobně měly

podobnou antimikrobiální aktivitu. V těchto studiích zůstala antibiotika, jako např. oxytetracyklin, účinná po dobu až 100 dnů (Kumar et al. 2005).

6.2. Vazba antibiotik na půdní komponenty

Vazba chemických sloučenin v půdě je charakterizována průběhem adsorpční izotermy (K_d , pevná látka), což je vztah mezi adsorbovanou koncentrací a koncentrací v roztoku v rovnovážném stavu (Tabulka 6). Hodnoty K_d , pevná látka jsou také známy jako distribuční koeficienty. Antibiotické sloučeniny s vysokým K_d jsou silně vázány na půdy a jsou méně mobilní, zatímco sloučeniny s nižšími hodnotami K_d jsou volně vázány na půdu a mohou být vyluhovány z půdy do podzemních nebo povrchových vod. Silně vázaná antibiotika jsou naopak s větší pravděpodobností transportována se sedimenty v povrchových tocích. Mobilita antibiotik se dále zvyšuje, pokud jsou tyto sloučeniny vázány na rozpuštěný organický uhlík v hnoji nebo půdě (Kumar et al. 2005).

Míra vazby antibiotik v půdě závisí na druhu antibiotika a na vlastnostech půdy. Mezi tyto vlastnosti patří chemická struktura antibiotika, voda, rozpustnost, pH půdy, obsah jílovitých minerálů v půdě a organická hmota v půdě. V kyselých půdách získávají zásaditá antibiotika protony a stávají se kationty ($-NH_3^+$), zatímco kyselá antibiotika zůstávají neionizovaná ($HOOC^-$). V zásaditých půdách zásaditá antibiotika zůstávají také neionizovaná ($-NH_2$), zatímco kyselá antibiotika se ionizují (OOC^-). Amfoterní antibiotika (jako tetracykliny a některé sulfonamidy) mohou existovat jako anionty, kationty, případně zwitterionty ($-OOC^-AMH^+$), v závislosti na pH média. Kationtová antibiotika se vážou na půdu, na půdní částice prostřednictvím iontové interakce, zatímco kyselá a amfoterní antibiotika se mohou na půdu vázat prostřednictvím neiontové interakce (Kumar et al. 2005).

Tabulka 6: Rozsah sorpčních hodnot antibiotik (K_d , pevná látka) na různých půdách a sedimentech (Kumar et al. 2005)

ATB	K_d , pevná látka ($l.kg^{-1}$)
Tetracyklin	400-1620
Oxytetracyklin	420-1030
Enrofloxacin	260-6310
Kyselina oxolinová	0,3-116
Efrotomycin	8-290
Tylosin	8,3-128
Sulfamethazine	0,6-31
Metronidazol	0,5-0,7
Olaquinox	0,7-1,7
Chloramphenicol	0,2-0,4

6.3. Biodegradace antibiotik

Odolnost antibiotik vůči prostředí je klíčovým faktorem k určení jejich nepříznivého dopadu na životní prostředí. Perzistence antibiotik závisí nejen na vlastnostech antibiotik, ale také na jejich účincích na životní prostředí – na vlastnostech půdy a povětrnostních podmínkách. Důležitými vlastnostmi antibiotik majícími vliv na jejich perzistenci jsou fotostabilita, vazba a adsorpce na pevné půdní látky, biodegradace a rozpustnost ve vodě (Kumar et al. 2005).

Biodegradace navíc závisí na teplotě; nižší teploty snižují rychlost degradace. Pomalá biologická degradace antibiotik při nízkých teplotách může být problém v regionech, kde se hnoj často aplikuje na půdu na podzim nebo v zimě, kdy jsou teploty nízké a půda může být zmrzlá. Za těchto podmínek antibiotika v hnoji nebo půdě přetrvávají déle, a poskytují tak větší možnosti šíření v životním prostředí, například prostřednictvím splachu z tajícího sněhu (Kumar et al. 2005).

Poločas rozpadu antibiotik se pohybuje v rozmezí od několika dnů až po 300 dní. Například poločas rozpadu oxytetracyklinu v mořských sedimentech v hloubce 5 až 7 cm byl delší než 300 dní ve srovnání s 87 až 300 dny v hloubce 5 až 7 cm. Poločas rozpadu mnoha antibiotik se prodlužuje při nízkých teplotách a ve tmě, což naznačuje, že antibiotika mohou přetrvávat déle v hlubších vrstvách půdy a v hlubokých vodách. (Kumar et al. 2005). V jedné inkubační studii při třech teplotách (30, 20 a 4 °C) studovali perzistenci sedmi antibiotik, mezi nimiž byl i penicilin a chlortetracyklin, běžně používaných v živočišné výrobě. Po 30 dnech zůstalo v půdě při 30 °C 44 % chlortetracyklinu, při 20 °C to bylo 88 % chlortetracyklinu a téměř všechny chlortetracykliny zůstaly v půdě při 4 °C. (Gavalchin & Katz, 1994). Tato studie ukázala, že perzistence antibiotik se zvyšuje s poklesem teploty. Podobný trend byl pozorován také u ostatních analyzovaných druhů. Je pravděpodobné, že mnoho antibiotik v hnoji aplikovaném na podzim zůstane ve své původní formě po dobu delší než 30 dnů v severních zeměpisných šířkách, kde je půda sezónně zmrzlá (Gavalchin & Katz, 1994; Kumar et al. 2005). Snižování dávky hnoje do půdy snižuje výtěžnost chlortetracyklinu, pravděpodobně v důsledku jeho adsorpce na půdu nebo v důsledku jeho rozkladu mikroorganismy (Kumar et al. 2005).

Fotodegradace různých antibiotických sloučenin v přírodních tocích může být zvýšena přítomností iontů (dusičnany, chloridy a organické sloučeniny, jako jsou huminové kyseliny (Kumar et al. 2005). U každé znečišťující látky může docházet k abiotickým přeměnám v životním prostředí pomocí hydrolýzy a fotolýzy. Vzhledem k tomu, že většina antibiotik je obvykle určena k perorálnímu užívání a jsou odolná vůči hydrolýze, výzkum naznačuje, že přímá a nepřímá fotolýza antibiotik je hlavním mechanismem pro jejich abiotické přeměny v povrchových vodách. Zatímco k přímé fotolýze dochází v důsledku přímé absorpce slunečního světla, nepřímá fotolýza zahrnuje fotovoltaiické záření či přírodní fotosensitizátory, jako jsou dusičnany a huminové kyseliny, které mohou buď urychlit, nebo zpomalit fotolýzu antibiotik. Je známo, že tetracykliny jsou velmi citlivé na fotodekompozici (Kumar et al. 2005).

Jak již bylo zmíněno, přetrvávání antibiotik v půdním prostředí však závisí na mnoha faktorech, jako je vazba na půdu, biodegradace, chemická komplexace nebo chelatace, hydrolýza a fotolýza (Kumar et al. 2005). Důležitým faktorem, který ovlivňuje potenciální degradaci antibiotik v půdě je jejich koncentrace.

Pan & Chu (2016b) prokázali, že koncentrace antibiotik v půdě má vliv na dobu jejich degradace (zjišťovali tyto vztahy u tetracyklinu, sulfamethazinu, norfloxacinu, erythromycinu a chloramphenicolu). Vyšší koncentrace antibiotik v půdě vedou k jejich pomalejší degradaci. Dále má na tento aerobní či anaerobní proces vliv také fyzikálně-chemické vlastnosti daných antibiotik, nebo provzdušnění půdy. V neposlední řadě také to, zda byla půda hnojena.

Hnojivo totiž slouží jako jakási zásobárna pro bakterie nesoucí geny antibiotické rezistence. Wang et al. (2015) detekovali vysoká množství reziduí antibiotik a genů antibiotické rezistence dokonce i v zelenině (salát a čekanka) vypěstované na hnojené půdě. Záleželo na druzích genů antibiotické rezistence (například geny pro ochranu rRNA nebo geny pro enzymatickou přeměnu), zda se vyskytly v celé rostlině daného druhu zeleniny či jen v některé z jejích částí. Z antibiotik to pak byly tetracykliny a quinolony, které byly detekovány ve hnojené půdě jak v rhizosféře (část půdy, která je prostoupena a ovlivněna kořeny) tak i v okolní půdě.

Předpovědět environmentální stabilitu antibiotik ve vodě a tekutém hnoji se pokusili Kuhne et al. (2000). Vytvořili model bioreaktoru se zařízením pro míchání a ventilaci. Ten byl použit ke zkoumání stability tetracyklinu v provzdušněném a neprovzdušněném Ringerově roztoku a tekutém prasečím hnoji po dobu 8 dnů. Koncentrace tetracyklinu se v průběhu pokusu významně snížila. Nejrychlejší degradace byla pozorována v provzdušněném tekutém hnoji.

6.4. Transport antibiotik do půdy a povrchové vody

Mobilita pesticidů a anorganických sloučenin v životním prostředí je dobře zdokumentována, ale existuje jen málo údajů o chování antibiotik v půdě. Ve vědecké literatuře se začalo objevovat pouze několik studií v půdním sloupci nebo lyzimetru. Vyloučení antibiotik z životního prostředí závisí na jejich fyzikálně-chemických vlastnostech, půdních fyzikálně-chemických vlastnostech, aplikaci organického odpadu a počasí. Sulfonamidy vykazovaly vysoký potenciál k přenosu do podzemních vod, což lze pravděpodobně přičíst jejich nízkému půdnímu rozdělovacímu koeficientu. Rabølle & Spiild (2000) provedli analýzu čtyř antibiotik v půdním sloupci (mmj. také oxytetracyklinu) při stabilním vodním režimu a zjistili, že většina z nich zůstává v několika horních centimetrech půdního sloupce. Povrchová půda má vyšší koncentraci organické hmoty než v podpovrchových vrstvách, což podporuje adsorpci antibiotik, která snižuje jejich vyplavování směrem dolů. Aplikace zvířecího hnoje do půdy může snížit vyloučení antibiotik tetracyklin-hydrochloridu (Pan & Chu 2017).

Hodnota pH půdy ovlivňuje také podíl ionizovaných organických sloučenin (Figueroa-Diva et al. 2010; Srinivasan et al. 2013) a většina antibiotik je poměrně dobře rozpustná ve vodě a schopná ionizace v závislosti na pH půdy (Thiele-Bruhn et al. 2004). Hamscher et al. (2002) nenalezli v podorníci (pH 4,5) žádná rezidua tetracyklinu, zatímco Aust et al. (2008) zjistili chlortetracyklin až do hloubky 40 cm (pH 7,5).

Pan & Chu (2017) provedli sérii inkubačních pokusů s cílem prozkoumat míru vyplavování tetracyklinů, sulfonamidů, makrolidů, chinolonů a chloramfenikolu za různých simulovaných srážkových podmínek, které by mohly nastat v polních podmínkách. Kyselý déšť urychluje uvolňování antibiotik ze zvířecího hnoje do povrchové vrstvy půdy, zatímco dlouhotrvající deště podporovaly migraci antibiotik v půdě směrem dolů (Pan & Chu 2017).

Další faktory, jako je rozpustnost ve vodě, disociační konstanty a sorpčně-desorpční procesy, jakož i rozdělovací koeficienty antibiotik, ovlivňují jejich vylučovací potenciál. Vyloučení antibiotik z prostředí úzce souvisí s jejich adsorpčními a perzistenčními charakteristikami v půdě, ale není charakterizováno pouze jejich hydrofobními vlastnostmi (Pan & Chu 2017).

Jak již bylo uvedeno, v hnoji je přítomno značné množství antibiotik. Aplikace hnoje na půdu tak představuje riziko vstupu těchto látek do podzemních nebo povrchových vod. Koncentrace antibiotik v hnoji často překračují koncentrace antibiotik v bodě zlomu rezistence těchto antibiotik. Ty mohou být také přenášeny z hnoje do podzemních vod prostřednictvím perkolace a do povrchových vod prostřednictvím splavenin. Existuje určitá možnost, že vysoce mobilní antibiotika se mohou nejprve vyluhovat do podzemních vod a poté se do povrchových vod dostat laterálním transportem. Mobilní antibiotika naopak představují potenciál být toxická pro lidský organismus, pro některé rostliny a půdní organismy nebo mohou pouze vytvářet prostředí pro rozvoj rezistence vůči antibiotikům u původních půdních bakterií (Kumar et al. 2005).

Zdá se, že antibiotika, jako jsou tetracykliny, virginiamycin a tylosin, která jsou pevně adsorbována na jílovité minerály půdy, mají omezenou schopnost dostat se do půdního roztoku či podzemní vody. Mohou se ale do povrchových vod dostat se splavenými půdními částicemi. S výjimkou erytromycinu a některých sulfonilmočovín se většina antibiotik v povrchových vodách vyskytuje pouze v nepatrných množstvích a často pod úrovní detekovatelných hodnot. (Kumar et al. 2005). Vědecká komunita intenzivně hledá účinné a praktické řešení problému odstranění antibiotik z vody. Oblasti výzkumu lze rozdělit na dvě: biochemické a fyzikálně-chemické technologie čištění. Hlavními fyzikálně-chemickými postupy, které se používají k odstraňování TC, jsou adsorpce, oxidace, membránové procesy a elektrochemické metody (Scaria et al. 2021).

7. Ekotoxikologické dopady antibiotik na suchozemské prostředí

Ačkoli jsou antibiotika určena k potlačování růstu a vývoje bakterií u lidí a zvířat, mohou být tato léčiva potenciálně nebezpečná pro jiné organismy v přírodě. Vzhledem k tomu, že hnuj s obsahem antibiotik se aplikuje hlavně na půdu jako zdroj živin pro rostliny, existují určité obavy ohledně dopadu antibiotik na rostliny a jejich růst a také na půdní faunu, aktivitu půdních enzymů a koloběh živin. Tyto dopady mohou být přímé, například toxicita antibiotik pro půdní faunu a živočichy, nebo nepřímé, jako je dostupnost živin v důsledku změny mikrofauny a mikroflóry. Údaje o suchozemské ekotoxicitě pro řadu antibiotik užívaných v zemědělství ukazují, že některé z těchto antibiotik mohou být toxické pro půdní organismy a rostliny již při velmi nízkých koncentracích (Kumar et al. 2005).

7.1. Vliv antibiotik na rozklad organické hmoty a dostupnost živin

Byl prokázán zvýšený výnos fazolí pinto v písčitohlinité půdě v přítomnosti chlortetracyklinu a oxytetracyklinu. Naopak výnos sušiny nadzemní biomasy a kořenů a příjem živin (Ca, Mg a N) se snížily. Bylo také zaznamenáno o 52 a 67 % méně hlízek na kořenech. V

jílovitohlinité půdě ale podobný účinek při stejných koncentracích antibiotik zaznamenán nebyl. Tyto výsledky ukazují, že účinky antibiotik závisí na vlastnostech půdy a citlivosti rostlin. (Batchelder, 1982; Kumar et al. 2005). V jiném experimentu Pan & Chu (2016a) zjistili, že produkce fazolí pinto (*Phaseolus vulgaris*) byla v přítomnosti tetracyklinů snížena, u pšenice (*Triticum aestivum*) a kukuřici (*Zea mays*) naopak tetracykliny zvýšily příjem živin.

Rozklad hnoje závisí na různých mikrobiálních procesech, které zase závisí na typech a způsobech rozkladu a počtu aktivně zapojených mikroorganismů. Vylučovaná antibiotika mohou ovlivňovat rozklad krmiva dvěma způsoby:

- a) Antibiotika mohou snižovat aktivitu mikroorganismů, které se aktivně podílejí na rozkladu organické hmoty
- b) Antibiotika mohou selektovat rezistentní mikroorganismy, které se obvykle rozkladu hnoje neúčastní, a tím narušovat přirozené cykly živin (Kumar et al. 2005).

Vzhledem k rozsáhlému využití tetracyklinů většina dostupných důkazů naznačuje, že tetracyklinová antibiotika jsou všudypřítomná; vyskytují se napříč suchozemským i vodním prostředím (Hernandez et al. 2007; Liu et al. 2009; Andreu et al. 2009; Chen et al. 2011). Několik studií hodnotilo vliv tetracyklinových antibiotik na půdní mikroorganismy, především na půdní mikrobiom (Ma et al. 2019) a rezistenci (Schmitt et al. 2006; Srinivasan et al. 2008; Wu et al. 2010; Kang et al. 2016; Song et al. 2017).

Méně studií se však zaměřuje na účinky tetracyklinových antibiotik na funkce půdních mikrobů. Thiele-Bruhn (2005) studoval vliv devíti farmaceutických antibiotik na mikrobiální redukcí Fe^{3+} a pozoroval inhibici tohoto procesu v závislosti na dávce, která se řídila především půdními vlastnostmi, zejména organickou hmotou, ale také pH půdy. Wei et al. (2009) pozorovali významné narušení struktury mikrobiálních společenstev a půdních enzymatických aktivit v přítomnosti tetracyklinu. Yang et al. (2010) rovněž pozorovali vliv tetracyklinu na strukturu bakteriálního společenstva v podobě snížení bakteriální diverzity.

Nicméně, navzdory tomu, že se podílí na přeměně organické hmoty (Rousk & Bååth 2011), účinek tetracyklinu na růst půdních bakteriálních společenstev nebyl doposud studován. Jiné antibiotikum (oxytetracyklin) patří do stejné skupiny, bylo dříve zkoumáno ve dvou různých studiích, ale v každé studii byl uvažován pouze jeden typ půdy (Rousk et al. 2008, 2009).

Santás-Miguel et al. (2020) zhodnotili účinek tetracyklinu na růst půdního bakteriálního společenstva. Rovněž se zaměřili na studium vlivu půdních vlastností na míru toxicity tetracyklinu na růst půdního bakteriálního společenstva. Jejich počáteční hypotézy byly následující:

- 1) přídavek tetracyklinu do půdy bude inhibovat bakteriální společenstvo
- 2) velikost inhibice bude ovlivněna obecnými půdními faktory
- 3) toxicitu tetracyklinu na půdní bakteriální společenstva lze předpovědět pomocí obecných půdních charakteristik. (Santás-Miguel et al. 2020)

Aby bylo možné testovat tyto hypotézy, bylo použito dvaadvacet typů půd, které se lišily svými vlastnostmi (především obsahem organické hmoty a pH), byly vybrány a obohaceny tetracyklinem o různých koncentracích a následně proběhlo hodnocení růstu bakteriálního společenstva ve třech různých inkubačních dobách. Zjištěné výsledky této studie mohou poskytnout relevantní informace o případných účincích tetracyklinu, který se může šířit do různých složek životního prostředí, a také působit škody na bakteriální společenstva, což představuje následné nebezpečí pro životní prostředí jako celek. (Santás-Miguel et al. 2020)

Vliv tetracyklinu na růst půdního bakteriálního společenstva by mohl být důležitý vzhledem k půdám znečištěným vysokými koncentracemi tohoto antibiotika. Výsledky této studie ukazují, že tento účinek sice přetrvává, ale s časem postupně klesá. Nicméně množství tetracyklinu v půdě do značné míry závisí na půdních vlastnostech, a lze ho kontrolovat přijetím postupů hospodaření se znečištěnou půdou, které zvyšují obsah organické hmoty v půdě a udržují kyselé-neutrální pH půdy. Kromě toho lze potenciální riziko toxicity tetracyklinu na růst půdního bakteriálního společenstva předpovědět pomocí údajů odpovídající snadno určitelným parametrům, jako je rozpuštěný organický uhlík, pH půdy a KVK (Santás-Miguel et al. 2020).

7.2. Bakterie rezistentní na antibiotika

Chlévský hnůj je potenciálně velkým zdrojem antibiotik i bakterií odolných vůči antibiotikům. Jejich uvolňování do životního prostředí při aplikaci hnoje na půdu tak představuje problém pro antibiotickou léčbu lidí i zvířat. K selekci rezistence vůči tetracyklinu dochází už ve střevech hospodářských zvířat a při aplikaci hnoje na půdu pak dochází k uvolnění těchto rezistentních bakterií do životního prostředí. Tyto geny rezistence se mohou potenciálně mobilizovat a v půdě přetrvávat. Existuje také stále více důkazů o přenosu genů rezistence ze zvířecích na lidské patogeny. Jednou z možných cest je přenos těchto genů z masa a zvířecích exkrementů na střevní patogeny jako je např. *Salmonella*, *Campylobacter* a další. Bylo také prokázáno, že *Salmonella* sp. je schopna mezidruhového přenosu r-plazmidů, včetně přenosu rezistence k antibiotikům na *Escherichia coli*. Další možností přenosu antibiotické rezistence na zvířata nebo člověka je prostřednictvím odpadních vod nebo odpadů, které jsou snadno přístupné dětem a domácím zvířatům (Kumar et al. 2005).

Příčinou k obavám není jen vývoj bakterií rezistentních vůči antibiotikům. Rozsáhlé používání antibiotik k neléčebným účelům ohrožuje také účinnost nových antibiotik, protože některá nová antibiotika pro humánní použití jsou podobná antibiotikům používaným u hospodářských zvířat (Kumar et al. 2005). Exprese genů, díky nimž jsou bakterie odolné vůči antibiotikům, vedla k vytvoření syntetických genů, které byly zavedeny do bakterií prostřednictvím plazmidů. Geneticky modifikované bakterie neexprimovaly geny rezistence, proto jsou na antibiotika citlivé. Tyto postupy mohou být v budoucnu využity k přeměně bakterií rezistentních vůči antibiotikům na bakterie citlivé na antibiotika na různých místech infekcí u lidí a zvířat (Kumar et al. 2005).

7.3. Fytotoxicita antibiotik

Studie fytotoxických účinků různých tříd antibiotik je stále málo a většina z nich byla testována spíše *in vitro* než v půdních podmínkách. Fytotoxické účinky antibiotik se liší nejen mezi jednotlivými druhy rostlin, ale také mezi danými antibiotickými sloučeninami. Přítomnost sulfadiazinu (SDZ) v půdě může např. změnit geotropismus kořenů, počet postranních kořenů a příjem vody rostlinami – jak bylo prokázáno u vrby křehké (*Salix fragilis*) a kukuřice (*Zea mays*) (Michelini et al. 2012). Účinky antibiotik tedy ovlivňují rhizosféru včetně mikrobiálního společenstva (Jechalke, 2014).

Z vlastností rostlin, které mohou být fytotoxicitou antibiotik negativně ovlivněny a také jsou nejvíce studovány, jsou klíčení, růst a vývoj. Pan & Chu (2016a) zjistili, že antibiotika měla menší fytotoxický účinek na klíčení semen než na prodlužování kořenů či výhonků. Antibiotika mohou obtížně pronikat přes obal semen, takže nemohou být absorbována semenem a ovlivnit tak růst embryonálních kořenů. Prodlužování kořenů je pak citlivějším parametrem růstu než prodlužování výhonků a klíčení semen.

Antibiotika mají bifázický účinek na růst rostlin charakterizovaný jak hormezí se stimulací nízkými dávkami, tak i inhibicí vysokými dávkami (Li, 2006). Tetracykliny způsobují významné zvýšení aktivity stresových proteinů glutathion S-transferáz a peroxidázy v rostlinách kukuřice, ale ne ve fazolích pinto (Farkas et al. 2007). Jin et al. (2009) zjistili, že inhibiční účinek sulfonamidů na prodlužování výhonů byl významně větší než na prodlužování kořenů. Hillis et al. (2011) uvedli, že mrkev je citlivější na tetracykliny než salát a vojtěška. Nejdůležitějším faktorem určujícím fytotoxicitu byla hydrofobicita (Pan & Chu, 2016a). Většina koncentrací antibiotik použitých k testování fytotoxicity *in vitro* se však v půdě v životním prostředí pravděpodobně nevyskytuje a experimentální parametry také ovlivňují výsledky testů toxicity, někdy až o řád (např. doba trvání expozice a koncentrace antibiotik) (Pan & Chu, 2017).

7.4. Bioakumulace antibiotik v zemědělských plodinách

Stále větší pozornost je věnována příjmu antibiotik rostlinami z půd, které jsou kontaminovány antibiotiky, zavlažovány vodou kontaminovanou antibiotiky nebo upravenou odpadní vodou (Pan et al. 2014; Wu et al. 2013) nebo ošetřeny chlévským hnojem (Dolliver et al. 2007; Kang et al. 2013) či biosolidy (Sabourin et al. 2012). Hydroponické pokusy jsou intuitivnější pro pochopení mechanismu příjmu, ale nesimulují složitost skutečného zemědělského prostředí. Fyzikálně-chemické vlastnosti půdy nejsou brány v úvahu, a tak se příjem antibiotik rostlinami z živných roztoků a z půdy se mohou velmi lišit. Například ačkoli sulfonamidy se hromadí v salátu, špenátu, okurkách a paprikách pěstovaných v hydroponických podmínkách, zejména v jejich kořenech (Wu et al. 2013), u salátu a špenátu pěstovaných v půdě zavlažované odpadní vodou se sulfonamidy to zjištěno nebylo (Wu et al. 2014). Skleníkové modelové nádobové pokusy mohou lépe odhadnout skutečný příjem a akumulaci antibiotik než hydroponické pokusy.

Některé z hydroponických pokusů se navíc provádějí při nereálně vysokých koncentracích antibiotik pro jejich pohodlnější stanovení. Naproti tomu polní pokusy mohou

posoudit skutečný potenciální příjem a akumulaci antibiotik rostlinami a mohou být začleněny do databáze pro další hodnocení rizik; nicméně pouze několik studií bylo provedeno v polním prostředí s aplikací hnoje nebo čistírenského kalu nebo se zavlažováním vyčištěnou odpadní vodou. Pokud byla k zavlažování použita upravená odpadní voda, pak byla některá antibiotika běžně detekována v různých rostlinných tkáních. (Hurtado et al. 2016; Pan et al. 2014; Wu et al. 2014).

Pět tříd antibiotik bylo testováno na pěti druzích zemědělských plodin (bílé čínské zelí, povijnice vodní, čínská ředkev, kukuřice a rýže), přičemž tato antibiotika byla aplikována ve formě závlahy. Chinolony měly konsistentně nejvyšší schopnost akumulace, následovány pak byly chloramfenikolem a tetracykliny; bylo zjištěno, že tyto sloučeniny jsou přijímány kořeny rostlin a že se v nich hromadí a následně se přenesly do stonků, listů, a dokonce i plodů, zatímco sulfonamidy a makrolidy nebyly ve většině případů zjištěny (Pan et al. 2014). Neiontové sloučeniny byly zjištěny ve výrazně vyšších koncentracích než iontové sloučeniny (např. sulfametoazol) ve dvou kořenových (mrkev a sladké brambory) ošetřených odpadní vodou (Malchi et al. 2014).

Dolliver et al. (2007) aplikovali do půdy dvě koncentrace sulfamethazinu v prasečím hnoji (50 a 100 mg.l⁻¹), přičemž koncentrace sulfamethazinu zjištěné v biomase kukuřice, salátu a brambor byly přibližně 1250, 1200 a 310 ng.g⁻¹ sušiny. Nicméně i v tomto případě byly použité koncentrace sulfonamidů mnohem vyšší než koncentrace v životním prostředí. Kang et al. (2013) použili prasečí a krutí kejdu, která obsahovala environmentálně přijatelnější koncentrace sulfonamidů v experimentu, kdy bylo testováno dvanáct druhů plodin. Nejvyšší koncentrace sulfamethazinu v rostlinných tkáních pak dosahovala pouze hodnoty 5 ng/g sušiny. Vzhledem k rozdílným počátečním koncentracím antibiotik použitých v pokusech je obtížné porovnat zjištěné koncentrace mezi různými rostlinami a odhadnout tak jejich schopnost akumulovat antibiotika. Proto je třeba vycházet z koncentrací zjištěných v environmentálních matricích (Pan & Chu 2007).

Na příjem a translokaci antibiotik rostlinami má vliv mnoho faktorů, včetně půdních vlastností, vody a dalších faktorů, které ovlivňují translokaci antibiotik v rostlinách. Dále jsou to kvalita půdy a povaha antibiotik, ale fyzikálně-chemické vlastnosti antibiotik se zdají být hlavním faktorem, který ovlivňuje proces příjmu. Antibiotika představují širokou škálu chemických látek s širokými fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Většina antibiotik má log K_{ow}<5; sulfonamidy, chinolony, makrolidy a trimethoprim vykazují hodnoty rozdělovacího koeficientu oktanol-voda (logD_{ow}) upravené podle pH v rozmezí -1,5 až +1,0 a tetracykliny v rozmezí -5,0 a -3,0, což znamená, že jsou při běžně se vyskytujících pH v půdním prostředí relativně hydrofilní (Tollis, 2001; Wells, 2006).

Schopnost transportu antibiotika z kořenů do nadzemní biomasy se může měřit pomocí tzv. translokačního faktoru, který se vyjádří jako poměr koncentrace látky v nadzemní biomase a v kořeni. U většiny tetracyklinů, chinolonů, trimetoprimu, chloramfenikolu a linkomycinu dochází byly translokační faktory vyšší než jedna. Naopak většina sulfonamidů a makrolidů měla nižší translokační faktory, což svědčí o jejich omezené translokaci z kořenů do listů nebo plodů.

Když jsou antibiotika přijímána rostlinami, mohou být transportována do stonků, listů a plodů pasivní difúzí xylémem nebo floémem do symplastické dráhy. Tyto sloučeniny jsou transportovány prostřednictvím Caspariho proužků v kořenech a poté jsou transportovány do

listů xylémem nebo floémem do plodů (Miller et al. 2016). Xylém tvoří transpirační proud v rostlinách a přenáší vodu, živiny a organické látky z kořenů do výhonů. Zvýšení rychlosti transpirace v xylému by tedy mohlo urychlit příjem antibiotik z půdy do rostliny. Translokace tetracyklinů, chloramfenikolu a linkomycinu je vyšší, což naznačuje, že proces probíhá primárně prostřednictvím xylému u těchto antibiotik.

Po vstřebání se většina tetracyklinů nachází v neutrálním stavu v cytosolu a symplastu rostlin (pH ~7,2), a proto jsou v rostlinách snadněji přemísťovány a akumulují se ve vyšších koncentracích v listech nebo plodech. Relativně více ve vodě rozpustné tetracykliny mohou být v rostlinách snadno translokovány pohybem vody v rostlině. Naproti tomu akumulace chinolonů v plodech bývá vyšší než v listech nebo kořenech, což naznačuje, že translokace probíhá především floémem. Tyto chinolony mají střední hydrofobicitu ($-0,4 < \log K_{ow} < 1,1$) a více částí, které mohou ionizovat při pH odpovídajícím životnímu prostředí. Norfloxacin byl například nalezen v některých rostlinných kompartmentech, jako jsou vakuoly a mezibuněčné prostory, a xylémových cévách (pH 5 až 6), se nachází v neutrálním stavu, který podporuje jeho translokaci do nadzemních rostlinných orgánů (Pan & Chu 2017).

Přenos uhlíku do floému a jeho využití pro další procesy způsobuje tok vody z xylému do floému, čímž vytváří hnací sílu, která přesouvá rozpuštěné látky a podporuje tak transport chinolonových sloučenin z listů do plodů (Goldstein et al. 2014). Floém je důležitou cestou translokace mnoha herbicidů a očekává se, že bude důležitá i pro translokaci antibiotik pro některé jedlé rostlinné tkáně. Pohyb organických sloučenin v xylému a floému však stále není jednoznačně určen a závisí na schopnosti dané sloučeniny procházet membránami. Většinu sulfonamidů a makrolidů buď nebylo možné v rostlinných tkáních nalézt, nebo se v nich vyskytovaly pouze v kořenech. To je způsobeno nízkou adsorpční schopností sulfonamidů v půdě, což mělo za následek jejich průnik hlouběji do půdy nebo podzemní vody, což snižuje jejich dostupnost pro rostliny. Sulfonamidy jsou v apoplastu neutrální (pH 4 až 6) a vstupují pak do cytosolu rostlin (pH ~7,2) a zachovávají si svůj aniontový stav díky nižší propustnosti rostlinných membrán, resp. mohou být zachyceny jako ionty uvnitř buněk (Pan et al. 2014); žádný příjem zprostředkovaný bílkovinami nebo závislý na energii u této sloučeniny nebyl zaznamenán (Pan & Chu 2017).

Translokační faktory dobře nekorelují s hydrofobicitou a s hodnotou $\log D_{ow}$ antibiotika a nízké hodnoty hydrofobicity mohou mít vliv na metabolismus v kořenech rostlin, zachycení iontů a elektrostatické interakce s buňkou (Miller et al. 2016). Slabá korelace je pravděpodobně způsobena např. větším množstvím tříd antibiotik s podobným $\log D_{ow}$, např. sulfonamidy, chinolinony, makrolidy a trimethoprim mají podobné $\log D_{ow}$ od -1,5 až +1,0 (Wells, 2006). Translokační faktory antibiotik se liší v závislosti na druhu rostliny, což naznačuje, že translokace v rostlinných tkáních je ovlivněna účinností využití vody rostlinou.

Metabolismus antibiotik v rostlinách prostřednictvím fotodegradace může vést k nepřesnému odhadu absorpce a bioakumulace výchozí sloučeniny v rostlinných tkáních. O metabolismu antibiotik v rostlinách ale bylo publikováno jen velmi málo. Například Farkas et al. (2007) našli v listech fazolu pinto epimery metabolitu tetracyklinu. Proto by se v budoucích studiích měly identifikovat a kvantifikovat produkty transformace antibiotik v rostlinách, spíše než jen kvantifikovat výchozí sloučeniny (Pan & Chu 2017).

Lze shrnout, že v současných znalostech o osudu antibiotik v půdě, jejich fytotoxicitě a translokaci v rostlinách, jakož i jejich odpovídajících environmentálních rizicích a potenciální expozici člověka, se vyskytují rozpory:

- 1) Odhad hodnoty K_d antibiotik získaný při sorpčních pokusech se provádí prostřednictvím rozdílu mezi počáteční a rovnovážnou koncentrací roztoku, který pravděpodobně vede k nadhodnocení sorpční kinetiky. Ztráty antibiotik v roztoku mohou být důsledkem biotické nebo abiotické degradace nebo odpařování.
- 2) Ve většině studií se používají neznačené sloučeniny ke zkoumání degradace antibiotik v půdě, a proto je málo poznatků o celých degradačních cestách různých antibiotických tříd. (Pan & Chu 2017). Pro vyhodnocení dlouhodobého chování antibiotik v půdě je nezbytné kvantifikovat míru rozkladu antibiotik pomocí značených sloučenin nebo ^{14}C .
- 3) Většina předchozích studií fytotoxicity antibiotik byla prováděna ve sklenicích nebo *in vitro* na Petriho miskách. Chronické fytotoxické účinky antibiotik a jejich metabolitů v podmínkách pěstování v reálném půdním prostředí dosud neznáme. Znalost jejich fytotoxicity je nutná pro hodnocení ekologických rizik různých rostlin.
- 4) Ekotoxikologické dopady přidávání antibiotik do půdy, odpadních vod, zvířecího hnoje a čistírenských kalů do orné půdy a translokace a bioakumulace antibiotik v rostlinách jsou nedostatečně prozkoumány, což nevyhnutelně vede k nepřesnému posouzení možných rizik pro konečného konzumenta. Mechanismy a vztah mezi jejich fyzikálně-chemickými vlastnostmi v půdě a translokací v rostlinách vyžadují další objasnění.

Existuje řada oblastí výzkumu, které si zaslouží další rozbor podrobnějšími studii. Patří mezi ně:

- a) hluboké porozumění chování a osudu antibiotik v půdě,
- b) testování chronické fytotoxicity antibiotik v rostlinách,
- c) mechanismy akumulace a translokace v půdě,
- d) testování chronické fytotoxicity antibiotik v půdě,
- e) testování chronické fytotoxicity v rostlinách, zejména v polních podmínkách,
- f) transformace a metabolity antibiotik v rostlinách a
- g) terénní údaje o akumulaci antibiotik v rostlinách pro přesné posouzení ekologického rizika (Pan & Chu 2017).

Všechny tyto informace mají zásadní význam pro pochopení toho, zda jsou tyto odpadní vody kontaminované antibiotiky. Hnůj a biologický odpad slouží jako hlavní kanál pro kontaminaci životního prostředí antibiotiky a pro ochranu konzumentů, pokud jsou tyto zdroje znovu používány jako voda na zavlažování nebo hnojivo pro pěstování plodin (Pan & Chu 2017).

7.5. Potenciální dopad na lidské zdraví

Znečištění životního prostředí veterinárními antibiotiky a determinanty rezistence vůči antibiotikům pravděpodobně zvyšuje šanci, že bakterie spojené s člověkem a lidské patogeny získají rezistenci pomocí takových látek, jako jsou plazmidy se širokým hostitelským rozsahem, což usnadňuje horizontální přenos genů mezi vzdáleně příbuznými druhy. Kromě toho dochází ke kumulaci, společnému výběru a expresi rezistence determinantů na podobných genetických platformách, jako jsou integrony, může podporovat šíření a perzistenci těchto látek v bakteriálním společenství. Aplikace hnoje může zvýšit četnost detekce různých genů antibiotické rezistence, integráz a dalších genů, plazmidů několika inkompatibilních skupin v půdě a co je důležité, že některé genové cíle byly na zelenině detekovány pouze při sklizni z hnojené půdy (Jechalke, 2014).

Lidský kontakt s těmito rezistentními bakteriemi v zemědělské půdě nebo po požití rezistentních bakterií prostřednictvím konzumace tepelně neupravené zeleniny a ovoce, by mohl zvýšit možnost výměny determinantů rezistence mezi lidským mikrobiomem a mikrobiomem životního prostředí. V důsledku toho může přispívat k hrozbě nevyléčitelných onemocnění a infekcí u lidí. V souladu s tím byly geny rezistence s dokonalou nukleotidovou identitou nalezeny v různých lidských patogenech a půdních bakteriích; to poskytlo důkaz pro jakýsi sdílení antibiotický rezistom (Jechalke, 2014).

Vznik a rozšíření bakterií rezistentních vůči antibiotikům v zemědělských systémech a jejich podíl na rezistenci lidí vůči lidským patogenům jsou složité procesy. Na základě matematického modelu a v závislosti na použitých předpokladech však bylo zjištěno, že přenos ze zemědělství může mít značný vliv na lidskou populaci v souvislosti se současnými nemocničními přenosy. Naneštěstí může být obtížné tuto rezistenci vymýtit, jakmile se v bakteriální populaci vytvoří. Dokonce i bez selektivních léčiv mohou determinanty rezistence přetrvávat na nízkých, ale zjištěných úrovních po mnoho let. Nicméně bylo také zjištěno, že i po opakovaných aplikacích hnoje na poli může početnost genů rezistence dlouhodobě klesat, což poskytuje půdě šanci na obnovu při správné zemědělské praxi.

Různé potenciální možnosti hospodaření vedoucí ke snížení uvolňování a šíření antibiotik a determinantů rezistence vůči antibiotikům do životního prostředí jsou k dispozici, což by mohlo prodloužit užitečnou životnost antibiotik. Patří mezi ně například omezení používání antibiotik a udržování dobrého zdravotního stavu zvířat pomocí řídicích postupů, jako je nízká hustota zvířat a programy na lepší výživu zvířat. Kromě toho je možné částečně eliminovat antibiotika a determinantů rezistence v hnoji by mohlo být dosaženo zpracováním hnoje kompostováním nebo separací. V neposlední řadě je možné zavést správnou zemědělskou praxi (Good Agricultural Practices), jako je například cílené využívání hnoje jako hnojiva, uzavřená vyrovnaná bilance živin na polích a farem s přizpůsobenou hustotou chovu hospodářských zvířat, zavádění rozmanitých střídání plodin včetně meziplodin nebo krycích plodin a ochrana proti erozi, jistě pomohou omezit nebo dokonce snížit výskyt znečištění veterinárními antibiotiky a determinanty rezistence (Jechalke, 2014).

8. Nejnovější poznatky o chování tetracyklinů v životním prostředí

Neustálé uvolňování reziduí TCs do životního prostředí a jejich nedostatečné odstraňování prostřednictvím konvenčních systémů ošetření vede k jejich rozšířenému výskytu v půdě, povrchových a podzemních vodách, a dokonce i v pitné vodě (Scaria et al., 2021).

Vzhledem k tomu, že kontaminace TCs ve vodě je špičkou ledovce a že TCs mají dobrou sorpční kapacitu vůči půdě, sedimentům, kalům a hnoji, je nedostatečné spoléhat se na sorpční odstraňování v konvenčních systémech úpraven vod. Závažnost kontaminace TCs je zřejmá z výskytu rezistence TCs v čistírnách odpadních vod a široké škále mikroorganismů (Scaria et al. 2021).

Tetracykliny mají silnou tendenci vstřebávat se do půdy a sedimentů prostřednictvím několika mechanismů, jako jsou např. elektrostatická přitažlivost (Coulombovy síly), kationtová výměna či vytváření komplexů s oxidy kovů. Jejich schopnost se vstřebávat určuje hodnota distribučního koeficientu. Čím vyšší je schopnost vstřebávání TCs do půdy, tím vyšší je jejich distribuční koeficient ($l \cdot kg^{-1}$) – platí i pro OTC, CTC (Scaria et al 2021).

Na vstřebávání TCs v půdě má vliv několik faktorů. Jsou jimi:

- složení půdy
- pH půdy
- kationtová výměnná kapacita
- těžké kovy

pH půdy a kationtová výměnná kapacita hrají zásadní roli při sorpci TCs. (Sassman & Lee 2005; Teixidó et al. 2012). Všechny TC mají vysokou sorpci na kyselých a vysoce jílovitých půdách (Sassman & Lee 2005). V případě podobného pH a kationtové výměnné kapacity se jedná o půdy s vysokým obsahem organického uhlíku, jílu, Al a oxidů železa. Tyto půdy mají větší sorpční kapacitu pro TC, CTC a OTC (Scaria et al. 2021).

Vlivy přítomnosti těžkých kovů v půdě kontaminované TCs jsou stále nejasné. Koexistence těžkých kovů a TCs může buď podporovat sorpci TCs v půdě prostřednictvím jejich kationtového přemostění, nebo může inhibovat sorpci TCs v důsledku konkurence o negativní vliv na půdu. Klíčovou roli v jejich interakcích hraje také pH půdy, protože přítomnost Cd^{2+} podporuje sorpci TC v kyselé půdě, zatímco v zásadité půdě sorpci TC snižovala (Chen et al. 2020). Podobně je tomu i v jiných případech, přítomnost Cu^{2+} může podporovat sorpci TC v kyselé půdě (Scaria et al. 2021).

Půda bohatá na oxidy podporuje sorpci TC v půdě, zatímco např. přítomnost půdních ligandů, jako jsou fosfáty, může zvýšit desorpci TCs půdou, a tím podpořit biologickou dostupnost a mobilitu (Scaria et al. 2021).

Přítomnost dalších antibiotik s podobným sorpčním mechanismem, jako je ciprofloxacin, může způsobit jejich kompetici. V půdách s vyšším obsahem organické hmoty není konkurence mezi třídami TCs výrazná, nicméně v půdách s nízkým obsahem organické hmoty je v důsledku menší dostupnosti adsorpčního místa konkurence mezi třídami TCs zřejmá a sleduje tento trend: $CTC > TC > OTC$ (CTC ukazuje nejvyšší schopnost adsorpce, ale nejnižší desorpci) (Scaria et al. 2021).

Půda funguje jako zásobárna TC. Díky silné sorpční kapacitě a sekundárním sorpčním reakcím v půdě je málo biologicky dostupný pro degradaci nebo absorpci, a proto má delší poločas rozpadu než jiná antibiotika (Scaria et al. 2021).

Studie hloubky půdy ukazuje nízkou možnost výskytu TC i ve vysoce porézní písčité půdě (Nieder et al. 2018). Wu et al. (2013) rovněž zjistili, že nejmenší transport v půdním profilu je u vysokých koncentrací TCs (TC, OTC a DOC) zjištěné ve svrchních 20 cm půdy. Aplikace hnoje kontaminovaného TCs může mít za následek přenos v půdním profilu do hloubky 40 cm (Wu et al. 2013; Scaria et al. 2021).

CTC a DC jsou ve vodě rozpustnější než TC a OTC (Teixidó et al. 2012). Spolu s tím mohou různé produkty transformace v závislosti na podmínkách pH vykazovat různou rozpustnost a aktivitu. Stejně tak afinita TC k rozpuštěným organickým látkám může mít za následek větší rozpustnost ve vodě, čímž se snižuje sorpce v půdě (Scaria et al. 2021).

TC jsou však fotolabilní sloučeniny; přirozená dekontaminace je nedostatečná kvůli nedostatkům, jako jsou např. možné přeměny na ještě toxičtější produkty přechodu, prostorové a časové rozdíly ve slunečních podmínkách po celém světě a nepřizpůsobení biologickým procesům. Proto je nutné přijmout pokročilé terciární úpravy s konvenčními systémy čištění. Mezi pokročilé techniky zpracování patří adsorpce a pokročilá oxidace, fotokatalýza a Fentonův proces, které jsou již široce používány (Scaria et al. 2021).

Přijetí pokročilých hybridních procesů může zajistit lepší rozklad TCs než kterýkoli z jednotlivých postupů. Ať už jsou postupy úpravy jakékoliv, měla by být přijata taková opatření, aby se minimalizoval přenos zbytků TCs přes environmentální matrici.

Kvalitativní a kvantitativní stanovení TC a vedlejších produktů metodou HPLC je poměrně komplikované z důvodu interference matrice, nízké koncentrace, fotodegradace a tvorby chelátů (Scaria et al. 2021).

Zbytky TCs se koncentrují v pevné fázi. Přesto se většina studií věnuje výskytu a odstraňování antibiotik ve vodném prostředí. Jednou z mála možností odstraňování TCs z vodného prostředí je odstraňování pomocí sorpce.

Scaria et al. (2021) proto doporučují:

- Provést další výzkum, aby bylo možné pochopit správné metody deaktivace/degradace TCs v kalu/biosolidu/výkalech hospodářských zvířat, aby se zabránilo dalšímu znečištění.
- Některé z vedlejších produktů TCs se ukázaly být toxičtější než rodičovské produkty sloučeniny. Za zvážení tedy stojí také zaměřit pozornost na vedlejší produkty ve vodě a odpadních vodách a jejich toxické dopady.
- Pro skutečné pochopení potenciálních toxických dopadů TC na mikrobiální, rostlinné a živočišné druhy je třeba se více zaměřit na interakce na molekulární úrovni než na studium růstu.

- Interakce TCs s jinými antibiotiky a jejich vedlejšími produkty jsou studovány nejméně. Ve většině případů se analyzuje výskyt a účinnost odstraňování jednotlivých antibiotik. Zda dochází k antagonistickému nebo synergickému spojení při transportu těchto látek.
- Aplikace technologií odstraňování TCs v reálném čase vyžaduje důkladné vyhodnocení s využitím skutečných odpadních vod s TCs. Konkurenční/inhibiční účinky přirozeně se vyskytujících složek životního prostředí, zároveň je třeba dobře prostudovat vhodnost těchto procesů přímo v terénu.
- Dokonce i rezidua TCs po oxidaci mohou vyvinout rezistenci. Proto je zásadní vývoj technologií právě v této oblasti.

9. Závěr

Spotřeba antibiotik se i přes varování ohledně jejich nepříznivých účinků při nadměrném používání stále zvyšuje. Tento trend vede nejen k obavám o lidské zdraví z důvodu schopnosti organismů vytvořit po čase vůči antibiotikům rezistenci, ale také o kontaminaci životního prostředí. Kontaminace je způsobena nejen množícím se výskytem genů rezistentních vůči těmto antibiotikům, ale také přenosem TC různými cestami do různých složek prostředí. TC se vyskytují ve vysokých koncentracích v půdách, v nižších koncentracích však byly detekovány v podzemních vodách po celém světě.

Pro spotřebu antibiotik by měly být povinné odpovídající strategie čištění odpadních vod a dekontaminace exkrementů před jejich vypouštěním do životního prostředí. V ČOV jsou sice koncentrace TCs ve vodném prostředí poměrně nízké, avšak mělo by se více dbát na kontrolu před zahájením vypouštění odpadních vod obsahujících TCs, jakož i při aplikaci čistírenského kalu do životního prostředí.

Pokaždé, když se zvýší rezistence lidského organismu vůči antibiotikům, je nutné znovu obnovit výzkum vedoucí k výrobě nových léčivých přípravků, což však zvyšuje náklady na léčbu.

Doporučení do budoucna:

- V první řadě je třeba shromáždit přesné údaje o používání antibiotik v České republice a potenciálních rezervoárech reziduí antibiotik v chovech zvířat v suchozemském prostředí.
- Je třeba zaměřit více studií na chování antibiotik v pevné fázi.
- Je také nezbytné získat více údajů o kinetice biologické degradace a účinnosti degradačních produktů různých antibiotik v různých prostředích.
- Je nutné shromáždit více dat o dopadech aplikace odpadní vody na zavlažování v zemích, kde je tato technologie povolena (mimo ČR).
- V neposlední řadě je žádoucí věnovat se vývoji nových alternativ k používání antibiotik v zemědělství.

10. Literatura

- Aminov, R.I., Mackie, R.I. 2007. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiol. Lett.* **271**: 147–161.
- Anderson, C.R., Rupp, H.S., Wu, W.H., 2005. Complexities in tetracycline analysis – chemistry, matrix extraction, cleanup, and liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* **1075**: 23–32.
- Andreu, V., Vazquez-Roig, P., Blasco, C., Picó, Y. 2009. Determination of tetracycline residues in soil by pressurized liquid extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **394**:1329–1339.
- Aust, M.-O, Godlinski, F., Travis, G.R., Hao, X., McAllister, T.A., Leinweber, P. 2008. Distribution of sulfamethazine, chlortetracycline and tylosin in manure and soil of Canadian feedlots after subtherapeutic use in cattle. *Environ. Pollut.* **156**: 1243–125.
- Bailey, E.S., Casanova, L.M., Simmons, O.D., Sobsey, M.D. 2018. Tertiary treatment and dual disinfection to improve microbial quality of reclaimed water for potable and non-potable reuse: a case study of facilities in North Carolina. *Sci. Total Environ.* **630**: 379–388.
- Batchelder, A. R. 1982. Chlortetracycline and oxytetracycline effects on plant growth and development in soil systems. *J. Environ. Qual.* **11**: 675–678.
- Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S.V., Pavlostathis, S.G., Rozzi, A., Sanders, W.T.M., Siegrist, H., Vavilin, V.A., 2002. Anaerobic Digestion Model No.1. IWA Sci. and Tech. Report No.13. IWA Publishing, Bedfordshire.
- Beneš, J. Antibiotika: Systematika, vlastnosti, použití, 1.st ed.; GRADA: Praha, 2018.
- Blackwell, P.A., Lützhof, H.C.H., Ma, H.P., Halling-Sørensen, B., Boxall, A.B.A., Kay, P. 2004. Ultrasonic extraction of veterinary antibiotics from soils and pig slurry with SPE clean-up and LC–UV and fluorescence detection. *Talanta* **64**, 1058–1064.
- Bousek, J., Schöpp, T., Schwaiger, B., Lesueur, C., Fuchsa, W., Weissenbacher, N. 2018. Behaviour of doxycycline, oxytetracycline, tetracycline and flumequine during manure up-cycling for fertilizer production, *Journal of Environmental Management*, **223**: Pages 545-553.
- Britannica. Available from <https://www.britannica.com/video/186404/discovery-penicillin-Alexander-Fleming> (accessed Nov 06, 2022).
- Caban, J.R., Kuppusamy, S., Kim, J.H., Yoon, Y.-E., Kim, S.Y., Lee, Y.B. 2018. Green manure amendment enhances microbial activity and diversity in antibiotic-contaminated soil. *Appl. Soil Ecol.* **129**: 72–7.
- Cao, X., Huang, X., Liang, P., Xiao, K., Zhou, Y., Zhang, X., et al. 2009. A new method for water desalination using microbial desalination cells. *Environ. Sci. Technol.* **43**: 7148–7152.

- Cetecioglu, Z., Ince, B., Gros, M., Rodriguez-Mozaz, S., Barceló, D., Orhon, D., Ince, O. 2013. Chronic impact of tetracycline on the biodegradation of an organic substrate mixture under anaerobic conditions. *Water Research*, **47**: 2959-2969.
- Chee-Sanford, J.C., Aminov, R.I., Krapac, I.J., Garrigues-Jeanjean, N., Mackie, R.I. 2001. Occurrence and diversity of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater underlying two swine production facilities. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 1494–1502.
- Chen, G., Zhao, L., Dong, Y., 2011. Oxidative degradation kinetics and products of chlortetracycline by manganese dioxide. *J. Hazard. Mater.* **193**: 128–138.
- Chen, G.-X. et al. 2014. Effect of different oxytetracycline addition methods on its degradation behavior in soil, *Science of the Total Environment*, **479-480**: 241–246.
- Chen, Y., Hu, C., Deng, D., Li, Y., Luo, L., 2020. Factors affecting sorption behaviors of tetracycline to soils: importance of soil organic carbon, pH and Cd contamination. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **197**.
- Chopra, I., Roberts, M. 2001. Tetracycline antibiotics mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **65 (2)**: 232–260.
- Dai, Y., Liu, M., Li, J., Yang, S., Sun, Y., Sun, Q., Wang, W., Lu, L., Zhang, K., Xu, J., Zheng, W., Hu, Z., Yang, Y., Gao, Y., Liu, Z. 2020. A review on pollution situation and treatment methods of tetracycline in groundwater. *Sep. Sci. Technol.* **55**: 1005–1021.
- Dams, R., Huestis, M.A., Lambert, W.E., Murphy, C.M. 2003. Matrix effect in bio-analysis of illicit drugs with LC–MS/MS: influence of ionization type, sample preparation, and biofluid. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **14**: 1290–1294.
- Dolliver, H., Kumar, K., Gupta, S. 2007. Sulfamethazine uptake by plants from manure-amended soil. *J. Environ. Qual.* **36**: 1224–1230.
- Du, L.F. and Liu, W.K. 2012 Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **32**: 309–327.
- European Medicines Agency. 2016. European surveillance of veterinary antimicrobial consumption. In: *Sales of Veterinary Antimicrobial Agents in 29 European Countries in 2014*, (EMA/61769/2016).
- Farkas, M.H., Berry, J.O., Aga, D.S. 2007. Chlortetracycline detoxification in maize via induction of glutathione S-transferases after antibiotic exposure. *Environ. Sci. Technol.* **41**: 1450–1456.
- Fenner, K., Canonica, S., Wackett, L.P., Elsner, M. 2013. Evaluating pesticide degradation in the environment: blind spots and emerging opportunities. *Science* **341**: 752–758.
- Fernández-Calviño, D., Bermúdez-Couso, A., Arias-Estévez, M., Nóvoa-Muñoz, J.C., Fernández-Sanjurjo, M.J., Álvarez-Rodríguez, E., Núñez-Delgado, A. 2015. Competitive adsorption/desorption of tetracycline, oxytetracycline and chlortetracycline on two acid soils: stirred flow chamber experiments. *Chemosphere* **134**: 361–366.

- Figuerola-Diva, R.A., Vasudevan, D., MacKay, A.A. 2010. Trends in soil sorption coefficients within common antimicrobial families. *Chemosphere* **79**: 786–793.
- Gavalchin, J., and Katz, S. E. 1994. The persistence of fecal-borne antibiotics in soil. *J. AOAC Int.* **77**: 481–485.
- Giger, W., Alder, A.C., Golet, E.M., Kohler, H.E., McArdell, C.S., Molnar, E., Siegrist, H., Suter, M.J. 2003. Occurrence and fate of antibiotics as trace contaminants in wastewaters, sewage sludges, and surface waters. *CHIMIA* **57**: 485–491.
- Goldstein, M., Shenker, M., Chefetz, B. 2014. Insights into the uptake processes of wastewater-borne pharmaceuticals by vegetables. *Environ. Sci. Technol.* **48**: 5593–5600.
- Hamscher, G., Sczesny, S., Höper, H., Nau, H. 2002. Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* **74**: 1509–1518.
- Hernandez, F., Sancho, J.V., Ibanez, M., Guerrero, C. 2007. Antibiotic residue determination in environment waters by LC-MS. *TrAC Trends Anal. Chem.* **26**: 466–485.
- Hillis, D.G., Fletcher, J., Solomon, K.R., Sibley, P.K., 2011. Effects of ten antibiotics on seed germination and root elongation in three plant species. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **60**: 220–232.
- Hlušek, J. 2004. Statková hnojiva – chlévský hnůj, Multimediální učební text z výživy rostlin, Ústav agrochemie a výživy rostlin MZLU v Brně.
- Hong, P.Y. et al. 2013 Monitoring the perturbation of soil and groundwater microbial communities due to pig production activities. *Appl. Environ. Microbiol.* **79**, 2620–2629.
- Huang, X. et al. 2013 Occurrence and distribution of veterinary antibiotics and tetracycline resistance genes in farmland soils around swine feedlots in Fujian Province, China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **20**: 9066–9074.
- Hubáčiková, V. 2019. Možnosti využití odpadních vod pro závlahu, Česká technologická platforma pro zemědělství, Brno.
- Hu, X.G., Zhou, Q.X., Luo, Y. 2010. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and groundwater from organic vegetable bases, northern China. *Environ. Pollut.* **158**: 2992–2998.
- Hurtado, C., Domínguez, C., Pérez-Babace, L., Cañameras, N., Comas, J., Bayona, J.M. 2016. Estimate of uptake and translocation of emerging organic contaminants from irrigation water concentration in lettuce grown under controlled conditions. *J. Hazard. Mater.* **305**: 139–148.
- Ingerslev, F., Toräng, L., Loke, M.-L., Halling-Sørensen, B., Nyholm, N. 2001. Primary biodegradation of veterinary antibiotics in aerobic and anaerobic surface water simulation systems. *Chemosphere* **44**: 865–872.

- Jacobsen, A.M., Halling-Sørensen, B. 2006. Multi-component analysis of tetracyclines, sulfonamides and tylosin in swine manure by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **384**: 1164–1174.
- Jechalke, S. 2014. Fate and effects of veterinary antibiotics in soil, *Science of the Total Environment* **479–480**: 241–246.
- Jia, A., Xiao, Y., Hu, J.Y., Asami, M., Kunikane, S. 2009. Simultaneous determination of tetracyclines and their degradation products in environmental waters by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1216**: 4655–4662.
- Jin, C.X., Chen, Q.Y., Sun, R.L., Zhou, Q.X., Liu, J.J. 2009. Eco-toxic effects of sulfadiazine sodium, sulfamonomethoxine sodium and enrofloxacin on wheat, Chinese cabbage and tomato. *Ecotoxicology* **18**: 878–885.
- Kang, D.H., Gupta, S., Rosen, C., Fritz, V., Singh, A., Chander, Y., et al. 2013. Antibiotic uptake by vegetable crops from manure-applied soils. *J. Agric. Food Chem.* **61**: 9992–10001.
- Kang, Y., Hao, Y., Shen, M., Zhao, Q., Li, Q., Hu, J. 2016. Impacts of supplementing chemical fertilizers with organic fertilizers manufactured using pig manure as a substrate on the spread of tetracycline resistance genes in soil. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **130**: 279–288.
- Kaufmann, A., Butcher, P., Maden, K., Walker, S., Widmer, M. 2015. Reliability of veterinary drug residue confirmation: high resolution mass spectrometry versus tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **856**: 54–67.
- Kemper, N. 2008. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecol. Indic.* **8**, 1–13.
- Kim, S.C., Carlson, K. 2007. Quantification of human and veterinary antibiotics in water and sediment using SPE/LC/MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.* **387**: 1301–1315.
- Kim, K.-R., Owens, G., Kwon, S.-I., So, K.-H., Lee, D.-B., Ok, Y.S. 2011. Occurrence and environmental fate of veterinary antibiotics in the terrestrial environment. *Water Air Soil Pollut.* **214**: 163–174.
- KOZÁK, J. 2010. Soil atlas of the Czech Republic. Czech University of Life Sciences.
- Kuhne, M., Ihnen, D., Moller, G., Agthe, O. 2000. Stability of tetracycline in water and liquid manure. *J. Veterinary Med. Ser. A* **47**: 379–384.
- Kumar, K., Gupta, S.C., Chander, Y., Singh, A.K. 2005. Antibiotic use in agriculture and its impact on the terrestrial environment. *Adv. Agron.* **87**: 1–54.
- Kümmerer, K., 2009. Antibiotics in the aquatic environment—a review—part I. *Chemosphere* **75**: 417–434.
- Kyselkova, M. et al. 2013. Cow excrements enhance the occurrence of tetracycline resistance genes in soil regardless of their oxytetracycline content. *Chemosphere* **93**: 2413–2418.
- Li, H.S. 2006. *Modern Plant Physiology*. Higher Education Press, Beijing.

- Li, Y., Wu, X., Mo, C., Tai, Y., Huang, X., Xiang, L. 2011. Investigation of sulfonamide, tetracycline, and quinolone antibiotics in vegetable farmland soil in the Pearl River Delta area, Southern China. *J. Agric. Food Chem.* **59**: 7268–7276.
- Liu, F., Ying, G.G., Tao, R., Zhao, J.L., Yang, J.F., Zhao, L.F. 2009. Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities. *Environ. Pollut.* **157**: 1636–1642.
- Ma, J., Zhu, D., Chen, Q.L., Ding, J., Zhu, Y.G., Sheng, G.D., Qiu, Y.P. 2019. Exposure to tetracycline perturbs the microbiome of soil oligochaete *Enchytraeus crypticus*. *Sci. Total Environ.* **654**: 643–650.
- Malchi, T., Maor, Y., Tadmor, G., Shenker, M., Chefetz, B. 2014. Irrigation of root vegetables with treated wastewater: evaluating uptake of pharmaceuticals and the associated human health risks. *Environ. Sci. Technol.* **48**: 9325–9333.
- Mamani, M.C.V., Reyes, F.G.R., Rath, S. 2009. Multiresidue determination of tetracyclines, sulphonamides and chloramphenicol in bovine milk using HPLC–DAD. *Food Chem.* **117**: 545–552.
- Mara, D.D., Cairncross, S. 1989. *Guidelines for the Safe Use of Wastewater and Excreta in Agriculture and Aquaculture: Measures for Public Health Protection*. World Health Organization.
- Mara, D.D., Sleigh, P.A., Blumenthal, U.J., Carr, R.M. 2007. Health risks in wastewater irrigation: comparing estimates from quantitative microbial risk analyses and epidemiological studies. *J. Water Health* **5**: 39–50.
- Mercl, F., Košnář, Z., Maršík, P., Vojtíšek, M., Dušek, J., Száková, J., Tlustoš, P. 2020. Pyrolysis of biosolids as an effective tool to reduce the uptake of pharmaceuticals by plants. *Journal of Hazardous Materials*.
- Michelini, L. et al. 2012. Sulfadiazine uptake and effects on *Salix fragilis* L. and *Zea mays* L. plants. *Water Air Soil Pollut.* **223**: 5243–5257.
- Miller, E.L., Nason, S.L., Karthikeyan, K.G., Pedersen, J.A. 2016. Root uptake of pharmaceuticals and personal care product ingredients. *Environ. Sci. Technol.* **50**, 525–5.
- Nieder, R., Benbi, D.K., Reichl, F.X. 2018. Occurrence and Fate of Human and Veterinary Medicinal Products, in: *Soil Components and Human Health*. Springer Netherlands, Dordrecht, 723–827.
- Neuerburg, W., Padel, S. 1994. *Ekologické zemědělství v praxi*. Nadace pro organické zemědělství FOA, MZe ČR, Agrospoj, Praha, 326 s.
- O'Connor, S., Aga, D.S. 2007. Analysis of tetracycline antibiotics in soil: advances in extraction, clean-up, and quantification. *TRAC, Trends Anal. Chem.* **26**: 456–465.
- Onji, Y., Uno, M., Tanigawa, K. 1984. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **67**: 1135.
- Orlofsky, E., Bernstein, N., Sacks, M., Vonshak, A., Benami, M., Kundu, A., et al. 2016. Comparable levels of microbial contamination in soil and on tomato crops after drip

- irrigation with treated wastewater or potable water. *Agric. Ecosyst. Environ.* **215**: 140–150.
- Pan, M., Wong, K.C., Chu, L.M. 2014. Distribution of antibiotics in wastewater-irrigated soils and their accumulation in vegetables crops in the Pearl River Delta, southern China. *J. Agric. Food Chem.* **62**: 11062–11069.
- Pan, M., Chu, L.M. 2016a. Phytotoxicity of veterinary antibiotics on seed germination and root elongation of crops. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **126**: 228–237.
- Pan, M., Chu, L.M. 2016b. Adsorption and degradation of five selected antibiotics in agricultural soil, *Science of the Total Environment* **545-546**: 48-56.
- Pan, M., Chu, L.M. 2017. Fate of antibiotics in soil and their uptake by edible crops, *Science of The Total Environment*, December 2017, **599–600**: 500-512.
- Partyka, M., L., Bond, R.F. 2022. Wastewater reuse for irrigation of produce: A review of research, regulations, and risks, *Science of the Total Environment*, **828**.
- Rabølle, M., Spiild, H. 2000. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. *Chemosphere* **40**: 715–722.
- Radcliffe, J.C. 2006. Future directions for water recycling in Australia. *Desalination* **187**: 77–87.
- Richter, R.; Římovský, K., 1996. *Organická hnojiva, jejich výroba a použití*. IVV MZe ČR, Praha, 40 s.
- Rousk, J., Demoling, L.A., Bahr, A., Bååth, E. 2008. Examining the fungal and bacterial niche overlap using selective inhibitors in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* **63**: 350–358.
- Rousk, J., Demoling, L.A., Bååth, E. 2009. Contrasting short-term antibiotic effects on respiration and bacterial growth compromises the validity of the selective respiratory inhibition technique to distinguish fungi and bacteria. *Microb. Ecol.* **58**: 75–85.
- Rousk, J., Bååth, E., 2011. Growth of saprotrophic fungi and bacteria in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* **78**: 17–30.
- Sabourin, L., Duenk, P., Bonte-Gelok, S., Payne, M., Lapen, D.R., Topp, E., 2012. Uptake of pharmaceuticals, hormones and parabens into vegetables grown in soil fertilized with municipal biosolids. *Sci. Total Environ.* **431**: 233–236.
- Santás-Miguel, V. et al. 2020. Interactions between soil properties and tetracycline toxicity affecting to bacterial community growth in agricultural soil, *Applied Soil Ecology*, **147**.
- Sapkota, A., Sapkota, A.R., Kucharski, M., Burke, J., McKenzie, S., Walker, P. 2008. Aquaculture practices and potential human health risks: Current knowledge and future priorities, *Env. Int.*, **34**: 1215-1226.
- Scaria J., Anupama K.V., Nidheesh P.V. 2021. Tetracyclines in the environment: An overview on the occurrence, fate, toxicity, detection, removal methods, and sludge management, *Science of the Total Environment* **771**.

- Sengeløv, G., Agerso, Y., Halling-Sørensen, B., Baloda, S.B., Andersen, J.S., Jensen, L.B. 2003. Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry. *Environ. Int.* **28**: 587–595.
- Schindler, J.: *Mikrobiologie pro studenty zdravotnických oborů*. Grada Publishing. 2009, 248
- Schmitt, H., Stoob, K., Hamscher, G., Smit, E., Seinen, W. 2006. Tetracyclines and tetracycline resistance in agricultural soils: microcosm and field studies. *Microb. Ecol.* **51**: 267–276.
- Søeborg, T., Ingerslev, F., Halling-Sørensen, B. 2004. Chemical stability of chlortetracycline and chlortetracycline degradation products and epimers in soil interstitial water. *Chemosphere* **57**: 1515–1524.
- Sollic, M., Roy-Lachapelle, A., Sauvé, S. 2015. Quantitative performance of liquid chromatography coupled to Q-Exactive high resolution mass spectrometry (HRMS) for the analysis of tetracyclines in a complex matrix. *Anal. Chim. Acta* **853**: 415–424.
- Sollic, M., Roy-Lachapelle, A., Gasser, M.-O., Coté, C., Génereux, M., Sauvé, S. 2016. Fractionation and analysis of veterinary antibiotics and their related degradation products in agricultural soils and drainage waters following swine manure amendment, *Science of the Total Environment* **543**: 524–535.
- Song, J., Rensing, C., Holm, P.E., Virta, M., Brandt, K.K. 2017. Comparison of metals and tetracycline as selective agents for development of tetracycline resistant bacterial communities in agricultural soil. *Environ. Sci. Technol.* **51**: 3040–3047.
- Pavlata, L. 2022. Stream. Available from <https://www.stream.cz/presvedcte-se-na-vlastni-oci/antibiotika-v-chovech-zvirat-64476173> (accessed Dec 05, 2022). Ústav výživy zvířat a pícninářství, Mendelova univerzita v Brně.
- Srinivasan, P., Sarmah, A.K., Manley-Harris, M. 2013. Co-contaminants and factors affecting the sorption behaviour of two sulfonamides in pasture soils. *Environ. Pollut.* **180**: 165–172.
- Šimek, M., Elhottová, D., Pižl, V. 2021. *Živá půda – Výzkumný program Rozmanitost života a zdraví ekosystémů*; AVČR: Praha.
- Teixidó, M., Granados, M., Prat, M.D., Beltrán, J.L. 2012. Sorption of tetracyclines onto natural soils: data analysis and prediction. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **19**: 3087–3095.
- Thiele-Bruhn, S. 2003. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—a review. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **166**: 145–167.
- Thiele-Bruhn, S., Seibicke, T., Schulten, H.R., Leinweber, P. 2004. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle-size fractions. *J. Environ. Qual.* **33**: 1331–1342.
- Thiele-Bruhn, S. 2005. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass. *Chemosphere* **59**: 457–465.
- Tollis, J. 2001. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review. *Environ. Sci. Technol.* **35**: 3397–3406.

- Urta, J., Alkorta, I., Lanzén, A., Mijangros, I., Garbisu, C. 2019. The application of fresh and composted horse and chicken manure affects soil quality, microbial composition and antibiotic resistance. *Appl. Soil Ecol.* **135**: 73–84.
- USEPA, 2012. Guidelines for Water Reuse. National Risk Management Research Lab., Cincinnati, OH. Office of Research and Development.; Agency for International Development, Washington, DC.; Environmental Protection Agency, Washington, DC. Office of Wastewater Management, Washington, D.C, p. 643.
- Wang, Feng-Hua et al. 2015. Antibiotic resistance genes in manure-amended soil and vegetables at harvest, *Journal of Hazardous Materials* **299**: 215-221.
- Wei, X., Wu, S.C., Nie, X.P., Yediler, A., Wong, M.H. 2009. The effects of residual tetracycline on soil enzymatic activities and plant growth. *J. Environ. Sci. Heal. B.* **44**: 461–471.
- Wells, M.J.M. 2006. Log DOW: Key to understanding and regulating wastewater-derived contaminants. *Environ. Chem.* **3**: 439–449.
- WikiSkripta. Available from <https://www.wikiskripta.eu/w/Antibiotika> (accessed Nov 06, 2022)
- Wu, J., Jiang, Y., Zha, L., Ye, Z., Zhou, Z., Ye, J., Zhou, H. 2010. Tetracycline degradation by ozonation, and evaluation of biodegradability and toxicity of ozonation byproducts. *Can. J. Civ. Eng.* **37**: 1485–1491.
- Wu, X., Ernst, F., Conkle, J.L., Gan, J. 2013. Comparative uptake and translocation of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by common vegetables. *Environ. Int.* **60**: 15–22.
- Wu, L., Pan, X., Chen, L., Huang, Y., Teng, Y., Luo, Y., Christie, P., 2013. Occurrence and distribution of heavy metals and tetracyclines in agricultural soils after typical land use change in east China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **20**: 8342–8354.
- Wu, X., Conkle, J.L., Ernst, F., Gan, J. 2014. Treated wastewater irrigation: uptake of pharmaceutical and personal care products by common vegetables under field conditions. *Environ. Sci. Technol.* **48**: 11286–11293.
- Xie, Y.H., Lark, T.J. 2021. Mapping annual irrigation from Landsat imagery and environmental variables across the conterminous United States. *Remote Sens. Environ.* **260**: 17.
- Yang, S., Cha, J., Carlson, K. 2004. Quantitative determination of trace concentrations of tetracycline and sulfonamide antibiotics in surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography/ion trap tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **18**: 2131–2145.
- Yang, Q., Zhang, J., Zhang, W., Wang, Z., Xie, Y., Zhang, H. 2010. Influence of tetracycline exposure on the growth of wheat seedlings and the rhizosphere microbial community structure in hydroponic culture. *J. Environ. Sci. Heal. B.* **45**: 190–197.
- Zákony pro lidi. Available from <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2021-273> (accessed Nov 19, 2022).

Zeng, T., Chin, Y.-P., Arnold, W.A. 2012. Potential for abiotic reduction of pesticides in prairie pothole porewaters. Environ. Sci. Technol. **46**: 3177–3187.

Literatura byla generována pomocí volně dostupného citačního manažeru Mendeley - <https://www.mendeley.com/download-desktop/>