

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-16-0171****Progresívne metódy zabráňujúce vzniku a šíreniu rezistencie baktérií voči klinicky relevantným antibiotikám**Zodpovedný riešiteľ **doc. Ing. Lucia Bírošová, PhD.**Príjemca **Slovenská technická univerzita v Bratislave****Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený**Slovenská technická univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie
Univerzita veterinárneho lekárstva a farmácie v Košiciach
Univerzita Pavla Jozefa Šafárika Košice
Centrum biovied SAV**Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení**

Fakulta rybníctví a ochrany vod, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, ČR - analýza prítomnosti farmaceutík v odpadových vodách

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

žiadne

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Najvýznamnejšie publikácie v zahraničných karentoch:

BÍROŠOVÁ, L., a kol.: Non-antimicrobial pharmaceuticals can affect the development of antibiotic resistance in hospital wastewater. In Environmental science and pollution research. Vol. 27, iss. 12 (2020), s. 13501-13511. ISSN 0944-1344 (2019: 3.056 - IF, Q2 - JCR Best Q, 0.788 - SJR, Q2 - SJR Best Q). V databáze: DOI: 10.1007/s11356-020-07950-x ; SCOPUS: 2-s2.0-85079499063 ; CC: 000534222300056.

LÉPESOVÁ, K., a kol.: Hospital Wastewater-Important Source of Multidrug Resistant Coliform Bacteria with ESBL-Production. In International Journal of Environmental Research and Public Health. Vol. 17, iss. 21 (2020), s. [1-14], art. no. 7827. ISSN 1660-4601 (2019: 2.849 - IF, Q1 - JCR Best Q, 0.739 - SJR, Q2 - SJR Best Q). V databáze: DOI: 10.3390/ijerph17217827 ; SCOPUS: 2-s2.0-85094200635 ; CC: 000589072000001.

MACKUĽAK, T., a kol.: Progressive degradation procedures vs drugs, viruses and pathogenic microorganisms in wastewater. In Chemické listy. Vol. 114, iss. 9 (2020), s. 602-608. ISSN 0009-2770 (2019: 0.390 - IF, Q4 - JCR Best Q, 0.183 - SJR, Q3 - SJR Best Q). V databáze: CC: 000567994200006.

Mackuľak, T. a kol.: Hospital wastewaters treatment: Fenton reaction vs. BDDE vs. ferrate(VI), Environmental Science and Pollution Research 26(31), 31812-31821 (2019)

Lépesová, a kol.: Annual changes in the occurrence of antibiotic-resistant coliform bacteria

and enterococci in municipal wastewater, *Environmental Science and Pollution Research* 26, 18470-18483, 2019

Mackuľak, T., a kol.: Boron doped diamond electrode – The elimination of psychoactive drugs and resistant bacteria from wastewater. *Vacuum* 171, 108957 (2020)

Brandeburova, P., a kol.: Nanocastice – ekotoxicke ucinky na ivotne prostredie. *Chem. Listy* 113, 97-103 (2019)

Lisowska-Łysiak K, a kol.: New Insight into Genotypic and Phenotypic Relatedness of *Staphylococcus aureus* Strains from Human Infections or Animal Reservoirs. *Pol J Microbiol.* 2019;68(1):93-104. doi: 10.21307/pjm-2019-011.

Handrova L. , Kmeť V.: Antibiotic resistance and virulence factors of *Escherichia coli* from eagles and goshawks. *J Environ Sci Health B.* 2019;54(7):605-614. doi: 10.1080/03601234.2019.1608103.

Goławska, O., a kol.: Complex bacterial flora of imported pet tortoises deceased during quarantine: Another zoonotic threat?, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 65, 2019, 154-159.

Hamarova L., a kol: Antimicrobial Resistance of Enterococci from Wild Animals in Slovakia. *Pol. J. Environ. Stud.* Vol. 30, No. 3 (2021), 1-7, DOI: 10.15244/pjoes/126371, IF 1,421. (v tlaci)

TIMKOVA, I. a kol.: High frequency of antibiotic tolerance in deep subsurface heterotrophic cultivable bacteria from the Rozalia Gold Mine, Slovakia. In: *Environmental Science and Pollution Research.* - ISSN 0944-1344. - Ro. 27, . 35 (2020), s. 44036-44044. (2019: 3.056 - IF, Q2 - JCR Best Q, 0.788 - SJR, Q2 - SJR Best Q). DOI 10.1007/s11356-020-10347-5

GERBACOVA, K. a kol.: The Faecal Microbiome of Building-Dwelling Insectivorous Bats (*Myotis myotis* and *Rhinolophus hipposideros*) also Contains Antibiotic-Resistant Bacterial Representatives. In: *Current Microbiology : an international journal.* - ISSN 0343-8651. - Ro. 77, . 9 (2020), s. 2333-2344. (2019: 1.739 - IF, Q2 - JCR Best Q, 0.590 - SJR, Q2 - SJR Best Q). DOI 10.1007/s00284-020-02095-z

TIMKOVA, I a kol.: Impact of Heavy Metals on Development of Metal Resistance in Soil Microbiota. In: *Inzynieria mineralna - Journal of the Polish mineral engineering society.* Ro. 21, . 1 (2019), s. 111-114. ISSN: 1640-4920 (SJR 2019 0.249, Q3 - JCR Best Q).

Vedecka monografia:

MACKUĽAK, T., BODIK, I., BÍROŠOVÁ, L.: *Drogy a lieiva okolo nas.* prve. Bratislava, Spektrum STU, 2020. ISBN 978-80-227-5010-3.

Vyznamne publikácie v recenzovaných asopisoch v databáze WOS:

KRAHULCOVA, M. a kol.: Occurrence of antibiotic resistant bacteria in raw cow milk from vending machines. In *Acta Chimica Slovaca.* Vol. 11, iss. 1 (2018), s. 55-59. ISSN 1337-978X. V databáze: WOS: 000438365800009.

LÉPESOVÁ, K. a kol.: Prevalence of antibiotic-resistant coliform bacteria, *Enterococcus* spp. and *Staphylococcus* spp. in wastewater sewerage biofilm. In *Journal of Global Antimicrobial Resistance.* Vol. 14, (2018), s. 145-151. ISSN 2213-7165. V databáze: WOS: 000444519600031 ; DOI: 10.1016/j.jgar.2018.03.008

Đurišova, K., a kol.: Stationary phase selects predominantly ciprofloxacin resistant strains of *Salmonella Typhimurium* with mutation in *gyrA*, *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 9(2), 302-306. (2019)

Lepesova, K. a kol.: Identification and characterization of triclosan-resistant coliform bacteria isolated from sewage sludge, *Acta Chimica Slovaca* 12(1), 34-40 (2019)

Mackuľak, T., a kol.: Pharmaceuticals, drugs and resistant microorganisms - environmental impact on population health, *Current Opinion in Environmental Science & Health* 9, 40-48, 2019

Uplatnenie výsledkov projektu

Za celé riešenie projektu bolo opublikovaných 17 prác v karentovych zahraničných časopisoch, 13 v slovenských a 7 v zahraničných recenzovaných odborných časopisoch, pričom väčšina patri do databázy WOS a SCOPUS a niektoré disponujú aj IF. Na opublikované práce je v sucasnosti 29 zahraničných citácií. Výsledky projektu boli

prezentované aj na odborných podujatiach pričom 86 vedeckých prác bolo publikovaných v zborníkoch zo SR aj zahraničia. Počas riešenia zároveň vznikli 3 vysokoškolské učebnice a 1 vedecká monografia. Výsledky projektu boli aj súčasťou každoročnej správy o zoonózach pre MPRV SR. Časť výsledkov bola prezentovaná aj na odbornom fóre siete expertov pre náhle riziká Európskej agentúry pre bezpečnosť potravín. Projekt taktiež podporil každoročnú konferenciu pre mladých mikrobiológov "Čo nové v mikrobiológii".

Počas projektu sme získali nové poznatky o výskyte bakteriálnej rezistencie v environmente, potravinách a ľudskom črevnom trakte.

Získané výsledky významne napomôžu budúcej aplikácii vybraných technológií v praxi a to najmä bórom dopovaných elektród ako aj enkapsulovaných železanov, hlavne v prípade bodových zdrojov mikropolutantov ako sú odpadové vody zo zdravotníckych zariadení alebo dezinfekcia bazénov.

Taktiež bolo na základe získaných výsledkov projektu vypracované vedecké hodnotenie rizika, ktoré bolo zadané Ministerstvom pôdohospodárstva a rozvoja vidieka SR: Bírošová, L., Sirotná, Z.: Hodnotenie rizika mikrobiálnej kontaminácie potravín typu "sushi" a potravín obsahujúcich plody mora. MPRV SR, ISBN 978-80-89738-20-5, 35 strán (2019)

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Cieľom projektu bola analýza výskytu baktérií rezistentných voči antibiotikám v rôznych prostrediach zahrňujúcich celý potravinový reťazec "od farmy až po stôl" ako aj európsku stratégiu One Health. Na základe tejto analýzy bol vyšetrovaný vplyv prostredia na vývoj rezistencie a vyvinuté rôzne technológie, ktoré by pomohli znížiť celkové zaťaženie rezistentnými baktériami. Baktérie rezistentné voči antibiotikám sme detegovali v celom reťazci od odpadových, povrchových a podzemných vôd, či stabilizovaného kalu používaného ako fertilizér, cez vybrané potraviny rastlinného a živočíšneho pôvodu až po intestinálny trakt zdravých ľudí a domácich či voľne žijúcich zvierat. Výnimku tvorili zeleninové a ovocné šaláty z prevádzok rýchleho občerstvenia a trhovej siete v SR. To potvrdzovali aj naše experimenty, pri ktorých sme nezaznamenali transfer mikroorganizmov z kontaminovanej pôdy do rastlín. Nakoľko v prípade zeleninových či ovocných smoothie nápojov bola situácia odlišná, predpokladáme že tieto potraviny určené na priamy konzum obsahujú rezistentné baktérie ako výsledok sekundárnej kontaminácie. Najhoršiu situáciu sme pozorovali v prípade vzoriek odtokovej vody zo zdravotníckych zariadení akými sú nemocnice, v ktorých sme detegovali kmene nesúce kombináciu mnohých génov rezistencie. V prípade ak takéto vody nie sú upravené prispievajú k šíreniu rezistencie nielen v komunálnej odpadovej vode ale aj na ČOV a ďalej v prostredí. Naš výskum tiež poukázal na to, že aj rôzne farmaceutiká či ich metabolity s neantimikrobiálnym účinkom prispievajú k vývoju mutácií vedúcich k rezistencii. Čo je alarmujúce, práve nízke koncentrácie týchto látok v ktorých sa bežne vyskytujú v odpadových či prípadne povrchových vodách viac preukazujú tento účinok na vývoj rezistencie. Vo väčšine študovaných prostredí vyznačujúcich sa zvýšenou koncentráciou ťažkých kovov (sklárky z banskej a hutníckej výroby) sa preukázala štatisticky významná korelácia medzi zvýšenou rezistenciou voči kovom a rezistenciou voči antibiotikám. Pravdepodobne vzhľadom na rozdielne obsahy ťažkých kovov v študovaných prostrediach sa pozorovali rozdiely v pozorovaných koreláciách. Najčastejšie sa pozorovala väzba medzi rezistenciou voči medi a antibiotikám, v niektorých prípadoch aj medzi rezistenciou voči zinku a tetracyklínu. Účinnosť progresívnych technológií zameraných na odstránenie rezistentných baktérií sme testovali na rôznych vzorkách odpadovej vody, pričom sme sa primárne sústredili na pokročilé oxidačné procesy, ktoré účinne odstraňujú aj rôzne mikropolutanty prispievajúce k vývoju a šíreniu mikrobiálnej rezistencie. Najúčinnějšíou technológiou sa ukázala modifikovaná Fentonova reakcia, ktorá ale z hľadiska konečnej úpravy vzorky sa v súčasnosti nejaví byť úplne vhodná na aplikáciu do praxe. Vhodnejšou alternatívou sa ukázali byť enkapsulované tablety na báze železanov, či bórom dopované elektródy upravené na polovičnú spotrebu energie. Vzhľadom na nepriaznivú pandemickú situáciu a s ňou spojené obmedzenia sa nám však nepodarilo dotiahnuť tieto experimenty a aplikácie do podoby poloprevádzkového modelu umiestneného na ČOV. Všetky ostatné stanovené ciele projektu boli v plnej miere naplnené.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku

(max. 20 riadkov)

The aim of the project was to analyze antibiotic-resistant bacteria occurrence in various environments covering the entire food chain "from farm to fork" as well as the European strategy One Health. Based on this analysis, the impact of the environment on the antibiotic resistance development was investigated and various technologies were developed to help reduce the overall burden of resistant bacteria. We have detected antibiotic-resistant bacteria throughout the chain, from wastewater, surface water and groundwater, or stabilized sludge used as a fertilizer, through selected foods of plant and animal origin to the intestinal tract of healthy people and domestic or wild animals. An exception was vegetable and fruit salads from fast food and the market in the Slovak Republic. This was also confirmed by our experiments, in which we did not record the transfer of microorganisms from contaminated soil to plants. As the situation was different in the case of vegetable or fruit smoothie drinks, we assume that these foods intended for direct consumption contain resistant bacteria as a result of secondary contamination. We observed the worst situation in the case of effluent samples from medical facilities such as hospitals, in which we detected strains carrying a combination of many resistance genes. If such waters are not treated, they contribute to the spread of resistance not only in municipal wastewater but also at WWTPs and further in the environment. Our research has also shown that various pharmaceuticals or their metabolites with non-antimicrobial activity also contribute to the development of mutations leading to resistance. What is alarming, it is the low concentrations of these substances, in which they commonly occur in wastewater or surface water, that demonstrate this effect on the development of resistance. In most of the studied environments characterized by an increased concentration of heavy metals (landfills from mining and metallurgical production), a statistically significant correlation between increased resistance to metals and resistance to antibiotics was demonstrated. Probably due to the different contents of heavy metals in the studied environments, differences in the observed correlations were observed. The most common link between copper and antibiotic resistance, and in some cases zinc and tetracycline resistance. We tested the effectiveness of advanced technologies to remove resistant bacteria on a variety of wastewater samples, focusing primarily on advanced oxidation processes that they also effectively remove various micropollutants contributing to the development and spread of microbial resistance. The most effective technology was the modified Fenton reaction, which, however, from the point of view of the final treatment of the sample, does not currently appear to be completely suitable for application in practice. Iron-based encapsulated tablets or boron-doped electrodes modified for half energy consumption have proven to be a more suitable alternative. However, due to the unfavorable pandemic situation and the associated limitations, we were not able to bring these experiments and applications into the form of a pilot plant model located at the WWTP. All other set goals of the project were fully fulfilled.