

USODA VETERINARSKIH ZDRAVIL V OKOLJU: PRIMER KOKCIDIOSTATIKOV IN ZDRAVIL PROTI VAROJI

Suzana Žižek¹, Silvestra Kobal²

¹ Laboratorij za raziskave v okolju,
Univerza v Novi Gorici, Vipavska 13, 5000
Nova Gorica

² Inštitut za fiziologijo, farmakologijo in
toksikologijo, Veterinarska fakulteta,
Univerza v Ljubljani, Gerbičeva 60, 1000
Ljubljana



REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA KMETIJSTVO IN OKOLJE



Javna agencija
za raziskovalno dejavnost
Republike Slovenije



Delo je bilo opravljeno v sklopu CRP-a V4 – 1105: „Uporaba zdravil in pesticidov pri zdravstvenem varstvu živali z vidika varovanja okolja“, ki sta ga financirali Slovenska Raziskovalna Agencija in Ministrstvo za kmetijstvo in okolje R Slovenije



- Ostanki zdravil za uporabo v veterinarski medicini in produkti njihove biotransformacije lahko predstavljajo resno nevarnost za okolje in za neoporečnost živil živalskega in rastlinskega izvora.
- Cilji:
 - izdelati okoljsko oceno tveganja za kokcidiostatika lasalocid in monenzin
 - ugotoviti tudi vpliv zdravljenja s kumafosom ali amitrazom na rezultate kliničnega pregleda čebeljih družin in na prisotnost ostankov teh zdravil v medu, čebelji zalegi in vosku.

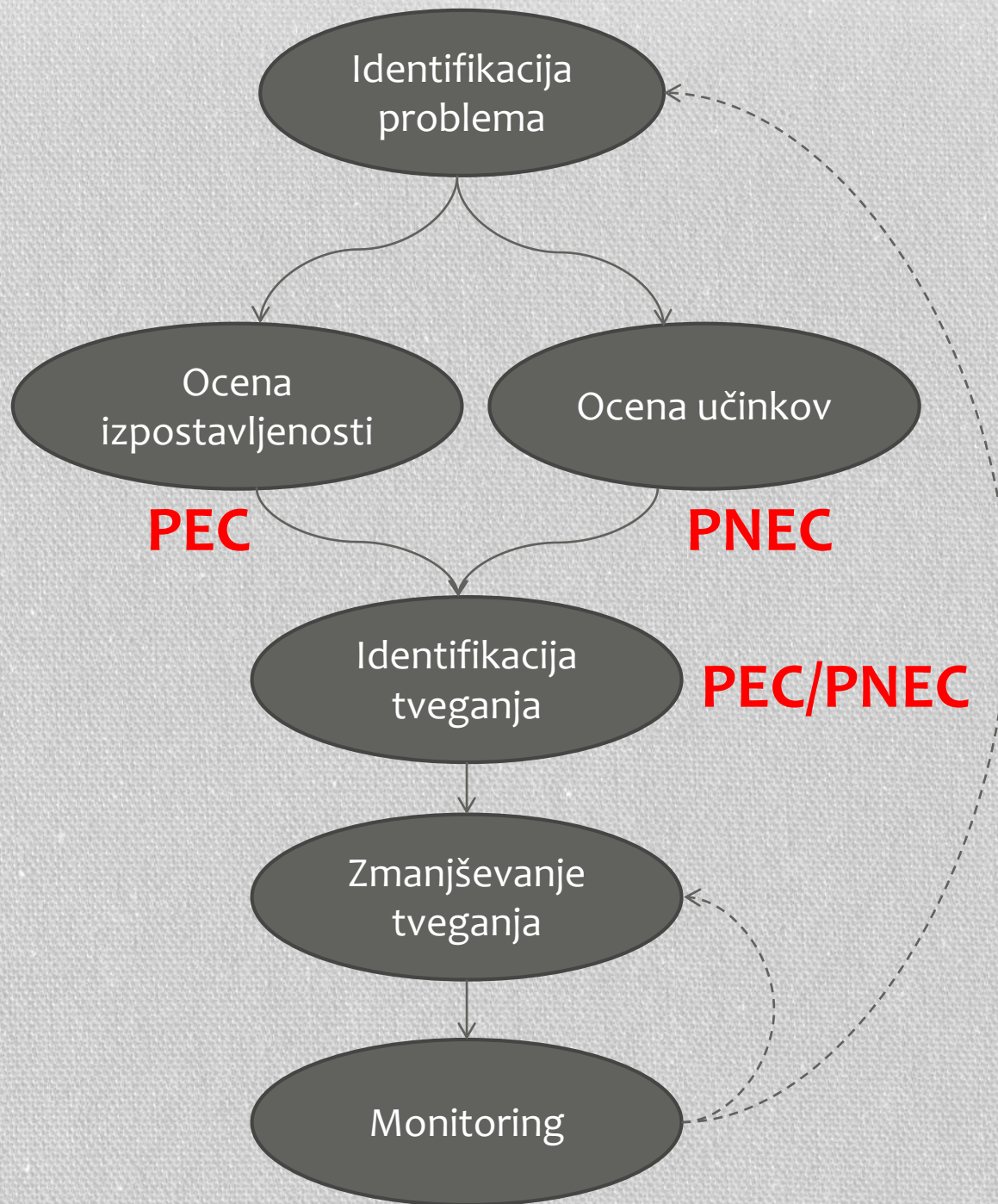
PRVI SKLOP: "Razgradnja kokcidostatikov v iztrebkih in zemlji, njihov vpliv na rast krmnih rastlin in tveganje za okolje"

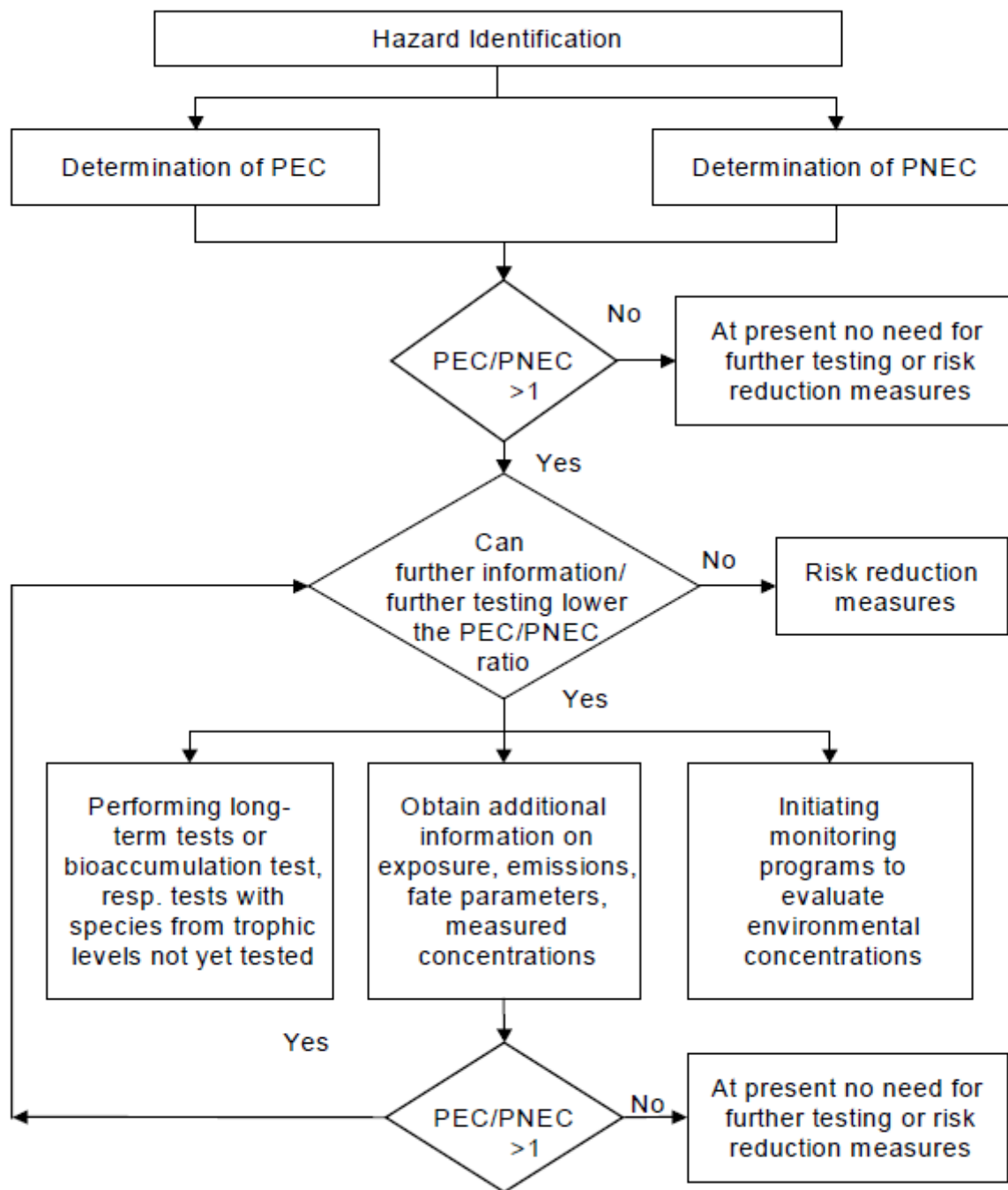
1. Kronična toksičnost lasalocida za deževnike
2. Razgradnja lasalocida v gnoju in kompostu
3. Razgradnja lasalocida in monenzina na kmetijskih površinah
4. Vpliv lasalocida in monenzina na rast krmnih rastlin

- Monenzin in lasalocid sta najpogostejše uporabljana karboksilna ionoforna antibiotika. Lasalocid je na slovenskem tržišču na razpolago v obliki preparata Avatec (Alpharma), monenzin pa kot Elancoban (Eli Lilly and Company) in Coxidin (Huvepharma)
- Namenjena sta za rejo v perutninarstvu za preventivo in zdravljenje kokcidioze pri piščancih in puranih. Oba se iz tretiranih živali izločata z iztrebki, pretežno v nespremenjeni obliki.
- Podatkov o tveganju, ki ga lasalocid predstavlja za talne organizme, in o tem, koliko časa poteka njegova razgradnja v iztrebkih in kdaj je le-te varno uporabiti za gnojenje, je bilo v literaturi zelo malo. O okoljskih učinkih monenzina je znanega nekoliko več, vendar ni bilo podatkov o njegovi usodi v okolju.
- Poleg tega je bil namen dela iz dobljenih podatkov o razgradnji in kronični toksičnosti monenzina in lasalocida izračunati oceno tveganja za gnojenje kmetijskih površin z iztrebki brojlerjev, tretiranih z lasalocidom ali monenzinom.

Metode izvajanja poskusov z lasalocidom in monenzinom

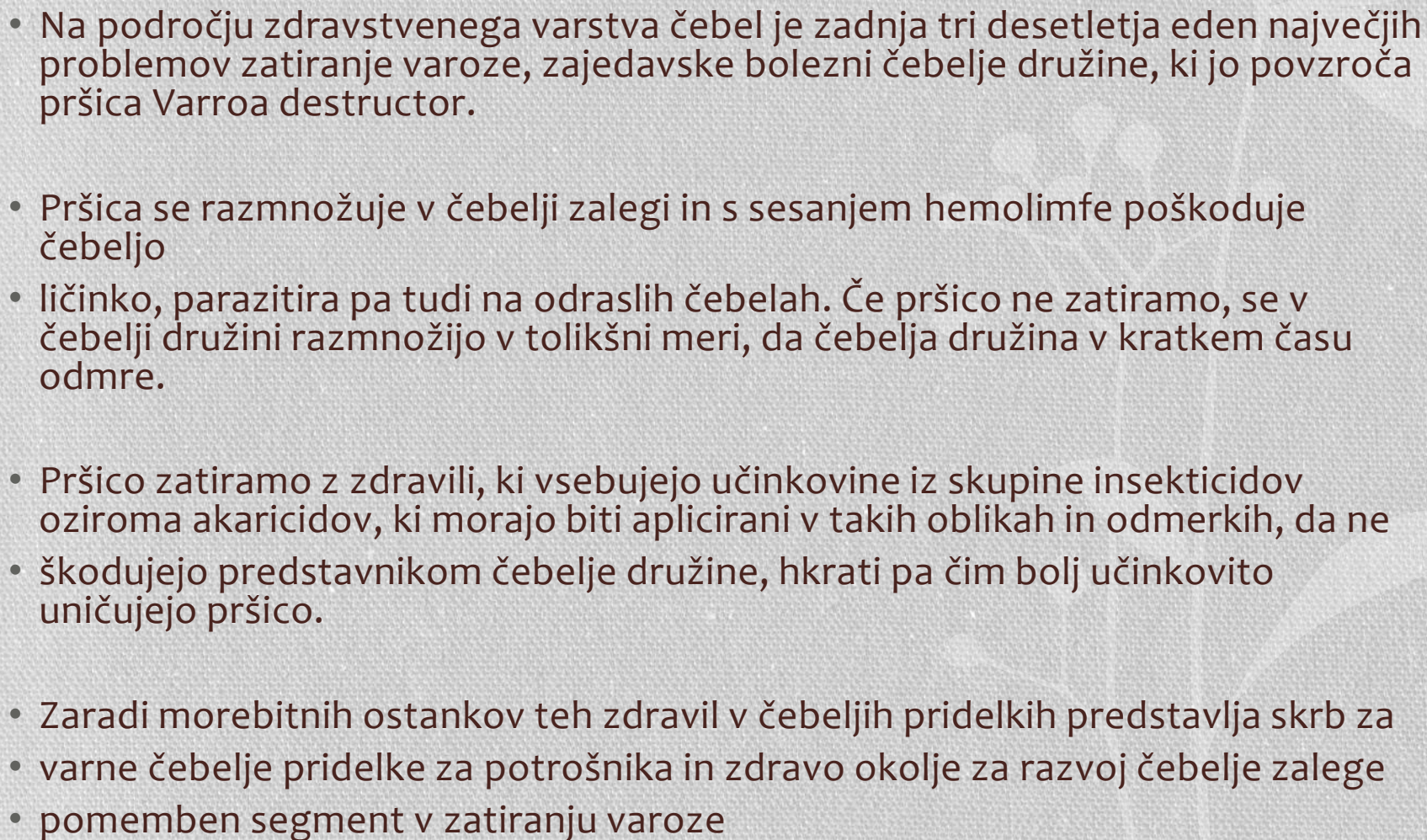
- Test kronične toksičnosti lasalocida na deževnikih (OECD 222),
- Lasalocid smo določali s HPLC s fluorescenčno detekcijo, monenzin z LC-MS/MS.
- Za ugotavljanje morebitnega vpliv lasalocida in monenzina na rast rastlin smo uporabljali test OECD (test št. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test).
- Vsebnost dušika v pšenici smo merili s Kjeldahlovo metodo po razklopu v žveplovni kislini, alkalizaciji z natrijevim hidroksidom, destilaciji v borovo kislini in titraciji s klorovodikovo kislino.
- Koncentracije fosforja, kalija, kalcija in magnezija smo merili z masno spektroskopijo z induktivno sklopljeno plazmo (ICP-MS) po kislinskem razklopu.





DRUGI SKLOP: "Določanje ostankov amitraza in kumafosa v čebeljih izdelkih in ugotavljanje njunega vpliva na čebele ter ugotavljanje toksičnosti kumafosa za sesalce"

1. Vpliv zdravljenja s kumafosom ali amitrazom na klinično zaznavno jakost čebelje družine;
2. Ugotavljanje ostankov kumafosa v medu, čebelji zalegi in vosku;
3. Ugotavljanje ostankov amitraza in njegovih razradnih produktov v medu, čebelji zalegi in vosku;
4. Vpliv nizkih odmerkov kumafosa na razvoj centralnega živčnega sistema pri miših kot modelnem organizmu za človeka.

- 
- A faint, artistic background image showing a bee on a flower, with the bee's legs and the flower's petals visible in a soft, painterly style.
- Na področju zdravstvenega varstva čebel je zadnja tri desetletja eden največjih problemov zatiranje varoze, zajedavske bolezni čebelje družine, ki jo povzroča pršica *Varroa destructor*.
 - Pršica se razmnožuje v čebelji zalegi in s sesanjem hemolimfe poškoduje čebeljo
 - ličinko, parazitira pa tudi na odraslih čebelah. Če pršico ne zatiramo, se v čebelji družini razmnožijo v tolikšni meri, da čebelja družina v kratkem času odmre.
 - Pršico zatiramo z zdravili, ki vsebujejo učinkovine iz skupine insekticidov oziroma akaricidov, ki morajo biti aplicirani v takih oblikah in odmerkih, da ne
 - škodujejo predstavnikom čebelje družine, hkrati pa čim bolj učinkovito uničujejo pršico.
 - Zaradi morebitnih ostankov teh zdravil v čebeljih pridelkih predstavlja skrb za
 - varne čebelje pridelke za potrošnika in zdravo okolje za razvoj čebelje zalege
 - pomemben segment v zatiranju varoze

- V Sloveniji smo za zatiranje varoze v zadnjih letih poleg drugih zdravil uporabljali amitraz v obliki lasniškega zdravila Apivar (Veto-pharma, Francija), ki smo ga predpisali kot glavno zdravilno učinkovino za poletno zatiranje varoj v letu 2009 v okviru nacionalnega programa zatiranja varoze, čebelarji pa so ga v minulih letih veliko uporabljali tudi v drugih oblikah.
- Poleg amitraza smo uporabljali tudi kumafos v obliki lastniškega zdravila Perizin (Bayer, Nemčija), ki se uporablja za zatiranje varoze v zimskem času, nekaj pa so ga čebelarji uporabljali tudi v drugih pripravkih. V letu 2010 je bila učinkovina kumafos predpisana v obliki lastniškega zdravila CheckMite (Bayer, Nemčija) v okviru nacionalnega programa zatiranja varoze pri večini čebeljih družin v Sloveniji.
- Poleg ostankov amitraza in kumafosa, ki se lahko pojavljajo v medu, kar je vsekakor aktualno z vidika varstva potrošnika, se pojavlja tudi vprašanje ostankov in vpliva obeh učinkovin v vosku iz katerega je zgrajeno satje, kjer se poteka razvoj zalege.

- Ostanke v zalogi, ki predstavlja prehrano za čebele, ter ostanke v satju lahko bistveno vplivajo na razvoj čebelje zalege ter vitalnost čebel in posledično na pojav drugih bolezni.
- Stabilne lipofilne učinkovine akaricidov se lahko akumulirajo v satju uoziroma čebeljem vosku
- Zaradi tega predstavljajo potencialen vir onesnaženja medu, saj lahko iz voska difundirajo v med, pa tudi v čebeljo zalego.
- Čistost voska pa je pomembna tudi zato, ker se uporablja tudi v farmacevtski in kozmetični industriji.

- Ostanke kumafosa in amitraza, ki se lahko pojavljajo v medu, so pomembni z vidika varstva potrošnika
- Ostanke v zalegi ter ostanke v satju pa lahko pomembno vplivajo na razvoj čebelje zalege ter vitalnost čebel in posledično na pojav drugih bolezni pri čebeljih družinah.



- Kumafos in amitraz v medu in čebelji zalegi smo določali z reverzno -fazno tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (RP-HPLC) z UV detekcijo, plinsko kromatografijo z masno detekcijo (GC-MS) pa smo uporabili za določanje kumafosa oz. amitraza v vosku.



Zaključki

- Z ekotoksikološkim testom kronične toksičnosti lasalocida za deževnike je bilo ugotovljeno, da je LC_{50} za deževnike 156 mg/kg suhe zemlje, EC_{50} za razmnoževanje deževnikov 69,7 mg/kg suhe zemlje, koncentracija, ki ni povzročila učinkov na reprodukcijo deževnikov pa 4,77 mg/kg suhe zemlje.
- Razpolovni čas za lasalocid na njivi znaša 3,84 in na njivi 3,03 dni, za monenzin pa 5,67 in 5,45 dni.
- Razgradnja lasalocida v gnoju poteka pod vplivom mikroorganizmov. Ob pomanjkanju vode se zaradi odsotnosti mikroorganizmov razgradnja ustavi, zaradi česar se razpolovna doba lasalocida poveča na več kot šest mesecev.

Zaključki

Ocena tveganja za lasalocid in monenzin na njivah v primeru letnega vnosa dušuka 170 kgN/ha. PNEC – predvidena koncentracija brez učinka, PEC – predvidena okoljska koncentracija, PEC/PNEC – količnik tveganja, scenarij I – uporaba gnoja brez staranja, scenarij II – uporaba gnoja, staranega tri mesece.

	PNEC (µg/kg)	PEC (µg/kg)		PEC/PNEC	
		Scenarij I	Scenarij II	Scenarij I	Scenarij II
Lasalocid	47,7	28,4	14,2	0,59	0,30
Monenzin	35,0	29,3	14,7	0,85	0,42

Ocena tveganja za lasalocid in monenzin na travnikih v primeru letnega vnosa dušuka 320 kgN/ha. PNEC – predvidena koncentracija brez učinka, PEC – predvidena okoljska koncentracija, PEC/PNEC – količnik tveganja, scenarij I – uporaba gnoja brez staranja, scenarij II – uporaba gnoja, staranega tri mesece.

	PNEC (µg/kg)	PEC (µg/kg)		PEC/PNEC	
		Scenarij I	Scenarij II	Scenarij I	Scenarij II
Lasalocid	47,7	59,7	29,9	1,25	0,63
Monenzin	35,0	51,6	25,8	1,47	0,74

Zaključki

- Kumafos se ne akumulira v medu ali iz satja ne difundira v med v količinah, ki bi jih zaznali z uporabljeno metodo, vsekakor pa ne presega MRL. Zaradi tega je uporaba kumafosa kot zdravila za zdravljenje varoze primerna, saj v terapevtskih odmerkih ob upoštevanju karence ne povzroča prisotnosti ostankov (kontaminantov) v medu.
- Za razliko od medu se kumafos akumulira v čebelji zalegi. Šest tednov po vstavljanju zdravila, ki vsebuje kumafos v panje, smo v zalegi iz vseh panjev našli kumafos. Koncentracija kumafosa se med panji, pri katerih se je uporabil terapevtski odmerek, in panji, pri katerih se je uporabil za polovico presežen odmerek, ni bistveno (statistično) razlikovala.
- Rezultati kažejo na prisotnost in akumulacijo kumafosa v satju (vosku) in da iz voska prehaja tudi v razvijajočo se čebeljo zalego, saj smo že pred vstavljanjem zdravila, ki vsebuje kumafos, pri čebelji zalegi iz treh panjev ugotovili prisotnost kumafosa.
- Amitraz ali njegovi razgradni produkti DMA, DMF in DPMF se po uporabi terapevtskih odmerkov zdravila, ki vsebuje amitraz, ne akumulirajo v medu, čebelji zalegi ali vosku.
- Nizki odmerki kumafosa v vodi za pitje pri miših niso povzročili spremembe vedenjskih vzorcev, kot tudi niso vplivali na izraženost genov v možganih.
- V drugem letu uporabe amitraza za zatiranje varoze pri čebeljih družinah je bila ugotovljena rezistenca varoj na omenjeno učinkovino.

Priporočila

- Z namenom zagotavljanja varne hrane priporočamo rotacijo kokcidiostatikov, saj se na ta način zmanjša akumulacija teh učinkovin v zemlji obdelovalnih površin.
- Razpad lasalocida v gnoju in kompostu je odvisen od bakterijske razgradnje, zato priporočamo opisan postopek kompostiranja.
- Priporočamo tudi rotacijo uporabe učinkovin za zatiranje varoze pri čebeljih družinah, saj smo v drugem letu poskusa opazili rezistenco varoj na amitraz.
- Posebno pozornost je potrebno nameniti uporabi čebeljega voska, saj se je bila v njem ugotovljena akumulacija kumafosa, kar bi lahko imelo za posledico prehajanje te učinkovine iz voska v čebeljo zalego in med.

Zahvala

- Avtorji se zahvaljujejo Slovenski Raziskovalni Agenciji in Ministrstvu za kmetijstvo in okolje za financiranje raziskovalnega dela (CRP V4-1105).
- Zahvala gre tudi obema čebelarjema za njuno privolitev v sodelovanju pri raziskavi in pomoč pri vzorčenju.

