



prof. dr hab.
Aleksandra
Ziemińska-
Buczyńska

Mikrobiolog, nauczyciel akademicki, polaryzator nauki. Zajmuje się badaniami składu, dynamiki funkcjonowania i potencjału biotechnologicznego zbiorowisk bakteryjnych w środowiskach naturalnych i technologicznych ze szczególnym uwzględnieniem bakterii przemian azotowych w biologicznym oczyszczaniu ścieków. Od 2017 roku pełni funkcję dyrektora Centrum Popularyzacji Nauki Politechniki Śląskiej, pierwszej w Polsce jednostki koordynującej popularyzację nauki na uczelni, zastępca przewodniczącego Rady Upowszechniania Nauki PAN, członek Stowarzyszenia Rzecznicy Nauki.

aleksandra.ziembinska-buczyńska@polsl.pl

CO NAS W ŚCIEKACH WŚCIEKA

Ścieki zawierają nie tylko organiczne zanieczyszczenia, lecz także często ślady farmaceutyków, w tym antybiotyków, które mogą przyczynić się do wzrostu antybiooporności bakterii.

Aleksandra Ziemińska-Buczyńska

Katedra Biotechnologii Środowiskowej
Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki
Politechnika Śląska

Pierwsze skojarzenie ze słowem „biotechnologia” z reguły wiąże się z medycyną, DNA i manipulacjami genowymi. Nie jest to jednak jedyna gałąź tej nauki. Biotechnologia, w której wszystko kręci się wokół środowiska – jego jakości, ochrony i zdrowia, to biotechnologia środowiskowa. Biotechnologie niezależnie od celu ich tworzenia i użycia to narzędzia powstające w oparciu o doskonałe systemy – procesy zachodzące w naturze. Obserwacja, a następnie wykorzystanie rozwiązań, którymi posługują się organizmy w środowisku, pozwalają naukowcom tworzyć coraz doskonalsze technologie, które usprawniają i ułatwiają nasze codzienne życie. Warto jednak pamiętać, że w przyrodzie wszystkie te rozwiązania są z sobą połączone, tworząc wspólny obieg materii i przepływ energii. Dlatego też zastosowanie ułatwiających nasze życie procesów biotechnologicznych nieodłącznie wiąże się z tymi, których nie możemy wyeliminować, ale których funkcjonowanie w biotechnologiach musimy mieć na uwadze, ponieważ nierzadko zamiast pomagać – szkodzą.

Jedną z niezwykle ważnych dla naszej codzienności biotechnologii, wykorzystywanych na skalę przemysłową, jest biologiczne oczyszczanie ścieków. Powstało ono w oparciu o obserwacje procesu samooczyszczania wód, czyli występującego naturalnie w przyrodzie procesu usuwania zanieczyszczeń przez mikroorganizmy. Jego efektywność została zwiększona w procesie technologicznym przez zastosowanie zagęszczonej mieszaniny mikroorganizmów, zwanej osadem czynnym. Zawiera on bakterie, *Archaea*, grzyby, pierwotniaki i tkankowce w formie kłaczkowatej, gęstej zawiesiny. Mikroorganizmy używane w procesach oczyszczania ścieków są narażone w procesach technologicznych na zagrożenia, którymi są np. związki stanowiące produkty innych przemian biologicznych, wchodzących w skład całego systemu obiegów materii w przyrodzie. Mogą to być również inne substancje służące człowiekowi, które wędrując do środowiska, stanowią dla niego zagrożenie, a pośrednio negatywnie wpływają na nasze zdrowie i życie.

Biotechnologiczne wyzwania

Usuwanie zanieczyszczeń ze ścieków polega na włączeniu pierwiastków, które budują problematyczne związki chemiczne, do tzw. cykli biogeochemicznych. Tak nazywa się różne reakcje i procesy, które uczestniczą w krążeniu pierwiastków między środowiskiem a organizmami. Jeśli chodzi o oczyszczanie ścieków, na szczególną uwagę zasługują obiegi azotu



i fosforu, dwóch pierwiastków tzw. biogennych, czyli takich, które są niezbędne do budowy i funkcjonowania wszystkich organizmów żyjących na Ziemi. Ze względu na powszechne występowanie w naszych organizmach azotu i fosforu ich stężenie w ściekach, stanowiących w głównej mierze substancje pochodzące z reakcji zachodzących w naszych komórkach (przemian metabolicznych), jest ogromne. W związku z tym proces usuwania tych związków ze ścieków przed ich wprowadzeniem do wód stanowi priorytet oczyszczalni. Efektywne usuwanie azotu i fosforu ze ścieków jest niezbędne ze względu na rolę, którą odgrywają one w procesach użyźniania, a w nadmiarze – przeżyźnienia wód (tzw. eutrofizacji). Ostatni z nich prowadzi do zakwitów zbiorników wodnych, w szczególności w ciepłych miesiącach roku. Sprawa w tym przypadku wydaje się prosta. W osadzie czynnym mamy znaczne ilości bakterii, które poradzą sobie bez problemu z dużą ilością azotu i fosforu. Dzięki temu oczyszczone ścieki będą spełniały coraz bardziej

restrykcyjne normy prawne i nie będą stanowiły zagrożenia dla środowiska, wędrując do jezior czy rzek. Jednak musimy pamiętać, że nasze organizmy metabolizują nie tylko dobre i wartościowe jedzenie. Każdy z nas sięga po wysoko przetworzoną żywność, używki oraz bardzo często – po leki i suplementy diety. Każda tabletkę ibuprofenu, którą zażyjemy, po przejściu przez nasz organizm również wędruje do ścieków. Dlatego dopływ do oczyszczalni niesie coraz większe ilości niebezpiecznych dla nas substancji, zwanych mikrozanieczyszczeniami. To związki występujące w bardzo niewielkich stężeniach, ale mające szkodliwy wpływ na organizmy. Do tych najbardziej typowych są zaliczane m.in. leki przeciwzapalne, hormony i niezwykle ważna z punktu widzenia biologicznego oczyszczania ścieków grupa substancji, którymi są antybiotyki i chemioterapeutyki.

Antybiotyki, zarówno naturalne, jak i sztuczne, to grupa związków, które stosujemy bardzo powszechnie do leczenia chorób bakteryjnych. Charakteryzuje

Układ bioreaktorów sekwencyjnych, używany do badań nad wpływem antybiotyków na bakterie przemian azotowych

je tzw. selektywna toksyczność, co oznacza, że zabijają one bakterie, z reguły nie robiąc większej szkody komórkom organizmów ludzi czy zwierząt, u których są stosowane. Powszechne wprowadzenie antybiotyków do leczenia chorób bakteryjnych wydawało się momentem przełomowym w medycynie, kiedy człowiek zdawał się w pełni zapanować nad bakteriami chorobotwórczymi i był zdolny wyleczyć każdą chorobę bakteryjną. Jednak zastosowanie rozwiązania przyrody, którym jest używanie antybiotyków do zabijania bakterii, pociąga za sobą inne mechanizmy bezpośrednio z tym procesem związane. Te wcale nie ułatwiają nam życia. Zaatakowane bakterie będą się bronić przed zabójczym wpływem antybiotyków, nabywając na nie oporność. Oporna bakteria nic nie robi sobie z działania antybiotyku, ponieważ posiada mechanizmy skutecznie chroniące ją przed wpływem substancji biobójczych. Mnoży się efektywnie, przekazując cenną informację o oporności, którą niesie w swoich genach, komórkom potomnym. Co więcej, bakterie mogą przekazywać sobie materiał genetyczny nie tylko na drodze: komórki rodzicielskie – komórki potomne,

gospodarza. W przypadku bakteriofaga jest nim komórka bakteryjna, która zainfekowana wirusem sama produkuje nowe bakteriofagi. W tym procesie możliwe jest, by potomne wirusy dostały „w gratisie” część DNA komórki bakteryjnej. Jeśli zdarzy się, że będą to właśnie informacje o oporności bakterii, kolejna zainfekowana wirusem potomnym bakteria również otrzyma tę dodatkową, ważną dla jej przetrwania, informację. Ostatni typ procesu HGT został odkryty stosunkowo niedawno i jest dość słabo poznany. Wiąże się z on tworzeniem pęcherzyków błony zewnętrznej u bakterii Gram-ujemnych, jednej z dwóch głównych grup bakterii o ścianie komórkowej osłoniętej dodatkową, zewnętrzną błoną.

Problemy z antybiotykami

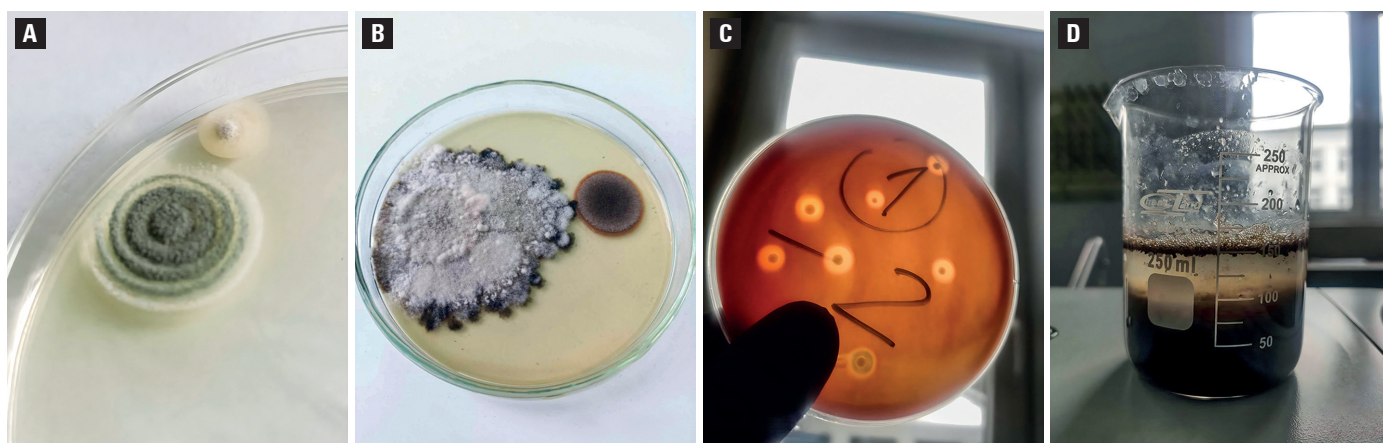
Każdy atak antybiotykiem na bakterie wywołuje odpowiedź mikroorganizmu. To jest wojna, a my wszyscy jesteśmy żołnierzami w tym mikrobiologicznym wyścigu zbrojeń. Stosowana przez nas antybiotykoterapia w zależności od tego, czy jest racjonalna, czy nie, przeważa szalę zwycięstwa na stronę ludzi lub bakterii. Przykładem niewłaściwego podejścia, które sprzyja patogennym bakteriom, jest stosowanie antybiotyków w walce z wirusami. Na te czynniki chorobotwórcze antybiotyki nie działają, ponieważ nie mają one w swoich strukturach docelowych miejsc działania tych leków. Dlatego grypy czy COVID-19 nie wyleczymy z ich pomocą, za to bardzo szybko pozbedziemy się ogromnej większości swoich własnych symbiotycznych bakterii, których zadaniem jest chronić nas przed patogenami i utrzymywać w zdrowiu. Leczenie chorób wirusowych antybiotykami nie tylko nie eliminuje patogenu, ale jeszcze obniża naszą oporność. Podobnie negatywne konsekwencje ma stosowanie niewłaściwych antybiotyków. Źle dobrany rodzaj leku nie usuwa problematycznych bakterii, ale zabija nasze symbiotyczne mikroorganizmy. Z kolei prawidłowe dobranie leku, ale w niewłaściwej dawce, pozwala wyeliminować tylko część patogenów. Te, które przetrwają proces leczenia, mogą nabyć oporność na zastosowany lek, którego już nie będziemy mogli użyć w przyszłości. Leczenie antybiotykami (z niektórymi wyjątkami, np. leczenie azytromycyną w dawce 500 mg jest krótsze) zazwyczaj trwa 7–10 dni. Odstawienie leków przed terminem zaleconym przez lekarza daje efekt bardzo podobny do tego obserwowanego w sytuacji źle dobranej dawki. Dlatego antybiotyki należy stosować zgodnie z zaleceniami lekarza.

Racjonalna antybiotykoterapia i oporność na antybiotyki jest ściśle powiązana z biologicznym oczyszczaniem ścieków. Reaktor biologiczny oczyszczalni ścieków przypomina basen, do którego spływają ścieki z naszych domów i zakładów pracy. Następnie mieszają się one wraz z osadem czynnym. Wnętrze reak-

Racjonalna antybiotykoterapia i oporność na antybiotyki jest ściśle powiązana z biologicznym oczyszczaniem ścieków.

czyli w taki sposób, jak dzieje się to u u nas – od rodziców do dzieci. Bakterie żyjące w jednym środowisku mogą również wymieniać się materiałem genetycznym między sobą w tzw. horyzontalnym transferze genów (ang. *horizontal gene transfer* – HGT), który stanowi wielki problem w przenoszeniu oporności bakterii na antybiotyki w środowisku.

HGT może zachodzić kilkoma drogami. Pierwsza z nich – koniugacja – to przeniesienie materiału genetycznego z komórki do komórki po ich bezpośrednim połączeniu. Jedna z komórek oddaje, a druga pobiera cenną informację genetyczną, nabywając w taki sposób oporność na konkretny antybiotyk. Kolejnym sposobem jest pobranie materiału genetycznego przez bakterię bezpośrednio ze środowiska. Ten proces nazywa się transformacją i pozwala na pobranie przez żyjące komórki bakterii cennych danych genetycznych z innych obumarłych bakterii, których DNA znalazło się w środowisku. Trzeci proces to transdukcja, do której jest niezbędny tzw. bakteriofag, czyli wirus bakteryjny. Wirusy nie są organizmami, a ich namnażanie jest możliwe tylko przez wykorzystanie komórki



tora to szara, niezbyt przyjemnie pachnąca zawiesina, w której można znaleźć wszystko: resztki z obiadu, wodę z wanny, żywe i martwe bakterie z naszych jelit, patogeny, antybiotyki i ich metabolity. Całość przypomina „hotspot” antybiotykooporności. Opiswane wcześniej procesy horyzontalnego transferu genów w tym basenie zachodzą na ogromną skalę. Jeśli geny oporności otrzymają bakterie nieszkodliwe, czyli te, które oczyszczają ścieki, nie stanowi to początkowo dużego problemu. Jednak te mikroorganizmy mogą przekazać informację genetyczną dalej bakteriom patogennym, a te następnie wydostać się do zbiorników wodnych wraz z oczyszczonymi ściekami. Co więcej, nie mamy pojęcia, czy przy okazji (a jest to bardzo prawdopodobne) oczyszczalni ścieków nie opuszcza cała gama genów oporności na przeróżne antybiotyki, wędrując do rzek, jezior, a potem do Bałtyku. W środowisku wodnym wymiana informacji genetycznej między bakteriami jest bardzo powszechna, więc nie trudno sobie wyobrazić, że takie geny trafiają również do bakterii patogennych, zagrażających zdrowiu ludzi i zwierząt.

Lepiej zapobiegać, niż leczyć

W jednym z eksperymentów realizowanych w naszym zespole badaliśmy wpływ trzech antybiotyków, które można wykryć w oczyszczalniach ścieków. Były to oksytetracyklina, cyprofloksacyna i klarytromycyna. Prowadzone analizy dotyczyły efektywności usuwania związków azotu oraz możliwości przekazywania genów antybiotykooporności między bakteriami osadu czynnego w obecności różnych stężeń tych leków. W trakcie prac skupiliśmy się na jednym z beztlenowych procesów, który pozwala przekształcać azot amonowy do stanu gazowego. Proces ten nazywa się anammox (ang. *anaerobic ammonia oxidation*). W niewielkim stężeniu (0,001 mg/l) antybiotyki te nie wykazały hamującego wpływu na pracę bakterii przemian azotowych, jednak – co ważne – takie stężenie tych związków w osadzie czynnym zmniejszało róż-

norodność żyjących tam bakterii anammox. To ważna informacja z punktu widzenia utrzymania równowagi mikroorganizmów w układach biologicznych. Im niższa ich różnorodność, tym łatwiej zbiorowisko organizmów może ulec zniszczeniu pod wpływem różnych czynników zewnętrznych. Zwiększenie stężenia wszystkich badanych antybiotyków w eksperymencie (100 mg/l) było już widocznie szkodliwe dla bakterii anammox, zmniejszając ich liczebność. Mimo że testowane stężenia wciąż były niskie, zauważono wzrost liczebności genów antybiotykooporności na testowane antybiotyki. Dalsze badania wykazały, że głównie oksytetracyklina była odpowiedzialna za zmniejszenie liczebności bakterii anammox, zwiększając jednocześnie liczbę genów oporności na ten antybiotyk. Dodatkowo z badań wynika, że z zasady nieszkodliwe bakterie anammox mogą odgrywać rolę w szerzeniu się oporności na makrolidy. Ze względu na możliwość przeniesienia antybiotykooporności od bakterii niechorobotwórczych do patogennych niezwykle ważny jest stały monitoring obecności i ilości antybiotyków oraz genów odpowiedzialnych za ich oporność w oczyszczalniach ścieków.

Antybiotykooporność i jej szerzenie się w środowisku to ogromny problem naszych czasów. W dużej mierze sami jesteśmy tej sytuacji winni, stosując nieracjonalną antybiotykoterapię czy wyrzucając pozostałości leków do śmietnika, zamiast oddawać je do apteki do poprawnej utylizacji. Konsekwencją naszego bezrozumnego nadużywania antybiotyków jest odkrywanie bakterii, które są odporne na coraz więcej znanych antybiotyków. Trzeba również pamiętać, że poszukiwania nowych antybiotyków na razie nie dają oszałamiających rezultatów. Cóż nam pozostaje? Jak to na wojnie – strategia. Lepiej zapobiegać, niż leczyć. Racjonalna antybiotykoterapia, edukacja dotycząca szerzenia antybiotykooporności, monitoring zawartości antybiotyków i genów ich oporności w środowisku oraz opracowywanie efektywnych biotechnologii pozwalających na eliminację tych związków ze ścieków to dobra droga do wygrania tej mikrobitywy. ■

Wzrost mikroorganizmów:
 A, B) mikroorganizmy środowiskowe rosnące na płytce Petriego z podłożem bulionowym stałym,
 C) bakterie zdolne do hemolizy (rozkładu krwinek czerwonych), rosnące na płytce Petriego w dodatkiem krwi baraniej,
 D) osad czynny

Chcesz wiedzieć więcej?

Gamoń F., Banach-Wiśniewska A., Kaur J., Cema G., Ziemińska-Buczyńska A., *Microbial response of the anammox process to trace antibiotic concentration*, „Journal of Water Process Engineering” 2022, vol. 46, doi.org/10.1016/j.jwpe.2022.102607

Gamoń F., Banach-Wiśniewska A., Poprawa I., Cema G., Ziemińska-Buczyńska A., *Insight into the microbial and genetic response of anammox biomass to broad range concentrations of different antibiotics: Linking performance and mechanism*, „Chemical Engineering Journal” 2023, vol. 451, doi.org/10.1016/j.cej.2022.138546

Kowalska K., Felis E., Gnida A., Łuczkiwicz A., Ziemińska-Buczyńska A., Surmacz-Górska J., *Removal of antibacterial drugs in urban wastewater treatment plants*, „Desalination and Water Treatment” 2020 vol. 199, doi.org/10.5004/dwt.2020.25463

Ziemińska-Buczyńska A., *Charakterystyka metataksonomiczna zbiorowisk bakterii przemian azotowych w biologicznym oczyszczaniu ścieków*, 2023.