

mgr Ewelina Nowacka-Kozak

Dział Badań Chemicznych Żywności i Pasz

Nieinwazyjne metody kontroli stosowania substancji przeciwbakteryjnych u świń



Puławy, 2026.03.27

Brak kontroli, niewłaściwe stosowanie substancji przeciwbakteryjnych



- powstanie lekoopornych szczepów bakteryjnych
- pozostałości substancji przeciwbakteryjnych w tkankach -
alergie, uszkodzenia wątroby i nerek, negatywny wpływ
na mikrobiom jelitowy
- zanieczyszczenie środowiska – przenikanie leków do gleby,
ścieków, wód powierzchniowych, wód gruntowych, roślin
- działania administracyjno – prawne, kary finansowe
- straty ekonomiczne

Możliwości kontroli substancji przeciwbakteryjnych

Poubojowa:

- ✓ mięśnie
- ✓ wątroba
- ✓ nerki



- brak możliwości monitorowania stosowania leków w trakcie chowu zwierząt
- brak możliwości wprowadzenia działań zapobiegawczych

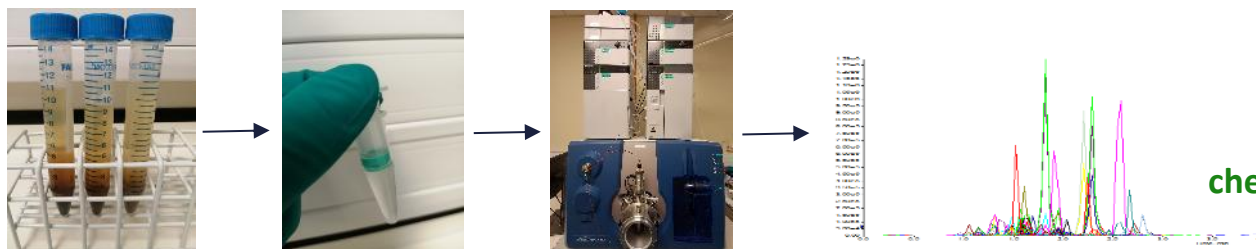
Przyżyciowa:

- ✓ krew
- ✓ mocz
- ✓ płyn ustny
- ✓ szczecina
- ✓ woda
- ✓ odchody



„Wykrywanie substancji przeciwbakteryjnych u trzody chlewnej z wykorzystaniem nieinwazyjnych metod pobierania próbek”

Płyn ustny – metoda analityczna



**68 analitów
12 grup
antybiotyków
i
chemioterapeutyków**

Journal of Chromatography A 1729 (2024) 465053



Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

Journal of Chromatography A

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chroma



Simultaneous determination of 68 antimicrobial compounds in pigs oral fluid by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

Ewelina Nowacka-Kozak*, Anna Gajda, Małgorzata Gbylik-Sikorska

Department of Pharmacology and Toxicology, National Veterinary Research Institute, Partyzantów 57, 24-100 Puławy, Poland

Analiza płynu ustnego

DBC/PB/12-02

- ✓ **badania komercyjne** – 3 firmy przygotowujące się do certyfikacji chowu bezantybiotykowego

82 próbki – 20 próbek zawierało substancje przeciwbakteryjne (sulfadoksyna, tylozyna, doksycyklina, tiamulina, dihydrostreptomycyna, tulatromycyna)

- ✓ **badania próbek terenowych** – próbki pobrane z 6 ferm w Polsce

45 próbek – 34 próbki zawierały substancje przeciwbakteryjne (tiamulina, doksycyklina, enrofloksacyna, oksytetracyklina, tylozyna, ciprofloksacyna, tetracyklina, streptomycyna, kolistyna, linkomycyna, chlorotetracyklina, tulatromycyna)

Results of real oral fluid samples analysis collected as a commercial test.

Analyte	Number of positive samples	Concentration range (µg/L)
sulfadoxine	8	6.10 - 21.0
tylosin	8	6.46 - 60.5
doxycycline	5	2.38 - 9.00
tiamulin	3	2.53 - 2.59
dihydrostreptomycin	3	56.5 - 263
tulathromycin	1	16.0
Number of samples above CCα (%)		24.4

Results of real oral fluid samples analyses collected as a routine farm visits.

Analyte	Number of positive samples	Concentration range (µg/L)
tiamulin	22	2.59 - 202
doxycycline	19	2.30 - 524
enrofloxacin	14	2.75 - 431
oxytetracycline	8	6.77 - 811
tylosin	7	7.37 - 234
ciprofloxacin	7	2.76 - 37.8
tetracycline	4	38.0 - 208
streptomycin	3	150 - 931
colistin	3	632 - 976
lincomycin	3	2.85 - 7.30
chlortetracycline	1	685
tulathromycin	1	10.6
Number of samples above CCα (%)		75.6

Analiza płynu ustnego

- ✓ **projekt - S/597** „Biomonitoring ksenobiotyków jako nowe narzędzie diagnostyczne w zapewnieniu dobrostanu zwierząt gospodarskich oraz ochronie zdrowia konsumentów i środowiska”

12 próbek – 11 próbek zawierało antybiotyki:

linkomycyna (2.62 – 344 µg/L), tylozyna (24.0 – 47.9 µg/L)

- ✓ **badanie eksperymentalne** – określenie stężenia i czasu zanikania enrofloksacyny i tulatromycyny w płynie ustnym świń po podaniu iniekcyjnym

enrofloksacyna – stęż. max. **1250** µg/L w 1 dniu, **36.4** µg/L w 31 dniu

tulatromycyna – stęż. max. **2180** µg/L w 2 dniu, **29.7** µg/L w 31 dniu

Analiza płynu ustnego

- ✓ **badanie eksperymentalne** – sprawdzenie możliwości przenikania do płynu ustnego 7 leków przeciwbakteryjnych (sulfadoksyna, trimetoprim, linkomycyna, tiamulina, tylozyna, amoksycylina, penicylina G) podanych iniekcyjnie świniom

Table 2. Results of oral fluid samples analysis.

Period	Time (d)	Average Concentrations (µg/L)						
		SDX + TRMP		LIN	TIAM	TYL	AMX	PEN G
Treatment	1	22,300 ± 3555	14,100 ± 2556	10,500 ± 1889	7600 ± 1055	396 ± 68	11.3 ± 1.6	93 ± 21
	2	5860 ± 1155	2810 ± 556	2960 ± 446	2520 ± 355	958 ± 166	15.2 ± 2.3	50 ± 15
	3	4570 ± 766	1810 ± 311	4250 ± 559	2460 ± 311	832 ± 142	14.6 ± 1.8	11 ± 4.6
Posttreatment	4	4010 ± 601	1030 ± 221	1550 ± 211	1560 ± 225	654 ± 111	11.4 ± 1.4	16 ± 5.4
	5	5780 ± 788	1400 ± 255	1674 ± 199	1540 ± 233	538 ± 96	11.2 ± 1.6	5.2 ± 1.1
	6	4070 ± 669	1280 ± 198	1790 ± 203	2960 ± 299	475 ± 89	<LOQ	52 ± 13
	7	310 ± 98	264 ± 73	1480 ± 186	2570 ± 254	175 ± 54	<LOQ	32 ± 7.2
	8	392 ± 88	125 ± 41	437 ± 101 *	875 ± 156	118 ± 41	<LOQ	6 ± 1.2
	9	386 ± 72	128 ± 38	457 ± 96	567 ± 111	158 ± 62	<LOQ	<LOQ *
	10	134 ± 49	36.4 ± 15	420 ± 83	621 ± 124	49.3 ± 13	<LOQ	<LOQ
	11	247 ± 62 *	67.1 ± 20 *	194 ± 55	279 ± 66	54.4 ± 16	<LOQ *	<LOQ
	12	74.8 ± 21	25.2 ± 9.6	257 ± 76	254 ± 69	140 ± 36	<LOQ	<LOQ
	13	68.0 ± 16	22.0 ± 8.7	131 ± 41	138 ± 43 *	32.3 ± 11	<LOQ	<LOQ
	14	77.4 ± 18	22.1 ± 6.4	125 ± 33	269 ± 71	30.6 ± 8.4	<LOQ	<LOQ
	15	69.8 ± 14	31.6 ± 11	277 ± 61	156 ± 41	19.2 ± 5.2	<LOQ	<LOQ
	16	78.4 ± 12	24.2 ± 8.2	337 ± 69	279 ± 68	52.8 ± 33	<LOQ	<LOQ
	17	47.0 ± 18	18.9 ± 4.8	128 ± 28	182 ± 49	31.9 ± 10	<LOQ	<LOQ
	18	44.2 ± 16	13.0 ± 3.6	302 ± 51	176 ± 52	13.9 ± 3.6	<LOQ	<LOQ
	19	58.4 ± 11	42.0 ± 14	279 ± 44	202 ± 45	16.1 ± 4.6	<LOQ	<LOQ
	20	76.4 ± 14	36.4 ± 10	376 ± 52	133 ± 36	25.4 ± 7.7	<LOQ	<LOQ
	21	21.4 ± 7.3	10.2 ± 4.4	252 ± 39	148 ± 32	9.2 ± 2.1	<LOQ	<LOQ
	22	25.3 ± 6.9	46.4 ± 16	142 ± 24	220 ± 44	5.5 ± 1.1	<LOQ	<LOQ
	23	15.9 ± 7.2	6.9 ± 2.4	298 ± 33	146 ± 29	5.4 ± 0.8	<LOQ	<LOQ
	24	37.0 ± 5.4	19.4 ± 5.5	326 ± 47	310 ± 55	6.6 ± 0.9 *	<LOQ	<LOQ
	25	31.5 ± 6.3	17.8 ± 4.1	180 ± 44	193 ± 33	5.0 ± 1.3	<LOQ	<LOQ
	26	19.1 ± 4.2	15.9 ± 3.6	160 ± 36	66.4 ± 12	3.0 ± 0.5	<LOQ	<LOQ
	27	19.3 ± 3.7	10.4 ± 2.9	205 ± 43	54.3 ± 14	6.8 ± 1.7	<LOQ	<LOQ
	28	35.0 ± 8.1	16.5 ± 6.2	103 ± 26	35.8 ± 17	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	29	30.4 ± 7.6	21.2 ± 9.4	85.6 ± 16	40.6 ± 21	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	30	23.0 ± 6.2	22.4 ± 9.1	58.1 ± 12	46.9 ± 19	<LOQ	<LOQ	<LOQ

LOQ—limit of quantification. *—withdrawal period for each compound.



Article
UHPLC-MS/MS Analysis of Antibiotics Transfer and Concentrations in Porcine Oral Fluid after Intramuscular Application

Anna Gajda ^{1,*}, Ewelina Nowacka-Kozak ¹, Małgorzata Gbylik-Sikorska ¹ and Piotr Cybulski ²

¹ Department of Pharmacology and Toxicology, National Veterinary Research Institute, Partyzantów 57, 24-100 Puławy, Poland; ewelina.nowacka@piwet.pulawy.pl (E.N.-K.); malgorzata.gbylik@piwet.pulawy.pl (M.G.-S.)

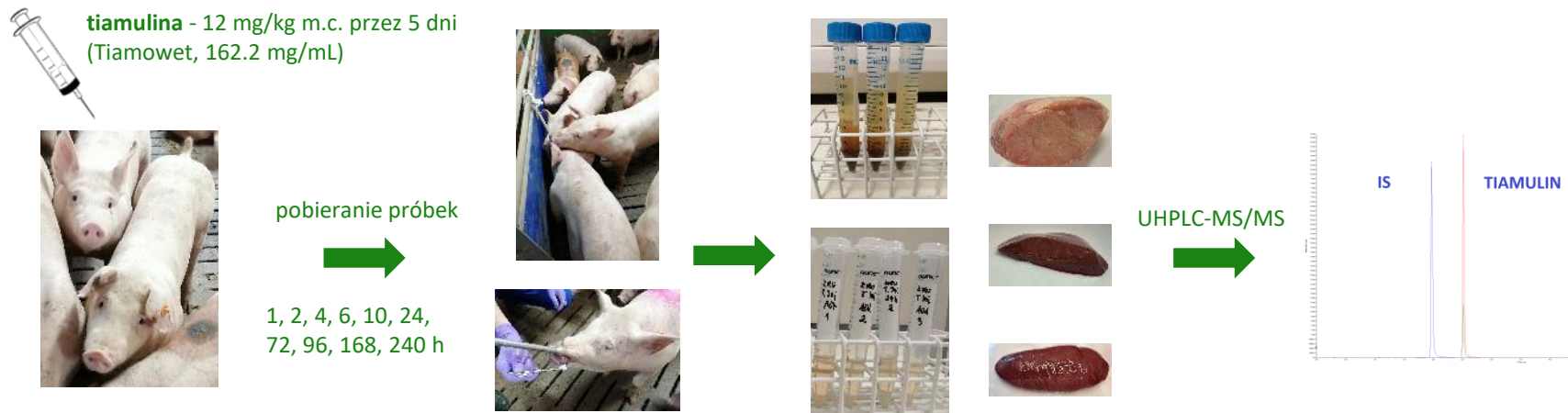
² Goodvalley Agro S.A., Dworcowa 25, 77-320 Proszkowo, Poland; piotr.cybulski.dvm@gmail.com

* Correspondence: anna.gajda@piwet.pulawy.pl; Tel.: +48-81-889-3240

Analiza płynu ustnego

DOKTORAT

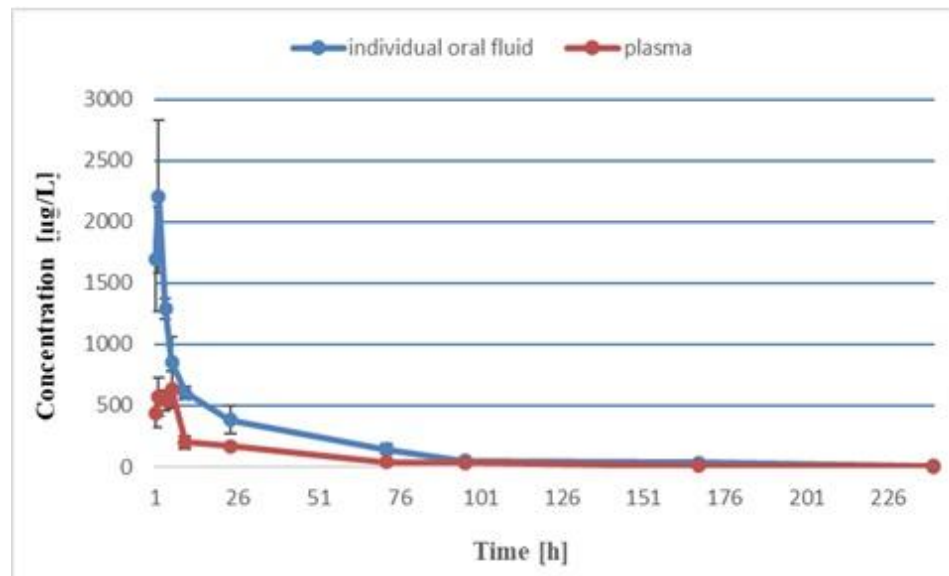
- ✓ **badanie eksperymentalne** - określenie stężenia i czasu zanikania tiamuliny w płynie ustnym, osoczu i tkankach po podaniu domięśniowym; określenie korelacji stężeń tiamuliny oraz parametrów farmakokinetycznych dla płynu ustnego oraz osocza świń



Analiza płynu ustnego

tiamulina w płynie ustnym – stęż. max. **2205** $\mu\text{g/L}$ po 2 h, **7.38** $\mu\text{g/L}$ po 10 dniach

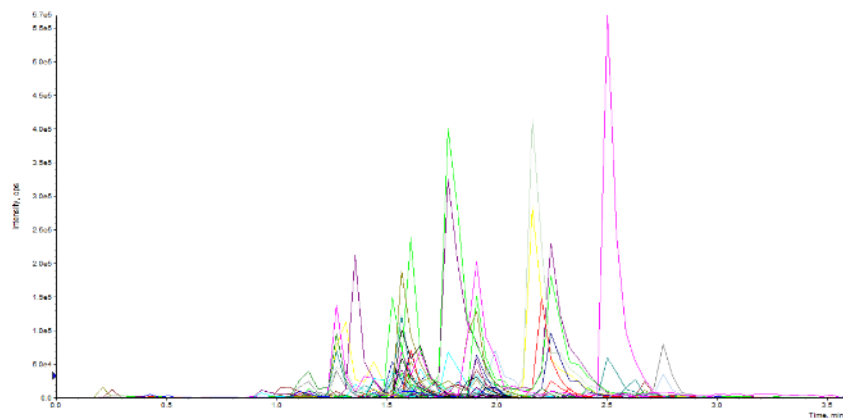
tiamulina w osoczu – stęż. max. **692** $\mu\text{g/L}$ po 3.5 h, **< 1.00** $\mu\text{g/L}$ po 10 dniach



Szczecina – metoda analityczna



oczyszczanie SPE (OASIS HLB)
ekstrakcja HCOOH



64 anality
12 grup antybiotyków
i chemioterapeutyków

Analiza szczeciny

- ✓ **badanie próbek terenowych**
- ✓ **projekt MRiRW - P/009** – „Zwierzęta wolno żyjące jako źródło skażeń chemicznych istotnych z punktu widzenia bezpieczeństwa konsumentów i oceny skażenia środowiska”
- ✓ **badania eksperymentalne** – ocena możliwości przechodzenia do szczeciny: tylozyny, tiamuliny, sulfadoksyny i trimetoprimu, amoksycyliny, oksytetracykliny
- ✓ **badanie eksperymentalne** – porównanie stężeń doksycykliny w mięśniach, osoczu oraz szczecinie po podaniu leku z wodą w dawce terapeutycznej i subterapeutycznej

DOKTORAT

dawka **subterapeutyczna**
(1 mg/kg m.c. przez 5 dni)

mięśnie – 10.8 µg/kg
osocze – 29.8 µg/L

dawka **terapeutyczna**
(12.5 mg/kg m.c. przez 5 dni)

mięśnie – 20.4 µg/kg
osocze – 43.6 µg/L

Analiza płynu ustnego i szczeciny

- ✓ **S/637** – „Badanie metabolitów wybranych substancji przeciwbakteryjnych w płynie ustnym i szczecinie świń”

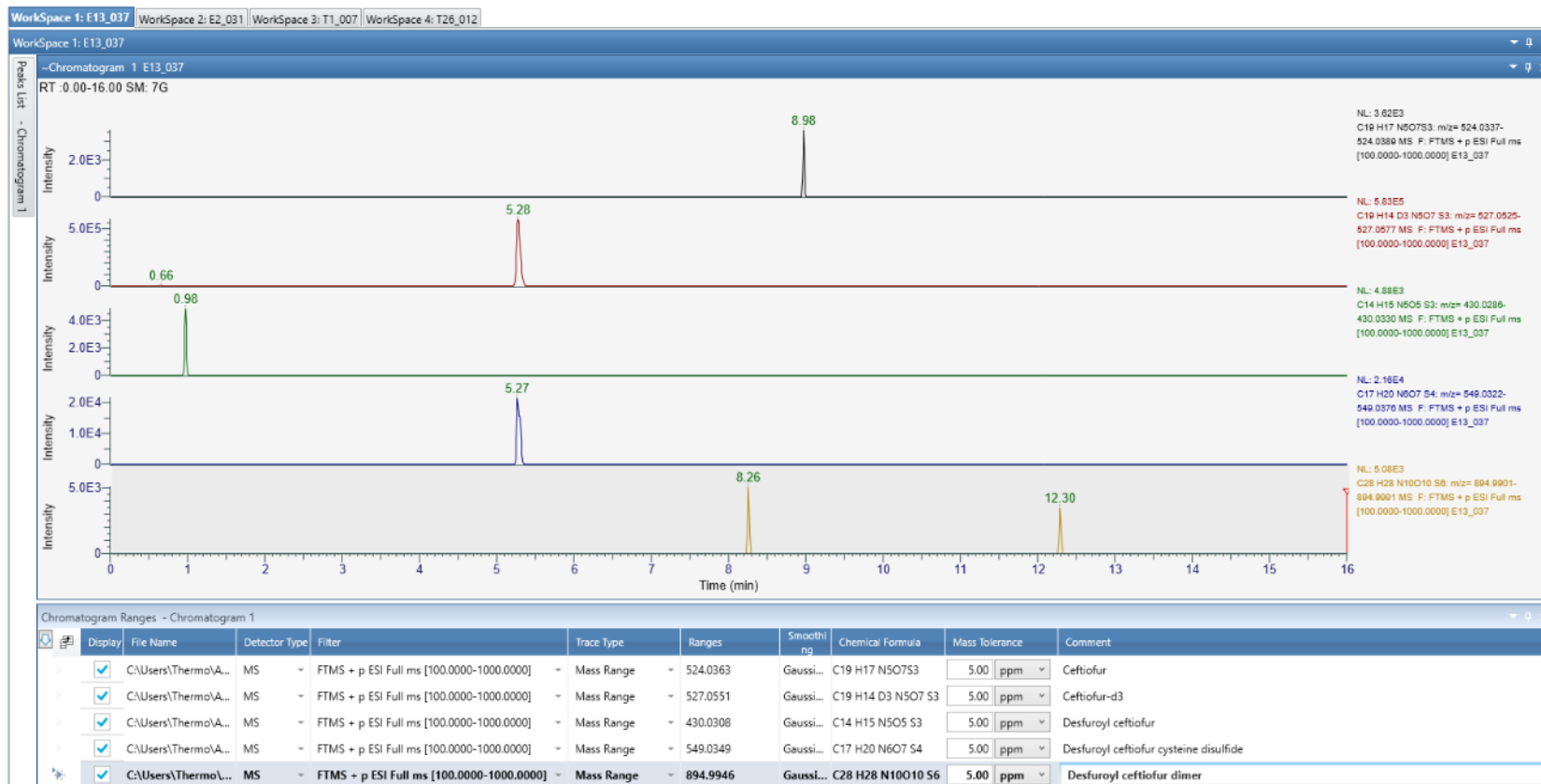


ceftiofur – desfuroyl ceftiofur
desfuroyl ceftiofur cysteine disulfide
desfuroyl ceftiofur dimer

amoksylicyna – kwas amoksylicynowy
diketopiperazyno-2',5'-dion amoksylicyny

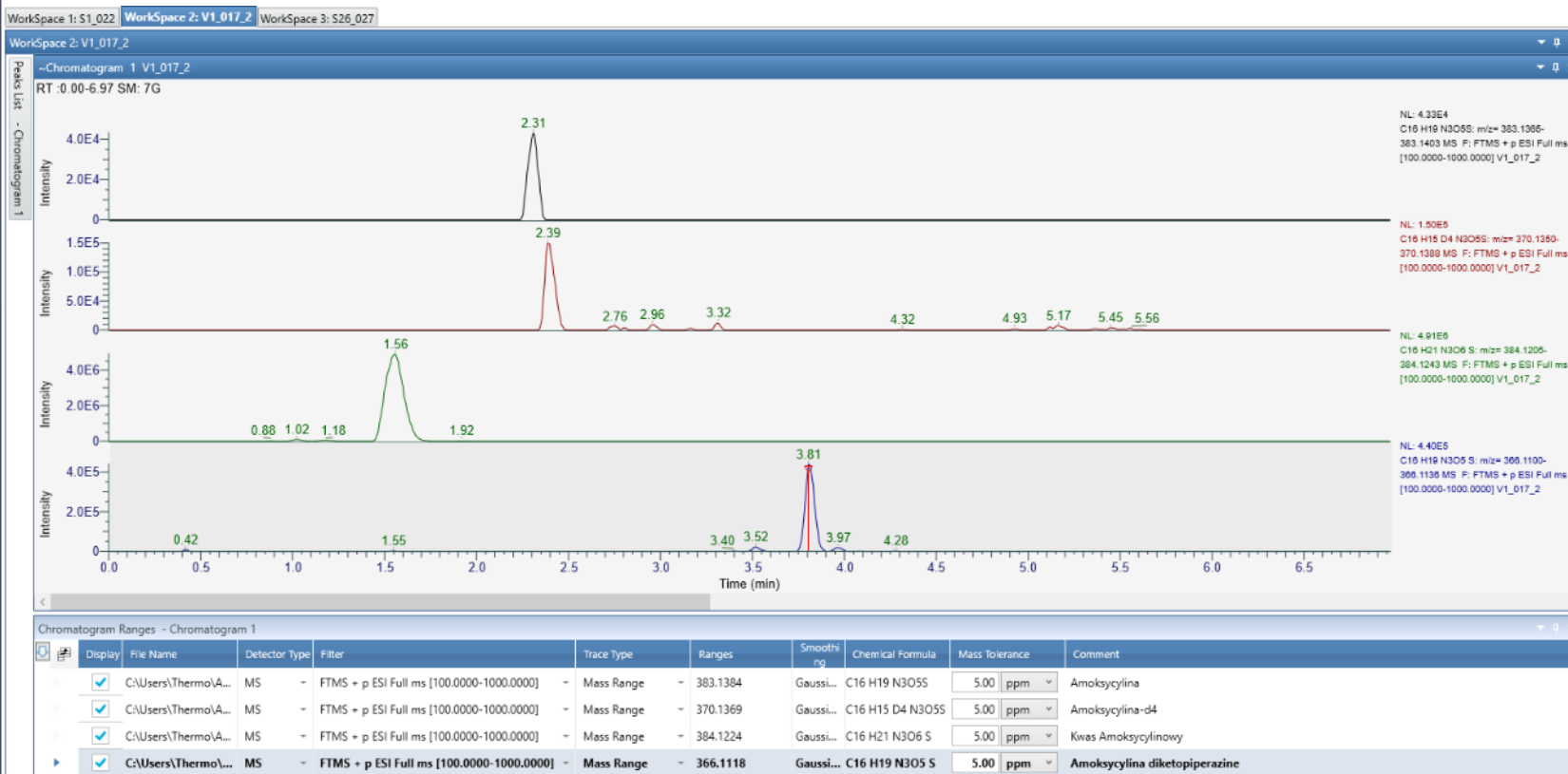
S/637 – analiza LC-HRMS (ORBITRAP)

Zapis MRM dla ceftiofuru, jego metabolitów oraz standardu wewnętrznego w płynie ustnym.



S/637 – analiza LC-HRMS (ORBITRAP)

Zapis MRM dla amoksyliny, jej metabolitów oraz standardu wewnętrznego w płynie ustnym.



Podsumowanie



- ✓ przedstawione badania potwierdzają możliwość wykrywania substancji przeciwbakteryjnych w płynie ustnym i w szczecinie świń
- ✓ uzyskane wyniki wskazują, że płyn ustny oraz szczecina są odpowiednimi matrycami do kontroli stosowania leków przeciwbakteryjnych w trakcie chowu zwierząt
- ✓ opracowane metody mogą zostać wykorzystane przez organy administracyjne do zwalczania nielegalnego stosowania antybiotyków u świń

Dziękuję za uwagę



www.piwet.pulawy.pl