

Für Mensch & Umwelt

Umwelt 
Bundesamt

Fortbildung für den Öffentlichen Gesundheitsdienst 2015

Antibiotikaresistenzen in der Umwelt

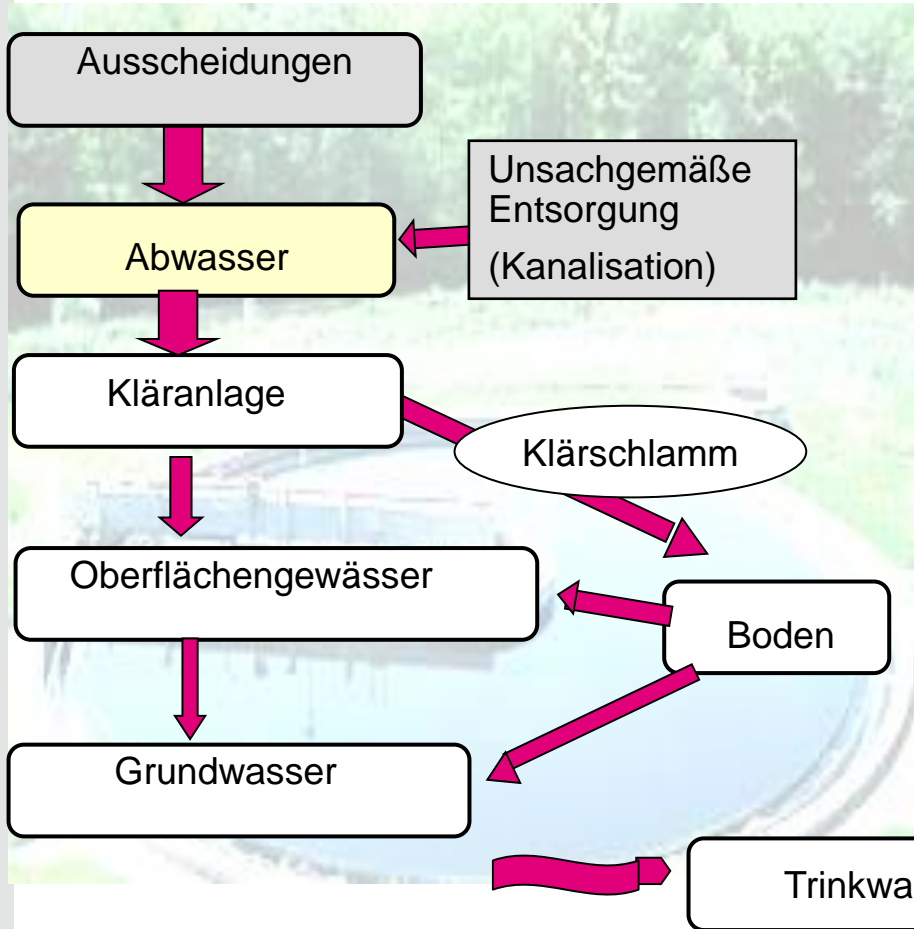
Simone Lehmann und Jens Schöfeld

Umweltbundesamt

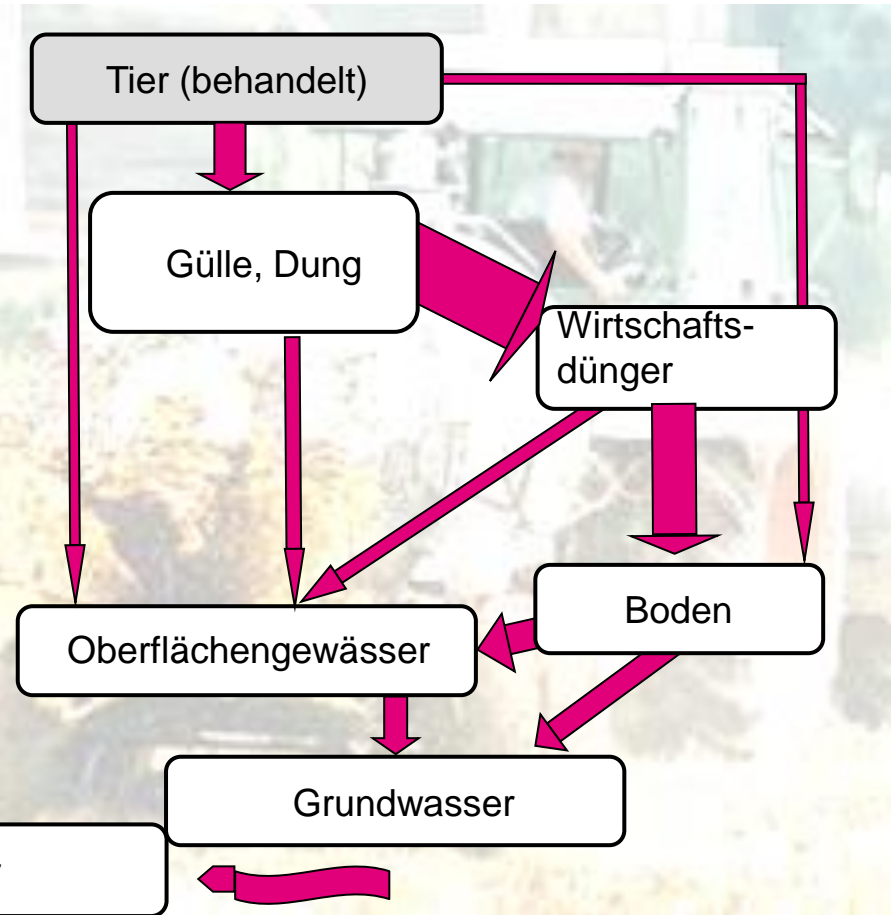
Fachgebiet IV 2.2/ Arzneimittel, Wasch- und Reinigungsmittel und
Nanomaterialien

Eintrag von Antibiotika in die Umwelt

Humanarzneimittel



Tierarzneimittel



Monitoringdaten zu Umweltkonzentrationen von Arzneimitteln

IWW Report – UBA Gutachten 2010

www.umweltbundesamt.de

Literatur Review

156 AM-Wirkstoffe Positivbefund in
mindestens einer Umweltmatrix

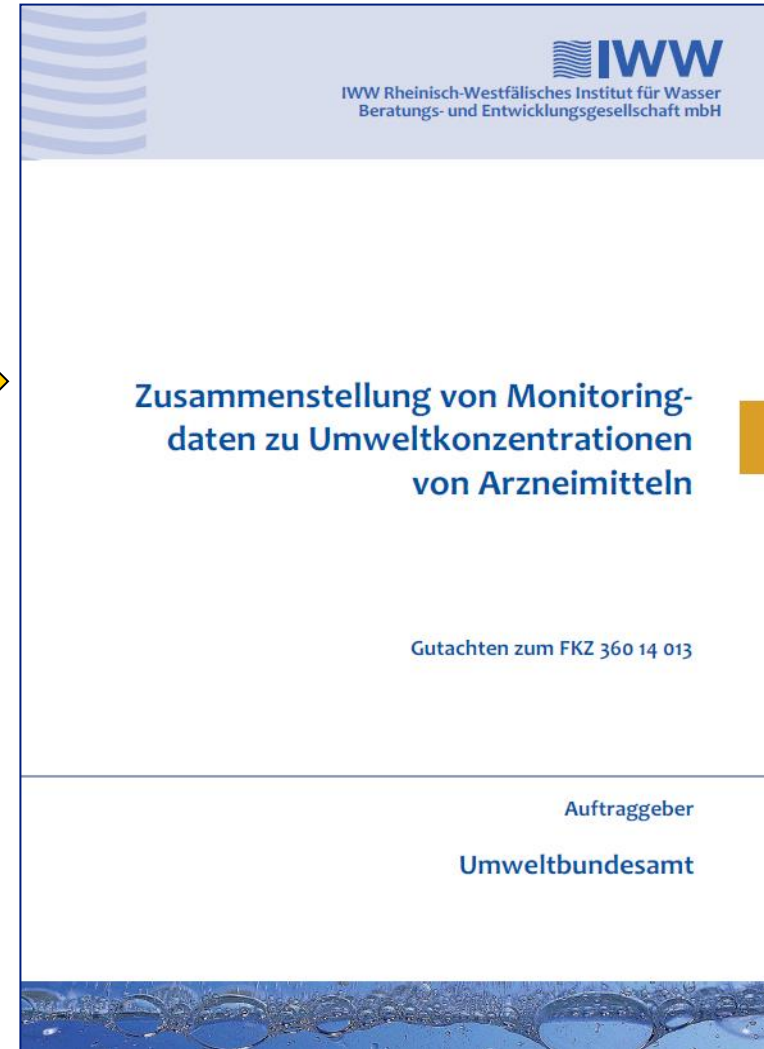
131 in deutschen Oberflächengewässern

55 im Grundwasser

15 in deutschen Böden

42 verschiedene Antibiotika-Wirkstoffe

Zusammenstellung von Monitoringdaten zu Umweltkonzentrationen von Arzneimitteln, Bergmann et al. 2010



Antibiotika- Vorkommen in der Umwelt

Wirkstoff	Gülle (µg/kg TM)	Boden (µg/kg TM)
Chlortetracyclin	46000 (Schwein) ⁽¹⁾	810 ⁽¹⁾
Oxytetracyclin	29000 (Schwein) ⁽¹⁾	-
Sulfadimidin=Sulfamethazin	20000 (Schwein) ⁽¹⁾	< 0,1 ⁽¹⁾
Sulfadimethoxin	20000 (Schwein) ⁽²⁾	-
Trimethoprim	17000 (Pute) ⁽¹⁾	< 0,1 ⁽¹⁾
Tylosin	320 µg/L ⁽³⁾	1,0 ⁽²⁾
Enrofloxacin	8300 (Pute) ⁽¹⁾	200 ⁽¹⁾
Ciprofloxacin (Metabolit)	2900 (Pute) ⁽¹⁾	370 ⁽¹⁾



Ausbringung von Gülle

Antibiotika- Vorkommen in der Umwelt

Wirkstoff	Oberflächengewässer (µg/L)	Grundwasser (µg/L)
Chlortetracyclin	0.500 ⁽⁴⁾	-
Oxytetracyclin	0.019 ⁽⁵⁾	0.13 ⁽⁶⁾
Sulfadimidin=Sulfamethazin	0.145 ⁽⁷⁾	4.00 ⁽³⁾
Sulfamethoxazol	0.550 ⁽⁷⁾	0.410 ⁽⁸⁾
Trimethoprim	0.190 ⁽⁷⁾	0.023 ⁽⁷⁾
Tylosin	0.020 ⁽⁹⁾	1.0 ⁽³⁾
Ciprofloxacin	0.036 ⁽¹⁰⁾	-
Clarithromycin	0.950 ⁽⁷⁾	0.043 ⁽⁷⁾



Oberflächengewässer (Elbe bei Eisgang)

Dramatische Zunahme von Resistenzgenen in der Umwelt

Environ. Sci. Technol. 2010, 44, 580-587

Evidence of Increasing Antibiotic Resistance Gene Abundances in Archived Soils since 1940

CHARLES W. KNAPP,^{1,*} JAN DOLFING,¹
PHILLIP A. I. EHLERT,¹ AND
DAVID W. GRAHAM^{2,*†}

School of Civil Engineering & Geosciences, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, United Kingdom NE1 7RU, and Alterra, Wageningen University and Research Center, Soil Science Centre 6700 AA Wageningen, The Netherlands

Received April 24, 2009. Revised manuscript received October 6, 2009. Accepted December 8, 2009.

Mass production and use of antibiotics and antimicrobials in medicine and agriculture have existed for over 60 years, and has substantially benefited public health and agricultural productivity throughout the world. However, there is growing evidence that resistance to antibiotics (AR) is increasing both in benign and pathogenic bacteria, posing an emerging threat to public and environmental health in the future. Although evidence has existed for years from clinical data of increasing AR

Bugs¹, threatens health care systems worldwide. Interestingly, resistance to antibiotic compounds in environmental microorganisms (i.e., species non-native to enteric systems) is a natural phenomenon, especially in soils; however, how the Super Bug epidemic relates to resistance in environmental species is not known. For example, although industrial production of antibiotic and antimicrobial agents has increased substantially since World War II (see Figure S1 in Supporting Information (SI); (1)), concurrent changes in basal AR levels in natural soil communities have not been assessed (2). This is relevant because exposure of environmental organisms to antimicrobial agents, heavy metals, and resistant commensal and pathogenic species might create reservoirs of resistance traits in soil organisms that may have broader consequences to public health. Although the link between resistant Super Bugs and environmental organisms is not defined, it would be of great value to contrast current soil AR levels with historic levels prior to large-scale industrial antibiotic production as a point of first investigation, which is the basis of this study.

As a brief history, penicillin was one of the first widely available antibiotics (discovered by Alexander Fleming in 1928) and entered mass production in the early 1940s. It was soon followed by streptomycin, tetracycline, and other antibiotics (3, 4). Eventually, the increased production capacity of antibiotics and decreasing prices encouraged other applications of the drugs outside of medical settings. For example, low levels of antibiotic agents were more

**β-Lactam- Antibiotika:
Resistenzlevel**

2008

**bis zu 15-fach erhöht
gegenüber 1970-79**



**> 40 Tetracyclin- Resistenzgene
bei Bodenbakterien identifiziert**

Der Eintrag von Antibiotika in die Umwelt – ein Schlüsselparameter für die Selektion von Resistenzen

Umwelt, Vor (-industrielle)-Antibiotika-Ära

- natürliche Antibiotika
- Endogene Antibiotika
- Zellfunktionen (z.B. Efflux-Pumpen)

relativ gering

„Hintergrundkonzentrationen“ von Antibiotikaresistenzen



Selektionsdruck:

Selektion Antibiotika resistenz-determinanten tragender **Umweltbakterien**

Humanmedizin

- Massiver Antibiotika -Einsatz

sehr hoch

+

Tiermedizin

- Massiver Antibiotika -Einsatz

sehr hoch

Die Umwelt stellt ein sich stetig vergrößerndes Reservoir für Resistenzdeterminanten dar

Auftrag des Umweltbundesamtes

im Rahmen der Zulassung von Arzneimitteln...

- Bewertung und Minimierung der **stofflichen** Risiken für die Umwelt
= **Umweltrisikobewertung**

Primäres Schutzgut:

- Schutz der Umwelt vor Veränderung durch menschliche Einflussnahme oder Aktivität

hier: massiver Eintrag von Antibiotika über die natürliche Hintergrundbelastung hinaus

→ Risiken für Struktur und Funktion natürlicher mikrobieller Gemeinschaften in der Umwelt begrenzen

→ Beherrschbarkeit von Infektionen bei Mensch und Tier erhalten

Übergeordnetes Schutzziel „öffentliche Gesundheit“



Zulassung von Antibiotika

Direkte Umweltrisiken, die von der Anwendung von neu zuzulassenden Antibiotika ausgehen, werden grundsätzlich bewertet:

EMA/CHMP/SWP/4447/00
MEDICINAL PRODUCTS FOR HUMAN
USE
Seit 2006



CVMP/VICH/592/98-FINAL
VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS - PHASE I
seit 2001



CVMP/VICH/790/03-FINAL
VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS - PHASE II
seit 2005

Antibiotikarückstände
**UBA strebt Integration in die Gesetzes- und
Bewertungsgrundlagen an**

- Terrestrische Umwelt (Bodenorganismen),
Sensitivste Spezies: Höhere Pflanzen (z.B. Raps, Zwiebel)
In Laborversuchen Effekte bereits bei Antibiotikakonzentrationen ab 0,1mg/kg

Die Bewertung der Entwicklung von Antibiotikaresistenzen ist
bislang nicht Teil der Umweltrisikobewertung

Aktivitäten des Umweltbundesamtes

F&E-Vorhaben zu Antibiotika-Resistenzen in der Umwelt

„Entstehung und Ausbreitung von Antibiotika-Resistenzen in Mikroorganismen unter umweltrelevanten Arzneimittel-Konzentrationen, Berücksichtigung dieser Umweltwirkung bei der Umweltrisikobewertung von Arzneimitteln“, FKZ 3711 63 423

1. Teil: **Literaturstudie** zum Ausmaß der Entstehung, Übertragung und Ausbreitung von Resistenzen unter dem Einfluss von Antibiotika-Rückständen
 - Einträge, Vorkommen in der Umwelt, Umweltverhalten, Hot spots
2. Teil: **Methodenidentifikation** und -entwicklung zur Ableitung von die Resistenz fördernden Umweltkonzentrationen von Antibiotika
 - Methodenübersicht, Bewertung der Eignung für regulatorischen Kontext



Watercycle Research Institute



Ergebnisse der Literaturstudie- Vorkommen in der Umwelt

- Höchste Konzentrationen von Antibiotika in **Gülle** und **kommunalen Abwässern**. Verdünnung im Boden bzw. im Oberflächenwasser.
- In Böden überwiegend Antibiotika aus der Anwendung am Tier, Substanzen mit hohen Sorptionskoeffizienten, (z.B. Tetracycline, Fluorchinolone und Makrolide)
- Im Grundwasser Antibiotika mit höherer Mobilität (z.B.Sulfonamide, Trimethoprim, und Lincosamide)
- In Oberflächengewässern überwiegend Antibiotika aus der Anwendung am Menschen (z.B. Sulfonamide, Trimethoprim, leichter lösliche Makrolide, z.b. Clarithromycin)
- β -Lactam-Antibiotika: wenige Funde in der Umwelt, trotz hoher Verbräuche → Ursache: Geringe Persistenz
- Biologischer Abbau (Transformation) von Antibiotika kann zur Bildung aktiver Transformationsprodukte führen → Abbau schließt Effekte/Risiken nicht aus.

Ergebnisse der Literaturstudie- Umweltverhalten von Antibiotika

➤ Verhalten in der Umwelt ist substanzspezifisch

➤ Verhalten ist abhängig von Stoffeigenschaften der Antibiotika:

→ **Persistenz**

Widerstandsfähigkeit gegen Abbau in der Umwelt.

Bestimmt Verweilzeit/Umweltverfügbarkeit.

→ Einfluss auf Umweltbakterien (Selektionsdruck, Selektionsvorteil für resistente Bakterien) z.B. Tetracycline, Fluorchinolone

→ **Sorptionsverhalten**

Beeinflusst wesentlich den Verbleib in Böden/Sedimenten/Schlämmen bzw. den Eintritt in das Kompartiment Wasser (Mobilität)

Sulfonamide- Bsp. für mobile Substanzen

Ergebnisse der Literaturstudie

Bewertung des Kenntnisstandes und Ermittlung des weiteren Forschungsbedarfs

Können Antibiotikarückstände zur Entstehung und Verbreitung von Antibiotikaresistenzen beitragen?

- In Einzelfällen konnte ein Einfluss von (rel. hohen) Antibiotikakonzentrationen auf Resistenzentwicklung und -verbreitung belegt werden.
 - Effekte auf verschiedene Endpunkte:
 - Anzahl phänotypisch resistenter Bakterien,
 - Diversität und Quantität von Resistenzgenen,
 - Frequenz des horizontalen Resistenz-Gentransfers
 - Deutlicher Einfluss der Zugabe von Gülle und Klärschlämmen auf Ansteigen des Resistenzlevels nachgewiesen.
- Aber: Keine Unterscheidung zwischen Effekten
- verursacht durch Rückstandskonzentrationen von Antibiotika
 - vs. Effekten verursacht durch resistente Bakterien aus Klärschlamm/Gülle

„Hot spots“ des Transfers von Resistenz(gen)en in der Umwelt:

→ Antibiotikarückstände, Resistente Bakterien, Resistenzgene, Co- Faktoren, Nährstoffe

Quellen

Stallhaltung: Gülle, Stallmist

Weidehaltung: Dung, Urin

Klärschlamm als
Wirtschaftsdünger

Unveränderte Passage der
Kläranlage, Effluent

Zielumweltkompartimente

Gezielte Ausbringung auf Böden,
von dort auch in Gewässer

Nicht kontrollierbarer Eintrag in
Böden und Oberflächengewässer

Gezielte Ausbringung auf Böden,
von dort auch in Gewässer

Direkter Eintrag in Oberflächengewässer

Ergebnisse der Literaturstudie

Bewertung des Kenntnisstandes und Ermittlung des weiteren Forschungsbedarfs

Können mit den derzeit vorliegenden Daten Wirkschwellen von Antibiotika abgeleitet werden?

- Insgesamt geringe Zahl von Studien mit Konzentration-Wirkungs-Design.
- Abgesicherte Schwellenwert-Konzentrationen für die Effekte von Antibiotikarückständen auf das Resistenzlevel sind nicht ableitbar.
- Insgesamt ein Mangel an Studien mit realistischen Umweltkonzentrationen von Antibiotikarückständen.
- Ob Effekte von Antibiotikarückständen in umweltrelevanten Konzentrationen auf das Resistenzlevel berücksichtigt werden müssen, kann aufgrund der Datenlage nicht endgültig beurteilt werden.

→ Forschungsbedarf!

Vorschlag für Testmethode „Resistenzförderung“

Kultivierungsabhängige Methode:

Auszählen resistenter Bakterienkolonien nach selektiver Plattierung

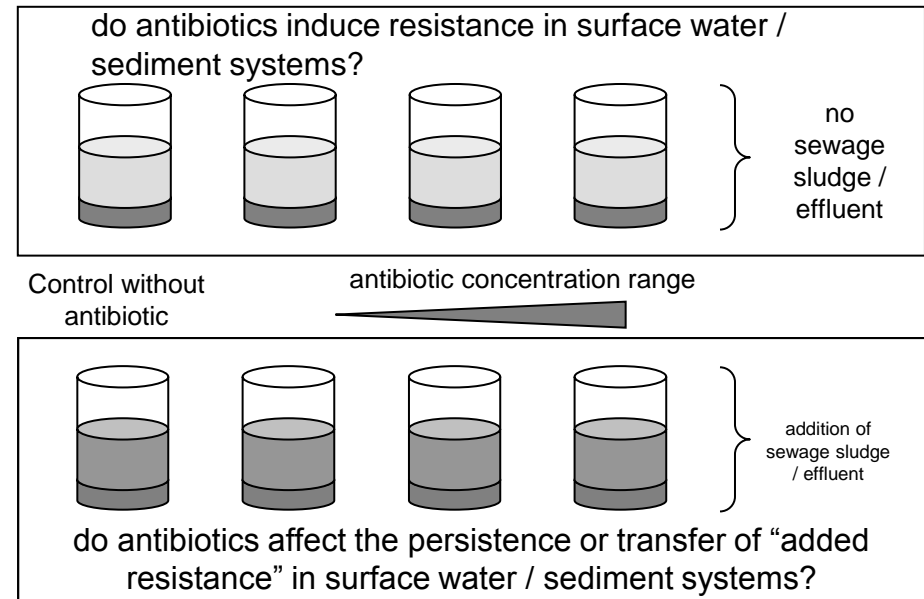
Background: Konzentration resistenter Isolate im Umweltkompartiment wird bestimmt und verglichen mit der Zahl aller Isolate dieser Bakterienart oder einer Gruppe von Arten.

Molekulare Methode:

Quantitativer Nachweis von Resistenzgenen durch quantitative PCR

Background: Der Genpool der gesamten bakteriellen Gemeinschaft wird über DNA-Extraktion auf das Vorkommen/Abwesenheit von Resistenzgenen quantitativ untersucht.

Testschema für Human-Antibiotikum im Wasser/Sediment-System:



Analyse von Proben über den Konzentrationsbereich und im Zeitverlauf (max. 100 Tage) mit beiden Methoden

Ausblick

- Laufendes Folgevorhaben zur **experimentellen** Überprüfung der vorgeschlagenen Methodenkombination.
 - Exemplarisch an 3-5 Antibiotika aus verschiedenen Substanzklassen
 - Validierbarkeit, Reproduzierbarkeit
 - zusätzlich weiterer molekularer Indikator für Resistenzförderung geprüft

- Ein zusätzliches **Monitoring** von resistenten Bakterien in Umweltmatrices, integriert in die bestehenden Surveillance-Programme, wird angestrebt.

- Aktivitäten auf EU-Ebene:
 - Erstellung “Hintergrundpapier” zur Bewertung der Risiken von Antibiotikaresistenzen
 - für die Environmental Risk Assessment Working Party (ERA-WP), wissenschaftlich beratendes Gremium für die EMA, Tierarzneimittel.

Danksagung

Auftragnehmer/Innen des F & E Vorhabens

Dr. Heike Schmitt, IRAS, Universität Utrecht, NL

Dr. Karen Duis, ECT Oekotoxikologie GmbH,
Flörsheim/Main

Dr. Thomas ter Laak, KWR Watercycle Research Institute,
Nieuwegein; NL

UBA:

Dr. Silvia Berkner

Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit

Dr. Simone Lehmann

Dipl.- Biologe Jens Schönfeld

einvernehmensstelle.amg@uba.de

Quellennachweise

1. Sattelberger, R., Gans, O., Martinez, E. (2005). Veterinärantibiotika in Wirtschaftsdünger und Boden. In: Umweltbundesamt (Hrsg.), Wien.
2. Bergmann A., (2011). Zusammenstellung von Monitoringdaten zu Umweltkonzentrationen von Arzneimitteln, Gutachten zum FKZ 360 14 013, Auftraggeber Umweltbundesamt, IWW Rheinisch-Westfälisches Institut für Wasser Beratungs- und Entwicklungsgesellschaft mbH (Hrsg.), Mülheim an der Ruhr
3. Weiss, K. (2008): Austrag von Tierarzneimitteln aus Wirtschaftsdünger in Sickerwasser, Grundwasser und oberirdische Gewässer. Bayerisches Landesamt für Umwelt, Augsburg, 56.
4. Meyer MT, Bumgarner JE, Varns JL, Daughtridge JV, Thurman EM, Hostetler KA (2000) Use of radioimmunoassay as a screen for antibiotics in confined animal feeding operations and confirmation by liquid chromatography/mass spectrometry. *SciTotal Environ* 248:181–187.
5. Calamari, D.; Zuccato, E.; Castiglioni, S.; Bagnati, R.; Fanelli, R., Strategic Survey of Therapeutic Drugs in the Rivers Po and Lambro in Northern Italy. *Environ. Sci. Technol.* 2003.
6. Krapac, I.G., Koike, S., Meyer, M.T., Snow, D.D., Chou, S.-F.J., Mackie, R.I., Roy, W.R., Chee-Sandford, J.C., 2005. Long-term monitoring of the occurrence of antibiotic residues and antibiotic resistance in groundwater near swine confinement facilities. Report of the CSREES Project 2001-35102-10774.
7. Bund/Länderausschuss für Chemikaliensicherheit (BLAC) (2003). Arzneimittel in der Umwelt - Auswertung der Untersuchungsergebnisse
8. Sacher, F.; Lange, F. T.; Brauch, H.-J.; Blankenhorn, I., Pharmaceuticals in groundwaters. Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. *Journal of Chromatography A* 2001, 938, 199-210.
9. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, Arzneimittel in der Umwelt, F+E-Vorhaben 2000-2002, Kennnummer 73e 04010049, Schlussbericht. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft
10. Vieno, N. M., Härkki, H., Tuhkanen, T., Kronberg, L., Occurrence of Pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. *Environmental science and technology.* 2007, 41, 5077-5084.