ANTIBIOTIKARESISTENZ-BILDUNG IN DER UMWELT

HERLEITUNG VON UQK FÜR ANTIBIOTIKA UNTER BERÜCKSICHTIGUNG VON RESISTENZBILDUNG

Durch die Belastung mit Antibiotika können sich in der Umwelt vermehrt Resistenzen dagegen bilden, was eine potenzielle Gefahr für die menschliche Gesundheit darstellt. Antibiotikaresistenzbildung wird zurzeit nicht in der Methode zu Herleitung von Umweltqualitätskriterien (UQK) berücksichtigt. Nun wurde für acht Antibiotika untersucht, ob die verfügbaren UQK auch protektiv für Antibiotikaresistenzbildung sind. Basierend auf diesem Vergleich werden Handlungs- sowie Forschungsvorschläge abgeleitet.

Gianna Ferrari; Marion Junghans; Muris Korkaric; Inge Werner*
Oekotoxzentrum Eawag-EPFL

RÉSUMÉ

RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT – DÉFINITION DE CRITÈRES DE QUALITÉ ENVIRONNEMENTALE POUR LES ANTIBIOTIQUES EN CONSIDÉRANT LE DÉVELOPPEMENT DE RÉSISTANCES

Les bactéries résistantes aux antibiotiques sont un problème de plus en plus aigu dans le traitement des maladies infectieuses. Ces résistances peuvent être transmises par les bactéries environnementales aux bactéries pathogènes et représenter ainsi un danger pour la santé humaine. La définition de critères de qualité environnementale pour les eaux de surface vise à protéger les organismes aquatiques. Cependant, le développement de résistances aux antibiotiques n'est actuellement pas pris en compte. Dans le présent travail, les critères de qualité environnementale de huit antibiotiques ont été comparés aux concentrations sélectives minimales (MSC). On suppose qu'au-dessous du seuil MSC, il n'y a pas de sélection de bactéries résistantes et donc pas de propagation de résistances. Les MSC peuvent être mesurées de manière expérimentale ou dérivées de données cliniques, les concentrations inhibitrices minimales (MIC). Les MSC ont été compilées dans le cadre de ce travail et, le cas échéant, dérivées des valeurs MIC. La comparaison avec les critères de qualité environnementale montre que ceux-ci protègent généralement aussi de la sélection des résistances aux antibiotiques. Ainsi nous proposons de tenir compte des valeurs MSC dans la

> S. 58

EINLEITUNG

Antibiotika gelten als eine der wichtigsten medizinischen Errungenschaften des 20. Jahrhunderts. Sie werden im human- und tiermedizinischen Bereich zur Behandlung von bakteriellen Infektionskrankheiten eingesetzt. Allein in der Schweiz werden jährlich 516 Tonnen verwendet [1]. Ihre Wirksamkeit kann aber durch Resistenzen reduziert oder sogar gänzlich aufgehoben werden. Bei der Therapie muss dann auf andere Antibiotika ausgewichen werden, die – wenn überhaupt wirksam – oftmals stärkere Nebenwirkungen haben und/oder teurer sind. Dadurch steigt das Risiko für zuvor behandelbare Erkrankungen und operative Eingriffe. Ein wachsendes Vorkommen antibiotikaresistenter Bakterien hat also weitreichende Folgen sowohl für die menschliche und tierische Gesundheit als auch für die Wirtschaft.

Antibiotisch wirksame Substanzen und Resistenzgene finden sich natürlicherweise in unserer Umwelt [2, 3]. Anthropogene Einflüsse wie die Emissionen von Antibiotika aus Fabriken oder Abwässern können aber das Vorkommen antibiotikaresistenter Bakterien [4, 5] und von Resistenzgenen in der Umwelt erhöhen [6, 7]. In die aquatische Umwelt gelangen Antibiotika und antibiotikaresistente Bakterien vor allem via Kläranlagen

** Kontakt: Marion.Junghans@oekotoxzentrum.ch*

und durch Abschwemmung von landwirtschaftlich genutzten Flächen.

Schon relativ tiefe Konzentrationen von Antibiotika im Wasser können die Selektion von antibiotikaresistenten Bakterien [8, 9] und die Weitergabe von Resistenzgenen [10] begünstigen und so zur Verbreitung von antibiotikaresistenten Bakterien führen [11]. Problematisch ist die Bildung von Resistenzen in Bakterien vor allem auch, weil Bakterien genetisches Material nicht nur durch Vererbung an die nächste Generation, sondern durch sogenannten horizontalen Gen-Transfer an unterschiedliche Stämme derselben Art oder sogar an andere Arten weitergeben können [10].

In dieser Studie wurde untersucht, ab welchen Konzentrationen Antibiotika möglicherweise einen Selektionsdruck auf Umweltbakterien ausüben und so zu vermehrtem Auftreten von antibiotikaresistenten Bakterien führen können. Minimale Selektions-Konzentrationen (engl. *Minimum Selective Concentration,* MSC) wurden mit ökotoxikologisch basierten Umweltqualitätskriterien (UQK) für Oberflächengewässer verglichen. Die akuten und chronischen Qualitätskriterien (AQK und CQK) entsprechen damit den in der EU gebräuchlichen *Maximum Allowable Concentration-* und *Annual Average-Environmental Quality Standards* (MAC-EQS und AA-EQS).

Es sollte festgestellt werden, ob die ökotoxikologischen Grenzwerte für die Antibiotika Azithromycin, Ciprofloxacin, Clarithromycin, Erythromycin, Sulfamethoxazol, Sulfamethazin, Triclosan und Trimethoprim auch in Bezug auf die Antibiotikaresistenzbildung protektiv sind, oder ob möglicherweise eine Anpassung der UQK nötig wäre. Dabei ist zu erwähnen, dass Triclosan kein herkömmliches Antibiotikum, sondern ein Biozid ist, das beispielsweise in Arztpraxen und Spitälern als Desinfektionsmittel eingesetzt wird. Wenn vermehrt Resistenzen gegen Triclosan auftreten würden, könnte das seine Wirksamkeit reduzieren und so ebenfalls die menschliche Gesundheit gefährden. Im Weiteren wird Triclosan der Einfachheit halber mit den anderen Substanzen unter den Begriff Antibiotika gefasst.

Die Berücksichtigung möglicher Resistenzbildung bei der Herleitung von UQK erweitert das Schutzziel der ökotoxikologischen Risikobewertung, weil Antibiotikaresistenzbildung in der Umwelt für Lebewesen nicht zwingend ein Problem, sondern eine mögliche indirekte Gefahr für die menschliche Gesundheit darstellt.

METHODEN

UMWELTQUALITÄTSKRITERIEN DES OEKOTOXZENTRUMS

Die UQK des Oekotoxzentrums wurden nach dem technischen Leitfaden der Europäischen Kommission für UQK hergeleitet [12]. Dabei werden chronische und akute Effektdaten von aquatischen Organismen von drei trophischen Ebenen gesammelt. Je nach Datenlage wird das UQK entweder vom tiefsten Effektdatenpunkt mit einem Sicherheitsfaktor extrapoliert (deterministische Herleitung) oder durch eine Spezies-Sensitivitäts-Verteilung (engl. *Species Sensitivity Distribution,* SSD) der Effektdaten bestimmt (probabilistische Herleitung). Effektdatenpunkte sind Konzentrationen, ab denen ein bestimmter Teil der getesteten Organismen Effekte zeigen; beim EC10 *(Effect Concentration 10)* sind das 10% der Organismen, beim NOEC *(No Observed Effect Concentration)* ist kein signifikanter Effekt zu beobachten. Probabilistische Herleitungen wurden nur bei Triclosan und Erythromycin gemacht *(Tab. 1* und *2).* Der Grossteil der UQK wurde von Effektdaten für Grün- oder Blaualgen hergeleitet *(Tab. 1* und *2).*

MINIMALE SELEKTIONS-KONZENTRATIONEN

Es gibt verschiedene Methoden, die Antibiotikum-Konzentrationen abzuschätzen, bei deren Überschreitung ein Selektions-

	UQK [µg/l]	Sensitivste Taxa	Empfindlichste Art, auf der das UQK basiert	Effektparameter	[µg/l]	Cyanobakterien im Effektdatensatz
Akutes Qualitätskriterium (AQK)						
Azithromycin	0,18	Cyanobakterien	*Microcystis aeruginosa*	EC50	1,8	ja
Ciprofloxacin	0,36	Cyanobakterien	*Anabaena flos-aquae*	EC50	36,3	ja
Triclosan	0,1	Chlorophyta	SSD	HC5	0,61	ja
Clarithromycin	0,19	Chlorophyta	*Raphidocelis subcapitata*	EC50	3,7	ja
Erythromycin	1,1	Cyanobakterien	*Microcystis aeruginosa, Microcystis wesenbergii*	EC50	23	ja
Sulfamethoxazol	2,7	Cyanobakterien	*Synechococcus leopoliensis*	EC50	26,8	ja
Sulfamethazin	30	Pflanze	*Lemna gibba*	EC50	1740	nein
Trimethoprim	214	Diatomeen	*Navicula pelliculosa*	EC50	2140	ja
Chronisches Umweltqualitätskriterium (CQK)						
Azithromycin	0,019	Cyanobakterien	*Microcystis aeruginosa*	NOEC	0,19	ja
Ciprofloxacin	0,089	Cyanobakterien	*Anabaena flos-aquae*	EC10	4,41	nein
Triclosan	0,1	Chlorophyta	SSD	HC5	0,51	ja
Clarithromycin	0,12	Chlorophyta	*Raphidocelis subcapitata*	NOEC	2,45	ja
Erythromycin	0,3	Cyanobakterien	SSD	HC5	1,5	ja
Sulfamethoxazol	0,6	Cyanobakterien	*Synechococcus leopoliensis*	NOEC	5,9	ja
Sulfamethazin	30	Pflanze	*Lemna gibba*	NOEC	300	nein
Trimethoprim	120	Diatomeen	*Navicula pelliculosa*	EC10	1200	ja

Tab. 1 Vorgeschlagene UQK für Antibiotika (oekotoxzentrum.ch/expertenservice/qualitaetskriterien/qualitaetskriterienvorschlaege-oekotoxzentrum/)

druck auf Bakterien in der aquatischen Umwelt auftreten kann. Die tiefste Antibiotikum-Konzentration, bei der man von einem Selektionsdruck auf Bakterien ausgeht, wird Minimale Selektions-Konzentration (MSC) genannt. Diese kann experimentell mit isolierten Stämmen [8, 13, 20] oder mit Biofilmen getestet werden [21, 22]. Da nicht viele experimentelle MSC-Werte vorhanden sind, gibt es auch Herleitungen aus Daten, die für die Humanmedizin gesammelt werden, den sogenannten *Minimum Inhibitory Concentrations* (MIC). Dies sind die tiefsten experimentell getesteten Konzentrationen, bei denen kein Bakterienwachstum mehr beobachtet wird [23]. MIC-Werte sind verfügbar in der EUCAST-Datenbank [24].

Bengtsson-Palme & Larsson [18] fassen zunächst für jedes Antibiotikum die MIC-Verteilungen aller Bakterienarten zu einer Verteilung zusammen. Für diese Verteilung wird dann das 1%-Perzentil bestimmt. Zur $MSC_{B\text{-}P}$-Bestimmung (MSC nach *Bengtsson-Palme & Larsson*) wird dieses anschliessend durch einen Faktor von 10 *(Gl. 1)* geteilt [24]. Dieser entspricht dem Median der von *Gullberg et al.* [8] bestimmten Verhältnisse zwischen MIC und MSC.

$$MSC_{B-P} = \frac{1\%\ Perzentil\ MIC\ (Antibiotikum\ i,\ \ alle\ Spezies)}{10} \qquad Gl.\ 1$$

Rico et al. [25] bestimmen zuerst für jede Bakterienart den tiefsten MIC-Wert und teilen ihn durch 10, um den MSC für die jeweilige Art zu erhalten. Aus den MSC-Werten für alle Arten wird danach eine SSD erstellt, aus der ein sogenannter HC5-Wert (5%-Perzentil der Verteilung) abgeleitet wird, bei dem nur für 5% der Bakterienarten ein Selektionsdruck besteht *(Gl. 2)*.

$$MSC_{Rico} = HC_{5-SSD}\left(\frac{\text{MIC}\ (Antibiotikum\ i,1\ Spezies)}{10}\right) \qquad Gl.\ 2$$

Die für die Verwendung einer SSD vorausgesetzte Annahme, dass die Datenpunkte normalverteilt sind, war nicht immer erfüllt. Der Gebrauch des SSD-Ansatzes bei den nicht normalverteilten MSC-Werten für die unterschiedlichen Bakterienarten führte somit auch zu weniger robusten Ergebnissen bei der Herleitung der HC5-Werte (Ergebnisse nicht gezeigt). Trotzdem wurden die im Rahmen dieser Arbeit hergeleiteten MSC_{Rico} in die Resultate aufgenommen und betrachtet, da sie mindestens als behelfsmässige Richtpunkte dienen können.

Der in beiden Methoden verwendete Faktor von 10, um vom MIC auf den MSC zu extrapolieren, basiert wie bereits erwähnt auf dem Median der von *Gullberg et al.* [8] gemessenen MSC/MIC-Verhältnisse. Dabei ist die Streuung mit MIC/MSC-Verhältnissen von 4 bis 230 erheblich. Basierend auf diesen Verhältnissen wäre für eine Worst-Case-Annahme einen Faktor von 230 zu verwenden, was die MSC-Werte um mehr als eine Grössenordnung senken würde. Allerdings wurden für die Studie lediglich sechs Antibiotika in den beiden Bakterienarten *E. coli* und *S. enterica*

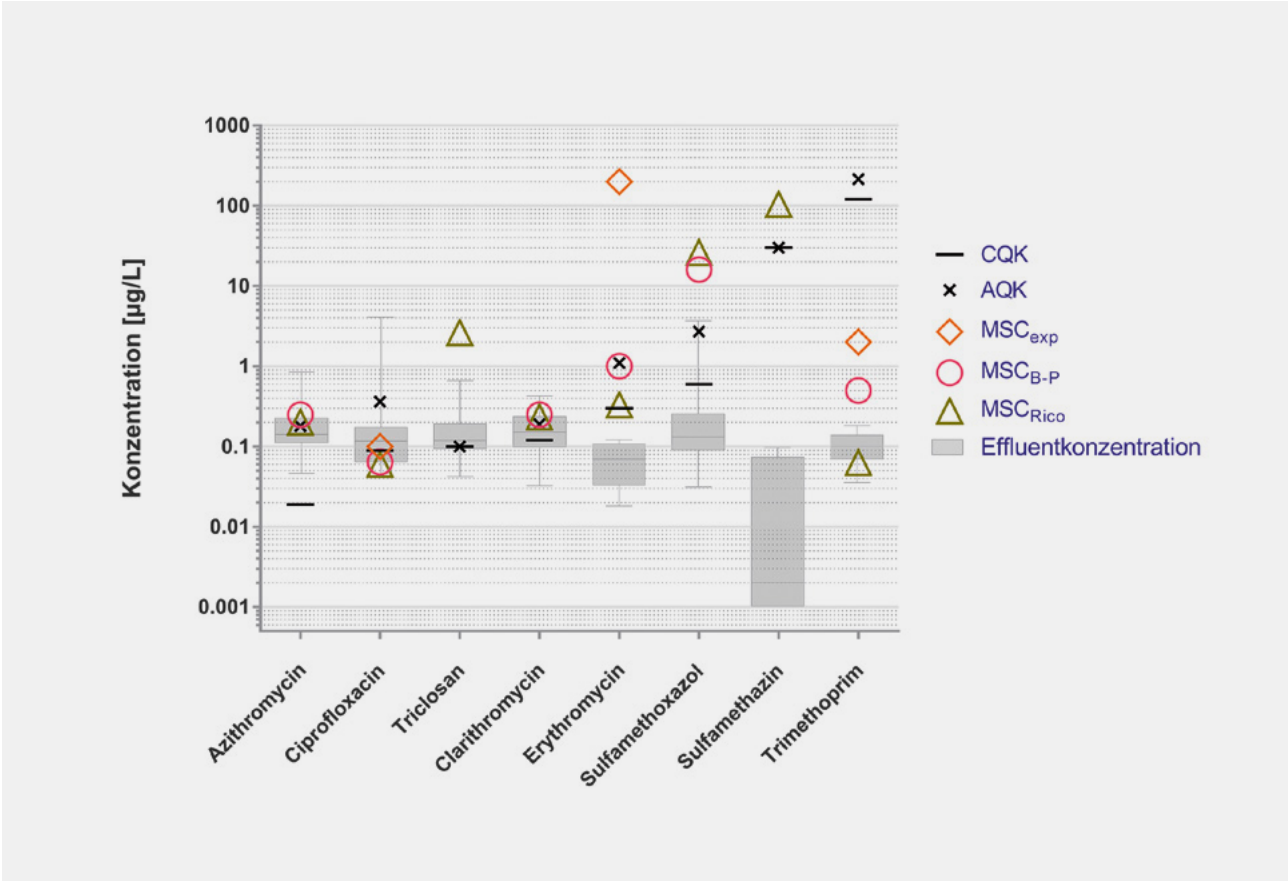


Fig. 1 Vergleich von chronischen und akuten Qualitätskriterien (CQK und AQK), experimentellen MSC aus [8, 13], $MSC_{B\text{-}P}$ und MSC_{Rico} aus [14, 15] und dieser Studie und Effluentkonzentrationen aus [1, 15–19] für die Antibiotika Azithromcin, Ciprofloxacin, Triclosan, Clarithromycin, Erthromycin, Sulfamethoxazol, Sulfamethazin und Trimethoprim.

untersucht. Deshalb ist unklar, wie aussagekräftig dieses Verhältnis in Bezug auf andere Arten und Antibiotika ist.
Für Triclosan und Sulfamethazin waren keine EUCAST-MIC-Daten verfügbar, darum wurden MIC-Werte aus anderen Quellen für die Herleitung eines MSC benutzt [25–28]. Auch der MSC_{B-P} für Sulfamethazin wurde im Rahmen dieser Arbeit hergeleitet. Für Triclosan waren die MIC-Daten hingegen nicht ausreichend für eine Herleitung nach *Bengtsson-Palme & Larsson.*

RESULTATE

Um einen Vergleich der UQK mit den MSC ziehen zu können, werden hier zunächst die UQK-Herleitungen und deren Datengrundlage genauer betrachtet. Bei der Betrachtung der UQK fällt auf, dass sie für Trimethoprim und Sulfamethazin um mindestens eine Grössenordnung höher liegen als für die anderen Antibiotika *(Tab. 1).* Für sieben der acht Antibiotika waren Effektdaten für Cyanobakterien vorhanden, und für vier davon stellen Cyanobakterien die sensitivste Artengruppe dar *(Tab. 1).* Für die anderen vier waren es Grünalgen, Kieselalgen oder höhere Wasserpflanzen *(Tab. 1).*
In *Figur 1* und *Tabelle 2* sind alle verfügbaren aquatischen UQK, die nach den beschriebenen Methoden hergeleiteten MSC-Werte sowie Konzentrationen der entsprechenden Antibiotika, die im Abfluss von 21 Kläranlagen in der Schweiz bestimmt wurden, aufgeführt. Diese Abflusskonzentrationen entsprechen nicht der zu erwartenden Umweltkonzentration nach Durchmischung im Fluss, wurden aber für eine Worst-Case-Betrachtung zu Vergleichszwecken herangezogen. Experimentelle MSC-Werte sind nur für Ciprofloxacin, Erthromycin und Trimethoprim vorhanden [8, 13]. Die MSC_{Rico} für Ciprofloxacin und Sulfamethoxazol stammen aus *Rico et al.* [15], die restlichen sechs MSC_{Rico} wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit nach derselben Methodik hergeleitet.
Für sechs der acht Antibiotika sind die UQK tief genug, um wohl auch vor der Bildung oder Verbreitung von Resistenzen zu schützen *(Fig. 1, Tab. 2).* Die UQK liegen bis zu 27-fach unterhalb des tiefsten MSC. Für Ciprofloxacin liegt der von den MIC-Werten abgeleitete MSC bis zu 1,5-fach unterhalb des CQK und der experimentell bestimmte MSC oberhalb, sodass zumindest der CQK vermutlich ebenfalls vor Antibiotikaresistenzen schützt. Für Trimethoprim jedoch deuten sowohl der experimentell bestimmte als auch die beiden von den MIC-Werten abgeleiteten MSC darauf hin, dass schon deutlich unterhalb der UQK eine Resistenzbildung in Betracht gezogen werden muss, da der CQK bis zu 2000-fach über den MSC liegt. Die mit unterschiedlichen Ansätzen berechneten MSC-Werte liegen relativ nahe beieinander, vor allem die theoretisch hergeleiteten MSC_{B-P} und MSC_{Rico} sind sehr ähnlich *(Tab. 2).* Nur für zwei der sechs Antibiotika (Erthromycin und Trimethoprim) liegt der MSC_{Rico} ungefähr eine Grössenordnung tiefer als der MSC_{B-P}. Generell liegt der MSC_{Rico} ein wenig tiefer als der MSC_{B-P}.
Figur 1 und *Tabelle 2* zeigen Konzentrationen der ausgewählten Antibiotika im Abfluss von Schweizer Kläranlagen [1, 15–19]. Die zu erwartenden Konzentrationen in Oberflächengewässern liegen aufgrund der Verdünnung unterhalb dieser Konzentrationen. Diese kann abhängig von der Abflussrate des Fliessgewässers 10- bis 2000-fach sein [29]. Andererseits leiten häufig mehrere Kläranlagen in dasselbe Gewässer ein, wodurch der Anteil von gereinigtem Abwasser an der Gesamtwassermenge in einigen Schweizer Gewässern, vor allem im Mittelland, häufig bei über 50% liegt [30]. Für vier Antibiotika (Azithromycin, Ciprofloxacin, Clarithromycin und Trimethoprim) sind diese Effluentkonzentrationen teilweise höher als die MSC. Für Erythromycin, Sulfamethoxazol, Sulfamethazin und Triclosan liegen sie darunter *(Fig. 1* und *Tab. 2).*

DISKUSSION

Die Resultate für die ausgewählten Antibiotika (AB) zeigen, dass die ökotoxikologisch basierten UQK in den meisten Fällen als protektiv für Antibiotikaresistenzbildung angesehen werden können *(Fig. 1, Tab. 2).* Allerdings gibt es Ausnahmen, wie vor allem die Daten für Trimethoprim zeigen, wo die MSC bis zu 2000-mal tiefer liegen als die UQK *(Tab. 2).* Auch *Le Page et al.* [31] kommen in ihrer Studie zum Schluss, dass nach EU-Richtlinien [12] hergeleitete, ökotoxikologische Werte nicht immer protektiv für Antibiotikaresistenzbildung sind. Bei ihrer Analyse waren MSC bei drei von sieben Antibiotika tiefer als der CQK [31]: Ceftarolin, Ciprofloxacin und Tobramycin. Für Azithromycin, Ceftobiprol, Doriprenem und Sulfamethoxazol waren die CQK tief genug, um auch vor Resistenzen zu schützen.
Gemessene Konzentrationen im Ablauf von Schweizer Kläranlagen liegen zum Teil in einem Bereich, in dem Antibiotika-Resistenzbildung nicht ausgeschlossen werden kann *(Fig. 1).* Effluentkonzentrationen von Azithromycin, Ciprofloxacin, Clarithromycin und Trimethoprim liegen bis zu 3-fach über den MSC. Durch eine zu erwartende Verdünnung im Gewässer werden diese Überschreitungen aller-

[µg/l]	CQK	AQK	Quelle	$MSC_{experimentell}$	Quelle	MSC_{B-P}	Quelle	MSC_{Rico}	Quelle	Mittlere Effluent-konzentrationen	Quelle
Azithromycin	0,019	0,18	OZ, 2015	–	–	0,25	[14]	0,20	OZ, 2018	0,204	[1, 15, 16]
Ciprofloxacin	0,089	0,363	OZ, 2013	0,1	[8]	0,064	[14]	0,060	[15]	0,303	[1, 15, 16]
Triclosan	0,1	0,1	OZ, 2018	–	–	3,4	OZ, 2019	2,6	OZ, 2018	0,165	[17, 18]
Clarithromycin	0,12	0,19	OZ, 2013	–	–	0,25	[14]	0,23	OZ, 2018	0,174	[1, 15, 16]
Erythromycin	0,3	1,1	OZ, 2017	200	[13]	1	[14]	0,33	OZ, 2018	0,069	[1, 15, 16]
Sulfamethoxazol	0,6	2,7	OZ, 2016	–	–	16	[14]	26	[15]	0,335	[1, 15, 16]
Sulfamethazin	30	30	OZ, 2016	–	–	–	[14]	105	OZ, 2018	0,001	[17, 18]
Trimethoprim	120	214	OZ, 2015	2	[13]	0,5	[14]	0,063	OZ, 2018	0,106	[1, 15, 16]

Tab. 2 Verfügbare akute und chronische Umweltqualitätskriterien (AQK und CQK), experimentelle MSC aus [8, 13], MSC_{B-P} aus [14], MSC_{Rico} aus [15] und aus dieser Studie (OZ, 2018), Effluentkonzentrationen aus [1, 15–19]. Alle Konzentrationen sind in µg/l angegeben.

dings vermutlich ausgeglichen. Es kann hingegen nicht ausgeschlossen werden, dass es im Bereich der Einleitung zu einer lokal begrenzten Selektion von antibiotikaresistenten Bakterien kommen kann. Dies wird am Beispiel von Ciprofloxacin deutlich, für das die mittlere Konzentration im Kläranlagenauslauf über allen drei MSC liegt. Im Falle von Azithromycin und Clarithromycin liegen die mittleren Konzentrationen im Kläranlagenauslauf zwar unterhalb der MSC, Spitzenkonzentrationen könnten aber zu Antibiotikaresistenz führen *(Fig. 1).* Bei Trimethoprim liegt einzig der MSC_{Rico} unter den Effluentkonzentrationen *(Fig. 1, Tab. 2).* Ein Selektionsdruck auf Umweltbakterien durch Trimethoprim in der Nähe der Auslaufstelle kann also nicht vollständig ausgeschlossen werden. Für Erythromycin, Sulfamethoxazol, Sulfamethazin und Triclosan ist beim Kläranlagenauslauf keine Antibiotikaresistenzbildung zu erwarten, da die im Ablauf gemessenen Konzentrationen meist mehrere Grössenordnungen unter dem tiefsten MSC liegen *(Fig. 1, Tab. 2).*

Zurzeit ist noch unklar, inwieweit andere Faktoren z. B. die Ausschwemmung antibiotikaresistenter Bakterien und Resistenzgenen aus Kläranlagen zur Verbreitung von Resistenzen in der Umwelt beitragen. Wenn also die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Umwelt unterbunden werden soll, müsste man untersuchen, wie gross der Einfluss dieser direkten Resistenzgen-Ausschwemmung für die Verbreitung von Resistenzen im Verhältnis zum Selektionsdruck durch die Antibiotika, die ins Gewässer gelangen, ist.

Antibiotikaresistenzen können auch zusammen mit Resistenzen gegen andere Stressoren auf mobilen genetischen Elementen wie z. B. Plasmiden auftreten [13]. Sie können somit auch durch einen Selektionsdruck durch Schwermetalle oder Pestizide, zu denen eine Co-Resistenz besteht, in der Population gehalten werden [13] *(s. Box).* MSC beschreiben also nur den ausgeübten Selektionsdruck durch ein Antibiotikum und bilden somit nicht den tatsächlichen Selektionsdruck auf das betreffende genetische Element ab, das es in der Umwelt erfahren würde.

In der Debatte um die Bildung von Antibiotikaresistenzen werden auch häufig Herbizide, insbesondere Glyphosat, erwähnt. Bei den bisher beschriebenen Fällen handelt es sich aber meist wohl um unspezifische Resistenzmechanismen, die bei Herbizid-Konzentrationen auftreten, die in der Regel deutlich über den Umweltkonzentrationen liegen *(s. Box).*

Die vorgestellten Methoden zur MSC-Herleitung beruhen vor allem auf MIC-Werten. Auch wenn diese Daten den Vorteil einer breiten Datenbasis liefern, gibt es doch einige Einschränkungen. Zum einen werden MIC-Werte nur für klinisch relevante Bakterien und nicht für Umweltbakterien gesammelt. Eine Studie legt jedoch den Schluss nahe, dass die Empfindlichkeit von Umweltbakterien und klinisch relevanten Bakterien vergleichbar ist. [9]. Des Weiteren werden die MIC-Werte unter Laborbedingungen gesammelt, wodurch andere limitierende Faktoren wie z. B. Nährstoffverfügbarkeit und Temperatur nicht berücksichtigt werden.

Es besteht derzeit auch ein Mangel an experimentellen MSC-Werten für Umweltbakterien. Für eine Anwendung des MSC-Konzepts in der Risikobewertung wäre es daher wichtig zu klären, ob die Annahme berechtigt ist, dass das mittlere MIC/MSC-Verhältnis auch für Umweltbakterien bei 10 liegt. Es ist anzunehmen, dass das MSC/MIC-Verhältnis sowohl von der Bakterienart als auch vom Resistenzmechanismus und somit vom Antibiotikum abhängt. Durch die Generierung von MSC-Werten für weitere Arten, vor allem für Umweltbakterien, und Antibiotika könnte das mittlere MSC/MIC-Verhältnis genauer bestimmt werden.

FAZIT

Für den Grossteil der untersuchten Antibiotika waren die UQK protektiv gegenüber Antibiotikaresistenzbildung. Jedoch zeigt besonders das Beispiel von Trimethoprim (MSC 2000-mal tiefer als das CQK), dass für eine zuverlässige Einschätzung des Umweltrisikos von Antibiotika noch Forschungsbedarf besteht und die UQK-Herleitungsmethode für Antibiotika gegebenenfalls angepasst werden sollte.

Konkret könnte das heissen: CQK und AQK weiterhin nach dem technischen Leitfaden der Europäischen Kommission für UQK herzuleiten [12], und zusätzlich experimentelle oder hergeleitete MSC zu berücksichtigen, wovon dann der tiefste Wert als Grenzwert vorgeschlagen würde. So wurde das auch von *Sahlin et al.* für Ciprofloxacin gemacht [36].

Idealerweise würden dazu die verfügbaren experimentellen und von MIC abgeleiteten MSC (z. B. in [8, 13–15]) verwendet. Falls keine bestehenden MSC verfügbar sind, können die MSC wie in dieser Studie nach *Bengtsson-Palme & Larsson* [14] oder *Rico et*

EINFLUSS VON HERBIZIDEN

Pestizide, darunter Herbizide, können die Empfindlichkeit von Bakterien gegenüber Antibiotika beeinflussen [32]. Bei manchen Antibiotika werden die Bakterien toleranter unter Einfluss von Herbiziden, bei anderen werden sie empfindlicher. Letzteres vermutlich, weil zelluläre Efflux-Pumpen die für die Bakterien schädlichen Stoffe unselektiv aus den Zellen hinaustransportieren. Wenn dabei auch Antibiotika hinausgepumpt werden, senkt das die Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber diesen Antibiotika. Dieser Effekt ist nicht auf Pestizide beschränkt, sondern kann durch alle Substanzen ausgelöst werden, welche die Efflux-Pumpen in Bakterien aktivieren.

Der als Herbizid eingesetzte Wirkstoff Glyphosat wurde im Jahr 2010 in den USA auch als Antibiotikum patentiert (US007771736B2), allerdings nicht primär zur Behandlung von bakteriellen Infektionen, sondern gegen eukaryotische Parasiten aus dem Phylum der Apicomplexa [33]. Diese enthalten laut Patent eine Zellorganelle, die aus dem Pflanzenreich stammt und empfindlich gegenüber Glyphosat ist, welches das Enzyms 3-Enolpyruvylshikimat-5-phosphat-Synthase (EPSPS) hemmt [33]. Bakterienstämme, die ebenfalls über das EPSPS-Enzym verfügen, wurden im Patent als «vermutlich ebenfalls empfindlich» aufgeführt. Die Minimale Hemmkonzentration (MIC), ein Mass für die Wirksamkeit von Glyphosat als Antibiotikum, zeigt aber, dass die antibakterielle Wirkung von Glyphosat im Vergleich zu handelsüblichen Antibiotika um ein Vielfaches schwächer ist. So liegen mehr als die Hälfte der verfügbaren MIC-Werte für Glyphosat [34, 35] über der oberen Grenze der gebräuchlichen Testskala (512 mg/l; der tiefste Wert der Testskala liegt bei 0,002 mg/l). Glyphosat wird somit auch nicht als Antibiotikum eingesetzt. Im Übrigen liegen auch die vorgeschlagenen akuten und chronischen Umweltqualitätskriterien 600-fach tiefer als die tiefste Konzentration, bei der eine antibiotische Wirkung von Glyphosat bislang beobachtet wurde (CQK = 0,12 mg/l zu 75 mg/l [34]).

DANKSAGUNG
Wir bedanken uns bei *Helmut Bürgmann* (Abteilung Oberflächengewässer, Eawag) für die Kommentierung des Artikels und bei *Gareth Le Page (University of Exeter)* und *Andreu Rico (Madrid Institute for Advanced Studies)* für den Austausch über ihre Arbeit.

al. [15] aus MIC-Werten abgeleitet werden. Die MIC-Verteilung wird durch die Benutzung eines Perzentil-Wertes in der Methode von *Bengtsson-Palme & Larsson* besser abgebildet als in der Methode von *Rico et al.*, wo jeweils der tiefste MIC-Wert pro Bakterienart verwendet wird. Dahingegen kann die Methode von *Rico et al.* [24] auch angewendet werden, wenn nicht genügend MIC-Werte zur Verfügung stehen, sondern z. B. nur der tiefste und der höchste gemessene MIC-Wert einer Bakterienart. Dies war bei der Herleitung des MSC für Sulfamethazin der Fall.

Ein weiterer möglicher Ansatz wäre, die bakterielle Resistenzbildung als Effekt-endpunkt in die Herleitung von ökotoxikologischen Grenzwerten aufzunehmen. Dies würde aber bedeuten, dass man einen Endpunkt einbezieht, der ausschliesslich für die menschliche Gesundheit von Bedeutung ist. Das wäre eine Erweiterung der in der Ökotoxikologie üblicherweise verwendeten Schutzziele.

Für die Gewässerüberwachung müsste noch geklärt werden, ob der MSC als akutes oder chronisches UQK betrachtet werden sollte. *Sahlin et al.* [36] argumentieren, dass die Generationszeit von Bakterien im Vergleich zu höheren Organismen kurz sei, wodurch schon kurzzeitig erhöhte Antibiotika-Konzentrationen evolutionäre Konsequenzen haben könnten, und der MSC-Wert darum als akuter Grenzwert betrachtet werden sollte. Bei Einträgen von kommunalem Abwasser ist es möglicherweise nicht von grosser Bedeutung, ob der MSC als akutes oder chronisches UQK betrachtet wird, da der Verbrauch von Antibiotika nur jahreszeitliche Variationen zeigt [37] und der Eintrag wahrscheinlich analog zu anderen Pharmazeutika weniger stark fluktuiert als bei diffus eingetragenen Stoffen wie z. B. Pestiziden [38]. Eine Ausnahme könnten industrielle Einträge darstellen [39].

BIBLIOGRAPHIE

[1] *Singer, H.P. et al. (2016): «Rapid Screening for Exposure to 'Non-Target' Pharmaceuticals from Wastewater Effluents by Combining HRMS-Based Suspect Screening and Exposure Modeling». Environ. Sci. Technol., vol. 50, no. 13, pp. 6698–6707*

[2] *Martinez, J. L. (2008): «Antibiotics and Antibiotic Resistance Genes in Natural Environments». Science (80)., vol. 321, no. 5887, pp. 365–367*

[3] *Dcosta, V. M. et al. (20119: «Antibiotic resistance is ancient». Nature, vol. 477, no. 7365, pp. 457–461*

[4] *Li, D. et al. (2009): «Antibiotic-resistance profile in environmental bacteria isolated from penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river». Environ. Microbiol., vol. 11, no. 6, pp. 1506–1517*

[5] *Li, D. et al. (2010): «Antibiotic resistance characteristics of environmental bacteria from an oxytetracycline production wastewater treatment plant and the receiving river». Appl. Environ. Microbiol., vol. 76, no. 11, pp. 3444–3451*

[6] *Czekalski, N.; Gascón Díez, E.; Bürgmann, H. (2014): «Wastewater as a point source of antibiotic-resistance genes in the sediment of a freshwater lake». ISME J., vol. 8, no. 7, pp. 1381–1390*

[7] *Kristiansson, E. et al. (2011): «Pyrosequencing of Antibiotic-Contaminated River Sediments Reveals High Levels of Resistance and Gene Transfer Elements». PLoS One, vol. 6, no. 2, p. e17038*

[8] *Gullberg, E. et al. (2011): «Selection of Resistant Bacteria at Very Low Antibiotic Concentrations». PLoS Pathog., vol. 7, no. 7, p. e1002158*

[9] *Tello, A.; Austin, B.; Telfer, T. C. (2012): «Selective Pressure of Antibiotic Pollution on Bacteria of Importance to Public Health». Environ. Heal, no. 8, pp. 1100–1106*

[10] *Bengtsson-Palme, J. et al. (2014): «Shotgun metagenomics reveals a wide array of antibiotic resistance genes and mobile elements in a polluted lake in India». Front. Microbiol., vol. 5, no. DEC, pp. 1–14*

[11] *Finley, R. L. et al. (2013): «The Scourge of Antibiotic Resistance: The Important Role of the Environment». Clin. Infect. Dis., vol. 57, no. 5, pp. 704–710*

[12] *Whitehouse, P. et al. (2011): Common Implementation Strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC) Guidance Document No . 27 Technical Guidance For Deriving Environmental Quality Standards, no. 27*

[13] *Gullberg, E. et al. (2014): «Selection of a Multidrug Resistance Plasmid by Sublethal Levels of Antibiotics and Heavy Metals». Vol. 5, no. 5, pp. 19–23*

[14] *Bengtsson-Palme, J.; Larsson, D. G. J. (2016): «Concentrations of antibiotics predicted to select for resistant bacteria: Proposed limits for environmental regulation». Environ. Int., vol. 86, pp. 140–149*

[15] *Ju, F. et al. (2018): «Wastewater treatment plant resistomes are shaped by bacterial composition, genetic exchange, and upregulated expression in the effluent microbiomes». ISME J.*

[16] *Otto, J. et al. (2014): «Fachbericht Substanzen zur Überprüfung des Reinigungseffekts weitergehender Abwasserbehandlungsverfahren»*

[17] *Lindström, A. et al. (2002): «Occurrence and Environmental Behavior of the Bactericide Triclosan and Its Methyl Derivative in Surface Waters and in Wastewater». Environ. Sci. Technol., vol. 36, no. 11, pp. 2322–2329*

[18] *Singer, H. et al. (2002): «Triclosan: Occurrence and Fate of a Widely Used Biocide in the Aquatic Environment: Field Measurements in Wastewater Treatment Plants, Surface Waters, and Lake Sediments». Environ. Sci. Technol., vol. 36, no. 23, pp. 4998–5004*

[19] *Yang, S.; Cha, J.; Carlson, K. (2005): «Simultaneous extraction and analysis of 11 tetracycline and sulfonamide antibiotics in influent and effluent domestic wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry». J. Chromatogr. A, vol. 1097, no. 1–2, pp. 40–53*

[20] *Khan, S.; Beattie, T. K.; Knapp, C. W. (2017): «The use of minimum selectable concentrations (MSCs) for determining the selection of antimicrobial resistant bacteria». Ecotoxicology, vol. 26, no. 2, pp. 283–292*

[21] *Kraupner, N. et al. (2018): «Selective concentration for ciprofloxacin resistance in Escherichia coli grown in complex aquatic bacterial biofilms». Environ. Int., vol. 116, no. April, pp. 255–268*

[22] *Lundström, S. V. et al. (2016): «Minimal selective concentrations of tetracycline in complex aquatic bacterial biofilms». Sci. Total Environ., vol. 553, pp. 587–595*

[23] *Turnidge, J.; Paterson, D. L. (2007): «Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints». Clin. Microbiol. Rev., vol. 20, no. 3, pp. 391–408*

[24] *Rico, A. et al. (2017): «A probabilistic approach to assess antibiotic resistance development risks in environmental compartments and its application to an intensive aquaculture production scenario». Environ. Pollut., vol. 231, pp. 918–928*

[25] *Salmon, S.A.; Watts, J. L. (1999): «Minimum inhibitory concentration determinations for various antimicrobial agents against 1570 bacterial isolates from turkey poults.». Avian Dis., vol. 44, no. 1, pp. 85–98*

[26] *Watts, J. L. et al. (1994): «A 4-year survey of antimicrobial susceptibility trends for isolates from cattle with bovine respiratory disease in North America». J. Clin. Microbiol., vol. 32, no. 3, pp. 725–731*

[27] *Salmon, S. A. et al. (1995): «Comparison of MICs of ceftiofur and other antimicrobial agents against bacterial pathogens of swine from the United States, Canada, and Denmark». J. Clin. Microbiol., vol. 33, no. 9, pp. 2435–2444*

[28] *Aiello, A. E. et al. (2004): «Relationship between triclosan and susceptibilities of bacteria isolated from hands in the community». Antimicrob. Agents Chemother., vol. 48, no. 8, pp. 2973–2979*

[29] *I. G. (INGO) N. Warn- und Alarmdienst Rhein (WAP) (2010): Abschlussbericht korrespondierender Proben der Wuppermündung, der Brauchwasserentnahme der MTBE-Konzentration nachweisbar. Die in den linksrheinischen Einleitungen von Bayer ursächlichen Zusammenhänge mit der rechtsrheinisch nachgewiesenen MTBE-Welle*

[30] *«Maps of Switzerland – Swiss Confederation – map.geo.admin.ch» [Online]. Available: https://map.geo.admin.ch/?lang=en&topic=gewiss&bgLayer=ch.swisstopo.pixelkarte-grau&layers=ch.bafu.gewaesserschutz-klaeranlagen_anteilq347&layers_opacity=0.75&E=2768162.29&N=1215487.26&zoom=1&catalogNodes=2666,2667,2671. [Accessed: 31-Jan-2019]*

[31] *Le Page, G. et al. (2017): «Integrating human and environmental health in antibiotic risk assessment: A critical analysis of protection goals, species sensitivity and antimicrobial resistance». Environ. Int., vol. 109, no. May, pp. 155–169*

[32] *B. Kurenbach et al. (2015): «Sublethal Exposure to Commercial Formulations of the Herbicides Changes in Antibiotic Susceptibility in Escherichia coli and Salmonella enterica serovar Typhimurium». Mbio. Asm. Org, vol. 6, no. 2, pp. 1–9*

[33] *R. U. S. A. Data, Examiner, P.; Arnold, E. V. (2010): «United States Patent», vol. 2, no. 12*

[34] *Shehata, A. A. et al. (2013): «The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota in vitro». Curr. Microbiol., vol. 66, no. 4, pp. 350–358*

[35] *Nielsen, L. N. et al. (2018): «Glyphosate has limited short-term effects on commensal bacterial community composition in the gut environment due to sufficient aromatic amino acid levels». Environ. Pollut., vol. 233, pp. 364–376*

[36] *Sahlin, S.; Larsson, D. G. J.; Ågerstrand, M. (2018): «Ciprofloxacin EQS data overview». ACES Rep. number 15. Dep. Environ. Sci. Anal. Chem. Stock. Univ.*

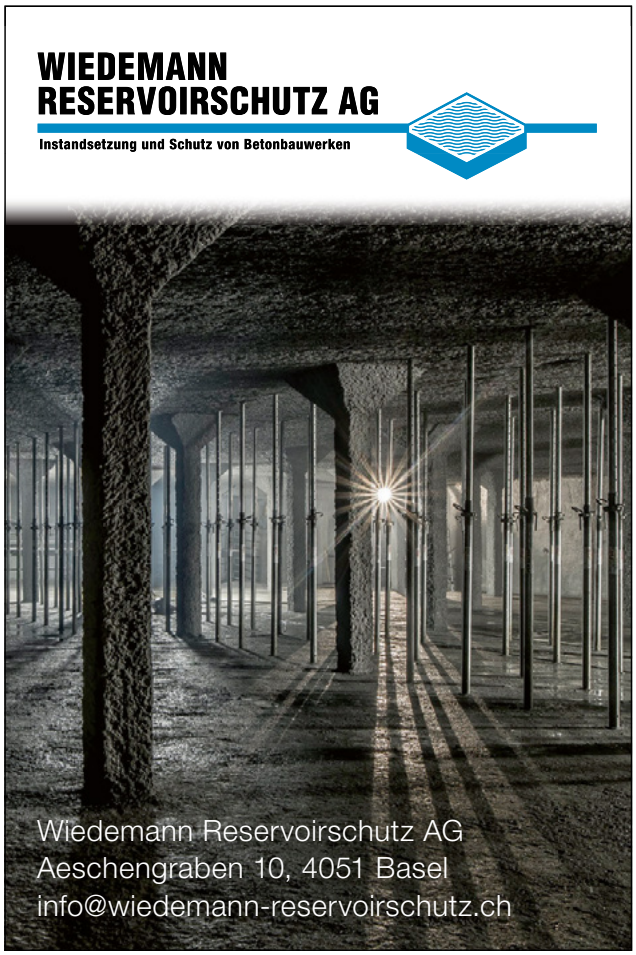
[37] *Suda, K. J. (2014): «Trends and Seasonal Variation in Outpatient Antibiotic Prescription Rates in the United States , 2006 to 2010». Vol. 58, no. 5, pp. 2763–2766*

[38] *Wittmer, I. K. (2011): «Science of the Total Environment Loss rates of urban biocides can exceed those of agricultural pesticides». Sci. Total Environ., vol. 409, no. 5, pp. 920–932*

[39] *McArdell, C. S. et al. (2003): «Occurrence and Fate of Macrolide Antibiotics in Wastewater Treatment Plants and in the Glatt Valley Watershed , Switzerland». Environ. Sci. Technol., vol. 37, no. 24, pp. 5479–5486*

> SUITE DU RÉSUMÉ

définition des critères de qualité environnementale pour les antibiotiques. Des mesures de MSC et MIC pour les bactéries environnementales seraient souhaitables, car à ce jour on ne dispose que de peu de MSC expérimentales. Par ailleurs, les MIC ne sont déterminées que pour les bactéries pertinentes sur le plan clinique.



etertub
Etertub AG
www.etertub.com

hawido
Hawido AG
www.hawido.ch

WOHLGROTH
Wohlgroth AG
www.wohlgroth.ch

Pietro Fiorentini®
Pietro Fiorentini AG
www.fiorentini-ag.ch

Unternehmen der hawlesuisse

Mit der gamma/ XL bekommt die gamma/ X-Baureihe intelligente Verstärkung.
Dank einem höheren Leistungsbereich von bis zu 80 l/h ist sie jetzt einem weitaus grösseren Anwendungsspektrum gewachsen und mit DULCOnneX Extended Connectivity bereit für digitales Fluidmanagement.

Mehr unter **www.prominent.com/dulconnex**

ProMinent Dosiertechnik AG | Regensdorf | 044 870 61 11 | info-CH@prominent.com | www.prominent.ch

ProMinent®