

6

UNTERSUCHUNGEN ZUM VORKOMMEN VON ANTIBIOTIKARESISTENZEN IM RHEINEINZUGSGEBIET

Claudia Stange, Andreas Tiehm

TZW: DVGW-Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe

6.1 Hintergrund

Die Entdeckung antibiotisch wirksamer Substanzen sowie deren industrielle Herstellung in großem Umfang revolutionierte die Behandlung von Infektionskrankheiten. Die zunehmende Anwendung von Antibiotika in der Human- und Veterinärmedizin führte aber in den letzten Jahren zu einer besorgniserregenden Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen im medizinischen Bereich. Oftmals zeigen Antibiotika keinen therapeutischen Effekt mehr, da die Krankheitserreger resistent geworden sind. Die World Health Organisation beschreibt das Auftreten und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen als globales Problem mit dem die Menschheit in Zukunft in verstärktem Maße konfrontiert sein wird (WHO, 2014).

Antibiotika sind Wirkstoffe, die das Wachstum von Bakterien hemmen bzw. diese abtöten. Es handelt sich hierbei um eine heterogene Gruppe von Chemikalien. Grundsätzlich unterscheiden sich die verschiedenen Substanzen in ihren Wirkungsmechanismen und dem Spektrum der Erreger, gegen die sie wirksam sind. Greift ein Antibiotikum so in den Bakterienstoffwechsel ein, dass das Bakterium nicht getötet aber in seiner Vermehrung gehindert wird, bezeichnet man das als bakteriostatische Wirkung. Andere Antibiotika zerstören die Erreger und wirken damit bakterizid. Antibiotisch wirkende Substanzen besitzen unterschiedliche Angriffsorte und Wirkungsweisen, wie z. B. die bakterielle Protein-, Folsäure- oder Peptidoglycan-Synthese. So unterschiedlich wie die Wirkungsmechanismen sind auch die Wirkungsspektren der Antibiotika. Ist eine Substanz nur gegen einzelne bzw. ganz bestimmte Erreger wirksam, wird sie als Schmalspektrum-Antibiotikum bezeichnet, wirkt sie hingegen gegen viele verschiedene Erreger, handelt es sich um ein Breitspektrum-Antibiotikum (Schröder et al., 2003).

Als antibiotikaresistente Bakterien werden solche Bakterien bezeichnet, die auf ein Antibiotikum oder mehrere Antibiotika nicht sensibel reagieren, d. h. gegenüber der Wirkung dieser Stoffe resistent sind. Ihr Wachstum wird durch das Antibiotikum also nicht mehr gehemmt. Die bakterielle Resistenz gegen Antibiotika kann durch unterschiedliche molekulare Mechanismen ausgelöst werden. Durch mutierte Porine oder Pumpen kann es zu einer verminderten oder keiner Aufnahme des Wirkstoffes kommen. Andere Resistenzmechanismen beruhen auf einer Veränderung der Zielstruktur. Diese kann so modifiziert werden, dass der Wirkstoff nicht mehr binden kann. Durch Schutzproteine kann die Zielstruktur für den Wirkstoff unzugänglich gemacht werden. Durch eine erhöhte Expression der Ziel-

struktur ist es möglich, die Wirkung des Antibiotikums zu kompensieren. Des Weiteren können Bypass-Mechanismen helfen den gestörten Vorgang zu umgehen.

Die Grundlage der Antibiotikaresistenz wird durch Resistenzgene gelegt. Antibiotika-resistenzgene sind der Bereich der Erbsubstanz (DNA), auf der die Eigenschaft zur Antibiotikaresistenz lokalisiert ist. Bestimmte Erreger können eine Vielzahl verschiedener Resistenzgene besitzen. Die Gesamtheit aller Antibiotika-resistenzgene eines Erregers wird als Resistom bezeichnet.

Antibiotika werden sowohl in der Human- als auch Tiermedizin seit Jahrzehnten eingesetzt. In der Humanmedizin nehmen Antibiotika seit vielen Jahren eine Spitzenposition unter den verordnungstärksten Wirkstoffgruppen ein. Ein aktueller Bericht schätzt den deutschen Antibiotikaverbrauch in der Humanmedizin auf insgesamt 700-800 t pro Jahr, wobei rund 85% auf Verordnungen im ambulanten Bereich entfallen (GERMAP, 2015). Die erste Stelle nehmen hierbei die β -Lactam-Antibiotika ein, gefolgt von lokal angewendeten Antibiotika, Tetracyclinen und Makroliden (GERMAP, 2015). In den letzten 10 Jahren hat sich das Verordnungsvolumen bei den β -Lactamen mit erweitertem Spektrum (Oralcephalosporine, Aminopenicillin/ β -Laktamase-Inhibitor-Kombinationen und Flucloxacilin) mehr als verdoppelt. Schon lange ist die Humanmedizin nicht mehr das einzige Anwendungsgebiet für Antibiotika. Antibiotika finden auch in der Veterinärmedizin vielfältige Anwendung. Sie werden kranken Tieren zu therapeutischen Zwecken verabreicht, aber auch zur Prophylaxe, wenn beispielsweise Tiere aus verschiedenen Ställen zusammengestellt werden sollen und die Gefahr von Krankheitseinschleppung durch einzelne Tiere besteht. Den Tieren wird das Antibiotikum ins Futter gemischt oder gespritzt. Bundesweite Daten zu den Abgabemengen von Antibiotika an Tierärzte werden seit 2011 erfasst. Die Auswertung der Daten für 2014 ergab, dass 1.238 t Antibiotika (Grundsubstanz) an Tierärzte abgegeben wurden (GERMAP, 2015). Die am häufigsten abgegebenen Wirkstoffe waren: Tetracycline, Aminopenicilline, Sulfonamide und Makrolide.

Antibiotika greifen die Zellen der Mikroorganismen gezielt an ganz bestimmten Wirkungsarten an bzw. behindern spezifische Stoffwechselschritte. Die Bildung von Resistenzen ist ein natürlicher Effekt der Evolution. Durch geringfügige Mutation (Veränderung) des Wirkungsortes oder des Stoffwechselweges, ist es dem Keim daher möglich dem Angriff der Antibiotika zu entgehen und zu überleben. So gibt es natürliche Resistenzen, die dazu führen, dass ein Antibiotikum gegen

eine bestimmte Bakterienspezies nicht wirkt und daher nicht eingesetzt wird. Darüber hinaus entwickeln sich Resistenzen insbesondere dort, wo Antibiotika eingesetzt werden, da sie dort einen Selektionsvorteil haben (UBA, 2018). Hierbei können die Bakterien eine Resistenz durch Mutation sowie durch Gentransfer von resistenten Bakterien erwerben. Der horizontale Gentransfer ist mit hoher Wahrscheinlichkeit ein wesentlicher Faktor für die gegenwärtige Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen bei klinisch relevanten Keimen verantwortlich (Lerminiaux und Cameron, 2019), aber auch generell ein zentrales Element in der Evolution von bakteriellen Mikroorganismen. Ein solcher Gentransfer kann über drei Mechanismen ablaufen (siehe Abbildung 6.1).

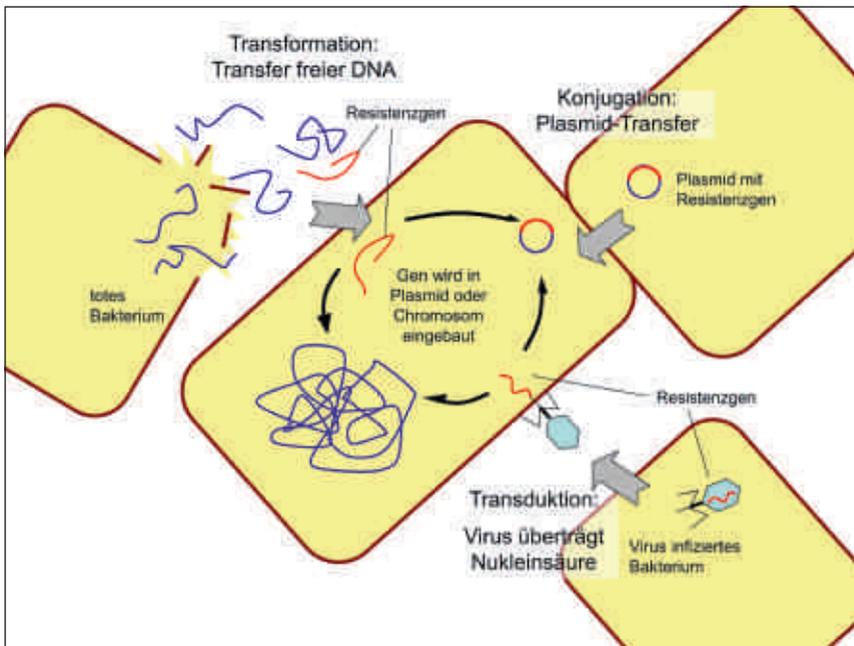


Bild 6.1: Resistenzübertragung zwischen Bakterien (nach Levy, 1998)

Bakterien können genetische Information durch Aufnahme von Fremd-DNA z. B. aus freigesetzter DNA von toten Bakterien aufnehmen und in ihr Erbgut integrieren. Dieser wird Transformation genannt. Der zweite Mechanismus wird als Konjugation bezeichnet. Hier werden genetisch mobile Elemente über Zellstrukturen direkt zwischen den Bakterien weitergegeben. Die Transduktion ist der drit-

te Mechanismus, über den ein horizontaler Gentransfer möglich ist. Dabei spielen Phagen eine wesentliche Rolle. Teile des Erbguts von einer Phage befallenen Bakterienzelle werden in das Erbgut des Phagen integriert und anschließend bei einer erneuten Infektion einer Bakterienzelle dort in das Erbgut integriert.

Aus wissenschaftlicher Sicht besteht kein Zweifel, dass der intensive Antibiotikaeinsatz die Hauptursache für das zunehmende Auftreten resistenter Bakterien darstellt.

Antibiotika und antibiotikaresistente Bakterien werden über die Ausscheidungen von Mensch und Tier und durch unsachgemäße Entsorgung in die Umwelt eingetragen. Die Tatsache, dass z.T. bis zu 90 % des eingenommenen Antibiotikums unverändert wieder ausgeschieden wird, macht die Problematik deutlich. Die ausgeschiedenen Antibiotika, deren Metabolite und die antibiotikaresistenten Bakterien gelangen über den Abwasserpfad in die Kläranlagen. Dort werden sie während der Abwasserreinigung jedoch nicht vollständig entfernt und erreichen so die Oberflächengewässer (Berendonk et al., 2015; Alexander et al., 2016). Auch Veterinärpharmaka und resistenten Bakterien werden durch tierische Exkremente oder Gülle auf Felder ausgetragen und führen zu einer zusätzlichen Belastung von Böden und auch Gewässern (Stoob et al., 2005).

Die Zusammenhänge der Entstehung und Verbreitung von Antibiotikaresistenzen sind sehr komplex und werden von vielen Faktoren beeinflusst (Berendonk et al., 2015). Die Ausbreitung von Resistenzgenen kann durch Vermehrung der resistenten Bakterien (vertikaler Gentransfer von den „Eltern zu den Nachkommen“) aber auch durch horizontalen Gentransfer erfolgen. Im Gegensatz zu höheren Lebewesen können Mikroorganismen Teile ihres genetischen Materials auch über Art- und Gattungsgrenzen hinweg austauschen. Diese horizontale Resistenzübertragung ist für die Ausbreitung besonders wichtig, da ein Austausch zwischen pathogenen und nicht-pathogenen Organismen erfolgen kann.

Das Auftreten von Antibiotikaresistenzen in der Umwelt wird auch von der Wasserversorgung mit Besorgnis gesehen. Daher befasst sich das TZW bereits seit mehreren Jahren mit dem Auftreten von antibiotikaresistenten Bakterien und Antibiotikaresistenzgenen in der aquatischen Umwelt sowie ihrer Elimination bei der Trinkwasseraufbereitung (z. B. Tiehm et al., 2009; Stoll et al., 2012; Stange et al. 2016, 2017, 2018 und 2019).

6.2 Nachweisverfahren

Traditionell werden Antibiotikaresistenzen durch Kultivierung auf sogenannten Selektivmedien, denen Antibiotika zugesetzt wurden, nachgewiesen. Bakterien, die auf diesen Selektivmedien wachsen können, sind offensichtlich resistent.

Am TZW werden selektive Chrom-Agar-Platten eingesetzt, die den Nachweis der drei häufigsten nosokomialen multiresistenten Infektionserregergruppen – Extended Spectrum β -Laktamase (ESBL)-bildende Enterobakterien (*E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas* und *Acinetobacter*), Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) und Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) – ermöglichen. Die Ergebnisse der ersten Untersuchungen zeigten, dass die Chrom-Agar-Platten nicht ausreichend selektiv sind. Aus diesem Grund wurde das Vorgehen für den Kulturnachweis von antibiotikaresistenten Bakterien angepasst. Zusätzlich dienen weitere Tests (z. B. Überführung auf andere Medien, Oxidasetest, MALDI-TOF-MS-Analyse) der Absicherung der Ergebnisse.



Bild 6.2: Wachstum (A) eines ESBL-bildenden *E. coli*-Isolates, (B) eines ESBL-bildenden *Klebsiella pneumoniae*-Isolates und (C) von resistenten Bakterien aus dem Ablauf einer Kläranlage auf selektiven CHROM-Agar-Platten.

Die Antibiotikaresistenzmuster von Bakterienisolaten werden häufig mit dem Plättchen-Diffusionstest ermittelt (DIN 58940-3). Auf einem Nährmedium wird eine Zellsuspension des zu testenden Isolates ausgestrichen und Plättchen mit verschiedenen Antibiotika definierter Konzentration aufgelegt. Nach Bebrütung werden Hemmhöfe um die Plättchen mit Antibiotika sichtbar, gegen die das Isolat empfindlich ist. Der Durchmesser des Hemmhofes wird zur Bewertung herangezogen und anhand von Referenzdaten erfolgt eine Einteilung in die Kategorien empfindlich, intermediär und resistent.



Bild 6.3: Bestimmung von Antibiotikaresistenzen mit Hilfe des Plättchen-Diffusionstests

Der Nachweis von Antibiotikaresistenzgenen in der Umwelt erfolgt durch molekularbiologische Methoden. Bei diesem kultivierungsunabhängigen Verfahren werden die Bakterien zunächst auf einem Membranfilter angereichert, aus dem im Anschluss die bakterielle DNA extrahiert wird. Mit Hilfe der Polymerase-Ketten-Reaktion (Polymerase chain reaction, PCR) lässt sich die DNA aller in der Probe enthaltenen Bakterien empfindlich auf das Vorkommen bestimmter Sequenzen wie z. B. Antibiotikaresistenzgene untersuchen. Mit den PCR-basierenden Nachweisverfahren lassen sich große Probenzahlen in relativ kurzer Zeit untersuchen. Daher sind sie für ein Monitoring besonders gut geeignet.

Die PCR ist eine *in vitro* Technik, mit der gezielt DNA-Abschnitte, die von zwei bekannten DNA-Sequenzen flankiert werden, vervielfältigt werden können. Sie stellt

ein zyklisches Verfahren dar, bei dem die Anzahl der DNA-Kopien in jeder Runde verdoppelt wird. Um die DNA mit Hilfe der PCR amplifizieren zu können, benötigt man zwei Oligonukleotide, sogenannte Primer, die gegenläufig an den komplementären DNA-Strang mit bekannter Sequenz binden. In jedem PCR-Zyklus werden die Schritte Denaturierung (Trennung der doppelsträngigen DNA durch Erhitzen), Annealing (Anlagerung der Primer an die komplementären Sequenzen) und Extension (Verlängerung der Primer durch das Enzym DNA-Polymerase) durchlaufen. Insgesamt kann die Reaktion 30 bis 40 Zyklen lang bei exponentieller Zunahme der DNA-Menge fortgesetzt werden. Um eine Quantifizierung der zu untersuchenden Amplikons zu ermöglichen, wurde die Methode der real-time bzw. quantitativen PCR (qPCR) entwickelt. Die qPCR ist eine Vervielfältigungsmethode für Nukleinsäuren, die auf dem Prinzip der herkömmlichen PCR beruht. Die Quantifizierung wird mit Hilfe von Fluoreszenz-Messungen am Ende bzw. während eines PCR-Zyklus durchgeführt. Die Fluoreszenz nimmt proportional mit der Menge der PCR-Produkte zu, was eine Quantifizierung ermöglicht. Die einfachste Möglichkeit der Quantifizierung der PCR-Produkte ist die Nutzung von DNA-Farbstoffen (z. B. SYBR® Green I). Die Fluoreszenzfarbstoffe lagern sich in die DNA ein bzw. binden an die doppelsträngige DNA, wodurch die Fluoreszenz dieser Farbstoffe ansteigt.

Beim PCR-Nachweis wird nicht nur die DNA der selektiv im Kulturverfahren nachweisbaren Bakterien (wie z.B. ESBL-produzierende Bakterien, VRE und MRSA) sondern die Gesamtheit der Bakterien erfasst. Auf diese Weise ist eine Beurteilung der Gesamtbiomasse möglich.

Im Rahmen verschiedener Untersuchungen wurden Wasserproben auf folgende Antibiotikaresistenzgene analysiert:

- Sufonamid-Resistenzgen sul1
- Makrolid-Resistenzgen ermB
- β -Laktamase blaTEM
- β -Laktamase blaCMY-2
- β -Laktamase blaCTX-M-32
- Carbapenemase blaKPC-3 (Reserveantibiotika)
- Tetracyclin-Resistenzgen tet(M)
- Vancomycin-Resistenzgen vanA
- Methicillin-Resistenzgen mecA
- Colistin-Resistenzgen mcr-1 (Reserveantibiotikum)

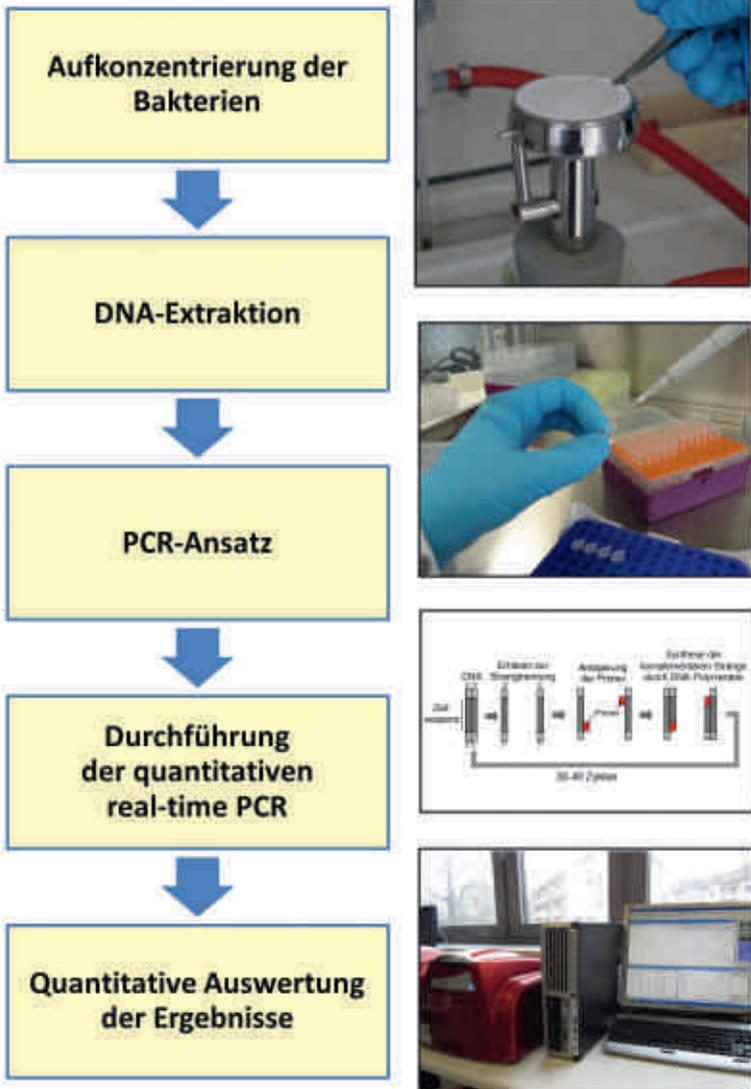


Bild 6.4: Ablauf der Untersuchungen zum Nachweis von Antibiotikaresistenzgenen

6.3 Exemplarische Untersuchungsergebnisse

Am TZW wurden Wasserproben von sieben Wasserversorgungsunternehmen auf das Vorkommen von antibiotikaresistenten Bakterien und Antibiotikaresistenzgenen untersucht. Diese exemplarischen Untersuchungen zeigen, dass die aufbereiteten Trinkwässer (n=9) nicht mit klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien und Antibiotikaresistenzgenen belastet sind. In einer Einzelprobe wurde das Sulfonamid-Resistenzgen *sul1* nachgewiesen. Dieses Gen kodiert für eine Resistenz-vermittelnde Dihydropteroatsynthase und ist im Allgemeinen mit Integrons der Klasse I assoziiert (Sköld, 2000). Klasse-I-Integrons zählen zu den mobilen genetischen Elementen und sind gute Indikatoren für einen horizontalen Gentransfer. Frühere Studien haben gezeigt, dass das *sul1*-Gen eines der häufigsten Antibiotikaresistenzgene in der Umwelt ist (Stoll et al., 2012; Jiang et al., 2013; Bergeron et al., 2015; Xiong et al., 2015; Sabri et al., 2019).

Neben den Trinkwasserproben wurden auch 25 Rohwasserproben untersucht. Bei den Rohwässern handelt es sich um Grundwasser, Uferfiltrat, Oberflächenwasser nach Bodenpassage oder eine Mischung aus Grundwasser und versickertem Oberflächenwasser. Auch in diesen Proben konnten keine antibiotikaresistenten Bakterien nachgewiesen werden. Hinsichtlich der Antibiotikaresistenzgene wurden das Sulfonamid-Resistenzgen *sul1* und das Makrolid-Resistenzgen *ermB* in drei bzw. zwei Proben nachgewiesen. Ähnlich wie das Sulfonamid-Resistenzgen ist auch das Resistenzgen, das eine Resistenz gegen Makrolide, Lincosamide und Streptogramin B vermittelt, sehr weit in der Umwelt verbreitet (Stoll et al., 2012; Rodriguez-Mozaz et al., 2015).

Im Gegensatz zu den Trink- und Rohwasserproben, belegen Untersuchungen von Wasserproben aus dem Rhein das Vorkommen von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien und Antibiotikaresistenzgenen. Zwar konnten keine Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Bakterien nachgewiesen werden, ESBL-bildende Enterobakterien und Vancomycin-resistente Enterokokken wurden hingegen häufig detektiert (siehe Tabelle 6.1).

Tabelle 6.1: Vorkommen von antibiotikaresistenten Bakterien im Rhein (n=16)

Bakteriengruppe	Anteil an Positivbefunden	Konzentrationsbereich
ESBL-bildende <i>E. coli</i>	68,8%	0-20 KBE/100 mL
ESBL- bildende <i>Klebsiella</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp. und <i>Citrobacter</i> sp.	62,5%	0-70 KBE/100 mL
Vancomycin-resistente Enterokokken	18,8%	0-9 KBE/100 mL
Methicillin-resistente <i>Staphylococcus aureus</i>	0,0%	-

KBE = Kolonie-bildende Einheiten

Die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen zeigen, dass neben den antibiotikaresistenten Bakterien auch ein Spektrum an Antibiotikaresistenzgenen im Rhein nachweisbar ist (siehe Tabelle 6.2).

Tabelle 6.2: Vorkommen von Antibiotikaresistenzgenen im Rhein (n=18)

Bakteriengruppe	Anteil an Positivbefunden	Maximale Genkopienzahl
<i>sul1</i>	94,4%	$2,9 \cdot 10^5$ Genkopien/mL
<i>ermB</i>	61,4%	$2,4 \cdot 10^4$ Genkopien/mL
<i>bla</i> _{TEM}	22,2%	$1,1 \cdot 10^2$ Genkopien/mL
<i>bla</i> _{CMY-2}	22,2%	$1,7 \cdot 10^2$ Genkopien/mL
<i>bla</i> _{CTX-M-32}	0,0%	-
<i>bla</i> _{KPC-3}	0,0%	-
<i>tet(M)</i>	0,0%	-
<i>vanA</i>	0,0%	-
<i>mecA</i>	0,0%	-
<i>mcr-1</i>	0,0%	-

6.4 Fazit

Insgesamt belegen die Ergebnisse die weite Verbreitung von resistenten Krankheitserregern und Antibiotikaresistenzgenen, vorwiegend in Oberflächengewässern. Regularien wie die Wasserrahmenrichtlinie (Water Framework Directive 2000/60/EC) fordern einen guten biologischen und chemischen Status von Wasserkörpern mit Bezug auf spezifische Umweltqualitätsstandards. Antibiotikaresistenzdeterminanten sind in nationalen und internationalen Regularien für

Gewässer und auch Trinkwasser derzeit noch nicht enthalten. Standardisierte Überwachungsstrategien für Antibiotikaresistenzen mit klinischer Relevanz in der aquatischen Umwelt werden der allgemeinen Gesundheitsvorsorge empfohlen (DWA-Fachausschuss, 2018). Auch zur Sicherung der guten Rohwasserqualität ist die Aufnahme kontinuierlicher Zeitreihen dringend erforderlich.

Um gezielt die Ausbreitung von antibiotikaresistenten Bakterien und deren Antibiotika-resistenzgene zu kontrollieren und Ausbreitungswege zu überwachen, müssen kulturbasierte und molekularbiologische Nachweisverfahren für den Umweltbereich definiert werden (Exner und Schwartz, 2015). Ein Augenmerk bei der Definition der Verfahren muss ihre Kompatibilität mit klinischen Daten sein. Nur durch die Festlegung von Nachweisverfahren für antibiotikaresistente Bakterien und Resistenzgene und Indikatoren für den Umweltbereich ist es möglich, eine Vergleichbarkeit von Studien zu erreichen. Ein erster Schritt zur Definition solcher Verfahren wurde im Rahmen des BMBF-geförderten Projektes HyReKA gemacht.

Aufbauend auf diesen Methoden ist eine Weiterentwicklung sinnvoll, um den tatsächlichen Grad an Belastung für die Trinkwassergewinnung besser erfassen zu können. Die derzeitigen Kulturverfahren geben Aufschluss über das Auftreten von Krankheitserregern, die sich durch eine klinisch relevante Antibiotikaresistenz auszeichnen. Diese Methoden nutzen nährstoffreiche Medien. Verfahren für den Nachweis von oligotrophen Bakterien, die unter nährstoffarmen Bedingungen wachsen und häufig in Rohwasser von hoher Relevanz sind, sind bislang noch nicht verfügbar. Die molekularbiologischen PCR-Methoden basieren auf dem Nachweis kurzer DNA-Fragmente, die nur Teilbereiche der Antibiotikaresistenzgene erfassen. Die Wasseraufbereitung – insbesondere die reaktiven Verfahrensschritte – können u. a. zu einer Schädigung der DNA führen. Da diese Schäden mit den bislang genutzten Methoden kaum erfasst werden, ist eine Überbewertung der Belastungssituation wahrscheinlich. Solche falsch-positiven Befunde gilt es im Sinne der deutschen Wasserversorgung in jedem Fall zu vermeiden. Mit verbesserten methodischen Nachweisen könnte die Datenbasis in Bezug auf das Vorkommen von Antibiotikaresistenzen im Rohwasser und ihrem Verhalten bei der Trinkwasseraufbereitung deutlich ausgebaut werden, und so Unsicherheiten in einem kritischen Umfeld von belastbaren wissenschaftlichen Erkenntnissen abgelöst werden.

In Hinblick auf den Trinkwasserpfad ist das Expositionsrisiko gegenüber resistenten Krankheitserregern praktisch ohne Bedeutung, da in Deutschland das Trinkwasser unter Einhaltung der allgemein anerkannten Regeln der Technik aufbereitet und überwacht wird.

Generell ist der große Nutzen von Antibiotika bei der therapeutischen Behandlung von Mensch und Tier unbestritten. Im Sinne des Ressourcen- und Gesundheitsschutzes sollte die Anwendung von Antibiotika in allen Bereichen auf das medizinisch sinnvolle Maß reduziert werden. Auf Basis erweiterter Monitoringprogramme können Verbreitungspfade für Antibiotika-Resistenzen besser beurteilt und gezielte Maßnahmen zur Reduktion des Austrages in die Umwelt (im Sinne eines ganzheitlichen One Health-Ansatzes) getroffen werden.

6.5 Danksagung

Wir danken dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für die Förderung des Forschungsprojektes HyReKA (FKZ 02WRS1377G), dem Deutschen Verein des Gas- und Wasserfaches (DVGW) für die Förderung des Projektes EVA (W 201830) und den Kollegen, die an der Bearbeitung und Durchführung der Forschungsprojekte mitwirken, insbesondere Carolin Schweikart und Carmen Kraffert.

6.6 Literatur

- Alexander J., G. Knopp, A. Dötsch, A. Wieland, T. Schwartz. 2016. Ozone treatment of conditioned wastewater selects antibiotic resistance genes, opportunistic bacteria, and induce strong population shifts. *Science of the Total Environment* 559: 103-112.
- Berendonk T.U., C.M. Manaia, C. Merlin, D. Fatta-Kassinos, E. Cytryn, F. Walsh, H. Bürgmann, H. Sorum, M. Norström, M.-N. Pons, N. Kruezing, P. Huovinen, S. Stefani, T. Schwartz, V. Kisand, F. Baquero, J.L. Martinez. 2015. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature Review Microbiology*, 13(5): 310-317.
- Bergeron S., R. Boopathy, N. Rajkumar, A. Corbin, G. LaFleur. 2015. Presence of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in raw source water and treated drinking water. *International Biodeterioration and Biodegradation* 102: 370-374.

- DIN 58940-3. 2007. Medical microbiology – Susceptibility testing of microbial pathogens to antimicrobial agents, Part 3- Agar diffusion test.
- DWA-Fachausschuss KA-8. 2018. Antibiotika und antibiotikaresistente Bakterien und Gene im Wasserkreislauf – Arbeitsbericht des DWA-Fachausschusses KA-8. KA Korrespondenz Abwasser Abfall 6: 545-550.
- Exner M., T. Schwartz. 2015. RiSKWa-Statuspapier: Bewertungskonzepte der Mikrobiologie mit den Schwerpunkten neue Krankheitserreger und Antibiotikaresistenzen, Ergebnisse des Querschnittsthemas "Bewertungskonzepte der Mikrobiologie, Hrsg. Dechema e.V.
- GERMAP. 2015. Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch: Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland. Antinfectives Intelligence Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH, Rheinbach.
- Jiang L., X. Hu, T. Xu, H. Zhang, D. Sheng, D. Yin., 2013. Prevalence of antibiotic resistance genes and their relationship with antibiotics in the Huangpu River and the drinking water sources, Shanghai, China. *Science of the Total Environment* 458-460: 267-272.
- Lerminiaux N.A., A.D.S Cameron. 2019. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in clinical environments. *Can. J. Microbiol.* 65(1): 33-44.
- Levy S. B. 1998. Antimicrobial resistance: bacteria on the defence. *BMJ* 317: 612-613.
- Rodriguez-Mozaz S., S. Chamorro, E.Marti, B.Huerta, M. Grosa, A.Sánchez-Melsió, C.M. Borrego, D. Barceló, J.L. Balcázar. 2015. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Research* 69: 234-242.
- Sabri N.A., H. Schmitt, B. Van der Zaan, H.W. Geritsen, T. Zuidema, H.H.M. Rijnaarts, A.A.M. Langenhoff. 2019. Prevalence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a wastewater effluent-receiving river in the Netherlands. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. In Press. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.03.004>.

Schröder H. et al. 2003, Solange sie noch wirken... Gesundheit und Gesellschaft Wissenschaft, 2(3): 7-16.

Sköld O. 2000. Sulfonamide resistance: Mechanisms and trends. Drug Resistance Updates 3(3): 155-160.

Stange C., A. Tiehm. 2017. Verhalten von Antibiotika-Resistenzgenen bei der Trinkwasseraufbereitung. Veröffentlichungen aus dem Technologiezentrum Wasser Band 76, ISSN 1434-5765.

Stange C., A. Tiehm. 2018. Neueste Erkenntnisse zu Antibiotikaresistenzen im Wasser. In: Impuls zu aktuellen Wasserthemen, Veröffentlichungen aus dem Technologiezentrum Wasser Karlsruhe Band 85: 137-151, ISSN 1434-5765.

Stange C., J.P.S. Sidhu, S. Toze, A. Tiehm A. 2019. Comparative removal of antibiotic resistance genes during chlorination, ozonation, and UV treatment. International Journal of Hygiene and Environmental Health 222: 541-548

Stange C., J.P.S. Sidhu, S. Toze, A. Tiehm. 2016. Antibiotic resistance and virulence genes in coliform water isolates. International Journal of Hygiene and Environmental Health 219(8): 823-831.

Stoll C., J.P.S. Sidhu, S. Toze, A. Tiehm. 2012. Prevalence of clinically relevant antibiotic resistance genes in surface water samples collected from Germany and Australia. Environmental Science and Technology 46: 9716-9726 (2012)

Stoob K., H. Schmitt, M. Wanner. 2005. Antibiotikaeinsatz in der Landwirtschaft – Folgen für die Umwelt. EAWAG news, 59d: 12-15.

Tiehm A., C. Stoll, S. Langer, V. Schumacher, T. Binder, H.-P. Rohns. 2009. Bedeutung von Antibiotikaresistenzen für die Rohwasserqualität: Vorkommen, Transport und natürliche Eliminationsprozesse. Veröffentlichungen aus dem Technologiezentrum Wasser Band 40, ISSN 1434-5765.

Umweltbundesamt (UBA). 2018. Antibiotika und Antibiotikaresistenzen in der Umwelt – Hintergrund, Herausforderungen und Handlungsoptionen. ISSN 2363-829X. <https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/antibiotika-antibiotikaresistenzen-in-der-umwelt>

WHO. 2014. Antimicrobial resistance – Global report on surveillance

Xiong W., Y. Sung, T. Hang, Y. Ding, Y. Li, M. Wang, Z. Zeng. 2015. Antibiotics, antibiotic resistance genes, and bacterial community composition in fresh water aquaculture environment in China. *Microbial Ecology* 70(2): 425-432.