

ANTIBIOTIKARESISTENZEN IM WASSERKREISLAUF

EIN ÜBERBLICK ÜBER DIE SITUATION IN DER SCHWEIZ

Obwohl in der Schweiz vergleichsweise wenig Antibiotika in der Humanmedizin eingesetzt werden und die Verbrauchszahlen in der Veterinärmedizin seit 2008 stetig sinken, werden auch hierzulande Resistenzen in der aquatischen Umwelt beobachtet. Dieser Artikel stellt Fallstudien zur Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in Abwasser und Fließgewässern in der Schweiz und daraus resultierende Risiken vor. Es wird diskutiert, inwiefern neuartige Technologien in der Abwasserbehandlung (Ozonung, Ultrafiltration) diese biologischen Verunreinigungen reduzieren können.

Nadine Czekalski, Eawag

Urs von Gunten, Eawag

Helmut Bürgmann, Eawag*

RÉSUMÉ

RÉSISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES DANS LE CYCLE DE L'EAU - APERÇU DE LA SITUATION EN SUISSE

Les bactéries résistantes aux antibiotiques apparaissent principalement là où les antibiotiques sont utilisés massivement: dans les hôpitaux, les villes, l'agriculture intensive et l'industrie pharmaceutique. A partir de ces sources, les bactéries résistantes pénètrent, avec les antibiotiques et autres impuretés, dans les eaux usées communales, ou même directement dans l'environnement. Bien que la médecine humaine suisse utilise moins d'antibiotiques que celle d'autres pays et que les chiffres de la consommation en médecine vétérinaire baissent constamment depuis 2008, on constate également des résistances dans l'environnement aquatique de notre pays. Les stations d'épuration communales réduisent certes fortement le nombre de bactéries résistantes, mais elles n'en constituent pas moins une source de résistances pour l'environnement. En Suisse, des installations de nettoyage supplémentaires pour l'élimination des micropolluants vont désormais être aménagées d'ici 2040 dans certaines stations d'épuration. L'ozonation et le traitement au charbon actif en poudre sont particulièrement appropriés ici. L'ozonation est également un système de désinfection efficace, et il est probable qu'elle permettra de désactiver également les germes résistants. Des études de

EINLEITUNG

ANTIBIOTIKA - HERKUNFT UND WIRKPRINZIP

Kaum ein anderes Ereignis hat die moderne Medizin so revolutioniert wie die zufällige Entdeckung des Penicillins durch *Alexander Fleming* in den späten 1920er Jahren. Ein Wunder- und Allheilmittel natürlichen Ursprungs, denn ein Schimmelpilz produziert die Substanz, die bakterielle Infektionen erfolgreich bekämpft. Auch viele der später entdeckten Wirkstoffe wurden aus Pilzen oder harmlosen Bodenbakterien isoliert. Noch bevor Penicillin in die medizinische Praxis eingeführt wurde, kamen aber bereits die rein synthetischen Sulfonamide zum Einsatz. Heutzutage sind sowohl natürliche, modifizierte oder halb-synthetische als auch verschiedenste voll-synthetische Antibiotika im Einsatz.

Grundsätzlich beruht die Wirkungsweise von Antibiotika auf der Hemmung von bakteriellen zellulären Prozessen, ohne dabei jedoch dem infizierten Patienten oder Tier zu schaden. Meist töten Antibiotika Bakterien nicht direkt ab, sondern hemmen lediglich ihr Wachstum und ihre Vermehrung. Dadurch wird dem Immunsystem ein Zeitvorteil verschafft, um die Erreger selbst erfolgreich zu bekämpfen.

* Kontakt: helmut.buergmann@eawag.ch

RESISTENZ – DIE ANTWORT AUF MASSIVEN ANTIBIOTIKAEINSATZ

Da es sich bei vielen Antibiotika um natürliche Substanzen handelt, gibt es auch in der Natur weit verbreitete Schutzmechanismen. Zudem macht, wie bei vielen anderen Substanzen auch, die Dosis das Gift: In sehr geringen Konzentrationen fungieren Antibiotika oder Moleküle mit ähnlichen Strukturen vermutlich als Signalmoleküle in der bakteriellen Kommunikation, und manche Resistenzmechanismen haben ihren Ursprung in zellulären Funktionen zur Verarbeitung dieser Signale. Wieder andere basieren auf unspezifischen Schutzfunktionen der Zelle gegen Fremdstoffe. All diese Mechanismen existierten in Umweltbakterien schon lange vor der Entdeckung der Antibiotika durch den Menschen [1]. Neu ist lediglich die rasche Zunahme von Resistenzen in Krankheitserregern während der letzten ca. 70 Jahre – eine Entwicklung, die auf den massiven Einsatz von Antibiotika durch den Menschen zurückzuführen ist. Besonders problematisch ist

dabei die Entstehung von multiresistenten Bakterien (MRB), die gegen mehrere verschiedene Antibiotika Resistenzen erworben haben. Die genetischen Prozesse, welche diese Anpassung von Bakterien unter hohem

selektivem Druck ermöglichen, sind sehr vielfältig und komplex (Fig. 1). Sie umfassen sowohl die Entstehung von Antibiotikaresistenzgenen (ARG) in Krankheitserregern durch Mutation als auch deren Mobilisierung und Austausch zwischen

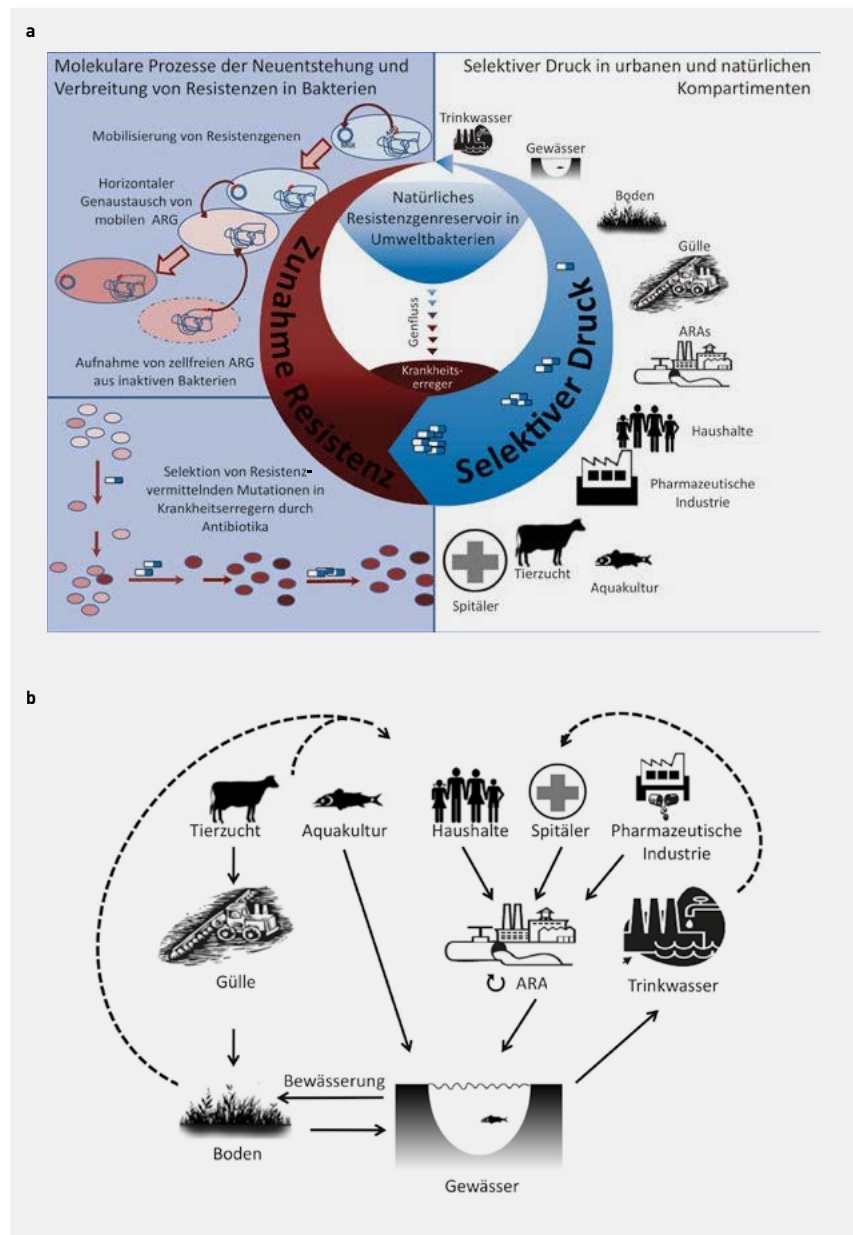


Fig. 1 a) Überblick über molekulare Prozesse in Bakterien, die zur Bildung und Entstehung von Resistenzen beitragen (linke, hellblaue Seite) und durch selektiven Druck durch Antibiotika (unterschiedlich stark in verschiedenen Kompartimenten, rechte Seite) gefördert werden. Der Vorrat an Resistenzgenen in natürlichen Bakteriengemeinschaften ist weitaus grösser als die bis heute in Krankheitserregern nachgewiesenen Resistenzen. b) Bekannte (–) und vermutete (– –) Übertragungsrouten von ARG zwischen verschiedenen Kompartimenten im Wasserkreislauf

a) Aperçu de processus moléculaires dans les bactéries, contribuant à la formation et à l'apparition de résistances (page jaune et bleu clair) et favorisés par la pression sélective d'antibiotiques (d'intensités différentes dans les différents compartiments, à droite). La réserve de gènes de résistance dans les populations naturelles de bactéries est bien plus importante que les résistances identifiées jusqu'ici dans les agents pathogènes.

b) Voies de transmission connues (–) et supposées (– –) de GRA entre différents compartiments du cycle de l'eau

ABKÜRZUNGEN

ARB: antibiotikaresistente Bakterien
Bakterien, die durch Mutationen oder durch Übertragung von Resistenzgenen gegenüber einem Antibiotikum unempfindlich geworden sind.

MRB: multiresistente Bakterien
Erworbene Resistenz gegen mehrere Antibiotika gleichzeitig.

ARG: Antibiotikaresistenzgene
Ein Gen, das die Fähigkeit zur Antibiotikaresistenz vermittelt.

ESBL: Extended Spectrum Betalactamase
Enzymatischer Resistenzmechanismus, der Unempfindlichkeit gegen viele wichtige Antibiotika, z. B. aus der Gruppe der Penicilline und Cephalosporine, vermittelt.

HGT: horizontaler Gentransfer
Übertragung von genetischer Information zwischen Bakterienarten. Bestimmte Strukturen in der Gensubstanz, sogenannte mobile genetische Elemente, z. B. Plasmide, werden besonders leicht übertragen.

verschiedenen Bakteriengruppen durch sogenannten horizontalen Gentransfer (HGT) (vgl. Fig. 1a). Lange Zeit glaubte man, dass diese Prozesse nur dort stattfinden, wo Antibiotika verabreicht werden, also z. B. im Patienten selbst. Inzwischen gibt es zunehmend Hinweise, dass auch niedrige Konzentrationen von Antibiotika, wie sie beispielsweise in Abwasser und Abfällen aus der Landwirtschaft oder in belasteten Oberflächengewässern zu finden sind, selektiv wirken und HGT stimulieren können [2, 3]. Inwieweit ARG aus harmlosen Umweltbakterien die Resistenzentwicklung von Krankheitserregern beeinflussen, lässt sich nach wie vor nur schwer abschätzen (Fig. 1b). Fest steht aber, dass verschiedene Resistenzmechanismen ursprünglich aus Umweltbakterien stammen [4], und dass das Reservoir von potenziellen Resistenzgenen in Umweltbakterien schier unerschöpflich ist. Ebenfalls ist klar, dass es Prozesse gibt, die eine Mobilisierung dieser Gene und deren Verbreitung in menschlichen und tierischen Darmbakterien, oder auch pathogenen Bakterien möglich machen und die durch unseren Umgang mit Antibiotika gefördert werden (Fig. 1a).

GERINGER ANTIBIOTIKAEINSATZ IN DER SCHWEIZ

Der Antibiotikaverbrauch in der Schweiz ist im europäischen Vergleich mit 8,5 täglichen Dosen pro 1000 Einwohner bei der ambulanten Behandlung relativ gering [5]. Allerdings gibt es ausgeprägte regionale Unterschiede: So ist der Pro-Kopf-Verbrauch im südwestlichen Teil höher als im Nordosten [6].

Bei den im Spital verabreichten Antibiotikamengen liegt die Schweiz im europäischen Mittelfeld, wobei der Verbrauch im Tessin am höchsten ist [7]. Auf die Veterinärmedizin entfielen 1997 etwa zwei Drittel des Gesamtverbrauchs der Schweiz (90 t) [8]. Laut *ARCH-Vet*-Bericht [9] sind die Verkaufszahlen in der Tiermedizin zwar rückläufig (2014: ~49 t; 2008: 73 t). Allerdings steigt die Anwendung von Reserveantibiotika der Humanmedizin im veterinärmedizinischen Bereich – als Beispiel wäre etwa der zunehmende Einsatz von Fluorochinolonen in der Hühnermast zu nennen [10]. Ausserdem machen prophylaktische Einsätze von Antibiotika in Futtermischungen noch immer zwei Drittel des Antibiotikaverbrauchs in der Tiermedizin aus [10].

Obwohl die Schweiz im Vergleich zu ihren europäischen Nachbarländern bislang eine geringe Häufigkeit von Infektionen mit MRB aufweist [11, 12], zeigen sich auch hier z. T. besorgniserregende Tendenzen: So sind Resistenzen gegen bedeutsame Antibiotika wie Penicilline und Cephalosporine aller Generationen (durch Beta-Laktamasen mit erweitertem Wirkspektrum [ESBL]) als auch gegen Fluorochinolone bei infektiösen Darmbakterien wie *E. coli* und *Klebsiella pneumoniae* auf dem Vormarsch. Immerhin scheint die Zunahme von Infektionen mit methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) zumindest in den Spitälern durch gutes Hygienemanagement gebrochen [13]. MRSA nimmt jedoch in der Schweinemast deutlich zu, wodurch wiederum die Durchseuchung (Besiedelung ohne Infektion) des in Mastbetrieben arbeitenden Personals mit solchen Erregern ansteigen könnte [9]. Als Reaktion auf die Resistenzentwicklung fordert die Eidgenössische Fachkommission für Biologische Sicherheit (EFBS) für die Schweiz ein Verbot von Antibiotika in der Tierzucht. Ausserdem wurde unter Federführung des Bundesamtes für Gesundheit eine Strategie zur Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen (StAR, 2015) entwickelt und im November 2015 vom Bundesrat verabschiedet.

KLÄRANLAGEN – BARRIEREN ODER HOTSPOTS?

KONVENTIONELLE ABWASSERREINIGUNG

Infolge der Verabreichung von Antibiotika werden sowohl die Substanzen selbst als auch resistente Bakterien von behandelten Personen oder Tieren ausgeschieden. Auch nach der Anwendung verbleiben resistente Bakterien im Darm. Daher sind nicht nur Spitalabwässer und tierische Ausscheidungen aus intensiver Landwirtschaft stetig mit hohen Konzentrationen resistenter Bakterien belastet, sondern auch kommunale Abwässer. Die Reduzierung von MRB und mobilen ARG wurde in einer Studie im Auftrag des BAFU¹ mit 13 Abwasserreinigungsanlagen (ARA) untersucht, welche z. T. Spitäler oder pharmazeutische Industrie im Einzugsgebiet hatten.

EINTRÄGE AUS SPITÄLERN UND PHARMAZEUTISCHER INDUSTRIE

Dass der Anteil von MRB und mobilen ARG im Spitalabwasser sehr viel höher ist als in kommunalem Abwasser, konnte bereits in einer früheren Studie gezeigt werden [9]. Zumeist beträgt der Anteil von Spitalabwasser am gesamten städtischen Abwasservolumen aber weniger als 1% und wird daher meist als vernachlässigbar eingestuft. In unserer aktuellen Studie wurde bei der Untersuchung von 13 Schweizer kommunalen ARA mit einem relativ hohen Spitalabwasseranteil (48–55 Betten pro 1000 Einwohner, n = 3) ein signifikant erhöhter Anteil von Bakterien mit Multiresistenz gegen Sulfametoxazol/Trimetoprim und Tetrazyklin (S/T/T) gefunden. Andere Resistenzparameter zeigten allerdings nicht den gleichen Trend.

Im Gegensatz dazu enthielt reines Industrieabwasser eines Schweizer Standortes (chemische und pharmazeutische Industrie) zwar sehr hohe Anteile an antibiotischen Wirkstoffen (beispielsweise gegen Tuberkulose), jedoch so gut wie keine Bakterien und damit kaum MRB. Auch für kommunale Abwässer mit punktuell hohen Einträgen aus der pharmazeutischen Industrie (n = 2) wurden keine Auffälligkeiten im Hinblick auf MRB und ARG gegenüber rein kommunalen Abwässern festgestellt. Unterschiede ergaben sich aber im Hinblick auf die Auswirkungen der Abwasserreinigung, wie in den folgenden Abschnitten dargelegt wird.

REDUZIERUNG DER MIKROBIELLEN FRACHT

Im Anschluss an die biologische Reinigung wird im Zuge der Nachklärung die gesamte bakterielle Fracht des Abwassers und damit auch die Fracht von MRB und ARG stark (1–3 Zehnerpotenzen) reduziert (Fig. 2a). Kommunale ARA stellen somit in Bezug auf diese Frachten grundsätzlich gute Barrieren zwischen menschlichen Kompartimenten und der aquatischen Umwelt dar. Dennoch können kommunale ARA keine vollständige Elimination erreichen, sodass sie bedeutende Eintragungsquellen von MRB und ARG in natürliche Gewässern darstellen.

Einzig bei der Behandlung des im Zulauf beinahe keimfreien Industrieabwassers wurde nach der Aufbereitung ein Anstieg sowohl der Anzahl der kultivierbaren Bakterien mit S/T/T-Multiresistenz wie auch der Häufigkeit des Sulfonamidresistenzgens *sul1* gemessen. Mit 3000 S/T/T-resistenten Keimen pro ml lag der Ablauf dieser Industrie-ARA dann deutlich über dem Durchschnitt der kommunalen ARA (1–100 Keime pro ml).

¹ Projekt-Fördernummer L361-1927

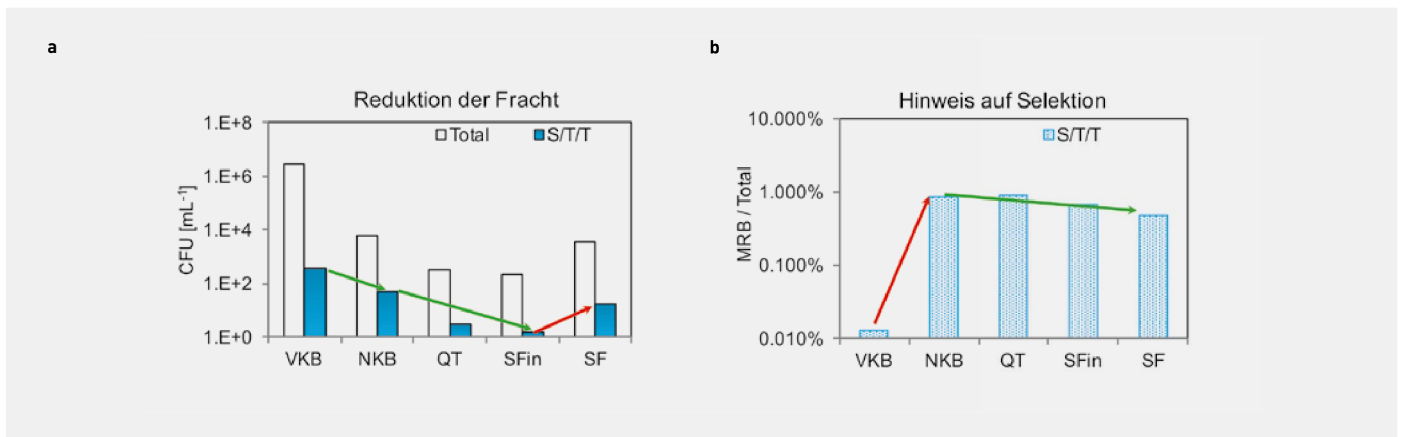


Fig. 2 Auswirkungen verschiedener ARA-Reinigungsstufen am Beispiel der ARA Neugut auf (a) die gesamte bakterielle Fracht (Total, grau), sowie Bakterien mit multipler Resistenz gegen Sulfametoxazol/Trimetoprim/Tetrazyklin (S/T/T, blau) sowie (b) auf Genkopien des Sulfonamidresistenzgens *sul1*.

VKB = Vorklärbecken, NKB = Nachklärbecken, QT = Quelltopf/Ozonreaktor, SFin = Zufluss zum Sandfilter, SF = Abfluss Sandfilter

Effets d'étapes de nettoyage des STEP, avec l'ex. de la STEP Neugut, (a) sur l'ensemble de la population bactérienne (total, gris) et des bactéries à résistance multiple aux sulfaméthoxazole/triméthoprim/tétracycline (S/T/T, bleu), ainsi que (b) sur les copies génétiques du gène de résistance au sulfonamide *sul1*.

VKB = bassin de décantation primaire, NKB = bassin de décantation secondaire, QT = bassin source/réacteur à ozone, SFin = affluent filtre à sable, SF = effluent filtre à sable

SELEKTIVE EFFEKTE

Um abzuschätzen, ob sich die Abwasserreinigung selektiv auf Antibiotikaresistenzen auswirkt, ist von Bedeutung, wie sich die relative Häufigkeit resistenter Bakterien bezogen auf die Grösse der gesamten Bakterienpopulation verändert. Idealerweise sollte der Anteil kleiner werden oder gleich bleiben – denn dies bedeutet, dass resistente Bakterien keinen Überlebensvorteil haben. Dies war bei der Untersuchung von Schweizer ARA ohne Zuläufe von Spitälern oder pharmazeutischer Industrie (7 von 13 ARA) im Hinblick auf ARG mit einer Ausnahme (ARA Neugut, Fig. 2b) der Fall. Auch in Bezug auf MRB wurde in mehr als der Hälfte der Anlagen eine Reduktion der Häufigkeit festgestellt.

Steigt der Anteil resistenter Bakterien jedoch an, deutet dies auf selektive Vorgänge hin, z. B. weil MRB während der biologischen Reinigung Wachstums- oder Überlebensvorteile haben. Dies war beispielsweise bei S/T/T-resistenten Bakterien in 4 der 13 untersuchten ARA der Fall. Wie die ARA Lausanne, für die ein solcher Effekt bereits beschrieben wurde [14], haben zwei dieser ARA Spitälern im Einzugsgebiet und die dritte ARA behandelt neben kommunalen auch antibiotikahaltige Industrieabwässer. Es ist bekannt, dass selbst niedrige Antibiotikakonzentrationen [10, 15] selektive Prozesse begünstigen können. Dabei müssen Resistenzen gegen einen bestimmten Wirkstoff nicht unmittelbar durch diesen selbst selektiert werden. Beispielsweise korrelierte in unserer Studie die relative Häufigkeit des Sulfonamidresistenzgens *sul1* in Abwasserproben mit der Konzentration des Fluorochinolon-Antibiotikums Norfloxacin (Fig. 3). Sogenannte Co- oder Kreuzresistenzen gibt es auch mit anderen Bioziden, wie z. B. Schwermetallen. Zusammengefasst lässt sich also sagen, dass resistente Bakterien in ARA nicht grundsätzlich einen Selektionsvorteil haben, ihr Anteil an der Population nimmt meist eher ab. Die Belastung des Abwassers mit Antibiotika (oder anderen selektiv wirkenden Substanzen, z. B. aus Spital- oder Industrieabwasser) scheint aber durchaus die Persistenz der Resistenzen zu beeinflussen und kann somit die Häufigkeit von Resistenzen im gereinigten Abwasser erhöhen.

BEDEUTUNG DER ARA FÜR DIE VERBREITUNG VON ANTIBIOTIKARESISTENZEN

Trotz dieser Befunde ist die Bedeutung von Kläranlagen als Hotspots für die Entstehung und Vermehrung von jenen Resistenzen, die tatsächlich im medizinischen Bereich Probleme verursachen, nicht vollständig geklärt. Dies hat zum Teil methodische Ursachen: So ist bislang ein direkter Nachweis oder eine Quantifizierung von Gentransferereignissen zwischen Krankheitserregern und Abwasserbakterien nicht möglich gewesen.

Durch die Identifikation multiresistenter Bakterien aus Abwasser ergeben sich immerhin Hinweise auf Gattungen, die durchaus in der Umwelt und auch im menschlichen Umfeld

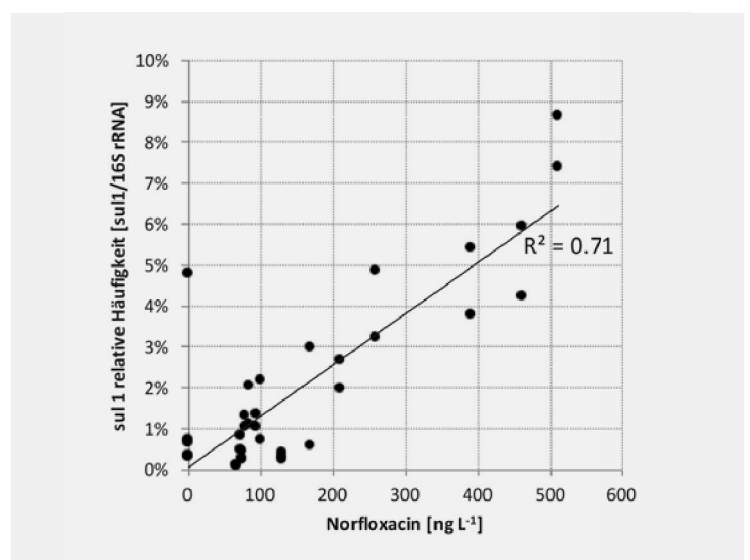


Fig. 3 Korrelation der relativen Häufigkeit des Sulfonamidresistenzgens *sul1* mit der Konzentration von Rückständen des Fluorochinolonantibiotikums Norfloxacin (Hinweis auf Kreuzselektion) in Zu- und Abflüssen von Schweizer ARA
Corrélation entre la fréquence relative du gène de résistance au sulfonamide *sul1* et la concentration de résidus d'antibiotique fluoroquinolone Norfloxacin (signe de sélection croisée) dans les affluents et les effluents des STEP suisses

überlebensfähig sind. S/T/T-resistente Bakterien der Gattung *Chryseobacterium*, die von uns besonders häufig aus dem Ablauf von ARA mit Industrie- oder Spitalwassereintrag (und ARA Neugut) isoliert wurden, kommen beispielsweise in Speisefischen vor [16]. Andere Gattungen sind in Oberflächenwasser, Trinkwasserverteilsystemen (beispielsweise im Universitätsspital Lausanne [17]) und Mineralwasser verbreitet (*Afipia*) [18]. Im Belebtschlamm einer ARA im Tessin wurde ein *Aeromonas media*-Stamm (menschlicher Durchfallerreger) mit mobiler ESBL-Resistenz gefunden, eine Resistenz, die bis anhin nur aus einem klinischen *Alcaligenes faecalis*-Isolat aus Italien bekannt war [19].

Mithilfe der genetischen Untersuchung der Bakterienpopulationen (sogenannte Metagenomik) können hingegen ganz andere Sachverhalte aufgedeckt werden: Eine kürzlich veröffentlichte Studie aus Dänemark wies nach, dass nur 10% der ARG einer Abwasserpopulation mit bekannten Resistenzen von Krankheitserregern übereinstimmen [20]. Dies mag auf den ersten Blick nahelegen, dass ARA doch nicht so bedeutend für die Verbreitung von ARG sind. Andererseits zeigt diese Studie den enormen ARG-Vorrat innerhalb von Abwasserpopulationen auf, die durch Mobilisierung und Übertragung auf Krankheitserreger sehr wohl zu einer Bedrohung werden könnten. Angesichts der Grösse dieses Reservoirs von ARG sind 10% nicht wenig.

Zusammengefasst lässt sich festhalten: Kommunale ARA vermindern die gesamte bakterielle Fracht inklusive MRB und ihre ARG deutlich (90–99%). Hinweise auf selektive Prozesse und eine Anreicherung des gereinigten Abwassers mit MRB wurden vor allem in ARA mit Spital- oder Industrieeintrag beobachtet. Ausserdem wirken Antibiotikarückstände und ggf. andere Mikroverunreinigungen selektiv.

RESISTENZEN IN NATÜRLICHEN GEWÄSSERN

Dass der Eintrag von MRB und ARG aus Kläranlagen in natürlichen Gewässern durchaus Spuren hinterlässt, zeigten Studien der Eawag in der Bucht von Vidy im Genfersee. In einem Umkreis von mehreren 100 m um die Einleitungsstelle des gereinigten Abwassers der ARA Lausanne wurden in Seesedimenten bis zu

200-mal höhere Anteile von verschiedenen Resistenzgenen gemessen als in unbelasteten Sedimenten [21]. Die Befunde lassen vermuten, dass eingeleitete Abwasserbakterien, ggf. auch aus weiteren Eintragungsquellen, in der Wassersäule auch in Richtung der Trinkwasserentnahmestelle bei St. Sulpice transportiert werden. Weitere Studien diskutieren zudem, dass eine Manifestierung von resistenten Bakterien in Seesedimenten durch die mit der Industrialisierung einhergehende Eutrophierung des Genfersees begünstigt wurde [22]. Auch bei unserer Untersuchung über die Häufigkeit von Resistenzgenen in 20 Schweizer Seen wurde festgestellt, dass die Ursachen der z. T. sehr unterschiedlichen Belastung wohl sehr komplexer Natur sind und vermutlich aus einem Zusammenspiel von urbanen Quellen (Kläranlagen und Spitäler im Einzugsgebiet), natürlichen Gegebenheiten (Verweildauer im Seebecken) und anderen menschlichen Einflussfaktoren (z. B. Eutrophierung) resultieren [23]. Auch eine Studie der Universität Zürich zum Vorkommen von Problemkeimen

wie Enterobakterien (menschliche Kommensalen oder Pathogene) mit erweiterter Resistenz gegen β -Laktamantibiotika (ESBL), Fluorchinolone u. a. kam zum Ergebnis, dass diese typischerweise nur in Oberflächengewässern mit starkem anthropogenem Einfluss nachgewiesen werden [24]. Ihre Anwesenheit lässt sich also vermutlich auf die Einleitung kommunaler Abwässer oder Einträge aus intensiver Landwirtschaft zurückführen. Im Rahmen eines von uns an der Eawag durchgeführten Projekts, das die Auswirkungen der Einleitung von Mikroverunreinigungen auf die natürlichen Flussgemeinschaften untersucht, wurde an mindestens acht von zwölf Standorten flussabwärts gegenüber flussaufwärts der Einleitungsstelle ein erhöhter Anteil von Resistenzgenen festgestellt (Fig. 4). Da die erhöhten Werte nicht allein durch Mischung von ARA mit Flusswasser erklärt werden können, liegt die Vermutung nahe, dass flussabwärts auch biologische Vorgänge wie Wachstum, Genaustausch und eine Anpassung der Bakterien an eine chronische Belastung mit Mikrover-

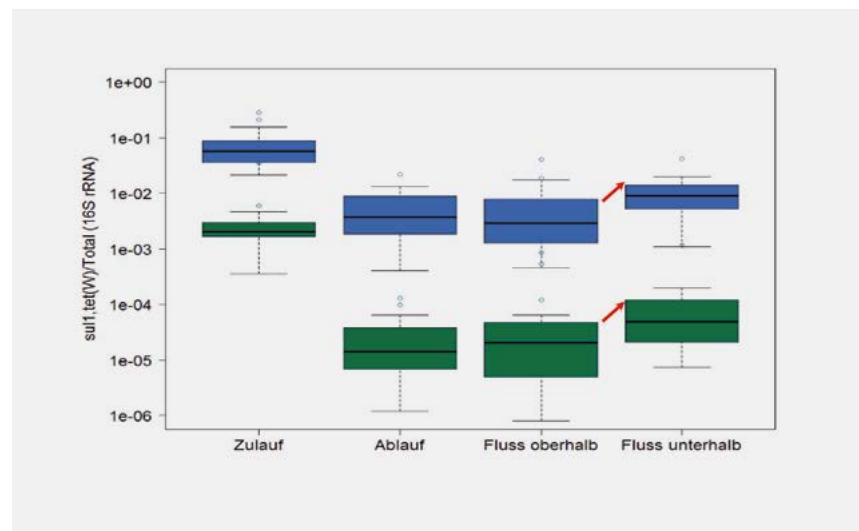


Fig. 4 Relative Häufigkeit der Sulfonamid- und Tetracyclinresistenzgene (normiert auf die Häufigkeit eines ubiquitären bakteriellen Gens für ribosomale RNA) im Zulauf und Ablauf von ARA mit konventioneller Reinigung sowie im Flusswasser ober- und unterhalb der jeweiligen ARA Einleitung (n = 12). Obwohl der Anteil von Resistenzgenen im Zulauf durch konventionelle Reinigung (Ablauf) auf das Niveau im Flusswasser reduziert wird (Fluss oberhalb ARA), steigt der Anteil von Resistenzgenen *sulI* (blau) und *tet(W)* (grün) im Flusswasser nach dem ARA-Eintrag (Fluss unterhalb) an.

Fréquence relative des gènes de résistance au sulfonamide et à la tétracycline (normalisée sur la fréquence d'un gène bactérien ubiquitaire pour ARN ribosomal) dans l'affluent et l'effluent de STEP équipées d'installations de nettoyage conventionnelles, ainsi que dans l'eau fluviale en amont et en aval de l'entrée de ces STEP (n=12). Bien que la proportion de gènes de résistance dans les affluents soit réduite par le nettoyage conventionnel (effluent) au niveau de celle de l'eau fluviale (cours d'eau en amont de la STEP), la proportion de gènes de résistance *sulI* (bleu) et *tet(W)* (vert) augmente dans l'eau fluviale après l'entrée dans la STEP (cours d'eau en aval).

unreinigungen aus der ARA, eine Rolle spielen. In Laborexperimenten mit verschiedenen *Aeromonas*- und *Acinetobacter*-Stämmen konnte vereinzelt eine Resistenzbildung oder verminderte Empfindlichkeit im Zusammenhang mit Antibiotikakonzentrationen beobachtet werden, wie sie in Oberflächengewässern anzutreffen sind [25].

Abgesehen von der Belastung mit eingeleiteten klinisch relevanten Resistenzgenen aus menschlichen und tierischen Abwässern, fungieren Gewässer jedoch auch als natürliche Speicher und Quelle für Resistenzen: Sie besitzen, wie eingangs erwähnt, einen natürlichen Resistenzhintergrund. Dass aus diesem Vorrat tatsächlich Gene auf klinisch relevante pathogene Organismen übertragen werden können, wurde am Beispiel des mobilen Fluorochinolonresistenzgens *qnrA* nachgewiesen, dessen Vorstufe aus dem Süßwasserbakterium *Shewanella algae* stammt [26]. Auch die Isolation eines fischpathogenen multiresistenten *Aeromonas*-Stammes aus dem Luganersee, Träger einer mobilen Fluorochinolon-Resistenz, die normalerweise nur in Enterobakterien anzutreffen ist, oder Funde von ESBL-resistenten *E. coli* und einem fischpathogenen *Aeromonas* in Mägen von Speisefischen aus dem Thuner- und Zürichsee unterstreichen, dass natürliche Gewässer eine tragende Rolle als Verbreitungsorte von eingeleiteten oder natürlichen Resistenzen spielen können [27]. Für den horizontalen Austausch solcher Resistenzen wird beispielsweise Fischhaut als geeignete Oberfläche diskutiert. Es ist also eindeutig belegt, dass Abwasser eine Quelle für den Eintrag von MRB und ARG in natürliche Gewässer darstellt. Sind MRB in der Umwelt überlebensfähig, können sie in ARA-Abläufen ein Reservoir von erworbenen Resistenzen bilden, diese theoretisch gar weiter verbreiten oder ihrerseits zusätzliche ARG aus anderen Umweltbakterien aufnehmen. Noch fehlen eindeutige Belege, dass eingeleitete Resistenzen aus ARA und intensiver Landwirtschaft tatsächlich mittels Genaustausch auf Bakteriengemeinschaften in Oberflächengewässern weitergegeben und über den gesamten Wasserkreislauf transportiert werden können. Auch ist es aktuell schwer abzuschätzen, welche Rolle dieser Prozess für die Verbreitung medizinisch relevanter Resistenzen tatsächlich spielt. Dennoch sprechen die bisherigen Erkenntnisse dafür, dass es gemäss dem Vorsorgeprinzip sinnvoll wäre, die Barrierefunktion von ARA für diese Verunreinigungen zu erhöhen. Durch den Ausbau der ARA mit Prozessen für die Reduktion von Mikroverunreinigungen wird bei Antibiotika bereits eine sehr gute Wirkung erzielt. Daher erscheint es sinnvoll, die Wirksamkeit solcher Prozesse für Verminderung des Austrags von MRB und deren ARG mit dem Abwasser in den kommunalen Kläranlagen genauer zu betrachten.

ERWEITERTE AUSBAUSTUFEN IN KLÄRANLAGEN

OZONUNG

Ozon ist ein starkes Oxidationsmittel, das effizient Mikroverunreinigungen im Abwasser eliminiert. Auch für Antibiotika ist dies gut belegt, so konnte an der Eawag in einer Studie mit 9 Klassen von Antibiotika und 13 verschiedenen Molekülen gezeigt werden, dass bei der Ozonung für typische Ozondosen die antibakterielle Wirkung vollständig eliminiert wird [28]. Ozon wirkt aber auch stark desinfizierend (wesentlich stärker als Chlor) und reagiert besonders gut mit DNA, sodass es unter günstigen Bedingungen nicht nur Bakterienzellen abtötet, sondern auch direkt die Resistenzgene in den Zellen massiv ver-

ändert oder zerstört. Dies ist wünschenswert, da in diesem Fall auch die genetische Information zu Antibiotikaresistenzen nicht mehr an andere Zellen weitergegeben werden kann. Inwiefern sich diese vielversprechenden Ergebnisse aus Laborversuchen (s. *Box*) in die Praxis übertragen lassen, wurde von uns kürzlich auf der ersten Schweizer ARA mit einer Ozonung (ARA Neugut) untersucht.² Bei einer spezifischen Ozondosis von 0,55 g Ozon g DOC⁻¹, die als optimal für eine 80–90%-Eliminierung von Mikroverunreinigungen bestimmt wurde, konnte die Lebendkeimzahl, inklusive MRB gegenüber dem Ablauf der Nachklärbeckens (NKB), um 1,5 log-Stufen zusätzlich reduziert werden (*Fig. 2a, QT*). Die Anzahl kultivierbarer MRB sank dadurch auf rund 1 pro ml. Dies ist sowohl mit den unter Laborbedingungen erzielten Ergebnissen als auch mit denen einer deutschen Studie im Pilotmassstab vergleichbar [29]. Allerdings wurde in der deutschen Studie ein besseres Überleben von antibiotikaresistenten *E. coli*- und *Staphylokokken*-Stämmen gegenüber nicht-resistenten Stämmen beobachtet [29]. Resistente Enterokokken wurden hingegen nicht bevorzugt. Es konnten auf der ARA Neugut keinerlei Hinweise auf ein besseres Überleben von multiresistenten Bakterien während der Ozonung gefunden werden (*Fig. 2b*). Die unterschiedlichen Ergebnisse beider Studien deuten darauf hin, dass die Selektion von Abwasserbakterien bei der Ozonbehandlung von Bakterienart zu Bakterienart stark variieren kann. Hier besteht weiterer Forschungsbedarf, um beispielsweise eine Priorisierung von relevanten Bakterienarten und Resistenzen zur Überwachung vornehmen zu können.

Was die Resistenzgene betrifft, so konnte die erwartete Reduktion durch die Ozonung im Grossmassstab nicht beobachtet werden. Nur bei einer der Messkampagnen wurde die Kopienzahl des *sulI*-Gens (nicht aber des *16S rRNA*-Gens) durch die Ozonung deutlich (um mehr als eine log-Stufe) vermindert, während bei zwei weiteren Kampagnen im Mittel keine signifikante Veränderung gemessen wurde. Es konnten sehr geringe Mengen des *sulI*-Gens im zellfreien (0,2µm-filtrierten) Ablauf der Ozonung nachgewiesen werden. Dies deutet darauf hin, dass ein Teil der Resistenzgene nach Abtötung der Zellen freigesetzt wurde. Diese könnten somit anschliessend von anderen Bakterien erneut in ihr Erbgut eingebaut werden. Die Wahrscheinlichkeit hierfür ist vermutlich gering, und ein Grossteil der DNA wird wahrscheinlich bald abgebaut. Aber auch hier besteht weiterer Forschungsbedarf: Es ist zum Beispiel gut möglich, dass Gene auch vor ihrer vollständigen Zerstörung durch Ozonung geschädigt werden, ihre ursprüngliche Funktion verlieren und somit unschädlich sind. Gerade solche «leichten» durch Ozon verursachten Schäden an der DNA (Mutationen) können aber auch unerwünschte Nebeneffekte haben und sollten langfristig im Auge behalten werden. Beispielsweise könnten durch Ozonung ausgelöste Mutationen theoretisch auch zur Neubildung von Antibiotikaresistenzen oder gar zur Bildung von Resistenzen gegenüber Ozon beitragen.

Die biologische Nachbehandlung nach einer Ozonung dient dazu, labile, möglicherweise toxische Nebenprodukte der Oxidation abzubauen. Zu den abbaubaren Substanzen gehört auch der teilweise neu gebildete assimilierbare organische Kohlenstoff (AOC). Der Abbau der meisten Substanzen erfolgt durch Bakterien in Biofilmen, wodurch es zum Wachstum der Bakterien selbst und schliesslich zum Austrag von Bakterien aus dem Filter kommt. Dies kann auch für MRB zutreffen. Auf der ARA Neugut wird als biologische Nachbehandlung ein Sandfilter verwendet.

LABORSTUDIEN ZUR WIRKUNG VON OZON (O₃) AUF MRB UND ARG

Bei Untersuchungen zur unmittelbaren Wirkung von Ozon auf bakterielle Zellen eines multiresistenten *E. coli*-Laborstammes zeigte sich, dass eine Ozondosis von nur 0,2 mg l⁻¹ (Ozonexposition = 0,12 mg l⁻¹ s) eine Abtötung von 99% (2 log-Stufen) herbeiführen kann. Das ARG *sul1* innerhalb der Bakterienzellen wurde dabei jedoch nicht zerstört.

Weitere Untersuchungen mit *E. coli* in gereinigtem Abwasser ergaben, dass erst nach beinahe vollständiger Abtötung der lebenden Zellen eine Zerstörung von Genen innerhalb der Bakterienzellen messbar wird (Ozonexposition = 0,28 mg l⁻¹ s, spezifische Ozondosis 0,45 g Ozon g DOC⁻¹, Fig. 5). Untersuchungen zum zeitlichen Verlauf zeigten, dass eine Ozonexposition von 5,15 mg Ozon l⁻¹ s für eine nahezu vollständige Zerstörung (4 log-Stufen) des intrazellulären *sul1*-Resistenzgens nötig ist.

Versuche mit einer natürlichen Gemeinschaft von Abwasserbakterien in partikelfreiem gereinigtem Abwasser zeigten, dass deren Abtötung durch Ozon in zwei Phasen verläuft: Zu Beginn werden empfindlichere Arten sehr rasch abgetötet, während resistere Arten höhere Ozonexpositionen respektive mehr Zeit benötigen. Eine Ozonexposition von 3,5 mg l⁻¹ s erreicht eine Abtötung von 99% (2 log-Stufen), während für 99% Zerstörung des intrazellulären *sul1*-Gens mindestens 4,5 mg l⁻¹ s benötigt werden. Diese Ozonexpositionen werden bei der verwendeten spezifischen Ozondosis von 0,6 g Ozon g DOC⁻¹ nach 2,4 s (Abtötung) respektive 3,1 s (Zerstörung des *sul1*-Gens) erreicht. Dies spricht dafür, dass sowohl MRB als auch ARG bei einer Ozonung von Abwasser im Grossmassstab weitgehend eliminiert werden sollten. Weitere Laborversuche ergaben jedoch, dass Partikel und Flocken mit einer Grösse >10 µm im Abwasser Bakterien teilweise vom Einfluss des Ozons abschirmen. Es konnte in Anwesenheit von Flocken keine eindeutige Tendenz für eine Zerstörung von ARG mit höheren Ozondosen ermittelt werden, und es traten auch noch vereinzelt wachstumsfähige resistente Zellen auf.

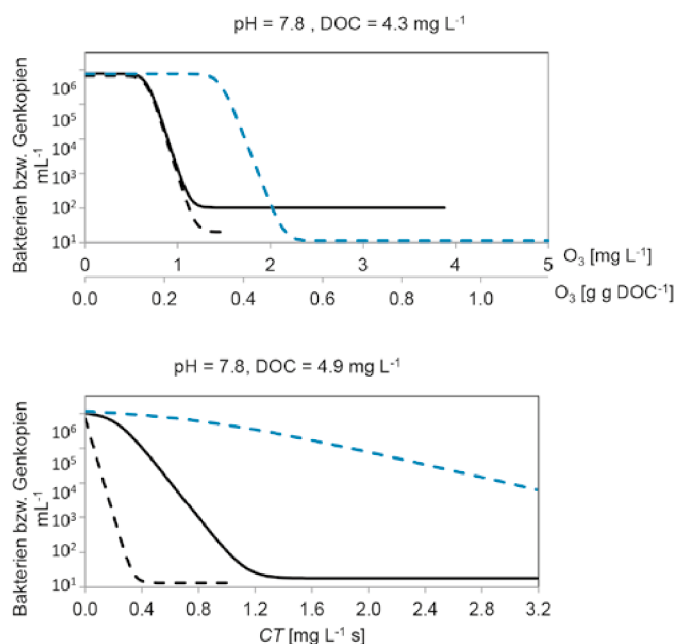


Fig. 5 Sowohl in Abhängigkeit von der spezifischen Ozonkonzentration (oben) als auch der Ozonexposition (unten) erfolgt zunächst eine Abtötung von Bakterienzellen (Verringerung von Membranintegrität (–) und Kultivierbarkeit (– –); hier am Beispiel von multiresistenten *E. coli* in gereinigtem Abwasser), bevor das intrazelluläre Resistenzgen *sul1* (Sulfonamidresistenzgen) beschädigt wird (– –).

En fonction de la concentration d'ozone spécifique (A) et de l'exposition à l'ozone (B), on procède en premier lieu à l'élimination de cellules bactériennes (réduction de l'intégrité membranaire (–) et de la cultivabilité (– –); ici avec l'exemple des *E. coli* multirésistantes dans des eaux usées épurées, avant de s'attaquer au gène de résistance intracellulaire *sul1* (gène de résistance au sulfonamide) (– –).

MRB und intrazelluläre Resistenzgene nahmen während der Passage des Filters zu (0,8 bis 1 bzw. 0,4 log-Stufen), sodass gegenüber der Nachklärung am Ende nur eine zusätzliche Eliminierung von 0,5 (S/T/T) bzw. 0,8 (N/C) log-Stufen erreicht wird (Fig. 2a) bzw. das Resistenzgen *sul1* sogar leicht ansteigt. Es wurden keine Hinweise auf selektive, d. h. MRB-bevorzugende Prozesse beobachtet, der relative Anteil von MRB (und Resistenzgenen) nahm im Sandfilter tendenziell ab (Fig. 2b). Ähnliche Beobachtungen wurden auch in einer deutschen Studie bei einer Ozonung im Pilotmassstab gemacht [29]. Multiresistente Bakterien, die im Ablauf des Sandfilters zu finden waren, gehörten für S/T/T vor allem zu den Gattungen *Aeromonas*, *Chryseobacterium*, *Escherichia* und *Shewanella*. Mit N/C-Resistenz wurden häufig Flavobakterien, Mikrobakterien und *Elizabethkingia* gefunden. Alle diese Gattungen, bis auf *Shewanella*, wurden bereits im Ablauf der Nachklärung mit diesen Resistenzen gefunden. Dies spricht für eine Erholung dieser Spezies während der Nachbehandlung, obwohl diese zuvor in der Ozonung stark reduziert wurden. Wie auch unter Laborbedingungen beobachtet, ist trotz Ozonung – vermutlich wegen der schützenden Wirkung von Flocken – auch weiterhin ein Eintrag von Bakterien in geringer Zahl möglich (Fig. 2a). Da der Sandfilter vor dem Bau der Ozonung bereits viele Jahre im Betrieb war, ist aber auch eine Vorbelegung der Biofilme im Sandfilter mit den Bakterien aus der Nachklärung zu erwarten.

Die auf der ARA Neugut durchgeführte Studie zeigt, dass durch Ozonung unter Bedingungen, welche für eine effektive Eliminierung von Spurenstoffen optimiert wurden (0,55 g Ozon pro g DOC), MRB im Vergleich zum Ablauf der biologischen Reinigungsstufen deutlich reduziert werden. Allerdings trägt der SF zu einem Wiederaufwuchs von MRB bei, sodass der Gesamteffekt nicht mehr sehr hoch ausfällt. Die Zerstörung von intrazellulären ARG im ozonierten Wasser bleibt ungewiss. Resistenzgene bleiben nachweisbar, vermutlich treten nur leichte, die Funktionalität ggf. aber nicht beeinträchtigende Schäden auf, sodass davon auszugehen ist, dass die Gewässer trotz Ozonung mit ähnlichen Frachten wie bei der rein biologischen Abwasserreinigung belastet werden. Weitere Untersuchungen sollten klären, ob und wie die biologische

Nachbehandlung optimiert und somit der Austrag von MRB und ARG reduziert werden kann. Auch sollten die langfristigen Auswirkungen der Ozonung im Hinblick auf die Möglichkeit einer Selektion von Spezies mit verringerter Sensitivität gegenüber Ozon und Antibiotika im Auge behalten werden.

PULVERAKTIVKOHLE UND ULTRAFILTRATION

Neben der Ozonung wird für die Spurenstoff-Elimination vor allem der Einsatz von Pulveraktivkohle (PAK) in Erwägung gezogen. Zur Eignung dieses Verfahrens für die Reduktion von Antibiotikaresistenzen wurden an der Eawag bisher nur Pilotstudien durchgeführt. Im Labor wurde beobachtet, dass PAK zu keiner Reduktion der Bakterienpopulation führte. Auch die im Trinkwasserbereich angewendete Filtration über granulierten Aktivkohle (GAK) gilt nicht als effiziente Methode zur Reduktion von Bakterien. Allerdings haben Forscher am SUPSI gezeigt, dass PAK in Kombination mit einer Luftblasenflotation eine Reduktion der Bakterienzahl um mehr als 96% erlaubt [30]. Zum Teil wird PAK-Behandlung auch mit einer Mikro- oder Ultrafiltration zur Retention der PAK kombiniert. Mit einer Porengrösse von gerade mal 10 bis 50 nm ermöglicht die Ultrafiltration quasi eine vollständige Entkeimung des Abwassers, denn Bakterienzellen haben Durchmesser von 100 bis 10 000 nm. In der Tat wurden im Ablauf einer Schweizer ARA, die ihren gesamten Ablauf mit dieser Methode behandelt, sehr niedrige Gesamtkeimzahlen gemessen, auch konnten keine MRB isoliert werden. Auch die gemessenen Kopienzahl von ARG waren deutlich niedriger als bei den Abläufen konventioneller ARA. Dass überhaupt Keime nachgewiesen werden konnten, lässt sich durch eine erneute Besiedelung des filtrierte Abwassers mit Umweltbakterien erklären. Auch in einer Studie an einer Pilotanlage für die Mikroschadstoffentfernung aus Abwasser mit PAK und anschliessender Ultrafiltration wurde eine hervorragende Elimination von MRB beobachtet. Lösungen mit PAK und Ultrafiltration haben aus energetischer und ökonomischer Sicht oft Nachteile. Es bleibt aber festzuhalten, dass mit dieser Prozesskombination eine technische Lösung zur Retention von antibiotikaresistenten Bakterien grundsätzlich vorhanden ist. Allerdings muss hier eine weitere Behandlung des Rückspülwassers durch-

geführt werden, da dort MRB in erhöhten Konzentrationen zu erwarten sind.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die in diesem Artikel vorgestellten Studien belegen, dass konventionelle Abwasserreinigungsanlagen trotz beachtlicher Reinigungsleistung eine wichtige Quelle für multiresistente Bakterien und Antibiotikaresistenzgene darstellen, welche sich potenziell in natürlichen Gewässern akkumulieren und verbreiten können.

Auch wenn die Wichtigkeit dieses Mechanismus noch kaum abgeschätzt werden kann, ist es gemäss dem Vorsorgeprinzip sicher erstrebenswert, die Belastung des gereinigten Abwassers mit Resistenzen möglichst gering zu halten. Die Schweiz beginnt derzeit damit, in ausgewählten ARA (verantwortlich für die Behandlung von ca. 50% des Schweizer Abwassers) Prozesse zur Elimination von Spurenstoffen zu installieren, mit dem Ziel, die Fracht von diesen Stoffen um mindestens 80% zu reduzieren. Diese Situation stellt eine Chance dar, neben der Verminderung des Austrags von Antibiotika auch die Freisetzung von Antibiotikaresistenzen durch Abwasser zu verringern.

EMPFEHLUNGEN FÜR PLANER

Es muss davon ausgegangen werden, dass auch niedrige Antibiotikakonzentrationen selektiv auf die Häufigkeit von Resistenzen wirken können. Unsere Ergebnisse bestätigen dies für die Kläranlagen, aber es ist nicht auszuschliessen, dass diese Wirkung auch in den Oberflächengewässern fortbesteht. Im Hinblick auf die Eliminierung von Antibiotikarückständen im Abwasser ist Ozonung oder Behandlung mit PAK wirksam, wodurch voraussichtlich der selektive Effekt von sublethalen Antibiotikakonzentrationen im Abwasser und den Gewässern reduziert wird [2, 15].

Die genannten Verfahren sind aber immer der biologischen Behandlung nachgeschaltet, in der ARA selbst bleibt die Häufigkeit von Resistenzen und der Selektionsdruck hoch. Auch auf den ARA selbst können Menschen und Tiere gegenüber den Resistenzen exponiert werden. Für bekannte Punktquellen von Antibiotika (Spitäler, Industrie) wäre es daher sinnvoll, auch Massnahmen zur Wirkstoffreduktion direkt an der Quelle zu prüfen. Ozonung eliminiert bei den für die Spu-

renstoffelimination verwendeten spezifischen O₃-Dosen und Kontaktzeiten auch einen Grossteil der resistenten Bakterien. Allerdings wird sowohl eine vollständige Desinfektion wie auch eine Zerstörung der Resistenzgene in der Praxis wohl nicht erreicht, wie sich in unserer Fallstudie zeigte. Der mögliche Nutzen einer Erhöhung der Ozondosis müsste gegenüber zusätzlichen Kosten und der Zunahme unerwünschter Nebenprodukte abgewogen werden. In den derzeit üblichen Prozessen ist eine biologische Nachbehandlung zum Abbau von labilen toxischen Nebenprodukten der Oxidation immer notwendig. Da während dieser biologischen Nachbehandlung ein Wiederaufwuchs von resistenten Bakterien oder die Weitergabe nicht inaktivierten Genmaterials aus den abgetöteten Zellen nicht ausgeschlossen werden kann, sind Massnahmen zu prüfen, welche die Bakterienzellzahl im Ablauf der biologischen Nachbehandlung möglichst gering halten. Bei Sandfiltern könnte z. B. eine Verbesserung der Filterwirkung gegenüber Bakterienzellen angestrebt werden oder ein Austausch des Sandbetts nach Inbetriebnahme der Ozonung, um bereits existierende resistente Populationen zu entfernen. In diesem Bereich besteht noch Forschungsbedarf, und Erfahrungen aus der Praxis müssen ausgewertet werden. Eine zusätzliche Desinfektion, z. B. durch UV oder eine Abtrennung von Bakterien durch Membranfiltration, wird man aktuell wohl nur unter besonderen Umständen in Betracht ziehen.

Wir fanden Hinweise, dass ARA mit Einleitungen von Antibiotika aus der Industrie oder Spitalabwasser ein erhöhtes Risiko haben, selektiv zu wirken, und erhöhte Konzentrationen von Resistenzen im Ablauf aufweisen. Anlagen mit solchem Abwasser sollten daher eine Risikobewertung vornehmen und darauf basierend weitergehende Massnahmen prüfen. Es liegt nahe, dass viele der betroffenen Anlagen für eine Spurenstoffelimination vorgesehen sein werden, und somit die Möglichkeit besteht, auf diesem Wege auch Resistenzemissionen zu reduzieren. Wo ein erhöhtes Risiko vermutet wird und die technischen und finanziellen Möglichkeiten es zulassen, ist der Einbau einer Membranfiltration eine aus unserer Sicht wirkungsvolle technische Lösung zur Elimination nicht nur von Resistenzen, sondern von Bakterien und sogar Viren ganz allgemein, sofern ein

sicherer Umgang mit der Rückspülung gewährleistet werden kann.

Bei der grosstechnischen Anwendung von Ozon zur Abwasserbehandlung und Desinfektion sollte beachtet werden, dass Bakterien, anders als Chemikalien, anpassungsfähig sind und langfristig eine verminderte Sensitivität bzw. zunehmende Resistenz gegenüber Ozon ausbilden können. Ähnlich wie bei anderen Bioziden ist auch bei Ozon nicht ganz auszuschliessen, dass unter Umständen auch Antibiotikaresistenzen mitselektiert werden. Es ist daher unbedingt zu empfehlen, die Resistenzentwicklung gegenüber Ozon und Antibiotika bei ausgebauten Kläranlagen nach einiger Zeit zu untersuchen.

FAZIT

Da Bakterien sich immer an neue Gegebenheiten anpassen können, kann das Problem voranschreitender Antibiotikaresistenzen allein durch neuartige Technologien, wie z. B. die Ozonung von Abwasser, nicht gelöst werden. Für eine nachhaltige Eindämmung von Antibiotikaresistenzen sollte das Hauptaugenmerk unbedingt auf der Regulierung der Hauptanwender von Antibiotika liegen: Kliniken, Veterinärmedizin, pharmazeutische Industrie [31]. Die rasante Entwicklung von Antibiotikaresistenzen ist ein beeindruckendes Beispiel für menschlich beeinflusste Evolution. Massnahmen zur Eindämmung von Antibiotikaresistenzen sollten daher als übergeordnetes Ziel haben, die bakterielle Evolution zu unseren Gunsten zu steuern und nicht, wie bisher, weiter voranzutreiben [32]. Massnahmen im Bereich der Abwasserreinigung können aber einen Beitrag leisten, indem die bereits existierende Barrierenfunktion der ARA verbessert wird, um die Ausbreitung resistenter Keime über natürliche Gewässer so gering wie möglich zu halten.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] D'Costa, V.M. et al. (2011): Antibiotic resistance is ancient. *Nature*. 477(7365): p. 457–461
- [2] Chow, L. et al. (2015): Potential impacts of aquatic pollutants: Sub-clinical antibiotic concentrations induce genome changes and promote antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, 2015. 6
- [3] Gullberg, E. et al. (2011): Selection of resistant bacteria at very low antibiotic concentrations. *PLoS Pathogens*. 7(7): p. e1002158
- [4] Wright, G.D. (2010): Antibiotic resistance in the environment: a link to the clinic? *Current Opinion in Microbiology*. 13(5): p. 589–594
- [5] Achermann, R. et al. (2011): Antibiotic use in adult outpatients in Switzerland in relation to regions, seasonality and point of care tests. *Clinical Microbiology and Infection*. 17(6): p. 855–861
- [6] Filippini, M. et al. (2006): Socioeconomic determinants of regional differences in outpatient antibiotic consumption: Evidence from Switzerland. *Health Policy*. 78(1): p. 77–92
- [7] Plüss-Suard, C. et al. (2011): Hospital antibiotic consumption in Switzerland: comparison of a multicultural country with Europe. *Journal of Hospital Infection*. 79(2): p. 166–171
- [8] Giger, W. et al. (2003): Occurrence and fate of antibiotics as trace contaminants in wastewaters, sewage sludges, and surface waters. *Chimia*. 57(9): p. 485–491
- [9] ARCH-Vet (2015): Bericht über den Vertrieb von Antibiotika in der Veterinärmedizin und das Antibiotikaresistenzmonitoring bei Nutztieren in der Schweiz. *Swissmedic / BVET*. p. 59
- [10] Petrus, K.; Sennhauser, T. (2012): Tonnenweise Antibiotika im Stall. www.tier-im-fokus.ch (cited: 11.1.2016)
- [11] ARCH-Vetund anresis.ch (2014): Joint report 2013. www.bag.admin.ch/star
- [12] ECDC (2015): Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2014. ECDC: Stockholm
- [13] Gesundheit (2016): B.f., Bulletin 26/16
- [14] Czekalski, N. (2013): Sources, Spreading and Fate of Antibiotic Resistance Genes and Resistant Bacteria in Vidy Bay, Lake Geneva, Switzerland, in School of architecture, civil and environmental engineering. EPFL: Lausanne
- [15] Andersson, D.I.; Hughes, D. (2014): Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. *Nat Rev Micro*. 12(7): p. 465–478
- [16] Loch, T.P.; Faisal, M. (2015): Emerging flavobacterial infections in fish: A review. *Journal of Advanced Research*. 6(3): p. 283–300
- [17] Thomas, V. et al. (2007): New *Afpipia* and *Bosea* strains isolated from various water sources by amoebal co-culture. *Systematic and Applied Microbiology*. 30(7): p. 572–579
- [18] Falcone-Dias, M.F. (2012): Bottled mineral water as a potential source of antibiotic resistant bacteria. *Water Research*. 46(11): p. 3612–3622
- [19] Picão, R.C. et al. (2008): Expanded-Spectrum β -Lactamase PER-1 in an Environmental *Aeromonas media* Isolate from Switzerland. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 52(9): p. 3461–3462
- [20] Munck, C. et al. (2015): Limited dissemination of the wastewater treatment plant core resistome. *Nat Commun*. 6
- [21] Czekalski, N. (2014): Wastewater as a point source of antibiotic-resistance genes in the sediment of a freshwater lake. *ISME J*, 2014. 8
- [22] Thevenon, F. et al. (2012): Antibiotic resistant bacteria/genes dissemination in lacustrine sediments highly increased following cultural eutrophication of Lake Geneva (Switzerland). *Chemosphere*. 86(5): p. 468–476
- [23] Czekalski, N. et al. (2015): Does human activity impact the natural antibiotic resistance background? Abundance of antibiotic resistance genes in 21 Swiss lakes. *Environment International*. 81: p. 45–55
- [24] Zurfluh, K. et al. (2013): Characteristics of Extended-Spectrum β -Lactamase- and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Isolates from Rivers and Lakes in Switzerland. *Applied and Environmental Microbiology*. 79(9): p. 3021–3026
- [25] Corvaglia, A.R. (2008): Rôle des résidus d'antibiotiques dans l'environnement hydrique sur la sélection et la diffusion de bactéries résistantes des genres «*Aeromonas*», «*Acinetobacter*» et «*Legionella*». *Archives des sciences*
- [26] Poirel, L. et al. (2005): Origin of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Determinant *QnrA*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005. 49(8): p. 3523–3525
- [27] Picao, R.C. et al. (2008): Plasmid-mediated quinolone resistance in *Aeromonas allosaccharophila* recovered from a Swiss lake. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2008. 62(5): p. 948–950
- [28] Dodd, M.C. et al. (2009): Oxidation of Antibacterial Compounds by Ozone and Hydroxyl Radical: Elimination of Biological Activity during Aqueous Ozonation Processes. *Environmental Science & Technology*, 2009. 43(7): p. 2498–2504
- [29] Lüddecke, F. et al. (2015): Removal of total and antibiotic resistant bacteria in advanced wastewater treatment by ozonation in combination with different filtering techniques. *Water Research*. 69: p. 243–251
- [30] Ravasi, D. et al. (2015): DART: Distribution of Antibiotic Resistant microorganisms in municipal wastewater treatment plants (WWTP) equipped with a Tertiary step to remove micropollutants. SUPSI
- [31] Berendonk, T.U. et al. (2015): Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nat Rev Micro*. 13(5): p. 310–317
- [32] Gillings, M.R. (2013): Evolutionary consequences of antibiotic use for the resistome, mobilome and microbial pangenome. *Frontiers in Microbiology*. 4

> SUITE DU RÉSUMÉ

laboratoire et des analyses effectuées dans la première installation d'ozonation suisse d'envergure montrent qu'il est certes possible de réduire le nombre de germes résistants, mais que leurs gènes de résistance ne peuvent être détruits.