

Vorkommen Antibiotika-resistenter Bakterien in der aquatischen Umwelt

Zusammenhänge zu dem Vorkommen antibiotisch
wirkender Substanzen

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

vorgelegt von

Nicole Zacharias

aus

Troisdorf

Bonn 2021

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen
Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

1. Gutachter: Prof. Dr. Thomas Kistemann
2. Gutachterin: Prof. Dr. Mariele Evers

Tag der Promotion: 20.12.2021

Erscheinungsjahr: 2022

Danksagung

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. Thomas Kistemann für die Betreuung dieses Promotionsvorhabens und seine Unterstützung bedanken. Unsere wissenschaftlichen Diskussionen haben meine Promotionszeit sehr bereichert. Bei Frau Prof. Dr. Mariele Evers möchte ich mich für die Übernahme des Koreferats bedanken.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Martin Exner und Herrn Prof. Dr. Nico Mutters für die Möglichkeit bedanken, diese Arbeit am Institut für Hygiene und Public Health anzufertigen. Besonders bedanken möchte ich mich bei Dr. Andrea Rechenburg, Dr. Christiane Schreiber, Dr. Christian Timm, Felix Wasser, Dr. Alexander Voigt, Sarah Maria Essert, Heike Müller und Regina Brang-Lamprecht. Ich bin dankbar für die Unterstützung des gesamten Teams des GeoHealth Centres und allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Hygiene und Public Health, die mich in so vielen Schritten der Durchführung der Promotion begleitet und unterstützt haben.

Ich bin sehr dankbar, dass ich die Möglichkeit bekommen habe, im Rahmen des HyReKA-Projekts zu forschen und die Daten für meine Dissertation zu verwenden. Mein Dank gilt deshalb auch allen Forschungspartnern und Förderern des HyReKA-Projektes. Ich möchte außerdem die Gelegenheit nutzen, dem Erftverband und der Stadt Bonn zu danken. Ohne die Unterstützung diverser Mitarbeiter beider Einrichtungen wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen. Namentlich möchte ich hier besonders Herrn Alexander Ahring und Herrn Dr. Christian Gattke vom Erftverband danken. Den Mitarbeitern der untersuchten Kläranlagen möchte ich ebenfalls danken ohne jeden einzelnen Namen zu nennen. Ich habe so viele nette, freundliche und hilfsbereite Personen während der Durchführung meiner Arbeit kennengelernt und viele interessante Gespräche geführt.

Abschließend möchte ich meiner wunderbaren Familie und meinen Freunden für ihre ständige Unterstützung und Motivation meinen Dank und meine hohe Anerkennung aussprechen.

Abstract

An increase in resistance with simultaneous stagnation in the development of new antibiotics in medicine has reached a critical point, especially for infections with Gram-negative bacteria. The WHO specified antibiotic-resistant bacteria as a serious threat to modern medicine as early as 2014. A link between medical advances and pathogens that are difficult to treat cannot be denied. This work shows that antibiotic-resistant bacteria and antibiotically active substances can be detected in all (waste)water compartments.

The methodological approach for the determination of antibiotic-resistant bacteria in aquatic environmental samples developed by adapting and improving standardized tests originally developed for human medical purposes, is shown to be well applicable. The procedure was optimized to minimize interference from background flora in environmental samples by increasing the incubation temperature. The optimized work flow was evaluated in terms of detection limits, recovery rates and quality performance values. The results show that increasing the incubation temperatures improved the detection of antibiotic-resistant bacteria without reducing the detection of the target species. The work flow showed good recovery rates and quality performance values for sensitivity, selectivity and correct classification. Limitations due to different detection limits in the different compartments of the wastewater pathway are shown. Raw wastewater has a higher detection limit than treated wastewater or surface water due to accompanying bacterial flora.

While the results presented in this work show that antibiotic-resistant bacteria could be isolated in samples from all wastewater sampling sites in the two study areas, the degree of multiresistance in individual isolates varied according to their origin. Significant relationships were shown between the occurrence of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic-active substances in wastewater, particularly between clinically used antibiotics such as ciprofloxacin, meropenem, and ceftazidime in combination with *P. aeruginosa* 3GCR and ESBL-producing *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. and *Citrobacter* spp. The scatter plots of these relationships show a significant influence of clinical wastewater, which decreased within the sewage system by dilution until the water reached the respective sewage treatment plant effluent. In contrast, no specific clustering was observed for the sampling sites without clinical wastewater, only the expected distinction between influents and effluents from the sewage treatment plants.

Clinical wastewater contained significantly more multidrug-resistant bacteria than clinically unaffected wastewater. For all investigated resistance parameters, reduction rates of 3 to 4 Log₁₀ levels could be found within the investigated sewage treatment plants. It was shown that treated wastewater is a point source of antibiotic-resistant bacteria into the environment.

In addition to the discharges of treated wastewater to surface water bodies, the bacterial (antibiotic-resistant bacteria) and chemical (antibiotics) load of combined sewage overflow and the treatment of CSO by a retention soil filter were investigated. Combined sewage consists of both wastewater and runoff water from sealed surfaces. Runoff events are short, but release large volumes and significant pollutant loads per event. The reductions through the passage of the retention soil filter for the investigated resistance parameters were found to be between 1.3 Log₁₀ levels to 3.1 Log₁₀ levels (median) and thus can provide an important contribution to the reduction of water pollution. For the water matrix 'surface water', antibiotic-active substances could be detected in wastewater-affected sections of the surface water.

In the clinical-urban study area, the number of positive detections was higher downstream of the wastewater treatment plant discharge. The maximum and median values also show the influence of the wastewater treatment plants even though the concentrations downstream of the wastewater treatment plant were only slightly elevated. The maximum values obtained for surface water were higher in the rural-municipal study area than in the studied stream of the clinical-urban study area. This can be plausibly explained by the proportion of wastewater in the respective receiving watercourse (Swist, Rhine). However, no statistically significant associations between the concentration of antibiotic-resistant bacteria and the proportion of wastewater in the river Swist could be calculated for the results presented. A significant positive association of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic-active substances in surface water could be calculated only for the antibiotic erythromycin in association with the hygienic-microbiological parameters ESBL-producing *E. coli* and *Acinetobacter* spp. 3GCR.

The pathway of a resistant bacterium from the environment to humans is generally possible wherever there is direct contact with a contaminated environmental compartment. Information on the prevalence, concentration, and types of antibiotic-resistant bacteria in the environment is essential for a synoptic quantitative microbial risk assessment and identification of different transmission routes. For most of the

antibiotic-resistant bacteria studied in this work, no consideration in terms of a QMRA can be made at present due to a lack of data on infectious doses for most facultative pathogenic bacteria. Nevertheless, the ubiquitous spread of ESBL-producing Gram-negative bacteria in the aquatic environment may pose a risk to human health.

Zusammenfassung

Ein Anstieg der Resistenzen bei gleichzeitiger Stagnation hinsichtlich der Entwicklung neuer Antibiotika ist vor allem für Infektionen mit Gram-negativen Bakterien kritisch. Die WHO spezifizierte bereits 2014 Antibiotika-resistente Bakterien als eine ernsthafte Bedrohung für die moderne Medizin. Ein Zusammenhang zwischen medizinischem Fortschritt und schwer therapierbaren Erregern ist nicht zu leugnen. Diese Arbeit zeigt, dass Antibiotika-resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen in allen der untersuchten (Ab-)Wasser Kompartimenten nachweisbar sind.

Der methodische Ansatz zur Bestimmung von Antibiotika-resistenten Bakterien in aquatischen Umweltproben, der durch Anpassung und Verbesserung standardisierter, ursprünglich für humanmedizinische Zwecke entwickelter Tests erfolgte, erweist sich als praxistauglich. Das Verfahren wurde optimiert, um Interferenzen durch die Hintergrundflora in Umweltproben zu reduzieren. Das optimierte Arbeitsschema wurde im Hinblick auf Nachweisgrenzen, Wiederfindung und Qualität der Testleistungen evaluiert. Die Ergebnisse zeigen, dass durch die Erhöhung der Inkubationstemperaturen eine Verbesserung des Nachweises Antibiotika-resistenten Bakterien erzielt werden konnte, ohne dass der Nachweis der Zielspezies reduziert wurde. Dies führte zu guten Wiederfindungsraten und Qualitätsleistungen in Bezug auf Sensitivität, Selektivität und korrekte Klassifizierung. Limitationen durch unterschiedliche Nachweisgrenzen in den verschiedenen Kompartimenten des Abwasserpfades sind dargestellt. Rohabwasser hat eine höhere Nachweisgrenze als geklärtes Abwasser oder Oberflächengewässer.

Während die Ergebnisse in dieser Arbeit zeigen, dass Antibiotika-resistente Bakterien in Proben aller Abwasser-Probenahmestellen der beiden Untersuchungsgebiete isoliert werden konnten, variierte der Grad der Multiresistenz in den einzelnen Isolaten nach ihrer Herkunft. Es konnten signifikante Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen von Antibiotika-resistenten Bakterien und antibiotisch wirkenden Substanzen im Abwasser gezeigt werden, insbesondere zwischen klinisch eingesetzten Antibiotika wie Ciprofloxacin, Meropenem sowie Ceftazidim und mit *P. aeruginosa* 3GCR sowie ESBL-produzierende KEC. Die Streudiagramme dieser Beziehungen zeigten einen signifikanten Einfluss des klinischen Abwassers, der innerhalb der Kanalisation durch Fließstrecke und Verdünnung abnahm, bis das Abwasser den jeweiligen Kläranlagen-Abfluss erreichte. Im Gegensatz dazu konnte für die ländlich-kom-

munalen Probenahmestellen ohne klinisches Abwasser keine spezifische Clusterbildung beobachtet werden, sondern nur die erwartete Unterscheidung zwischen Zuflüssen und Abflüssen der Kläranlagen. Klinisches Abwasser enthält deutlich mehr multi-resistente Bakterien als klinisch unbeeinflusstes Abwasser. Für alle untersuchten Resistenzparameter konnten innerhalb der untersuchten Kläranlagen Reduktionsraten von 3 bis 4 Log_{10} -Stufen festgestellt werden. Es konnte gezeigt werden, dass behandeltes Kläranlagenabwasser eine Punktquelle für Antibiotika-resistente Bakterien in die Umwelt darstellt.

Neben den Einleitungen des geklärten Abwassers aus Kläranlagen in Oberflächengewässer wurde die Belastung von Mischwasser und dessen Behandlung durch einen RBF untersucht. Mischwasser besteht sowohl aus Abwasser als auch aus Abflusswasser von versiegelten Flächen. Die Abflussereignisse sind kurz, setzen aber große Wassermengen und erhebliche Schadstofffrachten frei. Die Reduktion über die Passage des RBFs für die untersuchten Resistenzparameter lagen im Median zwischen 1,3 Log_{10} -Stufen bis 3,1 Log_{10} -Stufen; Sie stellen somit eine wichtige Option zur Reduktion von Gewässerbelastungen dar.

Für die Matrix Oberflächengewässer konnte gezeigt werden, dass antibiotisch wirksame Substanzen sowohl im gereinigten Abwasser als auch in Abwasser-beeinflussten Abschnitten von Oberflächengewässern nachgewiesen werden konnten.

Im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet ist die Anzahl der positiven Nachweise im Unterstrom der Einleitung der Kläranlage höher. Auch die Maximal- und Medianwerte zeigen den Einfluss der Kläranlage, auch wenn die Konzentrationen im Unterstrom der Kläranlage nur leicht erhöht waren. Die Maximalwerte waren im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet höher als im untersuchten Fließgewässer des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes. Dies ist durch den Abwasseranteil im jeweils aufnehmenden Fließgewässer (Swist, Rhein) plausibel erklärbar. Es konnten allerdings keine statistisch signifikanten Zusammenhänge zwischen der Konzentration von Antibiotika-resistenten Bakterien und dem Anteil an Abwasser in der Swist für die dargestellten Ergebnisse berechnet werden.

Eine signifikante positive Assoziation von Antibiotika-resistenten Bakterien und antibiotisch wirkenden Substanzen konnte in der Matrix Oberflächengewässer nur für das Antibiotikum Erythromycin in Verbindung mit den hygienisch-mikrobiologischen Parametern ESBL-produzierende *E. coli* und *Acinetobacter* spp. 3GCR belegt werden.

Der Weg eines resistenten Bakteriums aus der Umwelt zum Menschen ist generell überall dort möglich, wo direkter Kontakt zu einem belasteten Umweltkompartiment besteht. Für eine synoptisch quantitative Risikobewertung und Identifizierung verschiedener Übertragungswege sind Informationen über Prävalenz, Konzentration und Arten von Antibiotika-resistenten Bakterien in der Umwelt unerlässlich. Für die meisten der in dieser Arbeit untersuchten Antibiotika-resistenten Bakterien kann aufgrund fehlender Daten zu Infektionsdosen von den meisten fakultativ pathogenen Bakterien derzeit noch keine Betrachtung im Sinne eines QMRA durchgeführt werden. Die ubiquitäre Verbreitung der ESBL-produzierenden Gram-negativen Bakterien in der aquatischen Umwelt kann dennoch ein Risiko für die menschliche Gesundheit bedeuten.

Inhaltsverzeichnis

Abstract	I
Zusammenfassung	IV
Inhaltsverzeichnis	VII
Abbildungsverzeichnis	XI
Tabellenverzeichnis	XIV
Abkürzungsverzeichnis	XVI
1 Einleitung	1
1.1 Ziel der Arbeit	1
1.2 Antibiotika und Resistenzen.....	3
1.2.1 Antibiotikaklassen	3
1.2.2 Einsatz von Antibiotika.....	4
1.2.3 Antibiotika-Resistenzen	7
1.2.4 Resistenzsituation in der Humanmedizin in Deutschland.....	14
1.2.5 Bewertung der Resistenzen	16
1.2.6 Strategien gegen Antibiotikaresistenzen	17
1.3 Eintragspfade von Antibiotika und Antibiotika-Resistenzen in die aquatische Umwelt	18
1.3.1 Abwasser	20
1.3.2 Diffuse Quellen	21
1.3.3 Offene Defäkation	23
1.3.4 Landwirtschaft.....	24
1.3.5 Wildtiere	26
1.4 Risikofaktoren für die Übertragung von Krankheitserregern durch Gewässernutzung.....	26
1.4.1 Freizeitnutzung.....	27
1.4.2 Landwirtschaftliche Nutzung	28
1.4.3 Trinkwassergewinnung	30
1.5 Gewässer- und Abwassermanagement.....	31
1.5.1 Rechtliche Grundlagen	31
1.5.2 Begriffe der Wasserwirtschaft.....	33
2 Untersuchungsgebiete	38
2.1 Klinisch-urbanes Untersuchungsgebiet.....	38

2.1.1	Klinisch-urbanes Abwasser	39
2.1.2	Krankenhäuser und stationäre Gesundheitseinrichtungen im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet	40
2.1.3	Oberflächengewässer im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet	43
2.2	Ländlich-kommunales Untersuchungsgebiet	44
2.2.1	Ländlich-kommunales Abwasser	46
2.2.2	Oberflächengewässer im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet	49
2.2.3	Abwasseranteile im Oberflächengewässer des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets	52
2.2.4	Mischwasserentlastung im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet am Beispiel des Retentionsbodenfilters Altendorf	53
3	Methoden.....	55
3.1	Probenahme	55
3.1.1	24h-Mischproben mit automatisierten Probenehmern	55
3.1.2	Qualifizierte Stichprobe nach DIN 38402.....	55
3.1.3	Ereignisprobenahmen.....	56
3.2	Nachweis Antibiotika-resistenter Bakterien in der aquatischen Umwelt ...	56
3.2.1	Kultureller Nachweis Antibiotika-resistenter Bakterien in Abwasser und Oberflächengewässern	58
3.2.2	Identifikation der Isolate	59
3.2.3	Qualitätsdaten des kulturellen Nachweises von Antibiotika-resistenten Bakterien in Umweltproben	60
3.2.4	Bestimmung der Resistenzcharakteristika	63
3.3	Nachweis von antibiotisch wirkenden Substanzen in der aquatischen Umwelt	65
3.4	Statistisch-analytische Datenauswertung	66
3.4.1	Odds Ratios	66
3.4.2	Cluster-Analyse	67
3.4.3	Korrelationsanalyse	68
4	Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen in der aquatischen Umwelt	69
4.1	Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen im Abwasser und Mischwasser	69
4.1.1	Resistente Bakterien im Abwasser	70
4.1.2	Multiresistente Bakterien im Abwasser	78
4.1.3	Resistente Bakterien im Mischwasser	79
4.1.4	Multiresistente Bakterien im Mischwasser	83

4.1.5	Antibiotisch wirkende Substanzen im Abwasser und Mischwasser	84
4.2	Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen in Oberflächengewässern.....	85
4.2.1	Resistente Bakterien in Oberflächengewässern	86
4.2.2	Zusammenhang des Abwasseranteils mit der Konzentration Antibiotika-resistenter Bakterien	93
4.2.3	Multiresistenzen in Oberflächengewässern.....	95
4.2.4	Antibiotisch wirkende Substanzen in Oberflächengewässern	96
5	Zusammenhang des Vorkommens von Antibiotika und Antibiotika- resistenten Bakterien	98
5.1	Zusammenhang des Vorkommens in der Abwassermatrix.....	98
5.1.1	Klinisch nicht relevante Fälle.....	99
5.1.2	Klinisch plausible Fälle.....	100
5.1.3	Zusammenhang zwischen Ciprofloxacin-Rückständen und Multiresistenzen	105
5.2	Zusammenhang des Vorkommens in Oberflächengewässern.....	108
5.2.1	Unterschiede in den Untersuchungsgebieten	109
6	Diskussion	112
6.1	Eignung kultureller Verfahren zum Nachweis Antibiotika-resistenter Bakterien in der aquatischen Umwelt	112
6.2	Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen in der aquatischen Umwelt	116
6.2.1	Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen im Abwasser	117
6.2.2	Reduktion Antibiotika-resistenter Bakterien in Kläranlagen.....	121
6.2.3	Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen von antibiotisch wirkenden Substanzen und Antibiotika-resistenten Bakterien im Abwasser	124
6.2.4	Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen in Oberflächengewässern	127
6.2.5	Rückhalt Antibiotika-resistenter Bakterien und antibiotisch wirkender Substanzen durch Retentionsbodenfilter.....	133
6.2.6	Abwasseranteile und Konzentrationen an Antibiotika-resistenten Bakterien	136
6.2.7	Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen antibiotisch wirkender Substanzen und Antibiotika-resistenten Bakterien in Oberflächengewässern	137
6.3	Bedeutung resistenter Bakterien in der Umwelt für die menschliche Gesundheit.....	138

Literatur.....	145
Anhang.....	177
Publikationshinweise	195

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Mögliche Verbreitungswege von Antibiotika-resistenten Bakterien in der Umwelt.....	19
Abbildung 2: Klinisch-urbanes Untersuchungsgebiet: Flächennutzung und Gesundheitseinrichtungen.....	38
Abbildung 3: Flächenverteilung der Kreisfreien Stadt Bonn.	39
Abbildung 4: Flächennutzung des Einzugsgebietes des Swistbaches als ländlich-kommunales Untersuchungsgebiet und Kartierung der in dieser Arbeit untersuchten Probenahmestellen.....	45
Abbildung 5: Kläranlage Flerzheim.	48
Abbildung 6: Kläranlage Rheinbach.....	48
Abbildung 7: Kläranlage Miel.	48
Abbildung 8: Kläranlage Heimerzheim.	48
Abbildung 9: Einzugsgebiete zu den Probenahmestellen des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes.....	51
Abbildung 10: Abwasseranteile an den Messstationen Pegel Weilerswist und Morenhoven.	53
Abbildung 11: Kultureller Nachweis ESBL-produzierender <i>E. coli</i> in der Abwassermatrix des klinisch-urbanen und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes..	70
Abbildung 12: Kultureller Nachweis ESBL-produzierender KEC in der Abwassermatrix des klinisch-urbanen und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes..	71
Abbildung 13: Kultureller Nachweis <i>Pseudomonas</i> spp. 3GCR in der Abwassermatrix des klinisch-urbanen und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes..	73
Abbildung 14: Kultureller Nachweis <i>P. aeruginosa</i> 3GCR in der Abwassermatrix des klinisch-urbanen und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes..	75
Abbildung 15: Kultureller Nachweis von <i>Acinetobacter</i> spp. 3GCR bzw. <i>A. calcoaceticus-baumannii</i> Komplex 3GCR in der Abwassermatrix des klinisch-urbanen und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes.	76
Abbildung 16: Anzahl der Spezies an allen Isolaten der resistenten Gram-negativen Bakterien, die in den Abwasserproben des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes isoliert wurden.	77

Abbildung 17: Anzahl der Spezies an allen Isolaten der resistenten Gram-negativen Bakterien, die in den Abwasserproben des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes isoliert wurden.	77
Abbildung 18: Multiresistente Bakterien in den Abwasserproben des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes.	78
Abbildung 19: Multiresistenzen in den Abwasserproben des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes.	79
Abbildung 20: Kultureller Nachweis ESBL-produzierender <i>E. coli</i> in den Mischwasserproben des RBFs Altendorf..	80
Abbildung 21: Kultureller Nachweis ESBL-produzierender KEC in den Mischwasserproben des RBFs Altendorf.	81
Abbildung 22: Kultureller Nachweis von <i>Pseudomonas</i> spp. 3GCR in den Mischwasserproben des RBFs Altendorf.	81
Abbildung 23: Kultureller Nachweis von <i>Acinetobacter</i> spp. 3GCR bzw. <i>A. calcoaceticus-baumannii</i> Komplex 3GCR in den Mischwasserproben des RBFs Altendorf.	82
Abbildung 24: Anzahl der Spezies an allen Isolaten der resistenten Gram-negativen Bakterien, die in den Mischwasserproben des Zu- und Ablauf des RBFs isoliert wurden.	83
Abbildung 25: Multiresistenzen in den Proben des Zu-und Ablaufes des RBFs Altendorf	83
Abbildung 26: Kultureller Nachweis von ESBL-produzierender <i>E. coli</i> in den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen und klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes.	87
Abbildung 27: Kultureller Nachweis von ESBL-produzierender KEC in den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen und klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes.	88
Abbildung 28: Kultureller Nachweis von <i>Pseudomonas</i> spp. 3GCR in den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen und klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes.	89
Abbildung 29: Kultureller Nachweis von <i>P. aeruginosa</i> 3GCR in den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen und klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes.	90
Abbildung 30: Kultureller Nachweis von <i>Acinetobacter</i> spp. 3GCR bzw. <i>A. calcoaceticus-baumannii</i> Komplex 3GCR in den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen und klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes.	92

- Abbildung 31: Anzahl der Spezies an allen Isolaten der resistenten Gram-negativen Bakterien, die in den Oberflächengewässerproben des klinisch-urbanen und ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes isoliert wurden..... 93
- Abbildung 32: Multiresistenzen in den Oberflächengewässerproben des klinisch-urbanen und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes..... 95
- Abbildung 33: Streudiagramm und Dendrogramm zum Zusammenhang des Vorkommens von ESBL-produzierenden KEC (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp.) und dem Vorkommen von Ciprofloxacin an den einzelnen Abwasser-Probenahmestellen..... 102
- Abbildung 34: Streudiagramme und Dendrogramme zu dem Zusammenhang des Vorkommens von *P. aeruginosa* 3GCR und dem Vorkommen von Ciprofloxacin, Ceftazidim und Meropenemen an den einzelnen Abwasser-Probenahmestellen..... 104
- Abbildung 35: Streudiagramme für den Vergleich der Probenahmestellen in Bezug auf die Konzentration von Anwesenheit und Ausbreitung der multiresistenten Isolate *P. aeruginosa* 3GCR und der KEC-Gruppe und der nachgewiesenen Konzentration von Ciprofloxacin in Abwasser..... 106
- Abbildung 36: Streudiagramme für den Vergleich der Probenahmestellen ohne US (1) und UG (2) in Bezug auf die Konzentration von Anwesenheit und Ausbreitung der multiresistenten Isolate *P. aeruginosa* 3GCR und der KEC-Gruppe und der nachgewiesenen Konzentration von Ciprofloxacin in Abwasser. 107
- Abbildung 37: Streudiagramme und Dendrogramme zu dem Zusammenhang des Vorkommens von Erythromycin und dem Vorkommen von *E. coli*, *Acinetobacter* spp. 3GCR und dort im speziellen auch der Art *A. baumannii*-Komplex an den einzelnen Probenahmestellen der untersuchten Oberflächengewässer.. 110

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung verschiedener Pathogene gegen die Antibiotika entwickelt werden sollten.....	9
Tabelle 2: Zusammenstellung der Abwasser-Probenahmestellen im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet.	40
Tabelle 3: Weitere Krankenhäuser im Einzugsgebiet der Kläranlage Salierweg.....	41
Tabelle 4: Zusammenstellung Probenahmestellen aus dem Oberflächengewässer Rhein im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet, geordnet nach Fließrichtung.....	43
Tabelle 5: Zusammenstellung der untersuchten Kläranlagen des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes..	46
Tabelle 6: Zusammenstellung Probenahmestellen aus dem Oberflächengewässer Swist im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet, sortiert nach Fließrichtung.....	49
Tabelle 7: Betriebsdaten des RBFs Altendorf im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet..	54
Tabelle 8: Prozentualer Anteil der kategorischen Ergebnisse der mikrobiellen Parameterkonzentrationen auf Resistenz-Agar in den untersuchten Proben aus unbehandeltem Abwasser, behandeltem Abwasser und Oberflächenwasser, resultierend aus den Nachweisgrenzen der größten untersuchten Mengen.	63
Tabelle 9: Verwendete Sequenzen für den Nachweis von Carbapenemase- und mcr-Genen für die Einstufung der Multiresistenz nach KRINKO (2019).	64
Tabelle 10: Abwasser-Probenahmestellen in den beiden Untersuchungsgebieten und die Art der Probenahme.	69
Tabelle 11: Probenahmestellen an den Oberflächengewässern beider Untersuchungsgebiete an den Fließgewässern Erstdorfer Bach, Swist und Rhein und die Art der Probenahme.....	86
Tabelle 12: Ergebnisse der Korrelationsanalyse mit dem Spearman's Rangkorrelationskoeffizient für die Bestimmung eines möglichen Zusammenhanges des Abwasseranteiles in der Swist zur Konzentration an Antibiotika-resistenten Bakterien.....	94
Tabelle 13: Antibiotika-resistente Bakterien mit einem positiven Zusammenhang zu dem Vorkommen eines untersuchten Antibiotikums.....	98

Tabelle 14: Wirkungsklasse und Umweltstabilität der Antibiotika mit einer positiven, statistisch signifikanten Assoziation zu dem gleichzeitigen Vorkommen mit einem Antibiotikaresistenz-Parameter in Abwasserproben.	101
Tabelle 15: Antibiotika-resistente Bakterien mit einem positiven Zusammenhang zu dem Vorkommen eines untersuchten Antibiotikums..	108

Abkürzungsverzeichnis

3GCR	Resistenz gegen Cephalosporine der 3. Generation
AbwAG	Abwasserabgabengesetz
ACC	<i>Accuracy rate</i> (dt. Genauigkeitsrate)
AR	Antibiotika(rückstände)
ARB	Antibiotika-resistente Bakterien
ARG	Resistenzgene
ARS	Antibiotikaresistenz-Surveillance in der Humanmedizin
BadeGewVO	Badegewässerverordnung
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BVL	Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
CAESAR	<i>Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance</i> (dt. Überwachung der Resistenz gegen antimikrobielle Mittel in Zentralasien und Osteuropa)
ColR	Colistinresistenz
CPE	Carbapenemase-produzierende(r) Erreger
CRE	Carbapenem-reistente(r) Erreger
DALY	<i>Disability-adjusted life years</i> (dt. behinderungsangepasste Lebensjahre)
DART	Deutsche Antibiotika-Resistenzstrategie
DDD	<i>Defned daily doses</i> (dt. defnierte Tagesdosen)
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (dt. Desoxyribonukleinsäure)
DWA	Deutschen Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall

DWA-M	Deutschen Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall (DWA)-Merkblatt
EAEC	Enter aggregative <i>Escherichia coli</i>
EARS-Net	<i>European Antimicrobial Resistance Surveillance Network</i> (dt. Europäisches Netz für die Überwachung der Antibiotikaresistenz)
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i> (dt. Europäisches Zentrum für die Prävention und die Kontrolle von Krankheiten)
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i> (dt. Ethylendiamintetraacetat)
EG-WRRL	Europäische Wasserrahmenrichtlinie
ELWSAS	Elektronisches Wasserinformationssystem
EN	Europäische Norm
EPEC	Enteropathogene <i>Escherichia coli</i>
ErftVG	Erftverbandgesetz
ESBL	Erweitertes Spektrum Beta (β)-Laktamasen (engl. Extended Spectrum Beta (β)-Lactamases)
ESCMID	<i>European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases</i> (dt. Europäische Gesellschaft für klinische Mikrobiologie und Infektionskrankheiten)
EU-BadegewRL	Europäische Badegewässerrichtlinie
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i> (dt. Europäischer Ausschuss für die Prüfung der Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Mitteln)
EW	Einwohnergleichwert
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
EWR	Europäischer Wirtschaftsraum

FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> (dt. Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen)
FIB	Fäkale Indikator Bakterien
FKZ	Förderkennzeichen
GDWS	Generaldirektion Wasserstraßen und Schifffahrt
GERMAP	Bericht über die Entwicklung des Antibiotikaverbrauchs und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland
GIS	Geoinformationssystem
HGT	Horizontaler Gentransfer
HyReKA	Biologische bzw. hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern (BMBF, FKZ: 02WRS1377)
if	Infektiologie Freiburg
IFSG	Infektionsschutzgesetz
ISO	<i>International Organization for Standardization</i> (dt. Internationale Organisation für Normung)
KA	Kläranlage(n)
KBE	Koloniebildende Einheit
KEC	<i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Citrobacter</i> spp.
KHG	Krankenhaus-Kostendämpfungsgesetz
LAWA	Bund-Länder-Arbeitsgemeinschaft Wasser
LC	Liquid Chromatographie
LWG	Landeswassergesetz
MDR	<i>Multidrug-resistant</i> (dt. multiresistent)

MHQ	Mittlerer Hochwasserabfluss in m ³ /s
MULNV NRW	Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen
MNQ	Mittlerer Niedrigwasserabfluss in m ³ /s
MQ	Mittelwasserabfluss in m ³ /s
MRB	Multiresistente Bakterien
MRGN	Multiresistente Gram-negative Bakterien
NHN	Normalhöhennull; Bezugsfläche für die Angabe von Höhen über dem Meeresspiegel in Deutschland
NPV	<i>Negative predicted value</i> (dt. Negativer vorhergesagter Wert)
NRZ	Nationale Referenzzentren
PBE	Plauebildende Einheit
PBP	Penicillin-Binde-Protein
PDR	<i>Pandrug-resistant</i> (dt. panresistent); Nicht-Empfindlichkeit gegenüber allen antimikrobiellen Mitteln in allen antimikrobiellen Kategorien
PEG	Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V.
PNEC	<i>predicted no effect concentration</i> (dt. vorhergesagte Konzentration ohne Wirkung)
PPV	<i>Positive predicted value</i> (dt. Positiver vorhergesagter Wert)
QMRA	<i>Quantitative microbial risk assessment</i> (dt. Quantitative mikrobielle Risikobewertung)
RBF	Retentionsbodenfilter
RIVM	<i>Dutch National Institute for Public Health and the Environment</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> (dt. Ribonukleinsäure)
SARI	Surveillance der Antibiotika-Anwendung und bakteriellen Resistenzen auf Intensivstation
SOP	<i>Standard Operating Procedure</i> (dt. Standardarbeitsanweisung)

TRBA	Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe
UFZ	Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung
UKB	Universitätsklinikum Bonn
UNICEF	<i>United Nations International Children's Emergency Fund</i> , seit 1953: <i>United Nations Children's Fund</i>
WHG	Wasserhaushaltsgesetz
WHO	<i>World Health Organisation</i> (dt. Weltgesundheitsorganisation)
WIdO	Wissenschaftlichen Instituts der AOK
XDR	<i>Extensively drug-resistant</i> (dt. weitgehend arzneimittelresistent)

1 Einleitung

1.1 Ziel der Arbeit

In dem durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Verbundprojekt „Biologische bzw. hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern“ (HyReKA, FKZ 02WRS1377) wurde neben anderen Fallbeispielen die hygienisch-mikrobielle Belastung von Abwässern mit und ohne Einfluss von Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen untersucht. Dies geschah insbesondere in Bezug auf Antibiotika-resistente Bakterien (ARB).

Im Fallbeispiel Klinik (klinisch-urbanes Untersuchungsgebiet) wurden Untersuchungen beginnend im Abwasser der Patientenzimmer, über das Hausabwasser, Abwasser der Klinik, Abwasser des Siedlungsgebietes, Einleitung in die Kläranlage bis zur Einleitung in den Vorfluter durchgeführt. Das Fallbeispiel Klinik bot die Möglichkeit, vergleichend städtische Abwässer mit und ohne den Einfluss von Krankenhausabwasser zu untersuchen.

Im Fallbeispiel kommunale Abwässer und Oberflächengewässer wurden die Zu- und Abläufe verschiedener Kläranlagen in Fließrichtung eines Fließgewässers sowie an verschiedenen Stellen des Gewässers vor und nach Einleitung der Kläranlagen untersucht. In diesem Untersuchungsgebiet (ländlich-kommunales Untersuchungsgebiet) sind keine Krankenhäuser oder größeren medizinische Einrichtungen vorhanden.

Im Rahmen des Dissertationsprojektes sollen das Vorkommen und die Abundanz von Gram-negativen Antibiotika-resistenten Bakterien untersucht und dargestellt werden und eine mögliche Verbindung zum Vorkommen von antibiotisch wirkenden Substanzen in den Matrices Oberflächenwasser und Abwasser analysiert werden. Dazu werden theoretische und methodische Grundlagen aus den Fachbereichen Geographie, Medizin und Mikrobiologie verwendet, indem die Umwelt und die darin befindlichen Mikroorganismen betrachtet werden und Rückschlüsse auf die Gefährdung des Menschen gezogen werden. Die Inter- und Transdisziplinarität der in dieser Arbeit betrachteten Forschungsfragen mit den daraus resultierenden Ergebnissen liefert einen Beitrag zur Medizinischen Geographie.

Forschungsfragen im Überblick:

1. Wie lassen sich Gram-negative Antibiotika-resistente Bakterien in der aquatischen Umwelt nachweisen?
 - a. Methodenentwicklung
 - b. Qualitätscharakteristika
 - c. Anwendbarkeit der Methode für unterschiedliche Wassermatrizes
2. Vorkommen und Abundanz von Gram-negativen Antibiotika-resistenten Bakterien und antibiotisch wirkenden Substanzen in der aquatischen Umwelt.
 - a. Welchen Einfluss haben Krankenhäuser auf die Verbreitung Gram-negativer Antibiotika-resistenter Bakterien im Abwasser?
 - b. Welchen Einfluss haben kommunale Kläranlagen und Mischwasserentlastungen auf die Verbreitung von Gram-negativen Antibiotika-resistenten Bakterien und antibiotisch wirkenden Substanzen?
 - c. Welches Untersuchungsgebiet zeigt eine höhere Abundanz von Antibiotika-resistenten Bakterien und welche Charakteristika können verantwortlich sein?
3. Weisen die Isolate Unterschiede hinsichtlich der Resistenzcharakteristika auf?
 - a. Mono- oder Multiresistenzen?
 - b. Gibt es Unterschiede zwischen den Abwasserpfaden?
4. Gelten für resistente Bakterien andere Absterbe- bzw. Rückhaltemechanismen innerhalb der Abwasseraufbereitung in den Kläranlagen als für nicht-resistente Bakterien?
5. Gibt es Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen von Antibiotika-resistenten Bakterien und antibiotisch wirkenden Substanzen?
 - a. Zusammenhänge in der Matrix Abwasser
 - b. Zusammenhänge in der Matrix Oberflächengewässer
6. Welches potentielle Risiko besteht für die Verbreitung in der aquatischen Umwelt sowie für die Übertragung auf Menschen?

1.2 Antibiotika und Resistenzen

Antibiotika finden in der Humanmedizin und Intensivtierhaltung breite Anwendung. Über natürliche Ausscheidung von Mensch und Tier sowie unsachgemäße Entsorgung gelangen Antibiotika wie zahlreiche andere Arzneimittel in die Umwelt. Der Nachweis und die Verbreitung von Antibiotika(rückständen) (AR), Antibiotikaresistenten Bakterien und ihren Resistenzgenen in der aquatischen Umwelt sind von Interesse für die breite Öffentlichkeit, die Umweltwissenschaft und die politische Diskussion.

Im Jahr 1928 wurde von Alexander Fleming die antibiotische Wirkung des Schimmelpilzes *Penicillium notatum* entdeckt (Fleming, 1929). Florey und Chain entwickelten 1941 eine Methode zur Aufreinigung des Penicillins, so dass dieses anschließend erfolgreich bei Patienten zur Bekämpfung pathogener bakterieller Erreger eingesetzt werden konnte (Chain et al., 2005). Seither wurden viele weitere Antibiotika entwickelt. Die Möglichkeit, zuvor lebensbedrohliche, bakterielle Infektionen zu behandeln, führte zu einem Anstieg der allgemeinen Lebenserwartung und zu Fortschritten in der Human- und Tiermedizin (Adedeji, 2016).

1.2.1 Antibiotikaklassen

Antibiotika sind Substanzen, die einen hemmenden Einfluss auf den Stoffwechsel von Bakterien haben und so deren Vermehrung verhindern. Antibiotika werden zur lokalen oder systemischen Therapie bakterieller Infektionskrankheiten verwendet. Einige Substanzklassen kommen auch als Immunsuppressiva oder Zytostatika zum Einsatz.

Zähler und Maas (1972) definieren Antibiotika in der Biologie als Substanzen biogenen Ursprungs, die eine selektive Toxizität gegenüber anderen Organismen aufweisen. Dieser Definition nach sind etliche weitere Toxine höherer Organismen ebenfalls als Antibiotika zu betrachten (z.B. Ricin, Colchicin) (Dingermann et al., 2013).

Im engeren Sinn gehören zu den Antibiotika nur solche Stoffe, die spezifisch gegen prokaryotische Organismen wirken. Dabei werden *Archaea* ausgeschlossen, da unter den *Archaea* keine pathogenen Arten bekannt sind und sie strukturelle und physiologische Unterschiede zu den Bakterien aufzeigen. Für Infektionen mit anderen Mikroorganismen existieren andere Wirkstoffgruppen, wie Virostatika bei Viren, Antimykotika bei Pilzen, Antiprotozoika bei Protozoen und Antihelminthika bei

Würmern. Sie gehören zusammen mit den Antibiotika zu der Gruppe der Antiinfektiva (Herdegen et al., 2013).

Antibiotika lassen sich auf verschiedene Weise unterteilen: Anhand der chemischen Struktur, anhand der Wirksamkeit oder nach dem Wirkungsort bzw. dem Wirkmechanismus. Unter Betrachtung des Wirkmechanismus lassen sich Antibiotika in folgende Gruppen einteilen: Zu den Antibiotika, die (1) die Zellwandsynthese hemmen, zählen Beta(β)-Laktam-Antibiotika und Glykopeptid-Antibiotika. Die β -Lactam-Antibiotika sind eine Gruppe von Antibiotika, die in ihrer Strukturformel einen viergliedrigen Lactam-Ring aufweisen. Sie wirken bakterizid, indem sie die Synthese von Peptidoglycan (Murein) bei der Zellteilung hemmen. Unterschiede in der Wirksamkeit dieser Gruppe begründen sich unter anderem durch Unterschiede in ihrer Affinität und Penetrationsfähigkeit. Man unterscheidet vier Gruppen von β -Lactam-Antibiotika: (a) Penicilline, (b) Cephalosporine, (c) Carbapeneme und Monobactame und (d) die sogenannten β -Lactamase-Inhibitoren (Dax, 1997).

Eine weitere Gruppe bilden Antibiotika, (2) die Interferenzen mit dem bakteriellen Erbgut bilden. Dazu zählen Chinolone, Nitroimidazol-Derivate und Rifampicin (Dax, 1997).

Ein weiterer Wirkmechanismus ist (3) die Hemmung der bakteriellen Proteinbiosynthese. Dazu zählen Makrolide, Lincosamide, Ketolide, Tetrazykline, Aminoglykoside, Oxazolidinone, Chloramphenicol, Lipopeptide und Pleuromuline. Sulfonamide und Trimethoprim (4) interferieren mit der Tetrahydrofolsäure-Synthese (Dax, 1997).

1.2.2 Einsatz von Antibiotika

In Deutschland wurden im Jahre 2011 700-800 Tonnen Antibiotika im humanmedizinischen Bereich eingesetzt, wobei 80 % im ambulanten und 20 % im stationären Bereich verabreicht wurden (Kresken et al., 2011).

Das Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) weist in seinem Newsletter vom September 2016 darauf hin, dass der Antibiotikaeinsatz in der Landwirtschaft rückläufig ist. In Deutschland hat sich demnach die Menge der von pharmazeutischen Unternehmen und Großhändlern an Tierärzte abgegebenen Antibiotika zwischen den Jahren 2011 und 2015 von 1.706 auf 805 Tonnen etwa halbiert. Allein von 2014 zu 2015 ging die Menge der abgegebenen Antibiotika um 433 Tonnen zurück. In der europäischen Union (EU) bzw. dem europäischen Wirtschaftsraum (EWR) wurden im Jahr 2019 durchschnittlich 19,4 definierte Tagesdosen (engl.

Defined Daily Doses, DDD) systemisch angewendete Antibiotika pro 1.000 Einwohner verabreicht (ECDC, 2020).

Mit dem Antibiotika-Resistenzaltas „GERMAP – Antibiotika-Resistenz und – Verbrauch“ wurde zum ersten Mal 2008 ein Bericht herausgegeben, der Daten aus der Human- und der Tiermedizin, sowohl zum Antibiotikaverbrauch als auch zur Verbreitung von Antibiotikaresistenzen, verbindet. Zusammengetragen, erstellt und herausgegeben werden die Berichte gemeinsam von der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V. (PEG), der Infektiologie Freiburg (if) und dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL).

Mit GERMAP 2015 (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016) stand zum vierten Mal eine Zusammenfassung von Daten über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland zur Verfügung. Die wichtigste z.Zt. verfügbare Datenquelle für die Darstellung des Antibiotikaverbrauchs im Krankenhaus, für die Ausgabe 2015, war das ADKA-if- DGI-Surveillance-Projekt. Die Verbrauchsdichte im stationären Sektor zeigte in den dargestellten Jahren einen Anstieg gegenüber den Auswertungen der Jahre zuvor. Dabei zeigten im Zeitraum 2013 und 2014 nichtuniversitäre Akutkrankenhäuser, (unabhängig von der Bettenanzahl) im Median einen Verbrauch von 59 DDD/100 Pflage tage und Universitätsklinika von 84 DDD/100 Pflage tage. Die im Krankenhaus am häufigsten verordneten Antibiotika im Jahr 2014 waren β -Lactame und Fluorchinolone. Die Verbrauchsdichte auf Intensivstationen war dabei mindestens doppelt so hoch wie auf Normalstationen (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016).

Die Gesamtmenge der im humanmedizinischen Bereich in Deutschland für die Jahre 2013 und 2014 eingesetzten Antibiotika betrug 700-800 Tonnen/Jahr (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016). Das Verordnungsvolumen im ambulanten Bereich, hochgerechnet auf die Bevölkerung Deutschlands, machte 2014 ca. 85 % des Gesamtverbrauches in der Humanmedizin aus, welcher sich damit nach den Angaben von Kresken et al. (2011) um 5 % erhöht hat. Für das Jahr 2014 stellt der Bericht GERMAP 2015 nach den Angaben des Wissenschaftlichen Instituts der AOK (WiDo) dar, dass ca. 45 Mio. Verordnungen von Antibiotika mit 448 Mio. DDD aus dem Bereich der gesetzlichen Krankenversicherung stammen. Die Verordnungsdichte im Jahr 2014 lag, laut GERMAP 2015, bei 17,4 DDD/1.000 Versicherte und Tag und zeigt damit ein seit 2005 im Wesentlichen un-

verändertes Niveau. Das Verordnungsvolumen bei den β -Lactam-Antibiotika mit erweitertem Spektrum (Oralcephalosporine, Aminopenicillin/ β -Lactamase-Inhibitor-Kombinationen und Flucloxacillin) hat sich in den Jahren 2004 bis 2014 mehr als verdoppelt (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016). Es gibt große regionale Unterschiede, mit einem deutlich höheren Verbrauch von β -Lactam-Antibiotika in den westlichen als in den östlichen Bundesländern.

Innerhalb Deutschlands wurden große regionale Unterschiede beim Antibiotikaverbrauch explizit erstmals für 2001 ausgewertet (Günther et al., 2003). In den alten Bundesländern verordneten Ärzte deutlich mehr Antibiotika als in den neuen Bundesländern. Diese regionalen Unterschiede haben sich seither nicht wesentlich verändert. Im Jahr 2005 variierten die Verordnungsdichten in den alten Bundesländern zwischen 17,2 DDD/1.000 Einwohner /Tag (Bayern) und 22,2 DDD/1.000/Tag (Saarland), und lagen damit deutlich über denen der neuen Bundesländer (12,5 bis 14,8 DDD/1.000 Einwohner/Tag) (Augustin et al., 2015; Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2014; de With et al., 2004; Glaeske et al., 2008; Kern et al., 2006).

Im jährlichen *„Antimicrobial consumption report“* stellt das ECDC aus Daten aller EU-Mitgliedstaaten sowie Island und Norwegen Daten zum Verbrauch antimikrobieller Mittel zusammen. Im Jahr 2019 lag der durchschnittliche Gesamtverbrauch (ambulanter und Krankenhaussektor zusammen) von Antibiotika zur systemischen Anwendung im EWR bei 19,4 DDD/1.000 Einwohner/Tag, wobei die Spanne von 9,5 in den Niederlanden bis 34,1 in Griechenland reichte. Im Zeitraum 2010-2019 wurde für die genannten Länder insgesamt ein statistisch signifikanter Rückgang beobachtet (ECDC, 2020). Für den Verbrauch von Antibiotika zur Behandlung von Patienten, die mit nosokomialen Antibiotika-resistenten Bakterien infiziert sind, berichtet das ECDC, dass der bevölkerungsgewichtete europäische Mittelwert des Verbrauchs von Piperacillin-Tazobactam für den Zeitraum 2010-2019 einen statistisch signifikant steigenden Trend zeigte (ECDC, 2020). Im Jahr 2019 lag der Verbrauch von Carbapenemen bei 0,04 DDD/1 000 Einwohner/Tag. Ein statistisch signifikanter Anstieg wurde für 11 Länder beobachtet (Bulgarien, Dänemark, Estland, Griechenland, Kroatien, Litauen, Malta, Niederlande, Polen, Slowakei, Ungarn) (ECDC, 2020). Während des Zeitraums 2010-2019 zeigten nur Norwegen und Portugal einen statistisch signifikanten Abwärtstrend. Der bevölkerungsgewichtete europäische Mittelwert des Verbrauchs von antimikrobiellen Mitteln zur Behandlung von

Infektionen, mit multiresistenten Gram-positiven Bakterien (wie Linezolid, Daptomycin und Tigecyclin), zeigte für den Zeitraum 2010-2019 einen statistisch signifikant steigenden Trend. Für mehr als die Hälfte der Länder konnte jedoch ein statistisch signifikanter Rückgang des Verbrauchs dieser antimikrobiellen Mittel gezeigt werden (ECDC, 2020).

1.2.3 Antibiotika-Resistenzen

Bakterien haben zahlreiche Mechanismen entwickelt, um sich vor der Wirkung von antibiotisch wirkenden Substanzen zu schützen. Bereits 1940 wurden erste Resistenzen gegen Penicillin entdeckt (Abraham and Chain, 1940). Die Anwendung von Antibiotika in der Human- und Tiermedizin führt zu dem Auftreten von Antibiotika-resistenten Bakterienstämmen. Der Grund dafür ist, dass Bakterien, die durch horizontalen Gentransfer oder Mutationen Resistenzen erworben haben, einen Selektionsvorteil haben, wenn Antibiotika eingenommen werden (Read and Woods, 2014; zur Wiesch et al., 2011). Die Evolution der Bakterien wird dabei stark vorangetrieben, insbesondere, wenn Antibiotika falsch verschrieben oder subklinische Mengen eingenommen werden (Austin et al., 1999).

Antibiotikaresistenzmechanismen können in vier Kategorien eingeteilt werden: (1) Inaktivierung von Antibiotika, (2) Veränderung der Zielstruktur, (3) aktiver Efflux der Antibiotika aus der Zelle und (4) Permeabilitätsänderungen in der äußeren Zellwand. Antibiotika können allgemein durch Prozesse wie Hydrolyse, Gruppentransfer und Redoxreaktionen inaktiviert werden. Zu den hydrolytischen Enzymen gehören unter anderem β -Laktamasen und erweiterte Spektrum β -Laktamasen (engl. Extended Spectrum β -Lactamases, ESBL) (Egorov et al., 2018). Die Resistenzen gegen β -Lactam-Präparate stellen inzwischen ein ernsthaftes Problem dar. Hierbei sind drei Resistenzmechanismen zu unterscheiden: unempfindliche Penicillin-Bindeproteine, Membranveränderungen und die Bildung von β -Laktamasen. β -Laktamasen sind von den Bakterien gebildete Enzyme, die den β -Lactam-Ring der Antibiotika öffnen und die Substanz so unwirksam machen (Imming, 1989).

Zu den Modifikationen von Zielstrukturen in Bakterien zählen Veränderungen des Peptidoglykans, wie Mutationen im Penicillin-Binde-Protein (PBP), die dazu führen, dass die Affinität von β -Lactam-Antibiotika abnimmt und diese somit nicht richtig wirken können (Beceiro et al., 2013).

Auch Vancomycin kann durch die Veränderung der Peptidoglykanstruktur unwirksam werden. Antibiotika, welche in ihrer antibiotischen Wirkung die 50S- oder 16S-Untereinheiten des Ribosoms, die DNA-Gyrase oder RNA-Polymerase inhibieren, können ebenfalls durch Mutationen in dieser Zielregionen unwirksam werden (Spratt, 1994).

Das aktive Ausscheiden von antibiotisch wirkenden Substanzen durch Efflux-Pumpen macht Mikroorganismen gleichzeitig resistent gegen verschiedene Antibiotikaklassen (Harbarth, 2007; Heinrichfreise, 2006; Nikaido, 2001; Van Looveren et al., 2004). Die Veränderung der Permeabilität der äußeren Membran von Gram-negativen Bakterien sorgt dafür, dass Antibiotika nicht in die Zelle eintreten können. Auch hier kommt es daher häufig zu einer Resistenz gegen mehrere Antibiotika gleichzeitig (Zgurskaya et al., 2015).

Der Einsatz von Antibiotika erzeugt einen Selektionsdruck auf Bakterien, der resistente Bakterien begünstigt, die sich dann vermehren und ggf. Resistenzgene durch horizontalen Gentransfer (HGT) weitergeben (Burmeister, 2015). HGT erfolgt auf drei verschiedene Arten: (1) Aufnahme von genetischem Material aus der Umwelt (Transformation); (2) direkter Transfer von genetischem Material von einer Zelle in eine andere (Konjugation); oder (3) Bewegung von genetischem Material von einer Zelle in eine andere über einen Bakteriophagenvektor (Transduktion) oder andere zellfreie DNA-Mechanismen (Burmeister, 2015). Es gibt eine Vielzahl von mobilen genetischen Elementen (z.B. Plasmiden und Integronen), die die gemeinsame Nutzung von Resistenzen unter Bakterien ermöglichen. Hotspots für HGT und Resistenzselektion entstehen durch eine Kombination von Bedingungen, die das Bakterienwachstum und den Gentransfer begünstigen, wie z.B. hohe Zelldichten, Verfügbarkeit von Nährstoffen und hohe Konzentrationen von Schadstoffen (Smalla et al., 2018). Außerdem wird angenommen, dass Biofilme wichtige Resistenzgen-Reservoirs sind, die eine Vermehrung von Antibiotika-resistenten Bakterien in aquatischen Umgebungen begünstigen (Abe et al., 2020).

Seit der Entdeckung des Penicillins hat die Zahl der Antibiotika-resistenten Bakterien stetig zugenommen. Ein Anstieg der Resistenzen bei Stagnation der Einführung neuer Antibiotika in der Medizin ist vor allem bei Infektionen mit Gram-negativen Bakterien kritisch (Walsh, 2010). Die Weltgesundheitsorganisation (engl. *World Health Organisation*, WHO) spezifizierte Antibiotika-resistente Bakterien als eine ernsthafte Bedrohung für die moderne Medizin (WHO, 2014).

Aufgrund ihrer Virulenz und Resistenzfähigkeiten priorisiert die WHO Bakterien-Arten in drei Klassen. Zur Priorität „kritisch“ gehören z.B. Carbapenem-resistente *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Enterobacterales*, zur Priorität „hoch“ gehören Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium* und Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus pneumoniae* resistent gegen Penicillin wird in die Priorität „mittel“ eingestuft (WHO, 2017). Alle genannten Bakterienarten sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Einteilung verschiedener Pathogene gegen die Antibiotika entwickelt werden sollten. Eingeteilt sind diese anhand des Faktors Gefährlichkeit in drei Kategorien (WHO, 2017).

Priorität: Kritisch	Priorität: Hoch	Priorität: Mittel
<i>Acinetobacter baumannii</i> , Carbapenem-resistent	<i>Enterococcus faecium</i> , Vancomycin-reistent	<i>Streprococcus pneumoniae</i> , Penicillin-resistent
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , Carbapenem-resistent	<i>Staphylococcus aureus</i> , Methicillin-resistent, Vancomycin intermediär und resistent	<i>Haemophilus influenza</i> , Ampicillin-resistent
<i>Enterobacteriaceae</i> Carbapenem-resistent, ESBL produzierend	<i>Helicobacter pylori</i> , Clarythromycin-resistent <i>Campylobacter</i> spp., Fluoroquinolon-resistent <i>Salmonellae</i> , Fluoroquinolon -resistent <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , Chepalosporin-resistent, Fluoroquinolon-resistent	<i>Shigella</i> spp., Fluoroquinolon-resistent

Die in Tabelle 1 genannten Bakterien, die in dieser Arbeit anhand der Verbreitung in der Umwelt untersucht wurden, sind *A. baumannii* und *P. aeruginosa* (3. Generation Cephalosporin-resistent, 3GCR). Von den *Enterobacteriaceae* wurden ESBL-produzierende *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. *Enterobacter* spp. und *Citrobacter* spp. untersucht.

Acinetobacter spp.

Die Gattung *Acinetobacter* sind Gram-negative, Oxidase-negative und Katalase-positive Bakterien. Die Gattung besteht aus einer großen Anzahl von Arten, die in zwei Komplexe unterteilt werden können: den *Acinetobacter baumannii*-Komplex, als Gruppe, die die meisten krankheitsverursachenden Arten (*A. baumannii*, *A. pittii* und *A. nosocomialis*) umfasst, und die im Allgemeinen weniger pathogene *Acinetobacter non-baumannii*-Gruppe (Bouvet and Grimont, 1986). Die zur *Acinetobacter baumannii*-Gruppe gehörenden Spezies sind opportunistische Erreger, die in erster Linie mit therapieassoziierten Infektionen wie beatmungsassoziiertes Pneumonie, zentralleitungsassoziierten Blutstrominfektionen, Harnwegsinfektionen und Wundinfektionen assoziiert sind (Bergogne-Berezin and Towner, 1996; Fournier et al., 2006). Zu den Risikofaktoren für eine Infektion gehören fortgeschrittenes Alter, das Vorliegen einer schweren Grunderkrankung, Immunsuppression, schwere Traumata oder Verbrennungen, invasive Eingriffe, das Vorhandensein von Dauerkathetern, mechanische Beatmung, ein längerer Krankenhausaufenthalt und die vorherige Verabreichung von Antibiotika (Bergogne-Berezin and Towner, 1996). *Acinetobacter* spp., die zum *A. baumannii*-Komplex gehören, sind aufgrund ihrer selektiven Fähigkeit, verschiedene Moleküle am Eindringen in ihre äußere Membran zu hindern, intrinsisch resistent gegen die meisten antimikrobiellen Wirkstoffe. Zu den antimikrobiellen Gruppen, die aktiv bleiben, gehören einige Fluorchinolone (z.B. Ciprofloxacin und Levofloxacin), Aminoglykoside (z. B. Gentamicin, Tobramycin und Amikacin), Carbapeneme (Imipenem und Meropenem), Polymyxine (Colistin und Polymyxin B) und möglicherweise Sulbactam und Tigecyclin. Erworbene Resistenz resultiert aus Mutationsveränderungen im Chromosom und dem Erwerb von Plasmid-vermittelten Resistenzgenen (Van Looveren et al., 2004).

Nach Auswertungen des ECDC für das Jahr 2013 zeigt die Antibiotikaresistenz bei *Acinetobacter* spp. große regionale Unterschiede in Europa, wobei generell sehr hohe Resistenzprozentsätze aus Südeuropa und niedrigere Prozentsätze in Nordeuropa gemeldet werden. Die kombinierte Resistenz gegen Fluorchinolone, Aminoglykoside und Carbapeneme konnte in 12 von 23 Ländern festgestellt werden, die Empfindlichkeitsergebnisse für 10 oder mehr Isolate meldeten (ECDC, 2014).

Im Jahr 2018 waren bei den Isolaten, die an das EARS-Net gemeldet wurden, mehr als die Hälfte (56,4 %) gegen mindestens eine der antimikrobiellen Gruppen, die regelmäßig überwacht werden (definiert durch das European Committee on Antimicrobial

Susceptibility Testing; EUCAST), resistent. Die Resistenz gegen eine oder zwei antimikrobielle Gruppen war deutlich seltener als die kombinierte Resistenz gegen alle drei Gruppen unter Überwachung. Für alle antimikrobiellen Gruppen wurden große Unterschiede zwischen den Ländern festgestellt, wobei aus Süd- und Osteuropa generell höhere Resistenzprozentätze gemeldet wurden als aus Nordeuropa (ECDC, 2019a).

Pseudomonas spp.

Unter den Pseudomonaden ist *P. aeruginosa* der wichtigste humanpathogene Vertreter (Hof and Dörties, 2002). *P. aeruginosa* ist ein nicht-fermentierender, opportunistischer, Gram-negativer Krankheitserreger, der sowohl in der Umwelt als auch im klinischen Umfeld nahezu ubiquitär vorkommt (Lister et al., 2009). Als opportunistischer Erreger ist es als eine Hauptursache für Infektionen bei hospitalisierten Patienten mit lokalisierter oder systemischer Beeinträchtigung der Immunabwehr bekannt. Es verursacht häufig therapieassoziierte Pneumonien (einschließlich beatmungsassoziiierter Pneumonie), Blutbahninfektionen und Harnwegsinfektionen (Lister et al., 2009). *P. aeruginosa* ist intrinsisch resistent gegen eine Vielzahl von antimikrobiellen Wirkstoffen, da es selektiv verschiedene Antibiotika-Moleküle daran hindert, die äußere Membran zu durchdringen oder sie auszustoßen. Dies geschieht durch Modifikation antimikrobieller Targets, Efflux-Pumpen, reduzierte Permeabilität und abbauende Enzyme (Harbarth, 2007; Heinrichfreise, 2006).

Zu den antimikrobiellen Gruppen, die wirksam sind, gehören einige Fluorchinolone (z.B. Ciprofloxacin und Levofloxacin), Aminoglykoside (z.B. Gentamicin, Tobramycin und Amikacin), einige β -Laktame (z.B. Piperacillin-Tazobactam, Ceftazidim, Cefepim, Ceftolozan-Tazobactam, Ceftazidim-Avibactam, Imipenem, Meropenem, Doripenem) und Polymyxine (ECDC, 2019a).

Der Erreger wird als eine Belastung für die moderne Medizin beschrieben (WHO, 2017). *P. aeruginosa* wurde als "sechsthäufigster nosokomialer Erreger" in den USA gemeldet (Nguyen et al., 2018).

In Europa waren 32,1 % der für 2018 an das EARS-Net gemeldeten *P. aeruginosa*-Isolate gegen mindestens eine der regelmäßig überwachten antimikrobiellen Gruppen (Piperacillin \pm Tazobactam, Fluorchinolone, Ceftazidim, Aminoglykoside und Carbapeneme) resistent. Resistenz gegen zwei oder mehr der antimikrobiellen Gruppen war häufig und wurde bei 19,2 % aller getesteten Isolate beobachtet. Der bevölkerungsge-

wichtete Mittelwert für Europa für die Resistenz gegen mindestens drei der antimikrobiellen Gruppen ist zwischen 2015 und 2018 zurückgegangen (ECDC, 2019a).

Enterobacteriaceae

Die Familie *Enterobacteriaceae* ist eine große Gruppe Gram-negativer Bakterien die Teil der gesunden Darmflora von Menschen und Tieren sind; sie kommen außerdem überall in der Umwelt vor. Darunter sind einige Arten opportunistische Krankheitserreger und nosokomiale Erreger (Grimont and Grimont, 2006). Innerhalb der Gattung der ESBL-produzierenden *Enterobacteriaceae* wurden *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. und *Citrobacter* spp. untersucht.

E. coli und *Klebsiella* spp. sind ubiquitär in der Umwelt vorhanden. Einige Arten leben in Wasser und Boden, andere sind Teil der menschlichen Darmflora (Grimont and Grimont, 2006). Medizinisch relevante Arten der Gattung *Klebsiella* sind vor allem *K. pneumoniae* und *K. aerogenes* als Bewohner des Gastrointestinaltraktes sowie *K. oxytoca*, die in der Umwelt ubiquitär sind (Högenauer et al., 2006). Diese Bakterien sind anfällig für den Erwerb von Resistenzgenen. In den letzten Jahrzehnten kam es zu einem raschen Anstieg der Resistenz gegen Penicilline und Cephalosporine aufgrund der weltweiten Verbreitung von ESBL, zunächst bei *K. pneumoniae* und anderen *Klebsiella* spp., dann bei *E. coli* (Woerther et al., 2013).

Carbapeneme sind β -Lactam-Antibiotika mit einem breiten Wirkungsspektrum gegen Gram-negative Bakterien (einschließlich *Enterobacteriaceae*) und Gram-positive Bakterien. Carbapeneme sind aktiv gegen ESBL-produzierende *Enterobacteriaceae*. Bei hospitalisierten Patienten sind Carbapeneme daher häufig die Behandlung der Wahl bei Infektionen mit multiresistenten *Enterobacteriaceae* (ECDC, 2019b).

Resistenzen gegen Carbapeneme werden mit zunehmender Häufigkeit und geographischer Ausbreitung berichtet (Gupta et al., 2011; Munoz-Price et al., 2013). Carbapenem-resistente *Enterobacteriaceae* (CRE) können aufgrund verschiedener Mechanismen gegen Carbapeneme resistent sein, darunter am häufigsten durch den Erwerb von Carbapenemase-Enzymen, aber auch Kombinationen anderer Mechanismen können eine Carbapenem-Resistenz verursachen. Carbapenemasen sind eine heterogene Gruppe von Enzymen, die die meisten β -Lactame einschließlich Carbapeneme hydrolysieren können (Nordmann et al., 2011).

Trotz der in vielen europäischen Ländern niedrigen Anteile von Carbapenem-Resistenzen bei *K. pneumoniae* und *E. coli* in Isolaten aus Blut und Liquor dokumentierte eine 2018 durchgeführte Einschätzung epidemiologischer Studien, die alle Arten von Infektionen sowie die Verschleppung berücksichtigte, ein sich entwickelndes Muster der Ausbreitung von CRE in Europa (Brolund et al., 2019). Die Autoren beschreiben, dass 16 (43 %) der 37 teilnehmenden Länder eine regionale oder interregionale Ausbreitung von Carbapenemase-produzierenden Erregern (CPE) meldeten, vier Länder berichteten von einer endemischen Situation. Im Vergleich zu einer früheren Bewertung im Jahr 2015 meldeten 11 Länder ein höheres epidemiologisches Stadium von CPE, was auf eine zunehmende Ausbreitung zwischen 2015 und 2018 hindeutet (Brolund et al., 2019). Die Anzahl der Infektionsfälle für Europa im Jahr 2015 wurde auf 15.947 (Bereich 13.473-18.478) Infektionen mit Carbapenem-resistentem *K. pneumoniae* und 2.619 (Bereich 2.269-2.961) Infektionen mit Carbapenem-resistentem *E. coli* geschätzt (Cassini et al., 2019).

Als Krankheitserreger spielen *Citrobacter* spp. seltener eine Rolle, können aber bei Patienten mit geschwächtem Immunsystem als opportunistische Erreger Infektionen verursachen. Meistens handelt es sich dabei um nosokomiale Infektionen (Suerbaum et al., 2009).

Zur antimikrobiellen Therapie (Stand 2009) stehen bei Infektionen mit *Citrobacter koseri* Cefotaxim, Ceftriaxon und alternativ Ciprofloxacin und Levofloxacin zur Verfügung. *Citrobacter freundii* wird mit Imipenem, Meropenem, Ertapenem, Chinolonen oder Aminoglykosiden behandelt (Abele-Horn, 2010).

Enterobacter ist eine Gattung von Bakterien, die etwa 15 Arten umfasst. Vertreter der Gattung *Enterobacter* kommen in fast allen Lebensräumen einschließlich des menschlichen Darms vor (Grimont and Grimont, 2006). Aussagen zur Pathogenität von *Enterobacter* spp. sind schwierig, da sich die Systematik der Gattung beständig ändert. Mehrere Vertreter der Gattung spielen bei nosokomialen Infektionen eine Rolle, vor allem wenn sie gegen Antibiotika resistent sind (Grimont and Grimont, 2006). Durch Infektionen, die im Krankenhaus erfolgen, sind besonders immunsupprimierte Patienten gefährdet. *E. cancerogenus* (*E. taylorae*) wurde 1987 als Erreger bei einem Fall von Osteomyelitis, einer infektiösen Entzündung des Knochenmarks, beschrieben (Grimont and Grimont, 2006).

Die Spezies *E. asburiae*, *E. bugandensis*, *E. cancerogenus*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. ludwigii* und *E. cloacae* subsp. *cloacae* werden durch die Biostoffverord-

nung in Verbindung mit der TRBA (Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe) 466 der Risikogruppe 2 zugeordnet.

Enterobacter spp. besitzen eine intrinsische Resistenz gegen bestimmte β -Lactam-Antibiotika, da sie das Gen zur Produktion des Enzyms Cephalosporinase besitzen. Cephalosporinasen sind eine Untergruppe der β -Lactamasen, die den β -Lactam-Ring dieser Antibiotikagruppe aufspalten und sie so unwirksam machen. Bakterienstämme des *E. cloacae*-Komplexes sind dadurch resistent gegen Aminopenicilline und Cephalosporine der 1. Generation. Gegen Carboxypenicilline hingegen sind sie sensitiv (empfindlich), bei den Cephalosporinen der 2. Generation sind einige und bei den Cephalosporinen der 3. Generation die meisten Antibiotika wirksam (Grimont and Grimont, 2006). Durch Mutationen des *ampC*-Gens kann es zu einer Überexpression der in dem Bakterienchromosom codierten AmpC- β -Lactamase kommen und dadurch bedingt zur Resistenz gegen Cephalosporine höherer Generationen und Cephamicine wie Cefoxitin, Cefotetan und Cefmetazol kommen (Cooney et al., 2014).

1.2.4 Resistenzsituation in der Humanmedizin in Deutschland

Wie für die Auswertung zum Einsatz von Antibiotika in Deutschland, stellt der Antibiotika-Resistenzaltas „GERMAP – Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch“ auch für die Resistenzsituation eine zusammenfassende Datenquelle dar. Das Datenmaterial, welches in GERMAP 2015 zur Bestimmung der Resistenzsituation ausgewertet wurde, stammt größtenteils aus Studien der Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie (PEG), sowie aus den laborgestützten *Surveillance*-Systemen ARS, SARI und EARS-Net. Darüber hinaus wurden die Resistenzdaten der Nationalen Referenzzentren (NRZ) zur Überwachung wichtiger Infektionserreger analysiert.

Seit der Veröffentlichung des ersten GERMAP-Berichtes mit Angaben zur Resistenzsituation bis zu den Jahren 2006/2007 hat sich die Resistenzsituation verändert.

Bei den *E. coli*-Isolaten aus dem stationären Bereich hat sich der Trend zur Zunahme der Resistenz gegen die häufig zur kalkulierten Therapie verwendeten Antibiotikagruppen (z.B. Piperacillin/Tazobactam, Cephalosporine, Fluorchinolone) nicht weiter fortgesetzt. Nach den Angaben der PEG-Resistenzstudie lag der Anteil der Stämme, die ESBL bilden, im Jahr 2010 bei 17,4 % und im Jahr 2013 bei 14,9 %. In beiden Jahren war die dominierende ESBL das Enzym CTX-M-15 mit einem Anteil von jeweils über 50 %. Das Enzym CTX-M-1 wird als zweithäufigstes Enzym bei ESBL-produzierenden *E. coli* nachgewiesen. Das Resistenzniveau bei den Fluorchi-

nolonen liegt in einem so großen Bereich, dass diese nur bedingt zur Therapie von Infektionen bei Verdacht einer Beteiligung von *E. coli* verwendet werden können. Resistenzen gegenüber Carbapenemen bei *E. coli* sind eher selten (< 1 %), weshalb diese weiterhin in der Therapie lebensbedrohlicher Infektionen mit *E. coli* eingesetzt werden können (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016). Die Resistenzhäufigkeit gegen Tigecyclin und Colistin liegt auch in der letzten Auswertung 2015 unter 1 % (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016). Allerdings sollte nach GERMAP 2015 die Verbreitung der Colistin-Resistenz nach dem Auftreten von Isolaten mit einem Plasmid-kodierten Resistenzmechanismus in verschiedenen Regionen einschließlich Deutschland weiter beobachtet werden. Das Resistenzniveau im ambulanten Bereich ist im Allgemeinen niedriger als im stationären Bereich, aber auch dort sind ESBL-produzierende und Fluorchinolon-resistente *E. coli* verbreitet (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016).

In der Bevölkerung sind bis zu 7 % der Personen mit ESBL-produzierenden Bakterien besiedelt (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016). Die Therapie von *K. pneumoniae*-Infektionen wird auch in Deutschland durch das Auftreten ESBL-produzierender Stämme eingeschränkt, die zumeist nicht nur gegen Cephalosporine, sondern häufig auch gegen zahlreiche andere Antibiotika (z.B. Piperacillin/ Tazobactam, Fluorchinolone, Gentamicin) resistent sind. CTX-M-15 ist auch hier die dominierende ESBL (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016). Nach den Angaben der PEG-Resistenzstudie hat sich die ESBL-Rate im Zeitraum 2010-2013 von 14,7 % auf 17,4 % erhöht.

Bei *P. aeruginosa* konnten Unterschiede im Resistenzniveau zwischen den Isolaten von Patienten aus dem Intensivpflegebereich und solchen von Patienten von Allgemeinstationen beobachtet werden. Die Resistenzsituation bei den gegen *P. aeruginosa* wirksamen Antibiotika war in den Jahren bis 2014 entweder unverändert oder stellte sich sogar günstiger dar als in den Auswertungen zuvor (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016; Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2014).

Demgegenüber hat die Resistenzhäufigkeit bei *A. baumannii* gegenüber Carbapenemen inzwischen ein Niveau von 30 % erreicht (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016).

1.2.5 Bewertung der Resistenzen

Die Bewertung von Resistenzen bei Gram-negativen Bakterien wird international unterschiedlich durchgeführt. In der internationalen Literatur haben sich die Begriffe *multidrug-resistant* (MDR), *extensively drug-resistant* (XDR) und *pandrug-resistant* (PDR) etabliert (Magiorakos et al., 2012). Für Deutschland hat die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am Robert Koch Institut (KRINKO) 2012 eine Empfehlung veröffentlicht, wie multiresistente Gram-negative Stäbchen in Bezug auf ihre Resistenzcharakteristika bewertet werden sollen. Eine Multiresistenz wurde zuvor alleine an der ESBL-Bildungsfähigkeit festgemacht. Die KRINKO hat sich entschlossen, eine Definition zu schaffen, die diejenigen Therapeutika zu Grunde legt, die primär bei schweren Infektionen angewendet werden (KRINKO, 2012).

Festgelegt wurden vier Antibiotikaklassen mit unterschiedlichen Leitsubstanzen. Anhand der Anzahl an vorkommenden Resistenzen gegen diese Leitsubstanzen wurden die Bezeichnungen 3MRGN bzw. 4MRGN eingeführt (Multiresistente Gram-negative Stäbchen mit Resistenz gegen drei bzw. vier der definierten Antibiotikaklassen).

1. Klasse: Acylureidopenicilline; Leitsubstanz Piperacillin
2. Klasse: 3./4. Generation Cephalosporine; Leitsubstanz Cefotaxim und/oder Ceftazidim
3. Klasse: Carbapeneme; Leitsubstanz Imipenem und/oder Meropenem
4. Klasse: Fluorchinolone; Leitsubstanz Ciprofloxacin

In einer Ergänzung aus dem Jahr 2019 wurde die Klassifikation überarbeitet und in einigen Punkten geändert. Hintergrund zu der Ergänzung war die Neudefinition der Kategorie „I“ (intermediär) durch das *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST). Danach berücksichtigen die Bewertungen "S" (sensibel) und "I" ab dem 1.1.2019 mit Inkrafttreten der neuen EUCAST-Grenzwerte auch Aspekte der Dosierung bzw. der am gewünschten Wirkort erreichbaren Konzentrationen der entsprechenden Substanzen. Das neue "I" bedeutet "sensibel bei erhöhter (*Increased*) Exposition" und "S" bedeutet "sensibel bei normaler Exposition". "R" bedeutet weiterhin "resistent". Außerdem wird ein Isolat, welches genotypisch eine Carbapenemase besitzt, unabhängig von der phänotypischen Resistenz gegen die getesteten Antibiotika als 4MRGN eingestuft (KRINKO, 2019).

1.2.6 Strategien gegen Antibiotikaresistenzen

Antibiotika-Resistenzen sind von großer wissenschaftlicher und gesellschaftlicher Bedeutung. So gibt es inzwischen eine Vielzahl von Initiativen (u.a. DART, EARS-Net, CAESAR). Diese beschäftigen sich derzeit vornehmlich mit Aufklärung zur Anwendung von Antibiotika und mit Anwendungsstatistiken und Statistiken zum Auftreten von Resistenzen im Therapiefall. Zur effektiven Kontrolle der Verbreitung von Antibiotikaresistenzen ist es aber genauso wichtig, die Pfade in der Umwelt nachzuvollziehen, über die Resistenzen verbreitet, gefördert und auch kontrolliert werden können.

Im Jahr 2008 wurde die erste Deutsche Antibiotika-Resistenzstrategie (DART) vorgestellt, und 2015 wurde eine aktualisierte Fassung (DART 2020) verabschiedet. DART ist eine gemeinsame Initiative des Bundesministeriums für Gesundheit, des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft sowie des Bundesministeriums für Bildung und Forschung mit dem Ziel, die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen zu vermindern.

Das *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network* (EARS-Net) ist eine internationale Initiative, die alle EU-Staaten sowie Island und Norwegen einschließt. Die Koordination liegt beim ECDC. Das Netzwerk konzentriert sich auf die Erfassung der Empfindlichkeit von acht Indikator-Pathogenen gegenüber antibakteriellen Substanzen, die Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems und Meningitis verursachen.

Das *Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance* (CAESAR) ist eine gemeinsame Initiative der *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID) und des *Dutch National Institute for Public Health and the Environment* (RIVM). Das Ziel ist die Unterstützung aller Länder der WHO-Region Europa, die nicht Teil des EARS-Net sind (WHO, 2014).

Die WHO hat in einem Workshop im Rahmen des 18. Internationalen Symposiums „*Health Related Water Microbiology*“ (September 2015, Lissabon, Portugal) sowie in einer kurzen informativen Notiz aus dem Jahr 2014 auf die Kenntnislücken hinsichtlich der Relevanz des Wasserpfades für die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen hingewiesen. Dort heißt es: „*There is growing public health concern that antimicrobial-resistant bacteria and AMR genes in human waste could potentially enter water sources via untreated or treated wastewater effluent and result in the exposure of human populations that use such water as drinking water sources,*

for bathing, washing and other domestic sources, for primary contact recreation and as irrigation water [...] Overall, there is a lack of reliable, well documented and validated human health risk assessments for antimicrobial-resistant bacteria and AMR genes from such environmental exposures, and currently there is inadequate information based on quantitative microbial risk assessment to inform the development and implementation of appropriate risk management systems” (WHO, 2014).

1.3 Eintragungspfade von Antibiotika und Antibiotika-Resistenzen in die aquatische Umwelt

Die Gefahr der Übertragung von Antibiotika-resistenten Bakterien aus Oberflächenwasser auf den Menschen und die möglichen Auswirkungen auf die öffentliche Gesundheit wurden bereits in der Literatur dargestellt. Heudorf et al. (2018) beschreiben die Übertragung eines KPC3-produzierenden *K. pneumoniae* in Frankfurt (Deutschland), und Laurens et al. (2018) die Übertragung von IMI2-produzierenden Enterobacterales in Südfrankreich. Im Gegensatz dazu wurde in einer anderen Studie, die sich mit deutschen Badegewässern als einem weiteren Expositionsweg befasste, keine kritische Exposition gegenüber Antibiotika-resistenten Bakterien gefunden (Döhla et al., 2020).

Es ist notwendig, die aquatische Umwelt umfassend in Bezug auf die Verbreitung von Antibiotika-resistenten Bakterien zu betrachten, da dort Antibiotika-resistente Bakterien, Antibiotika(-rückstände) und Resistenzgene nachgewiesen werden können (Baquero et al., 2008; Bengtsson-Palme and Larsson, 2016; Feuerpfeil et al., 1999; Jutkina et al., 2018; Westphal-Settele et al., 2018).

Antibiotika-resistente Bakterien können über verschiedene Wege in die aquatische Umwelt gelangen, sich dort verbreiten und wieder zum Menschen zurückgeführt werden. Die Verbreitungswege sind vielfältig und nicht alle aufgeklärt, lassen sich aber auf verschiedene Interaktionen vereinfachen (Abbildung 1). Ein wichtiger Emitent Antibiotika-resistenter Bakterien in die aquatische Umwelt sind Kläranlagen. Über menschliche Ausscheidungen gelangen Antibiotika-resistente Bakterien mit dem Abwasser in Kläranlagen. Durch unzureichende Reinigung im Aufbereitungsprozess der Kläranlagen können diese dann mit dem Wasser des Kläranlagenablaufes (1) in Gewässer eingeleitet werden. Ein anderer Eintragungspfad von Antibiotika-resistenten Bakterien in die Umwelt verläuft über tierische Ausscheidungen. Kommt es durch die Gabe von Antibiotika zu der Entstehung von Antibiotikaresistenzen, dann können

diese über die Ausscheidungen direkt, oder durch die Düngung von Feldern mit Gülle in die Umwelt gelangen (2). Von den gedüngten Feldern können Antibiotika-resistente Bakterien durch die Versickerung in Grundwässer direkt in die aquatische Umwelt gelangen (3).

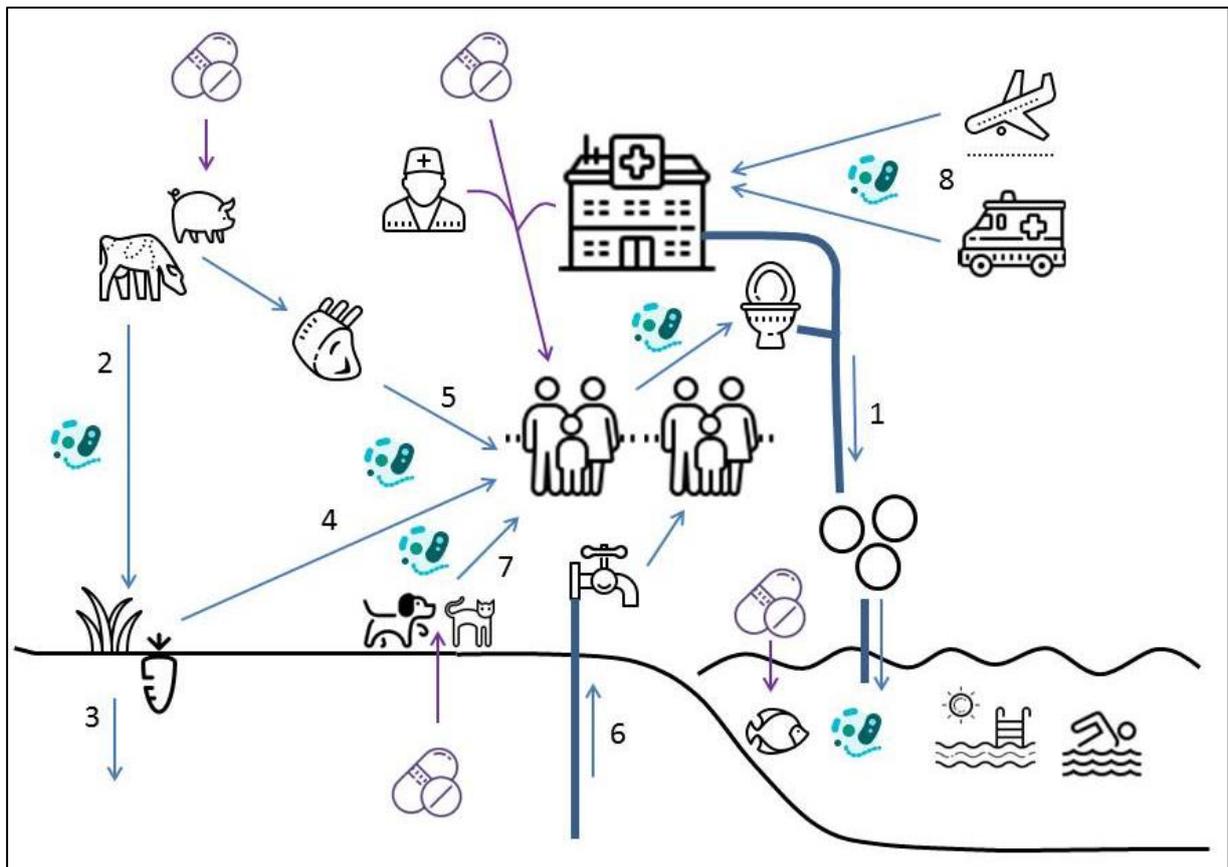


Abbildung 1: Mögliche Verbreitungswege von Antibiotika-resistenten Bakterien in der Umwelt (erstellt mit Icon8, eigene Darstellung, 2021).

In vielen Ländern der Welt ist die Übertragung von Krankheitserregern, auch Antibiotika-resistenten Bakterien, auf den Menschen durch die Verunreinigung von Trinkwasser relevant (6). Auch durch den Konsum kontaminierter tierischer Produkte (5) und kontaminierter pflanzlicher Erzeugnisse (4) können Menschen mit diesen Bakterien infiziert werden. Auch durch den direkten Weg, Kontakt von infizierten Menschen und Tieren mit Gewässern, können Antibiotika-resistente Bakterien in Gewässer gelangen (7). Durch Tourismus, Migration und global vermarktete Lebensmittel können Antibiotika-resistente Bakterien außerdem über weite Strecken verbreitet werden (8) (Harbarth et al., 2015).

Das Vorkommen von Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen in Oberflächengewässern verschiedener Qualitäten ist in der Literatur bereits umfassend beschrieben (z.B. Czekalski et al., 2012; Ghosh et al., 1991; Leonard et al., 2018; Santiago-Rodriguez et al., 2013; Schwartz et al., 2003; Sokari et al., 1988).

1.3.1 Abwasser

Die weltweit bedeutendste Quelle für Infektionskrankheiten stellt kontaminiertes Wasser dar. Unterschiedliche natürliche und anthropogene Eintragsquellen sind Ursache für eine hohe mikrobielle Belastung von Fließ- und Oberflächengewässern. Dabei spielt die Nutzung und Bewirtschaftung des Einzugsgebietes eine entscheidende Rolle. Die Haupteintragspfade von Mikroorganismen mit Resistenzgenen und Spurenschadstoffen in die Umwelt sind die Abwässer von kommunalen Kläranlagen (KA) (Müller et al., 2018; Stange et al., 2019; Watkinson et al., 2009) und bei Starkregenereignissen die Mischwasserentlastungen (Christoffels et al., 2014; Schreiber et al., 2016) sowie der Abfluss von gedüngten Feldern (Christian et al., 2003; Schmithausen et al., 2018). Das kontaminierte Wasser kann dann auf Ackerland oder ins Trinkwasser gelangen und dadurch wieder zum Tier und zum Menschen rückgeführt werden (Harbarth et al., 2015).

Weltweit werden 80 Prozent der kommunalen Abwässer ungeklärt in Gewässer eingeleitet, und die Industrie ist für die Verklappung von Millionen Tonnen Schwermetallen, Lösungsmitteln, giftigen Schlämmen und anderen Abfällen in die Gewässer pro Jahr verantwortlich (Connor et al., 2017).

Nach Calderon et al. (1991) tragen Einleitungen aus Abwasserreinigungsanlagen im erheblichen Maße zur Belastung von Oberflächengewässern mit humanpathogenen Mikroorganismen bei. Für konventionelle Kläranlagen wurde festgestellt, dass unabhängig von den Witterungsverhältnissen die Indikatorbakterien wie gesamt- und fäkalcoliforme Bakterien, Fäkalstreptokokken und Salmonellen um ein bis drei Log_{10} -Stufen reduziert werden (Koivunen and Heinonen-Tanski, 2005; Mandilara et al., 2006; Rechenburg et al., 2006). Die im Ablauf der Nachklärung verbleibende mikrobielle Restbelastung liegt nach Güde et al. (2001) um ein bis zwei Zehnerpotenzen über dem Konzentrationsbereich eines unbelasteten Gewässers und trägt somit zur mikrobiellen Grundbelastung eines Gewässers bei.

Eine erhöhte mikrobielle Belastung von Gewässern durch Entlastungsereignisse von Mischwassereinleitungen nach starken Niederschlagsereignissen wurde in ver-

schiedenen Untersuchungen nachgewiesen (Atherholt et al., 1998; Gibson et al., 1998; Kistemann et al., 2002). Bei starken Regenfällen wird nicht nur das gereinigte Abwasser aus den Kläranlagen, sondern auch Abwasser aus der Kanalisation über Mischwasserentlastungen in die Gewässer eingeleitet. Mischwasserkanäle leiten ungereinigtes bzw. nur mechanisch gereinigtes Abwasser aus Regenüberlaufbecken in Gewässer ein. Dabei kommt es innerhalb kürzester Zeit zu einem sehr hohen Schadstoffeintrag und einer hydraulischen Belastung des Gewässers durch eine stoßartige Abflusserhöhung (Gasse, 2009; Kistemann et al., 2009). Durch die Installation von Retentionsbodenfiltern (RBF) nach Regenüberlaufbecken, die mit Mischwasser gespeist werden, können der Eintrag von Mikroorganismen und die hydraulischen Belastungen erheblich gesenkt werden (Overath et al., 2000).

Antibiotika werden von behandelten Personen oder Tieren unverändert, als Metaboliten oder Konjugate ausgeschieden (Kümmerer, 2009). Studien haben antibiotisch wirkende Substanzen im Rohabwasser im $\mu\text{g/L}$ -Bereich nachgewiesen. Zudem lagen die Antibiotika-Konzentrationen im gereinigten Abwasser und aufgrund eines unvollständigen Abbaus im Oberflächenwasser im Unterstrom der Kläranlage zwischen einem zwei-stelligen ng/L und dem unteren $\mu\text{g/L}$ -Bereich (Kümmerer, 2009; Watkinson et al., 2009).

Antibiotika-resistente Bakterien und Resistenzgene, die von infizierten oder kolonisierten Menschen oder Tieren ausgeschieden werden, werden innerhalb konventioneller Kläranlagen nur teilweise eliminiert (Hembach et al., 2017; Müller et al., 2018), da Abwasser-Behandlungsverfahren nicht spezifisch auf die Entfernung von (resistenten) Bakterien ausgelegt sind. Verschiedene Studien haben sich bereits mit klinischem Abwasser befasst und festgestellt, dass dieses hohe Konzentrationen an antibiotisch wirkenden Substanzen, Antibiotika-resistenten Bakterien, Resistenzgenen und multiresistenten Bakterien aufweist (Koh et al., 2015; Lindberg et al., 2004; Ory et al., 2019; Picão et al., 2013; Simo Tchuinte et al., 2016; Voigt, Zacharias et al., 2020; Zhang et al., 2014). Bei der Bewertung und dem Ausbau von Kläranlagen sollte deshalb für verschiedene Arten von Abwasser nach dessen Herkunft unterschieden werden.

1.3.2 Diffuse Quellen

Hygienisch-mikrobielle Belastungen aus diffusen Quellen resultieren u. a. aus Oberflächenabflüssen und Abschwemmungen von unbefestigten Flächen, landwirtschaftlichen Nutzflächen und Direkteinleitungen, z.B. aus der Trennkanalisation,

Drainagen und offenen Gräben. In Abhängigkeit der jeweiligen Landnutzung können sich die mikrobiellen Einträge ins Gewässer qualitativ und quantitativ stark unterscheiden. Bei Starkregenereignissen können die örtlichen Kläranlagen von den Wassermassen überlastet werden. Das gilt selbst für fortschrittliche Abwassermanagementsysteme, wie sie in Deutschland zu finden sind. Daher wird Regenwasser häufig in separaten Kanalsystemen (Trennsystem) gesammelt und direkt in das nächstgelegene Oberflächengewässer eingeleitet, da diese Art von Wasser (Regenwasser) als hygienisch und ökologisch unkritisch gilt. Analysen des Regenwasserabflusses haben jedoch gezeigt, dass der Abfluss von Hauptverkehrsstraßen signifikant mit chemischen Verunreinigungen verbunden ist (Lye, 2009). Der Kontakt mit versiegelten Flächen verändert die Wasserqualität wesentlich durch die Verunreinigung des Regenwassers mit Chemikalien. Versiegelte Flächen verschärfen auch den Verschmutzungsgrad mit Mikroorganismen und Krankheitserregern im Regenwasserabfluss. Durch die fehlende Vegetation auf versiegelten Flächen werden Mikroorganismen weniger abgefangen und gelangen so leichter in das Kanalsystem (McLaughlin et al., 2013). Angesichts der zunehmenden Urbanisierung mit einhergehendem Kanalisationsausbau ist die hygienisch-mikrobiologische Qualität von Regenwasserabflüssen auch für die Betrachtung der Fließgewässerqualität wichtig, da diese schließlich in offene Gewässer und die Umwelt eingeleitet werden (Mertens et al., 2017; Schreiber et al., 2019). Das Land Nordrhein-Westfalen verpflichtet Kommunen durch § 51a des LWG, insbesondere bei Wohnbauprojekten den Bau von getrennten Kanalsystemen für Schmutz- und Regenwasser zu berücksichtigen (MULNV NRW, 1998).

Bei Regenwasseruntersuchungen wird nicht der Zustand des Regenwassers selbst untersucht, das direkt vom Himmel fällt, sondern als Abfluss von verschiedenen Flächen gesammelt. Daher ist das zu untersuchende Regenwasser Oberflächenverunreinigungen ausgesetzt, z.B. ausgelaugten chemischen Mikroverunreinigungen, Oberflächenverschmutzungen. Chemische Kontaminationen verschiedener Abflüsse sind gut untersucht (Ahmed et al., 2011; Lye, 2009; Sakamoto et al., 2009).

Von Dächern geerntetes Regenwasser in Malaysia (Yaziz et al., 1989) und in Mikronesien (Dillaha III and Zolan, 1985) wurde als nur geringfügig mit Gesamtcoliformen Bakterien belastet eingestuft, wobei in den Proben keine fäkalcoliformen Bakterien gefunden wurden. Holländer et al. (1996) stellten fest, dass Regenwasser von Dachflächen in Deutschland meist die gleiche Qualität wie Badegewässer gemäß der europäischen Richtlinie 2006/7/EG hat. Evans et al. (2006) fanden heraus, dass

luftgetragene Mikroorganismen signifikant zur Bakterienbelastung von auf Dächern gewonnenem Regenwasser in Australien beitragen. Ahmed et al. (2008) wiesen in mehr als 50 % der Proben von auf Dächern gesammeltem Regenwasser in Australien Krankheitserreger, wie z. B. Enterokokken, nach. Auch *Clostridium perfringens*, *Campylobacter* spp., *Legionella* spp. sowie *Salmonella* spp. wurden nachgewiesen. In Deutschland zeigte Regenwasser aus städtischen Gebieten, das in Wassertanks gespeichert wurde, Kontaminationen mit fäkalcoliformen Bakterien (Förster, 1999). Auch wenn in den genannten Studien keine Untersuchungen auf Antibiotika-resistente Bakterien erfolgten, so eröffnet allein die Anwesenheit von Krankheitserregern die Möglichkeit, dass ein Teil dieser auch Resistenzen aufweisen können.

In Studien zu Regenwasserabflüssen, die in getrennten Kanalsystemen gesammelt wurden, konnten sowohl Pestizide, Phthalate und Biozide als auch Pharmazeutika nachgewiesen werden (Birch et al., 2011; Burkhardt et al., 2007; Mertens et al., 2017; Zgheib et al., 2012). Eine frühe Studie von städtischen Regenwasserabflüssen aus getrennten Regenwasserkanälen in Kanada fand *E. coli*-Konzentrationen bis zu 10^4 KBE/100 mL sowie *P. aeruginosa* und *Salmonella* spp. (Qureshi und Dutka, 1979). Schreiber et al. (2019) fanden *E. coli*-Konzentrationen von $3,1 \times 10^4$ KBE/100 mL im Median in Regenwassereinleitungen. Die Ergebnisse zeigen, dass Regenwasser aus Trennkanalisationen ein relevantes Risiko sowohl für die menschliche Gesundheit als auch für die aquatische Umwelt darstellt.

1.3.3 Offene Defäkation

Neben dem indirekten Weg der Eintragung von Antibiotika-resistenten Bakterien über menschliche Ausscheidungen im Abwasserpfad, gibt es auch noch den direkten Weg der offenen Defäkation (Graham et al., 2019b). Diese spielt für die in dieser Arbeit betrachteten Untersuchungsgebiete keine Rolle. In anderen Ländern der Welt hat dies jedoch einen relevanten Einfluss bei der Übertragung von Krankheiten und auch der Ausbreitung von Antibiotika-resistenten Bakterien. Laut WHO und UNICEF verfügten im Jahr 2015 2,3 Milliarden Menschen nicht über eine sanitäre Grundversorgung und viele Millionen praktizieren offene Defäkation. Die meisten Menschen, die offene Defäkation praktizieren, leben in Zentral- und Südasien sowie in Afrika südlich der Sahara (WHO & UNICEF, 2017). Schlechte sanitäre Einrichtungen und offene Defäkation erhöhen die mikrobielle Belastung der Umwelt und das Risiko von Krankheiten für die Bevölkerung. In vielen Ländern mit schlechten oder nicht vorhandenen sanitären Einrichtungen ist der Verkauf von hochwertigen Antibiotika rezeptfrei

erlaubt, was das Risiko von Antibiotikaresistenzen erhöht (Morgan et al., 2011). Somit sind Fäkalien eine potenziell wichtige Quelle für die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen unter Menschen oder Tieren in Gebieten mit unzureichender Bereitstellung sanitärer Einrichtungen (Morgan et al., 2011; Quintela-Baluja et al., 2015). Zum Beispiel wiesen Forscher in Wasser- und Sedimentproben im oberen Ganges zu Beginn des Monsuns und zu Zeiten von Massenpilgerfahrten aus städtischen Gebieten höhere Werte von neu auftretenden Resistenzgenen (z.B. blaNDM-1) nach als in den trockensten Monaten (Ahammad et al., 2014).

1.3.4 Landwirtschaft

Die Wasserverschmutzung durch landwirtschaftliche Nutzung ist eine globale Herausforderung, die sowohl in den Industrie- als auch in den Entwicklungsländern zugenommen hat und sowohl das Wirtschaftswachstum als auch die physische und ökologische Gesundheit von Milliarden von Menschen beeinflusst.

Während sich die weltweite Aufmerksamkeit in erster Linie auf die Wassermenge, die Effizienz der Wassernutzung und Fragen der Zuteilung konzentriert, hat schlechtes Abwassermanagement in vielen Teilen der Welt zu ernsthaften Problemen mit der Wasserqualität geführt und die Wasserkrise verschärft (Mateo-Sagasta et al., 2017). Die Agenda 2030 für ‚Sustainable Development Goals‘ erkennt die Bedeutung der Wasserqualität an und enthält ein spezifisches Wasserqualitätsziel für nachhaltige Entwicklung. Die Landwirtschaft, die weltweit für 70 Prozent der Wasserentnahmen verantwortlich ist, spielt eine große Rolle bei der Wasserverschmutzung. Bauernhöfe leiten große Mengen an Chemikalien, organischem Material, Medikamentenrückständen (u.a. Antibiotika) und salzhaltigen Abwässern in die Gewässer ein. Die daraus resultierende Wasserverschmutzung stellt nachweislich ein Risiko für aquatische Ökosysteme und die menschliche Gesundheit dar (Mateo-Sagasta et al., 2017).

Ergebnisse aus Untersuchungen der Ernährungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (FAO) haben im Jahr 2014 ergeben, dass die Resistenzraten gegen viele Antibiotika bei Isolaten von Nutztieren in den USA und Europa höher waren als in Asien (Chuanchuen et al., 2014).

Der Einsatz von Antibiotika in der Tiermast führt dazu, dass Tiere in der Intensivtierhaltung mit Antibiotika-resistenten Bakterien besiedelt sein können. Diese können auf Menschen übertragen werden, die in Kontakt mit den Tieren und deren Ausscheidungen kommen, wie Landwirte, Veterinäre oder Metzger (Graham *et al.*,

2019a). Auch der direkte Eintrag der Fäkalien der Tiere in Boden, Grundwasser und Gewässer spielen eine Rolle. Die Düngung von Feldern mit Fäkalien ist ein großer Faktor bei der Verbreitung der Antibiotika-resistenten Bakterien. Hierbei können ebenfalls Boden und Gewässer zur Weiterverbreitung in der Umwelt beitragen und die Kontamination von Nutzpflanzen mit den Antibiotika-resistenten Bakterien kann zum Infektionsrisiko für Menschen beitragen (Graham et al., 2019a). Eine Studie aus dem Jahr 2006 an Rindermastbetrieben im Mittleren Westen der USA ergab, dass sich die Tetracyclin-Resistenzgen-Häufigkeiten statistisch zwischen den Abfalllagunen von Mastbetrieben, in denen Antibiotika nur therapeutisch eingesetzt wurden, und Mastbetrieben, in denen Antibiotika sowohl therapeutisch als auch nicht therapeutisch in höheren Mengen eingesetzt wurden, unterschieden (Peak et al., 2007).

Ein gesunder Boden ist ein lebenswichtiges, lebendes System, das für den Ackerbau unerlässlich ist. Wichtige Komponenten für einen gesunden Boden sind organisches Material und Mikroorganismen. Organisches Material bietet Nahrung für Mikroorganismen, stabilisiert die Bodenstruktur und erhöht die Bodenfruchtbarkeit. Der Magen-Darm-Trakt von Nutztieren enthält viele zoonotische Krankheitserreger und Kommensalen, die in großer Zahl in Fäkalien ausgeschieden werden. Unverarbeiteter oder nicht kompostierter Dung, der in der Pflanzenproduktion verwendet wird, kann daher Antibiotika-resistente Bakterien enthalten, die Lebensmittel und Wasser kontaminieren können (Larkin, 2015).

In landwirtschaftlichen Systemen wird häufig Gülle als zusätzliche Quelle für organische Substanz auf die Felder ausgebracht. Gülle enthält Mikroorganismen, zu denen mit ziemlicher Sicherheit auch Antibiotika-resistente Bakterien gehören (Marti et al., 2014). Unverarbeiteter oder nicht kompostierter Dung, der in der Pflanzenproduktion verwendet wird, kann Antibiotika-resistente Bakterien enthalten, die Lebensmittel und Wasser kontaminieren können, was potenziell zu lebensmittelbedingten und wasserbedingten Expositionen beitragen kann (Marti et al., 2014). Antibiotika, Antibiotika-resistente Bakterien und Resistenzgene können im Grund- und Oberflächenwasser in der Umgebung von landwirtschaftlichen Betrieben angereichert werden, insbesondere dort, wo Tiere Antibiotika erhalten und sich in der Nähe von Wasserressourcen befinden (Fahrenfeld et al., 2014; Garder et al., 2014; Heuer et al., 2011). Substanzen, die auf den Boden aufgebracht werden, können in Gewässer gelangen, insbesondere in Gebieten, in denen unterirdische Entwässerungssysteme installiert sind. Antibiotika im Bewässerungswasser können in das Pflanzengewebe

(vor allem in die Wurzeln) aufgenommen werden. Der Grad der Aufnahme ist aber normalerweise gering, es sei denn, die Antibiotika-Konzentrationen sind sehr hoch (Christou et al., 2017). Die Aufnahme ist eher begrenzt, selektiv, pflanzen- und antibiotikaspezifisch. Die Aufnahme von antibiotisch wirkenden Substanzen in das Pflanzengewebe ist bereits ausreichend untersucht, über die Aufnahme von Resistenzgenen und Antibiotika-resistenten Bakterien gibt es aber noch wenig Erkenntnisse (Christou et al., 2017; Zhang et al., 2017). Rahube et al. (2014) konnten nachweisen, dass sich Resistenzgene und Antibiotika-resistente Bakterien auf Pflanzenoberflächen ansammeln können, die mit der Ausbringung von Gülle in Verbindung stehen. Darüber hinaus können bestimmte Kulturen und Fruchtfolgen die Arten von Resistenzgenen beeinflussen, die in Böden gefunden werden; zum Beispiel wurde festgestellt, dass die Resistenzgene in Böden aus Mais- und Sojaproduktionssystemen recht unterschiedlich sind (Garder et al., 2014).

1.3.5 Wildtiere

Wilde Tiere, wie Vögel und Insekten können mit allen zuvor genannten Faktoren in Kontakt treten. So können sie mit Fäkalien, verunreinigtem Wasser, Feldern, Kläranlagen oder mit Nutztieren Kontakt haben und mit Antibiotika-resistenten Bakterien infiziert bzw. besiedelt werden (Graham et al., 2019a). Der direkte Kontakt zwischen Menschen und Wildtieren ist in der Regel nicht so eng wie bei Nutz- oder Haustieren, dennoch konnte gezeigt werden, dass Wildtiere, insbesondere Vögel, als Vektor für die Übertragung von Antibiotika-resistenten Bakterien in der Umwelt fungieren können (Arnold et al., 2016). Dies wird besonders dann beschrieben, wenn Wildvögel Abwässern in der Nähe von Flüssen ausgesetzt waren (Graham et al., 2014), Klärschlamm auf Ackerland ausgebracht wurde (Leatherbarrow et al., 2007) und über die direkte Exposition gegenüber Fäkalien von Nutz- und Haustieren (Maddox et al., 2011). Eine Studie in der Hocharktis konnte eine Akkumulation anthropogener Resistenzgene in arktischen Böden feststellen. McCann et al. (2019) fanden heraus, dass Konzentrationen an klinisch relevanten Resistenzgenen (z.B. bla_{NDM-1}) in der Nähe von Vogel-, Rentier- und Polarfuchs-Wasserstellen erhöht waren.

1.4 Risikofaktoren für die Übertragung von Krankheitserregern durch Gewässernutzung

In §41 des Infektionsschutzgesetz (IfSG) (BRD, 2001) steht, dass Abwasser so zu beseitigen ist, dass Gefahren für die menschliche Gesundheit durch

Krankheitserreger ausgeschlossen werden. Mit der Verabschiedung der Europäischen Wasserrahmenrichtlinie (EU, 1991) wurde ein Maßnahmenprogramm zum Schutz der Flussgebiete entwickelt. Dies betrachtet das gesamte aquatische Ökosystem. Als Qualitätskomponenten werden Phytoplankton, Makrophyten und benthische wirbellose Fauna sowie die Fischfauna betrachtet. Hydromorphologische und physikalisch-chemische Parameter gelten unterstützend. Mikrobiologische Grenzwerte sind dort jedoch nicht festgelegt. Obwohl hygienisch relevante Fragestellungen als Folge des verstärkten Nutzungsdrucks auf die Gewässer immer mehr ins Blickfeld rücken (Schreiber und Kistemann, 2010) sind Grenzwerte nur dann festgelegt, wenn das Gewässer für bestimmte Nutzungen ausgewiesen wird, z.B. für die Entnahme von Be-
regnungswasser von Ackerkulturen (MULNV NRW, 1991) oder als Badegewässer (EU, 2006). Gesundheitsrisiken bestehen heute abgesehen von Störfällen, welche die Wasserqualität beeinträchtigen, v.a. wenn die Gewässer entgegen den Nutzungsbedingungen für die Freizeitgestaltung genutzt werden. Mikrobielle Belastungen sind dabei von besonderer Bedeutung, weil bereits die einmalige Aufnahme von Krankheitserregern in genügend hoher Dosis zu Krankheitsfällen führen kann. In Deutschland und Europa existieren Vorgaben, welche hygienisch-mikrobiologische Qualität für bestimmte Nutzungen vertretbar ist, was sich in der Definition von Grenz- und Richtwerten bestimmter hygienisch-mikrobiologischer Parameter widerspiegelt.

1.4.1 Freizeitnutzung

Mögliche Aufnahmepfade von (Antibiotika-resistenten) Krankheitserregern bei der Freizeitnutzung von Gewässern, sind beim Schwimmen eine orale Ingestion und/oder Inhalation. Außerdem ist die Aufnahme über Harnwege, Haut, Ohren oder Schleimhäute möglich. Je nach Alter verschlucken Schwimmer unterschiedliche Mengen an Wasser. Dufour et al. (2006) definieren in Ihrer Studie, dass Erwachsene Schwimmer in der Stunde bis zu 71 mL Wasser verschlucken, bei Kindern geben die Autoren sogar 205 mL an. Donovan et al. (2008) gehen von 36 mL Wasseraufnahme pro Tag während eines Besuchs am Gewässer aus, dabei wird angenommen, dass ein direkter Wasserkontakt in 20 % der dort verbrachten Zeit besteht. Befindet sich der Körper nicht vollständig im Wasser, wie z.B. beim Angeln oder Spielen am Ufer, beschreiben die Autoren geringere Mengen. Andere Autoren nennen einen Wert von 50 mL für die Wasseraufnahme eines normalen Badegastes (Konz et al., 1989; Westrell, 2004). Für spielende Kinder am Ufer wird die Aufnahme von nur 1 mL Wasser angenommen (Westrell, 2004).

In der EU-Badegewässerrichtlinie 2006/7/EG (EU, 2006) sind hygienisch-mikrobiologische fäkale Indikatorbakterien benannt. Dazu gehören gesamt- und fäkalcoliforme Bakterien, Enterokokken und Salmonellen. Eine Untersuchung auf diese Parameter wird aber in der Regel nicht in der Routine durchgeführt, sondern nur bei Verdachtsfällen. Für die Nutzung abwasserbelasteter Oberflächengewässer für den Badebetrieb gibt die Richtlinie Leit- bzw. Grenzwerte an. Für gesamtcoliforme Bakterien gelten Leitwerte von $5,0 \times 10^2$ KBE/100 mL und ein Grenzwert von $1,0 \times 10^4$ KBE/100 mL. Für *E. coli* ist ein Leitwert von $1,0 \times 10^2$ KBE/100 mL und ein Grenzwert von $2,0 \times 10^3$ KBE/100 mL festgelegt. Enterokokken werden mit einem Leitwert von $1,0 \times 10^2$ KBE/100 mL, aber ohne Grenzwert geregelt. Für Salmonellen und enteralen Viren gelten die Abwesenheit in einem Liter Wasser (Salmonellen) bzw. 0 Plaque bildende Einheiten (PBE) in 10 L Wasser als Anforderung. Die Qualitätsanforderungen gelten als erfüllt wenn die Leitwerte in 90 % und die Grenzwerte in 95 % der Proben eingehalten werden. Antibiotika-resistente Bakterien werden zurzeit in keiner Richtlinie betrachtet und mit Grenzwerte belegt. Für die Antibiotika-resistenten Vertreter der genannten Bakterienspezies gilt der gleiche Leitwert wie für die nicht resistente Variante, obgleich eine Infektion mit einem resistenten Vertreter unter Umständen schwerer zu behandeln wäre.

Kistemann et al. (2016) betrachten die in der EU-Badegewässerrichtlinie genannten Vorgaben und weitere Krankheitserreger in Bezug auf das Fließgewässer Ruhr. In einer großen Studie, unter Einbezug von aktuellen Freizeitwünschen, historischen Erfahrungen mit dem Baden in Flüssen, Erhebung von mikrobiologischen Daten und einer Rekapitulation relevanter Quellen für mikrobielle Verunreinigungen wurde die Gültigkeit von Süßwasserqualitätskriterien für Erholungszwecke überprüft. Die Autoren plädieren für ein flexibles Badestellenmanagement, mit einem Warnsystem, da die Verunreinigungen nur vorübergehend und gelegentlich die gesetzlichen Grenzwerte überschritten haben.

1.4.2 Landwirtschaftliche Nutzung

Mikrobiologische Grenzwerte für die Nutzung von Wasser für landwirtschaftliche Bewässerungszwecke sind in der Allgemeinen Güteanforderung für Fließgewässer (MUNLV NRW, 1991) sowie in DIN 19650 „Bewässerungswasser – Hygienische Belange von Bewässerungswasser“ (DIN 19650:1999) festgelegt, allerdings nur für Indikatororganismen wie *E. coli*, deren Vorkommen in Gewässern oft, aber nicht immer, mit dem von anderen Pathogenen korreliert (Westrell, 2004).

Der Druck der Landwirtschaft auf die Wasserqualität kommt von Ackerbau, Viehzucht und Aquakultur, die alle ausgeweitet und intensiviert wurden, um die steigende Nachfrage nach Nahrungsmitteln im Zusammenhang mit dem Bevölkerungswachstum und veränderten Ernährungsgewohnheiten zu decken (Mateo-Sagasta et al., 2017). Die für die Bewässerung ausgerüstete Fläche hat sich in den letzten Jahrzehnten mehr als verdoppelt und die Gesamtzahl des Viehbestands hat sich mehr als verdreifacht (Mateo-Sagasta et al., 2017).

Die Wasserverschmutzung durch die Landwirtschaft hat direkte negative Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit, ein Beispiel ist das Blue-Baby-Syndrom, bei dem hohe Nitratwerte im Wasser bei Säuglingen Methämoglobinämie, eine potenziell tödliche Krankheit, verursachen können (Avery, 1999).

Die Anreicherung von Pestiziden im Wasser und in der Nahrungskette mit nachgewiesenen negativen Auswirkungen auf den Menschen führte zu einem weitgehenden Verbot bestimmter Breitband- und persistenter Pestizide (wie DDT und viele Organophosphate), aber einige dieser Pestizide werden in weniger entwickelten Ländern immer noch eingesetzt und verursachen akute und wahrscheinlich auch chronische gesundheitliche Erkrankungen (Mateo-Sagasta et al., 2017).

Die Ausscheidungen von Nutztieren enthalten viele zoonotische Mikroorganismen und mehrzellige Parasiten, die für die menschliche Gesundheit schädlich sein können. Pathogene Mikroorganismen können über das Wasser oder über Lebensmittel übertragen werden, insbesondere wenn die Lebensmittel mit kontaminiertem Wasser bewässert werden (Dufour und Bartram, 2012). So beschreiben Frank et al. (2011) einen Ausbruch in Deutschland mit Shiga-Toxin-produzierenden *E. coli*, die ein ESBL-Gen (CTX-M-15) trugen. Der Infektionsweg wurde auf mit kontaminiertem Wasser bewässerte Sprossen zurückgeführt (Buchholz et al., 2011).

Eine Verschlechterung der Wasserqualität kann auch schwerwiegende direkte Auswirkungen auf die Produktivität der Landwirtschaft haben. Die Bewässerung mit salzhaltigem oder brackigem Wasser hat die landwirtschaftliche Produktion auf hunderttausenden von Hektar weltweit eingeschränkt (Mateo-Sagasta et al., 2017).

Aktuelle Dürrephasen in verschiedenen Regionen Deutschlands verdeutlichen den Bedarf, bisherige Wassermanagementansätze zu überdenken. Studien, z.B. des Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (UFZ) Leipzig, zeigen die Bodentrockenheit und deren besorgniserregende Entwicklung in den letzten Jahren (Marx, 2021). Auswirkungen auf die Landwirtschaft und ein höherer Bewässerungsbedarf sind auch

im Hinblick auf den prognostizierten Klimawandel zu erwarten (MULNV NRW, 2011).

Vor diesem Hintergrund gewinnt das Thema „Abwasserwiederverwendung“ in Deutschland für die landwirtschaftliche Bewässerung an Bedeutung, auch wenn für diesen Bereich derzeit nur ca. 1,5% der nationalen Gesamtwasserentnahme genutzt wird (Seis et al., 2016). Während in Deutschland aktuell die Wiederverwendung von kommunalem Abwasser nur punktuell praktiziert wird, ist das Thema international in Regionen mit Wasserknappheit bedeutsamer (Lazarova and Asano, 2013). Auf europäischer Ebene ist das Thema zudem sehr aktuell.

Ein Vorschlag der EU-Kommission zur Festlegung einheitlicher Mindestanforderungen an die Qualitätskriterien für die landwirtschaftliche Wiederverwendung von behandeltem Abwasser wurde im Dezember 2019 von den EU-Mitgliedsstaaten akzeptiert, ohne dass die Fragen für deren praktische Umsetzung geklärt sind. Die neuen Vorschriften gelten ab dem 26. Juni 2023 und sollen die Wiederverwendung von Wasser in der EU fördern und erleichtern. In der neuen Regelung werden neben Standardparametern vor allem mikrobiologische Indikatoren zur Beurteilung der Wasserqualität vorgeschlagen (EU, 2020a).

Das UBA hat in einer Stellungnahme vorgeschlagen, aus Gründen des Grundwasserschutzes und der Lebensmittelsicherheit auch organische Spurenstoffe und Antibiotika-Resistenzen einzubeziehen (UBA, 2017).

1.4.3 Trinkwassergewinnung

Im Rahmen der Nutzung als Trinkwasserressource unterliegt das Rohwasser der Überwachung gemäß Landeswassergesetzen (LWG). Hinsichtlich mikrobiologischer Untersuchungsparameter sind etwa gemäß LWG NRW im Rahmen der Rohwasserüberwachung die Koloniezahl bei 20 °C und coliforme Bakterien zu bestimmen. Im Rahmen der Trinkwasserüberwachung sind die Anforderungen der Trinkwasserverordnung (TrinkwV, 2001) einzuhalten (BMG, 2001). Wird die Wasserversorgung mit Flusswasser als Ressource realisiert, können theoretisch auch die dort befindlichen Antibiotika-resistenten Bakterien aus dem Abwasser in das Trinkwasser gelangen (Kolwzan et al., 1993). Bereits in den 1980er Jahren konnten in heterotrophen Trinkwasser-Biofilmen Antibiotikaresistenzgene nachgewiesen werden (Kümmerer, 2004). Auch Studien von *P. aeruginosa*-Isolaten aus Trinkwasser stellten Resistenz aller Isolate gegen mindestens eines der getesteten Antibiotika fest. Die Autoren be-

schreiben, dass die steigende Resistenzprävalenz bei Isolaten aus der Umwelt therapeutische Implikationen haben kann (Da Silva et al., 2008). Im Regelfall ist Trinkwasser jedoch aufgrund der Aufbereitung und damit verbundener sehr geringer Bakterienkonzentrationen nur eine untergeordnete Quelle für Antibiotika-resistente Bakterien (Feuerpfeil et al., 1999).

1.5 Gewässer- und Abwassermanagement

1.5.1 Rechtliche Grundlagen

Die wasserrechtlichen Grundlagen werden in Nordrhein-Westfalen durch folgenden Gesetze gelegt: Das Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts (WHG) (BMU, 2009), das Gesetz über Abgaben für das Einleiten von Abwasser in Gewässer (AbwAG) (BMU, 1976) sowie das Wassergesetz für das Land Nordrhein-Westfalen (LWG NRW) (MULNV NRW, 1995).

Das WHG dient dazu, durch eine nachhaltige Gewässerbewirtschaftung die Gewässer als Bestandteil des Naturhaushalts, als Lebensgrundlage des Menschen, als Lebensraum für Tiere und Pflanzen sowie als nutzbares Gut zu schützen (§1 WHG). Laut §2 des WHG gilt das Gesetz für oberirdische Gewässer, Küstengewässer und Grundwässer. Es dient der Umsetzung folgender Richtlinien: die Richtlinie 91/271/EWG über die Behandlung von kommunalem Abwasser (EU, 1991), die Richtlinie 2000/60/EG zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik (EU, 2000), die Richtlinie 2004/35/EG über Umwelthaftung zur Vermeidung und Sanierung von Umweltschäden (EU, 2004), die Richtlinie 2006/118/EG zum Schutz des Grundwassers vor Verschmutzung und Verschlechterung (EU, 2007) und die Richtlinie 2007/60/EG über die Bewertung und das Management von Hochwasserrisiken (EU, 2007).

Die Behandlung von kommunalem Abwasser wird in der Richtlinie 91/271/EWG geregelt. Das Ziel der 91/271/EWG ist der Schutz der Umwelt in der EU vor den schädlichen Wirkungen durch kommunales Abwasser. In dieser Richtlinie werden EU-weit gültige Regeln für das Sammeln, Behandeln und Ableiten von Abwasser festgelegt. EU-Mitgliedsstaaten müssen Abwasser aus städtischen Siedlungen mit einer Bevölkerung von mindestens 2.000 Einwohnern sammeln und biologisch behandeln. Laut 91/271/EWG muss Abwasser aus städtischen Siedlungen mit einer Bevölkerung von mindestens 10.000 Einwohnern auf Flächen, deren Gebiete von Eutrophierung

bedrohte oder bei fehlenden Maßnahmen in der Zukunft bedrohte natürliche Gewässer beinhalten, einer weitergehenden Abwasserbehandlung zugeführt werden.

Es muss sichergestellt sein, dass Behandlungsanlagen ordnungsgemäß gewartet werden, um ordnungsgemäßes Arbeiten und den Betrieb unter allen normalen Wetterverhältnissen zu gewährleisten und es muss die Arbeit und Leistung von Behandlungsanlagen und den aufnehmenden Gewässern erfolgen. Besondere Maßnahmen müssen ergriffen werden, um die Verschmutzung von aufnehmenden Gewässern durch Regenüberläufe in Extremsituationen, wie z. B. bei ungewöhnlich starken Niederschlägen, einzugrenzen. Neben der Darlegung von Methoden für die Überwachung und Auswertung der Ergebnisse umfasst die Richtlinie allgemeine Anforderungen für Kanalisationen, Ableitung aus kommunalen Abwasser-Behandlungsanlagen, einschließlich Emissionsgrenzwerten, das Einleiten von industriellem Abwasser in kommunale Kanalisationssysteme. Sie beschreibt Kriterien zur Bestimmung von empfindlichen und weniger empfindlichen Gebieten.

Das AbwAG regelt die Entrichtung einer Abgabe für das Einleiten von Abwasser in ein Gewässer im Sinne des §3 Nummer 1 bis 3 des WHG. Die Abgabe wird durch die Länder erhoben (§1 AbwAG) und das LWG gilt für die in §2 Absatz 1 Satz 1 Nummer 1 und 3 des WHG aufgeführten Gewässer und deren Teile sowie für Handlungen und Anlagen, die sich auf die Gewässer und ihre Nutzungen auswirken oder auswirken können (§1 LWG).

Im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet dieser Arbeit (Kapitel 2.2) ist der Erftverband als Wasserwirtschaftsverband zuständig. Im Jahr 1859 wurde die „Genossenschaft für die Melioration der Erftniederung“ gegründet, die sich später Erftgenossenschaft und Erftverband nannte. 1959 erfolgte die Konstitution als sondergesetzlicher Wasserverband. Heute ist der Verband ein moderner Dienstleistungsbetrieb. Als Zusammenschluss von Kommunen, Gewerbe- und Industrieunternehmen, Wasserversorgern, Kraftwerken und Bergbau regelt der Erftverband seine Aufgaben in Selbstverwaltung.

Die Aufgaben des Erftverbands sind im §2 des Erftverbandsgesetzes (ErftVG) festgelegt (MULNV NRW, 1986). Dazu zählen u.a. die Unterhaltung der oberirdischen Gewässer und deren Einzugsgebieten und der mit ihnen in funktionellem Zusammenhang stehenden Anlagen, die Rückführung ausgebauter oberirdischer Gewässer in einen naturnahen Zustand, die Beschaffung und Bereitstellung von Wasser zur Sicherung der gegenwärtigen und künftigen Versorgung der Bevölkerung und der

Wirtschaft, die Abwasserbeseitigung nach Maßgabe des LWG, die Vermeidung, Minderung, Beseitigung und der Ausgleich eingetretener oder zu erwartender, auf Abwassereinleitungen oder sonstige Ursachen zurückzuführender nachteiliger Veränderungen des oberirdischen Wassers und die Ermittlung der wasserwirtschaftlichen Verhältnisse.

1.5.2 Begriffe der Wasserwirtschaft

Die in Kapitel 1.5.1 genannten Gesetze und Richtlinien definieren Begriffe, die in dieser Arbeit verwendet werden. Es werden nur Begriffe aufgeführt, die in dieser Arbeit verwendet werden. Die Gesetze bzw. Richtlinien definieren eine Vielzahl weiterer Begriffe, die für diese Arbeit nicht relevant sind und nicht aufgeführt werden.

Oberirdische Gewässer

Oberirdische Gewässer im Sinne des WHG sind „ständig oder zeitweilig in Betten fließende oder stehende oder aus Quellen wild abfließende Wasser“ (§3 WHG). Das LWG unterscheidet dabei in Anlage A Gewässer erster Ordnung, Gewässer zweiter Ordnung und sonstige Gewässer (§2 LWG).

Erheblich veränderte Gewässer

Erheblich veränderte Gewässer sind im Sinne des WHG „durch den Menschen in ihrem Wesen physikalisch erheblich veränderte oberirdische Gewässer oder Küstengewässer“ (§3 WHG).

Fließende Gewässer

Fließende Gewässer im Sinne des LWG „sind oberirdische Gewässer mit ständigem oder zeitweisigem Abfluss, die der Vorflut für Grundstücke mehrerer Eigentümer dienen. Anlagen zur Ableitung von Abwasser, Niederschlagswasser oder sonstigem Wasser sowie zur Straßenentwässerung gewidmete Seitengräben von Straßen (Straßenseitengräben) und Anlagen zur Bewässerung (Bewässerungsgräben) sind keine Gewässer“ (§2 LWG).

Einzugsgebiet und Teileinzugsgebiet

Ein Einzugsgebiet ist im Sinne des WHG „ein Gebiet, aus dem über oberirdische Gewässer der gesamte Oberflächenabfluss an einer einzigen Flussmündung, einem Ästuar oder einem Delta ins Meer gelangt“, ein Teileinzugsgebiet ist „ein Gebiet, aus dem über oberirdische Gewässer der gesamte Oberflächenabfluss an einem bestimmten Punkt in ein oberirdisches Gewässer gelangt“ (§3 WHG).

Wasserdienstleistungen

Wasserdienstleistungen sind im Sinne des WHG „folgende Dienstleistungen für Haushalte, öffentliche Einrichtungen oder wirtschaftliche Tätigkeiten jeder Art: a) Entnahme, Aufstauung, Speicherung, Behandlung und Verteilung von Wasser aus einem Gewässer; b) Sammlung und Behandlung von Abwasser in Abwasseranlagen, die anschließend in oberirdische Gewässer einleiten“ (§3 WHG).

Abwasser

Abwasser im Sinne des AbwAG sind „das durch häuslichen, gewerblichen, landwirtschaftlichen oder sonstigen Gebrauch in seinen Eigenschaften veränderte und das bei Trockenwetter damit zusammen abfließende Wasser (Schmutzwasser) sowie das von Niederschlägen aus dem Bereich von bebauten oder befestigten Flächen abfließende und gesammelte Wasser (Niederschlagswasser). Als Schmutzwasser gelten auch die aus Anlagen zum Behandeln, Lagern und Ablagern von Abfällen austretenden und gesammelten Flüssigkeiten“ (§ 2 AbwAG).

Abwassereinleitung

Einleiten von Abwasser ist im Sinne des AbwAG „das unmittelbare Verbringen des Abwassers in ein Gewässer; das Verbringen in den Untergrund gilt als Einleiten in ein Gewässer, ausgenommen hiervon ist das Verbringen im Rahmen landbaulicher Bodenbehandlung“ (§ 2 AbwAG).

Abwasserbehandlungsanlagen

Abwasserbehandlungsanlage im Sinne des AbwAG „ist eine Einrichtung, die dazu dient, die Schädlichkeit des Abwassers zu vermindern oder zu beseitigen; ihr steht eine Einrichtung gleich, die dazu dient, die Entstehung von Abwasser ganz oder teilweise zu verhindern“ (§ 2 AbwAG).

Mischwasser

Mischwasser setzt sich aus verschiedenen Wasserarten zusammen. Es kann aus Haushaltsabwasser, gewerblichem und Industrieabwasser, Fremdwasser und Niederschlagswasser zusammengesetzt sein (DIN EN 16323:2014-07).

Im Gegensatz zu Mischabwasser kann Mischwasser auch Niederschlagswasser und andere vergleichsweise reine Wässer beinhalten. Eine Kanalisation, in der Mischwasser geleitet wird, wird Mischkanalisation genannt. Ziel einer nachhaltigen Ent-

wicklung ist i.d.R. ein Trennsystem, um die jeweilige Wässer optimiert reinigen bzw. verwerten zu können (DIN EN 16323:2014-07).

Trennkanalisation

Im Trennsystem werden Schmutzwasser- und Regenabflüsse in zwei getrennten Kanälen abgeleitet (DWA, 1992): im Schmutzwasserkanal zur Kläranlage, im Regenwasserkanal ohne Behandlung in ein Gewässer. Die Trennkanalisation kommt dem heutigen Grundsatz nach getrennter Ableitung unterschiedlich stark verschmutzter Abflüsse entgegen, wird jedoch heute zumeist auch mit dezentralen Maßnahmen der Regenwasserbewirtschaftung (Versickerung, Rückhalt in Rigolen oder kleinen Regenrückhaltebecken) ergänzt. Ein Problem der Trennkanalisation sind Fehlan-schlüsse sowohl am Schmutz- wie auch am Regenwasserkanal. Weiterhin ist der Ein-trag speziell an Schwermetallen ins Gewässer bei einer klassischen Trennkanalisation zumeist höher als bei einer Mischkanalisation, weil der Schmutzabtrag von Verkehrs-flächen ohne jede Behandlung ins Gewässer geht, während im Mischsystem ein Großteil zur Kläranlage geleitet wird (Lye, 2009).

Regenüberlaufbecken und Stauraumkanal

Ein Regenüberlaufbecken (RÜB), ist ein Entlastungsbauwerk der Siedlungsent-wässerung im Mischsystem oder im modifizierten Trennsystem mit Zwischenspeiche-rung und Überlauf in ein Gewässer (DWA, 1992). Es kann in Kläranlagen zur hydrau-lischen Entlastung zum Einsatz kommen (DWA, 2013a). Ein Teil des an einem RÜB ankommenden Wassers wird dann durch die Kanalisation zur Kläranlage weitergelei-tet. Der andere Teil des Wassers wird in ein Gewässer entlastet.

Stauraumkanäle sind Sonderformen von RÜB im Mischsystem, bei denen die Speicherkammer aus überdimensionierten, meist begehbaren Rohren zusammengesetzt ist. Dadurch fallen die Funktionen Transport und Speicherung zusammen (DWA, 2013b).

Konventionelle Kläranlagen

Eine Kläranlage, auch Abwasserbehandlungsanlage genannt, dient der Reinigung von Abwasser vor der Einleitung in Fließgewässer oder Seen, um deren Belastung mit organischen und anorganischen Stoffen zu verringern. In kommunalen Kläranlagen werden in Deutschland meist drei Reinigungsstufen durchlaufen, eine mechanische und eine biologische Klärung sowie eine chemische Phosphatfällung oder biologische Phosphorentfernung. Nach der mechanischen Klärung in der Rechen- und Siebanlage

(mit Sandfang und Ölabscheider) wird das Abwasser zur Vorklärung in ein Absetzbecken geleitet, in dem sich große ungelöste Stoffe als Schlamm absetzen und zum Teil bereits ein biologischer Abbau beginnt. Die sich anschließende biologische Hauptklärung ist meist oxidativ und imitiert die natürliche Selbstreinigung von Gewässern. Durch eine starke Belüftung des Abwassers in offenen Becken, z.T. unterstützt durch eine O₂-Begasung, entwickelt sich eine von der Abwasserzusammensetzung und der Verfahrensweise abhängige Bakteriengemeinschaft. Das Belebungsbecken gereinigtes Abwasser wird anschließend in große Nachklärbecken geleitet, wo sich die Bakterienmasse absetzt und das klare Überstandswasser in natürliches Gewässer abgelassen wird (Bayer, 2016).

Da diese Verfahrensarten nacheinander in verschiedenen Reinigungsstufen eingesetzt werden, nennt man moderne konventionelle Kläranlagen in der Regel dreistufig. Mittlerweile werden Kläranlagen auch mit einer vierten Reinigungsstufe ausgerüstet, wobei hier über verschiedene Verfahren (z.B. Ozonung, Aktivkohlefiltration, Membranfiltration) zusätzlich Mikroverunreinigungen aus dem Abwasser entfernt werden.

Einwohnergleichwert

Der Einwohnergleichwert (EW) ist ein Maß in der Wasserwirtschaft und dient als Vergleichswert für die in Abwässern enthaltenen Schmutzfrachten aus Industrie, Gewerbe, Landwirtschaft etc. mit häuslichem Schmutzwasser, um die Belastung einer Kläranlage abzuschätzen. Ein EW entspricht der täglich von einem Einwohner in das Abwasser abgegebenen Menge anorganischer Verbindungen (Gujer, 1999).

Retentionsbodenfilter

Retentionsbodenfilter (RBF) für die Mischwasserentlastung werden für die Entlastung der Gewässerbelastung bei starken Niederschlagsereignissen eingesetzt. Sie dienen der Reduktion von Feststoffen, Sauerstoff-zehrenden Stoffen, oxidierbaren Stickstoffverbindungen, Metallen und Mikroorganismen im Filtrat. Der klassische Aufbau eines RBF ist in einem horizontalen Filter von oben nach unten folgender: Zum Schutz vor Kolmation und Erosion und als erste Filterschicht werden die Filter mit Schilf oder Gras bepflanzt, darauf folgt eine Filterschicht Sand, eine Drainageschicht aus Kies und ein Drainagerohr (MUNLV, 2003). Das Mischwasser sickert so durch eine belebte Bodenschicht und wird dadurch sowohl physikalisch gefiltert als auch biochemisch gereinigt (Dittmer et al., 2016). Es gibt verschiedene Einflussfaktoren

ren für die Filtrationsleistung. Zum einen bestimmen die Filtersubstrate die Leistung des RBF. Die zulässigen Substrate und Ihre Eigenschaften sind in der Richtlinie DWA-M 178 „Retentionsbodenfilteranlagen“ (DWA, 2005) und in dem Handbuch für die Planung, den Bau und den Betrieb von RBFs beschrieben (MUNLV NRW, 2003). Der Korngrößenbereich soll demnach zwischen Fein- und Grobsand liegen, wobei der Anteil des Mittelsandes (0,2-0,6mm) am größten sein sollte, da Feinsand (0,06-0,2mm) die Kolmation fördern kann und Grobsand (0,6-2,0mm) zu einer geringeren Abbauleistung führen kann. Außerdem soll das Filtersubstrat über einen ausreichenden Anteil an Carbonat verfügen, der für die Neutralisierung der während der Abbauprozesse produzierten Säuren und zur Immobilisierung des Schwermetalldepots dient (MUNLV NRW, 2003).

2 Untersuchungsgebiete

In dem durch das BMBF geförderten Verbundprojekt „Biologische bzw. hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern“ (HyReKA, FKZ 02WRS1377) wurde neben anderen Fallbeispielen die hygienisch-mikrobiologische Belastung von Abwässern mit und ohne Einfluss von Krankenhäusern bzw. medizinischen Einrichtungen untersucht.

2.1 Klinisch-urbanes Untersuchungsgebiet

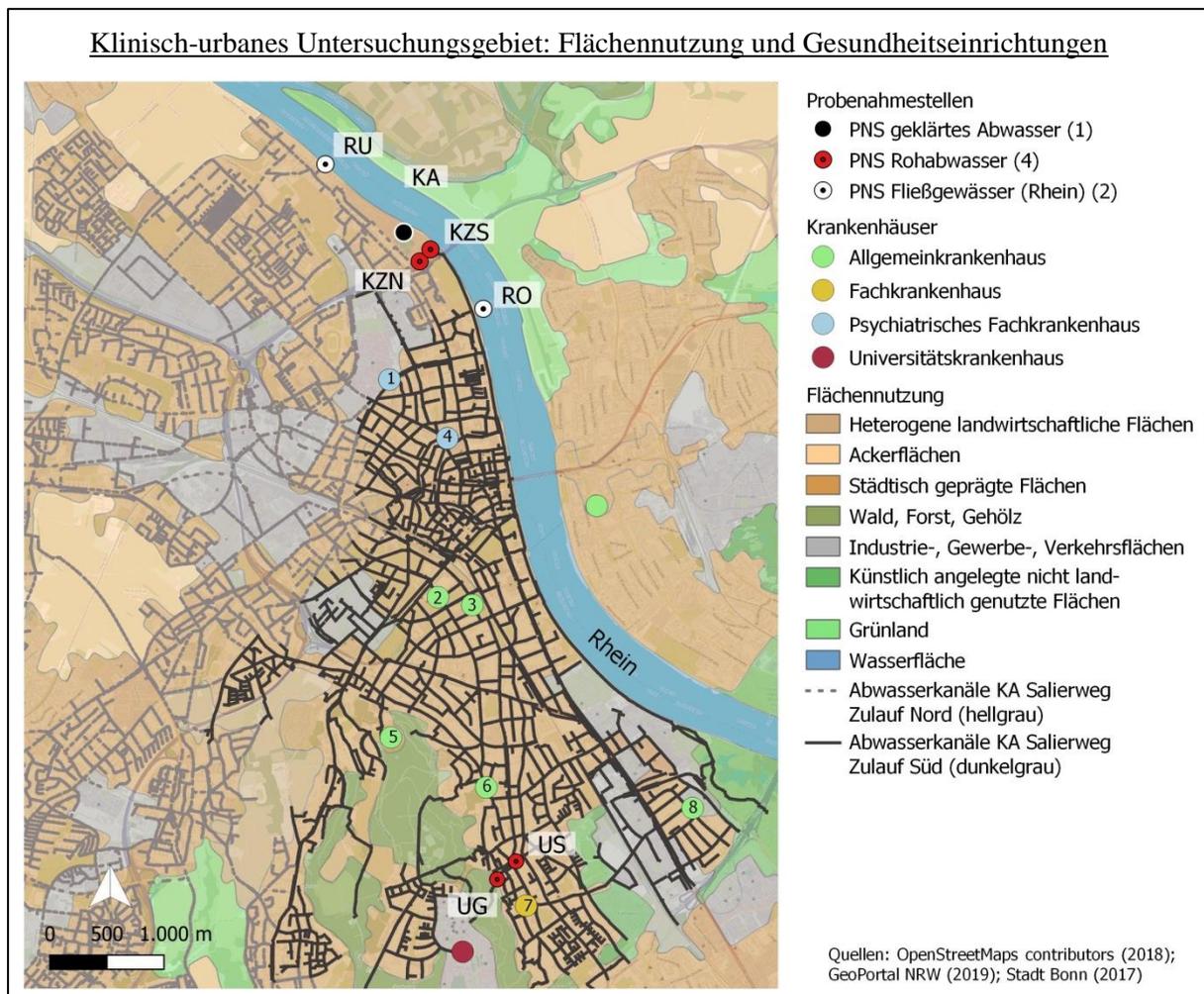


Abbildung 2: Klinisch-urbanes Untersuchungsgebiet: Flächennutzung und Gesundheitseinrichtungen. Kanalnetz der Abwasserleitungen, die in den Zulauf Nord der Kläranlage einleiten (hellgrau). Kanalnetz der Abwasserleitungen, die in den Zulauf Süd der Kläranlage einleiten (dunkelgrau). 1-7 entsprechen den Krankenhäusern in Tabelle 3.

Das Stadtgebiet Bonn erstreckt sich über eine Gesamtfläche von 141,3 km². Nach Angaben der Stadt Bonn (Abbildung 3, Stand März 2021) sind davon 34 % Wohn- und Bauflächen (ca. 50 km²), Flächen für den Gemeinbedarf und gewerbliche Flächen decken 6 % der Gesamtfläche ab. Mehr als 40 % der Fläche gehört zu Land- und Forstwirtschaft (58,4 km²), 12 % sind Grün- und Schutzflächen (16,6 km²) und 4 % Wasserflächen.

Die Stadt Bonn hatte 2018 327.258 Einwohner, mit einer Bevölkerungsveränderung von +1.768 Einwohnern im Vergleich zu 2017 (IT.NRW, 2019). Zudem ist die kreisfreie Stadt Bonn ein prominenter Wirtschaftsstandort in der südlichen Kölner Bucht (Rhein-Sieg-Kreis, 2021).

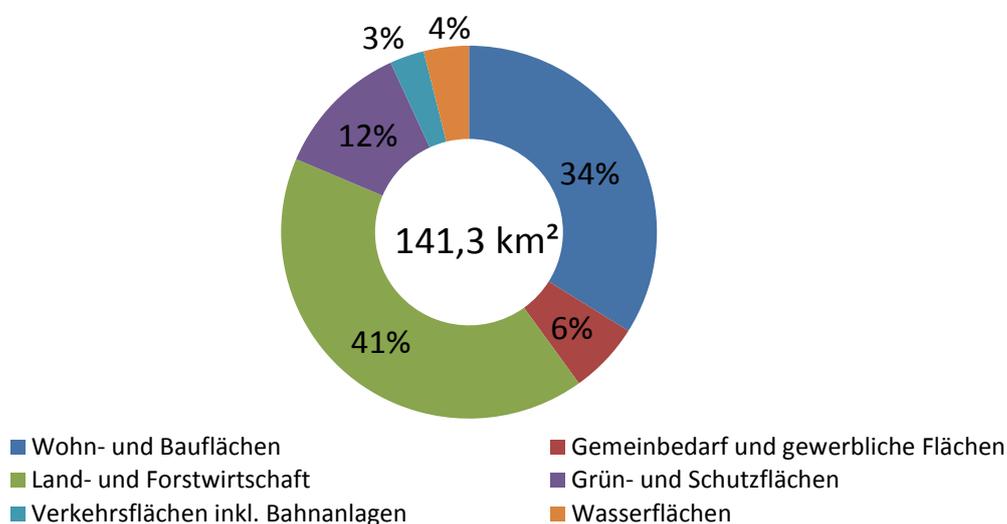


Abbildung 3: Flächenverteilung der Kreisfreien Stadt Bonn (Auskunft durch die Stadt Bonn per Email, März 2021).

2.1.1 Klinisch-urbanes Abwasser

Um den Einfluss klinischen Abwassers zu bewerten, wurden im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet Abwässer mit unterschiedlichem klinischem Ursprung untersucht (Tabelle 2). Die Probenahmestelle mit dem größten Anteil klinischen Abwassers (Klinikum Gesamt; UG) beinhaltet das Gesamtabwasser eines Maximal-Versorgers mit mehr als 1.000 Krankenhausbetten (Jahresabwassermenge 0,2 Mio m³). Die Probenahmestelle ‚Klinikum und Stadtteil‘ (US) beinhaltet klinisches und städtisches Abwasser (Jahresabwassermenge unbekannt).

Die Kläranlage Salierweg hat ein Anlagenvolumen von 131.100 m³ mit insgesamt 278.760 angeschlossenen Einwohnern (Stand 2019). Der Einwohnergleichwert für die mechanische Reinigung beträgt 307.000, für die Biologie 285.000 und 505.000 für den

Schlammteil. Im Untersuchungsgebiet sind hauptsächlich Wohn- und Bürogebiete, aber auch die Großfirmen Haribo und Verpoorten gelegen. Die Kläranlage Salierweg besitzt zwei Schächte für Zuleitungen, deren Einzugsgebiete sich wesentlich unterscheiden (Abbildung 2). Eine detaillierte GIS-Analyse unter Einbeziehung der städtischen Abwasserleitungen hat ergeben, dass am Zulauf Süd der Kläranlage alle im Stadtgebiet Bonn gelegenen Krankenhäuser angeschlossen sind und der nördlich gelegene Zulauf keine stationären Gesundheitseinrichtungen im Einzugsgebiet aufweist. Die Kläranlage reinigt im Jahr eine Abwassermenge von ca. 17.500.000 m³ und leitet das aufbereitete Abwasser direkt in den Rhein ein.

Tabelle 2: Zusammenstellung der Abwasser-Probenahmestellen im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet. k.A. = keine Angabe (Quellen: Land NRW, 2021)

Abk.	Probenahmestelle	Zusammensetzung	Jahresmenge Abwasser [m³/Jahr]	Angeschl. Einwohner
UG	Klinikum Gesamt	Klinisches Abwasser eines Maximalversorgers	0,2 Mio	>1000 Betten
US	Klinikum und Stadtteil	Klinisches und städtisches Abwasser	k.A.	k.A.
KZN	Kläranlage Salierweg Zulauf Nord	Städtisches Abwasser, ohne klinischen Einfluss	17,5 Mio	278.760
KZS	Kläranlage Salierweg Zulauf Süd	Klinisches und städtisches Abwasser		

2.1.2 Krankenhäuser und stationäre Gesundheitseinrichtungen im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet

Im Einzugsgebiet der Kläranlage Salierweg liegen neben dem Uniklinikum Bonn noch acht weitere Krankenhäuser (Tabelle 3). Von den angegebenen Krankenhäusern verwenden fünf Einrichtungen Antibiotika für die Behandlung von Infektionskrankheiten und/oder prophylaktisch bei immunsupprimierten Patienten. Diese Krankenhäuser können potentiell zum Austrag von antibiotisch wirkenden Substanzen und Antibiotika-resistenten Bakterien in das Abwasser beitragen. Alle aufgeführten Krankenhäuser sind am Zulauf Süd der Kläranlage Salierweg angeschlossen.

Tabelle 3: Weitere Krankenhäuser im Einzugsgebiet der Kläranlage Salierweg. Angegebene Fachrichtungen sind den jeweiligen öffentlich zugänglichen Internetseiten entnommen.

Pos. Karte	Krankenhaus (Anzahl Betten)	Fachrichtungen	Antibiotika Nutzung [ja/nein]
1	LVR-Klinik Bonn (840)	Allgemeine Psychiatrie, Abhängigkeitserkrankungen, Gerontopsychiatrie, Kinder- und Jugendpsychiatrie/Psychotherapie und Psychosomatik, Neurologie, Kinderneurologisches Zentrum (KiNZ)	nein
Gemeinschaftskrankenhaus Bonn (insg. >450)			
2	Betriebsstätte St. Petrus	Anästhesie und Intensivmedizin, Gefäßchirurgie, Kardiologie, Radiologie, Orthopädie, Unfallchirurgie, Sportmedizin	ja
3	Betriebsstätte St. Elisabeth	Anästhesie und Intensivmedizin, Allgemein- und Viszeralchirurgie, Geriatrie, Gynäkologie und Geburtshilfe, Innere Medizin/Gastroenterologie, Diabetologie, Radiologie	ja
4	Universitätsklinikum Bonn Physiologisches Institut	Physiologie	nein
St.-Marien-Hospital Bonn (insg. 370)			
5	Betriebsstätte Venusberg	Kinder- und Jugendmedizin – Kinderchirurgie, Allgemein- und Viszeralchirurgie, Allgemeine Chirurgie, Schwerpunkt Thoraxchirurgie, Anästhesie und Intensivmedizin, Gynäkologie und Geburtshilfe, Gefäßchirurgie, Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde, Innere Medizin, Pneumologie und Allergologie, Kinderchirurgie, Neonatologie, Pädiatrie, Radiologie	ja
6	Betriebsstätte Psychosomatik	Psychosomatische Medizin und Psychotherapie	nein
7	MEDICLIN Robert Janker Klinik (83)	Strahlentherapie und Radioonkologie	(ja)
8	Johanniter-Krankenhaus Bonn (650)	Adipositasbehandlung, Viszeralchirurgie, Onkologische Chirurgie, Endokrinologie und Endokrine Chirurgie, Proktologie, Allgemeinchirurgie, Anästhesie und Intensivmedizin, Urologie, Plastische, Rekonstruktive Ästhetische & Handchirurgie, Hämatologie, Inter-nistische Onkologie, Hals-Nasen-Ohren- / Kopf- und Halschirurgie, Geriatrie, Gynäkologie und Geburtshilfe, Gastroenterologie, Kardiologie, Neuropsychologie, Pneumologie	ja

Dem nördlichen Zulauf konnten keine Krankenhäuser im Abwasser-Einzugsgebiet zugeordnet werden. Die Abwasserstränge und Krankenhäuser im Einzugsgebiet der Kläranlage Salierweg sind in Abbildung 2 dargestellt.

Die Probenahmestellen UG und US beinhalten Abwasser eines Maximalversorgers, der Antibiotika in verschiedenen Klinikbereichen einsetzt. Mit 37 Kliniken und 31 Instituten sowie 8.000 Beschäftigten, gehört das UKB zu einem der größten Arbeitgeber in Bonn. Jährlich werden am UKB rund 50.000 Patienten stationär und rund 35.000 Notfälle versorgt sowie über 350.000 ambulante Behandlungen durchgeführt. Zu den Kliniken und Zentren, die am Standort Venusberg angesiedelt sind, gehören Augenklinik, Chirurgisches Zentrum (Anästhesiologie, Allgemeine Chirurgie, Herzchirurgie, HNO, Mund-, Kiefer- und Plastische Gesichtschirurgie, Orthopädie und Unfallchirurgie, Urologie und Kinderurologie, Zentrum für Ambulantes Operieren), Dermatologie, Frauenklinik, Innere Medizin (Allgemeine Innere Medizin, Herzzentrum, Klinik für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie), Nervenklinik, Nuklearmedizin, Palliativmedizin, Radiologie, medizinische Poliklinik, und das Eltern-Kind-Zentrum.

Das Universitätsklinikum zählt mit seinen rund 1.200 Betten zu einer medizinischen Einrichtung der Maximalversorgung. Versorgungsstufe ist ein Begriff aus der Krankenhausplanung in Deutschland. In dem Krankenhaus-Kostendämpfungsgesetz (KHG) (BRD, 1981) festgeschrieben, werden Krankenhäuser von den Ländern in den Krankenhausplänen in vier Versorgungsstufen (Grund-, Regel-, Schwerpunkt- und Maximalversorgung) eingeteilt. Häufig werden die ersten beiden Versorgungsstufen zur Versorgungsstufe der Grund- und Regelversorgung zusammengefasst (Garre et al., 2015). Die Zuweisung der Versorgungsstufen orientiert sich an allgemeinen Vorgaben wie einer Mindestanzahl von Fachabteilungen sowie einer Mindestanzahl und Qualifikation des ärztlichen Personals. Fachkliniken werden den Versorgungsstufen gemäß ihrer individuellen Leistungsfähigkeit zugeordnet (Malzahn et al., 2018). Dabei werden folgende Versorgungsstufen spezifiziert: Grundversorgung: Vorhaltung der Fachabteilungen Allgemeine Innere Medizin und Allgemein Chirurgie; Regelversorgung: Vorhaltung von mindestens zehn Disziplinen (darunter verschiedene Schwerpunktkompetenzen der Inneren Medizin/Chirurgie, Intensivmedizin, Geburtshilfe sowie Kinder- und Jugendmedizin), dabei sollte zumindest in der Inneren Medizin/Chirurgie eine Schwerpunktbildung erfolgen; Schwerpunktversorgung/Maximalversorgung: Vorhaltung von mehr als 15 Disziplinen (darunter ver-

schiedene Schwerpunktkompetenzen der Inneren Medizin/Chirurgie, Intensivmedizin, Geburtshilfe, Neurologie, Neurochirurgie, HNO, Augenheilkunde, Kinder- und Jugendmedizin); und zusätzlich für Universitätsklinika: Besondere Leistungen in Forschung und Lehre, die sich auch dadurch beweisen, dass relevante Patientenzahlen in qualitativ hochwertige wissenschaftliche Studien einbezogen werden (Malzahn et al., 2018).

2.1.3 Oberflächengewässer im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet

Die im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet gesammelten Oberflächengewässer-Proben wurden aus dem Rhein flussaufwärts und flussabwärts der Einleitung der Kläranlage Salierweg entnommen. Der Rhein ist ein großer, grenzüberschreitender Fluss, der im Schweizer Kanton Graubünden entspringt und auf einer Gesamtlänge von 1.232 km durch Deutschland und weiter durch die Niederlande fließt und in die Nordsee mündet (GDWS, 2021).

Tabelle 4: Zusammenstellung Probenahmestellen aus dem Oberflächengewässer Rhein im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet, geordnet nach Fließrichtung. Detaillierte Angaben im Anhang. (Quellen: Land NRW, 2021; GIS)

Abk.	PNS	Gewässer-lage	Teil-Untersuchungsgebiete [km ²]	Fahr-rinntiefe [m]	Entfernung zur Mündung [km]	Durchschnittl. Fließgeschwindigkeit [km/h]
RO	Rhein stromaufwärts der KA Salierweg	Ortslage	140.901	2,5	577	7 - 8
RU	Rhein stromabwärts der KA Salierweg	Ortslage	140.901	2,5	575	7 - 8

Der Mittelwasserabfluss (MQ) des Rheins an der Einleitstelle der Kläranlage liegt bei ca. 2.000 m³/s, der Mittlere Niedrigwasserabfluss (MNQ) bei 914 m³/s und der Mittlere Hochwasserabfluss (MHQ) bei 6.220 m³/s. Bei Kilometer 654,8 hat der Rhein ein Teileinzugsgebiet an den Probenahmestellen von ca. 140.000 km². Die Entfernung bis zur Mündung in die Nordsee ist für die Probenahmestelle stromaufwärts

der Einleitung der Kläranlage Salierweg 577 km und an der Probenahmestelle im Unterstrom 575 km. Die durchschnittliche Fließgeschwindigkeit an den Stellen liegt bei 7 bis 8 km/h. Der LAWA Gewässertyp wird als Typ 10 (Kiesgeprägter Strom) angegeben und die Fahrrinntiefe liegt an den Probenahmestellen bei 2,5 m (Land NRW, 2021).

Die linke Flussseite ist geprägt durch Uferpromenade und Wohngebiet, während auf der rechten Flussseite Grünland bzw. Parkanlagen gelegen sind. Die Flächennutzung ist linksrheinisch vor allem geprägt durch städtische Strukturen sowie wenige Wald- und Grünflächen (Abbildung 2).

2.2 Ländlich-kommunales Untersuchungsgebiet

Vergleichend wurden Untersuchungen in einem ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet durchgeführt, das bereits umfangreich erforscht und charakterisiert ist (Schreiber et al., 2016). Das Einzugsgebiet der Swist erstreckt sich über 279 km² bei einer Höhe von 108-330 m NHN in NRW und Rheinland-Pfalz. Die Swist befindet sich überwiegend im Bundesland Nordrhein-Westfalen (NRW) südwestlich der Städte Köln und Bonn im westlichen Teil Deutschlands (MULNV NRW, 2015). Ein kleiner Teil des Einzugsgebietes (13 km²) liegt im Bundesland Rheinland-Pfalz. Die Swist ist von der Quelle bis zur Mündung ca. 44 km lang und mündet bei der Kleinstadt Weilerswist in die Erft, die bei Neuss in den Rhein mündet. Das gesamte Gewässernetz mit allen Nebenflüssen ist etwa 250 km lang (MULNV NRW, 2015). Die Gewässerstrukturgüte wird an den einzelnen Stellen zwischen stark und vollständig verändert bewertet (Land NRW, 2021). In dem Steckbrief der Planungseinheiten im Einzugsgebiet Erft NRW, hat das Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen (MULNV NRW) für die Planungseinheit „Swist“ Gewässerdaten (Stand 2013) herausgegeben (MULNV NRW, 2015). In dem Gebiet leben 89.076 Einwohner (343 EW/km²). Die Kommunen sind Bornheim (8 %), Euskirchen (17 %), Meckenheim (12 %), Rheinbach (24 %), Swisttal (22 %) und Weilerswist (10 %). Das Swistgebiet ist landwirtschaftlich geprägt und Ackerflächen werden mit 46,2 % und Grünland mit 8,9 % angegeben. Circa ein Drittel der Fläche ist bewaldet (30,5 %) (MULNV NRW, 2015). Bezüglich der Wasserqualität bewertet das MULNV NRW die Gewässer im Einzugsgebiet der Swist als vorwiegend mäßig. In Bezug auf chemische Verunreinigungen wurden die Gewässer im Einzugsgebiet als „nicht gut“ eingestuft (MULNV NRW, 2015).

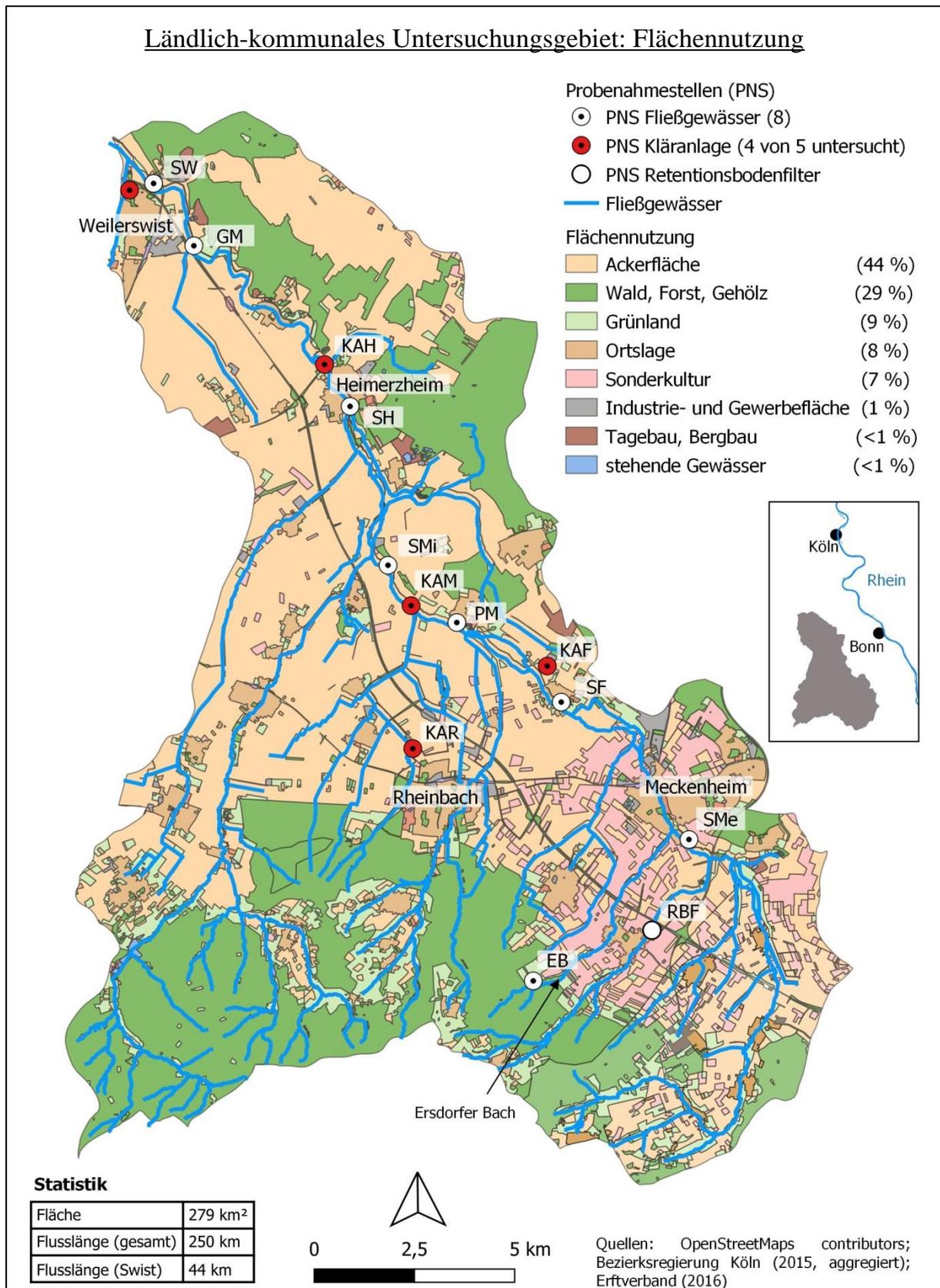


Abbildung 4: Flächennutzung des Einzugsgebietes des Swistbaches als ländlich-kommunales Untersuchungsgebiet und Kartierung der in dieser Arbeit untersuchten Probenahmestellen.

Schreiber et al. (2016) beschreiben das Klima als geprägt durch einen durchschnittlichen Jahresniederschlag von 650-700 mm und eine durchschnittliche Lufttemperatur von 9-10 °C.

Abbildung 4 zeigt die Flächennutzung des Einzugsgebietes des Swistbaches und die Probenahmestellen. Der größte Anteil im Einzugsgebiet der Swist ist geprägt durch Ackerland mit insgesamt 127 km² (44 %). Schreiber et al. (2016) differenzieren zusätzlich 8 % Weiden für Rinder und Pferde und 6 % spezialisierte Obstanbaugebiete mit Erdbeeren und Obstgärten. 29 % der Fläche in Abbildung 4 konnten als Wald/Forst/Gehölz charakterisiert werden (85 km²). Grünland und Sonderkulturen bedecken 8,6 % bzw. 6,6 % der Fläche und 7,6 % mit insgesamt 22,7 km² werden als Ortslage dargestellt. Schreiber et al. (2016) beschreiben, dass versiegelte Flächen überwiegend über Mischwasserkanäle entwässert werden (70 %), 30 % werden über getrennte Kanal- und Regenwasserkanäle entwässert.

Als Freizeitnutzung kommen an der Swist z.B. das Spielen von Kindern im und am Gewässer vor. Spaziergänger sind entlang des gesamten Gewässerlaufs zahlreich vertreten. Eine Nutzung des Swist-Wassers bzw. der Oberläufe für landwirtschaftliche Zwecke ist recht verbreitet; sowohl die Bewässerung von Sonderkulturen als auch die Verwendung als Tränkewasser für Pferde und Vieh sind bekannt.

2.2.1 Ländlich-kommunales Abwasser

Im Einzugsgebiet der Swist liegen vier Kläranlagen (Tabelle 5), die direkt oder indirekt über Nebenflüsse in die Swist einleiten und für einen hohen Anteil der chemischen und mikrobiellen Belastungen der Swist verantwortlich sind.

Tabelle 5: Zusammenstellung der untersuchten Kläranlagen des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes. Untersucht wurden jeweils Zu- und Ablauf im Zeitraum 2016-2018. (Angaben: Erftverband)

Abk.	Kläranlage	Anlagen Volumen [m ³]	Jahres- menge Abwasser [m ³ /Jahr]	Einwohner -gleichwert	Angeschl. Einwohner	Auslastung [%]
KAF	Flerzheim	23.382	4,5 Mio	50.000	35.797	84,0
KAR	Rheinbach	13.000	2,0 Mio	27.000	19.871	96,0
KAM	Miel	5.667	0,9 Mio	11.000	10.198	92,0
KAH	Heimerzheim	5.446	0,5 Mio	10.700	7.705	71,0

Die Kläranlage Flerzheim (Abbildung 5, Anhang Tabelle A4.1) ist eine konventionelle Kläranlage mit einem Anlagenvolumen von mehr als 23.000 m³ und einem jährlichen Abwasservolumen von 4.500.000 m³ und ist damit die größte Kläranlage im Einzugsgebiet der Swist. Im Einzugsgebiet der Kläranlage Flerzheim liegen Wohn-, Gewerbe- und Industriegebiete. Darunter fällt der Industriepark Kottenforst. Über Tankwagen werden außerdem Abwässer aus der Metallindustrie (Galvanik-Abwässer) und der Öl- und Seifenindustrie der Firma Greven-Chemie in Bad Münstereifel zur Aufbereitung an die Kläranlage gebracht. Das aufbereitete Abwasser wird direkt in die Swist eingeleitet.

Die zweitgrößte Kläranlage ist in Rheinbach gelegen (Abbildung 6, Anhang Tabelle A4.4). Bei einem Anlagenvolumen von 13.000 m³ sind im Untersuchungszeitraum 19.871 Einwohner angeschlossen (Einwohnergleichwert 27.000). Seit 2020 ist der konventionellen Kläranlage ein RBF als vierte Reinigungsstufe nachgeschaltet. Dieser ist erst nach Beendigung der hier dargestellten Untersuchungen in Betrieb gegangen. Das Einzugsgebiet der Kläranlage besteht aus Wohn-, Gewerbe- und Industriegebiet. Die Kläranlage Rheinbach bereitet im Jahr 2.036.858 m³ Abwasser auf und leitet das gereinigte Abwasser in den Wallbach ein, der in die Swist mündet.

Die Kläranlagen in Miel (Abbildung 7, Anhang Tabelle A4.3) und Heimerzheim (Abbildung 8, Anhang Tabelle A4.2) sind mit einem Anlagenvolumen von 5.667 m³ bzw. 5.446 m³ deutlich kleiner als die beiden anderen Kläranlagen im Einzugsgebiet der Swist. Im Einzugsgebiet der Kläranlage Miel liegen größtenteils Wohngebiete mit 10.198 Einwohnern und einem jährlichen Abwasservolumen von 896.115 m³. Das aufbereitete Abwasser wird direkt in die Swist eingeleitet. An die Kläranlage Heimerzheim sind 7.705 Einwohner angeschlossen. Diese produzieren zusammen mit Schmutzwasser aus Heimerzheim, Straßfeld, Dünstekoven und Ollheim, welches in einem Mischsystem zusammen mit dem Niederschlagswasser abgeleitet wird und dem industriellen Schmutzwasser im nördlichen Teil von Heimerzheim (Trennsystem) insgesamt 513.929 m³ Abwasser im Jahr. Das aufbereitete Abwasser der Kläranlage Heimerzheim wird direkt in die Swist eingeleitet.



Abbildung 5: Kläranlage Flerzheim. Blauer Punkt: Probenahmegerät am Zulauf. Roter Punkt: Probenahmegerät am Ablauf. (GEOportal.NRW, 2021)



Abbildung 6: Kläranlage Rheinbach. Blauer Punkt: Probenahmegerät am Zulauf. Roter Punkt: Probenahmegerät am Ablauf. (GEOportal.NRW, 2021)



Abbildung 7: Kläranlage Miel. Blauer Punkt: Probenahmegerät am Zulauf. Roter Punkt: Probenahmegerät am Ablauf. (GEOportal.NRW, 2021)



Abbildung 8: Kläranlage Heimerzheim. Blauer Punkt: Probenahmegerät am Zulauf. Roter Punkt: Probenahmegerät am Ablauf. (GEOportal.NRW, 2021)

2.2.2 Oberflächengewässer im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet

Zusätzlich zu den Proben an den Zu- und Abläufen der Kläranlagen sind im Verlauf der Swist Oberflächenwasserproben entnommen worden (Tabelle 6). Die Probenahmestellen wurden so gewählt, dass sie die Situation des Gewässers entlang des Flusslaufes mit zunehmendem Einfluss von Abwassereinleitungen abbilden.

Tabelle 6: Zusammenstellung Probenahmestellen aus dem Oberflächengewässer Swist im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet, sortiert nach Flussrichtung. Detaillierte Angaben im Anhang. (Quellen: Land NRW, 2021; GIS). k.A.= keine Angabe

Abk.	PNS	Gewässerlage	Einzugsgebiete [km ²]	Mittelwassertiefe [m]	Entfernung zur Mündung [m ³ /s]	Durchschnittl. Fließgeschwindigkeit [m/s]
SMe	Swist oberhalb Meckenheim	Ortslage	48,1	0,3-0,5	28,2**	0,1
EB	Ersdorfer Bach	Freie Landschaft	0,8	k.A.	6,0*	k.A.
SF	Swist bei Florzheim	Ortslage	77,1	0,1-0,3	22,4**	0,1
PM	Pegel Morenhoven	Ortslage	105,6	0,3-0,5	18,5**	0,2
SMi	Swist an der Straße Buschhoven – Miel	Freie Landschaft	132,4	0,3-0,5	16,2**	0,1
SH	Swist in Heimerzheim	Ortslage	234,9	0,3-0,5	11,0**	k.A.
GM	Gewässergütemessstation Metternich	Ortslage	249,5	0,3-0,5	4**	k.A.
SW	Swist vor der Mündung bei Weilerswist	Freie Landschaft	279,7	0,3-0,5	1,5**	k.A.

*Mündung in die Swist.

**Mündung in die Erft

In Abbildung 9 sind die Einzugsgebiete der im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet untersuchten PNS des Oberflächengewässers Swist kartiert. Dabei addieren sich die Einzugsgebiete beginnend mit dem Einzugsgebiet der PNS SMe mit einer

Fläche von 48,1 km². Das Einzugsgebiet an der PNS Swist vor der Mündung bei Weilerswist (SW) inkludiert alle anderen Einzugsgebiete zuzüglich des für die PNS exklusiv kartierten Abschnittes. Die Probenahmestelle Ersdorfer Bach (EB) ist 6 km vor der Mündung in die Swist, tief in einem Waldstück gelegen; und es findet dort noch kein Einfluss von Siedlungsabwasser statt (weitere Informationen im Anhang Tabelle A2.1). Deshalb wird diese PNS in den nachfolgenden Kapiteln als anthropogen unbeeinflusste PNS vor der PNS oberhalb der Stadt Meckenheim (SMe; PNS 1) betrachtet.

Die Entfernung von der Probenahmestelle SMe bis zur Mündung in die Erft ist 28,2 km. Die Substratdiversität wird im ELWSAS-Web als mäßig eingestuft (Land NRW, 2021). Die mittlere Wassertiefe liegt an dieser Stelle bei 0,3 m bis 0,5 m. Mehr als 50 % der Fläche links und rechts vom Gewässerabschnitt ist bebaut. Das Teileinzugsgebiet hat eine Größe von 48,1 km² (Anhang Tabelle A2.2). Weiter dem Flussverlauf folgend ist die nächste Probenahmestelle bei der Ortschaft Flerzheim (SF) gelegen mit 22,4 km bis zur Mündung in die Erft (Anhang Tabelle A2.3). Die mittlere Wassertiefe an der Probenahmestelle liegt bei 0,1 m bis 0,3 m. Die Fläche auf der rechten Seite des Fließgewässers ist mit mehr als 50 % Bebauung gekennzeichnet, links von Gewässer liegt der Anteil bei 10-50 %. Das Teileinzugsgebiet ist 77,1 km² groß.

Die beiden zuvor genannten Flussabschnitte (SMe, SF) weisen einen LAWA Fließgewässertyp 6 (feinmaterialreiche, karbonatische Mittelgebirgsbäche) auf. Der Pegel Morenhoven (PM) ist eine feste Probenahmestelle des Erftverbandes zur Überwachung der Wasserqualität 18,5 km vor der Mündung in die Erft. Der LAWA Fließgewässertyp wird als Typ 16 (kiesgeprägte Tieflandbäche) angegeben, die Sohlsubstanz ist Kies. Mehr als 50 % der Fläche rechts und links sind bebaut (Einzugsgebiet 105,6 km²; Anhang Tabelle A2.4).

Zwischen der Probenahmestelle PM und der Probenahmestelle Swist an der Straße Buschhoven – Miel (SMi) leitet die Kläranlage Flerzheim ihr gereinigtes Abwasser in die Swist ein (Anhang Tabelle A2.5). Die Probenahmestelle SMe ist 16,2 km von der Mündung in die Erft entfernt und weist eine durchschnittliche Fließgeschwindigkeit von 0,35 km/h auf. Der LAWA Fließgewässertyp wird ebenfalls als Typ 16 angegeben. Auch hier ist links und rechts des Gewässers eine Bebauung von > 50 % zu finden. Das Einzugsgebiet ist 132,4 km² groß.

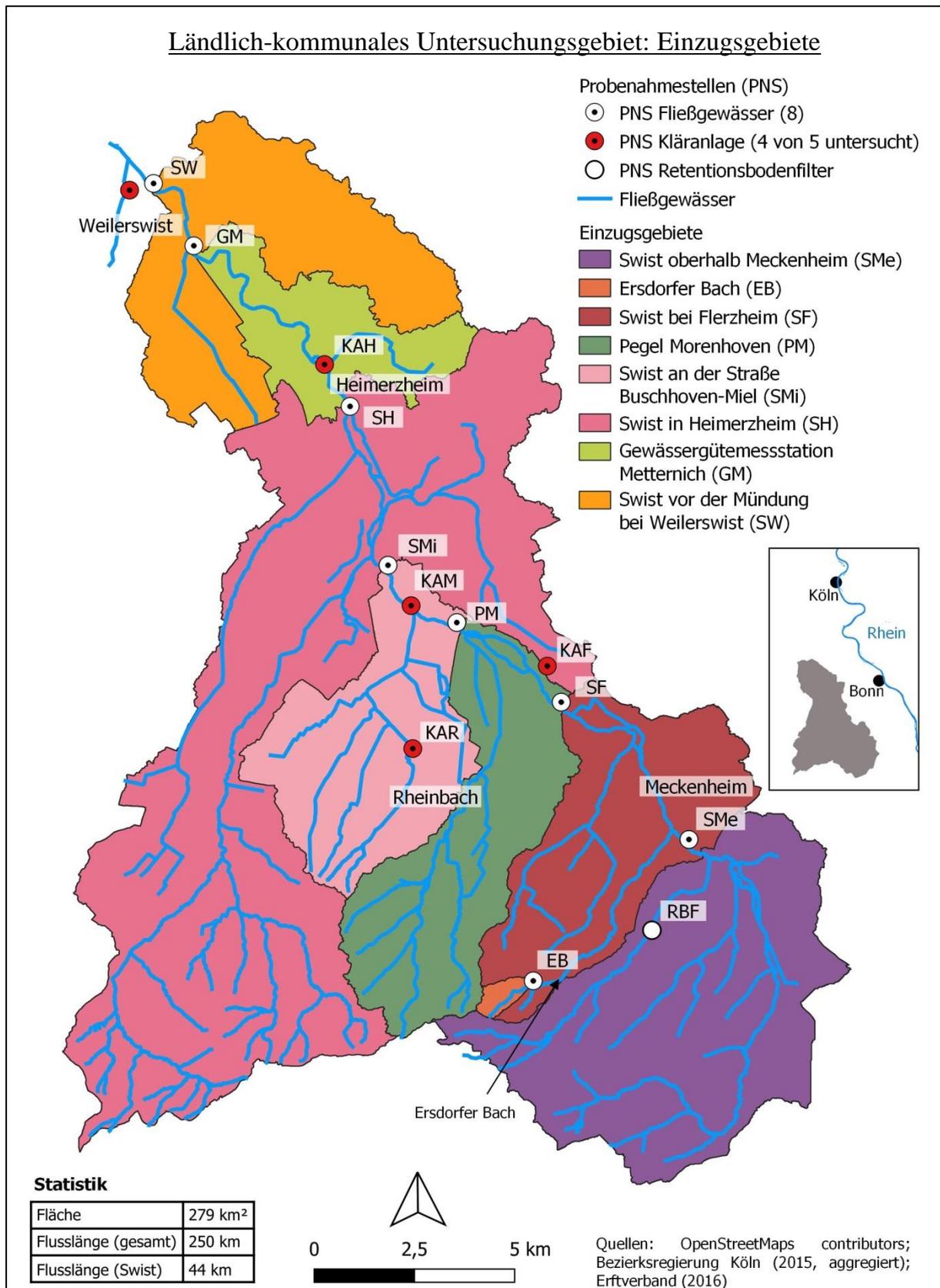


Abbildung 9: Einzugsgebiete zu den Probenahmestellen des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes.

Bis zur nächsten Probenahmestelle in Heimerzheim (SH) leiten sowohl die Kläranlage Miel als auch die Kläranlage Rheinbach aufbereitetes Abwasser in die Swist ein, die Entfernung bis zur Mündung in die Erft beträgt 11,0 km (Anlage Tabelle A2.6). Der LAWA Fließgewässertyp wird als Typ 17 (Kiesgeprägte Tieflandflüsse) angegeben und die mittlere Wassertiefe an der Probenahmestelle ist 0,3 m bis 0,5 m. Es findet sich an beiden Seiten des Gewässers eine Bebauung von mehr als 50 %. Das Einzugsgebiet an dieser Stelle hat eine Größe von 234,94 km².

Die Gewässergütemessstation (GM) liegt 4,0 km von der Mündung in die Erft entfernt (Einzugsgebiet 249,5 km²; Anhang Tabelle A2.7). Zwischen den Probenahmestellen SH und GM leitet die Kläranlage Heimerzheim in die Swist ein.

In 1,5 km Entfernung zu der Mündung in die Erft liegt die Probenahmestelle in Weilerswist (SW). Die Fläche links vom Gewässer ist mit einem Anteil von mehr als 50 % von Acker und Sonderkulturen geprägt. Rechts vom Gewässer befindet sich städtische Bebauung (Anhang Tabelle A2.8). Das Einzugsgebiet an dieser Stelle entspricht aufsummiert dem gesamten Einzugsgebiet der Swist von 279 km².

2.2.3 Abwasseranteile im Oberflächengewässer des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets

Je nach Niederschlagssituation ist der Anteil an Abwasser an den einzelnen Probenahmestellen des Swistbaches unterschiedlich. Für die Stellen Pegel Weilerswist und Pegel Morenhoven konnten für den Untersuchungszeitraum von Dezember 2016 bis Juni 2018 unterschiedliche Abwasseranteile berechnet werden. Die Berechnung der prozentualen Abwasseranteile wurde durch Daten zu den Tagesabflüssen [m³] an den Messstellen und den entsprechenden Kläranlageneinleitungen [m³] oberhalb der Messstelle berechnet.¹ Im Median über den angegebenen Zeitraum liegen die Anteile an Abwasser für die Messstellen Pegel Weilerswist und Pegel Morenhoven bei 42,5 % und 49 % (Maximum 80,7 bzw. 100 %). Abbildung 10 zeigt die Abwasseranteile als monatlichen Mittelwert aus drei in dem Monat gemessenen Werten. Zur Orientierung sind die meteorologischen Jahreszeiten eingezeichnet. Der Abwasseranteil am Gesamtwasser der Swist steigt im Frühling bis zum Sommer an, um dann im Winter wieder abzufallen. Die Daten aus dem Jahr 2018 zeigen besonders niedrige Abwasseranteile im Winter und sehr hohe Abwasseranteile im Sommer.

¹ Die Daten wurden vom Erftverband, als zuständigem Wasserverband, zur Verfügung gestellt.

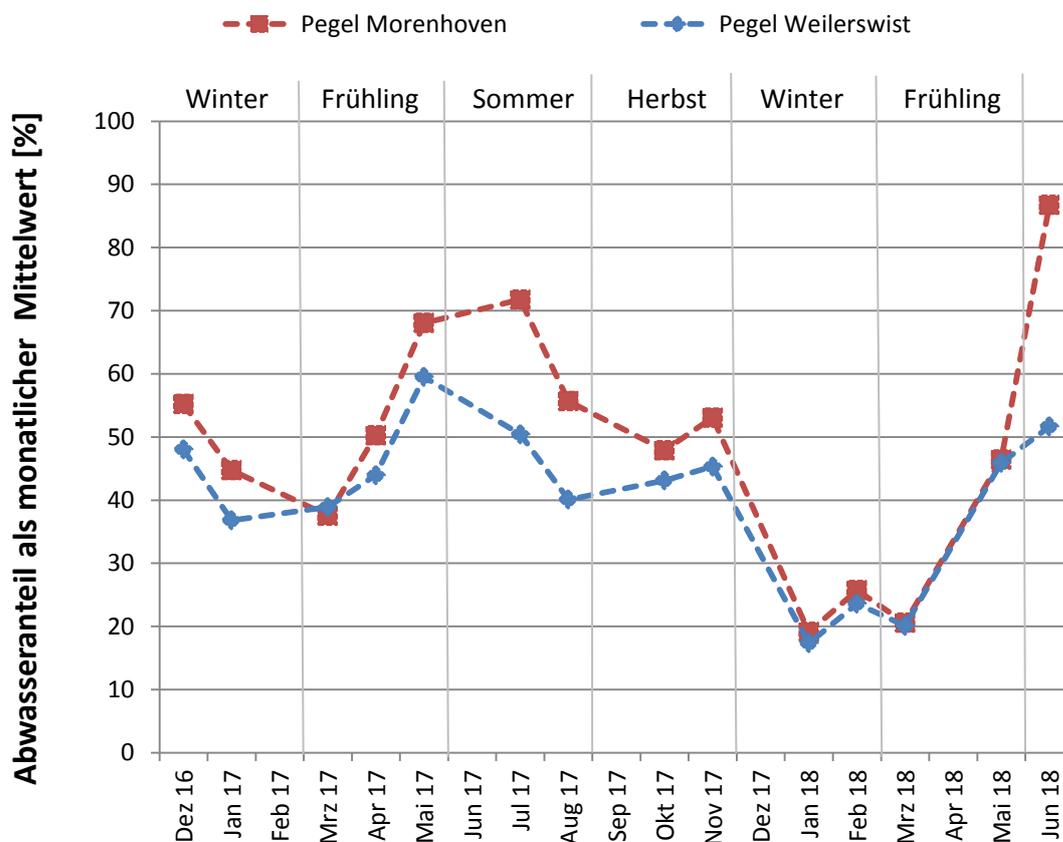


Abbildung 10: Abwasseranteile an den Messstationen Pegel Weilerswist und Morenhoven, monatliche Mittelwerte aus drei Messwerten, berechnet als Verhältnis des Tagesabflusses [m³] an der Messstelle zu den Kläranlageneinleitungen [m³] bis zur Messstelle (Daten erhoben und zur Verfügung gestellt durch den Erftverband).

2.2.4 Mischwasserentlastung im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet am Beispiel des Retentionsbodenfilters Altendorf

Um die hygienisch-mikrobiologische und chemische Belastung von Fließgewässern durch die Einleitung von Mischwasser zu verringern, wird vermehrt an Regenüberlaufbecken eine weitergehende Behandlung des entlasteten Mischwassers durch RBFs durchgeführt. Der untersuchte RBF liegt im Ortsteil Altendorf der Stadt Meckenheim im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet (Abbildung 4).

Das angeschlossene Kanalsystem entwässert die Orte Hilberath und Altendorf mit ca. 1.650 angeschlossenen Einwohnern im Mischwassersystem. Die abflusswirksame Fläche beträgt rund 18,8 ha. Bei dem angeschlossenen Gebiet handelt es sich um ein ländlich geprägtes Wohngebiet mit einigen landwirtschaftlichen Betrieben. Es sind

keine nennenswerten Gewerbe- bzw. Industrieflächen oder Gebäude mit speziellem Abwasseraufkommen, wie Krankenhäuser, vorhanden.

Tabelle 7: Betriebsdaten des RBFs Altendorf im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet (Quelle: Mertens et al., 2012).

Einzugsgebiet	Art der Entwässerung Einzugsgebiet	Mischsystem 0,18 km ²
Vorbehandlung	Funktion Rückhaltevolumen	RÜB 143,0 m ³
Aufbau RBF	Filterfläche Volumen Anzahl der Schichten Filterschichthöhe gesamt Vegetation	707,0 m ³ 782 m ³ 1 75,0 cm Schilf
Plandaten	max. Filterablauf max. Filterleistung Inbetriebnahme	41,0 L/s 0,03 L/(s*m ³) 2005
Filtermaterial	Ton + Schilf Feinsand Mittelsand Grobsand Kies	3 % 17 % 59 % 20 % 1 %

Es handelt sich um einen einstufigen RBF, der einem Regenüberlaufbecken nachgeschaltet ist. Im Falle der vollständigen Auslastung des Kanalsystems bei Regen und der Überschreitung der Rückhaltekapazität des Kanalstauraums wird das Mischwasser in den RBF abgeschlagen. Das Wasser durchsickert eine 0,75 m starke Filtersandschicht. Über Drainageleitungen wird das so aufbereitete Wasser am Grund des Beckens gesammelt und dem Ablauf zugeführt. Die allgemeinen Betriebsdaten des RBFs Altendorf sind in Tabelle 7 aufgeführt. Das durch die Passage des RBF gereinigte Abwasser wird in den Altendorfer Bach eingeleitet, der in die Swist mündet (Mertens et al., 2012).

3 Methoden

3.1 Probenahme

Je nach Infrastruktur wurden an den unterschiedlichen Probenahmestellen unterschiedliche Probenahmeverfahren durchgeführt. Für alle Probenahmen gilt, dass Transport und Lagerung der Proben in einer Kühlbox mit Kühllakkus erfolgte und das genutzte Material vor dem Verstauen im Auto mindestens mit Trinkwasser oder destilliertem Wasser abgespült, wenn möglich desinfiziert wurde.

3.1.1 24h-Mischproben mit automatisierten Probenehmern

Um ein möglichst repräsentatives Ergebnis über einen Tag (24 Stunden) zu erhalten, wurden bei gegebener Infrastruktur automatisierte Probenehmer aufgestellt oder bereits vorhandene Geräte benutzt. Die Proben wurden entsprechend der Programmierung der Probenahmegeräte als Mischprobe in verschiedenen Teilproben (mehrere sterile Gefäße) oder in einem ausreichend großen sterilen Gefäß gesammelt. Für die Regelproben an den Kläranlagen wurden die Probenehmer auf ein Probenahme-Intervall von montags 8:00 bis dienstags 8:00 eingestellt. Die eingestellten Zapf-Intervalle für die 24h-Mischproben im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet lagen bei 10 Minuten und im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet bei 5 Minuten. Die Proben wurden vor Abfüllung mit einem desinfizierten Rührgerät oder durch vorsichtiges Schwenken im Gefäß durchmischt. Die Proben wurden mit einem sterilen Schöpfgefäß in die Probenahmeflasche überführt oder proportional aus den einzelnen Teilproben umgefüllt. Die automatisierten Probenehmer wurden für jede Probenahme mit neuen sterilen Gefäßen bestückt, das Programm für die Routineprobenahme eingestellt und erneut gestartet.

3.1.2 Qualifizierte Stichprobe nach DIN 38402

Eine qualifizierte Stichprobe ist nach DIN 38402-11:2009-02 eine „Sonderform einer Mischprobe, bestehend aus mindestens fünf Stichproben, die in einem Zeitraum von höchstens 2 h im Abstand von nicht weniger als 2 min entnommen und gemischt werden“. Für die hier untersuchten Proben wurden 5 Stichproben in einem Abstand von je 2 Minuten genommen (DIN 38402-11:2009-2). Bei Abfüllung mehrerer Probenflaschen gleichzeitig (z.B. für Chemie und Mikrobiologie parallel) wurde ein steriles

Sammelgefäß zur Homogenisierung der Stichproben genutzt und die Probe anschließend aufgeteilt.

3.1.3 Ereignisprobenahmen

Um Abschlagsereignisse erfassen zu können, wurde an dem RBF durch den Erftverband ein automatisches Probenahmesystem installiert. Die Steuerung erfolgte über eine durch den Erftverband entwickelte Steuerungseinheit auf Basis einer Speicherprogrammierbaren Steuerung. Über einen Wasserstandsensoren im Zulauf des RBFs konnte der Abschlagsbeginn registriert und der Probennehmer des Zulaufs zeitgenau aktiviert werden. Für den Zulauf wurden pro Ereignis drei Proben gezogen. Bei der ersten Probe wurde der Zulauf der ersten 15 Minuten, bei der zweiten das Intervall Minuten 15- 60 und bei der dritten Probe das Intervall Minuten 60-150 beprobt. Aus der Berechnung des im Filter verbleibenden Restwassers ergab sich, dass etwa eine Stunde nach Beginn der Entleerung des Filters über die Entleerungspumpen noch Restwasser im Filter vorhanden ist. Die Beprobung des Ablaufs des RBFs erfolgte deshalb mit einer entsprechenden Verzögerung. So konnte sichergestellt werden, dass nicht das für den Betrieb notwendige Restwasser des letzten Abschlags beprobt wurde. Am Ablauf wurde pro Ereignis eine Mischprobe über 150 Minuten gezogen. Die Tauchpumpen füllten dabei in ca. 15 Minuten die 200 Liter fassenden Probenbehälter jeweils für den Zu- und den Ablauf für die Analytik. Die Benachrichtigung über die Probenahme erfolgte über ein integriertes Meldesystem per Textnachricht und E-Mail. Die 200 Liter fassenden Probenbehälter wurden nach jeder Probenahme mit einer alkoholhaltigen Desinfektionslösung ausgewaschen, Rückstände wurden mit sterilem destilliertem Wasser entfernt.

3.2 Nachweis Antibiotika-resistenter Bakterien in der aquatischen Umwelt

Unter Berücksichtigung der Globalen Prioritätenliste für Antibiotika-resistente Bakterien als Leitfaden für die Forschung, Entdeckung und Entwicklung neuer Antibiotika (WHO, 2017) wurden acht verschiedene ESBL-produzierende Gram-negative Bakterienarten als Zielorganismen ausgewählt. Zu den mikrobiologischen Parametern gehörten Gram-negative ESBL-produzierende Bakterien der Arten *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. (wegen der morphologischen Ähnlichkeit auf den verwendeten Agarplatten später als KEC gruppiert), ESBL-produzierende *E. coli*

sowie *Pseudomonas* spp. und *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. und *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*-Komplex, die jeweils eine Resistenz gegen Cephalosporine der 3. Generation (3GCR) zeigten.

Ein Screening auf (multi)resistente Bakterien in der Umwelt ist derzeit nicht vorgeschrieben. Folglich fehlt für die weitergehende mikrobiologische Analyse von Umweltwasserproben eine normative Standardarbeitsanweisung (SOP) für die Laboranalyse hinsichtlich Antibiotika-resistenter Bakterien. Daher ist keine systematische Übersicht über die Wasserbelastung mit diesen Parametern verfügbar. Zur Verifizierung ist eine objektive Trendanalyse der Antibiotika-resistenten Bakterien- bzw. Resistenzgen-Verbreitung bzw. ein raumbezogener Vergleich erforderlich, der auf vergleichbaren Daten unter Verwendung identischer Analysemethoden basiert.

Aufgrund des vermehrten Nachweises von Antibiotika-resistenten Bakterien im Zusammenhang mit klinischen Infektionen werden klinische Proben heutzutage auf das Vorhandensein von humanrelevanten Antibiotika-resistenten Bakterien untersucht. Die verfügbaren kommerziellen Fertigplatten für den Nachweis von Antibiotika-resistenten Bakterien sind aber ausschließlich für humane Proben validiert und standardisiert (z.B. chromogene Agarplatten) (Saito et al., 2010).

Umweltproben enthalten eine große Menge an Bakterien, die nicht klinisch relevant sind. Viele dieser Bakterien sind intrinsisch resistent, d. h. sie zeigen keine Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika, die in der Human- oder Veterinärmedizin eingesetzt werden und wachsen auf Selektivnährmedien, die für humanes Material optimiert sind. Daher können medizinische Nachweismethoden nicht direkt für den Nachweis von Antibiotika-resistenten Bakterien in der Umwelt verwendet werden. In mehreren Forschungsansätzen wurden in der Vergangenheit verschiedene, nicht standardisierte experimentelle Methoden zur mikrobiologischen Analyse von Umweltwässern zum Nachweis von Antibiotika-resistenten Bakterien durchgeführt (z.B. Schwartz et al., 2003). Somit ist die Vergleichbarkeit dieser Daten nicht gegeben, die aber für eine Trendanalyse der zeitlichen und räumlichen Resistenzausbreitung in der Umwelt erforderlich wäre.

Es muss also ein Grundstein für eine Standardisierung der Analysemethoden für humanrelevante Antibiotika-resistente Bakterien in Umweltproben gelegt werden. Dazu wurden, im Rahmen des Verbundprojekts HyReKA, Verfahren, Arbeitsabläufe und Ergebnisse generiert. An diesen grundlegenden Arbeiten war die Verfasserin maßgeblich beteiligt. Der Arbeitsablauf für den Nachweis von Antibiotika-resistenten

Bakterien in Umweltproben wurde standardisiert und hinsichtlich des Arbeitsaufwandes optimiert. Die Anwendung soll auch für Labore ohne *High-Tech*-Ausstattung in Entwicklungsländern und für die für Wasserqualität zuständigen Behörden möglich sein. Diese basiert auf einer Adaption etablierter medizinisch standardisierter Kultivierungsmethoden, die ursprünglich für Humanmaterialien optimiert wurden.

Zunächst wurden die vom Hersteller der CHROMagar empfohlenen und ursprünglich für Humanproben entwickelten Standardverfahren zur Kultivierung auf selektives Wachstum der Zielspezies, in Proben von Abwasser und Oberflächenwasser, getestet. Das verwendete chromogene Medium für den Nachweis der ESBL-produzierenden Bakterien war CHROMagar ESBL (Mast Diagnostica GmbH, Reinfeld, Deutschland).

Um einen Großteil der bei einer solchen Standardkultivierung beobachteten Hintergrundflora in den Umweltproben zu hemmen und die Vorselektion von Antibiotika-resistenten Bakterien zu verbessern, wurden verschiedene Ansätze separat und zuerst theoretisch evaluiert, anschließend auf Effektivität und Praktikabilität getestet und brauchbare Ergebnisse schließlich als Standardarbeitsanweisungen (SOP) für den Nachweis von humanrelevanten resistenten Zielspezies in Umweltproben zusammengefasst (Schreiber, Zacharias et al. 2021). Mögliche Modifikationen an dem für Humanmedizin optimierte Verfahren waren, (1) Anpassung der Inkubationstemperaturen, (2) eine detaillierte Identifizierung und Differenzierung, sowie die (3) Bestimmung von Nachweisgrenzen, Wiederfindungsraten und Qualitätscharakteristika.

In einem ersten Schritt wurden dazu Versuche mit Reinkulturen von Laborstämmen durchgeführt. In einem zweiten Schritt wurden Versuche mit Umweltwasserproben (unbehandeltes Abwasser, behandeltes Abwasser und Oberflächenwasser) durchgeführt, um eine mögliche hemmende Wirkung der umweltbedingten Hintergrundflora zu testen und die Anwendbarkeit des Testschemas in der Praxis zu ermitteln. Schreiber, Zacharias et al. (2021) beschreiben die genannten Tests im Detail. Im Folgenden wird die Methode dargestellt, die zur Bearbeitung der in dieser Arbeit betrachteten Proben verwendet wurde.

3.2.1 Kultureller Nachweis Antibiotika-resistenter Bakterien in Abwasser und Oberflächengewässern

Je nach erwarteter Konzentration von Zielbakterien und Hintergrundflora wurden 100 mL oder 10 mL Probe durch Vakuumfiltration auf einem Cellulosenitratfilter

(gemischter Celluloseester, Durchmesser 50 mm, Porengröße 0,45 μm ; Whatman GmbH, Dassel, Deutschland) aufkonzentriert bzw. 1 mL native Probe oder 1 mL einer 1:10 Verdünnungsreihe direkt auf Agarplatten aufgetragen. Proben von unbehandeltem Abwasser mussten wegen des hohen Gehalts an abfiltrierbarem organischem Material verdünnt werden, während behandeltes Abwasser und Oberflächenwasser oft durch Filtration aufkonzentriert werden konnte. Bei den verwendeten selektiven CHROMagar-Platten (ESBL CHROMagar, Mast Diagnostica GmbH, Reinfeld, Deutschland) handelte es sich um ein chromogenes Medium mit antibiotischen Zusätzen. Wie andere chromogene Agar ist dieser für den Nachweis, die Isolierung und die Differenzierung von ESBL-produzierenden Bakterien aus humanen Proben optimiert. Basierend auf den Wachstumstemperaturen der Zielspezies wurden Selektivagarplatten für 22 ± 2 h bei einer Inkubationstemperatur von $42 \pm 1^\circ\text{C}$ bebrütet (Schreiber, Zacharias et al., 2021).

Berechnungen der Kolonie bildenden Einheiten (KBE) für eine 100 mL-Probe wurden gemäß ISO/DIS 8199:2017 durchgeführt. Außerdem wurden alle Materialien gemäß den in ISO 11133:2014 + Amd 1:2018 genannten Anforderungen und Normen auf ihre Leistungsfähigkeit geprüft (ISO 11133:2018).

3.2.2 Identifikation der Isolate

Alle auf den ESBL CHROMagar gewachsenen Kolonien wurden nach ihren morphologischen Merkmalen gruppiert. Die Kolonien wurden als Zielspezies-Kandidaten (im folgenden Kandidaten genannt) gemäß den Herstellerangaben betrachtet. Kandidaten mit den passenden morphologischen Merkmalen wurden auf Columbia-Agar-Platten (Columbia Agar mit 5% Schafsblut; Oxoid, Basingstoke, UK) ausplattiert, um Reinkulturen zur Bestätigung und für weitere Untersuchungen zu erhalten. Aus jeder Gruppe von Kolonien mit gleichen morphologischen Merkmalen wurde mindestens eine Kolonie als repräsentativ für die weitere Differenzierung, die endgültige Identifizierung und die weitere Analyse abgeimpft.

Kandidaten, die ein typisches Wachstum auf dem Columbia-Agar zeigten, wurden auf morphologische Parameter wie Farbe, Größe, Reaktion auf dem Medium (z.B. Hämolyse) untersucht und auf biochemische Reaktionen wie die Fähigkeit zur Produktion von Oxidase und Katalase getestet. In Abhängigkeit von diesen Befunden wurden weitere Untersuchungen mit Standardmedien zum Speziesnachweis (unabhängig von Resistenzen) durchgeführt, wie sie in international genormten SOPs für

colifome Bakterien, *E. coli* und *P. aeruginosa* in Wässern beschrieben sind (DIN EN ISO 9308-1:2012; DIN EN ISO 16266:2006). Die *Acinetobacter* spp. wurden nur auf Gattungsebene vorverifiziert.

Die endgültige Bestätigung und Identifizierung der auf den Selektivagarplatten gewachsenen Bakterienkolonien erfolgte mittels matrixunterstützter Laser-Desorption/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie (MALDI-TOF MS) unter Verwendung des VITEK® MS Massenspektrometers (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Frankreich) mit der Myla™ Software. Zusätzlich wurden die VITEK MS-CHCA-Matrix (# 411 071) und Einweg-Targets (# 410 893) verwendet.

3.2.3 Qualitätsdaten des kulturellen Nachweises von Antibiotika-resistenten Bakterien in Umweltproben

3.2.3.1 Wiederfindung

Für den Leistungsvergleich der Wiederfindung auf Selektivagar unter Verwendung anerkannter Methoden wurden das gebrauchsfertige Anreicherungsmedium Columbia-Agar und mehrere Spezies-spezifische Selektivagar nach ISO-Methoden verwendet. Dazu wurden Bakteriensuspensionen diverser Teststämme und entsprechende Verdünnungen gleichzeitig auf Columbia-Agar-Platten, auf den jeweiligen CHROMagar-Platten sowie auf Agar-Platten nach der entsprechenden internationalen SOP bzw. auf ein anderes Referenzmedium ausplattiert (Schreiber, Zacharias et al., 2021).

Bei Verwendung von Reinkulturen resistenter Wildtyp-Isolate und von Referenzlaborstämmen unterschied sich die Wiederfindung zwischen Columbia-Agar und dem CHROMagar ESBL zwischen 1,21 Log₁₀ für *A. calcoaceticus-baumannii*-Komplex und 1,95 Log₁₀ für *K. pneumoniae*. Der Parameter *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex zeigte auf dem SOP-Agar (CHROMagar Acinetobacter) weniger Kolonien als auf dem selektiven Antibiotikaresistenz-Agar CHROMagar ESBL, während alle anderen ESBL-produzierenden Bakterien auf dem jeweiligen SOP-Agar besser wuchsen (Schreiber, Zacharias et al. 2021).

3.2.3.2 Sensitivität und Spezifität

Die Berechnung der individuellen Sensitivität und Spezifität wurde durch Schreiber, Zacharias et al. (2021) anhand klassischer Vierfeldertabellen mit den Kategorien richtig-positiv, richtig-negativ, falsch-positiv, falsch-negativ unter Verwendung

des gesamten Isolat-Datensatzes der beiden HyReKA-Fallstudien zu klinisch-urbanen und ländlich-kommunalen Abwässern und Oberflächengewässern durchgeführt. Die Sensitivität definiert den Prozentsatz der bestätigten Kandidaten aus allen vermuteten Kandidaten. Die Spezifität umfasst den Prozentsatz der bestätigten Nicht-Zielspezies-Kandidaten aus allen Umgebungsspezies. Der positiv vorhergesagte Wert (PPV) ist die Wahrscheinlichkeit der Bestätigung der Spezies; der negativ vorhergesagte Wert (NPV) ist die Wahrscheinlichkeit der Nicht-Bestätigung, die Genauigkeitsrate (ACC) ist der Prozentsatz der korrekt identifizierten Isolate im Vergleich zur Gesamtzahl.

Die Berechnungen wurden für alle Gram-negativen Kandidaten des CHROMagar ESBL (richtig-positiv, falsch-negativ) im Vergleich zu allen anderen Bakterienarten, die auf CHROMagar ESBL-Agarplatten wachsen können (falsch-positiv, richtig-negativ) durchgeführt. Der verwendete Datensatz wurde zusätzlich in zwei Gruppen unterteilt, die sich anhand der Herkunft der Umweltprobe unterscheiden, da diese möglicherweise die bakterielle Begleitflora beeinflusst. Der erste Teil-Datensatz enthielt Isolate von (Abwasser-)Proben, die durch klinisches Abwasser (N= 1.633) beeinflusst wurden, während der zweite Teil-Datensatz Isolate umfasste, die aus Proben ohne klinische Einflüsse (N= 2.234) gewonnen wurden (verifiziert durch die Charakterisierung der Untersuchungsgebiete, siehe Kapitel 2.1). Für jede Zielspezies wurden individuelle Werte berechnet.

Überwiegend waren die durch die Anwendung dieses Ansatzes erhaltenen Werte für den Nachweis von Bakterien aus nicht-klinisch beeinflussten Wasserproben höher als die aus klinisch beeinflussten Wasserproben, z. B. betrug die Sensitivität für den Nachweis von *E. coli* 90,7 % in klinisch beeinflussten Proben und 92,6 % in nicht-klinisch beeinflussten Proben. Ausnahme in diesem Ansatz ist *P. aeruginosa* mit einem sehr hohen PPV (100 %) für klinisch beeinflusste Proben, aber es zeigt einen niedrigeren PPV (59,2 %), wenn es in nicht-klinisch beeinflusste Umweltproben nachgewiesen wurde. Gleiches gilt für die Parameter Sensitivität, NPV und ACC für *P. aeruginosa*, die bei klinisch beeinflussten Proben ebenfalls etwas höher sind (80,6 %, 99,1 % und 98,8 %) als bei Proben ohne klinischen Einfluss (93,5 %, 100,0 % und 99,1%). Insgesamt ist die Spezifität der hier entwickelten Ansätze sehr hoch und reicht von 91,1 (KEC) bis 99,9 % (*P. aeruginosa*) in klinisch beeinflussen Proben und von 95,7 % (*E. coli*) bis 98,9 % (*A. calcoaceticus-baumannii*-Komplex) in nicht-klinisch beeinflussten Proben (Schreiber, Zacharias et al., 2021).

3.2.3.3 Detektionslimits

Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse für Antibiotika-resistenten Bakterien mit deren mikrobiellen Standardparametern (unabhängig von Antibiotikaresistenzen) zu ermöglichen, wie z. B. *E. coli*, beträgt das angestrebte Wasservolumen für die Untersuchung 100 mL. In der Praxis wurden die untersuchbaren Wasserproben-volumina durch den individuellen Verschmutzungsgrad hinsichtlich Hintergrundflora und Schwebstoffen begrenzt. Die Konzentrationen der Zielbakterien variierten zwischen den verschiedenen Probenahmestellen, nicht nur in Bezug auf die Probenmatrix (unbehandeltes Abwasser, behandeltes Abwasser, Oberflächenwasser), sondern auch innerhalb einer Matrix. Daher mussten die geeigneten Verdünnungen für die Analysen je Probenahmestelle individuell getestet und bestimmt werden (Schreiber, Zacharias et al., 2021).

Proben aus dem Zulauf von Kläranlagen boten viel mehr organische Partikel als aus dem Ablauf. Die Kläranlagenzulauf-Proben mussten deshalb verdünnt werden, um analysierbare bzw. zählbare Ergebnisse zu erhalten. Proben aus dem Kläranlagenablauf oder aus Oberflächengewässern enthielten weniger organisches Material und konnten unverdünnt in 1 mL oder auch nach Aufkonzentrierung durch Filtration in Volumina von 10 mL je nach Schwebstoffgehalt und Trübung untersucht werden. Die Filtration von 100 mL Probenvolumen war selten möglich. Ein negatives Ergebnis in allen von mindestens drei parallel getesteten Verdünnungen einer Probe führte dabei zu kategorischen Resultaten von <100 KBE/100 mL bei Ausplattierung von 1 mL unverdünnter Probe, sowie <1.000 KBE/100 mL, wenn die Probe um nicht mehr als 1:10 verdünnt worden war. Die Häufigkeit solcher semi-quantitativen Ergebnisse beeinflusst die Qualität der Analyse und muss für die Probentypen (unbehandeltes Abwasser, behandeltes Abwasser, Oberflächenwasser) getrennt betrachtet werden.

Tabelle 8 zeigt die Anteile der semi-quantitativen Ergebnisklassen innerhalb des gesamten Datensatzes für jede Gruppe von Zielspezies (*E. coli*, KEC, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp.) bzw. Probenkategorie. Die Konzentrationskategorie "<100 KBE/100 mL" wird in unterschiedlichen Anteilen in allen Arten von Proben verwendet. Proben aus behandeltem Abwasser boten keine Konzentrationswerte in der Kategorie "<1.000 KBE/100 mL". Die höchsten Anteile in beiden semi-quantitativen Kategorien weist der Parameter *Pseudomonas* spp. mit 11,63 % (<100 KBE/100 mL) und 14,45 % (<1.000 KBE/100 mL) auf. Die anderen Antibiotika-resistenten Bakterien

zeigten bei einer eher heterogenen Verteilung relativ geringe Anteile in diesen Kategorien.

Tabelle 8: Prozentualer Anteil der kategorischen Ergebnisse der mikrobiellen Parameterkonzentrationen auf Resistenz-Agar für unbehandeltem Abwasser, behandeltem Abwasser und Oberflächenwasser, resultierend aus den Nachweisgrenzen der größten untersuchten Mengen (aus Schreiber, Zacharias et al., 2021). In Klammern die Anzahl der Proben mit entsprechender Kategorie.

		Antibiotika-resistente Bakterien			
Kategorie [KBE/100mL]	Probenart	ESBL <i>E. coli</i>	ESBL KEC	<i>Pseudomonas</i> spp. (3GCR)	<i>Acinetobacter</i> spp. (3GCR)
<100	Unbehandeltes Abwasser	0 % (175)	1.71 % (175)	4.05 % (173)	1.17 % (171)
	Behandeltes Abwasser	4.35 % (46)	4.35 % (46)	10.86 % (46)	2.17 % (43)
	Oberflächen- wasser	5.66 % (159)	5.66 % (159)	3.77 % (154)	2.52 % (155)
<1000	Unbehandeltes Abwasser	3.43 % (175)	2.29 % (175)	14.45 % (173)	7.02 % (171)
	Behandeltes Abwasser	0 % (46)	0 % (46)	0 % (46)	0 % (43)
	Oberflächen- wasser	1.26 % (159)	0.63 % (159)	0.63 % (154)	0.63 % (155)

3.2.4 Bestimmung der Resistenzcharakteristika

Für alle Umweltisolate wurden Antibiotika-Empfindlichkeitstests durchgeführt. Bakterien, die zum *A. calcoaceticus-baumannii*-Komplex, *Enterobacterales* und *P. aeruginosa* gehörten, wurden auf Antibiotikaresistenz gegen Temocillin, Piperacillin, Piperacillin/Tazobactam, Cefotaxim, Ceftazidim, Imipenem, Meropenem, Amikacin, Tigecyclin, Chloramphenicol, Fosfomycin Trimethoprim/Sulfamethoxazol, Ciprofloxacin, Levofloxacin und Colistin, unter Verwendung des Mikro-dilutionsassays Micronaut-S MDR MRGN-Screening 3 System untersucht (MERLIN, Gesellschaft für mikrobiologische Diagnostika GmbH, Bornheim-Hersel, Deutschland) (Sib et al., 2020). Die Interpretation des Suszeptibilitätsstatus erfolgte nach den Kriterien des European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (EUCAST, Version 9.0, 2019).

Tabelle 9: Verwendete Sequenzen für den Nachweis von Carbapenemase- und mcr-Genen für die Einstufung der Multiresistenz nach KRINKO (2019).

Gene	Primer	Sequenz	Referenz
KPC	KPC-F	GCA GCG GCA GCA GTT TGT TGA TT	(Swayne et al., 2013)
	KPC-R	GTA GAC GGC CAA AAT AGG TGC	
	KPC-Probe	FAM-CAG TCG GAG ACA AAA CCG GAA CCT GC-BHQ1	
OXA_48	OXA48-F	TTC GGC CAC GGA GCA AAT CAG	
	OXA48-R	GAT GTG GGC ATA TCC ATA TTC ATC GCA	
	OXA48-Probe	HEX-CTG GCT GCG CTC CGA TAC GTG TAA CTT ATT G-BHQ1	
IMI	IMI-F	GAG GGT ATG ACT AAA TTC ATG CGG TCG A	
	IMI-R	GCA GGT GTA GAT GTG TCA CGY TCA TCG	
	IMI-Probe	Cy5-CGT TGG GAG TTA GAT C-BHQ2	
bla _{VIM}	VIM-F	GAT GAG TTG CTT TTG ATT GAT ACA GC	
	VIM-R	CCG ACK CGR TCG TCA T	
	VIM-Probe	FAM-TCG CGG AGA TTG ARA AGC AAA TTG GA-BHQ1	
bla _{NDM}	NDM-F	CCC GAC GAT TGG CCA	
	NDM-R	ATC CAG TTG AGG ATC TGG GC	
	NDM-Probe	ROX-ACC GAA TGT CTG GCA GCA CAC TTC-BHQ2	
GIM	GIM-F	TTG GTC TGA AGA AGA CAC GAA G	
	GIM-R	GTA GGA ACC GGC TTT CCT T	
	GIM-Probe	ROX-ATC GCA CTG CTG GTA TCA AGT TGC TA-BHQ2	
IMI\$	IMI\$-F	GCG ATG AAC GTG ACA CAT CT	
	IMI\$-R	ATC GCT TGG TAC GCT AGC AC	
	IMI\$-Probe	Cy5-GAA AAC CCT TGC ACT GGG TA-BHQ2	
OXA_23	OXA-23_F	GAA GGG CGA GAA AAG GTC A	
	OXA-23_R	TCA GCA TTA CCG AAA CCA ATA C	
	OXA-23_Probe	FAM-CGG TCT TGA TCT CAT GCA AA-BHQ1	
OXA_24	OXA-24_F	TTG GCC CCC TTA AAA TTA CAC	
	OXA-24_R	AAC ACC CAT TAC CCA TCC AC	
	OXA-24_Probe	HEX-TGA CCT TGC ACA TAA CCG AT-BHQ1	
OXA_51	OXA-51_F	TTT TAT TTC AGC CTG CTC ACC	
	OXA-51_R	ATA CTC GGT CGA AGC ACG AG	
	OXA-51_Probe	ROX-CAA ATC ACA GCG CTT CAA AA-BHQ2	
OXA_58	OXA-58_F	CAC GCA TTT AGA CCG AGC A	
	OXA-58_R	TGG CTT TCC ATC CCA CTT	
	OXA-58_Probe	Cy5-AAA ACA GCT TAT ATT CCT GCA TCT-BHQ2	
mcr-1+2	MCR1+2_F	ACA TCG ACG GCG TAT TCT GT	
	MCR1+2_R	TCC ATC ACG CCT TTT GAG TC	
	MCR1+2_Probe	Cy5-TGA TGT CGA TAC CGC CAA ATA CC-BHQ2	

(Müller et al., 2018)

(Voigt, Zacharias et al., 2020)

Im Hinblick auf die Multiresistenz der Gram-negativen Bakterien wurden alle Isolate auf ihre Empfindlichkeit gegen verschiedene antibiotisch wirkende Substanzen getestet und entsprechend der aktuell geltenden KRINKO-Empfehlung in 3MRGN bzw. 4MRGN eingestuft (KRINKO, 2019, 2012). Isolate, die eine Resistenz gegen drei von vier klinisch relevanten Antibiotikaklassen (Piperacillin/Tazobactam, Fluorchinolone (Ciprofloxacin), Cephalosporine der 3. Generation (Cefotaxim und/oder Ceftazidim) und Carbapeneme (Meropenem und/oder Imipenem)) aufwiesen, wurden als 3MRGN klassifiziert. Alle Isolate, die eine Resistenz gegen alle der oben genannten Antibiotikagruppen aufwiesen, wurden als 4MRGN klassifiziert. Die Verwendung von Piperacillin/Tazobactam ist eine Abwandlung der von der Deutschen Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) definierten Regeln, die nur Piperacillin beinhaltet. Es wird jedoch nicht als Einzelmedikament in der Klinik eingesetzt (KRINKO, 2019, 2012).

Im Falle des Nachweises eines Carbapenemase-Gens (Tabelle 9) wurde das Isolat unabhängig von der phänotypischen Resistenz gegen die getesteten Antibiotika als 4MRGN eingestuft.

3.3 Nachweis von antibiotisch wirkenden Substanzen in der aquatischen Umwelt

Die Messung von 45 Antibiotika und zwei Metaboliten (N-Acetylsulfamethoxazol und Anhydroerythromycin) wurden mit einem Agilent 1290 InfinityTM II Liquid Chromatography (LC)-System in Kombination mit einem QTRAP® 6500+ Massenspektrometer der AB Sciex GmbH (Deutschland, Darmstadt) durchgeführt. Im Allgemeinen wurden alle Proben 1:1 mit einer Wasser-Acetonitril (95:5, v/v)-Mischung mit 0,8 g/L Na₂ EDTA verdünnt (1:1) und über einen wasserbenetzbaren H-PTFE-Filter (0,45 µm Porengröße) von Macherey und Nagel (Düren, Deutschland) filtriert. Das Injektionsvolumen betrug 20 µl. Die chromatographische Trennung wurde auf einer Nucleoshell RP18Plus®-Säule 2 mm x 100 mm, 2,7 µm (M. & N., Düren) unter Verwendung eines Binärgradienten mit einer Wasser-Acetonitril- und Methanol-Acetonitril-Lösung mit einem Gesamtfluss von 0,4 µl/min durchgeführt. Ameisensäure wurde als Ionenmodifikator verwendet, um die Ionisierung zu verbessern (Voigt et al., 2020a).

Die Identifizierung und Quantifizierung wurde durch eine Elektrospray-Ionisation (positiver Modus, 5000 V) und eine Detektion im Modus der geplanten Mehrfach-

reaktionsüberwachung (zwei spezifische Massenübergänge) erreicht. Die vollständige Methode ist ausführlich bei Voigt et al. (2020a) dargestellt.

3.4 Statistisch-analytische Datenauswertung

3.4.1 Odds Ratios

Um eventuelle Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen von Antibiotika-resistenten Bakterien und antibiotisch wirkenden Substanzen festzustellen, wurden statistische Analysen durchgeführt. Alle Ergebnisse der hygienisch-mikrobiologischen und chemischen Untersuchungen wurden dichotomisiert (positiv ($>$ Nachweisgrenze) und negativ ($<$ Nachweisgrenze)) und für den ersten Schritt der statistischen Analyse in Vierfelder-Tafeln verwendet.

	AB nachgewiesen	AB nicht nachgewiesen
ARB nachgewiesen	Anzahl der Fälle (a)	Anzahl der Fälle (c)
ARB nicht nachgewiesen	Anzahl der Fälle (b)	Anzahl der Fälle (d)

Um die Stärke der Assoziation zwischen den beiden Binärdatensätzen anzuzeigen, wurden die entsprechenden Odds Ratios berechnet (Sheskin, 2003).

Die Ereignisse eines positiven Befundes der analysierten Antibiotika-resistenten Bakterien wurden mit dem positiven Nachweis eines analysierten Antibiotikums im Abwasser verglichen. Dann wurde das Odds Ratio als die Anzahl der positiven Proben (Antibiotika-resistenter Bakterien; ARB) in der Gruppe der positiven Antibiotikabefunde (a) geteilt durch die Anzahl der positiven Antibiotika-resistenten Bakterien in der Gruppe der negativen Antibiotikabefunde (b) angegeben.

$$OR = \frac{a/b}{c/d}$$

Wenn das Odds Ratio größer als 1 ist, ist die Wahrscheinlichkeit, ein resistentes Bakterium in der Gruppe der positiven Antibiotikaproben zu finden, höher als in der Gruppe der negativen Antibiotikaproben. Nach der Berechnung des Odds Ratio für

jede Kombination von antibiotisch wirkenden Substanzen und Antibiotika-resistenten Bakterien wurden signifikante Kombinationen für eine Clusteranalyse ausgewählt.

Um die Clusteranalyse zu fokussieren, wird in den Dendrogrammen und Streudiagrammen die Konzentration der resistenten Bakterien dargestellt (Kapitel 3.4.2), die gegen das durch die Odds Ratio identifizierte Antibiotikum resistent sind. Da es aufgrund der großen Anzahl von Kolonien auf den Agarplatten nicht möglich war, Resistenzprofile für alle vorhandenen Kolonien zu bestimmen, wurde dies nur für ausgewählte Isolate durchgeführt. Um dennoch die Resistenz der Bakteriengemeinschaft an einer Probenahmestelle gegen ein bestimmtes Antibiotikum (z. B. Ciprofloxacin) abzuschätzen, wurde die Anzahl der koloniebildenden Einheiten auf den Agarplatten mit einem Resistenzfaktor (RF) als Prozentsatz der gegen die jeweilige Antibiotika-resistenten Kolonien multipliziert und so die Anzahl der resistenten Kolonien abgeschätzt. Dies wurde für jede Probenahmestelle, jedes Antibiotikum und jede Bakterienart einzeln durchgeführt. Die Anzahl der koloniebildenden Einheiten für den jeweiligen MRGN-Status wurde durch Berechnung desselben Faktors für die Anzahl der Isolate mit dem jeweiligen MRGN-Status im Vergleich zu allen Isolaten der jeweiligen Bakterienspezies an einer Probenahmestelle ermittelt.

3.4.2 Cluster-Analyse

Für die Paare von Antibiotika-resistenten Bakterien und antibiotisch wirkenden Substanzen, die in der Berechnung der Odds Ratio zu einem positiven und signifikanten Ergebnis geführt haben, wurde eine agglomerative hierarchische Cluster-Analyse mit der Ward-Methode durchgeführt.

Um einen direkten Vergleich trotz der numerischen Unterschiede der beiden Datensätze (ARB und AR) zu ermöglichen, wurde eine z-Transformation der Daten durchgeführt. Es wurden die Probenahmestellen hinsichtlich der festgestellten medianen Konzentration der antibiotisch wirkenden Substanzen und der Anzahl der Antibiotika-resistenten Bakterien miteinander verglichen. Für die Clusteranalyse wurde zunächst davon ausgegangen, dass alle Probenahmestellen ein eigenes Cluster bilden, dann die beiden ähnlichsten miteinander verbunden und so lange fortgefahren, bis alle Probenahmestellen einbezogen waren. Die Clusteranalyse ist eine deskriptive Methode; daher ist subjektiv zu entscheiden, wie viele Cluster nützlich sind. Um bei der Interpretation zu helfen, wurde ein Dendrogramm erstellt, das zeigt, in welchen Abständen die Cluster entstanden sind.

3.4.3 Korrelationsanalyse

Unter der Annahme, dass gereinigtes Abwasser stärker mit hygienisch-mikrobiologischen Verunreinigungen belastet ist als Quellwasser und Einleitungen aus Regenwasserabflüsse, wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen dem berechneten Abwasseranteil an den Probenahmetagen und der gemessenen Konzentration Antibiotika-resistenter Bakterien berechnet. Dafür wurden die in Kapitel 2.2.3 dargestellten Abwasseranteile im Untersuchungszeitraum mit den Konzentrationen der Antibiotika-resistenten Bakterien aus Kapitel 4.2.1 verglichen. Für die PNS PM konnten die Daten direkt miteinander verglichen werden, da an dieser PNS beide Messgrößen für den Untersuchungszeitraum erhoben wurden. Ein zweiter Messpunkt, an dem die Abwasseranteile innerhalb des Untersuchungszeitraumes routinemäßig durch den Erftverband berechnet werden konnten, ist der Pegel Weilerswist. Die nächstgelegene PNS ist die Probe SW. Da es sich um ordinalskalierte Daten handelt, wurde der Spearman's Rangkorrelationskoeffizient für die Korrelationsanalyse verwendet und der p-Wert berechnet. Um die Signifikanz zu prüfen, wurde ein t-Test durchgeführt.

Eine positive Korrelation liegt vor, wenn der Korrelationskoeffizient zwischen 0 und 1 liegt, also einem positiven Wert entspricht. Eine negative Korrelation liegt vor, wenn der Korrelationskoeffizient zwischen -1 und 0 liegt.

Nach Kuckartz et al. (2013) zeigen Werte zwischen 0 und 0,1, dass es keinen Zusammenhang, Werte zwischen 0,1 und 0,3 werden mit einem geringen Zusammenhang, Werte zwischen 0,3 und 0,5 mit einem mittleren Zusammenhang und Werte ab 0,5 mit einem hohen Zusammenhang bewertet. Werte zwischen 0,7 und 1 sollen sogar einen sehr hohen Zusammenhang zeigen.

4 Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen in der aquatischen Umwelt

4.1 Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen im Abwasser und Mischwasser

Zur besseren Übersicht werden in der Tabelle 10 alle Probenahmestellen mit den entsprechenden Abkürzungen und der Art der durchgeführten Probenahme gelistet, so wie sie für das Kapitel relevant sind.

Tabelle 10: Abwasser-Probenahmestellen in den beiden Untersuchungsgebieten und die Art der Probenahme. Die Zahl in der Klammer wird für die Darstellung der Streudiagramme und Dendrogramme verwendet.

	Probenahmestelle	Abkürzung	Art der Probenahme	
Klinisch-urban	Klinikum Gesamt	UG	(2)	
	Klinikum und Stadtteil	US	(1)	
	Kläranlage Salierweg Zulauf Süd	KZS	(3)	
	Kläranlage Salierweg Zulauf Nord	KZN	(4)	
	Kläranlage Salierweg Ablauf	KA	(5)	
Ländlich-kommunal	Zulauf KA Flerzheim	KAFZ	(6)	
	Zulauf KA Rheinbach	KARZ	(7)	
	Zulauf KA Heimerzheim	KAHZ	(8)	
	Zulauf KA Miel	KAMZ	(9)	
	Ablauf KA Flerzheim	KAFA	(10)	
	Ablauf KA Rheinbach	KARA	(11)	
	Ablauf KA Heimerzheim	KAHA	(12)	
	Ablauf KA Miel	KAMA	(13)	
	Zulauf Retentionsbodenfilter Altendorf	RBF Z		
	Ablauf Retentionsbodenfilter Altendorf	RBF A		
				Ereignisprobenahme

Die Daten werden je Antibiotikaresistenzparameter qualitativ in Balkendiagrammen für einen positiven und negativen Nachweis angegeben und quantitativ in klassischen Box-Plots ausgewertet. Ausreißer, die zwischen dem 1,5-fachen und 3-fachen des Interquartilsabstands liegen, werden als milde Ausreißer dargestellt und Werte, die über dem 3-fachen des Interquartilsabstands liegen, als extreme Ausreißer.

4.1.1 Resistente Bakterien im Abwasser

Resistente Bakterien wurden in den untersuchten Abwasserproben (einschließlich Kläranlagenabläufen) in unterschiedlicher Häufigkeit gefunden. ESBL-produzierende *E.coli* wurden in 85,7 % aller Abwasserproben des klinisch-urbanen Untersuchungsgebiets nachgewiesen und in 96,4 % der Abwasserproben des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes (Abbildung 11).

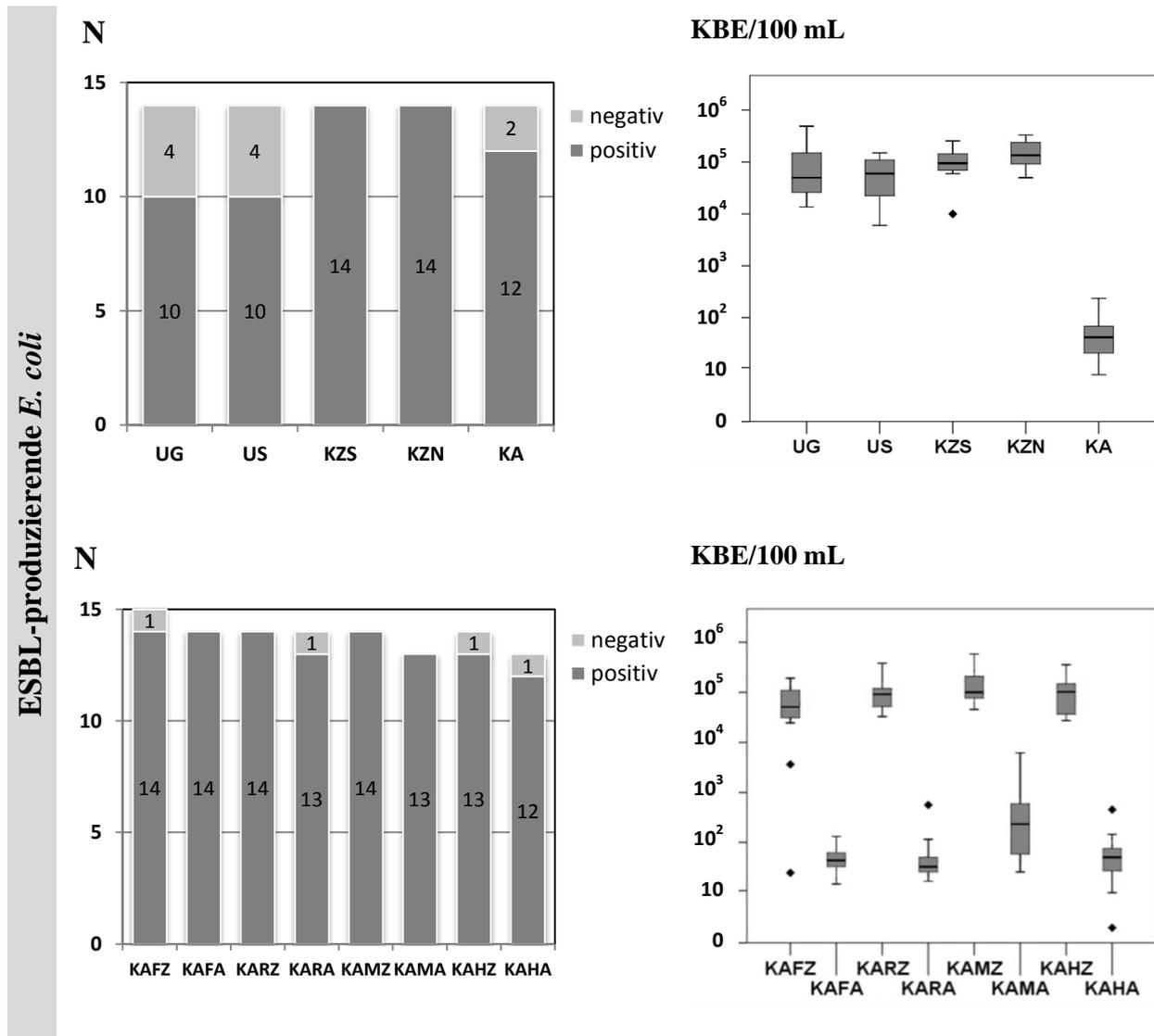


Abbildung 11: Kulturreller Nachweis ESBL-produzierender *E. coli* in der Abwassermatrix des klinisch-urbanen (oben) und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes (unten). Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Die Konzentrationen im Rohabwasser und gereinigten Abwasser unterscheiden sich in den beiden Untersuchungsgebieten nicht. Im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet lagen die Mediankonzentrationen bei den PNS UG und US bei $5,0 \times 10^4$ bzw.

$6,0 \times 10^4$ KBE/100 mL. An den beiden Zuläufen der Kläranlage Salierweg (KZS und KZN) konnten Konzentrationen von $9,5 \times 10^4$ und $1,35 \times 10^5$ KBE/100mL im Median nachgewiesen werden.

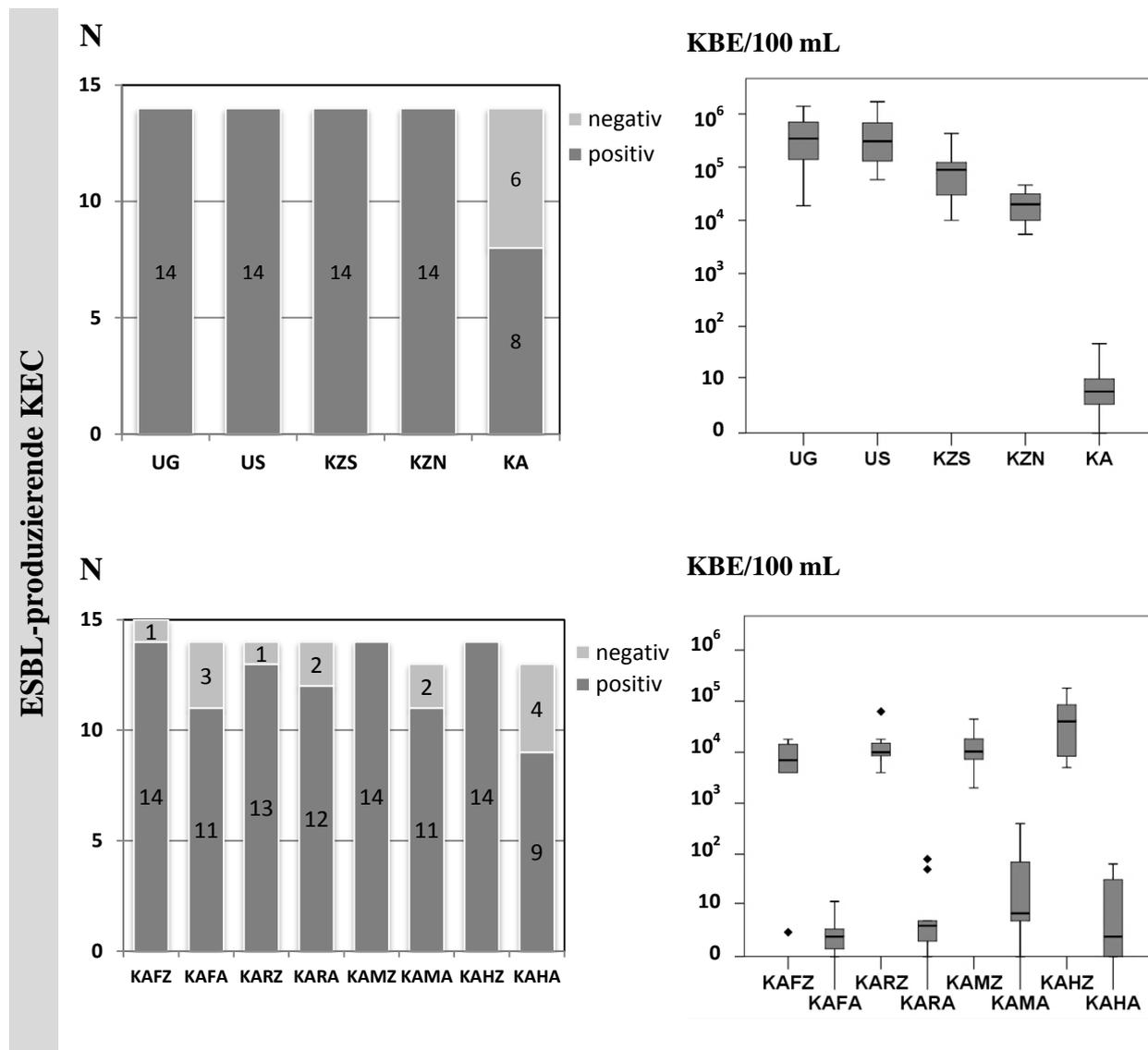


Abbildung 12: Kultureller Nachweis ESBL-produzierender KEC in der Abwassermatrix des klinisch-urbanen (oben) und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes (unten). Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Der Median des Kläranlagenablaufes lag bei $4,6 \times 10^1$ KBE/100 mL. Für die Kläranlagenzuläufe des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes waren die Mediankonzentrationen über den Untersuchungszeitraum $6,2 \times 10^4$ KBE/100 mL (KAFZ), $7,8 \times 10^4$ KBE/100 mL (KARZ), $1,0 \times 10^5$ KBE/100 mL (KAMZ) und $1,0 \times 10^5$ KBE/100 mL (KAHZ). Die Mediankonzentrationen der entsprechenden Kläranla-

genabläufe sind für Flerzheim, Rheinbach und Heimerzheim sehr ähnlich mit Werten von $3,2 \times 10^1$ bis $5,0 \times 10^1$ KBE/100 mL. Die Mediankonzentration am Ablauf der Kläranlage Miel ist etwas höher mit $2,7 \times 10^2$ KBE/100 mL.

ESBL-produzierende KECs (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp.) wurden in 91,4 % und 88,3 % der Abwasserproben des klinisch-urbanen bzw. des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes gefunden. Die Konzentrationen sind im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet im Rohabwasser um 1-2 Log_{10} -Stufen höher als im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet (Abbildung 12). Dabei wurden im klinischen Abwasser vor allem *Klebsiella* spp. nachgewiesen (Abbildung 16). Im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet lagen die Mediankonzentrationen für den Parameter ESBL-produzierende KEC bei den beiden klinisch beeinflussten PNS bei $3,5 \times 10^5$ bzw. $3,1 \times 10^5$ KBE/100 mL (UG und US). Die Konzentration am südlichen Zulauf der Kläranlage (KZS) war mit $8,9 \times 10^4$ KBE/100 mL (Median) höher als die Mediankonzentration des nördlichen und nicht-klinisch beeinflussten Kläranlagenzulauf mit einer Konzentration von $2,0 \times 10^4$ KBE/100 mL. Der Median des gemeinsamen Kläranlagenablaufes lag bei 7 KBE/100 mL.

Für die Kläranlagenzuläufe des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes waren die Mediankonzentrationen der ESBL-produzierenden KEC über den Untersuchungszeitraum $7,0 \times 10^3$ KBE/100 mL (KAFZ), $1,0 \times 10^4$ KBE/100 mL (KARZ), $1,1 \times 10^4$ KBE/100 mL (KAMZ) und $4,0 \times 10^4$ KBE/100 mL (KAHZ). Die Mediankonzentrationen der entsprechenden Kläranlagenabläufe sind für Flerzheim, Rheinbach und Heimerzheim sehr ähnlich mit Werten von 3- 15 KBE/100 mL. Die Mediankonzentration am Ablauf der Kläranlage Miel war auch für den Parameter ESBL-produzierende KEC etwas höher mit einem Wert von $2,7 \times 10^2$ KBE/100 mL.

Der Parameter *Pseudomonas* spp. 3GCR konnte nicht in allen Proben nachgewiesen werden. Der positive Nachweis gelang in den klinisch beeinflussten Proben ähnlich häufig wie in den klinisch unbeeinflussten PNS (Abbildung 13). Die mediane Konzentration an der Probenahmestelle KZN, als klinisch unbeeinflusste urbane PNS ist mit einem Wert von $4,6 \times 10^3$ KBE/100 mL aber etwas geringer als an den PNS mit klinischem Einfluss. Die mediane Konzentration an UG, US und KZS lagen im Untersuchungszeitraum bei $8,0 \times 10^4$ KBE/100 mL, $1,2 \times 10^5$ KBE/100 mL und $5,0 \times 10^4$ KBE/100 mL. Im Ablauf der Kläranlage im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet konnte noch eine mediane Konzentration von 1 KBE/100 mL nachgewiesen werden.

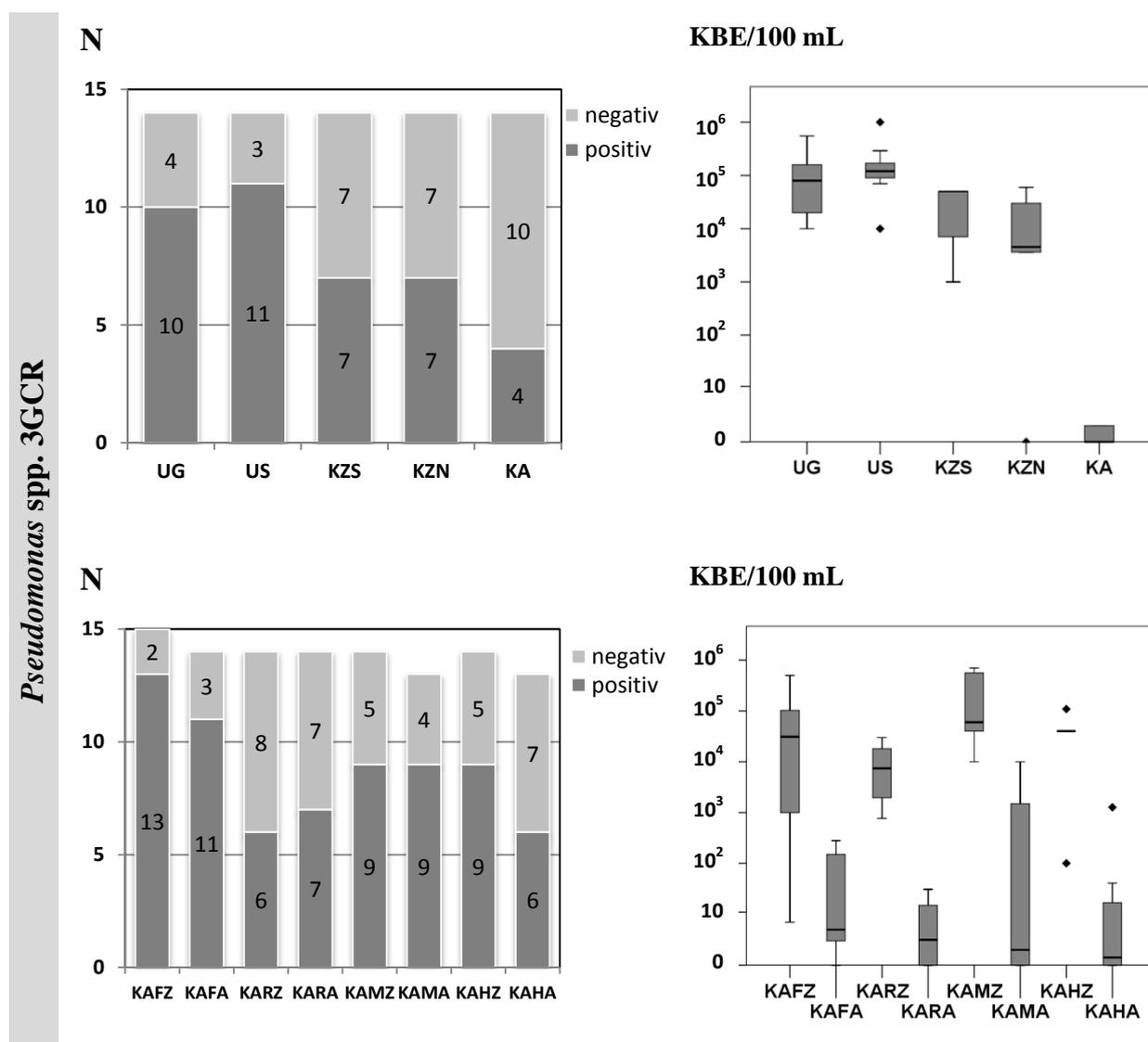


Abbildung 13: Kulturreller Nachweis *Pseudomonas* spp. 3GCR in der Abwassermatrix des klinisch-urbanen (oben) und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes (unten). Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet konnten im Zulauf der Kläranlagen im Median mehr KBE des Parameters *Pseudomonas* spp. 3GCR nachgewiesen werden. Über den Untersuchungszeitraum konnten an den Zuläufen mediane Konzentrationen von $3,1 \times 10^4$ KBE/100 mL (KAFZ), $8,0 \times 10^3$ KBE/100 mL (KARZ), $6,0 \times 10^4$ KBE/100 mL (KAMZ) und $4,0 \times 10^4$ KBE/100 mL (KAHZ) nachgewiesen werden.

Für die Kläranlagenabläufe konnten mediane Konzentrationen von 4 KBE/100 mL (KAFA), 3 KBE/100 mL (KARA), 1 KBE/100 mL (KAMA) und

1 KBE/100 mL (KAHA) nachgewiesen werden. Als Maximalwert konnten am Ablauf der KA Miel aber auch Konzentrationen von $1,0 \times 10^4$ KBE/100 mL detektiert werden.

Der Anteil von *P. aeruginosa* 3GCR als ein Teil der *Pseudomonas* spp. ist jedoch gering. *P. aeruginosa* 3GCR wurde in 31,4 % der Proben aus dem klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet nachgewiesen. Sie wurden hauptsächlich im klinischen Abwasser gefunden, 86,4 % der positiven Proben wurden an den Probenahmestellen UG und US entnommen. Einmal konnte *P. aeruginosa* 3GCR an dem südlichen Zulauf der Kläranlage Salierweg (KZS) und zweimal im Kläranlagenablauf (KA) nachgewiesen werden (Abbildung 14). Im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet konnte *P. aeruginosa* 3GCR in 14,4 % der Proben sowohl im Rohabwasser als auch im geklärten Abwasser nachgewiesen werden. Nur am Zulauf der Kläranlage Miel konnte in keiner der untersuchten Proben *P. aeruginosa* 3GCR nachgewiesen werden. Insgesamt sind die Konzentrationen sind im klinisch beeinflussten Abwasser (UG, US, KZS) deutlich höher als an den Probenahmestellen ohne klinischen Einfluss. Ausnahme ist ein Befund am Zulauf der Kläranlage Flerzheim ($5,0 \times 10^5$ KBE/100 mL). Die Mediankonzentrationen an den PNS UG und US waren im Untersuchungszeitraum $1,0 \times 10^5$ KBE/100 mL bzw. $1,4 \times 10^5$ KBE/100 mL.

Der Parameter *Acinetobacter* spp. 3GCR wurde in fast allen Abwasserproben nachgewiesen. Der Anteil an positiven Proben im Rohabwasser war mit 85,0 % ähnlich wie im geklärten Abwasser beider Untersuchungsgebiete (73,2 %). Die Konzentrationen im Rohabwasser sind unabhängig vom klinischen Einfluss sehr ähnlich. Alle in den Proben als *Acinetobacter* spp. 3GCR identifizierten Isolate sind mittels MALDI-TOF-MS als *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR identifiziert worden und sind in Abbildung 15 zusammengefasst dargestellt.

Der Parameter *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR konnte in den beiden Untersuchungsgebieten mit 85,7 % (klinisch-urban) und 84,7% (ländlich-kommunal) zu gleichen Anteilen nachgewiesen werden. Es sind keine Unterschiede bei den Konzentrationen im Rohabwasser und im geklärten Abwasser in Bezug auf das Untersuchungsgebiet zu erkennen. Im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet lagen die Mediankonzentrationen bei den PNS UG und US bei $8,0 \times 10^4$ bzw. $3,9 \times 10^4$ KBE/100 mL. An den beiden Zuläufen der Kläranlage Salierweg (KZS und KZN) konnten Konzentrationen von $6,0 \times 10^4$ und $1,1 \times 10^5$ KBE/100mL im Median detektiert werden. Der Median des Kläranlagenablaufes lag bei $2,1 \times 10^1$ KBE/100 mL.

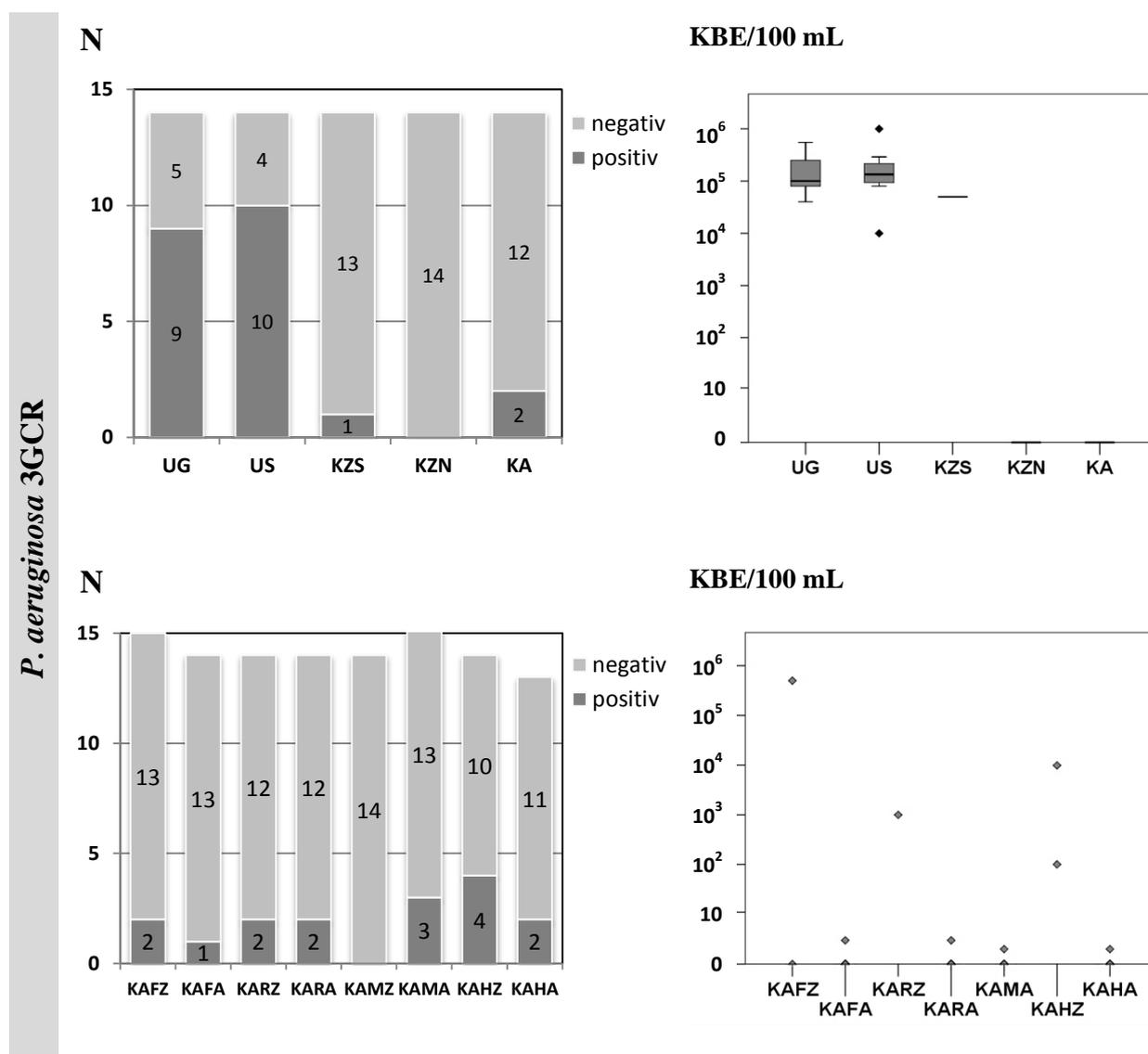


Abbildung 14: Kultureller Nachweis *P. aeruginosa* 3GCR in der Abwassermatrix des klinisch-urbanen (oben) und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes (unten). Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Für die Kläranlagenzuläufe des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes waren die Mediankonzentrationen über den Untersuchungszeitraum $6,5 \times 10^4$ KBE/100 mL (KAFZ), $7,5 \times 10^4$ KBE/100 mL (KARZ), $3,1 \times 10^4$ KBE/100 mL (KAMZ) bzw. $1,3 \times 10^4$ KBE/100 mL (KAHZ). Die Mediankonzentrationen der entsprechenden Kläranlagenabläufe waren 3 KBE/100 mL (KAFA), $1,8 \times 10^1$ KBE/100 mL (KARA), $7,3 \times 10^1$ KBE/100 mL (KAMA; max. $3,5 \times 10^3$ KBE/100 mL) und 6 KBE/100 mL (KAHA).

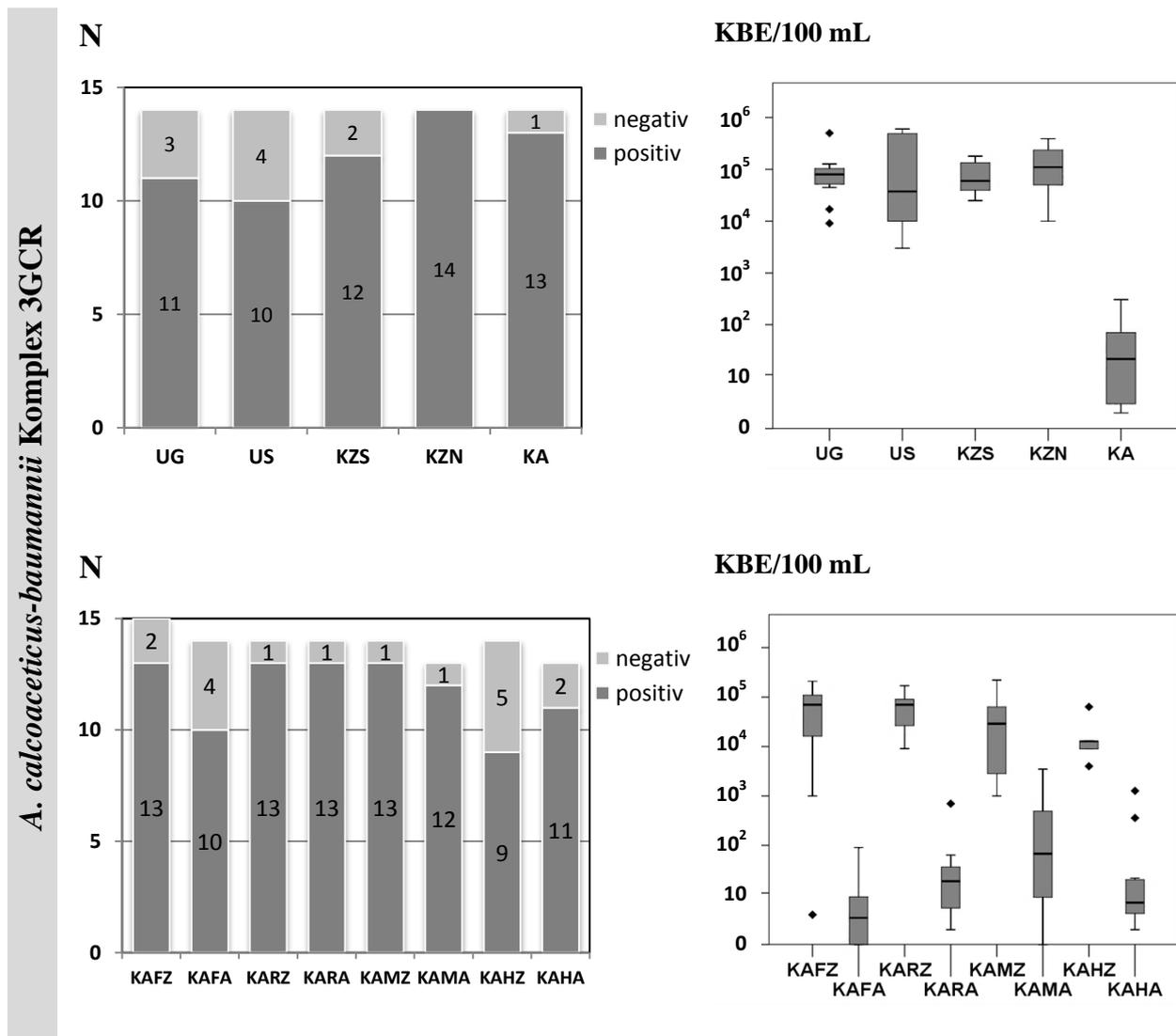


Abbildung 15: Kulturreller Nachweis von *Acinetobacter* spp. 3GCR bzw. *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR in der Abwassermatrix des klinisch-urbanen (obere) und des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes (unten). Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Ausgewertet hinsichtlich der Speziesverteilung an den Gesamtisolaten, die an einer Probenahmestelle näher charakterisiert wurden, können Unterschiede im Verhältnis von *E. coli*-Isolaten zu *Klebsiella* spp.-Isolaten erkannt werden. Im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet ist der Anteil der *E. coli*-Isolate im Verhältnis zur Gesamtisolatanzahl stets höher, während im klinisch beeinflussten Abwasser der Anteil der *Klebsiella* spp.-Isolate überwiegen.

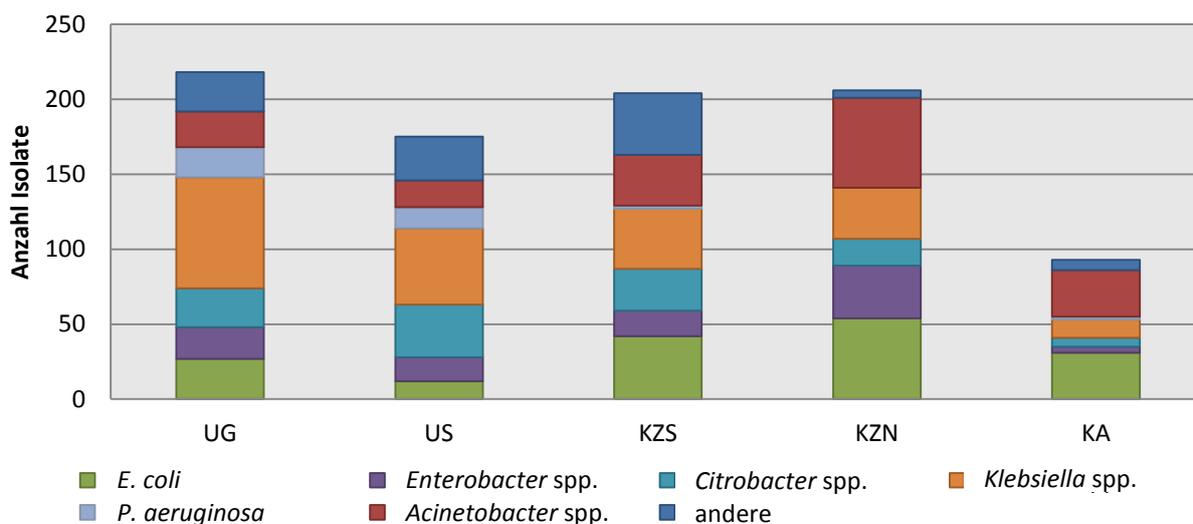


Abbildung 16: Anzahl der Spezies an allen Isolatzen der resistenten Gram-negativen Bakterien, die in den Abwasserproben des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes isoliert wurden.

Die KEC-Gruppe wurde aufgrund der ähnlichen Morphologie auf den verwendeten Agarplatten gebildet. Die Gesamtergebnisse des positiven Nachweises der KEC-Gruppe in den Abwasser-Proben zeigten eine relativ gleichmäßige Verteilung der Zielorganismen innerhalb dieser Gruppe mit 37,6 % *Klebsiella* spp., 31,0 % *Enterobacter* spp. und 31,4 % *Citrobacter* spp. im Rohabwasser des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes und einem Anteil von 38,1 %, 36,0 % bzw. 25,8 % im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet (Voigt, Zacharias et al., 2020).

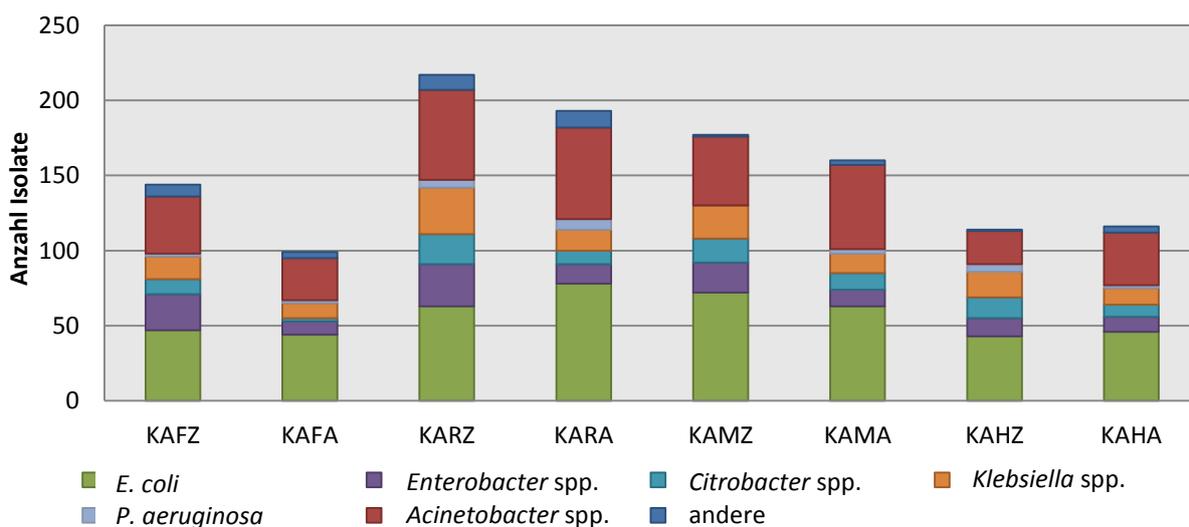


Abbildung 17: Anzahl der Spezies an allen Isolatzen der resistenten Gram-negativen Bakterien, die in den Abwasserproben des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes isoliert wurden.

Die Verteilung in behandeltem Abwasser verschob sich zu einem höheren Anteil an *Klebsiella* spp. mit 60,0%, 24,0% bzw. 16,0%, im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet, und 40,2%, 35,2% bzw. 24,6% im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet.

4.1.2 Multiresistente Bakterien im Abwasser

Während die Ergebnisse zeigen, dass Antibiotika-resistente Bakterien in Proben aller Probenahmestellen der beiden Untersuchungsgebiete isoliert werden konnten, variierte der Grad der Multiresistenz in den einzelnen Isolaten nach ihrer Herkunft. Das klinische Abwasser war mit einem hohen Anteil an multiresistenten Erregern belastet und enthielt einige wenige Stämme, die nur gegen ein oder zwei Antibiotika empfindlich waren. Im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet wurden 28,4 % der 1040 gewonnenen Isolate mit dem Status 4MRGN mit und ohne zusätzlicher Colistinresistenz identifiziert. Weitere 13,2 % der Isolate konnten dem Status 3MRGN zugeordnet werden.

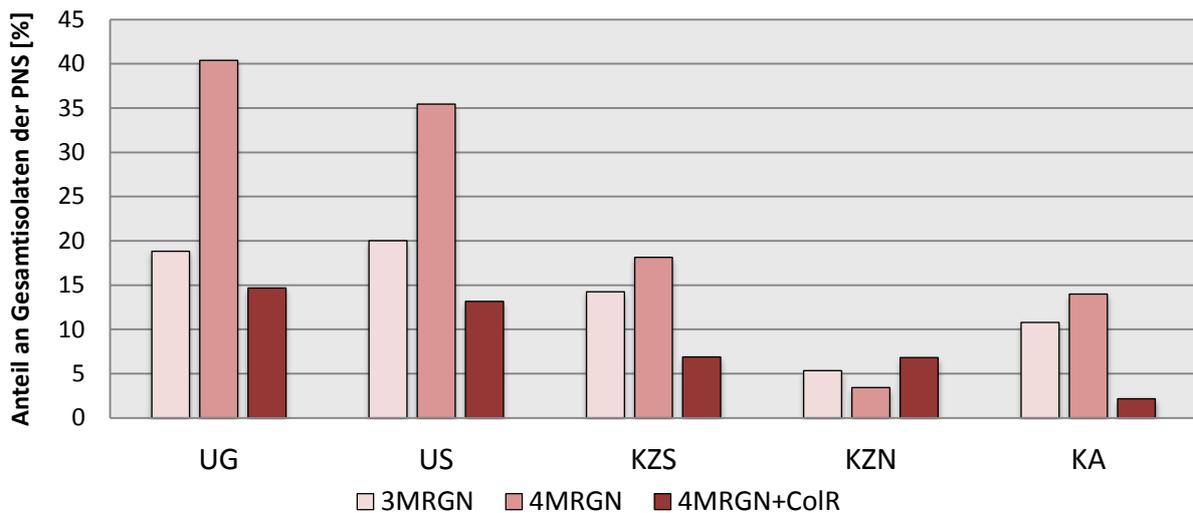


Abbildung 18: Multiresistente Bakterien in den Abwasserproben des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes als Anteil der Isolate zu allen Isolaten die an einer Probenahmestelle isoliert wurden. ColR = Colistinresistenz

Daraus ergibt sich, dass insgesamt 41,6 % der Isolate des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes ein hohes Resistenzprofil aufwiesen (Abbildung 18).

Im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet waren nur 7,4 % der insgesamt 1224 Isolate aus der Abwassermatrix dem Status 3MRGN bzw. 4MRGN zuzuweisen. Bei keinem der Isolate konnte zusätzlich eine Colistinresistenz festgestellt werden (Abbildung 19). Am Zulauf der KA Rheinbach (KARZ) konnten fünf Isolate mit

4MRGN-Status isoliert werden, am Zulauf der KA Miel waren es zwei Isolate. Im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet konnte nur ein 4MRGN-Einzelisolat an einem der Abläufe der Kläranlagen (KARA) nachgewiesen werden.

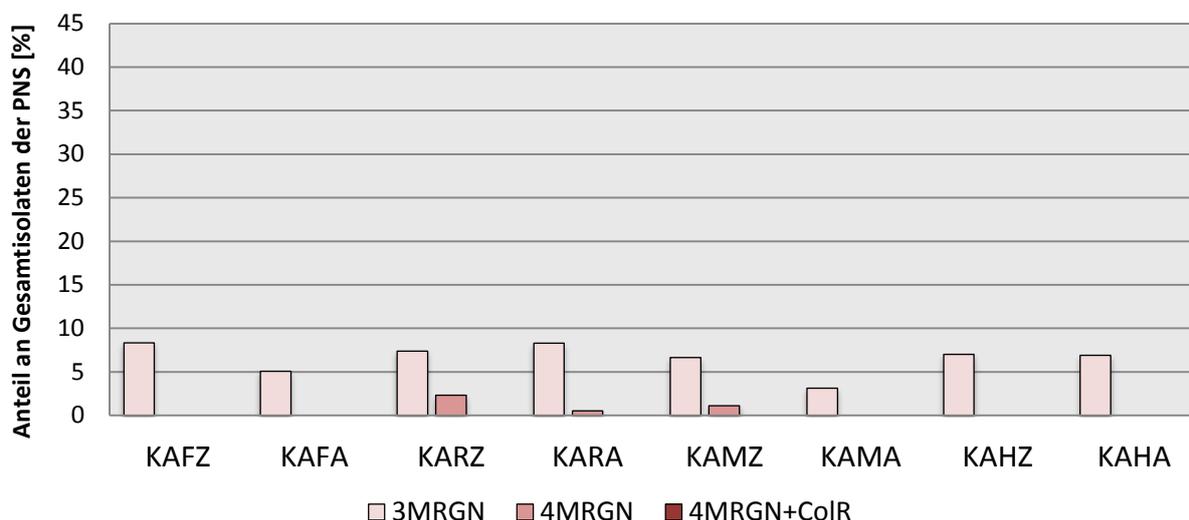


Abbildung 19: Multiresistenzen in den Abwasserproben des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes als Anteil der Isolate zu allen Isolate die an einer Probenahmestelle isoliert wurden. ColR = Colistinresistenz

4.1.3 Resistente Bakterien im Mischwasser

Die Untersuchungen am RBF in Altendorf zeigten, dass die Belastung mit Antibiotika-resistenten Bakterien durch die Passage des RBFs reduziert wurde. ESBL-produzierende *E. coli* konnten im Zulauf des RBF in fünf von neun Proben nachgewiesen werden (Abbildung 20). Die nachgewiesenen Konzentrationen lagen zwischen $6,4 \times 10^2$ KBE/100 mL und $1,5 \times 10^4$ KBE/100 mL (Median $4,3 \times 10^3$ KBE/100 mL). Bedingt durch die Begleitflora und daraus resultierende Detektionslimits wurden im Ablauf des RBF mehr Proben positiv auf den Parameter ESBL-produzierende *E. coli* getestet (Zacharias, Essert et al., 2020). Im Zulauf des RBFs lagen die Werte oft unterhalb der Nachweisgrenze bzw. des Detektionslimits für das untersuchte Volumen, welche für Rohabwasser anders definiert ist als für gereinigtes Abwasser. Im Ablauf des RBFs konnte in sieben von neun Proben der Parameter ESBL-produzierende *E. coli* nachgewiesen werden. Die Konzentrationen lagen zwischen 2 KBE/100 mL und $4,7 \times 10^3$ KBE/100 mL (Median $2,3 \times 10^2$ KBE/100 mL).

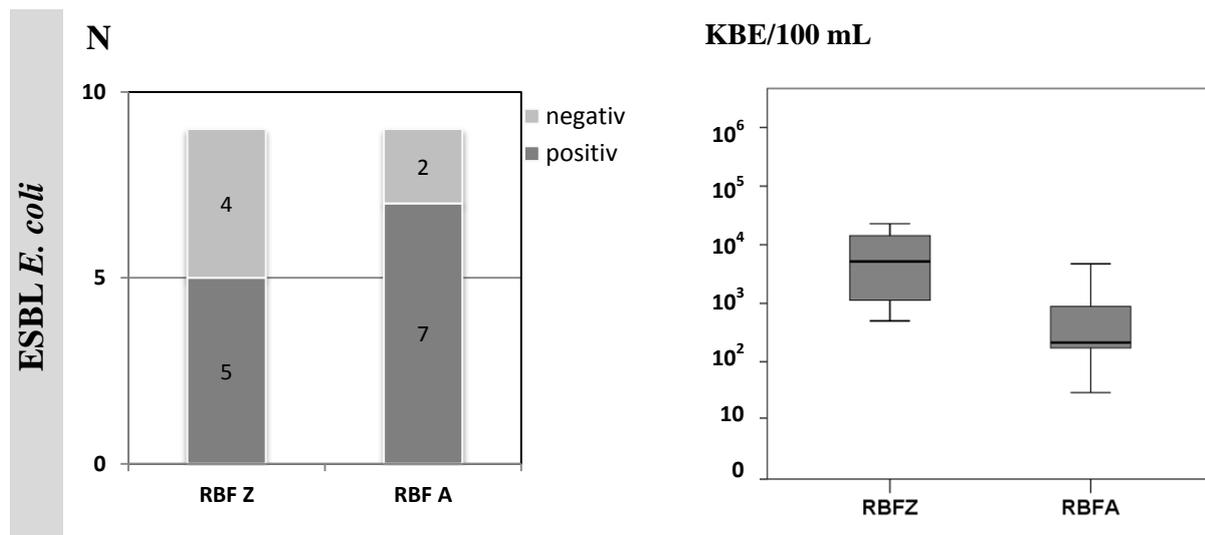


Abbildung 20: Kulturreller Nachweis ESBL-produzierender *E. coli* in den Mischwasserproben des RBFs Altendorf. Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Für die Parameter ESBL-produzierende KEC (Abbildung 21), *Acinetobacter* spp. 3GCR und *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR (Abbildung 23) wurde im Zu- und Ablauf des RBFs die gleiche Anzahl an Proben positiv bzw. negativ detektiert. Die Konzentrationen im Zulauf des RBFs waren jedoch um 2 Log_{10} -Stufen höher. Die nachgewiesenen Konzentrationen lagen für ESBL-produzierende KEC im Zulauf zwischen $6,0 \times 10^2$ KBE/100 mL und $1,0 \times 10^4$ KBE/100 mL (Median $3,5 \times 10^3$ KBE/100 mL) für *Acinetobacter* spp. 3GCR bzw. *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR zwischen 1 KBE/100 mL und $2,0 \times 10^6$ KBE/100 mL (Median $3,1 \times 10^4$ KBE/100 mL).

Alle in der Wassermatrix weiter spezifizierten *Acinetobacter* spp. 3GCR konnten mittels Maldi-TOF-MS als *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR identifiziert werden. Im Ablauf des RBFs konnten ESBL-produzierende KEC und *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR in Konzentrationen von 1 KBE/100 mL bis $1,0 \times 10^2$ KBE/100 mL (Median 23 KBE/100 mL) bzw. 2 KBE/100 mL bis $1,2 \times 10^3$ KBE/100 mL (Median 25 KBE/100 mL) nachgewiesen werden (Abbildung 23).

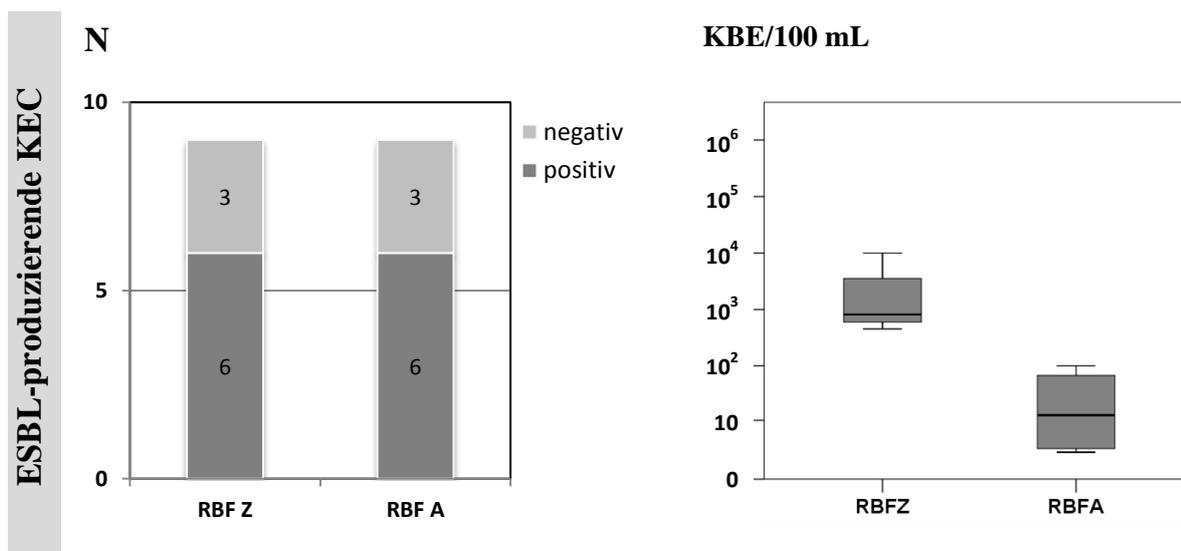


Abbildung 21: Kulturreller Nachweis ESBL-produzierender KEC in den Mischwasserproben des RBFs Altendorf. Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Wie auch schon für den Parameter ESBL-produzierende *E. coli*, konnten, bedingt durch die Begleitflora, mehr Proben im Ablauf des RBFs positiv auf den Parameter *Pseudomonas* spp. 3GCR getestet werden als im Zulauf (Abbildung 22). Im Ablauf des RBFs konnte in sechs von neun Proben *Pseudomonas* spp. 3GCR nachgewiesen werden. Die Konzentrationen lagen zwischen 1 KBE/100 mL und $1,7 \times 10^3$ KBE/100 mL (Median 26 KBE/100 mL). Der Parameter *P. aeruginosa* 3GCR war in keine der Proben oberhalb der entsprechenden Nachweisgrenze nachweisbar.

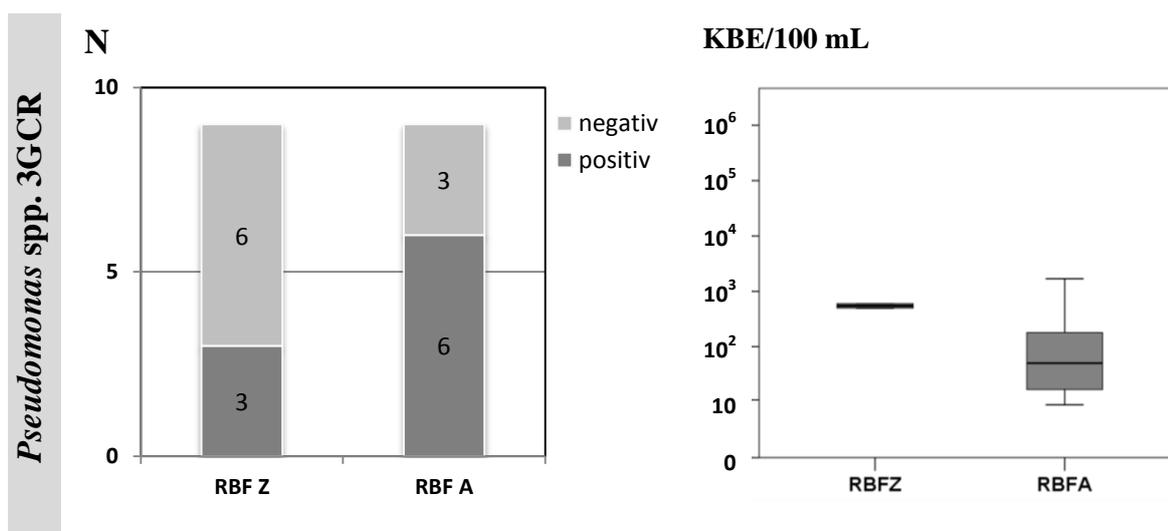


Abbildung 22: Kulturreller Nachweis von *Pseudomonas* spp. 3GCR in den Mischwasserproben des RBFs Altendorf. Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

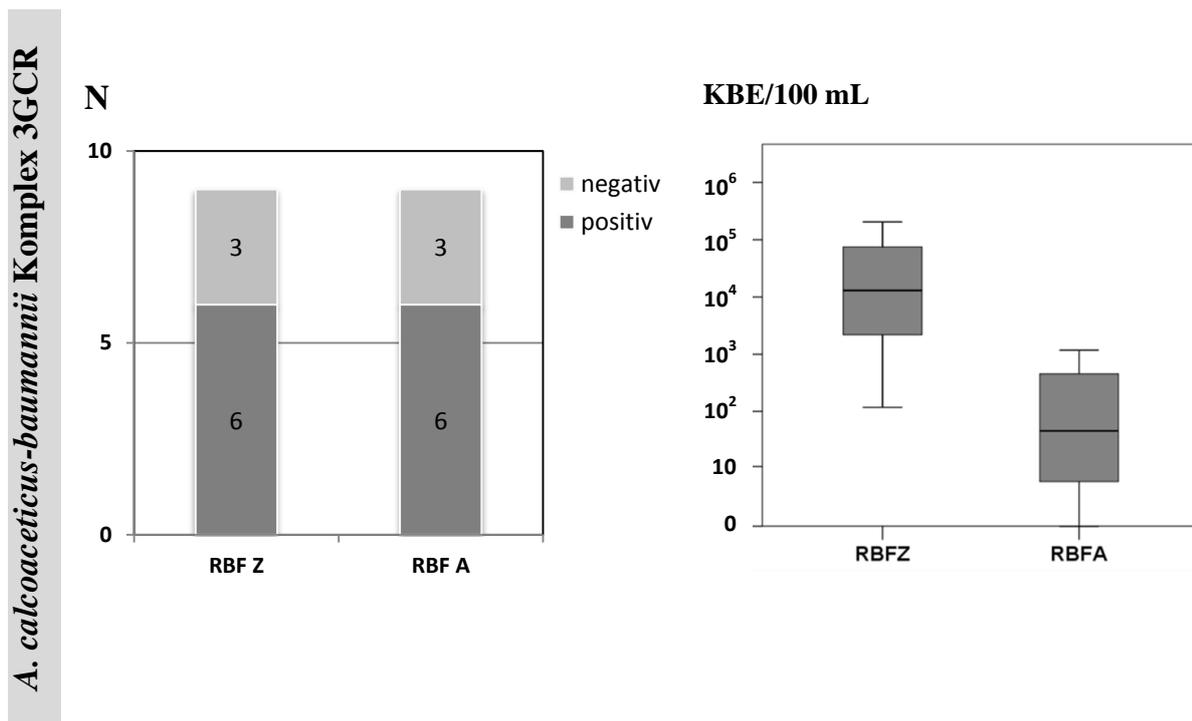


Abbildung 23: Kultureller Nachweis von *Acinetobacter* spp. 3GCR bzw. *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR in den Mischwasserproben des RBFs Altendorf. Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Die durch die Beprobung und Untersuchung der Mischwasserabschläge am RBF Altendorf gewonnenen Isolate wurden bezüglich der Zielspezies mittels Maldi-TOF-MS verifiziert und die individuellen Resistenzprofile bestimmt. Abbildung 24 zeigt die Speziesverteilung für den Zu- und Ablauf des RBFs.

Als dominante Spezies für die Matrix Mischwasser konnten ESBL-produzierende *E. coli* und *Acinetobacter* spp. 3GCR identifiziert werden. Das Mischwasser weist nach der Passage durch den RBF eine sehr ähnliche Spezieszusammensetzung auf wie vor der Passage mit denselben dominanten Speziesvarianten.

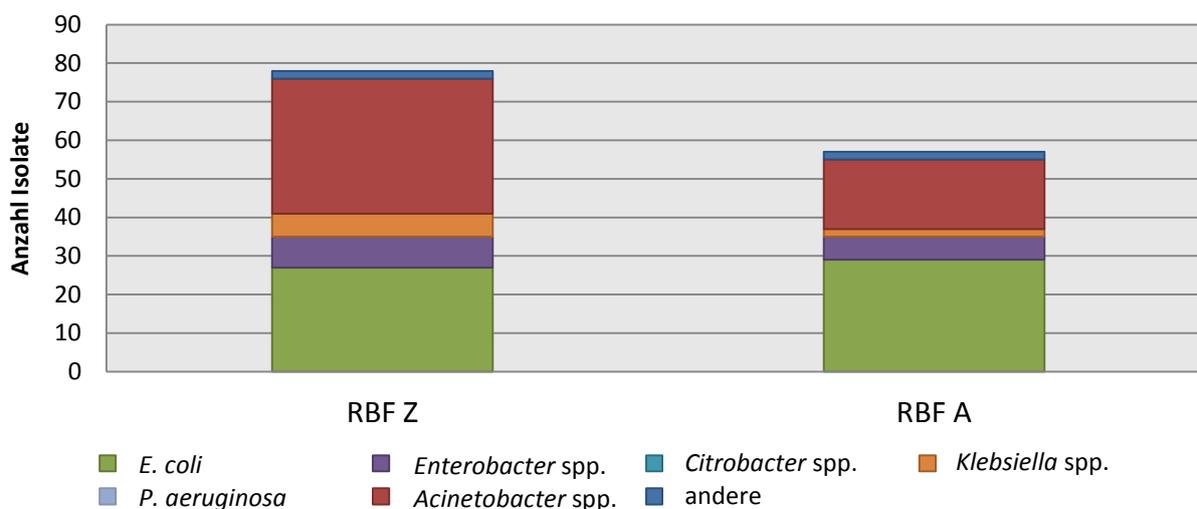


Abbildung 24: Anzahl der Spezies an allen Isolat der resistenten Gram-negativen Bakterien, die in den Mischwasserproben des Zu- und Ablauf des RBFs isoliert wurden.

4.1.4 Multiresistente Bakterien im Mischwasser

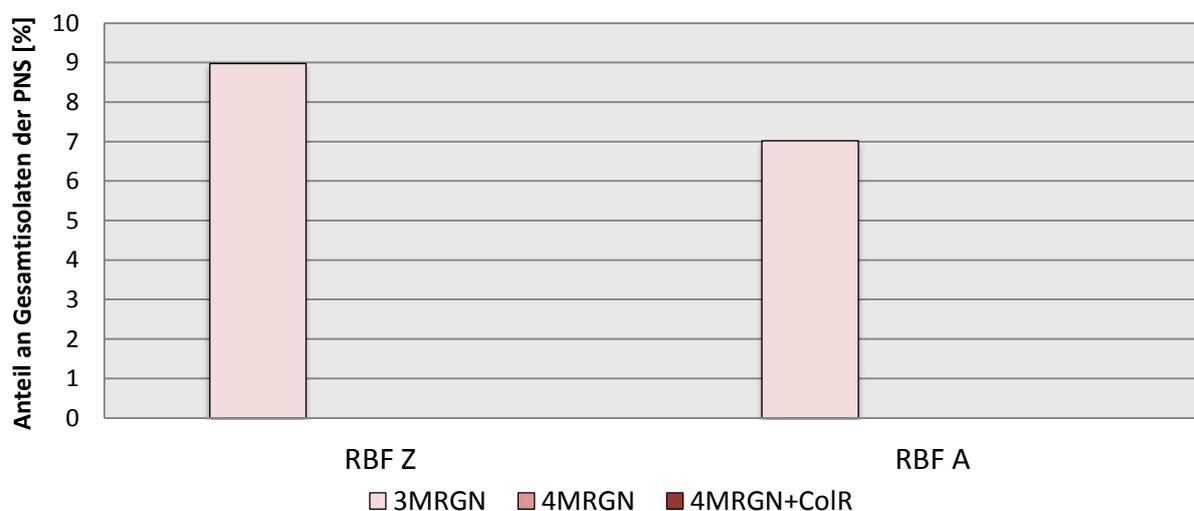


Abbildung 25: Multiresistenzen in den Proben des Zu- und Ablaufes des RBFs Altendorf als Anteil der Isolate an allen Isolat, die an einer Probenahmestelle isoliert wurden. CoIR = Colistinresistenz

In Bezug auf den Parameter multiresistente Bakterien (Abbildung 25) konnte festgestellt werden, dass keines der gewonnenen Isolate des Zu- und Ablaufes des RBFs einen 4MRGN-Status aufwies und keines eine Colistinresistenz. Im Zulauf des RBFs konnten für 9 % der Isolate (7 von 78) ein 3MRGN-Status definiert werden. Für die Isolate am Ablauf des RBFs waren es 7 % (4 von 54). Die Resistenzsituation und hy-

gienisch-mikrobiologische Zusammensetzung ändert sich mit der Passage durch den RBF also nicht.

4.1.5 Antibiotisch wirkende Substanzen im Abwasser und Mischwasser

In allen Abwasser-Proben konnten Rückstände von mindestens einer antibiotisch wirkenden Substanz nachgewiesen werden. Die insgesamt am häufigsten nachgewiesenen Substanzklassen waren Makrolidantibiotika (z.B. Clarithromycin, Azithromycin und Erythromycin), Sulfonamide (Sulfamethoxazol und sein Synergist Trimethoprim) und Fluorchinolone (z.B. Ciprofloxacin, Ofloxacin und Moxifloxacin) (Voigt, Zacharias et al., 2020).

Der bei Voigt, Zacharias et al. (2020) ubiquitäre Nachweis von Sulfamethoxazol (und Trimethoprim) zeigte Nachweishäufigkeiten zwischen 93% (88%) und 100% (100%). Die Rückstandskonzentrationen betragen bis zu 30,9 µg/L (16,6 µg/L) für unbehandeltes Abwasser und 94% (50%) und 98% (77%) für behandeltes Abwasser mit Konzentrationen bis zu 1 µg/L. Vergleichbare Ergebnisse konnten für Makrolide, insbesondere Clarithromycin und Erythromycin, sowie deren Metaboliten Anhydroerythromycin und Clindamycin erzielt werden (Voigt, Zacharias et al., 2020).

Das am häufigsten nachgewiesene Fluorchinolon war Ciprofloxacin, gefolgt von Ofloxacin und Moxifloxacin. Die Rückstandskonzentrationen von Ciprofloxacin lagen zwischen 0,2 µg/L und 88,3 µg/L im klinisch beeinflussten Abwasser bzw. zwischen 0,4 µg/L und 16,6 µg/L im kommunalen Abwasser. Rückstände klinisch relevanter Antibiotika, wie Carbapeneme oder Glykopeptide, konnten im klinischen Abwasser (UG; 2) bis zum südlichen Zulauf der Kläranlage (KZS; 4) nachgewiesen werden. Die höchste Konzentration von Meropenem (Vancomycin; Piperacillin) konnte im klinischen Abwasser (UG; 1) mit Maximalwerten von 197 µg/L (160 µg/L-4.000 µg/L) nachgewiesen werden. Die erhaltenen Rückstandskonzentrationen sanken entlang des Abwasser-Weges. So konnten im Ablauf der Kläranlage (KA; 5) Meropenem (Vancomycin; Piperacillin)-Rückstände von etwa 0,2 µg/L (0,7 µg/L-1,1 µg/L) nachgewiesen werden (Voigt, Zacharias et al., 2020).

Rückstände von mindestens einem Tetracyclin (Doxycyclin und Tetracyclin) konnten nur in 9,2% der untersuchten Proben nachgewiesen werden (19 von 206 Proben) (Voigt, Zacharias et al., 2020).

Im Zulauf des RBF konnten in fast jeder Probe antibiotisch wirkende Substanzen nachgewiesen werden. Nur eine Probe war negativ auf alle untersuchten Substanzen. Die in der Wassermatrix am häufigsten nachgewiesene Substanz war das Sulfamethoxazol (0,01-0,19 µg/L) und Sulfamethoxazol –N4-Acetyl in einer Probe mit einer Konzentration von 0,09 µg/L. Trimethoprim konnte nur in einer Mischwasserprobe in einer Konzentration von 0,01 µg/L nachgewiesen werden. Aus der Substanzklasse der Makrolidantibiotika konnten Clarithromycin (0,03-0,13 µg/L), und Erythromycin (0,03 µg/L) nachgewiesen werden. Clindamycin konnte in zwei Proben mit Konzentrationen von 0,04 bzw. 0,09 µg/L nachgewiesen werden. Mit der höchsten Konzentration konnte Amoxicillin in einer der Zulaufproben mit 0,41 µg/L nachgewiesen werden.

Im Ablauf des RBF konnten deutlich weniger Substanzen und geringere Konzentrationen nachgewiesen werden. Von der Amoxicillin-Konzentration in der positiven Zulaufprobe konnten 0,13 µg/L Amoxicillin im Ablauf nachgewiesen werden. Andere Substanzen die vereinzelt in den Ablaufproben nachgewiesen werden konnten, wenn sie auch in der entsprechenden Zulaufprobe bereits nachweisbar waren, sind Clarithromycin, Clindamycin, Sulfamethoxazol und Sulfamethoxazol–N4-Acetyl. In einer Ablaufprobe des RBF konnte eine höhere Konzentration von Sulfamethoxazol nachgewiesen werden als im entsprechenden Zulauf (0,21 µg/L zu 0,16 µg/L).

4.2 Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen in Oberflächengewässern

Zur besseren Übersicht werden in Tabelle 11 nochmals alle Probenahmestellen mit den entsprechenden Abkürzungen und der Art der durchgeführten Probenahme gelistet, so wie sie für das Kapitel relevant sind.

Die Daten werden je Antibiotika-resistentem Parameter qualitativ in Balkendiagrammen für einen positiven und negativen Nachweis angegeben und zusätzlich quantitativ in Box-Plots ausgewertet. Ausreißer, die zwischen dem 1,5-fachen und 3-fachen des Interquartilsabstands liegen, werden als milde Ausreißer dargestellt; Werte, die über dem 3-fachen des Interquartilsabstands liegen, als extreme Ausreißer.

Tabelle 11: Probenahmestellen an den Oberflächengewässern beider Untersuchungsgebiete an den Fließgewässern Erstdorfer Bach, Swist und Rhein und die Art der Probenahme.

	Probenahmestelle	Abkürzung	Art der Probenahme
Ländlich-kommunal	Pegel Morenhoven	PM	24 h-Mischprobe, Zeitproportional mit 5 min Intervall
	Gewässergütemessstation Metternich	GM	
	Swist oberhalb Meckenheim	SMe	Qualifizierte Stichprobe (5 mal in 10 min), manuell mit Schöpfer
	Erstdorfer Bach	EB	
	Swist bei Flerzheim	SF	
	Swist an der Straße Buschhoven – Miel	SMi	
	Swist in Heimerzheim	SH	
Swist vor der Mündung bei Weilerswist	SW		
Klinisch-urban	Rhein stromaufwärts der KA Salierweg	RO	Qualifizierte Stichprobe (5 mal in 10 min), manuell mit Schöpfer
	Rhein stromabwärts der KA Salierweg	RU	

4.2.1 Resistente Bakterien in Oberflächengewässern

In den untersuchten Proben der Oberflächengewässer wurden Antibiotika-resistente Bakterien in unterschiedlicher Abundanz nachgewiesen. In Abbildung 26 bis Abbildung 30 sind die Daten der untersuchten Antibiotika-resistenten Bakterien für das ländlich-kommunale Untersuchungsgebiet dargestellt. Geordnet sind die Probenahmestellen nach der Fließrichtung und dem damit verbundenen steigenden anthropogenen Einfluss. Vereinzelt konnten an der Probenahmestelle Erstdorfer Bach (EB) bereits Antibiotika-resistente Bakterien nachgewiesen werden. An drei unterschiedlichen Untersuchungstagen konnte dort *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR nachgewiesen werden (Abbildung 30).

Die maximale Konzentration ESBL-produzierender *E.coli* schwankte an den Probenahmestellen des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes und dem Untersuchungszeitraum zwischen $2,0 \times 10^2$ und $1,1 \times 10^4$ KBE/100 mL, während die Medianwerte im Bereich 2 Log_{10} KBE/100 mL lagen (Abbildung 26).

Mit der Ausnahme der Probenahmestelle EB waren die meisten Proben im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet positiv auf den Parameter ESBL-produzierende *E. coli* (89,8 % der Proben aus SMe bis SW).

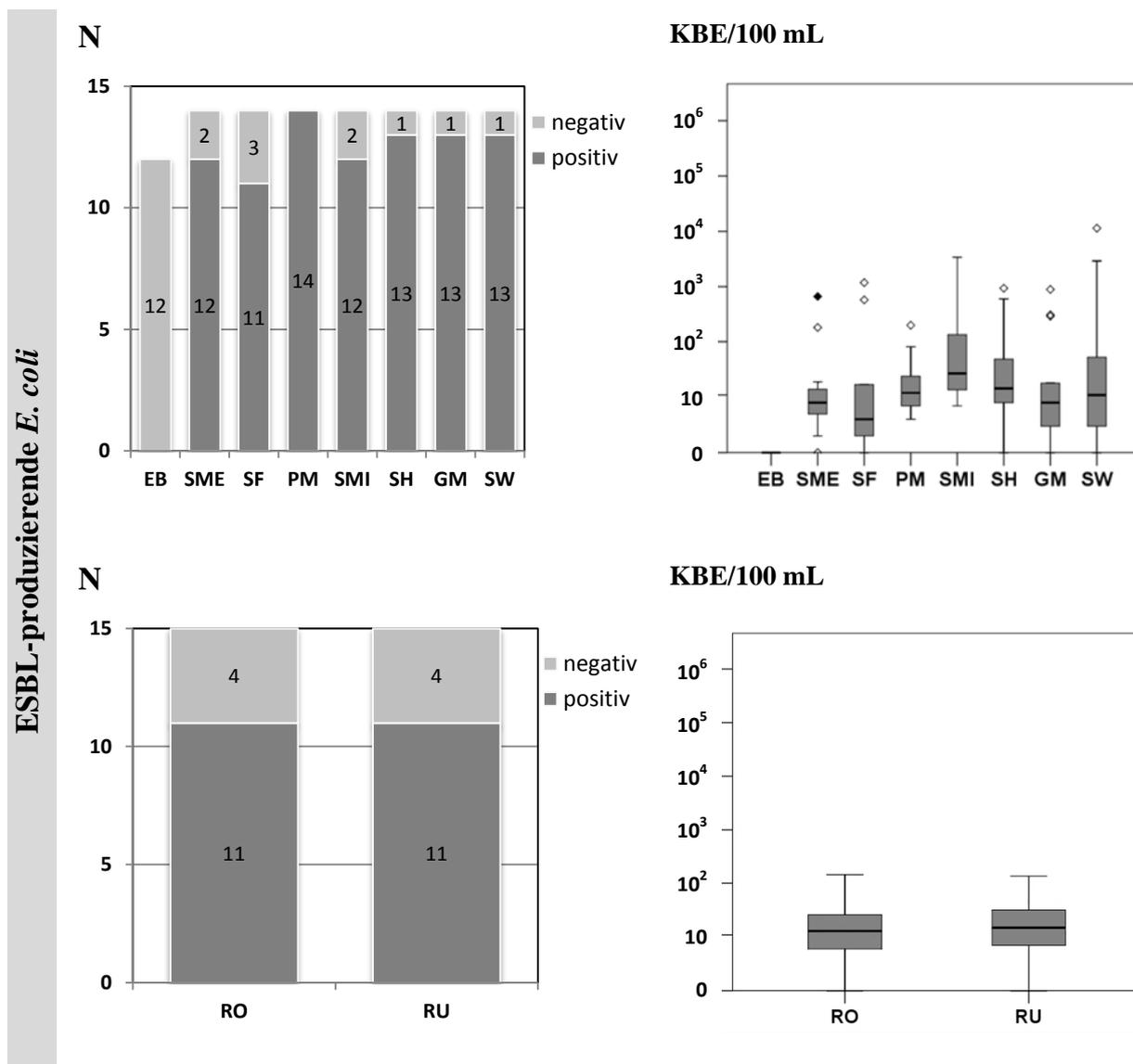


Abbildung 26: Kulturreller Nachweis von ESBL-produzierender *E. coli* in den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen (oben) und klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes (unten). Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Im klinisch-urbanen Einzugsgebiet konnten ESBL-produzierende *E. coli* in beiden Proben RO (stromaufwärts der Kläranlage) und RU (im Unterstrom der Kläranlage) in je 11 von 15 Proben (73,3 %) nachgewiesen werden, mit Maximalwerten von $1,9 \times 10^2$ bzw. $1,4 \times 10^2$ KBE/100 mL (Median an beiden PNS 13 KBE/100mL) (Abbildung 26).

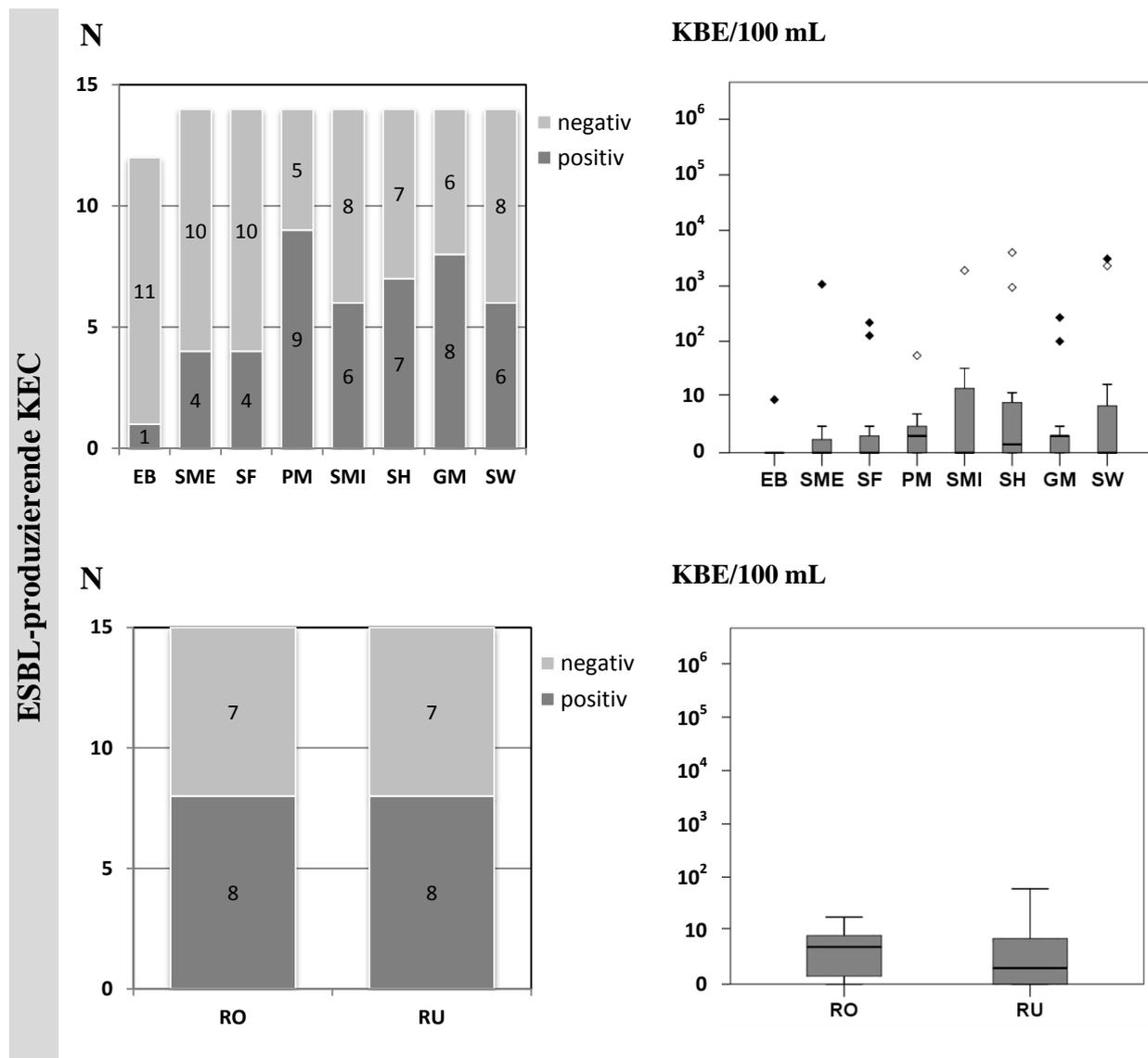


Abbildung 27: Kulturreller Nachweis von ESBL-produzierender KEC in den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen (oben) und klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes (unten). Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Die Gruppe ESBL-produzierende KEC wurde in deutlich weniger Proben nachgewiesen; Der höchste Wert fand sich an der PNS SH im Juli 2017 ($4,0 \times 10^3$ KBE/100 mL). Abbildung 27 zeigt, dass die Anzahl der Positivproben mit dem Einfluss von geklärtem Abwasser im Flussverlauf zunimmt. Es konnte vor der ersten Kläranlageneinleitung nur in 9 von 40 Proben (22,5 %) ESBL-produzierende KEC nachgewiesen werden (EB, SME und SF), in den PNS danach waren es 51,4 % der Proben. Die Konzentrationen der ESBL-produzierenden KEC lagen ca. eine \log_{10} -Stufe niedriger als die der ESBL-produzierenden *E. coli*.

Der Parameter ESBL-produzierende KEC wurde an den PNS RO und RU in je 8 von 15 Proben nachgewiesen. Mit einem Maximalwert an der PNS RO von $4,0 \times 10^1$ KBE/100 mL (Median 4 KBE/100mL) und der PNS RU mit einem Maximalwert von $6,0 \times 10^1$ KBE/100 mL (Median 1 KBE/100 mL) (Abbildung 27).

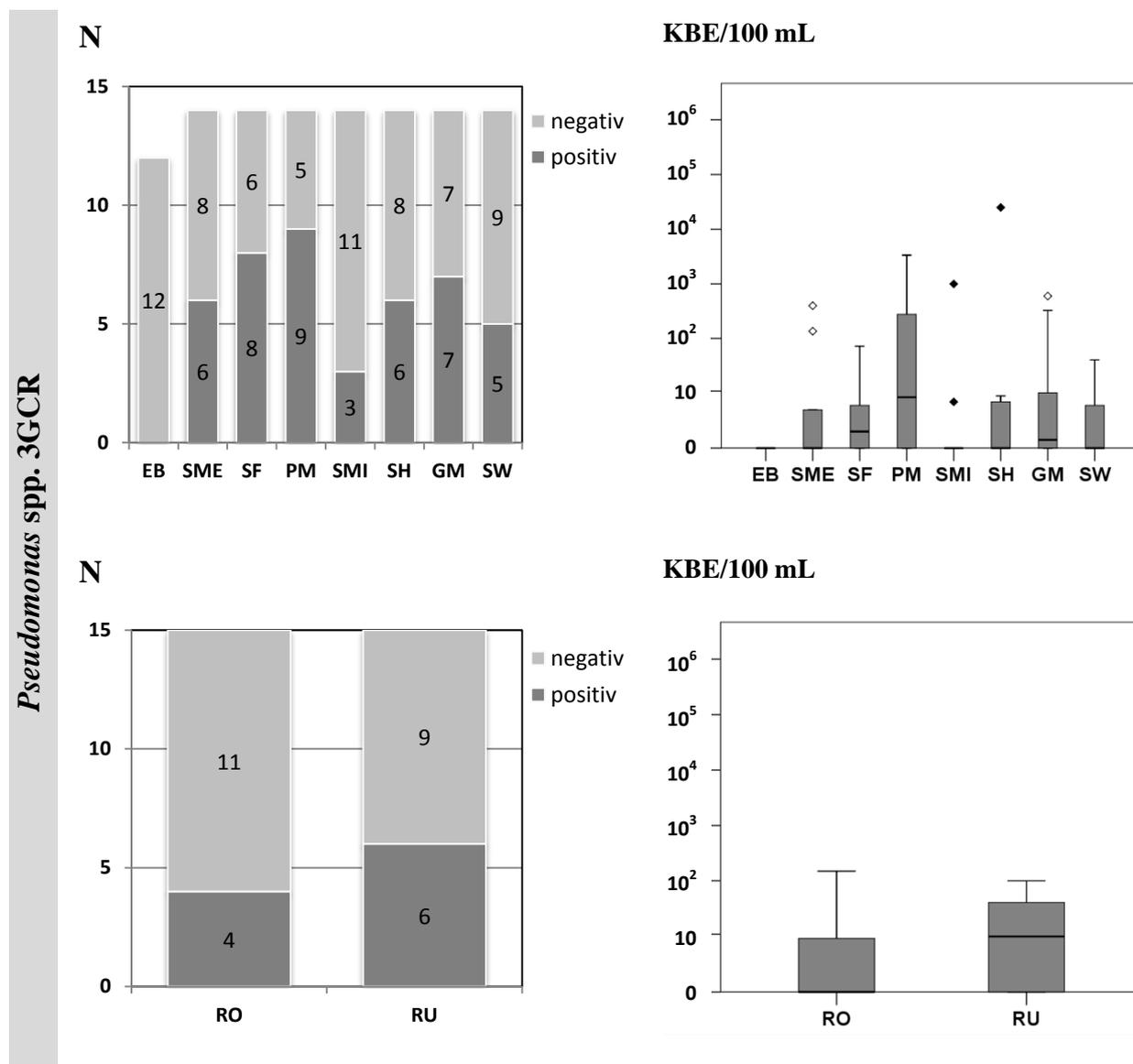


Abbildung 28: Kulturreller Nachweis von *Pseudomonas* spp. 3GCR in den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen (oben) und klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes (unten). Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Der Parameter *Pseudomonas* spp. 3GCR konnte an den meisten PNS der Oberflächengewässer des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes zu unterschiedlichen Anteilen nachgewiesen werden. Mit steigendem anthropogenem Einfluss sind die Mediankonzentrationen für den Parameter *Pseudomonas* spp. 3GCR wie folgt: 0

KBE/100mL (EB), 0 KBE/100mL (SMe) mit einem Maximalwert von $4,0 \times 10^2$ KBE/100 mL, 1 KBE/100mL (SF) mit einem Maximalwert von $7,3 \times 10^1$ KBE/100 mL, $1,7 \times 10^1$ KBE/100mL (PM), Maximalwert von $5,1 \times 10^3$ KBE/100 mL, 0 KBE/100mL (SMi), Maximalwert $1,0 \times 10^3$ KBE/100 mL (extremer Ausreißer), 0 KBE/100mL (SH), Maximalwert $2,5 \times 10^4$ KBE/100 mL (extremer Ausreißer), 1 KBE/100mL (GM), Maximalwert $6,0 \times 10^2$ KBE/100 mL, 0 KBE/100mL (SW), Maximalwert $4,0 \times 10^1$ KBE/100 mL.

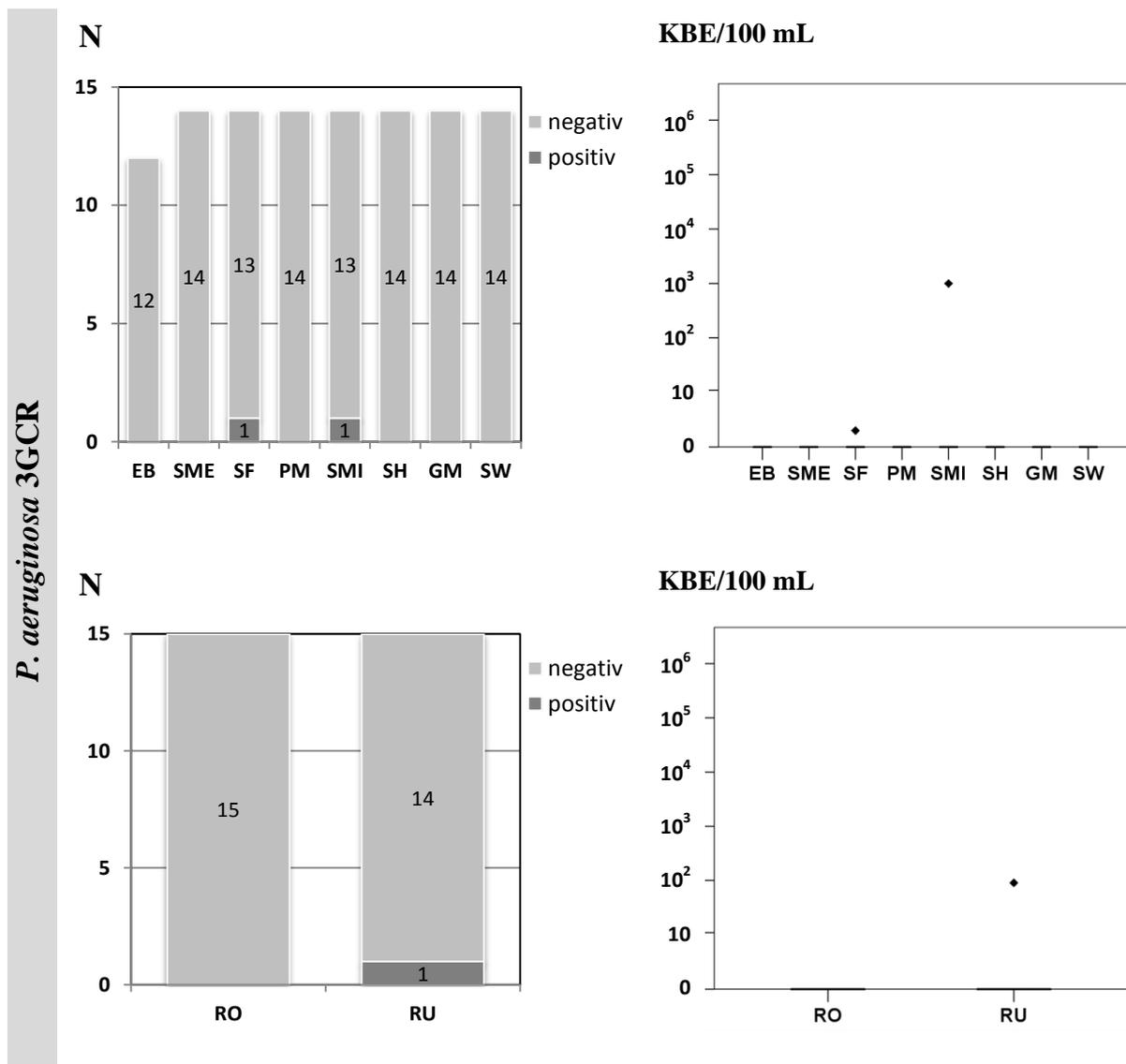


Abbildung 29: Kulturreller Nachweis von *P. aeruginosa* 3GCR in den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen (oben) und klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes (unten). Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Die Anzahl der positiven Nachweise scheint für die meisten Parameter in Fließrichtung der Gewässer bzw. mit steigendem anthropogenem Einfluss zuzunehmen. Der Parameter *P. aeruginosa* 3GCR, welcher nur vereinzelt in den Oberflächengewässern des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes nachgewiesen werden konnte, ist hier eine Ausnahme (Abbildung 29).

Auch der Parameter *Pseudomonas* spp. 3GCR folgt dem Trend nicht ganz, da die Konzentrationen an der PNS PM am höchsten sind und an den PNS SH, GM und SW wieder deutlich niedriger. Der Parameter *Pseudomonas* spp. 3GCR wurde an der PNS RO in 4 von 15 Proben und an der PNS RU in 6 von 15 Proben nachgewiesen. Abbildung 28 zeigt die kulturellen Nachweise des Parameters *P. aeruginosa* 3GCR. Dieser konnte nur in einer Probe an der PNS RU in einer Konzentration von $9,0 \times 10^1$ KBE/100 mL nachgewiesen werden.

Abbildung 28 zeigt die kulturellen Nachweise des Parameters *P. aeruginosa* 3GCR. Dieser konnte nur in einer Probe an der PNS RU in einer Konzentration von $9,0 \times 10^1$ KBE/100 mL nachgewiesen werden.

Die Parameter *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR und *Acinetobacter* spp. 3GCR waren im gesamten Flussverlauf an den untersuchten Stellen in der Mehrzahl der genommenen Proben nachweisbar (Ausnahme PNS EB), mit hohen Maximalwerten von 4 Log_{10} KBE/100 mL, aber deutlich kleineren Medianwerten von 2 Log_{10} KBE/100 mL.

Im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet ist die Anzahl der positiven Nachweise nach Einleitung der Kläranlage nicht immer höher als oberhalb der Einleitstelle, auch die Maximal- und Medianwerte zeigen den Einfluss der Kläranlage nur bedingt, da die Konzentrationen, bis auf die Ausnahme *Acinetobacter* spp. 3GCR bzw. *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR, an der PNS RU, nur leicht erhöht sind. Die Anteile der positiven Proben an den Gesamtproben sind in beiden Untersuchungsgebieten vergleichbar, die Maximalwerte sind jedoch im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet höher.

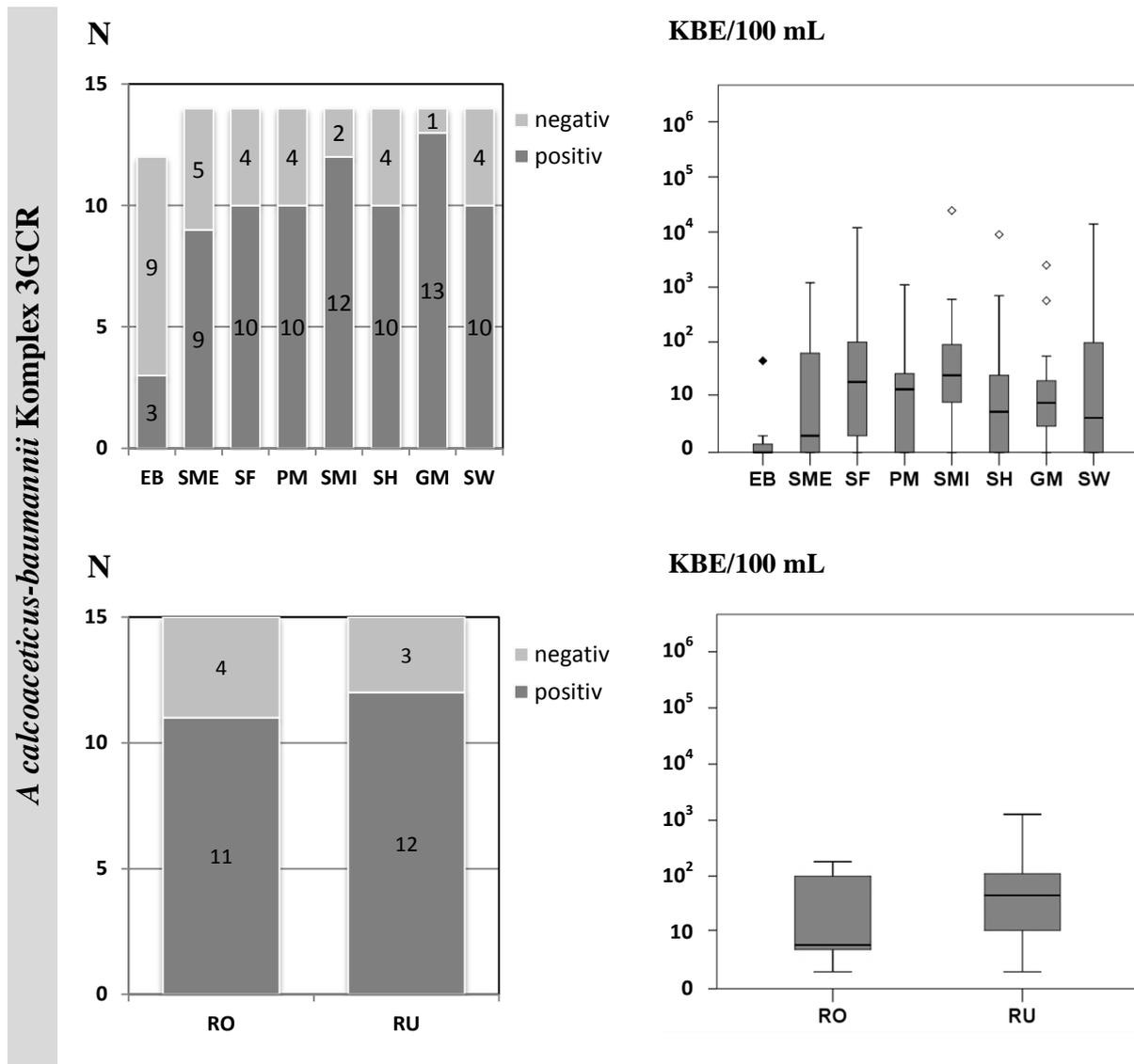


Abbildung 30: Kulturreller Nachweis von *Acinetobacter* spp. 3GCR bzw. *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR in den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen (oben) und klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes (unten). Links: Qualitative Daten. Rechts: Quantitative Darstellung in Box-Plots. Hellgraue Punkte zeigen milde Ausreißer, schwarze Punkte extreme Ausreißer an.

Antibiotika-resistente Bakterien der Spezies *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR konnten in den Proben RO und RU in 11 bzw. 12 der je 15 Proben (73,3 % bzw. 80 %) nachgewiesen werden. Der Maximalwert an der PNS RO betrug $1,8 \times 10^2$ KBE/100 mL (Median 10 KBE/100 mL), an der PNS RU $1,3 \times 10^3$ KBE/100 mL (Median $4,5 \times 10^1$ KBE/100 mL) (Abbildung 30).

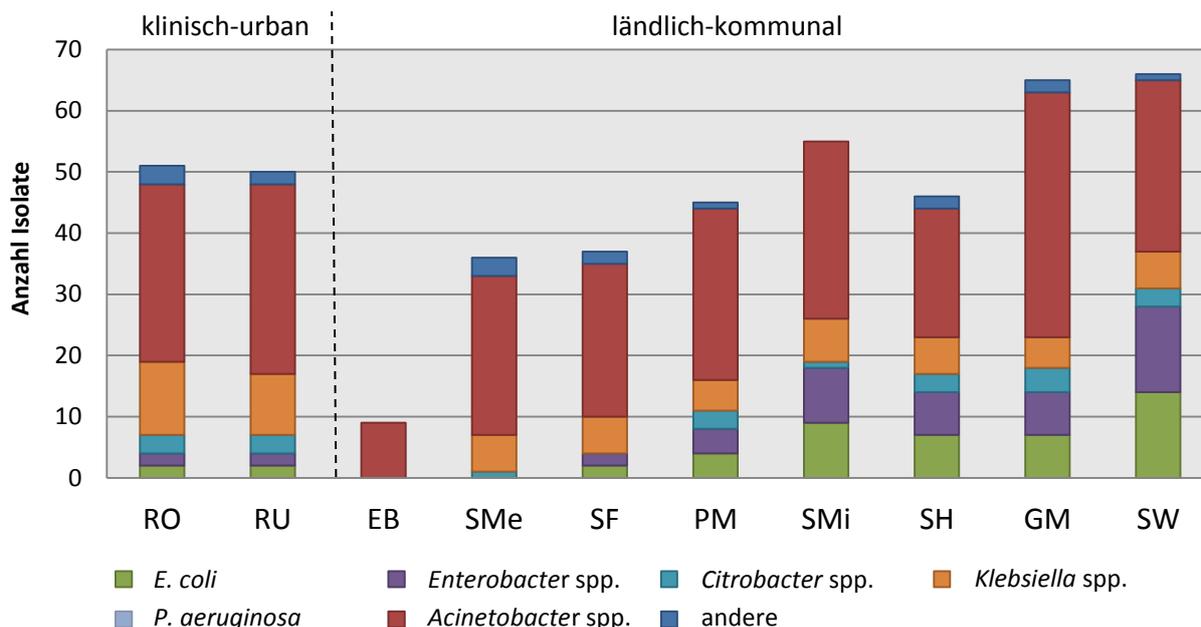


Abbildung 31: Anzahl der Spezies an allen Isolaten der resistenten Gram-negativen Bakterien, die in den Oberflächengewässerproben des klinisch-urbanen und ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes isoliert wurden.

Die Auswertung der in den Proben der Oberflächengewässer der beiden Untersuchungsgebiete charakterisierten Isolate ergab, dass die dominierende Gattung im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet (Abbildung 31) die Spezies *Acinetobacter* ist. *E. coli* und die Spezies *Enterobacter* sind an den Probenahmestellen in vergleichbarer Konzentration vertreten. Wie die Abbildung 29 zeigt, ist die Spezies *P. aeruginosa* 3GCR fast gar nicht nachweisbar. In den Oberflächengewässerproben des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes ist der Anteil der charakterisierten Isolate von *Klebsiella* spp. etwas höher und die Anzahl der Isolate der Spezies *Enterobacter* spp. deutlich niedriger.

4.2.2 Zusammenhang des Abwasseranteils mit der Konzentration Antibiotika-resistenter Bakterien

Die Swist ist ein sehr stark anthropogen beeinflusster Bach. Im Einzugsgebiet der Swist leiten vier Kläranlagen ihr aufbereitetes Abwasser direkt oder indirekt in das Fließgewässer ein. Je nach Wetterlage ist der Abwasseranteil an den einzelnen Probenahmestellen des Swistbaches unterschiedlich. Für die Stellen Pegel Weilerswist und Pegel Morenhoven konnten für den Zeitraum von September 2016 bis Juni 2018 unterschiedliche Abwasseranteile berechnet werden (siehe Kapitel 2.2.3). Diese lagen im

Median über den angegebenen Zeitraum für die Messstellen Pegel Weilerswist und Pegel Morenhoven bei 42,5 % und 49 %. Es konnten Maximalwerte von 80,7 bzw. 100 % berechnet werden.

Um festzustellen, ob ein hoher Anteil an Abwasser in der Swist auch zu einer hohen Konzentration an Antibiotika-resistenten Bakterien zu den Untersuchungszeiten führt, wurde eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Es wurden die Konzentrationsdaten verwendet, die in Kapitel 4.2.1 dargestellt sind. Da es sich um ordinalskalierte Daten handelt, wurde der Spearman's Rangkorrelationskoeffizient für die Korrelationsanalyse verwendet und der p-Wert berechnet (Tabelle 12).

Tabelle 12: Ergebnisse der Korrelationsanalyse mit dem Spearman's Rangkorrelationskoeffizient für die Bestimmung eines möglichen Zusammenhanges des Abwasseranteiles in der Swist zur Konzentration an Antibiotika-resistenten Bakterien. n.a. nicht anwendbar

Probenahmestelle	Parameter	Rangkorrelationskoeffizient	p-Wert
PM	ESBL <i>E. coli</i>	-0,21	0,487
	ESBL KEC	0,34	0,253
	<i>Pseudomonas</i> spp. 3GCR	0,47	0,123
	<i>P. aeruginosa</i> 3GCR	n.a.	
	<i>Acinetobacter</i> spp. 3GCR	0,03	0,914
	<i>A. calcoaceticus-baumannii</i> Komplex 3GCR	0,03	0,914
Pegel Weilerswist / SW	ESBL <i>E. coli</i>	0,06	0,828
	ESBL KEC	0,08	0,778
	<i>Pseudomonas</i> spp. 3GCR	-0,57	0,083
	<i>P. aeruginosa</i> 3GCR	n.a.	
	<i>Acinetobacter</i> spp. 3GCR	-0,01	0,965
	<i>A. calcoaceticus-baumannii</i> Komplex 3GCR	-0,01	0,965

Für die verwendeten Datensätze konnte für keinen der untersuchten Parameter eine signifikante Korrelation berechnet werden. Die meisten der Korrelationskoeffizienten liegen nahe bei Null. Bei ESBL-produzierenden *E. coli* und ESBL-produzierenden KEC konnte ein Spearman's Rangkorrelationskoeffizient von -0,21 bzw. 0,34 berechnet werden. Die Korrelation zu der Konzentration von *Pseudomonas* spp. 3GCR und dem Abwassergehalt an der PNS SW zeigt mit einem Rangkorrelationskoeffizienten von -0,57 einen negativen Zusammenhang, der mit einem p-Wert von 0,08 aber nicht signifikant ist ($>0,05$) ist.

4.2.3 Multiresistenzen in Oberflächengewässern

Während die Ergebnisse aus Kapitel 4.2.1 zeigen, dass Antibiotika-resistente Bakterien in den Proben der Oberflächengewässer fast aller Probenahmestellen der beiden Untersuchungsgebiete isoliert werden konnten, variierte der Grad der Multi-resistenz der einzelnen Isolate zwischen den beiden Untersuchungsgebieten deutlich. Das Oberflächengewässer des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes weist in 6,8 % bzw. 8,6 % der Isolate einen 3MRGN-Status an den PNS RO und RU auf. Während an der PNS RO keine Isolate mit einem 4MRGN-Status mit oder zusätzlicher Colistinresistenz nachgewiesen wurden, wurde in 4,3 % der Isolate an der PNS RU ein 4MRGN-Status festgestellt (Abbildung 32).

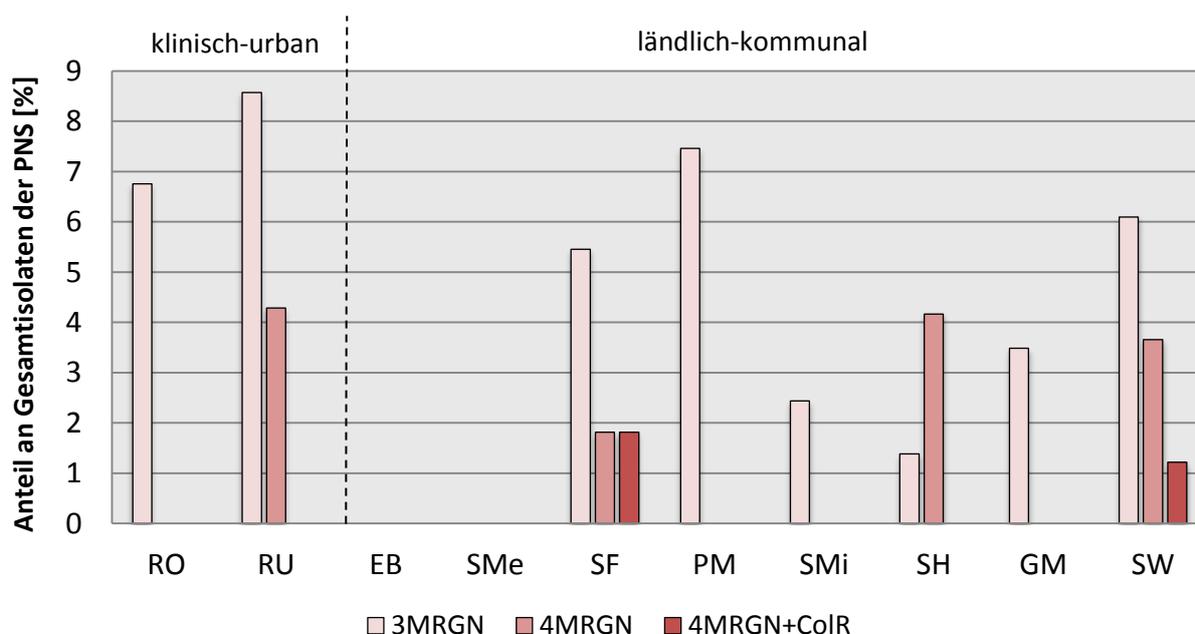


Abbildung 32: Multiresistenzen in den Oberflächengewässerproben des klinisch-urbanen und ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes als Anteil der Isolate an allen Isolaten, die an einer Probenahmestelle isoliert wurden. ColR = Colistinresistenz.

Im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet konnten an den Probenahmestellen EB und SME keine Isolate mit einem relevanten Resistenzprofil wie 3MRGN oder höher detektiert werden. An allen übrigen PNS konnten 3MRGN-Isolate in Anteilen von 1,4 % bis 7,5 % festgestellt werden. An den PNS SF, SH und SW konnten außerdem in 3,6 %, 4,2 % und 4,9 % der Isolate ein 4MRGN-Status festgestellt werden. An der PNS SF und SW wiesen je ein Isolat (1,85 % bzw. 1,2 %) eine zusätzliche Colistinresistenz auf (Abbildung 32).

4.2.4 Antibiotisch wirkende Substanzen in Oberflächengewässern

Für das klinisch-urbane Untersuchungsgebiet konnten im gesamten Studienzeitraum bei 47 untersuchten antibiotisch wirkenden Substanzen sieben verschiedene im Unterstrom der Einleitung des gereinigten Abwassers (RU) und acht verschiedene Antibiotikarückstände stromaufwärts der Kläranlageneinleitung (RO) detektiert werden. Am häufigsten konnte, sowohl an der PNS RU (63% positive Proben) als auch an der PNS RO (50% positive Proben), Sulfamethoxazol nachgewiesen werden. Die Konzentrationen lagen zwischen 10 ng/L bzw. 60 ng/L (RU) und zwischen 10 ng/L und 50 ng/L (RO). Alle nachgewiesenen Restkonzentrationen lagen unter der entsprechenden *predicted no effect concentration* (PNEC) von 16 µg/L, die von Bengtsson-Palme and Larsson (2016) geschätzt wurde. Trimethoprim, das als Synergist in Kombination mit Sulfamethoxazol verschrieben wird, konnte nur sporadisch nachgewiesen werden (13 % positive Proben an PNS RO; 6 % positive Proben an PNS RU). Neben Sulfamethoxazol konnten auch Makrolid-Antibiotika (Clarithromycin, Erythromycin, Roxithromycin) und Clindamycin nachgewiesen werden. Insgesamt überschritt keine der Restkonzentrationen die entsprechenden PNECs (0,25 µg/L bis 1,0 µg/L) (Bengtsson-Palme and Larsson, 2016).

Korrespondierend zum höheren Abwasseranteil in der Swist wurden im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet Antibiotikarückstände häufiger und mit höheren Restkonzentrationen nachgewiesen als im Rhein. Eine ausführlichere Darstellung der Ergebnisse findet sich bei Voigt et al. (2020a). Oberhalb der ersten Einleitung einer Kläranlage konnten keine Antibiotikarückstände nachgewiesen werden (siehe Abbildung 4 - Karte ländlich-kommunales Untersuchungsgebiet). Der erste positive Nachweis für die untersuchten antibiotisch wirkenden Substanzen wurde bei PNS PM detektiert. Die am häufigsten nachgewiesenen Antibiotika waren Azithromycin, Erythromycin, Clarithromycin, Clindamycin und Sulfamethoxazol in Kombination mit

dem Synergisten Trimethoprim. Rückstände von klinisch relevanten Reserve-Antibiotika wie Meropenem, Vancomycin oder Linezolid sowie Rückstände von in der Intensivtierhaltung eingesetzten Antibiotika (z. B. Spiramycin, Enrofloxacin oder Chlortetracyclin) konnten nicht nachgewiesen werden. Insgesamt wurden die von Bengtsson Palm und Larsson (2016) geschätzten PNECs durch die analysierten Restkonzentrationen nicht überschritten, mit Ausnahme von zwei Probenahmekampagnen, bei denen Rückstände von Ciprofloxacin den entsprechenden PNEC von 0,68 mg/L an der PNS SM überschritten (Voigt et al., 2020a).

5 Zusammenhang des Vorkommens von Antibiotika und Antibiotika-resistenten Bakterien

5.1 Zusammenhang des Vorkommens in der Abwassermatrix

Die Befunde an den 13 untersuchten Abwasser-Probenahmestellen (Tabelle 2 und Tabelle 5) wurden auf mögliche Zusammenhänge zwischen dem Vorhandensein von Antibiotika-resistenten Bakterien und antibiotisch wirksamen Substanzen analysiert.

Tabelle 13: Antibiotika-resistente Bakterien mit einem positiven Zusammenhang zu dem Vorkommen eines untersuchten Antibiotikums. Gezeigt sind die Kombinationen mit einem Odds Ratio > 1 und einem p-Wert <0,05. Grau hinterlegt sind Zusammenhänge mit klinischer Plausibilität.

ARB	Antibiotikum	N	OR	KI	p-Wert	klinische Plausibilität
ESBL KEC	Erythromycin	178	3,62	1,2/10,7	0,020	nein
	Ciprofloxacin	186	4,29	1,6/11,2	0,003	ja
	Amoxicillin	202	4,67	1,1/20,4	0,041	nein
	SMX.N4,Acetyl	152	12,75	2,8/58,1	0,001	nein
<i>P.aeruginosa</i> 3GCR	Vancomycin	202	2,53	1,3/5,0	0,008	nein
	Ciprofloxacin	186	2,75	1,1/7,0	0,034	ja
	Metronidazol	178	3,17	1,5/6,7	0,003	nein
	Ceftazidim	202	3,20	1,5/6,7	0,002	ja
	Moxifloxacin	178	3,91	1,8/8,5	0,001	nein
	Meropenem	202	5,00	2,3/10,8	0,000	ja
	Linezolid	178	5,05	2,2/11,6	0,000	nein
	Ampicillin	202	9,41	3,5/25,5	0,000	nein
	Flucloxacillin	202	20,79	2,4/183,2	0,006	nein
<i>Pseudomonas</i> spp. 3GCR	Ampicillin	202	3,35	1,1/10,4	0,037	nein

Um den Einfluss des klinischen Abwassers auf das gemischte städtische Abwasser zu untersuchen, wurden Gram-negative Bakterien berücksichtigt, die im Allgemeinen mit der Bildung von Biofilmen in Verbindung gebracht werden. Diese Bakterien sind möglicherweise in der Lage, sich innerhalb des Abwasserstromes zu vermehren, während die Zahl der Darmbakterien (wie *E. coli*) abnehmen sollte, wenn sie nicht weiter zugeführt werden.

Insgesamt wurden 288 mögliche Kombinationen für den Vergleich von sechs analysierten Bakterienspezies und 48 antimikrobiellen Substanzen in allen untersuchten Abwasserproben verglichen. Unter Verwendung einer 2 x 2-Kontingenztafel konnten insgesamt 35 signifikante Odds Ratios ($p < 0,05$) berechnet werden. Aus diesen Berechnungen ergaben sich 14 signifikante Kombinationen (4,9 %) mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit des Nachweises von den genannten Antibiotika-resistenten Bakterien bei gleichzeitigem positiven Nachweis eines der untersuchten antibiotisch wirkenden Substanzen ($OR > 1$) (Tabelle 13).

Insgesamt umfasst das Spektrum der Bakterien mit einer positiven Assoziation zu einem Antibiotikum sowohl klassische fäkale Indikatoren, wie z.B. *E. coli*, coliforme Bakterien der KEC-Gruppe, als auch andere fakultativ pathogene Bakterien, wie *P. aeruginosa*. In Tabelle 13 sind nur signifikante Kombinationen dargestellt.

Des Weiteren wurde die "klinische Plausibilität" auf der Grundlage der klinischen Wirksamkeit und der klinischen Alltags- und Verschreibungspraxis definiert. Die Kombination von ESBL-produzierenden KEC und N-Acetylsulfamethoxazol wird als klinisch nicht relevant erachtet, da die Vertreter der KEC-Gruppe zwar meist empfindlich auf Trimethoprim-Sulfamethoxazol reagieren, diese Antibiotika aber nicht gemäß Therapie-Leitlinien zur Behandlung von Infektionen eingesetzt werden, die durch Bakterien aus der KEC-Gruppe verursacht werden (LZG.NRW, 2019).

5.1.1 Klinisch nicht relevante Fälle

Von den 14 ausgewählten Kombinationen von Antibiotikaresistenz Parametern und antibiotisch wirksamen Substanzen (Tabelle 13) wurden zehn als klinisch nicht relevant erachtet, da das spezifische Therapeutikum normalerweise nicht mit der Behandlung der entsprechenden (Antibiotika-resistenten) Bakterien assoziiert ist (LZG.NRW, 2019). Alle aufgeführten Antibiotika konnten in unterschiedlichen Konzentrationen in Dusch-, Toiletten- und Waschbeckenabläufen des untersuchten Krankenhauses der Maximalversorgung gefunden werden (Voigt et al., 2019).

Vancomycin ist ein Antibiotikum, das nur gegen Gram-positive Bakterien wirksam ist. Die Substanz konnte in den Patientensanitärräumen des untersuchten Krankenhauses in Konzentrationen von 0,10 µg/L bis zu 26 µg/L gefunden werden (Voigt et al., 2019). Der Zusammenhang zwischen dem Auftreten von *P. aeruginosa* 3GCR und Linezolid ist klinisch nicht relevant, da Linezolid als Reserveantibiotikum

gegen hochresistente Gram-positive Mikroorganismen (z.B. Vancomycin-resistente Enterokokken) eingesetzt wird (Stevens et al., 2002).

Ampicillin und Amoxicillin sind Breitbandantibiotika, die hauptsächlich zur Behandlung von Infektionen mit Gram-positiven Bakterien eingesetzt werden, mit Ausnahme einiger Infektionen mit Gram-negativen Bakterien, aber nicht gegen Infektionen mit *Pseudomonas* spp. Metronidazol wird hauptsächlich zur Behandlung von Infektionen mit anaeroben Bakterien wie *Clostridium difficile* und Protozoen eingesetzt (Zar et al., 2007). Das Aktivitätsspektrum von Erythromycin ist mit dem einiger Penicilline vergleichbar, so dass sich ähnliche Anwendungsgebiete vor allem gegen Gram-positive Bakterien ergeben. Moxifloxacin war positiv mit dem Vorkommen von *P. aeruginosa* 3GCR assoziiert, ist aber nicht wirksam bei *P. aeruginosa*-Infektionen (LZG.NRW, 2019).

5.1.2 Klinisch plausible Fälle

Voigt, Zacharias et al. (2020) beschreiben, dass lediglich vier (von 423) Beziehungen zwischen einer antibiotisch wirkenden Substanz und einem der untersuchten Antibiotikaresistenz-Parametern, als klinisch relevant ermittelt werden konnten. Dort sind neun verschiedene Antibiotikaresistenz-Parameter in die Berechnung einbezogen worden. In dieser Arbeit sind es die in 3.2 beschriebenen Antibiotika-resistenten Bakterien. Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in Kapitel 5.1 dargestellt. Die klinische Plausibilität wurde auf der Grundlage von Effektivität und der Verschreibungspraxis des Antibiotikums in Bezug auf die Antibiotika-resistenten Bakterien bewertet. Als vorherrschende Spezies wurde in drei von vier Fällen *P. aeruginosa* 3GCR beobachtet. Darüber hinaus konnte eine klinisch relevante Beziehung für die KEC-Gruppe gefunden werden.

Die positive Assoziation zwischen Meropenem, Ceftazidim und Ciprofloxacin mit *P. aeruginosa* 3GCR wurde als klinisch relevant definiert (LZG.NRW, 2019). *P. aeruginosa* kann unter anderem zu Lungenentzündung, Harnwegsinfektionen oder Sepsis führen (Lister et al., 2009). Die hier nachgewiesenen Antibiotika stellen mögliche Optionen für eine Antibiotikatherapie bei *P. aeruginosa*-Infektionen dar (LZG.NRW, 2019; Mutschler et al., 2013).

Diese Befunde werden durch die berechneten Odds-Ratios bestätigt. So war in allen statistisch ausgewerteten Proben (N = 186) die Wahrscheinlichkeit,

P. aeruginosa 3GCR-Isolate zu finden, um den Faktor 2,8 erhöht, wenn gleichzeitig Ciprofloxacin (Meropenem: 0,5; Ceftazidim: 3,2) nachgewiesen wurden.

Tabelle 14: Wirkungsklasse und Umweltstabilität der Antibiotika mit einer positiven, statistisch signifikanten Assoziation zu dem gleichzeitigen Vorkommen mit einem Antibiotikaresistenz-Parameter in Abwasserproben.

Antibiotikum	Wirkstoffklasse	Stabilität
Meropenem	Carbapenem	+
Ceftazidim	Cephalosporin	+
Ciprofloxacin	Fluorchinolone	++
Moxifloxacin		
Vancomycin	Glykopeptid	+++
Erythromycin	Makrolid	+++ /++
Metronidazol	Nitroimidazol	+++
Linezolid	Oxazolidinon	+++
Amoxicillin	Penicillin	+
Ampicillin		
Flucloxacillin		
SMX.N4,Acetyl	Sulfonamid	+++

Um die gefundenen Assoziationen zu verstehen, ist es wichtig, die Umweltstabilität der Antibiotika zu betrachten. Tabelle 14 zeigt die Wirkungsklasse und die Umweltstabilität der Antibiotika mit einer positiven, statistisch signifikanten Assoziation zum gleichzeitigen Vorkommen mit einem Antibiotikaresistenz-Parameter in Abwasserproben. Dabei gilt: Je höher die Umweltstabilität ist, desto länger lässt sich die Substanz in der aquatischen Umwelt nachweisen. Definiert wird dabei sehr stabil (+++), stabil (++) und instabil (+). Penicilline, Carbapeneme und Cephalosporine sind in ihrer chemischen Struktur am labilsten gegenüber den Einflüssen in der Abwasser- und Wassermatrix. Bei den berechneten Zusammenhängen haben die Wirkstoffklassen Sulfonamide, Glykopeptide, Nitroimidazole und Oxazolidinone die höchste Stabilität in der Umwelt. Carbapeneme sind sehr instabile β -Lactam-Antibiotika aufgrund der Doppelbindung in ihrer chemischen Struktur und des Austauschs von Schwefel durch Kohlenstoffatome (Hydrolyse- und Lactamaseempfindlichkeit) (Deshpande et al., 2004; Watkinson et al., 2009). Fluorchinolone sind in unbehandeltem Abwasser, Klärschlamm und Gülle nachzuweisen. Sie sind auch dafür bekannt, an Klärschlamm zu adsorbieren und in Oberflächengewässern sind sie nicht oft nachzuweisen (Golet et al., 2003). Sulfonamide sind sehr stabil, gut wasser-

gängig und können sogar aus ihren Metaboliten (Konjugaten) in Kläranlagen wieder zurückgebildet werden (Göbel et al., 2004; Radke et al., 2009).

Bezogen auf die vier Fälle mit positiver Assoziation, mit Bezug auf die Persistenz des Bakteriums in Biofilmen und einer klinischen Plausibilität, lassen sich für die unterschiedlichen Probenahmestellen als Dendrogramme und Streudiagramme charakteristische Muster erkennen. Dazu zählt die positive Assoziation des Vorkommens der ESBL-produzierende Gruppe KEC mit Ciprofloxacin (Abbildung 33) und dem Vorkommen von *P. aeruginosa* 3GCR mit dem Vorkommen von Ciprofloxacin, Ceftazidim und Meropenem (Abbildung 34).

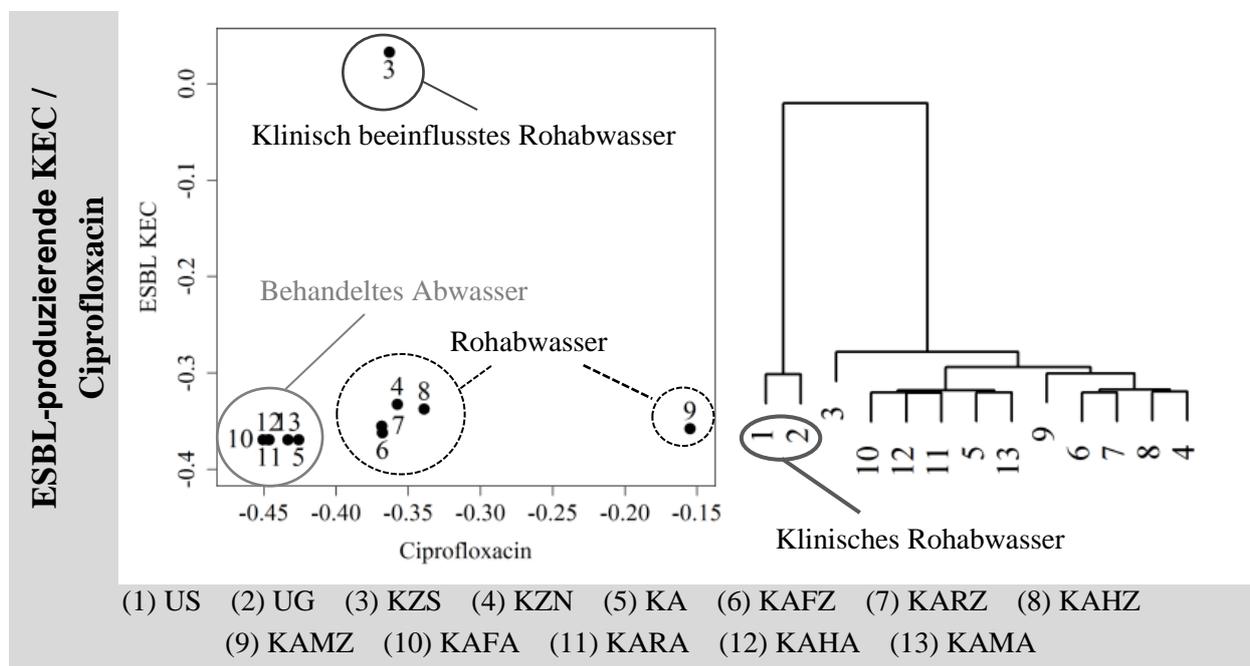


Abbildung 33: Streudiagramm und Dendrogramm zum Zusammenhang des Vorkommens von ESBL-produzierenden KEC (*Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp.) und dem Vorkommen von Ciprofloxacin an den einzelnen Abwasser-Probenahmestellen (Quelle: Voigt, Zacharias et al., 2020). Links: agglomerative hierarchische Cluster-Analyse in Form eines Streudiagramms aus z-transformierten Daten ohne PNS 1 und 2. Rechts: Dendrogramm der Cluster-Analyse mit PNS 1 und 2.

Die dargestellten Punkte basieren auf den z-transformierten Daten, in Relation zu den Entnahmestellen für die Konzentration der antibiotisch wirkenden Substanzen (x-Achse) und dem zugehörigen Antibiotikaresistenz-Parameter, die eine Resistenz gegen die entsprechende antibiotisch wirkenden Substanzen (y-Achse) zeigen. Diese multivariate Datenanalyse liefert einen Abstand zwischen den Probenahmestellen und ermöglicht eine Clusterbildung auf der Grundlage des Abstands oder der ergebnisbasierten Ähnlichkeit der Probenahmestellen.

In den Streudiagrammen in Abbildung 33 und Abbildung 34 sind die entsprechenden PNS UG (2) und US (1) nicht einbezogen um die Abstände der anderen PNS besser darzustellen. Die Analyse der z-transformierten Daten, für Ciprofloxacin-resistente *P. aeruginosa* 3GCR (Abbildung 34A) und Ciprofloxacin-resistente ESBL-produzierende KEC (Abbildung 33) im Zusammenhang mit dem zeitgleichen Nachweis von Ciprofloxacin-Rückständen, zeigt eine ausgeprägte Clusterbildung für die Zuläufe und Abläufe der Kläranlagen.

Die höchsten Konzentrationen für jeden der beiden Parameter (ARB und AR) können an den Probenahmestellen mit der größten Nähe zum klinischen Abwasser festgestellt werden, die sich klar von nicht-klinisch beeinflusstem Abwasser unterscheiden lassen. Für die Clusteranalyse der Parameter Ciprofloxacin-resistente ESBL-produzierende KEC im Zusammenhang mit dem zeitgleichen Nachweis von Ciprofloxacin (Abbildung 33) sind die Cluster für klinisches Rohabwasser (1 und 2) in den Dendrogrammen, sowie klinisch beeinflusstes Rohabwasser (3) in den Streudiagrammen eingezeichnet. Bei Betrachtung der Streudiagramme können zwei zusätzliche Cluster identifiziert werden, eines für nicht-klinisch beeinflusstes Rohabwasser (4, 6, 7, 8) und eines für behandeltes Abwasser (5, 10, 11, 12, 13). Das Streudiagramm in Abbildung 33 zeigt, dass der Zulauf Süd der Kläranlage Salierweg durch hohe Konzentrationen bezüglich des Parameters KEC außerhalb des Clusters für „Rohabwasser“ liegt. Die PNS KAMZ (9) liegt außerhalb des Clusters „Rohabwasser“, was durch hohe Konzentrationen an Ciprofloxacin an dieser PNS zu erklären ist.

Der Parameter *P. aeruginosa* 3GCR zeigt durch die Berechnung der Odds Ratio einen positiven Zusammenhang mit dem Vorkommen von Ciprofloxacin (Abbildung 34A), Ceftazidim (Abbildung 34B) und Meropenem (Abbildung 34C). Für die Clusterbildung der Ciprofloxacin-resistenten *P. aeruginosa* 3GCR und Ciprofloxacin können mit Ausnahme der PNS KZS (3) die gleichen Cluster identifiziert werden wie für die Ciprofloxacin-resistente ESBL-produzierende KEC.

Für den Zusammenhang von Ceftazidim-resistenten *P. aeruginosa* 3GCR mit Ceftazidim (Abbildung 34B) und Meropenem-resistenten *P. aeruginosa* 3GCR mit Meropenem (Abbildung 34C) lassen sich nur die Cluster für die klinischen bzw. die klinisch beeinflussten PNS darstellen.

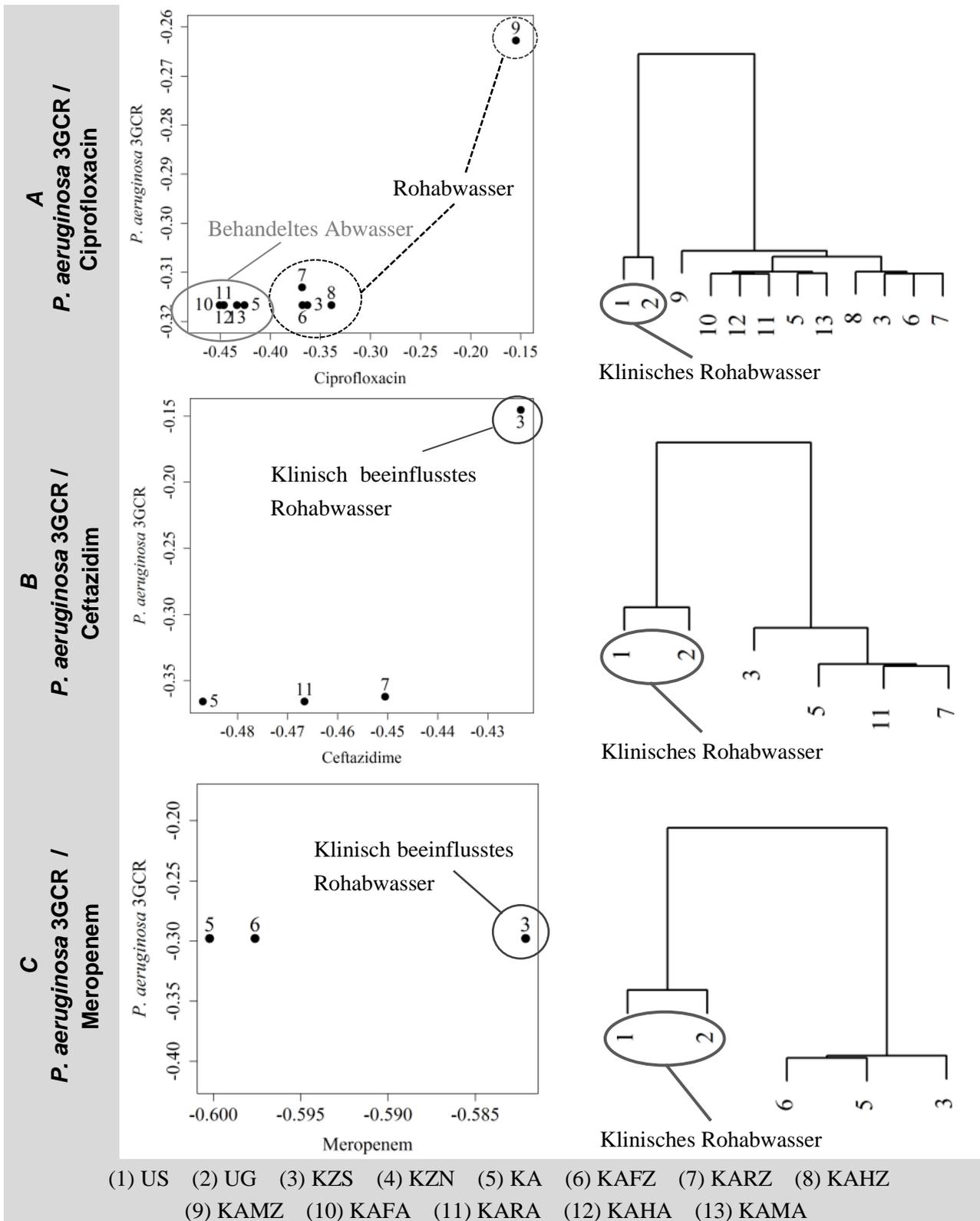


Abbildung 34: Streudiagramme und Dendrogramme zu dem Zusammenhang des Vorkommens von *P. aeruginosa* 3GCR und dem Vorkommen von Ciprofloxacin, Ceftazidim und Meropenemen an den einzelnen Abwasser-Probenahmestellen (Quelle: Voigt, Zacharias et al., 2020). Links: agglomerative hierarchische Cluster-Analyse in Form eines Streudiagramms aus z-transformierten Daten ohne PNS 1 und 2. Rechts: Dendrogramm der Cluster-Analyse mit PNS 1 und 2.

Ceftazidim und Meropenem konnte nicht an allen Probenahmestellen gefunden werden, was dazu führt, dass je nur ein Teil der ursprünglich 13 Probenahmestellen dargestellt sind. Meropenem gilt als ein Reserve-Antibiotika zur Behandlung schwerer Infektionen mit Gram-negativen Bakterien (z.B. Sepsis) (Harris et al., 2015). Ceftazidim und Meropenem, die überwiegend parenteral verwendet werden, scheinen damit eher mit klinischen Anwendungen (Cluster klinisches Rohabwasser) in Verbindung zu stehen. Im Gegensatz dazu kann Ciprofloxacin sowohl parenteral als auch oral verwendet werden, was eine ambulante Anwendung ermöglicht. Die Verschreibungspraxis spiegelt die erhaltenen Cluster wider, und es ist möglich, zwischen UG (1) und US (2) in Bezug auf seinen Meropenem- und Ceftazidim-Gehalt zu unterscheiden.

5.1.3 Zusammenhang zwischen Ciprofloxacin-Rückständen und Multiresistenzen

Voigt, Zacharias et al. (2020) fokussieren ihre Datenanalyse zusätzlich auf multi-resistente Erreger, da die Behandlung dieser Erreger komplizierter und komplexer als die Behandlung „einfacher“ Antibiotika-resistenter Bakterien ist, was auf die zunehmende Einschränkung der Therapiemöglichkeiten aufgrund des Mangels an wirksamen antibiotisch wirkenden Substanzen zurückzuführen ist. Basierend auf den dargestellten Ergebnissen (Tabelle 13) ist Ciprofloxacin eines der auffälligsten Antibiotika, welches sowohl mit *P. aeruginosa* 3GCR als auch mit ESBL-produzierenden KEC assoziiert ist. Im folgenden Abschnitt werden mögliche Beziehungen zwischen der Multiresistenz des Parameters und Ciprofloxacin-Rückständen untersucht.

Die Ergebnisse (Abbildung 35) zeigen, dass die Probenahmestellen in direktem Zusammenhang mit dem klinischen Abwasser klar von den Probenahmestellen ohne klinisches Abwasser zu unterscheiden sind (Cluster klinisches Rohabwasser). Darüber hinaus kann festgestellt werden, dass die Probenahmestellen US (1) und UG (2) bei der Betrachtung des Resistenzstatus (3/4MRGN) der jeweiligen Bakterienart im Gegensatz zueinander stehen. Die Probenahmestelle mit klinisch assoziiertem Abwasser (2) weist eine höhere Abundanz von *P. aeruginosa* 3GCR mit einem 3MRGN-Status als mit einem 4MRGN-Status auf, während die Abundanz von 4MRGN ESBL-produzierender KEC bei UG (2) höher ist als bei US (1). Um die einzelnen Cluster besser zu erkennen sind in Abbildung 36 die bereits in Abbildung 35 dargestellten Daten nochmals aufgetragen und die PNS US (1) und UG (2) sind nicht in den Streudiagrammen enthalten.

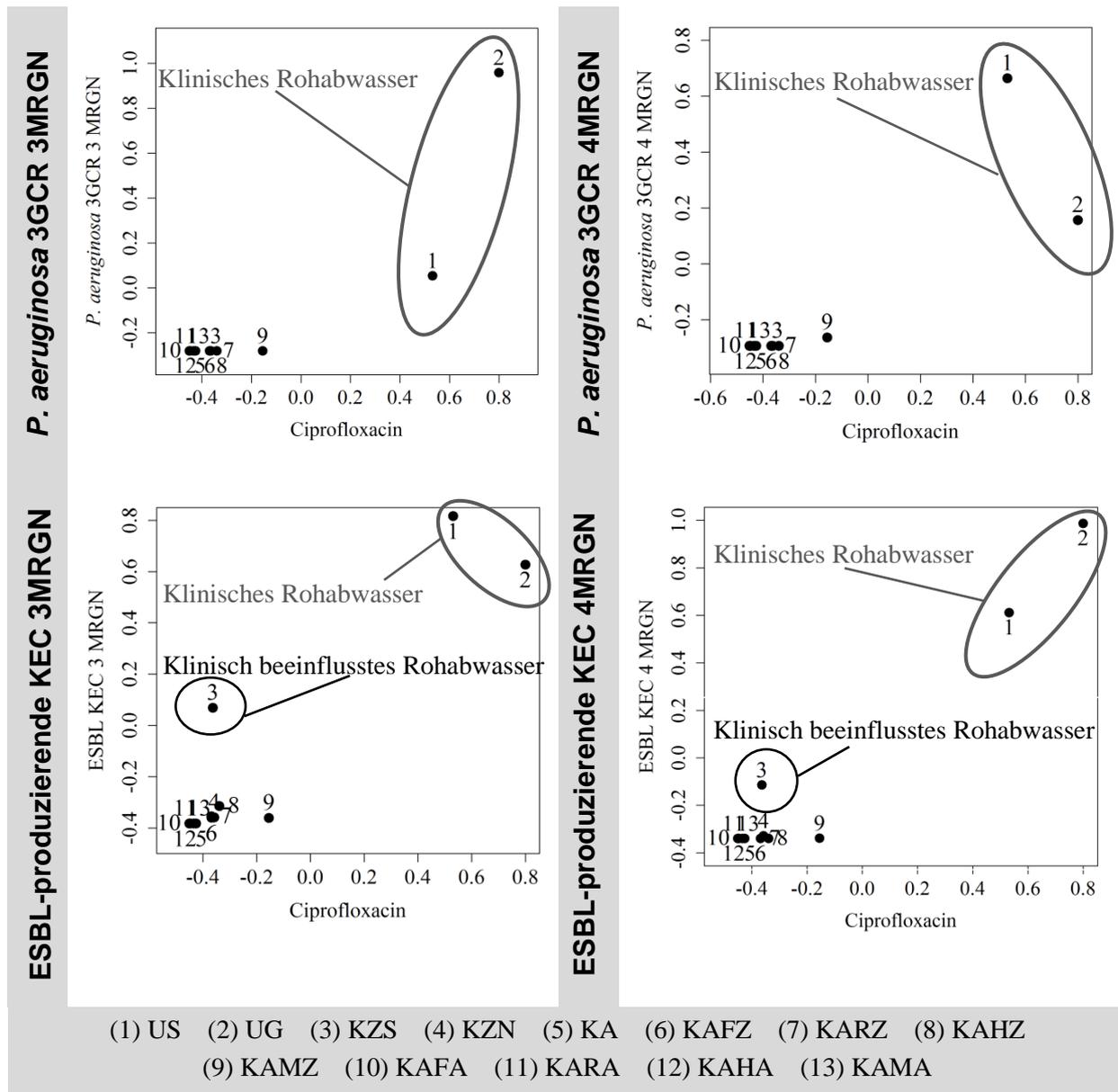


Abbildung 35: Streudiagramme für den Vergleich der Probenahmestellen in Bezug auf die Konzentration von Anwesenheit und Ausbreitung der multiresistenten Isolate *P. aeruginosa* 3GCR und der KEC-Gruppe und der nachgewiesenen Konzentration von Ciprifloxacin in Abwasser. (Quelle: Voigt, Zacharias et al., 2020).

Die Streuung der Punkte auf der x-Achse der Streudiagramme in Abbildung 35 kann analog zu den Streudiagrammen in Abbildung 33 und Abbildung 34 interpretiert werden, da sie auf den gleichen Daten für Ciprifloxacin basieren. Ciprifloxacin zeigt eine positive Assoziation mit dem Vorhandensein der beiden beschriebenen Bakterienarten und der entsprechenden Multiresistenz. An den Probenahmestellen mit einer hohen Konzentration von Ciprifloxacin konnte eine hohe Häufigkeit multiresistenter Erreger nachgewiesen werden.

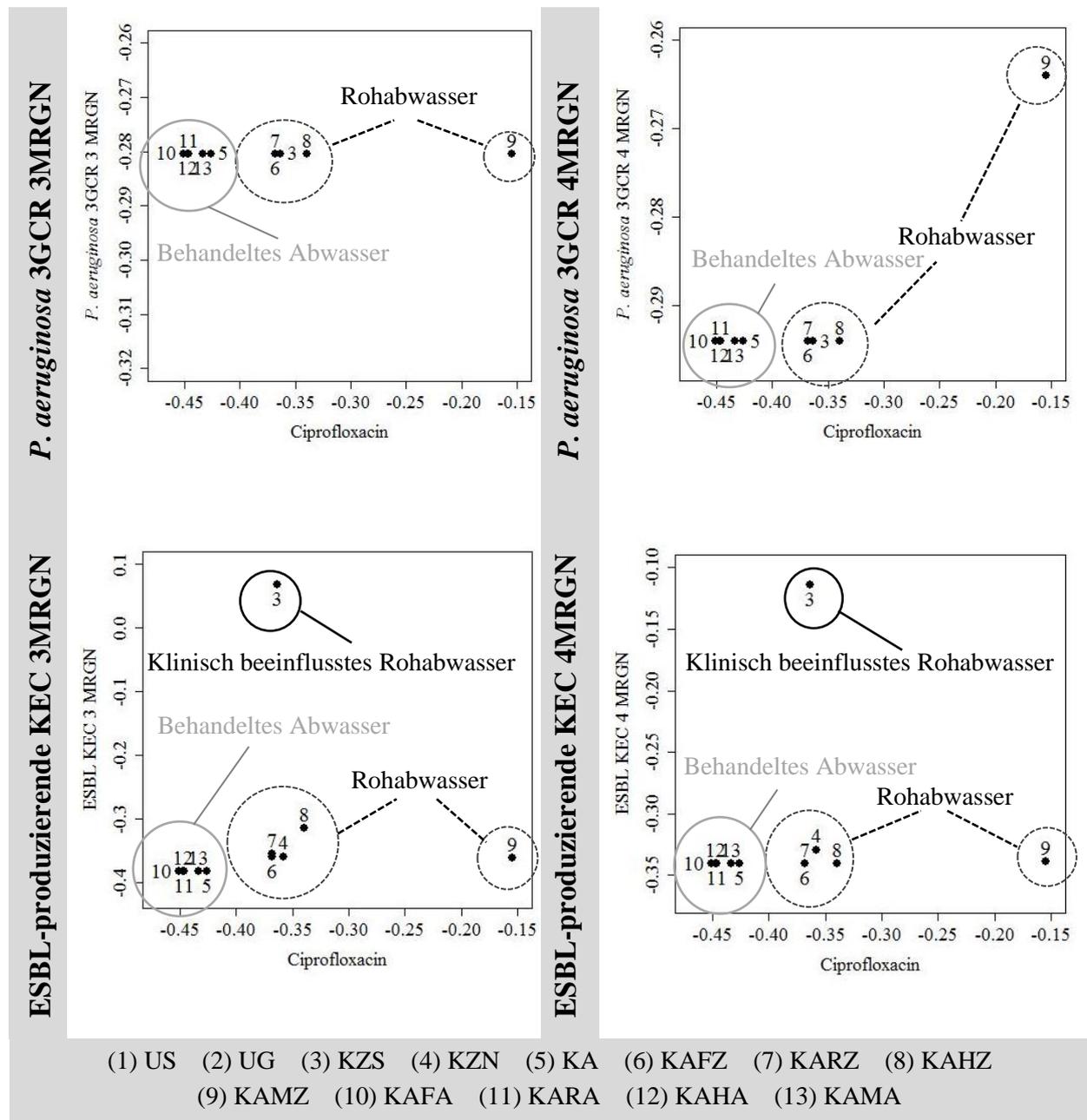


Abbildung 36: Streudiagramme für den Vergleich der Probenahmestellen ohne US (1) und UG (2) in Bezug auf die Konzentration von Anwesenheit und Ausbreitung der multiresistenten Isolate *P. aeruginosa* 3GCR und der KEC-Gruppe und der nachgewiesenen Konzentration von Ciprofloxacin in Abwasser.

Besonders für den Parameter ESBL-produzierende KEC 3MRGN und 4MRGN zeigt die PNS KZS (9) erhöhte Werte im Vergleich zu den anderen PNS, auch die Konzentration an Ciprofloxacin in den gleichen Proben zeigt erhöhte Werte im Vergleich zu den anderen Kläranlagenproben beider Einzugsgebiete.

Zusätzlich können multiresistente KEC (4MRGN) im südlichen Zulauf der städtischen Kläranlage (3) in höheren Konzentrationen nachgewiesen werden. Die Anzahl

der multiresistenten Erreger im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet sind deutlich niedriger, aber dort können in einem Zulauf und zwei Abläufen vereinzelt ESBL-produzierende KEC mit einem 3MRGN-Status nachgewiesen werden (Voigt, Zacharias et al., 2020).

5.2 Zusammenhang des Vorkommens in Oberflächengewässern

Die Befunde an den zehn untersuchten Probenahmestellen der Oberflächengewässer beider Untersuchungsgebiete (Tabelle 2 und Tabelle 6) wurden ebenfalls auf mögliche Zusammenhänge zwischen dem Vorhandensein von ARB und AR analysiert.

Insgesamt wurden 288 mögliche Kombinationen für den Vergleich von sechs analysierten Bakterienspezies und 48 antimikrobiellen Substanzen in allen untersuchten Proben verglichen. Unter Verwendung einer 2 x 2-Kontingenztafel konnten insgesamt 18 signifikante Odds Ratios ($p < 0,05$) berechnet werden. Aus diesen Berechnungen ergaben sich 3 signifikante Kombinationen (0,1 %) mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit des Nachweises von Antibiotikaresistenz-Parametern bei gleichzeitigem positiven Nachweis des Antibiotikums ($OR > 1$) (Tabelle 15).

Tabelle 15: Antibiotika-resistente Bakterien mit einem positiven Zusammenhang zu dem Vorkommen eines untersuchten Antibiotikums. Gezeigt sind die Kombinationen mit einem Odds Ratio > 1 und einem p-Wert $< 0,05$.

ARB	Antibiotikum	N	OR	KI	p-Wert	klinische Plausibilität
ESBL <i>E. coli</i>	Erythromycin	112	6,0	1,7/21,6	0,006	nein
<i>Acinetobacter</i> spp. 3GCR						
<i>A. calcoaceticus-baumannii</i> complex 3GCR		112	6,1	1,6/24,0	0,010	nein

Eine signifikante positive Assoziation konnte nur für das Antibiotikum Erythromycin in Verbindung mit den hygienisch-mikrobiologischen Parametern ESBL-produzierende *E. coli* und *Acinetobacter* spp. 3GCR und dort im speziellen der Art *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex berechnet werden.

Der berechnete Zusammenhang wird als klinisch nicht plausibel angesehen, da Erythromycin nicht als Therapeutikum gegen Infektionen mit den genannten (Antibiotika-resistenten) Bakterien eingesetzt wird. Erythromycin wird von dem Bakterium

Saccharopolyspora erythraea gebildet und kann wegen dessen antibiotischer Wirkung als Arzneistoff verwendet werden. Die Hauptkomponente ist das Erythromycin A, daneben kommen bis zu 5 % Erythromycin B und in geringerer Menge Erythromycin C vor. Chemisch zählt Erythromycin zu den Glycosiden, pharmakologisch gehört es zu den Makrolidantibiotika und ist stabil bis sehr stabil gegenüber Einflüssen in der aquatischen Umwelt (Tabelle 14). Verwendet wird Erythromycin zur Behandlung von Infektionen mit Gram-positiven Bakterien (vor allem Streptokokken und Staphylokokken), anaeroben Bakterien wie Propionibakterien und Corynebakterien sowie Mykoplasmen. Auch wenn es bei dem gleichzeitigen Auftreten von Erythromycin mit den in Tabelle 15 gezeigten Antibiotika-resistenten Bakterien keine klinische Plausibilität, nach der hier getroffenen Definition, gibt, so kann das Vorkommen von Erythromycin im Gewässer einen Einfluss von Abwasser anzeigen, der mit zeitgleichem Vorhandensein von Antibiotika-resistenten Bakterien korreliert.

5.2.1 Unterschiede in den Untersuchungsgebieten

Um die Unterschiede in den Untersuchungsgebieten zu verdeutlichen, werden z-transformierte Daten, wie in Kapitel 5.1 in Dendrogramme und Streudiagramme aufgetragen. Dies erlaubt eine Wertung der Relation zu den Entnahmestellen für die Konzentration der antibiotisch wirksamen Substanz (x-Achse) und dem zugehörigen Antibiotikaresistenz Parameter (y-Achse), die gleichzeitig in einer Probe detektiert wurden.

Diese multivariate Datenanalyse liefert einen Abstand zwischen den Probenahmestellen und ermöglicht eine Clusterbildung auf der Grundlage des Abstands oder der ergebnisbasierten Ähnlichkeit der Probenahmestellen. Da die in den Oberflächengewässern detektierten Isolate *Acinetobacter* spp. 3GCR alle dem *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR angehören, sind in Abbildung 37 nur Streudiagramm und Dendrogramm für *Acinetobacter* spp. 3GCR und Erythromycin gezeigt. Der Gewässerverlauf und die Einleitungen der Kläranlagen können in Abbildung 4 nachvollzogen werden. In den beiden dargestellten Streudiagrammen (Abbildung 37) lassen sich die Probenahmestellen RU und RO des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes von den Oberflächengewässerproben des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes deutlich abgrenzen (Rhein Cluster). Die Konzentrationen an Erythromycin und ESBL-produzierenden *E. coli* sind an den PNS des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes deutlich geringer.

ESBL-produzierende *E. coli* / Erythromycin
***Acinetobacter* spp. 3GCR / Erythromycin**

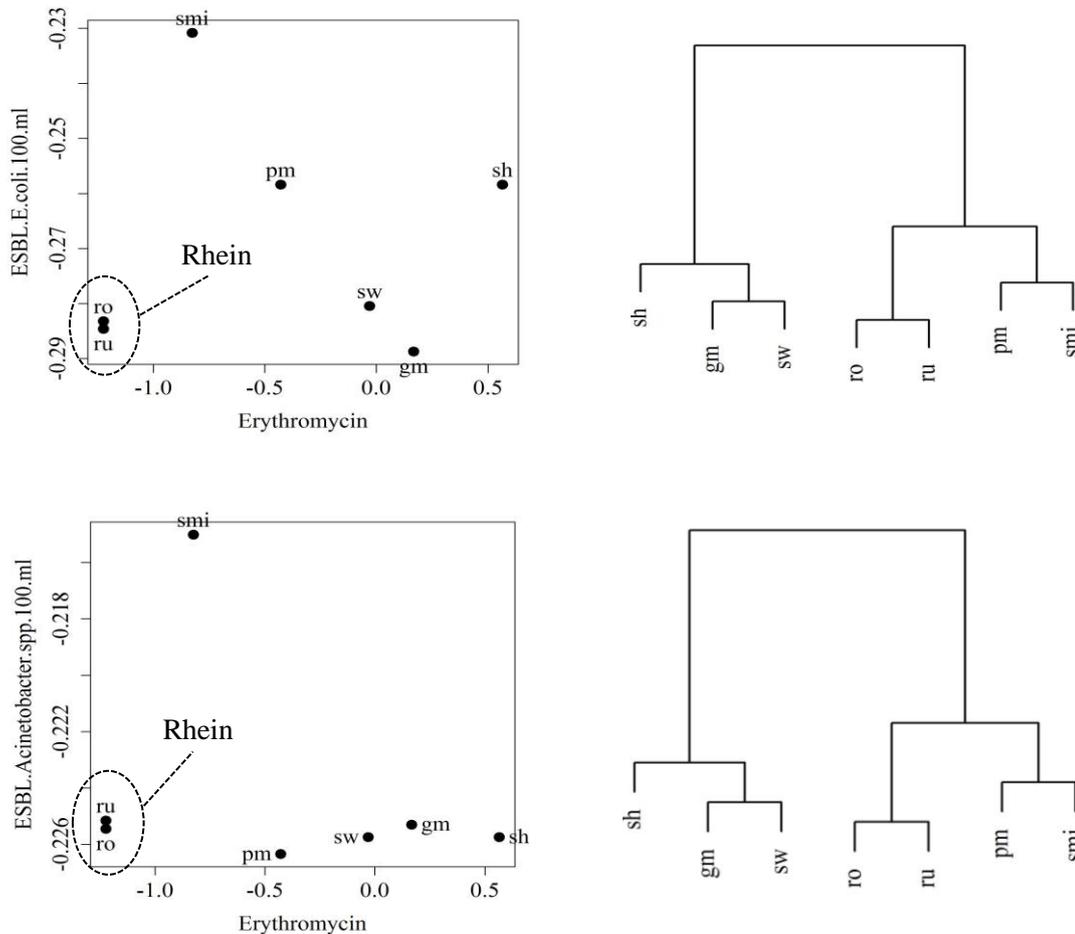


Abbildung 37: Streudiagramme und Dendrogramme zu dem Zusammenhang des Vorkommens von Erythromycin und dem Vorkommen von *E. coli*, *Acinetobacter* spp. 3GCR und dort im speziellen auch der Art *A. baumannii*-Komplex an den einzelnen Probenahmestellen der untersuchten Oberflächengewässer. Links: agglomerative hierarchische Clustering-Analyse in Form eines Streudiagramms aus z-transformierten Daten. Rechts: Dendrogramm der Clustering-Analyse.

Die Konzentrationen von *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR liegen aber mit Ausnahme von SMi in beiden Untersuchungsgebieten in einem ähnlichen Bereich. Auch in den entsprechenden Dendrogrammen sind die beiden Probenahmestellen sehr ähnlich. Im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet sind sich die Probenahmestellen PM und SMi, GM und SW (Dendrogramm) sehr ähnlich, die Probenahmestelle SH belegt hingegen einen separaten ‚Zweig‘.

Die Probenahmestellen EB, SMe und SF sind in den Streudiagrammen und Dendrogrammen nicht enthalten, weil erst nach der ersten Kläranlageneinleitung antibiotisch wirkende Substanzen (hier: Erythromycin) detektiert wurden.

Die Probenahmestellen PM und SMi liegen im Gewässerverlauf hintereinander und sind beide von Kläranlageneinleitungen beeinflusst. Dies ist wahrscheinlich der Grund für die hohen Werte von ESBL-produzierenden *E.coli* und *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR an der PNS SMi. Die Probenahmestellen SH, GM und SW (in der Reihenfolge der Fließrichtung) zeigen bei der räumlichen Darstellung der Streudiagramme die höchsten Anteile an Erythromycin und für die Probenahmestelle SH noch im Vergleich zu den anderen Probenahmestellen erhöhte Werte für ESBL-produzierende *E. coli*. Es lässt sich, wie in Kapitel 4.2.2 bereits dargestellt, auch in dieser Auswertung kein signifikanter Einfluss des Abwassers ableiten, nachdem das Gewässer die erste Einleitstelle passiert hat. Das Vorhandensein von antibiotisch wirkenden Substanzen (hier Erythromycin) kann auf das Vorhandensein von Antibiotika-resistenten Bakterien hinweisen. Für die in dieser Arbeit untersuchten Proben gilt dies für ESBL-produzierende *E coli* und *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR.

6 Diskussion

6.1 Eignung kultureller Verfahren zum Nachweis Antibiotika-resistenter Bakterien in der aquatischen Umwelt

Die einfache Adaption der Kultivierung nach medizinischen Standards für die Untersuchung von Umweltproben zur Identifizierung humanrelevanter Antibiotika-resistenter Bakterien scheitert an einem massiven Wachstum der Hintergrundflora, bestehend aus Umweltbakterien, die nicht den Zielspezies entsprechen. Die Kultivierung von Antibiotika-resistenten Bakterien auf Selektivnährböden geht häufig mit dem Nachweis einer bakteriellen Flora einher, die ebenfalls auf den Selektivnährböden wächst. Bei Gram-negativen Bakterien sind das vor allem Vertreter der Gattung *Aeromonadaceae*, die die Analyse stark beeinflussen (Schreiber, Zacharias et al., 2021). Dies führt dazu, dass Proben entweder wegen Überwucherung nicht ausgewertet werden können oder der Hintergrund zu massiven falsch-positiven Ergebnissen bei vermeintlichen Zielkolonien führte.

Die in Kapitel 3.2 dargestellten Ergebnisse zeigen, dass durch die Erhöhung der Inkubationstemperaturen eine Verbesserung des Nachweises an Antibiotika-resistenten Bakterien erzielt werden kann, ohne dass der Nachweis der Zielspezies reduziert wird.

Van Derlinden et al. (2008) beschrieben, dass *E. coli* bei Temperaturen bis zu 43°C wachsen kann und dass die exponentielle Phase bei 44°C-45°C unterbrochen wird. Die coliformen Bakterien *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp. und *Enterobacter* spp. sind in der Lage, bei niedrigeren Temperaturen, zwischen 30°C und 37°C, zu wachsen (Bergey and Holt, 1993). *Pseudomonas* spp. und insbesondere *P. aeruginosa* tolerieren einen weiten Temperaturbereich für das Wachstum (4 - 42°C) (LaBauve and Wargo, 2012), während *Acinetobacter* spp. dafür bekannt ist, bei Temperaturen zwischen 15°C und 44°C zu wachsen (Bouvet and Grimont, 1986).

Die in der Studie von Schreiber, Zacharias et al. (2021) getesteten Inkubationstemperaturen (42°C und 44°C) zur Reduktion der bakteriellen Hintergrundflora zeigten im Vergleich zu der 36°C-Standard-Inkubationstemperatur unterschiedliche Auswirkungen auf die Erholung der getesteten Stämme der Zielspezies. Eine höhere Inkubationstemperatur (42°C) führte im Vergleich zu 36°C für die Mehrzahl der getesteten Bakterienstämme zu einer Wiederfindung von 80-133% (Mittelwerte). Die zur KEC-Gruppe gehörenden coliformen Bakterien zeigten einen stärkeren Rückgang der Wie-

derfindung bei 42°C auf CHROMagar ESB (93 % Wiederfindung im Vergleich zu 36°C). Ein überproportional positiver Einfluss auf die Wiederfindung bei 42°C wurde für je ein resistentes Wildisolat der Spezies *Acinetobacter* und der Art *E. coli* auf CHROMagar ESB beobachtet. Weitere Tests mit einer Inkubationstemperatur von 42°C führten zu signifikanten Reduktionen der bakteriellen Hintergrundflora. In aquatischen Umweltproben galt dies insbesondere für Gram-negative Umweltarten.

Mehrere Studien berichteten über eine hohe Selektivität bei der Kultivierung von ESB-Produzenten auf anderen Selektivagars gemäß den entsprechenden Herstellerangaben. Zum Beispiel ergaben Tests für chromogenen Brilliance ESB-Agar (Oxoid, Thermofisher Scientific, UK) relativ hohe Werte für Sensitivität (97,9 %), Spezifität (100 %), PPV (100 %) und NPV 96,9 % bei Verwendung klinischer Stämme verschiedener Spezies (Ongut et al., 2014). Im Vergleich dazu bot der Agar ChromID ESB (Sysmex-bioMérieux, Japan) eine geringere Sensitivität (88,2 %) als CHROMagar ESB (Kanto Chemical, Japan; 100 % Sensitivität) (Saito et al., 2010). Diese und andere Studien, die die Wiederfindung von Erregern in klinischen Proben auf ESB-Agar untersuchten, zeigten unterschiedliche Sensitivitäten (Huang et al., 2010; Willems et al., 2013). Die Sensitivität, die sich aus der hier vorgestellten Studie mit CHROMagar™ ESB (Mast Diagnostica GmbH, Reinfeld, Deutschland) ergibt, liefert Werte zwischen 80,6 % und 97,7 % für die Anwendung auf Umweltproben. Dies ist niedriger als die Herstellerangaben für die Sensitivität (99,2 %) bei der Analyse klinischer Proben, liegt aber im Bereich einiger der oben zitierten Ergebnisse. Die geringere Qualität der Testleistung im Vergleich zu anderen Studien und Herstellerangaben ist wohl eine Folge der verwendeten Probenmatrix (Umwelt- statt klinischer Herkunft) sein. Das mehr oder weniger trübe Wasser enthält eine höhere und vielfältigere Hintergrundflora als klinische Proben, die üblicherweise in Studien zur Auswertung von ESB-Agar verwendet werden. Die Filtration der Zielbakterien, um sie zu konzentrieren und damit das Detektionslimit für 100mL Probe zu erhöhen, wird zusätzlich durch die Mengen an suspendierten festen (organischen) Verbindungen in den Proben begrenzt. Der Parameter Trübung wurde zunächst zur Bewertung des Einflusses von suspendierten Feststoffen auf die Probenvorbereitung gemessen (gemäß ISO 7027). Für Rohabwasser wurde eine mediane Trübung von 81,8 NTU (17,9 - 135,9 NTU; n=17) ermittelt. Für behandeltes Abwasser und Oberflächenwasser lagen die Medianwerte bei 0,6 NTU (0,2 - 2,3 NTU; n=7) bzw. 3,5 NTU (0,9 - 83,2 NTU;

n=46). Liu et al. (2020) gibt an, dass Wasser mit einer Trübung von mehr als 78 NTU als stark verschmutzt gilt.

Ein weiterer Aspekt sind Farbvariationen zwischen Laborstämmen und Wildtyp-Isolaten sowie die Wachstums konkurrenz in Bezug auf die gleichen Farben, die von Nicht-Zielspezies angezeigt werden. Frühere Studien bestätigten die einfache Erkennung von Zielspezies durch spezifische Farben, was offensichtlich für Labor-/Klinikstämme möglich ist (Hajia et al., 2012; Saito et al., 2010; Taguchi et al., 2004) und für die automatisierte Erkennung von Krankheitserregern in Blut verwendet wird (Shi et al., 2018), während Zielspezies aus Umweltproben in der Regel keine identischen Farben auf Agarplatten zeigen. Darüber hinaus entwickelt die Hintergrundflora nicht nur ähnliche Farben wie die Zielbakterien, was die Unterscheidung zwischen Pathogenen und nicht-Zielspezies, wie bereits von Toze (1997) festgestellt, erschwerte, sondern diese Bakterien wuchsen ebenfalls, vor allem in stark belasteten Proben (Rohabwasser), in hoher Anzahl auf den selektiven Agarplatten. Die Mehrzahl dieser nicht-Zielspezies konnten durch die erhöhte Inkubationstemperatur von 42°C gehemmt werden. Das Wachstum von nicht-Zielkolonien hat negative Auswirkungen auf die Selektion von putativen Zielkolonien oder die Zuordnung von Kolonien zu bestimmten Farben. Außerdem produzieren Umweltstämme oft nicht so klare, typische und einheitliche Farben wie Laborstämme oder Isolate aus klinischem Material. Die Spezifität des angepassten Testschemas (91,1 % bis 99,7 %) ist dagegen deutlich besser als die vom Hersteller (Mast, Deutschland) angegebene Leistungskennzahl von 89 %. Die berechnete Sensitivität des beschriebenen Ansatzes lag (je nach Zielspezies und Art der Probe) bei 80,6 % bis 97,7 % und damit unter der vom Hersteller angegebenen Spezifikation für klinische Proben.

CHROMagar ESB (CHROMagar, Paris, Frankreich) wurde für den Nachweis von *Klebsiella* spp. getestet, was zu Nachweisgrenzen zwischen $4,4 \times 10^6$ und 1 KBE/ml für klinische Isolate führte (Hornsey et al., 2013), was mit den Ergebnissen in der gezeigten Studie vergleichbar ist. Abhängig von der Probenmatrix enthalten die Ergebnisse eine weniger spezifische untere Nachweisgrenze von $<1,0 \times 10^3$ KBE/100 ml, was auf sehr hohe Verunreinigungen und organisches Material zurückzuführen ist (insbesondere im Fall von Rohabwasser).

Das Wachstum der getesteten Arten war in den meisten Fällen auf dem nährstoffreichen und komplexen Columbia-Agar bzw. den artspezifischen Medien (SOP-Agar) besser als auf den entsprechenden CHROMagar-Platten. Dies könnte durch den Um-

stand erklärt werden, dass CHROMagar durch die Antibiotika und die nicht optimale Substrat- bzw. Nährstoffversorgung eine Stresssituation für die Bakterien induziert. Die Fähigkeit, lebensfähige, aber nicht kultivierbare (VBNC) Zustände zu bilden, ist für mehrere unserer Zielbakterien bekannt, z. B. *P. aeruginosa* (Dwidjosiswojo et al., 2011; Leung et al., 1995), *A. calcoaceticus* (Lemke and Leff, 2006), *E. coli* (Asakura et al., 2008; Gourmelon et al., 1994; Oliver et al., 2005; Reissbrodt et al., 2002) und *E. aerogenes* (Byrd et al., 1991). Der Nachweis mehrerer ESBL-produzierender Bakterien auf der gleichen Platte erfordert eine große Substrat- und Nährstoffvielfalt. Verschiedene Spezies, die auf CHROMagar ESBL wachsen, haben unterschiedliche Affinitäten zu diesem Substrat (Pfaller and Segreti, 2006). Dementsprechend könnten diejenigen Stämme oder Isolate, die am besten mit dem vom Kulturmedium bereitgestellten Substrat zurechtkommen, am ehesten nachweisbar sein. Dieser Konkurrenzaspekt trägt insbesondere bei dichten und vielfältigen Mischpopulationen aus Umweltproben zu geringeren Nachweisraten bei. Eine weitere Erklärung für die Diskrepanz zwischen den Zahlen der Bakterien, die auf CHROMagar ESBL und artspezifischen Medien (SOP-Agar) oder Columbia-Agar wachsen, könnte die unterschiedliche Substratzusammensetzung und die Substratspezifität der Bakterien sein, die möglicherweise nicht zu den individuellen Substratanforderungen der Isolate passen (Gazin et al., 2012).

Unterschiede im Wachstum der nachweislich resistenten Isolate auf den entsprechenden Resistenzplatten kann auf Resistenzverlust zurückzuführen sein. Gründe für Resistenzverluste können generell das Vorhandensein von suszeptiblen Subpopulationen sein, die einen Verlust von Plasmiden oder eine Veränderung der Resistenzgene durch Mutationen erlitten haben (Griffiths et al., 1990) oder einfach nur die Inaktivität von Resistenzgenen, aufgrund von fehlendem Selektionsdruck oder benötigten Induktoren (Simner et al., 2018). Dies kann eine Reaktion einzelner Zellen sein, die innerhalb von Populationen auftritt, da die Masse der Zellen, die in nährstoffreichen Medien als Kontrolle verwendet wird, normalerweise keine mikrobielle Individualität aufweisen (Aspidou et al., 2019). Der durch Schreiber, Zacharias et al. (2021) beschriebene adaptierte Ansatz zum Nachweis von Antibiotika-resistenten Bakterien in Umweltproben bietet eine sehr gute Grundlage für eine harmonisierte und konsistente Vorgehensweise bei standardisierten Untersuchungen der Verbreitung von Antibiotika-resistenten Bakterien in der Umwelt. Die nationale Anwendung der gleichen Methode ermöglicht die Definition einer deutschlandweiten Basislinie der Ver-

teilung von Antibiotika-resistenten Bakterien in der aquatischen Umwelt und eine Trendanalyse in der Zukunft. Um ein potenzielles Gesundheitsrisiko durch Antibiotika-resistente Bakterien in der Umwelt zu bewerten, ist es notwendig, das Auftreten von Resistenzen direkt mit einem bestimmten Erreger zu verknüpfen. Genachweisverfahren sind darauf beschränkt, entweder Resistenzgene oder Speziesgene zu identifizieren, aber die direkte molekulare Analyse von Proben kann keine spezifischen Resistenzgene mit einer bestimmten Spezies von Interesse verknüpfen. Im Vergleich zu kulturabhängigen Techniken könnten metagenomische Ansätze und Next-Generation-Sequencing mehr Einblicke in die Prävalenz und Diversität von Antibiotikaresistenzdeterminanten in der Umwelt liefern, während quantitative PCR hilfreich sein könnte, um Informationen über ihre Verteilung zu sammeln (Monier et al., 2011).

6.2 Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen in der aquatischen Umwelt

Ein Anstieg der Resistenzen bei Stagnation der Einführung neuer Antibiotika in der Medizin ist vor allem bei Infektionen mit Gram-negativen Bakterien kritisch (Walsh, 2010). Die WHO spezifizierte Antibiotika-resistente Bakterien als eine ernsthafte Bedrohung für die moderne Medizin (WHO, 2014). Antibiotika-Resistenzen sind von großer wissenschaftlicher und gesellschaftlicher Bedeutung.

Der Zusammenhang zwischen medizinischem Fortschritt und schwer therapierbaren Erregern ist nicht zu leugnen (Just, 2006). Beteiligte Variable an dem steigenden Trend von Antibiotikaresistenzen sind eine Vielzahl von Akteurinnen und Akteure wie Human- und Veterinärmediziner, Apotheker, Patienten, Landwirte, Verantwortliche der Gesundheitsfürsorge, die pharmazeutische Industrie und Regierungen (Just, 2006; Kümmerer, 2003). Inzwischen gibt es eine Vielzahl von Initiativen (u.a. DART, EARS-Net, CAESAR). Diese beschäftigen sich derzeit vornehmlich mit der Aufklärung zur regelgerechten Anwendung von Antibiotika, mit Anwendungsstatistiken und Statistiken zum Auftreten von Resistenzen im Therapiefall. Zur effektiven Kontrolle der Verbreitung von Antibiotikaresistenzen ist es aber genauso wichtig, die Pfade in der Umwelt nachzuvollziehen, über welche Resistenzen verbreitet, gefördert und auch kontrolliert werden können.

Unter Bezug auf die Todesfälle, die durch eine einer Infektion mit Antibiotika-resistenten Bakterien verursacht werden, ergibt sich eine neue globale Public-Health-

Krise. O'Neill (2016) beschreibt, dass die Anzahl der Todesfälle durch Infektionen mit Antibiotika-resistenten Bakterien bis 2050 die Anzahl der Todesfälle vieler übertragbarer und nicht übertragbarer Krankheiten übertreffen könnte. Infektionen mit Antibiotika-resistenten Bakterien sind auch mit Beeinträchtigungen medizinischer Routineverfahren sowie mit erheblichen zusätzlichen Kosten im Gesundheitswesen verbunden (Laxminarayan et al., 2013). Der unsachgemäße und übermäßige Einsatz von Antibiotika in der Human- und Veterinärmedizin sowie in der Landwirtschaft wurde als einer der Haupttreiber für die Beschleunigung dieses ansonsten natürlichen Prozesses identifiziert (Davies and Davies, 2010).

Unterschiede im Antibiotikaverbrauch werden nicht nur zwischen Ländern (Blommaert et al., 2014), sondern auch innerhalb einzelner Länder beobachtet (de Jong et al., 2014; Kliemann et al., 2016). Neben räumlichen Unterschieden gibt es auch Variationen im Antibiotikaeinsatz in verschiedenen Gesundheitssektoren. In Europa ist beispielsweise der Antibiotikaverbrauch im ambulanten Sektor zehnmal höher als im Krankenhaussektor (ECDC, 2020).

6.2.1 Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen im Abwasser

Die Biomasse von menschlichen und tierischen Fäkalien nimmt seit 2003 schätzungsweise um mehr als 52 Milliarden Kilogramm pro Jahr zu; es wird erwartet, dass die insgesamt produzierten Fäkalien bis zum Jahr 2030 mindestens 4,6 Billionen Kilogramm pro Jahr erreichen werden (Berendes et al., 2018). Abwasser stellt einen wichtigen potenziellen Verbreitungsweg für Antibiotika-resistente Organismen dar (Bougnom and Piddock, 2017). So können Abwässer Carbapenem-resistente Enterobacteriaceae und andere medizinisch wichtige Antibiotika-resistente Bakterien enthalten, einschließlich besonders resistenter Stämme in Krankenhausabwässern (Lamba et al., 2017; Voigt, Zachraias et al., 2020).

Die Konzentrationen an ESBL-produzierenden *E. coli* und *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR sind im Rohabwasser und behandelten Abwasser des ländlich-kommunalen und des klinisch-urbanen Untersuchungsgebiets gleich. Im Rohabwasser liegen die Mediane der Konzentrationen im Bereich 5 Log₁₀ KBE/100 mL, im behandelten Abwasser zwischen 1 und 2 Log₁₀ KBE/100 mL. Für den Parameter ESBL-produzierende KEC konnte festgestellt werden, dass die Konzentration der Antibiotika-resistenten Bakterien in klinisch beeinflusstem Abwasser (UG, US und KZS)

größer war als im nicht-klinisch beeinflussten Abwasser. Die Konzentration im klinisch nicht beeinflussten Abwasser des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes ist gleich der Konzentration im Abwasser des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes. Der Parameter *P. aeruginosa* 3GCR konnte in einem Großteil der Proben des Krankenhausabwassers (UG, US) nachgewiesen werden, jedoch nur vereinzelt an den anderen Probenahmestellen.

Während die Ergebnisse in dieser Arbeit zeigen, dass Antibiotika-resistente Bakterien in Proben aller Abwasser-Probenahmestellen der beiden Untersuchungsgebiete isoliert werden konnten, variierte der Grad der Multiresistenz in den einzelnen Isolaten anhand ihrer Herkunft. In den Abwasserproben des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes waren 38,6 % der Isolate, die aus den Rohabwasser-PNS gewonnen wurden, einem 3- oder 4MRGN-Status zuzuordnen. 10,3 % der Isolate wiesen einen 4MRGN Status mit einer zusätzlichen Resistenz gegenüber dem Reserveantibiotikum Colistin auf. An der PNS UG waren es sogar 59,2 %, während es innerhalb der Isolate am zugehörigen Zulauf der Kläranlage (KZS) nur noch 32,4% waren. Der Kläranlagenzulauf Nord (KZN) weist nur 8,7 % Isolate mit einem 3- oder 4MRGN-Status auf. Das klinische Abwasser war somit mit einem deutlich höheren Anteil an multiresistenten Erregern belastet und enthielt sogar einige Stämme, die nur gegen ein oder zwei Antibiotika empfindlich waren (*extensively drug resistant (XDR) bacteria* (Magiorakos et al., 2012)).

Blaak et al. (2015) konnten ESBL-produzierende *E. coli* ebenfalls in klinischem und kommunalem Abwasser nachweisen. Die Konzentrationen im Median wurden für das klinische Abwasser mit $2,0 \times 10^9$ KBE/ 100mL und für das kommunale Abwasser mit $8,2 \times 10^7$ KBE/ 100mL angegeben. Eine andere Studie stellte ebenfalls fest, dass die ESBL-produzierende *E. coli*-Belastung im Krankenhausabwasser höher als im kommunalen Abwasser war ($2,7 \times 10^6$ bzw. $8,0 \times 10^4$ KBE/ 100mL) (Bréchet et al., 2014). ESBL-produzierende *E. coli* wurden dort ebenfalls in fast allen Umweltproben gefunden und machten 0,3 % aller *E. coli* im Rohwasser des Kläranlagenzulaufes aus. Hassoun-Kheir et al. (2020) stellten in ihrem Literatur-Review die Ergebnisse aus 37 Publikationen zusammen, die sich mit dem Vergleich von klinischem und kommunalem Abwasser beschäftigten. Die Autoren stellten fest, dass 30/37 (81 %) der eingeschlossenen Studien eine höhere Menge an Antibiotikaresistenz-Determinanten in Krankenhausabwässern beobachten konnten. Paulus et al. (2019) konnten höhere Kon-

zentrationen von antibiotisch wirksamen Substanzen und Resistenzen im Krankenhausabwasser im Vergleich zu kommunalem Abwasser nachweisen.

In dem ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet wurden im gleichen Probenahmezeitraum acht Carbapenemase-Produzenten (0,7 % der Gesamtisolate) und keine XDR-Stämme gefunden. Im Rohabwasser des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes wurden nur 8,4 % der Isolate dem 3- oder 4MRGN-Status zugewiesen. Obwohl die meisten dieser Bakterien während der Kläranlagenprozesse eliminiert wurden, ist eine Verbreitung in Oberflächengewässer möglich, da einzelne Carbapenemase-Produzenten noch im Ablauf der Kläranlage vorhanden waren (Müller et al., 2018; Voigt, Zacharias et al., 2020).

Die im Abwasser nachgewiesenen Antibiotika-resistenten Bakterien sind nicht ausschließlich auf Krankenhausquellen beschränkt. Studien haben gezeigt, dass Krankenhäuser, gemessen an der Gesamtmasse, keine Hauptfracht für Antibiotika-resistente Bakterien sind, aber mehr multiresistente Erreger beinhalten (Voigt, Zacharias et al., 2020). Der ubiquitäre Nachweis von Sulfamethoxazol (und Trimethoprim) in den hier dargestellten Daten lässt sich durch die hohe stationäre und ambulante Verordnungsrate bei der Therapie u.a. von Atemwegserkrankungen und Harnwegsinfektionen erklären (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016; Schwabe and Paffrath, 2016). Der häufige Nachweis in Abwässern steht im Einklang mit früheren Studien (Kümmerer, 2009) und lässt sich durch den unvollständigen Abbau während der Behandlungsprozesse von Abwasser erklären (Radke et al., 2009). Das am häufigsten nachgewiesene Fluorchinolon war Ciprofloxacin, gefolgt von Ofloxacin und Moxifloxacin. Rückstände klinisch relevanter Antibiotika, wie Carbapeneme oder Glykopeptide, konnten im klinischen Abwassersystem bis zur örtlichen Kläranlage nachgewiesen werden. Die hohen Konzentration von z.B. Meropenem, Vancomycin und Piperacillin im klinischen Abwasser lassen sich durch die überwiegend parenterale Applikation bei der Therapie schwerer nosokomialer Infektionen durch Gram-positive (z.B. Vancomycin) und Gram-negative (z.B. Meropenem) Bakterien erklären. Die schnelle und starke Abnahme dieser relevanten Antibiotika wird durch eine Verdünnung mit unkontaminiertem Abwasser und mögliche Abbauprozesse verursacht. Dementsprechend könnte die Reduktion von β -Lactamen, wie z.B. Meropenem, Ceftazidim oder Piperacillin, durch ihre Instabilität gegen hydrolytische Spaltung des Penam- oder Lactamrings erklärt werden (Deshpande et al., 2004).

In dem betrachteten Krankenhaus konnten das Auftreten und die Ausbreitung von ST823 *P. aeruginosa* innerhalb der Sanitäreinheiten nachgewiesen werden (Sib et al., 2019). Der gleiche Klon konnte auch im Zulauf der örtlichen Kläranlage nachgewiesen werden (Daten nicht gezeigt). Eine andere Studie beschrieb den Befund eines weiteren klinisch relevanten *P. aeruginosa*-Klons (ST235), der im Abwassersystem des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes nachgewiesen werden konnte (Müller et al., 2018). In diesem Zusammenhang könnten der hohe Gehalt an Ciprofloxacin und das Vorkommen von *P. aeruginosa* 3GCR zu einer weiteren Verbreitung und einem erhöhten Selektionsdruck zugunsten der Resistenzentwicklung führen, wie er für ST235 *P. aeruginosa* beschrieben wurde (Treepong et al., 2018).

Die Überwachung von Krankenhausabwässern wurde als mögliche ressourcen-effiziente Ergänzung zur herkömmlichen klinischen Überwachung von Antibiotikaresistenzen vorgeschlagen, da eine einzige Abwasserprobe Bakterien von einer großen Zahl von Personen enthält. Flach et al. (2021) haben Untersuchungen von Carbapenemase-produzierenden Enterobakterien in einem Umfeld mit geringer Prävalenz der Erreger durchgeführt. Dazu wurden Abwässer auf entsprechende ARGs untersucht und die Ergebnisse mit den Carbapenemase-produzierenden Enterobakterien der Patienten verglichen. Bei einem Teil der untersuchten Carbapenemase-Gene (*bla*NDM, *bla*OXA-48-like und *bla*KPC) gab es eine Übereinstimmung zwischen den Genniveaus und der Häufigkeit der entsprechenden Erreger in Abwässern. Für andere Gene (*bla*VIM und *bla*IMP) gab es keine Übereinstimmung. Die Autoren erklären dies mit dem Vorhandensein solcher Gene in Nicht-Enterobakterien, die in Abwasserproben zu finden sind. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass Analysen von Krankenhausabwasser an Grenzen kommen, wenn es um eine Frühwarnung vor seltenen Formen der Resistenz geht (Flach et al., 2021). Kraupner et al. (2021) fanden in Laborversuchen sogar Hinweise darauf, dass Krankenhausabwasser auf Resistenzeigenschaften selektiert.

Die Freisetzung von unbehandeltem Krankenhausabwasser hat also das Potential, die Prävalenz von Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen in Gewässern zu erhöhen. Es wurde gezeigt, dass Antibiotika-resistente Bakterien im Krankenhausabwasser, in der dazugehörigen Kläranlage und bis in die Einleitung in das Oberflächengewässer nachweisbar waren. Das Risikopotenzial von Krankenhausabwasser wird zusätzlich durch die Tatsache erhöht, dass Krankenhäuser häufiger *Last-Resort*-Antibiotika (z. B. Piperacillin und Vancomycin) verwenden und daher ihre Resistenz-

Profile im Vergleich zu anderen Abwässern anders sein könnten (Kümmerer und Henninger, 2003).

Paulus et al. (2019) untersuchten die Auswirkung und Effizienz verschiedener dezentraler Vor-Ort-Behandlungen im Vergleich zur zentralen Behandlung von kommunalem Abwasser. Die Autoren erklären, dass die Behandlung vor Ort effizienter bei der Reduzierung der Konzentrationen von antibiotisch wirkenden Substanzen und Resistenzgenen als die Behandlung in kommunalen Kläranlagen ist. Die Behandlung von Krankenhausabwasser vor Ort reduzierte die Belastung der Zuflüsse der kommunalen Kläranlagen mit Krankenhaus-bürtigen Schadstoffen. Alternativ beschreiben die Autoren eine mögliche Aufrüstung bestehender Kläranlagen mit fortschrittlicheren Behandlungstechnologien, die die Vorteile der Vor-Ort-Abwasserbehandlung von Punktquellen mit hohem Risiko nachahmen. Eine Reduktion der krankenhausbefindlichen Schadstoffe kann HGT-Ereignisse weiter vermindern, da potentielle Quellen für selektiven Druck vermindert werden (Paulus et al., 2019). Dies ist insbesondere für *Last-Resort*-Antibiotika, die häufig in Krankenhäusern der Maximalversorgung verwendet werden wichtig. Dazu müssen gesetzliche Vorgaben und Anforderungen formuliert werden, um Anreize zu schaffen und die praktische Umsetzung der Vor-Ort-Abwasserbehandlung zu erhöhen (Paulus et al., 2019).

6.2.2 Reduktion Antibiotika-resistenter Bakterien in Kläranlagen

Die in dieser Studie untersuchten Kläranlagen sind alle konventionell mit den klassischen drei Reinigungsstufen (Mechanisch: Rechen, Sandfang, Vorklärung; Biologisch: Belebungsbecken; Chemisch: Oxidation, Fällung). Für alle untersuchten Resistenzparameter konnten innerhalb der untersuchten Kläranlagen Reduktionsraten von 3- 4 Log₁₀ festgestellt werden. Für den Parameter *P. aeruginosa* 3GCR konnte keine Reduktion berechnet werden, da dieser in den meisten Proben nicht nachweisbar war. Die Konzentrationen im Ablauf der Kläranlagen sind für die Parameter in den beiden betrachteten Untersuchungsgebieten sehr ähnlich. Für den Parameter ESBL-produzierende *E. coli* waren es im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet 46 KBE/100 mL (Median) und in den meisten kommunalen Kläranlagen 32-50 KBE/100 mL im jeweiligen Median. Der Parameter ESBL-produzierende KEC ist in einer noch kleineren Mediankonzentration zu finden, mit 3-15 KBE/100 mL in beiden Untersuchungsgebieten. Der Parameter *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR konnte in den Kläranlagenabläufen in Mediankonzentrationen von 3-73 KBE/100 mL nachgewiesen

werden. Der Ablauf der Kläranlage Miel hat unter allen untersuchten hygienisch-mikrobiologischen Parametern die höchsten Konzentrationen an Antibiotika-resistenten Bakterien und unterscheidet sich von den anderen Kläranlagen um eine Log_{10} -Stufe bei der Reduktionsrate, da die Zulaufkonzentrationen gleich sind.

Studien stimmen im Allgemeinen darin überein, dass die konventionelle Abwasserbehandlung zwar die Konzentration von Bakterien im Wasser reduziert, aber den relativen Anteil resistenter Bakterien nicht nennenswert verringert (Amador et al., 2015; Blaak et al., 2015; Korzeniewska et al., 2013). Die Aufbereitungsprozesse in der Kläranlage reduzieren die Anzahl der Antibiotika-resistenten Bakterien um den gleichen Faktor wie nicht Antibiotika-resistente Bakterien. Die Prävalenz von Antibiotika-resistenten Bakterien im Ablauf von Kläranlagen deuten darauf hin, dass Abwasserbehandlungsprozesse, einschließlich einiger zweistufigen und dreistufigen Behandlungs- und Desinfektionsprozesse, Antibiotika-resistente Bakterien und Resistenzgene nicht vollständig eliminieren und dass überlebende Bakterien ihre Resistenzeigenschaften beibehalten (Cacace et al., 2019; Hembach et al., 2017; Hiller et al., 2019; LaPara et al., 2011; Mao et al., 2015; Pruden et al., 2013). In einer schwedischen Kläranlage konnte keine Selektion von Resistenzgenen durch Antibiotika im Abwasser festgestellt werden (Bengtsson-Palme and Larsson, 2016). Verschiebungen im Auftreten von Resistenzgenen wurden in Kläranlagenstufen beobachtet (Lee et al., 2017; Stachurová et al., 2021), während im Abwasser und im geklärten Abwasser im Vergleich zum Belebtschlamm ein höheres Auftreten von Pathogenen und Resistenzgenen festgestellt wurde (Quintela-Baluja et al., 2019; Tong et al., 2019).

In einer niederländischen Studie verringerten konventionelle Kläranlagenbehandlungen die Gesamtkeimbelastung von Resistenzdeterminanten signifikant, erhöhten aber die relative Häufigkeit von Resistenzgenen nicht (Pallares-Vega et al., 2019). Das Überleben von ESBL-produzierenden *E. coli*-Stämmen nach einem zweistufigen Abwasserbehandlungsprozess in einer Kläranlage wurde in einer irischen Studie beobachtet (Galvin et al., 2010). Umgekehrt führte die zweistufige Abwasserbehandlung in einer Kläranlage mit Sedimentation, biologischem Abbau der Inhaltsstoffe und Abwasserreinigung in einer französischen Studie zu einer Gesamtentlastung der *E. coli*-Belastung von 98 %, gleichzeitig aber auch zu einer Anreicherung von ESBL-produzierenden *E. coli* Konzentrationen (Bréchet et al., 2014).

Die in konventionellen Kläranlagen eingesetzten Behandlungsprozesse sind nicht auf die gezielte Entfernung von Antibiotika-resistenten Bakterien oder Resistenzgenen

eingestellt. Primäre und sekundäre Abwasserreinigungsprozesse können Pharmazeutika, einschließlich Antibiotika, nur teilweise entfernen (Rodriguez-Mozaz et al., 2015). Bréchet et al. (2014) ermittelten in Ihrer Studie, dass die Behandlung durch die Kläranlage die gesamte *E. coli* und ESBL-produzierende *E. coli* Population um 98 % bzw. 94 % eliminierten.

In einer Studie in Wisconsin wurde zweistufig behandeltes Abwasser aus sieben Kläranlagen auf 21 Antibiotika getestet. Sechs der getesteten Antibiotika (Sulfamethazin, Sulfamethoxazol, Tetracyclin, Ciprofloxacin, Erythromycin und Trimethoprim) wurden in behandelten Abwasserproben (1 bis 5 pro Standort) aus diesen Anlagen nachgewiesen (Karthikeyan and Meyer, 2006). Die Autoren beobachteten, dass die Größe der Kläranlage keinen Einfluss auf das Vorhandensein von Antibiotika in Abwasserproben hatte: Nachweisbare Konzentrationen von Antibiotika waren in Proben von Kläranlagen unterschiedlicher Größe vorhanden. Einige Studien beschreiben einen relativen Anstieg von Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen im behandelten Abwasser im Vergleich zum unbehandelten Abwasser (Gupta et al., 2018; Mao et al., 2015; Rizzo et al., 2013). Mao et al. (2015) fanden heraus, dass die Prävalenz von 12 verschiedenen Resistenzgenen im sekundär behandelten Abwasser höher war als im Zulauf. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist, dass im Zulauf vorhandene antimikrobielle Substanzen und Rückstände die Selektion von Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen fördern können, die nach Anwendung von Verfahren zur Entfernung von Bakterien im Abwasser vorhanden bleiben. Die Autoren geben an, dass Selektionsdruck und Resistenzgen-Vermehrung in Kläranlagen reduziert werden können, indem die Freisetzung von Antibiotika und Schwermetallen in Abwassersysteme verringert wird und Technologien in der Abwasseraufbereitung verbessert werden.

Die geringe Nachweishäufigkeit von Doxycyclin und Tetracyclin konnte durch die Bildung von Chelatkomplexen mit Calcium- oder Magnesiumionen und die Sorption an organische Substanzen erklärt werden, wobei derart gebundene Tetracycline analytisch getarnt sind und in der wässrigen Phase nicht nachgewiesen werden konnten (Christian et al., 2003; Kümmerer, 2009; Lindsey et al., 2001). Zudem konnte Tetracyclin nur im unbehandelten Abwasser nachgewiesen werden. Eine weitere Erklärung ist das Fehlen von Intensivtierhaltungen und Schlachthöfen im Untersuchungsgebiet, da Tetracycline, insbesondere Chlortetracyclin und Doxycyclin, überwiegend in der Veterinärmedizin eingesetzt werden (Bundesamt für Verbraucher-

schutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016; Wallmann et al., 2016). Darüber hinaus wurden im Probenahmezeitraum keine klassischen veterinärmedizinischen Antibiotika wie Enrofloxacin, Spiramycin, Chlortetracyclin oder Tylosin, nachgewiesen. Somit bestätigen diese Ergebnisse, dass das Untersuchungsgebiet als überwiegend von humanmedizinischen Gesundheitseinrichtungen beeinflusst angesehen werden kann (Voigt, Zacharias et al., 2020). Dies belegt den Beitrag von Abwasser und Kläranlagen-Einleitungen zum Vorkommen von Antibiotika-resistenten Bakterien in Oberflächengewässern. Obwohl die üblicherweise in Kläranlagen eingesetzten Prozesse dazu geeignet sind, pathogene Bakterien und damit verbundene fäkale Indikator Bakterien (FIB) zu reduzieren, zu entfernen oder zu inaktivieren, zeigen die in Kapitel 4.1.1 dargestellten Ergebnisse ebenso wie internationale Literatur, dass Antibiotika-resistente Bakterien und Resistenzgene im geklärten Abwasser nachgewiesen werden können (Amarasiri et al., 2020; Mao et al., 2015; Rizzo et al., 2013; Schreiber, 2019; Voigt, Zacharias et al., 2020).

6.2.3 Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen von antibiotisch wirkenden Substanzen und Antibiotika-resistenten Bakterien im Abwasser

Als antibiotisch wirkende Substanzen, die mit dem Vorhandensein von spezifischen Antibiotika-resistenten Bakterien identifiziert werden konnten und eine klinische Plausibilität aufweisen, zählen in der Abwassermatrix Ciprofloxacin, Ceftazidim und Meropenem.

Signifikante Beziehungen zwischen den Antibiotika in Verbindung mit *P. aeruginosa* 3GCR und ESBL-produzierenden KEC konnten belegt werden. Die Streudiagramme dieser Beziehungen zeigten einen signifikanten Einfluss des klinischen Abwassers, die innerhalb der Kanalisation durch Fließzeit und Verdünnung abnahmen, bis das Abwasser den Kläranlagenzulauf erreichte. Im Gegensatz dazu konnte im Abwasser des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes keine spezifische Clusterbildung beobachtet werden, sondern nur die erwartete Unterscheidung zwischen den Zu- und Abläufen der kommunalen Kläranlagen. Für die spezifische Kombination zwischen Bakterien, die als 3MRGN oder 4MRGN klassifiziert wurden, und Ciprofloxacin ergaben sich ähnliche Cluster. Somit scheint das klinische Abwasser vor allem ein Reservoir für multiresistente Carbapenemase-Produzenten zu sein, 3MRGN-Bakterien konnten, wenn auch selten, sogar im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet nachgewiesen werden.

In dem ersten Schritt der statistischen Analysen wurden 7 verschiedene Bakterienarten einbezogen. Davon konnten vier mit einer signifikant positiven Assoziation zum Auftreten von mindestens einem gemessenen Antibiotikum gesehen werden. Wenn die Nicht-Biofilmbildner ausgeschlossen werden, bleiben noch die Vertreter der KEC und *P. aeruginosa* 3GCR. Dies wurde basierend auf der Hypothese durchgeführt, dass diese Biofilm-bildende Bakterien in der Lage sind, sich innerhalb des Abwassersystems zu vermehren und damit die Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen auf andere Erreger zu propagieren. Das Biofilme ein Reservoir für die Persistenz von Antibiotika-resistenten Bakterien und insbesondere von multiresistenten *P. aeruginosa*-Stämmen darstellen, wurde bereits gezeigt (Ory et al., 2019; Sib et al., 2019). Trotz der Annahme, dass *P. aeruginosa* 3GCR aufgrund seiner Fähigkeit, Biofilme zu bilden und sich zu vermehren, im gesamten Abwasser-System vorkommt, zeigte diese Studie, dass *P. aeruginosa* 3GCR nur in der Umgebung des untersuchten Krankenhauses vorhanden war. Frühere Studien haben zudem gezeigt, dass diese Bakterien in den Biofilmen des klinischen Abwassernetzes sowie in Duschabflussrohren, Toiletten und Waschbecken von Patientenzimmern vorhanden sind (Müller et al., 2020; Ory et al., 2019; Sib et al., 2019). So scheinen Stagnationszonen von Waschbecken, ein höheres Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis von Abwasserrohren in Gebäuden und die geringere Fließgeschwindigkeit der Abwasser-Installation innerhalb eines Gebäudes im Vergleich zum angeschlossenen Abwasser-Kanalsystem die Biofilmbildung und Persistenz von MRO zu fördern.

Die in Kapitel 5.1.1 für Ciprofloxacin-resistente *P. aeruginosa* 3GCR und ESBL-produzierende KEC mit Ciprofloxacin-Rückständen gezeigte Clusterbildung hängt wahrscheinlich mit der hohen Menge an Fluorchinolon-Rückständen zusammen, die durch die Abtrennung von Klärschlamm entfernt werden, da sie absorbiert werden können. Dies steht im Einklang mit früheren Publikationen, die weniger Fluorchinolonrückstände im Klärschlammabfluss als im jeweiligen Kläranlagenzulauf fanden (Golet et al., 2003; Kümmerer, 2003; Lindberg et al., 2004).

Meropenem gilt als ein Reserve-Antibiotikum zur Behandlung schwerer Infektionen mit Gram-negativen Bakterien (z.B. Sepsis) (Harris et al., 2015). Die Verschreibungspraxis spiegelt die identifizierten Cluster (Abbildung 33) wider, und es ist möglich, zwischen UG (2) und US (1) in Bezug auf seinen Meropenem-Gehalt zu unterscheiden. Dieser Trend eines signifikanten Einflusses des klinischen Abwassers kann durch die hohe Zahl an Applikationen dieser Antibiotika im Allgemeinen und in Be-

zug auf die hier untersuchte Klinik (Maximalversorgung) erklärt werden. Darüber hinaus sind Fluorchinolone die am vierthäufigsten verschriebene Klasse von Antibiotika (nach β -Lactamen, Makroliden und Tetracyclinen), basierend auf der Verschreibungsmenge in Deutschland (Schwabe and Paffrath, 2016). Des Weiteren betrug das Gesamtverschreibungsvolumen von Ciprofloxacin im Jahr 2015 in Deutschland etwa 9,5 Millionen DDD (definierte Tagesdosen) (Schwabe and Paffrath, 2016), während Ciprofloxacin zu den Top 3 der in deutschen Krankenhäusern am häufigsten verschriebenen Antibiotika gehört (8,2% der insgesamt stationär applizierten Antibiotika) (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016). Das untersuchte Krankenhaus der Maximalversorgung setzte auch signifikante Mengen von Ciprofloxacin sowie Meropenem und Ceftazidim ein (Voigt et al., 2019). Interessanterweise ist Meropenem als Antibiotikum mit höchster Bedeutung für die menschliche Gesundheit charakterisiert (WHO, 2017) und das Verschreibungsvolumen von Carbapenemen stieg in Deutschland signifikant von 76 auf 216 DDD/1000 Patiententage an (Meyer et al., 2013).

Voigt, Zacharias et al. (2020) konnten eine signifikante Korrelation zwischen Meropenem und dem jeweiligen Resistenzgen *blaVIM2*, *blaOXA48* und *blaNDM* zeigen und auch die Streudiagramme zeigen einen Schwerpunkt auf klinischem Abwasser. Dies kann durch das Vorhandensein von Patienten verursacht werden, die mit Meropenem behandelt werden oder mit Carbapenemase-produzierenden Bakterien in Krankenhäusern kolonisiert sind.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass antibiotisch wirksame Substanzen, Antibiotika-resistente Bakterien und Resistenzgene insbesondere im klinischen Abwasser in hohen Konzentrationen vorhanden sind und insofern die weitere Entwicklung und Ausbreitung von Antibiotikaresistenzen gefördert wird. Dementsprechend sollte die dezentrale Behandlung von Krankenhausabwässern als Alternative zu einer generellen Aufrüstung aller Kläranlagen mit modernen Technologien diskutiert werden. Hohe Konzentrationen von Ciprofloxacin und/oder Meropenem können als Indiz für das Vorhandensein von MRO gelten und als Surrogatsignal verwendet werden, um nachfolgende hygienisch-mikrobiologische Analysen auszulösen.

Eine abwasserbasierte Epidemiologie zur Überwachung von Krankheiten ist aus aktuellem Anlass intensiv in der wissenschaftlichen Diskussion vertreten. In der SARS-CoV-2 Pandemie (seit 2020) wurde das Abwasser für die Überwachung der öffentlichen Gesundheit wiederentdeckt (z.B. Medema et al., 2020). Die abwasserba-

sierte Epidemiologie ist geeignet, da sie schnell und nicht-invasiv bevölkerungsbezogene Informationen über menschliche Krankheiten und den anthropogenen Einsatz von Chemikalien liefert (Sims and Kasprzyk-Hordern, 2020).

Riquelme et al. (2021) untersuchten mittels eines Metagenomik-basierten Ansatzes die globale Überwachung von Antibiotikaresistenzen in Abwässern, der eine Bewertung von der Art der Resistenzgene, die über Regionen/Gemeinschaften hinweg geteilt werden bzw. welche Resistenzgene diskriminierend werden; und beschreiben Faktoren, die mit allgemeinen Trends einschließlich Antibiotika-Konzentrationen im Abwasser verbunden sind. Die Autoren fanden heraus, dass die relativen Resistenzgen-Häufigkeiten in Hongkong und Indien am höchsten und in Schweden und der Schweiz am niedrigsten waren. Dies spiegelt die nationalen Politiken wider, die auch in den gemessenen AB-Konzentrationen zum Ausdruck kommt. Die Verkaufsdaten waren allerdings nicht prädiktiv für die im Abwasser gemessenen Antibiotika, was die Notwendigkeit direkter Messungen von antibiotisch wirkenden Substanzen in der Abwassermatrix unterstreicht.

6.2.4 Resistente Bakterien und antibiotisch wirkende Substanzen in Oberflächengewässern

Obwohl zwei- und dreistufige Kläranlagen die bakterielle Belastung erheblich verringern und Bakterien und Antibiotika-resistente Bakterien typischerweise um das 10- bis über 1.000-fache reduzieren (Bréchet et al., 2014; Jäger et al., 2018; Kistemann et al., 2008), entfernen solche Behandlungsprozesse nicht alle resistenten Bakterien (Voigt, Zacharias et al., 2020).

In Kapitel 4.1.1 und 5.1 konnte gezeigt werden, dass behandeltes Kläranlagenabwasser eine Punktquelle für Antibiotika-resistente Bakterien in die Umwelt darstellen kann (Voigt, Zacharias et al., 2020). Andere Studien haben die Herkunft von Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen in Oberflächenwasserproben zu nahe gelegenen Kläranlagen zurückverfolgt (Cacace et al., 2019; Czekalski et al., 2012; LaPara et al., 2011).

In Kapitel 4.1.5, 4.2.4 und 5.2 konnte gezeigt werden, dass antibiotisch wirkende Substanzen im gereinigten Abwasser und in Abwasser-beeinflussten Abschnitten von Oberflächengewässern nachgewiesen werden können (dazu auch Voigt, Zacharias et al., 2020). Der Verbleib von Antibiotika-resistenten Bakterien und die potenziellen Risiken, die mit ihrer Freisetzung in die Umwelt verbunden sind, hängen stark von der

Art und dem Fortschritt der Abwasserbehandlung ab. Unabhängig von der Behandlung gelangen Antibiotika-resistente Bakterien in Abwässern jedoch häufig in Oberflächengewässer, die potenziell Auswirkungen auf flussabwärts gelegene Wassernutzungen haben können.

Im klinisch-urbanen Einzugsgebiet ist der Anteil der positiven Nachweise im Unterstrom der Einleitung der Kläranlage höher. Auch die Maximal- und Medianwerte zeigen den Einfluss der Kläranlage, auch wenn die Konzentrationen, bis auf die Ausnahme *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR, an der PNS RU nur leicht erhöht waren. Der Anteil der positiven Proben an den Gesamtproben ist vergleichbar in beiden Untersuchungsgebieten, die Maximalwerte sind jedoch im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet deutlich erhöht. Dies ist nicht überraschend, denn die Auswertung des Abwasseranteiles der Swist an der Probenahmestelle GM hat gezeigt, dass das Fließgewässer Swist je nach Wetterlage zu 100 % aus geklärtem Abwasser besteht. In den in Kapitel 5.2.1 dargestellten Streudiagrammen (Abbildung 37) zeigen dass die Probenahmestellen RO und RU des klinisch-urbanen Untersuchungsgebietes ein eigenes Cluster innerhalb der Obeflächengewässer-PNS bilden und sie sich von den Oberflächengewässer-PNS des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebietes deutlich abgrenzen. Die niedrig detektierten Konzentrationen an Antibiotika-resistenten Bakterien und antibiotisch wirkenden Substanzen, zeigt, dass die Einleitung der Kläranlagen, bezogen auf die genannten Parameter, nur einen kleinen Einfluss auf die Wasserqualität hat.

Der Nachweis von Antibiotika-resistenten Bakterien an der Probenahmestelle EB im Oberlauf des Gewässers könnte auf die Verbreitung durch Wildtiere hindeuten. McCann et al. (2019) fanden heraus, dass Konzentrationen an klinisch relevanten Resistenzgenen (z. B. blaNDM-1) in der Nähe von Vogel-, Rentier- und Polarfuchswasserstellen erhöht waren. Im Allgemeinen könnten die Aktivitäten von Wildtieren und die damit verbundenen Fäkalien das Auftreten von Antibiotika-resistenten Bakterien fast überall erklären, auch an Orten, an denen antimikrobiellen Mittel, welche für Menschen oder für Nutztiere verwendet werden und kein Einfluss durch Abwassereinleitungen besteht (McCann et al., 2019).

Interessanterweise konnte Trimethoprim, das normalerweise als Synergist in Kombination mit Sulfamethoxazol verschrieben wird, nur sporadisch im klinisch-urbanen Untersuchungsgebiet nachgewiesen werden. Dies könnte auf die geringere

vorgeschriebene Menge an Trimethoprim in der Kombination Cotrimoxazol® (5:1, Sulfamethoxazol:Trimethoprim) zurückzuführen sein (Church et al., 2015).

Die am häufigsten nachgewiesenen Antibiotika im ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiet gehören zu den überwiegend oral verordneten Antibiotika, die in der ambulanten Behandlung eingesetzt werden (z. B. Azithromycin, Erythromycin, Clarithromycin, Clindamycin und Sulfamethoxazol in Kombination mit dem Synergisten Trimethoprim). Linezolid sowie Rückstände von in der Intensivtierhaltung eingesetzten Antibiotika konnten nicht nachgewiesen werden.

Das Vorkommen von Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen in Oberflächengewässern ist gut belegt (u.a. Czekalski et al., 2012; Ghosh et al., 1991; Leonard et al., 2018; Santiago-Rodriguez et al., 2013; Schwartz et al., 2003; Sokari et al., 1988). Direkte Vergleiche zwischen diesen Studien sind jedoch nicht ohne weiteres möglich, da die räumliche Situation (Landnutzung, Topographie, Gewässernetz, Bevölkerungsdichte etc), die ausgewählten Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgene, die Quellen der fäkalen Belastungen und die Methoden zur Bestimmung der Resistenz zwischen den Studien sehr unterschiedlich sind (Ben et al., 2019).

Sowohl punktuelle als auch nicht punktuelle Quellen fäkaler Verunreinigung und sogar natürlich vorkommende Bakterien sind potenzielle Ursprünge von Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen in Oberflächengewässern (Boczek et al., 2007; Bueno et al., 2018; Chang et al., 2015; Martinez, 2009).

Antibiotikaresistenz bzw. Resistenzgene sind intrinsische mikrobielle Eigenschaften, die lange vor der Verwendung des ersten Antibiotikums durch den Menschen existierten (Pepper et al., 2018). Deshalb können Antibiotika-resistente Bakterien und Resistenzgene auch in unberührten Umgebungen gefunden werden, die als unbeeinflusst von anthropogenen Aktivitäten gelten (Diaz et al., 2017). Ein breites Spektrum an Antibiotika wird auf natürliche Weise von Mikroorganismen im Boden und im Wasser produziert (Kümmerer, 2009; Pepper et al., 2018). Mikroorganismen nutzen natürliche Antibiotika als Methode der Selbstverteidigung gegen konkurrierende Mikroorganismen oder zur Signalsendung. Dies wird durch Umweltbelastungen beeinflusst und durch genetische Mechanismen aufrechterhalten (Martinez, 2009). Resistenzen gegen vom Menschen produzierte Antibiotika sind ebenfalls weit verbreitet (Siehe dazu Kapitel 1.2.3 und 1.2.4). Grund dafür ist der große Einsatz von Antibiotika in den letzten Jahrzehnten. Dadurch wurden Millionen Tonnen von Antibiotika und Antibiotika-resistente Bakterien direkt oder indirekt in die Umwelt freigesetzt (Davies und

Davies, 2010; Kümmerer, 2009; Voigt, Zacharias et al., 2020, Voigt et al. 2019). Eine Studie in Bangladesch zeigte, dass die Nähe zu Krankenhäusern mit höheren Konzentrationen an Antibiotika-resistenten Bakterien in Oberflächengewässern verbunden war, was darauf hindeutet, dass die Antibiotika-Abgabe aus den Krankenhäusern einen Effekt auf die Häufigkeit von Antibiotika-resistenten Bakterien hat, der mit der Entfernung abnimmt (Islam et al., 2017).

Neben Kläranlagen-Einleitungen in die Gewässer ist ein großer Anteil der Belastung auf Mischwasserentlastungen im Falle von Starkregenereignissen zurückzuführen (Gasperi et al., 2012; Schreiber et al., 2016). Studien zeigen, dass Mischwasser-Schadstofffrachten für viele Stoffe ähnliche Größenordnungen pro Jahr wie die Emissionen aus Kläranlagen haben oder sogar höher sind.

Der Eintragspfad Gülle wurde von Fahrenfeld et al. (2014) beschrieben, indem aufgezeigt wurde, dass es einen signifikanten Anstieg der Kopienzahlen von Resistenzgenen (*sul1*, *sul2* und *ermF*) im Boden nach der Ausbringung von Gülle gibt und dass die Werte innerhalb von zwei Monaten wieder auf ein Hintergrundniveau zurückgehen. Für antibiotisch wirkende Substanzen konnten als Halbwertszeiten in Gülle je nach Stoffklasse unterschiedliche Werte festgestellt werden. Für β -Laktame lag die Halbwertszeit bei sechs Tagen, für Tetracycline und Sulfonamide in Gülle bis zu 100 Tagen (Chee-Sanford et al., 2009). Die lange Persistenz der Substanzen in der Umwelt kann zur Entwicklung der Resistenzen in der Umwelt beitragen. Die Verbreitung über das Abwasser an expositionsrelevante Stellen wird vermutet. Ein wirksamer Angriffspunkt für Interventionen liegt an Abwassersammelstellen und Kläranlagen. Es hat sich gezeigt, dass die Konzentrationen von Antibiotika-resistenten Bakterien durch fortschrittliche Abwasserbehandlungsverfahren wie Ozon, UV, Ultrafiltration und Chlorierung, die derzeit nicht Bestandteil der etablierten Standardverfahren zur Abwasserbehandlung sind, reduziert werden können (Hiller et al., 2019; Kirchner et al., 2020). Membran-Bioreaktor-Prozesse sind ebenfalls sehr effektiv bei der Reduzierung der Bakterienzahl (Krüger, 2000) und könnten sich bei der Verringerung von Antibiotika-resistenten Bakterien als nützlich erweisen.

Eine an archivierten Bodenproben in Dänemark durchgeführte Studie von Feldern, die über 100 Jahre lang entweder nur mit Gülle oder nur mit anorganischem Dünger behandelt wurden, zeigte, dass gegüllte Felder signifikant höhere Konzentrationen von Resistenzgenen mit erweitertem ESBL-Spektrum aufwiesen (Zhang et al., 2017). Es konnte festgestellt werden, dass das Auftreten spezifischer Resistenzgene in

Güllefeldern fast gleichzeitig mit dem Auftreten in Krankenhäusern war. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine speziesübergreifende Ausbreitung zwischen Rindern (möglicherweise über den Boden) und der menschlichen Population stattfand.

Bislang gibt es weder Richtlinien für die Umweltüberwachung von Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen noch Grenzwerte für das Vorkommen von diesen in Abwasser oder Oberflächengewässern. Coliforme Bakterien als Indikatoren für die Beurteilung der Resistenzsituation in Abwasserbehandlungsanlagen und Gewässern wurden in verschiedenen Studien betrachtet (Iwane et al., 2001; Kelsey et al., 2003; Kümmerer et al., 2002; Reinthaler et al., 2003); diese kommen aber zu keinem abschließenden Ergebnis. In den letzten Jahren wurde die Forschung zu dem Thema Antibiotikaresistenzen in der Umwelt stark intensiviert und eine Vielzahl an Studien wurden durchgeführt. Die aquatische Umwelt ist generell als "Schmelztiegel" (engl. *Melting Pot*) für Antibiotika-resistente Bakterien zu betrachten, da dort Antibiotika, Antibiotika-resistente Bakterien und Resistenzgene vorhanden sind (Baquero et al., 2008; Bengtsson-Palme and Larsson, 2016; Feuerpfeil et al., 1999; Jutkina et al., 2018; Voigt, Zacharias et al., 2020). Das Umweltbundesamt (UBA) stellte fest, dass "eine Datensammlung zum Vorkommen von Antibiotika-resistenten Bakterien in Bezug auf verschiedene Sektoren, einschließlich der Produktionsanlagen für Antibiotika, für Deutschland noch nicht existiert" und dass "eine Übersicht über die Verbreitung von Antibiotika-resistenten Bakterien in Oberflächengewässern in Deutschland derzeit nicht verfügbar ist" (Adler et al., 2018).

Für ausgewählte Gewässertypen und Nutzungen werden spezifische Bakterien überwacht. Die EU-Badegewässerrichtlinie 2006/7/EG (EU, 2006) als auch die europäische Trinkwasserrichtlinie 2020/2184/EG (EU, 2020b) fordern die Überwachung von *E. coli* und intestinalen Enterokokken. Coliforme Bakterien sind in der Trinkwasserüberwachung als Indikatoren definiert und *P. aeruginosa* muss nur überwacht werden, wenn Trinkwasser in Flaschen oder Behältern zum Verkauf angeboten wird (EU, 2020b). Die Überarbeitung der zuvor geltenden EU- Trinkwasserrichtlinie wurde durchgeführt, um mikrobielle Indikatoren und Parameter neu zu organisieren und einige weitere Arten, z. B. Virusindikatoren, hinzuzufügen, beinhaltet jedoch keine Überwachung von Antibiotika-resistenten Bakterien. Überarbeitungen der anderen Richtlinien, die Wassertypen betreffen, sind noch nicht verfügbar. In der Allgemeinen Güteanforderung für Fließgewässer (AGA, 1991) sowie in DIN 19650 „Bewässerungswasser – Hygienische Belange von Bewässerungswasser“ (DIN

19650:1999) sind mikrobiologische Grenzwerte für die Nutzung von Wasser für landwirtschaftliche Bewässerungszwecke festgelegt, allerdings ebenfalls nur für Indikatororganismen wie *E. coli* ohne die Unterscheidung deren Resistenz-Eigenschaften. Auch in der kürzlich erschienenen ISO 16075-5 „*Guidelines for treated wastewater use for irrigation projects — Part 5: Treated wastewater disinfection and equivalent treatments*“ (ISO 16075-5:2021) werden hygienisch-mikrobiologische Parameter unabhängig von ihrer Resistenz betrachtet. Ein Screening auf Antibiotika-resistente Bakterien in der Umwelt ist derzeit nicht vorgeschrieben. Für die weitergehende hygienisch-mikrobiologische Analyse von Umweltwasserproben auf Antibiotika-resistente Bakterien fehlt daher bis heute eine normative Standardarbeitsanweisung (SOP) (Oh et al., 2009). Eine systematische Übersicht über die Wasserbelastung mit diesen Parametern ist nicht verfügbar. Obwohl die Verbreitung von multiresistenten Bakterien in Oberflächengewässern inzwischen als ein großes Problem der öffentlichen Gesundheit anerkannt ist, das seit mehr als einem Jahrzehnt zunimmt (Baquero et al., 2008; Schwartz et al., 2003). Zwar liegt die Kontamination mit Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen von aufbereitetem Leitungswasser in europäischen Ländern derzeit auf einem sehr niedrigen Niveau (Bergeron et al., 2015; Sanganyado and Gwenzi, 2019). Aber die zunehmende Verbreitung von Antibiotika-resistenten Bakterien in der aquatischen Umwelt stellt ein zukünftiges Risiko für das Trinkwasser aufgrund von kontaminiertem Quellwasser dar. Zur Verifizierung sind eine objektive Trendanalyse der Antibiotika-resistenten Bakterien - bzw. Resistenzgen-Verbreitung und ein raumbezogener Vergleich erforderlich, der auf vergleichbaren Daten unter Verwendung identischer Analysemethoden beruht.

In einem ersten Schritt haben Forschende des HyReKA-Projekts den von Schreiber, Zacharias et al. (2021) beschriebenen Ansatz konsequent und einheitlich für die Untersuchungen von Antibiotika-resistenten Bakterien in verschiedenen Gewässertypen und Probenahmestellen in ganz Deutschland verwendet (Exner et al., 2018; Hembach et al., 2017; Jäger et al., 2018; Müller et al., 2020, 2018; Sib et al., 2020; Stange and Thiem, 2015; Voigt, Zacharias et al., 2020; Zacharias, Essert et al., 2020). Untersuchungen innerhalb der Bundesländer Nordrhein-Westfalen, Niedersachsen und Bayern wurden mit dem gleichen Ansatz durchgeführt (Döhla et al., 2020; Valenza et al., n.d.; Vietoris et al., 2019). Damit ist ein erster wichtiger Schritt zur Standardisierung der Analyse von Antibiotika-resistenten Bakterien getan. Die Definition einer historischen deutschlandweiten Baseline der Verteilung von Antibiotika-resistenten

Bakterien in der aquatischen Umwelt ermöglicht hierbei eine Trendanalyse in der Zukunft.

6.2.5 Rückhalt Antibiotika-resistenter Bakterien und antibiotisch wirkender Substanzen durch Retentionsbodenfilter

Im Gegensatz zu kontinuierlichen Kläranlagenabflüssen treten Mischwasserentlastungen maximal einige Dutzend Mal pro Jahr auf. Sie haben eine viel geringere Wasserqualität als regulär behandeltes Abwasser, vergleichbar mit rein mechanisch behandeltem häuslichem Abwasser. Mischwasser besteht sowohl aus Abwasser als auch aus dem Abflusswasser von versiegelten Flächen. Die mikrobiellen Konzentrationen in Mischwasser können durch den sogenannten *First Flush* des Regenwasserabflusses in Form von Feststoff- und Sediment-Remobilisierung beeinflusst werden (Barco et al., 2008).

Abflussereignisse sind relativ kurz, setzen aber große Wassermengen und erhebliche Schadstofffrachten frei. Das bedeutet, dass nicht nur Kohlenstoff- und Nährstoffverbindungen unbehandelt in Oberflächengewässer gelangen, sondern auch Mikroverunreinigungen, Schwermetalle und Krankheitserreger (Schreiber et al., 2016; Tondera et al., 2019, 2013). Folglich zeigt das Gewässermonitoring einen deutlichen Anstieg der Konzentrationen von Mikroorganismen in natürlichen Gewässern, die Mischwasser-Einleitungsereignissen ausgesetzt sind (Rechenburg et al., 2006; Rechenburg und Kistemann, 2009) sowie einen Anstieg der Mikroverunreinigungsfrachten (Launay et al., 2016). Balasa et al. (2021) beschreiben, dass bei ihren untersuchten Mischwasserentlastungen 82 % der kultivierten Isolate gegen fünf bis sechs Antibiotika resistent waren und 44 % der Isolate sogar gegen sieben oder mehr Antibiotika.

Es gibt schon seit Jahrzehnten die Idee durch vermehrten Bau von RBFs die Freisetzung von Mikroorganismen bei Mischwasserabschlägen infolge überlasteter Kanalnetze zu verringern (Hagendorf et al., 2002). Die Eignung von RBFs zur Entlastung der stofflichen und mikrobiellen Belastung von Fließgewässern ist eingehend beschrieben (Rizzo et al., 2020; Ruppelt et al., 2018; Tondera et al., 2019; Zacharias, Essert et al., 2020). Der Transport von pathogenen Mikroorganismen wird hauptsächlich physikalisch/mechanisch durch die mechanische Retention aufgrund von entsprechend kleinen Poren und die Adsorption an Bodenpartikel verursacht. Die Retention der Mikroorganismen ist dabei umgekehrt proportional zur Partikelgröße des Bodenmaterials (Bitton and Harvey, 1992).

Über Untersuchungen zur Entfernung von humanpathogenen Bakterien und Antibiotika-resistenten Bakterien (*E. coli*, Enterokokken und Staphylokokken) in Mischwasser durch RBFs wurden von Scheurer et al. (2015) berichtet. Die von ihnen gemessenen Reduktionsleistungen der RBFs lagen zwischen 2 und 3 log-Stufen. Ruppelt et al. (2018) berichteten von ähnlichen Reduktionen für Systeme im Pilotmaßstab zwischen 1 und 2 log-Stufen für fäkale Indikatorbakterien; als Hauptentfernungsmechanismen wirkten Strainingprozesse und Adsorption. Die Reduktionsraten konnten durch eine Reihenschaltung von zwei RBFs mit einer Filtrationsschicht von je 0,75 m nochmals verbessert werden. Eine Studie von Sabri et al. (2021) beschreibt Vorkommen und Entfernung von Antibiotika und Resistenzgenen in zwei vollwertigen RBFs, die mit unterschiedlichen hydraulischen Retentionszeiten betrieben wurden (1 Tag und 3 Tage). Beide wurden mit dem gleichen Abwasser aus einer Kläranlage gespeist. Die Ergebnisse zeigten, dass beide RBFs Antibiotika in hohem Maße entfernten, wobei die Gesamtentfernung je nach Art der Antibiotika zwischen 28 % und 100 % lag. Einige der Antibiotika konnten jedoch nach der RBF-Passage in einer höheren Konzentration nachgewiesen werden. Die Resistenzgene wurden um 0,8 bis 1,5 log aus dem Abwasser entfernt.

Diese Ergebnisse konnten durch die hier dargestellten Untersuchungen am RBF Altendorf im Wesentlichen bestätigt werden. Die Reduktionen über die Medianwerte für die untersuchten Antibiotika-resistenten Bakterien-Parameter waren 1,3 Log₁₀-Stufen für ESBL-produzierende *E. coli*, 2,2 Log₁₀-Stufen für ESBL-produzierende KEC, 1,3 Log₁₀-Stufen *Pseudomonas* spp. 3GCR und 3,1 Log₁₀-Stufen für *Acinetobacter* spp. 3GCR bzw. *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex 3GCR. Die Speziesdiversität ändert sich durch die Passage des RBF nicht und auch der Anteil an multiresistenten Isolaten ist im Zu- und Ablauf sehr ähnlich (Kapitel 4.1.3).

Für die untersuchten Antibiotika konnte festgestellt werden, dass im Ablauf des RBF deutlich geringere Substanz-Konzentrationen nachgewiesen werden konnten als in den Zulaufproben. Substanzen, die vereinzelt in den Ablaufproben nachgewiesen werden konnten, waren auch in der korrespondierenden Zulaufprobe bereits nachweisbar (Clarithromycin, Clindamycin, Sulfamethoxazol und Sulfamethoxazol –N4-Acetyl). Die gemessenen Antibiotika-Konzentrationen sind im Vergleich zu den Konzentrationen im Rohabwasser sehr gering.

Die Reinigungsleistung des RBF Altendorf wurde ausführlich untersucht, einschließlich des Rückhaltevermögens von Mikroschadstoffe und Mikroorganismen.

Mertens et al. (2012) beschrieben den Rückhalt von Diclofenac, Ibuprofen, *E. coli* und somatischen Coliphagen. Die Autoren beschreiben, dass die Anzahl der Positivbefunde sich von Zulauf zu Ablauf bei Diclofenac von 68 % auf 9 % reduzierte. Bei Ibuprofen konnte ein Rückgang der Positivbefunde von 92 % auf 17 % beobachtet werden. Die medianen Konzentrationen nahmen bei Diclofenac von 0,14 µg/L auf unterhalb der Bestimmungsgrenze ab. Auch für Ibuprofen konnte bei einer medianen Konzentration im Zulauf von 0,50 µg/L eine Reduktion auf Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze im Ablauf festgestellt werden. Im Zulauf des RBF Altendorf konnten Maximalkonzentrationen von $9,3 \times 10^6$ MPN/ 100 mL für *E. coli*, $2,42 \times 10^5$ PBE/ 100 mL für Coliphagen und $1,03 \times 10^4$ Giardia-Cysten/ 100 L nachgewiesen werden. Für *E. coli* und somatische Coliphagen konnte eine Reduktionsleistung im Median von je 3,1 Log₁₀-Stufen festgestellt werden. Zacharias, Essert et al. (2020) beschreiben für den RBF Altendorf außerdem eine mediane Reduktion für den Parameter *E. coli* (unabhängig von Resistenz) von 2,7 Log₁₀-Stufen, für den Parameter somatische Coliphagen von 3,2 Log₁₀-Stufen und *Giardia lamblia* von 2,0 Log₁₀-Stufen. Die Autoren beschreiben außerdem einen anderen RBF mit einer etwas schlechteren Reduktionsleistung für die gleichen Parameter bei sehr ähnlichen Zulaufkonzentrationen. Sie kommen zu dem Schluss, dass ein unterschiedlicher Drosselabfluss für die Unterschiede verantwortlich ist und dass das Mischwasser beim RBF Altendorf durch eine längere Aufenthaltszeit im RBF effektiver aufbereitet wird. Einen Einfluss der Aufenthaltszeit und der Reduktionsleistung konnte bei Sabri et al. (2021) nicht nachgewiesen werden, die Autoren unterschieden zwischen 1 Tag und 3 Tagen Aufenthaltszeit.

Die Reduktionsleistung für Mikroorganismen war in Abhängigkeit von der Schichttiefe unterschiedlich. In den meisten Fällen trat die stärkste Reduktion bei 0,1-0,3 m auf (Zacharias, Essert et al., 2020). Waldhoff (2008) gibt an, dass ca. 40 % der Bakterien in den obersten 10 cm eines RBF reduziert werden. Nach Orb (2012) liegt der Wert sogar bei über 50 %. Mit der Zeit bildet sich in dieser Tiefe eine Schicht aus organischem Material, das die Reduktionsleistung beeinflusst. Diese sekundäre Filterschicht von ca. 2 cm wird an der Sand-Wasser-Grenzfläche durch Schwebstoffe im Wasser und abgestorbenes Pflanzengewebe gebildet. Die sich anschließende obere, biologisch aktive Filterschicht (3-5 cm) entsteht je nach Filterkörnung und -geschwindigkeit (Orb, 2012). Ein vermuteter Mechanismus, der diesem Effekt zugrunde liegt, könnte die erhöhte Adsorption durch das Biofilmwachstum sein (Waldhoff, 2008). Orb (2012) erklärt den hohen mikrobiellen Rückhalt in der sekundären Filterschicht und

der oberen, biologisch aktiven Schicht durch eine geringere Siebung der Porenkanäle und den hohen organischen Anteil (ca. 90 %), da beides die bakterielle Adhäsion erhöht.

6.2.6 Abwasseranteile und Konzentrationen an Antibiotika-resistenten Bakterien

Im Einzugsgebiet der Swist leiten vier Kläranlagen ihr aufbereitetes Abwasser direkt oder indirekt in das Fließgewässer ein. Je nach Wetterlage ist der Anteil an Abwasser an den einzelnen Probenahmestellen des Swistbaches unterschiedlich (Kapitel 2.2.3). Unter der Annahme, dass gereinigtes Abwasser stärker mit hygienisch-mikrobiologischen Verunreinigungen belastet ist als das Quellwasser und Einleitungen wie Regenwasserabflüsse, wurde in Kapitel 4.2.2 ein möglicher Zusammenhang zwischen dem berechneten Abwasseranteil an den Probenahmetagen und der gemessenen Konzentration Antibiotika-resistenter Bakterien überprüft (Tabelle 12). Für die in dieser Arbeit dargestellten Proben und Parameter konnte dabei kein statistisch signifikanter Zusammenhang festgestellt werden.

Wie in Abbildung 10 dargestellt, folgt der Abwasseranteil des Wassers in der Swist einem saisonalen Trend. Auch wenn der Nachweis von Antibiotika-resistenten Bakterien hier nicht damit in Zusammenhang gebracht werden kann, so zeigen die Daten der Nachweise von Antibiotika in den Gewässerproben zumindest dadurch, dass diese erst nach der ersten Einleitung von Abwasser nachgewiesen werden können, einen Zusammenhang, der in dieser Arbeit nicht weiter statistisch verifiziert wurde.

Gray et al. (2020) haben versucht, einen saisonalen Zusammenhang für Antibiotika in Oberflächengewässern zu zeigen. Fünfzehn Antibiotika wurden im Oberflächenwasser eines Flusses, im Grundwasser und im Flusssediment nachgewiesen. Am häufigsten wurden Sulfamethoxazol und Erythromycin während des gesamten Probenahmezeitraums in den Proben nachgewiesen. Die Autoren konnten feststellen, dass die Antibiotika-Konzentrationen mit dem pH-Wert und der Temperatur des Oberflächenwassers korrelierten. Die verwendete Methode zur Darstellung von saisonalen Daten zeigte keinen erkennbaren Trend in der Verteilung von Antibiotika über die Zeit (Gray et al., 2020).

Schmiege et al. (2021) konnten zeigen, dass die Konzentration an *E. coli* auch im Abwasser einem saisonalen Trend folgte. Die Autoren erklärten dies durch den Einfluss verschiedener Umweltfaktoren und nicht durch eine systematische Variation der

E. coli ausscheidenden Personen. Saisonale Unterschiede waren auch für ESBL-produzierende *E. coli* festzustellen, mit höheren Anteilen an allen *E. coli* in den Wintermonaten. Ähnliche saisonale Muster von ESBL-produzierenden *E. coli* im Abwasser wurden auch in anderen Studien beobachtet (Cauci et al., 2016; Lépesová et al., 2019).

6.2.7 Zusammenhänge zwischen dem Vorkommen antibiotisch wirkender Substanzen und Antibiotika-resistenten Bakterien in Oberflächengewässern

Eine signifikante positive Assoziation konnte in Kapitel nur für das Antibiotikum Erythromycin und die hygienisch-mikrobiologischen Parametern ESBL-produzierende *E. coli* und *Acinetobacter* spp. 3GCR und dort im speziellen auch die Art *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex berechnet werden (Kapitel 5.2).

Bei dem gleichzeitigen Auftreten von Erythromycin mit den Antibiotikaresistenz Parametern konnte keine klinische Plausibilität festgestellt werden, wie sie in Kapitel 5.1.2 festgelegt wurde. Die "klinische Plausibilität" wurde auf der Grundlage der klinischen Wirksamkeit und der klinischen Alltags- und Verschreibungspraxis definiert. Da Erythromycin nicht als Therapeutikum gegen Infektionen mit *E. coli* und *Acinetobacter* spp. 3GCR und dort im speziellen auch der Art *A. calcoaceticus-baumannii* Komplex eingesetzt wird, besteht hier kein klinischer Zusammenhang.

Es konnten innerhalb des ländlich-kommunalen Einzugsbietes keine definieren Cluster identifiziert werden, die die anthropogene Nutzung des Gewässers widerspiegelt. Wie in Kapitel 5.2.1 gezeigt konnte bei dem Vergleich der beiden Einzugsgebiete ein Rhein Cluster identifiziert werden, weil dort sowohl für die Antibiotika-resistenten Bakterien als auch die antibiotisch wirksamen Substanzen in geringere Konzentration nachgewiesen werden konnten.

Das Vorhandensein eines stabilen Antibiotikums im Oberflächengewässer kann dennoch, wie in Kapitel 5.2.1 beschrieben, durchaus ein Indikator für das zeitgleiche Vorhandensein von Antibiotika-resistenten Bakterien im Gewässer sein.

Auch Gray et al. (2020) konnten zeigen, dass Erythromycin sehr häufig in Oberflächengewässern nachweisbar war.

6.3 Bedeutung resistenter Bakterien in der Umwelt für die menschliche Gesundheit

Huijbers et al. (2015) haben in einem großen Literatur-Review Daten zum Vorkommen von Antibiotika-resistenten Bakterien in der Umwelt durchgeführt. Sie konnten keine Angaben für eine Rückkopplung zum Menschen feststellen. Später wurde dies aber gezeigt. So haben Heudorf et al. (2018) die Übertragung eines KPC3 - produzierenden *K. pneumoniae* in Frankfurt (Deutschland) beschrieben und Laurens et al. (2018) haben von IMI2-produzierenden Enterobacterales aus Flüssen in Südfrankreich berichtet, die sich in der Darmflora von den Testpersonen etabliert hatten.

Der Weg eines resistenten Bakteriums aus der Umwelt (zurück) zum Menschen ist generell überall dort möglich, wo direkter Kontakt zu dem belasteten Umweltkompartiment besteht (Abbildung 1: Mögliche Verbreitungswege von Antibiotika-resistenten Bakterien). Um eine Gesundheitsgefährdung beurteilen zu können, müssen für die Mikroorganismen ihre Konzentration im Gewässer, ihre Tenazität, ihr Resistenzgrad, die Infektionsdosis und die Virulenz bekannt sein und berücksichtigt werden. Auf der Seite der Exposition muss die Menge bekannt sein, die durch bestimmte Aktivitäten (z.B. Schwimmen), von der Umweltmatrix aufgenommen werden kann (Donovan et al., 2008).

Um die komplexe Frage der Rückkopplung zu beantworten, muss zusätzlich diskutiert werden, wie Antibiotika-resistente Bakterien in Abwasser und Böden gelangen, wie man ‚Resistenz‘ quantifiziert (über Antibiotika-resistente Bakterien, über Resistenzgene oder über beides) und wie man Risiken definiert und gegenüberstellt. Schwartz et al. (2003) haben festgestellt, dass die Beantwortung dieser Fragen zusätzlich durch die Schwierigkeiten bei Nachweis und Identifizierung von Antibiotika-resistenten Bakterien und assoziierten Resistenzgenen in Umweltproben erschwert wird. Die Abundanz von Resistenzgenen beträgt oft weniger als 0,1 % der korrespondierenden Mikroorganismen (Noyes et al., 2016) und die Verknüpfung eines Resistenzgens oder einer Reihe von Resistenzgenen mit der phänotypischen Resistenz ist schwierig, insbesondere in gemischten mikrobiellen Gemeinschaften, die in der Natur häufig vorkommen. Zum Beispiel kann eine phänotypische Resistenz aus einem spezifischen Resistenzgen für ein Antibiotikum an einer exprimierbaren Stelle resultieren, während die gleiche phänotypische Reaktion auch aus Genen für z. B. Effluxpumpen resultieren, die nicht direkt mit einem spezifischen antimikrobiellen Wirkstoff verbunden sind (Harbarth, 2007; Heinrichfreise, 2006; Nikaido, 2001; Van Looveren et al., 2004).

Bekannt ist dies besonders für *Pseudomonas* spp. und auch *Acinetobacter* spp. (Kapitel 1.2.3).

Wenn Antibiotika, die bei Nutztieren verwendet werden, gleiche oder strukturell ähnliche Wirkstoffe wie Humanantibiotika haben, trägt ihre Verwendung unmittelbar zur Verstärkung der Problematik bei, die für die öffentliche Gesundheit von großer Relevanz ist (Marshall and Levy, 2011).

Unverarbeiteter oder nicht kompostierter Dung, der in der Pflanzenproduktion verwendet wird, kann Antibiotika-resistente Bakterien enthalten, die Lebensmittel und Wasser kontaminieren können, was möglicherweise zu Lebensmittel- und Wasser-assoziierten Expositionen beiträgt (Larkin, 2015). Dies ist analog zur Ausbreitung von Antibiotika-resistenten Bakterien durch offene Defäkation, welche das Risiko der Ausbreitung von Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen in menschlichen Populationen in Verbindung mit schlechten sanitären Verhältnissen erhöht (Graham et al., 2019b). Für Bakterien wie *S. aureus*, die von Nutztieren auf Menschen übertragen werden, die in landwirtschaftlichen Betrieben arbeiten oder in unmittelbarer Nähe zu Nutztieren leben, ist dies bereits beschrieben (Voss et al., 2005).

Mit Hilfe eines *quantitative microbial risk assessment* (QMRA) kann das Risiko der menschlichen Exposition gegenüber Antibiotika-resistenten Bakterien in der Umwelt quantifiziert werden (Ashbolt et al., 2013). Bei einer QMRA sind zahlreiche Faktoren und Aspekte zu berücksichtigen, was für einige der betrachteten Antibiotika-resistenten Bakterien schwierig ist. Der Ansatz eines QMRA erfordert die Kenntnis der Konzentrationen klinisch relevanter Antibiotika-resistenter Bakterien an expositionsrelevanten Stellen in der Umwelt. Es erfordert Dosisabschätzungen, wie z.B. durch Verzehr von kontaminierten Produkten, Aufnahme von Oberflächenwasser oder Inhalation von Bioaerosolen. Dabei ist sowohl die Häufigkeit als auch die Dauer dieser Ereignisse zu berücksichtigen. Huijbers et al. (2015) beschreiben, dass auch, wenn Antibiotika-resistente Bakterien an den expositionsrelevanten Stellen nicht nachgewiesen wurden, zusätzliche Aspekte für die Risikobewertung berücksichtigt werden sollten. Dazu zählen z. B. die Persistenz in einer Matrix und der Transport der Antibiotika-resistenten Bakterien zu den Expositionsstellen und mögliche Änderungen der Bakterienkonzentration zwischen der gemessenen Stelle und der Expositionsstelle. Horizontale Gentransfer-Raten zwischen klinisch relevanten Antibiotika-resistenten Bakterien und Umweltbakterien müssen ebenfalls berücksichtigt werden, um genauere Schätzungen der Exposition vornehmen zu können (Hunter et al., 2008; Schreiber,

2011). Für ein QMRA muss berücksichtigt werden, wie persistent die Antibiotika-resistenten Bakterien im menschlichen Wirt sind. Dies hängt zum einen vom Eintrittsort ab. Im Magen-Darm-Trakt wird die Persistenz deutlich geringer sein als für über Wunden eingeführte Antibiotika-resistente Bakterien. Laut Huijbers et al. (2015) fehlen dazu aber noch quantitative Daten. Harwood et al. (2014) beschreiben ein *microbial source tracking*, um Schlussfolgerungen zu der menschlichen Gesundheit und abwasserbürtigen Krankheitserregern zu erhalten. Diese Methode umfasst die phänotypische und genotypische Charakterisierung von ARB-Isolaten menschlichen, tierischen und umweltbedingten Ursprungs (Harwood et al., 2014; Pires et al., 2009).

Das *microbial source tracking* zur Untersuchung der Übertragung von Antibiotika-resistenten Bakterien auf Menschen an expositionsrelevanten Orten sollte vorzugsweise die Übertragung sowohl von Bakterien als auch ihrer Resistenzdeterminanten berücksichtigen. Epidemiologische Ansätze können verwendet werden, um mögliche Expositionswege zu identifizieren. So beschrieben Frank et al. (2011) einen Ausbruch in Deutschland mit Shiga-Toxin-produzierenden *E. coli*, die ein ESBL-Gen (CTX-M-15) tragen; Buchholz et al. (2011) beschrieben Sprossen als wahrscheinlichsten Infektionsweg. In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass Reisen nach Asien, dem Nahen Osten oder Afrika entweder in den letzten sechs Wochen (Odds ratio (OR) = 21,0), oder in den letzten sechs Wochen bis 24 Monaten (OR = 2,3), kürzliche Verwendung von Fluorchinolonen (OR = 16,0) und β -Laktamen (OR = 5,0), Diabetes mellitus (OR = 3,2) und Freizeitschwimmen in Süßwasser je ein unabhängiger Risikofaktor für ESBL-positive Harnwegsinfektionen bei Menschen in Norwegen waren (Søraas et al., 2013).

Für eine Risikobewertung und die Identifizierung verschiedener Übertragungswege sind Informationen über Prävalenz, Konzentration und Arten von Antibiotika-resistenten Bakterien in der Umwelt unerlässlich. Quantitative und molekulare Daten liefern Beweise für die Verbreitung Antibiotika-resistenter Bakterien in der Umwelt, einschließlich expositionsrelevanter Stellen. Antibiotika-resistente Bakterien und/oder Resistenzgene wurden von diversen Forschergruppen, die Abwasser und Oberflächengewässer untersuchten, nachgewiesen. Während bereits expositionsrelevante Stellen identifiziert wurden und das Risiko einer Exposition des Menschen gegenüber Antibiotika-resistenten Bakterien in der Umwelt beschrieben ist, ist es noch nicht gelungen zu quantifizieren, in welchem Ausmaß die Umwelt zur Exposition des Menschen beiträgt (Graham et al., 2019a).

Nur wenige Studien wurden bislang durchgeführt, um die Risiken für die menschliche Gesundheit im Zusammenhang mit Antibiotika-resistenten Bakterien in Freizeitgewässern abzuschätzen; die Vorarbeiten konzentrieren sich auf Expositionsabschätzungen. In einer Studie aus den Niederlanden wurden die Konzentrationen von ESBL-produzierenden *E. coli* in Freizeitgewässern und in Wasser in Gräben in der Umgebung von Geflügelfarmen und kommunalen Abwässern gemessen (Schijven et al., 2015). Unter Berücksichtigung der Effekte von Verdünnung und Inaktivierung wurde das Potenzial von ESBL-produzierenden *E. coli* in Quell-Gewässern modelliert und die Wahrscheinlichkeit einer Exposition des Menschen durch Schwimmen abgeschätzt. Die Autoren weisen darauf hin, dass eine Exposition gegenüber ESBL-produzierenden *E. coli* möglich ist, wenn man in Freizeitgewässern schwimmt, die im Unterstrom von kommunalen Kläranlagen oder Viehzuchtbetrieben liegen. Die Autoren weisen jedoch auch darauf hin, dass das Risiko für die öffentliche Gesundheit noch nicht bestimmt werden kann, da die Exposition komplex ist und weitere Forschungen erforderlich sind, z.B. zur Kolonisierung nach asymptomatischer Übertragung. Leonard et al. (2015) schätzten die menschliche Exposition gegenüber Antibiotika-resistenten Bakterien bei Freizeitaktivitäten im Wasser in England und Wales ab. Die Autoren untersuchten die Prävalenz von ESBL-produzierenden *E. coli* in Wasserproben an der Küste und berücksichtigten Daten zur *E. coli*-Dichte und Volumina des Wassers, das während verschiedener Wassersportarten (z. B. Schwimmen, Surfen, Tauchen, Bootfahren, Waten/Plantschen) aufgenommen wird. Diese Daten ermöglichen die Abschätzung der durchschnittlichen Anzahl von ESBL-produzierenden *E. coli*, die während jeder Wassersportart aufgenommen wurden. Trotz einer geringen Prävalenz von ESBL-produzierenden *E. coli* (0,12 %) kommen die Autoren zu dem Schluss, dass für Freizeitwasserbenutzer ein erkennbares Expositionsrisiko besteht. In einer weiteren Studie entwickelten Leonard et al. (2018) eine neuartige zielgerichtete metagenomische Methode zur Quantifizierung der Häufigkeit und Diversität von Resistenzgenen in *E. coli* und schätzten auch die menschliche Exposition gegenüber Antibiotika-resistenten Bakterien in Freizeitgewässern ab. Die Autoren analysierten Sequenzdaten von *E. coli*-Metagenomen, die an 13 Badegewässern in England gesammelt wurden, um die Diversität und Abundanz der Resistenzgene zu bestimmen. Die Anzahl der von Erholungssuchenden aufgenommenen Resistenzgene wurde anhand dieser Sequenzdaten, der *E. coli*-Konzentrationsdaten (aus Routineüberwachung von 215 englischen Badegewässern) und der geschätzten Wasseraufnahme-Mengen bei

verschiedenen Freizeitaktivitäten geschätzt. Es wurde festgestellt, dass *E. coli* in diesen Badegewässern im Durchschnitt 1,24 Resistenzgene pro Zelle enthalten, und dass Badende während jeder Freizeitaktivität im Wasser mindestens 100 *E. coli*-basierte Resistenzgene aufnehmen. Ein weiterer Ansatz zur Berechnung des Expositionsrisikos gegenüber ESBL-produzierenden *E. coli* wurde in Mittelitalien durchgeführt (O’Flaherty et al., 2019). Untersucht wurden zwei Flüsse mit Erholungsstränden im Unterstrom von Kläranlagen und Erholungsstränden. Um festzustellen, wie viel Wasser von den Strandbesuchern aufgenommen wird, wurde ein quantitatives Risikobewertungsmodell erstellt, das die Verdünnungs- und Zerfallsraten von der Einleitung von Antibiotika-resistenten *E. coli* aus dem Abwasser der Kläranlage in den Fluss, die Verdünnungsraten aus dem Fluss in die Badebereiche und die Raten der zufälligen Wasseraufnahme beim Schwimmen berücksichtigte. Die mittlere vorhergesagte Exposition des Menschen gegenüber Antibiotika-resistenten *E. coli* lag zwischen 0,45 und 345 KBE/100 mL. Franz et al. (2015) beschreiben in ihrer Studie, dass es für die Bewertung einer Umweltexposition gegenüber ESBL-produzierenden Bakterien notwendig ist, das Verhältnis zwischen harmlosen kommensalen Varianten und potenziell pathogenen Varianten zu berücksichtigen. Dazu haben die Autoren 170 ESBL-produzierende *E. coli*-Isolate aus niederländischen Abwässern und Oberflächengewässern im Hinblick auf ESBL-Genotyp, phylogenetische Gruppe, Resistenzphänotyp und Virulenzmarker charakterisiert, die mit pathogenen Varianten von *E. coli*, wie z.B. enteropathogene *E. coli* (EPEC) und enteroaggregative *E. coli* (EAEC)) in Verbindung gebracht wurden. Es konnte festgestellt werden, dass 1,8°% bzw. 4,1°% EAEC aller ESBL-produzierenden *E. coli* zu diesen pathogenen Varianten gehörten, von denen 84 % gegen drei oder mehr Antibiotika-Klassen resistent waren. EHEC-Varianten wurden von den Wissenschaftlern nicht nachgewiesen.

Eine weitere Studie zur Bedeutung für die menschliche Gesundheit betrachtete die Übertragung von Antibiotikaresistenzen von Kläranlagen auf den Menschen (Wengenroth et al., 2021). Im Rahmen einer internationalen Studie generierten die Autoren Daten zur Prävalenz von den Antibiotikaresistenz-Phänotypen, ESBL-produzierenden *E. coli* und Carbapenemase-produzierenden *Enterobacteriaceae* sowie zu den entsprechenden Antibiotikaresistenzgenen, die aus Luft-, Wasser- und Abwasserproben isoliert wurden. Die Proben wurden innerhalb und außerhalb von verschiedenen Kläranlagen in Deutschland, den Niederlanden und Rumänien entnommen. Zusätzlich wurden Stuhlproben von Kläranlagenarbeitern, Anwohnern und Mitgliedern

einer Vergleichsgruppe untersucht. Es sind noch nicht alle Ergebnisse ausführlich publiziert, aber die Autoren erhoffen sich durch die Auswertung der Ergebnisse eine Bewertung der Übertragung von Antibiotika-resistenten Bakterien aus Kläranlagen in die Umgebung, die Formulierung von Empfehlungen, wie z. B. eine angepasste Abwasserbehandlung oder einen Mindestabstand zwischen Kläranlagen und Wohngebäuden, um die Übertragung von Antibiotika-resistenten Bakterien zu reduzieren (Wengenroth et al., 2021).

Timm et al. (2016) verwendeten für die Abschätzung der gesundheitlichen Auswirkungen des Badens in städtischen Flussgewässern eine zweistufige Risikobewertung am Beispiel der Ruhr in Nordrhein-Westfalen. Es wurde ein QMRA für das Risiko berechnet, mit obligat pathogenen Erregern wie Norovirus, Rotavirus, *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* infiziert zu werden. Zusätzlich dazu wurde der Schaden mit Hilfe der *disability-adjusted life years* (DALY)-Metrik operationalisiert und die Auswirkungen einer Behinderung auf die Gesundheit quantifiziert. Die Autoren geben an, dass die Wahrscheinlichkeiten an einer Enteritis zu erkranken zwischen 0,9 % und 2,6 % für virale Erreger und zwischen 0,0054 % und 0,014% für parasitäre Erreger variierten.

Einzelne Studien beschrieben unterschiedliche Infektionsdosen für *P. aeruginosa* unabhängig von einer Resistenz. Rusin et al. (1997) geben bei oraler Aufnahme durch einen gesunden Menschen eine Dosis von 10^8 - 10^9 Zellen an. Mena und Gerba (2009) geben eine Infektionsdosis von 10^7 Zellen bei Inhalation an, die letale Dosis liegt laut den Autoren bei 10^9 Zellen. Die größte Gesundheitsgefährdung im Kontakt mit kontaminiertem Wasser geht von Hautkontakt und Lungenexposition durch Inhalieren der Aerosole aus (Mena and Gerba, 2009). Die genannten Konzentrationen konnten in keiner der untersuchten 100 mL-Proben aus den Oberflächengewässern für den Parameter *P. aeruginosa* 3GCR nachgewiesen werden.

Speziell für die in dieser Arbeit untersuchten Antibiotika-resistenten Bakterien kann aufgrund fehlender Daten zu u.a. Infektionsdosen von den meisten fakultativ pathogenen Bakterien derzeit nicht für alle Resistenzparameter eine Betrachtung im Sinne eines QMRA durchgeführt werden. Wenn die einzelnen Hinweise der dargestellten Studien zusammengeführt werden und für den Daten in dieser Arbeit verwendet werden, so lässt sich zumindest für die pathogenen ESBL-produzierenden *E. coli* Varianten EPEC und EAEC und das Risiko beim Schwimmen eine Vorhersage treffen. Dufour et al. (2006) stellten fest, dass ein Erwachsener bei einer Schwimmzeit von 60

Minuten bis zu 71 mL und ein Kind bis zu 205 mL Wasser aufnimmt. Die höchste Konzentration an ESBL-produzierenden *E. coli* in den in dieser Arbeit dargestellten Oberflächengewässerproben lag bei $1,1 \times 10^4$ KBE/100 mL (PNS SW; 14.05.2018). Dies bedeutet eine orale Aufnahme von $7,8 \times 10^3$ bzw. $2,3 \times 10^4$ Zellen ESBL-produzierende *E. coli* für Erwachsene bzw. Kinder. Zieht man die Ergebnisse der Studie von Franz et al. (2015) heran und nimmt an, dass 1,8% dieser ESBL-produzierenden *E. coli* eine EPEC-Variante darstellt, so lässt sich ein Wert von $1,4 \times 10^2$ EPEC-Zellen bei Erwachsenen und $4,1 \times 10^2$ EPEC-Zellen bei Kindern für je 60 Minuten Schwimmen berechnen. Für die EAEC-Variante liegen die Werte bei $3,2 \times 10^2$ EAEC-Zellen bzw. $9,3 \times 10^2$ EAEC-Zellen. Für die meisten pathogenen *E. coli*-Varianten werden Infektionsdosen von 10^8 bis 10^{10} Zellen angegeben (z.B. Kang et al., 2014; Kothary and Babu, 2001). Wenn andere Faktoren unbetrachtet bleiben, so lässt sich feststellen, dass für den Parameter ESBL-produzierende *E. coli* auch für die höchste in dieser Arbeit gemessenen Konzentration kein erhöhtes Risiko besteht an einem EPEC oder EAEC zu erkranken.

Dennoch sollte festgestellt werden, dass die ubiquitäre Verbreitung der ESBL-produzierenden Gram-negativen Bakterien in der aquatischen Umwelt durch die verschiedenen dargestellten Faktoren stets ein Risiko für die menschliche Gesundheit darstellt, denn bei fakultativ pathogenen Erregern, wie sie in dieser Arbeit beschrieben sind, u.a. die Besiedelung eine entscheidende Rolle spielt, die bei einer späteren Antibiotika-Therapie unvorhersehbare Auswirkungen haben kann.

Literatur

- Abe, K., Nomura, N., Suzuki, S., 2020. Biofilms: hot spots of horizontal gene transfer (HGT) in aquatic environments, with a focus on a new HGT mechanism. *FEMS Microbiol. Ecol.* 96. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaa031>
- Abele-Horn, M., 2010. Antimikrobielle Therapie: Entscheidungshilfen zur Behandlung und Prophylaxe von Infektionskrankheiten. *Wiehl.*
- Abraham, E.P., Chain, E., 1940. An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin. *Nature* 146, 837–837. <https://doi.org/10.1038/146837a0>
- Adedeji, W.A., 2016. The treasure called antibiotics. *Ann. Ib. Postgrad. Med.* 14, 56–57.
- Adler, N., Balzer, F., Blondzik, K., Brauer, F., Chorus, I., Ebert, I., Fiedler, T., Grummt, T., Heidemeier, J., Hein, A., 2018. Antibiotika und Antibiotikaresistenzen in der Umwelt: Hintergrund, Herausforderungen und Handlungsoptionen. *Umweltbundesamt.*
- Ahammad, Z.S., Sreekrishnan, T.R., Hands, C.L., Knapp, C.W., Graham, D.W., 2014. Increased waterborne blaNDM-1 resistance gene abundances associated with seasonal human pilgrimages to the upper ganges river. *Environ. Sci. Technol.* 48, 3014–3020. <https://doi.org/10.1021/es405348h>
- Ahmed, W., Gardner, T., Toze, S., 2011. Microbiological Quality of Roof-Harvested Rainwater and Health Risks: A Review. *J. Environ. Qual.* 40, 13. <https://doi.org/10.2134/jeq2010.0345>
- Ahmed, W., Huygens, F., Goonetilleke, A., Gardner, T., 2008. Real-Time PCR Detection of Pathogenic Microorganisms in Roof-Harvested Rainwater in Southeast Queensland, Australia. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 5490–5496. <https://doi.org/10.1128/AEM.00331-08>
- Amador, P.P., Fernandes, R.M., Prudêncio, M.C., Barreto, M.P., Duarte, I.M., 2015. Antibiotic resistance in wastewater: occurrence and fate of Enterobacteriaceae producers of class A and class C β -lactamases. *J. Environ. Sci. Health Part A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* 50, 26–39. <https://doi.org/10.1080/10934529.2015.964602>
- Amarasiri, M., Sano, D., Suzuki, S., 2020. Understanding human health risks caused by antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARG) in water environments: Current knowledge and questions to be answered. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 50, 2016–2059. <https://doi.org/10.1080/10643389.2019.1692611>
- Arnold, K.E., Williams, N.J., Bennett, M., 2016. ‘Disperse abroad in the land’: the role of wildlife in the dissemination of antimicrobial resistance. *Biol. Lett.* 12, 20160137. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2016.0137>
- Asakura, H., Kawamoto, K., Haishima, Y., Igimi, S., Yamamoto, S., Makino, S., 2008. Differential expression of the outer membrane protein W (OmpW) stress response in enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 corresponds to the

- viable but non-culturable state. *Res. Microbiol.* 159, 709–717. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.08.005>
- Ashbolt, N.J., Amézquita, A., Backhaus, T., Borriello, P., Brandt, K.K., Collignon, P., Coors, A., Finley, R., Gaze, W.H., Heberer, T., Lawrence, J.R., Larsson, D.G.J., McEwen, S.A., Ryan, J.J., Schönfeld, J., Silley, P., Snape, J.R., Van den Eede, C., Topp, E., 2013. Human Health Risk Assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance. *Environ. Health Perspect.* 121, 993–1001. <https://doi.org/10.1289/ehp.1206316>
- Aspridou, Z., Balomenos, A., Tsakanikas, P., Manolakos, E., Koutsoumanis, K., 2019. Heterogeneity of single cell inactivation: Assessment of the individual cell time to death and implications in population behavior. *Food Microbiol.* 80, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.12.011>
- Atherholt, T.B., LeChevallier, M.W., Norton, W.D., Rosen, J.S., 1998. Effect of rainfall on Giardia and crypto. *J. AWWA* 90, 66-80.
- Augustin, J., Mangiapane, S., Kern, W.V., 2015. A regional analysis of outpatient antibiotic prescribing in Germany in 2010. *Eur. J. Public Health* 25, 397–399. <https://doi.org/10.1093/eurpub/ckv050>
- Austin, D.J., Kristinsson, K.G., Anderson, R.M., 1999. The relationship between the volume of antimicrobial consumption in human communities and the frequency of resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96, 1152–1156. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.3.1152>
- Avery, A.A., 1999. Infantile methemoglobinemia: reexamining the role of drinking water nitrates. *Environ. Health Perspect.* 107, 583–586.
- Balasa, G., Levengood, E.S., Battistelli, J.M., Franklin, R.B., 2021. Diversity of Multidrug-Resistant Bacteria in an Urbanized River: A Case Study of the Potential Risks from Combined Sewage Overflows. *Water* 13, 2122. <https://doi.org/10.3390/w13152122>
- Baquero, F., Martínez, J.-L., Cantón, R., 2008. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19, 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.05.006>
- Barco, J., Papiri, S., Stenstrom, M.K., 2008. First flush in a combined sewer system. *Chemosphere* 71, 827–833. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.11.049>
- Bayer, M., 2016. Der Aufbau und die Funktion einer Kläranlage. Anlagenteile und Reinigungsprozesse. GRIN Verlag.
- Beceiro, A., Tomas, M., Bou, G., 2013. Antimicrobial Resistance and Virulence: a Successful or Deleterious Association in the Bacterial World? *Clin. Microbiol. Rev.* 26, 185–230. <https://doi.org/10.1128/CMR.00059-12>
- Ben, Y., Fu, C., Hu, M., Liu, L., Wong, M.H., Zheng, C., 2019. Human health risk assessment of antibiotic resistance associated with antibiotic residues in the environment: A review. *Environ. Res.* 169, 483–493. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.040>

- Bengtsson-Palme, J., Larsson, D.G.J., 2016. Concentrations of antibiotics predicted to select for resistant bacteria: Proposed limits for environmental regulation. *Environ. Int.* 86, 140–149. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.10.015>
- Berendes, D.M., Yang, P.J., Lai, A., Hu, D., Brown, J., 2018. Estimation of global recoverable human and animal faecal biomass. *Nat. Sustain.* 1, 679–685. <https://doi.org/10.1038/s41893-018-0167-0>
- Bergeron, S., Boopathy, R., Nathaniel, R., Corbin, A., LaFleur, G., 2015. Presence of antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in raw source water and treated drinking water. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, CESE-2014 – Challenges in Environmental Science and Engineering Series Conference 102, 370–374. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.04.017>
- Bergey, D.H., Holt, J.G. (Eds.), 1993. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 9. ed., [Nachdr.]. ed. Lippincott Williams & Wilkins, New York.
- Bergogne-Berezin, E., Towner, K.J., 1996. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin. Microbiol. Rev.* 9, 148.
- Birch, H., Mikkelsen, P., K Jensen, J., Lützhøft, H.-C., 2011. Micropollutants in stormwater runoff and combined sewer overflow in the Copenhagen area, Denmark. *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.* 64, 485–93. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.687>
- Bitton, G., Harvey, R.W., 1992. Transport of pathogens through soils and aquifers. *Environ. Microbiol.* 19, 103–123.
- Blaak, H., Lynch, G., Italiaander, R., Hamidjaja, R.A., Schets, F.M., de Roda Husman, A.M., 2015. Multidrug-Resistant and Extended Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Dutch Surface Water and Wastewater. *PLOS ONE* 10, 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127752>
- Blommaert, A., Marais, C., Hens, N., Coenen, S., Muller, A., Goossens, H., Beutels, P., 2014. Determinants of between-country differences in ambulatory antibiotic use and antibiotic resistance in Europe: a longitudinal observational study. *J. Antimicrob. Chemother.* 69, 535–547.
- BMG, 2001. Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 10. März 2016 (BGBl. I S. 459), die zuletzt durch Artikel 1 der Verordnung vom 22. September 2021 (BGBl. I S. 4343) geändert worden ist).
- BMU, 2009. Gesetz zur Ordnung des Wasserhaushalts (Wasserhaushaltsgesetz - WHG), Wasserhaushaltsgesetz vom 31. Juli 2009 (BGBl. I S. 2585), das zuletzt durch Artikel 2 des Gesetzes vom 18. August 2021 (BGBl. I S. 3901) geändert worden ist.
- BMU, 1976. Gesetz über Abgaben für das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserabgabengesetz - AbwAG), Abwasserabgabengesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 18. Januar 2005 (BGBl. I S. 114), das zuletzt durch

- Artikel 2 der Verordnung vom 22. August 2018 (BGBl. I S. 1327) geändert worden ist.
- Boczek, L.A., Rice, E.W., Johnston, B., Johnson, J.R., 2007. Occurrence of antibiotic-resistant uropathogenic *Escherichia coli* clonal group A in wastewater effluents. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 4180–4184. <https://doi.org/10.1128/AEM.02225-06>
- Bougnom, B.P., Piddock, L.J.V., 2017. Wastewater for Urban Agriculture: A Significant Factor in Dissemination of Antibiotic Resistance. *Environ. Sci. Technol.* 51, 5863–5864. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01852>
- Bouvet, P.J.M., Grimont, P.A.D., 1986. Taxonomy of the Genus *Acinetobacter* with the Recognition of *Acinetobacter baumannii* sp. nov., *Acinetobacter haemolyticus* sp. nov., *Acinetobacter johnsonii* sp. nov., and *Acinetobacter junii* sp. nov. and Emended Descriptions of *Acinetobacter calcoaceticus* and *Acinetobacter lwoffii*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 36, 228–240. <https://doi.org/10.1099/00207713-36-2-228>
- BRD, 2001. Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (IfSG), Letzte Änderung durch Art. 8 G vom 27. September 2021 (BGBl. I S. 4530, 4588), Inkrafttreten der letzten Änderung: 28. Januar 2022 (Art. 10 G vom 27. September 2021), BGBl. I S. 1045.
- BRD, 1981. Gesetz zur Änderung des Gesetzes zur wirtschaftlichen Sicherung der Krankenhäuser und zur Regelung der Krankenhauspflegesätze: Krankenhausfinanzierungsgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 10. April 1991 (BGBl. I S. 886), das zuletzt durch Artikel 5 des Gesetzes vom 11. Juli 2021 (BGBl. I S. 2754) geändert worden ist., BGBl. I S. 1568.
- Bréchet, C., Plantin, J., Sauget, M., Thouverez, M., Talon, D., Cholley, P., Guyeux, C., Hocquet, D., Bertrand, X., 2014. Wastewater Treatment Plants Release Large Amounts of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Into the Environment. *Clin. Infect. Dis.* 58, 1658–1665. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu190>
- Brolund, A., Lagerqvist, N., Byfors, S., Struelens, M.J., Monnet, D.L., Albiger, B., Kohlenberg, A., European Antimicrobial Resistance Genes Surveillance Network EURGen-Net Capacity Survey Group, 2019. Worsening epidemiological situation of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe, assessment by national experts from 37 countries, July 2018. *Euro Surveill. Bull. Eur. Sur Mal. Transm. Eur. Commun. Dis. Bull.* 24. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.9.1900123>
- Buchholz, U., Bernard, H., Werber, D., Böhmer, M.M., Renschmidt, C., Wilking, H., Deleré, Y., an der Heiden, M., Adlhoch, C., Dreesman, J., Ehlers, J., Ethelberg, S., Faber, M., Frank, C., Fricke, G., Greiner, M., Höhle, M., Ivarsson, S., Jark, U., Kirchner, M., Koch, J., Krause, G., Lubber, P., Rosner, B., Stark, K., Kühne, M., 2011. German outbreak of *Escherichia coli* O104:H4 associated with sprouts. *N. Engl. J. Med.* 365, 1763–1770. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1106482>

- Bueno, I., Williams-Nguyen, J., Hwang, H., Sargeant, J.M., Nault, A.J., Singer, R.S., 2018. Systematic Review: Impact of point sources on antibiotic-resistant bacteria in the natural environment. *Zoonoses Public Health* 65, e162–e184. <https://doi.org/10.1111/zph.12426>
- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie, Zentrum Infektiologie und Reisemedizin, Zentrum Infektiologie und Reisemedizin, 2016. *Germap 2015: Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch; Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland.*
- Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Infektiologie Freiburg (Eds.), 2014. *Germap 2012: Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch; Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland, 1. Aufl. ed. Antiinfectives Intelligence, Rheinbach.*
- Burkhardt, M., Kupper, T., Hean, S., Haag, R., Schmid, P., Kohler, M., Boller, M., 2007. Biocides used in building materials and their leaching behavior to sewer systems. *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.* 56, 63–7. <https://doi.org/10.2166/wst.2007.807>
- Burmeister, A.R., 2015. Horizontal Gene Transfer. *Evol. Med. Public Health* 2015, 193–194. <https://doi.org/10.1093/emph/eov018>
- Byrd, J.J., Xu, H.S., Colwell, R.R., 1991. Viable but nonculturable bacteria in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* 57, 875–878. <https://doi.org/10.1128/AEM.57.3.875-878.1991>
- Cacace, D., Fatta-Kassinos, D., Manaia, C.M., Cytryn, E., Kreuzinger, N., Rizzo, L., Karaolia, P., Schwartz, T., Alexander, J., Merlin, C., Garelick, H., Schmitt, H., de Vries, D., Schwermer, C.U., Meric, S., Ozkal, C.B., Pons, M.-N., Kneis, D., Berendonk, T.U., 2019. Antibiotic resistance genes in treated wastewater and in the receiving water bodies: A pan-European survey of urban settings. *Water Res.* 162, 320–330. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.06.039>
- Calderon, R., Mood, E.W., Dufour, P., 1991. Health effects of swimmers and non-point sources of contaminated water. *J Env Health Res.* 1, 21–31.
- Cassini, A., Högberg, L.D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G.S., Colomb-Cotinat, M., Kretzschmar, M.E., Devleeschauwer, B., Cecchini, M., Ouakrim, D.A., Oliveira, T.C., Struelens, M.J., Suetens, C., Monnet, D.L., Strauss, R., Mertens, K., Struyf, T., Catry, B., Latour, K., Ivanov, I.N., Dobrova, E.G., Tambic Andrašević, A., Soprek, S., Budimir, A., Paphitou, N., Žemlicková, H., Schytte Olsen, S., Wolff Sönksen, U., Martin, P., Ivanova, M., Lyytikäinen, O., Jalava, J., Coignard, B., Eckmanns, T., Abu Sin, M., Haller, S., Daikos, G.L., Gikas, A., Tsiodras, S., Kontopidou, F., Tóth, Á., Hajdu, Á., Guólaugsson, Ó., Kristinsson, K.G., Murchan, S., Burns, K., Pezzotti, P., Gagliotti, C., Dumpis, U., Liiumiene, A., Perrin, M., Borg, M.A., de Greeff,

- S.C., Monen, J.C., Koek, M.B., Elstrøm, P., Zabicka, D., Deptula, A., Hryniewicz, W., Caniça, M., Nogueira, P.J., Fernandes, P.A., Manageiro, V., Popescu, G.A., Serban, R.I., Schréterová, E., Litvová, S., Štefkovicová, M., Kolman, J., Klavs, I., Korošec, A., Aracil, B., Asensio, A., Pérez-Vázquez, M., Billström, H., Larsson, S., Reilly, J.S., Johnson, A., Hopkins, S., 2019. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect. Dis.* 19, 56–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30605-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30605-4)
- Cauci, S., Karkman, A., Cacace, D., Rybicki, M., Timpel, P., Voolaid, V., Gurke, R., Virta, M., Berendonk, T.U., 2016. Seasonality of antibiotic prescriptions for outpatients and resistance genes in sewers and wastewater treatment plant outflow. *FEMS Microbiol. Ecol.* 92. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw060>
- Chain, E., Florey, H.W., Gardner, A.D., Heatley, N.G., Jennings, M.A., Orr-Ewing, J., Sanders, A.G., Peltier, L.F., 2005. THE CLASSIC: Penicillin as a Chemotherapeutic Agent: *Clin. Orthop.* 439, 23–26. <https://doi.org/10.1097/01.blo.0000183429.83168.07>
- Chang, H.-H., Cohen, T., Grad, Y.H., Hanage, W.P., O'Brien, T.F., Lipsitch, M., 2015. Origin and proliferation of multiple-drug resistance in bacterial pathogens. *Microbiol. Mol. Biol. Rev. MMBR* 79, 101–116. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00039-14>
- Christian, T., Schneider, R.J., Färber, H.A., Skutlarek, D., Meyer, M.T., Goldbach, H.E., 2003. Determination of Antibiotic Residues in Manure, Soil, and Surface Waters. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 31, 36–44. <https://doi.org/10.1002/aheh.200390014>
- Christoffels, E., Mertens, F.M., Kistemann, T., Schreiber, C., 2014. Retention of pharmaceutical residues and microorganisms at the Altendorf retention soil filter. *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.* 70, 1503–1509. <https://doi.org/10.2166/wst.2014.404>
- Christou, A., Agüera, A., Bayona, J.M., Cytryn, E., Fotopoulos, V., Lambropoulou, D., Manaia, C.M., Michael, C., Revitt, M., Schröder, P., Fatta-Kassinos, D., 2017. The potential implications of reclaimed wastewater reuse for irrigation on the agricultural environment: The knowns and unknowns of the fate of antibiotics and antibiotic resistant bacteria and resistance genes – A review. *Water Res.* 123, 448–467. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.004>
- Chuanchuen, R., Pariyotorn, N., Siri wattanachai, K., Pagdepanichkit, S., Srianga, S., Wannaprasat, W., Phyothu, W., Simjee, S., Otte, J., 2014. Review of the Literature on Antimicrobial Resistance in Zoonotic Bacteria from Livestock in East, South and Southeast Asia. FAO, Rome, Italy.
- Church, J.A., Fitzgerald, F., Walker, A.S., Gibb, D.M., Prendergast, A.J., 2015. The expanding role of co-trimoxazole in developing countries. *Lancet Infect. Dis.* 15, 327–339. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)71011-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)71011-4)

- Connor, R., Renata, A., Ortigara, C., Koncagül, E., Uhlenbrook, S., Lamizana-Diallo, B.M., Zadeh, S.M., Qadir, M., Kjellén, M., Sjödin, J., 2017. The united nations world water development report 2017. wastewater: the untapped resource. U. N. World Water Dev. Rep.
- Cooney, S., O'Brien, S., Iversen, C., Fanning, S., 2014. Bacteria: other pathogenic Enterobacteriaceae–Enterobacter and other genera.
- Czekalski, N., Berthold, T., Caucci, S., Egli, A., Bürgmann, H., 2012. Increased levels of multiresistant bacteria and resistance genes after wastewater treatment and their dissemination into lake geneva, Switzerland. *Front. Microbiol.* 3, 106. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00106>
- Da Silva, M.E.Z., Camargo Filho, I., Endo, E.H., Nakamura, C.V., Ueda-Nakamura, T., Dias Filho, B.P., 2008. Characterisation of potential virulence markers in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from drinking water. *Antonie Van Leeuwenhoek* 93, 323–334.
- Davies, J., Davies, D., 2010. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74, 417–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>
- Dax, S.L., 1997. *Antibacterial Chemotherapeutic Agents*. Springer Netherlands, Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-009-0097-4>
- de Jong, J., Bos, J.H., de Vries, T.W., 2014. Use of antibiotics in rural and urban regions in the Netherlands: an observational drug utilization study. *BMC Public Health* 14, 1–6.
- de With, K., Schröder, H., Meyer, E., Nink, K., Hoffmann, S., Steib-Bauert, M., Kämmerer, R., Rueß, S., Daschner, F.D., Kern, W.V., 2004. Antibiotikaaanwendung in Deutschland im europäischen Vergleich. *DMW - Dtsch. Med. Wochenschr.* 129, 1987–1992. <https://doi.org/10.1055/s-2004-831838>
- Deshpande, A.D., Baheti, K.G., Chatterjee, N.R., 2004. Degradation of β -lactam antibiotics. *Curr. Sci.* 87, 1684–1695.
- Diaz, K.S., Rich, V.I., McLain, J.E., 2017. Searching for Antibiotic Resistance Genes in a Pristine Arctic Wetland. *J. Contemp. Water Res. Educ.* 160, 42–59. <https://doi.org/10.1111/j.1936-704X.2017.03239.x>
- Dillaha III, T.A., Zolan, W.J., 1985. Rainwater catchment water quality in Micronesia. *Water Res.* 19, 741–746. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(85\)90121-6](https://doi.org/10.1016/0043-1354(85)90121-6)
- DIN 19650:1999, n.d. *Bewässerung - Hygienische Belange von Bewässerungswasser*. Beuth Verlag GmbH, Berlin.
- DIN 38402-11:2009-2, 2009. *German standard methods for the examination of water, waste water and sludge - General information (group A) - Part 11: Sampling of waste water (A 11)*. Beuth Verlag GmbH, Berlin. <https://doi.org/10.31030/1442438>
- DIN EN 16323:2014-07, n.d. *Wörterbuch für Begriffe der Abwassertechnik*. Beuth Verlag GmbH, Berlin.

- DIN EN ISO 9308-1:2012, 2012. Water Quality - Enumeration of Escherichia Coli and Coliform Bacteria - Part 1: Membrane Filtration Method for Waters with Low Bacterial Background Flora. ISO/DIS 9308–1. International Organization for Standardization.
- DIN EN ISO 16266:2006, 2006. Water Quality - Detection and Enumeration of Pseudomonas aeruginosa - Method by Membrane Filtration. ISO 16266. International Organization for Standardization.
- Dingermann, T., Hänsel, R., Zündorf, I., 2013. Pharmazeutische Biologie: Molekulare Grundlagen und klinische Anwendung. Springer-Verlag.
- Döhla, M., Sib, E., Dericks, B., Grobe, S., Behringer, K., Frechen, M., Simon, K., Färber, H., Lenz, F., Parcina, M., Skutlarek, D., Voigt, A., Felder, C., Exner, M., Schmithausen, R.M., 2020. Assessment of the Prevalence of Antibiotic-Resistant Bacteria and the Concentration of Antibiotics in EU Bathing Waters in Western Germany. *Expo. Health* 12, 323–334. <https://doi.org/10.1007/s12403-019-00313-z>
- Donovan, E., Unice, K., Roberts, J.D., Harris, M., Finley, B., 2008. Risk of gastrointestinal disease associated with exposure to pathogens in the water of the Lower Passaic River. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 994–1003.
- Dufour, A., Bartram, J., 2012. Animal waste, water quality and human health. IWA publishing.
- Dufour, A.P., Evans, O., Behymer, T.D., Cantu, R., 2006. Water ingestion during swimming activities in a pool: a pilot study. *J. Water Health* 4, 425–430.
- DWA, 2013a. Merkblatt DWA-M 103 “Hochwasserschutz für Abwasseranlagen” der Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e. V.
- DWA, 2013b. Arbeitsblatt DWA-A 166 „Bauwerke der zentralen Regenwasserbehandlung und -rückhaltung – Konstruktive Gestaltung und Ausrüstung“ der Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e. V.
- DWA, 1992. Arbeitsblatt ATV-A 128 „Richtlinien für die Bemessung und Gestaltung von Regenentlastungsanlagen in Mischwasserkanälen“ der Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e. V.
- Dwidjosiswojo, Z., Richard, J., Moritz, M.M., Dopp, E., Flemming, H.-C., Wingender, J., 2011. Influence of copper ions on the viability and cytotoxicity of Pseudomonas aeruginosa under conditions relevant to drinking water environments. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 214, 485–492. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.06.004>
- ECDC, 2020. Antimicrobial consumption - Annual Epidemiological Report for 2019 [WWW Document]. *Eur. Cent. Dis. Prev. Control.* URL <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-consumption-europe-2019> (accessed 2.7.21).
- ECDC, 2019a. SURVEILLANCE REPORT. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018 110.

- ECDC, 2019b. Carbapenem resistant Enterobacteriaceae - second update [WWW Document]. Eur. Cent. Dis. Prev. Control. URL <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/carbapenem-resistant-enterobacteriaceae-second-update> (accessed 3.12.21).
- ECDC, 2014. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013 data [WWW Document]. ECDC. URL <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-surveillance-europe-2013-data> (accessed 3.12.21).
- Egorov, A.M., Ulyashova, M.M., Rubtsova, M.Y., 2018. Bacterial Enzymes and Antibiotic Resistance. *Acta Naturae* 10, 33–48.
- EU, 2020a. Verordnung (EU) 2020/741 des europäischen Parlaments und des Rates vom 25. Mai 2020 über Mindestanforderungen an die Wasserwiederverwendung, 2020/741.
- EU, 2020b. Richtlinie (EU) 2020/2184 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2020 über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch.
- EU, 2007. Richtlinie 2007/60/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2007 über die Bewertung und das Management von Hochwasserrisiken, Amtsblatt L 288/27.
- EU, 2006. Richtlinie 2006/7/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 15. Februar 2006 über die Qualität der Badegewässer und deren Bewirtschaftung und zur Aufhebung der Richtlinie 76/160/EWG.
- EU, 2004. Richtlinie 2004/35/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 21. April 2004 über Umwelthaftung zur Vermeidung und Sanierung von Umweltschäden, Amtsblatt L 143/56.
- EU, 2000. Richtlinie 2000/60/EG zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik, Amtsblatt L 327.
- EU, 1991. Richtlinie 91/271/EWG des Rates vom 21. Mai 1991 über die Behandlung von kommunalem Abwasser, ABl. L 197 vom 4.7.2014, S. 77-86.
- Evans, C.A., Coombes, P.J., Dunstan, R.H., 2006. Wind, rain and bacteria: The effect of weather on the microbial composition of roof-harvested rainwater. *Water Res.* 40, 37–44. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.10.034>
- Exner, M., Schmithausen, R., Schreiber, C., Bierbaum, G., Parcina, M., Engelhart, S., Kistemann, T., Sib, E., Walger, P., Schwartz, T., 2018. Zum Vorkommen und zur vorläufigen hygienisch-medizinischen Bewertung von Antibiotika-resistenten Bakterien mit humanmedizinischer Bedeutung in Gewässern, Abwässern, Badegewässern sowie zu möglichen Konsequenzen für die Trinkwasserversorgung. *Hyg. Med.* 43, D46–D54.
- Fahrenfeld, N., Knowlton, K., Krometis, L.A., Hession, W.C., Xia, K., Lipscomb, E., Libuit, K., Green, B.L., Pruden, A., 2014. Effect of Manure Application on Abundance of Antibiotic Resistance Genes and Their Attenuation Rates in Soil: Field-Scale Mass Balance Approach. *Environ. Sci. Technol.* 48, 2643–2650. <https://doi.org/10.1021/es404988k>

- Feuerpfeil, I., López-Pila, J., Schmidt, R., Schneider, E., Szewzyk, R., 1999. Antibiotikaresistente Bakterien und Antibiotika in der Umwelt. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 42, 37–50. <https://doi.org/10.1007/s001030050057>
- Flach, C.-F., Hutinel, M., Razavi, M., Åhrén, C., Larsson, D.G.J., 2021. Monitoring of hospital sewage shows both promise and limitations as an early-warning system for carbapenemase-producing Enterobacterales in a low-prevalence setting. Water Res. 200, 117261. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117261>
- Fleming, A., 1929. On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenzae. Br. J. Exp. Pathol. 10, 226–236.
- Förster, J., 1999. Variability of roof runoff quality. Water Sci. Technol. 39, 137–144. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(99\)00095-5](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(99)00095-5)
- Fournier, P.E., Richet, H., Weinstein, R.A., 2006. The Epidemiology and Control of Acinetobacter baumannii in Health Care Facilities. Clin. Infect. Dis. 42, 692–699. <https://doi.org/10.1086/500202>
- Frank, C., Werber, D., Cramer, J.P., Askar, M., Faber, M., an der Heiden, M., Bernard, H., Fruth, A., Prager, R., Spode, A., Wadl, M., Zoufaly, A., Jordan, S., Kemper, M.J., Follin, P., Müller, L., King, L.A., Rosner, B., Buchholz, U., Stark, K., Krause, G., HUS Investigation Team, 2011. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing Escherichia coli O104:H4 outbreak in Germany. N. Engl. J. Med. 365, 1771–1780. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1106483>
- Franz, E., Veenman, C., van Hoek, A.H.A.M., Husman, A. de R., Blaak, H., 2015. Pathogenic Escherichia coli producing Extended-Spectrum β -Lactamases isolated from surface water and wastewater. Sci. Rep. 5, 14372. <https://doi.org/10.1038/srep14372>
- Galvin, S., Boyle, F., Hickey, P., Vellinga, A., Morris, D., Cormican, M., 2010. Enumeration and Characterization of Antimicrobial-Resistant Escherichia coli Bacteria in Effluent from Municipal, Hospital, and Secondary Treatment Facility Sources. Appl. Environ. Microbiol. 76, 4772–4779. <https://doi.org/10.1128/AEM.02898-09>
- Garder, J.L., Moorman, T.B., Soupir, M.L., 2014. Transport and persistence of tylosin-resistant enterococci, genes, and tylosin in soil and drainage water from fields receiving Swine manure. J. Environ. Qual. 43, 1484–1493. <https://doi.org/10.2134/jeq2013.09.0379>
- Garre, P., Schliemann, B., Schönbach, K.-H., 2015. Strukturwandel - Reform und Reformbedarf in der Bedarfsplanung sowie fehlende sektorenübergreifende Ansätze, in: Krankenhaus-Report 2015. Schattauer, Stuttgart, pp. 211–36.
- Gasperi, J., Laborie, B., Rocher, V., 2012. Treatment of combined sewer overflows by ballasted flocculation: Removal study of a large broad spectrum of pollutants. Chem. Eng. J. 211, 293–301.

- Gasse, J., 2009. Quantifizierung der Emissionen aus Abwasseranlagen und deren Auswirkungen auf die hygienische Qualität von Fließgewässern. Oldenbourg Industrieverl.
- Gazin, M., Paasch, F., Goossens, H., Malhotra-Kumar, S., on behalf of the MOSAR WP2 and SATURN WP1 Study Teams, 2012. Current Trends in Culture-Based and Molecular Detection of Extended-Spectrum-β-Lactamase-Harboring and Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.* 50, 1140–1146. <https://doi.org/10.1128/JCM.06852-11>
- GDWS, 2021. GDWS - Homepage - Der Rhein [WWW Document]. Wasserstraßen-Schiffahrtsverwaltung Bundes. URL https://www.gdws.wsv.bund.de/DE/wasserstrassen/01_bundeswasserstrassen/Rheinstromgebiet/Rhein.html (accessed 3.11.21).
- GEOportal.NRW, 2021. Home | Geoportal [WWW Document]. GEOportalNRW Geschäftsstelle IMA GDI Nordrh.-Westfal. URL <https://www.geoportal.nrw/> (accessed 3.11.21).
- Ghosh, A.R., Nair, G.B., Naik, T.N., Sarkar, S.K., Mazumdar, R., Pal, S.C., Sen, D., 1991. Serovars of multi-antibiotic resistant *Escherichia coli* from the freshwater environs of Calcutta, India. *Microbiol. Immunol.* 35, 273–287. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.1991.tb01557.x>
- Gibson, C.J., Stadterman, K.L., States, S., Sykora, J., 1998. Combined sewer overflows: A source of *Cryptosporidium* and *Giardia*? *Wat Sci Tech* 38, 67–72.
- Glaeske, G., Schicktanz, C., Janhsen, K., 2008. GEK-Arzneimittel-Report 2008 262.
- Göbel, A., McArdell, C.S., Suter, M.J.-F., Giger, W., 2004. Trace determination of macrolide and sulfonamide antimicrobials, a human sulfonamide metabolite, and trimethoprim in wastewater using liquid chromatography coupled to electrospray tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 76, 4756–4764. <https://doi.org/10.1021/ac0496603>
- Golet, E.M., Xifra, I., Siegrist, H., Alder, A.C., Giger, W., 2003. Environmental Exposure Assessment of Fluoroquinolone Antibacterial Agents from Sewage to Soil. *Environ. Sci. Technol.* 37, 3243–3249. <https://doi.org/10.1021/es0264448>
- Gourmelon, M., Cillard, J., Pommepuy, M., 1994. Visible light damage to *Escherichia coli* in seawater: oxidative stress hypothesis. *J. Appl. Bacteriol.* 77, 105–112. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1994.tb03051.x>
- Graham, D.W., Bergeron, G., Bourassa, M.W., Dickson, J., Gomes, F., Howe, A., Kahn, L.H., Morley, P.S., Scott, H.M., Simjee, S., Singer, R.S., Smith, T.C., Storrs, C., Wittum, T.E., 2019a. Complexities in understanding antimicrobial resistance across domesticated animal, human, and environmental systems. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1441, 17–30. <https://doi.org/10.1111/nyas.14036>
- Graham, D.W., Collignon, P., Davies, J., Larsson, D.G.J., Snape, J., 2014. Underappreciated role of regionally poor water quality on globally increasing antibiotic resistance. *Environ. Sci. Technol.* 48, 11746–11747. <https://doi.org/10.1021/es504206x>

- Graham, D.W., Giesen, M.J., Bunce, J.T., 2019b. Strategic Approach for Prioritising Local and Regional Sanitation Interventions for Reducing Global Antibiotic Resistance. *Water* 11, 27. <https://doi.org/10.3390/w11010027>
- Gray, A.D., Todd, D., Hershey, A.E., 2020. The seasonal distribution and concentration of antibiotics in rural streams and drinking wells in the piedmont of North Carolina. *Sci. Total Environ.* 710, 136286. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136286>
- Griffiths, R.P., Moyer, C.L., Caldwell, B.A., Ye, C., Morita, R.Y., 1990. Long-term starvation-induced loss of antibiotic resistance in bacteria. *Microb. Ecol.* 19, 251–257. <https://doi.org/10.1007/BF02017169>
- Grimont, F., Grimont, P.A.D., 2006. The Genus *Enterobacter*, in: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (Eds.), *The Prokaryotes: Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass*. Springer, New York, NY, pp. 197–214. https://doi.org/10.1007/0-387-30746-X_9
- Güde, H., Eckenfels, S., Palmer, A., Fitz, S., Pietruske, J., Mc Taggart, K., Haibel, B., Setzer, T., 2001. Erfassung und Bewertung von Eintragswegen für Belastungen mit Fäkalkeimen im Einzugsgebiet der Seefelder Aach (Bodenseekreis). *Surv. Eval. Entry Paths Faecal Contam. Catchment Area Seefelder Ach Bodensee Dist.*
- Gujer, W., 1999. *Siedlungswasserwirtschaft*. Springer.
- Günther, J., Kern, W.V., Nink, K., Schröder, H. (Eds.), 2003. *Solange sie noch wirken... Kommentare und Analysen zum Antibiotikaverbrauch in Deutschland*. Wiss. Inst. der AOK, Bonn.
- Gupta, N., Limbago, B.M., Patel, J.B., Kallen, A.J., 2011. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: epidemiology and prevention. *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.* 53, 60–67. <https://doi.org/10.1093/cid/cir202>
- Gupta, S.K., Shin, H., Han, D., Hur, H.-G., Unno, T., 2018. Metagenomic analysis reveals the prevalence and persistence of antibiotic- and heavy metal-resistance genes in wastewater treatment plant. *J. Microbiol. Seoul Korea* 56, 408–415. <https://doi.org/10.1007/s12275-018-8195-z>
- Hagendorf, U., Bartocha, W., Diehl, K., Feuerpfeil, I., Hummel, A., Lopez-Pila, J., Szewzyk, R., 2002. *Mikrobiologische Untersuchungen zur seuchenhygienischen Bewertung naturnaher Abwasserbehandlungsanlagen*. WaBoLu 3/02.
- Hajia, M., Rahbar, M., Zadeh, M.M., 2012. A novel method CHROMagar for screening vancomycin-resistant enterococci (VRE) isolates. *Afr. J. Biotechnol.* 14, 9865–9868. <https://doi.org/10.5897/AJB12.328>
- Harbarth, S., 2007. Antibiotikaanwendung - Einfluss auf Resistenzbildung und -selektion. *Krankenhaushygiene Up2date* 2, 357–367.
- Harbarth, S., Balkhy, H.H., Goossens, H., Jarlier, V., Kluytmans, J., Laxminarayan, R., Saam, M., Van Belkum, A., Pittet, D., Pittet, D., 2015. *Antimicrobial*

- resistance: one world, one fight! *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 4, 49. <https://doi.org/10.1186/s13756-015-0091-2>
- Harris, P.N., Peleg, A.Y., Iredell, J., Ingram, P.R., Miyakis, S., Stewardson, A.J., Rogers, B.A., McBryde, E.S., Roberts, J.A., Lipman, J., Athan, E., Paul, S.K., Baker, P., Harris-Brown, T., Paterson, D.L., 2015. Meropenem versus piperacillin-tazobactam for definitive treatment of bloodstream infections due to ceftriaxone non-susceptible *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp (the MERINO trial): study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* 16, 24. <https://doi.org/10.1186/s13063-014-0541-9>
- Harwood, V.J., Staley, C., Badgley, B.D., Borges, K., Korajkic, A., 2014. Microbial source tracking markers for detection of fecal contamination in environmental waters: relationships between pathogens and human health outcomes. *FEMS Microbiol. Rev.* 38, 1–40. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12031>
- Hassoun-Kheir, N., Stabholz, Y., Kreft, J.-U., de la Cruz, R., Romalde, J.L., Nesme, J., Sørensen, S.J., Smets, B.F., Graham, D., Paul, M., 2020. Comparison of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes abundance in hospital and community wastewater: A systematic review. *Sci. Total Environ.* 743, 140804. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140804>
- Heinrichfreise, B., 2006. Antibiotika-Multiresistenz bei *Pseudomonas aeruginosa*. Dissertation. Bonn.
- Hembach, N., Schmid, F., Alexander, J., Hiller, C., Rogall, E.T., Schwartz, T., 2017. Occurrence of the mcr-1 Colistin Resistance Gene and other Clinically Relevant Antibiotic Resistance Genes in Microbial Populations at Different Municipal Wastewater Treatment Plants in Germany. *Front. Microbiol.* 8, 1282. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01282>
- Herdegen, T., Böhm, R., Culman, J., Gohlke, P., Luippold, G., 2013. *Kurzlehrbuch Pharmakologie und Toxikologie*, 2nd ed. Georg Thieme Verlag.
- Heudorf, U., Kempf, V., Reinheimer, C., Exner, M., Schmithausen, R., Imirzalioglu, C., Chakraborty, T., 2018. *Klebsiella pneumoniae* KPC-3 Ausbruch am Universitätsklinikum Frankfurt am Main – Teil II: weitere umwelthygienische Erkenntnisse. Presented at the Der Öffentliche Gesundheitsdienst – jetzt erst recht! 68. Wissenschaftlicher Kongress des Bundesverbandes der Ärztinnen und Ärzte des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (BVÖGD) und des Bundesverbandes der Zahnärzte des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (BZÖG) in Zusammenarbeit mit der Gesellschaft für Hygiene, Umweltmedizin und Präventivmedizin (GHUP), Osnabrück, Niedersachsen, p. 383. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1639204>
- Heuer, H., Schmitt, H., Smalla, K., 2011. Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. *Curr. Opin. Microbiol.* 14, 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.009>
- Hiller, C.X., Hübner, U., Fajnorova, S., Schwartz, T., Drewes, J.E., 2019. Antibiotic microbial resistance (AMR) removal efficiencies by conventional and advanced

- wastewater treatment processes: A review. *Sci. Total Environ.* 685, 596–608. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.315>
- Hof, H., Dörties, R., 2002. *Medizinische Mikrobiologie*, 2. Auflage. ed. Thieme Verlag.
- Högenauer, C., Langner, C., Beubler, E., Lippe, I.T., Schicho, R., Gorkiewicz, G., Krause, R., Gerstgrasser, N., Krejs, G.J., Hinterleitner, T.A., 2006. *Klebsiella oxytoca* as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. *N. Engl. J. Med.* 355, 2418–2426. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa054765>
- Holländer, R., Bullermann, M., Gross, C., Hartung, H., König, K., Lücke, F.-K., Nolde, E., 1996. Mikrobiologisch-hygienische Aspekte bei der Nutzung von Regenwasser als Betriebswasser für Toilettenspülung, Gartenbewässerung und Wäschewaschen. *Gesundheitswesen* 58, 288–293.
- Hornsey, M., Phee, L., Woodford, N., Turton, J., Meunier, D., Thomas, C., Wareham, D.W., 2013. Evaluation of three selective chromogenic media, CHROMagar ESBL, CHROMagar CTX-M and CHROMagar KPC, for the detection of *Klebsiella pneumoniae* producing OXA-48 carbapenemase: Table 1. *J. Clin. Pathol.* 66, 348–350. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2012-201234>
- Huang, T.-D., Bogaerts, P., Berhin, C., Guisset, A., Glupczynski, Y., 2010. Evaluation of Brilliance ESBL Agar, a Novel Chromogenic Medium for Detection of Extended-Spectrum-Beta- Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *J. Clin. Microbiol.* 48, 2091–2096. <https://doi.org/10.1128/JCM.02342-09>
- Huijbers, P.M.C., Blaak, H., de Jong, M.C.M., Graat, E.A.M., Vandenbroucke-Grauls, C.M.J.E., de Roda Husman, A.M., 2015. Role of the Environment in the Transmission of Antimicrobial Resistance to Humans: A Review. *Environ. Sci. Technol.* 49, 11993–12004. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02566>
- Hunter, P.R., Wilkinson, D.C., Catling, L.A., Barker, G.C., 2008. Meta-Analysis of Experimental Data Concerning Antimicrobial Resistance Gene Transfer Rates during Conjugation. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 6085–6090. <https://doi.org/10.1128/AEM.01036-08>
- Imming, P., 1989. Wie macht der Pilz das Penicillin? Aktuelle Forschung, Trends bei β -Lactam-Antibiotika. *Biosynthese der Penicilline und Cephalosporine. Pharm. Unserer Zeit* 18, 20–24. <https://doi.org/10.1002/pauz.19890180104>
- Islam, M.A., Islam, M., Hasan, R., Hossain, M.I., Nabi, A., Rahman, M., Goessens, W.H., Endtz, H.P., Boehm, A.B., Faruque, S.M., 2017. Environmental spread of New Delhi metallo- β -lactamase-1-producing multidrug-resistant bacteria in Dhaka, Bangladesh. *Appl. Environ. Microbiol.* 83.
- ISO 11133:2018, 2018. *Microbiology of Food, Animal Feed and Water - Preparation, Production, Storage and Performance Testing of Culture Media. ISO 11133:2014 + Amd 1.* International Organization for Standardization.
- ISO 16075-5:2021, 2021. *Guidelines for treated wastewater use for irrigation projects — Part 5: Treated wastewater disinfection and equivalent treatments.* Beuth Verlag GmbH, Berlin.

- ISO/DIS 8199:2017, 2017. Water Quality – General Requirements and Guidance for Microbiological Examinations by Culture. ISO/DIS 8199. International Organization for Standardization.
- IT.NRW, 2019. Statistisches Jahrbuch NRW - 2019. Statistisches Landesamt, Information und Technik Nordrhein-Westfalen.
- Iwane, T., Urase, T., Yamamoto, K., 2001. Possible impact of treated wastewater discharge on incidence of antibiotic resistant bacteria in river water. *Water Sci Technol* 43, 91–9.
- Jäger, T., Hembach, N., Elpers, C., Wieland, A., Alexander, J., Hiller, C., Krauter, G., Schwartz, T., 2018. Reduction of Antibiotic Resistant Bacteria During Conventional and Advanced Wastewater Treatment, and the Disseminated Loads Released to the Environment. *Front. Microbiol.* 9, 2599. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02599>
- Just, H.-M., 2006. Antibiotika im ambulanten und stationären Bereich. *Krankenhaushygiene Up2date* 1, 37–49.
- Jutkina, J., Marathe, N.P., Flach, C.-F., Larsson, D.G.J., 2018. Antibiotics and common antibacterial biocides stimulate horizontal transfer of resistance at low concentrations. *Sci. Total Environ.* 616–617, 172–178. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.312>
- Kang, G., Hart, C.A., Shears, P., 2014. 24 - Bacterial Enteropathogens, in: Farrar, J., Hotez, P.J., Junghanss, T., Kang, G., Lalloo, D., White, N.J. (Eds.), *Manson's Tropical Infectious Diseases (Twenty-Third Edition)*. W.B. Saunders, London, pp. 319-336.e2. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5101-2.00025-X>
- Karthikeyan, K.G., Meyer, M.T., 2006. Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. *Sci. Total Environ.* 361, 196–207. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.06.030>
- Kelsey, R.H., Scott, G.I., Porter, D.E., Thompson, B., Webster, L., 2003. Using multiple antibiotic resistance and land use characteristics to determine sources of fecal coliform bacterial pollution. *Env. Monit Assess* 81, 337–48.
- Kern, W.V., de With, K., Nink, K., Steib-Bauert, M., Schröder, H., 2006. Regional Variation in Outpatient Antibiotic Prescribing in Germany. *Infection* 34, 269–273. <https://doi.org/10.1007/s15010-006-6618-y>
- Kistemann, T., Classen, T., Koch, C., Dangendorf, F., Fischeder, R., Gebel, J., Vacata, V., Exner, M., 2002. Microbial load of drinking water reservoir tributaries during extreme rainfall and runoff. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 2188–97. <https://doi.org/Research Support, Non-U.S. Gov't>
- Kistemann, T., Koch, C., Classen, T., Rechenburg, A., Kramer, F., Herbst, S., Franke, C., Rind, E., Höser, C., Exner, M., 2009. Mikrobielle Fließgewässerbelastungen durch abwassertechnische Anlagen und diffuse Einträge. *Minist. Für Umw. Naturschutz Landwirtsch. Verbraucherschutz NRW*.
- Kistemann, T., Rind, E., Rechenburg, A., Koch, C., Classen, T., Herbst, S., Wienand, I., Exner, M., 2008. A comparison of efficiencies of microbiological pollution

- removal in six sewage treatment plants with different treatment systems. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 211, 534–545.
- Kistemann, T., Schmidt, A., Flemming, H.-C., 2016. Post-industrial river water quality-Fit for bathing again? *Int. J. Hyg. Environ. Health* 219, 629–642. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.07.007>
- Kliemann, B.S., Levin, A.S., Moura, M.L., Boszczowski, I., Lewis, J.J., 2016. Socioeconomic determinants of antibiotic consumption in the state of São Paulo, Brazil: the effect of restricting over-the-counter sales. *PLoS One* 11, e0167885.
- Koh, T.H., Ko, K., Jureen, R., Deepak, R.N., Tee, N.W.S., Tan, T.Y., Tay, M.R.J., Lee, V.J.M., Barkham, T.M.S., 2015. High Counts of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Hospital Sewage. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 36, 619–621. <https://doi.org/10.1017/ice.2015.44>
- Koivunen, J., Heinonen-Tanski, H., 2005. Peracetic acid (PAA) disinfection of primary, secondary and tertiary treated municipal wastewaters. *Water Res.* 39, 4445–4453.
- Kolwzan, B., Traczewska, T., Pawlaczyk-Szpilowa, M., 1993. Preliminary examination of resistance of bacteria isolated from drinking water to antibacterial agents. *Environ. Prot. Eng.* 17, 53–53.
- Konz, J.J., Lisi, K., Friebele, E., Dixon, D.A., 1989. Exposure factors handbook. Versar, Inc., Springfield, VA (USA).
- Korzeniewska, E., Korzeniewska, A., Harnisz, M., 2013. Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 91, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.01.014>
- Kothary, M.H., Babu, U.S., 2001. Infective Dose of Foodborne Pathogens in Volunteers: A Review. *J. Food Saf.* 21, 49–68. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2001.tb00307.x>
- Kraupner, N., Hutinel, M., Schumacher, K., Gray, D.A., Genheden, M., Fick, J., Flach, C.-F., Larsson, D.G.J., 2021. Evidence for selection of multi-resistant *E. coli* by hospital effluent. *Environ. Int.* 150, 106436. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106436>
- Kresken, M., Körber-Irrgang, B., Läufer, J., Decker-Burgard, S., Davies, T., 2011. In vitro activities of ceftobiprole combined with amikacin or levofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa*: evidence of a synergistic effect using time–kill methodology. *Int. J. Antimicrob. Agents* 38, 70–75. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.01.028>
- KRINKO, 2019. Ergänzung zur Empfehlung der KRINKO „Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen“ (2012) im Zusammenhang mit der von EUCAST neu definierten Kategorie „I“ bei der Antibiotikaresistenzbestimmung: Konsequenzen für die Definition von MRGN 82–83. <https://doi.org/10.25646/5916>

- KRINKO, 2012. Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 55, 1311–1354. <https://doi.org/10.1007/s00103-012-1549-5>
- Kuckartz, U., Rädiker, S., Ebert, T., Schehl, J., 2013. *Statistik: eine verständliche Einführung*. Springer-Verlag.
- Kümmerer, K., 2009. Antibiotics in the aquatic environment – A review. *Chemosphere* 75, 417–441. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>
- Kümmerer, K., 2004. Resistance in the environment. *J. Antimicrob. Chemother.* 54, 311–320.
- Kümmerer, K., 2003. Eintrag von Antibiotika in die aquatische Umwelt - Prüfung der biologischen Abbaubarkeit ausgewählter Antibiotika, ihr Vorkommen im Abwasser und ihr möglicher Einfluss auf die Reinigungsleistung kommunaler Kläranlagen. Umweltbundesamt Berlin, Berlin.
- Kümmerer, K., Al-Ahmad, A., Trittler, R., Unger, J., Wiethan, J., Henninger, A., 2002. Antibiotikaresistenz - Vorkommen und Übertragung in Abwasser, Oberflächenwasser und Trinkwasser. Teil 2: Resistenzbildung und Verbreitung durch Antibiotikaeintrag in Abwasser und Kläranlagen Untersuchung mittels Chemotaxonomie und Kläranlagensimulation. Abschlussbericht. Freiburg.
- Kümmerer, K., Henninger, A., 2003. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent. *Clin. Microbiol. Infect.* 9, 1203–1214.
- LaBauve, A.E., Wargo, M.J., 2012. Growth and Laboratory Maintenance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr. Protoc. Microbiol.* 25, 6E.1.1-6E.1.8. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc06e01s25>
- Lamba, M., Graham, D.W., Ahammad, S.Z., 2017. Hospital Wastewater Releases of Carbapenem-Resistance Pathogens and Genes in Urban India. *Environ. Sci. Technol.* 51, 13906–13912. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03380>
- Land NRW, 2021. ELWAS Web [WWW Document]. ELWAS-WEB. URL <https://www.elwasweb.nrw.de/elwas-web/index.jsf;jsessionid=6EA4BBD39CD7789A49C449CF485D87F6#> (accessed 2.23.21).
- LaPara, T.M., Burch, T.R., McNamara, P.J., Tan, D.T., Yan, M., Eichmiller, J.J., 2011. Tertiary-treated municipal wastewater is a significant point source of antibiotic resistance genes into Duluth-Superior Harbor. *Environ. Sci. Technol.* 45, 9543–9549. <https://doi.org/10.1021/es202775r>
- Larkin, R.P., 2015. Soil health paradigms and implications for disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 53, 199–221. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080614-120357>

- Launay, M.A., Dittmer, U., Steinmetz, H., 2016. Organic micropollutants discharged by combined sewer overflows—characterisation of pollutant sources and stormwater-related processes. *Water Res.* 104, 82–92.
- Laurens, C., Jean-Pierre, H., Licznar-Fajardo, P., Hantova, S., Godreuil, S., Martinez, O., Jumas-Bilak, E., 2018. Transmission of IMI-2 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from river water to human. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 15, 88–92. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.06.022>
- Laxminarayan, R., Duse, A., Watal, C., Zaidi, A.K., Wertheim, H.F., Sumpradit, N., Vlieghe, E., Hara, G.L., Gould, I.M., Goossens, H., 2013. Antibiotic resistance—the need for global solutions. *Lancet Infect. Dis.* 13, 1057–1098.
- Lazarova, V., Asano, T., 2013. Milestones in water reuse. IWA publishing.
- Leatherbarrow, A.J.H., Griffiths, R., Hart, C.A., Kemp, R., Williams, N.J., Diggle, P.J., Wright, E.J., Sutherst, J., Houghton, P., French, N.P., 2007. *Campylobacter lari*: genotype and antibiotic resistance of isolates from cattle, wildlife and water in an area of mixed dairy farmland in the United Kingdom. *Environ. Microbiol.* 9, 1772–1779. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01295.x>
- Lee, J., Jeon, J.H., Shin, J., Jang, H.M., Kim, S., Song, M.S., Kim, Y.M., 2017. Quantitative and qualitative changes in antibiotic resistance genes after passing through treatment processes in municipal wastewater treatment plants. *Sci. Total Environ.* 605–606, 906–914. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.250>
- Lemke, M.J., Leff, L.G., 2006. Culturability of Stream Bacteria Assessed at the Assemblage and Population Levels. *Microb. Ecol.* 51, 365–374. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9026-z>
- Leonard, A.F.C., Yin, X.L., Zhang, T., Hui, M., Gaze, W.H., 2018. A coliform-targeted metagenomic method facilitating human exposure estimates to *Escherichia coli*-borne antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiol. Ecol.* 94. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy024>
- Leonard, A.F.C., Zhang, L., Balfour, A.J., Garside, R., Gaze, W.H., 2015. Human recreational exposure to antibiotic resistant bacteria in coastal bathing waters. *Environ. Int.* 82, 92–100. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.02.013>
- Lépesová, K., Olejníková, P., Mackuřák, T., Tichý, J., Birošová, L., 2019. Annual changes in the occurrence of antibiotic-resistant coliform bacteria and enterococci in municipal wastewater. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26, 18470–18483. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05240-9>
- Leung, K., Cassidy, M.B., Holmes, S.B., Lee, H., Trevors, J.T., 1995. Survival of $\hat{\text{I}}^{\circ}$ -carrageenan-encapsulated and unencapsulated *Pseudomonas aeruginosa* UG2Lr cells in forest soil monitored by polymerase chain reaction and spread plating. *FEMS Microbiol. Ecol.* 16, 71–82. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1995.tb00270.x>

- Lindberg, R., Jarnheimer, P.-Å., Olsen, B., Johansson, M., Tysklind, M., 2004. Determination of antibiotic substances in hospital sewage water using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry and group analogue internal standards. *Chemosphere* 57, 1479–1488. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.09.015>
- Lindsey, M.E., Meyer, M., Thurman, E.M., 2001. Analysis of Trace Levels of Sulfonamide and Tetracycline Antimicrobials in Groundwater and Surface Water Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 73, 4640–4646. <https://doi.org/10.1021/ac010514w>
- Lister, P.D., Wolter, D.J., Hanson, N.D., 2009. Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 22, 582–610. <https://doi.org/10.1128/CMR.00040-09>
- Liu, Y., Hou, L., Bian, W., Zhou, B., Liang, D., Li, J., 2020. Turbidity in Combined Sewer Sewage: An Identification of Stormwater Detention Tanks. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17, 3053. <https://doi.org/10.3390/ijerph17093053>
- Lye, D.J., 2009. Rooftop runoff as a source of contamination: A review. *Sci. Total Environ.* 407, 5429–5434. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.07.011>
- LZG.NRW, 2019. Leitfaden zur rationalen Antiinfektiva-Therapie im stationären Bereich.
- Maddox, T.W., Williams, N.J., Clegg, P.D., O'Donnell, A.J., Dawson, S., Pinchbeck, G.L., 2011. Longitudinal study of antimicrobial-resistant commensal *Escherichia coli* in the faeces of horses in an equine hospital. *Prev. Vet. Med.* 100, 134–145. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.02.006>
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D.L., Rice, L.B., Stelling, J., Struelens, M.J., Vatopoulos, A., Weber, J.T., Monnet, D.L., 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 18, 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Malzahn, J., Garre, P., Mostert, C., 2018. Bedarf und Bedarfsgerechtigkeit - Umsetzung der Qualitätsagenda des Krankenhausstruktur-gesetzes—ein Vorschlag zur Vorgehensweise am Beispiel des Landes Nordrhein-Westfalen, in: Krankenhaus-Report 2018. Schattauer, Stuttgart, pp. 171–191.
- Mandilara, G.D., Smeti, E.M., Mavridou, A.T., Lambiri, M.P., Vatopoulos, A.C., Rigas, F.P., 2006. Correlation between bacterial indicators and bacteriophages in sewage and sludge. *FEMS Microbiol. Lett.* 263, 119–126.
- Mao, D., Yu, S., Rysz, M., Luo, Y., Yang, F., Li, F., Hou, J., Mu, Q., Alvarez, P.J.J., 2015. Prevalence and proliferation of antibiotic resistance genes in two municipal wastewater treatment plants. *Water Res.* 85, 458–466. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.010>

- Marshall, B.M., Levy, S.B., 2011. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clin. Microbiol. Rev.* 24, 718–733. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-11>
- Marti, R., Tien, Y.-C., Murray, R., Scott, A., Sabourin, L., Topp, E., 2014. Safely coupling livestock and crop production systems: how rapidly do antibiotic resistance genes dissipate in soil following a commercial application of swine or dairy manure? *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 3258–3265. <https://doi.org/10.1128/AEM.00231-14>
- Martinez, J.L., 2009. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proc. Biol. Sci.* 276, 2521–2530. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0320>
- Marx, A., 2021. Dürre 2018 - Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung UFZ [WWW Document]. *Dürremonitor Dtschl.* URL www.ufz.de/duerremonitor (accessed 5.8.21).
- Mateo-Sagasta, J., Zadeh, S.M., Turrall, H., Burke, J., 2017. Water pollution from agriculture: a global review. Executive summary.
- McCann, C.M., Christgen, B., Roberts, J.A., Su, J.-Q., Arnold, K.E., Gray, N.D., Zhu, Y.-G., Graham, D.W., 2019. Understanding drivers of antibiotic resistance genes in High Arctic soil ecosystems. *Environ. Int.* 125, 497–504. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.034>
- McLaughlin, S.J., Kalita, P.K., Kuhlenschmidt, M.S., 2013. Fate of *Cryptosporidium parvum* oocysts within soil, water, and Plant environment. *J. Environ. Manage.* 131, 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.09.017>
- Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R., Brouwer, A., 2020. Presence of SARS-Coronavirus-2 RNA in sewage and correlation with reported COVID-19 prevalence in the early stage of the epidemic in the Netherlands. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 7, 511–516.
- Mena, K.D., Gerba, C.P., 2009. Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water, in: *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Vol 201.* Springer, pp. 71–115.
- Mertens, F.M., Brunsch, A.F., Wunderlich-Pfeiffer, J., Christoffels, E., Kistemann, T., Schreiber, C., 2017. Mikroschadstoffe im eingeleiteten Wasser aus einem Regenwasserkanal im Einzugsgebiet der Swist. *Korresp. Wasserwirtsch.* 10, 145–150. <https://doi.org/10.3243/kwe2017.03.002>
- Mertens, F.M., Christoffels, E., Schreiber, C., Kistemann, T., 2012. Rückhalt von Arzneimitteln und Mikroorganismen am Beispiel des Retentionsbodenfilters Altendorf. *KA—Korrespondenz Abwasser Abfall* 1137.
- Meyer, E., Gastmeier, P., Deja, M., Schwab, F., 2013. Antibiotic consumption and resistance: Data from Europe and Germany. *Int. J. Med. Microbiol.* 303, 388–395. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.04.004>

- Monier, J.-M., Demanèche, S., Delmont, T.O., Mathieu, A., Vogel, T.M., Simonet, P., 2011. Metagenomic exploration of antibiotic resistance in soil. *Curr. Opin. Microbiol.* 14, 229–235. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.010>
- Morgan, D.J., Okeke, I.N., Laxminarayan, R., Perencevich, E.N., Weisenberg, S., 2011. Non-prescription antimicrobial use worldwide: a systematic review. *Lancet Infect. Dis.* 11, 692–701. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70054-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70054-8)
- Müller, H., Sib, E., Gajdiss, M., Klanke, U., Lenz-Plet, F., Barabasch, V., Albert, C., Schallenberg, A., Timm, C., Zacharias, N., Schmithausen, R.M., Engelhart, S., Exner, M., Parcina, M., Schreiber, C., Bierbaum, G., 2018. Dissemination of multi-resistant Gram-negative bacteria into German wastewater and surface waters. *FEMS Microbiol. Ecol.* 94. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy057>
- Müller, H., Zacharias, N., Timm, C., Schmithausen, R.M., Exner, M., Kistemann, T., Gajdiss, M., Bierbaum, G., Sib, E., Parcina, M., Schreiber, C., 2020. Antibiotika-resistente Bakterien im Abwasser von Patienten-Nasszellen. *Hyg. Med. Hygiene und Medizin*, 43–45.
- MULNV NRW, 2015. Bewirtschaftungsplan 2016-2021 - Steckbriefe der Planungseinheiten im Teileinzugsgebiet Rhein/Erft NRW -Steckbriefe für Oberflächengewässerwasserkörper - PE_ERF_1400: Swist.
- MULNV NRW, 1998. Niederschlagswasserbeseitigung gemäß § 51 a des Landeswassergesetzes RdErl. d. Ministeriums für Umwelt, Raumordnung und Landwirtschaft IV B 5 – 673/2-29010 / IV B 6 – 031 002 0901 v. 18.5.1998, IV B 5 – 673/2-29010 / IV B 6 – 031 002 0901.
- MULNV NRW, 1995. Wassergesetz für das Land Nordrhein-Westfalen (Landeswassergesetz - LWG -) in der Fassung der Bekanntmachung vom 25. Juni 1995, mit zukünftigem Stand vom 01.10.2021.
- MULNV NRW, 1991. Allgemeine Güteanforderungen für Fließgewässer (AGA) Entscheidungshilfe für die Wasserbehörden in wasserrechtlichen Erlaubnisverfahren RdErl. d. Ministeriums für Umwelt, Raumordnung und Landwirtschaft - IV B 7 1571/11-30707 - v. 14.5.1991.
- MULNV NRW, 1986. Gesetz über den Erftverband (ErftVG) Vom 3. Januar 1986 (Erftverbandgesetz - ErftVG) in der Fassung der Bekanntmachung vom 03. Januar 1986, mit zukünftigem Stand vom 03.06.2020.
- MULNV NRW, N., 2011. Klimawandel und Landwirtschaft-Auswirkungen der globalen Erwärmung auf die Entwicklung der Pflanzenproduktion in Nordrhein-Westfalen. Düsseldorf: Ministerium für Klimaschutz, Umwelt, Landwirtschaft, Natur-und
- MUNLV, 2003. Retentionsbodenfilter. Handbuch für Planung, Bau und Betrieb. Düsseldorf.
- Munoz-Price, L.S., Poirel, L., Bonomo, R.A., Schwaber, M.J., Daikos, G.L., Cormican, M., Cornaglia, G., Garau, J., Gniadkowski, M., Hayden, M.K., Kumarasamy, K., Livermore, D.M., Maya, J.J., Nordmann, P., Patel, J.B.,

- Paterson, D.L., Pitout, J., Villegas, M.V., Wang, H., Woodford, N., Quinn, J.P., 2013. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect. Dis.* 13, 785–796. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70190-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70190-7)
- Mutschler, E., Geisslinger, G., Kroemer, H.K., Menzel, S., Ruth, P., 2013. Mutschler Arzneimittelwirkungen: Lehrbuch der Pharmakologie, der klinischen Pharmakologie und Toxikologie: mit einführenden Kapiteln in die Anatomie, Physiologie und Pathophysiologie, 10., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage. ed. WVG, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart.
- Nguyen, L., Garcia, J., Gruenberg, K., MacDougall, C., 2018. Multidrug-Resistant *Pseudomonas* Infections: Hard to Treat, But Hope on the Horizon? *Curr. Infect. Dis. Rep.* 20, 23. <https://doi.org/10.1007/s11908-018-0629-6>
- Nikaido, H., 2001. Preventing drug access to targets: cell surface permeability barriers and active efflux in bacteria. *Semin. Cell Dev. Biol.* 12, 215–223. <https://doi.org/10.1006/scdb.2000.0247>
- Nordmann, P., Naas, T., Poirel, L., 2011. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1791–1798. <https://doi.org/10.3201/eid1710.110655>
- Noyes, N.R., Yang, X., Linke, L.M., Magnuson, R.J., Dettenwanger, A., Cook, S., Geornaras, I., Woerner, D.E., Gow, S.P., McAllister, T.A., Yang, H., Ruiz, J., Jones, K.L., Boucher, C.A., Morley, P.S., Belk, K.E., 2016. Resistome diversity in cattle and the environment decreases during beef production. *eLife* 5, e13195. <https://doi.org/10.7554/eLife.13195>
- O’Flaherty, E., Solimini, A., Pantanella, F., Cummins, E., 2019. The potential human exposure to antibiotic resistant-*Escherichia coli* through recreational water. *Sci. Total Environ.* 650, 786–795. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.018>
- Oh, H., Lee, J., Kim, K., Kim, J., Choung, Y., Park, J., 2009. A novel laboratory cultivation method to examine antibiotic-resistance-related microbial risks in urban water environments. *Water Sci. Technol.* 59, 347–352. <https://doi.org/10.2166/wst.2009.857>
- Oliver, J.D., Dagher, M., Linden, K., 2005. Induction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* into the viable but nonculturable state following chlorination of wastewater. *J. Water Health* 3, 249–257. <https://doi.org/10.2166/wh.2005.040>
- O’Neill, J., 2016. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations.
- Ongut, G., Daloglu, A., Baysan, B., Daglar, D., Ogunc, D., Sekercioglu, A., Colak, D., Gunseren, F., 2014. Evaluation of a Chromogenic Medium for Detection of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-Producing *Escherichia Coli* and *Klebsiella Pneumoniae* Strains. *Clin. Lab.* 60. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2013.130812>

- Orb, R.K., 2012. Rückhalt hygienerrelevanter Bakterien in mischwasserbeschickten Retentionsbodenfiltern - Konstruktive Hinweise. Verl. Siedlungswasserwirtschaft, Karlsruhe.
- Ory, J., Bricheux, G., Robin, F., Togola, A., Forestier, C., Traore, O., 2019. Biofilms in hospital effluents as a potential crossroads for carbapenemase-encoding strains. *Sci. Total Environ.* 657, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.427>
- Overath, H., Merkel, W., Hiekel, S., 2000. Einleitung von Kläranlagenabläufen in kleine Fließgewässer: Bewertung der Ablaufqualität nach der EG-Badegewässer-Richtlinie. Ministerium für Umwelt und Naturschutz - Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen, Mülheim an der Ruhr.
- Pallares-Vega, R., Blaak, H., van der Plaats, R., de Roda Husman, A.M., Leal, L.H., van Loosdrecht, M.C., Weissbrodt, D.G., Schmitt, H., 2019. Determinants of presence and removal of antibiotic resistance genes during WWTP treatment: a cross-sectional study. *Water Res.* 161, 319–328.
- Paulus, G.K., Hornstra, L.M., Alygizakis, N., Slobodnik, J., Thomaidis, N., Medema, G., 2019. The impact of on-site hospital wastewater treatment on the downstream communal wastewater system in terms of antibiotics and antibiotic resistance genes. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 635–644. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.01.004>
- Peak, N., Knapp, C.W., Yang, R.K., Hanfelt, M.M., Smith, M.S., Aga, D.S., Graham, D.W., 2007. Abundance of six tetracycline resistance genes in wastewater lagoons at cattle feedlots with different antibiotic use strategies. *Environ. Microbiol.* 9, 143–151. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01123.x>
- Pepper, I.L., Brooks, J.P., Gerba, C.P., 2018. Antibiotic Resistant Bacteria in Municipal Wastes: Is There Reason for Concern? *Environ. Sci. Technol.* 52, 3949–3959. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04360>
- Pfaller, M.A., Segreti, J., 2006. Overview of the Epidemiological Profile and Laboratory Detection of Extended-Spectrum β -Lactamases. *Clin. Infect. Dis.* 42, S153–S163. <https://doi.org/10.1086/500662>
- Picão, R.C., Cardoso, J.P., Campana, E.H., Nicoletti, A.G., Petrolini, F.V.B., Assis, D.M., Juliano, L., Gales, A.C., 2013. The route of antimicrobial resistance from the hospital effluent to the environment: focus on the occurrence of KPC-producing *Aeromonas* spp. and *Enterobacteriaceae* in sewage. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 76, 80–85. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.02.001>
- Pires, S.M., Evers, E.G., van Pelt, W., Ayers, T., Scallan, E., Angulo, F.J., Havelaar, A., Hald, T., Med-Vet-Net Workpackage 28 Working Group, 2009. Attributing the human disease burden of foodborne infections to specific sources. *Foodborne Pathog. Dis.* 6, 417–424. <https://doi.org/10.1089/fpd.2008.0208>

- Pruden, A., Larsson, D.G.J., Amézquita, A., Collignon, P., Brandt, K.K., Graham, D.W., Lazorchak, J.M., Suzuki, S., Silley, P., Snape, J.R., Topp, E., Zhang, T., Zhu, Y.-G., 2013. Management options for reducing the release of antibiotics and antibiotic resistance genes to the environment. *Environ. Health Perspect.* 121, 878–885. <https://doi.org/10.1289/ehp.1206446>
- Quintela-Baluja, M., Abouelnaga, M., Romalde, J., Su, J.-Q., Yu, Y., Gomez-Lopez, M., Smets, B., Zhu, Y.-G., Graham, D.W., 2019. Spatial ecology of a wastewater network defines the antibiotic resistance genes in downstream receiving waters. *Water Res.* 162, 347–357. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.06.075>
- Quintela-Baluja, M., Chan, W.C., Alnakip, M.E., Abouelnaga, M., Graham, D.W., 2015. Sanitation, Water Quality, and Antibiotic Resistance Dissemination. *Battle Microb. Pathog. Basic Sci. Technol. Adv. Educ. Programs.*
- Qureshi, A.A., Dutka, B.J., 1979. Microbiological studies on the quality of urban stormwater runoff in Southern Ontario, Canada. *Water Res.* 13, 977–985. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(79\)90191-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(79)90191-X)
- Radke, M., Lauwigi, C., Heinkele, G., Mürdter, T.E., Letzel, M., 2009. Fate of the Antibiotic Sulfamethoxazole and Its Two Major Human Metabolites in a Water Sediment Test. *Environ. Sci. Technol.* 43, 3135–3141. <https://doi.org/10.1021/es900300u>
- Rahube, T.O., Marti, R., Scott, A., Tien, Y.-C., Murray, R., Sabourin, L., Zhang, Y., Duenk, P., Lapen, D.R., Topp, E., 2014. Impact of fertilizing with raw or anaerobically digested sewage sludge on the abundance of antibiotic-resistant coliforms, antibiotic resistance genes, and pathogenic bacteria in soil and on vegetables at harvest. *Appl. Environ. Microbiol.* 80, 6898–6907. <https://doi.org/10.1128/AEM.02389-14>
- Read, A.F., Woods, R.J., 2014. Antibiotic resistance management. *Evol. Med. Public Health* 2014, 147–147. <https://doi.org/10.1093/emph/eou024>
- Rechenburg, A., Koch, Ch., Classen, T., Kistemann, T., 2006. Impact of sewage treatment plants and combined sewer overflow basins on the microbiological quality of surface water. *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.* 54, 95–9. [https://doi.org/Research Support, Non-U.S. Gov't](https://doi.org/Research%20Support,%20Non-U.S.%20Gov't)
- Rechenburg, Andrea., Kistemann, T., 2009. Sewage effluent as a source of *Campylobacter* sp. in a surface water catchment. *Int. J. Environmental Health Res.* 19, 239–249. <https://doi.org/10.1080/09603120802460376>
- Reinthaler, F.F., Posch, J., Fereil, G., Wüst, G., Haas, D., Ruckebauer, G., Mascher, F., Marth, E., 2003. Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge. *Water Res.* 37, 1685–1690.
- Reissbrodt, R., Rienaeker, I., Romanova, J.M., Freestone, P.P.E., Haigh, R.D., Lyte, M., Tschäpe, H., Williams, P.H., 2002. Resuscitation of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and Enterohemorrhagic *Escherichia coli* from the Viable but Nonculturable State by Heat-Stable Enterobacterial Autoinducer. *Appl.*

- Environ. Microbiol. 68, 4788–4794. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.10.4788-4794.2002>
- Rhein-Sieg-Kreis, 2021. Wissenschaftsregion Bonn: Wissenschaftsregion [WWW Document]. Wiss. Bonn Wiss. URL <https://www.wissenschaftsregion-bonn.de/wissenschaftsregion/> (accessed 3.11.21).
- Riquelme, M.V., Garner, E., Gupta, S., Metch, J., Zhu, N., Blair, M., Arango-Argoty, G., Maile-Moskowitz, A., Li, A., Flach, C.-F., 2021. Wastewater Based Epidemiology Enabled Surveillance of Antibiotic Resistance. medRxiv.
- Rizzo, A., Tondera, K., Pálffy, T.G., Dittmer, U., Meyer, D., Schreiber, C., Zacharias, N., Ruppelt, J.P., Esser, D., Molle, P., Troesch, S., Masi, F., 2020. Constructed wetlands for combined sewer overflow treatment: A state-of-the-art review. *Sci. Total Environ.* 727, 138618. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138618>
- Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., Schwartz, T., Dagot, C., Ploy, M.C., Michael, I., Fatta-Kassinos, D., 2013. Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. *Sci. Total Environ.* 447, 345–360. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.032>
- Rodriguez-Mozaz, S., Chamorro, S., Marti, E., Huerta, B., Gros, M., Sánchez-Melsió, A., Borrego, C.M., Barceló, D., Balcázar, J.L., 2015. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river. *Water Res.* 69, 234–242. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.021>
- Ruppelt, J.P., Tondera, K., Schreiber, C., Kistemann, T., Pinnekamp, J., 2018. Reduction of bacteria and somatic coliphages in constructed wetlands for the treatment of combined sewer overflow (retention soil filters). *Int. J. Hyg. Environ. Health* 221, 727–733. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.04.011>
- Rusin, P.A., Rose, J.B., Haas, C.N., Gerba, C.P., 1997. Risk assessment of opportunistic bacterial pathogens in drinking water. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 57–83.
- Sabri, N.A., Schmitt, H., van der Zaan, B.M., Gerritsen, H.W., Rijnaarts, H.H.M., Langenhoff, A.A.M., 2021. Performance of full scale constructed wetlands in removing antibiotics and antibiotic resistance genes. *Sci. Total Environ.* 786, 147368. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147368>
- Saito, R., Koyano, S., Nagai, R., Okamura, N., Moriya, K., Koike, K., 2010. Evaluation of a chromogenic agar medium for the detection of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: Chromogenic media for ESBL producers. *Lett. Appl. Microbiol.* 51, 704–706. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02945.x>
- Sakamoto, R., Ohno, A., Nakahara, T., Satomura, K., Iwanaga, S., Kouyama, Y., Kura, F., Kato, N., Matsubayashi, K., Okumiya, K., Yamaguchi, K., 2009. Legionella pneumophila in Rainwater on Roads. *Emerg. Infect. Dis.* 15, 1295–1297. <https://doi.org/10.3201/eid1508.090317>

- Sanganyado, E., Gwenzi, W., 2019. Antibiotic resistance in drinking water systems: Occurrence, removal, and human health risks. *Sci. Total Environ.* 669, 785–797. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.162>
- Santiago-Rodriguez, T.M., Rivera, J.I., Coradin, M., Toranzos, G.A., 2013. Antibiotic-resistance and virulence genes in *Enterococcus* isolated from tropical recreational waters. *J. Water Health* 11, 387–396. <https://doi.org/10.2166/wh.2013.005>
- Scheurer, M., Heß, S., Lüddecke, F., Sacher, F., Güde, H., Löffler, H., Gallert, C., 2015. Removal of micropollutants, facultative pathogenic and antibiotic resistant bacteria in a full-scale retention soil filter receiving combined sewer overflow. *Environ. Sci. Process. Impacts* 17, 186–196. <https://doi.org/10.1039/c4em00494a>
- Schijven, J.F., Blaak, H., Schets, F.M., de Roda Husman, A.M., 2015. Fate of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* from Faecal Sources in Surface Water and Probability of Human Exposure through Swimming. *Environ. Sci. Technol.* 49, 11825–11833. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01888>
- Schmiege, D., Zacharias, N., Sib, E., Falkenberg, T., Moebus, S., Evers, M., Kistemann, T., 2021. Prevalence of multidrug-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in urban community wastewater. *Sci. Total Environ.* 785, 147269. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147269>
- Schmithausen, R., Schulze-Geisthoevel, S., Heinemann, C., Bierbaum, G., Exner, M., Petersen, B., Steinhoff-Wagner, J., 2018. Reservoirs and Transmission Pathways of Resistant Indicator Bacteria in the Biotope Pig Stable and along the Food Chain: A Review from a One Health Perspective. *Sustainability* 10, 3967. <https://doi.org/10.3390/su10113967>
- Schreiber, C., 2019. Antibiotikaresistenzen in Abwasser und Gewässern: Einträge, Vorkommen, Verbreitung und gesundheitliche Bedeutung antibiotikaresistenter Bakterien in der aquatischen Umwelt, 4th ed. Shaker, Aachen.
- Schreiber, C., 2011. Einträge, Vorkommen, Verbreitung und gesundheitliche Bedeutung antibiotikaresistenter Bakterien in Abwasser und Gewässern - Ein sozial-ökologischer Beitrag zur Geographischen Gesundheitsforschung (Dissertation). Universität Bonn, Bonn.
- Schreiber, C., Heinkel, S.-B., Zacharias, N., Mertens, F.-M., Christoffels, E., Gayer, U., Koch, C., Kistemann, T., 2019. Infectious rain? Evaluation of human pathogen concentrations in stormwater in separate sewer systems. *Water Sci. Technol.* 80, 1022–1030. <https://doi.org/10.2166/wst.2019.340>
- Schreiber, C., Kistemann, T., 2010. Die Berücksichtigung von Aspekten des Gesundheitsschutzes und der Gesundheitsförderung im modernen Gewässermanagement. *Hyg. Med.* 35, 352–360.

- Schreiber, C., Rechenburg, A., Koch, C., Christoffels, E., Claßen, T., Willkomm, M., Mertens, F.M., Brunsch, A., Herbst, S., Rind, E., Kistemann, T., 2016. Two decades of system-based hygienic–microbiological research in Swist river catchment (Germany). *Environ. Earth Sci.* 75, 1393. <https://doi.org/10.1007/s12665-016-6100-9>
- Schreiber, C., Zacharias, N., Essert, S.M., Wasser, F., Müller, H., Sib, E., Precht, T., Parcina, M., Bierbaum, G., Schmithausen, R.M., Kistemann, T., Exner, M., 2021. Clinically relevant antibiotic-resistant bacteria in aquatic environments – An optimized culture-based approach. *Sci. Total Environ.* 750, 142265. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142265>
- Schwabe, U., Paffrath, D. (Eds.), 2016. *Arzneiverordnungs-Report 2016: Aktuelle Daten, Kosten, Trends und Kommentare*, 1st ed. Springer Berlin, Berlin.
- Schwartz, T., Kohnen, W., Jansen, B., Obst, U., 2003. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiol. Ecol.* 43, 325–335. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2003.tb01073.x>
- Seis, W., Lesjean, B., Maaßen, S., Balla, D., Hochstrat, R., Düppenbecker, B., 2016. Rahmenbedingungen für die umweltgerechte Nutzung von behandeltem Abwasser zur landwirtschaftlichen Bewässerung. Online Verfügbar Unter https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/378/publikationen/texte/342016/rahmenbedingungen_fuer_die_umweltgerechte_nutzung_von_behandeltem_abwasser_0.pdf Pdf Zuletzt Geprüft Am 25, 2019.
- Sheskin, D.J., 2003. *Handbook of Parametric and Nonparametric Statistical Procedures: Third Edition*, 3rd ed. Chapman and Hall/CRC, New York. <https://doi.org/10.1201/9781420036268>
- Shi, X., Kadiyala, U., VanEpps, J.S., Yau, S.-T., 2018. Culture-free bacterial detection and identification from blood with rapid, phenotypic, antibiotic susceptibility testing. *Sci. Rep.* 8, 3416. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21520-9>
- Sib, E., Lenz-Plet, F., Barabasch, V., Klanke, U., Savin, M., Hembach, N., Schallenberg, A., Kehl, K., Albert, C., Gajdiss, M., Zacharias, N., Müller, H., Schmithausen, R.M., Exner, M., Kreyenschmidt, J., Schreiber, C., Schwartz, T., Parčina, M., Bierbaum, G., 2020. Bacteria isolated from hospital, municipal and slaughterhouse wastewaters show characteristic, different resistance profiles. *Sci. Total Environ.* 746, 140894. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140894>
- Sib, E., Voigt, A.M., Wilbring, G., Schreiber, C., Faerber, H.A., Skutlarek, D., Parcina, M., Mahn, R., Wolf, D., Brossart, P., Geiser, F., Engelhart, S., Exner, M., Bierbaum, G., Schmithausen, R.M., 2019. Antibiotic resistant bacteria and resistance genes in biofilms in clinical wastewater networks. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 655–662. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.03.006>
- Simner, P.J., Antar, A.A.R., Hao, S., Gurtowski, J., Tamma, P.D., Rock, C., Opene, B.N.A., Tekle, T., Carroll, K.C., Schatz, M.C., Timp, W., 2018. Antibiotic

- pressure on the acquisition and loss of antibiotic resistance genes in *Klebsiella pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* 73, 1796–1803. <https://doi.org/10.1093/jac/dky121>
- Simo Tchuinte, P.L., Stalder, T., Venditti, S., Ngandjio, A., Dagot, C., Ploy, M.-C., Barraud, O., 2016. Characterisation of class 3 integrons with oxacillinase gene cassettes in hospital sewage and sludge samples from France and Luxembourg. *Int. J. Antimicrob. Agents* 48, 431–434. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.06.018>
- Sims, N., Kasprzyk-Hordern, B., 2020. Future perspectives of wastewater-based epidemiology: Monitoring infectious disease spread and resistance to the community level. *Environ. Int.* 139, 105689. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105689>
- Smalla, K., Cook, K., Djordjevic, S.P., Klümper, U., Gillings, M., 2018. Environmental dimensions of antibiotic resistance: assessment of basic science gaps. *FEMS Microbiol. Ecol.* 94. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy195>
- Sokari, T.G., Ibiebele, D.D., Ottih, R.M., 1988. Antibiotic resistance among coliforms and *Pseudomonas* spp. from bodies of water around Port Harcourt, Nigeria. *J. Appl. Bacteriol.* 64, 355–359. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1988.tb01880.x>
- Søraas, A., Sundsfjord, A., Sandven, I., Brunborg, C., Jenum, P.A., 2013. Risk Factors for Community-Acquired Urinary Tract Infections Caused by ESBL-Producing Enterobacteriaceae –A Case–Control Study in a Low Prevalence Country. *PLoS ONE* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069581>
- Spratt, B., 1994. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science* 264, 388–393. <https://doi.org/10.1126/science.8153626>
- Stachurová, T., Píková, H., Bartas, M., Semerád, J., Svobodová, K., Malachová, K., 2021. Beta-lactam resistance development during the treatment processes of municipal wastewater treatment plants. *Chemosphere* 280, 130749. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130749>
- Stange, C., Sidhu, J.P.S., Toze, S., Tiehm, A., 2019. Comparative removal of antibiotic resistance genes during chlorination, ozonation, and UV treatment. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 541–548. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.02.002>
- Stange, C., Thiem, A., 2015. Verhalten von Antibiotikaresistenzgenen bei der Trinkwasseraufbereitung: Eine vergleichende Risikobewertung für die Wasserversorgung -. *Technol. Wasser, Innovative Entwicklung aus dem Forschungsradar Wasser* 70, 59–75.
- Stevens, D.L., Herr, D., Lampiris, H., Hunt, J.L., Batts, D.H., Hafkin, B., the Linezolid MRSA Study Group, 2002. Linezolid versus Vancomycin for the Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. *Clin. Infect. Dis.* 34, 1481–1490. <https://doi.org/10.1086/340353>

- Suerbaum, S., Bockemühl, J., Karch, H., 2009. Enterobakterien, in: Hahn, H., Kaufmann, S.H.E., Schulz, T.F., Suerbaum, S. (Eds.), *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*, Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 237–268. https://doi.org/10.1007/978-3-540-46362-7_29
- Swayne, R., Ellington, M.J., Curran, M.D., Woodford, N., Aliyu, S.H., 2013. Utility of a novel multiplex TaqMan PCR assay for metallo- β -lactamase genes plus other TaqMan assays in detecting genes encoding serine carbapenemases and clinically significant extended-spectrum β -lactamases. *Int. J. Antimicrob. Agents* 42, 352–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.06.018>
- Taguchi, H., Kaneko, T., Onozaki, M., Kubo, R., Kamiya, S., 2004. Evaluation of a New Chromogenic Medium for Isolation of MRSA. *J. Jpn. Assoc. Infect. Dis.* 78, 54–58. <https://doi.org/10.11150/kansenshogakuzasshi1970.78.54>
- Timm, C., Luther, S., Jurzik, L., Hamza, I.A., Kistemann, T., 2016. Applying QMRA and DALY to assess health risks from river bathing. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 219, 681–692. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.07.017>
- Tondera, K., Koenen, S., Pinnekamp, J., 2013. Survey monitoring results on the reduction of micropollutants, bacteria, bacteriophages and TSS in retention soil filters. *Water Sci. Technol.* 68, 1004–1012. <https://doi.org/10.2166/wst.2013.340>
- Tondera, K., Ruppelt, J.P., Pinnekamp, J., Kistemann, T., Schreiber, C., 2019. Reduction of micropollutants and bacteria in a constructed wetland for combined sewer overflow treatment after 7 and 10 years of operation. *Sci. Total Environ.* 651, 917–927. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.174>
- Tong, J., Tang, A., Wang, H., Liu, X., Huang, Z., Wang, Z., Zhang, J., Wei, Y., Su, Y., Yanyan, Zhang, Y., 2019. Microbial community evolution and fate of antibiotic resistance genes along six different full-scale municipal wastewater treatment processes. *Bioresour. Technol.* 272, 489–500. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.10.079>
- Toze, R.S.G., 1997. *Microbial pathogens in wastewater: literature review for urban water systems multi-divisional research program.*
- Treepong, P., Kos, V.N., Guyeux, C., Blanc, D.S., Bertrand, X., Valot, B., Hocquet, D., 2018. Global emergence of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* ST235 clone. *Clin. Microbiol. Infect.* 24, 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.06.018>
- UBA, 2017. *Empfehlungen des UBA für die Entwicklung von EU-Mindestqualitätsanforderungen für Wasserwiederverwendung [WWW Document].* Umweltbundesamt. URL https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/421/dokumente/wa-ter-reuse_positionspapier_uba_de.pdf (accessed 5.8.21).
- Valenza, G., Schierling, M., Eisenberger, D., Huber, S., Höller, C., n.d. Antibiotikaresistente Bakterien (ARB) in bayerischen Gewässern. *Hyg. Med.* 38–39.

- Van Derlinden, E., Bernaerts, K., Van Impe, J.F., 2008. Accurate estimation of cardinal growth temperatures of *Escherichia coli* from optimal dynamic experiments. *Int. J. Food Microbiol.* 128, 89–100. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.07.007>
- Van Looveren, M., Goossens, H., Group, A.S., 2004. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 10, 684–704.
- Vietoris, F., Dericks, B., Schmithausen, R.M., Döhla, M., 2019. Untersuchungen von Badegewässern in NRW, 4th ed. Shaker, Aachen.
- Voigt, A.M., Faerber, H.A., Wilbring, G., Skutlarek, D., Felder, C., Mahn, R., Wolf, D., Brossart, P., Hornung, T., Engelhart, S., Exner, M., Schmithausen, R.M., 2019. The occurrence of antimicrobial substances in toilet, sink and shower drainpipes of clinical units: A neglected source of antibiotic residues. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 455–467. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.12.013>
- Voigt, A.M., Skutlarek, D., Timm, Ch., Schreiber, Ch., Felder, C., Exner, M., Faerber, H., 2020a. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry as a fast and simple method for the determination of several antibiotics in different aqueous matrices. *Environ. Chem.* 17, 54. <https://doi.org/10.1071/EN19115>
- Voigt, A.M., Zacharias, N., Timm, C., Wasser, F., Sib, E., Skutlarek, D., Parcina, M., Schmithausen, R.M., Schwartz, T., Hembach, N., Tiehm, A., Stange, C., Engelhart, S., Bierbaum, G., Kistemann, T., Exner, M., Faerber, H.A., Schreiber, C., 2020b. Association between antibiotic residues, antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in anthropogenic wastewater - An evaluation of clinical influences. *Chemosphere* 241, 125032. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125032>
- Voss, A., Loeffen, F., Bakker, J., Klaassen, C., Wulf, M., 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Pig Farming. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 1965–1966. <https://doi.org/10.3201/eid1112.050428>
- Waldhoff, Axel., 2008. Hygienisierung von Mischwasser in Retentionsbodenfiltern (RBF). Universität Kassel, Kassel.
- Wallmann, J., Bender, A., Bode, C., Körper, L.M., Heberer, T., 2016. Abgabemengenerfassung antimikrobiell wirksamer Stoffe in Deutschland 2016 65, 1650–1659.
- Walsh, T.R., 2010. Emerging carbapenemases: a global perspective. *Int. J. Antimicrob. Agents* 36, S8–S14. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(10\)70004-2](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(10)70004-2)
- Watkinson, A.J., Murby, E.J., Kolpin, D.W., Costanzo, S.D., 2009. The occurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water. *Sci. Total Environ.* 407, 2711–2723. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.059>
- Wengenroth, L., Berglund, F., Blaak, H., Chifiriuc, M.C., Flach, C.-F., Pircalabioru, G.G., Larsson, D.G., Marutescu, L., van Passel, M.W., Popa, M., 2021. Antibiotic Resistance in Wastewater Treatment Plants and Transmission Risks

- for Employees and Residents: The Concept of the AWARE Study. *Antibiotics* 10, 478.
- Westphal-Settele, K., Konradi, S., Balzer, F., Schönfeld, J., Schmithausen, R., 2018. Die Umwelt als Reservoir für Antibiotikaresistenzen: Ein wachsendes Problem für die öffentliche Gesundheit? *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 61, 533–542. <https://doi.org/10.1007/s00103-018-2729-8>
- Westrell, T., 2004. Microbial risk assessment and its implications for risk management in urban water systems (PhD Thesis). Linköping University Electronic Press.
- WHO, 2017. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics.
- WHO (Ed.), 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- WHO & UNICEF, 2017. Progress on drinking water, sanitation and hygiene: 2017 update and SDG baselines.
- Willems, E., Cartuyvels, R., Magerman, K., Verhaegen, J., 2013. Evaluation of 3 different agar media for rapid detection of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from surveillance samples. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 76, 16–19. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.02.013>
- Woerther, P.-L., Burdet, C., Chachaty, E., Andremont, A., 2013. Trends in Human Fecal Carriage of Extended-Spectrum -Lactamases in the Community: Toward the Globalization of CTX-M. *Clin. Microbiol. Rev.* 26, 744–758. <https://doi.org/10.1128/CMR.00023-13>
- Yaziz, M.I., Gunting, H., Sapari, N., Ghazali, A.W., 1989. Variations in rainwater quality from roof catchments. *Water Res.* 23, 761–765. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(89\)90211-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(89)90211-X)
- Zacharias, N., Essert, S.M., Brunsch, A.F., Christoffels, E., Kistemann, T., Schreiber, C., 2020. Performance of retention soil filters for the reduction of hygienically-relevant microorganisms in combined sewage overflow and treated wastewater. *Water Sci. Technol.* 81, 535–543. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.132>
- Zähner, H., Maas, W.K., 1972. *Biology of Antibiotics*, Heidelberg Science Library. Springer-Verlag, New York. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-9373-3>
- Zar, F.A., Bakkanagari, S.R., Moorthi, K.M.L.S.T., Davis, M.B., 2007. A Comparison of Vancomycin and Metronidazole for the Treatment of Clostridium difficile-Associated Diarrhea, Stratified by Disease Severity. *Clin. Infect. Dis.* 45, 302–307. <https://doi.org/10.1086/519265>
- Zgheib, S., Moilleron, R., Chebbo, G., 2012. Priority pollutants in urban stormwater: Part 1 – Case of separate storm sewers. *Water Res., Special Issue on Stormwater in urban areas* 46, 6683–6692. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.012>
- Zgurskaya, H.I., López, C.A., Gnanakaran, S., 2015. Permeability Barrier of Gram-Negative Cell Envelopes and Approaches To Bypass It. *ACS Infect. Dis.* 1, 512–522. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.5b00097>

- Zhang, C., Qiu, S., Wang, Y., Qi, L., Hao, R., Liu, X., Shi, Y., Hu, X., An, D., Li, Z., Li, P., Wang, L., Cui, J., Wang, P., Huang, L., Klena, J.D., Song, H., 2014. Higher isolation of NDM-1 producing *Acinetobacter baumannii* from the sewage of the hospitals in Beijing. *PloS One* 8, e64857. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064857>
- Zhang, H., Li, X., Yang, Q., Sun, L., Yang, X., Zhou, M., Deng, R., Bi, L., 2017. Plant Growth, Antibiotic Uptake, and Prevalence of Antibiotic Resistance in an Endophytic System of Pakchoi under Antibiotic Exposure. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 14. <https://doi.org/10.3390/ijerph14111336>
- zur Wiesch, P.A., Kouyos, R., Engelstädter, J., Regoes, R.R., Bonhoeffer, S., 2011. Population biological principles of drug-resistance evolution in infectious diseases. *Lancet Infect. Dis.* 11, 236–247. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70264-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70264-4)

Anhang

Tabelle A1.1: Charakteristika der Probenahmestelle RO des klinisch-urbanen Untersuchungsgebiets (Land NRW, 2021).

Probenahmestelle (PNS)	Rhein stromaufwärts der KA Salierweg
PNS Abkürzung	RO
Beprobte Wasserart	Oberflächenwasser/Fließgewässer
Art Probennahme	24 h-Mischprobe, Zeit-proportional mit 10 min Sampling Intervall, Qualifizierte Stichprobe (5-mal in 10 min), manuell mit Schöpfer
Gewässer	Rhein
Fließgebietsfolge	Rhein - Nordsee
Koordinaten	R: 2577816.365 H: 5624524.782
Höhe in m über NN [m]	50-55
Gewässerlage	Ortslage
Größe Teileinzugsgebiet	140901 km ² (Einzugsgebiet Rhein bei Bonn Km 654,8)
Entfernung in km zur Mündung [km]	bis zur Mündung in Nordsee: 577
Mittelwasserabfluss (MQ) [m ³ /s]	ca. 2.027
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) [l/s]	914000
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) [m ³ /s]	6220
Durchschnittliche Fließgeschwindigkeit [km/h]	7 bis 8
Vorherrschende Bodentypen	Parabraunerde, Fahlerde, Pseudogley-Parabraunerde und Pseudo-Gley aus Löss oder Lösslehm und lössvermischten Verwitterungsprodukten über verschiedenen Gesteinen
LAWA Fließgewässertyp	Typ 10: Kiesgeprägter Strom
Länge Kartierabschnitt [m]	keine Angabe
Mittelwassertiefe	Fahrriinntiefe 2,5 m
Substratdiversität	Mäßig
Sohlsubstrat (Referenz)	Es dominieren Kiese und/oder Schotter, abschnittsweise gibt es große Anteile an Sand, Steinen und Totholz, untergeordnet gibt es organisches Material, Fels, Ton, Schluff
Fäche mit Bebauung (links)	Uferpromenade/Wohngebiet
Fläche ohne Bebauung (links)	keine Angabe
Fläche mit Bebauung (rechts)	Grünland/Parkanlage
Fläche ohne Bebauung (rechts)	keine Angabe
Gewässerbewertung	Gewässerstrukturgüte: stark verändert

Tabelle A1.2: Charakteristika der Probenahmestelle RU des klinisch-urbanen Untersuchungsgebiets (Land NRW, 2021).

Probenahmestelle (PNS)	Rhein im Unterstrom der KA Salierweg
PNS Abkürzung	RU
Beprobte Wasserart	Oberflächenwasser/Fließgewässer
Art Probennahme	24 h-Mischprobe, Zeit-proportional mit 10 min Sampling Intervall, Qualifizierte Stichprobe (5-mal in 10 min), manuell mit Schöpfer
Gewässer	Rhein
Fließgebietsfolge	Rhein - Nordsee
Koordinaten	R: 2576401.964 H: 5625741.594
Höhe in m über NN [m]	50-55
Gewässerlage	Ortslage
Größe Teileinzugsgebiet	140901 km ² (Einzugsgebiet Rhein bei Bonn Km 654,8)
Entfernung in km zur Mündung [km]	bis zur Mündung in Nordsee: 575
Mittelwasserabfluss (MQ) [m ³ /s]	ca. 2.027
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) [l/s]	914000
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) [m ³ /s]	6220
Durchschnittliche Fließgeschwindigkeit [km/h]	7 bis 8
Vorherrschende Bodentypen	Parabraunerde, Fahlerde, Pseudogley-Parabraunerde und Pseudo-Gley aus Löss oder Lösslehm und lössvermischten Verwitterungsprodukten über verschiedenen Gesteinen
LAWA Fließgewässertyp	Typ 10: Kiesgeprägter Strom
Länge Kartierabschnitt [m]	keine Angabe
Mittelwassertiefe	Fahrrinntiefe 2,5 m
Substratdiversität	Mäßig
Sohlsubstrat (Referenz)	Es dominieren Kiese und/oder Schotter, abschnittsweise gibt es große Anteile an Sand, Steinen und Totholz, untergeordnet gibt es organisches Material, Fels, Ton, Schluff
Fäche mit Bebauung (links)	Uferpromenade/Wohngebiet
Fläche ohne Bebauung (links)	keine Angabe
Fläche mit Bebauung (rechts)	keine Angabe
Fläche ohne Bebauung (rechts)	Grünland, Teil des FHH-Schutzgebiets
Gewässerbewertung	Gewässerstrukturgüte: stark verändert

Tabelle A2.1: Charakteristika der Probenahmestelle EB des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (MULNV NRW, 2015, Land NRW, 2021).

Probenahmestelle (PNS)	Ersdorfer Bach
PNS Abkürzung	EB
Beprobte Wasserart	Oberflächenwasser / Fließgewässer
Art Probennahme	Qualifizierte Stichprobe
Gewässer	Ersdorfer Bach
Fließgebietsfolge	Ersdorfer Bach - Swist – Erft - Rhein
Koordinaten	R: 2569309 H: 5605776
Höhe in m über NN [m]	286
Gewässerlage	Freie Landschaft außerhalb Ortslagen (Wald)
Größe Teileinzugsgebiet	0,8 km ²
Entfernung in km zur Mündung [km]	6
Mittelwasserabfluss (MQ) [m ³ /s]	keine Angabe
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) [l/s]	keine Angabe
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) [m ³ /s]	keine Angabe
Durchschnittliche Fließgeschwindigkeit [km/h]	keine Angabe
Vorherrschende Bodentypen	Pseudogley, Gley
LAWA Fließgewässertyp	keine Angabe
Länge Kartierabschnitt [m]	keine Angabe
Mittelwassertiefe	keine Angabe
Substratdiversität	keine Angabe
Sohlsubstrat (Referenz)	Ton, Löß, Lehm
Fäche mit Bebauung (links)	0%
Fläche ohne Bebauung (links)	Wald
Fläche mit Bebauung (rechts)	0%
Fläche ohne Bebauung (rechts)	Wald
Gewässerbewertung	Natürlich bis naturnah

Tabelle A2.2: Charakteristika der Probenahmestelle SME des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (MULNV NRW, 2015, Land NRW, 2021).

Probenahmestelle (PNS)	Swist oberhalb Meckenheim
PNS Abkürzung	SMe
Beprobte Wasserart	Oberflächenwasser / Fließgewässer
Art Probennahme	Qualifizierte Stichprobe
Gewässer	Swist
Fließgebietsfolge	Swist – Erft - Rhein
Koordinaten	R: 2573193 H: 5609321
Höhe in m über NN [m]	177
Gewässerlage	Ortslage
Größe Teileinzugsgebiet	48,1 km ²
Entfernung in km zur Mündung [km]	28,2
Mittelwasserabfluss (MQ) [m ³ /s]	0,104
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) [l/s]	1
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) [m ³ /s]	6,954 (HQ5), 8,87 (HQ10), 15,142 (HQ100)
Durchschnittliche Fließgeschwindigkeit [km/h]	0,35
Vorherrschende Bodentypen	keine Angabe
LAWA Fließgewässertyp	Typ 6: Feinmaterialreiche, karbonatische Mittelgebirgsbäche
Länge Kartierabschnitt [m]	100
Mittelwassertiefe	>0,3 - 0,5 m
Substratdiversität	mäßig
Sohlsubstrat (Referenz)	Ton, Löß, Lehm
Fläche mit Bebauung (links)	> 50 %, weitere schädli. Struktur gem. 6.3* 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (links)	
Fläche mit Bebauung (rechts)	> 50 %, weitere schädli. Struktur gem. 6.3* >50 %
Fläche ohne Bebauung (rechts)	
Gewässerbewertung	stark verändert

Tabelle A2.3: Charakteristika der Probenahmestelle SF des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (MULNV NRW, 2015, Land NRW, 2021).

Probenahmestelle (PNS)	Swist bei Flerzheim
PNS Abkürzung	SF
Beprobte Wasserart	Oberflächenwasser / Fließgewässer
Art Probennahme	Qualifizierte Stichprobe
Gewässer	Swist
Fließgebietsfolge	Swist – Erft - Rhein
Koordinaten	R: 2570004 H : 5609321
Höhe in m über NN [m]	156
Gewässerlage	Ortslage
Größe Teileinzugsgebiet	77,1
Entfernung in km zur Mündung [km]	22,4
Mittelwasserabfluss (MQ) [m ³ /s]	0,186
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) [l/s]	1
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) [m ³ /s]	10,229 m ³ /s(HQ5), 12,815 m ³ /s (HQ10), 21,644 m ³ /s (HQ100)
Durchschnittliche Fließgeschwindigkeit [km/h]	0,39
Vorherrschende Bodentypen	keine Angabe
LAWA Fließgewässertyp	Typ 6: Feinmaterialreiche, karbonatische Mittelgebirgsbäche
Länge Kartierabschnitt [m]	100
Mittelwassertiefe	0,1- 0,3
Substratdiversität	gering
Sohlsubstrat (Referenz)	Ton, Löß, Lehm
Fläche mit Bebauung (links)	> 50 %, weitere schädli. Struktur gem. 6.3* 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (links)	10-50 %
Fläche mit Bebauung (rechts)	weitere schädli. Struktur gem. 6.3* 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (rechts)	10-50 %
Gewässerbewertung	Vollständig verändert

Tabelle A2.4: Charakteristika der Probenahmestelle PM des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (MULNV NRW, 2015, Land NRW, 2021).

Probenahmestelle (PNS)	Pegel Morenhoven
PNS Abkürzung	PM
Beprobte Wasserart	Oberflächenwasser / Fließgewässer
Art Probennahme	24-h-Mischprobe, zeit-proportional mit Sampling-Intervall 10 Minuten, Zeitraum Mo 8:00-Di 8:00
Gewässer	Swist
Fließgebietsfolge	Swist - Erft - Rhein
Koordinaten	R: 2567401 H: 5614778
Höhe in m über NN [m]	144
Gewässerlage	Ortslage
Größe Teileinzugsgebiet	105,6 km ²
Entfernung in km zur Mündung [km]	18,5
Mittelwasserabfluss (MQ) [m ³ /s]	0,432
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) [l/s]	80
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) [m ³ /s]	14,7 (HQ5)
Durchschnittliche Fließgeschwindigkeit [km/h]	0,7
Vorherrschende Bodentypen	Auengley-Brauner-Auenboden
LAWA Fließgewässertyp	Typ 16: kiesgeprägte Tieflandbäche
Länge Kartierabschnitt [m]	100
Mittelwassertiefe	>0,3 - 0,5
Substratdiversität	mäßig
Sohlsubstrat (Referenz)	Kies
Fläche mit Bebauung (links)	> 50 % Acker, Sonderkultur, weitere schäd. Struktur gem. 6.3* 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (links)	keine Angabe
Fläche mit Bebauung (rechts)	> 50 %,Bebauung mit Fläche, Weitere schäd. Struktur gem. 6.3* 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (rechts)	keine Angabe
Gewässerbewertung	Stark verändert

Tabelle A2.5: Charakteristika der Probenahmestelle SMi des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (MULNV NRW, 2015, Land NRW, 2021).

Probenahmestelle (PNS)	Swist an der Straße Buschhoven – Miel
PNS Abkürzung	SMi
Beprobte Wasserart	Oberflächenwasser / Fließgewässer
Art Probennahme	Qualifizierte Stichprobe
Gewässer	Swist
Fließgebietsfolge	Swist - Erft - Rhein
Koordinaten	R: 2565686 H: 5616222
Höhe in m über NN [m]	143
Gewässerlage	Freie Landschaft
Größe Teileinzugsgebiet	132,4 km ²
Entfernung in km zur Mündung [km]	16,2
Mittelwasserabfluss (MQ) [m ³ /s]	0,47
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) [l/s]	87
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) [m ³ /s]	15,331 m ³ /s (HQ5), 19,121 m ³ /s (HQ10), 32,034 m ³ /s (HQ100)
Durchschnittliche Fließgeschwindigkeit [km/h]	0,35
Vorherrschende Bodentypen	Auengley-Brauner Auenboden
LAWA Fließgewässertyp	Typ 16: Kiesgeprägte Tieflandbäche
Länge Kartierabschnitt [m]	100
Mittelwassertiefe	>0,3 - 0,5
Substratdiversität	mäßig
Sohlsubstrat (Referenz)	Kies
Fläche mit Bebauung (links)	>50 % Acker, Sonderkultur, weitere schäd. Struktur gem. 6.3* 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (links)	keine Angabe
Fläche mit Bebauung (rechts)	>50 % nicht bodenst. Wald, Nadelforst, weitere schäd. Struktur gem. 6.3* 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (rechts)	keine Angabe
Gewässerbewertung	sehr stark verändert

Tabelle A2.6: Charakteristika der Probenahmestelle SH des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (MULNV NRW, 2015, Land NRW, 2021).

Probenahmestelle (PNS)	Swist in Heimerzheim
PNS Abkürzung	SH
Beprobte Wasserart	Oberflächenwasser/Fließgewässer
Art Probennahme	24h Mischprobe, alle 6 Wochen, Qualifizierte Stichprobe (5 mal in 10 min), manuell mit Schöpfer
Gewässer	Swist
Fließgebietsfolge	Swist - Erft - Rhein
Koordinaten	R: 2564745 H: 5620217
Höhe in m über NN [m]	131
Gewässerlage	Ortslage
Größe Teileinzugsgebiet	234,9 km ²
Entfernung in km zur Mündung [km]	11
Mittelwasserabfluss (MQ) [m ³ /s]	
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) [l/s]	80
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) [m ³ /s]	9,6
Durchschnittliche Fließgeschwindigkeit [km/h]	keine Angabe
Vorherrschende Bodentypen	Auenboden (Swist III, Kistemann, et al. 2007)
LAWA Fließgewässertyp	Typ 17: Kiesgeprägte Tieflandflüsse
Länge Kartierabschnitt [m]	100
Mittelwassertiefe	> 0,3 - 0,5
Substratdiversität	keine Angabe
Sohlsubstrat (Referenz)	Kies
Fläche mit Bebauung (links)	> 50 %, schädli. Bebauung (6.3) 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (links)	keine Angabe
Fläche mit Bebauung (rechts)	> 50 %, schädli. Bebauung (6.3) 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (rechts)	keine Angabe
Gewässerbewertung	Stark verändert

Tabelle A2.7: Charakteristika der Probenahmestelle GM des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (MULNV NRW, 2015, Land NRW, 2021).

Probenahmestelle (PNS)	Gewässergütemessstation Metternich
PNS Abkürzung	GM
Beprobte Wasserart	Oberflächenwasser
Art Probennahme	24-h-Mischprobe, zeit-proportional mit Sampling-Intervall 10 Minuten, Zeitraum Mo 8:00-Di 8:00
Gewässer	Swist
Fließgebietsfolge	Swist - Erft - Rhein
Koordinaten	R: 2560844 H: 5624258
Höhe in m über NN [m]	112
Gewässerlage	Ortslage
Größe Teileinzugsgebiet	249,5 km ²
Entfernung in km zur Mündung [km]	4
Mittelwasserabfluss (MQ) [m ³ /s]	0,689
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) [l/s]	124
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) [m ³ /s]	25,548 m ³ /s (HQ5), 30,599 m ³ /s (HQ10), 45,375 m ³ /s (HQ100)
Durchschnittliche Fließgeschwindigkeit [km/h]	keine Angabe
Vorherrschende Bodentypen	Typischer Brauner Auenboden, vereinzelt Auengley-Brauner Auenboden
LAWA Fließgewässertyp	keine Angabe
Länge Kartierabschnitt [m]	keine Angabe
Mittelwassertiefe	> 0,3 - 0,5
Substratdiversität	keine Angabe
Sohlsubstrat (Referenz)	keine Angabe, wahrscheinlich auch Kies
Fäche mit Bebauung (links)	keine Angabe
Fläche ohne Bebauung (links)	keine Angabe
Fläche mit Bebauung (rechts)	keine Angabe
Fläche ohne Bebauung (rechts)	keine Angabe
Gewässerbewertung	keine Angabe, wahrscheinlich auch stark verändert

Tabelle A2.8: Charakteristika der Probenahmestelle SW des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (MULNV NRW, 2015, Land NRW, 2021).

Probenahmestelle (PNS)	Swist vor der Mündung bei Weilerswist
PNS Abkürzung	SW
Beprobte Wasserart	Oberflächenwasser/Fließgewässer
Art Probennahme	Qualifizierte Stichprobe, alle 6 Wochen
Gewässer	Swist
Fließgebietsfolge	Swist - Erft - Rhein
Koordinaten	R: 2559837 H: 2559837
Höhe in m über NN [m]	109
Gewässerlage	Freie Landschaft
Größe Teileinzugsgebiet	279,7 km ²
Entfernung in km zur Mündung [km]	(1,45 bis) 1,6
Mittelwasserabfluss (MQ) [m ³ /s]	0,821
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) [l/s]	191
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) [m ³ /s]	keine Angabe
Durchschnittliche Fließgeschwindigkeit [km/h]	keine Angabe
Vorherrschende Bodentypen	Auengley-Brauner Auenboden
LAWA Fließgewässertyp	keine Angabe
Länge Kartierabschnitt [m]	100
Mittelwassertiefe	> 0,3 - 0,5
Substratdiversität	groß
Sohlsubstrat (Referenz)	Kies
Fläche mit Bebauung (links)	Acker, Sonderkultur > 50 %, schädli. Bebauung (6.3) 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (links)	keine Angabe
Fläche mit Bebauung (rechts)	schädli. Bebauung (6.3) 10-50 %
Fläche ohne Bebauung (rechts)	keine Angabe
Gewässerbewertung	Stark verändert

Tabelle A3.1: Kläranlage Salierweg des klinisch-urbanen Untersuchungsgebiets (Land NRW, 2021).

Probenahmestelle	KA Salierweg (KZN, KZS und KA)
Beprobte Wasserart	Gekläartes und ungekläartes Abwasser
Art Probenahme	24-h-Mischprobe, zeit-proportional mit Sampling-Intervall 10 Minuten
Typ Probenahmegerät	Maxx, Hach, Endress & Hauser
Standort Kläranlage	H: 5624961, R: 2577274
Lage/Adresse	Kläranlage Bonn Salierweg 7, 53117 Bonn
Höhe in m über NN	55
Einwohnergleichwert	307.000 EW mechanische Reinigung, 285.000 EW Biologie und 505.000 EW Schlammteil
Anlagevolumen	131.100 m ³
Angeschlossene Ortslagen	Bonn-Zentrum bis zur Südbrücke und Bonner Norden
Angeschlossene Einwohner	278.760 EW
Jährliche zu reinigende Abwassermenge	ca. 17,5 Mio m ³ /a
Einzugsgebiet	Hauptsächlich Wohn- und Bürogebiete, Haribo und Verpoorten
Auslastungsgrad (einschließlich Industrie)	90% im mechanischen Teil und 97% im biologischen Teil
Reinigungsstufen	Mechanische Stufe, biologische Stufe mit Simultanfällung und Filtration
Aufnehmendes Gewässer	Rhein
Fließgebietsfolge	Rhein - Nordsee
Fließlänge	1.233 km
Position der Einleitstelle (Flusskilometer)	657
Entfernung in km bis Mündung in die Nordsee	576 km
Fließgeschwindigkeit an der Einleitstelle	7-8 km/h
Mittelwasserabfluss (MQ) an der Einleitstelle	ca. 2.027 m ³ /s
Mittlerer Niedrigwasserabfluss (MNQ) in m ³ /s	914
Mittlerer Hochwasserabfluss (MHQ) in m ³ /s	6220

Tabelle A4.1: Kläranlage Flerzheim des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (Angaben Erftverband; GIS Analyse).

Probenahmestelle	Kläranlage Flerzheim (KAFZ und KAFA)
Beprobte Wasserart	Ungeklärtes und geklärtes Abwasser
Art Probennahme	24-h-Mischprobe, zeit-proportional mit Sampling-Intervall 10 Minuten
Typ Probenahmegerät	WaterSam
Standort Zulauf	H: 5613643, R: 2569753
Standort Ablauf	H: 5613679, R: 2569657
Aufnehmendes Gewässer	Swist
Höhe in m über NN	154
Einwohnergleichwert	50.000
Anlagevolumen	23.382 m ³
Angeschlossene Ortslagen	Nordrhein-Westfalen: Stadt Meckenheim mit allen Ortsteilen, Wormersdorf, Flerzheim und Ramershoven (Stadt Rheinbach) und Adendorf (Gemeinde Wachtberg). Rheinland-Pfalz: Teile der Gemeinde Grafschaft und Kalenborn (Verbandsgemeinde Altenahr).
Angeschlossene Einwohner	35.797
Jährliche zu reinigende Abwassermenge	4.536.738 m ³
Einzugsgebiet	Größtenteils Wohngebiete, Gewerbe- und Industriegebiet: Industriepark Kottenforst. Über Tankwagen Abwässer aus der Metallindustrie (Galvanik-Abwässer) und der Öl- und Seifenindustrie der Firma Greven-Chemie in Bad Münstereifel.
Auslastungsgrad (einschließlich Industrie)	84 %
Reinigungsstufen	eine mechanische und zwei biologische Klärstufen
Aufnehmendes Gewässer	Swist
Fließgebietsfolge	Swist – Erft - Rhein

Tabelle A4.2: Kläranlage Heimerzheim des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (Angaben Erftverband; GIS Analyse).

Probenahmestelle	Kläranlage Heimerzheim (KAHZ und KAHZ)
Beprobte Wasserart	Ungeklärtes und geklärtes Abwasser
Art Probennahme	24-h-Mischprobe, zeit-proportional mit Sampling-Intervall 10 Minuten
Typ Probenahmegerät	Zulauf: WaterSam, Ablauf: Maxx
Standort Zulauf	H: 5613643, R: 2564164
Standort Ablauf	H: 5621269, R: 2564086
Höhe in m über NN	130
Einwohnergleichwert	10.700
Anlagevolumen	5.446 m ³
Angeschlossene Ortslagen	Das Schmutzwasser von Heimerzheim, Straßfeld, Dünstekoven und Ollheim wird in einem Mischsystem zusammen mit dem Niederschlagswasser abgeleitet, das industrielle Schmutzwasser im nördlichen Teil von Heimerzheim in einem Trennsystem.
Angeschlossene Einwohner	7.705
Jährliche zu reinigende Abwassermenge	513.929 m ³
Einzugsgebiet	Größtenteils Wohngebiete, Gewerbe- und Industriegebiet
Auslastungsgrad (einschließlich Industrie)	71 %
Reinigungsstufen	eine mechanische und eine biologische Klärstufe
Aufnehmendes Gewässer	Swist
Fließgebietsfolge	Swist – Erft - Rhein

Tabelle A4.3: Kläranlage Miel des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (Angaben Erftverband; GIS Analyse).

Probenahmestelle	Kläranlage Miel (KAMZ und KAMA)
Beprobte Wasserart	Ungeklärtes und geklärtes Abwasser
Art Probennahme	24-h-Mischprobe, zeit-proportional mit Sampling-Intervall 10 Minuten
Typ Probenahmegerät	Zulauf: WaterSam, Ablauf: Maxx
Standort Zulauf	H: 5615131, R: 2566336
Standort Ablauf	H: 5615200, R: 2566262
Höhe in m über NN	144
Einwohnergleichwert	11.000
Anlagevolumen	5.667 m ³
Angeschlossene Ortslagen	Buschhoven, Morenhoven, Miel, Ludendorf, Essig und Odendorf
Angeschlossene Einwohner	10.198
Jährliche zu reinigende Abwassermenge	896.115 m ³
Einzugsgebiet	Größtenteils Wohngebiete
Auslastungsgrad (einschließlich Industrie)	92 %
Reinigungsstufen	eine mechanische und eine biologische Klärstufe
Aufnehmendes Gewässer	Swist
Fließgebietsfolge	Swist – Erft - Rhein

Tabelle A4.4: Kläranlage Rheinbach des ländlich-kommunalen Untersuchungsgebiets (Angaben Erftverband; GIS Analyse).

Probenahmestelle	Kläranlage Rheinbach (KARZ und KARA)
Beprobte Wasserart	Ungeklärtes und geklärtes Abwasser
Art Probenahme	24-h-Mischprobe, zeit-proportional mit Sampling-Intervall 10 Minuten
Typ Probenahmegerät	Zulauf: WaterSam, Ablauf: Maxx
Standort Zulauf	H: 5611449, R: 2566293
Standort Ablauf	H: 5611605, R: 2566301
Höhe in m über NN	162
Einwohnergleichwert	27.000
Anlagevolumen	13.000 m ³
Angeschlossene Ortslagen	Rheinbach, Merzbach, Klein- u. Großschlebach, Neukirchen, Irlenbusch, Oberdrees und Peppenhoven
Angeschlossene Einwohner	19.871
Jährliche zu reinigende Abwassermenge	2.036.858 m ³
Einzugsgebiet	Größtenteils Wohngebiete, Gewerbe- und Industriegebiet
Auslastungsgrad (einschließlich Industrie)	96 %
Reinigungsstufen	eine mechanische und zwei biologische Klärstufen
Aufnehmendes Gewässer	Wallbach
Fließgebietsfolge	Wallbach - Swist – Erft - Rhein

Tabelle A5.1: Probenahmestelle UG im Abwasserkanalnetz des klinisch-urbanen Untersuchungsgebiets
(Angaben Erftverband; GIS Analyse).

Probenahmestelle	Klinikum gesamt
Beprobte Wasserart	Abwasser im Mischkanalsystem
Art Probennahme	24-h-Mischprobe, zeit-proportional mit Sampling-Intervall 10 Minuten
Typ Probenahmegerät	Basic Ex 1 mobile; Firma ORI
Lage	Schacht 556, Hindenburgplatz, Dottendorf, Stadt Bonn
Koordinaten	R: 2578286, H: 5619551
Höhe in m über NN	59,5
Schachttiefe in m	2,43
Durchmesser Schacht (DN)	900
Abflussmenge pro Jahr (m ³ /h)	27,1 (2016)
Abwassermengen an der Tagesspitze bei Trockenwetterabfluss (l/s)	18
Einzugsgebiet (Ared)	
Flächennutzung / Bebauung	Sonderbaufläche (Krankenhaus)/ Fläche für Forstwirtschaft
Angeschlossene Gebäude / Teileinzugsgebiet/ Einwohner	Uniklinik Bonn Venusberg
Aufnehmende Kläranlage	Kläranlage Bonn Salierweg 7, 53117 Bonn

Tabelle A5.2: Probenahmestelle US im Abwasserkanalnetz des klinisch-urbanen Untersuchungsgebiets(Angaben Erfvtverband; GIS Analyse).

Probenahmestelle	Klinikum + Stadtteil
Beprobte Wasserart	Abwasser im Mischkanalsystem
Art Probennahme	24-h-Mischprobe, zeit-proportional mit Sampling-Intervall 10 Minuten
Typ Probenahmegerät	Basic Ex 1 mobile; Firma ORI
Lage	Schacht 542, Urstadtstr., Dottendorf, Stadt Bonn
Koordinaten	R: 2578286, H: 5619551
Höhe in m über NN	59
Schachttiefe in m	3,90
Durchmesser Schacht - (EL)	1000/1757
Abwassermengen an der Tagesspitze bei Trockenwetterabfluss (l/s)-	38
Einzugsgebiet (Ared)	Teile von Dottendorf, Venusberg, Ippendorf
Flächennutzung / Bebauung	Wohnbaufläche/ Sonderbaufläche (Klinikum)/ Fläche für Forstwirtschaft
Angeschlossene Gebäude / Teileinzugsgebiet/ Einwohner	EZG Venusberg: rd. 2100 EW / EZG Ippendorf: rd. 2370 EW (von Ippendorf entwässert aber nur rund ¼ über die Urstadtstraße)
Aufnehmende Kläranlage	Kläranlage Bonn Salierweg 7, 53117 Bonn

Publikationshinweise

Die nachfolgend aufgeführten Publikationen beinhalten Daten und Erkenntnisse, die in dieser Arbeit betrachtet werden. Auf die entsprechenden Publikationen wird bei der Nennung der Daten bzw. Erkenntnisse verwiesen.

Müller H, Sib E, Gajdiss M, Klanke U, Lenz-Plet F, Barabasch V, Albert C, Schallenberg A, Timm C, Zacharias N, Schmithausen R M, Engelhart S, Exner M, Parcina M, Schreiber C, Bierbaum G (2018): Dissemination of multi-resistant Gram-negative bacteria into German wastewater and surface waters, *FEMS Microbiology Ecology* 94(5): <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy057>

Schreiber C, Zacharias N, Müller H, Essert S, Timm C, Kistemann T, Sib E, Gajdiss M, Parcina M, Voigt A, Färber H, Exner M, Schmithausen R M, Bierbaum G (2019): Einfluss von Krankenhausabwasser auf die Verbreitung von Antibiotika-Resistenzen in der aquatischen Umwelt , 52. Essener Tagung für Wasserwirtschaft 250: 19/1-19/15

*Zacharias N, *Essert S, Brunsch A F, Christoffels E, Kistemann T, Schreiber C (2020): Performance of retention soil filters for the reduction of hygienically-relevant microorganisms in combined sewage overflow and treated wastewater, *Water Science and Technology*: <https://doi.org/10.2166/wst.2020.132>

*Voigt A, *Zacharias N, Timm C, Wasser F, Sib E, Skutlarek D, Parcina M, Schmithausen R M, Schwartz T, Hembach N, Thiem A, Stange C, Engelhart S, Bierbaum G, Kistemann T, Exner M, Färber H, Schreiber C (2020): Association between antibiotic residues, antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in anthropogenic wastewater – An evaluation of clinical influences, *Chemosphere* 241: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125032>

Sib E, Lenz-Plet F, Barabasch V, Klanke U, Savin M, Hembach N, Schallenberg A, Kehl K, Albert C, Gajdiss M, Zacharias N, Müller H, Schmithausen R M, Exner M, Kreyenschmidt J, Schreiber C, Parcina M, Bierbaum G (2020): Bacteria isolated from

hospital, municipal and slaughterhouse wastewaters show characteristic, different resistance profiles, *Science of The Total Environment*: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140894>

*Schreiber C, *Zacharias N, Essert S, Wasser F, Müller H, Sib E, Precht T, Parcina M, Bierbaum G, Schmithausen R M, Kistemann T, Exner M (2021): Clinically relevant antibiotic-resistant bacteria in aquatic environments – An optimized culture-based approach, *Science of The Total Environment* 750: 142265: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142265>

*kennzeichnet eine geteilte Erstautorenschaft