

Antibiotikaeinsatz in der Landwirtschaft – Folgen für die Umwelt

Sulfonamid-Antibiotika aus der Landwirtschaft gelangen nach deren Einsatz mit der Gülle auf landwirtschaftliche Nutzflächen. Trotz anfänglich schneller Abnahme der Konzentration im Boden bleiben Rückstände über Monate nachweisbar. Durch Regen können die Antibiotika aus dem Boden auch in die Gewässer eingetragen werden. Zudem gelangen mit der Gülle antibiotikaresistente Bakterien in den Boden. Inwieweit die Bildung und Verbreitung der resistenten Bakterien durch den Gebrauch der Antibiotika gefördert wird, ist jedoch noch unklar.

Antibiotika wurden in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts als segensreiche Medikamente gegen bakterielle Erkrankungen entdeckt. Zunächst beim Menschen angewandt, sind sie heute auch aus der Nutztierhaltung (siehe Kasten «Antibiotikaeinsatz in der Nutztierhaltung») nicht mehr wegzudenken. Jährlich werden ca. 40 Tonnen Antibiotika in der Schweizer Landwirtschaft gebraucht. Doch ihr Einsatz birgt zwei wesentliche Risiken.

Zum einen gelangen die Antibiotika, teils als aktive Substanzen, teils in umgewandelter Form, mit den tierischen Ausscheidungen in die Umwelt: zunächst in die Güllegrube oder auf den Misthaufen und von dort durch Güllung auf die Wiesen und Felder. Im Extremfall werden auf diese Weise mehrere Hundert Gramm pro Hektar und Jahr auf die landwirtschaftlichen Böden verteilt. Mit dem Regen können die Antibiotika anschliessend in die Gewässer geschwemmt werden. Das genaue Schicksal der Antibiotika in der Umwelt ist jedoch erst wenig verstanden.

Zum anderen fördert der Selektionsdruck der Antibiotika das Auftreten resistenter

Bakterien in den behandelten Tieren. Durch Mutationen neu gebildete Resistenzgene und solche, die schon in der Bakteriengesellschaft vorhanden sind, können an andere Bakterienstämme und -arten weitergegeben werden, was zu einer raschen Verbreitung der Resistenzgene führt. Werden die Resistenzgene auf krankheitserregende Bakterien übertragen, ist die Situation fatal, da diese Bakterien dann nicht mehr mit den entsprechenden Antibiotika bekämpft werden können. Die Weltgesundheitsorganisation WHO stuft das Problem der Resistenzbildung und -übertragung als äusserst gravierend ein und sieht dringenden Handlungsbedarf. Derzeit ist noch unklar, wie gross das Risiko der Resistenzbildung und -verbreitung in der landwirtschaftlichen Umwelt ist.

In einem zweigleisigen Gemeinschaftsprojekt erforschen wir deshalb, wie sich Antibiotika in der Umwelt verhalten und untersuchen anhand der Resistenzgene das Vorkommen resistenter Bakterien in landwirtschaftlichen Böden. Konkret interessiert uns ausserdem die Frage, ob es einen

Zusammenhang zwischen dem Antibiotikaeinsatz in der Landwirtschaft und dem Auftreten von Resistenzgenen in der Umwelt gibt. Unser Projekt ist in das Forschungsprogramm 49 «Antibiotikaresistenz» des Schweizerischen Nationalfonds eingebunden [1].

Feldversuche unter Praxisbedingungen

Ausgangspunkt unserer Untersuchung war die Überlegung, einen praxisnahen Feldversuch durchzuführen. Dazu brachten wir antibiotikabelastete Gülle auf zwei als Dauergrünland genutzte Parzellen von je 0,35 ha aus. Die Applikationen erfolgten zu Beginn der Vegetationsperiode am 24. März 2003 und nach dem ersten Schnitt am 8. Mai 2003. Die Gülle wurde mit dem Schleppschlauchverfahren ausgebracht (Foto 1). Sie stammte aus einem Schweinemastbetrieb, wo das Sulfonamid-Antibiotikum Sulfamethazin zur Einstellungsprophylaxe eingesetzt worden war (siehe Kasten «Spezialfall

Spezialfall Sulfonamid-Antibiotika

Mehrere Gründe sprachen dafür, in unserem Feldversuch eine mit dem Sulfonamid-Antibiotikum Sulfamethazin belastete Gülle zu verwenden:

- Sulfonamide sind in der Veterinärmedizin häufig eingesetzte Antibiotika (z.B. in der Einstellungsprophylaxe). In der Humanmedizin ist vor allem ein Wirkstoff (Sulfamethoxazol) aus dieser Substanzgruppe gebräuchlich.

- Sulfonamide werden im tierischen Organismus nur moderat metabolisiert und relativ schnell wieder ausgeschieden [2]. Aussergewöhnlich ist, dass die Metaboliten in der Gülle praktisch vollständig wieder in die ursprüngliche Wirksubstanz zurückverwandelt werden [3]. Für unsere Untersuchung ist aber vor allem wichtig, dass Sulfonamide in der Umwelt relativ beständig und deshalb über einen längeren Zeitraum hinweg nachweisbar sind.

- An der EAWAG wurden Methoden zur Bestimmung des Sulfamethazins in Gülle [4], im Boden [5] und im Wasser [unveröffentlicht] entwickelt.

Antibiotikaeinsatz in der Nutztierhaltung

Die in der Nutztierhaltung verwendeten Antibiotika stammen grundsätzlich aus denselben Substanzgruppen wie die Humanantibiotika: Penicilline, Tetracykline, Sulfonamide, Makrolide, Aminoglykoside und Fluorochinolone.

Im Veterinärbereich werden Antibiotika zur Therapie einzelner erkrankter Tiere und zur vorbeugenden Behandlung des gesamten Bestandes eingesetzt. Als Metaphylaxe wird das Vorgehen bezeichnet, nach dem Auftreten eines Krankheitsfalls die ganze Herde vorbeugend mit Antibiotika zu behandeln. Dies geschieht u.a. dann, wenn einzelne Ferkel oder Kälber an Durchfall oder Respirationskrankheiten leiden. Die Prophylaxe hingegen setzt bereits vor dem Erkranken der Tiere an und wird beispielsweise beim Einstellen von Masttieren aus verschiedenen Betrieben durchgeführt.



Fotos EAWAG



Resistenzgene	Herkunft
<i>sul</i> (I)	<i>Escherichia coli</i> (nicht-pathogen)
<i>sul</i> (II)	<i>E. coli</i>
<i>sul</i> (III)	<i>E. coli</i>
<i>tet</i> (B)	<i>E. coli</i>
<i>tet</i> (C)	<i>E. coli</i>
<i>tet</i> (H)	<i>Pasteurella multocida</i> (opportunistisches Pathogen)
<i>tet</i> (M)	<i>Enterococcus faecalis</i> (opportunistisches Pathogen)
<i>tet</i> (O)	<i>Campylobacter coli</i> (pathogen)
<i>tet</i> (Q)	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> (nicht-pathogen, kommt im menschlichen Gastrointestinaltrakt vor)
<i>tet</i> (S)	<i>Listeria monocytogenes</i> (opportunistisches Pathogen)
<i>tet</i> (T)	<i>Streptococcus pyogenes</i> (opportunistisches Pathogen)
<i>tet</i> (W)	<i>Butyrivibrio monocytogenes</i> (anaerobes Rumenbakterium)
<i>tet</i> (Y)	aus Schweinegülle isoliertes Plasmid (Bakterium nicht bekannt)
<i>tet</i> (Z)	<i>Corynebacterium glutamicum</i> (Bodenbakterium)

Tab. 1: Untersuchte Resistenzgene und deren Herkunft. Angegeben sind die Bakterien, aus denen die Resistenzgene erstmalig isoliert und sequenziert wurden. Alle Gene konnten zudem in weiteren Bakterienarten nachgewiesen werden; *tet* (B) z.B. wurde inzwischen in 18 verschiedenen Bakterienarten gefunden. In den meisten Fällen ist die Anwesenheit eines der verschiedenen Tetrazyklin- bzw. Sulfonamidresistenzgene ausreichend, um das Trägerbakterium resistent gegen Tetrazyklin- bzw. Sulfonamid-Antibiotika zu machen. Opportunistische Pathogene sind nicht immer krankheitserregend, sondern nur bei immunologisch geschwächten Patienten.

Sulfonamid-Antibiotika»). Die Sulfamethazinkonzentration in der Frischgülle betrug 15 mg/kg. Dies entspricht einer starken Belastungssituation, ist aber durchaus realistisch [2].

Über einen Zeitraum von vier Monaten vor und nach dem Ausbringen der Gülle wurden in kurzen Abständen Bodenproben auf den Parzellen gesammelt (Foto 2). Mit einer Wetterstation registrierten wir verschiedene meteorologische Parameter direkt auf der Parzelle, darunter insbesondere den Niederschlag (Foto 3). Da die beiden Dauergrünlandparzellen zu beiden Seiten eines kleinen Bachs liegen, war es zudem möglich, die Ausschwemmung der Antibiotika aus dem Boden in das Bachwasser zu untersuchen. Dazu richteten wir 500 m bachabwärts eine Messstelle ein, an der sowohl der Wasserabfluss kontinuierlich aufgezeichnet wurde als auch automatisch Wasserproben gesammelt wurden (Foto 4).

An der EAWAG bestimmten wir die Konzentration des Sulfamethazins in den Boden-, Bodenwasser- und Bachwasserproben (Foto 5). Darüber hinaus wurden die Gülle- und Bodenproben an der Universität Utrecht mit Hilfe molekularbiologischer Methoden auf das Vorkommen von 14 verschiedenen Antibiotikaresistenzgenen untersucht (Foto 6). 11 der untersuchten Gene sind Tetrazyklinresistenzgene, die restlichen richten sich gegen Sulfonamide (siehe Tab. 1). Die dabei angewendete Technik erfasst die Veränderungen im Spektrum der vorhandenen Resistenzgene und lässt daher nur qualitative bzw. allenfalls semi-quantitative Aussagen zu.



IPAS, Universität Utrecht



Als Dauergrünland genutzte Untersuchungsfläche.

Nach Güllung erhöhte Antibiotikabelastung im Boden

Abbildung 1 zeigt den Sulfamethazingehalt des Bodens vor und nach den beiden Gülleapplikationen. Dargestellt sind jeweils die Durchschnittswerte über der gesamten Parzelle. Aufgrund der Heterogenität muss lokal mit mindestens fünffach höheren Werten gerechnet werden. Vor der ersten Gülleapplikation konnte kein Sulfamethazin im Boden nachgewiesen werden. Nach der Güllung steigt die Konzentration sprunghaft an und sinkt danach wieder ab. Bereits einen Tag nach Güllung lagen nur noch 10% der extrahierten Menge im Bodenwasser vor. Der Rest des Sulfamethazins sorbierte am Bodenmaterial oder wurde verändert. Nur we-

nige Tage später nimmt die Sulfamethazinkonzentration im Boden weiter stark ab. Danach bleibt sie über Wochen relativ stabil, so dass die Werte vor der zweiten Güllung noch nicht auf null zurückgegangen sind. Durch die zweite Applikation steigen die Sulfamethazingehalte wieder an.

13 der 14 Resistenzgene nachweisbar

In der verwendeten Gülle konnten wir 13 der 14 getesteten Resistenzgene nachweisen. In den Bodenproben fanden wir maximal 12 der 14 Gene (Abb. 1). Im Boden waren, im Gegensatz zu Sulfamethazin, verschiedene Resistenzgene bereits vor der ersten Güllung vorhanden. 8 bzw. 11 davon waren eindeutig detektierbar, weitere 1–4 Gene gaben nur schwache Signale. Wahrscheinlich lagen die schwach detektierbaren Resistenzgene nur in sehr geringen Mengen im Boden vor.

Nach der Güllung nahm die Intensität der Resistenzsignale zu und über Wochen waren jeweils 10–12 der 14 Resistenzgene deutlich nachweisbar (Abb. 1). Wir nehmen an, dass diese zusätzlichen Gene aus der Mikroflora der Gülle stammen.

Das Wetter entscheidet über das Schicksal der Antibiotika

Interessanterweise war das Wetter nach den beiden Gülleapplikationen sehr unterschiedlich. Während auf die erste Güllung eine trockene Woche ohne Niederschlag und ein niederschlagsarmer April (60% des langjährigen Mittels) folgten, war die Woche nach der zweiten Applikation sehr regenreich. Dies hatte einen entscheidenden Einfluss auf das weitere Schicksal des Sulfamethazins in der Umwelt.

So fanden wir, dass der Gesamtsulfamethazingehalt im Boden bei der zweiten Gülleapplikation mit anschließendem Regen weniger stark anstieg als bei der ersten Applikation ohne Regen (Abb. 1). Dies gilt auch für die Sulfamethazinkonzentrationen

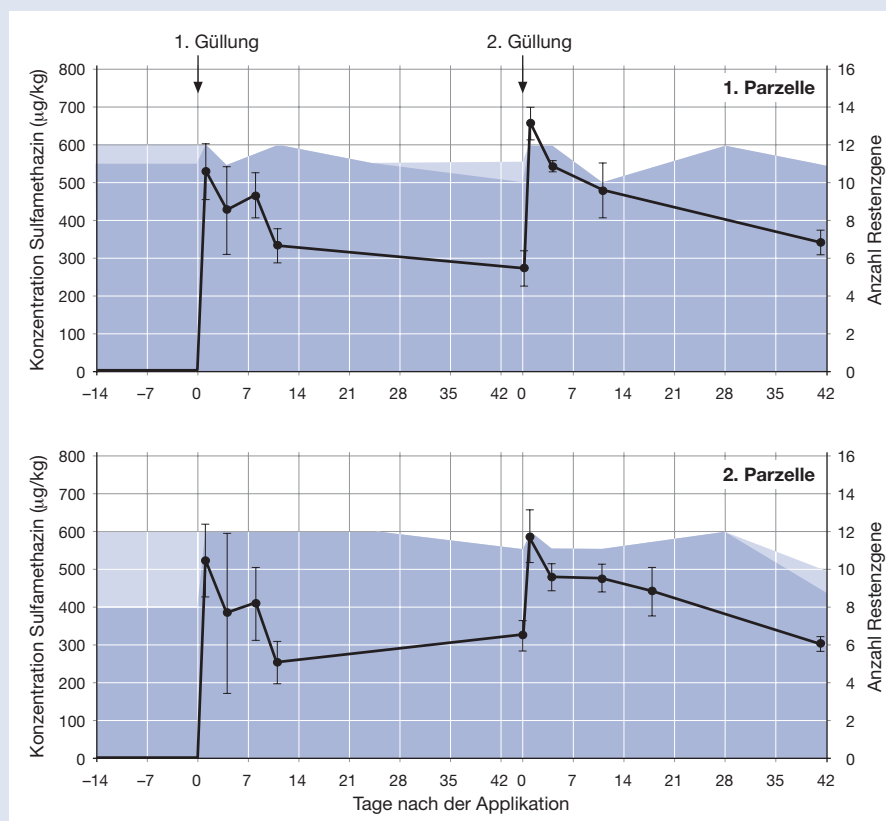


Abb. 1: Konzentration von Sulfamethazin (schwarze Kurve, Mittelwerte plus Standardabweichung) und Anzahl Resistenzgene (dunklere Fläche = deutlich nachweisbare Resistenzgene, helle Fläche = zusätzliche, schwach nachweisbare Resistenzgene) in Bodenproben der beiden Dauergrünlandparzellen. Am 24. März 2003 und am 8. Mai 2003 wurde sulfamethazinhaltige Gülle (15 mg/kg) auf die Felder appliziert.

im Bodenwasser: sie waren nach der ersten Güllung ohne Regen fast doppelt so hoch (ca. 65 µg/l) wie nach der zweiten Güllung mit Regen (ca. 35 µg/l). Weiter zeigte sich nach der zweiten Gülleapplikation eine erhöhte Sulfamethazinkonzentration im Wasser des zwischen den Feldern hindurch fließenden Bachs. Sie erreichte einen Maximalwert von 4 µg/l (Abb. 2) und war auch während der folgenden Regenereignisse immer wieder leicht erhöht, allerdings wurden die Konzentrationsspitzen mit zunehmendem zeitlichen Abstand zur Applikation immer tiefer. Im Gegensatz dazu ist die Sulfamethazinkonzentration im Bachwasser nach der ersten Gülleapplikation Ende März wesentlich geringer.

Weitere Untersuchungen angezeigt

Unsere Feldversuche zeigen, dass Sulfonamid-Antibiotika noch Monate nach Güllung im Boden zu finden sind. Die gefundenen Konzentrationen im Boden liegen deutlich über dem so genannten Triggerwert von 100 µg pro kg Boden. Der Triggerwert wurde im Rahmen der Zulassungsprüfung für neue Veterinärmedikamente als Schwellenwert definiert. Bei Überschreiten dieses Werts werden vertiefte Abklärungen der Umweltauswirkungen verlangt [6]. Dass Sulfonamide einen Einfluss auf Bodenorganismen haben können, wird aus anderen Arbeiten sichtbar: Bei einer Sulfonamidkonzentration von 1 mg/kg veränderte sich die Enzymaktivität der Bodenbakterien [7] und es kam zu einer Hemmung der Bodenatmung [8]. In unseren Feldversuchen wurden diese Konzentrationen aufgrund der Heterogenität im Boden lokal deutlich überschritten. Ferner konnten wir kürzlich nachweisen, dass Bodenbakterien ab Konzentrationen von 10 mg/kg mit ansteigender

Toleranz gegenüber Sulfonamid-Antibiotika reagieren [9]. Es ist daher äusserst wichtig, die Effekte solcher Umweltkonzentrationen genauer zu untersuchen und mehr über die biologische Verfügbarkeit der Sulfonamide im Boden herauszufinden.

Durch unsere Messungen konnten wir das Vorkommen von Resistenzgenen sowohl in der Gülle als auch im Boden bestätigen. Das Vorkommen von Resistenzgenen in der Umwelt ist auch durch andere Studien belegt [10, 11]. Ob jedoch mit der Gülle zusätzliche Antibiotikaresistenzgene in den Boden eingetragen werden, bleibt nach unseren Untersuchungen unklar. Um dies definitiv beantworten zu können, müsste man die Menge der Gene quantitativ erfassen. Darüber hinaus wäre es wichtig zu untersuchen, ob die Resistenzgene bei Regen aus dem Boden in die Gewässer geschwemmt werden und es damit zu einer weiteren Verbreitung der Resistenzgene kommt. Schliesslich muss geklärt werden, wie wichtig ein erhöhtes Vorkommen von Resistenzgenen in der Umwelt für das Auftreten von Resistenzen in Krankheitserregern ist.

Gegenwärtig ist daher eine qualifizierte Bewertung des Risikos, dass sich aus dem Gebrauch der Antibiotika in der Nutztierhaltung ergibt, noch nicht möglich. Es fehlen zu viele Detailinformationen. Trotzdem kommen wir anhand unserer Ergebnisse zum Schluss, dass ein zurückhaltender, bewusster Einsatz von Antibiotika angezeigt ist.



Krispin Stoob, Umweltnaturwissenschaftler, arbeitet zurzeit an seiner Dissertation in der Abteilung «Wasser und Landwirtschaft».

Koautoren

Heike Schmitt, Institute for Risk Assessment Sciences an der Universität Utrecht und National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, Niederlande.

Marcel Wanner, Professor am Institut für Tierernährung der Universität Zürich.

- [1] www.nrp49.ch
- [2] Vree T.B., Hekster Y.A. (1987): Clinical pharmacokinetics of sulfonamides and their metabolites – an encyclopedia. *Antibiotics and Chemotherapy* 37, 1–214.
- [3] Langhammer J.P. (1989): Untersuchungen zum Verbleib antimikrobiell wirksamer Arzneistoffe als Rückstände in Gülle und im landwirtschaftlichen Umfeld. Dissertation, Universität Bonn, 138 S.
- [4] Haller M.Y., Müller S.R., McDardell C.S., Alder A.C., Suter M.J.F. (2002): Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 952, 111–120.
- [5] Stettler S. (2004): Extrahierbarkeit und Transportverfügbarkeit von Sulfonamiden in Grünlandböden nach Gülle-Applikation. Diplomarbeit, ETH-Zürich, 61 S.
- [6] International Cooperation on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Veterinary Products (VICH). http://vich.eudra.org/pdf/2000/GI06_st7.pdf
- [7] Boleas S., Fernández C., Carbonell G., Babín M.M., Alonso C., Pro J., Tarazona J.V. (2003): Effects assessment of the antimicrobial sulfachloropyridazine. Poster an der Envirpharma, Lyon: www.envirpharma.org
- [8] Thiele S., Beck I.-C. (2001): Wirkungen pharmazeutischer Antibiotika auf die Bodenmikroflora – Bestimmung mittels ausgewählter bodenbiologischer Testverfahren. *Mitteilungen der deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft* 96, 383–384.
- [9] Schmitt H., van Beelen P., Tolls J., van Leeuwen C.L. (2004): Pollution-induced community tolerance of soil microbial communities caused by the antibiotic sulfachloropyridazine. *Environmental Science & Technology* 38, 1148–1153.
- [10] Séveno N.A., Kallifidas D., Smalla K., van Elsas J.D., Collard J.M., Karagouni A.D., Wellington E.M.H. (2002): Occurrence and reservoirs of antibiotic resistance genes in the environment. *Reviews in Medical Microbiology* 13, 15–27.
- [11] Stanton T.B., Humphrey S.B. (2003): Isolation of tetracycline-resistant *Megasphaera elsdenii* strains with novel mosaic gene combinations of *tet* (O) and *tet* (W) from swine. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 3874–3882.

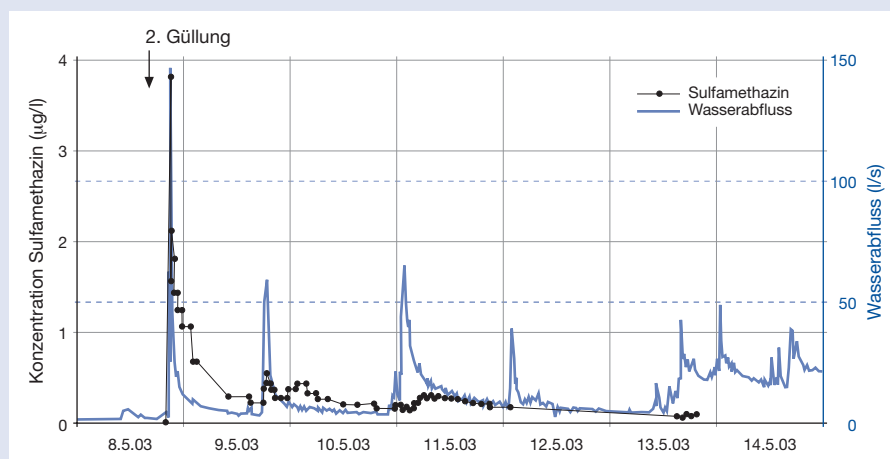


Abb. 2: Wasserabfluss und Konzentrationsverlauf von Sulfamethazin im Bach während der Regenereignisse nach der zweiten Gülleapplikation vom 8. Mai 2003.