



Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien in Abwasser und Fließgewässern in NRW

Ergebnisse aus dem LANUV-ARB-Projekt

[LANUV-Fachbericht 155](#)

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-----------|
| Zusammenfassung | 7 |
| Abkürzungen | 12 |
| Glossar | 15 |
| 1 Einleitung | 21 |
| 1.1 LANUV-ARB-Projekt | 23 |
| 1.2 Mikrobiome, Antibiotika und Antibiotikaresistenz | 24 |
| 1.3 Resistenzmechanismen, Antibiotikaresistenzgene und bakterielle Antibiotika- inaktivierende Enzyme | 27 |
| 1.4 Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien – mit Bezug zu Abwasser | 30 |
| 1.4.1 Multiresistente Enterobakterien (<i>Enterobacterales</i>), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> und <i>Acinetobacter baumannii</i> (gramnegative Bakterien) | 32 |
| 1.4.2 Vancomycin-resistente Enterokokken (grampositive Bakterien) | 35 |
| 2 Messprogramm | 37 |
| 2.1 Auswahl der Anlagen und Messstellen | 38 |
| 2.1.1 Kommunale Kläranlagen | 38 |
| 2.1.2 Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser | 41 |
| 2.1.3 Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der Fleischwirtschaft | 41 |
| 2.1.4 Badegewässer mit Abwassereinleitungen im Einzugsgebiet | 42 |
| 2.1.5 Messstellen (= Probenahmestellen) | 43 |
| 2.2 Kurzbeschreibung der Abwasserbehandlungsanlagen | 48 |
| 2.2.1 Kommunale Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung | 48 |
| 2.2.1.1 KA Rheinbach – Retentionsbodenfilter plus (RBF+) | 48 |
| 2.2.1.2 KA Bad Sassendorf – Ozonung | 49 |
| 2.2.1.3 KA Konzen – Membranbioreaktor | 49 |
| 2.2.1.4 KA Monschau – UV-Bestrahlung | 50 |
| 2.2.1.5 KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda – Ozonung | 50 |
| 2.2.2 Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser | 51 |
| 2.2.2.1 ABA am Kreiskrankenhaus Waldbröl | 51 |
| 2.2.2.2 ABA am Marienhospital Gelsenkirchen | 51 |
| 2.2.3 Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der Fleischwirtschaft | 52 |
| 2.2.3.1 Betrieb A (Direkteinleitung; Geflügelschlachtung) | 52 |
| 2.2.3.2 Betrieb B (Direkteinleitung; Geflügelverarbeitung) | 52 |
| 2.2.3.3 Betrieb C (Indirekteinleitung; Schweineschlachtung) | 53 |
| 2.2.3.4 Betrieb D (Indirekteinleitung; Schweineschlachtung) | 53 |
| 3 Probenahme und Untersuchungsparameter | 54 |
| 4 Ergebnisse | 55 |
| 4.1 <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> und <i>Citrobacter</i> mit Resistenzen gegenüber Cefpodoxim (3GC-resistent) bzw. mit Carbapenemase-Produktion | 56 |
| 4.1.1 Krankenhausabwasser und Abwasser aus Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet | 56 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.1.2 | Kommunale Kläranlagen und Krankenhausabwasserbehandlungsanlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung..... | 63 |
| 4.1.3 | Abwasser aus Betrieben der Fleischwirtschaft..... | 65 |
| 4.2 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mit Resistenzen gegenüber den Antibiotika Ceftazidim, Cefepim, Imipenem, Meropenem | 67 |
| 4.3 | 3MRGN- bzw. 4MRGN-Klassifizierung nach KRINKO | 70 |
| 4.4 | Vergleich des Nachweises von Carbapenemase-bildenden <i>E. coli</i> und Bakterien der KEC-Gruppe mittels CHROMagar ESBL und CHROMagar mSuperCARBA..... | 78 |
| 4.5 | Vancomycin-resistente Enterokokken | 81 |
| 4.5.1 | Krankenhausabwasser und Abwasser aus Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet | 81 |
| 4.5.2 | Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung | 83 |
| 4.6 | Antibiotikaresistenzgene (ARG) | 85 |
| 4.6.1 | ESBL-Gene und Carbapenemase-Gene | 85 |
| 4.6.2 | Vancomycin-Resistenz-Gene | 88 |
| 4.7 | Badegewässer mit Abwassereinleitungen im Einzugsgebiet..... | 91 |
| 5 | Interpretation und Einordnung der Ergebnisse | 93 |
| 5.1 | Krankenhausabwässer als Quelle klinisch-relevanter multiresistenter ARB | 94 |
| 5.1.1 | Dezentrale Behandlung von Krankenhausabwasser direkt an der Quelle | 97 |
| 5.2 | Wirkung konventioneller mechanisch-biologischer Abwasserbehandlung in Kläranlagen auf ARB | 98 |
| 5.3 | Weitergehende Abwasserbehandlung und ihre Wirkung auf ARB..... | 99 |
| 5.4 | Abwasser aus Betrieben der Fleischwirtschaft | 100 |
| 5.5 | 3MRGN und 4MRGN | 101 |
| 5.6 | Nachweismethoden Carbapenemase bildender <i>Enterobacterales</i> (4MRGN) | 102 |
| 5.7 | Verbreitung von Antibiotikaresistenzgenen (ARG) in Abwässern und Oberflächengewässern | 102 |
| 5.8 | Vorkommen von ARB und ARG in Badegewässern | 104 |
| 6 | Fazit und Ausblick | 107 |
| 6.1 | Vorkommen von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien und Antibiotikaresistenzgenen in Abwässern und Fließgewässern in Nordrhein-Westfalen..... | 107 |
| 6.2 | Wirkung konventioneller und weitergehender Abwasserbehandlungsverfahren..... | 108 |
| 6.3 | Vergleich mit Ergebnissen des HyReKA- und des ARA-Projekts | 108 |
| 6.4 | Methodenweiterentwicklung innerhalb des ARB-Projekts..... | 109 |
| 6.5 | Empfehlungen..... | 109 |

| | | |
|---------------|---|------------|
| 7 | Projekt „Molekulare Epidemiologie“ – Kooperation LANUV und Nationales Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger (NRZ)..... | 112 |
| 8 | Danksagung | 115 |
| Anhang | | 116 |
| A 1 | Details zu Probenahme und Analytik | 116 |
| A 1.1 | Qualitätssicherungsmaßnahmen..... | 116 |
| A 1.2 | Probenahme | 116 |
| A 1.2.1 | Probenahmeplanung..... | 116 |
| A 1.2.2 | Probenahmestelle | 118 |
| A 1.2.3 | Probenahmegerätschaften und Probenahmegefäße..... | 118 |
| A 1.2.4 | Probenahme Abwasser..... | 119 |
| A 1.2.5 | Probenahme Oberflächenwasser | 119 |
| A 1.2.6 | Probentransport, -konservierung und -lagerung | 119 |
| A 1.3 | Physikalische und chemische Verfahren..... | 119 |
| A 1.3.1 | Vor-Ort-Parameter | 119 |
| A 1.3.2 | Bestimmung von Arzneimittelwirkstoffen | 120 |
| A 1.3.3 | Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs..... | 121 |
| A 1.4 | Mikrobiologische und molekularbiologische Verfahren..... | 122 |
| A 1.4.1 | Probenvorbereitung..... | 122 |
| A 1.4.1.1 | Festlegung der Ansatzverfahren und Untersuchungsvolumina | 122 |
| A 1.4.1.2 | Homogenisierung | 122 |
| A 1.4.2 | Mikrobiologische Verfahren mittels Agar-Nährmedien | 123 |
| A 1.4.2.1 | Bestimmung von ESBL-bildenden Enterobacterales..... | 124 |
| A 1.4.2.2 | Bestimmung von Carbapenemase-bildenden <i>Enterobacterales</i> | 128 |
| A 1.4.2.3 | Bestimmung von Carbapenemase-Bildner aus der AB-Gruppe | 131 |
| A 1.4.2.4 | Bestimmung von <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mit Antibiotikaresistenzen | 133 |
| A 1.4.2.5 | Bestimmung von Vancomycin-resistenten Enterokokken..... | 135 |
| A 1.4.3 | Berechnung für kulturelle Analytik auf Nährmedienplatten..... | 137 |
| A 1.5 | Langzeiterhaltung von Bakterienisolaten..... | 138 |
| A 1.6 | Identifizierung von Bakterienisolaten..... | 138 |
| A 1.6.1 | MALDI-TOF MS-Verfahren | 139 |
| A 1.6.2 | Vitek® 2 – System | 140 |
| A 1.6.3 | 16S rDNA-Sequenzierung und Sequenzabgleich..... | 142 |
| A 1.6.4 | Festlegung des Identifizierungsergebnisses..... | 142 |
| A 1.7 | Phänotypische Verfahren zur Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung | 144 |
| A 1.7.1 | Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung mit Vitek® 2 – System..... | 144 |
| A 1.7.2 | MRGN-Klassifizierung..... | 146 |
| A 1.8 | Phänotypische Verfahren zur Bestimmung von Resistenzmechanismen | 147 |
| A 1.8.1 | Bestimmung von β -Lactamasen mittels β -LACTA-Test®..... | 147 |
| A 1.8.2 | Bestimmung von ESBL mittels E-Test®..... | 147 |
| A 1.8.3 | Immunochemographische Bestimmung von CTX-M..... | 148 |

| | | |
|------------------------------|---|------------|
| A 1.8.4 | Bestimmung von Carbapenemasen-Aktivität..... | 149 |
| A 1.8.5 | Immuno-chromatographische Bestimmung von Carbapenemasen..... | 150 |
| A 1.9 | Molekularbiologische Verfahren zur Bestimmung von Resistenzgenen..... | 151 |
| A 1.9.1 | DNA-Extraktion aus Bakterienisolaten..... | 151 |
| A 1.9.2 | DNA-Extraktion aus Wasserproben..... | 151 |
| A 1.9.3 | Bestimmung der DNA-Konzentration..... | 153 |
| A 1.9.4 | Bestimmung von ESBL-codierenden Genen..... | 154 |
| A 1.9.5 | Bestimmung von Carbapenemase-codierenden Genen..... | 155 |
| A 1.9.6 | Bestimmung von <i>vanA</i> und <i>vanB</i> -Genen..... | 157 |
| A 1.10 | Arbeitshilfen..... | 159 |
| A 2 | Ergebnisse der Untersuchung auf Antibiotika..... | 163 |
| A 3 | Abschlussbericht des NRZ zum Projekt „Molekulare Epidemiologie“ | 172 |
| A 3.1 | Abschlussbericht zur Kooperation LANUV – NRZ..... | 172 |
| A 3.1.1 | Hintergrund..... | 172 |
| A 3.1.2 | Molekulare Epidemiologie – Teil 1..... | 172 |
| A 3.1.3 | Molekulare Epidemiologie – Teil 2..... | 173 |
| A 3.1.3.1 | Kläranlage Engelskirchen..... | 174 |
| A 3.1.3.2 | Kläranlage Münster-Geist..... | 177 |
| A 3.1.3.3 | Kläranlage Lüdenscheid-Schlittenbachtal..... | 179 |
| A 3.1.3.4 | Abwasserbehandlungsanlage Kreiskrankenhaus Waldbröl..... | 179 |
| A 3.1.3.5 | Kläranlage Wiehl Weiershagen..... | 180 |
| A 3.1.3.6 | Abwasserbehandlungsanlage Marienhospital Gelsenkirchen..... | 180 |
| A 3.1.3.7 | Kläranlage Stemwede, Wehdem..... | 180 |
| A 3.1.3.8 | Essen Baldeneysee Seaside Beach..... | 182 |
| A 3.1.4 | Schlussfolgerungen..... | 182 |
| A 3.2 | Anhang Abschlussbericht zur Kooperation LANUV – NRZ: Detaillierte Informationen zu den jeweiligen Probenahmestellen..... | 184 |
| Literatur | | 187 |
| Abbildungsverzeichnis | | 201 |
| Tabellenverzeichnis | | 203 |

Zusammenfassung

Neben dem seit Jahrzehnten bekannten Auftreten von human- und tiermedizinisch relevanten antibiotikaresistenten bzw. multiresistenten Bakterien im Rahmen der Anwendung von Antibiotika im klinischen Bereich, bei der ambulanten Behandlung von Patienten und in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung wird zunehmend auch die aquatische Umwelt als Reservoir für antibiotikaresistente Bakterien (ARB) und Antibiotikaresistenzgene (ARG) betrachtet. Unter diesem Aspekt hat das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz NRW (LANUV) das Projekt „Bestandsaufnahme zum Vorkommen abwasserbürtiger antibiotikaresistenter Bakterien in Abwasser und in Gewässern in NRW sowie Aufklärung relevanter Quellen und Eintragspfade in die Umwelt“ (ARB-Projekt) über eine Laufzeit von drei Jahren (2019 bis 2022) durchgeführt. Ziel war die stichprobenartige Erfassung der Verbreitung klinisch-relevanter ARB und ARG in Abwässern aus Krankenhäusern, in kommunalem Abwasser mit und ohne Krankenhausabwasseranteil, im Zu- und Ablauf von Kläranlagen sowie in durch Kläranlageneinleitungen beeinflussten Oberflächengewässern in Nordrhein-Westfalen. Die Quantifizierung, Identifizierung und Bestimmung von Resistenzeigenschaften der ARB und der qualitative Nachweis von ARG in Abwasser- und Oberflächenwasserproben erfolgte basierend auf kulturellen, molekularbiologischen und chemischen Verfahren.

Der Schwerpunkt lag auf antibiotikaresistenten bzw. multiresistenten prioritären Krankheitserregern von aktueller klinischer Relevanz. Es handelte sich um fakultativ-pathogene gramnegative Bakterien der *Enterobacterales* mit der Art *Escherichia coli* (*E. coli*) sowie Vertretern der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* (KEC-Gruppe), *Pseudomonas aeruginosa* und die *Acinetobacter baumannii*-Gruppe sowie grampositive Bakterien der Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE).

Generell wurde das Vorkommen der genannten klinisch-relevanten ARB, mit Ausnahme der *A. baumannii*-Gruppe, in Abwässern aller Krankenhäuser, Kläranlagen und Fließgewässer oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen sowie in Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der Fleischwirtschaft in Nordrhein-Westfalen festgestellt.

Im Unterschied zu den ubiquitär vorhandenen 3GC-resistenten (Resistenz gegenüber Cephalosporinen der 3. Generation) *E. coli* und Bakterien der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* (KEC-Gruppe) war das Vorkommen Carbapenemase-bildender *E. coli* und KEC (= 4MRGN) – auf Basis der durchgängig angewendeten Analytik mittels CHROMagar ESB (Fa. Mast) als primärem Selektivnährmedium – auf Abwasser aus einigen Krankenhäusern und auf Rohabwasser (Zuläufe der Kläranlagen) mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet beschränkt. Die stichprobenartige Verwendung des bzgl. 4MRGN selektiveren und dementsprechend sensitiveren Primärgarnährmedium CHROMagar mSuperCARBA zeigte allerdings auch den Nachweis von 4MRGN in Proben ohne Krankenhausabwasseranteil. Insgesamt zeigte der Vergleich der Abwässer aus den Krankenhäusern und von kommunalen Rohabwässern mit Krankenhausabwasseranteil mit kommunalem Abwasser ohne solchen Anteil, dass Carbapenemase-bildende *E. coli* und Vertreter der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* sowie multiresistente *P. aeruginosa* überwiegend aus Krankenhausabwässern stammen, während kein deutlicher Unterschied in der Belastung von Krankenhausabwasser und kommunalem Abwasser mit 3GC-resistenten *E. coli* und KEC sowie VRE vorhanden war. In den Abwässern der Krankenhäuser waren multiresistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe, die gegen 3 bzw. 4 Antibiotikagruppen (3MRGN bzw. 4MRGN) resistent waren, vorhanden.

Im Abwasser eines Krankenhauses wurden zudem 4MRGN-Isolate von *P. aeruginosa* mit unterschiedlichen Carbapenemasen gefunden. Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE), bei denen es sich ausschließlich um *Enterococcus faecium* handelte, wurden ebenfalls im Abwasser aller Krankenhäuser, in den Rohabwässern mit Krankenhausabwasseranteil im Zulauf zu den Kläranlagen, aber auch in kommunalen Rohabwässern ohne Krankenhausabwasseranteil im ähnlichen Konzentrationsbereich nachgewiesen.

Insgesamt zeigen die Befunde, dass Krankenhausabwässer eine bedeutende Quelle für den Eintrag von antibiotikaresistenten bzw. multiresistenten (z. B. 4MRGN) fakultativ-pathogenen Bakterien darstellen können. Im ARB-Projekt handelte es sich dabei um *E. coli* und Vertreter der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* (KEC-Gruppe) sowie *P. aeruginosa* und VRE. Diese gelangen dann entlang des Abwasserpfads in das kommunale Abwassersystem, werden während der Abwasserbehandlung ggf. nicht vollständig entfernt und dann durch die Einleitung aus der Kläranlage in das Fließgewässer eingetragen.

Die dezentrale Behandlung des Abwassers von Krankenhäusern mittels Membranfiltration (Ultrafiltration) in Membranbioreaktoren (MBR) und nachgeschalteter Ozonung bewirkte eine Abnahme von 3GC-*E. coli* und KEC, multiresistenten *P. aeruginosa* und VRE um mehrere Log-Stufen, sodass die Zielorganismen im behandelten Abwasser nicht mehr oder nur in sehr geringer Konzentration nachgewiesen wurden. Eine dezentrale Abwasserbehandlung direkt an der Quelle in Krankenhäusern könnte somit die Belastung von kommunalem Abwasser mit multiresistenten Bakterien deutlich verringern.

Bezüglich der Reduktionsleistung von Kläranlagen bewirkten Kläranlagen mit konventioneller mechanisch-biologischer Abwasserbehandlung eine Abnahme von 3GC-resistenten *E. coli* und KEC, multiresistenten *P. aeruginosa* und VRE im Bereich von etwa 2 bis 4 Log-Stufen. Im Ablauf der Kläranlagen waren die Zielorganismen teilweise noch in niedrigen Konzentrationen nachweisbar. Im Fall von zwei der drei Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet wurden im Ablauf der Kläranlagen und unterhalb der Einleitung, jedoch nicht oberhalb, Carbapenemase-bildende *E. coli* und KEC in niedrigen Konzentrationen nachgewiesen. Insgesamt war die Nachweishäufigkeit bzw. Konzentration multiresistenter Bakterien im Fließgewässer unterhalb der Einleitung der untersuchten Kläranlagen höher als im Gewässer oberhalb der Einleitungsstellen, was auf die mögliche Rolle von Kläranlagenabläufen als Punktquellen von ARB hinweist. Weitergehende Abwasserbehandlungen mit unterschiedlichen Verfahrensstufen zeigten bezüglich der Reduktionsleistungen der ARB bei Ozonung keinen ausgeprägten Effekt, bei UV-Bestrahlung und weitergehender Abwasserbehandlung mittels eines Retentionsbodenfilters um etwa 2 Log-Stufen niedrigere Konzentrationen bis hin zu keinem Nachweis und einen vollständigen Rückhalt durch Membranfiltration (Ultrafiltration).

Abwässer aus Schlachthöfen gelten ebenfalls als Quellen von antibiotikaresistenten, fakultativ-pathogenen Bakterien. In vier Betrieben der Fleischwirtschaft (Geflügelverarbeitung, Geflügelschlachtung, Schweineschlachtung) wurden 3GC-resistente *E. coli* und KEC sowie *P. aeruginosa*, jedoch nicht VRE, in Rohabwasserproben nachgewiesen, die betriebseigene Abwasserbehandlung führte zur Reduktion der ARB um mehrere Log-Stufen. 3GC-resistente *E. coli* waren im behandelten Abwasser in geringen Konzentrationen noch enthalten oder waren wie *P. aeruginosa* nicht mehr nachweisbar. Eine dezentrale Behandlung von Schlachthofabwasser in Betrieben bei Indirekteinleitern kann somit zur Minderung der Belastung durch ARB in Kläranlagen bzw. bei Direkteinleitern in Oberflächengewässern (Vorfluter) dienen.

Im Rahmen des Messprogramms wurden neue Erkenntnisse zur Methodik des Nachweises von 4MRGN-Isolaten in Abwasserproben gewonnen. Ein Vergleich der Analytik mittels des im ARB-Projekt durchgehend verwendeten CHROMagar ESBL versus CHROMagar mSuper-CARBA zeigte, dass die alleinige Verwendung von CHROMagar ESBL zu Minderbefunden oder sogar zu falsch-negativen Ergebnissen bzgl. Carbapenemase-bildender Zielorganismen (4MRGN) führen kann. CHROMagar mSuperCARBA war sensitiver und ergab eine bis zu 3,6 Log-Stufen höhere Wiederfindung von Carbapenemase-bildenden Zielorganismen im Vergleich zu CHROMagar ESBL. Daher ist die zusätzliche Verwendung dieses Nährmediums aufgrund der Brisanz des Auftretens von 4MRGN zu empfehlen.

Bezüglich der ARG lag der Fokus auf dem qualitativen Nachweis von insgesamt zehn Antibiotikaresistenz vermittelnden Genen: ESBL- (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} und *bla*_{CTX-M}) und Carbapenemase-Genen (*bla*_{OXA-48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM} und *bla*_{IMP}), die häufig in klinisch-relevanten, fakultativ-pathogenen gramnegativen Bakterien wie *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe vorkommen, und Vancomycin-Resistenz-Genen (*vanA* und *vanB*) von VRE. ESBL- und Carbapenemase-Gene sowie Vancomycin-Resistenz-Gene wurden mit erhöhter Häufigkeit in Abwasser aus Krankenhäusern sowie in Rohabwasser (Zulauf) aus kommunalen Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet im Vergleich zu Rohabwasser aus kommunalen Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet nachgewiesen. Das *vanB*-Gen stellte eine Ausnahme dar, da es mit gleicher Häufigkeit im Rohabwasser aus Kläranlagen mit und ohne Krankenhäusern im Einzugsgebiet auftrat. Diese Befunde weisen darauf hin, dass Krankenhausabwässer auch eine bedeutsame Quelle für ARG darstellen können. Die Abwasserbehandlung in kommunalen Kläranlagen wies keine einheitliche Entfernung der ARG auf, sondern in Abhängigkeit der jeweiligen Resistenzgene kam es nicht nur zur Abnahme der Nachweishäufigkeit, sondern es gab keine Veränderung oder auch eine Zunahme der Nachweishäufigkeit. Somit scheinen bezüglich der ARG-Elimination unterschiedliche Prozesse in den Kläranlagen eine Rolle zu spielen und außer einer Entfernung kann möglicherweise auch eine Persistenz sowie sogar eine Zunahme der ARG stattfinden.

Über die Ergebnisse des Messprogramms hinaus wurde mit dem ARB-Projekt die Etablierung und Weiterentwicklung der Methodik zum Nachweis von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien in Abwässern und Oberflächenwässern erreicht. Hier lag insbesondere der Fokus auf Methodenfortentwicklung zur Erzielung valider und statistisch sicherer quantitativer Ergebnisse. Ein LANUV-Arbeitsblatt mit Empfehlungen zur Nachweismethodik für ARB in Umweltproben befindet sich derzeit in Erarbeitung.

Insgesamt gibt das Messprogramm einen ersten Überblick über das Vorkommen von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien in Abwässern und Gewässern in Nordrhein-Westfalen. Dieses Thema ist jedoch inklusive des anthropogenen Einflusses so komplex, dass derzeit keine expliziten oder generellen Lösungswege zur Reduktion dieser Bakterien aufgezeigt werden können. Weitere Untersuchungen sind dazu notwendig.

Es ist zu prüfen, ob ein zukünftiges regelmäßiges Gewässermonitoring in Nordrhein-Westfalen hinsichtlich des Eintrags und der Persistenz von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien zu etablieren ist. Ein solches Monitoring könnte die weitergehend zu erwartende Dynamik bezüglich besorgniserregender Antibiotikaresistenzen ermitteln und damit frühzeitig Handlungsoptionen schaffen. Dies wird seitens des LANUV als sinnvoll und zukunftsorientiert angesehen.

Infobox: Vorkommen klinisch-relevanter ARB

- Vorkommen klinisch-relevanter ARB (mit Ausnahme der *A. baumannii*-Gruppe) in Abwässern aller untersuchten Krankenhäuser, Kläranlagen und in Fließgewässern (oberhalb und unterhalb der Einleitung der Kläranlagen) sowie in Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der Fleischwirtschaft festgestellt.
- 3GC-resistente (Resistenz gegenüber Cephalosporinen der 3. Generation) *E. coli* und Bakterien der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* (KEC-Gruppe) ubiquitär nachgewiesen.
- Vorkommen Carbapenemase-bildender *E. coli* und KEC (= 4MRGN) – auf Basis der durchgängig angewendeten Analytik mittels CHROMagar ESBL als primärem Selektivnährmedium – auf Abwasser aus einigen Krankenhäusern und auf Rohabwasser (Zuläufe) der Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet beschränkt.
- Stichprobenartige Verwendung des bzgl. 4MRGN selektiveren und dementsprechend sensitiveren Primärnährmediums CHROMagar mSuperCARBA zeigte allerdings auch den Nachweis von 4MRGN in Proben ohne Krankenhausabwasseranteil.
- Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass Carbapenemase-bildende *E. coli* und Bakterien der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* sowie multiresistente *P. aeruginosa* überwiegend aus Krankenhausabwässern stammen.
- Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE), bei denen es sich ausschließlich um *Enterococcus faecium* handelte, wurden im Abwasser aller Krankenhäuser, in den Rohabwässern mit Krankenhausabwasseranteil im Zulauf zu den Kläranlagen, aber auch in kommunalen Rohabwässern ohne Krankenhausabwasseranteil im ähnlichen Konzentrationsbereich nachgewiesen.
- 3GC-resistente *E. coli* und KEC sowie resistente *P. aeruginosa*, jedoch nicht VRE, wurden in Rohabwasserproben von Betrieben der Fleischwirtschaft (Geflügelverarbeitung, Geflügelschlachtung, Schweineschlachtung) nachgewiesen.

Infobox: Abwasserbehandlung

- Eine dezentrale Abwasserbehandlung mittels Membranfiltration (Ultrafiltration) direkt an der Quelle in Krankenhäusern könnte die Belastung von kommunalem Abwasser mit multiresistenten Bakterien deutlich verringern.
- Kläranlagen mit konventioneller mechanisch-biologischer Abwasserbehandlung bewirkten eine Abnahme von 3GC-resistenten *E. coli* und KEC, multiresistenten *P. aeruginosa* und VRE im Bereich von etwa 2 bis 4 Log-Stufen.
- Eine weitergehende Abwasserbehandlung mittels UV-Bestrahlung oder eines Retentionsbodenfilters zeigte bezüglich der Reduktionsleistung der ARB um etwa 2 Log-Stufen niedrigere Konzentrationen bis hin zu keinem Nachweis; mittels Membranfiltration (Ultrafiltration) einen vollständigen Rückhalt der ARB.
- Die betriebseigene Abwasserbehandlung von Betrieben der Fleischwirtschaft führte zur Reduktion der ARB um mehrere Log-Stufen.

Infobox: Nachweis von 4MRGN-Isolaten in Abwasserproben

- Die alleinige Verwendung von CHROMagar ESBL kann zu Minderbefunden oder sogar zu falsch-negativen Ergebnissen bzgl. Carbapenemase-bildender Zielorganismen (4MRGN) führen.
- CHROMagar mSuperCARBA war sensitiver und ergab eine bis zu 3,6 Log-Stufen höhere Wiederfindung von Carbapenemase-bildenden Zielorganismen im Vergleich zu CHROMagar ESBL.
- Die zusätzliche Verwendung von CHROMagar mSuperCARBA ist aufgrund der Brisanz des Auftretens von 4MRGN zu empfehlen.

Abkürzungen

| | |
|------------------|---|
| 3GC | Dritt-Generations-Cephalosporin |
| 3MRGN | multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen (gemäß KRINKO 2012, 2019) |
| 4MRGN | multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen (gemäß KRINKO 2012, 2019) |
| ABA | Abwasserbehandlungsanlage |
| AB-Gruppe | <i>A. baumannii</i> -Gruppe (<i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>A. pittii</i> , <i>A. noscomialis</i> , <i>A. seifertii</i> , <i>A. dijksboorniae</i>) |
| AES | Advanced Expert System |
| AmpC | AmpC β -Lactamase |
| ARB | antibiotikaresistente Bakterien |
| ARG | Antibiotikaresistenzgene |
| AST | Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung |
| BLAST | Basic Local Alignment Search Tool |
| BLASTn | Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool |
| Bp | base pairs (Basenpaare) |
| BTS | Bacterial Test Standard |
| CP | Carbapenemase |
| CTX-M | Cefotaxim-hydrolysierende β -Lactamase isoliert in München (eine ESBL) |
| DART | Deutsche Antibiotika-Resistenzstrategie |
| DNA | Deoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure) |
| ECDC | European Centre for Disease Prevention and Control (Europäisches Zentrum für die Prävention und die Kontrolle von Krankheiten) |
| ESBL | Extended-Spectrum- β -Lactamasen |
| EUCAST | European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing |
| FNU | Formazin Nephelometric Units |
| GIM | German Imipenemase (eine Carbapenemase) |
| GN | Gramnegativ |
| GP | Grampositiv |
| HCCA | α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid |

| | |
|---------------------|---|
| I | Als <u>intermediär</u> gegen ein bestimmtes Antibiotikum wird ein Bakterienstamm dann eingestuft, wenn eine hohe Wahrscheinlichkeit für einen Therapieerfolg besteht, da die Exposition gegenüber dem Wirkstoff durch Anpassung des Dosierungsschemas oder durch seine Konzentration an der Infektionsstelle erhöht wird. |
| ID | Identifizierung |
| IMP | Imipenemase (eine Carbapenemase) |
| KA | kommunale Kläranlage |
| KBE | Kolonie-bildende Einheit |
| KEC-Gruppe | Bakterien der Gattungen <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> |
| KH | Krankenhaus |
| KPC | <i>Klebsiella-pneumoniae</i> -Carbapenemase |
| KRINKO | Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention |
| LANUV | Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz |
| MALDI-TOF-MS | Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation - Flugzeit-Massenspektrometrie) |
| MBL | Metallo- β -Lactamasen |
| MBR | Membranbioreaktor |
| MBT | MALDI Biotyper [®] , Firma Bruker |
| MDR | Multi Drug Resistance |
| MFU | McFarland Units |
| MHK | Minimale Hemmkonzentration |
| MLST | Multi Locus Sequenz Typisierung |
| MRGN | Multiresistente gramnegative Stäbchen |
| MSP | Mass Spectra Projections |
| NCBI | National Center for Biotechnology Information |
| NDM | New-Delhi-Metallo- β -Lactamase (eine Carbapenemase) |
| NRZ | Nationales Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum) |
| NWG | Nachweisgrenze |
| OXA | Oxacillinase (eine Carbapenemase) |
| PCR | Polymerasekettenreaktion |

| | |
|-------------|---|
| PER | ESBL, die erstmals aus <i>Pseudomonas aeruginosa</i> RNL-1 isoliert wurde |
| R | Als <u>r</u> esistent gegen ein bestimmtes Antibiotikum wird ein Bakterienstamm dann eingestuft, wenn die Wahrscheinlichkeit eines Therapieversagens auch bei erhöhter Exposition hoch ist |
| rDNA | Ribosomal deoxyribonucleic acid (ribosomale Desoxyribonukleinsäure) |
| RKI | Robert Koch-Institut |
| S | Als <u>s</u> ensibel gegen ein bestimmtes Antibiotikum wird ein Bakterienstamm eingestuft, wenn unter Verwendung des Standarddosierschemas des Wirkstoffs eine hohe Wahrscheinlichkeit für einen Therapieerfolg besteht |
| SHV | Sulfhydryl reagent variable (eine ESBL) |
| TEM | Temoneira (Name des griechischen Patienten, der mit einem Bakterienisolat infiziert war, bei welchem erstmals TEM-1 nachgewiesen wurde; eine ESBL) |
| TOC | Total Organic Carbon (gesamter organischer Kohlenstoff): Parameter in der Umweltanalytik, der die Summe des gesamten organischen Kohlenstoffs in einer Probe angibt |
| TSA | Trypton-Soja-Agar |
| UAWG | Untere Anwendungsgrenze (Bestimmungsgrenze entsprechend DIN 38402-60) |
| UV | Ultraviolettstrahlung |
| VEB | Vietnam-extended-spectrum- β -lactamase (eine ESBL) |
| VIM | Verona-Integron-Metallo- β -Lactamase (eine Carbapenemase) |
| VRE | Vancomycin-resistente Enterokokken |
| WHO | World Health Organization (Weltgesundheitsorganisation) |

Glossar

AmpC- β -Lactamasen

Bakterielle Enzyme, die Resistenzen gegenüber allen β -Lactam-Antibiotika, außer Cefepim und Cefpirom, beides Cephalosporine der 4. Generation, und außer Carbapenemen vermitteln (PFEIFER 2010). Die Gene, die für AmpC-Enzyme codieren, zeichnen sich durch große genetische Diversität aus (PFEIFER 2007). Die Benennung der *amp*-Gene geht auf frühe Studien (aus den 1960er/70er Jahren) zur Resistenz gegenüber Ampicillin und weiteren Penicillinen zurück (JACOBY 2009). Viele Enterobakterien (wie *Enterobacter*- oder *Citrobacter*-Spezies) besitzen von Natur aus chromosomal lokalisierte *ampC*-Gene (PFEIFER 2007, PFEIFER 2010). Die *ampC*-Expression ist entweder induzierbar oder durch Veränderungen des Regulationsmechanismus dereprimiert, was eine Überexpression und damit die Cephalosporin-Resistenz zur Folge hat (PFEIFER 2010). Von diesen chromosomalen Vorläuferenzymen abgeleitet, sind Plasmid-vermittelte AmpC- β -Lactamasen, welche beispielsweise in *E. coli* und *Klebsiella* spp. vorkommen (PFEIFER 2010). β -Lactamase-Inhibitoren haben kaum oder keinen Effekt auf AmpC- β -Lactamasen, weshalb sie nicht als Extended-Spectrum- β -Lactamasen (ESBL) bezeichnet werden (PFEIFER 2010).

β -Lactam-Antibiotika

Eine große Gruppe von Antibiotika, deren gemeinsames chemisches Merkmal das Vorhandensein eines viergliedrigen Lactam-Ringes ist. Sie gehen ursprünglich auf das Antibiotikum Penicillin zurück, das 1928 aus Kulturen des Schimmelpilzes *Penicillium notatum* extrahiert wurde, und wurden im Laufe der Zeit zur Verwendung als Arzneimittel immer weiterentwickelt. Zu den β -Lactam-Antibiotika gehören, neben den Penicillinen, die Cephalosporine, die Carbapeneme sowie die Monobactame.

β -Lactamase-Inhibitoren

β -Lactamase-Inhibitoren, wie Clavulansäure, Sulbactam oder Tazobactam, sind in ihrer chemischen Struktur den β -Lactam-Antibiotika sehr ähnlich, haben aber kaum einen antibiotischen Effekt (PFEIFER 2010). In der Therapie kommen sie in Kombination mit β -Lactam-Antibiotika zum Einsatz – wie in den Kombinationen der Aminopenicilline Amoxicillin mit Clavulansäure bzw. Ampicillin mit Sulbactam, des Acylureidopenicillins Piperacillin mit Tazobactam oder des Dritt-Generations-Cephalosporins Ceftazidim mit Avibactam –, um deren Wirkung zu erhöhen. Sie können der Inaktivierung der β -Lactam-Antibiotika durch bestimmte β -Lactamase-Enzyme entgegenwirken, indem sie irreversibel an die Enzyme binden und diese damit blockieren (PFEIFER 2010). Allerdings wurden schnelle Anpassungen seitens der Bakterien beobachtet, wie eine vermehrte Bildung (Überexpression) der β -Lactamase (so, dass dem Bakterium nach „Verbrauch“ des Inhibitors noch genügend Enzym für die β -Lactam-Hydrolyse zur Verfügung steht) oder strukturelle Veränderungen des Enzyms (so, dass der Inhibitor nur noch schwach oder gar nicht gebunden wird) (PFEIFER 2010).

Außerdem kommen β -Lactamase-Inhibitoren für den Nachweis von Extended-Spectrum- β -Lactamasen (ESBL) zum Einsatz (siehe Kapitel A 1.8.2).

Carbapeneme

Carbapeneme gehören zu den β -Lactam-Antibiotika. β -Lactam-Antibiotika sind eine große Gruppe von Antibiotika, deren gemeinsames chemisches Merkmal das Vorhandensein eines viergliedrigen Lactam-Ringes ist. Carbapeneme leiten sich von Thienamycin ab, welches 1976 im Bodenbakterium *Streptomyces cattleya* entdeckt wurde. Carbapeneme besitzen ein sehr breites Wirkungsspektrum; zu den in Deutschland verfügbaren Carbapenemen zählen (in Reihenfolge ihrer Markteinführung) Imipenem (1984), Meropenem (1995), Ertapenem (2002) und Doripenem (2008) (KRESKEN et al. 2010). Allen ist gemein, dass sie ausschließlich parenteral applizierbar sind (WEINBERG 2012) – sie also nur als Injektion oder Infusion in den Blutkreislauf verabreicht werden. Carbapeneme besitzen eine hohe Stabilität gegen die Hydrolyse durch die meisten β -Lactamasen; dabei kommt der Unempfindlichkeit gegenüber Extended-Spectrum- β -Lactamasen (ESBL) vom Typ CTX-M, TEM und SHV die größte klinische Bedeutung zu (KRESKEN et al. 2010). Carbapeneme werden bei schweren Infektionen im Krankenhaus eingesetzt; bei multiresistenten gramnegativen Bakterien kommt den Carbapenemen eine spezielle Relevanz zu, weil diese häufig als letzte Antibiotikagruppe noch wirksam sind. Resistenzen gegen Carbapeneme schränken die Therapiemöglichkeiten bei schweren Infektionen deutlich ein (KAASE 2012).

Carbapenemasen

Bakterielle Enzyme, die Carbapeneme (wie Imipenem, Meropenem und Ertapenem) spalten und häufig Resistenz gegenüber allen β -Lactam-Antibiotika vermitteln. Zu den weltweit wichtigsten Carbapenemasen gehören KPC (*Klebsiella-pneumoniae*-Carbapenemasen), VIM (Verona-Integron-Metallo- β -Lactamasen), NDM (New-Delhi-Metallo- β -Lactamasen) und OXA-48 (Oxacillinasen) (KAASE 2012). Auch in Deutschland werden bei den untersuchten *Enterobacteriales* (Enterobakterien) Isolaten hauptsächlich OXA-48-Carbapenemasen und Varianten davon (bezeichnet als OXA-48-like-Carbapenemasen; z. B. OXA-244, OXA-181) sowie NDM-, VIM- und KPC-Carbapenemasen nachgewiesen; bei *Pseudomonas aeruginosa* auch noch häufig IMP (Imipenemase) und GIM (German Imipenemase) (PFENNIGWERTH et al. 2023).

Cephalosporine

Cephalosporine gehören zu den β -Lactam-Antibiotika. β -Lactam-Antibiotika sind eine große Gruppe von Antibiotika, deren gemeinsames chemisches Merkmal das Vorhandensein eines viergliedrigen Lactam-Ringes ist. Cephalosporin C wurde 1945 in einem Isolat des Pilzes *Acremonium chrysogenum* (ehemals *Cephalosporium acremonium*) entdeckt (WEINBERG 2012); es ist wegen seiner schwachen pharmakologischen Wirkung jedoch als Arzneimittel ohne Bedeutung. Cephalosporin C dient aber bis heute als Grundsubstanz zur Herstellung von wirksameren halbsynthetischen Cephalosporinen.

Es existieren verschiedene Einteilungssysteme für die zahlreichen Cephalosporine; eine international verbindliche Einteilung gibt es nicht. Vergleichsweise oft, insbesondere international, wird das von der WHO praktizierte, chronologische Einteilungssystem in Generationen¹ angewendet (WEINBERG 2012):

- **Cephalosporine der ersten Generation**

Die Verbindungen der ersten Generation haben ein relativ enges Wirkungsspektrum, das sich hauptsächlich auf grampositive Kokken konzentriert.

- **Cephalosporine der zweiten Generation**

Die Cephalosporine der zweiten Generation haben eine variable Aktivität gegen grampositive Kokken, aber eine erhöhte Aktivität gegen gramnegative Bakterien.

- **Cephalosporine der dritten Generation**

Die Cephalosporine der dritten Generation haben eine ausgeprägte Aktivität gegen gramnegative Bakterien. Eine begrenzte Aktivität gegen grampositive Kokken (insbesondere Methicillin-empfindliche *Staphylococcus aureus*) kann auftreten.

Zu den Cephalosporinen der dritten Generation gehören z. B. Cefotaxim und Ceftazidim (zur parenteralen Therapie) sowie Cefpodoxim (zur peroralen Therapie; als Cefpodoximproxetil). Ceftazidim ist das einzige Cephalosporin dieser Generation, welches auch gegen Pseudomonaden, wie *Pseudomonas aeruginosa*, wirksam ist.

- **Cephalosporine der vierten Generation**

Die Cephalosporine der vierten Generation sind wirksam gegen grampositive Kokken und ein breites Spektrum gramnegativer Bakterien, einschließlich *Pseudomonas aeruginosa* und viele der Enterobakterien mit induzierbaren chromosomalen β -Lactamasen. Zu den Cephalosporinen der vierten Generation gehören z. B. Cefepim und Cefpirom.

Ausgehend von einer primären Wirksamkeit gegen grampositive Bakterien hat sich das Wirkungsspektrum der Cephalosporine mit der Einführung neuer Substanzen über die Zeit verbreitert. Dabei nahm die Stabilität gegenüber vorherrschenden β -Lactamasen tendenziell ebenfalls zu. Neue Resistenzentwicklungen folgten jedoch jeweils rasch nach der Einführung einer neuen Substanz (WEINBERG 2012).

¹ siehe WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology, Guidelines for ATC classification and DDD assignment, 2023. Oslo, 2022, https://www.whocc.no/atc_ddd_index_and_guidelines/guidelines/; für eine Auflistung der Antibiotika siehe 2021 AWaRe classification, <https://www.who.int/publications/i/item/2021-aware-classification>

Dritt-Generations-Cephalosporin-resistent, 3GC-resistent

Die Bezeichnung 3GC-resistent wird im ARB-Projekt für (zu den Enterobakterien, *Enterobacterales*, gehörende) Zielorganismen der Art *Escherichia coli* (*E. coli*) sowie der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* verwendet, welche auf dem verwendeten Selektivnährboden, welcher die Antibiotika Cefpodoxim, Cloxacillin und Vancomycin enthält, unter den gegebenen Kulturbedingungen wachsen (siehe Kapitel A 1.4.2.1).

Cefpodoxim – ein Cephalosporin der dritten Generation – gilt als empfindlichstes individuelles Indikator-Cephalosporin für den Nachweis der Produktion einer Extended-Spectrum- β -Lactamase. Bei den als 3GC-resistent bezeichneten Zielorganismen können jedoch auch andere Resistenzmechanismen (wie zum Beispiel eine AmpC- β -Lactamase oder eine Carbapenemase) vorliegen.

Effluxpumpen, Effluxmechanismen

Bakterielle Effluxpumpen bzw. Effluxmechanismen dienen dem aktiven Ausschleusen einer breiten Palette von Substraten aus der Zelle heraus – wie Antibiotika, organische Schadstoffe, Schwermetalle, bakterielle Metabolite (BLANCO et al. 2016). Sie kommen in allen Bakterien vor; mit wenigen Ausnahmen sind sie chromosomal kodiert und weisen sowohl auf der genetischen als auch auf der Proteinebene eine konservierte Organisation auf (BLANCO et al. 2016).

Effluxmechanismen in Bakterien können zur Resistenz gegenüber Antibiotika beitragen, indem sie eine Verringerung der aktiven Konzentration des Antibiotikums in der Zelle durch dessen Ausschleusen bewirken (BLANCO et al. 2016, WITTE & KLARE 1999, WITTE 2008, SCHMOCH et al. 2021).

Extended-Spectrum- β -Lactamasen (ESBL)

Extended-Spectrum β -Lactamasen (ESBL) sind in der Lage auch Cephalosporine der dritten Generation – wie die Oxyimino-Cephalosporine Ceftazidim, Cefotaxim und Cefpodoxim – und der vierten Generation – wie Cefepim – zu hydrolysieren sowie das Monobactam-Antibiotikum Aztreonam (PFEIFER 2010, PFEIFER et al. 2013).

3MRGN, 4MRGN

Definition der Multiresistenz bei gramnegativen Bakterien, eingeführt durch die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO), bei welcher insbesondere der Gesichtspunkt der klinischen Relevanz der Resistenz zu Grunde gelegt wurde. Die Klassifizierung beruht auf der Betrachtung von Resistenzen gegenüber den Antibiotika, die als primäre Therapeutika bei schweren Infektionen im Krankenhaus eingesetzt werden. Dabei handelt es sich um vier Antibiotikagruppen, I. Acylureidopenicilline, II. Cephalosporine der 3. und 4. Generation, III. Carbapeneme und IV. Fluorchinolone, jeweils mit den Leitsubstanzen Piperacillin (I.), Cefotaxim und/oder Ceftazidim (II.), Imipenem und/oder Meropenem (III.) sowie Ciprofloxacin (IV.) (KRINKO 2012). Zielorganismen dieser Klassifizierung sind Enterobakterien, *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii*-Gruppe. Sie werden bei Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen als 3MRGN (Multi-Resistente Gram-Negative) bzw. bei Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen als 4MRGN bezeichnet (KRINKO 2012). Nach Anpassung

der Klassifizierung im Jahr 2019 sollen die genannten Bakterien bei Vorliegen einer Carba-penemase immer als 4MRGN bewertet werden (KRINKO 2019). Tabellarische Darstellung siehe Anhang (Tabelle 37, Seite 146).

Gramnegative Bakterien, grampositive Bakterien

Durch eine Methode zur differenzierenden Färbung von Bakterien (Gram-Färbung; entwickelt vom dänischen Bakteriologen Hans Christian Gram) werden Bakterien in zwei große Gruppen eingeteilt – die gramnegativen Bakterien und die grampositiven Bakterien –, die sich im Aufbau ihrer Zellwände unterscheiden. Die Zellwand ist der Membran, die die Bakterienzelle umgibt, (Zytoplasmamembran) aufgelagert und dient unter anderem dem Schutz und der Formgebung der Zelle (KAYSER & BÖTTGER 2005). Wichtigstes Bauelement der Zellwand ist das Murein (Syn. Peptidoglykan), ein netzartiges, die gesamte Zelle einhüllendes Polymer (KAYSER & BÖTTGER 2005).

Gramnegative Bakterien besitzen im Gegensatz zu grampositiven Bakterien eine Zellwand mit einer sehr dünnen Peptidoglykan-Schicht (ca. 2 nm vs. 15-80 nm bei grampositiven; KAYSER & BÖTTGER 2005), jedoch zusätzlich eine weitere (äußere) Membran, welche bei grampositiven Bakterien fehlt. Diese strukturellen Unterschiede führen dazu, dass der zur Unterscheidung verwendete Farbstoff während der Gram-Färbung in den Zellen grampositiver Bakterien zurückgehalten wird, wohingegen er aus denen gramnegativer Bakterien wieder ausgewaschen wird. Eine Gegenfärbung macht letztere wieder sichtbar.

Die Unterscheidung zwischen gramnegativen und grampositiven Bakterien ist insbesondere auch für den therapeutischen Einsatz von Antibiotika von Bedeutung, denn bestimmte Antibiotika wirken nur gegen die eine oder die andere Gruppe von Bakterien (FÜSSLE 2011) und viele Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber den Substanzen beruhen auf den strukturellen Unterschieden im Aufbau der Zellwand (ACKERMANN 2014).

Horizontaler Gentransfer

Bakterien können in der Umwelt frei vorliegendes genetisches Material (DNA, Desoxyribonukleinsäure; Träger der Erbinformation) – aus zuvor lysierten Bakterienzellen oder aktiv bzw. passiv freigesetzt aus intakten Zellen – aufnehmen (Transformation) oder es kann durch Bakterien-infizierende Viren (Phagen) zur Übertragung von bakterieller DNA von einer Bakterienzelle auf eine andere kommen (Transduktion) oder durch direkten Kontakt zwischen zwei Bakterienzellen – mittels einer Plasmabrücke – kann genetisches Material von einer Zelle auf die andere übertragen werden (Konjugation) (HEISIG 2001, KAYSER 1998). Diese Prozesse werden als „horizontaler Gentransfer“ bezeichnet; im Gegensatz zum „vertikalen Gentransfer“, also der Weitergabe von Erbmaterial von einem Individuum an seinen Nachkommen.

Mittels horizontalem Gentransfer können auch Gene übertragen werden, die Resistenz gegenüber Antibiotika vermitteln. Die Konjugation stellt dabei die effizienteste Form der Weitergabe von Antibiotikaresistenzgenen von einer Bakterienzelle auf eine andere – sowohl der gleichen aber auch einer anderen Bakterienart (Spezies) – dar (KAYSER 1998; HEISIG 2001).

Koloniebildende Einheit (KBE)

Als koloniebildende Einheit werden einzelne oder mehrere zusammenhängende Individuen von Mikroorganismen bezeichnet, die bei mikrobiologischen Untersuchungen mittels fester Nährmedien durch fortgesetzte Zellteilung sichtbare Anhäufungen von Zellen (Kolonien) auf oder im Nährmedium bilden. Die koloniebildende Einheit (KBE) bezogen auf ein Volumen, eine Fläche oder eine Masse ist in der Mikrobiologie somit ein Maß zur Quantifizierung vermehrungsfähiger Mikroorganismen.

Nosokomiale Infektionen

Unter einer nosokomialen Infektion (abgeleitet von „Nosokomeion“, der Bezeichnung für Heilstätten im antiken Griechenland) versteht man eine Infektion, die im Zusammenhang mit einer medizinischen Maßnahme, welche z. B. in Krankenhäusern, ambulanten Praxen oder Pflegeeinrichtungen erfolgt ist, erworben wurde (RKI - Nosokomiale Ausbrüche). Zu den häufigsten nosokomialen Infektionen zählen postoperative Wundinfektionen, Harnwegsinfektionen, Infektionen der unteren Atemwege, Sepsis und gastrointestinale Infektionen (OESTERLEE et al. 2017).

Plasmide

Bakterielle Plasmide sind kleine zirkuläre DNA-Elemente, die neben dem eigentlichen Bakterienchromosom (einem ebenfalls zirkulären jedoch größeren DNA-Molekül, welches einzeln oder in wenigen Kopien in der Zelle vorliegt) in Bakterien zu finden sind. Plasmide enthalten in der Regel keine essenziellen Gene, die der Wirt benötigt, sondern solche, die dem Wirt helfen können, sich an neue Umgebungen anzupassen, z. B. im Falle einer Antibiotikaexposition oder alternativer Nährstoffquellen. Darüber hinaus können Plasmide Gene tragen, die für Plasmid-spezifische Funktionen wie Selbstreplikation und Übertragung mittels Konjugation codieren (CARROLL & WONG 2018).

Porine

Zellen gramnegativer Bakterien sind zusätzlich zur Zytoplasmamembran, die die Bakterienzelle umgibt, und der dieser aufgelagerten Schicht aus Murein (Syn. Peptidoglykan) von einer weiteren (äußeren) Membran umgeben, die bei grampositiven Bakterien nicht vorhanden ist; dazwischen befindet sich ein Zwischenraum – der periplasmatische Raum (Abbildungen siehe KAYSER & BÖTTGER 2005). Um dennoch kleinen Biomolekülen (wie Mono- und Disaccharide, Nukleoside und Aminosäuren) freien Zugang zur Zytoplasmamembran zu gewährleisten, enthält die äußere Membran sogenannte Porine. Dabei handelt es sich um Proteine, die einen wassergefüllten Transmembrankanal (Pore) bilden und eine schnelle Diffusion hydrophiler, niedermolekularer Substanzen in den periplasmatischen Raum ermöglichen (WELTE et al. 1995, KAYSER & BÖTTGER 2005). Diese allgemeinen Diffusionsporine liegen in hoher Kopienzahl vor und sind damit wichtige integrale Proteinkomponenten der äußeren Membran und machen diese zu einem Molekularsieb (WELTE et al. 1995).

Genetische Veränderungen, die zu einem Porinverlust führen, können bei gramnegativen Bakterien zu Resistenzen gegen Antibiotika beitragen, weil sie eine Verhinderung der Aufnahme dieser in die Zelle bzw. deren periplasmatischen Raum bewirken (WITTE & KLARE 1999, WITTE 2008, SCHMOCH et al. 2021).

1 Einleitung

Im Jahr 2019 erklärte die Weltgesundheitsorganisation (World Health Organization, WHO) **antimikrobielle Resistenz (AMR)** – wozu die Resistenz von Bakterien gegenüber Antibiotika zu zählen ist – zu einer der zehn größten **globalen Bedrohungen für die öffentliche Gesundheit der Menschheit** (MEINEN et al. 2023). Laut einer Studie zur globalen Krankheitslast durch antimikrobielle Resistenz lag die Anzahl der Todesfälle im Jahr 2019 aufgrund einer bakteriellen Infektion, bei denen die Antibiotikaresistenz (also die nicht Behandelbarkeit der Infektion) allein Ursache des Versterbens war, bei 1,27 Millionen (MEINEN et al. 2023, IHME und RKI² 2022). Für Deutschland werden für das Jahr 2019 9.650 Todesfälle, die auf antimikrobielle Resistenz zurückzuführen sind, angegeben; das entspricht (altersstandardisiert) einer Sterblichkeit von 5 pro 100.000 Menschen, welche in den anderen G7-Staaten in ähnlicher Größenordnung liegt (IHME und RKI 2022).

Die Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD) gibt in ihrer Kurzinformation zur antimikrobiellen Resistenz in der Europäischen Union (gemeinsam mit dem European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) an, dass **75 % der AMR-Krankheitslast auf nosokomiale Infektionen** zurückzuführen sind (MEINEN et al. 2023) – also im Zusammenhang mit einer medizinischen Maßnahme, vorwiegend im Krankenhaus, stehen. Zu den häufigsten nosokomialen Infektionen zählen postoperative Wundinfektionen (24 %), Harnwegsinfektionen (23 %), untere Atemwegsinfektionen (Pneumonien und Tracheobronchitis; 22 %), primäre Sepsis inkl. Katheter-assoziierten Infektionen (6 %), *Clostridium-difficile*-Infektionen (6 %) und andere gastrointestinale Infektionen (5 %) (OESTERLEE et al. 2017).

Neben der schwerwiegenden Problematik, die antibiotikaresistente Bakterien im Krankenhausbereich darstellen, ist in jüngerer Vergangenheit auch die **Rolle der Umwelt** vermehrt in den Fokus gerückt (UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.) 2018). In Folge einer **Antibiotika-Therapie** scheiden Patienten **antibiotikaresistente Bakterien** aus; mit den **Ausscheidungen** gelangen diese ins **Abwasser** und damit in die kommunale Abwasserbehandlung. Das gilt gleichermaßen für Patienten innerhalb und außerhalb des Krankenhauses, denn **Abwässer aus Krankenhäusern** und anderen medizinischen Einrichtungen werden der kommunalen Abwasserreinigung zugeführt und damit nicht anders behandelt als **Abwässer aus privaten Haushalten und öffentlichen Einrichtungen** (KRINKO 2020). Die geltende Verordnung über Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in Gewässer (Abwasserverordnung - AbwV) enthält keinen Anhang, der speziell und ausschließlich für Abwasser aus Krankenhäusern gilt. Diese werden hingegen unter „Anhang 1 Häusliches und kommunales Abwasser“ aufgeführt³. Somit beinhaltet die geltende Abwasserverordnung keine Vorgaben zum Stand der Technik und zu Mindestanforderungen spezifisch für Abwasser aus Krankenhäusern.

Die **Abwasserbehandlung** in kommunalen Kläranlagen zielt vorwiegend auf die Entfernung der groben Schmutzfracht (wie etwa Hygieneartikel) sowie den Rückhalt und Abbau enthaltener Stoffe, wie organische Kohlenstoff-, Stickstoff- und Phosphorverbindungen, ab. Im unbehandelten Abwasser (Rohabwasser) enthaltene parasitische Protozoen (Kryptosporidien, Gi-

² https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Antibiotikaresistenz/Broschuere_IHME_RKI.html

³ <https://www.gesetze-im-internet.de/abwv/>

ardien), Bakterien fäkalen Ursprungs (wie *Escherichia coli* und Enterokokken) sowie human-pathogene enterale Viren (wie Noroviren, Rotaviren, Enteroviren) werden zwar ebenfalls in ihrer Konzentration verringert (MEDEMA et al. 2003), aber nicht zielgerichtet und vollständig eliminiert. Konventionelle Kläranlagen mit mechanisch-biologischer Abwasserbehandlung sind **nicht darauf ausgelegt** Mikroorganismen inklusive **Bakterien vollständig aus dem Abwasser zu entfernen**; so ist das Vorhandensein antibiotikaresistenter Bakterien auch in behandelten Abwässern weltweit inzwischen gut belegt (SMALLA et al. 2023).

Ebenso wie es bei Menschen in Folge einer Antibiotika-Therapie zur Ausscheidung antibiotikaresistenter Bakterien kommt, gilt das gleiche für Nutz- und Haustiere, da auch in der Veterinärmedizin Antibiotika eingesetzt werden. Im Hinblick auf mögliche Einträge antibiotikaresistenter Bakterien aus der **Nutztierhaltung** über den Abwasserpfad in die Umwelt können somit auch **Schlachthofabwässer** eine Rolle spielen. Abwässer aus Betrieben der Fleischwirtschaft werden entweder in einer betriebseigenen Abwasserbehandlungsanlage abschließend behandelt und in ein Gewässer eingeleitet (Direkteinleitung) oder ggf. vorbehandelt und einer kommunalen Kläranlage zur abschließenden Behandlung zugeleitet (Indirekteinleitung).

In **Deutschland** stammen Erkenntnisse zum Vorkommen antibiotikaresistenter Bakterien und von Resistenzgenen in Abwässern verschiedener Herkunft vorwiegend aus einem Verbundprojekt mit der Kurzbezeichnung „**HyReKA**“ (für: Hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern; Gesamtlaufzeit: 01.02.2016-30.06.2021), welches vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert wurde (Förderkennzeichen 02WRS1377A-K).

Orientierende Untersuchungen zum Vorkommen antibiotikaresistenter Bakterien und von Antibiotikarückständen in Kläranlagen und Oberflächengewässern wurden unter anderem auch in **Niedersachsen** durchgeführt⁴. In **Bayern** erfolgte durch das Bayerische Landesamt für Umwelt eine Untersuchung zur fäkalen Belastung und Vorkommen von Antibiotikaresistenzgenen in Mischwasserentlastungen. Auf Spurenstoffe und multiresistente Bakterien in Entwässerungssystemen wurde außerdem in einem zweiteiligen Forschungsprojekt in **Schleswig-Holstein** untersucht⁵.

Um für **Nordrhein-Westfalen** einen Überblick hinsichtlich des Vorkommens von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien in Abwässern und Gewässern zu erlangen, wurde vom Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) im Auftrag des Umweltministeriums Nordrhein-Westfalen das im Nachfolgenden dargestellte Projekt „Bestandsaufnahme zum Vorkommen abwasserbürtiger antibiotikaresistenter Bakterien in Abwasser und in Gewässern in NRW sowie Aufklärung relevanter Quellen und Eintragspfade in die Umwelt“ (ARB-Projekt) umgesetzt.

⁴ [Abschlussbericht zu Multiresistenten Bakterien liegt vor | Nds. Ministerium für Umwelt, Energie und Klimaschutz \(niedersachsen.de\)](#)

⁵ [schleswig-holstein.de - Abwasser - Forschungsprojekte PrioSH und PrioSH2; PrioSH | Beschreibung | TH Lübeck \(th-luebeck.de\); Abschlussbericht_1_Phase.pdf \(th-luebeck.de\); Zusammenfassung und Ausblick.pdf \(th-luebeck.de\)](#)

Parallel zum **ARB-Projekt des LANUV** – aber mit etwas anderer Ausrichtung⁶ – wurde außerdem noch das durch das Umweltministerium Nordrhein-Westfalen geförderte Forschungsprojekt „**ARA**“ (Antibiotika und Antibiotikaresistenzen im Abwasser) durch den Erftverband und das Institut für Hygiene und Public Health (IHPH), Universitätsklinikum Bonn, durchgeführt.

1.1 LANUV-ARB-Projekt

Das Projekt „**Bestandsaufnahme** zum Vorkommen abwasserbürtiger **antibiotikaresistenter Bakterien in Abwasser und in Gewässern in NRW** sowie Aufklärung relevanter Quellen und Eintragspfade in die Umwelt“ (ARB-Projekt) wurde am LANUV im Auftrag des Umweltministeriums Nordrhein-Westfalen über eine Laufzeit von drei Jahren (12/2019 bis 12/2022) umgesetzt. Initiiert wurde das ARB-Projekt sowie das bereits im Jahr 2018 vom LANUV – in Kooperation mit dem Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit (IHPH), Universitätsklinikum Bonn – durchgeführte „Badegewässer-Screening“ (LANUV-Fachbericht 93, 2019) aufgrund medialer Berichterstattung über Funde antibiotikaresistenter Bakterien in niedersächsischen Gewässern im Februar 2018. Dies war Anlass für Nordrhein-Westfalen, eigene Untersuchungen durchzuführen.

Im ARB-Projekt wurde ein **Messprogramm über einen Zeitraum von etwa zwei Jahren** durchgeführt. Untersucht wurde dabei auf ausgewählte hygienisch-relevante Bakterien, antibiotikaresistente Bakterien, Antibiotikaresistenzgene und Antibiotika in **Abwässern aus Krankenhäusern** sowie in Rohabwässern und behandelten Abwässern aus **kommunalen Kläranlagen** mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Darüber hinaus gehörten Abwässer aus Kläranlagen mit **weitergehender Abwasserbehandlung** zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen oder zur Hygienisierung (durch Rückhalt oder Inaktivierung von Mikroorganismen) zum Umfang des Messprogramms. Es sollte untersucht werden, ob durch die weitergehende Abwasserbehandlung wie Ozonung, UV-Bestrahlung, Membranfiltration oder das Durchfließen eines Retentionsbodenfilters eine Elimination der analysierten Bakterien, Gene und Stoffe erreicht werden kann. Außerdem wurden auch Abwässer aus Abwasserbehandlungsanlagen von **Betrieben der Fleischwirtschaft** untersucht. Ausführlich dargestellt ist das Messprogramm in Kapitel 2 dieses Berichts.

Fachlich begleitet wurde das ARB-Projekt durch einen **Projektbeirat**. Dieser setzte sich zusammen aus Vertreterinnen und Vertretern des Umweltbundesamtes, des Umweltministeriums und des Gesundheitsministeriums Nordrhein-Westfalens, der Bezirksregierungen und der sondergesetzlichen Wasserverbände Nordrhein-Westfalens, des Instituts für Siedlungswasserwirtschaft der RWTH Aachen (Forschungspartner im HyReKA-Projekt) sowie des LANUV. Ebenso zum Beirat zählte Prof. Dr. Martin Exner, langjähriger Direktor des Instituts für Hygiene

⁶ Im Rahmen dieses Projekts stand die Untersuchung auf Antibiotika – auch mit klinischer Relevanz – und die Eliminationsleistung verschiedener Abwasserbehandlungsverfahren in Bezug auf diese ebenso im Fokus wie die Untersuchung auf Indikatororganismen, antibiotikaresistente Bakterien und Resistenzgene. Das ARA-Projekt umfasste die Untersuchung von Abwässern zweier Kläranlagen (Grevenbroich und Euskirchen-Kessenich) und jeweils eines Krankenhauses in deren Einzugsgebieten (Monitoring-Programm „Klinikabwasser“) sowie drei weiterer Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung (Glessen und Kaarst-Nordkanal, jeweils Membranbioreaktor-Verfahren; Rheinbach, Retentionsbodenfilter mit granulierter Aktivkohle, RBF+) (Monitoring-Programm „Maßnahmenerprobung“) mit Probenanzahlen von 8 bis 32 Proben je Probenahmestelle. Erste Ergebnisse des Projekts wurden veröffentlicht in Zacharias et al. 2023.

und öffentliche Gesundheit des Universitätsklinikums Bonn (Projektleitung im HyReKA-Projekt) und Präsident der Deutschen Gesellschaft für Krankenhaushygiene (DGKH).

Ebenfalls seine fachliche Expertise eingebracht hat Prof. Dr. Sören Gatermann, Leiter des **Nationalen Referenzzentrums für gramnegative Krankenhauserreger (NRZ)**, Abteilung für Medizinische Mikrobiologie, Ruhr-Universität Bochum. Im Rahmen des ARB-Projektes wurde seitens des LANUV eine Kooperation mit dem NRZ initiiert, aus der das **Projekt „Molekulare Epidemiologie“ (siehe Kapitel 7)** hervorgegangen ist.

Der Projektbeirat wurde umfangreich fachlich eingebunden. Das Umweltministerium Nordrhein-Westfalen und das LANUV danken dem Projektbeirat für die fachliche Begleitung des ARB-Projekts.

1.2 Mikrobiome, Antibiotika und Antibiotikaresistenz

Hintergrund des gesamten Themenfeldes „Antibiotika und Antibiotikaresistenz“ sind die komplexen Interaktionen zwischen Mikroorganismen untereinander sowie mit ihrer Umwelt und der Eingriff des Menschen in das komplexe Gefüge.

Mikroorganismen sind allgegenwärtig. Sämtliche Ökosysteme, Pflanzen, Tiere und der Mensch, sind von Mikroben besiedelt und ohne ihre Aktivität gäbe es kein Leben auf der Erde (WAGNER 2019)⁷. Mikroorganismen – Bakterien, Archaeen, mikroskopische Pilze, Protisten und Viren – bilden **komplexe Gemeinschaften, interagieren miteinander und beeinflussen sich gegenseitig** – unter anderem durch Antibiotikaproduktion oder horizontalen Gentransfer (Erläuterung siehe unten sowie Glossar) (BAUER 2019; SCHLOTTER et al. 2020).

In dichtbesiedelten mikrobiellen Habitaten **konkurrieren Mikroorganismen** um gemeinsame Nahrungsquellen und ähnliche ökologische Nischen (BOSCH 2021). Einige Bakterien und Pilze können **Antibiotika** bzw. antimikrobielle Moleküle produzieren, wie Streptomyzeten (Mitglieder der Gattung *Streptomyces*) im Boden (WITTE 2008) oder viele kutane – also die Hautbesiedelnde – Mikroorganismen (BOSCH 2021), die das Wachstum anderer Bakterien oder Mikroorganismen hemmen oder diese abtöten können. Solche Antibiotikaproduzenten, die sich selbst gegen Antibiotika schützen müssen, sowie konkurrierende Bakterien des gleichen Ökosystems verfügen jedoch auch über **Mechanismen, die zur Resistenz gegenüber den Antibiotika führen** (WITTE 2008, KAYSER 1998).

Begünstigt wird in dicht von Mikroorganismen besiedelten Lebensräumen auch die **Übertragung oder Aufnahme von genetischem Material**. Bakterien können entweder in der Umwelt frei vorliegendes genetisches Material (DNA, Desoxyribonukleinsäure; Träger der Erbinformation) – aus zuvor lysierten Bakterienzellen – aufnehmen (Transformation) oder es kann durch Bakterien-infizierende Viren (Bakteriophagen oder kurz Phagen) zur Übertragung von bakterieller DNA von einer Bakterienzelle auf eine andere kommen (Transduktion). Auch kann durch direkten Kontakt zwischen zwei Bakterienzellen – mittels einer Plasmabrücke – genetisches Material von einer Zelle auf die andere übertragen werden (Konjugation) (HEISIG 2001, inkl. Abbildung; KAYSER 1998). Diese Prozesse werden als „**horizontaler Gentransfer**“ bezeichnet

⁷ Im Kapitel **Literatur** sind jeweils Weblinks angegeben; frei zugängliche Quellen sollten darüber direkt einsehbar sein. Soweit vorhanden wurden bevorzugt deutschsprachige Quellen verwendet.

– im Gegensatz zum „vertikalen Gentransfer“, also der Weitergabe von Erbmateriale von einem Individuum an seinen Nachkommen. Mittels horizontalem Gentransfer können auch Gene übertragen werden, die Resistenz gegenüber Antibiotika vermitteln. Die **Konjugation** stellt dabei die effizienteste Form der **Weitergabe von Antibiotikaresistenzgenen** von einer Bakterienzelle auf eine andere – sowohl der gleichen aber **auch einer anderen Bakterienart** (Spezies) – dar (KAYSER 1998; HEISIG 2001).

Eine charakteristische mikrobielle Gemeinschaft – sowie der von ihr besiedelte Lebensraum – mit ihren charakteristischen Aktivitätsmustern und Wechselwirkungen zwischen den Mikroorganismen wird mit dem Begriff **Mikrobiom** beschrieben (BAUER 2019; SCHLOTTER et al. 2020). Auch die mit der Umwelt in Kontakt stehenden Regionen des menschlichen Körpers, wie die Haut sowie die Schleimhäute von Mund, Magen, Darm und der Atemwege, sind von Natur aus mit charakteristischen mikrobiellen Gemeinschaften besiedelt und stellen damit das **Mikrobiom des Menschen** dar (BOSCH 2021; JÄGER, 2019). Der **Darm** ist dabei das am dichtesten besiedelte Organ des Menschen (im Dickdarm bis zu 10^{11} (= hundert Milliarden) Mikroorganismen/g; HALLER 2019). Allein 500 bis 1.000 Bakterienarten kolonisieren den Darmtrakt des Menschen (WAGNER 2019). Die menschlichen **Darmmikroben** verdauen einen Großteil der zugeführten Nahrung und **setzen Nährstoffe** in einer solchen Form **frei**, dass sie der menschliche Körper aufnehmen und verwerten kann; sie liefern **essentielle Vitamine, Aminosäuren und andere Mikronährstoffe**, die der menschliche Körper nicht selbst herstellen kann (TIMMIS et al. 2019). Die charakteristische mikrobielle Besiedlung des menschlichen Körpers erfüllt außerdem auch eine **Schutzfunktion**, die als Kolonisationsresistenz bezeichnet wird, indem sie eine **Ansiedlung von krankheitserregenden Bakterien verhindert oder hemmt** (AUTENRIETH 2003; BOSCH 2021). Die Gesamtheit des menschlichen Mikrobioms, seine Diversität, Dynamik und Vielgestaltigkeit ist mit Gesundheit assoziiert; seine Degradierung mit Krankheit (JÄGER, 2019).

Die **natürlichen Wechselwirkungen** innerhalb von mikrobiellen Gemeinschaften sowie mit ihren Wirten – wie dem Menschen, aber auch (Nutz-)Tieren – bzw. ihren Lebensräumen werden **durch das Einwirken menschlicher Einflüsse gestört bzw. verändert**. Insbesondere der **Einsatz von Antibiotika als Arzneimittel** – welcher zweifelsohne eine enorme Errungenschaft hinsichtlich der Bekämpfung schwerer bakterieller Infektionskrankheiten darstellt und ohne welchen viele Methoden der modernen Medizin (wie Gelenkersatz, Chemotherapien bei Krebserkrankungen, Immuntherapien bei Rheumaerkrankungen oder die Versorgung Frühgeborener) undenkbar sind (BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT (Hrsg.) 2023) – hat indes einen **bedeutenden Einfluss auf die Entstehung und Verbreitung von Antibiotikaresistenz** sowie **auch auf die mit diesen Antibiotika exponierten Mikrobiome**.

Das Zeitalter der **Entdeckung und medizinischen Anwendung von Antibiotika** begann **ab den 1940er-Jahren**; insbesondere die beiden folgenden Jahrzehnte gelten als die goldene Ära der Antibiotikaentwicklung (ANTÃO & WAGNER-AHLFS 2018; HUTCHINGS et al. 2019). Von der **Markteinführung**, also dem Beginn der Anwendung, **eines neuen Antibiotikums bis zur ersten klinischen Resistenzbeobachtung** dauerte es jedoch häufig **nur wenige Jahre** (ANTÃO & WAGNER-AHLFS 2018; Abbildungen mit Zeitstrahl: HUTCHINGS et al. 2019; KLOß & GERBACH 2018; DOYLE et al. 2020).

ANTÃO und WAGNER-AHLFS (2018) führen hierzu aus: „**Jeder Einsatz von Antibiotika fördert die Selektion und Verbreitung von Resistenzen**. Über die Jahre wurden Antibiotika sowohl

in der Humanmedizin als auch in der Tiermedizin häufig und nicht immer zielgerichtet angewendet. Das hat die Entstehung und Ausbreitung von Resistenzen enorm beschleunigt.“

Dieser Prozess ist darin begründet, dass die angewendeten Antibiotika die empfindlichen **Bakterien** abtöten oder in ihrer Vermehrung hemmen, wohingegen solche mit vorhandenen Resistenzmechanismen, die sie **unempfindlich gegenüber den Antibiotika** machen, **überleben und sich vermehren** (Selektion) und ggf. ihre **Resistenzgene** sogar über horizontalen Gentransfer auch an andere Bakterienarten **weitergeben** können (siehe bspw. VON LAER 2023).

Zur **Selektion von resistenten Bakterien** kommt es sowohl im **Organismus von Patienten unter Antibiotikatherapie** als auch in mit Antibiotika **behandelten Tieren**; mit ihren **Ausscheidungen** gelangen diese **resistenten Bakterien** sowie **Antibiotikarückstände** – mittels Abwasser und z. B. Gülle – in die Umwelt (WESTPHAL-SETTELE 2023; WESTPHAL-SETTELE et al. 2018; UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.) 2018). Die **Umwelt** stellt somit sowohl ein **Reservoir** als auch eine **Quelle** von antibiotikaresistenten Bakterien und Resistenzgenen dar; **Resistenzgene** aus diesem Umweltreservoir können prinzipiell auf tier- oder humanpathogene Bakterien **übertragen** werden (WESTPHAL-SETTELE et al. 2018). Interspeziesübertragung von klinisch relevanten **antibiotikaresistenten Bakterien zwischen Wildtieren, Menschen, Haus- und Nutztieren und der Umwelt** konnte nachgewiesen werden (ANTÃO & WAGNER-AHLFS 2018). Die in die Umwelt eingetragenen Antibiotika können auch dort zur Selektion von Resistenzen beitragen (WESTPHAL-SETTELE et al. 2018).

Die dargestellte Situation einer **hohen Bakteriendichte** in Kombination mit dem Vorhandensein **antibiotikaresistenter Bakterien, Resistenzgenen sowie Antibiotika** – und der damit verbundenen Möglichkeit des Austauschs von genetischem Material, das Antibiotikaresistenz bewirkt, oder der Neuentstehung von Resistenzen durch Mutation und Selektion – findet sich beispielsweise auch in **abwasserführenden Systemen in Krankenhäusern** sowie in **kommunalen Abwasserkanälen** und der anschließenden Abwasserbehandlung in kommunalen **Kläranlagen** mit den dortigen mikrobiellen Besiedlungen von Oberflächen (Biofilm, Sielhaut) und suspendierter Biomasse (insbesondere Belebtschlamm im Belebungsbecken, Rückführschlamm, Klärschlamm). Somit wird solchen Bereichen im Abwassersystem entsprechende Bedeutung als Reservoir und Quelle („Hotspot“) von Antibiotikaresistenzen beigemessen (KRINKO 2020, WESTPHAL-SETTELE et al. 2018, UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.) 2018).

Die entstandene **Resistenzproblematik** stellt eine überaus **vielschichtige** und darüber hinaus – da Antibiotikaresistenzen weltweit zunehmen (BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT (Hrsg.) 2023) – **globale Herausforderung** dar (WIELER & BROICH 2018). Eines wird dabei besonders deutlich: Die **Gesundheit von Menschen** hängt eng mit der **Gesundheit von Tieren** und der **Umwelt** zusammen (ANTÃO & WAGNER-AHLFS 2018) – und erfordert somit eine **interdisziplinäre, holistische Herangehensweise** (DOYLE et al. 2020). Diese Erkenntnis wird mit dem Konzept „One Health – eine Gesundheit“ adressiert. Der **One-Health-Ansatz** umfasst dabei Human- und Veterinärmedizin sowie die Umwelt, aber auch die verschiedenen Entscheidungsebenen: Das individuelle Handeln, nationale und internationale politische Entscheidungen (ANTÃO & WAGNER-AHLFS 2018).

Neben der thematisch meist im Fokus stehenden Resistenzproblematik hat der **Einsatz von Antibiotika** auch **Beeinträchtigungen für die behandelten Individuen** selbst sowie für die **Umwelt** zur Folge.

So wird die **Störung der normalen Bakterienzusammensetzung** (Dysbiose) beim Menschen – unter anderem aufgrund von Antibiotikabehandlungen – mit der Entstehung von Zivilisationskrankheiten wie Adipositas, Diabetes, entzündliche Darmerkrankungen, Asthma, Allergien und Immundefekten in Verbindung gebracht (BOSCH 2021; JÄGER 2019). Ebenso gibt es Hinweise, dass die durch die Einnahme von Antibiotika verursachte Dezimierung der natürlichen bakteriellen Besiedlung und die damit einhergehende **Beeinträchtigung der Schutzfunktion** (Kolonisationsresistenz), die diese Bakterien sonst bewirken, ein **erhöhtes Infektionsrisiko** nach sich zieht (AUTENRIETH 2003; BOSCH 2021). So geben auch EXNER et al. (2018) bei der Beurteilung der Gefährdung für Badende in Gewässern mit Nachweis von antibiotikaresistenten Erregern als einen Faktor für eine erhöhte Vulnerabilität (Anfälligkeit für eine Besiedlung oder Infektion) eine „längerdauernde Einnahme von Antibiotika“ an.

Mit Bezug zur Umwelt ist von Bedeutung, dass **Antibiotika toxisch auf Organismen und Ökosysteme** wirken, wodurch sie zur Wachstumshemmung von Algen und Pflanzen sowie zu Veränderungen der Zusammensetzung der Bodenfauna führen und somit **schädlichen Einfluss auf Ökosysteme** haben und eine **Störung der Bodenfunktion** bewirken (WESTPHAL-SETTELE 2023). Diese Aspekte betreffen wiederum auch den Menschen, denn die landwirtschaftliche Produktion von Nahrungspflanzen ist auf die natürliche Bodenfunktion angewiesen.

1.3 Resistenzmechanismen, Antibiotikaresistenzgene und bakterielle Antibiotika-inaktivierende Enzyme

Grundlage für die Entwicklung von Antibiotikaresistenzen bei Bakterien ist die **Veränderlichkeit des Erbguts – der Gene** – der Bakterien und die **Selektion**, also das Überleben und die Vermehrung der genetisch so ausgestatteten Bakterien, dass sie der ansonsten abtötenden oder wachstumshemmenden Wirkung des Antibiotikums entgehen. Eine Veränderung der Gene kann durch **Mutationen** entstehen oder es kann eine **Aufnahme oder Übertragung von Genmaterial von außen** in die Bakterienzelle (= horizontaler Gentransfer) erfolgen. Hierbei handelt es sich um **natürliche Prozesse**, die jedoch **unter hohem Selektionsdruck** – ausgelöst insbesondere durch das Vorhandensein von Antibiotika aber auch anderer Faktoren (z. B. anderer Substanzen wie Schwermetalle, Biozide, Desinfektionsmittel; UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.) 2018, EXNER et al. 2018) – **vermehrt stattfinden** und zu einer entsprechend **verstärkten Antibiotikaresistenzentwicklung** führen.

Antibiotika entfalten ihre Wirkung vornehmlich an vier **Angriffszielen in der Bakterienzelle** – dem Aufbau der Zellwand (Zellwandsynthese), dem Erbgut bzw. dessen Vervielfältigung (DNA; DNA-Replikation), dem Ablesen der Gene (Transkription, mRNA Polymerase) sowie der Neubildung von Proteinen in der Zelle (Ribosomen, Proteinsynthese) (WITTE 2008).

Zu Resistenzen führen somit **genetische Veränderungen**, die eine Veränderung des Wirkortes des Antibiotikums zur Folge haben, eine Verhinderung von dessen Aufnahme in die Zelle oder ein Ausschleusen des Antibiotikums aus der Zelle bewirken (Porinverlust und Effluxmechanismen), das **Antibiotikum enzymatisch unwirksam machen** oder in einer Realisierung eines unempfindlichen Stoffwechselweges resultieren (WITTE & KLARE 1999, WITTE 2008, SCHMOCH et al. 2021). Beispiele für diese Resistenzursachen, durch Mutationen oder Aufnahme von Resistenzgenen, sind in WITTE & KLARE (1999) aufgeführt; wobei die Mehrzahl der Resistenzmechanismen die **Aufnahme von zusätzlichen Genen** („Resistenzgene“), welche über mobile genetische Elemente (Plasmide, Transposons, Integrons) erfolgt, erfordert (WITTE

2008). Daher kommt dem **horizontalen Gentransfer** von Resistenzgenen, insbesondere solchen, die zur Bildung von **Antibiotika-inaktivierenden Enzymen** führen, besondere Bedeutung zu.

Die **Zunahme von Resistenzen gegen β -Lactam-Antibiotika** bei **gramnegativen Bakterien**, die bei Patienten im Krankenhaus Infektionen verursachen, ist überwiegend auf die Bildung von Enzymen – sogenannten **β -Lactamasen** – zurückzuführen (PFEIFER 2010). Die **β -Lactam-Antibiotika** sind eine große Gruppe von Antibiotika, deren gemeinsames chemisches Merkmal das Vorhandensein eines viergliedrigen Lactam-Ringes im Molekül ist. Sie gehen ursprünglich auf das Antibiotikum Penicillin zurück, das 1928 aus Kulturen des Schimmelpilzes *Penicillium notatum* extrahiert wurde, und wurden im Laufe der Zeit zur Verwendung als Arzneimittel immer weiterentwickelt. Zu den β -Lactam-Antibiotika gehören neben den **Penicillinen**, die **Cephalosporine**, die **Carbapeneme** sowie die **Monobactame**.

An neu entwickelte β -Lactam-Antibiotika passten sich die Bakterien – durch Modifizierung ihrer vorhandenen β -Lactamasen oder Erwerb neuer β -Lactamasen – allerdings stets schnell an, so dass inzwischen eine **Vielzahl verschiedener β -Lactamasen** mit vielfältigen Wirkspektren bekannt sind (PFEIFER 2010). So entstanden Enzymvarianten, die ein erweitertes Substratspektrum – verglichen mit den ursprünglichen Enzymen – besitzen, die sogenannten **Extended-Spectrum- β -Lactamasen (ESBL)** sowie die **Carbapenemasen**.

ESBL sind in der Lage auch **Cephalosporine der dritten Generation** – wie Ceftazidim, Cefotaxim und Cefpodoxim – zu hydrolysieren. **Carbapenemasen** spalten auch Carbapeneme – wie Imipenem, Ertapenem und Meropenem – und vermitteln **häufig Resistenz gegenüber allen β -Lactam-Antibiotika** (PFEIFER 2010).

In der Vergangenheit waren **ESBL** vom **TEM-** und **SHV-Typ**⁸ die vorherrschenden Familien von ESBL. Heute sind Enzyme des **CTX-M-Typs**⁹ der am häufigsten vorkommende ESBL-Typ, wobei die CTX-M-15-Variante weltweit dominiert, gefolgt von CTX-M-14; CTX-M-27 ist in bestimmten Teilen der Welt auf dem Vormarsch (CASTANHEIRA et al. 2021).

ESBL-codierende Gene sind zumeist in ein Integron eingebettet (PFEIFER 2007). Integrons sind genetische Elemente, welche häufig in bakteriellen Genomen vorkommen, exogene Gene (durch Rekombination) einfangen und diese Gene dann exprimieren können, also das Genprodukt z. B. ein Enzym bilden (GHALY et al. 2021, GILLINGS 2014).

⁸ TEM steht für Temoneira, den Namen des griechischen Patienten, der mit einem Bakterienisolat infiziert war, bei welchem erstmals TEM-1 nachgewiesen wurde; SHV für Sulfhydryl reagent variable (CASTANHEIRA et al. 2021). Letzteres rührt daher, dass ein Inhibitor für Enzyme, welcher Sulfhydrylgruppen (SH) bindet, die Hydrolyse von Cefaloridin (einem Cephalosporine der ersten Generation) nicht aber von Benzylpenicillin hemmt (LIVERMORE 1995).

⁹ CTX-M steht für Cefotaxim- (ein Cephalosporine der dritten Generation) hydrolysierende β -Lactamase isoliert in München (CASTANHEIRA et al. 2021).

Mit Hilfe von mobilen Strukturen (wie Transposons) können diese **Gene mobilisiert** und **über Plasmide¹⁰ (Konjugation) übertragen** werden (PFEIFER 2007). Integrons spielen daher eine zentrale Rolle bei der Zusammenstellung und **Verbreitung von Antibiotikaresistenzgenen** in Bakterien (GHALY et al. 2021).

Plasmide können mehrere Gene enthalten, die Resistenz gegenüber Antibiotika verschiedener Antibiotika-Klassen vermitteln. Durch die **gekoppelte Übertragung** dieser Gene entstehen **multiresistente Bakterien**, die schwer therapierbare Infektionen zur Folge haben können. Auffällig ist die **Kopplung von Resistenz gegenüber β -Lactam- und Fluorchinolon-Antibiotika** bei Enterobakterien (gramnegative Bakterien), bedingt durch den intensiven Einsatz dieser Antibiotika in der Therapie (PFEIFER 2007; siehe Erläuterungen zur 3MRGN/4MRGN-Klassifizierung in Kapitel 1.4.1).

Zu den weltweit wichtigsten **Carbapenemasen** gehören **KPC** (*Klebsiella-pneumoniae*-Carbapenemasen), **VIM** (Verona-Integron-Metallo- β -Lactamasen), **NDM** (New-Delhi-Metallo- β -Lactamasen) und **OXA-48** (Oxacillinasen) (KAASE 2012). Auch in Deutschland werden bei den untersuchten *Enterobacterales* Isolaten hauptsächlich OXA-48-Carbapenemasen und Varianten davon (bezeichnet als OXA-48-like-Carbapenemasen; z. B. OXA-244, OXA-181) sowie NDM-, VIM- und KPC-Carbapenemasen nachgewiesen; bei *Pseudomonas aeruginosa* auch noch häufig **IMP** (Imipenemase) und **GIM** (German Imipenemase) (PFENNIGWERTH et al. 2023).

Die **Gene**, die die Information für die **Bildung von Carbapenemasen** beinhalten, liegen meistens auf **Plasmiden** (KAASE 2012) und können somit über Konjugation auch an andere Bakterienarten übertragen werden. Bezeichnet werden die **Gene, die für β -Lactamasen** – sowohl für ESBL als auch für Carbapenemasen – **codieren** mit dem Kürzel **bla** (abgeleitet von Beta-Lactamase); **tiefgestellt** folgt dann die Bezeichnung des **Enzyms** (bspw. ESBL-codierende Gene: *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M-15}; Carbapenemase-codierende Gene: *bla*_{OXA-48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{IMP}).

Auch bei **multiresistenten grampositiven Bakterien**, wie Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) und **Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)**, ist vor allem die Aufnahme von Resistenzgenen ursächlich für die Ausbildung zusätzlicher Resistenzen (WITTE 2008; KLARE et al. 2012; KRINKO 2018). Resistenz gegenüber **Glykopeptid-Antibiotika**, wie **Vancomycin** und **Teicoplanin**, beruht bei **Enterokokken** auf einer Veränderung der Zellwand, dem Wirkort des Antibiotikums (WITTE 2008). Die dafür verantwortlichen Gene, wie die **vanA- und vanB-Gencluster**, sind zumeist auf mobilen genetischen Elementen (Plasmiden, Transposons) lokalisiert und **innerhalb der Enterokokken effektiv übertragbar**; des Weiteren können sie auch andere grampositive Erreger erreichen (wie bspw. *vanA* bei Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*) (KLARE et al. 2012). Die Resistenz gegenüber Vancomy-

¹⁰ Bakterielle Plasmide sind kleine zirkuläre DNA-Elemente, die neben dem eigentlichen Bakterienchromosom (einem ebenfalls zirkulären jedoch größeren DNA-Molekül, welches einzeln oder in wenigen Kopien in der Zelle vorliegt) in Bakterien zu finden sind.

Plasmide enthalten in der Regel keine essenziellen Gene, die der Wirt benötigt, sondern solche, die dem Wirt helfen können, sich an neue Umgebungen anzupassen, z. B. im Falle einer Antibiotikaexposition oder alternativer Nährstoffquellen. Darüber hinaus können Plasmide Gene tragen, die für Plasmid-spezifische Funktionen wie Selbstreplikation und Übertragung mittels Konjugation codieren (CARROLL & WONG 2018).

cin ist bei Enterokokken oft mit der **Resistenz gegenüber weiteren Antibiotika** vergesellschaftet, so dass die Bezeichnung Vancomycin-resistente Enterokokken – **VRE** – zum **Synonym für multiresistente Enterokokken** wurde (KRINKO 2018).

1.4 Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien – mit Bezug zu Abwasser

Klinisch relevant sind Antibiotikaresistenzen, wenn sie **in Krankheitserregern** auftreten und die Wirksamkeit von Standardtherapien beziehungsweise die verfügbaren **Therapieoptionen einschränken** (WERNER et al. 2023). Nachdem die Weltgesundheitsversammlung 2015 einen Globalen Aktionsplan gegen Antibiotikaresistenzen verabschiedet hat, wurden in der Folge Erreger identifiziert, die aufgrund spezifischer Eigenschaften und Kriterien eine besondere Herausforderung für die Medizin darstellen (WERNER et al. 2023); 2017 hat die Weltgesundheitsorganisation (World Health Organization, WHO) eine **globale Prioritätenliste antibiotikaresistenter Bakterien** veröffentlicht¹¹. Die WHO-Liste¹², welche nach der Dringlichkeit des Bedarfs an neuen Antibiotika in drei Kategorien (kritische, hohe und mittlere Priorität) unterteilt ist, wurde erstellt, um die Forschung und Entwicklung von neuen Antibiotika zu lenken und zu fördern.

Höchste Priorität (CRITICAL) wird folgenden (gramnegativen) Krankheitserregern beigemessen:

- Enterobakterien (*Enterobacterales*; wie *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae*) mit Resistenzen gegen Carbapeneme sowie Cephalosporine der dritten Generation
- Carbapenem-resistente *Pseudomonas aeruginosa*
- Carbapenem-resistente *Acinetobacter baumannii*

Hohe Priorität (HIGH) unter anderem folgenden (grampositiven) Krankheitserregern:

- Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium*
- Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*

Die genannten Bakterienarten zählen auch zu jenen, die in den G7-Staaten (im Jahr 2019) als die **wichtigsten Krankheitserreger im Zusammenhang mit Antibiotikaresistenz** beobachtet wurden¹³.

Betrachtet man diese **Bakterienarten bzw. -gruppen** unabhängig von den genannten Resistenzen handelte es sich um solche, die zum **Mikrobiom (Besiedlungsflora) des Menschen** gehören (wie Staphylokokken, Enterobakterien, Enterokokken) oder in der **Umwelt** weit verbreitet sind (wie *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp.) (AUTENRIETH 2003; WITTE 2008). Enterobakterien (*Enterobacterales*) wie *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. und andere können auch in der Umwelt vorkommen (UMWELTBUNDESAMT 2009); sie sind **adaptiert an aquatische Biotope** und können wie Pseudomonaden und *Acinetobacter* spp.

¹¹ [WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed](#)

¹² [WHO-global-PPL.pdf \(gardp.org\)](#)

¹³ [G7 2022 Antimikrobielle Resistenzen \(rki.de\)](#)

Biofilme bilden (KRINKO 2020). Biofilme – Schleimschichten, die von Mikroorganismen gebildet werden und in welche diese selbst eingebettet sind – bieten ihnen Schutz, ermöglichen Persistenz sowie den Austausch von genetischen Informationen und bewirken eine erhöhte Antibiotikaresistenz und Toleranz gegenüber Desinfektionsmittelwirkstoffen (KRINKO 2020).

Als Krankheitserreger können die genannten Bakterienarten bzw. -gruppen in Erscheinung treten, wenn spezifische Voraussetzungen gegeben sind; man spricht daher von **fakultativ-pathogenen Krankheitserregern**.

Zu diesen **Voraussetzungen** zählen

- (medizinische) Eingriffe oder Behandlungen mit Unterbrechung der Haut- bzw. Schleimhautbarriere und invasive Systeme (wie Harnwegskatheter, arterielle und venöse Infusionssysteme, Beatmungssysteme),
- offene Wunden,
- eine Antibiotika-Therapie mit Auswirkungen auf das Mikrobiom des Menschen,
- das gleichzeitige Bestehen mehrerer Krankheiten (Multimorbidität),
- die Unterdrückung des körpereigenen Abwehrsystems (Immunsuppression),
- chronische Erkrankungen (EXNER et al. 2018).

Bei Gesunden ist ein akutes Infektionsrisiko durch fakultativ-pathogene Mikroorganismen hingegen in der Regel nicht anzunehmen (EXNER et al. 2018).

Zu einer **Besiedlung (Kolonisation)** mit antibiotikaresistenten fakultativ-pathogenen Bakterien kann es jedoch auch bei Gesunden nach Kontakt mit den Bakterien über die Haut oder die Schleimhäute kommen – z. B. zur Besiedlung des Darmtraktes nach oraler Aufnahme entsprechend kontaminierter Nahrung (WERNER et al. 2023). **Entscheidend** für das Auftreten antibiotikaresistenter Bakterien im Mikrobiom des Menschen ist jedoch insbesondere die **Selektion dieser Bakterien in Folge von Antibiotikagabe**, welche somit auch einen entscheidenden das Infektionsrisiko mit antibiotikaresistenten Bakterien erhöhenden Faktor darstellt (WITTE 2008; EXNER et al. 2018).

Bei WERNER et al. (2023) sind hinsichtlich Besiedlungsraten mit antibiotikaresistenten Bakterien folgende Angaben aufgeführt:

Besiedlungen durch ESBL-bildende Enterobakterien

- bei etwa 6-8 % der Menschen in der Allgemeinbevölkerung nachgewiesen;
- ähnliche Kolonisierungsraten (3-13 %) werden bei Aufnahme auf Krankenhausstationen gefunden;
- bei Aufnahme in Risikobereiche wird auch über eine häufigere Besiedlung (18 %) berichtet (bei Patienten mit hämatologischen und onkologischen Malignomen);
- es dominieren ESBL-*E.-coli*; insgesamt 42–47 % sind auch Ciprofloxacin-resistent und gehören damit zu den 3MRGN.

Besiedlung durch Carbapenem-resistente Enterobakterien

- liegt in Untersuchungen aus Deutschland bei < 0,2 % in verschiedenen Testsituationen bei Krankenhausaufnahme, ambulanten Patienten, in der Pädiatrie und auf Intensivstationen.

Besiedlung durch Vancomycin-resistente Enterokokken

- variiert regional sehr stark;
- liegt bei 0,1-1,2 % der Patienten bei Krankenhausaufnahme;
- bei 2-6 % der Patienten bei Aufnahme in Intensivpflegebereiche;
- bei 2-28 % der Patienten bei (onkologischen) Hochrisikogruppen.

Im **Darm** von Patienten können Enterobakterien (*Enterobacterales*) mit erworbener Antibiotikaresistenz über lange Zeit persistieren und über die Ausscheidungen ins **Abwasser** gelangen (KRINKO 2020).

Zu den wichtigsten in **abwasserführenden Systemen** nachgewiesenen fakultativ-pathogenen Infektionserregern zählen u. a. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Enterobacterales* wie *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. und *Citrobacter* spp. sowie **Enterokokken** (KRINKO 2020).

1.4.1 Multiresistente Enterobakterien (*Enterobacterales*), *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii* (gramnegative Bakterien)

Aufgrund der **Zunahme der Resistenzen bei gramnegativen Bakterien** wurden durch die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (**KRINKO**) **Empfehlungen** von Maßnahmen zur Prävention der Übertragung von multiresistenten gramnegativen Bakterien erarbeitet (KRINKO 2012). Die Empfehlung ist ausgerichtet auf die Anwendung in **Krankenhäusern** sowie in anderen medizinischen Einrichtungen, in denen invasive Therapien durchgeführt werden. Im Zusammenhang mit der Erarbeitung dieser Empfehlung wurde durch die KRINKO eine eigene **Definition der Multiresistenz bei gramnegativen Bakterien** eingeführt (KRINKO 2012, SCHMOCH et al. 2021). Dabei wurde insbesondere der Gesichtspunkt der **klinischen Relevanz der Resistenz** zu Grunde gelegt. Die Klassifizierung beruht daher auf der Betrachtung von Resistenzen gegenüber den Antibiotika, die als **primäre Therapeutika bei schweren Infektionen im Krankenhaus** eingesetzt werden. Dabei handelt es sich um **vier Antibiotikagruppen**, I. Acylureidopenicilline, II. Cephalosporine der 3. und 4. Generation, III. Carbapeneme und IV. Fluorchinolone, jeweils mit den **Leitsubstanzen** Piperacillin (I.), Cefotaxim und/oder Ceftazidim (II.), Imipenem und/oder Meropenem (III.) sowie Ciprofloxacin (IV.) (KRINKO 2012).

Die genannten Antibiotika (Leitsubstanzen) werden – mit Ausnahme von Ciprofloxacin, welches auch oral gegeben werden kann – nur als Injektion oder Infusion in den Blutkreislauf (d. h. parenteral) verabreicht (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, BfArM¹⁴); somit sind diese im Krankenhaus anwendbar – jedoch nicht als Verschreibung durch niedergelassene Ärzte.

Die betrachteten **Zielorganismen** dieser Klassifizierung – **Enterobakterien, *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii*** – werden bei Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen als **3MRGN** (Multi-Resistente Gram-Negative) bzw. bei Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen als **4MRGN** bezeichnet (KRINKO 2012).

¹⁴ <https://www.pharmnet-bund.de/dynamic/de/arzneimittel-informationssystem/index.html>

Dabei kommt den **Carbapenemen** eine spezielle Relevanz zu, weil diese **häufig als letzte Antibiotikagruppe noch wirksam** sind. Resistenzen gegen diese Gruppe schränken die Therapiemöglichkeiten bei schweren Infektionen deutlich ein (KAASE 2012). Von den verschiedenen Resistenzmechanismen, die ursächlich für eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber Carbapenemen sein können, sind die Carbapenem-spaltenden Enzyme, das heißt die **Carbapenemasen**, deren **codierende Gene** mittels mobiler genetischer Elemente **übertragbar** sind, – wegen ihres damit verbundenen **hohen Verbreitungspotenzials** – von besonderer Bedeutung (ROBERT KOCH-INSTITUT 2019). Nach **Anpassung der 3MRGN-/4MRGN-Klassifizierung**¹⁵ im Jahr 2019 sollen die oben genannten Zielorganismen **bei Vorliegen einer Carbapenemase immer** als **4MRGN** bewertet werden (unabhängig von den Ergebnissen der phänotypischen Resistenztestung; KRINKO 2019).

Eine Besonderheit in Bezug auf die **Carbapeneme** ist, dass diese Antibiotikagruppe **nie für den Einsatz bei Nutztieren oder Haustieren zugelassen** waren (WERNER et al. 2023). Andere Antibiotikagruppen hingegen, wie Cephalosporine der 3. und 4. Generation, Fluorchinolone und Polymyxine (z. B. Colistin), wurden und werden bei lebensmittelliefernden Tieren eingesetzt und entsprechend werden auch bei Bakterien von Tieren und den von ihnen stammenden Lebensmitteln Resistenzen gegen diese Substanzen gefunden (WERNER et al. 2023).

Aufgrund **zunehmender Verbreitung von Carbapenem-resistenten Erregern** wurde auch eine Erhebung von bundesweiten Daten zur Häufigkeit dieser Erreger und Krankheiten als erforderlich angesehen (ROBERT KOCH-INSTITUT 2016 a). Im Jahr 2016 wurde daher eine **Meldepflicht**¹⁶ für Labore für direkte Nachweise von „**Enterobacteriaceae** mit Carbapenem-Nichtempfindlichkeit oder bei Nachweis einer Carbapenemase-Determinante“ sowie für „**Acinetobacter spp.** mit Carbapenem-Nichtempfindlichkeit oder bei Nachweis einer Carbapenemase-Determinante“ eingeführt (ROBERT KOCH-INSTITUT 2016 a). Das Robert Koch-Institut hat dabei im Rahmen des Infektionsschutzgesetzes (IfSG; Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen) die Verantwortung, die ihm übermittelten Daten meldepflichtiger Erkrankungen zu sammeln und unter infektionsepidemiologischen Gesichtspunkten auszuwerten; eine Veröffentlichung dieser Auswertungen erfolgt unter anderem in Form Infektionsepidemiologischer Jahrbücher¹⁷.

Im Rahmen der **Surveillance** (Erfassung, Analyse und Interpretation) multiresistenter Erreger auf **deutschen Intensivstationen** zeigte sich bei den 4MRGN – auf einem insgesamt im internationalen Vergleich noch sehr niedrigen Niveau – im Zeitraum von 2019-2021 ein **Anstieg** von im Krankenhaus neu festgestellten **4MRGN *P. aeruginosa*** und **4MRGN *E. coli*** (WERNER et al. 2023). Im selben Zeitraum wurde im Rahmen der Antibiotika-Verbrauchssurveillance am Robert Koch-Institut zwar nur eine geringe relative Zunahme im Gesamtverbrauch von Antibiotika in Intensivstationen festgestellt; der **Carbapenemverbrauch stieg** allerdings um ca. 17 % an (WERNER et al. 2023).

In der jüngeren Vergangenheit (seit 2012) wurde – als eine der wenigen **verbliebenen Therapieoptionen** – speziell bei schweren Infektionen mit multi- und Carbapenem-resistenten-

¹⁵ Siehe <https://edoc.rki.de/handle/176904/5952>

¹⁶ mittels IfSG-Meldepflicht-Anpassungsverordnung (<https://edoc.rki.de/handle/176904/2308>); die Meldepflicht wurde zum 01.03.2020 ins IfSG integriert ROBERT KOCH-INSTITUT (2021).

¹⁷ https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Jahrbuch/jahrbuch_node.html

Enterobakterien (wie *E. coli* und *Klebsiella pneumoniae*) oder *Acinetobacter-baumannii*-Isolaten im Krankenhaus wieder das Antibiotikum **Colistin** eingesetzt (ROBERT KOCH-INSTITUT 2016 b). Zuvor war es über viele Jahre in der Humanmedizin kaum noch eingesetzt worden – aufgrund seiner starken Nebenwirkungen in hohen Dosierungen, welche zu Schädigungen der Nieren und des Nervensystems führen können (SCHMOCH et al. 2021). Da Colistin zeitweilig eine letzte Therapieoption darstellte, wurde der Plasmid-lokalisierten und nachweislich **übertragbaren Colistin-Resistenz (*mcr-1* Resistenzgen)** in Enterobakterien, über welche seit Ende 2015 berichtet wurde, grundsätzlich ein erhebliches Bedrohungspotenzial beigemessen, auch wenn die Prävalenz den vorliegenden Daten zufolge in humanen Isolaten noch sehr gering ist (ROBERT KOCH-INSTITUT 2016 b).

Inzwischen stehen auch **neue β -Lactam-Antibiotika-/ β -Lactamase-Inhibitor-Kombinationen** sowie mit Cefiderocol ein **neuartiges Antibiotikum** aus der Gruppe der Cephalosporine zur Therapie von multiresistenten gramnegativen Erregern zur Verfügung (SCHMOCH et al. 2021).

Für die Behandlung komplexer Infektionen mit multiresistenten Erregern ist ein fundiertes Wissen über die Resistenzmechanismen und die verfügbaren Wirkstoffe unabdingbar (SCHMOCH et al. 2021). In ihrem Übersichtsartikel stellen SCHMOCH et al. (2021) die **in Deutschland vorherrschenden Resistenzmechanismen** – und die jeweils passenden Behandlungsoptionen – vor. Folgende Informationen zu Resistenzen und Resistenzmechanismen werden für die aufgeführten **gramnegativen Bakterien** benannt:

Pseudomonas aeruginosa

- Erreger, der am häufigsten Carbapenem-resistent ist;
- nur in etwa 20 % der Fälle dafür eine Carbapenemase verantwortlich (häufig VIM);
- weitaus häufigerer Grund für die Carbapenem-Resistenz sind Effluxpumpen, veränderte Zielstrukturen oder Porinverlust, z. B. in Kombination mit einer AmpC- β -Lactamase (kommt bei einigen Bakteriengattungen natürlicherweise vor).

Acinetobacter baumannii

- bei Carbapenem-Resistenz ist dafür fast immer (> 90 %) eine Carbapenemase verantwortlich; meist OXA-23, NDM oder VIM.

Klebsiella pneumoniae

- bei Carbapenem-Resistenz muss in Deutschland in 50 % der Fälle mit dem Vorliegen einer Carbapenemase gerechnet werden – meist OXA-48, seltener KPC;
- eine andere Möglichkeit ist das Zusammenkommen einer ESBL-Expression (selten auch einer Plasmid-codierten AmpC- β -Lactamase) mit einem Porinverlust.

Escherichia coli

- bei Carbapenem-Resistenz meistens eine Carbapenemase ursächlich – in Deutschland meist OXA-48;
- auch ist die Kombination aus ESBL und Porinverlust möglich.

Enterobacter spp.

- bei Carbapenem-Resistenz in 40 % der Fälle eine Carbapenemase ursächlich – am häufigsten OXA 48;

- AmpC-β-Lactamase-Gene regelhaft vorhanden, welche bei entsprechendem Selektionsdruck exprimiert werden (Gleiches kann, wenn auch nicht regelhaft, u. a. bei *Citrobacter freundii* der Fall sein).

Wie bei der Carbapenem-Resistenz **verschiedene Resistenzmechanismen** ursächlich sein können, gilt dies auch für die Resistenz gegenüber Cephalosporinen. **Hauptursache der Cephalosporinresistenz bei Enterobakterien** ist die Bildung einer **β-Lactamase** – in Form einer **ESBL oder einer AmpC-β-Lactamase** (Pfeifer 2007); es können aber auch noch **andere** Resistenzmechanismen zu Grunde liegen. Dies gilt auch für die im ARB-Projekt als **3GC-resistent definierten Zielorganismen** – Enterobakterien der Art *E. coli* sowie der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* (KEC-Gruppe).

Definiert als 3GC-resistente Zielorganismen im ARB-Projekt sind:

Bestätigte *E. coli* sowie Mitglieder der KEC-Gruppe, welche auf dem verwendeten Selektivnährboden, welcher die Antibiotika Cefpodoxim, Cloxacillin und Vancomycin enthält, unter den gegebenen Kulturbedingungen wachsen (siehe A 1.4.2.1).

Beim zur Selektion eingesetzten Antibiotikum **Cefpodoxim** – ein **Cephalosporin der 3. Generation** – handelt es sich zwar um das empfindlichste individuelle **Indikator-Cephalosporin** für den Nachweis der **Produktion einer ESBL** (EUCAST 2017), aber für die Resistenz kann **auch eine AmpC-β-Lactamase** oder ein **anderer Resistenzmechanismus** ursächlich sein.

Im Gegensatz zu den ESBL treten **AmpC-β-Lactamasen sehr viel seltener** auf, obwohl viele Enterobakterien (wie *Enterobacter*- oder *Citrobacter*-Spezies) **chromosomal-lokalisierte ampC-Gene** besitzen, die bei Überexpression zur Cephalosporinresistenz führen können (PFEIFER 2010). Es können aber **auch Plasmid-vermittelte AmpC-β-Lactamasen**, die von diesen chromosomalen Vorläuferenzymen abgeleitet sind, vorliegen, wie beispielsweise in *E. coli* und *Klebsiella* spp. (PFEIFER 2010). Das Übertragungsrisiko von Plasmid-vermittelten AmpC-β-Lactamasen ist ähnlich hoch wie bei den ESBL (PFEIFER 2010).

1.4.2 Vancomycin-resistente Enterokokken (grampositive Bakterien)

Enterokokken gehören als Besiedler des Intestinaltraktes zur normalen Darmflora von Mensch und Tier; außerdem sind sie im Boden, im Wasser, vor allem im Abwasser, auf Pflanzen sowie pflanzlichen und tierischen Lebensmitteln zu finden (KLARE et al. 2012).

Von den über 35 bekannten Enterokokkenspezies haben ***Enterococcus faecalis*** und ***Enterococcus faecium*** die größte **klinische Bedeutung** (KLARE et al. 2012, MISCHNIK et al. 2019).

In Stuhlproben kommen *E. faecalis* mit etwa 10^5 – 10^7 KBE/g und *E. faecium* mit etwa 10^4 – 10^5 KBE/g vor, die allerdings zusammen mit den Enterobakterien (*Enterobacteriales*) nur rund 1 % der **Dickdarmflora** des Menschen verkörpern (KLARE et al. 2012). **Gelangen Enterokokken in andere Körperregionen, können sie dort Infektionen verursachen** und neben Wund- und Harnwegsinfektionen auch schwere Infektionen wie zum Beispiel eine Sepsis (Blutstrominfektion) hervorrufen (LANDESZENTRUM GESUNDHEIT NORDRHEIN-WESTFALEN 2018).

KLARE et al. (2012) geben als **Risikofaktoren für Infektionen** oder Besiedlungen von Patienten durch (Vancomycin-resistente) Enterokokken folgende Punkte an:

- Behandlung mit Antibiotika, die bei Enterokokken nicht wirken (und die damit verbundene Veränderung der Zusammensetzung des Mikrobioms des Darms);
- längere Krankenhausaufenthalte mit vielgestaltigen antibakteriellen Chemotherapien;
- schwere Grunderkrankungen;
- intraabdominale- oder Herz-/Thorax-chirurgische Eingriffe;
- Aufenthalt in spezifischen Krankenseinheiten (vor allem Hämatologie/Onkologie, Urologie/Nephrologie, Transplantationseinheiten, Neonatologie);
- Mängel in der Basishygiene;
- medizinisches Personal (inklusive Ärzte) als mögliche Überträger dieser Bakterien;
- Kontakt eines Patienten zu anderen Enterokokken-/VRE-besiedelten oder -infizierten Patienten bzw. mit diesen Bakterien kontaminierten medizinischen Geräten oder Oberflächen in der Patientenumgebung (als Folge der hohen Umweltpersistenz von Enterokokken).

Enterokokken sind in der Lage genetische Elemente zu akquirieren, die Antibiotikaresistenzen codieren; zu den **wichtigsten akquirierten Resistenzen** gehört die Resistenz **gegenüber Glykopeptid-Antibiotika** (wie Vancomycin und Teicoplanin) (KRINKO 2018). Bei der Beschreibung der Epidemiologie von **multiresistenten Enterokokken** wird **Vancomycin** als **Leitantibiotikum** verwendet; Resistenz gegenüber dem Leitantibiotikum ist oft mit der Resistenz gegenüber weiteren Antibiotika vergesellschaftet (KRINKO 2018).

Vancomycin-Resistenz ist in Deutschland und Europa fast nur mit der Spezies ***Enterococcus faecium*** assoziiert und tritt dabei nahezu ausschließlich bei **Hospital-assoziierten Stammlinien** – klonale Linien, die für den überwiegenden Teil der nosokomialen („im Krankenhaus erworbenen“) Infektionen verantwortlich sind – auf (KRINKO 2018).

Klinisch bedeutsame Vancomycin-Resistenz wird durch **Gencluster vom Typ *vanA*- und *vanB*** kodiert, welche beide **genetisch mobil** sind, womit sich die Resistenz sowohl klonal als auch durch **horizontalen Gentransfer auf nicht verwandte Stämme** über Spezies- und Gattungsgrenzen hinweg verbreiten kann (KRINKO 2018). Die beiden genannten Gencluster sind in der Regel **induzierbar**, d. h. die Resistenzgene werden erst **bei Anwesenheit des Antibiotikums** exprimiert (KRINKO 2018).

Von den erworbenen Antibiotikaresistenzen sind neben den übertragbaren *vanA*- und *vanB*-Genclustern außerdem **Resistenzen gegen Reserveantibiotika** (wie Linezolid und Tigecyclin) von besonderem Interesse (KLARE et al. 2012, MISCHNIK et al. 2019).

Eine Überwachung der Resistenzsituation dokumentiert in den letzten Jahren einen **anstiegenden Trend der Vancomycin-Resistenz bei *E. faecium*** – z. B. deutlicher Anstieg der VRE-Raten bei nosokomialen Infektionen mit *E. faecium* in den letzten 10 Jahren auf deutschen Intensivstationen (bei Blutstrominfektionen von 6 % auf 17 % und bei Harnwegsinfektionen von 3 % auf 10 %) (MISCHNIK et al. 2019).

2 Messprogramm

Das Messprogramm (Gesamtheit der Probenahmen und Untersuchungen) im ARB-Projekt wurde konzipiert zur Untersuchung möglicher Einträge von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien, von Antibiotikaresistenzgenen und Rückständen von Antibiotika aus Krankenhäusern, kommunalen Kläranlagen und Betrieben der Fleischwirtschaft über den Abwasserpfad in die aquatische Umwelt (Oberflächengewässer) von Nordrhein-Westfalen. Zusätzlich wurden Badegewässer vor dem Hintergrund eventueller Belastungen durch Einleitungen aus kommunalen Kläranlagen und – bei Starkregenereignissen – durch Mischwassereinleitungen sowie Abschwemmungen von landwirtschaftlichen Nutzflächen betrachtet. Die Planung des Messprogramms erfolgte angelehnt an die DIN EN ISO 5667-1 „Anleitung zur Erstellung von Probenahmeprogrammen und Probenahmetechniken“.

Das Messprogramm wurde auf eine Gesamtzahl von etwa 250 Proben ausgelegt. Ausgangspunkt bei der Erarbeitung des Programms – und somit für die mögliche Anzahl an zu untersuchenden Anlagen und Gewässern – war die Entscheidung, an jeder Abwasser- und Fließgewässermessstelle (ober- und unterhalb der Abwassereinleitung) mindestens drei Probenahmen durchzuführen. Die Messstellen entsprechen den Probenahmestellen für die Entnahme der Proben für die mikrobiologische, molekularbiologische und chemische Analytik. Soweit vorhanden wurden bereits festgelegte amtliche Messstellen ausgewählt. Für die Beprobung der Badegewässer wurde die europäische Badegewässerrichtlinie sowie die nordrhein-westfälische Badegewässerverordnung herangezogen. Daher wurde hier eine Häufigkeit von jeweils vier Probenahmen in der Badesaison festgelegt. Die für das Messprogramm ausgewählten Kläranlagen und Betriebe liegen weiträumig in Nordrhein-Westfalen verteilt (Abbildung 1)

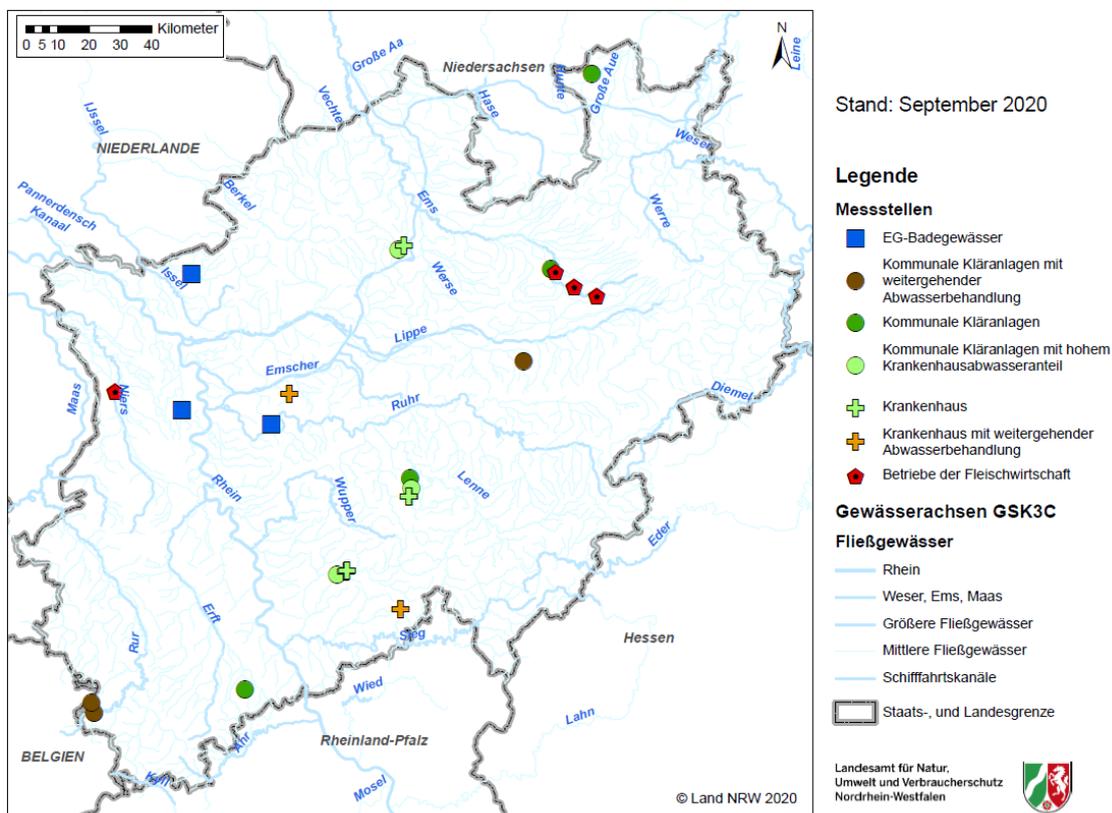


Abbildung 1: Lage der Kläranlagen, Krankenhäuser, Betriebe der Fleischwirtschaft und Badegewässer im Messprogramm des ARB-Projekts.

und geben einen landesweiten ersten Überblick zu möglichen Einträgen von klinisch-relevanten ARB sowie ausgewählten Resistenzgenen und Antibiotika durch Abwässer in die aquatische Umwelt in Nordrhein-Westfalen.

Zum Vergleich wurde zusätzlich ein aufgrund der Lage und Beschaffenheit möglichst anthropogen unbeeinflusstes Gewässer (als eine Art „Hintergrundwert“) mit ins Messprogramm aufgenommen. Hierzu wurde die Volmequelle in Meinerzhagen (Märkischer Kreis), im Westen des Sauerlands, ausgewählt. Von einem geringen anthropogenen Einfluss wird ausgegangen, weil es sich um eine gefasste Quelle handelt, die sich im Wald befindet und im Rahmen der chemischen Analytik zur Grundwassergüteüberwachung nahezu keine Belastungen festgestellt wurden.

2.1 Auswahl der Anlagen und Messstellen

2.1.1 Kommunale Kläranlagen

Es wurden kommunale Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet sowie solche mit einer weitergehenden Abwasserbehandlung berücksichtigt (Tabelle 1). Die Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet wurden ausgewählt auf Basis von Daten zum Bericht „Entwicklung und Stand der Abwasserbeseitigung in Nordrhein-Westfalen“ (Kapitel 6.5 „Belastung kommunaler Kläranlagen durch Krankenhausabwasser“; <https://www.la-nuv.nrw.de/umwelt/wasser/abwasser/lagebericht>). Die Auswahl erfolgte auf Basis der Bettenanzahl der an der Kläranlage angeschlossenen Krankenhäuser bezogen auf die Anzahl an Einwohnern im Einzugsgebiet der Kläranlage (Stand 2018). Berücksichtigt wurden hierbei allgemeine Krankenhäuser¹⁸ sowie ein Fachkrankenhaus der chirurgischen Orthopädie, da hier von einem vermehrten Einsatz von Antibiotika ausgegangen werden kann. Andere Fachkrankenhäuser, wie für Psychiatrie/Psychotherapie oder Epilepsie, in denen kein vermehrter Einsatz von Antibiotika zu erwarten ist, wurden bei der Auswahl nicht berücksichtigt. Da die Daten bezüglich der Krankenhäuser in Nordrhein-Westfalen, zum Zeitpunkt der Erstellung des Messprogramms, aus Projekten aus den Jahren 2008 und 2011 stammten, wurde die Anzahl der Betten der Krankenhäuser, welche an den für das Messprogramm ausgewählten Kläranlagen angeschlossen sind, anhand der aktuellen Qualitätsberichte der Krankenhäuser überprüft. Auf diese Weise wurden drei Kläranlagen mit den höchsten Anteilen an Krankenhausbetten bezogen auf die Einwohner in ihrem Einzugsgebiet in Nordrhein-Westfalen für das Messprogramm identifiziert.

Zum Vergleich mit den Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet wurden drei Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet ausgewählt (Tabelle 1). Außerdem wurden zum Vergleich mit diesen sechs Kläranlagen, die alle über eine konventionelle mechanisch-biologische Behandlung verfügen, Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen oder zur Hygienisierung (durch Rückhalt oder Inaktivierung von Mikroorganismen), bei welchen aufgrund der jeweiligen Verfahrenstechnik auch das Potential einer zusätzlichen Verringerung von ARB im Abwasser vermutet wird, einbezogen

¹⁸ Allgemeine Krankenhäuser sind Krankenhäuser, die über Betten in vollstationären Fachabteilungen verfügen, wobei die Betten nicht ausschließlich für psychiatrische, psychotherapeutische oder psychiatrische, psychotherapeutische und neurologische Patienten und Patientinnen vorgehalten werden. Gesundheitsberichterstattung des Bundes; https://www.gbe-bund.de/glossar/Allgemeine_Krankenhaeuser.html

(Tabelle 1). Für die Auswahl dieser Kläranlagen war unter anderem relevant, dass es sich um Kläranlagen ähnlicher Größenordnung (in Bezug auf die angeschlossenen Einwohnerwerte [EW] im Jahr 2018) und mit einem hohen Einwohneranteil und somit möglichst geringen oder keinen Abwasseranteilen aus Industrie und Gewerbe handelte (Tabelle 1).

Auswahlkriterium bei den Kläranlagen mit einer Reinigungsstufe zur weitergehenden Abwasserbehandlung war außerdem deren Dauerbetrieb – möglichst im Vollstrom (gesamte Abwassermenge; bei Trockenwetter).

Tabelle 1: Kommunale Kläranlagen im Messprogramm des ARB-Projekts. Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet sowie solche mit weitergehender Abwasserbehandlung.
Einwohnerwert (EW): Summe aus Einwohnerzahl (Anzahl Einwohner, die an eine Kläranlage angeschlossen sind) und Einwohnergleichwerten (Maß für die Schmutzfracht, die mit industriellem und gewerblichem Abwasser in eine Kläranlage gelangt). KH-Abwasseranteil: Bettenanzahl (laut Qualitätsbericht des jeweiligen Krankenhauses, KH) bezogen auf die Anzahl Einwohner im Einzugsgebiet der Kläranlage. ^{a)} Die Kläranlage Rheinbach wurde als Kläranlage ohne Krankenhaus im Einzugsgebiet ausgewählt; verfügt mit dem Retentionsbodenfilter (RBF+) aber auch über eine Stufe zur weitergehenden Abwasserbehandlung. ^{b)} Die KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda wurde mit ins Messprogramm aufgenommen aufgrund des angeschlossenen Indirekteinleiters der Fleischwirtschaft; während der Laufzeit des ARB-Projekts wurde am Ablauf der KA auch eine neue Stufe zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen in Betrieb genommen.

| Name der Kläranlage | angeschlossene Einwohnerwerte (EW) 2018 | prozentualer Anteil angeschlossener Einwohner (E) 2018 [%] | Gewässer, in welches eingeleitet wird | Bettenanzahl der Krankenhäuser im Einzugsgebiet der Kläranlage | KH-Abwasseranteil [%] |
|---|---|--|---|--|-----------------------|
| Engelskirchen | 10.036 | 94 | Agger | Krankenhaus: 245 Betten Rehaklinik: 276 Betten | 5,5 |
| Lüdenscheid Schlittenbachtal | 16.958 | 100 | Schlittenbach | zwei Krankenhäuser: 908 Betten; 260 Betten | 6,9 |
| Münster-Geist | 16.000 | 72 | Galgenbach | Krankenhaus: 405 Betten | 3,5 |
| Rahmedetal | 34.803 | 88 | Rahmede | - | - |
| Rheinbach (RBF+) ^{a)} | 25.184 | 80 | Wallbach | - | - |
| Stemwede, Wehdem | 16.000 | 68 | NN (namenloses Gewässer zum Großen Diekfluss) | - | - |
| Bad Sassendorf (Ozonung) | 12.028 | 93 | Rosenau | sechs Rehakliniken: 164 Betten; 224 Betten; 200 Betten; 305 Betten; 81 Betten; 145 Betten | 10,0 |
| Konzen (MBR) | 14.108 | 45 | Laufenbach | - | - |
| Monschau (UV-Bestrahlung) | 5.699 | 71 | Rur | - | - |
| Rheda-Wiedenbrück, Rheda (Ozonung) ^{b)} | 120.963 | 42 | Ems | Krankenhaus: 147 Betten | 0,3 |

2.1.2 Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser

Neben den kommunalen Kläranlagen wurden zwei in Nordrhein-Westfalen betriebene Pilotanlagen zur Behandlung von Krankenhausabwasser ins Messprogramm aufgenommen. Bei diesen Abwasserbehandlungsanlagen handelt es sich jeweils um einen Membranbioreaktor mit anschließender Ozonung (zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen) sowie bei einer Anlage mit einer Pulveraktivkohle-/Sandfiltration, die parallel (wie im ARB-Projekt) oder zusätzlich zur Ozonung betrieben werden kann (Tabelle 2).

Tabelle 2: Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser im Messprogramm des ARB-Projekts. Zwei Pilotanlagen in Nordrhein-Westfalen; jeweils mit Membranbioreaktor und anschließender Ozonung zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen. Die Anlage am Marienhospital Gelsenkirchen verfügt außerdem über eine Pulveraktivkohle-/ Sandfiltration, die parallel (wie im ARB-Projekt) oder zusätzlich zur Ozonung betrieben werden kann.

| Abwasserbehandlungsanlage am | Bettenanzahl | Jahresschmutzwassermenge [m ³ /a] | Verfahren der Abwasserbehandlung | Kläranlage, in die eingeleitet wird |
|--------------------------------|--------------|--|---|-------------------------------------|
| Kreiskrankenhaus Waldbröl GmbH | 370 | 40.000 | Membranbioreaktor mit anschließender Ozonung | Waldbröl Brenzingen |
| Marienhospital Gelsenkirchen | 579 | 73.000 | Membranbioreaktor mit anschließender Ozonung oder Pulveraktivkohle-/ Sandfiltration | Bottrop |

2.1.3 Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der Fleischwirtschaft

Als ein möglicher Eintragspfad für klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien aus der Tierhaltung über das Abwasser in die aquatische Umwelt wurden im Messprogramm auch Schlachthofabwässer berücksichtigt. Hierfür wurden die Abwasserbehandlungsanlagen von vier Betrieben der Fleischwirtschaft ausgewählt. Es handelt es sich dabei um zwei direktleitende Betriebe, einen der Geflügelschlachtung und einen der Verarbeitung von Geflügel, sowie zwei indirektleitende Betriebe der Schweineschlachtung (Tabelle 3).

Tabelle 3: Betriebe der Fleischwirtschaft im Messprogramm des ARB-Projekts. -^{a)} Keine Daten vorhanden. ^{b)} Ist die biologische Behandlungsstufe und/oder Membranfiltration nicht in Betrieb (Reparatur, Wartung), fließt das Abwasser nach Siebung und Flotation zur KA Geldern.

| Betrieb | Abwasser-einleitung | Betriebsart | Jahres-schmutz-wasser-menge [m ³ /a] | Abwasserbehandlung | Gewässer bzw. Klär-anlage, in die eingeleitet wird |
|----------|---------------------|---------------------------|---|--|--|
| A | Direkt-einleitung | Geflügel-schlachtung | 130.000 | mechanisch-biologisch mit anschließender Membranfiltration | namenloses Gewässer zum Hoppenmeer (Delbrück) |
| B | Direkt-einleitung | Verarbeitung von Geflügel | 20.000 | mechanisch-biologisch | namenloses Gewässer zur Ems (Rietberg) |
| C | Indirekt-einleitung | Schweine-schlachtung | - ^{a)} | mechanisch-biologisch mit anschließender Membranfiltration ^{b)} | KA Geldern |
| D | Indirekt-einleitung | Schweine-schlachtung | - ^{a)} | mechanisch-biologisch | KA Rheda-Wieden-brück, Rheda |

2.1.4 Badegewässer mit Abwassereinleitungen im Einzugsgebiet

In das Messprogramm des ARB-Projekts wurden drei Badegewässer aufgenommen, die bereits im Rahmen des Badegewässer-Screenings¹⁹ im Jahr 2018 auf antibiotikaresistente Bakterien, Resistenzgene sowie Antibiotikarückstände untersucht wurden und in deren Einzugsgebiet Abwassereinleitungen vorhanden sind.

Es handelt es sich um folgende Badegewässer:

1. (Freizeitanlage) Aasee - Badestelle, Kreis Borken, Stadt Bocholt
2. Bettenkamper Meer - Strand, Kreis Wesel, Stadt Moers
3. Seaside Beach/Baldeneysee, Stadt Essen

Im Einzugsgebiet der Badegewässer „Freizeitanlage Aasee Bocholt“ und „Seaside Beach/Baldeneysee“ befinden sich Einleitungen aus kommunalen Kläranlagen (an denen auch Krankenhäuser angeschlossen sind) und außerdem Mischwassereinleitungen sowie Niederschlagswassereinleitungen. Des Weiteren kann es zu Abschwemmungen von landwirtschaftlichen Nutzflächen kommen.

Im Einzugsgebiet des Badegewässers „Bettenkamper Meer/Strand“ sind lediglich Niederschlagswassereinleitungen und Einleitungen von Drainagewasser vorhanden.

¹⁹ LANUV im Auftrag des Umweltministeriums NRW in Kooperation mit dem Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit/ Public Health (IHPH) am Universitätsklinikum Bonn.

2.1.5 Messstellen (= Probenahmestellen)

Insgesamt umfasst das Messprogramm 73 Abwasser- und Fließgewässermessstellen (Tabelle 4, Tabelle 5, Tabelle 6) sowie drei Badegewässer-Messstellen und eine Messstelle an einem Quellgewässer (Tabelle 7). Zur Festlegung sämtlicher Abwasser- und Fließgewässermessstellen wurden Begehungen mit Ortsbesichtigungen zur Messstellen-Dokumentation durchgeführt.

Generell wurden in den Abwasserbehandlungsanlagen Messstellen am Anlagenzulauf nach mechanischer Reinigungsstufe sowie am Anlagenablauf festgelegt. Als Messstelle am Anlagenablauf konnte zumeist eine amtlich festgelegte Messstelle genutzt werden. Die Probenahmestelle am „Zulauf“ der Anlagen wurde jeweils so gewählt, dass Grobstoffe (wie etwa Hygieneartikel (kommunale Kläranlagen) bzw. Federn, Borsten (Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der Fleischwirtschaft)) und mineralische Bestandteile (kommunale Kläranlagen) bereits entfernt, suspendierte Partikel aber noch enthalten sind und eine Homogenisierung des Abwasserstroms gegeben ist. Bei den kommunalen Kläranlagen waren diese Kriterien am Ablauf des Sandfangs erfüllt; somit wurden die Messstellen jeweils dort festgelegt. Bei den Abwasserbehandlungsanlagen der Betriebe der Fleischwirtschaft war diese Anforderung nach Siebung erfüllt, so dass diese Stelle als Messstelle ausgesucht wurde. Bei einer der Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser war eine Zulauf-Messstelle nach dem Rechen vorhanden; bei der anderen am Anlagen-Zulauf vor dem Rechen.

Bei den kommunalen Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet wurden auch jeweils die Schmutzwasser-Abläufe der angeschlossenen Krankenhäuser an der Übergabestelle in das Kanalnetz als Messstellen festgelegt (Tabelle 4).

Tabelle 4: Probenahmestellen der Probenserien der Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet (siehe Tabelle 1). Als Probenserie ist die Gesamtheit der jeweils aufgeführten Probenahmestellen gemeint. aml. MS-Nr. = amtliche Messstellennummer; - = keine amtliche Messstelle. ^{a)} namenloses Gewässer zum Großen Diekfluss.

| Probenahmestellen | aml. MS-Nr. | Probenahmestellen | aml. MS-Nr. | Probenahmestellen | aml. MS-Nr. |
|--|-----------------|---|-----------------|---|-----------------|
| Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet | | | | | |
| Probenserie Engelskirchen | | Probenserie Lüdenscheid | | Probenserie Münster-Geist | |
| Abwasserschächte Krankenhaus od. Klinik | | | | | |
| Krankenhaus 1 | - | Krankenhaus 2, Hauptgebäude | - | Krankenhaus 3, Haus 1 | - |
| | | Krankenhaus 2, Haus 2-6 | - | Krankenhaus 3, Haus 2 | - |
| Rehaklinik | - | Sportklinik | - | | |
| Kläranlage | | | | | |
| KA Engelskirchen | | KA Lüdenscheid-Schlittenbachtal | | KA Münster-Geist | |
| "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | - | "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | - | "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | - |
| Ablauf | 252069 00301 | Ablauf | 692069 00501 | Ablauf | 334014 00201 |
| Gewässer | | | | | |
| Agger bei KA Engelskirchen | | Schlittenbach bei KA Lüdenscheid-Schlittenbachtal | | Galgenbach bei KA Münster-Geist | |
| (ca. 500 m) oberhalb Einleitung | 204201 | (ca. 250 m) oberhalb Einleitung | 435454 | (ca. 30 m) oberhalb Einleitung | 809494 |
| (ca. 130 m) unterhalb Einleitung | 204262 | (ca. 150 m) unterhalb Einleitung | 435466 | (ca. 70 m) unterhalb Einleitung | 809482 |
| Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet | | | | | |
| Probenserie Rahmedetal | | Probenserie Rheinbach | | Probenserie Stemwede | |
| Kläranlage | | | | | |
| KA Rahmedetal | | KA Rheinbach | | KA Stemwede, Weh-dem | |
| "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | - | "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | - | "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | - |
| Ablauf | 678090 00201 | Ablauf | 314013 00101 | Ablauf | 604011 01702 |
| | | Ablauf RBF+ (Retentionsbodenfilter) | - | | |
| Gewässer | | | | | |
| Rahmede bei KA Rahmedetal | | Wallbach bei KA Rheinbach | | Gewässer ^{a)} bei KA Stemwede, Weh-dem | |
| (ca. 200 m) oberhalb der Einleitung | - | (ca. 350 m) oberhalb der Einleitung | 263205 | (ca. 450 m) oberhalb der Einleitung | - |
| (ca. 600 m) unterhalb der Einleitung | 435855 | (ca. 150 m) unterhalb der Einleitung | 263308 | (ca. 150 m) unterhalb der Einleitung | - |

An den Behandlungsstufen zur weitergehenden Abwasserbehandlung der kommunalen Kläranlagen sowie der Krankenhäuser erfolgte ebenfalls eine Festlegung von Probenahmestellen vor und nach den jeweiligen Verfahrensstufen (Tabelle 5). Die Festlegung dieser Messstellen erfolgte nach Begehung und Sichtung der örtlichen Gegebenheiten.

Neben den genannten Abwasser-Messstellen wurden bei den kommunalen Kläranlagen und den direkteinleitenden Betrieben der Fleischwirtschaft jeweils auch Gewässer-Messstellen oberhalb und unterhalb der Einleitung der Anlagen ausgewählt. Soweit vorhanden wurden als Gewässer-Messstellen bereits beschriebene amtliche Messstellen gewählt. War dies nicht möglich, wurden Messstellen mittels GPS-Daten und Prüfung der Gegebenheiten vor Ort neu dokumentiert und festgelegt.

Tabelle 5: Probenahmestellen der Probenserien der Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung (siehe Tabelle 1) sowie der Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser (siehe Tabelle 2). amtl. MS-Nr. = amtliche Messstellennummer; - = keine amtliche Messstelle; MBR = Membranbioreaktor; PAK = Pulveraktivkohle.

| Probenahmestellen | aml. MS-Nr. | Probenahmestellen | aml. MS-Nr. | Probenahmestellen | aml. MS-Nr. | Probenahmestellen | aml. MS-Nr. |
|---|-------------|---|-------------|-----------------------------------|-------------|----------------------------------|-------------|
| Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung | | | | | | | |
| Probenserie Bad Sassendorf | | Probenserie Konzen | | Probenserie Monschau | | Probenserie R.-W., Rheda | |
| Kläranlage | | | | | | | |
| KA Bad Sassendorf | | KA Konzen | | KA Monschau | | KA R.-W., Rheda | |
| "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | - | "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | - | "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | - | "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | - |
| Zulauf Ozonung | - | Zulauf MBR nach Feinsiebung | - | Zulauf UV-Bestrahlung | - | Zulauf Ozonung | - |
| Ablauf KA | 74606100501 | Ablauf KA | 14801601101 | Ablauf KA | 14801600801 | Ablauf KA (= Ablauf Bioreaktor) | 50001100501 |
| Ablauf Schöningsteich | - | | | | | | |
| Gewässer | | | | | | | |
| Rosenau bei KA Bad Sassendorf | | Laufenbach bei KA Konzen | | Rur bei KA Monschau | | Ems bei KA R.-W., Rheda | |
| (ca. 250 m) oberhalb Einleitung | - | (ca. 100 m) oberhalb Einleitung | 101151 | (ca. 1550 m) oberhalb Einleitung | 101205 | (ca. 150 m) oberhalb Einleitung | - |
| (ca. 700 m) unterhalb Einleitung | 618111 | (ca. 20 m) unterhalb Einleitung | 101163 | (ca. 1150 m) unterhalb Einleitung | 101503 | (ca. 900 m) unterhalb Einleitung | 715104 |
| Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser | | | | / | | | |
| Probenserie Waldbröl | | Probenserie Marienhospital | | | | | |
| Abwasserbehandlungsanlage (ABA) | | | | | | | |
| Kreiskrankenhaus Waldbröl | | Marienhospital Gelsenkirchen | | | | | |
| Zulauf MBR (vor Rechen) | - | Zulauf MBR (nach Rechen) | - | | | | |
| Zulauf Ozonung (= Ablauf MBR) | - | Zulauf Ozonung oder PAK-/ Sandfiltration (= Ablauf MBR) | - | | | | |
| Ablauf ABA | - | Ablauf Ozonung | - | | | | |
| | | Ablauf PAK/Sandfilter | - | | | | |

Tabelle 6: Probenahmestellen an Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der Fleischwirtschaft sowie, bei Direkteinleitung, Probenahmestellen im Gewässer (siehe Tabelle 3). ^{a)} namenloses Gewässer zum Hoppenmeer; ^{b)} namenloses Gewässer zur Ems.

| Probenahmestellen | amtl. MS-Nr. | Probenahmestellen | amtl. MS-Nr. | Probenahmestellen | Probenahmestellen |
|---|-----------------|---|-----------------|-----------------------|-----------------------|
| Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) von Betrieben der Fleischwirtschaft | | | | | |
| Betrieb A | | Betrieb B | | Betrieb C | Betrieb D |
| Direkteinleitung | | Direkteinleitung | | Indirekteinleitung | Indirekteinleitung |
| Geflügelschlachtung | | Geflügelverarbeitung | | Schweineschlachtung | Schweineschlachtung |
| ABA | | ABA | | ABA | ABA |
| Zulauf (nach Siebung) | - | Zulauf (nach Fettabscheider) | - | Zulauf (nach Siebung) | Zulauf (nach Siebung) |
| Ablauf | 6143270 0101 | Ablauf | 5023240 0101 | Ablauf | Ablauf |
| Gewässer ^{a)} bei Betrieb A (ca. 50 m) oberhalb Einleitung (ca. 50 m) unterhalb Einleitung | - - - | Gewässer ^{b)} bei Betrieb B (ca. 70 m) oberhalb Einleitung (ca. 70 m) unterhalb Einleitung | - - - | | |

Bei den Messstellen an den Badegewässern handelt es sich um die offiziellen Überwachungsstellen, die nach europäischer Badegewässerrichtlinie²⁰ bzw. nordrhein-westfälischer Badegewässerverordnung²¹ durch die zuständigen Überwachungsbehörden festgelegt und für Untersuchungen zur Bewertung der Badegewässer-Qualität genutzt werden. Dabei handelt es sich jeweils um die Stelle, an der die meisten Badenden erwartet werden oder an der nach dem Badegewässerprofil mit der größten Verschmutzungsgefahr gerechnet wird.

Tabelle 7: Probenahmestellen an Badegewässern.

| Badegewässer | |
|------------------------------|---------------------------|
| Name Badegewässer | Messstelle |
| Freizeitanlage Aasee Bocholt | Badestelle |
| Bettenkamper Meer/Strand | Strand |
| Seaside Beach/Baldeneysee | Seaside Beach/Baldeneysee |

²⁰ <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:064:0037:0051:DE:PDF>

²¹ https://recht.nrw.de/lmi/owa/br_bes_text?anw_nr=2&gld_nr=7&ugl_nr=77&bes_id=11364&menu=1&sg=0&aufgehoben=N&keyword=badegew%E4sserverordnung#det0^

2.2 Kurzbeschreibung der Abwasserbehandlungsanlagen

Sowohl bei den Kläranlagen (KA) mit angeschlossenen Krankenhäusern (KA Engelskirchen, KA Lüdenscheid-Schlittenbachtal, KA Münster-Geist) als auch bei denen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet (KA Rahmedetal, KA Rheinbach, KA Stemwede, Wehden) handelt es sich um kommunale Kläranlagen mit konventioneller mechanisch-biologischer Behandlung. Informationen zu allen kommunalen Kläranlagen in Nordrhein-Westfalen sowie den ggf. angeschlossenen Krankenhäusern können mittels ELWAS-WEB aus dem Fachinformationssystem ELWAS abgerufen werden²². Die Kläranlage Rheinbach verfügt mit dem Retentionsbodenfilter plus (RBF+) auch über eine Verfahrensstufe, die zur weitergehenden Abwasserbehandlung eingesetzt werden kann. Nachfolgend werden zu dieser Verfahrensstufe sowie zu den anderen kommunalen Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung im Messprogramm des ARB-Projekts und den Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser bzw. denen der Betriebe der Fleischwirtschaft Erläuterungen gegeben, da diese nicht aus ELWAS-WEB abgerufen werden können. Die Informationen basieren, wenn keine anderen Quellen angegeben sind, auf mündlichen Angaben der Anlagenbetreiber im Rahmen der Anlagenbegehungen oder zusätzlichen, schriftlichen Erläuterungen der Betreiber.

2.2.1 Kommunale Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung

Im Folgenden sind jeweils technische bzw. betriebliche Eckdaten aufgeführt, um das jeweilige Abwasserbehandlungsverfahren zur Hygienisierung (durch Rückhalt oder Inaktivierung von Mikroorganismen) oder zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen in seinen Grundzügen nachvollziehen zu können.

2.2.1.1 KA Rheinbach – Retentionsbodenfilter plus (RBF+)

Quelle der nachfolgenden Informationen ist BRUNSCH et al. (2020).

Die Kläranlage Rheinbach verfügt mit dem Retentionsbodenfilter plus (RBF+) über eine großtechnische Pilotanlage, die sowohl zur Behandlung von Mischwasser als auch zur weitergehenden Abwasserbehandlung des Kläranlagenablaufs genutzt wird. Bei Mischwasser handelt es sich um Abwasser aus einem Mischsystem, d. h. einem Ableitungssystem, bei dem alle Abwässer (Schmutz- und Niederschlagswasser) in einer gemeinsamen Leitung gemischt abgeführt werden. Der RBF+ mit einer Filterfläche von ca. 5.000 m² ist seit 2019 in Betrieb und besteht aus drei Filtersegmenten mit unterschiedlichem Filteraufbau. Zwei der drei Segmente beinhalten neben dem klassischen RBF-Aufbau (Filtersand mit Zuschlagstoff 20% CaCO₃; Drainagekies) jeweils zwei Schichten mit Beimischung von granulierter Aktivkohle. Alle Segmente sind mit Schilf bepflanzt.

Zur Mischwasserbehandlung wird der RBF+ genutzt, wenn es in Folge von Starkregenereignissen zu einem Überlauf des auf dem Gelände der Kläranlage betriebenen Regenüberlaufbeckens mit nachgeschaltetem Regenrückhaltebecken kommt. Bei entsprechenden Ereignissen erfolgt ein Mischwasserzufluss zum Bodenfilter, wobei eine parallele Beschickung aller

²² <https://www.elwasweb.nrw.de/elwas-web/index.xhtml>; unter Daten > Abwasser > Kommunales Abwasser > Kläranlagen

drei Segmente erfolgt. Da im Einzugsgebiet der Kläranlage Rheinbach durchschnittlich maximal fünf solcher Regenereignisse pro Jahr auftreten, wird der RBF+ die restliche Zeit als zusätzliche Behandlungsstufe zur Verringerung der Konzentration an Mikroschadstoffen im Ablauf der Kläranlage betrieben.

Beim Betrieb des RBF+ zur weitergehenden Abwasserbehandlung werden die drei Segmente sequenziell mit dem Abfluss der Kläranlage im Anschluss an die Flockungsfiltration (ein abwärts durchströmter Sandfilter) beschickt. Es wird immer nur ein Segment für 24 Stunden befüllt und in den nachfolgenden 48 Stunden wieder entleert. Auf diese Weise bleibt die erforderliche Belüftung und das aerobe Milieu im Bodenkörper erhalten.

2.2.1.2 KA Bad Sassendorf – Ozonung

Quelle der nachfolgenden Informationen ist der Abschlussbericht des vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Forschungsvorhabens REDU-ANTIRESIST der EMSCHERGENOSSENSCHAFT (2016) sowie Angaben des Betreibers.

Im Jahr 2009 wurde auf der Kläranlage Bad Sassendorf eine Ozonstufe errichtet. Diese dient der Elimination von Spurenstoffen wie Medikamentenrückständen im Abwasser. Die Ozonbehandlung des Abwassers findet im Anschluss an die konventionelle mechanisch-biologische Abwasserreinigung statt. Das Abwasser wird aus dem Nachklärbecken der Ozonung zugeführt. Die Ozonstufe kann einen Abwasservolumenstrom von 300 bis 650 m³/h behandeln. Die Aufenthaltszeit im Ozonreaktor beträgt 13 min bei einem Volumenstrom von 300 m³/h. Im Anschluss an die Ozonung wird das Abwasser – über den Ablauf der Kläranlage (amtliche Messstelle) – einem Nachbehandlungsteich zugeführt. Aus dem Nachbehandlungsteich (Schönungsteich) erfolgt die Einleitung ins Gewässer.

Die eingesetzte Ozonkonzentration im Beprobungszeitraum des ARB-Projektes betrug 2 mg O₃ pro Liter. Bezogen auf den gelösten organischen Kohlenstoff (dissolved organic carbon; DOC) im Abwasser am Zulauf zur Ozonung entsprach dies einer Konzentration von 0,4 bis 0,6 mg O₃/mg DOC zum Zeitpunkt der Beprobungen.

2.2.1.3 KA Konzen – Membranbioreaktor

Die Kläranlage Konzen ist eine Membranbioreaktor-Anlage mit acht Membrankammern und einer Membranfläche von insgesamt 23.040 m². Bei sieben von acht Membranbecken sind Doppeldecker-Membranmodule mit einer Gesamthöhe von 3,50 m bestehend aus zwei übereinander gesetzten Modulen eingesetzt. Diese Membranmodule werden direkt in das Belebtschlamm-Wasser-Gemisch eingetaucht und ziehen das biologisch gereinigte Abwasser als Filtrat im Unterdruckbetrieb ab. Pro Doppeldecker-Modul sind zwei Membranmodule mit je 200 Membranplatten installiert. Jede Membranplatte verfügt über 0,8 m² aktive Membranfläche. Ein Doppeldecker-Modul verfügt somit über 320 m² Membranfläche. Eine komplett bestückte Membrankammer hat 2.880 m² aktive Filterfläche.

Von den sieben Membrankammern sind vier Stück mit Plattenmembranen mit einer Porengröße von ca. 0,4 µm ausgerüstet. Zwei weitere Membrankammern sind mit Plattenmembranen mit einer Porengröße von ca. 0,1 µm ausgerüstet. Eine weitere Membrankammer ist je zur Hälfte mit Membranplatten von 0,4 µm und 0,1 µm Porengrößen ausgerüstet.

Die achte Membrankammer ist seit Mai 2022 mit 2.880 m² Hohlfasermembranen mit 0,05 µm Porengröße ausgerüstet.

2.2.1.4 KA Monschau – UV-Bestrahlung

Die Kläranlage Monschau ist eine Anlage mit konventioneller mechanisch-biologischer Abwasserreinigung mit weitergehender Behandlung durch Sandfiltration und abschließender UV-Bestrahlung.

Die Filteranlage besteht aus vier Filterkammern, die als offene Schnellfilter konzipiert sind. Es handelt sich um Zweischichtfilter mit einer Quarzsand- und einer Bimsschicht. Die Filterfläche beträgt 36 m² bei einem Durchsatz von 160 l/s.

Dieser herkömmlichen Filtration ist eine UV-Anlage mit einer Leistung von 8.540 Watt nachgeschaltet.

2.2.1.5 KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda – Ozonung

Bei der Kläranlage Rheda-Wiedenbrück, Rheda handelt es sich um eine kommunale Kläranlage mit konventioneller mechanisch-biologischer Abwasserreinigung. Etwa die Hälfte der Schmutzfracht entstammt Industrie, Gewerbe bzw. Landwirtschaft – insbesondere aus dem Abwasser eines Betriebes der Fleischwirtschaft (Schweineschlachtung). Das Abwasser dieses Betriebes wird einer mechanisch-biologischen Vorbehandlung unterzogen, bevor es (auf dem Gelände der Kläranlage) mit dem kommunalen Abwasser (im Anschluss an dessen Durchströmen des Sandfangs) vermischt wird. Im Einzugsgebiet der KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda befindet sich ein Krankenhaus. Die Bettenanzahl des Krankenhauses bezogen auf die Anzahl Einwohner im Einzugsgebiet der Kläranlage ergibt einen KH-Abwasseranteil von 0,3 %.

Seit März 2021 wird im Anschluss an die konventionelle mechanisch-biologische Abwasserbehandlung eine Tuchfiltration mit anschließender Ozonung und ein Schwebebettreaktor (Bioreaktor) betrieben. Der Filter ist für eine Vollstrombehandlung bei Trockenwetter ausgelegt; die Ozonung für 90 % der rechnerischen Tagesfracht. Die Anlage zur weitergehenden Abwasserbehandlung zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen befindet sich im Dauerbetrieb mit einer eingesetzten Ozonkonzentration von 3,5 mg O₃ pro Liter bei einer Aufenthaltszeit des Abwassers im Ozonreaktor von ca. 30 Minuten. Bezogen auf den gelösten organischen Kohlenstoff (dissolved organic carbon; DOC) im Abwasser am Zulauf zur Ozonung entsprach dies an den Probenahmetagen im ARB-Projekt einer Konzentration von 0,3 bis 0,4 mg O₃/mg DOC.

2.2.2 Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser

2.2.2.1 ABA am Kreiskrankenhaus Waldbröl

Quellen der nachfolgenden Informationen sind der Steckbrief „Kreiskrankenhaus-Kläranlage Waldbröl“ des Kompetenzzentrums Mikroschadstoffe NRW (2013) sowie Angaben des Betreibers. Weitere Details können der Dissertation von MAUER (2011) entnommen werden.

Bei der Abwasserbehandlungsanlage am Kreiskrankenhaus Waldbröl handelt es sich um einen Membranbioreaktor (MBR) zur Reinigung von Krankenhausabwasser im Vollstrom mit anschließender Ozonung des Abwassers insbesondere zum Abbau von Arzneimittelrückständen. Die Anlage ist ausgelegt unter anderem auf folgende Parameter: Einwohnerwert (Ausbau), rd. 800 E; Krankenhausbetten, rd. 340; Jahresschmutzwassermenge, 40.000 m³/a sowie im Zulauf zur Behandlungsanlage: CSB, 539 mg/l; DOC, 139 mg/l; N_{ges}, 65 mg/l und P_{ges}, 8,56 mg/l. Die Inbetriebnahme der Ozonung erfolgte im Januar 2010. Die MBR-Anlage besteht aus fünf getauchten Plattenmembran-Modulen mit einer Membranfläche von insgesamt 1.600 m². Die Membran besteht aus chloriertem Polyethylen und hat eine maximale Porengröße von 0,4 µm (Durchschnitt: 0,2 µm). Kenndaten des Ozon-Generators sind: Behandlungsvolumenstrom Q_{max}, 32 m³/h; Reaktionsvolumen, 6 m³; Aufenthaltszeit, 15 min. Der Ozon-Eintrag erfolgt über ein Pumpe-Injektor-System. Die eingestellte Ozonleistung im Zeitraum des ARB-Projekts betrug 4 Nm³/h x 65 g/m³ = 260 g/h.

Das behandelte Krankenhausabwasser wird der kommunalen Kläranlage Waldbröl Brenzingen zugeführt.

2.2.2.2 ABA am Marienhospital Gelsenkirchen

Quellen der nachfolgenden Informationen ist der Abschlussbericht des Forschungsvorhabens REDU-ANTIRESIST der EMSCHERGENOSSENSCHAFT (2016) sowie Angaben des Betreibers. Weitere Informationen bietet auch der Abschlussbericht zum Europäischen Kooperationsprojekt PILLS (2012).

Bei der Abwasserbehandlungsanlage (ABA) am Marienhospital Gelsenkirchen handelt es sich um einen Membranbioreaktor (MBR). Schmutzwasser des Marienhospitals wird über einen Feinrechen dem MBR zugeführt. Der MBR hat eine Membranfiltration mit getauchten polymeren Plattenmodulen mit einer Porengröße von im Mittel 0,04 µm. Des Weiteren verfügt die Anlage über Stufen zur weitergehenden Behandlung mit Ozon und/oder Pulveraktivkohle-Sandfiltration. MBR sowie Ozon- und Pulveraktivkohlestufe sind für eine Abwassermenge von 200 m³/Tag bemessen. Der Eintrag des Ozons erfolgt über Keramik-Diffusoren. Bei 10 min Aufenthaltszeit sind Ozondosierungen von < 5 bis 10 mg O₃/l möglich.

Im Rahmen des ARB-Projekts wurden die Ozonung und die Pulveraktivkohle-/Sandfiltration parallel betrieben. Die eingesetzte Ozonkonzentration betrug 3 Milligramm O₃ pro Liter. Bezogen auf den gelösten organischen Kohlenstoff (dissolved organic carbon; DOC) im Abwasser am Zulauf zur Ozonung entsprach dies einer Konzentration von 0,1 bis 0,3 mg O₃/mg DOC. Die Pulveraktivkohle-Dosierung betrug 20 mg/l.

Das behandelte Krankenhausabwasser wird der kommunalen Kläranlage Bottrop zugeführt.

2.2.3 Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der Fleischwirtschaft

2.2.3.1 Betrieb A (Direkteinleitung; Geflügelschlachtung)

Die Abwasserbehandlungsanlage von Betrieb A umfasst eine Siebung, Flotation und biologische Behandlung in einem Membranbioreaktor.

Nach der Trommelsiebung und vor der Flotation ist ein Zulaufpuffer mit einer max. Speicherkapazität von 80 m³ geschaltet, der mit einem Rührwerk ausgestattet ist. Dieser dient zum Abfangen von Zulaufspitzen.

Die Mikroflotation wird mit einem durchschnittlichen Zufluss von 28 m³/h betrieben. Zur Flockenbildung wird Eisen-III-Chlorid und ein polymeres Flockenmittel dosiert. Ablaufwerte nach der Flotation: CSB-Reduktion um 85–90 %; Stickstoffreduktion zwischen 60–70 %.

Nach der Flotation wird das vorgereinigte Abwasser zwischengespeichert in einem Misch- und Ausgleichsbehälter mit einem max. Volumen von 400 m³. Von dort wird es in die biologische Stufe befördert, bei welcher es sich um einen Membranbioreaktor mit einer getauchten Ultrafiltration handelt. Das biologische Becken, runde Ausführung, hat ein Fassungsvermögen von max. 700 m³ und verfügt über eine Belüftungseinrichtung und ein Rührwerk. Zwischen der biologischen Behandlung und der Ultrafiltration ist eine IDM-Siebung zum Rückhalt von Feststoffen eingebaut.

Das Schlammalter beträgt im Durchschnitt 11 Tage; die Aufenthaltszeit des Abwassers 1–2 Tage. Der Überschussschlamm wird mittels einer Pumpe aus der Filtration abgezogen, in einem Schlamm Speicher mit einem Fassungsvermögen von 200 m³ zwischengespeichert und mittels einer Schneckenpresse für die Entsorgung verpresst.

Die Abwasserbehandlungsanlage ist auf 600 m³ Abwasser pro Tag ausgelegt bei einer 5-Tage-Woche. Mindesttemperatur 18 °C; Maximaltemperatur 26 °C.

Das anfallende Abwasser setzt sich aus etwa 60 % Schlachtabwasser und 40 % Reinigungsabwasser (u. a. Reinigung der Maschinen, der LKW) zusammen. Die Jahresschmutzwassermenge beträgt 130.000 m³/a. Das gereinigte Abwasser wird in ein namenloses Gewässer zum Hoppenmeer (Delbrück) eingeleitet.

2.2.3.2 Betrieb B (Direkteinleitung; Geflügelverarbeitung)

Die Abwasserbehandlungsanlage von Betrieb B ist wie folgt aufgebaut: Fettabscheider, Pumpstation, Sieb/Grobschmutzfang, Pufferbehälter (90 m³; für eine gleichmäßige Zuführung in die biologische Behandlung), Flotation, biologische Behandlung, Nachklärbecken I, Nachklärbecken II mit Fallstufe. Die Zuführung in die biologische Behandlung erfolgt direkt in die Nitrifikation (ca. 350 m³; Zudosierung von Eisen-III-Chlorid). Denitrifikation (90 m³); Rückführung in das Becken für die Nitrifikation.

Die Schmutzfracht beträgt etwa 500 Einwohnergleichwerte. Die Menge des jährlich anfallenden gereinigten Abwassers, welches in ein namenloses Gewässer zur Ems eingeleitet wird, beläuft sich auf 15.000 m³.

2.2.3.3 Betrieb C (Indirekteinleitung; Schweineschlachtung)

Bei der Abwasserbehandlungsanlage von Betrieb C handelt es sich um eine mechanisch-biologische Abwasserbehandlung mit anschließender Membranfiltration. Die Anlage ist wie folgt aufgebaut: Separator (Maschenweite: 2 mm), Zulauf, Flotation, biologische Behandlung, Membranfiltration. Das Flotationsbecken hat ein Fassungsvermögen von 25 – 40 m³. Das vorgereinigte Schlachthofabwasser wird zur weiteren Behandlung der kommunalen Kläranlage Geldern zugeführt. Ist die biologische Behandlungsstufe und/oder Membranfiltration nicht in Betrieb (Reparatur, Wartung), fließt das Abwasser direkt nach Siebung und Flotation zur KA Geldern.

2.2.3.4 Betrieb D (Indirekteinleitung; Schweineschlachtung)

Die Abwasserbehandlungsanlage von Betrieb D, zur Vorreinigung des im Schlachthof anfallenden Prozessabwassers, umfasst eine Siebung, Flotation und biologische Behandlung. Die Siebung erfolgt über Siebtrommeln mit einer Maschenweite von 1 mm.

Die Flotation besteht aus einer dreistraßigen Anlage mit einem maximalen Zufluss von 300 m³/h. Ein Vorseicher dient als Pumpenvorlage für die Beschickung der Flotationsanlagen. Der Vorseicher ist mit zwei Rührwerken ausgestattet, wodurch Absetzungsvorgänge im Vorseicher verhindert werden. Zur Flockenbildung werden in der Flotationsanlage dem Abwasser Eisen-III-Chlorid und ein polymeres Flockungsmittel zugegeben. Mittels Entspannungsflotation wird die organische Schmutzfracht im Abwasser um ca. 80 - 85 % und die Stickstofffracht um 70 - 75 % reduziert. Der Ablauf der Flotationsanlagen fließt dem Klarwasserspeicher zu, aus welchem das vorbehandelte Abwasser der biologischen Stufe zugeführt wird.

Der maximale Zufluss (6 Tage/Woche) zur biologischen Stufe beträgt 6.500 m³/d; der Spitzenzufluss 300 m³/h, die Mindesttemperatur 18 °C und die Maximaltemperatur 30 °C.

Die „Biologie 1“ besteht aus drei baugleichen Becken (Abmessungen: 13,70 x 13,70 x 6,85 m) mit einem Volumen von ca. 1.285 m³. Jedes Becken verfügt über eine Belüftungseinrichtung und Becken 1 zusätzlich über ein schwimmendes Rührwerk. Der aus der Nachklärung geförderte Rücklaufschlamm fließt nur dem Becken 1 zu, wobei das Rohabwasser auf alle drei Belebungsbecken aufgeteilt werden kann. Die „Biologie 2“ ist eine Kompaktanlage mit drei Becken zu je rd. 14,00 x 20,00 x 6,85 m. Die drei Belebungsbecken können wahlweise als belüftete und unbelüftete Becken betrieben werden.

Zum Schlammrückhalt verfügt die Anlage über zwei Nachklärbecken. Das vorgereinigte Schlachthofabwasser wird zur weiteren Mitbehandlung der kommunalen Kläranlage Rheda-Wiedenbrück, Rheda zugeführt.

An den Probenahmeterminen im ARB-Projekt betrug die Schlachtleistung (aufgrund von Einschränkungen während der COVID-19-Pandemie) nur ca. 68 % der üblichen Schlachtleistung. Die Abwassermenge betrug am 17.11.2020 ca. 5.800 m³/d; am 16.03.2021 sowie 15.06.2021 ca. 6.000 m³/d und am 21.09.2021 ca. 5.800 m³/d.

3 Probenahme und Untersuchungsparameter

Um sicherzustellen, dass es während der Probenahme zu keiner Veränderung der Probe kommt, wurden alle Probenahmen mit sterilen Gerätschaften durchgeführt – die Abwasserproben in der Regel als qualifizierte Stichproben und die Oberflächenwasserproben als Stichproben (Details siehe Kapitel A 1.2 Probenahme im Anhang dieses Berichts).

Untersucht wurde auf nachfolgend aufgeführte klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien (ARB) sowie Antibiotikaresistenzgene (ARG). Details zu den angewandten Methoden sind im Anhang des Berichts ab Kapitel A 1.4 dargestellt. Die Ausrichtung der Methoden erfolgte anhand von Kriterien, die valide und statistisch sichere quantitative Angaben (bei ARB) und qualitative Angaben (bei ARG) sowie phänotypisch bzw. genotypisch bestätigte Resistenzen bzw. Resistenzmechanismen erlaubten.

Gramnegative Bakterien:

- Enterobakterien der Art *Escherichia coli* (*E. coli*) sowie der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* (KEC-Gruppe) mit Resistenzen gegenüber dem Antibiotikum Cefpodoxim – einem Cephalosporin der dritten Generation und empfindlichsten individuellen Indikator-Cephalosporin für den Nachweis der Produktion einer „Extended-Spectrum-Beta-Lactamase“ (ESBL) – sowie genannte Zielorganismen mit bestätigter ESBL- bzw. Carbapenemase-Produktion.
- *Pseudomonas aeruginosa* mit Antibiotikaresistenzen gegenüber ausgewählten Antibiotika mit antipseudomonaler Aktivität (Ceftazidim, Cefepim, Imipenem, Meropenem).
- *Acinetobacter baumannii*-Gruppe mit Carbapenem-Resistenz; Zielorganismen: *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. noscomialis*, *A. seifertii* und *A. dijkshoorniae* mit Resistenz gegenüber den Antibiotika Imipenem und Meropenem bzw. Carbapenemase-Produktion.
- 3MRGN, 4MRGN: Die gewonnenen Bakterien-Isolate der oben genannten Zielorganismen wurden hinsichtlich der 3MRGN bzw. 4MRGN Klassifizierung nach KRINKO (2012) und (2019) untersucht. Dabei handelt es sich um eine Definition der Multiresistenz bei gramnegativen Bakterien: Enterobakterien sowie *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii* mit Resistenz gegen 3 von 4 betrachteten Antibiotikagruppen (3MRGN) bzw. gegen alle 4 (4MRGN); Antibiotikagruppen: Acylureidopenicilline, Cephalosporine der 3. und 4. Generation, Carbapeneme und Fluorchinolone (mit den Leitsubstanzen: Piperacillin; Cefotaxim und/oder Ceftazidim; Imipenem und/oder Meropenem; Ciprofloxacin) → Resistenzen mit klinischer Relevanz, da die genannten Antibiotika als primäre bakterizide Therapeutika bei schweren Infektionen eingesetzt werden.

Grampositive Bakterien:

- Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE); Zielorganismen: *Enterococcus faecium* und *Enterococcus faecalis*. Vancomycin wird bei der Beschreibung der Epidemiologie von multiresistenten Enterokokken als Leitantibiotikum verwendet.

Antibiotikaresistenzgene:

- Qualitative Untersuchung auf ESBL-Gene (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} und *bla*_{CTX-M}) und Carbapenemase-Gene (*bla*_{OXA-48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM} und *bla*_{IMP}) sowie Van-Gene (*vanA* und *vanB*).

4 Ergebnisse

Nachfolgend werden zunächst die Ergebnisse der Untersuchung auf Enterobakterien der Art *E. coli* sowie der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* (KEC-Gruppe) mit Resistenzen gegenüber dem Antibiotikum Cefpodoxim (Cephalosporin der 3. Generation und empfindlichstes individuelles Indikator-Cephalosporin für den Nachweis der Produktion einer ESBL) – kurz als 3GC-resistent bezeichnet – sowie auf die genannten Zielorganismen mit Carbapenemase-Produktion graphisch dargestellt und verglichen. Bei den Carbapenemase-bildenden *E. coli* sowie Isolaten der KEC-Gruppe handelt es sich um eine Teilmenge der jeweiligen 3GC-resistenten Bakterien, für welche mittels weitergehender Analytik (siehe Kapitel A 1.4.2.1) die Carbapenemase-Produktion nachgewiesen wurde.

Anschließend werden die Ergebnisse der Untersuchung auf *Pseudomonas aeruginosa* mit Resistenzen gegenüber Ceftazidim (Cephalosporin der 3. Generation), Cefepim (Cephalosporin der 4. Generation) sowie den Carbapenemen Imipenem und Meropenem behandelt. Da diese weniger verbreitet nachgewiesen wurden als 3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe, wurde eine tabellarische Zusammenstellung der Daten gewählt.

Bakterien der *Acinetobacter baumannii*-Gruppe mit Carbapenem-Resistenz wurden nur in einer einzelnen Rohabwasserprobe eines Betriebs der Fleischwirtschaft nachgewiesen; es handelte sich dabei nur um ein Isolat. Dieser Einzelbefund wird im anschließenden Kapitel mit den Ergebnissen der Untersuchung auf 3MRGN und 4MRGN aufgeführt.

Alle diese Untersuchungsergebnisse wurden mittels der im Messprogramm durchgängig angewandten Analytik kulturell quantitativ mit CHROMagar ESBL (Fa. Mast) als primärem Selektivnährmedium generiert. Im Verlauf des Messprogramms wurden ausgewählte Probenserien (Abwasser- und Oberflächenwasserproben sowohl mit als auch ohne Krankenhausabwasseranteil; nicht die Proben aus den Badegewässern; von den Abwässern der Betriebe der Fleischwirtschaft zwei Proben von Betrieb C) zusätzlich mittels CHROMagar mSuperCARBA (Fa. Mast) als primärem Selektivnährmedium untersucht. Ein Vergleich der Ergebnisse wird in Kapitel 4.4 dargestellt.

Im Anschluss an die Darstellung der Ergebnisse bezüglich der betrachteten multiresistenten gramnegativen Bakterien wird auf die im Rahmen des Messprogramms untersuchten grampositiven Bakterien – die Vancomycin-resistenten Enterokokken – eingegangen.

Abschließend werden die Ergebnisse der qualitativen Untersuchung auf ausgewählte Antibiotikaresistenzgene vorgestellt. Eine gesonderte Betrachtung der Ergebnisse der untersuchten Badegewässer ist am Ende des Ergebniskapitels aufgeführt.

Im Rahmen des ARB-Projekts wurde ergänzend auch auf Antibiotika untersucht, für welche die Untersuchungsmethodik im LANUV bereits etabliert war (siehe Kapitel A 1.3.2.). Die Auswahl der im Rahmen dieser Analytik untersuchten Arzneistoffe erfolgte unter dem Aspekt von ubiquitär auftretenden Substanzen in der wässrigen Umwelt und unter Berücksichtigung rechtlicher Vorgaben im Zusammenhang des Gewässerschutzes, jedoch nicht auf Basis klinischer Relevanz. Ergebnisse der Untersuchung auf Antibiotika sind daher im Anhang aufgeführt (siehe Kapitel A 2); sie werden in diesem Bericht jedoch nicht ausführlich besprochen.

Bezüglich des zum Vergleich untersuchten Quellgewässers, der Volmequelle in Meinerzhagen: In keiner der vier Proben aus dem Quellgewässer (Probenahme-Daten: 26.08.2020, 29.03.2021, 16.07.2021, 11.07.2022) wurden antibiotikaresistente Bakterien, Resistenzgene oder Antibiotika, auf die untersucht wurde, nachgewiesen.

4.1 *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* mit Resistenzen gegenüber Cefpodoxim (3GC-resistent) bzw. mit Carbapenemase-Produktion

4.1.1 Krankenhausabwasser und Abwasser aus Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet

Mit einer Ausnahme wurde in allen Krankenhaus- bzw. Klinikabwasserproben ebenso wie in allen Proben des Rohabwassers (Zulauf) und des behandelten Abwassers (Ablauf) der kommunalen Kläranlagen mit und ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet 3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe nachgewiesen. Sowohl im Abwasser der Krankenhäuser bzw. Kliniken als auch in den Rohabwasserproben der Kläranlagen lag die Konzentration im Mittel (Mittelwert, arithmetisches Mittel) um 10^5 KBE/100 ml, wobei die Spannweite im Fall der Krankenhaus- bzw. Klinikabwässer (Abbildung 2) größer war (Minimum: $1,0 \times 10^2$ KBE/100 ml; Maximum: $4,9 \times 10^6$ KBE/100 ml) als bei den Rohabwasserproben der Kläranlagen (Minimum: $4,9 \times 10^3$ KBE/100 ml; Maximum: $3,3 \times 10^5$ KBE/100 ml) (Abbildung 3). In den Ablaufproben – also den behandelten Abwässern – aller Kläranlagen lagen die Konzentrationen der 3GC-resistenten *E. coli* und KEC-Gruppe (Minimum: $6,0 \times 10^0$ KBE/100 ml; Maximum: $2,2 \times 10^3$ KBE/100 ml) im Mittel um etwa 3 Log-Stufen niedriger als im Rohabwasser (Log-Reduktion, Minimum: 1,1; Maximum: 4,3).

3GC-resistente *E. coli* waren in allen diesen Abwässern nachweisbar (Tabelle 8). In den Abwässern der Krankenhäuser und Kliniken sowie den Rohabwässern der Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet (a-c) wurde außerdem mehrheitlich das Vorkommen von Vertretern aller drei Gattungen der KEC-Gruppe (*Klebsiella*-, *Enterobacter*- und *Citrobacter*-Spezies) mit Resistenzen gegenüber Cefpodoxim belegt – mit Ausnahme der Rehaklinik (# 2) und dem Abwasserschacht (# 7) eines Krankenhauses und dem Zulauf der Kläranlage Lüdenscheid-Schlittenbachtal, in deren Abwässern keine 3GC-resistenten *Citrobacter* gefunden wurden, sowie dem Abwasserschacht (# 4) eines weiteren Krankenhauses, in welchem von der KEC-Gruppe nur 3GC-resistente *Enterobacter* nachgewiesen wurden (Tabelle 8). In den Abwasserproben (Zu- und Ablauf) der Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet (d-f) sowie den Ablaufproben der Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet wurden keine 3GC-resistenten *Citrobacter* nachgewiesen (Tabelle 8).

In den Oberflächenwasserproben aus den Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung der Kläranlagen wurden 3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe im Mittel im Konzentrationsbereich von 10^1 bis 10^2 KBE/100 ml nachgewiesen (Abbildung 4). Unterhalb der Einleitungen lagen die Konzentrationen mehrheitlich höher als oberhalb der Einleitungen. Zu beachten gilt allerdings, dass bei den Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet zwei von drei Anlagen in Gewässer mit sehr geringer Wasserführung einleiten, welche oberhalb der Einleitung regelmäßig trockenfallen. Aus diesem Grund war eine Probenahme von Oberflächenwasser aus dem Gewässer oberhalb der Einleitung bei der KA Rheinbach in einem von drei Fällen und bei der KA Stewede, Wehden in drei von vier Fällen nicht möglich (Abbildung 4 A).

Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien in Abwasser und Fließgewässern in NRW
Ergebnisse

A Probenahme: Datum, Uhrzeit und Abwassertemperatur – Abwasserschächte Krankenhäuser (1; 3-4; 6-8), Reha- (2) und Sportklinik (5)

| 1 | | | 2 | | 3 | | | 4 | | 5 | | 6 | | | 7 | | 8 | | |
|----------|-------|--------|------|--------|----------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|----------|-------|--------|-------|--------|----------|-------|--------|
| Datum | Zeit | T [°C] | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Zeit | T [°C] | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] |
| 19.04.21 | 10:25 | 15,7 | 9:20 | 16,3 | 27.07.21 | 15:07 | 21,3 | 14:20 | 19,4 | 15:42 | 23,9 | 08.12.20 | 11:23 | 16,3 | 12:00 | 19,9 | 24.08.20 | 10:37 | 20,9 |
| 15.03.22 | - | - | 8:27 | 16,9 | 08.11.21 | 14:43 | 18,2 | 13:21 | 15,1 | 15:39 | 18,4 | 02.02.21 | 12:25 | 11,4 | 12:52 | 17,6 | 29.03.21 | 9:21 | 15,2 |
| 17.05.22 | 8:41 | 21,1 | 9:12 | 21,3 | 22.02.22 | 15:13 | 12,3 | 13:13 | 12,5 | 14:21 | 15,3 | 22.06.21 | 8:30 | 30,6 | 9:05 | 22,1 | 16.08.21 | 9:35 | 19,8 |
| 05.09.22 | 8:38 | 21,3 | 9:40 | 25,6 | | | | | | | | | | | | | | | |

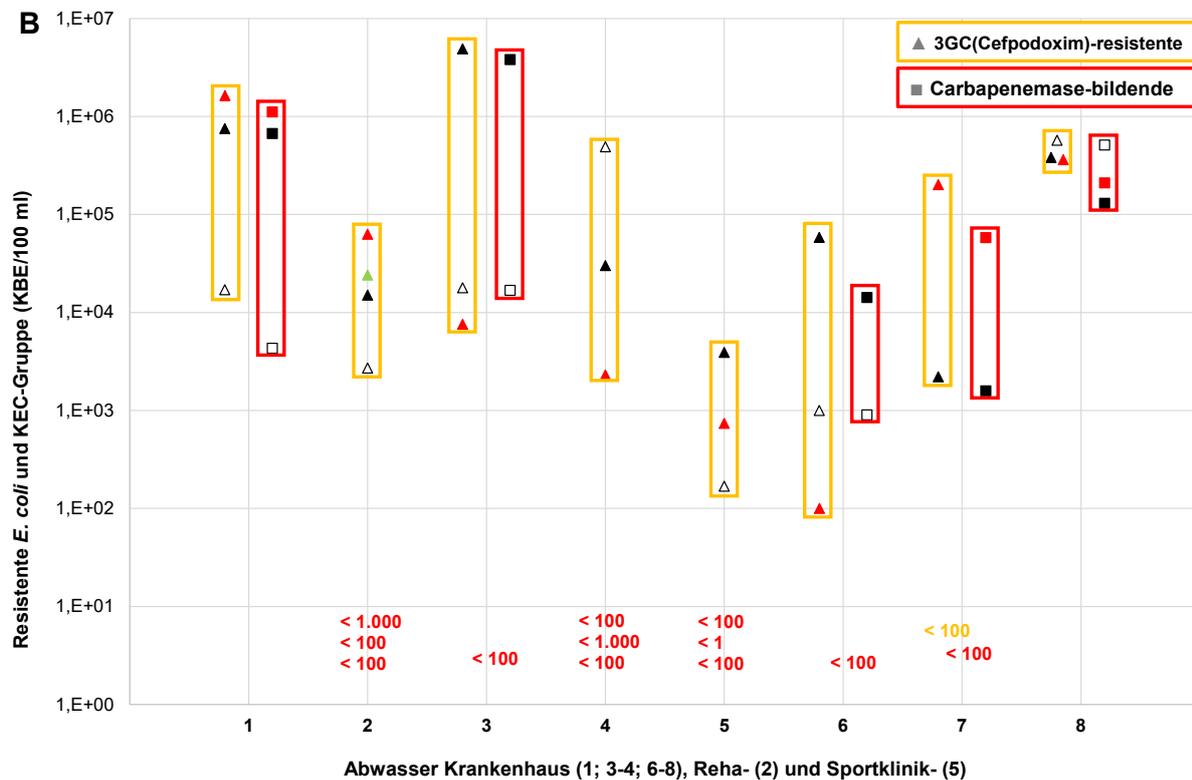


Abbildung 2: Konzentrationen 3GC-resistenter (▲) *E. coli* und KEC-Gruppe sowie der Anteil mit bestätigter Carbapenemase(CP)-Bildung (■) in Abwasser aus Krankenhäusern (KH), einer Reha- und einer Sportklinik (B).

Für Befunde unterhalb der Nachweisgrenze ist diese jeweils angegeben. Probenahmedaten, -zeiten und Abwassertemperaturen siehe Tabelle (A). Die Farbgebung der Symbole (▲, ■) entspricht den Probenahmeterminen: 1. schwarz, 2. weiß, 3. rot, 4. grün. Die (gelben und roten) Rahmen dienen der Visualisierung der Spannweite der Befunde. Die Nummern 1 bis 8 kennzeichnen die Abwasserschächte (Probenahmestellen) der KH bzw. Kliniken. Die Einleitung des Abwassers erfolgt in folgende kommunale Kläranlagen (KA): 1 und 2, KA Engelskirchen; 3 und 4 (= ein KH) sowie 5, KA Lüdenscheid-Schlittenbachtal; 6 und 7 (= ein KH), KA Münster-Geist; 8 (= KH mit Abwasserbehandlungsanlage), KA Waldbröl Brenzingen.

Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien in Abwasser und Fließgewässern in NRW
Ergebnisse

| A Probenahme: Datum, Uhrzeit und Abwassertemperatur – Zulauf KA (= Ablauf Sandfang) mit (1-3) bzw. ohne (4-6) Krankenhäuser im Einzugsgebiet | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|
| 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | | 5 | | | 6 | | |
| Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] |
| 14.09.20 | 10:53 | 18,3 | 27.07.21 | 10:31 | 17,6 | 08.12.20 | 9:40 | 12,2 | 29.09.20 | 11:14 | 15,1 | 08.09.20 | 9:41 | 19,4 | 01.09.20 | 13:35 | 19,8 |
| 19.04.21 | 12:17 | 12,7 | 08.11.21 | 11:12 | 13,9 | 02.02.21 | 9:59 | 11,8 | 02.02.21 | 10:56 | 9,6 | 12.04.21 | 11:21 | 9,7 | 12.04.21 | 10:33 | 9,5 |
| 18.10.21 | 8:53 | 15,0 | 22.02.22 | 10:10 | 9,1 | 22.06.21 | 12:55 | 19,1 | 22.06.21 | 11:36 | 15,6 | 17.01.22 | 10:05 | 10,8 | 21.06.22 | 12:00 | 16,2 |
| 15.03.22 | 9:45 | 10,3 | | | | | | | | | | | | | 02.08.22 | 10:05 | 18,5 |
| 17.05.22 | 10:36 | 14,4 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 05.09.22 | 11:09 | 19,4 | | | | | | | | | | | | | | | |

| A Probenahme: Datum, Uhrzeit und Abwassertemperatur – Ablauf KA (amtliche Messstelle) mit (1-3) bzw. ohne (4-6) Krankenhäuser im Einzugsgebiet | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|
| 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | | 5 | | | 6 | | |
| Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] |
| 14.09.20 | 10:35 | 18,6 | 27.07.21 | 11:29 | 19,3 | 08.12.20 | 8:50 | 9,6 | 29.09.20 | 10:24 | 14,2 | 08.09.20 | 10:46 | 19,5 | 01.09.20 | 12:55 | 20,6 |
| 19.04.21 | 11:56 | 13,8 | 08.11.21 | 10:31 | 12,0 | 02.02.21 | 9:27 | 8,6 | 02.02.21 | 9:57 | 9,2 | 12.04.21 | 10:27 | 9,9 | 12.04.21 | 8:00 | 4,3 |
| 18.10.21 | 8:53 | 16,1 | 22.02.22 | 11:03 | 7,6 | 22.06.21 | 11:59 | 20,4 | 22.06.21 | 10:54 | 16,5 | 17.01.22 | 9:16 | 9,2 | 21.06.22 | 10:40 | 20,1 |
| 15.03.22 | 9:18 | 10,3 | | | | | | | | | | | | | 02.08.22 | 9:31 | 20,8 |
| 17.05.22 | 10:04 | 15,5 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 05.09.22 | 11:39 | 19,9 | | | | | | | | | | | | | | | |

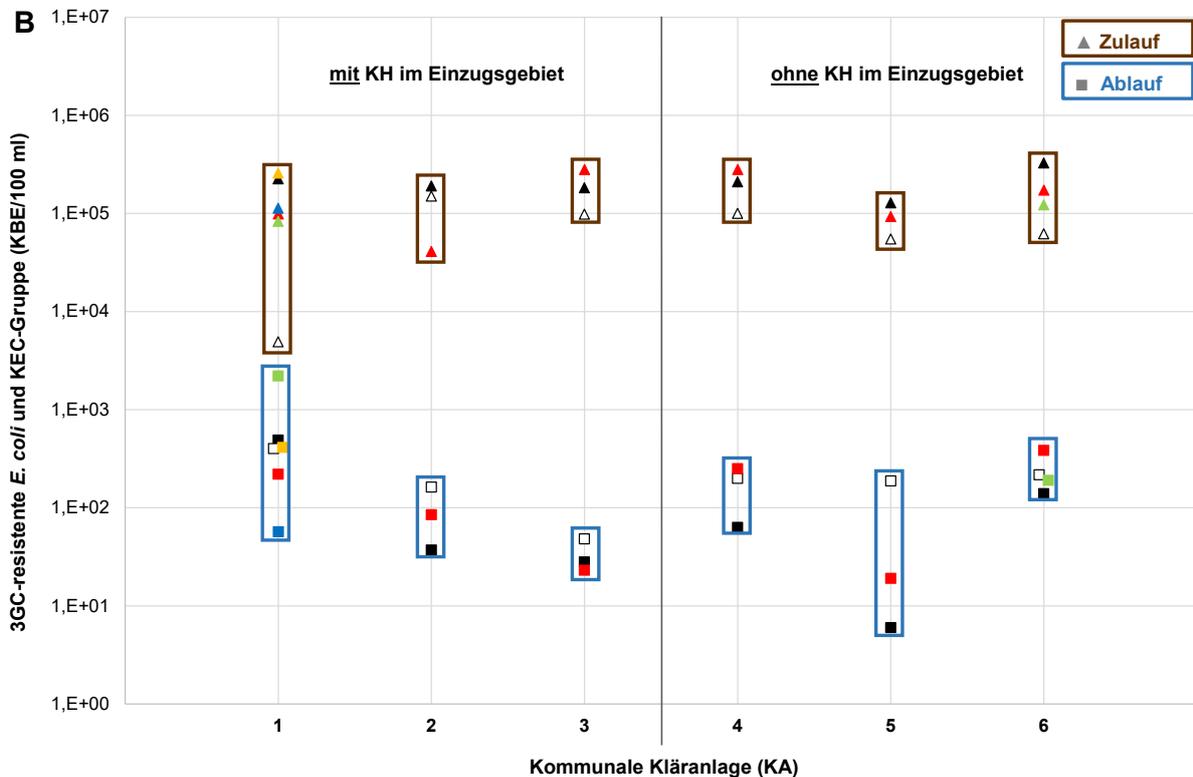


Abbildung 3: Konzentrationen 3GC-resistenter *E. coli* und KEC-Gruppe in Roh-Abwasser (Zulauf, ▲) und behandeltem Abwasser (Ablauf, ■) aus Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser (KH) im Einzugsgebiet (B).

Probenahmedaten, -zeiten und Abwassertemperaturen siehe Tabelle (A). Die Farbgebung der Symbole (▲, ■) entspricht den Probenahmetermi- nen: 1. schwarz, 2. weiß, 3. rot, 4. grün, 5. blau, 6. orange. Die (braunen und blauen) Rahmen dienen der Visualisierung der Spannweite der Befunde. Die Nummern 1 bis 6 kennzeichnen die kommunalen Kläranlagen: 1, KA Engelskirchen; 2, KA Lüdenscheid-Schlittenbachtal; 3, KA Münster-Geist; 4, KA Rahmedetal; 5, KA Rheinbach; 6, KA Stewede, Wehdem.

Tabelle 8: 3GC-resistente Zielorganismen nach Spezies. #: Krankenhausabwasser, entspricht Nr. in Abbildung 2; kommunale Kläranlagen (KA), a-c, mit Krankenhaus im Einzugsgebiet, d-f, ohne Krankenhaus im Einzugsgebiet. + Nachweis; - kein Nachweis. Rohabwasser: „Zulauf“ Kläranlage (Ablauf Sandfang); Behandeltes Abwasser: Ablauf Kläranlage.

| | # | 3GC-resistente | | | |
|---------------------------------|---|----------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | | <i>E. coli</i> | <i>Kleb- siella-</i> | <i>Entero- bacter-</i> | <i>Citro- bacter-</i> |
| | | | Spezies | | |
| Krankenhausabwasser | | | | | |
| Krankenhaus 1 | 1 | + | + | + | + |
| Rehaklinik | 2 | + | + | + | - |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 3 | + | + | + | + |
| Krankenhaus 2, Haus 2-6 | 4 | + | - | + | - |
| Sportklinik | 5 | + | + | + | + |
| Krankenhaus 3, Haus 1 | 6 | + | + | + | + |
| Krankenhaus 3, Haus 2 | 7 | + | + | + | - |
| Krankenhaus 4, Zulauf ABA | 8 | + | + | + | + |
| Rohabwasser | | | | | |
| KA Engelskirchen | a | + | + | + | + |
| KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | b | + | + | + | - |
| KA Münster-Geist | c | + | + | + | + |
| KA Rahmedetal | d | + | + | + | - |
| KA Rheinbach | e | + | + | + | - |
| KA Stewede | f | + | + | + | - |
| Behandeltes Abwasser | | | | | |
| KA Engelskirchen | a | + | + | + | - |
| KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | b | + | + | + | - |
| KA Münster-Geist | c | + | + | + | - |
| KA Rahmedetal | d | + | + | + | - |
| KA Rheinbach | e | + | + | + | - |
| KA Stewede | f | + | + | + | - |

Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien in Abwasser und Fließgewässern in NRW
Ergebnisse

| A Probenahme: Datum, Uhrzeit und Wassertemperatur – Fließgewässer oberhalb Einleitung KA mit (1-3) bzw. ohne (4-6) KH im Einzugsgebiet | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-------|--------|----------|------|--------|----------|-------|--------|----------|------|--------|----------|------------------|------------------|----------|------------------|------------------|
| 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | | 5 | | | 6 | | |
| Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] |
| 14.09.20 | 9:33 | 17,3 | 27.07.21 | | 13,7 | 08.12.20 | 8:10 | 5,2 | 29.09.20 | 9:50 | 11,2 | 08.09.20 | .. ^{a)} | .. ^{a)} | 01.09.20 | .. ^{a)} | .. ^{a)} |
| 19.04.21 | 8:55 | 8,5 | 08.11.21 | 9:22 | 10,0 | 02.02.21 | 8:00 | 4,7 | 02.02.21 | 9:20 | 5,8 | 12.04.21 | 8:09 | 5,8 | 12.04.21 | 11:25 | 8,9 |
| 18.10.21 | 9:42 | 9,6 | 22.02.22 | 9:30 | 7,8 | 22.06.21 | 10:35 | 17,6 | 22.06.21 | 9:35 | 13,2 | 17.01.22 | 8:33 | 4,6 | 21.06.22 | .. ^{a)} | .. ^{a)} |
| 15.03.22 | 9:38 | 6,9 | | | | | | | | | | | | | 02.08.22 | .. ^{a)} | .. ^{a)} |
| 17.05.22 | 12:20 | 18,0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 05.09.22 | 7:12 | 18,2 | | | | | | | | | | | | | | | |

| Probenahme: Datum, Uhrzeit und Wassertemperatur – Fließgewässer unterhalb Einleitung KA mit (1-3) bzw. ohne (4-6) KH im Einzugsgebiet | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|------|--------|----------|-------|--------|
| 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | | 5 | | | 6 | | |
| Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] |
| 14.09.20 | 10:07 | 17,7 | 27.07.21 | | 17,1 | 08.12.20 | 8:30 | 9,0 | 29.09.20 | 9:00 | 12,7 | 08.09.20 | 8:25 | 18,4 | 01.09.20 | 10:55 | 20,8 |
| 19.04.21 | 10:45 | 8,8 | 08.11.21 | 12:10 | 11,0 | 02.02.21 | 8:45 | 8,0 | 02.02.21 | 9:00 | 6,7 | 12.04.21 | 9:09 | 8,8 | 12.04.21 | 11:55 | 9,3 |
| 18.10.21 | 8:15 | 10,5 | 22.02.22 | 11:40 | 7,8 | 22.06.21 | 11:35 | 20,2 | 22.06.21 | 12:10 | 15,4 | 17.01.22 | 7:59 | 8,4 | 21.06.22 | 9:35 | 19,0 |
| 15.03.22 | 8:45 | 7,1 | | | | | | | | | | | | | 02.08.22 | 11:40 | 22,2 |
| 17.05.22 | 11:26 | 16,0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 05.09.22 | 10:31 | 18,9 | | | | | | | | | | | | | | | |

^{a)} = keine Probe (Gewässer trockengefallen)

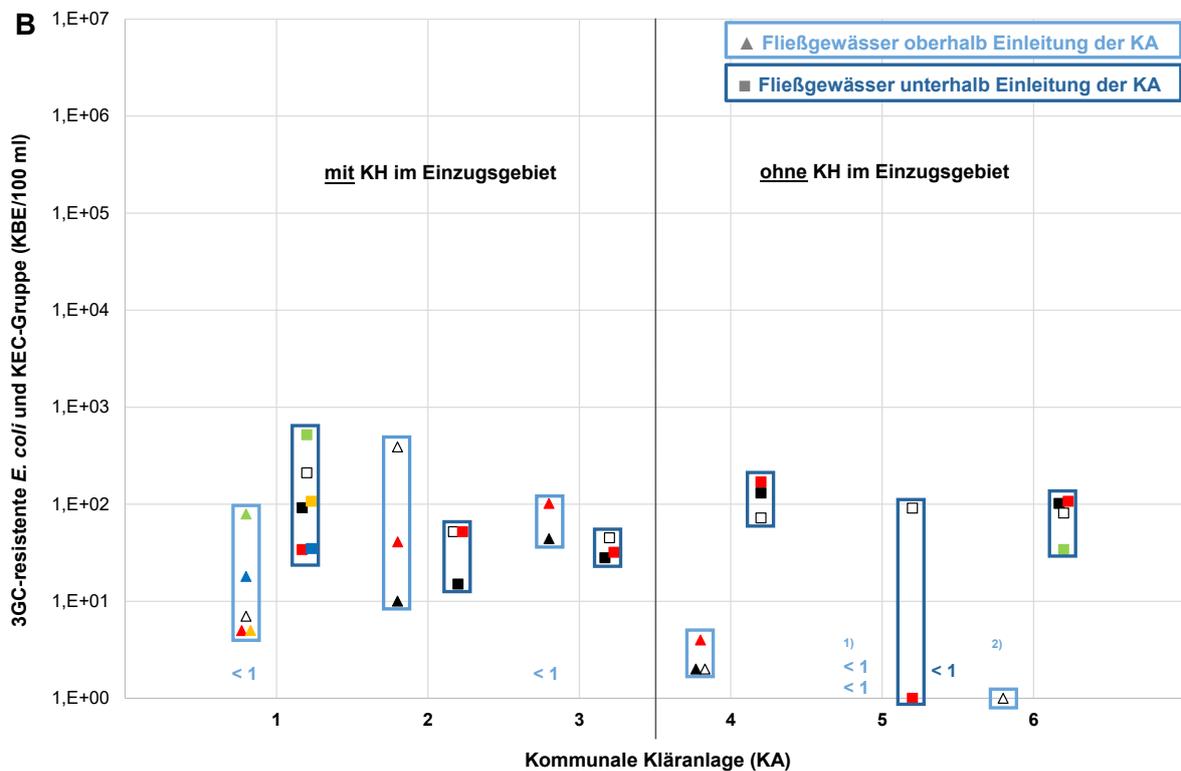


Abbildung 4: Konzentrationen 3GC-resistenter *E. coli* und KEC-Gruppe in Oberflächenwasserproben aus dem Fließgewässer oberhalb (▲) und unterhalb (■) der Einleitung der Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet (B).

Für Befunde unterhalb der Nachweisgrenze ist diese jeweils angegeben. Probenahmedaten, -zeiten und Abwassertemperaturen siehe Tabelle (A). Die Farbgebung der Symbole (▲, ■) entspricht den Probenahmeterminen: 1. schwarz, 2. weiß, 3. rot, 4. grün, 5. blau, 6. orange. Die (braunen und blauen) Rahmen dienen der Visualisierung der Spannweite der Befunde. Die Nummern 1 bis 6 kennzeichnen die kommunalen Kläranlagen: 1, KA Engelskirchen; 2, KA Lüdenscheid-Schlittenbachtal; 3, KA Münster-Geist; 4, KA Rahmedetal; 5, KA Rheinbach; 6, KA Stewede, Wehdem.

Probenahme an ¹⁾ einem Termin bzw. ²⁾ drei Terminen nicht möglich (Gewässer trockengefallen).

Deutliche Unterschiede – zwischen den betrachteten Krankenhäusern und Kliniken wie auch den Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet – werden erkennbar im Fall der Befunde der Carbapenemase-bildenden *E. coli* und KEC-Gruppe (Abbildung 2 und Abbildung 5). In keiner der Abwasserproben der Rehaklinik, der Sportklinik und eines Krankenhausabwasserstrangs, über welchen vorwiegend Abwasser aus den Bereichen Dermatologie, (Onko)-Ambulanz und Psychiatrie/ Psychosomatik abgeleitet wird (Nr. 4 in Abbildung 2), sowie aus den Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet (Abbildung 5) wurden Carbapenemase-bildende *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe nachgewiesen.

In etlichen der anderen Krankenhausabwasserproben sind die Konzentrationen der Carbapenemase-bildenden *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe (Minimum: $9,0 \times 10^2$ KBE/100 ml; Maximum: $3,8 \times 10^6$ KBE/100 ml) hingegen vergleichbar hoch wie die der 3GC-resistenten (Minimum: $1,0 \times 10^2$ KBE/100 ml; Maximum: $4,9 \times 10^6$ KBE/100 ml) (Abbildung 2).

Auch in den Rohabwässern der betrachteten drei Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet wurden Carbapenemase-bildende *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe nachgewiesen. Die Konzentrationen (Minimum: $2,8 \times 10^2$ KBE/100 ml; Maximum: $1,1 \times 10^5$ KBE/100 ml) lagen – verglichen mit denen der 3GC-resistenten *E. coli* und KEC-Gruppe (Minimum: $4,9 \times 10^3$ KBE/100 ml; Maximum: $3,3 \times 10^5$ KBE/100 ml) – im Mittel etwa eine Log-Stufe niedriger.

Bei zwei der drei Kläranlagen mit angeschlossenen Krankenhäusern (KA Engelskirchen und KA Münster-Geist) wurden auch im Ablauf der Kläranlage ins Gewässer Carbapenemase-bildende *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe – in Konzentrationen von 1 bis 100 KBE/100 ml – nachgewiesen (Abbildung 5); im Mittel lagen die Konzentrationen in den Ablaufproben um etwa 3 Log-Stufen niedriger als im Rohabwasser (Log-Reduktion, Minimum: 0,9; Maximum: 3,6).

Im Gewässer wurden im Fall der Agger unterhalb der Einleitung der Kläranlage Engelskirchen und im Schlittenbach unterhalb der Einleitung der Kläranlage Lüdenscheid-Schlittenbachtal Carbapenemase-bildende *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe belegt. Im ersten Fall galt dies für alle sechs Proben aus der Agger mit Konzentrationen in Höhe von 1 bis 80 KBE/100 ml; im letzten Fall wurde in einer von drei Proben 1 KBE/100 ml nachgewiesen. In den anderen Oberflächenwasserproben wurden keine Carbapenemase-bildende *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe nachgewiesen.

Aufgeführt sind die Daten der Nachweise Carbapenemase-bildender *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe (bzw. kein Nachweis) auch in Tabelle 11 bis Tabelle 17 im Kapitel 4.3 (3MRGN- bzw. 4MRGN-Klassifizierung nach KRINKO), denn der Nachweis einer Carbapenemase hat die Einstufung als 4MRGN zur Folge.

Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien in Abwasser und Fließgewässern in NRW
Ergebnisse

| A Probenahme: Datum, Uhrzeit und Abwassertemperatur – Zulauf KA (= Ablauf Sandfang) mit (1-3) bzw. ohne (4-6) Krankenhäuser im Einzugsgebiet | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|
| 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | | 5 | | | 6 | | |
| Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] |
| 14.09.20 | 10:53 | 18,3 | 27.07.21 | 10:31 | 17,6 | 08.12.20 | 9:40 | 12,2 | 29.09.20 | 11:14 | 15,1 | 08.09.20 | 9:41 | 19,4 | 01.09.20 | 13:35 | 19,8 |
| 19.04.21 | 12:17 | 12,7 | 08.11.21 | 11:12 | 13,9 | 02.02.21 | 9:59 | 11,8 | 02.02.21 | 10:56 | 9,6 | 12.04.21 | 11:21 | 9,7 | 12.04.21 | 10:33 | 9,5 |
| 18.10.21 | 8:53 | 15,0 | 22.02.22 | 10:10 | 9,1 | 22.06.21 | 12:55 | 19,1 | 22.06.21 | 11:36 | 15,6 | 17.01.22 | 10:05 | 10,8 | 21.06.22 | 12:00 | 16,2 |
| 15.03.22 | 9:45 | 10,3 | | | | | | | | | | | | | 02.08.22 | 10:05 | 18,5 |
| 17.05.22 | 10:36 | 14,4 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 05.09.22 | 11:09 | 19,4 | | | | | | | | | | | | | | | |

| A Probenahme: Datum, Uhrzeit und Abwassertemperatur – Ablauf KA (amtliche Messstelle) mit (1-3) bzw. ohne (4-6) Krankenhäuser im Einzugsgebiet | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|
| 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | | 5 | | | 6 | | |
| Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] |
| 14.09.20 | 10:35 | 18,6 | 27.07.21 | 11:29 | 19,3 | 08.12.20 | 8:50 | 9,6 | 29.09.20 | 10:24 | 14,2 | 08.09.20 | 10:46 | 19,5 | 01.09.20 | 12:55 | 20,6 |
| 19.04.21 | 11:56 | 13,8 | 08.11.21 | 10:31 | 12,0 | 02.02.21 | 9:27 | 8,6 | 02.02.21 | 9:57 | 9,2 | 12.04.21 | 10:27 | 9,9 | 12.04.21 | 8:00 | 4,3 |
| 18.10.21 | 8:53 | 16,1 | 22.02.22 | 11:03 | 7,6 | 22.06.21 | 11:59 | 20,4 | 22.06.21 | 10:54 | 16,5 | 17.01.22 | 9:16 | 9,2 | 21.06.22 | 10:40 | 20,1 |
| 15.03.22 | 9:18 | 10,3 | | | | | | | | | | | | | 02.08.22 | 9:31 | 20,8 |
| 17.05.22 | 10:04 | 15,5 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 05.09.22 | 11:39 | 19,9 | | | | | | | | | | | | | | | |

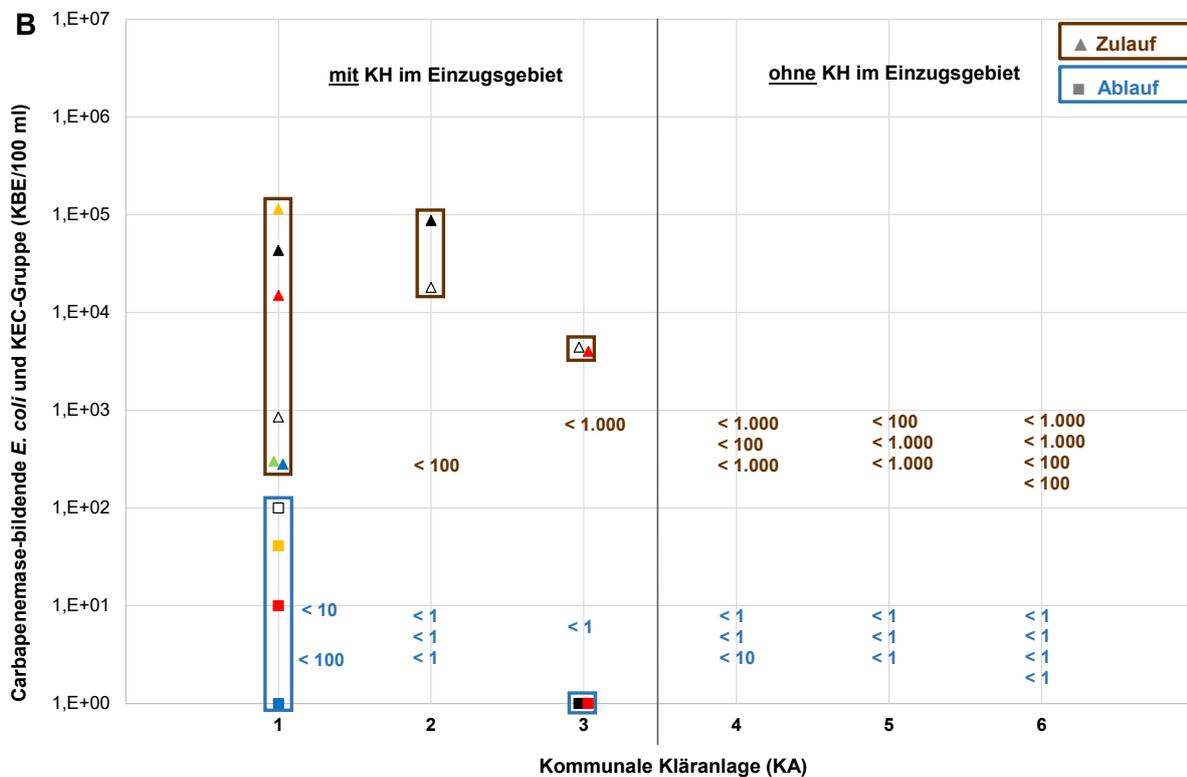


Abbildung 5: Konzentrationen Carbapenemase(CP)-bildender *E. coli* und KEC-Gruppe in Roh-Abwasser (▲) und behandeltem Abwasser (■) aus Kläranlagen mit (siehe Abbildung 2) bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet (B).

Für Befunde unterhalb der Nachweisgrenze ist diese jeweils angegeben. Probenahmedaten, -zeiten und Abwassertemperaturen siehe Tabelle (A). Die Farbgebung der Symbole (▲, ■) entspricht den Probenahmeterminen: 1. schwarz, 2. weiß, 3. rot, 4. grün, 5. blau, 6. orange. Die (braunen und blauen) Rahmen dienen der Visualisierung der Spannweite der Befunde. Die Nummern 1 bis 6 kennzeichnen die kommunalen Kläranlagen: 1, KA Engelskirchen; 2, KA Lüdenscheid-Schlittenbachtal; 3, KA Münster-Geist; 4, KA Rahmedetal; 5, KA Rheinbach; 6, KA Stemwede, Wehdem.

4.1.2 Kommunale Kläranlagen und Krankenhausabwasserbehandlungsanlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung

Wie bei den anderen Kläranlagen im Messprogramm wurden auch bei den Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung in den Rohabwasserproben (Zulauf) 3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe in Konzentrationen von im Mittel um 10^5 KBE/100 ml nachgewiesen (Abbildung 6); dabei war die Spannweite der Befunde (Minimum: $3,1 \times 10^4$ KBE/100 ml; Maximum: $3,0 \times 10^6$ KBE/100 ml), insbesondere der Proben der Kläranlage Bad Sassendorf, allerdings etwas größer als bei den Kläranlagen ohne weitergehende Abwasserbehandlung (Minimum: $4,9 \times 10^3$ KBE/100 ml; Maximum: $3,3 \times 10^5$ KBE/100 ml) (Abbildung 3).

Ebenso sind bei den Kläranlagen, bei denen sich die weitergehende Abwasserbehandlung an eine konventionelle mechanisch-biologische Behandlung anschließt (Nr. 1, 2, 4 und 5 in Abbildung 6), die Konzentrationen an 3GC-resistenten *E. coli* und KEC-Gruppe am Zulauf der weitergehenden Abwasserbehandlung vergleichbar mit denen im behandelten Abwasser am Ablauf der anderen betrachteten Kläranlagen (Abbildung 3), nämlich um etwa 3 Log-Stufen niedriger als im Rohabwasser. Die anschließende Ozonung (und das Durchfließen eines Schönungsteiches; Daten im Diagramm nicht enthalten), Kläranlage Bad Sassendorf (Nr. 1), sowie die Ozonung mit anschließender Behandlung im Bioreaktor (Schwebebettreaktor), Kläranlage Rheda-Wiedenbrück, Rheda (Nr. 2), haben keinen ausgeprägten Effekt hinsichtlich einer Verringerung von 3GC-resistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe. Die Konzentrationen in den Ablaufproben dieser Behandlungsstufen sind vergleichbar denen nach konventioneller mechanisch-biologischer Behandlung. Hingegen sind die Konzentrationen nach UV-Bestrahlung, Kläranlage Monschau (Nr. 4), um etwa 2 Log-Stufen niedriger oder es werden keine 3GC-resistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe nachgewiesen. Vergleichbares gilt für die weitergehende Abwasserbehandlung mittels RBF+, Kläranlage Rheinbach (Nr. 5). Einen vollständigen Rückhalt scheint die Membranfiltration bieten zu können. In den Ablaufproben des MBR der Kläranlage Konzen (Nr. 6) wurden keine 3GC-resistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe nachgewiesen. Anlagenspezifische Unterschiede sind hierbei jedoch zu beachten. In den Ablaufproben des MBR der Krankenhausabwasserbehandlungsanlage (Nr. 3; Kreiskrankenhaus Waldbröl) sind die Konzentrationen an 3GC-resistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe zwar deutlich niedriger als am Zulauf der Anlage (um etwa 5 Log-Stufen), aber in zwei von drei Fällen noch nachweisbar. Ob die anschließende Ozonung einen Effekt auf die betrachteten Bakterien hat, lässt sich anhand der Daten nicht beurteilen.

Die Befunde der 3GC-resistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe in Proben der Abwasserbehandlungsanlage am Marienhospital Gelsenkirchen sind graphisch nicht mit aufgetragen, weil an dieser Anlage betriebsbedingt nur zwei von drei geplanten Probenahmen durchgeführt werden konnten; des Weiteren handelte es sich um eine andere Probenahmetechnik (24h-Mischproben mittels automatischer Probenahmegeräte vs. qualifizierte Stichproben bei den anderen Abwasserproben), zusätzlich wurde bei der zweiten Probenahme die Anlage nach ca. zehn Stunden abgeschaltet (Sicherheitsabschaltung des Zulaufpumpwerks bei Erreichen des maximalen Füllstands in der Belebung). In der Zulaufprobe der Abwasserbehandlungsanlage (Zulauf MBR) vom ersten Probenahmetermin (01.03.2021) wurden 3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe in einer Konzentration in Höhe von $2,1 \times 10^6$ KBE/100 ml nachgewiesen; in der vom zweiten Probenahmetermin (05.04.2022) in einer Konzentration in Höhe von $2,8 \times 10^4$ KBE/100 ml.

Nach Membranfiltration (Ablauf MBR) wurden keine (01.03.2021) bzw. 1 KBE/100 ml (05.04.2022) nachgewiesen (*Klebsiella pneumoniae*, 4MRGN; VIM); nach weitergehender Behandlung (Ozonung bzw. Pulveraktivkohle/Sandfiltration) kein Nachweis von 3GC-resistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe in den Proben beider Termine.

| A Probenahme: Datum, Uhrzeit und Abwassertemperatur – Zulauf KA (= Ablauf Sandfang; 1-2, 4-6) bzw. Zulauf ABA KH (3) mit weitergeh. Abwasserbehandl. | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|
| 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | | 5 | | | 6 | | |
| Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] |
| 16.02.21 | 14:40 | 8,2 | 16.03.21 | 13:31 | 11,1 | 24.08.20 | 10:37 | 20,9 | 12.10.20 | 11:57 | 13,4 | 08.09.20 | 9:41 | 19,4 | 11.01.21 | 11:50 | 8,5 |
| 06.09.21 | 14:10 | 18,8 | 15.06.21 | 11:55 | 19,2 | 29.03.21 | 9:21 | 15,2 | 22.02.21 | 12:33 | 7,4 | 12.04.21 | 11:21 | 9,7 | 23.03.21 | 10:54 | 8,3 |
| 21.06.22 | 14:10 | 18,5 | 21.09.21 | 9:37 | 19,0 | 16.08.21 | 9:35 | 19,8 | 18.05.21 | 13:03 | 10,3 | 17.01.22 | 10:05 | 10,8 | 07.06.22 | 9:35 | 13,6 |

| B Probenahme: Datum, Uhrzeit und Abwassertemperatur – Ablauf KA (1-2, 4-6) bzw. Ablauf ABA KH (3) mit weitergehender Abwasserbehandlung | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|-------|--------|----------|------|--------|----------|------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|----------|-------|--------|
| 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | | 5 | | | 6 | | |
| Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] | Datum | Zeit | T [°C] |
| 16.02.21 | 12:45 | 8,0 | 16.03.21 | 9:45 | 12,1 | 24.08.20 | 9:21 | 21,0 | 12.10.20 | 9:23 | 13,4 | 08.09.20 | 11:39 | 19,5 | 11.01.21 | 10:32 | 8,7 |
| 06.09.21 | 12:20 | 19,2 | 15.06.21 | 9:21 | 22,0 | 29.03.21 | 8:11 | 13,6 | 22.02.21 | 11:00 | 6,8 | 12.04.21 | 12:10 | 10,4 | 23.03.21 | 9:46 | 8,9 |
| 21.06.22 | 12:10 | 17,4 | 21.09.21 | 8:24 | 21,9 | 16.08.21 | 8:37 | 19,9 | 18.05.21 | 11:27 | 10,7 | 17.01.22 | 11:15 | 9,1 | 07.06.22 | 10:03 | 15,3 |

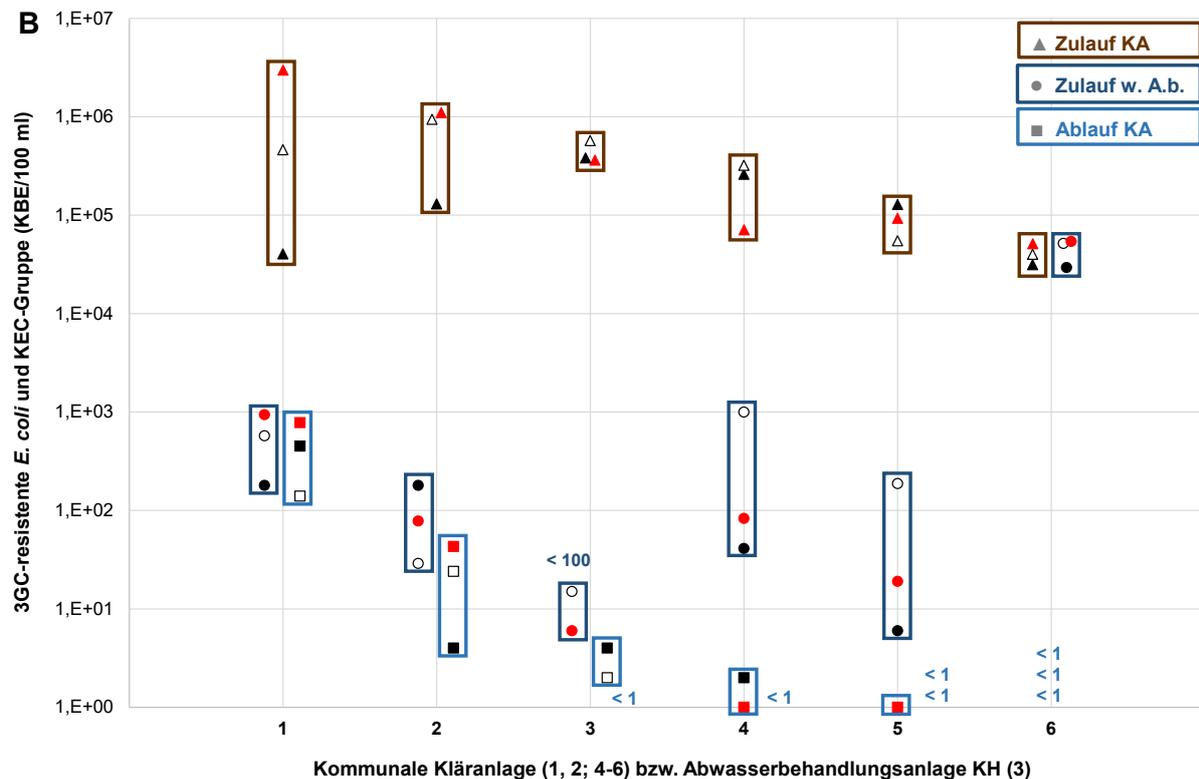


Abbildung 6: Konzentrationen 3GC-resistenter *E. coli* und KEC-Gruppe in Roh-Abwasser (▲), behandeltem Abwasser vor (●) bzw. nach (■) weitergehender Abwasserbehandlung (w. A.b.) (= Ablauf KA) (B).

Für Befunde unterhalb der Nachweisgrenze ist diese jeweils angegeben. Probenahmedaten, -zeiten und Abwassertemperaturen siehe Tabelle (A). Die Farbgebung der Symbole (▲, ●, ■) entspricht den Probenahmetermine: 1. schwarz, 2. weiß, 3. rot. Die (braunen und blauen) Rahmen dienen der Visualisierung der Spannweite der Befunde. Die Nummern 1 bis 6 kennzeichnen die kommunalen Kläranlagen bzw. die Abwasserbehandlungsanlage (ABA) eines Krankenhauses (KH): 1, KA Bad Sassendorf (Ozonung); 2, KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda (Ozonung plus Bioreaktor); 3, ABA Krankenhaus 4 (Kreiskrankenhaus Waldbröl) (Ozonung nach MBR); 4, KA Monchau (UV-Bestrahlung); 5, KA Rheinbach (RBF+); 6, KA Konzen (MBR).

4.1.3 Abwasser aus Betrieben der Fleischwirtschaft

| A Probenahme: Datum, Uhrzeit und Abwassertemperatur – Zulauf ABA Betriebe der Fleischwirtschaft [Direkteinleiter, Geflügelschlachtung (1) bzw. -verarbeitung (2); Indirekteinleiter, Schweineschlachtung (3-4)] | | | | | | | | | | | |
|---|-------|---------------------|----------|-------|---------------------|----------|-------|---------------------|----------|-------|---------------------|
| 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | |
| Datum | Zeit | T _{Wasser} | Datum | Zeit | T _{Wasser} | Datum | Zeit | T _{Wasser} | Datum | Zeit | T _{Wasser} |
| 26.10.20 | 10:20 | 24,3 | 30.11.20 | 11:40 | 7,6 | 30.11.20 | 10:07 | 20,1 | 17.11.20 | 13:14 | 22,4 |
| 01.03.21 | 9:55 | 20,5 | 19.07.21 | 11:25 | 19,5 | 12.07.21 | 11:40 | 25,3 | 16.03.21 | 14:58 | 21,8 |
| 29.06.21 | 12:35 | 25,9 | 05.04.22 | 12:09 | 10,8 | 12.07.22 | 11:58 | 23,4 | 15.06.21 | 13:00 | 24,2 |
| | | | | | | | | | 21.09.21 | 11:33 | 23,5 |

| Probenahme: Datum, Uhrzeit und Abwassertemperatur – Ablauf ABA Betriebe der Fleischwirtschaft | | | | | | | | | | | |
|---|-------|---------------------|----------|-------|---------------------|----------|-------|---------------------|----------|-------|---------------------|
| 1 | | | 2 | | | 3 | | | 4 | | |
| Datum | Zeit | T _{Wasser} | Datum | Zeit | T _{Wasser} | Datum | Zeit | T _{Wasser} | Datum | Zeit | T _{Wasser} |
| 26.10.20 | 9:30 | 22,3 | 30.11.20 | 11:11 | 9,5 | 30.11.20 | 9:30 | 16,5 | 17.11.20 | 11:46 | 24,5 |
| 01.03.21 | 8:31 | 18,3 | 19.07.21 | 10:30 | 22,9 | 12.07.21 | 11:03 | 25,1 | 16.03.21 | 12:30 | 21,8 |
| 29.06.21 | 11:42 | 27,5 | 05.04.22 | 11:23 | 11,1 | 12.07.22 | 11:25 | 22,5 | 15.06.21 | 11:00 | 28,5 |
| | | | | | | | | | 21.09.21 | 10:08 | 26,5 |

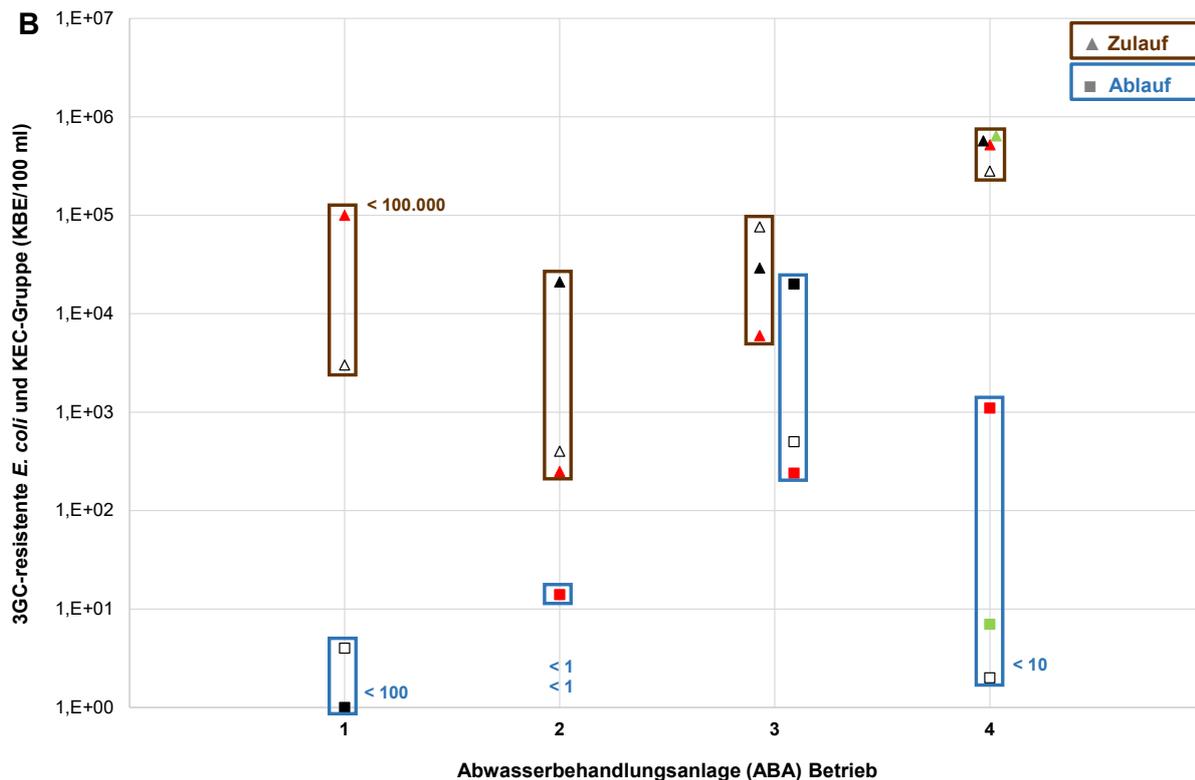


Abbildung 7: Konzentrationen 3GC-resistenter *E. coli* und KEC-Gruppe in Roh-Abwasser (▲) bzw. behandeltem Abwasser aus Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) von Betrieben der Fleischwirtschaft (B). Für Befunde unterhalb der Nachweisgrenze ist diese jeweils angegeben. Probenahmedaten, -zeiten und Abwassertemperaturen siehe Tabelle (A). Die Farbgebung der Symbole (▲, ■) entspricht den Probenahmeterminen: 1. schwarz, 2. weiß, 3. rot, 4. grün. Die (braunen und blauen) Rahmen dienen der Visualisierung der Spannweite der Befunde. Die Nummern 1 bis 4 kennzeichnen die Abwasserbehandlungsanlagen der Betriebe A-D: 1, Direkteinleiter, Geflügelschlachtung; 2, Direkteinleiter, Geflügelverarbeitung; 3 und 4, Indirekteinleiter, Schweineschlachtung.

3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe wurden ebenfalls in Abwässern aus Betrieben der Fleischwirtschaft nachgewiesen. Die Konzentrationen in Rohabwasserproben am Zulauf der betriebseigenen Abwasserbehandlungsanlage lagen im Mittel in der Größenordnung von 10^3 (Direkteinleiter, Geflügelverarbeitung), 10^4 (Direkteinleiter, Geflügelschlachtung; Indirekteinleiter, Schweineschlachtung, Betrieb C) und 10^5 KBE/100 ml (Indirekteinleiter, Schweineschlachtung, Betrieb D) (Abbildung 7).

In den Ablaufproben der Abwasserbehandlungsanlagen der direkteinleitenden Betriebe der Fleischwirtschaft wurden 3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe im Konzentrationsbereich von 10^1 KBE/100 ml oder niedriger nachgewiesen; eine (Betrieb A) bzw. zwei (Betrieb B) von drei Proben ergaben keinen Nachweis. Es ergaben sich Log-Reduktionen im Vergleich zum Rohabwasser in Höhe von 1,3 bzw. 2,9 (im Fall des Nachweises von 3GC-resistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe sowohl in der Probe vom Zulauf als auch vom Ablauf der Abwasserbehandlungsanlage).

Die Untersuchung der Ablaufproben der Abwasserbehandlungsanlagen der indirekteinleitenden Betriebe der Fleischwirtschaft ergaben hingegen Konzentrationen 3GC-resistenter *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe im Mittel in der Größenordnung von 10^3 (Betrieb C) bzw. 10^2 KBE/100 ml (Betrieb D). Die Log-Reduktion im Vergleich zum Rohabwasser lag im Mittel bei 2,8 (Minimum: 0,2; Maximum: 5,1).

4.2 *Pseudomonas aeruginosa* mit Resistenzen gegenüber den Antibiotika Ceftazidim, Cefepim, Imipenem, Meropenem

Pseudomonas aeruginosa mit Resistenzen gegenüber Ceftazidim (Cephalosporin der 3. Generation), Cefepim (Cephalosporin der 4. Generation) sowie den Carbapenemen Imipenem und Meropenem wurden hauptsächlich in Krankenhausabwässern und Rohabwässern mit Krankenhausabwasseranteil nachgewiesen; vereinzelt auch in behandelten Abwässern mit Krankenhausabwasseranteil oder in Oberflächenwasserproben unterhalb der Einleitung von Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet. Nur in Ausnahmefällen wurden Nachweise für Rohabwasser einer Kläranlage ohne Krankenhaus im Einzugsgebiet sowie aus Abwasserbehandlungsanlagen von indirekteinleitenden Betrieben der Fleischwirtschaft (Schweineschlachtung) bzw. Oberflächenwasser oberhalb und unterhalb eines direkteinleitenden Betriebs (Geflügelschlachtung) erbracht. Es werden nur die Ergebnisse zu Proben aufgelistet, in welchen *P. aeruginosa* mit genannten Antibiotikaresistenzen nachgewiesen wurden (Tabelle 9 und Tabelle 10); Befunde kleiner Nachweisgrenze werden nicht aufgeführt.

Sowohl für Proben unbehandelten Krankenhausabwassers als auch kommunalen Rohabwassers, mit einer Ausnahme jeweils mit Krankenhausabwasseranteil, lag der Median der *P. aeruginosa*-Konzentrationen mit genannten Antibiotikaresistenzen in der Größenordnung von 10^4 KBE/100 ml. Im Fall des unbehandelten Krankenhausabwassers war die Spannweite allerdings größer (Minimum: $1,6 \times 10^2$ KBE/100 ml; Maximum: $2,8 \cdot 10^6$ KBE/100 ml) als bei den Rohabwasserproben der Kläranlagen (Minimum: $3,0 \times 10^3$ KBE/100 ml; Maximum: $9,0 \times 10^4$ KBE/100 ml).

Im behandelten Abwasser – Krankenhausabwasser nach Behandlung in einem Membranbioreaktor sowie kommunales Abwasser mit Krankenhausabwasseranteil nach konventioneller mechanisch-biologischer Behandlung – und im Oberflächenwasser unterhalb der Einleitung der Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet wurden im Mittel *P. aeruginosa*-Konzentrationen mit genannten Antibiotikaresistenzen im einstelligen Bereich nachgewiesen ($4,1 \times 10^0$ KBE/100 ml).

In Rohabwasserproben von indirekteinleitenden Betrieben der Fleischwirtschaft (Schweineschlachtung) wurden *P. aeruginosa*-Konzentrationen mit genannten Antibiotikaresistenzen in Größenordnung von 10^3 und 10^4 KBE/100 ml festgestellt. Proben aus dem Gewässer (Graben) oberhalb und unterhalb eines direkteinleitenden Betriebs der Geflügelschlachtung, von einem Probenahmetermin, enthielten *P. aeruginosa*-Konzentrationen mit genannten Antibiotikaresistenzen in Höhe von 1×10^2 KBE/100 ml (Tabelle 10).

Tabelle 9: Konzentrationen resistenter *Pseudomonas aeruginosa* (Resistenzen gegenüber den Antibiotika Ceftazidim, Cefepim, Imipenem, Meropenem) in Abwasser (Abw.) aus Krankenhäusern (KH) bzw. einer Rehaklinik, in Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser aus Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet sowie aus Oberflächenwasser aus dem Fließgewässer unterhalb der jeweiligen Einleitung. Konzentrationsangaben in Exponentialschreibweise ohne hochgestellte Ziffern (Bsp.: 5,8E+04 entspricht $5,8 \cdot 10^4 = 58.000$; 9,0E+00 entspricht $9 \cdot 10^0 = 9$).

| Probenahme-Ort | Probe- nahme- Datum | Matrix | <i>P. aeruginosa</i> mit Anti- biotika- resistenzen [KBE/100 ml] |
|---|---------------------------|-------------------|--|
| Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet | | | |
| KA Engelskirchen | | | |
| Krankenhaus 1, Kanalschacht | 19.04.2021 | KH-Abwasser | 5,8E+04 |
| Krankenhaus 1, Kanalschacht | 17.05.2022 | KH-Abwasser | 1,6E+02 |
| Krankenhaus 1, Kanalschacht | 05.09.2022 | KH-Abwasser | 8,5E+04 |
| Rehaklinik, Kanalschacht | 15.03.2022 | Abw. Rehaklinik | 1,0E+03 |
| KA Engelskirchen "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 17.05.2022 | Rohabwasser | 1,3E+04 |
| KA Engelskirchen "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 05.09.2022 | Rohabwasser | 9,0E+04 |
| KA Engelskirchen Ablauf | 19.04.2021 | Behandeltes Abw. | 1,8E+01 |
| KA Engelskirchen Ablauf | 18.10.2021 | Behandeltes Abw. | 9,0E+00 |
| Fließgewässer (Agger) unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 14.09.2020 | Oberflächenwasser | 1,0E+00 |
| KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | | | |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude, Kanalschacht | 27.07.2021 | KH-Abwasser | 2,0E+04 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude, Kanalschacht | 22.02.2022 | KH-Abwasser | 1,0E+03 |
| Krankenhaus 2, Haus 2-6, Kanalschacht | 27.07.2021 | KH-Abwasser | 9,1E+03 |
| KA Lüdenscheid Schlittenbachtal "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 08.11.2021 | Rohabwasser | 8,6E+03 |
| Fließgewässer (Schlittenbach) unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 22.02.2022 | Oberflächenwasser | 1,0E+00 |
| KA Münster-Geist | | | |
| Krankenhaus 3, Haus 1, Kanalschacht | 03.02.2021 | KH-Abwasser | 7,9E+04 |
| Krankenhaus 3, Haus 1, Kanalschacht | 22.06.2021 | KH-Abwasser | 1,0E+03 |
| Krankenhaus 3, Haus 2, Kanalschacht | 08.12.2020 | KH-Abwasser | 8,5E+04 |
| Krankenhaus 3, Haus 2, Kanalschacht | 03.02.2021 | KH-Abwasser | 4,6E+03 |
| KA Münster-Geist "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 08.12.2020 | Rohabwasser | 3,6E+04 |
| KA Münster-Geist "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 22.06.2021 | Rohabwasser | 9,1E+03 |
| Fließgewässer (Galgenbach) unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 08.12.2020 | Oberflächenwasser | 1,0E+00 |
| KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | | | |
| KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 18.11.2020 | Rohabwasser | 3,0E+03 |
| Fließgewässer (Ems) unterhalb Einleitung Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 18.11.2020 | Oberflächenwasser | 1,0E+00 |

Tabelle 10: Konzentrationen resistenter *Pseudomonas aeruginosa* (Resistenzen gegenüber den Antibiotika Ceftazidim, Cefepim, Imipenem, Meropenem) in Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser (Abw.) aus Krankenhäusern (KH) mit Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) [mit jeweils einem Membranbioreaktor (MBR) sowie anschließender Ozonung (Krankenhaus 4, Kreiskrankenhaus Waldbröl; Krankenhaus 5, Marienhospital Gelsenkirchen) bzw. Pulveraktivkohle(PAK)-Filtration (KH 5)] bzw. in Rohabwasser einer Kläranlage ohne KH im Einzugsgebiet sowie aus Betrieben der Fleischwirtschaft mit einer ABA und in Oberflächenwasser aus einem Fließgewässer (Graben) oberhalb und unterhalb der Einleitung von Betrieb A. Konzentrationsangaben in Exponentialschreibweise ohne hochgestellte Ziffern (Bsp.: 9,0E+02 entspricht $9,0 \cdot 10^2 = 900$; 1,0E+00 entspricht $1 \cdot 10^0 = 1$).

| Probenahme-Ort | Probenahme-Datum | Matrix | <i>P. aeruginosa</i> mit Antibiotikaresistenzen [KBE/100 ml] |
|--|------------------|-------------------|--|
| Krankenhäuser mit Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) | | | |
| Krankenhaus 4 (Zulauf ABA) | 24.08.2020 | KH-Abwasser | 9,0E+02 |
| Krankenhaus 4 (Zulauf ABA) | 16.08.2021 | KH-Abwasser | 2,8E+06 |
| Krankenhaus 4 (Ablauf ABA; Indirekteinleitung) | 29.03.2021 | Behand. KH-Abw. | 1,0E+00 |
| Krankenhaus 5 ("Zulauf" ABA = Zulauf MBR) | 01.03.2021 | KH-Abwasser | 7,8E+04 |
| Krankenhaus 5 ("Zulauf" ABA = Zulauf MBR) | 05.04.2022 | KH-Abwasser | 3,4E+04 |
| Krankenhaus 5 (Ablauf MBR = Zulauf Ozonung bzw. PAK) | 05.04.2022 | Behand. KH-Abw. | 1,0E+00 |
| Kläranlagen ohne Krankenhäusern im Einzugsgebiet | | | |
| KA Rheinbach "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 08.09.2020 | Rohabwasser | 2,0E+04 |
| Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) Betriebe der Fleischwirtschaft | | | |
| Fließgewässer (namenloses Gewässer) oberhalb Einleitung Betrieb A | 29.06.2021 | Oberflächenwasser | 1,0E+02 |
| Fließgewässer (namenloses Gewässer) unterhalb Einleitung Betrieb A | 29.06.2021 | Oberflächenwasser | 1,0E+02 |
| Betrieb C "Zulauf" (nach Separator) | 30.11.2020 | Rohabwasser | 7,0E+03 |
| Betrieb C "Zulauf" (nach Separator) | 12.07.2021 | Rohabwasser | 3,4E+04 |
| Betrieb D "Zulauf" (nach Siebung) | 18.11.2020 | Rohabwasser | 2,2E+03 |

4.3 3MRGN- bzw. 4MRGN-Klassifizierung nach KRINKO

Ergänzend zum quantitativen Nachweis von 3GC-resistenten bzw. ESBL- und Carbapenemase-bildenden Zielorganismen der Ordnung *Enterobacterales* (Enterobakterien) wurden die einzelnen gewonnenen Bakterienisolate auch hinsichtlich der 3MRGN- bzw. 4MRGN-Klassifizierung eingruppiert (KRINKO, 2012, 2019) (Tabelle 11 bis Tabelle 17). 4MRGN-Isolate wurden auf das Vorhandensein ausgewählter Carbapenemasen (OXA-48 und OXA-48-like, NDM, VIM, IMP, KPC) geprüft. Die in diesem Kapitel dargestellten Befunde basieren auf der Analytik mittels CHROMagar ESBL (Fa. Mast) als primärem Selektivnährmedium. Im Rahmen dieser Analytik wurden ausschließlich in Krankenhausabwasserproben (nicht in Proben der Reha- und Sportklinik) und solchen aus Kläranlagen mit angeschlossenen Krankenhäusern sowie in Oberflächenwasserproben, aus dem Bereich unterhalb der Einleitung dieser Kläranlagen, 4MRGN-Isolate nachgewiesen.

Die Ergebnisse der MRGN-Klassifizierung für die Isolate der *Enterobacterales*-Spezies (*E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe) aus Krankenhausabwasserproben und Proben von Roh- sowie behandeltem Abwasser aus Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet sind in Tabelle 11 und Tabelle 12 aufgeführt. Auffällig ist, dass die Carbapenemase-Befunde auf eine geographisch unterschiedliche Verteilung dieser hindeuten. KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase) wurde vorwiegend in Isolaten aus Proben der Probenserien Engelskirchen und Waldbröl (s. Tabelle 4, Tabelle 5) nachgewiesen; OXA-48 und OXA-48-like (Oxacillinasen) in solchen aus den Probenserien Lüdenscheid und Münster. Im letztgenannten Fall wurde außerdem vermehrt VIM (Verona-Integron-Metallo- β -Lactamasen) bestätigt und auch zweimal in je einem Isolat sowohl VIM als auch NDM (Neu-Delhi Metallo- β -Lactamasen) nachgewiesen. Bei den Isolaten mit zwei nachgewiesenen Carbapenemasen handelte es sich um *K. pneumoniae*-Isolate aus einer Abwasserprobe des Krankenhaus 3 (Probenahme-Datum: 08.12.2020) sowie aus einer Rohabwasserprobe der Kläranlage Münster-Geist, an welcher dieses Krankenhaus angeschlossen ist (Probenahme-Datum: 22.06.2021). Bei zwei von drei Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet wurden auch in Proben aus dem Fließgewässer unterhalb der Einleitung dieser Kläranlagen – jedoch nicht oberhalb – Carbapenemase-bildende *Enterobacterales*-Zielorganismen nachgewiesen, welche damit als 4MRGN klassifiziert sind (Tabelle 13).

3MRGN-*Enterobacterales* wurden ubiquitär in allen untersuchten Anlagen und Fließgewässern nachgewiesen (Tabelle 11 bis Tabelle 17) – mit Ausnahme dreier Gewässer in Bereichen, die regelmäßig trockenfallen, und der Gewässer Laufenbach und Rur im Bereich der betrachteten Kläranlagen (Konzen und Monschau).

Neben den *Enterobacterales*-Spezies umfasst die 3MRGN- bzw. 4MRGN-Klassifizierung gemäß KRINKO (2012, 2019) auch *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii*. 3MRGN-*P. aeruginosa* wurden im ARB-Projekt in zwei Gewässerproben (namenloses Gewässer in Schöning (Delbrück); Probenahme: 29.06.2021) nachgewiesen; 4MRGN-*P. aeruginosa* in Krankenhausabwasserproben aus den Abwasserschächten des Krankenhaus 3. Diese Isolate waren positiv für GIM-1 (German Imipenemase) oder VIM-2 (Probenahme: 08.12.2020) bzw. für entweder GIM-1, IMP-31 (Imipenemase) oder VIM-1 (Probenahme: 03.02.2021). Es wurde nur ein einziges Isolat von 4MRGN-*A. baumannii* in einer Rohabwasser-Probe (Zulauf ABA nach Siebung) eines Betriebs der Fleischwirtschaft (Indirekteinleiter, Schweineschlachtung; Probenahme: 18.11.2020) nachgewiesen. Das Isolat war positiv für OXA-72. Ansonsten wurden keine 4MRGN-Isolate in Abwässern der Fleischwirtschaft nachgewiesen (Tabelle 17).

Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien in Abwasser und Fließgewässern in NRW
Ergebnisse

Tabelle 11: Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung Enterobacterales (Enterobakterien) aus Abwasser von Krankenhäusern bzw. einer Reha- und einer Sportklinik; gesamt und als 3MRGN bzw. 4MRGN nachgewiesene, diese jeweils mit Angaben zur Spezies sowie bei letzteren zum Carbapenemase-Nachweis.

| Probenahme | | Enterobacterales – Anzahl Isolate | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|------------|-----------------------------------|-------|-----|----------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-------|-----------|----------------|-------------------------|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| Ort | Datum | Gesamt | 3MRGN | [%] | <i>E. coli</i> | <i>Kleb- siella</i> spp. | <i>Entero- bacter</i> spp. | <i>Citro- bacter</i> spp. | 4MRGN | [%] | <i>E. coli</i> | Carba- pene- mase | <i>Kleb- siella</i> spp. | Carba- pene- mase | <i>Entero- bacter</i> spp. | Carba- pene- mase | <i>Citro- bacter</i> spp. | Carba- pene- mase |
| Krankenhausabwasser | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Krankenhaus 1 | 19.04.2021 | 23 | 2 | 9 | 1 | - | - | 1 | 19 | 83 | 2 | KPC | 7 | KPC | - | - | 10 | KPC |
| | 17.05.2022 | 18 | 8 | 44 | 2 | 3 | 3 | - | 2 | 11 | - | - | 1 | KPC | 1 | KPC | - | - |
| | 05.09.2022 | 20 | 6 | 30 | 1 | - | 5 | - | 14 | 70 | 6 | KPC | 5 | KPC | - | - | 3 | KPC |
| Rehaklinik | 19.04.2021 | 10 | 3 | 30 | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 15.03.2022 | 10 | 9 | 90 | 9 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 17.05.2022 | 15 | 4 | 27 | 2 | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 05.09.2022 | 10 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 27.07.2021 | 20 | 10 | 50 | 6 | - | 4 | - | 9 | 45 | 2 | OXA-48 | - | - | 6 | OXA-48 | 1 | - |
| | 08.11.2021 | 17 | 1 | 6 | - | - | 1 | - | 16 | 94 | - | - | - | - | 16 | OXA 48 | - | - |
| | 22.02.2022 | 19 | 5 | 26 | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Krankenhaus 2, Haus 2-6 | 27.07.2021 | 11 | 6 | 55 | 6 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 08.11.2021 | 17 | 1 | 6 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 22.02.2022 | 14 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sportklinik | 27.07.2021 | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 08.11.2021 | 20 | 8 | 40 | - | 1 | 7 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 22.02.2022 | 8 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Krankenhaus 3, Haus 1 | 08.12.2020 | 18 | 6 | 33 | 5 | 1 | - | - | 6 | 33 | - | - | - | - | 4 | OXA-48 | 2 | VIM |
| | 03.02.2021 | 10 | 1 | 10 | 1 | - | - | - | 9 | 90 | - | - | - | - | 9 | OXA-48 | - | - |
| | 22.06.2021 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Krankenhaus 3, Haus 2 | 08.12.2020 | 15 | 1 | 7 | - | 1 | - | - | 12 | 80 | 4 | VIM | 5 | VIM; VIM & NDM (1x) | 3 | OXA-48 (1x); - (GIM-1*) | - | - |
| | 03.02.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 22.06.2021 | 13 | - | - | - | - | - | - | 4 | 31 | 1 | VIM | 3 | VIM | - | - | - | - |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Krankenhaus 4 (Zulauf ABA) | 24.08.2020 | 14 | 3 | 21 | - | 2 | - | 1 | 8 | 57 | - | - | 1 | KPC | - | - | 7 | KPC |
| | 29.03.2021 | 25 | 1 | 4 | - | - | - | 1 | 22 | 88 | - | - | 8 | KPC; NDM | - | - | 14 | KPC |
| | 16.08.2021 | 21 | 4 | 19 | 2 | - | 2 | - | 10 | 48 | - | - | - | - | 1 | KPC | 9 | KPC |

- = kein Nachweis; Carbapenemase = immunochromatographischer Nachweis von Varianten folgender Carbapenemasen: OXA-48-like, NDM, VIM, IMP, KPC; *Nachweis durch NRZ

Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien in Abwasser und Fließgewässern in NRW
Ergebnisse

Tabelle 12: Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung *Enterobacterales* (Enterobakterien) aus Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser aus Kläranlagen (KA) mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet; gesamt und als 3MRGN bzw. 4MRGN nach-gewiesene, diese jeweils mit Angaben zur Spezies sowie bei letzteren zum Carbapenemase-Nachweis.

| Probenahme | | <i>Enterobacterales</i> – Anzahl Isolate | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------|--|-------|-----|----------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-------|-----|----------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| Ort | Datum | Gesamt | 3MRGN | [%] | <i>E. coli</i> | <i>Kleb- siella</i> spp. | <i>Entero- bacter</i> spp. | <i>Citro- bacter</i> spp. | 4MRGN | [%] | <i>E. coli</i> | Carba- pene- mase | <i>Kleb- siella</i> spp. | Carba- pene- mase | <i>Entero- bacter</i> spp. | Carba- pene- mase | <i>Citro- bacter</i> spp. | Carba- pene- mase |
| Rohabwasser | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| KA Engelskirchen | 14.09.2020 | 19 | 7 | 37 | 5 | 1 | 1 | - | 5 | 26 | - | - | 2 | KPC | - | - | 3 | KPC |
| "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 19.04.2021 | 20 | 4 | 20 | 2 | 2 | - | - | 4 | 20 | 1 | KPC | 2 | KPC | - | - | 1 | KPC |
| | 18.10.2021 | 19 | 12 | 63 | 6 | 6 | - | - | 4 | 21 | - | - | 2 | KPC | 2 | KPC | - | - |
| | 15.03.2022 | 20 | 9 | 45 | 4 | 5 | - | - | 3 | 15 | - | - | 3 | KPC | - | - | - | - |
| | 17.05.2022 | 20 | 5 | 25 | 1 | 4 | - | - | 1 | 5 | - | - | 1 | KPC | - | - | - | - |
| | 05.09.2022 | 20 | 5 | 25 | 5 | - | - | - | 11 | 55 | 4 | KPC | 7 | KPC | - | - | - | - |
| KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | 19 | 4 | 21 | 1 | 3 | - | - | 6 | 32 | - | - | - | - | 6 | OXA-48 | - | - |
| "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 08.11.2021 | 20 | 5 | 25 | 5 | - | - | - | 5 | 25 | - | - | - | - | 5 | OXA-48 | - | - |
| | 22.02.2022 | 19 | 9 | 47 | 6 | 2 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| KA Münster-Geist "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 08.12.2020 | 20 | 2 | 10 | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 03.02.2021 | 20 | 9 | 45 | 5 | 4 | - | - | 4 | 20 | - | - | 4 | VIM KPC; | - | - | - | - |
| | 22.06.2021 | 20 | 8 | 40 | 8 | - | - | - | 4 | 20 | - | - | 2 | VIM & NDM | 1 | VIM | 1 | VIM |
| Behandeltes Abwasser | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| KA Engelskirchen Ablauf | 14.09.2020 | 10 | 5 | 50 | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 19.04.2021 | 14 | 10 | 71 | 9 | 1 | - | - | 1 | 7 | 1 | KPC | - | - | - | - | - | - |
| | 18.10.2021 | 12 | 8 | 67 | 6 | 2 | - | - | 1 | 8 | 1 | KPC | - | - | - | - | - | - |
| | 15.03.2022 | 10 | 7 | 70 | 7 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 17.05.2022 | 15 | 8 | 53 | 7 | 1 | - | - | 1 | 7 | - | - | 1 | KPC | - | - | - | - |
| | 05.09.2022 | 20 | 6 | 30 | 6 | - | - | - | 2 | 10 | 1 | KPC | 1 | KPC | - | - | - | - |
| KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | 19 | 6 | 32 | 2 | 4 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Ablauf | 08.11.2021 | 15 | 13 | 87 | 8 | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 22.02.2022 | 19 | 11 | 58 | 6 | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| KA Münster-Geist Ablauf | 08.12.2020 | 13 | 9 | 69 | 8 | - | 1 | - | 1 | 8 | - | - | - | - | 1 | VIM | - | - |
| | 03.02.2021 | 11 | 7 | 64 | 7 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 22.06.2021 | 11 | 5 | 45 | 5 | - | - | - | 1 | 9 | - | - | 1 | VIM | - | - | - | - |

- = kein Nachweis; Carbapenemase = immunochromatographischer Nachweis von Varianten folgender Carbapenemasen: OXA-48-like, NDM, VIM, IMP, KPC

Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien in Abwasser und Fließgewässern in NRW
Ergebnisse

Tabelle 13: Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung *Enterobacterales* (Enterobakterien) aus Oberflächenwasser aus Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen (KA) mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet; gesamt und als 3MRGN bzw. 4MRGN nachgewiesene, diese jeweils mit Angaben zur Spezies sowie bei letzteren zum Carbapenemase-Nachweis.

| Probenahme | | <i>Enterobacterales</i> – Anzahl Isolate | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|------------|--|-------|-----|----------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-------|-----|----------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|-----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| Ort | Datum | Gesamt | 3MRGN | [%] | <i>E. coli</i> | <i>Kleb- siella</i> spp. | <i>Entero- bacter</i> spp. | <i>Citro- bacter</i> spp. | 4MRGN | [%] | <i>E. coli</i> | Carba- pene- mase | <i>Kleb- siella</i> spp. | Carba- pene- mase | <i>Entero- bacter</i> spp. | Carba- pene- mase | <i>Citro- bacter</i> spp. | Carba- pene- mase |
| Fließgewässer oberhalb | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| oberhalb Einleitung | 14.09.2020 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 7 | 4 | 57 | 4 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 18.10.2021 | 5 | 2 | 40 | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 15.03.2022 | 16 | 9 | 56 | 6 | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 17.05.2022 | 11 | 8 | 73 | 8 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 05.09.2022 | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| oberhalb Einleitung | 27.07.2021 | 10 | 8 | 80 | 8 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| KA Lüdenscheid | 08.11.2021 | 10 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Schlittenbachtal | 22.02.2022 | 15 | 14 | 93 | 11 | 2 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| oberhalb Einleitung | 08.12.2020 | 18 | 8 | 44 | 8 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| KA Münster-Geist | 03.02.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 22.06.2021 | 12 | 5 | 42 | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fließgewässer unterhalb | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| unterhalb Einleitung | 14.09.2020 | 20 | 8 | 40 | 3 | 4 | 1 | - | 5 | 25 | - | - | 2 | KPC | - | - | 3 | KPC |
| KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 11 | 5 | 45 | 4 | 1 | - | - | 4 | 36 | 4 | KPC | - | - | - | - | - | - |
| | 18.10.2021 | 14 | 4 | 29 | 4 | - | - | - | 1 | 7 | - | - | - | - | - | - | 1 | KPC |
| | 15.03.2022 | 18 | 13 | 72 | 9 | 4 | - | - | 1 | 6 | - | - | 1 | KPC | - | - | - | - |
| | 17.05.2022 | 13 | 8 | 62 | 7 | - | 1 | - | 2 | 15 | - | - | 2 | KPC | - | - | - | - |
| | 05.09.2022 | 20 | 5 | 25 | 5 | - | - | - | 5 | 25 | 3 | KPC | 2 | KPC | - | - | - | - |
| unterhalb Einleitung | 27.07.2021 | 16 | 3 | 19 | 2 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| KA Lüdenscheid | 08.11.2021 | 18 | 9 | 50 | 7 | 2 | - | - | 1 | 6 | - | - | - | - | 1 | OXA-48 | - | - |
| Schlittenbachtal | 22.02.2022 | 20 | 10 | 50 | 5 | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| unterhalb Einleitung | 08.12.2020 | 14 | 12 | 86 | 10 | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| KA Münster-Geist | 03.02.2021 | 15 | 10 | 67 | 9 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 22.06.2021 | 12 | 9 | 75 | 8 | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

- = kein Nachweis; Carbapenemase = immunochromatographischer Nachweis von Varianten folgender Carbapenemasen: OXA-48-like, NDM, VIM, IMP, KPC

Tabelle 14: Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung Enterobacterales (Enterobakterien) aus Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser aus Kläranlagen (KA) ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet sowie aus Oberflächenwasser aus den Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung der KA; gesamt und als 3MRGN nachgewiesene, diese mit Angaben zur Spezies. 4MRGN wurden nicht nachgewiesen.

| Probenahme | | <i>Enterobacterales</i> – Anzahl Isolate | | | | | | | |
|---|------------|--|-------|-----|----------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|-------|
| Ort | Datum | Gesamt | 3MRGN | [%] | <i>E. coli</i> | <i>Klebsiella</i> spp. | <i>Enterobacter</i> spp. | <i>Citrobacter</i> spp. | 4MRGN |
| Rohabwasser | | | | | | | | | |
| KA Rahmedetal "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 29.09.2020 | 20 | 1 | 5 | 1 | - | - | - | - |
| | 02.02.2021 | 20 | 7 | 35 | 7 | - | - | - | - |
| | 22.06.2021 | 18 | 1 | 6 | 1 | - | - | - | - |
| KA Rheinbach "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 08.09.2020 | 18 | 8 | 44 | 7 | - | 1 | - | - |
| | 12.04.2021 | 20 | 13 | 65 | 3 | 10 | - | - | - |
| | 17.01.2022 | 18 | 16 | 89 | 9 | 3 | 4 | - | - |
| KA Stemwede "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 01.09.2020 | 20 | 12 | 60 | 7 | 2 | 3 | - | - |
| | 12.04.2021 | 17 | 11 | 65 | 5 | 6 | - | - | - |
| | 21.06.2022 | 20 | 6 | 30 | 6 | - | - | - | - |
| | 02.08.2022 | 17 | 10 | 59 | 4 | 6 | - | - | - |
| Behandeltes Abwasser | | | | | | | | | |
| KA Rahmedetal Ablauf | 29.09.2020 | 19 | 12 | 63 | 8 | 3 | 1 | - | - |
| | 02.02.2021 | 20 | 13 | 65 | 6 | 7 | - | - | - |
| | 22.06.2021 | 12 | 1 | 8 | - | 1 | - | - | - |
| KA Rheinbach Ablauf (amtl. Messstelle) | 08.09.2020 | 6 | 3 | 50 | 2 | - | 1 | - | - |
| | 12.04.2021 | 17 | 14 | 82 | 7 | 7 | - | - | - |
| | 17.01.2022 | 12 | 8 | 67 | 7 | - | 1 | - | - |
| KA Rheinbach Ablauf des RBF+ | 08.09.2020 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 12.04.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 17.01.2022 | 1 | 1 | 100 | 1 | - | - | - | - |
| KA Stemwede Ablauf | 01.09.2020 | 19 | 10 | 53 | 7 | 3 | - | - | - |
| | 12.04.2021 | 14 | 8 | 57 | 4 | 4 | - | - | - |
| | 21.06.2022 | 17 | 11 | 65 | 8 | 3 | - | - | - |
| | 02.08.2022 | 11 | 4 | 36 | 4 | - | - | - | - |
| Fließgewässer oberhalb | | | | | | | | | |
| oberhalb Einleitung KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 2 | 2 | 100 | 2 | - | - | - | - |
| | 02.02.2021 | 2 | 1 | 50 | 1 | - | - | - | - |
| | 22.06.2021 | 4 | 1 | 25 | 1 | - | - | - | - |
| oberhalb Einleitung KA Rheinbach | 08.09.2020 | - ^{a)} | - | - | - | - | - | - | - |
| | 12.04.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 17.01.2022 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| oberhalb Einleitung KA Stemwede | 01.09.2020 | - ^{a)} | - | - | - | - | - | - | - |
| | 12.04.2021 | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 21.06.2022 | - ^{a)} | - | - | - | - | - | - | - |
| | 02.08.2022 | - ^{a)} | - | - | - | - | - | - | - |
| Fließgewässer unterhalb | | | | | | | | | |
| unterhalb Einleitung KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 02.02.2021 | 13 | 3 | 23 | 3 | - | - | - | - |
| | 22.06.2021 | 10 | 2 | 20 | 2 | - | - | - | - |
| unterhalb Einleitung KA Rheinbach | 08.09.2020 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 12.04.2021 | 11 | 4 | 36 | 3 | 1 | - | - | - |
| | 17.01.2022 | 1 | 1 | 100 | 1 | - | - | - | - |
| unterhalb Einleitung KA Stemwede | 01.09.2020 | 15 | 9 | 60 | 6 | 3 | - | - | - |
| | 12.04.2021 | 13 | 6 | 46 | 5 | 1 | - | - | - |
| | 21.06.2022 | 16 | 6 | 38 | 5 | 1 | - | - | - |
| | 02.08.2022 | 11 | 5 | 45 | 4 | 1 | - | - | - |

- = kein Nachweis; -^{a)} = keine Probe (Gewässer trockengefallen)

Tabelle 15: Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung *Enterobacterales* (Enterobakterien) aus Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser aus Kläranlagen (KA) mit weitergehender Abwasserbehandlung; gesamt und als 3MRGN nachgewiesene, diese mit Angaben zur Spezies. 4MRGN wurden nicht nachgewiesen.

| Probenahme | | <i>Enterobacterales</i> – Anzahl Isolate | | | | | | | |
|---|------------|--|-------|-----|----------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|-------|
| Ort | Datum | Gesamt | 3MRGN | [%] | <i>E. coli</i> | <i>Klebsiella</i> spp. | <i>Enterobacter</i> spp. | <i>Citrobacter</i> spp. | 4MRGN |
| Rohabwasser | | | | | | | | | |
| KA Bad Sassendorf "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 16.02.2021 | 20 | 10 | 50 | 3 | 7 | - | - | - |
| | 06.09.2021 | 12 | 9 | 75 | 9 | - | - | - | - |
| | 21.06.2022 | 18 | 6 | 33 | 6 | - | - | - | - |
| KA Konzen "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 11.01.2021 | 20 | 10 | 50 | 2 | 7 | 1 | - | - |
| | 24.03.2021 | 15 | 6 | 40 | 5 | 1 | - | - | - |
| | 08.06.2022 | 20 | 14 | 70 | 7 | 7 | - | - | - |
| KA Konzen Zulauf Membran- belebungsanlage nach Feinsiebung | 11.01.2021 | 20 | 13 | 65 | 3 | 10 | - | - | - |
| | 24.03.2021 | 19 | 10 | 53 | 7 | 3 | - | - | - |
| | 08.06.2022 | 20 | 8 | 40 | 1 | 7 | - | - | - |
| KA Monschau "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 12.10.2020 | 17 | 8 | 47 | 6 | 1 | 1 | - | - |
| | 22.02.2021 | 18 | 12 | 67 | 7 | 5 | - | - | - |
| | 18.05.2021 | 18 | 3 | 17 | 2 | 1 | - | - | - |
| KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 18.11.2020 | 14 | 1 | 7 | 1 | - | - | - | - |
| | 16.03.2021 | 12 | 4 | 33 | 2 | 2 | - | - | - |
| | 15.06.2021 | 11 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 21.09.2021 | 10 | 3 | 30 | 3 | - | - | - | - |
| Abwasser nach mechanisch-biologischer Behandlung | | | | | | | | | |
| KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 16.02.2021 | 12 | 9 | 75 | 8 | 1 | - | - | - |
| | 06.09.2021 | 17 | 7 | 41 | 6 | 1 | - | - | - |
| | 21.06.2022 | 17 | 7 | 41 | 4 | 3 | - | - | - |
| KA Monschau Zulauf UV-Bestrahlung | 12.10.2020 | 12 | 6 | 50 | 6 | - | - | - | - |
| | 22.02.2021 | 19 | 7 | 37 | 5 | 2 | - | - | - |
| | 18.05.2021 | 20 | 4 | 20 | 4 | - | - | - | - |
| KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda Zulauf Ozonung | 16.03.2021 | 2 | 2 | 100 | 2 | - | - | - | - |
| | 15.06.2021 | 12 | 6 | 50 | 6 | - | - | - | - |
| | 21.09.2021 | 19 | 7 | 37 | 3 | 1 | 3 | - | - |
| Abwasser nach weitergehender Behandlung | | | | | | | | | |
| KA Bad Sassendorf Ablauf | 16.02.2021 | 12 | 7 | 58 | 7 | - | - | - | - |
| | 06.09.2021 | 18 | 9 | 50 | 9 | - | - | - | - |
| | 21.06.2022 | 20 | 6 | 30 | 4 | 2 | - | - | - |
| KA Konzen Ablauf nach Membranfilter | 11.01.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 24.03.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 08.06.2022 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| KA Monschau Ablauf | 12.10.2020 | 2 | 2 | 100 | 2 | - | - | - | - |
| | 22.02.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 18.05.2021 | 1 | 1 | 100 | 1 | - | - | - | - |
| KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda Ablauf Ozon | 16.03.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 15.06.2021 | 11 | 6 | 55 | 6 | - | - | - | - |
| | 21.09.2021 | 20 | 5 | 25 | 3 | 1 | 1 | - | - |
| KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda Ablauf Bioreaktor bzw. KA | 18.11.2020 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 16.03.2021 | 4 | 2 | 50 | 2 | - | - | - | - |
| | 15.06.2021 | 16 | 8 | 50 | 8 | - | - | - | - |
| | 21.09.2021 | 16 | 7 | 44 | 5 | 1 | 1 | - | - |
| Abwasser nach weitergehender Behandlung und Schönungs- teich | | | | | | | | | |
| KA Bad Sassendorf Ablauf Schönungs- teich | 16.02.2021 | 13 | 10 | 77 | 10 | - | - | - | - |
| | 06.09.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 21.06.2022 | 14 | 8 | 57 | 7 | 1 | - | - | - |

- = kein Nachweis

Tabelle 16: Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung *Enterobacterales* (Enterobakterien) aus Oberflächenwasser aus Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen (KA) mit weitergehender Abwasserbehandlung; gesamt und als 3MRGN nachgewiesene, diese mit Angaben zur Spezies. 4MRGN wurden nicht nachgewiesen.

| Probenahme | | <i>Enterobacterales</i> – Anzahl Isolate | | | | | | | |
|--|------------|--|-------|-----|----------------|------------------------|--------------------------|-------------------------|-------|
| Ort | Datum | Gesamt | 3MRGN | [%] | <i>E. coli</i> | <i>Klebsiella</i> spp. | <i>Enterobacter</i> spp. | <i>Citrobacter</i> spp. | 4MRGN |
| Fließgewässer oberhalb | | | | | | | | | |
| oberhalb Einleitung KA Bad Sassendorf | 16.02.2021 | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 06.09.2021 | 1 | 1 | 100 | 1 | - | - | - | - |
| | 21.06.2022 | 7 | 2 | 29 | 2 | - | - | - | - |
| oberhalb Einleitung KA Konzen | 11.01.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 24.03.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 08.06.2022 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| oberhalb Einleitung KA Monschau | 12.10.2020 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 22.02.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 18.05.2021 | 2 | - | - | - | - | - | - | - |
| oberhalb Einleitung KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 18.11.2020 | 5 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 16.03.2021 | 3 | 2 | 67 | 2 | - | - | - | - |
| | 15.06.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 21.09.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fließgewässer unterhalb | | | | | | | | | |
| unterhalb Einleitung KA Bad Sassendorf | 16.02.2021 | 14 | 11 | 79 | 9 | 1 | - | 1 | - |
| | 06.09.2021 | 9 | 6 | 67 | 6 | - | - | - | - |
| | 21.06.2022 | 19 | 6 | 32 | 4 | 2 | - | - | - |
| unterhalb Einleitung KA Konzen | 11.01.2021 | 3 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 24.03.2021 | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 08.06.2022 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| unterhalb Einleitung KA Monschau | 12.10.2020 | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 22.02.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 18.05.2021 | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| unterhalb Einleitung KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 18.11.2020 | 3 | 2 | 67 | 2 | - | - | - | - |
| | 16.03.2021 | 3 | 1 | 33 | 1 | - | - | - | - |
| | 15.06.2021 | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 21.09.2021 | 7 | 4 | 57 | 4 | - | - | - | - |

- = kein Nachweis

Tabelle 17: Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung *Enterobacterales* (Enterobakterien) aus Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser aus Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) von Betrieben der Fleischwirtschaft [Direkteinleiter Geflügelschlachtung (Betrieb A) bzw. Verarbeitung von Geflügel (Betrieb B); Indirekteinleiter Schweineschlachtung (Betriebe C und D)]; gesamt und als 3MRGN nachgewiesene, diese mit Angaben zur Spezies. 4MRGN wurden nicht nachgewiesen.

| Probenahme | | <i>Enterobacterales</i> – Anzahl Isolate | | | | | | | |
|-----------------------------|------------|--|-------|-----|----------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-------|
| Ort | Datum | Gesamt | 3MRGN | [%] | <i>E. coli</i> | <i>Kleb- siella</i> spp. | <i>Entero- bacter</i> spp. | <i>Citro- bacter</i> spp. | 4MRGN |
| Rohabwasser | | | | | | | | | |
| Betrieb A | 26.10.2020 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Zulauf ABA | 01.03.2021 | 3 | 3 | 100 | 3 | - | - | - | - |
| | 29.06.2021 | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| Betrieb B | 30.11.2020 | 10 | - | - | - | - | - | - | - |
| Zulauf ABA | 19.07.2021 | 4 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 05.04.2022 | 10 | 10 | 100 | 10 | - | - | - | - |
| Betrieb C | 30.11.2020 | 10 | 5 | 50 | 5 | - | - | - | - |
| Zulauf ABA | 12.07.2021 | 10 | 3 | 30 | 3 | - | - | - | - |
| | 12.07.2022 | 15 | 4 | 27 | 3 | 1 | - | - | - |
| Betrieb D | 18.11.2020 | 14 | 1 | 7 | 1 | - | - | - | - |
| Zulauf ABA | 16.03.2021 | 13 | 4 | 31 | 2 | 2 | - | - | - |
| | 15.06.2021 | 11 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 21.09.2021 | 10 | 3 | 30 | 3 | - | - | - | - |
| Behandeltes Abwasser | | | | | | | | | |
| Betrieb A | 26.10.2020 | 3 | - | - | - | - | - | - | - |
| Ablauf ABA | 01.03.2021 | 4 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 29.06.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Betrieb B | 30.11.2020 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Ablauf ABA | 19.07.2021 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| | 05.04.2022 | 10 | 10 | 100 | 10 | - | - | - | - |
| Betrieb C | 30.11.2020 | 11 | 8 | 73 | 8 | - | - | - | - |
| Ablauf ABA | 12.07.2021 | 5 | 5 | 100 | 4 | 1 | - | - | - |
| | 12.07.2022 | 11 | 8 | 73 | 8 | - | - | - | - |
| Betrieb D | 18.11.2020 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Ablauf ABA | 16.03.2021 | 2 | 1 | 50 | 1 | - | - | - | - |
| | 15.06.2021 | 10 | - | - | - | - | - | - | - |
| | 21.09.2021 | 6 | - | - | - | - | - | - | - |

- = kein Nachweis

4.4 Vergleich des Nachweises von Carbapenemase-bildenden *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe mittels CHROMagar ESBL und CHROMagar mSuperCARBA

Zusätzlich zur Analytik mittels CHROMagar ESBL, die im ARB-Projekt bei allen Proben angewendet wurde, wurden Proben ausgewählter Probenahmestellen ergänzend mittels CHROMagar mSuperCARBA als primärem Selektivnährmedium untersucht. Dabei handelte es sich um insgesamt 56 Abwasser- und Oberflächenwasserproben von 36 Probenahmestellen (sowohl mit als auch ohne Krankenhausabwasseranteil). Ziel war der Nachweis Carbapenemase-bildender *Enterobacterales* der Zielorganismen *E. coli* und KEC-Gruppe.

Mittels CHROMagar ESBL wurden in 30 %, mittels CHROMagar mSuperCARBA in 52 % der Proben Carbapenemase-bildende Zielorganismen nachgewiesen. In 82 % der auf beiden primären Selektivnährmedien Carbapenemase-positiv getesteten Proben (n = 17) wurden mit CHROMagar mSuperCARBA höhere Konzentrationen an Carbapenemase-bildenden Zielorganismen erhalten (im Mittel 0,7 Log-Stufen, maximal 3,6 Log-Stufen).

Alleinig auf CHROMagar mSuperCARBA erfolgte der Nachweis von Carbapenemase-bildenden Zielorganismen in Roh- und behandeltem Abwasser einer Kläranlage ohne Krankenhaus im Einzugsgebiet (KA Stemwede, Wehdem) sowie in einer Oberflächenwasser-Probe aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung dieser Kläranlage; außerdem in zwei Kläranlagenablaufproben, bei denen ebenfalls mittels CHROMagar ESBL kein Nachweis erbracht wurde (KA Lüdenscheid-Schlittenbachtal).

Mittels CHROMagar ESBL wurden 223 Carbapenemase-bildende Bakterien-Isolate sechs verschiedener Spezies der Zielorganismen *E. coli* und KEC-Gruppe gewonnen mit den drei häufigsten Arten *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* und *Klebsiella pneumoniae* (Abbildung 8). Wohingegen mittels CHROMagar mSuperCARBA 351 Carbapenemase-bildende Isolate zehn verschiedener Spezies gewonnen wurden mit den drei häufigsten Arten *C. freundii*, *E. coli* und *K. pneumoniae* (Abbildung 9).

Mittels beider Selektivnährmedien wurden Bakterien-Isolate, die eine der fünf Carbapenemasen KPC, OXA-48 und OXA-48-like, VIM, NDM oder GIM bilden, nachgewiesen; allerdings in unterschiedlicher Häufigkeit (Abbildung 10). Insgesamt wurden mittels CHROMagar mSuperCARBA mehr Carbapenemase-bildende Bakterien-Isolate der Zielorganismen *E. coli* und KEC-Gruppe festgestellt. Die Häufigkeit (als prozentualer Anteil), mit welcher die verschiedenen Carbapenemasen bei den verschiedenen Bakterienarten nachgewiesen wurden, ist in Tabelle 18 aufgeführt.

Die Carbapenemasen OXA-244 und OXA-181 (OXA-48-Varianten) wurden nur durch die Verwendung von CHROMagar mSuperCARBA detektiert. Bakterien-Isolate, die zwei Carbapenemasen bilden, wurden vorwiegend mittels CHROMagar mSuperCARBA nachgewiesen.

CHROMagar ESBL

Anzahl CP-bildende gesamt = 223

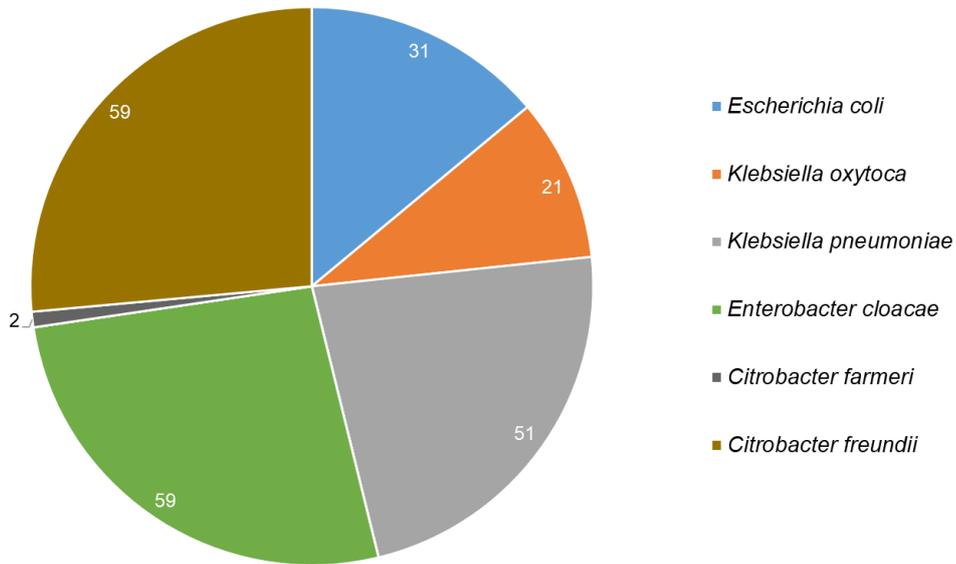


Abbildung 8: Anzahlen Carbapenemase-bildender Bakterien-Isolate der Zielorganismen *E. coli* und KEC-Gruppe aufgeführt nach Spezies; Analytik mittels CHROMagar ESBL als primärem Selektivnährmedium.

CHROMagar mSuperCARBA

Anzahl CP-bildende gesamt = 351

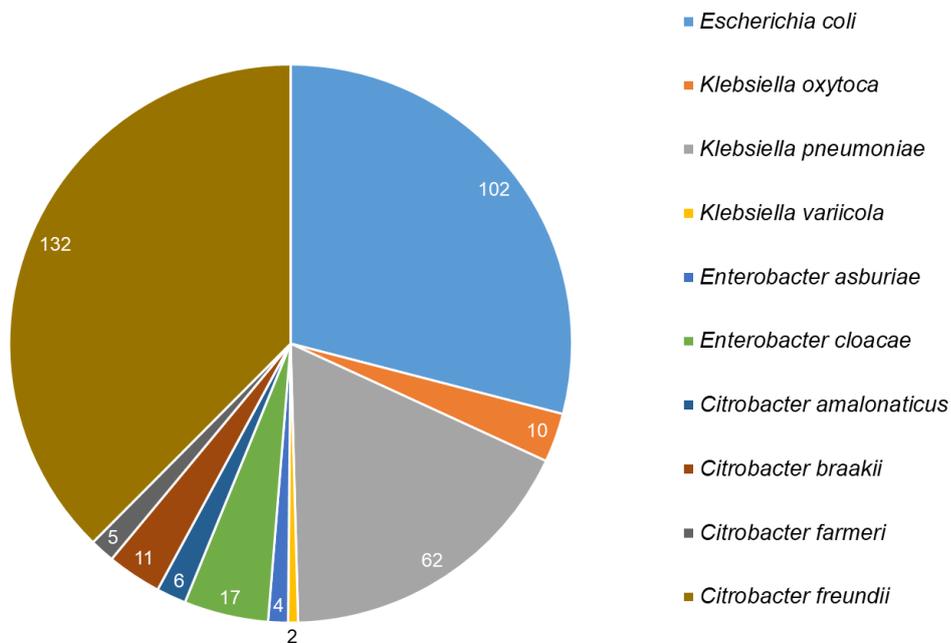


Abbildung 9: Anzahlen Carbapenemase-bildender Bakterien-Isolate der Zielorganismen *E. coli* und KEC-Gruppe aufgeführt nach Spezies; Analytik mittels CHROMagar mSuperCARBA als primärem Selektivnährmedium.

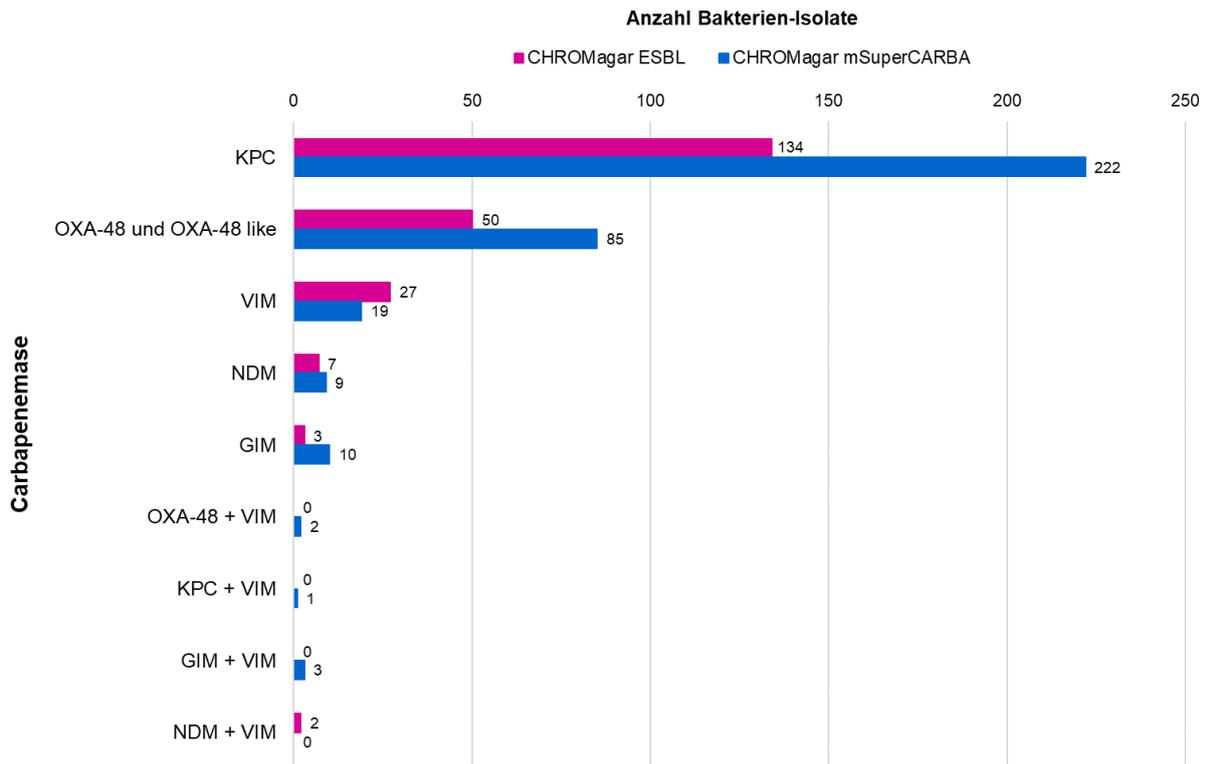


Abbildung 10: Anzahl Carbapenemase-bildender Bakterien-Isolate der Zielorganismen *E. coli* und Arten der KEC-Gruppe aufgeführt nach Carbapenemasen und Nachweis mittels CHROMagar ESBL bzw. CHROMagar mSuperCARBA als primärem Selektivnährmedium.

Tabelle 18: Anzahl Carbapenemase-bildender Bakterien-Isolate [n (CP-bildende)] der Zielorganismen *E. coli* und Arten der KEC-Gruppe – Nachweis mittels CHROMagar ESBL (Medium: E) bzw. CHROMagar mSuperCARBA (Medium: C) als primärem Selektivnährmedium – sowie Anteil nachgewiesener Carbapenemasen in Prozent [%]. - = kein Nachweis. Spezies: *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella variicola*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter farmeri*, *Citrobacter freundii* (**fett**: Spezies, die mittels beider Medien nachgewiesen wurden).

| Spezies | <i>E. coli</i> | | <i>K. oxytoca</i> | | <i>K. pneum.</i> | | <i>K. variicola</i> | | <i>E. asburiae</i> | | <i>E. cloacae</i> | | <i>C. amalona.</i> | | <i>C. braakii</i> | | <i>C. farmeri</i> | | <i>C. freundii</i> | |
|-----------------|----------------|-----|-------------------|----|------------------|----|---------------------|-----|--------------------|-----|-------------------|----|--------------------|----|-------------------|----|-------------------|----|--------------------|-----|
| | E | C | E | C | E | C | E | C | E | C | E | C | E | C | E | C | E | C | E | C |
| n (CP-bildende) | 31 | 102 | 21 | 10 | 51 | 62 | - | 2 | - | 4 | 59 | 17 | - | 6 | - | 11 | 2 | 5 | 59 | 132 |
| Anteil [%] | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| KPC | 77 | 63 | 95 | 90 | 57 | 82 | - | 100 | - | 100 | 7 | 41 | - | - | - | 9 | 100 | 60 | 93 | 61 |
| OXA-48/-like | 6 | 19 | - | 10 | - | 3 | - | - | - | - | 81 | 47 | - | 17 | - | 91 | - | 40 | - | 32 |
| VIM | 16 | 7 | 5 | - | 25 | 6 | - | - | - | - | 8 | 12 | - | 83 | - | - | - | - | 5 | 1 |
| NDM | - | 5 | - | - | 14 | 6 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| GIM | - | 6 | - | - | - | - | - | - | - | - | 3 | - | - | - | - | - | - | - | 2 | 3 |
| OXA-48 + VIM | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 |
| KPC + VIM | - | - | - | - | - | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| GIM + VIM | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 |
| NDM + VIM | - | - | - | - | 4 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

4.5 Vancomycin-resistente Enterokokken

Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE; *Enterococcus faecium*) wurden im Krankenhausabwasser und im Rohabwasser sowie behandeltem Abwasser sowohl aus Kläranlagen mit als auch ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet nachgewiesen. Es wurden nur Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium* nachgewiesen. In den Abwasserproben der vier untersuchten Betriebe der Fleischwirtschaft wurden keine Vancomycin-resistenten Enterokokken nachgewiesen.

4.5.1 Krankenhausabwasser und Abwasser aus Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet

Im unbehandelten Krankenhausabwasser lag die VRE-Konzentration in Größenordnung von 10^2 bis 10^6 KBE/100 ml (Abbildung 11; Tabelle 19). Der Median dieser Befunde, ebenso wie die der Rohabwasserproben sowohl der Kläranlagen mit als auch ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet, lag in der Größenordnung von 10^3 KBE/100 ml.

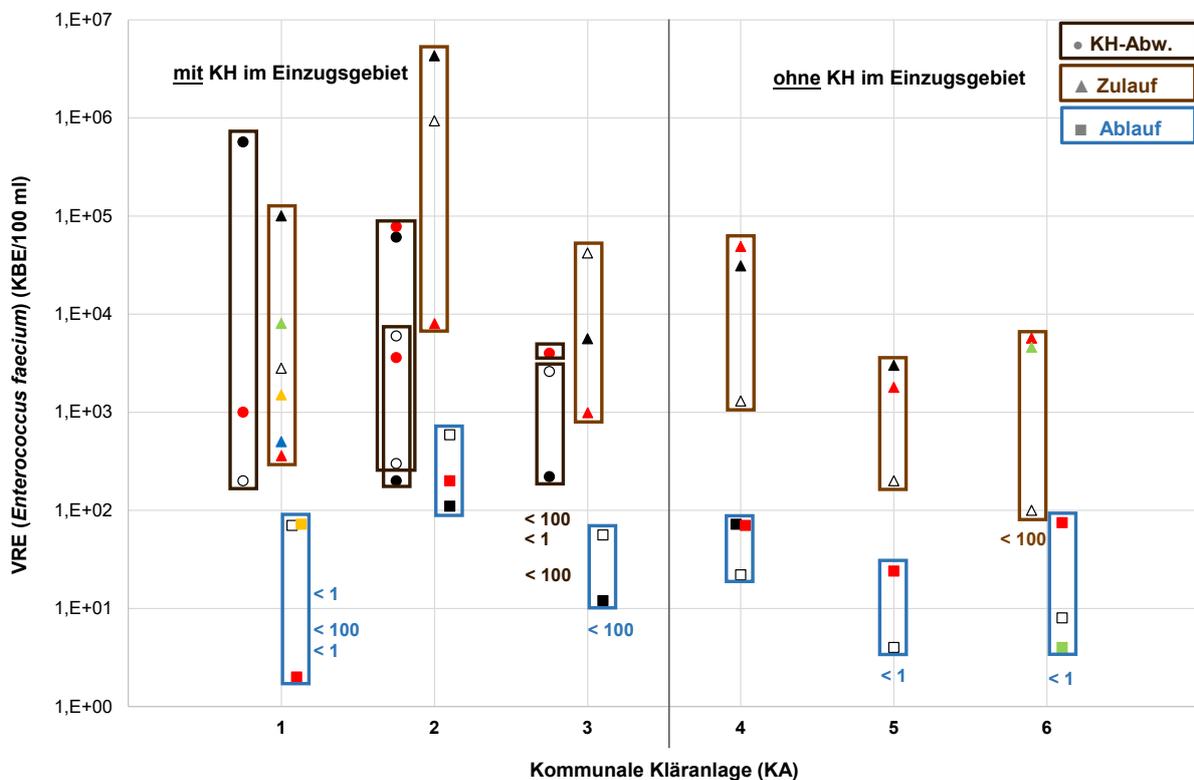


Abbildung 11: Konzentrationen Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE; *Enterococcus faecium*) in Krankenhaus-Abwasser (●) bzw. Roh-Abwasser (▲) und behandeltem Abwasser (■) aus Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser (KH) im Einzugsgebiet. Probenahmedaten, -zeiten und Abwassertemperaturen siehe Tabellen Abbildung 2 und Abbildung 3. Für Befunde unterhalb der Nachweisgrenze ist diese jeweils angegeben. Die Farbgebung der Symbole (▲, ■) entspricht den Probenahmetermeninen: 1. schwarz, 2. weiß, 3. rot, 4. grün, 5. blau, 6. orange. Die (braunen und blauen) Rahmen dienen der Visualisierung der Spannweite der Befunde. An den Krankenhäusern, die in KA Nr. 2 bzw. 3 einleiten, wurden jeweils zwei Abwasserschächte beprobt, daher sind dort jeweils zwei Rahmen „KH-Abw.“ dargestellt. Die Nummern 1 bis 6 kennzeichnen die kommunalen Kläranlagen: 1, KA Engelskirchen; 2, KA Lüdenscheid Schlittenbachtal; 3, KA Münster-Geist; 4, KA Rahmedetal; 5, KA Rheinbach; 6, KA Stemwede, Wehdem.

Tabelle 19: Konzentrationen Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE; *Enterococcus faecium*) in unbehandeltem bzw. behandeltem Krankenhaus-Abwasser. Krankenhaus 4, Kreiskrankenhaus Waldbröl; Krankenhaus 5, Marienhospital Gelsenkirchen. Es sind nur Proben aufgeführt für die ein VRE-Nachweis erbracht wurde. Konzentrationsangaben in Exponentialschreibweise ohne hochgestellte Ziffern (Bsp.: 2,0E+02 entspricht $2,0 \cdot 10^2 = 200$; 4,0E+00 entspricht $4 \cdot 10^0 = 4$).

| Ort | Probenahme | Datum | VRE (<i>E. faecium</i>) [KBE/100 ml] |
|--|------------|------------|---|
| Krankenhäuser mit Abwasserbehandlungsanlage | | | |
| Krankenhaus 4 (Zulauf ABA) | | 24.08.2020 | 2,0E+02 |
| Krankenhaus 4 (Zulauf ABA) | | 29.03.2021 | 6,7E+05 |
| Krankenhaus 4 (Zulauf ABA) | | 16.08.2021 | 3,9E+06 |
| Krankenhaus 4 (Zulauf Ozonung nach MBR) | | 29.03.2021 | 1,3E+02 |
| Krankenhaus 4 (Zulauf Ozonung nach MBR) | | 16.08.2021 | 2,9E+01 |
| Krankenhaus 4 (Ablauf ABA) | | 29.03.2021 | 4,0E+00 |
| Krankenhaus 5 (Zulauf ABA) | | 01.03.2021 | 1,1E+05 |
| Krankenhaus 5 (Ablauf MBR) | | 01.03.2021 | 2,0E+00 |
| Krankenhaus 5 (Ablauf MBR) | | 05.04.2022 | 1,6E+01 |
| Krankenhaus 5 (Ablauf nach PAK) | | 01.03.2021 | 3,0E+00 |
| Krankenhaus 5 (Ablauf nach PAK) | | 05.04.2022 | 1,7E+01 |

In den Abwasserproben nach konventioneller mechanisch-biologischer Behandlung am Ablauf der Kläranlagen wurden VRE in meist ein- bis zweistelligen Konzentrationen (Größenordnung 10^0 - 10^1 KBE/100 ml) nachgewiesen (Abbildung 11); das Gleiche gilt für die untersuchten Oberflächenwasserproben, für die ein VRE-Nachweis erbracht wurde (Tabelle 20 und Tabelle 21).

Eine Ausnahme bei den Ablaufproben stellen jene aus der KA Lüdenscheid-Schlittenbachtal dar; in diesen wurden VRE in dreistelligen Konzentrationen, das heißt in einer Größenordnung von 10^2 KBE/100 ml, nachgewiesen. Für diese Kläranlage wurden aber auch zweimal hohe VRE-Konzentrationen – im Bereich von 10^6 KBE/100 ml – im Zulauf der KA festgestellt (Abbildung 11).

Bei den Oberflächenwasserproben aus den Gewässern oberhalb und unterhalb der Einleitungen der Kläranlagen wurde lediglich in einer Probe eine höhere VRE-Konzentration (in Höhe von $2,8 \times 10^3$ KBE/100 ml) ermittelt; hierbei handelt es sich um eine Probe aus der Agger oberhalb der Einleitung der Kläranlage Engelskirchen (Tabelle 20).

Insgesamt lässt sich kein eindeutiger Unterschied bezüglich der VRE-Konzentrationen in Abwässern aus Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet erkennen. Einige Krankenhausabwässer sowie Rohabwässer am Zulauf der Kläranlagen ergaben große Spanne bei den VRE-Befunden. Ein eindeutiger Trend ist somit auch beim Vergleich der VRE-Konzentrationen dieser Abwässer nicht erkennbar.

Tabelle 20: Konzentrationen Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE; *Enterococcus faecium*) in Oberflächenwasser aus Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Es sind nur Proben aufgeführt für die ein VRE-Nachweis erbracht wurde. Oberhalb der KA Rheinbach bzw. der KA Stemwede, Wehdem konnte an einem von drei bzw. drei von vier Probenahmetagen keine Probe entnommen werden (Gewässer trockengefallen). Konzentrationsangaben in Exponentialschreibweise ohne hochgestellte Ziffern (Bsp.: 3,9E+01 entspricht $3,9 \cdot 10^1 = 39$; 1,0E+00 entspricht $1 \cdot 10^0 = 1$).

| Ort | Probenahme Datum | VRE (<i>E. faecium</i>) KBE/100 ml |
|--|---------------------|---|
| Fließgewässer | | |
| oberhalb Einleitung KA Engelskirchen | 14.09.2020 | 2,8E+03 |
| oberhalb Einleitung KA Engelskirchen | 15.03.2022 | 3,9E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 1,0E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 18.10.2021 | 1,0E+00 |
| unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 15.03.2022 | 8,9E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 05.09.2022 | 1,2E+01 |
| oberhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 22.02.2022 | 8,0E+00 |
| unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | 1,4E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 6,0E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 22.02.2022 | 3,9E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 1,2E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 03.02.2021 | 5,3E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 1,0E+00 |
| oberhalb Einleitung KA Rahmedetal | 02.02.2021 | 6,0E+00 |
| unterhalb Einleitung KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 4,0E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Rahmedetal | 02.02.2021 | 6,0E+00 |
| unterhalb Einleitung KA Rahmedetal | 22.06.2021 | 4,0E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Rheinbach | 12.04.2021 | 2,0E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 01.09.2020 | 1,0E+00 |
| unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 21.06.2022 | 1,8E+01 |
| unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 02.08.2022 | 3,0E+00 |

4.5.2 Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung

Die VRE-Konzentrationen in den Zulaufproben der Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung lagen mit Werten in Größenordnung von 10^2 bis 10^4 KBE/100 ml in einem ähnlichen Bereich wie die der Rohabwasserproben der anderen Kläranlagen im Untersuchungsprogramm. Ebenso sind bei den Kläranlagen, bei denen sich die weitergehende Abwasserbehandlung an eine konventionelle mechanisch-biologische Behandlung anschließt (KA Bad Sassendorf, Ozonung; KA Monschau, UV-Bestrahlung; KA Rheinbach, RBF+ und KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda; Ozonung), die VRE-Konzentrationen im Zulauf der weitergehenden Abwasserbehandlung vergleichbar mit denen im behandelten Abwasser am Ablauf der anderen betrachteten Kläranlagen; nämlich im ein- bis dreistelligen Konzentrationsbereich (Größenordnung von 10^0 bis 10^2 KBE/100 ml) (Tabelle 21).

Tabelle 21: Konzentrationen Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE; *Enterococcus faecium*) in Rohabwasser und behandeltem Abwasser aus Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung (Ozonung; MBR; UV-Bestrahlung; RBF+) sowie in Oberflächenwasser aus Fließgewässern unterhalb der Einleitung der KA. Es sind nur Proben aufgeführt für die ein VRE-Nachweis erbracht wurde. Konzentrationsangaben in Exponentialschreibweise ohne hochgestellte Ziffern (Bsp.: 5,0E+03 entspricht $5,0 \cdot 10^3 = 5.000$; 8,0E+00 entspricht $8 \cdot 10^0 = 8$).

| Ort | Probenahme | Datum | VRE (<i>E. faecium</i>) [KBE/100 ml] |
|--|--|------------|---|
| Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung | | | |
| | KA Bad Sassendorf "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 16.02.2021 | 5,0E+03 |
| | KA Bad Sassendorf "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 06.09.2021 | 3,2E+03 |
| | KA Bad Sassendorf "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 21.06.2022 | 9,4E+03 |
| | KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 16.02.2021 | 6,0E+02 |
| | KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 06.09.2021 | 3,6E+01 |
| | KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 21.06.2022 | 1,4E+02 |
| | KA Bad Sassendorf Ablauf | 16.02.2021 | 2,0E+01 |
| | KA Bad Sassendorf Ablauf | 06.09.2021 | 8,0E+00 |
| | KA Bad Sassendorf Ablauf | 21.06.2022 | 1,9E+02 |
| | KA Bad Sassendorf Ablauf Schönungsteich | 16.02.2021 | 1,2E+02 |
| | KA Bad Sassendorf Ablauf Schönungsteich | 21.06.2022 | 1,2E+01 |
| | Fließgewässer unterhalb Einleitung KA Bad Sassendorf | 16.02.2021 | 7,1E+01 |
| | Fließgewässer unterhalb Einleitung KA Bad Sassendorf | 21.06.2022 | 8,0E+00 |
| | KA Konzen "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 11.01.2021 | 3,3E+03 |
| | KA Konzen "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 24.03.2021 | 4,9E+03 |
| | KA Konzen Zulauf MBR nach Feinsiebung | 11.01.2021 | 3,3E+03 |
| | KA Konzen Zulauf MBR nach Feinsiebung | 24.03.2021 | 5,6E+03 |
| | Fließgewässer unterhalb Einleitung KA Konzen | 11.01.2021 | 1,0E+00 |
| | KA Monschau "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 12.10.2020 | 9,1E+01 |
| | KA Monschau "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 18.05.2021 | 3,6E+03 |
| | KA Monschau "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 22.02.2021 | 1,0E+02 |
| | KA Monschau Zulauf UV-Bestrahlung | 12.10.2020 | 1,0E+00 |
| | KA Monschau Zulauf UV-Bestrahlung | 22.02.2021 | 7,0E+00 |
| | KA Monschau Zulauf UV-Bestrahlung | 18.05.2021 | 1,0E+01 |
| | KA Rheinbach "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 08.09.2020 | 3,0E+03 |
| | KA Rheinbach "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 12.04.2021 | 2,0E+02 |
| | KA Rheinbach "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 17.01.2022 | 1,8E+03 |
| | KA Rheinbach Ablauf (amtl. Messstelle) = Zulauf RBF+ | 12.04.2021 | 4,0E+00 |
| | KA Rheinbach Ablauf (amtl. Messstelle) = Zulauf RBF+ | 17.01.2022 | 2,4E+01 |
| | Fließgewässer unterhalb Einleitung KA Rheinbach | 12.04.2021 | 2,0E+01 |
| | KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 18.11.2020 | 2,0E+03 |
| | KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 16.03.2021 | 1,9E+04 |
| | KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 21.09.2021 | 9,2E+02 |
| | KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda "Zulauf" (Ablauf Sandfang) | 15.06.2021 | 2,0E+03 |
| | KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda Zulauf Ozonung | 15.06.2021 | 4,0E+00 |
| | KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda Zulauf Ozonung | 21.09.2021 | 5,0E+00 |
| | KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda Ablauf | 16.03.2021 | 7,0E+00 |
| | KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda Ablauf | 21.09.2021 | 1,0E+00 |
| | Fließgewässer oberhalb Einleitung KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 16.03.2021 | 1,0E+01 |
| | Fließgewässer unterhalb Einleitung KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 21.09.2021 | 1,0E+00 |

Eine Ozonung des Abwassers nach mechanisch-biologischer Behandlung zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen (mit anschließendem Durchfließen eines Schönungsteiches, KA Bad Sassendorf bzw. anschließender Behandlung in einem Bioreaktor, KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda) scheint keinen ausgeprägten Effekt auf die VRE (*E. faecium*) zu haben. Die VRE-Konzentrationen in den Ablaufproben dieser Behandlungsstufen sind vergleichbar denen nach konventioneller mechanisch-biologischer Behandlung.

Nach einer UV-Bestrahlung (KA Monschau) des mechanisch-biologisch behandelten Abwassers bzw. dem Durchfließen eines Bodenfilters (RBF+; KA Rheinbach) sowie nach Membranfiltration (MBR; KA Konzen) wurden hingegen keine VRE nachgewiesen.

4.6 Antibiotikaresistenzgene (ARG)

Zusätzlich zu den quantitativen mikrobiologischen Untersuchungen auf klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien wurden auch qualitative molekularbiologische Untersuchungen auf Antibiotikaresistenzgene durchgeführt. Hierzu wurde die DNA (Desoxyribonukleinsäure), Träger der Erbinformation (Gene), aus den verschiedenen Wasserproben extrahiert (siehe Kapitel A 1.9.2) und mittels qualitativer real-time PCR (Echtzeit Polymerase-Kettenreaktion) auf das Vorhandensein ausgesuchter ESBL-Gene und Carbapenemase-Gene sowie Vancomycin-Resistenz-Gene getestet.

Im Nachfolgenden sind die Ergebnisse für die untersuchten Krankenhausabwässer, Rohabwässer sowie behandelten Abwässer aus Kläranlagen bzw. Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der Fleischwirtschaft und die der Oberflächenwasserproben aus den Fließgewässern oberhalb und unterhalb der jeweiligen Einleitung dargestellt. In den Tabellen ist jeweils aufgeführt, in wie vielen Proben einer Gesamtprobenanzahl ein Nachweis erfolgte (z. B. 3/3 = Nachweis in drei von drei Proben). Zur besseren visuellen Erfassung wurden die Angaben farblich hinterlegt: Grün = kein Nachweis; gelb = Nachweis in einer von mindestens drei Proben; orange = Nachweis in ein, zwei, drei bzw. vier Proben (je nach Gesamtprobenanzahl); rot = Nachweis in allen Proben.

4.6.1 ESBL-Gene und Carbapenemase-Gene

Ausgewählt für die molekularbiologischen Untersuchungen wurden die ESBL-Gene bzw. Carbapenemase-Gene, die häufig in klinischen Isolaten der Ordnung *Enterobacterales* auftreten: *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} und *bla*_{TEM}. (siehe Kapitel A 1.9.4) bzw. *bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC} und *bla*_{NDM} (siehe Kapitel A 1.9.5).

ESBL-Gene wurden in allen Krankenhausabwässern und allen Rohabwässern aus kommunalen Kläranlagen und Abwasserbehandlungsanlagen der Betriebe der Fleischwirtschaft nachgewiesen. In Krankenhausabwässern waren tendenziell häufiger *bla*_{TEM} und/oder *bla*_{SHV} (Tabelle 22) und in Rohabwässern aus Kläranlagen häufiger *bla*_{CTX-M} (Tabelle 23) enthalten. In den Rohabwässern der Betriebe der Fleischwirtschaft kamen *bla*_{TEM} und *bla*_{CTX-M} vor (Tabelle 25).

Tabelle 22: Vorkommen von ESBL- bzw. Carbapenemase-Genen im Abwasser aus Krankenhäusern (KH) bzw. einer Reha- und einer Sportklinik. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben). Zul. ABA = Zulauf Abwasserbehandlungsanlage.

| Krankenhaus bzw. Klinik | # | ESBL-Gene | | | Carbapenemase-Gene | | | | |
|-------------------------|----------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | <i>bla</i> _{TEM} | <i>bla</i> _{SHV} | <i>bla</i> _{CTX-M} | <i>bla</i> _{OXA-48} | <i>bla</i> _{NDM} | <i>bla</i> _{KPC} | <i>bla</i> _{VIM} | <i>bla</i> _{IMP} |
| Abwasser | n | | | | | | | | |
| KH 1 | 2 | 2/2 | 1/2 | 1/2 | 0/2 | 2/2 | 2/2 | 1/2 | 0/2 |
| Rehaklinik | 3 | 0/3 | 3/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 2/3 | 0/3 | 2/3 |
| KH 2, Hauptgeb. | 3 | 3/3 | 2/3 | 2/3 | 3/3 | 1/3 | 3/3 | 3/3 | 0/3 |
| KH 2, Haus 2-6 | 3 | 2/3 | 2/3 | 1/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Sportklinik | 3 | 0/3 | 3/3 | 0/3 | 1/3 | 0/3 | 0/3 | 1/3 | 0/3 |
| KH 3, Haus 1 | 3 | 0/3 | 2/3 | 0/3 | 2/3 | 3/3 | 0/3 | 3/3 | 3/3 |
| KH 3, Haus 2 | 3 | 1/3 | 2/3 | 1/3 | 3/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 | 2/3 |
| KH 4 (Zul. ABA) | 3 | 3/3 | 3/3 | 2/3 | 0/3 | 3/3 | 3/3 | 3/3 | 3/3 |
| KH 5 (Zul. ABA) | 2 | 2/2 | 1/2 | 0/2 | 1/2 | 0/2 | 0/2 | 2/2 | 0/2 |

Tabelle 23: Vorkommen von ESBL- bzw. Carbapenemase-Genen im Rohabwasser ("Zulauf") und behandeltem Abwasser (Ablauf) aus Kläranlagen mit (a-d) bzw. ohne (e-j) Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben). ¹⁾ Ablauf Sandfang; Lüdensch. Sch. = Lüdenscheid-Schlittenbachtal, R.-W. = Rheda-Wiedenbrück, Sassend. = Sassendorf.

| Kläranlage | # | ESBL-Gene | | | Carbapenemase-Gene | | | | |
|-------------------------------|----------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | <i>bla</i> _{TEM} | <i>bla</i> _{SHV} | <i>bla</i> _{CTX-M} | <i>bla</i> _{OXA-48} | <i>bla</i> _{NDM} | <i>bla</i> _{KPC} | <i>bla</i> _{VIM} | <i>bla</i> _{IMP} |
| "Zulauf" ¹⁾ | n | | | | | | | | |
| Engelskirchen (a) | 5 | 1/5 | 1/5 | 5/5 | 0/5 | 1/5 | 5/5 | 0/5 | 1/5 |
| Lüdensch. Sch. (b) | 3 | 3/3 | 2/3 | 1/3 | 3/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 | 1/3 |
| Münster-Geist (c) | 3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 | 1/3 | 0/3 | 3/3 | 3/3 | 1/3 |
| R.-W., Rheda (d) | 4 | 3/4 | 0/4 | 2/4 | 1/4 | 0/4 | 0/4 | 4/4 | 1/4 |
| Rahmedetal (e) | 3 | 1/3 | 2/3 | 2/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 2/3 |
| Rheinbach (f) | 3 | 1/3 | 1/3 | 3/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 1/3 | 0/3 |
| Stemwede (g) | 4 | 2/4 | 1/4 | 2/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 |
| Bad Sassend. (h) | 3 | 2/3 | 3/3 | 2/3 | 3/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 1/3 |
| Monschau (i) | 3 | 0/3 | 3/3 | 1/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| Konzen (j) | 3 | 2/3 | 0/3 | 3/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 2/3 |
| Ablauf | n | | | | | | | | |
| Engelskirchen (a) | 5 | 0/5 | 2/5 | 2/5 | 0/5 | 0/5 | 5/5 | 0/5 | 5/5 |
| Lüdensch. Sch. (b) | 3 | 0/3 | 1/3 | 0/3 | 3/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Münster-Geist (c) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 1/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 2/3 |
| R.-W., Rheda (d) | 4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 |
| Rahmedetal (e) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| Rheinbach (f) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| Stemwede (g) | 4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 4/4 |
| Bad Sassend. (h) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| Monschau (i) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Konzen (j) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |

Tabelle 24: Vorkommen von ESBL- bzw. Carbapenemase-Genen im Oberflächenwasser aus Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen (KA) mit (a-d) bzw. ohne (e-j) Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 1/3 = Nachweis in 1 von 3 Proben). Lüdenschl. = Lüdenscheid-Schlittenbachtal, R.-W. = Rheda-Wiedenbrück, Sassend. = Sassendorf.

| Fließgewässer | # | ESBL-Gene | | | Carbapenemase-Gene | | | | |
|--------------------------------|----------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | <i>bla</i> _{TEM} | <i>bla</i> _{SHV} | <i>bla</i> _{CTX-M} | <i>bla</i> _{OXA-48} | <i>bla</i> _{NDM} | <i>bla</i> _{KPC} | <i>bla</i> _{VIM} | <i>bla</i> _{IMP} |
| oberhalb Einleitung KA | n | | | | | | | | |
| Engelskirchen (a) | 5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 |
| Lüdenschl. Schl. (b) | 3 | 0/3 | 0/3 | 1/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Münster-Geist (c) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| R.-W., Rheda (d) | 4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 |
| Rahmedetal (e) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Rheinbach (f) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Stemwede (g) | 2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 | 0/2 |
| Bad Sassend. (h) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Monschau (i) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Konzen (j) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| unterhalb Einleitung KA | n | | | | | | | | |
| Engelskirchen (a) | 5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 0/5 | 4/5 | 0/5 | 1/5 |
| Lüdenschl. Schl. (b) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 1/3 | 1/3 | 0/3 | 1/3 | 2/3 |
| Münster-Geist (c) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| R.-W., Rheda (d) | 4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 1/4 |
| Rahmedetal (e) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 |
| Rheinbach (f) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 1/3 |
| Stemwede (g) | 4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 4/4 |
| Bad Sassend. (h) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 2/3 |
| Monschau (i) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Konzen (j) | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |

Tabelle 25: Vorkommen von ESBL- bzw. Carbapenemase-Genen im Rohabwasser (Zulauf; nach Siebung bzw. Fettabscheider [Betrieb B]) und behandeltem Abwasser (Ablauf) aus Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) von Betrieben der Fleischwirtschaft [Direkteinleiter Geflügelschlachtung (Betrieb A) bzw. Verarbeitung von Geflügel (Betrieb B); Indirekteinleiter Schweineschlachtung (Betriebe C und D)]. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben).

| ABA | # | ESBL-Gene | | | Carbapenemase-Gene | | | | |
|---------------|----------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | <i>bla</i> _{TEM} | <i>bla</i> _{SHV} | <i>bla</i> _{CTX-M} | <i>bla</i> _{OXA-48} | <i>bla</i> _{NDM} | <i>bla</i> _{KPC} | <i>bla</i> _{VIM} | <i>bla</i> _{IMP} |
| Zulauf | n | | | | | | | | |
| Betrieb A | 3 | 3/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Betrieb B | 3 | 0/3 | 0/3 | 3/3 | 1/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Betrieb C | 3 | 2/3 | 0/3 | 0/3 | 1/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Betrieb D | 4 | 4/4 | 0/4 | 1/4 | 1/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 |
| Ablauf | n | | | | | | | | |
| Betrieb A | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Betrieb B | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Betrieb C | 3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 | 0/3 |
| Betrieb D | 4 | 0/4 | 0/4 | 1/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 | 0/4 |

Wie zu erwarten, wurden Carbapenemase-Gene vorwiegend in Krankenhausabwässern (Tabelle 22) und Rohabwässern aus Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet nachgewiesen. Insgesamt wurden ESBL- und Carbapenemase-Gene häufiger in Rohabwässern als in behandelten Abwässern ermittelt. Das ESBL-Gen *bla*_{TEM} und die Carbapenemase-Gene *bla*_{NDM} und *bla*_{VIM} wurden in Zuläufen, aber nie in Abläufen der Kläranlagen nachgewiesen (Tabelle 23).

In Wasserproben aus Fließgewässern oberhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlagen wurden – mit einer Ausnahme (einmaliger Nachweis von *bla*_{CTX-M}) – ebenso wie in solchen aus dem Bereich unterhalb der jeweiligen Einleitung keine ESBL-Gene nachgewiesen; desgleichen wurden keine Carbapenemase-Gene in Gewässern oberhalb der Einleitungen festgestellt (Tabelle 24). Jedoch waren Carbapenemase-Gene in den Fließgewässern unterhalb der Einleitung von Kläranlagen nachweisbar, insbesondere im Fall der Einleitungen von Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet.

Insgesamt ist eine auffällige Ausnahme in Bezug auf *bla*_{IMP} erkennbar. Dieses Carbapenemase-Gen wurde tendenziell häufiger im behandelten Abwasser als im Rohabwasser nachgewiesen, außerdem auch im Fall von Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet (Tabelle 23) und auch häufig im Gewässer unterhalb der Einleitungen (Tabelle 24).

4.6.2 Vancomycin-Resistenz-Gene

Die Vancomycin-Resistenz-Gene *vanA* und/oder *vanB* wurden in Proben aller Krankenhausabwässer (Tabelle 26), Rohabwässer und behandelten Abwässer (Tabelle 27 und Tabelle 29) nachgewiesen mit Ausnahme des Ablaufs der Kläranlage Konzen (MBR) und des Ablaufs der Abwasserbehandlungsanlage des Betriebs B (Verarbeitung von Geflügel). Das *vanB*-Gen fand sich sogar in sämtlichen Krankenhausabwasser- sowie Rohabwasserproben aller Kläranlagen (Tabelle 26 und Tabelle 27).

In Fließgewässern oberhalb der Einleitung der untersuchten Kläranlagen wurde *vanA* und/oder *vanB* nur in Ausnahmefällen festgestellt. In einer Wasserprobe aus der Agger oberhalb der Einleitung der KA Engelskirchen war *vanB* vorhanden; in einer bzw. zwei Wasserproben aus dem Schlittenbach oberhalb der Einleitung der KA Lüdenscheid-Schlittenbachtal *vanA* bzw. *vanB* (Tabelle 28). Unterhalb der Einleitung der untersuchten Kläranlagen wurde hingegen mehrheitlich – bei sieben von zehn Kläranlagen – in Wasserproben *vanA* und/oder *vanB* festgestellt (Tabelle 28). Nicht nachgewiesen wurden die untersuchten Vancomycin-Resistenz-Gene in Proben aus der Ems unterhalb der Einleitung der KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda, aus der Rur unterhalb der Einleitung der KA Monschau und aus dem Laufenbach unterhalb der Einleitung der KA Konzen.

Tabelle 26: Vorkommen von Vancomycin-Resistenz-Genen im Abwasser aus Krankenhäusern (KH) bzw. einer Reha- und einer Sportklinik. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben). Zul. ABA = Zulauf Abwasserbehandlungsanlage.

| Krankenhaus bzw. Klinik | # | Vancomycin-Resistenz-Gene | |
|-------------------------|----------|---------------------------|------|
| | | vanA | vanB |
| Abwasser | n | | |
| KH 1 | 2 | 2/2 | 2/2 |
| Rehaklinik | 3 | 0/3 | 3/3 |
| KH 2, Hauptgeb. | 3 | 3/3 | 3/3 |
| KH 2, Haus 2-6 | 3 | 2/3 | 3/3 |
| Sportklinik | 3 | 0/3 | 3/3 |
| KH 3, Haus 1 | 3 | 3/3 | 3/3 |
| KH 3, Haus 2 | 3 | 2/3 | 3/3 |
| KH 4 (Zul. ABA) | 3 | 3/3 | 3/3 |
| KH 5 (Zul. ABA) | 2 | 2/2 | 2/2 |

Tabelle 27: Vorkommen von Vancomycin-Resistenz-Genen im Rohabwasser ("Zulauf") und behandeltem Abwasser (Ablauf) aus Kläranlagen mit (a-d) bzw. ohne (e-j) Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben). 1) Ablauf Sandfang; Lüdensch. Sch. = Lüdenscheid-Schlittenbachtal, R.-W. = Rheda-Wiedenbrück, Sassend. = Sassendorf.

| Kläranlage | # | Vancomycin-Resistenz-Gene | | Kläranlage | # | Vancomycin-Resistenz-Gene | |
|--------------------|----------|---------------------------|------|--------------------|----------|---------------------------|------|
| | | vanA | vanB | | | vanA | vanB |
| "Zulauf" 1) | n | | | Ablauf | n | | |
| Engelskirchen (a) | 5 | 5/5 | 5/5 | Engelskirchen (a) | 5 | 1/5 | 5/5 |
| Lüdensch. Sch. (b) | 3 | 3/3 | 3/3 | Lüdensch. Sch. (b) | 3 | 3/3 | 3/3 |
| Münster-Geist (c) | 3 | 3/3 | 3/3 | Münster-Geist (c) | 3 | 2/3 | 2/3 |
| R.-W., Rheda (d) | 4 | 2/4 | 4/4 | R.-W., Rheda (d) | 4 | 0/4 | 1/4 |
| Rahmedetal (e) | 3 | 3/3 | 3/3 | Rahmedetal (e) | 3 | 3/3 | 3/3 |
| Rheinbach (f) | 3 | 1/3 | 3/3 | Rheinbach (f) | 3 | 2/3 | 2/3 |
| Stemwede (g) | 4 | 1/4 | 4/4 | Stemwede (g) | 4 | 0/4 | 3/4 |
| Bad Sassend. (h) | 3 | 3/3 | 3/3 | Bad Sassend. (h) | 3 | 3/3 | 2/3 |
| Monschau (i) | 3 | 1/3 | 3/3 | Monschau (i) | 3 | 1/3 | 2/3 |
| Konzen (j) | 3 | 1/3 | 3/3 | Konzen (j) | 3 | 0/3 | 0/3 |

Tabelle 28: Vorkommen von Vancomycin-Resistenz-Genen im Oberflächenwasser aus Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen (KA) mit (a-d) bzw. ohne (e-j) Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 1/3 = Nachweis in 1 von 3 Proben). Lüdensch. Schl. = Lüdenscheid-Schlittenbachtal, R.-W. = Rheda-Wiedenbrück, Sassend. = Sassendorf.

| Fließgewässer | # | Vancomycin-Resistenz-Gene | | Fließgewässer | # | Vancomycin-Resistenz-Gene | |
|-------------------------------|----------|---------------------------|------|--------------------------------|----------|---------------------------|------|
| | | vanA | vanB | | | vanA | vanB |
| oberhalb Einleitung KA | n | | | unterhalb Einleitung KA | n | | |
| Engelskirchen | 5 | 0/5 | 1/5 | Engelskirchen | 5 | 3/5 | 4/5 |
| Lüdensch. Schl. | 3 | 1/3 | 2/3 | Lüdensch.Schl. | 3 | 0/3 | 3/3 |
| Münster-Geist | 3 | 0/3 | 0/3 | Münster-Geist | 3 | 2/3 | 2/3 |
| R.-W., Rheda | 4 | 0/4 | 0/4 | R.-W., Rheda | 4 | 0/4 | 0/4 |
| Rahmedetal | 3 | 0/3 | 0/3 | Rahmedetal | 3 | 1/3 | 2/3 |
| Rheinbach | 3 | 0/3 | 0/3 | Rheinbach | 3 | 0/3 | 1/3 |
| Stemwede | 2 | 0/2 | 0/2 | Stemwede | 4 | 0/4 | 3/4 |
| Bad Sassend. | 3 | 0/3 | 0/3 | Bad Sassend. | 3 | 2/3 | 0/3 |
| Monschau | 3 | 0/3 | 0/3 | Monschau | 3 | 0/3 | 0/3 |
| Konzen | 3 | 0/3 | 0/3 | Konzen | 3 | 0/3 | 0/3 |

Tabelle 29: Vorkommen von Vancomycin-Resistenz-Genen im Rohabwasser (Zulauf; nach Siebung bzw. Fettabscheider [Betrieb B]) und behandeltem Abwasser (Ablauf) aus Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) von Betrieben der Fleischwirtschaft [Direkteinleiter Geflügelschlachtung (Betrieb A) bzw. Verarbeitung von Geflügel (Betrieb B); Indirekteinleiter Schweineschlachtung (Betriebe C und D)]. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben).

| ABA | # | Vancomycin-Resistenz-Gene | | ABA | # | Vancomycin-Resistenz-Gene | |
|---------------|----------|---------------------------|------|---------------|----------|---------------------------|------|
| | | vanA | vanB | | | vanA | vanB |
| Zulauf | n | | | Ablauf | n | | |
| Betrieb A | 3 | 3/3 | 3/3 | Betrieb A | 3 | 2/3 | 2/3 |
| Betrieb B | 3 | 0/3 | 1/3 | Betrieb B | 3 | 0/3 | 0/3 |
| Betrieb C | 3 | 3/3 | 3/3 | Betrieb C | 3 | 3/3 | 3/3 |
| Betrieb D | 4 | 4/4 | 4/4 | Betrieb D | 4 | 0/4 | 1/4 |

4.7 Badegewässer mit Abwassereinleitungen im Einzugsgebiet

Im Rahmen des ARB-Projekts wurden in der Badesaison 2020 drei Badegewässer auf ein Vorkommen von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien sowie Antibiotikaresistenzgenen untersucht:

1. Aasee - Badestelle, Kreis Borken, Stadt Bocholt
2. Bettenkamper Meer - Strand, Kreis Wesel, Stadt Moers
3. Seaside Beach/Baldeneysee, Stadt Essen

Dabei handelt es sich um Badegewässer, die bereits im Rahmen des Badegewässer-Screenings²³ im Jahr 2018 untersucht wurden und in deren Einzugsgebiet Abwassereinleitungen vorhanden sind (siehe Kapitel 2.1.4).

Im Zeitraum von Ende Mai bis Anfang September 2020 wurden die drei Badegewässer jeweils viermal in jeweils etwa monatlichem Zeitabstand beprobt (Tabelle 30). An den jeweiligen Probenahmedaten sowie im Zeitraum mindestens drei Tage vor der Probenahme gab es keine starken Niederschläge ($\geq 10,0$ mm pro Stunde).

Nach den Anforderungen der Badegewässerrichtlinie und der nordrhein-westfälischen Badegewässerverordnung wurden die im ARB-Projekt untersuchten Badegewässer als „ausgezeichnet“ (Aasee, Bettenkamper Meer) bzw. „gut“ (Seaside Beach/Baldeneysee) eingestuft.

Neben der Bewertung der Badegewässerqualität und der Einstufung der Badegewässer sind nach Badegewässerverordnung (§ 7 Abs. 2) auch Maßnahmen bei Feststellung hoher Einzelwerte vorgeschrieben; für den Parameter Intestinale Enterokokken gilt das bei Einzelwerten von mehr als 700 KBE/100 ml, für den Parameter *Escherichia coli* bei Einzelwerten von mehr als 1.800 KBE/100 ml. In einer Probe aus dem Badegewässer Bettenkamper Meer wurde eine Konzentration an Intestinalen Enterokokken von > 700 KBE/100 ml nachgewiesen (Tabelle 30).

Die Untersuchung der Wasserproben aus den Badegewässern auf antibiotikaresistente Bakterien und Antibiotikaresistenzgene umfasste folgende Parameter:

- 3CG-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe sowie mit bestätigter ESBL- bzw. Carbapenemase-Produktion,
- *P. aeruginosa* mit Resistenzen gegenüber Ceftazidim, Cefepim, Imipenem, Meropenem,
- *Acinetobacter baumannii*-Gruppe mit Resistenz gegenüber Imipenem und Meropenem bzw. Carbapenemase-Produktion,
- 3MRGN, 4MRGN,
- Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium* und *E. faecalis*,
- ESBL-Gene (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} und *bla*_{CTX-M}) und Carbapenemase-Gene (*bla*_{OXA-48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM} und *bla*_{IMP}) sowie Van-Gene (*vanA* und *vanB*).

²³ LANUV im Auftrag des NRW Umweltministeriums in Kooperation mit dem Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit/ Public Health (IHPH) am Universitätsklinikum Bonn. https://www.lanuv.nrw.de/fileadmin/lanuvpubl/3_fachberichte/LANUV_Fachbericht_93_web.pdf

Tabelle 30: Badegewässer – Probenahme (PN) Datum und Uhrzeit, Wassertemperatur, Trübung sowie Parameter nach Badegewässerverordnung (*Escherichia coli*, Intestinale Enterokokken).

| PN-Datum | PN-Zeit | T _{Wasser} [°C] | Trübung [FNU] | <i>E. coli</i> [MPN/100 ml] | Int. Enterok. [MPN/100 ml] |
|--------------------------|---------|-----------------------------|------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Aasee | | | | | |
| 26.05.2020 | 10:58 | 18,1 | 1,5 | < 15 | < 15 |
| 23.06.2020 | 09:45 | 22,1 | 10,0 | 15 | 15 |
| 28.07.2020 | 11:10 | 21,0 | 8,0 | < 38 | < 38 |
| 25.08.2020 | 09:30 | 20,5 | 22,0 | < 15 | < 15 |
| Bettenkamper Meer | | | | | |
| 03.06.2020 | 09:35 | 19,3 | 1,5 | 270 | 1.500 |
| 07.07.2020 | 09:33 | 17,3 | 1,6 | 94 | < 15 |
| 05.08.2020 | 08:25 | 19,3 | 1,9 | 15 | 15 |
| 07.09.2020 | 08:55 | 16,0 | 1,4 | 144 | 127 |
| Seaside Beach | | | | | |
| 02.06.2020 | 09:49 | 21,4 | 2,0 | 15 | 77 |
| 30.06.2020 | 11:10 | 21,7 | 3,0 | 15 | 15 |
| 04.08.2020 | 11:45 | 23,1 | 2,0 | 110 | 15 |
| 01.09.2020 | 11:44 | 19,6 | 3,0 | 127 | 46 |

In den Proben aus den Badegewässern „Freizeitanlage Aasee Bocholt“ und „Bettenkamper Meer/Strand“ wurden keine der aufgeführten antibiotikaresistenten Bakterien oder Antibiotikaresistenzgene nachgewiesen.

In einer Probe aus dem Badegewässer „Seaside Beach/Baldeneysee“ (Datum der Probenahme: 01.09.2020) wurden ESBL-bildende *E. coli* und ESBL-bildende *P. aeruginosa* nachgewiesen – jeweils in einer Konzentration von 1 KBE /100 ml. Das *E. coli*-Isolat ist nach KRINKO Klassifizierung als 3MRGN einzustufen. Andere antibiotikaresistente Bakterien oder Antibiotikaresistenzgene wurden nicht nachgewiesen. Zum Zeitpunkt der Probenahme herrschte Badeverbot²⁴.

²⁴ Informationen bzgl. Aussprechen eines zeitweisen Badeverbots und Frühwarnsystem am Badegewässer „Seaside Beach / Baldeneysee“ sind im Badegewässerprofil aufgeführt (siehe <https://db.badegewaesser.nrw.de/badegewaesser-nrw/113/pdf>).

5 Interpretation und Einordnung der Ergebnisse

Neben dem seit Jahrzehnten bekannten Auftreten von human- und tiermedizinisch relevanten antibiotikaresistenten bzw. multiresistenten Bakterien im Rahmen der Anwendung von Antibiotika im klinischen Bereich, bei der ambulanten Behandlung von Patienten und in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung, wird auch zunehmend die aquatische Umwelt als Reservoir für Antibiotikaresistenzen (ARB, ARG) beschrieben (WESTPHAL-SETTELE et al. 2018, LARSSON & FLACH 2022). Im Fokus von Studien zu den Quellen und der Verbreitung multiresistenter Krankheitserreger stehen Abwässer unterschiedlicher Herkunft. Insbesondere Abwässer von Krankenhäusern und anderen medizinischen Einrichtungen, aber auch Abwässer aus fleischverarbeitenden Betrieben, Abwässer aus dem vorwiegend häuslichen Bereich sowie die kommunalen Rohabwässer im Zulauf von Kläranlagen, behandeltes Abwasser im Ablauf der Kläranlagen sowie Oberflächengewässer, in die das Abwasser eingeleitet wird (SIB et al. 2020), werden als Quellen beschrieben. In der Regel werden in den Untersuchungen ARB, insbesondere multiresistente klinisch-relevante, fakultativ-pathogene Bakterien fäkaler Herkunft sowie ARG und Antibiotikarückstände berücksichtigt. In zahlreichen Studien wurden weltweit und auch in Deutschland die Quellen und die Verbreitung von ARB und ARG entlang der einzelnen Schritte des Abwasserpfads vom Rohabwasser über die Kläranlagen bis in die Oberflächengewässer umfangreich untersucht. Allerdings sind die Ergebnisse im Detail aufgrund der unterschiedlichen Fragestellungen, Messprogramme und analytischen Methoden nicht immer vergleichbar (HASSOUN-KHEIR et al. 2020, TRESKOVA et al. 2022).

In den letzten Jahren sind in Deutschland Untersuchungen im Rahmen von Forschungsvorhaben zu dieser Thematik unter verschiedenen Aspekten durchgeführt worden. Dabei sind die Untersuchungsprogramme in Niedersachsen (NLWKN, UKB, IHPH 2019), Schleswig-Holstein (WELLBROCK et al. 2019, Forschungsprojekt PrioSH) und Bayern (BAYERISCHES LANDESAMT FÜR UMWELT 2020) sowie das bundesweite BMBF-Verbundvorhaben HyReKA, auch mit Berücksichtigung von Abwässern in Nordrhein-Westfalen (HYREKA 2022), und (parallel zum LANUV ARB-Projekt) ebenfalls in Nordrhein-Westfalen das Forschungsprojekt „Antibiotika und Antibiotikaresistenzen im Abwasser“ (ZACHARIAS et al. 2023; ARA-Projekt) zu nennen. Im vorliegenden ARB-Projekt, das am Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) umgesetzt wurde, liegt der Schwerpunkt auf einer stichprobenartigen Bestandsaufnahme in Nordrhein-Westfalen zum Vorkommen von ARB und ARG in Krankenhausabwässern, kommunalen Abwässern ohne und mit Krankenhausabwasseranteil und deren Behandlung in Kläranlagen als mögliche Quellen und Eintragspfade in Oberflächengewässer. Darüber hinaus wurden Abwässer aus Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung berücksichtigt, um zu untersuchen, ob ein Einfluss von Ozonung, UV-Bestrahlung, Membranfiltration oder Retentionsbodenfilter auf die Rückhaltung von ARB und ARG zu erkennen ist. Berücksichtigt wurden außerdem Abwässer aus Betrieben der Fleischwirtschaft sowie Badegewässer mit Abwassereinleitungen im Einzugsgebiet. Für diesen stichprobenartigen Überblick zum Vorkommen von klinisch-relevanten ARB und ARG wurde ein Messprogramm über einen Zeitraum von etwa zwei Jahren durchgeführt.

Im ARB-Projekt wurde auf klinisch-relevante, fakultativ-pathogene ARB untersucht, die in der globalen WHO-Prioritätenliste antibiotikaresistenter Bakterien (WHO 2017) aufgeführt sind und bezüglich der Multiresistenz gramnegativer Bakterien in 3MRGN und 4MRGN gemäß der KRINKO (2012, 2019) klassifiziert wurden. Die gramnegativen Bakterien umfassten *Enterobacterales* der Art *E. coli* sowie die Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* (KEC-

Gruppe) mit Resistenzen gegenüber dem Antibiotikum Cefpodoxim, einem Cephalosporin der dritten Generation (3GC-resistente Bakterien) und Indikator-Cephalosporin für den Nachweis der Produktion von „Extended-Spectrum-Beta-Lactamasen“ (ESBL). Weiterhin wurde auf diese Zielorganismen mit bestätigter ESBL- bzw. Carbapenemase-Produktion, auf *Pseudomonas aeruginosa* mit Antibiotikaresistenzen gegenüber 3./4. Generations-Cephalosporinen und Carbapenemen (Ceftazidim, Cefepim, Imipenem, Meropenem) sowie die *Acinetobacter baumannii*-Gruppe mit Carbapenem-Resistenz (Resistenz gegenüber den Antibiotika Imipenem und Meropenem bzw. Carbapenemase-Produktion) untersucht. Bei den grampositiven Bakterien handelte es sich um Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE).

Der Nachweis und die Quantifizierung aller ARB in Abwasser- und Oberflächenwasserproben erfolgte basierend auf Kultivierungsverfahren unter Verwendung von spezifischen Selektivgarnährmedien unter Bedingungen, die in gleicher oder ähnlicher Form auch in anderen Studien zum Nachweis von multiresistenten fakultativ-pathogenen Bakterien in Abwasser und Oberflächenwasser verwendet wurden – zum Teil in Kombination oder ausschließlich mit dem molekularbiologischen Nachweis von ARG und dem chemischen Nachweis von Antibiotikarückständen (HEMBACH et al., 2019; SIB et al., 2020; BAYERISCHES LANDESAMT FÜR UMWELT 2020; SCHREIBER et al. 2020; HYREKA 2020, 2022; ZACHARIAS et al. 2023).

Generell wurde im ARB-Projekt festgestellt, dass 3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe (Resistenz gegen 3. Generations-Cephalosporine) in allen untersuchten Abwasserkategorien vorhanden waren. Eine weite Verbreitung von fakultativ-pathogenen Bakterien (*E. coli*, *Klebsiella*-, *Enterobacter*- und *Citrobacter*-Spezies, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus/ baumannii*-Komplex) mit Resistenz gegenüber 3. Generations-Cephalosporinen wurde ebenfalls in verschiedenen Abwässern unterschiedlicher Herkunft (Abwasser aus einem Krankenhaus der Maximalversorgung, kommunale Abwässer aus einer Stadt und ländlichen Ortschaften, Abwasser von je zwei Schweine- bzw. Geflügelschlachthöfen) gefunden (SIB et al. 2020). Eine Verbreitung von ARB vom Abwasser in Oberflächengewässer findet statt, zum einen als Eintrag über das in Kläranlagen behandelte Abwasser, aber es ist auch zu berücksichtigen, dass mit unbehandeltem Rohabwasser über Entlastungen der Mischkanalisation im Falle von Starkregenereignissen kurzzeitig eine deutlich höhere Belastung der Gewässer mit Fäkalbakterien, ARB und ARG stattfindet als durch den Eintrag über gereinigtes Abwasser aus kommunalen Kläranlagen (BAYERISCHES LANDESAMT FÜR UMWELT 2020).

5.1 Krankenhausabwässer als Quelle klinisch-relevanter multiresistenter ARB

Abwässer aus Krankenhäusern stellen eine bedeutende Quelle von multiresistenten fakultativ-pathogenen Bakterien dar (ZURFLUH et al. 2017, SIB et al. 2019, 2020, HYREKA 2022). Im ARB-Projekt wurden 3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe in allen unbehandelten Abwasserproben (mit einer Ausnahme) von fünf Krankenhäusern, einer Reha- und einer Sport-Klinik ebenso wie in allen Proben des nachgeschalteten klinisch beeinflussten Rohabwassers im Zulauf von drei entsprechenden kommunalen Kläranlagen (mit den höchsten Krankenhausabwasseranteilen in Nordrhein-Westfalen), aber auch in klinisch unbeeinflusstem Rohabwasser im Zulauf kommunaler Kläranlagen, in ähnlicher Größenordnung von ca. 10⁵ KBE/100 ml nachgewiesen. In anderen Untersuchungen von Abwässern aus Krankenhäusern und von Rohabwasser im Zulauf zu Kläranlagen in Nordrhein-Westfalen wurden ebenfalls

keine deutlichen Unterschiede der Konzentrationen von ESBL-produzierenden (3GC-resistenten) *E. coli* in klinisch beeinflusstem und klinisch unbeeinflusstem Rohabwässern festgestellt (HYREKA 2022, ZACHARIAS et al. 2023). Die Konzentrationen ESBL-produzierender *E. coli* lagen im Bereich von $5,0 \times 10^4$ KBE/100 ml bis $1,4 \times 10^5$ KBE/100 ml im HyReKA-Projekt bzw. $3,5 \times 10^4$ KBE/100 ml bis $1,3 \times 10^5$ KBE/100 ml im ARA-Projekt (ZACHARIAS et al. 2023) (jeweils Mediane der Proben an unterschiedlichen Abwasser-Probenahmestellen). In einer Studie an schleswig-holsteinischen kommunalen Kläranlagen zeigten sich vergleichbare Konzentrationen von 3GC-resistenten *E. coli* (hier verwendet als Surrogat-Organismus für die in der Darmflora von Mensch und Tier vorkommenden multiresistenten Erreger) in dem den Kläranlagen zugeführten Rohabwasser (WELLBROCK et al. 2019).

Im Unterschied zu den ubiquitär vorhandenen 3GC-resistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe wurden im ARB-Projekt Carbapenemase-bildende *E. coli* und KEC zwar im Abwasser von vier Krankenhäusern im ähnlichen Konzentrationsbereich wie die 3GC-resistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe nachgewiesen, nicht aber im Abwasser einer Rehaklinik, einer Sportklinik und eines weiteren Krankenhauses. Auch in den Rohabwässern (Zuläufen) der Kläranlagen mit den Krankenhäusern im Einzugsgebiet wurden Carbapenemase-bildende *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe nachgewiesen. Dabei wurden Konzentrationen im Mittel etwa eine Log-Stufe niedriger verglichen mit denen der 3GC-resistenten *E. coli* und KEC gefunden.

In den behandelten Abwässern (Abläufe) aller Kläranlagen mit konventioneller mechanisch-biologischer Behandlung waren noch 3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe vorhanden, im Mittel um etwa 3 Log-Stufen niedriger als im Rohabwasser; bei zwei der drei Kläranlagen mit angeschlossenen Krankenhäusern wurden im Ablauf der Kläranlagen Carbapenemase-bildende (KPC, VIM) *E. coli* und/oder KEC in niedrigen Konzentrationen nachgewiesen. Zudem waren im Fall einer Kläranlage KPC-produzierende *E. coli* und KEC im Fließgewässer unterhalb der Einleitung des Abwassers nachweisbar.

Diese Befunde weisen darauf hin, dass kein deutlicher Einfluss der Krankenhausabwässer auf die Konzentration 3GC-resistenter *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe im kommunalen Rohabwasser (Zulauf zu den kommunalen Kläranlagen) vorlag; dies steht im Gegensatz zu den Carbapenemase-bildenden *E. coli* und KEC, deren maßgebliche Quelle Krankenhausabwasser darstellt.

Durch die MRGN-Klassifizierung von *E. coli*- und KEC-Isolaten auf Basis ihrer phänotypischen Resistenzeigenschaften gemäß KRINKO-Empfehlung (KRINKO 2012, 2019) wurde festgestellt, dass in den Abwässern der Krankenhäuser sowohl 3MRGN als auch 4MRGN vorhanden waren. 3MRGN-Isolate von *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe wurden in unterschiedlicher Häufigkeit aus dem Abwasser der beprobten Krankenhäuser, Rehaklinik und Sportklinik erhalten. 4MRGN-Isolate wurden nur aus den Abwässern der Krankenhäuser, nicht aber aus der Reha- und Sportklinik erhalten. Die immunochromatographisch nachgewiesenen Carbapenemasen der 4MRGN-Isolate wiesen eine ungleiche Verbreitung in den Abwässern der einzelnen Krankenhäuser auf; es erfolgte z. B. der Nachweis ausschließlich KPC-positiver Isolate oder nur OXA-48-positiver Isolate oder auch Isolate mit verschiedenen Carbapenemasen. In *E. coli*-Isolaten wurden die Carbapenemasen KPC, OXA-48 oder VIM nachgewiesen, in *Klebsiella*-Spezies die Carbapenemasen KPC, VIM, NDM oder die Kombination VIM und NDM (*Klebsiella pneumoniae*), in *Enterobacter*-Spezies die Carbapenemasen KPC oder OXA-48 und in *Citrobacter*-Spezies die Carbapenemasen KPC oder VIM. Durch den sporadischen Einsatz

von CHROMagar mSuper CARBA erhöhte sich die Varianz der nachgewiesenen Carbapenemase-Kombinationen.

Multiresistente *P. aeruginosa* mit Resistenzen gegenüber Cephalosporinen der 3. Generation (Ceftazidim), der 4. Generation (Cefepim) und Carbapenemen (Imipenem und Meropenem) wurden in allen unbehandelten Krankenhausabwässern und in den entsprechenden Rohabwässern im Zulauf der kommunalen Kläranlagen mit den Krankenhäusern im Einzugsgebiet nachgewiesen (Median in der Größenordnung von 10^4 KBE/100 ml), während in klinisch unbeeinflussten Rohabwässern der Nachweis nur selten in Einzelfällen erfolgte. Im Abwasser eines Krankenhauses wurden zudem 4MRGN-Isolate von *P. aeruginosa* mit unterschiedlichen Carbapenemasen (GIM-1, VIM-1, VIM-2, IMP-31) gefunden. Wie im ARB-Projekt ist das erhöhte Vorkommen antibiotikaresistenter *P. aeruginosa* einschließlich multiresistenter Stämme (4MRGN, Carbapenemase-Produzenten) in Krankenhausabwässern im Vergleich zu kommunalem Abwasser auch in anderen Studien beobachtet worden (SLEKOVEC et al. 2012, HOCQUET et al. 2016, HyReKA 2022). Es wurden Carbapenemase-produzierende *P. aeruginosa* (*bla*_{VIM}, *bla*_{IMP-29}) in Klinikabwässern identifiziert, die über den Abwasserpfad bis in den Ablauf der entsprechenden Kläranlagen gelangten (SLEKOVEC et al. 2012, MÜLLER et al. 2018, KEHL et al. 2022).

Bakterien der *Acinetobacter baumannii*-Gruppe mit Carbapenem-Resistenz wurden in den untersuchten Abwässern nicht nachgewiesen.

VRE, bei denen es sich ausschließlich um *Enterococcus faecium* handelte, wurden im Abwasser aller Krankenhäuser, in den klinisch-beeinflussten Rohabwässern im Zulauf zu den Kläranlagen und in den klinisch-unbeeinflussten kommunalen Rohabwässern im ähnlichen Konzentrationsbereich (Median ca. 10^3 KBE/100 ml) nachgewiesen, d. h., es gab keine deutlichen Unterschiede in der Abundanz von VRE in den Abwässern ohne bzw. mit Krankenhausabwasseranteil. Im Gegensatz dazu ließen sich im HyReKa-Projekt aus klinischem Abwasser deutlich mehr VRE isolieren als aus urbanem/kommunalem Abwasser ohne angeschlossenes Krankenhaus bzw. aus häuslichem Abwasser (HYREKA 2022). Allerdings wurde in einer internationalen Übersicht festgestellt, dass Krankenhäuser nicht durchgehend zur zusätzlichen Belastung von Abwässern mit VRE beitragen; in fünf von 10 Studien wurden höhere Konzentrationen von VRE in Krankenhausabwässern als in kommunalen Abwässern ohne Klinikanteil gefunden und in vier von fünf Studien war es umgekehrt (HASSOUN-KHEIR et al. 2020).

Insgesamt zeigen die Befunde des ARB-Projekts, dass antibiotikaresistente bzw. multiresistente fakultativ-pathogene *E. coli* sowie Bakterien der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *P. aeruginosa* und VRE im Abwasser von Krankenhäusern mit Antibiotikaeinsatz verbreitet vorkommen können und bei Ableitung in das kommunale Abwassersystem im Rohabwasser bis zum Zulauf der Kläranlagen nachweisbar sind. Im HyReKA-Projekt wurde ebenfalls eine deutliche und persistierende Kontamination insbesondere des Krankenhausabwassers mit fakultativ pathogenen ARB inklusive multiresistenter gramnegativer Krankheitserreger, darunter 4MRGN, sowie multiresistenter *P. aeruginosa* auch in der angeschlossenen Kanalisation bis hin zum Kläranlagenzulauf nachgewiesen (MÜLLER et al. 2018, HYREKA 2022).

Die Beobachtungen im ARB-Projekt, dass Krankenhausabwässer eine Quelle von multiresistenten Bakterien darstellen können, entsprechen den Erkenntnissen anderer Untersuchungen in Deutschland (MÜLLER et al. 2018, HYREKA 2022, ZACHARIAS et al. 2023) und in anderen

Ländern (HOCQUET et al. 2016; HASSOUN-KHEIR et al. 2020). Eine Kernbotschaft des HyReKa-Projekts stellt die Aussage, dass Krankenhäuser die „stärkste Quelle für multiresistente Bakterien und Antibiotikarückstände“ dar (HYREKA 2022). Es wurde gezeigt, dass Krankenhäuser und besonders Stationen mit hohem Antibiotikaverbrauch Schwerpunkt-Emittenten für hochresistente Erreger sind (MÜLLER et al. 2018, VOIGT et al. 2020, HYREKA 2022). Am Anfang des Abwassersystems in den Krankenhausgebäuden wurden in Proben aus Waschbecken- und Dusch-Siphons sowie Toiletten der Patientenzimmer Kontaminationen mit multiresistenten Erregern, darunter Carbapenemase-bildende 4MRGN-Isolate, nachgewiesen – sowohl im Wasser als auch in Biofilmen (SIB et al. 2019). Multiresistente Pathogene können dann entlang des Abwasserpfads vom Krankenhaus bis hin in die Umwelt, über das Krankenhausroh-abwasser, das kommunale Abwasser, den Zulauf und ggf. noch im Ablauf von Kläranlagen, vorhanden sein, wie es z. B. für Carbapenem-resistente fakultativ-pathogene Bakterien, *Klebsiella pneumoniae* (*bla_{NDM}/bla_{OXA-48}*), *P. aeruginosa* (*bla_{VIM}*) (MÜLLER et al. 2018, KEHL et al. 2022) und *Klebsiella oxytoca* (*bla_{KPC}*) (LOUDERMILK et al. 2022) beschrieben wurde, sodass dadurch ein Eintrag und eine Verbreitung dieser ARB in Oberflächengewässern stattfinden kann (LOUDERMILK et al. 2022, KEHL et al. 2022, HYREKA 2022).

5.1.1 Dezentrale Behandlung von Krankenhausabwasser direkt an der Quelle

Eine Behandlung eines mit multiresistenten Bakterien belasteten Abwassers kann dezentral bereits an der Stelle der Entstehung im Krankenhaus oder erst später nach Vermischung mit kommunalem Abwasser zentral in Kläranlagen erfolgen. Die Behandlung des Abwassers in einem Krankenhaus mittels MBR und nachgeschalteter Ozonung bewirkte insgesamt eine Abnahme von 3GC-*E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe um ca. 5 Log-Stufen, sodass die Bakterien noch in geringer Konzentration (zwei Proben) oder nicht mehr nachweisbar (eine Probe) waren.

Durch die Behandlung von Abwasser in zwei Krankenhäusern durch Einsatz einer MBR-Anlage und nachgeschalteter Ozonung alleine oder parallel mit einer Pulveraktivkohle-Stufe erfolgte eine Reduktion der Konzentration der multiresistenten *P. aeruginosa* und VRE um mehrere Log-Stufen, sodass die Bakterien im behandelten Abwasser nicht mehr oder nur in sehr geringer Konzentration nachgewiesen wurden.

Eine dezentrale Abwasserbehandlung in Krankenhäusern könnte somit die klinische Beeinflussung mit multiresistenten Bakterien von kommunalem Abwasser verringern. Auch im HyReKA-Projekt wird die dezentrale Krankenhausabwasserbehandlung als sinnvoll erwähnt, um die Verbreitung von multiresistenten Bakterien in die Umwelt zu reduzieren bzw. weitgehend zu unterbinden. Zusätzlich trägt eine dezentrale Lösung dazu bei, dass bei Starkregenereignissen weniger unbehandeltes Hochrisiko-Abwasser aus der Mischkanalisation direkt aus dem Kanalnetz in die Gewässer eingeleitet wird (HYREKA 2022).

5.2 Wirkung konventioneller mechanisch-biologischer Abwasserbehandlung in Kläranlagen auf ARB

Die konventionelle mechanisch-biologische Abwasserbehandlung bewirkte eine deutliche Reduktion der antibiotikaresistenten Bakterien, jedoch waren auch im Ablauf der Kläranlagen noch ARB vorhanden. Somit tragen Einleitungen aus Kläranlagen zu einer Grundbelastung der Fließgewässer mit ARB bei. Das Ausmaß der im ARB-Projekt festgestellten Reduktion von ARB in kommunalen Kläranlagen entspricht der Feststellung aus zahlreichen Untersuchungen, dass allgemein hygienisch-relevante Bakterien fäkaler Herkunft in konventionellen Kläranlagen im urbanen wie ländlichen Raum um ca. 2 bis 3 Log-Stufen reduziert werden, weltweit und auch in Deutschland; soweit untersucht scheint dies auch für ARB, einschließlich multiresistenter Krankheitserregern, zuzutreffen (KISTEMANN et al. 2008, EXNER et al. 2018, WELLBROCK et al. 2019, BAYERISCHES LANDESAMT FÜR UMWELT 2020, HYREKA 2022). Zum Beispiel wurden bezüglich der ARB in acht schleswig-holsteinischen Kläranlagen mit mechanisch-biologischer Abwasserreinigung eine deutliche Entfernung von 3GC-resistenten *E. coli* um 2,5 bis 4,3 Log-Stufen festgestellt (WELLBROCK et al. 2019). Dennoch verblieben im Ablauf im Mittel noch ca. 10^2 KBE/100 ml 3GC-resistente *E. coli*. Im HyReKA-Projekt wurde für ARB wie auch andere hygienisch-relevante Mikroorganismen eine Reduktion um im Median 3 Log-Stufen (Spannweite: 2-4 Log-Stufen) während der Passage in Kläranlagen angegeben. Dennoch sind noch multiresistente Isolate im Kläranlagen-Ablauf nachgewiesen worden. Die Typisierung und Genomsequenzierung der Erreger zeigte, dass z. B. Carbapenemase-produzierende ST147 *K. pneumoniae*-Stämme (NDM, OXA-48) im Abwasser einer deutschen Klinik der Maximalversorgung über das entsprechend klinisch-beeinflusste kommunale Abwasser bis hin zum Ablauf der Kläranlage ins Gewässer durchgängig nachweisbar waren (KEHL et al. 2022). Eine Verbreitung von ARB einschließlich multiresistenter Bakterien aus dem Klinikbereich über den Abwasserpfad in die Umwelt kann demnach stattfinden (MÜLLER et al. 2018, SCHREIBER et al. 2020, KEHL et al., 2022). Dies wurde auch durch Untersuchungen des LANUV, die in Kooperation mit dem NRZ Bochum durchgeführt wurden, für im ARB-Projekt untersuchte ausgewählte Krankenhausabwasser-beeinhaltende Probenreihen bestätigt (siehe Kapitel 7).

In diesem Zusammenhang wurde im ARB-Projekt festgestellt, dass die Nachweishäufigkeit bzw. Konzentration multiresistenter Bakterien im Fließgewässer unterhalb der Einleitung der untersuchten Kläranlagen häufig höher waren als im Gewässer oberhalb der Einleitungsstellen. Dies bestätigt die Rolle von Kläranlagenabläufen als Punktquellen von ARB wie es ebenfalls auch in anderen Studien berichtet wurde und auch für ARG und Antibiotikarückstände in Oberflächengewässern zutrifft (MÜLLER et al. 2018, VOIGT et al. 2020).

5.3 Weitergehende Abwasserbehandlung und ihre Wirkung auf ARB

Die konventionelle mechanisch-biologische Abwasserbehandlung in Kläranlagen verhindert nur unzureichend die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen. Um die Möglichkeit einer weiteren Reduktion von ARB im Reinigungsprozess des Abwassers in Kläranlagen zu untersuchen, wurden kommunale Kläranlagen mit bereits in Betrieb befindlicher weitergehender Abwasserbehandlung in das Messprogramm aufgenommen. Es handelte sich um eine begrenzte Auswahl von jeweils einer Kläranlage pro zusätzlicher Verfahrensstufe (UV-Bestrahlung, Retentionsbodenfilter oder Membranfiltration) bzw. zwei Kläranlagen mit Ozonung als zusätzliche Verfahrensstufe. Wie im Fall der kommunalen Kläranlagen ohne weitergehende Behandlung wiesen diese Kläranlagen ebenfalls durch die konventionelle mechanisch-biologische Behandlung eine Reduktion von 3GC-resistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe um ca. drei Log-Stufen auf.

Die weitergehenden Verfahren der Abwasserbehandlung zeigten bezüglich additiver Reduktionleistungen für die Parameter *E. coli* und KEC eine unterschiedliche Effektivität. Im Fall der Ozonung trat keine ausgeprägte Reduktion auf. Bei UV-Bestrahlung und weitergehender Abwasserbehandlung mittels Retentionsbodenfilter wurde eine zusätzliche Reduktion um etwa 2 Log-Stufen bis hin zu keinem Nachweis, durch Einsatz von Membranfiltration ein vollständiger Rückhalt nachgewiesen. Insgesamt weisen die Beobachtungen darauf hin, dass zumindest im Fall der hier berücksichtigten multiresistenten *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe weitergehende Abwasserbehandlungen unterschiedliche Reduktion bewirken können. Insbesondere die Membranfiltration in Membranbioreaktoren (MBR) sowie der Retentionsbodenfilter, aber auch die UV-Bestrahlung, erwiesen sich effektiver als die Ozonung.

Die Effektivität von im ARB-Projekt untersuchten weitergehenden Verfahren der Abwasserbehandlung wurde ebenfalls in anderen Studien untersucht. Im ARA-Projekt (siehe Seite 23) wurden an zwei Kläranlagen mit MBR eine Abnahme von ESBL-produzierenden *E. coli* um ca. vier bis fünf Log-Stufen festgestellt; in den Ablaufproben wurden nur einzelne Kolonien (≤ 2 KBE/100 ml) in 5 von 15 Proben nachgewiesen, was auf einen weitgehenden Rückhalt durch die Membranfiltration hindeutet (ZACHARIAS et al. 2023). Für Retentionsbodenfilter zur Behandlung von Abwasser einer kommunalen Kläranlage in Deutschland (in zwei halbtechnischen Retentionsbodenfiltern als vierte Reinigungsstufe) wurde wie im ARB-Projekt eine Abnahme um 2,3 Log-Stufen (Median) und in einer großtechnischen RBF-Anlage zur Mischwasserbehandlung eine Abnahme um ca. eine Log-Stufe für ESBL-*E. coli* im Abwasser beschrieben (ZACHARIAS et al. 2020, HYREKA 2022). Die Eignung von UV-Bestrahlung zur Eliminierung von ARB wurde ebenfalls in anderen Studien untersucht. In zwei schleswig-holsteinischen Kläranlagen mit einer Reduktion von 3GC-resistenten *E. coli* um ca. 3 Log-Stufen durch konventionelle mechanisch-biologische Reinigung konnte in Kombination mit anschließender UV-Desinfektion insgesamt eine Reduktion um mindestens 6 Log-Stufen erreicht werden, sodass im Ablauf der Kläranlagen die Nachweisgrenze für die 3GC-resistenten *E. coli* mehrfach unterschritten wurde (WELLBROCK et al. 2019).

Im HyReKA-Projekt wurden verschiedene erweiterte Abwasserbehandlungsverfahren der Großkläranlage Steinhäule verglichen. Es zeigte sich auch hier, dass die Ultrafiltration die effektivste Reduktion (bis zu 6 Log-Stufen) von fakultativ-pathogenen Bakterienspezies und ARG bewirkte. Die Kombination von Ozon gekoppelt mit Aktivkohlefiltration (Abbau/Inaktivie-

nung von Antibiotikarückständen und Spurenstoffen) und einer nachfolgenden Membranfiltration (Barrierefunktion für Bakterien) wird als ein sinnvolles Verfahren angegeben, um sowohl Bakterien zurückzuhalten, als auch Selektionsereignisse für Antibiotikaresistenzen effektiv zu bekämpfen (HEMBACH et al. 2019, HYREKA 2022). Im HyReKA-Projekt wurde vorgeschlagen, dass sich zur Beurteilung der Reduktionsleistung im Rahmen einer Abwasserbehandlung ESBL-produzierende *E. coli* als einfacher, häufig vorkommender und resistenter Fäkalindikator für ein regelmäßiges Monitoring anbietet (HYREKA 2022). Dies kann aufgrund der im Rahmen des ARB-Projektes unter Qualitätssicherungsaspekten beurteilten Untersuchungsmethoden bestätigt werden.

5.4 Abwasser aus Betrieben der Fleischwirtschaft

Abwässer aus Schlachthöfen gelten ebenfalls als Quellen von antibiotikaresistenten, fakultativ-pathogenen Bakterien. Im ARB-Projekt wurden dazu in einem Betrieb der Geflügelverarbeitung, in einem Betrieb der Geflügelschlachtung und zwei Betrieben der Schweineschlachtung jeweils das Rohabwasser (Zulauf) und das Abwasser nach Behandlung in den betriebs-eigenen Abwasserbehandlungsanlagen (Ablauf) untersucht. 3GC-resistente *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe waren in allen Rohabwasserproben vorhanden, die Abwasserbehandlung führte zur Reduktion um mehrere Log-Stufen in unterschiedlichem Ausmaß; die Bakterien waren im behandelten Abwasser in geringeren Konzentrationen noch enthalten oder waren nicht mehr nachweisbar.

Unter den *Enterobacterales* wurden 3MRGN-Isolate von *E. coli* im Rohabwasser der vier Betriebe und zusätzlich Isolate von *Klebsiella*-Spezies (einmalige Befunde) in zwei Betrieben nachgewiesen. In behandelten Abwässern wurden 3GC-resistente *E. coli* noch in drei Betrieben und 3GC-resistente *Klebsiella*-Spezies in einem Betrieb nachgewiesen. 3MRGN-*P. aeruginosa* und 3MRGN-*A. baumannii* waren in keiner Abwasserprobe nachweisbar. 4MRGN-Isolate wurden in den Abwässern nicht nachgewiesen; mit einer Ausnahme des Nachweises eines 4MRGN-Isolats von *A. baumannii* (mit OXA-72-Carbapenemase) in der Rohabwasserprobe eines Betriebs der Schweineschlachtung. Vancomycin-resistente Enterokokken wurden in den Abwässern aller untersuchten Betriebe nicht nachgewiesen.

Insgesamt entsprechen die Befunde tendenziell Ergebnissen aus dem HyReKA-Projekt, dass in im Betrieb anfallenden Rohabwässern und behandelten Abwässern von untersuchten Geflügel- und Schweineschlachthöfen ESBL-produzierende *E. coli* ubiquitär vorkommen, aber 4MRGN-Isolate nicht nachgewiesen wurden (SAVIN et al. 2020, HYREKA 2022). Auch hier zeigt sich, dass eine dezentrale Behandlung des Schlachthofabwassers in den ABA der Betriebe bei Indirekteinleitern zu einer Minderung der Belastung durch ARB in Kläranlagen bzw. bei Direkteinleitern in Oberflächengewässern (Vorfluter) beitragen kann (HYREKA 2022).

5.5 3MRGN und 4MRGN

Im ARB-Projekt erfolgte weitergehend die Eingruppierung von Isolaten der 3GC-resistenten bzw. ESBL- und Carbapenemase-bildenden *Enterobacterales*, die mittels CHROMagar ESBL (Fa. Mast) als selektivem Primärmedium erhalten wurden, als multiresistent gegenüber drei bzw. vier Antibiotikagruppen (3MRGN bzw. 4MRGN) gemäß Empfehlung der KRINKO (2012, 2019). 3MRGN-*Enterobacterales* wurden ubiquitär in allen untersuchten Anlagen und in den meisten Fließgewässern nachgewiesen mit Ausnahme dreier Gewässer in Bereichen, die regelmäßig trockenfallen, und der Gewässer Laufenbach und Rur im Bereich der betrachteten Kläranlagen (Konzen und Monschau). 4MRGN-Isolate wurden mittels dieser Analytik ausschließlich aus Krankenhausabwasser, aus Rohabwasser und behandeltem Abwasser von Kläranlagen mit angeschlossenen Krankenhäusern sowie im Fließgewässer aus dem Bereich unterhalb der Einleitung dieser Kläranlagen nachgewiesen. Diese Befunde weisen darauf hin, dass Krankenausabwässer eine Ursache für den Eintrag von 4MRGN in kommunales Abwasser darstellen können, die 4MRGN ggf. nicht vollständig während der Abwasserbehandlung entfernt werden und dann durch die Einleitung in das Fließgewässer eingetragen werden.

Die stichprobenartige Verwendung des bzgl. 4MRGN selektiveren und dementsprechend sensitiveren Primärnährmedium CHROMagar mSuperCARBA zeigte auch den Nachweis von 4MRGN in Proben ohne Krankenhausabwasseranteil.

Auch im HyReKA- und ARA-Projekt wurden 3MRGN-Isolate von *E. coli* ubiquitär in klinisch-beeinflusstem und klinisch-unbeeinflusstem Rohabwasser nachgewiesen, während 4MRGN-Isolate in allen Krankenhausabwässern vorkamen. Dagegen waren in klinisch-unbeeinflussten Abwässern 4MRGN entweder nicht oder nur mit einer geringeren Häufigkeit vorhanden (HYREKA 2022, ZACHARIAS et al. 2023). Außerdem zeigte sich im HyReKA-Projekt, dass Krankenhausabwässer das am höchsten belastete Reservoir von multiresistenten Erregern (3MRGN und 4MRGN) darstellten und die Anzahl multiresistenter Isolate deutlich die Anzahlen in kommunalem Abwasser und Oberflächenwässer ohne Klinik- und Industrie-Beeinflussung übertraf (HYREKA 2022).

Von den Carbapenemasen, auf welche die 4MRGN-Isolate mittels immunochromatographischer Bestimmung untersucht wurden, wurden im ARB-Projekt OXA-48 und OXA-48-like, NDM, VIM, KPC nachgewiesen, nicht aber die Carbapenemase IMP. Die Carbapenemase-Befunde deuteten auf eine geographisch unterschiedliche Verteilung dieser in Bezug auf die Herkunft der Abwässer hin. KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase) wurde vorwiegend in Isolaten aus Proben der Probenserien Engelskirchen und Waldbröl nachgewiesen; OXA-48 und OXA-48-like (Oxacillinasen) in solchen aus den Probenserien Lüdenscheid und Münster. Im letztgenannten Fall wurde außerdem vermehrt VIM (Verona-Integron-Metallo- β -Lactamasen) bestätigt. Aus dem Fließgewässer unterhalb der Einleitung der Kläranlage Engelskirchen wurden Isolate von KPC-produzierenden *E. coli* und Bakterien der Gattungen *Klebsiella* und *Citrobacter* erhalten; aus jenem unterhalb der Einleitung der Kläranlage Lüdenscheid Schlittenbachtal ein OXA-48-produzierendes Isolat einer *Enterobacter* Spezies. Oberhalb der Einleitungen waren keine entsprechenden Carbapenemase-bildenden Bakterien nachweisbar. Dies weist auf die Möglichkeit hin, dass Carbapenemase-produzierende fakultativ-pathogene Bakterien aus den Abläufen von Kläranlagen in Gewässer eingetragen werden können und dort ggf. persistieren oder sich sogar vermehren.

In zwei Isolaten von *K. pneumoniae* wurden sowohl VIM als auch NDM (Neu-Delhi Metallo- β -Lactamasen) nachgewiesen, aus einer Krankenhausabwasser-Probe sowie einer Rohabwasser-Probe (Zulauf) der Kläranlage (Münster-Geist), an welcher dieses Krankenhaus angeschlossen ist. Die Anzahl von Isolaten (*C. freundii*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*) mit zwei Carbapenemasen wurde nach Einführung des Primäragnährmediums CHROMagar mSuper CARBA deutlich erhöht. Aus Proben mit Krankenhausabwasseranteil (Rohabwasser, behandelte Abwässer sowie KH-Abwasser beeinflusste Oberflächenwässer) wurden insgesamt 30 Bakterienisolate mit zwei Carbapenemasen gewonnen, wobei die Kombination aus VIM und GIM, VIM und OXA-48, VIM und NDM, VIM und KPC, KPC und GIM, KPC und OXA-48 sowie NDM und OXA-48 nachgewiesen werden konnte.

Krankheitserreger, welche zwei Carbapenemasen bilden, sind besonders problematisch, weil bei Infektionen mit solchen Erregern auch neu entwickelte Antibiotika häufig nicht mehr wirksam sind.

5.6 Nachweismethoden Carbapenemase bildender *Enterobacterales* (4MRGN)

Im Rahmen des Messprogramms des ARB-Projekts basierten alle Befunde auf der Analytik mittels CHROMagar ESBL (Fa. Mast) als primärem Selektivnährmedium. Im Lauf des Projekts wurden weitergehende Erkenntnisse zur Methodik des Nachweises von Carbapenemase bildenden *Enterobacterales* – und somit 4MRGN-Isolaten – im Abwasser und Oberflächenwasser gewonnen durch einen Vergleich der Verwendung der selektiven Agarnährmedien CHROMagar ESBL und CHROMagar mSuperCARBA (Fa. Mast). Es zeigte sich, dass eine bis zu 3,6 Log-Stufen höhere Wiederfindung der Carbapenemase-bildenden Zielorganismen (*E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe) mit CHROMagar mSuperCARBA erzielt wurde. Es wurde ersichtlich, dass die alleinige Verwendung von CHROMagar ESBL zudem zu Minderbefunden oder sogar zu falsch-negativen Ergebnissen bezüglich Carbapenemase-bildender Zielorganismen (4MRGN) führen kann. Diese Befunde weisen darauf hin, dass die Verwendung von CHROMagar mSuperCARBA zusätzlich zu dem häufiger verwendeten CHROMagar ESBL zum Nachweis Carbapenemase-bildender *Enterobacterales* in Abwasser und abwasserbeeinflusstem Oberflächenwasser aufgrund der humanmedizinischen Relevanz des Auftretens von 4MRGN zu empfehlen ist.

5.7 Verbreitung von Antibiotikaresistenzgenen (ARG) in Abwässern und Oberflächengewässern

Antibiotikaresistenzgene (ARG) sind der Bereich der DNA, der für die Eigenschaft zur Antibiotikaresistenz codiert. Der Nachweis von Resistenzgenen in der Umwelt erfolgt durch molekularbiologische Methoden. Beim Nachweis von ARG aus Umweltproben handelt es sich um Resistenzgene aus Umweltbakterien, aus bakteriellen Krankheitserregern oder um freie DNA. Vor dem Hintergrund des Auftretens von Antibiotikaresistenzen im klinischen Kontext wird zunehmend auch der Nachweis von ARG in der aquatischen Umwelt, insbesondere Abwasser, als wichtiges Reservoir für ARG berücksichtigt.

Im ARB-Projekt lag der Fokus auf dem qualitativen Nachweis von insgesamt zehn Antibiotikaresistenz vermittelnden Genen; und zwar ESBL- (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} und *bla*_{CTX-M}) und Carbapenemase-Genen (*bla*_{OXA-48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM} und *bla*_{IMP}), die häufig in klinisch-relevanten, fakultativ-pathogenen gramnegativen Bakterien wie *E. coli* und Bakterien der KEC-Gruppe vorkommen, sowie Vancomycin-Resistenz-Genen (*vanA* und *vanB*) von grampositiven Enterokokken.

ESBL- und Carbapenemase-Gene sowie Vancomycin-Resistenz-Gene wurden im Vergleich zu Rohabwasser aus sechs kommunalen Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet mit erhöhter Häufigkeit in Abwasser aus Krankenhäusern sowie in Rohabwasser (Zulauf) aus vier kommunalen Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet nachgewiesen. Das *vanB*-Gen stellte eine Ausnahme dar, da es mit gleicher Häufigkeit im Rohabwasser aus Kläranlagen mit und ohne Krankenhäusern im Einzugsgebiet auftrat. Diese Befunde weisen darauf hin, dass Krankenhausabwässer eine bedeutsame Quelle für ARG darstellen können. Dies wurde auch in anderen Untersuchungen festgestellt (HYREKA 2022, PAULUS et al. 2019).

Im Vergleich zum Rohabwasser (Zulauf) waren im gereinigten Abwasser (Ablauf) der kommunalen Kläranlagen die ESBL- und Carbapenemase-Gene sowie die Vancomycin-Gene meist mit geringerer Häufigkeit nachweisbar, insbesondere in Anlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung; in einer Kläranlage (Konzen) mit weitergehender Behandlung (MBR) waren alle zehn ARG nicht mehr detektierbar. Die Verringerung von humanmedizinisch bedeutsamen ARG in Abwasser durch die Behandlung in Kläranlagen wurde in zahlreichen Publikationen weltweit und auch in Deutschland beschrieben. In vielen Studien wurden quantitative Bestimmungen der Genkopien entsprechender ARG durchgeführt, wodurch die Reduktion von ARG berechnet werden konnte. So wurde in bayrischen Kläranlagen während der Abwasserbehandlung eine Reduktion der Konzentration von acht verschiedenen ARG, darunter auch die im ARB-Projekt berücksichtigten Gene *bla*_{CTX-M-32}, *bla*_{VIM}, *bla*_{OXA-48} und *vanA*, um ca. 2 bis 2,5 Log-Stufen beschrieben (BAYERISCHES LANDESAMT FÜR UMWELT 2020).

Es gab aber auch Befunde eines erhöhten Nachweises im Ablauf im Vergleich zum Zulauf, insbesondere im Fall des Carbapenemase-Gens *bla*_{IMP}, das tendenziell häufiger im behandelten Abwasser als im Rohabwasser nachgewiesen wurde, sowohl in Kläranlagen mit als auch ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Im Fall der Vancomycin-Resistenz-Gene *vanA* und *vanB* wurden in mehreren Kläranlagen keine Veränderungen der Nachweishäufigkeiten im Zulauf und Ablauf festgestellt. Eine ähnliche Beobachtung wurde für eine japanische Kläranlage mit konventioneller mechanisch-biologischer Abwasserbehandlung für die Gene *vanA* und *vanB* berichtet (FURUKAWA et al. 2022).

Diese Befunde weisen darauf hin, dass die Abwasserbehandlung in kommunalen Kläranlagen keine einheitliche Wirkung auf die Abundanz verschiedener ARG hat. In Abhängigkeit der jeweiligen Resistenzgene können unterschiedliche Prozesse eine Rolle spielen, so dass außer einer Entfernung, möglicherweise auch eine Persistenz sowie sogar eine Zunahme der ARG zu erwarten sein kann. Gründe hierfür könnten beispielsweise die Sorption von ARG an Belebtschlamm und ein Verbleib von ARG in der biologischen Stufe der Kläranlage durch den Rücklaufschlamm sein. Durch horizontalen Gentransfer könnten Belebtschlammbakterien Antibiotikaresistenzen erwerben und möglicherweise durch Zellvermehrung auch eine Zunahme der ARG bewirken. Eine Anreicherung verschiedener ARG (z. B. *bla*_{TEM-1}) und horizontaler Gentransfer durch Transformation in Belebtschlamm von Kläranlagen wurde bereits beschrieben (WANG et al. 2021).

Im ARB-Projekt wurden oberhalb der Einleitungen aller Kläranlagen keine ESBL- und Carbapenemase-Gene nachgewiesen mit Ausnahme des einmaligen Nachweises von *bla*_{CTX-M}. Unterhalb der Einleitungen wurden keine ESBL-Gene nachgewiesen, auch dann, wenn ESBL-Gene (*bla*_{SHV} und *bla*_{CTX-M}) im Ablauf der einleitenden Kläranlagen nachweisbar waren; mögliche Gründe sind zum Beispiel Verdünnungseffekte sowie Sorption an Biofilme und Sedimente. Die Carbapenemase-Gene *bla*_{OXA-48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC} und *bla*_{VIM} waren vereinzelt unterhalb der Einleitungen von zwei Kläranlagen vorhanden. Dies weist darauf hin, dass die entsprechenden Fließgewässer nur selten mit den im ARB-Projekt berücksichtigten ARG belastet waren. Hier ist jedoch die im Vergleich zum Kulturverfahren deutlich erhöhte Nachweisgrenze molekularbiologischer Verfahren zu beachten. Ein nicht erfolgter Gen-Nachweis schließt nicht das Vorhandensein entsprechender genetischer Marker aus.

5.8 Vorkommen von ARB und ARG in Badegewässern

Insbesondere durch Abwassereinleitungen oder im Rahmen von Niederschlagsereignissen durch Mischwassereinleitungen sowie Abschwemmungen von landwirtschaftlichen Flächen können fäkale Verunreinigungen und damit auch krankheitserregende, antibiotikaresistente Darmbakterien in Badegewässer gelangen. Im Rahmen des ARB-Projekts wurden in der Badesaison 2020 drei nordrhein-westfälische Badegewässer mit Abwassereinleitungen im jeweiligen Einzugsgebiet auf das Vorkommen von klinisch-relevanten ARB und ARG untersucht. In zwei Badegewässern, Aasee (Bocholt) und Bettenkamper Meer (Moers), wurden keine der ARB oder ARG des Untersuchungsumfangs (siehe Kapitel 4.7, Seite 91) nachgewiesen. In einem Badegewässer, Seaside Beach/Baldeneysee (Essen), wurde in einer von vier Proben ESBL-bildende *E. coli* (3MRGN-Isolat) und ESBL-bildende *P. aeruginosa* in niedriger Konzentration nachgewiesen (jeweils 1 KBE /100 ml). Andere ARB oder ARG waren nicht nachweisbar. Zum Zeitpunkt der Probenahme bestand ein zeitweiliges Badeverbot aufgrund einer zu beanstandenden hygienisch-mikrobiologischen Qualität des Gewässers. Dies kann eine plausible Erklärung für den Nachweis der Kontamination mit ARB darstellen.

Die im ARB-Projekt untersuchten Badegewässer waren bereits im Jahr 2018 in einem Sonderuntersuchungsprogramm zur Bestandsaufnahme von ARB und ARG inkludiert. Hier wurden zehn nordrhein-westfälischen Badegewässern einbezogen (LANDESAMT FÜR NATUR, UMWELT UND VERBRAUCHERSCHUTZ NORDRHEIN-WESTFALEN 2019). Ergänzt wurde das Sonderuntersuchungsprogramm mit Daten zu sechs weiteren Badegewässern in Nordrhein-Westfalen (DÖHLA et al. 2020). Alle Badegewässer entsprachen den Anforderungen der EU-Badegewässerrichtlinie. In zwei Gewässern wurden einmalig ebenfalls 3MRGN-*E. coli* in niedrigen Konzentrationen nachgewiesen, darunter wie im ARB-Projekt im Seaside Beach/Baldeneysee (2 KBE/100 ml) in Essen und auch im Elfrather See (4 KBE/100 ml) in Krefeld. Drei Wasserproben enthielten sehr geringe Konzentrationen von ARB, drei Proben geringe Antibiotika-Konzentrationen und eine Probe ein Resistenzgen. Für zwei Badegewässer wurde eine systematische Belastung mit ARB, ARG und Antibiotikarückständen angenommen. Vier Badegewässer wiesen einmalige Kontaminationen auf, zehn Badegewässer waren unbelastet. Es wurde geschlussfolgert, dass die Einhaltung der mikrobiologisch-hygienischen Anforderungen nach EU-Badegewässerrichtlinie nur ein geringes bzw. kein Kontaminationspotential mit ARB, ARG und Antibiotikarückständen nach sich zieht (DÖHLA et al. 2020). Auf Basis dieser Ergebnisse wird in der Studie angegeben, dass zurzeit kein erhöhtes Risiko der

Kolonisierung oder Infektion durch multiresistente Bakterien in Badegewässern in Nordrhein-Westfalen besteht (DÖHLA et al. 2020).

Diese Befunde und Schlussfolgerungen decken sich mit Untersuchungsergebnissen zu Badegewässern (Binnengewässer) aus anderen Bundesländern. Jeweils zehn Badegewässer (Seen) in Südbayern und in Nordbayern wurden im Rahmen der Studie „Antibiotikaresistente Bakterien (ARB) in bayerischen Badegewässern“ (VALENZA et al. 2019) bezüglich des Vorkommens von potentiell klinisch-relevanten ARB untersucht. Nur in Einzelfällen wurden ARB in relativ geringen Konzentrationen in zwei bzw. acht der jeweils zehn Badegewässer in Süd- bzw. Nordbayern gefunden: Ein *E. coli*-Isolat mit ESBL-Bildung und 3MRGN-Phänotyp, zwei *E. coli*-Isolate mit ESBL-Bildung und 2MRGN-Phänotyp und zwei *Serratia*-Isolate mit ESBL-Bildung und 2MRGN-Phänotyp in Südbayern; zwei *E. coli*-Isolate mit ESBL-Bildung und 3MRGN-Phänotyp, vier *E. coli*-Isolate mit ESBL-Bildung und 2MRGN-Phänotyp, elf *Serratia*-Isolate mit ESBL-Bildung und 2MRGN-Phänotyp, zwei *Pseudomonas*-Isolate mit 4MRGN-Phänotyp und zwei *Acinetobacter*-Isolate mit 4MRGN-Phänotyp in Nordbayern. Es wurde darauf hingewiesen, dass die Ergebnisse der mikrobiologischen Routineuntersuchungen dieser Seen im Rahmen der Überwachung der Badewasserqualität keine Überschreitung der Konzentrationen von *E. coli* und intestinalen Enterokokken ergaben, ab denen eine mangelhafte Badegewässerqualität bzw. eine Gesundheitsgefährdung angenommen werden muss (VALENZA et al. 2019).

In einer schleswig-holsteinischen Untersuchung wurden in vier Untersuchungsgebieten Klinikabwässer, Zu- und Abläufe der entsprechenden Kläranlagen und möglicherweise durch behandelte Abwässer beeinflusste Badegewässer untersucht (DECIUS et al. 2022). 3MRGN- und 4MRGN Isolate von *P. aeruginosa* sowie 3MRGN-Isolate von *K. pneumoniae* wurden aus Klinikabwasser und den Zu- und Abläufen der Kläranlagen gewonnen. In keiner von 33 Badegewässerproben wurde hingegen laut Bericht „humanmedizinisch besonders bedenkliche 4MRGN (*P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsiella oxytoca*) nachgewiesen“. Ein 3MRGN-Isolat von *K. pneumoniae* wurde aus einer Badegewässerprobe erhalten.

In einer Studie in der Metropolregion Leipzig konnte gezeigt werden, dass bei sechs beprobten Badegewässern nur Einzelbefunde von Isolaten mit 3MRGN-Resistenzphänotyp (dreimal *E. coli*, je einmal *Acinetobacter pittii* und *Serratia marcescens*) auftraten; entsprechende multiresistente Vertreter der KEC-Gruppe und *P. aeruginosa* wurden nicht nachgewiesen (HOFFMANN et al. 2022).

Im Auftrag des niedersächsischen Ministeriums für Soziales, Gesundheit und Gleichstellung hat das Niedersächsische Landesgesundheitsamt (NLGA) in der Badesaison 2018 ein orientierendes Messprogramm durchgeführt, um einen Einblick in das Vorkommen und die Verbreitung klinisch-relevanter ARB in niedersächsischen Badegewässern zu gewinnen (NIEDERSÄCHSISCHES LANDESGESUNDHEITSAMT 2019). Dazu wurden vier repräsentative Badegewässer-Typen (ein Baggersee und ein Küstengewässer, weitgehend frei von Abwassereinträgen; ein Fließgewässer mit Beeinflussung durch Abwasser aus Kläranlagen und Abschwemmungen von landwirtschaftlichen Flächen; ein von einem Fluss durchströmter Flachsee mit schwankender Abwasserbelastung) untersucht. In den untersuchten Proben wurden zu keinem Zeitpunkt fakultativ-pathogene Bakterien mit klinisch-relevanten Antibiotikaresistenzen (3MRGN, 4MRGN und VRE) kulturell nachgewiesen. In Rahmen einer weiteren Studie in Nie-

dersachsen wurden 18 (offizielle) Badeseen auf ESBL- und Carbapenemase-bildende *Enterobacterales* untersucht (CIMEN et al. 2023). Nur in einem der 18 Badeseen wurde ein AmpC-positives Isolat von *Citrobacter braakii* nachgewiesen.

Mit höherer fäkaler Belastung eines Badegewässers kann die Wahrscheinlichkeit erhöht werden, dass damit auch Krankheitserreger, darunter auch ARB mit Multiresistenzen vorkommen. Insgesamt zeigen allerdings die Ergebnisse der in verschiedenen Bundesländern durchgeführten Untersuchungsprogramme, dass die Belastung von Badegewässern, die die Anforderungen der EU-Badegewässerrichtlinie erfüllen, mit klinisch-relevanten Krankheitserregern durchgehend relativ gering ausfällt.

In Badegewässern mit ausgezeichneter oder guter Qualität gemäß der EU-Badegewässerrichtlinie wird beim Schwimmen ein Kontakt, aber auch die Kolonisierung und Infektion mit fakultativ-pathogenen Bakterien mit erworbener Antibiotikaresistenz bei gesunden Menschen ohne erhöhte Vulnerabilität als unwahrscheinlich angesehen (UMWELTBUNDESAMT 2018, EXNER et al. 2018). Ausführliche Beschreibungen zur gesundheitlichen Bewertung bzw. Risikobewertung für Personen ohne und mit erhöhter Vulnerabilität in Abhängigkeit von der Exposition ohne bzw. mit ARB, ARG und Antibiotika in Badegewässern finden sich in EXNER et al. (2018), DÖHLA et al. (2019) und VALENZA et al. (2019).

6 Fazit und Ausblick

6.1 Vorkommen von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien und Antibiotikaresistenzgenen in Abwässern und Fließgewässern in Nordrhein-Westfalen

Das ARB-Projekt zeigt nachdrücklich das Vorkommen von **klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien in Abwässern und Fließgewässern** in Nordrhein-Westfalen. Dieser Sachverhalt betrifft nicht nur Abwässer im Kontext von **Krankenhäusern**, kommunalen **Kläranlagen** und Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der **Fleischwirtschaft**, sondern zeigt auch das **Fließgewässer** im Bereich oberhalb und unterhalb der Einleitung dieser Kläranlagen betroffen sind. Damit stehen die Ergebnisse dieses Projekts **im Einklang** mit Befunden anderer Untersuchungen in Deutschland, wie HyReKA, sowie international (siehe hierzu Kapitel 5).

Klinisch relevante **ESBL-bildende *E. coli*** und Bakterien der Gattungen *Klebsiella*, *Enterobacter* und *Citrobacter* sowie **3MRGN-Enterobacterales** (der genannten Bakterienart bzw. Gattungen) wurden nahezu **ubiquitär** in den untersuchten Wässern nachgewiesen.

Der Nachweis von den besonders besorgniserregenden **Carbapenemase-bildenden** Bakterien und damit auch von **4MRGN-Enterobacterales** erfolgte mit der **Standardmethode** (Verwendung von CHROMagar ESBL) nahezu **ausschließlich im Krankenhausabwasser**, im Abwasser von Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet sowie vereinzelt im Fließgewässer unterhalb deren Einleitung. Die Erweiterung der Untersuchungsmethode durch ein **sensitiveres Verfahren** (Verwendung von CHROMagar mSuperCARBA) zeigte jedoch, dass diese Bakterien **auch** an Probenahmestellen **ohne direkten Bezug zu Krankenhausabwasser** sowie vermehrt im Oberflächenwasser nachgewiesen werden konnte.

Antibiotikaresistenzgene (ESBL- und Carbapenemase-Gene sowie das *vanA*-Gen) wurden mit erhöhter Häufigkeit in **Abwässern aus Krankenhäusern** sowie im Rohabwasser aus vier kommunalen Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet nachgewiesen. Diese Befunde weisen darauf hin, dass Krankenhausabwässer eine bedeutsame Quelle für ARG darstellen können.

In den untersuchten **Gewässern** wurden oberhalb der Einleitungen aller Kläranlagen (mit Ausnahme des einmaligen Nachweises von *bla*_{CTX-M}) keine ESBL- und Carbapenemase-Gene nachgewiesen. Ebenso wurden unterhalb der Einleitungen keine ESBL-Gene nachgewiesen. Die Carbapenemase-Gene *bla*_{OXA-48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC} und *bla*_{VIM} waren vereinzelt unterhalb der Einleitungen zweier Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet vorhanden. Dies weist darauf hin, dass die entsprechenden Fließgewässer **eher selten** mit den im ARB-Projekt berücksichtigten **ARG belastet** waren.

6.2 Wirkung konventioneller und weitergehender Abwasserbehandlungsverfahren

Die konventionelle **mechanisch-biologische Abwasserbehandlung** führt zu einer **Verringerung** der Konzentration an klinisch-relevanten **antibiotikaresistenten Bakterien** – um im Mittel etwa **3 Log-Stufen** – jedoch nicht zu deren vollständigen Elimination. Ein dauerhafter Eintrag in die Umwelt kann daher durch diese Art der Behandlung nicht verhindert werden. Weitergehende Abwasserbehandlungsverfahren wie **UV-Bestrahlung** oder Durchfließen eines **Retentionsbodenfilters** bewirken eine **zusätzliche Verringerung** um etwa **2 Log-Stufen**. Die Verwendung einer **Membranfiltration** (Ultrafiltration) ermöglicht einen **vollständigen Rückhalt** der Bakterien.

Die untersuchten **Antibiotikaresistenzgene** waren im Vergleich zum Rohabwasser (Zulauf) im gereinigten Abwasser (Ablauf) der kommunalen Kläranlagen meist mit geringerer Häufigkeit nachweisbar, insbesondere in Anlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung; in einer Kläranlage (Konzen) mit weitergehender Behandlung (MBR) waren alle zehn ARG nicht mehr detektierbar. Es gab aber auch Befunde eines erhöhten Nachweises im Ablauf im Vergleich zum Zulauf, insbesondere im Fall des Carbapenemase-Gens *bla_{IMP}*. Im Fall der Vancomycin-Resistenz-Gene wurden in mehreren Kläranlagen keine Veränderungen der Nachweishäufigkeiten im Zulauf und Ablauf festgestellt. Diese Befunde weisen darauf hin, dass die **Abwasserbehandlung in kommunalen Kläranlagen keine einheitliche Wirkung** auf die Abundanz verschiedener ARG hat. In Abhängigkeit der jeweiligen Resistenzgene können unterschiedliche Prozesse eine Rolle spielen, so dass außer einer Entfernung möglicherweise auch eine Persistenz sowie sogar eine Zunahme der ARG zu erwarten sein kann.

6.3 Vergleich mit Ergebnissen des HyReKA- und des ARA-Projekts

Die Ergebnisse des ARB-Projekts **bestätigen** folgende Aussagen aus den **Kernbotschaften 1 bis 3** des **HyReKA-Projekts** (HYREKA 2022; siehe Seite 22):

- Krankenhäuser stellen die stärkste Quelle für multiresistente Bakterien dar;
- kommunale Kläranlagen können nur unzureichend Antibiotikaresistenzen reduzieren; dazu sind zusätzliche kombinatorische Verfahren bereits einsetzbar;
- Prozessabwässer aus Schlachthöfen enthielten Antibiotika-resistente Bakterien (ESBL-Bildner), die aber die geringste Multi-Resistenz [Anm.: 3MRGN, 4MRGN] aufwiesen.

Wie im **ARA-Projekt** (siehe Seite 23) beziehen sich die Ergebnisse hinsichtlich des Krankenhausabwassers im ARB-Projekt auf kleinere Krankenhäuser – im Gegensatz zu dem im HyReKA-Projekt untersuchten Krankenhaus der Maximalversorgung (Universitätsklinikum).

Im ARA-Projekt wurde der **Beitrag kleiner bis mittelgroßer Krankenhäuser der Grund- und Regelversorgung** hinsichtlich des Eintrags von ARB und Antibiotika in die aquatische Umwelt untersucht. Es konnte – wie im ARB-Projekt – gezeigt werden, dass auch diese Krankenhäuser einen hohen Anteil **multiresistenter Erreger** (insbesondere 4MRGN) in das Abwassernetz abgeben (ZACHARIAS et al. 2023). In allen Abwasserproben des ARA-Projekts konnten Antibiotika nachgewiesen werden; Sulfamethoxazol (mit Trimethoprim) mit einer Nachweishäufigkeit

von 50 % (25 %) bis 100 %. **Roxithromycin** und **Linezolid** wurden nur in den Abwässern der Krankenhäuser nachgewiesen und auch **Piperacillin** wurde (mit einer Ausnahme) nur in klinisch beeinflusstem Abwasser gefunden (ZACHARIAS et al. 2023).

6.4 Methodenweiterentwicklung innerhalb des ARB-Projekts

Weitergehende Erkenntnisse konnten insbesondere hinsichtlich der **Quantifizierung von Carbapenemase-bildenden *E. coli*** sowie Bakterien der KEC-Gruppe und des Nachweises von 4MRGN-Isolaten erlangt werden.

Denn über die Ergebnisse des Messprogramms hinaus wurde mit dem ARB-Projekt die Etablierung und Weiterentwicklung der Methodik zum Nachweis von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien in Abwässern und Oberflächenwässern erreicht. Hier lag insbesondere der Fokus auf **Methodenfortentwicklung** zur Erzielung **valider und statistisch sicherer quantitativer Ergebnisse**. Besonders hervorzuheben sind wichtige Erkenntnisse zur Methodik des Nachweises von **4MRGN-Isolaten** in Umweltproben. Ein Vergleich der Analytik mittels CHROMagar ESBL (welcher im HyReKA- und ARA-Projekt verwendet wurde) versus CHROMagar mSuperCARBA (auf dessen Verwendung in den beiden genannten Projekten aufgrund methodischer Schwierigkeiten verzichtet wurde; siehe hierzu SCHREIBER et al. 2020) zeigte, dass die alleinige Verwendung von CHROMagar ESBL zu Minderbefunden oder sogar zu falsch-negativen Ergebnissen bzgl. Carbapenemase-bildender Zielorganismen (4MRGN) führen kann. Daher ist die **Verwendung** des Nährmediums **CHROMagar mSuperCARBA** aufgrund der Brisanz des Auftretens von 4MRGN dringend zu empfehlen. Ein **LANUV-Arbeitsblatt** mit Empfehlungen zur Nachweismethodik für ARB in Umweltproben befindet sich derzeit in Erarbeitung.

6.5 Empfehlungen

Insgesamt gibt das Messprogramm einen **ersten Überblick** über das Vorkommen von klinisch-relevanten antibiotikaresistenten Bakterien in Abwässern und Gewässern in Nordrhein-Westfalen. Dieses Thema ist jedoch inklusive des anthropogenen Einflusses so komplex, dass derzeit keine expliziten bzw. generellen Lösungswege zur Reduktion dieser Bakterien aufgezeigt werden können. **Weitere Untersuchungen** sind dazu notwendig.

Im **ARB-Projekt** konnte aufgrund umfangreicher, notwendiger Arbeiten zur Methodenetablierung und -weiterentwicklung – inklusive Erhebung zahlreicher Qualitätssicherungsdaten – nur eine **begrenzte Anzahl an Proben** untersucht werden. **Zeit- und arbeitsaufwändig** waren die Untersuchungen darüber hinaus aufgrund von **Probenahmen an Messstellen, die nicht zur amtlichen Routineüberwachung** gehören (wie Abwasserschächte an Krankenhäusern und Zuläufe von Kläranlagen und anderen Abwasserbehandlungsanlagen sowie Messstellen bei indirekteinleitenden Betrieben der Fleischwirtschaft), sowie dem **breiten Parameterumfang**. Daher konnten nur beispielhaft ausgesuchte Anlagen, stichprobenartig über Nordrhein-Westfalen verteilt, untersucht werden.

Für ein **vollständigeres Bild der Belastungssituation** von Abwasser und Fließgewässern in Nordrhein-Westfalen mit ARB und ARG sollte ein flächendeckendes **Monitoring** anhand **ausgewählter Parameter**, mit im Rahmen des ARB-Projekts **validierten Methoden**, vorwiegend an **amtlichen Messstellen** im Rahmen der **Routineüberwachung** durchgeführt werden.

Geeignet wäre ein Messprogramm mit **Fokus auf ESBL- sowie Carbapenemase-bildenden E. coli** und Bakterien der KEC-Gruppe, inklusive **4MRGN-Isolaten**.

Zur **Überprüfung der Ergebnisse des ARB-Projekts** wären Untersuchungen am **Ablauf von Kläranlagen** mit **unterschiedlichen Abwasseranteilen aus Krankenhäusern** sinnvoll. Berücksichtigung finden sollten hierbei auch die **verschiedenen Versorgungsstufen** (Grund-, Regel-, Schwerpunkt- und Maximalversorgung) der Krankenhäuser im Einzugsgebiet der jeweiligen Kläranlagen.

Als **weitere Kriterien** für die Auswahl von Kläranlagen für ein Monitoring könnten der jeweilige **Abwasseranteil im Gewässer** sowie **Gewässernutzungen**, die mit einer besonderen Schutzbedürftigkeit einhergehen, wie **Badegewässer**, weitere bekannte Freizeitnutzungen und Entnahme von Rohwasser zur **Trinkwasseraufbereitung**, dienen.

Zum **Ableich** könnte das **Maßnahmenprogramm zum Bewirtschaftungsplan 2022-2027 für NRW** herangezogen werden und die nach diesem für einen Ausbau zur Reduzierung von Mikroschadstoffen **priorisierten Kläranlagen** in ein ARB-/ARG-Monitoring aufgenommen werden.

Vergleichend könnten im Rahmen der amtlichen Überwachung an kommunalen Kläranlagen entnommene, zufällig ausgewählte Ablaufproben von Kläranlagen, die nicht unter obige Kriterien fallen, mit untersucht werden.

Wichtige weitere Erkenntnisse hinsichtlich des Vorkommens von **4MRGN-Enterobacterales** könnte eine durchgängige, zusätzliche Analytik mittels **CHROMagar mSuperCARBA** als primärem Selektivnährmedium erbringen.

Eine hinsichtlich der besonders besorgniserregenden Carbapenemase-bildenden und damit **4MRGN-Enterobacterales** offene Frage ist die nach **potentiellen Quellen** neben dem Abwasser aus Krankenhäusern. Diskutiert werden diesbezüglich Abwässer aus **Alten- und Pflegeheimen** und aus **bestimmten Rehabilitationseinrichtungen**, wie neurologische Rehabilitation (Prof. Exner; Prof. Gatermann).

Ein zukünftiges regelmäßiges Abwasser-/Gewässer-Monitoring in Nordrhein-Westfalen hinsichtlich des Eintrags und der Persistenz von antibiotikaresistenten Bakterien könnte die weitergehend zu erwartende Dynamik bezüglich besorgniserregender Antibiotikaresistenzen ermitteln und damit frühzeitig Handlungsoptionen schaffen. Dies wird seitens des LANUV als sinnvoll und zukunftsorientiert angesehen.

Des Weiteren ist es dringend erforderlich die Ärzteschaft und Gesellschaft in Bezug auf den Einsatz von und im Umgang mit Antibiotika zu sensibilisieren, um den Eintrag in die Umwelt bereits im Vorfeld soweit als möglich zu reduzieren. Das vermehrte Auftreten von 4MRGN-Bakterienisolaten in der Umwelt ist besorgniserregend und hat oberste Priorität bezüglich einer Problemlösung. Diese klinisch-relevanten multiresistenten Bakterien sollten vorzugsweise dezentral direkt an der Quelle (z. B. im Krankenhaus) eliminiert werden.

Infobox: Empfehlungen

- Für ein vollständigeres Bild der **Belastungssituation von Abwasser und Fließgewässern** in Nordrhein-Westfalen mit **ARB und ARG** sollte ein flächendeckendes **Monitoring** durch das LANUV anhand ausgewählter Parameter, mit im Rahmen des ARB-Projekts **validierten Methoden**, vorwiegend an **amtlichen Messstellen** im Rahmen der **Routineüberwachung** durchgeführt werden.
- Ein Methodenvergleich im Rahmen des ARB-Projekts hat ergeben, dass zum **Nachweis von Carbapenemase-bildenden (= 4MRGN) E. coli** und **Bakterien der KEC-Gruppe** die Verwendung von **CHROMagar mSuperCARBA** zu empfehlen ist.
- Das vermehrte Auftreten von **4MRGN**-Bakterienisolaten in der Umwelt ist besorgniserregend und hat oberste Priorität bezüglich einer Problemlösung. Diese klinisch-relevanten multiresistenten Bakterien sollten **vorzugsweise dezentral direkt an der Quelle (z. B. im Krankenhaus) eliminiert** werden.
- Eine **Sensibilisierung der Ärzteschaft und Gesellschaft** in Bezug auf den Einsatz von und im **Umgang mit Antibiotika** ist dringend erforderlich, um den **Eintrag** in die Umwelt bereits im Vorfeld soweit als möglich zu **reduzieren**.

7 Projekt „Molekulare Epidemiologie“ – Kooperation LANUV und Nationales Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger (NRZ)

Im Rahmen des ARB-Projekts wurde von Seiten des LANUV ein fachlicher Austausch mit dem Nationalen Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger (NRZ), Ruhr-Universität Bochum, Abteilung für Medizinische Mikrobiologie, Leitung Prof. Dr. Gatermann, initiiert. Zunächst war die Zielsetzung dieser Kooperation die Qualitätssicherung der LANUV Analytik zum Nachweis von gramnegativen, antibiotikaresistenten Bakterien – *Enterobacterales*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*-Gruppe – insbesondere mit dem Schwerpunkt Carbapenemase-Nachweis und Nachweis einer Colistin-Resistenz. Nach KRINKO als 4MRGN einzustufende Bakterienisolate wurden vom LANUV zur Überprüfung und Charakterisierung der Resistenz gegen Carbapeneme an das NRZ eingesandt.

Während dieses Informationsaustausches und der Diskussion über mögliche Gefährdungen aus Sicht der Umwelt bzw. der klinischen Mikrobiologie ergaben sich interessante Fragestellungen, die zur Beauftragung des Kleinprojekts „Molekulare Epidemiologie“ führten. Umfang dieses Kleinprojekts war der Abgleich KPC-2-tragender klinischer Bakterienisolate, welche dem NRZ vorliegen, versus Umwelt-Bakterienisolate aus Proben (Abwasser und Oberflächenwasser) des LANUV ARB-Projekts. Ergebnisse dieser ersten Untersuchung (Molekulare Epidemiologie – Teil 1) des NRZ haben daraufhin zu einer Ausweitung der Untersuchungen im Rahmen des Folgeprojekts „Molekulare Epidemiologie – Teil 2“ geführt.

Eine ausführliche Darstellung der Inhalte und Ergebnisse des zweiteiligen Projekts können dem im Anhang (Abschnitt A 3) angefügten Abschlussbericht des NRZ entnommen werden. Nachfolgend sind einige wichtige Ergebnisse aus der Kooperation mit dem NRZ zusammengestellt.

Wichtige Ergebnisse und deren Interpretation:

- Der Vergleich von KPC-2-tragenden Umweltisolaten mit KPC-2-tragenden klinischen Isolaten aus ähnlicher geographischer Herkunft ergab keine enge genetische Verwandtschaft. Die meisten in Abwasser und Oberflächenwasser nachgewiesenen Bakterienspezies und Sequenztypen sind nicht diejenigen, die typischerweise in der Humanmedizin gefunden werden – aber die nachgewiesenen Carbapenemasen sind solche, die in der Humanmedizin die größte Rolle spielen. Diese Diskrepanz erklärt sich dadurch, dass die Resistenzdeterminanten (Carbapenemase-Gene) zwischen Bakterien übertragbar sind und in verschiedenen Habitaten unterschiedliche Bakterienspezies bzw. -stämme einen Selektionsvorteil haben. Die Gefahr besteht darin, dass solche Stämme ihre Resistenzen auch auf medizinisch relevante Spezies und Linien übertragen können.
- Das Vorkommen genetisch ähnlicher Carbapenemase-tragender Isolate in Umweltproben derselben Messstelle des ARB-Projekts zu unterschiedlichen Probenahmezeitpunkten lässt eine Persistenz des jeweiligen Stammes über längere Zeiträume (bis zu > 1 Jahr) an der jeweiligen Stelle vermuten. Das heißt, dass diese 4MRGN-Stämme im Abwasserkanal, der Kläranlage und im Gewässer unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage überdauern können und mit einem kontinuierlichen Eintrag in die aquatische Umwelt gerechnet werden muss.

- Auftreten und Persistenz verschiedener Carbapenemase-tragender High-Risk-Klone²⁵ in Krankenhausabwasser, Rohabwasser und behandeltem Abwasser zweier Kläranlagen (Zu- und Ablauf KA Engelskirchen und KA Münster-Geist) sowie im Gewässer (Agger) unterhalb der Einleitung einer dieser Kläranlagen (KA Engelskirchen). Es handelt sich jeweils um relativ eng verwandte Isolate, die im Abwasser (Schacht) des jeweiligen Krankenhauses und dem Zulauf zur jeweiligen Kläranlage (Ablauf Sandfang) sowie teilweise auch im Ablauf der Kläranlage und im Gewässer unterhalb der Einleitung nachgewiesen wurden. In den bei einer Probenahme (in Engelskirchen) zusätzlich entnommenen Biofilmen (Schacht Krankenhaus, Gerinne Ablauf der Kläranlage, Stein aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der Kläranlage) waren ebenfalls genetisch ähnliche Isolate der High-Risk-Klone enthalten. Die enge Verwandtschaft der Isolate aus den Krankenhausabwasserschächten mit solchen aus der Kläranlage, in die das Krankenhausabwasser eingeleitet wird, – sowie teilweise auch aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der Kläranlage – lässt die Herkunft aus dem Krankenhausabwasser vermuten. Wurden Isolate der High-Risk-Klone an den jeweiligen Probenahmestellen zu mehreren Probenahmeterminen nachgewiesen, lässt dies auf ein Überdauern der Stämme an der jeweiligen Stelle schließen (bis zu > 1 Jahr) verbunden mit einem möglichen kontinuierlichen Eintrag in die aquatische Umwelt.
- Auftreten von High-Risk-Klonen und anderen Enterobacterales-Isolaten mit zwei Carbapenemasen in Krankenhausabwasser und Rohabwasser (KA Münster-Geist). Krankheitserreger, welche zwei Carbapenemasen bilden, sind besonders problematisch, weil bei Infektionen mit solchen Erregern auch neu entwickelte Antibiotika häufig nicht mehr wirksam sind.
- Bei Nutzung einer für den Nachweis von Carbapenemase-Produktion bzw. 4MRGN-Isolaten spezifischeren und sensitiveren Analytik (mittels CHROMagar mSuperCARBA als primärem Selektivnährmedium; siehe Kapitel 4.4): Auftreten eines NDM-5-tragenden High-Risk-Klons im Ablauf einer weiteren Kläranlage (KA Stemwede, Weh-dem) und im Gewässer unterhalb der Einleitung. Die hier gefundenen Umweltisolate sind verhältnismäßig nah verwandt mit klinischen NDM-5-produzierenden *E. coli* Isolat. Im Einzugsgebiet dieser Kläranlage befindet sich kein Krankenhaus, so dass der Kläranlage kein Krankenhausabwasser zugeleitet wird; man darf allerdings annehmen, dass manche Rehabilitationseinrichtungen oder Alten- und Pflegeheime ebenfalls für einen Eintrag verantwortlich sein können.

Ergebnisse aus dem Projekt „Molekulare Epidemiologie“ erhärten somit das Ergebnis aus dem ARB-Projekt, dass Krankenhausabwässer die vorwiegende Quelle hinsichtlich des Eintrags von hochproblematischen, fakultativen Krankheitserregern mit Multiresistenz – insbesondere 4MRGN-Isolaten inklusive solcher, die zwei Carbapenemasen bilden, – in die Umwelt darstellen können.

²⁵ Als High-Risk-Klone werden bestimmte genetisch homogene Untergruppen einer Bakterienspezies bezeichnet, die sich durch eine weite Verbreitung, teilweise über Kontinente, gepaart mit besonderer Antibiotikaresistenz und/oder Virulenz (krankmachende Eigenschaft) auszeichnen (Prof. Gatermann). Sie sind assoziiert mit einfacher Übertragung, Persistenz in Wirten und effektiver Übertragung zwischen Wirten; haben eine erhöhte Pathogenität und verursachen schwere und/oder wiederkehrende Infektionen (ROER et al. 2018).

Untermauert wurde dies durch das ergänzende Ergebnis, dass relativ eng verwandte Isolate, im Abwasser des jeweiligen Krankenhauses und dem Zulauf zur jeweiligen Kläranlage sowie teilweise auch im Ablauf der Kläranlage und im Gewässer unterhalb der Einleitung nachgewiesen wurden – was deren Herkunft aus dem Krankenhausabwasser nahelegt.

Als zusätzliche Erkenntnis stellte sich heraus, dass unter diesen Erregern auch sogenannte High-Risk-Klone vorkommen können, die sich durch verschiedene Resistenzdeterminanten, erhöhte Pathogenität sowie einfache Übertragung auszeichnen (ROER et al. 2018) und für die belegt ist, dass sie direkt Infektionen beim Menschen verursachen können. Hierzu bedarf es allein des Kontaktes eines empfänglichen Menschen – das heißt eines Menschen mit besonders hohem Infektionsrisiko z. B. aufgrund von Vorerkrankungen, Immunsuppression, Antibiotika-Therapie oder offenen Wunden – mit erregerehaltigem Wasser.

Eine weitere, über die Ergebnisse des ARB-Projekts hinausgehende Erkenntnis stellt die hinsichtlich der Persistenz der genetisch ähnlichen 4MRGN-Isolate an den verschiedenen Probenahmestellen im Kanal (Krankenhausabwasser), der Kläranlage und im Gewässer unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage dar – was vermuten lässt, dass diese dort überdauern können und mit einem kontinuierlichen Eintrag in die aquatische Umwelt gerechnet werden muss.

Schlussfolgerungen

Da vorwiegend Krankenhausabwasser als Eintragsquelle für 4MRGN-Isolate (inklusive solcher die zwei Carbapenemasen bilden) und High-Risk-Klone in die aquatische Umwelt anzusehen ist, sollte zum einen die Selektion solcher multiresistenter Erreger vermieden werden durch die Minimierung nicht indizierter Antibiotikatherapien mittels Antibiotic-Stewardship in den Kliniken und zum anderen sollte der Austrag der vorhandenen multiresistenten Erreger möglichst verhindert werden – vorzugsweise direkt an der Quelle (z. B. im Krankenhaus) mittels dezentraler Abwasserbehandlung.

Die Relevanz weiterer möglicher Quellen für einen Austrag der genannten Erreger in die aquatische Umwelt, wie Abwässer bestimmter medizinischer Einrichtungen, in denen wie im Krankenhaus Carbapeneme oder andere Reserve-Antibiotika zum Einsatz kommen oder Patienten gepflegt bzw. therapiert werden, die entsprechende Antibiotika verabreicht bekommen haben, sollte geprüft werden.

Ein zukünftiges Abwasser-/Gewässermonitoring sollte die für den Nachweis von Carbapenemase-Produktion bzw. 4MRGN-Isolaten spezifische und sensitive Analytik (mittels CHROMagar mSuperCARBA als primärem Selektivnährmedium) umfassen, um weitere Erkenntnisse hinsichtlich des Vorkommens von 4MRGN-*Enterobacterales* zu gewinnen.

8 Danksagung

Wir danken allen Mitarbeitenden der Behörden, Wasserverbände, Anlagenbetreiber, Krankenhäuser und Kliniken sowie der Betriebe der Fleischwirtschaft, die uns hinsichtlich Planung und Umsetzung unseres Projektes mit Informationen sowie bei Anlagenbegehungen und Probenahmen geholfen und somit maßgeblich zum Gelingen des Projekts beigetragen haben, ganz herzlich für ihre Unterstützung.

Unser besonderer Dank gilt dem Amt für Mobilität und Tiefbau der Stadt Münster, dem Fachbereich Tiefbau der Gemeinde Engelskirchen sowie dem Stadtentwässerungsbetrieb Lüdenscheid Herscheid AöR für ihre jeweilige umfangreiche Hilfe bezüglich der Auswahl von Kanalschächten für die Probenahme von Krankenhausabwasser und hinsichtlich der praktischen Durchführung von Probenahmen. Ohne Sie wäre es uns nicht möglich gewesen diesen Teil des Messprogramms umzusetzen. Vielen Dank für ihre Mühen!

Anhang

A 1 Details zu Probenahme und Analytik

A 1.1 Qualitätssicherungsmaßnahmen

Im Rahmen der Probenahme und der nachfolgenden Analytik wurden die Vorgaben des Qualitätsmanagements nach DIN EN ISO 17025:2018-03 angewendet. Alle qualitätsrelevanten Prüfmittel wurden entsprechend überprüft und rückgeführt. Es wurden nur Chemikalien des Reinheitsgrades „zur Analyse“ oder vergleichbarer Qualität verwendet. Für die mikrobiologischen Untersuchungen erfolgte die Qualitätssicherung aller verwendeten Nährmedien – auch für solche, die in der nachfolgenden Norm keine Erwähnung finden – sowie fester Nährmedien und Filterkombinationen und verwendeter Verdünnungslösungen nach DIN EN ISO 11133:2020-10. Die verwendeten Qualitätssicherungsstämmen für Medien, die nicht in der DIN EN ISO 11133:2020-10 hinterlegt sind, sind dem Kapitel Arbeitshilfen (A 1.10) zu entnehmen. In den nachfolgenden Kapiteln werden für die Methodik zentrale qualitätsrelevante Materialien (z. B. Geräte oder Verbrauchsmittel) aufgeführt und der Durchführung der Methodik vorangestellt.

A 1.2 Probenahme

A 1.2.1 Probenahmeplanung

Ziel einer jeden Probenahme ist die Gewinnung von repräsentativen Proben für die jeweilige Fragestellung. Zu berücksichtigen ist dabei sowohl die zeitliche als auch die örtliche Repräsentanz (GRUBERT 1998). Die Planung des Messprogramms lehnte sich an die Vorgaben der DIN EN ISO 5667-1:2007-04 an. Ziele, Umfang und Planung des Messprogramms sowie Kriterien für die Anlagenauswahl und die Festlegung der Messstellen sind im Kapitel Messprogramm dargestellt.

Örtliche Repräsentanz

Alle Messstellen des Messprogramms wurden vor der Probenahme begutachtet und dokumentiert. Im Rahmen des Projektes wurden Probenahmen an einer Quelle, an Seen, Fließgewässern, Abwasserbehandlungsanlagen und Kanalschächten durchgeführt. Wenn möglich wurden bereits bestehende Messstellen aus dem Gewässermonitoring bzw. aus der amtlichen Einleiterüberwachung herangezogen. In diesen Fällen wurde die bisherige Messstellenummer und die Messstellendokumentation beibehalten. Außerdem wurden offizielle Messstellen der Badegewässer-Überwachung genutzt. In den Fällen, in denen keine Messstellen existierten, wurden neue, projektbezogene Messstellen (inklusive Nummer und Beschreibung) festgelegt und dokumentiert.

Kommunale Kläranlagen

Die Probenahmen am „Zulauf“ der untersuchten kommunalen Kläranlagen wurden alle am Ablauf des Sandfangs durchgeführt. Diese Stelle wurde gewählt, weil dort eine Homogenisierung des Abwasserstroms gegeben ist, Grobstoffe durch Rechen bereits entfernt, aber in Schwebe verbleibende Partikel noch enthalten sind. Die Probenahmen an den Abläufen der

kommunalen Kläranlagen wurden alle an den Messstellen der amtlichen Einleiterüberwachung durchgeführt.

Krankenhausabwasser

Die Schmutzwässer der indirekteinleitenden Krankenhäuser, ohne eigene Abwasserbehandlung, wurden an Kanalschächten an der Übergabestelle in das kommunale Kanalnetz beprobt. Die Messstellen lagen vor Vermischung mit Abwasser aus dem kommunalen Kanalnetz. In einem Fall wurde ein Kanalschacht gewählt, an dem bei Regenwetter auch das Niederschlagswasser von oberhalb gelegenen Park- und Verkehrsflächen mit abgeleitet wird. Dieser Umstand wurde bei der Datenauswertung entsprechend berücksichtigt. Die Abwasser-Probenahmestellen an den zwei Krankenhäusern mit eigener Abwasserbehandlungsanlage wurden am Anlagenzulauf und Anlagenablauf sowie an den verschiedenen Verfahrensstufen der weitergehenden Abwasserbehandlung festgelegt. Bei der Anlage eines Krankenhauses wurden zur Beprobung an den Probenahmestellen festinstallierte automatische Probenahmegeräte genutzt.

Abwasser der Betriebe der Fleischwirtschaft

Bei den Betrieben der Fleischwirtschaft wurden Probenahmestellen am Zulauf und Ablauf der Abwasserbehandlungsanlagen festgelegt. Bei einem der zwei indirekteinleitenden Betriebe wurde zusätzlich eine Probenahmestelle an einer Verfahrensstufe innerhalb der Anlage (Flotation) beprobt.

Probenahmestellen an Fließgewässern

Die Auswahl der Gewässermessstellen erfolgte mit Hilfe des Messstellennetzes des Gewässermonitorings. Dabei wurden Messstellen oberhalb und unterhalb der untersuchten Abwassereinleitungen ausgewählt.

Badegewässer

Drei potentiell abwasserbeeinflusste Badegewässer gehörten zum Umfang des Messprogramms. Die Auswahl der Badegewässer und näherer Informationen zu den Messstellen können dem Kapitel Messprogramm entnommen werden. Bei den Probenahmestellen handelt es sich um offizielle Messstellen der Badegewässer-Überwachung.

Quellgewässer

Als ein möglichst anthropogen unbeeinflusstes Gewässer wurde ein Quellgewässer ausgewählt (siehe Kapitel Messprogramm). Als Probenahmestelle diente die amtliche Messstelle der Grundwassergüteüberwachung.

Zeitliche Repräsentanz

Alle Probenahmen erfolgten in einem Zeitfenster von montags bis mittwochs und wurden in der Regel frühestens ab 9:00 Uhr durchgeführt. Ebenso wie der Probenahmezeitpunkt ist auch die Entnahmedauer abhängig von den Zielen der Untersuchung.

Es ist zudem sicherzustellen, dass die gesammelte Probe während des Probenahmezeitraums keine Veränderungen in ihrer Zusammensetzung erfährt (z. B. durch kontaminierte Probenahmegerätschaften oder durch biochemische Veränderungen). Sind derartige Veränderungen

nicht auszuschließen, wird auf jeden Fall eine kürzere Entnahmedauer gewählt (GRUBERT 1998). Um diese Vorgabe in Bezug auf die mikrobiologischen Untersuchungsparameter sicher zu erfüllen, wurde für die Abwasser-Probenahme die qualifizierte Stichprobe unter Verwendung desinfizierter bzw. sterilisierter Probenahmeegerätschaften festgelegt, anstelle einer Mischprobe über einen längeren Zeitraum mittels automatischer und nicht desinfizierter Probenahmeegeräte.

Es wurden mindestens drei, maximal sechs Probenahmen pro Abwasser- bzw. Fließgewässersmessstelle möglichst gleichmäßig über den gesamten Zeitraum des Messprogramms (August 2020 bis September 2022) verteilt durchgeführt, um mögliche jahreszeitliche Einflüsse oder Schwankungen zu berücksichtigen.

A 1.2.2 Probenahmestelle

Die Auswahlkriterien zur Festlegung der Probenahmestellen der kommunalen Kläranlagen, der Krankenhäuser mit eigener Abwasserbehandlung, der Betriebe der Fleischwirtschaft sowie der Badegewässer und des Quellgewässers ist dem Kapitel Messprogramm zu entnehmen.

A 1.2.3 Probenahmeegerätschaften und Probenahmegefäße

Grundsätzlich sind Probenahmetechniken, -gerätschaften und -gefäße so zu wählen, dass eine Veränderung der Probe bezüglich zu untersuchender Parameter weitestgehend ausgeschlossen wird (GRUBERT 1998). Daher ist zu beachten, dass alle mit der Probe in Kontakt kommenden Teile von Geräten und die Probenbehältnisse aus entsprechenden Materialien bestehen und so beschaffen sind, dies zu gewährleisten.

Für die Entnahme von Proben zur Bestimmung von mikrobiologischen Parametern wurden alle Geräte gemäß DIN EN ISO 19458:2006-12 in der Regel thermisch durch Erhitzen mittels Propan/Butan-Kartuschenbrenner, in Ausnahmen chemisch durch Wischdesinfektion mit 70 % (v/v) Isopropanol desinfiziert. Die bei der Abwasser-Probenahme für die qualifizierten Stichproben verwendeten Homogenisiergefäße wurden, genauso wie die dazu gehörenden Entnahmehähne und Magnetührstäbchen im Labor autoklaviert, steril verpackt und erst zur Probenahme vor Ort zusammengebaut.

Bei der Verwendung von automatischen Probenahmeegeräten wurden, um eine mögliche Veränderung der Probe bestmöglich zu vermeiden, vor der jeweiligen Probenahme die mit der Probe in Kontakt kommenden Teile ausgetauscht. Thermisch stabile Bauteile wurden durch Autoklavieren bei 121 °C für 20 min sterilisiert, thermisch instabile Bauteile wurden durch Übernachts-Benetzung in 0,3 % (v/v) H₂O₂ und nachfolgendem Spülen mit sterilem Trinkwasser behandelt und unter der Sicherheitswerkbank getrocknet. Alle Bauteile wurden steril verpackt und vor Ort eingebaut. Die automatischen Probenahmeegeräte wurden zwei Stunden vor Start der Probenahme von 24h-Mischproben mit der Probenmatrix durchgespült.

A 1.2.4 Probenahme Abwasser

Grundlage für die Probenahme von Abwasser bildet die Norm DIN 38402-11:2009-02. Alle Abwasser-Proben im Messprogramm wurden als qualifizierte Stichproben entnommen. Die Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen erfolgte entsprechend DIN EN ISO 19458:2006-12. Die Entnahmen für die qualifizierten Stichproben wurden in einem sterilen Gefäß (Homogenisiergefäß) vereinigt, entsprechend DIN 38402-30:1998-07 mit Rührer bei 10 % Kegel homogenisiert und Teilproben in parameterspezifische Probengefäße (A 1.10) abgefüllt. Für die Vor-Ort-Parameter wurde zusätzlich an jeder Messstelle eine Stichprobe genommen.

A 1.2.5 Probenahme Oberflächenwasser

Die Probenahme von Oberflächenwasser ist je nach Gewässertyp durch die Norm DIN EN ISO 5667-6:2016-12 bzw. DIN 38402-12:1985-06 (Probenahme aus stehenden Gewässern) geregelt. Die Probenahmen an Badegewässern erfolgte entsprechend der europäischen Badegewässerrichtlinie (2006) bzw. der nordrhein-westfälischen Badegewässerverordnung (2007). Die Proben aus Fließ- und Badegewässern wurden als Stichproben entnommen. Die Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen erfolgte entsprechend DIN EN ISO 19458:2006-12.

A 1.2.6 Probentransport, -konservierung und -lagerung

Der Probentransport, ggf. die Konservierung der Proben und deren Lagerung wurde gemäß DIN EN ISO 5667-3:2019-07 durchgeführt. Die Anforderungen für die mikrobiologischen Parameter sind in der Norm DIN EN ISO 19458:2006-12 geregelt und wurden entsprechend angewendet. Zusätzliche Informationen sind dem Kapitel A 1.10 zu entnehmen.

Proben, die für die Analyse von mikrobiologischen Parametern vorgesehen waren, wurden geschützt vor Licht und gekühlt bei $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ transportiert. Bei Transportzeiten > 8 h erfolgte der Transport temperaturüberwacht. Die Transportbedingungen wurden dokumentiert. Die Lagerung der Proben im Labor erfolgte bis zum Ansatz bei $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$. Das maximale Zeitfenster zwischen Probenahme und kulturellem Probenansatz sowie DNA-Extraktion betrug 24 h.

A 1.3 Physikalische und chemische Verfahren

A 1.3.1 Vor-Ort-Parameter

Parameter, die sich nach Entnahme der Probe nicht konservieren lassen, wurden in einer separat entnommenen Stichprobe ermittelt und als Vor-Ort-Parameter (Tabelle 31) in einem Stichprobenprotokoll dokumentiert. Die Vor-Ort-Parameter dienen unter anderem zur Plausibilisierung von Analyseergebnissen.

Tabelle 31: Vor-Ort-Parameter

| Parameter | DIN-Norm |
|------------------|---------------------------|
| Wassertemperatur | DIN 38404-4:1976-12 |
| Lufttemperatur | DIN 38404-4:1976-12 |
| pH-Wert | DIN EN ISO 10523:2012-04 |
| Leitfähigkeit | DIN EN 27888:1993-11 |
| Trübung | DIN EN ISO 7027-1:2016-11 |

A 1.3.2 Bestimmung von Arzneimittelwirkstoffen

Für die quantitative Bestimmung von Arzneimittelwirkstoffen und Transformationsprodukten wurde auf das Normverfahren nach DIN 38047-47:2017-07 (DEV F47) zurückgegriffen. Die Auswahl erfolgte unter dem Aspekt von ubiquitär auftretenden Substanzen in der wässrigen Umwelt sowie unter Berücksichtigung der Vorgaben der Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer (OBERFLÄCHENGEWÄSSERVERORDNUNG – OGEWV, 2016), der Verordnung zum Schutz des Grundwassers (GRUNDWASSERVERORDNUNG – GRWV, 2010) und der Wasserrahmenrichtlinie (WRRL, 2000). Bei den in Tabelle 32 kursiv hinterlegten Substanzen handelt es sich um Antibiotika oder deren Transformationsprodukte.

Tabelle 32: Arzneimittelwirkstoffe und Transformationsprodukte

| Arzneimittelwirkstoffe und Transformationsprodukte | | |
|--|---|---------------------------------|
| Metformin | O-Desvenlafaxin | <i>Dehydrato-Erythromycin A</i> |
| Sotalol | 10,11-Dihydro-10,11-dihydroxycarbamazepin | Bezafibrat |
| <i>Metronidazol</i> | Lamotrigin | Valsartan |
| Atenolol | Metoprolol | <i>Clarithromycin</i> |
| Gabapentin | Tramadol | <i>Roxythromycin</i> |
| Pregabalin | <i>Sulfamethoxazol</i> | Diazepam |
| <i>Sulfadiazin</i> | <i>Sulfadoxin</i> | Atorvastatin |
| Dihydrocodein | Valsartansaeure | Diclofenac |
| Codein | <i>N-Acetyl-Sulfamethoxazol</i> | Indomethacin |
| Metoprololsaeure | Venlafaxin | Hydrochlorthiazid |
| <i>Sulfathiazol</i> | <i>Sulfadimethoxin</i> | Furosemid |
| 4-Formylaminoantipyrin | Bisoprolol | Clofibrinsäure |
| 4-Acetamidoantipyrin | Propranolol | Naproxen |
| <i>Sulfamerazin</i> | Carbamazepin | Fenofibrinsäure |
| Ritalinsäure | <i>Erythromycin</i> | Ibuprofen |
| <i>Trimethoprim</i> | Oxazepam | Gemfibrozil |
| Amisulprid | Candesartan | Phenazon |
| <i>Sulfadimidin</i> | Propyphenazon | Temazepam |
| Primidon | Losartan | |

Mit diesem Verfahren wurden Arzneimittelwirkstoffe und Transformationsprodukte in Trink-, Grund- und Oberflächenwasser bzw. in Abwasser erfasst. Hierbei handelt es sich um ein Direktinjektionsverfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion. Für die meisten Verbindungen, auf welche die Norm Anwendung findet, liegt der untere Anwendungsbereich bei ≥ 25 ng/L für Trink-, Grund- und Oberflächenwasser bzw. ≥ 50 ng/L für behandeltes Abwasser. Im Januar 2022 wurde die Norm DIN 38047-47:2017-07 durch die DIN EN ISO 21676:2022-01 ersetzt. Wesentliche Änderungen des Verfahrens sowie Konsequenzen für das vorliegende Projekt waren damit nicht verbunden.

A 1.3.3 Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs

Die quantitative Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC)-Gehaltes basiert auf dem Normverfahren DIN EN 1484:2019-04 (DEV H3) sowie dem AQS-Merkblatt P14:1995-05. Der TOC-Gehalt ist ein Maß für den gesamten organisch gebundenen Kohlenstoffgehalt gelöster und ungelöster Stoffe in Grund-, Oberflächen- und Abwasser. Bei dem angewandten Verfahren handelt sich um eine thermisch-katalytische Oxidation. Neben organisch gebundenem Kohlenstoff kann die Probe anorganischen Kohlenstoff (Kohlenstoffdioxid, Hydrogencarbonat-/ Carbonat-Ionen) enthalten. Vor der TOC-Bestimmung wurde daher der anorganische Kohlenstoff aus der angesäuerten Probe mit einem Gas ausgeblasen. Anschließend wurde der in der Probe enthaltene organische Kohlenstoff thermisch-katalytisch in einer Sauerstoff- bzw. synthetischen Luftatmosphäre zu Kohlenstoffdioxid verbrannt. Das dabei entstandene Kohlenstoffdioxid wurde mittels Infrarot-Detektor quantifiziert. Die untere Anwendungsgrenze (UAWG) des Verfahrens ist mit 1,0 mg/l Kohlenstoff verifiziert.

A 1.4 Mikrobiologische und molekularbiologische Verfahren

A 1.4.1 Probenvorbereitung

A 1.4.1.1 Festlegung der Ansatzverfahren und Untersuchungsvolumina

Vor Beginn der Analytik erfolgte die Festlegung des labortechnisch zu bearbeitenden Untersuchungsumfanges, um ein statistisch sicheres quantitatives Ergebnis auch bei unbekannter Probenmatrix erzielen zu können. Dazu wurden die Proben anhand der zu erwartenden Menge an Nichtzielorganismen in fünf Kategorien (Tabelle 33) unterteilt.

Tabelle 33: Einteilung der Proben

| Nichtzielorganismen im Wasser* | Matrix (Beispiele) |
|--------------------------------|---|
| Keine | Feldblindwertprobe |
| Wenig | Wasser mit keinem/geringem anthropogenen Einfluss |
| Mittelviel | Oberflächenwasser |
| Viel | Aufbereitetes Abwasser |
| Extrem viel | Rohabwasser |

*Nichtzielorganismen siehe A 1.4.2

Nach den Vorgaben der Checkliste im Anhang A 1.10 erfolgte dann die weitergehende Bearbeitung. Die Checkliste diente als orientierende Hilfestellung für die Festlegung der zu verwendenden Untersuchungsvolumina bzw. Ansatzverfahren. Lagen Erfahrungswerte (Datenhistorie über festgestellte Menge an Nichtziel- und Zielorganismenkonzentration) zu einer Probenahmestelle vor, wurde der Untersuchungsaufwand gegebenenfalls angepasst. Die Analytik umfasste sowohl das Oberflächenverfahren (direktes Ausplattieren auf Agar-Nährmedien mittels Drigalski-Spatel) als auch das Membranfiltrationsverfahren (mit Aufbringen des Filters auf ein Agar-Nährmedium), wobei unterschiedliche Nährmedienarten sowie Untersuchungsvolumina bzw. Verdünnungsstufen zur Anwendung kamen.

Im weiteren Text werden Nährmedienplatten mit gleichem Untersuchungsvolumen, gleichem Nährmedium und gleichem Nachweisverfahren als ein Ansatz betrachtet.

A 1.4.1.2 Homogenisierung

Da wässrige Umweltproben immer ein gewisses Maß an Heterogenität bezüglich der nachzuweisenden Mikroorganismen aufweisen, wurden diese vor Analysebeginn soweit wie möglich homogenisiert. Dazu wurde das Probengefäß vor jeder Entnahme einer Teilprobe mit der Hand gut geschüttelt. Im Falle von sehr schnell sedimentierenden Inhaltsstoffen oder augenscheinlich deutlich ausgeprägter Inhomogenität wurde die Probe mit Hilfe eines sterilen Magnetstäbchens bis zur sichtbar guten Durchmischung, aber mindestens zwei Minuten, bei 10% Kegel gerührt. Teilproben für die weitergehende Analytik wurden bei eingeschaltetem Rührwerk entnommen.

A 1.4.2 Mikrobiologische Verfahren mittels Agar-Nährmedien

Im Rahmen des Projektes wurden die Proben unter Verwendung von Agar-Nährmedien auf antibiotikaresistente Bakterien untersucht. Als Zielorganismen wurden Bakterien definiert, die spezifischen Bakteriengattungen bzw. –arten in Kombination mit dazu festgelegten Resistenzeigenschaften angehörten bzw. spezifische Resistenzen aufwiesen. Für das Anlegen von Primärkulturen im Membranfiltrations- und Oberflächenverfahren galten folgende Vorgaben:

Die Proben wurden mittels Membranfiltrations- und/oder Oberflächenverfahren untersucht. Um eine gute Reproduzierbarkeit der Messergebnisse beim Membranfiltrationsverfahren zu gewährleisten, wurden vor dem Auflegen der Filter auf die Filtrationseinheit die Fritten mit steriler 0,9 % NaCl-Lösung benetzt. Nach Filtration von 10 bis 50 ml Probe wurde vor Überführung des Filters 0,1 ml sterile 0,9 % NaCl-Lösung in der Mitte der Agar-Nährmedienplatte vorgelegt. Das Filter wurde nach der Filtration aus der Filtrationseinheit entnommen und luftblasenfrei aufgelegt. Im Oberflächenverfahren wurde 0,5 ml der Probe bzw. deren dezimale Verdünnung in Doppelbestimmung auf die Agar-Nährmedienplatten mittels Drigalski-Spatel aufgebracht.

Zusätzlich erfolgte für alle selektiven Verfahren eine halbquantitative Bewertung der Nichtzielorganismen (alle Mikroorganismen die verfahrensspezifisch keine Zielorganismen darstellten) auf den jeweiligen Nährmedienplatten entsprechend Tabelle 34.

Tabelle 34: Halbquantitative Bewertung von Nichtzielorganismen

| Nichtzielorganismen | Koloniebildende Einheiten pro Agar-Nährmedienplatte |
|---------------------|---|
| Keine | 0 |
| Wenig | 1- 10 |
| Mittelviele | 11 -30 |
| Viele | 31 – 200 |
| Extrem viele | >200 |

Zur Verringerung gegebenenfalls auftretender Verluste von Antibiotikaresistenzen im Rahmen der Subkultivierung wurden nachfolgende Vorgaben eingehalten:

Die nach Inkubation auf CHROMagar-Nährmedienplatten (Fa. Mast) gewachsenen präsumtiven Einzelkolonien wurden für weitergehende Bestätigungsverfahren nach dem Fließschema in Abbildung 12 subkultiviert.

Die Subkultivierung erfolgte auf TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafsblut bei $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ über (21 ± 3) h in der Regel bis Passage 3. Die weitergehenden Untersuchungen erfolgten dabei immer von frisch Übernacht inkubierten Kulturen. In Ausnahmefällen erfolgte eine Reaktivierung von Isolaten aus der Kryokonservierung. Diese Isolate befanden sich nach dem Fließschema in Passage 3 und wurden erst ab Passage 4 für weitere Zusatzuntersuchungen eingesetzt.

Alle als 3MRGN und 4MRGN bestätigte *Enterobacterales*, alle als 4MRGN bestätigte *P. aeruginosa*-Isolate sowie alle als AB-Gruppe bestätigte Bakterienisolate wurden kryokonserviert (A 1.5).

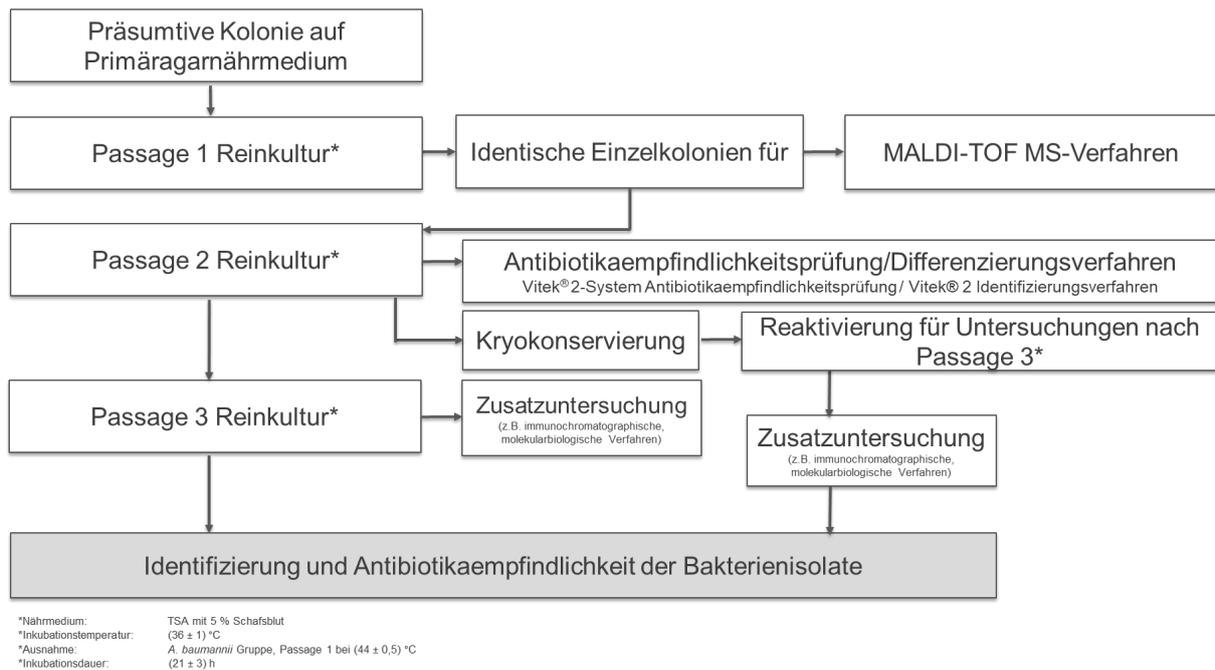


Abbildung 12: Fließschema Subkultivierung von Bakterienisolaten zur Bestimmung antibiotikaresistenter Bakterien

A 1.4.2.1 Bestimmung von ESBL-bildenden Enterobacterales

Die nach EUCAST empfohlene Strategie für den Nachweis von Extended spectrum β -Lactamase-(ESBL)-bildender *Enterobacterales* basiert auf der Nichtempfindlichkeit gegenüber Indikator-Oxyimino-Cephalosporinen, gefolgt von phänotypischen und gegebenenfalls genotypischen Bestätigungstests. Cefpodoxim ist das empfindlichste individuelle Indikator-Cephalosporin für den Nachweis der ESBL-Produktion und kann für ein Screening zur Anwendung kommen (EUCAST, 2017).

Im Rahmen dieses Projektes wurde CHROMagar ESBL (Fa. Mast) verwendet, der nach Herstellerangaben zum Nachweis ESBL-bildender *Enterobacterales* im chromogenen Selektivmedium Cefpodoxim und zur Hemmung von Nichtzielorganismen Cloxacillin und Vancomycin enthält. Cloxacillin wird zur Unterdrückung des Wachstums von AmpC- β -Lactamase-bildender *Enterobacterales* eingesetzt. Zusätzlich erfolgt durch eine stoffwechselphysiologische Umsetzung von Indikatorsubstraten in einen roten Farbstoff (präsumtiver Nachweis von *E. coli*) bzw. in einen blauen Farbstoff (präsumtiver Nachweis der KEC-Gruppe) eine weitergehende Differenzierung der Kolonien.

Die Bestimmung von 3GC-resistenten (resistent gegenüber im Primäragarnährmedium vorhandenem Cefpodoxim in Kombination mit Cloxacillin) sowie bestätigten ESBL-bildenden als auch bestätigten Carbapenemase(CP)-bildenden Zielorganismen aus der Ordnung der *Enterobacterales* (hier: *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp.) umfasste Bakterien, die auf dem selektiven CHROMagar ESBL (Fa. Mast) unter den hier angegebenen Inkubationsbedingungen die nach Herstellerangaben zu erwartenden pigmentierten Kolonien bildeten, nach Identifizierung als entweder *E. coli* oder Bakterien der KEC-Gruppe bestätigt und im weiteren Untersuchungsverlauf entsprechend der in Abbildung 13 aufgezeigten Kriterien eingeordnet wurden.

Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien in Abwasser und Fließgewässern in NRW
 Anhang 1: Details zu Probenahme und Analytik

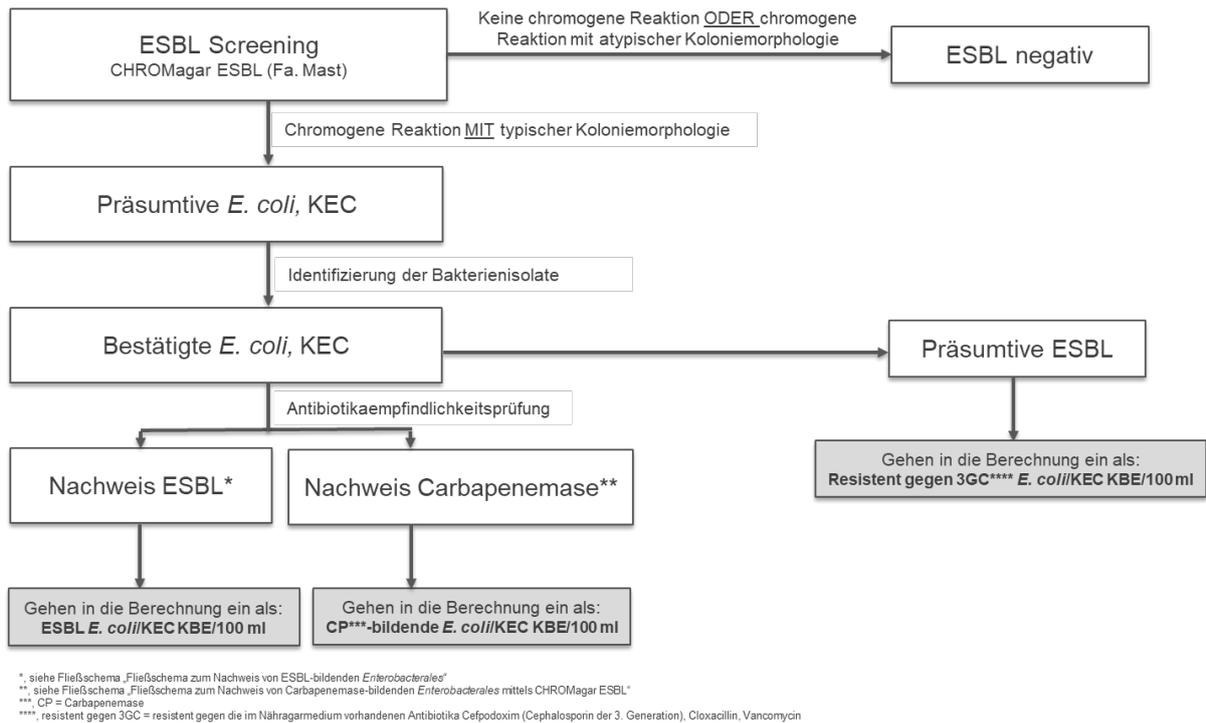


Abbildung 13: Fließschema zum Nachweis von 3GC-resistenten, ESBL- und CP-bildenden *Enterobacteriales*

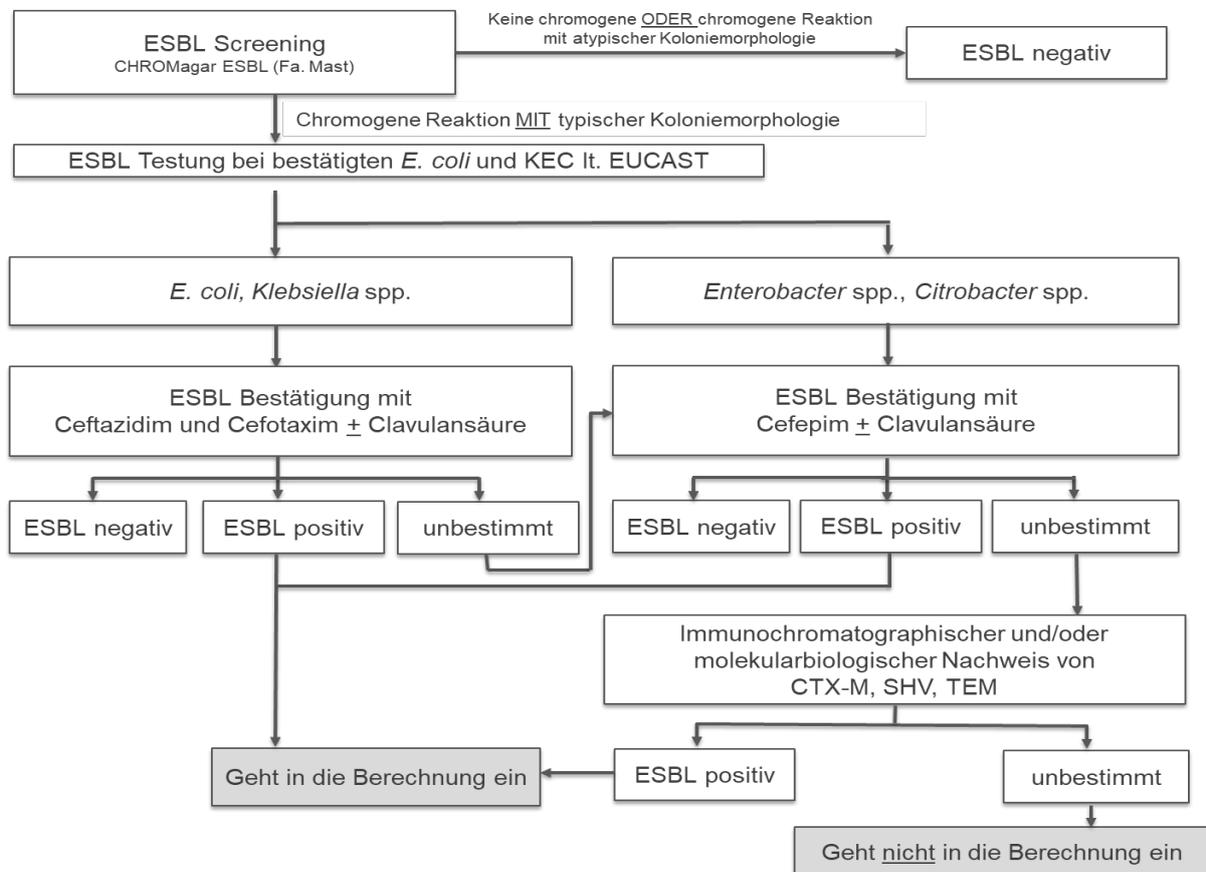
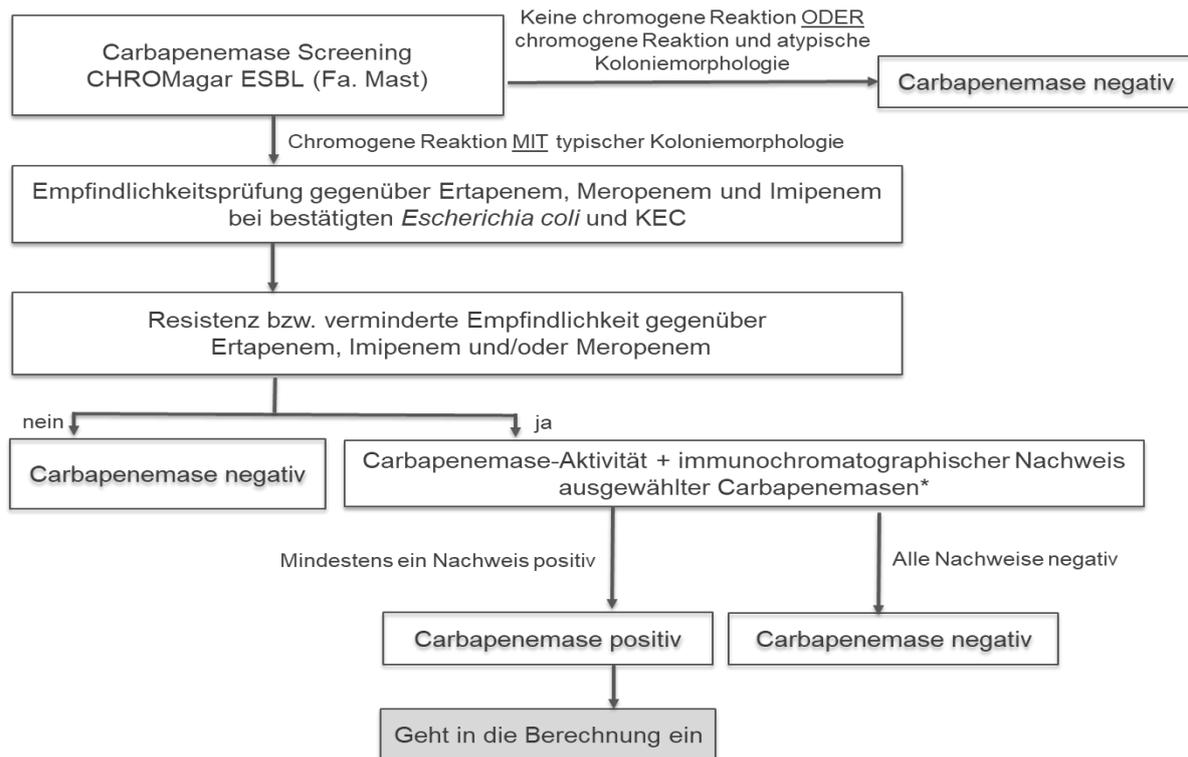


Abbildung 14: Fließschema zum Nachweis von ESBL-bildenden *Enterobacteriales*



* Bei unklarer Befundlage Durchführung eines molekularbiologischer Nachweises; bei weiterhin bestehender Unklarheit Abklärung Carbapenemase-Verdacht durch das NRZ

Abbildung 15: Fließschema zum Nachweis von CP-bildenden *Enterobacterales* mittels CHROMagar ESBL

Material und Prüfmittel:

- CHROMagar ESBL, Fertignährmedienplatten (Fa. Mast, 201470)
- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Verdünnungslösung: sterile 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung
- Brutschrank (42 ± 1) °C und (36 ± 1) °C
- Weiße Zellulosenitratfilter, Porengröße 0,45 µm und Ø 50 mm

Durchführung:

Die mittels Membranfiltration bzw. Oberflächenverfahren beimpften selektiven CHROMagar ESBL Nährmedienplatten wurden bei (42 ± 1) °C für (48 ± 4) h inkubiert. Nach (24 ± 4) h wurde eine Zwischenauswertung durchgeführt, nach (48 ± 4) h erfolgte die Endauswertung auf dunkelpink farbene bis rötliche Kolonien für präsumtive *E. coli* sowie metallischblau farbene Kolonien für präsumtive *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. und *Citrobacter* spp. (KEC-Gruppe). Von den verdächtigen Kolonien wurden jeweils bis zu 10 Kolonien der präsumtiven *E. coli* sowie bis zu 10 Kolonien der präsumtiven KEC-Gruppe auf TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut als 3-Ösenausstrich einer Einzelkolonie überimpft und bei (36 ± 1) °C für (21 ± 3) h bebrütet. Dabei wurde die Subkultivierung der Isolate von einer Nährmedienplatte aus präferiert, die eine möglichst hohe Anzahl an präsumtiven Kolonien unterhalb der oberen Auszählgrenze aufwies. Alle Isolate der Passage 1 (Abbildung 12) wurden entsprechend A 1.6 identifiziert.

Alle als *E. coli* oder Mitglieder der KEC-Gruppe bestätigten Isolate wurden als 3GC-resistente Zielorganismen definiert. Wiesen diese Isolate von Passage 2 aus mittels phänotypischer Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung, immunochromatographischer und/oder gegebenenfalls molekularbiologischer Verfahren eine ESBL auf, wurden sie als ESBL-bildende Zielorganismen definiert. Im Falle eines Carbapenemase-Verdacht wurde zusätzlich auf das Vorhandensein des Enzyms bzw. Gens untersucht. Als Carbapenemase-verdächtig wurden diejenigen Bakterienisolate definiert, die entweder eine Resistenz gegenüber Imipenem, Meropenem und/oder Ertapenem oder eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber diesen Antibiotika, wie in Tabelle 35 in A 1.4.2.2 definiert, aufwiesen. Der Carbapenemase-Verdacht musste durch weitergehende Analytik bestätigt werden.

Bei konsistenter Befundlage wurden die Daten zu den betrachteten präsumtiven Kolonien als 3GC-resistente, ESBL- bzw. Carbapenemase-bildende Zielorganismen interpretiert. War die Befundlage bezüglich ESBL bzw. Carbapenemase für eine Festlegung unzureichend, endete die Analytik an dieser Stelle ohne ESBL- bzw. Carbapenemase-Bestätigung. Für die nachfolgenden Berechnungen wurden diese Kolonie als „Kein Zielorganismus“ bzgl. ESBL bzw. Carbapenemase-Bildung betrachtet.

Es wurden nur Nährmedienplatten ausgewertet, die die obere Auszählgrenze für das Membranfiltrationsverfahren von 80 Kolonien pro Filter bzw. für das Oberflächenverfahren von 200 Kolonien pro CHROMagar-Nährmedienplatte nicht überschritten. Die Berechnung des Ergebnisses erfolgte entsprechend den Vorgaben der DIN EN ISO 8199:2021-12 für Berechnungsverfahren: Allgemeiner Fall mit Bestätigung. Das Ergebnis wurde als gewichtetes Mittel auf zwei signifikante Stellen gerundet als 3GC-resistente, ESBL- bzw. Carbapenemase-bildende *Escherichia coli* bzw. KEC in KBE/100 ml angegeben. Falls keine Zielorganismen nachgewiesen wurden, wurde das Ergebnis als kleiner Nachweisgrenze (NWG) in KBE/100 ml angegeben. Die Nachweisgrenze variierte und berechnete sich aus 1 geteilt durch das höchste auswertbare Untersuchungsvolumen eines Ansatzes.

ACHTUNG!

Der Hersteller des Agar-Nährmediums weist daraufhin, dass in seltenen Fällen Isolate der Gattung *Citrobacter* teilweise dunkelpink farbene bis rosa Kolonien ausbilden, die fälschlicherweise ohne Bestätigung der Identität als *E. coli* gewertet werden (Mitteilung Fa. Mast, 2021).

A 1.4.2.2 Bestimmung von Carbapenemase-bildenden *Enterobacterales*

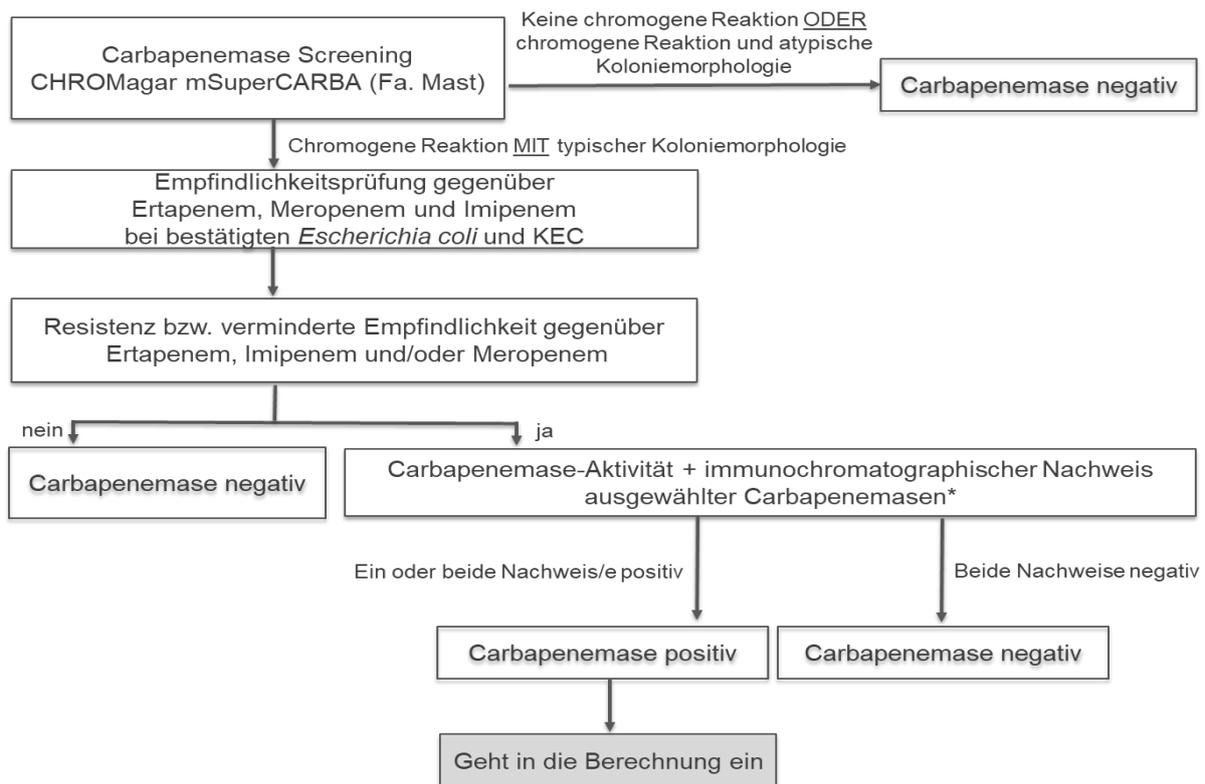
Carbapenemase-bildende *Enterobacterales* besitzen in der Regel eine verringerte Empfindlichkeit beziehungsweise eine Resistenz gegenüber Carbapenemen. Zusätzlich sind sie in den meisten Fällen resistent gegen Cephalosporine mit erweitertem Wirkungsspektrum wie z.B. Cefpodoxim (EUCAST, 2017). Einige Carbapenemase-bildende Bakterien (z. B. mit OXA-48-Enzymen) können aber auch vollständig empfindlich gegenüber Cephalosporinen sein, so dass ein Nachweis mittels CHROMagar ESBL gegebenenfalls nur bei zusätzlicher ESBL erfolgt. Um dieser Möglichkeit Rechnung zu tragen und die Ausbeute von Carbapenemase-positiven Zielorganismen zu erhöhen, wurde in diesem Projekt für ausgewählte Proben zusätzlich der CHROMagar mSuperCARBA (Fa. Mast) eingesetzt. Nach Herstellerangaben wird zum selektiven Nachweis Carbapenemase-bildender *Enterobacterales* im chromogenen Selektivmedium CHROMagar mSuperCARBA Ertapenem eingesetzt. Die stoffwechselphysiologische Umsetzung von Indikatorsubstraten in einen roten Farbstoff (präsumtiver Nachweis von *E. coli*) bzw. in einen blauen Farbstoff (präsumtiver Nachweis der KEC-Gruppe) dient zur weitergehenden Differenzierung der Kolonien.

Die Bestimmung von Carbapenemase-bildenden Zielorganismen aus der Ordnung der *Enterobacterales* (hier: *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp.) umfasste Bakterien, die auf dem selektiven CHROMagar mSuperCARBA unter den hier angegebenen Inkubationsbedingungen die nach Herstellerangaben zu erwartenden pigmentierten Kolonien bildeten, entsprechend A 1.6 als entweder *E. coli* oder Bakterien der KEC-Gruppe bestätigt wurden, in der Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung eine nach den Vorgaben der EUCAST (EUCAST CLINICAL BREAKPOINT TABLES V. 9.0, 2019-01-01) bewertete Resistenz gegenüber Imipenem, Meropenem und/oder Ertapenem besaßen bzw. eine verminderte Empfindlichkeit für diese Antibiotika (Tabelle 35) aufwiesen und eine Carbapenemase ausbildeten (HAMPRECHT ET AL., 2021).

Tabelle 35: Kriterien für weitergehende Untersuchungen auf CP bei nicht Carpanemen-resistenten Zielorganismen

| Bakteriengattung, -art | Verminderte Empfindlichkeit (MHK mg/l) |
|---|--|
| <i>Enterobacter</i> spp., <i>K. aerogenes</i> , <i>Citrobacter freundii</i> | Meropenem > 2 mg/l und/oder Imipenem > 2 mg/l |
| <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp. außer <i>K. aerogenes</i> | Ertapenem > 0,5 mg/l und/oder Meropenem > 2mg/l und/oder Imipenem > 2 mg/l |

Im Fließschema ist der Untersuchungsumfang abgebildet.



* Bei unklarer Befundlage Durchführung eines molekularbiologischer Nachweises; bei weiterhin bestehender Unklarheit Abklärung Carbapenemase-Verdacht durch das NRZ

Abbildung 16: Fließschema zum Nachweis von CP-bildenden *Enterobacteriales* mittels CHROMagar mSuperCARBA

Material und Prüfmittel:

- CHROMagar mSuperCARBA, Fertignährmedienplatten (Fa. Mast, 201473)
- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Verdünnungslösung: sterile 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung
- Brutschrank (42 ± 1) °C und (36 ± 1) °C
- Weiße Zellulosenitratfilter, Porengröße 0,45 µm und Ø 50 mm

Durchführung:

Die mittels Membranfiltration bzw. Oberflächenverfahren beimpften selektiven CHROMagar mSuperCARBA Nährmedienplatten wurden bei (42 ± 1) °C nach (21 ± 3) h auf dunkelpink farbene bis rötliche Kolonien für präsumtive *E. coli* sowie metallischblau farbene Kolonien für präsumtive *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. und *Citrobacter* spp. (KEC-Gruppe) untersucht. Von den verdächtigen Kolonien wurden jeweils bis zu 10 Kolonien der präsumtiven *E. coli* sowie bis zu 10 Kolonien der präsumtiven KEC-Gruppe auf TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut als 3-Ösenausstrich einer Einzelkolonie überimpft und bei (36 ± 1) °C für (21 ± 3) h bebrütet. Dabei wurde die Subkultivierung von Isolaten von einer Nährmedienplatte aus präferiert, die eine möglichst hohe Anzahl an präsumtiven Kolonien innerhalb der Auszählgrenze aufwies.

Alle Isolate der Passage 1 wurden entsprechend A 1.6 identifiziert. Die als *E. coli* oder Bakterien der KEC-Gruppe bestätigten Isolate wurden von Passage 2 aus mittels Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung untersucht. Die nach den Vorgaben der EUCAST als resistent gegenüber Imipenem, Meropenem und/oder Ertapenem eingestuftes Isolate sowie Isolate mit verminderter Empfindlichkeit gegenüber den genannten Carbapenemen, bei denen sich der Verdacht auf das Vorkommen einer Carbapenemase bestätigte (A 1.8.4, A 1.8.5, A 1.9.5), gingen in die Berechnung des Endergebnisses ein. Dabei musste mindestens einer der zwei Bestätigungsteste für den Nachweis von Carbapenemasen positiv ausfallen. Bei unklarer Befundlage erfolgte die Versendung der Bakterienisolate zum Ausschluss bzw. zur Bestätigung einer Carbapenemase an das Nationale Referenzzentrum (NRZ) für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum). Die durch das NRZ bestätigten Isolate gingen ebenfalls in die Berechnung ein.

Es wurden nur Nährmedienplatten ausgewertet, die die obere Auszählgrenze für das Membranfiltrationsverfahren von 80 Kolonien pro Filter bzw. für das Oberflächenverfahren von 200 Kolonien pro 90mm-Nährmedienplatte nicht überschritten. Die Berechnung des Ergebnisses erfolgte entsprechend den Vorgaben der DIN EN ISO 8199:2021-12 für Berechnungsverfahren: Allgemeiner Fall mit Bestätigung. Das Ergebnis wurde als gewichtetes Mittel auf zwei signifikante Stellen gerundet als Carbapenemase-bildende *Escherichia coli* bzw. KEC in KBE/100 ml angegeben.

Falls keine Zielorganismen nachgewiesen wurden, wurde das Ergebnis als kleiner Nachweisgrenze (NWG) in KBE/100 ml angegeben. Die Nachweisgrenze variierte und berechnete sich aus 1 geteilt durch das höchste auswertbare Untersuchungsvolumen eines Ansatzes.

ACHTUNG!

Der Hersteller weist daraufhin, dass in seltenen Fällen Isolate der Gattung *Citrobacter* CHROMagar mSuperCARBA teilweise dunkelpink farbene bis rosa Kolonien ausbilden, die fälschlicherweise ohne Bestätigung ihrer Identität als *E. coli* gewertet werden (Mitteilung Fa. Mast, 2021).

A 1.4.2.3 Bestimmung von Carbapenemase-Bildner aus der AB-Gruppe

Der Nachweis von Carbapenemase-bildenden Bakterien der AB-Gruppe umfasste Bakterien, die auf dem selektiven CHROMagar MDR Acinetobacter (Fa. Mast) unter den angegebenen Inkubationsbedingungen die nach Herstellerangaben zu erwartenden roten Kolonien bildeten, Oxidase-negativ waren, entsprechend A 1.6 als Vertreter der AB-Gruppe (*Acinetobacter baumannii*, *A. pittii*, *A. noscomialis*, *A. seifertii*, *A. dijkschoorniae*) bestätigt wurden, in der Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung eine nach den Vorgaben der EUCAST (EUCAST CLINICAL BREAKPOINT TABLES V. 9.0, 2019-01-01) bewertete Resistenz gegenüber Imipenem und Meropenem besaßen bzw. eine verminderte Empfindlichkeit gegenüber den genannten Antibiotika (MHK: > 2 mg/L Meropenem und MHK: > 2 mg/L Imipenem) aufwiesen sowie eine Carbapenemase ausbildeten. Carbapenem-Resistenz bei Vertretern der *Acinetobacter baumannii*-Gruppe lässt sich fast immer auf die Produktion von OXA-Carbapenemasen zurückführen (EUCAST, 2017).

Im Fließschema ist der Untersuchungsumfang abgebildet.

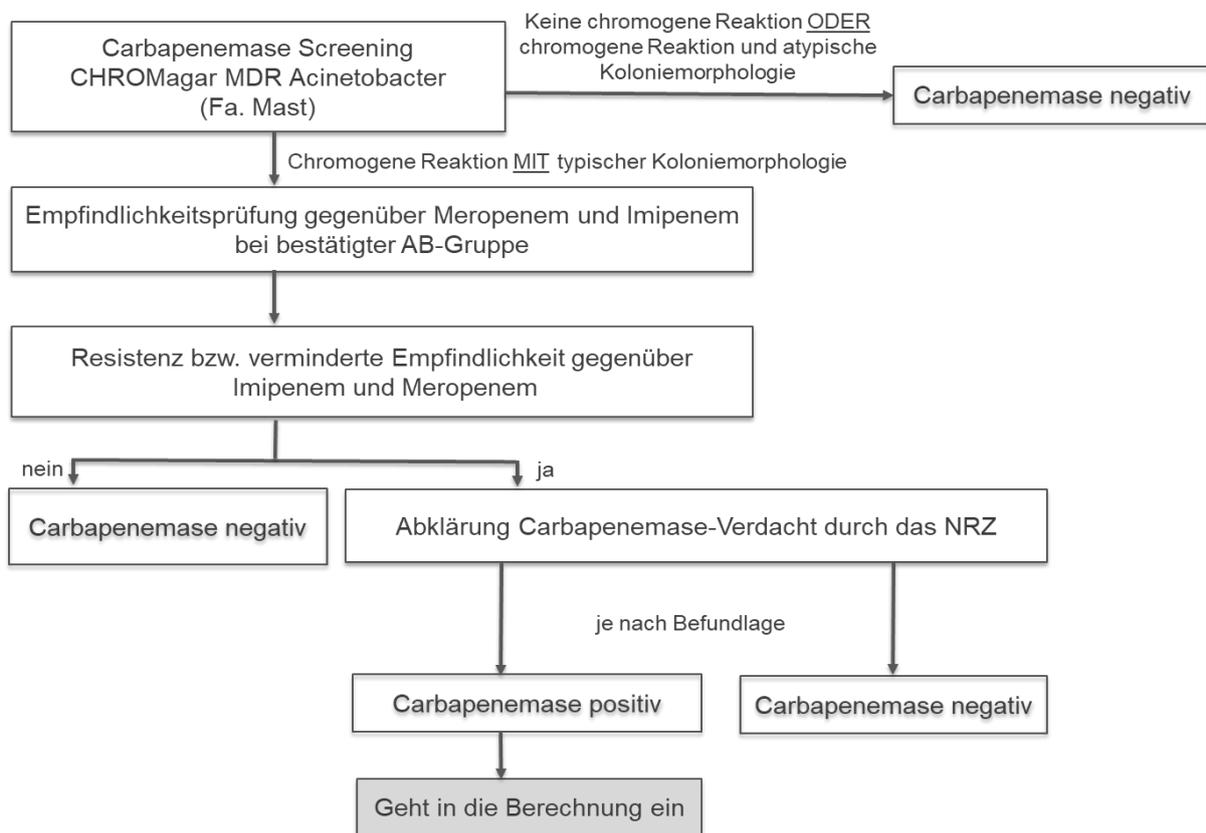


Abbildung 17: Fließschema zum Nachweis von Carbapenemase-bildenden Bakterien der AB-Gruppe

Material und Prüfmittel:

- CHROMagar Acinetobacter, Trockennährmedium inklusive Zusatz mit Wachstums- und Regulatorfaktoren (AC092) mit CHROMagar™ MDR-Zusatz CR102 (Fa. Mast); die Nährmedienherstellung erfolgte nach Angaben des Herstellers.
- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Verdünnungslösung: sterile 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung
- Brutschrank (42 ± 1) °C und ($44 \pm 0,5$) °C
- Weiße Zellulosenitratfilter, Porengröße 0,45 µm und \varnothing 50 mm

Durchführung:

Die mittels Membranfiltration bzw. Oberflächenverfahren beimpften selektiven CHROMagar Acinetobacter MDR Nährmedienplatten wurden bei (42 ± 1) °C für (21 ± 3) h inkubiert und auf rot pigmentierte, Oxidase-negative Kolonien untersucht. Von den verdächtigen Kolonien wurden jeweils bis zu 10 Kolonien auf TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut als 3-Ösenausstrich einer Einzelkolonie überimpft und bei ($44 \pm 0,5$) °C für (21 ± 3) h bebrütet. Dabei wurde die Subkultivierung von Isolaten von einer Nährmedienplatte aus präferiert, die eine möglichst hohe Anzahl an präsumtiven Kolonien innerhalb der Auszählgrenze aufwies. Alle Isolate wurden entsprechend A 1.6 untersucht. Die als AB-Gruppe bestätigten Isolate wurden von Passage 2 aus mittels Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung untersucht.

Die nach den Vorgaben der EUCAST als resistent gegenüber Imipenem und Meropenem eingestufteten Isolate sowie die Isolate mit verminderte Empfindlichkeit gegenüber den genannten Carbapenemen wurden zum Ausschluss bzw. zur Bestätigung einer Carbapenemase an das NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum) verschickt. Alle dabei als Carbapenemase-positiv befundenen und bezüglich ihrer Identität bestätigten Isolate gingen in die Berechnung des Endergebnisses ein.

Es wurden nur Nährmedienplatten ausgewertet, die die obere Auszählgrenze für das Membranfiltrationsverfahren von 80 Kolonien pro Filter bzw. für das Oberflächenverfahren von 200 Kolonien pro 90mm-Nährmedienplatte nicht überschritten. Die Berechnung des Ergebnisses erfolgte entsprechend den Vorgaben der DIN EN ISO 8199:2021-12 für Berechnungsverfahren: Allgemeiner Fall mit Bestätigung. Das Ergebnis wurde als gewichtetes Mittel auf zwei signifikante Stellen gerundet als Carbapenemase-bildende *Acinetobacter baumannii* Gruppe in KBE/100 ml angegeben.

Falls keine Bakterien der Carbapenemase bildenden *Acinetobacter baumannii*-Gruppe nachgewiesen wurden, wurde das Ergebnis als kleiner Nachweisgrenze (NWG) in KBE/100 ml angegeben. Die Nachweisgrenze variierte und berechnete sich aus 1 geteilt durch das höchste auswertbare Untersuchungsvolumen eines Ansatzes.

A 1.4.2.4 Bestimmung von *Pseudomonas aeruginosa* mit Antibiotikaresistenzen

Die Bestimmung von *Pseudomonas aeruginosa* mit Antibiotikaresistenzen umfasste die Bakterien, die unter den gewählten Inkubationsbedingungen auf einem selektiven, cefrimidhaltigen Agar-Nährmedium wuchsen, Pyocyanin produzierten oder unter UV-Licht ($\lambda = (360 \pm 20)$ nm) fluoreszierten und als Oxidase-positiv sowie mit dem MALDI-TOF-MS-Verfahren (A 1.6) als *P. aeruginosa* bestätigt wurden (angelehnt an DIN EN ISO 16266:2008-05) und Antibiotikaresistenzen gegenüber einem oder mehreren ausgewählten Antibiotika mit antipseudomonaler Aktivität zeigten. Im Fließschema ist der Untersuchungsumfang nach Bestätigung der Identität der Bakterienisolate abgebildet.

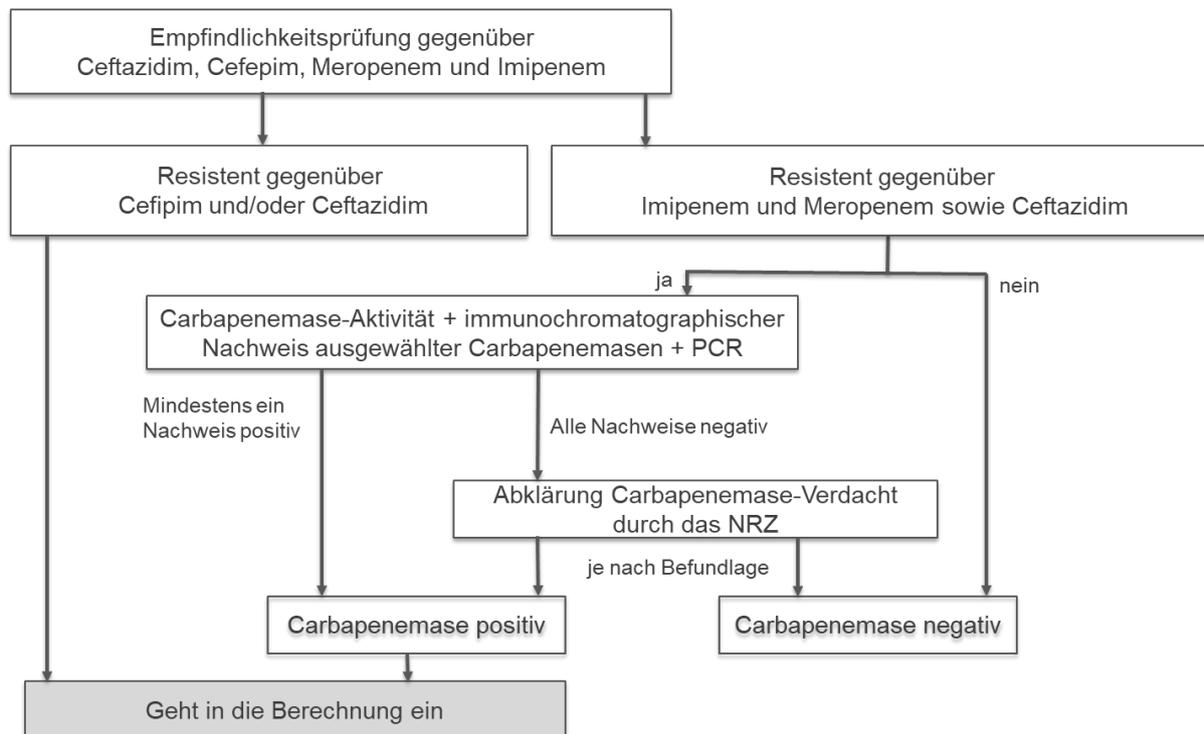


Abbildung 18: Fließschema zum Nachweis von *P. aeruginosa* mit ausgewählten Antibiotikaresistenzen

Material und Prüfmittel:

- Pseudomonas-C-N-Selektiv-Agar, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PO5076A)
- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Verdünnungslösung: sterile 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung
- Brutschrank (42 ± 1) °C und (36 ± 1) °C
- UV-Lampe mit Schaukasten, $\lambda = (360 \pm 20)$ nm
- Weiße Zellulosenitratfilter, Porengröße 0,45 μm und \varnothing 50 mm

Durchführung:

Die Proben wurden im Oberflächen- und/oder im Membranfiltrationsverfahren auf C-N-Agar-Nährmedienplatten angesetzt, bei $(42 \pm 1)^\circ\text{C}$ für (44 ± 4) h inkubiert und auf blaugrün pigmentierte Kolonien bzw. unter UV-Licht fluoreszierende, Oxidase-positive Kolonien untersucht. Von den verdächtigen Kolonien wurden jeweils bis zu 10 Kolonien auf TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut als 3-Ösenausstrich einer Einzelkolonie überimpft und bei $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ für (21 ± 3) h bebrütet. Dabei wurde die Subkultivierung von Isolaten von einer Nährmedienplatte aus präferiert, die eine möglichst hohe Anzahl an präsumtiven Kolonien innerhalb der Auszählgrenze aufwies. Alle Isolate wurden mittels MALDI-TOF-MS-Verfahren untersucht und gegebenenfalls als *P. aeruginosa* bestätigt.

Die bestätigten *P. aeruginosa*-Isolate wurden auf TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut als Ausstrich einer Einzelkolonie überimpft und bei $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ für (21 ± 3) h bebrütet. Anschließend erfolgte die Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung gegenüber Cefepim, Ceftazidim, Meropenem und Imipenem.

Bakterienisolate mit einer nachgewiesenen Resistenz gegenüber Imipenem, Meropenem und Ceftazidim wurden zusätzlich auf das Vorkommen von Carbapenemasen untersucht (A 1.8.4, A 1.8.5). Zusätzlich wurden alle Carbapenemase-verdächtigen Bakterienisolate zum Ausschluss bzw. zur Bestätigung einer Carbapenemase an das NRZ für gramnegative Krankenhauserreger (Bochum) verschickt.

Die nach den Vorgaben der EUCAST (EUCAST CLINICAL BREAKPOINT TABLES V. 9.0, 2019-01-01) als resistent gegenüber Ceftazidim oder Cefepim bzw. gegenüber beiden genannten Antibiotika eingestuft Bakterienisolate sowie die Bakterienisolate die gegenüber Imipenem und/oder Meropenem sowie Ceftazidim (Abbildung 18) Resistenzen aufwiesen und eine Carbapenemase ausbildeten, gingen in die Berechnung des Endergebnisses ein.

Es wurden nur Nährmedienplatten ausgewertet, die die obere Auszählgrenze für das Membranfiltrationsverfahren von 80 Kolonien pro Filter bzw. für das Oberflächenverfahren von 200 Kolonien pro 90mm-Nährmedienplatte nicht überschreiten. Die Berechnung des Ergebnisses erfolgte entsprechend den Vorgaben der DIN EN ISO 8199:2021-12 für Berechnungsverfahren: Allgemeiner Fall mit Bestätigung. Das Ergebnis wurde als gewichtetes Mittel auf zwei signifikante Stellen gerundet als antibiotikaresistente *P. aeruginosa* in KBE/100 ml angegeben.

Falls keine antibiotikaresistenten *P. aeruginosa* nachgewiesen wurden, wurde das Ergebnis als kleiner Nachweisgrenze (NWG) in KBE/100 ml angegeben. Die Nachweisgrenze variierte und berechnete sich aus 1 geteilt durch das höchste auswertbare Untersuchungsvolumen eines Ansatzes.

A 1.4.2.5 Bestimmung von Vancomycin-resistenten Enterokokken

Die Bestimmung Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE) umfasste Bakterien, die auf dem selektiven CHROMagar VRE (Fa. Mast) unter den hier angegebenen Inkubationsbedingungen die nach Herstellerangaben zu erwartenden pigmentierten Kolonien bildeten, entsprechend A 1.6 als entweder *Enterococcus faecium* oder *Enterococcus faecalis* bestätigt wurden und in der Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung eine nach den Richtlinien der EUCAST bewertete Resistenz gegenüber Vancomycin aufwiesen. Im Fließschema ist der Untersuchungsumfang abgebildet.

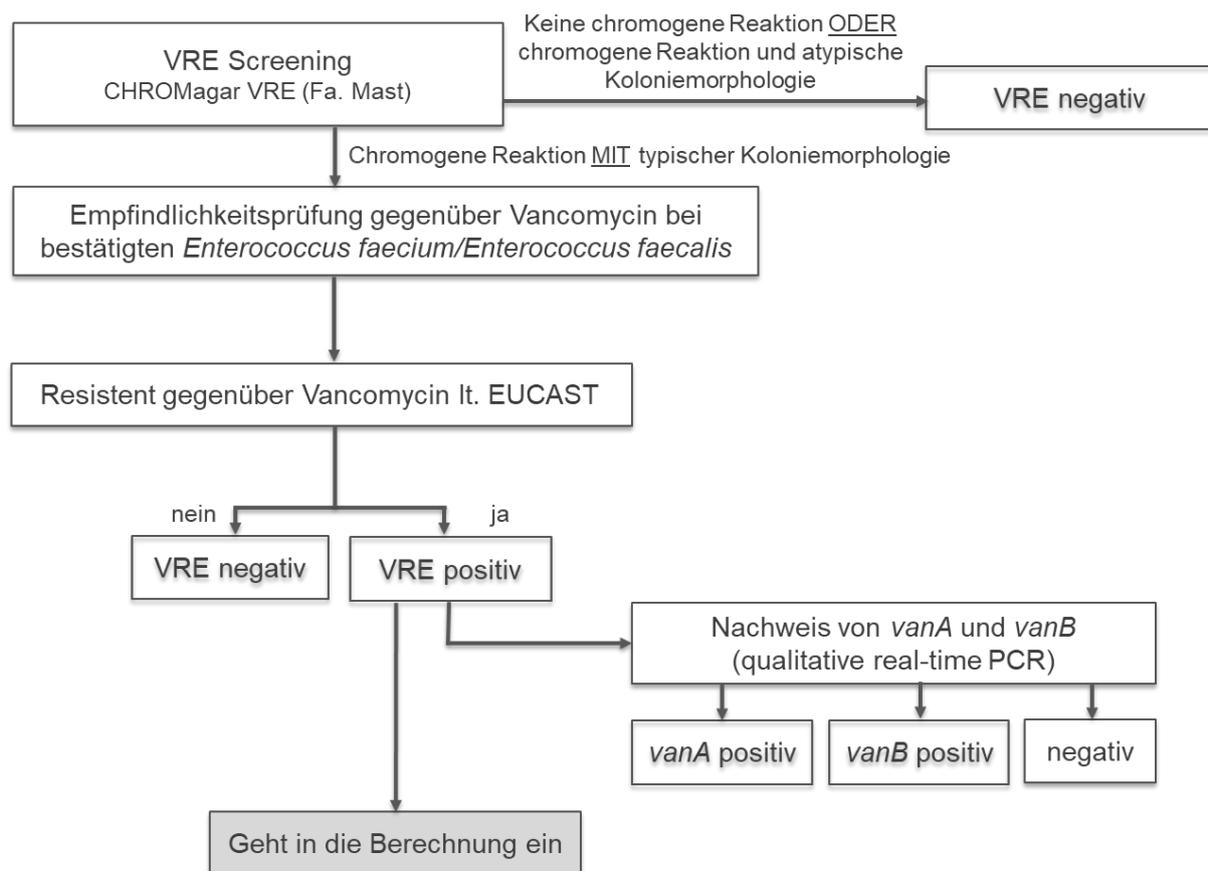


Abbildung 19: Fließschema zum Nachweis von Vancomycin-resistenten Enterokokken

Material und Prüfmittel:

- CHROMagar VRE, Fertignährmedienplatten (Fa. Mast, 201460)
- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Verdünnungslösung: sterile 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung
- Brutschrank (42 ± 1) °C und (36 ± 1) °C
- Weiße Zellulosenitratfilter, Porengröße 0,45 µm und Ø 50 mm

Durchführung:

Die mittels Membranfiltration bzw. Oberflächenverfahren beimpften selektiven CHROMagar VRE Nährmedienplatten wurden bei $(42 \pm 1) ^\circ\text{C}$ für (48 ± 4) h inkubiert. Nach (24 ± 4) h wurde eine Zwischeninspektion durchgeführt, nach (48 ± 4) h erfolgte die Endauswertung auf rosa bis violett farbene Kolonien. Von den verdächtigen Kolonien wurden jeweils bis zu 10 Kolonien auf TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut als 3-Ösenausstrich einer Einzelkolonie überimpft und bei $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ für (21 ± 3) h bebrütet. Dabei wurde die Subkultivierung der Isolate von nur einer Nährmedienplatte aus präferiert, die eine möglichst hohe Anzahl an präsumtiven Kolonien unterhalb der oberen Auszählgrenze aufwies. Alle Isolate wurden entsprechend A 1.6 charakterisiert. Die als *E. faecium* oder *E. faecalis* bestätigten Isolate wurden von Passage 2 aus mittels Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung untersucht. Die nach den Vorgaben der EUCAST (EUCAST CLINICAL BREAKPOINT TABLES V. 9.0, 2019-01-01) als resistent gegenüber Vancomycin eingestuftes Isolate, gingen in die Berechnung des Endergebnisses ein. Alle VRE wurden weiterhin mittels qualitativer real time-PCR bezüglich des *vanA*- und/oder *vanB*-Genclusters untersucht.

Es wurden nur Nährmedienplatten ausgewertet, die die obere Auszählgrenze für das Membranfiltrationsverfahren von 80 Kolonien pro Filter bzw. für das Oberflächenverfahren von 200 Kolonien pro 90mm-Nährmedienplatte nicht überschritten.

Die Berechnung des Ergebnisses erfolgte entsprechend den Vorgaben der DIN EN ISO 8199:2021-12 für Berechnungsverfahren: Allgemeiner Fall mit Bestätigung. Das Ergebnis wurde als gewichtetes Mittel auf zwei signifikante Stellen gerundet als Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) in KBE/100 ml angegeben. Falls keine VRE nachgewiesen wurden, wurde das Ergebnis als kleiner Nachweisgrenze (NWG) in KBE/100 ml angegeben.

Die Nachweisgrenze variierte und berechnete sich aus 1 geteilt durch das höchste auswertbare Untersuchungsvolumen eines Ansatzes.

A 1.4.3 Berechnung für kulturelle Analytik auf Nährmedienplatten

Die Berechnung der Ergebnisse für die kulturelle Analytik auf Nährmedienplatten erfolgte in Anlehnung an DIN EN ISO 8199:2021-12 für Berechnungsverfahren: Allgemeiner Fall mit Bestätigung.

Die Rohdaten wurden - unter Beachtung der jeweilig oberen Auszählgrenze der eingesetzten Verfahren - vor Berechnung auf Plausibilität geprüft, da aufgrund der gegebenenfalls vorhandenen Nichtzielorganismen z. B. weniger Zielorganismen im unverdünnten als im verdünnten Probenansatz nachweisbar sein konnten. Ebenso konnte eine signifikante Abweichung der Anzahl an Zielorganismen auf zwei Nährmedienplatten derselben Verdünnungsstufe vorliegen. In derartigen Fällen erfolgte vorab eine fachliche Einzelfallprüfung der in die Berechnung eingehenden Volumina und Anzahl der Zielorganismenkolonien. Wenn die Anzahl an Zielkolonien auf allen Nährmedienplatten über der Auszählgrenze lagen, wurde das Ergebnis mit „größer als“ angegeben. Nährmedienplatten, die aufgrund von Nichtzielorganismen nicht auf Zielorganismen hin ausgewertet wurden, gingen nicht in die Berechnung ein und wurden als „nicht auswertbar“ gewertet.

Von jeder für die Koloniezählung ausgewählten Platte wurden alle oder eine Teilmenge (in der Regel 10 Stück) der verdächtigen Kolonien bestätigt. Nach der Bestätigung wurde die Anzahl der die Bestätigungskriterien erfüllenden Kolonien a entsprechend nachfolgender Gleichung berechnet

$$a = \frac{b}{A} \times C$$

Dabei ist

A die Anzahl der abgeimpften verdächtigen Kolonien

b die Anzahl der Kolonien, die die Bestätigungskriterien erfüllen

C die Gesamtanzahl der auf der Platte gezählten verdächtigen Kolonie

Das Ergebnis wurde ausgehend von allen auswertbaren Nährmedienplatte/n eines Ansatzes ermittelt. Waren Nährmedienplatten verschiedener Volumina bzw. Verdünnungen innerhalb eines Ansatzes auswertbar, wurde aus diesen das gewichtete Mittel berechnet.

Das Ergebnis wurde auf 100 ml Originalprobe berechnet und auf zwei signifikante Stellen gerundet. Falls die dritte Stelle kleiner als 5 war, wurde die vorhergehende Stelle nicht verändern; falls die dritte Stelle größer oder gleich 5 war, wurde die vorhergehende Stelle um eine Einheit erhöht.

A 1.5 Langzeiterhaltung von Bakterienisolaten

Die Langzeiterhaltung von Referenzstammkulturen zur Qualitätssicherung sowie der gewonnenen Umweltbakterienisolate erfolgte mittels Kryokonservierung in den Kryogefäßen Cryo-bank nach Vorgaben des Herstellers (Fa. Mast). Angelehnt an die DIN 58959-6:2019-06 wurden die Stämme im Ultratiefkühler bei einer Temperatur von ≤ -70 °C gelagert.

A 1.6 Identifizierung von Bakterienisolaten

Die Bakterienidentifizierung der auf den Agar-Nährmedien von Primärkulturen als Zielorganismen-verdächtig interpretierten Kolonien setzte sich aus mehreren Arbeitsschritten zusammen (Abbildung 20). Alle präsumtiven Kolonien wurden zur Identifizierung zuerst mit einem MALDI-TOF-MS-Verfahren überprüft. Bestätigte sich die Identität dieser Kolonien nicht, wurden sie als „kein Zielorganismus“ bewertet. Bei Bestätigung der Identität erfolgte für Isolate aus der KEC-Gruppe eine zusätzliche Differenzierung mit dem Vitek® 2 ID-Verfahren anhand Ihrer Stoffwechselphysiologie. Abschließend wurde die Gesamtbefundlage auf Plausibilität überprüft.

Bei konsistenter Befundlage wurden die Befunde der jeweiligen präsumtiven Kolonie als „Zielorganismus“ bewertet und abschließend das belastbarste Identifizierungsergebnis nach Abschnitt A 1.6.4 festgelegt. Bei widersprüchlicher Befundlage wurden zusätzliche Verfahren, wie die partielle Sequenzierung der 16S rDNA, durchgeführt, um die Datenlage zu erweitern und das Identifizierungsergebnis abzusichern. War die Gesamtbefundlage unzureichend, um ein plausibles Identifizierungsergebnis festzulegen, endete die Analytik an dieser Stelle. Für nachfolgende Berechnungen wurde diese Kolonie als „kein Zielorganismus“ betrachtet.

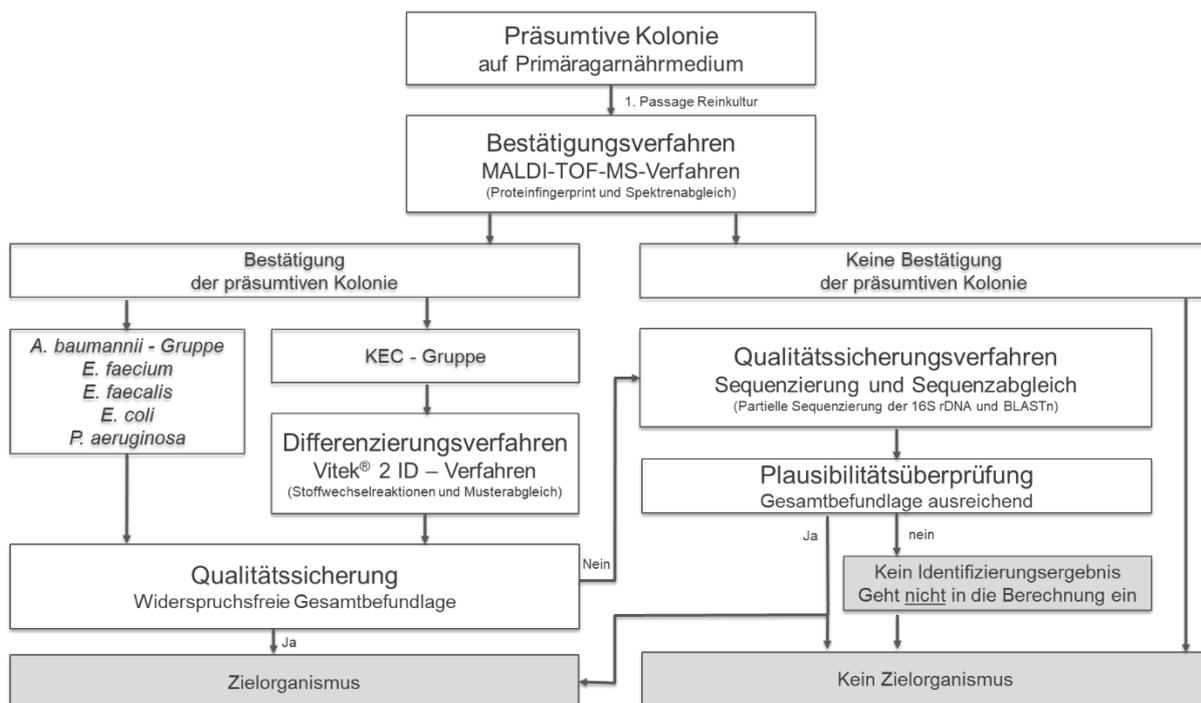


Abbildung 20: Fließschema der Identifizierung von Bakterienisolaten

A 1.6.1 MALDI-TOF MS-Verfahren

Alle präsumtiven Kolonien wurden über ein MALDI-TOF-MS-Verfahren untersucht. Das Verfahren erlaubt eine Differenzierung und Identifizierung von Bakterien anhand ihrer Biomoleküle. Den größten Teil der sich im Messbereich von 2000 Dalton bis 20.000 Dalton befindlichen Moleküle stellen dabei ribosomale Proteine dar. Durch das Verfahren werden molekulare Fingerabdrücke, sogenannten Proteinfingerprints, erzeugt und zur Identifizierung mit Referenzspektren aus einer Datenbank abgeglichen.

Material und Prüfmittel:

- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Brutschrank (36 ± 1) °C
- MALDI Gerät, MALDI Biotyper®, mikroflex LT/SH (Fa. Bruker)
- MALDI System, MALDI Biotyper® Research Use Only
- MALDI Software
- MBT Compass Version 4.1.100
- flexControl Version 3.4
- MALDI-MSP-Bibliothek
- BDAL Datenbankversion 9 (Stand 2019-12) für Isolate bis 2021-10,
- BDAL Datenbankversion 10 (Stand 2020-11) für Isolate ab 2021-10 bis 2022-02, BDAL Datenbankversion 11 (Stand 2022-02) für Isolate ab 2022-02
- MALDI Identifikationsmethode, MALDI Biotyper MSP Identification Standard Method 1.1
- MALDI Vorverarbeitungsmethode, MALDI Biotyper Preprocessing Standard Method 1.1
- MALDI ACQ Methode, MBT_FC
- MALDI AutoXecate-Methode, MBT_AutoX
- MALDI Trägerplatte MSP 96 target polished steel BC (Fa. Bruker, 8280800)
- MBT FAST Shuttle IVD (Fa. Bruker, 1878263)
- Bruker Matrix α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid (HCCA, Fa. Bruker, 8255344)
- Bruker Lösemittel Standard solvent (Fa. Sigma-Aldrich, 900666)
- Bruker Bacterial Test Standard (BTS, Fa. Bruker, 255343)

Durchführung:

Die zu untersuchende Kolonie wurde als 3-Ösenausstrich auf eine TSA-Nährmedienplatte mit 5 % Schafblut ausgestrichen und bei (36 ± 1) °C für (21 ± 3) h bebrütet. Die MALDI-TOF-MS-Analytik von Einzelkolonien dieser Reinkultur erfolgte zeitnah nach Inkubationsende oder kurzer Lagerungen der Kultur bei Raumtemperatur am selben Tag. Von einer einzeln liegenden Kolonie wurde randständig Material für den Transfer auf die MALDI-Trägerplatte abgenommen und von der identischen Kolonie eine neue Subkultur für weitere Analyseverfahren angelegt. Der Materialtransfer auf die MALDI-Trägerplatte erfolgte nach der Direkttransfermethode. Es erfolgte keine Extraktion. Bei der Direkttransfermethode wurde eine kleine Menge an Biomasse der Kolonie als dünner Film direkt auf die Trägerplatte aufgebracht und sofort mit 1 μ l HCCA-Matrixlösung überschichtet. Der Trocknungs- und Kristallisationsprozess erfolgte entweder bei Raumtemperatur oder unterstützt durch die Verwendung des MBT FAST Shuttle.

Das biologische Material der zu untersuchenden Kolonie wurde als technisches Duplikat auf die Trägerplatte aufgebracht. Zudem wurde jeder MALDI-Lauf qualitätsgesichert. Zur Laufvalidierung und Kontrolle wurden zwei Felder der Trägerplatte mit BTS beaufschlagt und auf der Trägerplatte ein von Lauf zu Lauf variierendes Feld als Blindwert, nur mit HCCA-Matrixlösung überschichtet.

Die Identifizierungsebene entspricht der vom MALDI-System vergebenen Konsistenzkategorie. Diese wird anhand vom besten und vom zweitbesten Treffer und den zugewiesenen Bewertungszahlen nach Herstellervorgaben berechnet und bewertet. Eine Kategorie A-Bewertung bedeutet Spezieskonsistenz, eine Kategorie B-Bewertung Gattungskonsistenz und eine Kategorie C-Bewertung keine Konsistenz. Die Überprüfung auf Widerspruchsfreiheit der Ergebnisse der Doppelbestimmung erfolgt automatisiert. Beide Einzelbestimmungen gehen in die Berechnung der Konsistenzkategorie ein. Die als Zielorganismus-verdächtig interpretierte Kolonie galt nach dem hier beschriebenen Verfahren als bestätigt, wenn der beste Treffer dem Verdacht entsprach und die Konsistenzkategorie für eine Bestätigung ausreichend war.

Die Arten, die der KEC-Gruppe angehörten, hielten mindestens die Anforderung der Konsistenzkategorie B ein. Für die Zielorganismen *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* und für Arten der *A. baumannii*-Gruppe war eine Einstufung in die Konsistenzkategorie A zur Bestätigung notwendig.

Einige Bakterienisolate waren durch das beschriebene Verfahren nicht sicher auf Art-Ebene voneinander abzugrenzen. Dies stellte eine Limitierung des Verfahrens dar, die bei der Ergebnisfestlegung beachtet wurde.

A 1.6.2 Vitek® 2 – System

Die als Zielorganismen bestätigten Kolonien der KEC-Gruppe wurden durch das Vitek® 2-Identifizierungsverfahren weitergehend charakterisiert. Das Verfahren erlaubt eine Differenzierung und Identifizierung der Bakterien anhand ihrer stoffwechselphysiologischen Eigenschaften. Hierzu wurden verschiedene biochemische Tests (Substratverwertung, enzymatische Reaktionen) an Suspensionen von Reinkulturen in einer colorimetrischen Identifizierungskarte durchgeführt, über die Inkubationsdauer mehrfach durch eine optische Einheit ausgewertet und die Kinetik durch das System bewertet. Das Ergebnis wurde mit denen in der Datenbank hinterlegten Spezies-spezifischen Merkmalen abgeglichen und das Identifizierungsergebnis ausgegeben.

Bei widersprüchlicher Befundlage wurden auch Zielorganismen, die nicht der KEC-Gruppe angehörten, mit dem Verfahren weitergehend charakterisiert.

Material und Prüfmittel:

- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Brutschrank (36 ± 1) °C
- VITEK Densitometer
- DensiCHEK plus (Fa. bioMérieux, 21250)
mit Standards Kit (Fa. bioMérieux, 21255)

- VITEK DENSICHEK Basiseinheit (Fa. bioMérieux, 422220)
mobile optische Einheit (Fa. bioMérieux, 423000)
mit Standard MCFARLAND REFERENCE (Fa. bioMérieux, 422219)
- VITEK System, VC-VITEK2 COMPACT 60 – CLINICAL (Fa. bioMérieux, 4700734)
- VITEK Reader, VITEK 2 COMPACT 60 (Fa. bioMérieux, 27560)
- VITEK Software für Reader, VITEK 2 COMPACT 60 Reader, Softwareversion 2.03
- VITEK PC Systemsoftware und Datenbank
Version 08.01 bis 21.01.2020
Version 09.02 seit 22.01.2020
- VITEK Identifizierungskarten
- VITEK 2 GN (Fa. bioMérieux, 21341)
- VITEK 2 GP (Fa. bioMérieux, 21342)
- Suspensionsmedium NaCl 0,45% (Fa. bioMérieux, V1204)
- Kontrollstämme für Qualitätssicherung nach Herstellerangaben

Durchführung:

Die zu untersuchende Kolonie wurde als 3-Ösenausstrich auf eine TSA-Nährmedienplatte mit 5 % Schafblut ausgestrichen und bei $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ für (21 ± 3) h bebrütet. Wurden kryokonser-vierte Isolate verwendet, erfolgte nach deren Reaktivierung und vor Untersuchungsbeginn eine erneute Subkultivierung.

Die Analytik startete direkt nach Entnahme der Kulturplatte aus dem Inkubator oder kurzzeiti-ger Lagerung der Kultur bei Raumtemperatur. Von einzeln liegenden Kolonien wurden 2 bis 4 Kolonien mit einem sterilen Tupfer abgenommen und eine homogene Bakteriensuspension mit einem Trübungswert von 0,5 bis 0,63 McFarland Units (MFU) hergestellt.

Die VITEK-Identifizierungskarte wurde innerhalb von 30 Minuten nach Herstellung der Sus-pension beimpft. Anschließend wurde die befüllte Karte innerhalb von 15 Minuten in den VITEK 2 COMPACT 60 Reader überführt, automatisch bei $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ inkubiert und abgelesen. Von der Bakteriensuspension wurde ein Kontrollausstrich angelegt, nach den vorgenannten Inkubationsbedingungen inkubiert und am Folgetag auf Reinheit überprüft.

Die Ergebnisse der Einzelreaktionen auf der Karte ergeben zusammen ein Reaktionsmuster, das durch die Software mit den in der Datenbank hinterlegten erwarteten Reaktionen einzelner Arten oder Gruppen vergleichend ausgewertet wird. Eine volle Übereinstimmung wird als 99-prozentige Identifizierungswahrscheinlichkeit interpretiert. Für eine eindeutige Identifizierung ist mindestens eine 85-prozentige Übereinstimmung notwendig. Gibt es kein eindeutiges Iden-tifizierungsmuster, wird eine Auswahl möglicher Organismen angezeigt oder der Stamm wird nicht bestimmt.

Einige Bakterienisolate waren durch das beschriebene Verfahren nicht sicher auf Art-Ebene voneinander abzugrenzen. Dies stellte eine Limitierung des Verfahrens dar, die bei der Ergeb-nisfestlegung beachtet wurde.

Die Eingangskontrolle der Identifizierungskarten und des Suspensionsmediums erfolgte unter Verwendung der vom Hersteller vorgegebenen Qualitätskontrollvorgaben.

A 1.6.3 16S rDNA-Sequenzierung und Sequenzabgleich

Für die molekularbiologische Identifizierung der Isolate wurde jeweils die gesamte DNA einer Bakterienkolonie extrahiert. Anschließend wurde ein Genfragment (ca. 1400 bp) der 16S rDNA per Polymerasekettenreaktion (PCR) amplifiziert und eine Teilsequenzierung von ca. 1100 Basen durchgeführt. Die Sequenz wurde mit öffentlich zur Verfügung stehenden Sequenzdatenbanken verglichen und die Verwandtschaftsverhältnisse mittels geeigneter Software-Algorithmen ermittelt.

Die Analytik erfolgte bei widersprüchlicher Befundlage, um eine breitere Datenbasis zur Festlegung und Absicherung des Identifizierungsergebnisses zu erlangen.

Eckpunkte der beauftragten Analytik:

- DNA-Extraktion durch Freeze & Thaw-Verfahren
- Vervielfältigung eines Genfragments der 16S rDNA
- PCR-Produktkontrolle über Gelelektrophorese (Fragmentlänge von ca. 1400 bp)
- First Generation Sequenzierung nach Sanger (Teilsequenzlänge von ca. 1100 bp)
- Standard Nucleotide BLAST bei NCBI (blastn)
- Datenbank Nucleotide collection (nr/nt) oder Reference RNA Sequences (RefSeq_rna)
- Ergebnis nach bestem Hit in Abhängigkeit vom Max Score, Query Cover, Expect value und Percent Identity

Die Analytik wurde fremdvergeben. Für den Versand wurde eine Reinkultur ab Passage 2 auf TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut angelegt, bei $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ für (21 ± 3) h bebrütet und die Kulturplatte direkt oder nach Lagerung im Kühlschrank bei $(5 \pm 3)^\circ\text{C}$ verschickt. Der Versand erfolgte lichtgeschützt und ungekühlt bei Umgebungstemperatur.

Einige Bakterienisolate waren durch das beschriebene Verfahren nicht sicher auf Art-Ebene voneinander abzugrenzen. Dies stellte eine Limitierung dar, die bei der Ergebnisfestlegung beachtet wurde.

A 1.6.4 Festlegung des Identifizierungsergebnisses

Anhand der Gesamtbefundlage, bestehend aus mindestens zwei Teilergebnissen, kultureller Befund und MALDI-TOF-MS-Befund, wurde das wahrscheinlichste Identifizierungsergebnis für die untersuchte präsumtive Kolonie festgelegt. Die Definition der Zielorganismen ist den Ausführungen zu den kulturellen Verfahren zu entnehmen (A 1.4.2).

Die zur Identifizierung verwendeten Verfahren wiesen methodenspezifische Limitierungen auf, die im nachfolgenden beschrieben sind:

- Durch die verwendeten Identifizierungsverfahren wurden Daten erhoben, die mit Referenzeinträgen aus Datenbanken abgeglichen wurden. Für Arten, die ein sehr ähnliches Datenmuster aufwiesen, kamen die Verfahren an Ihre Differenzierungsgrenze.
- Da die Identifizierung der Isolate mit MALDI-TOF-MS (A 1.6.1) wesentlich auf ribosomalen Proteinen beruht, traten - ähnlich wie bei der Sequenzierung (A 1.6.3) - bei sehr eng verwandten Arten Limitierungen bei deren Differenzierung auf. Eine Prüfung auf Plausibilität

der Ergebnisse war deshalb wie bei jeder Identifizierungsmethode erforderlich (PAVLOVIC ET AL., 2011).

- Ähnliche Limitierungen traten ebenfalls bei der Taxa-Identifizierung nach A 1.6.2 auf. Bestimmte Spezies gehörten dabei möglicherweise einer als „Keimpaar“ bezeichneten Taxa-Identifizierung an. Dies tritt auf, wenn das Biomuster dieser Taxa identisch ist. Zur Unterscheidung der Keimpaar-Taxa sind unter Umständen Zusatztests erforderlich (FA. BIOMÉRIEUX, 2020).

Alle genannten verfahrensspezifischen Limitierungen wurden bei der Festlegung des wahrscheinlichsten Identifizierungsergebnisses beachtet.

Über die unter A 1.6 beschriebenen Verfahren hinaus, wurden keine weiteren Zusatzteste oder eine weitergehende Multilocus-Sequenztypisierung (MLST) durchgeführt. War die Gesamtbefundlage unzureichend um ein plausibles Identifizierungsergebnis festzulegen, endete die Analytik an der Stelle ohne Identifizierungsergebnis.

Anhand der Gesamtbefundlage wurde das wahrscheinlichste Identifizierungsergebnis auf Artenebene festgelegt. Für Arten die der *Acinetobacter baumannii* Gruppe angehören, war die festgelegte Identifizierungsebene die AB-Gruppe. Für Arten die dem *Citrobacter freundii*-Komplex (SCHOCH ET AL., 2020), dem *Enterobacter cloacae*-Komplex (SCHOCH ET AL., 2020), dem *Klebsiella oxytoca*-Komplex (YANG ET AL., 2022) oder dem *Klebsiella pneumoniae*-Komplex (RODRIGUES ET AL., 2018) zugeordnet wurden, war die festgelegte Identifizierungsebene der jeweilige Komplex.

Im weiteren Bericht werden

- alle Isolate, die zur *Acinetobacter baumannii*-Gruppe gehören, als AB-Gruppe,
- alle Isolate, die zum *Citrobacter freundii*-Komplex gehören, als *Citrobacter freundii*,
- alle Isolate, die zum *Enterobacter cloacae*-Komplex gehören, als *Enterobacter cloacae*,
- alle Isolate, die zum *Klebsiella oxytoca*-Komplex gehören, als *Klebsiella oxytoca* und
- alle Isolate, die zum *Klebsiella pneumoniae*-Komplex gehören, als *Klebsiella pneumoniae* bezeichnet.

A 1.7 Phänotypische Verfahren zur Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung

A 1.7.1 Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung mit Vitek® 2 – System

Die taxonomisch als Zielorganismen bestätigten und identifizierten Umweltisolate wurden durch das automatisierte Diagnostiksystem Vitek® 2 auf Ihre Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Substanzen (AST) geprüft. Das Verfahren basiert auf der von MacLowry, Marsh und Gerlach beschriebenen MHK-Methode und stellt im Wesentlichen eine miniaturisierte, verkürzte Version der geometrischen Verdünnungsreihe für die MHK-Bestimmung mit Hilfe der Mikrodilutionsmethode dar (FA. BIOMÉRIEUX, 2018).

Hierzu wurde das zu prüfende Bakterienisolat in Ab- und Anwesenheit von antimikrobiellen Substanzen in einer Resistenzkarte inkubiert, das Bakterienwachstum über die Inkubationsdauer mehrfach durch eine optische Einheit ausgewertet und die Kinetik durch das System bewertet. Das MHK-Ergebnis wurde mit denen in der Datenbank hinterlegten Spezies-spezifischen Grenzwerten nach EUCAST kategorisiert und eine Interpretation als sensibel (S), intermediär (I) oder resistent (R) für jede getestete Substanz/-kombination ausgegeben. Die Informationen zu dem getesteten Umweltisolat wurden anschließend durch das Advanced Expert System (AES) ausgewertet. AES prüft die Daten auf Konsistenz, weist auf ungewöhnliche Ergebnisse hin und schlägt für die getestete Antibiotikafamilie einen oder mehrere Phänotypen bzgl. der Resistenz vor.

Material und Prüfmittel:

- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Brutschrank (36 ± 1) °C
- VITEK Densitometer
 - DensiCHEK plus (Fa. bioMérieux, 21250)
 - mit Standards Kit (Fa. bioMérieux, 21255)
 - VITEK DENSICHEK Basiseinheit (Fa. bioMérieux, 422220)
 - mobile optische Einheit (Fa. bioMérieux, 423000)
 - mit Standard MCFARLAND REFERENCE (Fa. bioMérieux, 422219)
- VITEK System, VC-VITEK2 COMPACT 60 – CLINICAL (Fa. bioMérieux, 4700734)
- VITEK Reader, VITEK 2 COMPACT 60 (Fa. bioMérieux, 27560)
- VITEK Software für Reader, VITEK 2 COMPACT 60 Reader, Softwareversion 2.03
- VITEK PC Systemsoftware und Datenbank
 - Version 08.01 bis 21.01.2020
 - Version 09.02 seit 22.01.2020
- VITEK Auswertesoftware und Einstellungen
 - MHK – Interpretationsrichtlinie: EUCAST 2019 DE NAK
 - AES – Parameterset: EUCAST + Phänotypisch DE NAK (Letzte Änderung 08.05.2020)
 - Therapeutische Interpretationsrichtlinie: NATURAL RESISTANCE
- VITEK Resistenzkarten
 - VITEK 2 AST-N223 (Fa. bioMérieux, 13110)
 - VITEK 2 AST-N248 (Fa. bioMérieux, 413397)
 - VITEK 2 AST-P592 (Fa. bioMérieux, 22287)
- Suspensionsmedium NaCl 0,45% (Fa. bioMérieux, V1204)
- Kontrollstämme für Qualitätssicherung nach Herstellerangaben

Durchführung:

Die zu untersuchende Kolonie wurde als 3-Ösenausstrich auf eine TSA-Nährmedienplatte mit 5 % Schafblut ausgestrichen und bei $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ für (21 ± 3) h entsprechend Abbildung 12 bebrütet. Kryokonservierte Isolate wurden reaktiviert und erst nach erneuter Subkultivierung für die Analytik verwendet. Die Analytik startete direkt nach Entnahme der Kulturplatte aus dem Inkubator oder kurzzeitiger Lagerung der Kultur bei Raumtemperatur. Von einzeln liegenden Kolonien wurde biologisches Material (ca. 2 bis 4 Kolonien) mit einem sterilen Tupfer abgenommen und eine homogene Bakteriensuspension mit einem Trübungswert von 0,5 bis 0,63 MFU hergestellt. Von der Suspension wurde nach Herstellerangaben ein Teilvolumen von 145 μl bei gramnegativen Isolaten und 280 μl bei grampositiven Isolaten in 3 ml Kochsalzlösung (0,45 %) verdünnt in die Analytik eingesetzt.

Tabelle 36: Verwendete Vitek® 2 AST-Resistenzkarten

| Vitek® 2 AST – Resistenzkarte | Bakterienart/Bakteriengattung |
|-------------------------------|---|
| N223 | <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Citrobacter</i> spp. Bei Carbapenemase-Verdacht nach Resistenzkarte N223 wurde zusätzlich die Resistenzkarte N248 beimpft. |
| N248 | <i>A. baumannii</i> – Gruppe, <i>P. aeruginosa</i> |
| P592 | <i>E. faecalis</i> , <i>E. faecium</i> |

Die Resistenzkarte wurde innerhalb von 30 Minuten nach Herstellung der Suspension mit dieser beimpft. Anschließend wurde die befüllte Karte innerhalb von 15 Minuten in den VITEK 2 COMPACT 60 Reader eingelesen und bei $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ inkubiert. Von der Bakteriensuspension wurde ein Kontrollausstrich angelegt, nach den vorgenannten Inkubationsbedingungen inkubiert und am Folgetag auf das Vorliegen einer Reinkultur überprüft. Die Auswahl der Resistenzkarte erfolgte nach Tabelle 36. Die Resistenzkarte wurde mit der Bakterienidentifizierung nach Abschnitt A 1.6 verknüpft, um eine Interpretation der MHK-Ergebnisse nach S, I oder R zu erhalten.

Eine belastbare Identifizierung war für die Interpretation notwendig. Das AES prüfte im Anschluss die Daten auf Konsistenz, wies auf ungewöhnliche Ergebnisse hin und schlug für die getestete Antibiotikafamilie einen oder mehrere Phänotypen vor.

Anmerkung: Die therapeutische Interpretationsmöglichkeit für klinische Isolate durch das AES wurde für die im vorliegenden Projekt untersuchten Umweltisolate deaktiviert (INTERPRETATIONSRICHTLINIE NATURAL RESISTANCE, FA. BIOMÉRIEUX).

Die Befunddaten wurden in drei Vertrauensebenen „konsistent“, „konsistent nach Korrektur“ und „inkonsistent“, kategorisiert. Ein als konsistent bewerteter Befund bedeutete, dass die gemessenen Werte in den Messbereichen lagen, die in der AES-Wissensbasis für die betrachtete Spezies hinterlegt sind. Bei nur einer Abweichung wurde eine Korrektur eines MHK- oder Testwertes für die Analyse durchgeführt und auf dem Befund als „Konsistent nach Korrektur“ angegeben. In beiden Fällen wurde/n ein oder mehrere Resistenzphänotyp/en vorgeschlagen. Wenn mehrere Phänotypen berichtet wurden, wurde der Verdacht durch qualifiziertes Personal unter Verwendung von Zweitmethoden abgesichert.

Ein als inkonsistent durch das AES bewerteter Befund bedeutete, dass die gemessenen Werte bei mehr als einem Wert von der AES-Wissensbasis abwichen. Die hinterlegten Algorithmen basieren auf Diskriminanzanalysen die gänzlich oder zumindest vorwiegend mit klinischen Isolaten durchgeführt wurden, so dass bei Betrachtung von Umweltisolaten ein inkonsistenter Befund nicht unbedingt auf handwerkliche Fehler (z.B. Mischkultur oder unzutreffende Identifizierung) hindeutet, sondern dem System unbekannt sein kann. Ein Phänotyp wird in diesem Fall vom System nicht vorgeschlagen. Bei inkonsistenten Befunden wurde auf handwerkliche Fehler im Analyseprozess geprüft und eine Abklärung, beziehungsweise Bestätigung von Resistenzmechanismen durch Zweitmethoden, durchgeführt.

Die in Tabelle 36 benannten Resistenzkarten Vitek® 2 AST – N223 oder N248 erlaubten bei belastbarer Identifizierung (A 1.6) eine MRGN-Klassifizierung auf Basis der Leitantibiotika nach KRINKO (siehe A 1.7.2). Die abschließende Festlegung der MRGN-Klassifizierung der betrachteten gramnegativen Umweltisolate erfolgte anhand der Vitek® 2 AST-Befunde und der Befunde der weitergehenden Resistenzanalytik bzgl. Carbapenemase-Nachweis.

Die Qualitätseingangskontrolle der Resistenzkarten und des Suspensionsmediums erfolgte unter Verwendung der vom Hersteller angegebenen Qualitätskontrollvorgaben.

A 1.7.2 MRGN-Klassifizierung

Die Einteilung der untersuchten Vertreter der *Enterobacterales* sowie *P. aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii*-Gruppe in MRGN-Klassen (Tabelle 37) erfolgte nach den Vorgaben der KRINKO (2019) unter Berücksichtigung der FAQ des NRZ (2019) und Anwendung des EUCAST-Systems. Dabei wurden zur Klassifikation die vier wichtigsten klinisch-therapeutischen Antibiotikaklassen (Ureidopenicilline, Cephalosporine der dritten Generation, Carbapeneme und Fluorchinolone), die als primäre bakterizide Therapeutika bei schweren Infektionen verwendet werden, betrachtet.

Tabelle 37: Klassifizierung multiresistenter gramnegativer Stäbchen (KRINKO, 2019)

| Antibiotikagruppe | Leitsubstanz | Enterobacterales | | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | <i>Acinetobacter baumannii</i> | |
|----------------------------------|--------------------------------|--------------------|--|--|--|--------------------------------|--|
| | | 3MRGN ¹ | 4MRGN ² | 3MRGN ¹ | 4MRGN ² | 3MRGN ¹ | 4MRGN ² |
| Acylureidopenicilline | Piperacillin | R | R | Nur eine der 4 Antibiotikagruppen wirksam (S oder I) | R | R | R |
| 3./4. Generations-Cephalosporine | Cefotaxim und/oder Cefotaximid | R | R | | R | R | R |
| Carbapeneme | Imipenem und/oder Meropenem | S oder I | R | | R | S oder I | R |
| Fluorchinolone | Ciprofloxacin | R | R | | R | R | R |
| | | | oder Nachweis einer Carbapenemase ³ | | oder Nachweis einer Carbapenemase ³ | | oder Nachweis einer Carbapenemase ³ |

R, resistent; I, sensibel bei erhöhter Dosierung/Exposition; S, sensibel bei normaler Dosierung

1, 3MRGN, Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen

2, 4MRGN, Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen

3, Unabhängig vom Ergebnis der phänotypischen Resistenzbestimmung für Carbapeneme sowie der anderen drei Substanzklassen

A 1.8 Phänotypische Verfahren zur Bestimmung von Resistenzmechanismen

A 1.8.1 Bestimmung von β -Lactamasen mittels β -LACTA-Test®

Der qualitative kolorimetrische β -LACTA-Test zeigt eine verringerte Empfindlichkeit gegenüber Cephalosporinen der 3. Generation, die auf das Vorhandensein von β -Lactamasen mit erweitertem Wirkspektrum (ESBL), erworbenen Cephalosporinasen (AmpC) sowie Carbapenemasen (KPC, MBL) in den Bakterien hinweisen, an. Dieser Test wurde optional ergänzend zur Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung mittels Vitek zur Erweiterung der Befundlage angewendet.

Material und Prüfmittel:

- β -LACTA-Test (Fa. Bio-Rad, 68250)
- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Brutschrank (36 ± 1) °C

Die Bakterienisolate wurden aus Passage 2 (Abbildung 12) auf TSA mit Schafsblut ausgestrichen, bei (36 ± 1) °C für (21 ± 3) h inkubiert und anschließend nach Angaben des Herstellers in den β -LACTA-Test eingesetzt. Die gegebenenfalls auftretende Farbveränderung im Testsystem wurde abgelesen und entsprechend den Vorgaben des Herstellers entweder als ein positives oder negatives Ergebnis bzgl. Empfindlichkeit gegenüber 3GC dokumentiert.

Arbeitstäglich erfolgte zusätzlich die Qualitätssicherung des Verfahrens unter Verwendung der im Kapitel Arbeitshilfsmittel aufgeführten Positiv- und Negativstämmen.

A 1.8.2 Bestimmung von ESBL mittels E-Test®

Das Etest®-System ist ein gebrauchsfertiger, inerten und nicht porenhaltiger Kunststoff-Reagenzstreifen mit einem vordefinierten Antibiotikum/Antibiotikum- β -Lactamase-Inhibitor-Gradienten zur Bestätigung von ESBL. Als ESBL-Inhibitor wird Clavulansäure in Kombination mit verschiedenen Antibiotika verwendet und weist auf das Vorhandensein von Clavulansäure-inhibierbaren ESBL in *Enterobacterales* hin. Dieser Test wurde optional ergänzend zur Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung mittels Vitek zur Erweiterung der Befundlage bezüglich Bestätigung einer ESBL angewendet.

Material und Prüfmittel:

- Etest-Streifen zum Nachweis von ESBL
- Cefotaxim/Cefotaxim+Clavulansäure (Fa. bioMérieux, 532200)
- Ceftazidim/Ceftazidim+Clavulansäure (Fa. bioMérieux, 532500)
- Cefepim/Cefipim+Clavulansäure (Fa. bioMérieux, 534700)
- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Müller-Hinton-Agar, Fertigmischung (Fa. Bio-Rad, 64888)

Die Agar-Nährmedien-Herstellung erfolgte aus einer fertigen Mischung. In jede Petrischale (\varnothing 90 mm) wurden 25 ml des Nährmediums dosiert, um eine garantierte Agarschichtdicke von ($4 \pm 0,5$) mm zu erhalten. Die Qualitätssicherung erfolgte in Anlehnung an DIN EN ISO 11133:2020-10 mit dem im Anhang aufgeführten Qualitätssicherungsstämmen.

- Medium zur Herstellung des Inokulums: sterile 0,9 % (w/v) NaCl-Lösung
- Brutschrank (36 ± 1) °C

Durchführung:

Die Bakterienisolate wurden aus Passage 2 (Abbildung 12) auf TSA mit Schafsblut ausgestrichen und bei (36 ± 1) °C für (21 ± 3) h inkubiert. Anschließend wurde nach den Vorgaben der Fa. bioMérieux ein definiertes Inokulum für die Beimpfung der Müller-Hinton-Nährmedienplatten hergestellt und nach konfluenter Beimpfung mit Etest-Streifen belegt. Der gesamte Vorgang unterlag der 15-15-15-Minuten-Regel (EUCAST 2022); d.h. die Inokulumsuspension wurde innerhalb von 15 Minuten nach Herstellung verwendet, Etest-Streifen innerhalb von 15 Minuten nach der Inokulation aufgelegt und die Nährmedienplatten innerhalb von 15 Minuten nach Aufbringen der Streifen bei (36 ± 1) °C für (18 ± 2) h inkubiert.

Die Auswertung der Müller-Hinton-Nährmedienplatten erfolgte nach den Vorgaben der Fa. bioMérieux durch Ablesen der Hemmhofendpunkte an der Skala des Etest-Streifens. Das Ablesen erfolgte ohne Lupenvergrößerung, gegebenenfalls vor einem dunklen Hintergrund und/oder unter Zuhilfenahme von reflektiertem Licht. Anhand der bestimmten Hemmhofendpunkte und dem daraus berechneten Konzentrationsverhältnis zwischen Clavulansäure-haltigen und nicht Clavulansäure-haltigen Bereichen oder durch optische Bewertung von auftretenden Ellipsen wurde das Ergebnis anhand der vom Hersteller vorgegebenen Auswertetabellen als entweder „ESBL positiv“, „ESBL negativ“ oder „nicht auswertbar“ ermittelt.

Arbeitstäglich erfolgte zusätzlich die Qualitätssicherung des Verfahrens unter Verwendung der durch den Hersteller vorgegebenen Qualitätskontrollstämmen und Qualitätskontrollbereichen. Bei Nichteinhaltung der Qualitätssicherungsvorgaben wurde das Testergebnis nicht gewertet und es erfolgte eine Wiederholung der Analytik.

A 1.8.3 Immunochromatographische Bestimmung von CTX-M

In Deutschland werden die ESBL CTX-M-15 und CTX-M-1 (Gruppe 1) am häufigsten in Bakterienisolaten aus klinischem Probenmaterial nachgewiesen (BEVAN et al., 2017; BERNABEU et al., 2020). Der Nachweis der CTX-M β -Lactamasen der Gruppen 1, 2, 8, 9 und 25 erfolgte mittels des immunochromatographischen Testsystems NG-Test CTX-M MULTI aus bakteriellen Reinkulturen. Das Testsystem basiert auf dem Nachweis von CTX-M-Epitopen in „lateral flow“-Kassetten mittels spezifischer immobilisierter Antikörper.

Das Testsystem weist folgende Varianten nach (Herstellerangaben):

- Gruppe 1: CTX-M-1, -3, -10, -15, -32, -37, -55, -57, -71, -82, -101, -182
- Gruppe 2: CTX-M-2
- Gruppe 8: CTX-M-8
- Gruppe 9: CTX-M-9, -13, -14, -17, -18, -19, -24, -27, -65, -93
- Gruppe 25: CTX-M-94, -100

Material und Prüfmittel:

- NG-Test CTX-M MULTI (Fa. NG Biotech, HW/NGB-CTM-S23-008)
- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Brutschrank (36 ± 1) °C

Durchführung:

Die Bakterienisolate wurden aus Passage 2 (Abbildung 12) auf TSA mit Schafsblut ausgestrichen, bei (36 ± 1) °C für (21 ± 3) h inkubiert und anschließend nach Angaben des Herstellers in das Testsystem eingesetzt.

Das Vorhandensein von CTX-M der Gruppen 1, 2, 8, 9 oder 25 wurde durch eine rote Linie im Testbereich "T" und im Kontrollbereich "C" der „lateral flow“ Kassette angezeigt und entsprechend als CTX-M-positiv gewertet. Wenn die Probe kein CTX-M oder eine nicht nachweisbare Konzentration des Enzyms enthielt, wurde nur eine rote Linie im Kontrollbereich "C" angezeigt. Das Ergebnis wurde als CTX-M-negativ bewertet.

Arbeitstäglich erfolgte zusätzlich die Qualitätssicherung des Verfahrens unter Verwendung der im Kapitel Arbeitshilfen hinterlegten Positiv- und Negativstämmen.

A 1.8.4 Bestimmung von Carbapenemasen-Aktivität

Carbapenemase-bildende *Enterobacterales* sowie *P. aeruginosa* und *A. baumannii* wurden über den Nachweis einer enzymatischen Aktivität gegenüber Carbapenemen bestätigt. Der hier verwendete RAPIDEC CARBA NP-Test (Fa. bioMérieux) besteht aus einem gebrauchsfertigen Testkit, das auf den Nachweis einer Carbapenem-Hydrolyse von Imipenem beruht. Eine Hydrolyse des Substrats führt zur Ansäuerung des Nährmediums, welches den pH-Indikator Phenolrot enthält, wodurch es zu einer Farbänderung des Indikators kommt.

Material und Prüfmittel:

- RAPIDEC CARBA NP-Test (Fa. bioMérieux, 15418)
- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Brutschrank (36 ± 1) °C

Die Bakterienisolate wurden aus Passage 2 (Abbildung 12) auf TSA mit Schafsblut ausgestrichen, bei (36 ± 1) °C für (21 ± 3) h inkubiert und anschließend nach Angaben des Herstellers in das Testkit eingesetzt. Das Ablesen des Testkits erfolgte durch einen Vergleich der Farben der Kontrollkammer ohne Imipenem mit der Reaktionskammer, die Imipenem enthielt. Wenn die nach Herstellerangaben zu erwartende signifikante Farbabweichung zwischen diesen beiden Kammern beobachtet wurde, wurde das Isolat als Carbapenemase-positiv, bei ungenügender oder keiner Farbabweichung als Carbapenemasae-negativ beurteilt.

Ein negatives Ergebnis schloss eine vorhandene Carbapenemase nicht vollständig aus. Daher wurde mindestens ein zusätzliches Verfahren (immuno-chromatographisches und/oder molekularbiologisches Verfahren) zur Absicherung des Ergebnisses durchgeführt.

Arbeitstäglich erfolgte zusätzlich die Qualitätssicherung des Verfahrens unter Verwendung der durch den Hersteller vorgegebenen Positiv- und Negativstämmen.

A 1.8.5 Immuno chromatographische Bestimmung von Carbapenemasen

Ausgewählte Carbapenemasen (OXA-48-like, NDM, VIM, IMP, KPC) wurden unter Verwendung eines immuno chromatographischen Nachweisverfahrens aus Reinkulturen bestimmt. Das Testsystem basiert auf der immuno chromatographischen Bestimmung von Carbapenemase-Epitopen mittels „lateral flow“-Kassetten, bei denen mittels spezifischer immobilisierter Antikörper ein Nachweis erfolgt.

Das Testsystem weist mindestens folgende Varianten (Herstellerangaben):

- NDM Typ: NDM-1, -4, -5, -6, -7, -9
- KPC Typ: KPC-2, -3
- IMP Typ: IMP-1, -8, -11
- VIM Typ: VIM-1, -2, -4, -19
- OXA-48-like: OXA-48, -162, -181, -204, -232, -244, -517, -519, -535
- Nicht-Carbapenemasen (Kreuzreaktivität): OXA-163 und OXA-405 (OXA-48-ähnliche Extended Spectrum Oxacillinasen mit sehr geringer Carbapenemase-Aktivität)

Material und Prüfmittel:

- NG-Test CARBA 5 (Fa. NG Biotech, HW/NGB-CAR-S23-008)
- TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut, Fertignährmedienplatten (Fa. Oxoid, PB5012A)
- Brutschrank (36 ± 1) °C

Durchführung:

Die Bakterienisolate wurden aus Passage 2 (Abbildung 12) auf TSA mit Schafblut ausgestrichen, bei (36 ± 1) °C für (21 ± 3) h inkubiert und anschließend nach Angaben des Herstellers in das Testsystem eingesetzt.

Das Vorhandensein der genannten Carbapenemasen wurde durch eine (bei einzeln auftretenden Carbapenemasen) bzw. mehreren (bei mehreren parallel auftretenden Carbapenemasen) rote/n Linie/n im Testbereich „T“ und im Kontrollbereich „C“ der „lateral flow“ Kassette angezeigt. Wenn eine Linie im Kontrollbereich (C) und eine bzw. mehrere Linie/n im Testbereich (T) nachweisbar waren, enthielt die Probe eine bzw. eine Kombination der genannten Carbapenemasen und wurde als Carbapenemase-positiv (NDM, KPC, IMP, VIM oder OXA-48-like) gewertet. Wenn die Probe keine der genannten Carbapenemasen oder eine nicht nachweisbare Konzentration des Enzyms enthielt, wurde nur eine rote Linie im Kontrollbereich „C“ angezeigt. Das Ergebnis wurde dann als Carbapenemase-negativ bewertet. Ein negatives Ergebnis schließt eine vorhandene Carbapenemase nicht vollständig aus. Daher war mindestens ein zusätzliches Verfahren zur Absicherung des Ergebnisses durchzuführen.

Arbeitstäglich erfolgte zusätzlich die Qualitätssicherung des Verfahrens unter Verwendung der im Kapitel Arbeitshilfen hinterlegten Positiv- und Negativstämmen.

A 1.9 Molekularbiologische Verfahren zur Bestimmung von Resistenzgenen

A 1.9.1 DNA-Extraktion aus Bakterienisolaten

Die Extraktion und Reinigung von DNA aus gramnegativen und grampositiven Bakterienisolaten erfolgte halbautomatisiert mit dem Test-Kit QIAamp DNA Mini QIAcube® Kit nach Herstellerangaben (QIAGEN, 2016; APPENDIX D).

Material und Prüfmittel:

- QIAamp DNA Mini QIAcube Kit (Fa. Qiagen, 1064532)
- 20 mg Lysozym/ml in 20 mM Tris-HCl, pH 8,0, 2 mM EDTA, 1,2 % (v/v) Triton; Lysozym aus Hühnereiweiß, > 40.000 Unit/mg Protein (Fa. Sigma Aldrich, SAE0152)
- Wasser für die Molekularbiologie, DNA-frei
- QIAcube Connect (Fa. Qiagen)

Durchführung:

Die Bakterienisolate wurden auf TSA-Nährmedienplatten mit 5 % Schafblut ausgestrichen, bei $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ für (21 ± 3) h inkubiert und anschließend nach Angaben des Herstellers (QIAGEN 2016; APPENDIX D: PROTOCOLS FOR BACTERIA) in das Testkit eingesetzt. Für grampositive Bakterienisolate erfolgte nach Angaben des Herstellers vorab zusätzlich ein enzymatischer Aufschluss mit Lysozym, indem ein Bakterienpellet in 180 μl Lysozymlösung für mindestens 30 min bei $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ inkubiert wurde. Danach wurde das Protokoll entsprechend Herstellerangaben durchgeführt.

Nach erfolgter DNA-Extraktion wurde der DNA-Gehalt und die Reinheit der Extrakte bestimmt und die Extrakte bis zur weiteren Bestimmung von Antibiotikaresistenzgenen im Ultratiefkühler bei einer Temperatur von $\leq -70 ^\circ\text{C}$ gelagert.

Arbeitstäglich erfolgte im Rahmen der DNA-Extraktion eine Blindwertkontrolle mit DNA-freiem Wasser.

A 1.9.2 DNA-Extraktion aus Wasserproben

Bei der Extraktion von DNA aus Wasserproben wurde im Rahmen des Projektes zwischen Proben mit keiner oder geringer Trübung (≤ 25 FNU) und Proben mit erhöhter bzw. hoher Trübung unterschieden (> 25 FNU). Als Leitparameter zur Differenzierung wurde der Trübungswert der Probe bestimmt nach DIN EN ISO 7027-1:2016 verwendet.

Die Extraktion erfolgte unter Verwendung des NucleoMag® DNA Microbiome Kit. Das Testkit-Verfahren basiert auf der reversiblen Adsorption von Nukleinsäuren an paramagnetischen Beads nach Lyse der Probe durch mechanischen Aufschluss und weitergehender Aufreinigung. Dem Testkit vorgeschaltet ist ein zusätzlicher thermischer Lyseschritt. Das Testsystem ist nach Herstellerangaben für eine DNA-Probenmenge von ca. 50 – 200 mg ausgelegt.

Material und Prüfmittel:

Probenvorbereitung

- Kühlzentrifuge Eppendorf (Model 5810/R) mit Ausschwingrotor (Model A-4-62)
- Polycarbonatmembranfilter mit einer Porengröße von 0,45 µm

Extraktion

- Thermoschüttler Model ThermoMixer C (Fa. Eppendorf)
- Lysing Matrix B (Fa. MP Biomedicals, SGD143.70)
- Homogenisator FastPrepModel FastPrep-24 5G (Fa. MP Biomedicals)
- Vortexer Model MS3 digital mit Plattenaufsatz (Fa. IKA)
- NucleoMag SEP (Fa. Macherey-Nagel, 744900)
- Square-well Block (Fa. Macherey-Nagel, 740481)
- NucleoMag DNA Microbiome Kit® (Fa. Macherey-Nagel, 744330.1)

Durchführung:

A. Probenvorbereitung

Proben mit keiner bzw. geringer Trübung

Proben mit einer Trübung ≤ 25 FNU wurden mittels Filtration aufkonzentriert. Dazu wurden 100 – 500 ml der jeweiligen Probe über einen Polycarbonatmembranfilter mit einer Porengröße von 0,45 µm filtriert, der Filter mit Hilfe einer sterilen Pinzette dreimal gefaltet und in ein 700 µl MI1-Lösung enthaltendes Lysematrix B-Reaktionsgefäß so überführt, das die durch Faltung entstandene Spitze des Filters nach oben gerichtet wurde. Danach wurde das Reaktionsgefäß 5 min bei 2000 rpm gevortext und der Filter entnommen.

Proben mit erhöhter bzw. hoher Trübung

Proben mit einer Trübung > 25 FNU sowie Proben mit einer Trübung ≤ 25 FNU, bei denen weniger als 100 ml Probe durch Filtration angereichert werden konnte, wurden mittels Zentrifugation aufkonzentriert. Dazu wurden 100 – 200 ml der jeweiligen Probe über 15 min bei 5 °C und 3041 rcf zentrifugiert, der Überstand verworfen und das Pellet nach Feststellung des Feuchtgewichtes mit 350 µl MI1- Lösung (NucleoMag DNA Microbiome Kit®) suspendiert, in ein Lysematrix B-Reaktionsgefäß überführt und das Zentrifugenröhrchen nochmals mit 350 µl MI1- Lösung nachgespült.

B. Extraktion

Die probenhaltigen Lysematrix B-Reaktionsgefäße wurden für 5 min bei 70 °C im Thermoschüttler inkubiert und anschließend mittels des Homogenisators FastPrep für 2 x 30 s bei 6 m/s mit einer Pause von 10 s lysiert. Nach einer anschließenden Inkubation von 5 min bei Raumtemperatur erfolgte die Zentrifugation der Proben bei 11.000 rcf für 5 min. Der Überstand wurde in ein 2ml-Reaktionsgefäß überführt und entsprechend den Vorgaben des Herstellerprotokolls „User manual - DNA from soil, stool and biofilm samples – NucleoMag DNA Microbiome, 2020“ weiterbearbeitet.

Nach erfolgter DNA-Extraktion wurde der DNA-Gehalt und die Reinheit der Extrakte bestimmt und die Extrakte bis zur weiteren Bestimmung von Antibiotikaresistenzgenen im Ultratiefkühler bei einer Temperatur von ≤ -70 °C gelagert.

Arbeitstäglich wurde im Rahmen der DNA-Extraktion eine Blindwertkontrolle mit 100 ml DNA-freiem Wasser mitgeführt, die wie eine Probe mit keiner bzw. geringer Trübung bearbeitet wurde.

A 1.9.3 Bestimmung der DNA-Konzentration

Die fluoreszenzbasierte Bestimmung der Konzentration der extrahierten DNA erfolgte mit dem kommerziellen Qubit™ dsDNA Assay-Kit nach den Vorgaben des Herstellers durch Bindung eines Farbstoffs an dsDNA. Die DNA-Qualität wurde durch Absorptionsmessung bei A_{260}/A_{280} mittels Nanodrop ermittelt.

Material und Prüfmittel:

- Qubit™ dsDNA HS Assay (Invitrogen, Q32854)
Core range (high confidence): 1 - 500 ng/mL
Extended ranges (moderate confidence): 0.5 - 1 ng/mL und 500 - 600 ng/mL
- Qubit™ dsDNA BR Assay (Invitrogen, Q32853)
Core range (high confidence): 0.01 - 5 µg/mL
Extended range (moderate confidence): 5 - 10 µg/mL
- Qubit Flex Fluorimeter (Fa. ThermoFisher Scientific)
- NanoDrop™ Lite Spektralphotometer (Fa. ThermoFisher Scientific)

Durchführung:

Die aus Bakterienisolaten und Wasserproben gewonnene DNA wurde direkt nach Extraktion auf die DNA-Konzentration mittels Qubit dsDNA Assay Kit sowie auf ihre Qualität durch Bestimmung des Quotienten der Absorptionsmessung bei A_{260} und A_{280} mittels NanoDrop untersucht. Es sollte ein A_{260}/A_{280} -Wert im Bereich zwischen 1,7 - 1,9 erhalten werden. Wurden Werte unter 1,7 nachgewiesen, war dies ein Hinweis auf Verunreinigung mit Proteinen. Eine weitere Aufreinigung der DNA-Extrakte erfolgte nicht.

Das Ergebnis der DNA-Konzentration wurde bei den DNA-Extrakten von Bakterienisolaten auf zwei signifikante Stellen gerundet als DNA in ng/ml DNA-Extrakt angegeben. Das Ergebnis der DNA-Konzentration bei den DNA-Extrakten aus Wasserproben wurde als DNA ng/ml Originalprobe auf zwei signifikante Stelle gerundet angegeben.

A 1.9.4 Bestimmung von ESBL-codierenden Genen

In der Vergangenheit wurden als vorherrschende ESBL-Familien in der Ordnung der *Enterobacterales* TEM- und SHV-ESBL beschrieben. Seit Anfang der 2000er Jahre wurden diese dann in der Häufigkeit ihres Nachweises durch Enzyme des CTX-M-Typs abgelöst. In dieser ESBL-Familie dominiert die Variante CTX-M-15 weltweit, gefolgt von CTX-M-14 und neuerdings verstärkt auftretend CTX-M-27 (EUCAST, 2017; CASTANHEIRA, SIMNER UND BRADFORD, 2021). Neben den genannten Enzymen werden sporadisch auch andere ESBL wie z. B. PER und VEB identifiziert, die jedoch relativ selten auftreten.

Der molekularbiologische Nachweis von ESBL-Genen fokussierte sich in diesem Projekt daher auf die am häufigsten in klinischen Isolaten der *Enterobacterales* auftretenden Genen *bla*_{CTX-M14}, *bla*_{CTX-M15}, *bla*_{SHV} und *bla*_{TEM}. Das dabei eingesetzte qualitative real-time PCR-Testsystem weist folgende Gen-Varianten nach (Herstellerangaben):

- CTX-M 14: CTX-M-9, 13, 14, 16, 17, 19, 21, 24, 27, 38, 46-51, 65, 67, 73, 81-87, 90, 93, 98, 99, 102, 104, 105, 110-113, 121, 122, 125, 126, 129, 130, 134, 147, 148, 159, 161, 168, 174
- CTX-M 15: CTX-M-1, 3, 10, 12, 15, 22, 23, 28, 29, 30, 32, 36, 37, 52, 55, 58, 60, 61, 64, 69, 71, 72, 79, 80, 82, 96, 103, 114, 116, 117, 123, 132, 136, 138, 139, 142, 144, 150, 155-158, 163, 164, 166, 167, 170, 172, 173, 175, 176, 179, 180, 181, 183, 184
- SHV: 1-3, 7-9, 11-6, 18, 24, 26-36, 38, 40-46, 48-53, 55, 56, 59-62, 64-67, 69-83, 85, 86, 92-111, 120-127, 129, 132-137, 140-168, 172, 173, 178-180, 182, 183, 185-191, 193, 194, 196-228
- TEM: 1-3, 6, 8, 10, 15, 22, 24, 28-30, 43, 45, 47-49, 52, 53, 55, 59, 60, 63, 67, 68, 70-72, 75-99, 101, 104-118, 120-122, 125-131, 133-137, 139, 141-144, 147-160, 162-164, 166-169, 171, 177, 182-185, 187-192, 197, 198, 199, 201, 205-209, 211, 213-217, 219, 220

Material und Prüfmittel:

- Streck ARM-D Kit β -Lactamase; hier CTX-M (Fa. Streck, 250047)
Sensitivität (LOD): 1000 GU/ μ l DNA-Extrakt
- Streck ARM-D Kit TEM, SHV, GES; hier TEM und SHV (Fa. Streck, 250057)
 - Sensitivität (LOD): 1000 GU/ μ l DNA-Extrakt
- CFX96 Deep Well Real Time System, Typ C1000 Touch Thermal Cycle (Fa. Bio-Rad)

Durchführung:

Nachweis aus DNA-Extrakten von Bakterienisolaten

Bei unklarer Befundlage bezüglich phänotypischem Nachweis von ESBL in Bakterienisolaten wurde zusätzlich mittels qualitativer real-time PCR auf das Vorhandensein von *bla*_{CTX-M 14}, *bla*_{CTX-M 15}, *bla*_{SHV} und *bla*_{TEM} getestet. Die Bestimmung erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers, wobei die DNA-Extrakte in einem Konzentrationsbereich zwischen 10 – 200 ng/ μ l als technische Duplikate eingesetzt wurden. Die Auswertung wurde nach den Vorgaben des Herstellers durchgeführt. Ergebnisse wurden als *bla*_{CTX-M 14}, *bla*_{CTX-M 15}, *bla*_{SHV} und/oder *bla*_{TEM}-positiv gewertet, wenn der Cq-Wert der untersuchten Probe zwischen 10 bis \leq 26, der Cq-Wert der Inhibitionskontrolle zwischen 10 – 20 lag und die Positivkontrollen im angegebenen Cq-Wert-Bereich des Herstellers lagen. Bei abweichenden Ergebnissen im technischen Duplikat sowie bei nachgewiesener Inhibition im Reaktionsansatz wurde die Untersuchung unter Einhaltung der vom

Hersteller vorgegebenen Konzentrationswertintervalle für die DNA-Extrakte zusätzlich in Verdünnung (1:2 und 1:10 in DNA-freiem Wasser) wiederholt. Das Ergebnis wurde als negativ bzgl. der nachzuweisenden Gene gewertet, wenn der Cq-Wert bei fehlender Inhibition bei ≥ 27 lag. Das Ergebnis wurde qualitativ als ESBL-positiv bzw. ESBL-negativ angegeben.

Nachweis aus DNA-Extrakten von Wasserproben

Die aus den Wasserproben extrahierte DNA wurde mittels qualitativer real-time PCR auf das Vorhandensein von *bla*_{CTX-M 14}, *bla*_{CTX-M 15}, *bla*_{SHV} und *bla*_{TEM} getestet. Die Bestimmung erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers. Die DNA-Konzentration des eingesetzten Extraktes entsprach der Menge an DNA, die probenspezifisch in 100 ml Wasserprobe zu erwarten war (A 1.9.3). Die Proben wurden als technische Duplikate eingesetzt, wobei ein DNA-Extraktvolumen von 5 µl/well eingesetzt wurde. Die Auswertung erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers. Ergebnisse wurden als *bla*_{CTX-M 14}, *bla*_{CTX-M 15}, *bla*_{SHV} und/oder *bla*_{TEM}-positiv gewertet, wenn der Cq-Wert in mindestens einem Well des technischen Duplikates zwischen 10 bis ≤ 32 , der Cq-Wert der Inhibitionskontrolle zwischen 10 – 20 lag und die Positivkontrollen im angegebenen Cq-Wert-Bereich des Herstellers lagen. Bei abweichenden Ergebnissen im technischen Duplikat sowie bei nachgewiesener Inhibition im Reaktionsansatz wurde die Untersuchung mit 1:2 und 1:10 verdünnten DNA-Extrakten wiederholt. Das Ergebnis wurde als negativ bezüglich der nachzuweisenden Gene gewertet, wenn in den technischen Duplikaten Cq-Wert > 32 bei fehlender Inhibition erhalten wurden. Das Ergebnis wurde bei unverdünnten DNA-Extrakten als *bla*_{CTX-M} oder *bla*_{SHV} oder *bla*_{TEM}-positiv bzw. negativ in 10 ml Wasserprobe angegeben.

Arbeitstäglich erfolgte bei allen Untersuchungen zusätzlich die Qualitätssicherung des Verfahrens unter Verwendung der im Kapitel Arbeitshilfe hinterlegten Positiv- und Negativstämmen.

A 1.9.5 Bestimmung von Carbapenemase-codierenden Genen

In Deutschland wurden in 2021 durch das Nationale Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger (PFENNIGWERTH UND SCHAUER, 2022) bei den untersuchten *Enterobacterales* neben OXA-48- und OXA-48-like-Carbapenemasen hauptsächlich VIM-, NDM- und KPC-Carbapenemasen nachgewiesen.

Der molekularbiologische Nachweis von Carbapenemase-Genen fokussierte sich in diesem Projekt daher auf die häufig in klinischen Isolaten der *Enterobacterales* nachgewiesenen Genen *bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC} und *bla*_{NDM}. Das verwendete Testsystem weist folgende Varianten nach (Herstellerangaben):

- OXA-48 und OXA-48-like: OXA-48, 162, 163, 181, 199, 204, 232, 244, 245, 247, 370, 405, 416, 438, 439, 505, 514, 515, 517, 519, 538, 546, 547, 566, 567
- IMP: IMP-1-4, 6-8, 10, 13, 14, 17-20, 23-25, 27, 30, 32-34, 37, 40, 42, 43, 48, 49, 51, 52, 54-56, 60, 61, 63, 64, 67, 70-73, 75
- VIM: VIM-1-6, 8-12, 14-20, 23-46, 49-51
- KPC: KPC-1-22
- NDM: NDM-1-21, 32

Material und Prüfmittel:

- Streck ARM-D Kit β -Lactamase; hier IMP, OXA-48, VIM, KPC, NDM (Fa. Streck, 250047)
Sensitivität (LOD): 1000 GU/100 μ l DNA-Extrakt
- CFX96 Deep Well Real Time System, Typ C1000 Touch Thermal Cycle (Fa. Bio-Rad)

Durchführung:

Nachweis aus DNA-Extrakten von Bakterienisolaten

Bei unklarer Befundlage bezüglich Carbapenemase-Nachweis durch phänotypische, stoffwechselphysiologische und immunologische Testverfahren, die nicht zu einem eindeutigen Ergebnis führten, erfolgte zusätzlich mittels qualitativer real-time PCR ein Nachweis von ausgewählten Carbapenemase-codierenden Genen (*bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC} und *bla*_{NDM}). Die Bestimmung erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers, wobei die DNA-Extrakte in einem Konzentrationsbereich zwischen 10 – 200 ng/ μ l als technische Duplikate eingesetzt wurden. Die Auswertung wurde nach den Vorgaben des Herstellers durchgeführt. Ergebnisse wurden als *bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC} und *bla*_{NDM}-positiv gewertet, wenn der Cq-Wert der untersuchten Probe zwischen 10 bis \leq 26, der Cq-Wert der Inhibitionskontrolle zwischen 10 – 20 lag und die Positivkontrollen im angegebenen Cq-Wert-Bereich des Herstellers lagen. Bei abweichenden Ergebnissen im technischen Duplikat sowie bei nachgewiesener Inhibition im Reaktionsansatz wurde die Untersuchung unter Einhaltung der vom Hersteller vorgegebenen Konzentrationswertintervalle für die DNA-Extrakte zusätzlich in Verdünnung (1:2 und 1:10 in DNA-freiem Wasser) wiederholt. Das Ergebnis wurde als negativ bezüglich der nachzuweisenden Gene gewertet, wenn kein Cq-Wert bei fehlender Inhibition erhalten wurde. Das Ergebnis wurde qualitativ als Carbapenemase-positiv bzw. Carbapenemase-negativ angegeben.

Nachweis aus DNA-Extrakten von Wasserproben

Die aus den Wasserproben extrahierte DNA wurde mittels qualitativer real-time PCR auf das Vorhandensein von *bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC} und *bla*_{NDM} getestet. Die Bestimmung erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers. Die DNA-Konzentration des eingesetzten Extraktes entsprach der Menge an DNA, die probenspezifisch in 100 ml Wasserprobe zu erwarten war (A 1.9.3). Die Proben wurden als technische Duplikate eingesetzt, wobei ein DNA-Extraktvolumen von 5 μ l/well zur Analyse kam. Die Auswertung erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers. Ergebnisse wurden als *bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC} und *bla*_{NDM}-positiv gewertet, wenn der Cq-Wert in mindestens einem Well des technischen Duplikates zwischen 10 bis \leq 32, der Cq-Wert der Inhibitionskontrolle zwischen 10 – 20 lag und die Positivkontrollen im angegebenen Cq-Wert-Bereich des Herstellers lagen. Bei abweichenden Ergebnissen im technischen Duplikat sowie bei nachgewiesener Inhibition im Reaktionsansatz wurde die Untersuchung mit 1:2 und 1:10 verdünnten DNA-Extrakten wiederholt. Das Ergebnis wurde als negativ bezüglich der nachzuweisenden Gene gewertet, wenn in den technischen Duplikaten ein Cq-Wert $>$ 32 bei fehlender Inhibition erhalten wurden. Das Ergebnis wurde bei unverdünnten DNA-Extrakten als *bla*_{OXA-48}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC} und *bla*_{NDM} positiv bzw. negativ in 10 ml Wasserprobe angegeben.

Arbeitstäglich erfolgte zusätzlich die Qualitätssicherung des Verfahrens unter Verwendung der im Kapitel Arbeitshilfe hinterlegten Positiv- und Negativstämmen.

A 1.9.6 Bestimmung von *vanA* und *vanB*-Genen

Die DNA-Extrakte der *E. faecium*-Bakterienisolate (gleiches gilt grundsätzlich methodisch auch für *E. faecalis*, die jedoch in diesem Messprogramm kulturell nicht nachgewiesen und somit nicht isoliert wurden), die phänotypisch als Vancomycin-resistent charakterisiert wurden, wurden zusätzlich mit Hilfe eines qualitativen real-time PCR-Testkits auf das Vorhandensein des *vanA* bzw. *vanB*-Genclusters geprüft. Hierbei handelt es sich um ein Testkit, mit dem spezifische konservierte DNA-Sequenzen in den *vanA*- und *vanB*-Genen detektiert werden können. Zusätzlich enthält das Testkit eine Inhibitionskontrolle. Die Bestimmung erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers.

Die Mehrzahl der in Deutschland isolierten klinischen VRE-Isolate der Arten *E. faecium* bzw. *E. faecalis* werden dem *vanB*-Typ zugeordnet (EPIDEMIOLOGISCHES BULLETIN, 2021).

Material und Prüfmittel:

- GeneProof VRE PCR Kit (Fa. Geneproof, VRE/ISEX/100)
Sensitivität (LOD): *vanA* 10 GU/100 µl DNA-Extrakt, *vanB* 10 GU/100 µl DNA-Extrakt
- CFX96 Deep Well Real Time System, Typ C1000 Touch Thermal Cycle (Fa. Bio-Rad)

Durchführung:

Nachweis aus DNA-Extrakten von Bakterienisolaten

Die DNA-Extrakte aller *E. faecium* bzw. *E. faecalis*-Bakterienisolate, die als phänotypisch Vancomycin-resistent charakterisiert wurden, wurden zusätzlich mit Hilfe eines qualitativen real-time PCR-Testkits auf das Vorhandensein des *vanA* bzw. *vanB*-Genclusters geprüft. Die Bestimmung erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers, wobei die DNA-Extrakte in einem Konzentrationsbereich zwischen 10 – 200 ng/µl als technische Duplikate eingesetzt wurden. Die Auswertung wurde nach den Vorgaben des Herstellers durchgeführt. Ergebnisse wurden als *vanA*- bzw. *vanB*-positiv gewertet, wenn der Cq-Wert der untersuchten Probe 10 bis < 38, der Cq-Wert der Inhibitionskontrolle ebenfalls < 38 lag und die Positivkontrollen im angegebenen Cq-Wert-Bereich des Herstellers lagen. Bei abweichenden Ergebnissen im technischen Duplikat sowie bei nachgewiesener Inhibition im Reaktionsansatz wurde die Untersuchung unter Einhaltung der vom Hersteller vorgegebenen Konzentrationswertintervalle für die DNA-Extrakte zusätzlich in Verdünnung (1:2 und 1:10 in DNA-freiem Wasser) wiederholt. Das Ergebnis wurde als negativ bzgl. der nachzuweisenden Gene gewertet, wenn ein Cq-Wert ≥ 38 bei fehlender Inhibition erhalten wurde. Das Ergebnis wurde qualitativ als *vanA*- und/oder *vanB*-positiv bzw. *vanA*- und/oder *vanB*-negativ gewertet.

Nachweis aus DNA-Extrakten von Wasserproben

Die aus den Wasserproben extrahierte DNA wurde mittels qualitativer real-time PCR auf das Vorhandensein von *vanA* und/oder *vanB* getestet. Die Bestimmung erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers. Die DNA-Konzentration des eingesetzten Extraktes entsprach der Menge an DNA, die probenspezifisch in 100 ml Wasserprobe zu erwarten war (A 1.9.3). Die Proben wurden als technische Duplikate eingesetzt, wobei ein DNA-Extraktvolumen von 10 µl/well zur Analyse kam. Die Auswertung erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers. Ergebnisse wurden als *vanA*- und/oder *vanB*-positiv gewertet, wenn der Cq-Wert in mindestens einem Well

des technischen Duplikates zwischen 10 bis ≤ 38 , wenn keine Inhibition auftrat und die Positivkontrollen im angegebenen Cq-Wert-Bereich des Herstellers lagen. Bei abweichenden Ergebnissen im technischen Duplikat sowie bei nachgewiesener Inhibition im Reaktionsansatz wurde die Untersuchung mit 1:2 und 1:10 verdünnten DNA-Extrakten wiederholt. Das Ergebnis wurde als negativ bzgl. der nachzuweisenden Gene gewertet, wenn in den technischen Duplikaten ein Cq-Wert > 38 bei fehlender Inhibition erhalten wurden. Das Ergebnis wurde bei unverdünnten DNA-Extrakten als *vanA* und/oder *vanB* positiv bzw. negativ in 20 ml Wasserprobe angegeben.

Arbeitstäglich erfolgte zusätzlich die Qualitätssicherung des Verfahrens unter Verwendung der im Kapitel Arbeitshilfe hinterlegten Positiv- und Negativstämmen.

A 1.10 Arbeitshilfen

Flaschen- und Konservierungsliste

| Flaschenbezeichnung | Analyt | Behältermaterial | Volumen | Vorbehandlung Gefäß vor Einsatz | Vorbehandlung / Konservierung vor Ort | Konservierung im Labor |
|------------------------------|---------------------------------|------------------|---------|---|--|-----------------------------|
| TOC | TOC | PE-WH | 250 ml | phosphatfrei spülen, trocknen | Einstellen auf pH < 2 mit Salzsäure/HCl (1:1) suprapur, kühlen | kühlen, ggfs. tiefgefrieren |
| HPLC_F1_ARZ | ARZ | BG-EH | 250 ml | Maschinenreinigung, mit dest. Wasser klarspülen, trocknen | Flasche randvoll und luftblasenfrei füllen, kühlen | kühlen und dunkel lagern |
| HPLC_F1_ARZ-ABW | ARZ | BG-EH | 250 ml | Maschinenreinigung, mit dest. Wasser klarspülen, trocknen | Flasche randvoll und luftblasenfrei füllen, kühlen | kühlen und dunkel lagern |
| Mibi multiresistente Erreger | Antibiotikaresistente Bakterien | PP sterilisiert | 500 ml | vorkonfektioniertes Probengefäß | Gefäß zu 5/6 füllen und kühlen | kühlen und dunkel lagern |
| Mibi DNA | Antibiotikaresistenzgene | PP sterilisiert | 500 ml | vorkonfektioniertes Probengefäß | Gefäß zu 5/6 füllen und kühlen | kühlen und dunkel lagern |

Qualitätssicherungsstämme für Agar-Nährmedien (ohne Listung in DIN EN ISO 11133:2020-10)

| Agar-Nährmedium | Hersteller | Selektiv | Typ Agar-Nährmedium | Prüfung nach DIN EN ISO 11133 | Prüfung mit Membranfilter | Bestimmung der Produktivität | | | Bestimmung der Selektivität | | | Inkubationsbedingungen | |
|----------------------------------|------------|----------|----------------------------|-------------------------------|---------------------------|---|----------------|----------------------------|--|-------------------------|--------------------|------------------------|----------|
| | | | | | | Referenzstämme | Referenzmedium | Leistungskriterium | Referenzstämme | nicht selektives Medium | Leistungskriterium | Temperatur [°C] | Zeit [h] |
| CHROMagar Acinetobacter MDR | Mast | ja | Fertige Mischungen | quantitativ | ja | <i>Acinetobacter baumannii</i> ATCC BAA-1605 | TSA | $P_R \geq 0,5$ | <i>Acinetobacter baumannii</i> DSM 105126 | TSA | $S_F \geq 2$ | (42 ± 1) | (21 ± 3) |
| CHROMagar ESBL | Mast | ja | Fertig zubereitetes Medium | quantitativ | ja | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 und <i>Escherichia coli</i> CCUG 62975 | TSA | $P_R \geq 0,5$ | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | TSA | $S_F \geq 2$ | (42 ± 1) | (21 ± 3) |
| CHROMagar mSuper-CARBA | Mast | ja | Fertig zubereitetes Medium | quantitativ | ja | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-1905 und <i>Escherichia coli</i> CCUG 67180 | TSA | $P_R \geq 0,5$ | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 und <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | TSA | $S_F \geq 2$ | (42 ± 1) | (21 ± 3) |
| CHROMagar VRE | Mast | ja | Fertig zubereitetes Medium | quantitativ | ja | <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299 und <i>Enterococcus faecium</i> ATCC 700221 | TSA | $P_R \geq 0,5$ | <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | TSA | $S_F \geq 2$ | (42 ± 1) | (48 ± 4) |
| Müller-Hinton-Agar | Bio-Rad | nein | Fertige Mischungen | qualitativ | nein | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 und <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 | - | Punktwert 2 (9-16 Striche) | - | - | - | (36 ± 1) | (21 ± 3) |
| R2-Agar | Oxoid | nein | Fertig zubereitetes Medium | quantitativ | nein | <i>Escherichia coli</i> WDCM 00012 | - | Punktwert 2 (9-16 Striche) | - | - | - | (22 ± 2) | 168 |
| Trypton-Soja-Agar mit Schafsblut | Oxoid | nein | Fertig zubereitetes Medium | qualitativ | nein | <i>Escherichia coli</i> WDCM 00012 | - | Punktwert 2 (9-16 Striche) | - | - | - | (36 ± 1) | (21 ± 3) |

Qualitätssicherungsstämme für Testsysteme (ohne Herstellervorgaben)

| Testsystem | Hersteller | Positiv-Stamm | Negativ-Stamm | Inkubationsbedingungen der Referenzstämme |
|----------------------------|------------|---|---|---|
| NG-Test CTX-M MULTI | NG Biotech | <i>Escherichia coli</i> CCUG 62975 | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | (36 ± 1) °C, (21 ± 3) h, TSA mit 5 % Schafsblut |
| NG CARBA-5 | NG Biotech | <i>Klebsiella pneumoniae</i> CCUG 58547 <i>Escherichia coli</i> CCUG 68728 <i>Klebsiella pneumoniae</i> CCUG 68727 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-1705 <i>Escherichia coli</i> CCUG 67180 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> DSMZ 30104 | |
| ARM-D Kit β-Lactamase | Streck | <i>Escherichia coli</i> CCUG 58543 <i>Escherichia coli</i> CCUG 62975 <i>Escherichia coli</i> CCUG 59355 <i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> CCUG 68727 <i>Escherichia coli</i> CCUG 67180 <i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> CCUG 58547 <i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i> ATCC 58545 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-1905 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC BAA-2146 | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | |
| ARM-D Kit TEM, SHV, GES | Streck | <i>Escherichia coli</i> CCUG 52543 <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> NRZ-17916 | <i>Escherichia coli</i> DSM 1103 | |
| VRE/ISEX/100 | GeneProof | <i>Enterococcus faecium</i> CCUG 58549 <i>Enterococcus faecium</i> ATCC 700221 <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299 | <i>Enterococcus faecalis</i> DSM 2570 | |

Checkliste - Festlegung der zu verwendenden Untersuchungsvolumina bzw. Ansatzverfahren

| Parameter | Feldblindwertprobe | Wasser mit geringem anthropogenen Einfluss | Oberflächengewässer | gereinigtes Abwasser | Rohabwasser |
|--|--|--|--|---|--|
| | | | Untersuchungsvolumen Originalprobe | | |
| ESBL-bildende <i>Enterobacterales</i> | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren 10 ml, Membranfiltrationsverfahren 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren 10 ml, Membranfiltrationsverfahren 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,05 ml, Oberflächenverfahren | 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,05 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,005 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,0005 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,00005 ml, Oberflächenverfahren |
| Carbapenemase-bildende <i>Enterobacterales</i> | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren 10 ml, Membranfiltrationsverfahren 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren 10 ml, Membranfiltrationsverfahren 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,05 ml, Oberflächenverfahren | 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,05 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,005 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,0005 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,00005 ml, Oberflächenverfahren |
| Carbapenemase-bildende AB-Gruppe | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren 10 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren 10 ml, Membranfiltrationsverfahren | 10 ml, Membranfiltrationsverfahren 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,05 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,005 ml, Oberflächenverfahren |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> mit Antibiotikaresistenzen | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren 10 ml, Membranfiltrationsverfahren 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren | 10 ml, Membranfiltrationsverfahren 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,05 ml, Oberflächenverfahren | 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,05 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,005 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,0005 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,00005 ml, Oberflächenverfahren |
| Vancomycinresistente Enterokokken | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren 10 ml, Membranfiltrationsverfahren 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren | 2 x 50 ml, Membranfiltrationsverfahren 10 ml, Membranfiltrationsverfahren 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,05 ml, Oberflächenverfahren | 2 x 0,5 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,05 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,005 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,0005 ml, Oberflächenverfahren 2 x 0,00005 ml, Oberflächenverfahren |

A 2 Ergebnisse der Untersuchung auf Antibiotika

Ergänzend zu den Untersuchungen auf klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien und Resistenzgene wurden die Proben des Messprogramms auch mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion auf Arzneimittelwirkstoffe – darunter 14 Antibiotika oder deren Transformationsprodukte – untersucht. Die Auswahl der Antibiotika im Rahmen der Arzneimittelanalytik erfolgte allerdings nicht nach medizinischen Gesichtspunkten bzw. klinischer Relevanz, sondern unter dem Aspekt von ubiquitär auftretenden Substanzen in der wässrigen Umwelt sowie unter Berücksichtigung rechtlicher Vorgaben im Zusammenhang des Gewässerschutzes (siehe Kapitel A 1.3.2).

Nachfolgend sind tabellarisch (nach absteigender Häufigkeit des Nachweises) nur die Ergebnisse größer Nachweisgrenze für die Antibiotika Sulfamethoxazol (Tabelle 38, Tabelle 39, Tabelle 40 und Tabelle 41), Trimethoprim (Tabelle 42 und Tabelle 43), Clarithromycin (Tabelle 44), Metronidazol (Tabelle 45) und Erythromycin (Tabelle 46) dargestellt sowie zusammenfassend die wenigen Befunde für Roxythromycin, Sulfadiazin, Sulfadimidin und Sulfadoxin (Tabelle 47). Die Antibiotika Sulfadimethoxin, Sulfamerazin und Sulfathiazol wurden nicht nachgewiesen.

Tabelle 38: Nachgewiesene Konzentrationen des Sulfonamid-Antibiotikums Sulfamethoxazol in Abwasserproben aus Krankenhausabwasserbehandlungsanlagen. Krankenhaus 4 = Kreiskrankenhaus Waldbröl (ABA = MBR und Ozonung), Krankenhaus 5 = Marienhospital Gelsenkirchen (ABA = MBR und Ozonung bzw. PAK/Sandfiltration). Sulfamethoxazol: Einsatz in Humanmedizin (oral verabreichbar) und Veterinärmedizin.

| Ort | Probenahme | | Sulfamethoxazol |
|--|------------|---------|-----------------|
| | Datum | Uhrzeit | [µg/l] |
| Krankenhäuser mit Abwasserbehandlungsanlage | | | |
| Krankenhaus 4 Zulauf ABA | 24.08.2020 | 10:56 | 0,280 |
| Krankenhaus 4 Zulauf ABA | 29.03.2021 | 09:02 | 1,900 |
| Krankenhaus 4 Zulauf Ozonung | 24.08.2020 | 10:15 | 2,700 |
| Krankenhaus 4 Zulauf Ozonung | 29.03.2021 | 08:35 | 0,960 |
| Krankenhaus 5 Zulauf ABA | 01.03.2021 | 11:15 | 1,500 |
| Krankenhaus 5 Zulauf ABA | 04.04.2022 | 07:45 | 4,100 |
| Krankenhaus 5 Ablauf MBR | 01.03.2021 | 10:15 | 0,330 |
| Krankenhaus 5 Ablauf Ozonung | 01.03.2021 | 10:15 | 0,130 |
| Krankenhaus 5 Ablauf Ozonung | 04.04.2022 | 07:45 | 0,980 |
| Krankenhaus 5 Ablauf PAK/Sandfilter | 01.03.2021 | 10:15 | 0,220 |

Tabelle 39: Nachgewiesene Konzentrationen des Sulfonamid-Antibiotikums Sulfamethoxazol in Krankenhausabwasser, Abwasser aus Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet und Oberflächenwasserproben aus dem Gewässer oberhalb und unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage.

| Probenahme | | | Sulfamethoxazol |
|---|------------|---------|-----------------|
| Ort | Datum | Uhrzeit | [µg/l] |
| Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet | | | |
| Krankenhaus 1 | 17.05.2022 | 08:42 | 0,170 |
| Rehaklinik | 15.03.2022 | 08:28 | 0,160 |
| Rehaklinik | 17.05.2022 | 09:14 | 0,320 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Engelskirchen | 14.09.2020 | 10:54 | 0,140 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 12:18 | 0,150 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Engelskirchen | 18.10.2021 | 09:32 | 0,710 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Engelskirchen | 15.03.2022 | 09:47 | 0,210 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Engelskirchen | 17.05.2022 | 10:38 | 0,430 |
| Ablauf KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 11:22 | 0,200 |
| Ablauf KA Engelskirchen | 18.10.2021 | 08:54 | 0,230 |
| Gewässer oberhalb Einleitung KA Engelskirchen | 14.09.2020 | 09:33 | 0,085 |
| Gewässer oberhalb Einleitung KA Engelskirchen | 15.03.2022 | 09:38 | 0,031 |
| Gewässer oberhalb Einleitung KA Engelskirchen | 17.05.2022 | 12:20 | 0,047 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 14.09.2020 | 10:07 | 0,080 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 10:45 | 0,150 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 18.10.2021 | 08:15 | 0,090 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 15.03.2022 | 08:45 | 0,042 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 17.05.2022 | 11:26 | 0,041 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 27.07.2021 | 14:55 | 1,000 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 08.11.2021 | 14:30 | 0,840 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 22.02.2022 | 15:02 | 0,170 |
| Krankenhaus 2, Haus 2-6 | 08.11.2021 | 13:15 | 0,140 |
| Sportklinik | 22.02.2022 | 14:10 | 2,100 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | 10:20 | 2,600 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 11:11 | 1,800 |
| Ablauf KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | 11:42 | 0,600 |
| Ablauf KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 10:30 | 0,450 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | | 0,410 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 12:10 | 0,350 |
| Krankenhaus 3, Haus 2 | 08.12.2020 | 11:40 | 9,800 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 09:27 | 2,000 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 02.02.2021 | 09:56 | 1,300 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 13:10 | 1,100 |
| Ablauf KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 08:45 | 0,990 |
| Ablauf KA Münster-Geist | 02.02.2021 | 09:14 | 1,200 |
| Ablauf KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 12:10 | 1,000 |
| Gewässer oberhalb Einleitung KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 10:35 | 0,240 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 08:30 | 0,940 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 11:35 | 1,100 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 17.11.2020 | 10:44 | 0,850 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 16.03.2021 | 13:29 | 0,390 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 21.09.2021 | 09:38 | 1,500 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 15.06.2021 | 11:57 | 0,660 |
| KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda Zulauf Ozonung | 15.06.2021 | 10:32 | 0,190 |
| KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda Zulauf Ozonung | 21.09.2021 | 09:12 | 0,160 |
| KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda Ablauf Ozonung | 21.09.2021 | 08:47 | 0,160 |
| Ablauf KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 15.06.2021 | 09:18 | 0,170 |
| Ablauf KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 21.09.2021 | 08:25 | 0,210 |
| Gewässer oberhalb Einleitung KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 15.06.2021 | 08:22 | 0,051 |
| Gewässer oberhalb Einleitung KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 21.09.2021 | 07:25 | 0,036 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 17.11.2020 | 09:50 | 0,030 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 15.06.2021 | 08:52 | 0,051 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 21.09.2021 | 07:52 | 0,059 |

Tabelle 40: Nachgewiesene Konzentrationen des Sulfonamid-Antibiotikums Sulfamethoxazol in Abwasser aus Kläranlagen ohne Krankenhäusern im Einzugsgebiet und Oberflächenwasserproben aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage. Sulfamethoxazol: Einsatz in Humanmedizin (oral verabreichbar) und Veterinärmedizin.

| Ort | Probenahme | | Sulfamethoxazol |
|--|------------|---------|-----------------|
| | Datum | Uhrzeit | [µg/l] |
| Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet | | | |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 11:15 | 0,420 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rahmedetal | 02.02.2021 | 10:55 | 0,120 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rahmedetal | 22.06.2021 | 11:20 | 0,160 |
| Ablauf KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 10:25 | 0,220 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 09:00 | 0,150 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rahmedetal | 02.02.2021 | 09:00 | 0,025 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rahmedetal | 22.06.2021 | 12:10 | 0,056 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheinbach | 08.09.2020 | 09:45 | 0,610 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheinbach | 18.01.2021 | 11:07 | 0,580 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheinbach | 17.01.2022 | 10:05 | 0,800 |
| Ablauf KA Rheinbach | 08.09.2020 | 10:47 | 0,260 |
| Ablauf KA Rheinbach | 18.01.2021 | 09:53 | 0,170 |
| Ablauf KA Rheinbach | 17.01.2022 | 09:18 | 0,410 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rheinbach | 18.01.2021 | 07:58 | 0,110 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rheinbach | 12.04.2021 | 09:09 | 0,037 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stemwede, Wehdem | 01.09.2020 | 13:10 | 2,100 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stemwede, Wehdem | 18.01.2021 | 09:50 | 0,300 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stemwede, Wehdem | 12.04.2021 | 10:04 | 1,200 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stemwede, Wehdem | 21.06.2022 | 11:48 | 1,600 |
| Ablauf KA Stemwede, Wehdem | 01.09.2020 | 12:35 | 0,340 |
| Ablauf KA Stemwede, Wehdem | 12.04.2021 | 08:25 | 0,180 |
| Ablauf KA Stemwede, Wehdem | 21.06.2022 | 10:38 | 0,330 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 01.09.2020 | 10:55 | 0,360 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 18.01.2021 | 12:35 | 0,230 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 12.04.2021 | 11:55 | 0,220 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 21.06.2022 | 09:35 | 0,320 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 02.08.2022 | 11:40 | 0,730 |

Tabelle 41: Nachgewiesene Konzentrationen des Sulfonamid-Antibiotikums Sulfamethoxazol in Abwasser aus Kläranlagen (ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet) mit weitergehender Abwasserbehandlung (zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen bzw. zur Hygienisierung) und Oberflächenwasserproben aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage sowie in Abwasser eines Betriebs der Fleischwirtschaft (Direkteinleiter, Geflügelschlachtung) bzw. Oberflächenwasser aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung eines anderen Betriebs der Fleischwirtschaft (Direkteinleiter, Geflügelverarbeitung) und aus einem Badegewässer. Sulfamethoxazol: Einsatz in Humanmedizin (oral verabreichbar) und Veterinärmedizin.

| Probenahme | | | Sulfamethoxazol |
|--|------------|---------|-----------------|
| Ort | Datum | Uhrzeit | [µg/l] |
| Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung | | | |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Bad Sassendorf | 16.02.2021 | 14:25 | 0,160 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Bad Sassendorf | 06.09.2021 | 14:10 | 0,350 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Bad Sassendorf | 21.06.2022 | 14:10 | 0,740 |
| KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 16.02.2021 | 13:25 | 0,230 |
| KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 06.09.2021 | 13:30 | 0,830 |
| KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 21.06.2022 | 13:15 | 0,320 |
| Ablauf KA Bad Sassendorf | 16.02.2021 | 12:30 | 0,240 |
| Ablauf KA Bad Sassendorf | 21.06.2022 | 12:10 | 0,270 |
| KA Bad Sassendorf Ablauf Schönungsteich | 16.02.2021 | 11:40 | 0,430 |
| KA Bad Sassendorf Ablauf Schönungsteich | 21.06.2022 | 10:40 | 0,220 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Bad Sassendorf | 16.02.2021 | 10:15 | 0,160 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Bad Sassendorf | 21.06.2022 | 09:45 | 0,063 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Konzen | 11.01.2021 | 11:51 | 0,320 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Konzen | 23.03.2021 | 10:55 | 0,590 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Konzen | 07.06.2022 | 09:36 | 0,520 |
| KA Konzen, Zulauf MBR nach Feinsiebung | 11.01.2021 | 11:19 | 0,310 |
| KA Konzen Zulauf MBR nach Feinsiebung | 23.03.2021 | 10:16 | 1,100 |
| KA Konzen Zulauf MBR nach Feinsiebung | 07.06.2022 | 10:38 | 0,520 |
| Ablauf KA Konzen | 11.01.2021 | 10:38 | 0,130 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Konzen | 11.01.2021 | 10:04 | 0,094 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Konzen | 23.03.2021 | 09:22 | 0,082 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Konzen | 07.06.2022 | 11:21 | 0,110 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Monschau | 12.10.2020 | 11:58 | 0,360 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Monschau | 22.02.2021 | 12:34 | 0,480 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Monschau | 18.05.2021 | 13:04 | 0,170 |
| KA Monschau Zulauf UV-Besprahlung | 12.10.2020 | 11:10 | 0,240 |
| KA Monschau Zulauf UV-Besprahlung | 22.02.2021 | 11:35 | 0,260 |
| KA Monschau Zulauf UV-Besprahlung | 18.05.2021 | 12:14 | 0,470 |
| Ablauf KA Monschau | 12.10.2020 | 09:24 | 0,170 |
| Ablauf KA Monschau | 22.02.2021 | 11:01 | 0,110 |
| Ablauf KA Monschau | 18.05.2021 | 11:28 | 0,300 |
| Betriebe der Fleischwirtschaft | | | |
| Zulauf ABA Betrieb A | 01.03.2021 | 10:11 | 0,360 |
| Gewässer unterhalb Einleitung ABA Betrieb B | 30.11.2020 | 10:44 | 0,041 |
| EG-Badegewässer | | | |
| Seaside Beach/Baldeneysee | 02.06.2020 | 09:49 | 0,053 |
| Seaside Beach/Baldeneysee | 30.06.2020 | 11:10 | 0,045 |
| Seaside Beach/Baldeneysee | 04.08.2020 | 11:45 | 0,080 |
| Seaside Beach/Baldeneysee | 01.09.2020 | 11:44 | 0,076 |

Tabelle 42: Nachgewiesene Konzentrationen des Antibiotikums Trimethoprim (Klasse: Folsäureantagonist) in Abwasserproben aus Krankenhausabwasserbehandlungsanlagen [Krankenhaus 4 = Kreiskrankenhaus Waldbröl (ABA = MBR und Ozonung), Krankenhaus 5 = Marienhospital Gelsenkirchen (ABA = MBR und Ozonung bzw. PAK/Sandfiltration)] sowie in Krankenhausabwasser, Abwasser aus Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet und Oberflächenwasserproben aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage. Trimethoprim: Einsatz in Humanmedizin (oral oder intravenös verabreichbar) und Veterinärmedizin.

| Ort | Probenahme | | Trimethoprim |
|---|------------|---------|--------------|
| | Datum | Uhrzeit | µg/l |
| Krankenhäuser mit Abwasserbehandlungsanlage | | | |
| Krankenhaus 4 Zulauf ABA | 24.08.2020 | 10:56 | 0,210 |
| Krankenhaus 4 Zulauf ABA | 29.03.2021 | 09:02 | 7,800 |
| Krankenhaus 5 Zulauf ABA | 01.03.2021 | 11:15 | 0,730 |
| Krankenhaus 5 Zulauf ABA | 04.04.2022 | 07:45 | 2,700 |
| Krankenhaus 5 Ablauf MBR | 04.04.2022 | 07:45 | 3,700 |
| Krankenhaus 5 Ablauf Ozonung | 04.04.2022 | 07:45 | 0,340 |
| Krankenhaus 5 Ablauf PAK/Sandfilter | 04.04.2022 | 07:45 | 2,700 |
| Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet | | | |
| Krankenhaus 1 | 19.04.2021 | 10:02 | 2,300 |
| Krankenhaus 1 | 17.05.2022 | 08:42 | 0,360 |
| Rehaklinik | 15.03.2022 | 08:28 | 0,240 |
| Rehaklinik | 17.05.2022 | 09:14 | 0,210 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Engelskirchen | 18.10.2021 | 09:32 | 0,500 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Engelskirchen | 15.03.2022 | 09:47 | 0,180 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Engelskirchen | 17.05.2022 | 10:38 | 0,210 |
| Ablauf KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 11:22 | 0,110 |
| Ablauf KA Engelskirchen | 18.10.2021 | 08:54 | 0,180 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 10:45 | 0,060 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 18.10.2021 | 08:15 | 0,042 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 15.03.2022 | 08:45 | 0,026 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 27.07.2021 | 14:55 | 1,600 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 08.11.2021 | 14:30 | 2,200 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 22.02.2022 | 15:02 | 0,260 |
| Krankenhaus 2, Haus 2-6 | 08.11.2021 | 13:15 | 0,170 |
| Sportklinik | 22.02.2022 | 14:10 | 1,100 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | 10:20 | 2,100 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 11:11 | 1,600 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 22.02.2022 | 10:11 | 0,110 |
| Ablauf KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | 11:42 | 0,280 |
| Ablauf KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 10:30 | 0,280 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | | 0,130 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 12:10 | 0,130 |
| Krankenhaus 3, Haus 2 | 08.12.2020 | 11:40 | 2,100 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 09:27 | 0,440 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 02.02.2021 | 09:56 | 0,800 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 13:10 | 0,440 |
| Ablauf KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 08:45 | 0,150 |
| Ablauf KA Münster-Geist | 02.02.2021 | 09:14 | 0,240 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 08:30 | 0,130 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 11:35 | 0,046 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 17.11.2020 | 10:44 | 0,330 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 16.03.2021 | 13:29 | 0,230 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 15.06.2021 | 11:57 | 0,360 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 21.09.2021 | 09:38 | 0,400 |

Tabelle 43: Nachgewiesene Konzentrationen des Antibiotikums Trimethoprim in Abwasser aus Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet bzw. mit weitergehender Abwasserbehandlung und Oberflächenwasserproben aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage sowie in Abwasser eines Betriebs der Fleischwirtschaft (Direkteinleiter, Geflügelschlachtung).

| Ort | Probenahme | | Trimethoprim |
|--|------------|---------|--------------|
| | Datum | Uhrzeit | µg/l |
| Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet | | | |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 11:15 | 0,220 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rahmedetal | 02.02.2021 | 10:55 | 0,130 |
| Ablauf KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 10:25 | 0,150 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 09:00 | 0,096 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rahmedetal | 22.06.2021 | 12:10 | 0,045 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheinbach | 08.09.2020 | 09:45 | 0,410 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheinbach | 18.01.2021 | 11:07 | 0,130 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheinbach | 17.01.2022 | 10:05 | 0,530 |
| Ablauf KA Rheinbach | 18.01.2021 | 09:53 | 0,240 |
| Ablauf KA Rheinbach | 17.01.2022 | 09:18 | 0,410 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rheinbach | 18.01.2021 | 07:58 | 0,160 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rheinbach | 12.04.2021 | 09:09 | 0,057 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stewede, Wehdem | 01.09.2020 | 13:10 | 0,220 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stewede, Wehdem | 18.01.2021 | 09:50 | 0,100 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stewede, Wehdem | 12.04.2021 | 10:04 | 0,230 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stewede, Wehdem | 21.06.2022 | 11:48 | 0,210 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stewede, Wehdem | 07.11.2022 | 12:10 | 0,230 |
| Ablauf KA Stewede, Wehdem | 18.01.2021 | 08:35 | 0,170 |
| Ablauf KA Stewede, Wehdem | 17.01.2021 | 08:00 | 0,180 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stewede, Wehdem | 01.09.2020 | 10:55 | 0,034 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stewede, Wehdem | 12.04.2021 | 11:55 | 0,069 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stewede, Wehdem | 02.08.2022 | 11:40 | 0,053 |
| Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung | | | |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Bad Sassendorf | 16.02.2021 | 14:25 | 0,110 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Bad Sassendorf | 06.09.2021 | 14:10 | 0,160 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Bad Sassendorf | 21.06.2022 | 14:10 | 0,400 |
| KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 16.02.2021 | 13:25 | 0,160 |
| KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 06.09.2021 | 13:30 | 0,310 |
| KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 21.06.2022 | 13:15 | 0,170 |
| Ablauf KA Bad Sassendorf | 16.02.2021 | 12:30 | 0,180 |
| Ablauf KA Bad Sassendorf | 21.06.2022 | 12:10 | 0,160 |
| KA Bad Sassendorf Ablauf Schönungsteich | 16.02.2021 | 11:40 | 0,220 |
| KA Bad Sassendorf Ablauf Schönungsteich | 21.06.2022 | 10:40 | 0,130 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Bad Sassendorf | 16.02.2021 | 10:15 | 0,080 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Bad Sassendorf | 21.06.2022 | 09:45 | 0,028 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Konzen | 11.01.2021 | 11:51 | 0,220 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Konzen | 23.03.2021 | 10:55 | 0,280 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Konzen | 07.06.2022 | 09:36 | 0,240 |
| KA Konzen, Zulauf MBR nach Feinsiebung | 11.01.2021 | 11:19 | 0,240 |
| KA Konzen, Zulauf MBR nach Feinsiebung | 23.03.2021 | 10:16 | 0,360 |
| KA Konzen, Zulauf MBR nach Feinsiebung | 07.06.2022 | 10:38 | 0,230 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Monschau | 12.10.2020 | 11:58 | 0,200 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Monschau | 22.02.2021 | 12:34 | 0,340 |
| KA Monschau Zulauf UV-Besprahlung | 12.10.2020 | 11:10 | 0,140 |
| KA Monschau Zulauf UV-Besprahlung | 22.02.2021 | 11:35 | 0,140 |
| Ablauf KA Monschau | 12.10.2020 | 09:24 | 0,140 |
| Ablauf KA Monschau | 22.02.2021 | 11:01 | 0,140 |
| Betriebe der Fleischwirtschaft | | | |
| Zulauf ABA Betrieb A | 01.03.2021 | 10:11 | 0,220 |

Tabelle 44: Nachgewiesene Konzentrationen des Makrolid-Antibiotikums Clarithromycin in Abwasser- und Oberflächenwasserproben. [Krankenhaus 4 = Kreiskrankenhaus Waldbröl (ABA = MBR und Ozonung), Krankenhaus 5 = Marienhospital Gelsenkirchen (ABA = MBR und Ozonung bzw. PAK/Sandfiltration)]. Clarithromycin: Einsatz in Humanmedizin (oral oder intravenös verabreichbar).

| Ort | Probenahme | | Clarithromycin |
|---|------------|---------|----------------|
| | Datum | Uhrzeit | [µg/l] |
| Krankenhäuser mit Abwasserbehandlungsanlage | | | |
| Krankenhaus 4 Zulauf ABA | 29.03.2021 | 09:02 | 4,300 |
| Krankenhaus 4 Zulauf ABA | 16.08.2021 | 09:36 | 4,700 |
| Krankenhaus 5 Zulauf ABA | 01.03.2021 | 11:15 | 12,000 |
| Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet | | | |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Engelskirchen | 14.09.2020 | 10:54 | 1,400 |
| Ablauf KA Engelskirchen | 14.09.2020 | 10:36 | 0,450 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 15.03.2022 | 08:45 | 0,045 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 17.05.2022 | 11:26 | 0,060 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 27.07.2021 | 14:55 | 0,440 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | 10:20 | 1,700 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | | 0,069 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 12:10 | 0,031 |
| Krankenhaus 3, Haus 2 | 22.06.2021 | 09:15 | 0,280 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 09:27 | 0,810 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 13:10 | 0,330 |
| Ablauf KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 08:45 | 0,140 |
| Ablauf KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 12:10 | 0,110 |
| Gewässer oberhalb Einleitung KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 10:35 | 0,025 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 08:30 | 0,170 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 11:35 | 0,110 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 17.11.2020 | 10:44 | 0,140 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 15.06.2021 | 11:57 | 0,130 |
| Ablauf KA Rheda-Wiedenbrück, Rheda | 17.11.2020 | 10:13 | 0,110 |
| Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet | | | |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rahmedetal | 22.06.2021 | 11:20 | 0,150 |
| Ablauf KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 10:25 | 0,140 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheinbach | 18.01.2021 | 11:07 | 0,660 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rheinbach | 12.04.2021 | 11:25 | 0,260 |
| Ablauf KA Rheinbach | 18.01.2021 | 09:53 | 0,140 |
| Ablauf KA Rheinbach | 12.04.2021 | 10:28 | 0,180 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stewede, Wehden | 18.01.2021 | 09:50 | 0,430 |
| Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung | | | |
| KA Konzen, Zulauf MBR nach Feinsiebung | 23.03.2021 | 10:16 | 0,100 |
| Ablauf KA Konzen | 11.01.2021 | 10:38 | 0,110 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Konzen | 23.03.2021 | 09:22 | 0,083 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Monschau | 18.05.2021 | 13:04 | 0,860 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Monschau | 22.02.2021 | 12:34 | 0,850 |
| KA Monschau Zulauf UV-Besprahlung | 22.02.2021 | 11:35 | 0,190 |
| KA Monschau Zulauf UV-Besprahlung | 18.05.2021 | 12:14 | 0,140 |
| Ablauf KA Monschau | 22.02.2021 | 11:01 | 0,200 |
| Ablauf KA Monschau | 18.05.2021 | 11:28 | 0,130 |

Tabelle 45: Nachgewiesene Konzentrationen des Nitroimidazol-Antibiotikums Metronidazol in Abwasser- und Oberflächenwasserproben. [Krankenhaus 4 = Kreiskrankenhaus Waldbröl (ABA = MBR und Ozonung), Krankenhaus 5 = Marienhospital Gelsenkirchen (ABA = MBR und Ozonung bzw. PAK/Sandfiltration)]. Metronidazol: Einsatz in Humanmedizin (oral oder intravenös verabreichbar) und Veterinärmedizin.

| Ort | Probenahme | | Metronidazol [µg/l] |
|---|------------|---------|------------------------|
| | Datum | Uhrzeit | |
| Krankenhäuser mit Abwasserbehandlungsanlage | | | |
| Krankenhaus 4 Zulauf ABA | 24.08.2020 | 10:56 | 4,700 |
| Krankenhaus 4 Zulauf ABA | 16.08.2021 | 09:36 | 3,800 |
| Krankenhaus 4 Zulauf Ozonung | 24.08.2020 | 10:15 | 0,130 |
| Krankenhaus 4 Zulauf Ozonung | 29.03.2021 | 08:35 | 1,200 |
| Krankenhaus 4 Zulauf Ozonung | 16.08.2021 | 09:04 | 0,470 |
| Krankenhaus 4 Ablauf ABA | 29.03.2021 | 08:12 | 0,160 |
| Krankenhaus 5 Zulauf ABA | 01.03.2021 | 11:15 | 18,000 |
| Krankenhaus 5 Zulauf ABA | 04.04.2022 | 07:45 | 11,000 |
| Krankenhaus 5 Ablauf MBR | 01.03.2021 | 10:15 | 0,290 |
| Krankenhaus 5 Ablauf Ozonung | 01.03.2021 | 10:15 | 0,220 |
| Krankenhaus 5 Ablauf Ozonung | 04.04.2022 | 07:45 | 9,400 |
| Krankenhaus 5 Ablauf PAK/Sandfilter | 04.04.2022 | 07:45 | 11,000 |
| Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet | | | |
| Krankenhaus 1 | 19.04.2021 | 10:02 | 5,600 |
| Rehaklinik | 19.04.2021 | 09:24 | 0,230 |
| Rehaklinik | 17.05.2022 | 09:14 | 0,150 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 12:18 | 0,120 |
| Ablauf KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 11:22 | 0,110 |
| Ablauf KA Engelskirchen | 15.03.2022 | 09:17 | 0,120 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 19.04.2021 | 10:45 | 0,043 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 15.03.2022 | 08:45 | 0,027 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 08.11.2021 | 14:30 | 2,100 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 27.07.2021 | 14:55 | 3,000 |
| Krankenhaus 2, Hauptgebäude | 22.02.2022 | 15:02 | 5,100 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 11:11 | 0,370 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | | 0,029 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 12:10 | 0,030 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 13:10 | 0,140 |
| Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet | | | |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 11:15 | 0,120 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Rahmedetal | 22.06.2021 | 11:20 | 0,230 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rahmedetal | 29.09.2020 | 09:00 | 0,056 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stemwede, Wehdem | 12.04.2021 | 10:04 | 0,110 |
| Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung | | | |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Bad Sassendorf | 16.02.2021 | 14:25 | 2,100 |
| KA Bad Sassendorf Zulauf Ozonung | 16.02.2021 | 13:25 | 0,120 |
| KA Bad Sassendorf Ablauf Schönungsteich | 16.02.2021 | 11:40 | 0,120 |
| Betriebe der Fleischwirtschaft | | | |
| Betrieb C Ablauf ABA | 30.11.2020 | 09:31 | 0,180 |

Tabelle 46: Nachgewiesene Konzentrationen des Makrolid-Antibiotikums Erythromycin in Abwasser- und Oberflächenwasserproben. [Krankenhaus 5 = Marienhospital Gelsenkirchen (ABA = MBR und Ozonung bzw. PAK/Sandfiltration)]. Erythromycin: Einsatz in Humanmedizin (oral oder intravenös verabreichbar) und Veterinärmedizin.

| Ort | Probenahme | | Erythromycin [µg/l] |
|---|------------|---------|------------------------|
| | Datum | Uhrzeit | |
| Krankenhäuser mit Abwasserbehandlungsanlage | | | |
| Krankenhaus 5 Zulauf ABA | 01.03.2021 | 11:15 | 0,750 |
| Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet | | | |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 18.10.2021 | 08:15 | 0,036 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 14.09.2020 | 10:07 | 0,032 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 27.07.2021 | | 0,026 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 09:27 | 0,120 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 08:30 | 0,089 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Münster-Geist | 22.06.2021 | 11:35 | 0,027 |
| Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet | | | |
| Ablauf KA Rheinbach | 17.01.2022 | 09:18 | 0,100 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Rheinbach | 18.01.2021 | 07:58 | 0,051 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stemwede, Wehdem | 12.04.2021 | 10:04 | 0,240 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 01.09.2020 | 10:55 | 0,026 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 12.04.2021 | 11:55 | 0,027 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 21.06.2022 | 09:35 | 0,055 |

Tabelle 47: Nachgewiesene Konzentrationen des Makrolid-Antibiotikums Roxythromycin bzw. der Sulfonamid-Antibiotika Sulfadiazin, Sulfadimidin und Sulfadoxin in Abwasser- und Oberflächenwasserproben. Roxythromycin: Einsatz in Humanmedizin (oral verabreichbar); Sulfadiazin: Einsatz in Humanmedizin (oral verabreichbar) und Veterinärmedizin; Sulfadimidin und Sulfadoxin: Einsatz in Veterinärmedizin.

| Ort | Probenahme | | Antibiotikum [µg/l] | |
|---|------------|---------|---------------------|-------|
| | Datum | Uhrzeit | | |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Lüdenscheid Schlittenbachtal | 08.11.2021 | 12:10 | Roxythromycin | 0,047 |
| Gewässer oberhalb Einleitung KA Engelskirchen | 14.09.2020 | 09:33 | Sulfadiazin | 0,052 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Engelskirchen | 14.09.2020 | 10:07 | Sulfadiazin | 0,040 |
| Gewässer unterhalb Einleitung KA Stemwede, Wehdem | 07.11.2022 | 14:50 | Sulfadimidin | 0,050 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Stemwede, Wehdem | 07.11.2022 | 12:10 | Sulfadimidin | 9,400 |
| Zulauf (Ablauf Sandfang) KA Münster-Geist | 08.12.2020 | 09:27 | Sulfadoxin | 0,110 |

A 3 Abschlussbericht des NRZ zum Projekt „Molekulare Epidemiologie“

A 3.1 Abschlussbericht zur Kooperation LANUV – NRZ

A 3.1.1 Hintergrund

Im Rahmen der Kooperation zwischen dem Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) und dem Nationalen Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger (NRZ) wurden vom LANUV Bakterienisolate, die nach KRINKO^{26,27} als 4MRGN einzustufen sind, zur Überprüfung und Charakterisierung der Resistenz gegen Carbapeneme²⁸ an das NRZ eingesandt. Diese Bakterienisolate stammten aus Umweltproben, welche insbesondere aus Abwässern im Bereich von Kläranlagen sowohl mit als auch ohne Krankenhauszulauf gewonnen wurden. Im gesamten Berichtszeitraum von Dezember 2020 bis April 2023 wurden dem NRZ insgesamt 451 Bakterienisolate zur Carbapenemasedetektion zugesandt.

A 3.1.2 Molekulare Epidemiologie – Teil 1

Bei den Isolaten aus Umweltproben, die zu Beginn des Projektes an das NRZ eingesandt wurden, konnte insbesondere die KPC-2-Carbapenemase²⁹ nachgewiesen werden. Auffällig hierbei war insbesondere der deutliche Unterschied bezüglich der Verteilung der Bakterienpezies von KPC-2-tragenden Umweltisolaten und klinischen Isolaten. Während im klinischen Kontext vor allem die Enterobacterales Spezies *Klebsiella pneumoniae* und *Escherichia coli* eine Rolle spielen, gehörten die KPC-2-tragenden Umweltisolate größtenteils den Enterobacterales Spezies *Citrobacter freundii* und *Klebsiella oxytoca* bzw. *Klebsiella michiganensis* (siehe unten zur Erklärung) an. Zu einem geringeren Anteil konnte die KPC-2-Carbapenemase jedoch auch in den Spezies *Escherichia coli*, *Raoultella ornithinolytica*, *Klebsiella pneumoniae* und *Citrobacter farmeri* nachgewiesen werden, ebenso wie in Isolaten, die dem *Enterobacter cloacae* Komplex zugeordnet werden. Für einige dieser Umweltisolate wurde mittels Ganzgenomsequenzierung eine molekulare Typisierung (cgMLST³⁰) durchgeführt. Diese Methode basiert auf dem Vergleich des sogenannten Kerngenoms, welches all die Gene umfasst, die in allen Isolaten der jeweiligen Spezies zu finden sind (typisch etwa 1000-3000 Gene). Die Verwandtschaft zwischen Isolaten wird in Allelunterschieden (Anzahl der sich unterscheidenden Gene) angegeben, wobei eine Differenz von bis zu 15 Allelunterschieden allgemein auf eine enge genetische Verwandtschaft hindeutet. In einem Krankenhaus würde man bei einer derartigen Konstellation von einer Übertragung zwischen den Patienten bzw. einer gemeinsamen Quelle ausgehen. Bei einer Differenz von bis zu 30 Allelunterschieden spricht man im Allge-

²⁶ KRINKO: Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am RKI

²⁷ Bundesgesundheitsblatt 55:1311-1354;2012

²⁸ Antibiotikagruppe, die zur Klasse der β -Laktame gehört und häufig als letzte Gruppe noch wirksam ist. Resistenzen gegen diese Gruppe schränken die Therapiemöglichkeiten deutlich ein.

²⁹ *Klebsiella pneumoniae*-Carbapenemase, ein Enzym aus der großen Gruppe der Carbapenemasen

³⁰ Core-Genome-Multi-Locus-Sequence-Typing

meinen von einer relativ engen genetischen Verwandtschaft, wobei ein direkter epidemiologischer Zusammenhang hier nicht unbedingt gegeben ist. Sind Isolate jedoch nicht oder nur entfernt verwandt, kann die Zahl der Allelunterschiede durchaus > 1000 sein. Entsprechend lassen sich mit dieser Methode Verwandtschaftsverhältnisse zwischen Isolaten verschiedener zeitlicher oder örtlicher Herkunft beschreiben. Auch ein Vergleich zu klinischen Isolaten ist möglich. Eine Möglichkeit der grafischen Darstellung der cgMLST Analyse ist der sogenannte minimum spanning tree (MST), bei dem die Differenz der Allelunterschiede zwischen Isolaten abgebildet wird. Es muss an dieser Stelle jedoch darauf hingewiesen werden, dass sich in solch einer Darstellung nicht die maximale Anzahl von Allelunterschieden zwischen nah verwandten Isolaten ablesen lassen, sofern mehr als zwei Isolate miteinander verglichen werden.

Der Vergleich von 23 KPC-2-tragenden Umweltisolaten mit 23 KPC-2-tragenden klinischen Isolaten des NRZ aus ähnlicher geographischer Herkunft ergab jedoch keine enge genetische Verwandtschaft.

A 3.1.3 Molekulare Epidemiologie – Teil 2

Aus dieser Pilotstudie ergaben sich auffällige und bemerkenswerte Ergebnisse. So konnte gezeigt werden, dass genetisch ähnliche KPC-2-tragende *K. oxytoca* bzw. *K. michiganensis* Isolate (siehe unten zur Erklärung) an derselben Messstelle (Kläranlage Engelskirchen, Ablauf Sandfang) zu unterschiedlichen Probenahmezeitpunkten vorkommen, was eine Persistenz dieses Stammes an besagter Stelle vermuten lässt. Des Weiteren wurden KPC-2-tragende Isolate von *E. coli* Sequenztyp (ST)410 und *K. pneumoniae* ST392 identifiziert, welche zu den sogenannten High-Risk-Klonen gezählt werden. Als High-Risk-Klone werden bestimmte genetisch homogene Untergruppen einer Bakterienspezies bezeichnet, die sich durch eine weite Verbreitung, teilweise über Kontinente, gepaart mit besonderer Antibiotikaresistenz und/oder Virulenz (krankmachende Eigenschaft) auszeichnen. Diese Klone haben bereits bewiesen, dass sie in den Habitaten, in denen sie gefunden wurden, erfolgreich (insbesondere hinsichtlich ihrer Ausbreitung bzw. Persistenz) sind.

Entsprechend dieser Ergebnisse wurden die Untersuchungen intensiviert und zudem auf weitere Probenahmeorte ausgeweitet. Im Folgenden werden die relevantesten Ergebnisse basierend auf den unterschiedlichen Probenahmestellen aufgeführt und diskutiert.

A 3.1.3.1 Kläranlage Engelskirchen

Die wichtigsten Ergebnisse sind:

- das Auftreten und die Persistenz von multiresistenten, KPC-2-tragenden High-Risk-Klonen der Bakterienspezies *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* unterhalb der Kläranlage Engelskirchen
- das Auftreten und die Persistenz weiterer Klone anderer Bakterienspezies mit KPC-2 unterhalb der Kläranlage

High-Risk-Klon ST410 *Escherichia coli*

Wie bereits erwähnt, wird der Sequenztyp ST410 von *E. coli* als High-Risk-Klon eingestuft. Der Nachweis dieses Klones im Oberflächenwasser kann insofern ein Problem darstellen, als durch den Eintrag eines nachgewiesenen krankheitserregenden Bakteriums das Risiko von Infektionen in flussabwärts gelegenen Bereichen besteht. Im Gegensatz zu weiter unten diskutierten Isolaten ist belegt, dass dieser Klon direkt Infektionen beim Menschen verursachen kann. Es bedarf allein des Kontaktes eines empfänglichen Menschen mit erregerrhaltigem Wasser. Konkret stammen die Nachweise aus folgenden Proben (Tabelle 48).

Tabelle 48: Nachweisdaten und -orte für *Escherichia coli* ST410 mit KPC-2

| | unterhalb Kläranlage | Ablauf Sandfang | Ablauf Nachklärbecken | Schacht Abwasser Krankenhaus |
|------------|----------------------|-----------------|-----------------------|------------------------------|
| 19.04.2021 | + | + | + | + |
| 18.10.2021 | | + | + | |
| 15.03.2022 | + | + | | |
| 05.09.2022 | + | + | | + Biofilm |

Leere Zellen zeigen an, dass uns hier keine Isolate dieser Spezies mit KPC-2 vom LANUV eingesandt wurden. Es kann nicht geschlossen werden, ob die Entnahmestelle an diesem Zeitpunkt beprobt wurde. Informationen bzgl. der Probenahmestellen und -termine sind im Anhang enthalten.

Die 20 nachgewiesenen Isolate zeigen maximal 17 Alleldifferenzen in der cgMLST (siehe oben Erklärung zum MST), so dass sie als relativ eng verwandt gelten müssen. Aufgrund der Verwandtschaft der zu verschiedenen Probenahmeterminen gefundenen Isolate muss davon ausgegangen werden, dass der *E. coli*-Klon in und unterhalb der Kläranlage persistiert, insbesondere, weil dieser auch im Biofilm nachgewiesen werden konnte. Man muss daher mit einem dauerhaften Eintrag dieser Bakterien aus der Kläranlage bzw. ausgehend von dem Probenort unterhalb der Anlage in die Agger rechnen. Dies ist insofern bedeutsam, als dass es sich somit nicht um ein einmaliges Ereignis handelt, sondern das Risiko permanent existiert und sich deshalb die Wahrscheinlichkeit eines Eintrages in Menschen oder Tiere erhöht.

High-Risk-Klon ST392 *Klebsiella pneumoniae*

Die speziellen Eigenschaften, die zur Definition eines High-Risk-Klon herangezogen werden, treffen auch auf den gefundenen Klon ST392 von *K. pneumoniae* zu. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass *K. pneumoniae* ST392 in der Lage ist, schwerwiegende Infektionen bei Haustieren zu verursachen³¹. Entsprechend kann eine Übertragung von Tier zu Mensch bzw. vice versa nicht ausgeschlossen werden. Konkret stammen die Nachweise aus folgenden Proben (Tabelle 49):

Tabelle 49: Nachweisdaten und -orte für *Klebsiella pneumoniae* ST392 mit KPC-2

| | unterhalb Kläranlage | Ablauf Sandfang | Schacht Abwasser Krankenhaus | Biofilm Gerinne | Biofilm Stein unterhalb |
|------------|----------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|-------------------------|
| 19.04.2021 | | + | | | |
| 05.09.2022 | + | + | + Biofilm | + | + |

Leere Zellen zeigen an, dass uns hier keine Isolate dieser Spezies mit KPC-2 vom LANUV eingesandt wurden. Es kann nicht geschlossen werden, ob die Entnahmestelle an diesem Zeitpunkt beprobt wurde. Informationen bzgl. der Probenahmestellen und -termine sind im Anhang enthalten.

Die 9 nachgewiesenen Isolate zeigen maximal 28 Alleldifferenzen in der cgMLST, so dass sie als verhältnismäßig eng verwandt gelten müssen. Die Tatsache, dass die entsprechenden Isolate an diversen Probenahmestellen sowie in Biofilmen nachgewiesen wurden, deutet auf eine Persistenz und somit einen dauerhaften Eintrag, auch in unterhalb der Kläranlage gelegene Bereiche, hin. Entsprechend ist auch bei dem KPC-2-tragenden *K. pneumoniae* ST392 Klon das Risiko eines Eintrages in Mensch und Tier erhöht.

Andere Bakterienspezies mit Carbapenemase in oder unterhalb der Kläranlage

Klebsiella michiganensis mit KPC-2

Diese Isolate waren vom LANUV als *K. oxytoca* eingesandt worden, was nachvollziehbar ist, da die zur Identifizierung verwendete Methode (MALDI-TOF) diese beiden Spezies nicht differenzieren kann. Erst die Sequenzierung ermöglichte die Zuordnung zu *K. michiganensis*. In anderen Aufstellungen können diese Isolate somit als *K. oxytoca* erscheinen. Die Nachweise sind in Tabelle 50 zusammengefasst.

³¹ One Health 15:100414;2022.

Tabelle 50: Nachweise von *Klebsiella michiganensis* mit KPC-2

| | unterhalb Kläranlage | Ablauf Sandfang | Schacht Abwasser Krankenhaus |
|------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| 14.09.2020 | + | + | |
| 19.04.2021 | | + | + |
| 18.10.2021 | | + | |
| 15.03.2022 | + | | |

Leere Zellen zeigen an, dass uns hier keine Isolate dieser Spezies mit KPC-2 vom LANUV eingesandt wurden. Es kann nicht geschlossen werden, ob die Entnahmestelle an diesem Zeitpunkt beprobt wurde. Informationen bzgl. der Probenahmestellen und -termine sind im Anhang enthalten.

Von den insgesamt 9 sequenzierten Isolaten zeigten 7 Isolate Alleldifferenzen zwischen 18 und 32, so dass das Verwandtschaftsverhältnis weniger eng ist als bei den anderen hier besprochenen Spezies. Allerdings existieren weder für *K. michiganensis* noch für die verwandte Spezies *K. oxytoca* international gültige Standards hinsichtlich eines Typisierungsschemas, so dass auch keine Grenzen für die nahe Verwandtschaft definiert sind.

Klebsiella variicola mit KPC-2

Von dieser Spezies wurden insgesamt sechs Isolate am 18.10.2021 und am 15.03.2022 gefunden, die maximal 17 Allelunterschiede entfernt voneinander sind und somit als relativ nah verwandt gelten. Alle Isolate stammen aus der Probenahmestelle „Ablauf Sandfang“. Die Isolate gehören alle zum ST938, zu dem es bisher keine besonderen Berichte gibt.

Citrobacter freundii mit KPC-2 und *Citrobacter portucalensis* mit KPC-2

Von der Spezies *C. freundii* gab es vier Isolate, die drei unterschiedlichen ST (ST668, ST615, STnew) angehören. Zwei Isolate gehören zum ST615 und zeigen untereinander 13 Allelunterschiede. Eines dieser Isolate stammt aus dem Schacht des Krankenhauses aus April 2021 und das andere Isolat vom Messpunkt unterhalb der Kläranlage aus Oktober 2021. Das nachgewiesene KPC-2-tragende *C. portucalensis* Isolat gehörte dem Sequenztyp ST17 an und stammte aus dem Ablauf des Sandfanges. Auch diese Sequenztypen sind in der Literatur bisher nicht nennenswert in Erscheinung getreten.

A 3.1.3.2 Kläranlage Münster-Geist

Auffällig waren:

- das Auftreten von multiresistenten, Carbapenemase-tragenden High-Risk-Klonen der Bakterienspezies *Klebsiella pneumoniae* und deren Persistenz an den jeweiligen Orten
- das Auftreten von Enterobacterales-Isolaten mit zwei Carbapenemasen

In der Probenserie Münster Geist wurden ebenfalls High-Risk-Klone der Spezies *K. pneumoniae* in den Umweltproben identifiziert, wobei es sich hierbei um die Sequenztypen ST11, ST20, ST45 und ST307 handelte. Typischerweise tragen diese Klone sowohl diverse Resistenz- und Virulenzdeterminanten, hier insbesondere der ST11. Auffällig bei der Probenahmeserie Münster-Geist ist vor allem das Vorkommen von *K. pneumoniae* und anderen Enterobacterales-Isolaten, bei denen zwei Carbapenemasen identifiziert werden konnten. In den folgenden tabellarischen Übersichten (Tabelle 51 bis Tabelle 53) sind die entsprechenden Nachweise aufgeführt:

Tabelle 51: Nachweisdaten und -orte für *Klebsiella pneumoniae* ST11 mit VIM-1 oder NDM-1 und VIM-1

| | Schacht Abwasser Krankenhaus, Haus 2 | Ablauf Sandfang |
|------------|--------------------------------------|-----------------|
| 08.12.2020 | + | |
| 22.06.2021 | | + |
| 07.02.2023 | + | + |

Leere Zellen zeigen an, dass uns hier keine Isolate dieser Spezies mit VIM-1 und/oder NDM-1 vom LANUV eingesandt wurden. Es kann nicht geschlossen werden, ob die Entnahmestelle an diesem Zeitpunkt beprobt wurde. Informationen bzgl. der Probenahmestellen und -termine sind im Anhang enthalten.

Die fünf nachgewiesenen Isolate von *K. pneumoniae* ST11 (Tabelle 51) zeigten in der cgMLST eine Differenz von maximal 10 Allelunterschieden. Im Krankenhaus-Abwasser aus Haus 2 wurden drei Isolate nachgewiesen und zwar im Dezember 2020 und im Februar 2023. Am Ablauf Sandfang fanden sich zwei Isolate vom Juni 2021 und vom Februar 2023. Der Nachweis von eng verwandten Isolaten an derselben Messstelle zu unterschiedlichen Zeitpunkten deutet auf eine Persistenz dieses Stammes hin.

Tabelle 52: Nachweisdaten und -orte für *Klebsiella pneumoniae* ST45 mit KPC-2 oder GIM-1 und KPC-2

| | Schacht Abwasser Krankenhaus, Haus 2 | Ablauf Sandfang |
|------------|--------------------------------------|-----------------|
| 22.06.2021 | + | + |

Informationen bzgl. der Probenahmestellen und -termine sind im Anhang enthalten.

Im Gegensatz dazu wurden drei *K. pneumoniae* ST45 Isolate, welche eine Differenz von nur einem Allelunterschied aufwiesen, lediglich während einer Probennahmeserie, nämlich vom 22.06.2021, nachgewiesen (Tabelle 52). Hierbei konnten diese jedoch auch an zwei Standorten identifiziert werden.

Tabelle 53: Nachweisdaten und -orte für *Klebsiella pneumoniae* ST307 mit VIM-1

| | Schacht Abwasser Krankenhaus, Haus 2 | Ablauf Sandfang | Ablauf der Kläranlage |
|------------|---|------------------------|------------------------------|
| 08.12.2020 | + | | |
| 02.02.2021 | | + | |
| 22.06.2021 | + | | + |

Leere Zellen zeigen an, dass uns hier keine Isolate dieser Spezies mit VIM-1 vom LANUV eingesandt wurden. Es kann nicht geschlossen werden, ob die Entnahmestelle an diesem Zeitpunkt beprobt wurde. Informationen bzgl. der Probenahmestellen und -termine sind im Anhang enthalten.

Der Sequenztyp ST307 wurde bei sechs *K. pneumoniae* Isolaten nachgewiesen, welche an allen Probenahmezeitpunkten nachgewiesen werden konnten (Tabelle 53). Untereinander betrug die Differenz in der cgMLST maximal 15 Allelunterschiede, womit die Isolate als eng verwandt gelten. Eine Persistenz lässt sich bisher nur für den Abwasserstrang aus Haus 2 des Krankenhauses (Nachweis im Dezember 2020 und im Juni 2021) postulieren, wohingegen an den anderen Standorten, nämlich im Ablauf vom Sandfang und im Ablauf der Kläranlage in den Galgenbach, diese Isolate bisher nur einmalig gefunden wurden.

Das Isolat mit VIM-1, welches dem Sequenztyp ST20 zugeordnet wird, konnte lediglich einmal an der Probenahmestelle „Schacht Abwasser Krankenhaus, Haus 2“ nachgewiesen werden.

Andere Bakterienspezies mit Doppelcarbapenemase in der Kläranlage

Neben den zuvor erwähnten Ergebnissen, wurden zu jeder Probennahmeserie vor allem Isolate der Spezies *Citrobacter freundii*, aber auch vereinzelt *Citrobacter amalonaticus* und *C. y-oungae* nachgewiesen. Bei den insgesamt 16 Isolaten gab es jedoch keine Hinweise auf eine enge genetische Verwandtschaft, wobei dennoch angemerkt werden muss, dass bei diesen Isolaten verschiedene Carbapenemasen, auch in unterschiedlicher Kombination, nachgewiesen werden konnten (GIM-1, OXA-48, VIM-1 bzw. GIM-1+VIM-1, OXA-48+VIM-1). Insgesamt deutet dies darauf hin, dass sich in der Kläranlage Stämme mit unterschiedlichen Carbapenemasen etabliert haben.

A 3.1.3.3 Kläranlage Lüdenscheid-Schlittenbachtal

Insgesamt wurden von der Probenserie Lüdenscheid 20 Isolate sequenziert: 11 Isolate, bei denen die Carbapenemase OXA-48 nachgewiesen wurde, stammten aus dem Abwasser des Krankenhauses, welches im Juli und November 2021 beprobt wurde. Diese OXA-48-produzierenden Isolate gehörten verschiedenen Spezies und Sequenztypen an (*Citrobacter freundii* ST415, *Citrobacter amalonaticus* ST573, *Enterobacter hormaechei* ST66, *Enterobacter roggenkampii* STnew, *Klebsiella pneumoniae* ST1441, *Citrobacter freundii* ST415, *Citrobacter freundii* ST511). Bis auf zwei identische *C. freundii* ST415 Isolate und zwei *E. coli* ST10 Isolate, welche jeweils aus derselben zeitlichen und örtlichen Probenahmeserie stammten, konnten hinsichtlich der genetischen Verwandtschaft keine erwähnenswerten Ähnlichkeiten zwischen den Isolaten festgestellt werden. Die anderen 9 sequenzierten Isolate stammten aus dem Abwasser der Kläranlage Lüdenscheid-Schlittenbachtal und aus dem Gewässer (Schlittenbach; zwei Isolate) unterhalb der Einleitung der Kläranlage. Während der Probenahmen vom 27.07.2021 konnte ein OXA-48-produzierendes *E. roggenkampii* STnew Isolat im Sandfang nachgewiesen werden, wobei in der Probenserie vom 08.11.2021 ein *C. farmeri* ST686 Isolat mit OXA-48 ebenfalls im Sandfang identifiziert werden konnte. In der letzten Serie vom 22.02.2022 konnten neben einem OXA-48-produzierenden *C. freundii* ST110 Isolat, ein OXA-48-produzierendes *K. pneumoniae* Isolat (ST1441) sowie ein VIM-1-produzierendes *E. coli* ST197 Isolat identifiziert werden. Des Weiteren fanden sich vier NDM-5-produzierende *K. pneumoniae* Isolate (zweimal ST309, ST1426, ST54), wobei die zwei letzteren im Oberflächenwasser unterhalb der Einleitung der Kläranlage gefunden wurden. Mit Ausnahme der *K. pneumoniae* ST309 Isolate, welche eine Differenz von 10 Allelunterschieden zeigten, jedoch aus derselben Probenahmeserie stammten, konnten bei den übrigen Isolaten keine genetischen Ähnlichkeiten festgestellt werden. Darüber hinaus sind die gefundenen Sequenztypen bislang nicht in besonderer Weise in Erscheinung getreten.

A 3.1.3.4 Abwasserbehandlungsanlage Kreiskrankenhaus Waldbröl

Aus den Proben der Probenahmestellen „Zulauf MBR (vor Rechen)“ und „Zulauf Ozonung“ (entspricht Ablauf MBR), welche an drei verschiedenen Probenahmedaten beprobt wurden, stammten insgesamt 10 KPC-2-produzierende Isolate der Spezies *C. freundii* (ST279, ST98, ST154), *K. michiganensis* (ST226), welche alle unterschiedlichen Sequenztypen zugeordnet werden konnten und entsprechend keine enge genetische Verwandtschaft aufwiesen. Jedoch fanden sich auch zwei *K. michiganensis* ST50 Isolate und zwei *C. freundii* ST168 Isolate, die jeweils lediglich eine Differenz von 1 Allelunterschied aufwiesen und deshalb als sehr nah verwandt angesehen werden müssen. Diese fanden sich im Zulauf MBR (vor Rechen) und im Zulauf Ozonung. An denselben Probenahmestellen (Proben vom 29.03.2021) fanden sich darüber hinaus vier eng verwandte NDM-1-produzierende *K. pneumoniae* ST11 Isolate, die sich untereinander in 1 Allel unterschieden. Des Weiteren wurden drei KPC-2-produzierende *R. planticola* Isolate nachgewiesen, wobei zwei dieser Isolate eine Differenz von 1 Allelunterschied zeigten. Diese nah verwandten Isolate wurden im Zulauf MBR (vor Rechen) und im Ablauf der Abwasserbehandlungsanlage gefunden. Auch konnte im Ablauf der Anlage, Probenahmedatum 24.08.2020, ein KPC-2-produzierendes *C. braakii* Isolat (STnew) nachgewiesen werden, während in der Probe vom 29.03.2021 ein KPC-2-produzierendes Isolat der Spezies *C. freundii* (ST396) identifiziert werden konnten.

A 3.1.3.5 Kläranlage Wiehl Weiershagen

Insgesamt wurden 8 *E. coli* Isolate mit OXA-244 gefunden, welche aus der Probenreihe vom 30.08.2022 stammten [Anm. LANUV: Proben außerhalb des ARB-Projekts; Informationen bzgl. der Probenahmestellen sind im Anhang enthalten.] Von diesen wurden Isolate im Bereich der Kläranlage Wiehl Weiershagen gefunden, nämlich im Ablauf der Kläranlage ins Gewässer (Venturirinne vor der Mengenummessung) sowie im Gewässer (Wiehl) unterhalb der Einleitung der Kläranlage (oberhalb der Mündung Wiehl in die Agger). Diese Isolate zeigten untereinander eine maximale Differenz von einem Allelunterschied. Obwohl OXA-244 eine bedeutende Carbapenemase sowohl in Deutschland als auch europaweit darstellt, ist der hier gefundene Sequenztyp ST4981 bisher nicht in Erscheinung getreten. Ebenfalls aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der Kläranlage stammte das einzelne NDM-7-tragende *C. portucalensis* Isolat, welches dem Sequenztyp ST129 angehört, über welchen bisher keine ungewöhnlichen Berichte erschienen sind.

A 3.1.3.6 Abwasserbehandlungsanlage Marienhospital Gelsenkirchen

Bei der Beprobung dieses Standortes am 04.04.2022 wurden bisher lediglich ein VIM-1-produzierendes *K. pneumoniae* sowie zwei identische GIM-1-produzierende *C. freundii* Isolate an derselben Probenahmestelle (Zulauf MBR) gefunden.

A 3.1.3.7 Kläranlage Stemwede, Wehden

Die wesentlichen Befunde sind:

- das Auftreten von NDM-5-tragenden High-Risk-Klonen der Bakterienspezies *Escherichia coli* unterhalb der Kläranlage Stemwede
- das Auftreten von OXA-244-tragenden Isolaten der Bakterienspezies *Escherichia coli* unterhalb der Kläranlage Stemwede

Diese Kläranlage ist gekennzeichnet durch das Fehlen eines direkten Abwasserzulaufes durch ein Krankenhaus. Es wurden Isolate aus Proben aus den Jahren 2020 und 2022 vom NRZ auf Carbapenemasen untersucht. Während in der ersten Probenreihenfolge keine Carbapenemase-tragenden Enterobacterales Isolate nachgewiesen werden konnten, wurden bei der Untersuchung mittels einer zusätzlichen (für den Nachweis von Carbapenemase-Produktion spezifischeren und sensitiveren) Analytik (LANUV) der Proben im Jahr 2022 sowohl NDM-5-produzierende *E. coli* Isolate als auch OXA-244-produzierende *E. coli* Isolate gefunden. Die NDM-5-tragenden Isolate gehören dem High-Risk-Klon ST405 an, welcher auch im klinischen Kontext eine nicht unwesentliche Rolle spielt. So konnten wir und andere kürzlich zeigen, dass der Anstieg von NDM-5-produzierenden *E. coli* nicht nur in Deutschland, sondern europaweit, eben auch durch diesen Sequenztyp verursacht wird^{32,33}.

³² Euro Surveillance 28(10): 2200509;2023

³³ Euro Surveillance 28(19):pii=2300209;2023

Mithilfe einer hochauflösenden Analyse­methode (SNP³⁴) zeigte sich, dass die hier gefundenen Umweltisolate verhältnismäßig nah verwandt sind mit den klinischen NDM-5-produzierenden *E. coli* Isolaten. Es zeigte sich, dass die Umweltisolate einen Unterschied von 109 bis 148 SNP zu einigen der klinischen NDM-5-tragenden Isolaten aufwiesen, wobei ein Grenzwert von 100 SNP für eine enge Verwandtschaft der klinischen Isolate verwendet wurde.

Tabelle 54: Nachweisdaten und -orte für *Escherichia coli* ST405 mit NDM-5

| | Namenloses Gewässer unterhalb der Einleitung Kläranlage | Ablauf der Kläranlage [PN (siehe Systemskizze)] |
|------------|--|--|
| 21.06.2022 | + | + |

Informationen bzgl. der Probenahmestellen und -termine sind im Anhang enthalten.

Die NDM-5-produzierenden *E. coli* Isolate, die sowohl im Abwasser am Ablauf der Kläranlage Stemwede, Wehden (PN siehe Systemskizze) als auch im Oberflächenwasser unterhalb der Einleitung der Kläranlage nachgewiesen wurden, zeigten in der cgMLST eine Differenz von 1 Allelunterschied und müssen entsprechend als eng verwandt angesehen werden. Ob und inwieweit eine Persistenz in der Umwelt vorliegt, kann zu diesem Zeitpunkt nicht geschlussfolgert werden, da die bisherigen Isolate lediglich während einer Probenahmeserie nachgewiesen wurden.

Tabelle 55: Nachweisdaten und -orte für *Escherichia coli* ST10 mit OXA-244

| | Namenloses Gewässer unterhalb der Einleitung Kläranlage | Pumpwerk 1 (ein Zulauf der Kläranlage) |
|------------|--|---|
| 21.06.2022 | + | |
| 02.08.2022 | | + |

Leere Zellen zeigen an, dass uns hier keine Isolate dieser Spezies mit OXA-244 vom LANUV eingesandt wurden. Es kann nicht geschlossen werden, ob die Entnahmestelle an diesem Zeitpunkt beprobt wurde. Informationen bzgl. der Probenahmestellen und -termine sind im Anhang enthalten.

Des Weiteren konnte ein OXA-244-produzierendes *E. coli* Isolat sowohl im Zulauf der Kläranlage (Pumpwerk 1) während der Probenserie aus August 2022, aber auch bereits im Juni 2022 im Oberflächenwasser unterhalb der Kläranlage nachgewiesen werden (Tabelle 55). Die zwei Isolate, welche dem Sequenztyp ST10 angehören, unterschieden sich in 6 Allelen in der cgMLST und werden entsprechend als nah verwandt klassifiziert. Darüber hinaus wurden in der zweiten Probenserie vom August 2022 im Pumpwerk 1 insgesamt fünf identische OXA-

³⁴ Single Nucleotide Polymorphism basiert auf der Suche nach Nukleotiddifferenzen nicht nur in kodierenden Bereichen (wie die cgMLST) sondern im gesamten Genom. Diese Methode findet deshalb auch dann Differenzen, wenn wenig oder keine Alleldifferenzen vorliegen.

244-tragende *E. coli* Isolate nachgewiesen, welche dem Sequenztyp ST2178 angehören. Sowohl für ST10 als auch ST2178 sind in der Literatur bisher keine außergewöhnlichen Eigenschaften beschrieben worden. Die zwei OXA-244-produzierende *E. coli* Isolate der Probenahme vom 21.06.2022, welche im Ablauf des Sandfanges identifiziert wurden, sowie das OXA-181-produzierende *E. coli* Isolat der Probenahme vom 02.08.2022, welches im Pumpwerk 1 nachgewiesen wurde, konnten aus technischen Gründen nicht analysiert werden.

A 3.1.3.8 Essen Baldeneysee Seaside Beach

Neben den zuvor erwähnten Probenahmestandorten wurde auch das Badegewässer Seaside Beach/Baldeneysee, in dessen Einzugsgebiet sich Einleitungen aus kommunalen Kläranlagen (an denen auch Krankenhäuser angeschlossen sind) und außerdem Mischwassereinleitungen sowie Niederschlagswassereinleitungen befinden, zu mehreren Zeitpunkten beprobt. Isolate von fünf Probenahmedaten im Zeitraum Anfang April bis Anfang September 2020 wurden ans NRZ gesandt. Obwohl keine Carbapenemase-produzierenden Enterobacterales Isolate gefunden werden konnten, fanden sich zwei ESBL-tragende Isolate der Spezies *E. coli* sowie drei ESBL-tragende Isolate von *K. pneumoniae*. Die zwei identifizierten Isolate von *E. coli* trugen entweder die ESBL-Variante CTX-M-15 oder CTX-M-27. Diese Isolate gehörten den unterschiedlichen Sequenztypen ST443 und ST1598 an und zeigten dementsprechend keine nähere genetische Verwandtschaft. Im Gegensatz dazu zeigten die drei *K. pneumoniae* Isolate eine Differenz von einem Allelunterschied. Diese Isolate, welche die ESBL-Varianten CTX-M-15 und SHV-1 trugen, wurden im April, Juni und Juli 2020 gefunden und gehörten dem Sequenztyp ST45 an. Der Sequenztyp ST45 wird phylogenetisch der klonalen Gruppe¹ (engl. clonal group) CG258 zugeordnet. Einer klonalen Gruppe werden typischerweise verschiedene Sequenztypen zugeordnet, welche einen gemeinsamen genetischen Ursprung und deren Vertreter ähnliche Virulenz- und Resistenzeigenschaften haben. Entsprechend ihrer Eigenschaften werden Sequenztypen innerhalb des CG258, einschließlich ST45, auch als multidrug-resistant (MDR) High-Risk-Klone bezeichnet und sind in der Regel krankhaus-assoziiert sowie als häufiger Verursacher von nosokomialen Ausbrüchen bekannt. Für den Sequenztyp ST45 sind insbesondere Fälle auf Neonatologien beschrieben. Obwohl die nachgewiesenen Isolate keine Eigenschaften einer Multiresistenz aufgrund des Fehlens von Carbapenemasen zeigen, ist der ST45 dennoch in der Lage, Resistenzgene über mobile genetische Elemente, wie z. B. Plasmide, aufzunehmen.

A 3.1.4 Schlussfolgerungen

Aus keinem der hier besprochenen Befunde kann eine unmittelbare Gefährdung der Allgemeinbevölkerung abgeleitet werden. Infektionen mit den nachgewiesenen Erregern würden den Kontakt einer aufgrund von Vorerkrankungen besonders gefährdeten Person mit den Bakterien am Nachweisort voraussetzen. Man darf davon ausgehen, dass Personen mit einem krankheitsbedingt besonders hohen Infektionsrisiko solche Expositionen vermeiden werden. Selbstverständlich sind besondere Einzelfälle nicht auszuschließen.

Der zeitlich mehrfache Nachweis von Enterobacterales mit Carbapenemasen auch unterhalb von Kläranlagen, d. h. im Oberflächenwasser, sowie den Nachweisen eng verwandter Klone innerhalb der Kläranlagen legt Persistenz dieser Klone an den beprobten Orten nahe. Anhand

der Daten lässt sich nicht abschätzen, zu welchem Zeitpunkt der Eintrag in die jeweilige Kläranlage erfolgte. Teilweise ließen sich die Resistenzdeterminanten in Linien der jeweiligen Bakterienspezies nachweisen, von denen bereits bekannt ist, dass sie Infektionen verursachen und sich verbreiten können (sog. High-Risk-Klone). Bei solchen Stämmen besteht die Gefahr, dass sie direkt Infektionen bei prädisponierten Individuen verursachen. Da anzunehmen ist, dass sich die Klone in und unterhalb der Kläranlagen angesiedelt haben, muss mit einem kontinuierlichen Eintrag gerechnet werden. Konsequenz kann auch die Ausbreitung in die tierische (Fische, Vieh) oder menschliche Normalflora (Badende, Angler) sein, was die Gefahr einer weiteren Verbreitung und somit schlussendlich möglicherweise auch den Eintrag in Kliniken, erhöht. Insgesamt steigt dadurch die Gesamtwahrscheinlichkeit von Infektionen durch diese Bakterien. Der Nachweis von *E. coli* ST405 mit NDM-5-Carbapenemase unterhalb der Kläranlage Stemwede, Wehden und die relativ große Ähnlichkeit zu Isolaten aus klinischen Proben legt eine ähnliche Herkunft nahe. Gleichzeitig belegt der Nachweis in Stemwede, dass Zuflüsse von einem Krankenhaus keine Voraussetzung für das Vorkommen von Klonen mit Carbapenemase sind. Man darf allerdings annehmen, dass manche Rehabilitationseinrichtungen oder Alten- und Pflegeheime ebenfalls für einen Eintrag verantwortlich sein können.

Die weiteren Nachweise erfolgten in Anlagen, die Zuflüsse aus Krankenhäusern haben. Bemerkenswert ist dabei, dass die meisten nachgewiesenen Bakterienspezies und Sequenztypen nicht diejenigen sind, die typischerweise in der Humanmedizin gefunden werden. Die gefundenen Carbapenemasen jedoch sind solche, die in der Humanmedizin die größte Rolle spielen. Diese augenscheinliche Diskrepanz erklärt sich dadurch, dass die Resistenzdeterminanten (die Carbapenemasen) zwischen Bakterien übertragbar sind und in verschiedenen Habitaten differente Spezies bzw. Stämme einen Selektionsvorteil haben. Die Gefahr liegt darin, dass solche Stämme ihre Resistenzen auch auf medizinisch relevante Spezies und Linien übertragen können.

Es ist keinesfalls ausgeschlossen, dass eine solche Übertragung zwischen einer Spezies/einem Klon, der auf Klärwerke oder Oberflächenwasser angepasst ist, und einer humanpathogenen Spezies/einem Klon stattfindet. Typischerweise findet der Transfer von Resistenzdeterminanten nämlich innerhalb des Darmtraktes statt. Dies bedeutet, dass die Akquisition von Carbapenemase-tragenden Umweltisolaten eben auch in resistenten, an den Menschen angepassten Stämmen resultieren kann.

Da ein Eintrag in Kläranlagen letztlich unvermeidlich ist, schließlich bewohnen Enterobacterales den Darm von Mensch und Tier, bleiben als Maßnahmen nur die Vermeidung von Selektion durch Minimierung nicht indizierter Antibiotikatherapien sowie Versuche, den Eintrag aus Kläranlagen in die Umgebung zu reduzieren. Das Erstere betrifft das Antibiotic-Stewardship in den Kliniken, das Letztere technische Einrichtungen an den Klärwerken.

Wegen der hier nachgewiesenen Persistenz der Carbapenemase-tragenden Klone innerhalb und unterhalb von Kläranlagen sind von allen möglicherweise eingeleiteten Maßnahmen keine kurzfristigen Effekte zu erwarten. Es muss also davon ausgegangen werden, dass die oben beschriebenen möglichen Gefährdungen noch für einen gewissen Zeitraum bestehen werden. Eine Abschätzung dieser Zeitdauer ist anhand der bisher erhobenen Daten nicht möglich.

Um weitere Informationen über die Dauer der Persistenz humanpathogener Klone in der Umwelt und ggf. über den Effekt von Maßnahmen gegen die Verbreitung in die Umwelt zu gewinnen, sollten Monitoringprogramme erwogen werden.

A 3.2 **Anhang Abschlussbericht zur Kooperation LANUV – NRZ: Detaillierte Informationen zu den jeweiligen Probenahmestellen**

Kläranlage Engelskirchen

Tabelle 48: Nachweisdaten und -orte für *Escherichia coli* ST410 mit KPC-2

unterhalb Kläranlage: Agger (ca. 130 m) unterhalb der Einleitung der KA Engelskirchen (Messstellen ID: 204262; Name: uh KA Ehreshoven).

Ablauf Sandfang: Bei der Probenahmestelle "Ablauf Sandfang" handelt es sich um den Zulauf der Kläranlage nach mechanischer Vorbehandlung (d. h. nach Rechen und Sandfang). Es handelt sich also um das Rohabwasser vor biologischer Behandlung.

Ablauf Nachklärbecken: Entspricht der amtlichen Messstelle am Ablauf der Kläranlage ins Gewässer.

Schacht Abwasser Krankenhaus: Für die Entnahme von Abwasser des Krankenhauses im Einzugsgebiet der KA Engelskirchen wurde ein Schacht im öffentlichen Kanalnetz genutzt. Bei den dort entnommenen Proben handelt es sich um Abwasser des Krankenhauses ggf. vermischt mit Niederschlagswasser der oberhalb gelegenen, angeschlossenen Flächen.

Schacht Abwasser Krankenhaus: + Biofilm vom 05.09.2022: An diesem Probenahmetermin wurde zusätzlich zur Abwasserprobe eine Probe von der Sielhaut (Biofilm auf den Innenflächen des Kanals) aus dem Abwasserkanal entnommen. [Anmerkung: Der Kanal wirkte optisch sehr sauber; es konnte nur eine sehr geringe Menge an Biofilm gewonnen werden.]

Tabelle 49: Nachweisdaten und -orte für *Klebsiella pneumoniae* ST392 mit KPC-2

Biofilm Gerinne: Der Biofilm wurde von der Wandung an der Messstelle Ablauf Kläranlage Engelskirchen abgekratzt.

Biofilm Stein unterhalb: Der Stein wurde aus dem Gewässer (Agger) an der Messstelle (ca. 130 m) unterhalb der Einleitungsstelle der Kläranlage Engelskirchen entnommen. Der Biofilm wurde im Labor vom Stein abgeschabt.

Tabelle 50: Nachweise von *Klebsiella michiganensis* mit KPC-2

Informationen zu den Probenahmestellen (= Messstellen) siehe Tabelle 48.

Kläranlage Münster-Geist

Tabelle 51: Nachweisdaten und -orte für *Klebsiella pneumoniae* ST11 mit VIM-1 oder NDM-1 und VIM-1

Schacht Abwasser Krankenhaus, Haus 2: Abwasser aus Haus 2 des Krankenhauses.

Ablauf Sandfang: Bei der Probenahmestelle "Ablauf Sandfang" handelt es sich um den Zulauf der Kläranlage nach mechanischer Vorbehandlung (d. h. nach Rechen und Sandfang). Es handelt sich also um das Rohabwasser vor biologischer Behandlung.

Tabelle 52: Nachweisdaten und -orte für *Klebsiella pneumoniae* ST45 mit KPC-2 oder GIM-1 und KPC-2

Informationen zu den Probenahmestellen (= Messstellen) siehe Tabelle 51.

Tabelle 53: Nachweisdaten und -orte für *Klebsiella pneumoniae* ST307 mit VIM-1

Ablauf der Kläranlage: Entspricht der amtlichen Messstelle am Ablauf der Kläranlage ins Gewässer.

Kläranlage Wiehl Weiershagen

Die KA Wiehl Weiershagen gehört nicht zum Umfang des ARB-Projekts, sondern wird routinemäßig auf Legionellen untersucht. Proben aus dieser Analytik wurden ausnahmsweise auch auf antibiotikaresistente Bakterien untersucht, weil die Kläranlage in ein Nebengewässer (Wiehl) der Agger oberhalb der Kläranlage Engelskirchen (welche im ARB-Projekt untersucht wurde) einleitet.

oberhalb der Mündung Wiehl in die Agger: Gewässermessstelle in der Wiehl (ca. 50 m) unterhalb der Einleitung der KA Wiehl Weiershagen (Messstellen ID: 203506; Name: oh Mdg in Agger).

Venturirinne vor der Mengenummessung: Entspricht der amtlichen Messstelle am Ablauf der Kläranlage ins Gewässer.

Abwasserbehandlungsanlage Marienhospital Gelsenkirchen

Standort: Zulauf des Membranbioreaktors (= Rohabwasser nach mechanischer Vorbehandlung [Rechen]).

Kläranlage Stemwede, Wehdem

Die Kläranlage Stemwede, Wehdem wurde für das Messprogramm im ARB-Projekt ausgewählt, weil sich kein Krankenhaus im Einzugsgebiet der Kläranlage befindet (zum Vergleich mit den Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet).

Tabelle 54: Nachweisdaten und -orte für *Escherichia coli* ST405 mit NDM-5

Namenloses Gewässer unterhalb der Einleitung Kläranlage: Probenahmestelle im Gewässer (ca. 150 m) unterhalb der Einleitung der Kläranlage Stemwede, Wehdem.

PN (siehe Systemskizze): Entspricht der amtlichen Messstelle am Ablauf der Kläranlage ins Gewässer.

Tabelle 55: Nachweisdaten und -orte für *Escherichia coli* ST10 mit OXA-244

Namenloses Gewässer unterhalb der Einleitung Kläranlage: Probenahmestelle im Gewässer (ca. 150 m) unterhalb der Einleitung der Kläranlage Stemwede, Wehdem.

Pumpwerk 1: Eines von drei Pumpwerken, die das Rohabwasser der Kläranlage Stemwede, Wehdem zuführen. Im Zulauf der Kläranlage können die Abwasserströme der drei Pumpwerke separat beprobt werden. Das Pumpwerk 1 fördert das Abwasser aus einem Teilgebiet (Wehdem) der Gemeinde Stemwede.

Probenahmedaten

Tabelle 56: Probenahmedaten der für das Projekt „Molekulare Epidemiologie“ relevanten Probenserien des ARB-Projekts. ^{a)} Eine Entnahme von Proben am Schacht am Krankenhaus war nur bei diesen Probenahmen möglich. ^{b)} Aufgrund verschiedener technischer Widrigkeiten konnten nur zwei von drei geplanten Probenahmen durchgeführt werden.

| Probenahmedaten | | | | | |
|---------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|--|
| Probenserie Engelskirchen | Probenserie Lüdenscheid | Probenserie Münster-Geist | Probenserie Stemwede | Probenserie Waldbröl | Probenserie Marienhospital ^{b)} |
| 14.09.2020 | 27.07.2021 | 08.12.2020 | 01.09.2020 | 24.08.2020 | 01.03.2021 |
| 19.04.2021 ^{a)} | 08.11.2021 | 02.02.2021 | 12.04.2021 | 29.03.2021 | 04.04.2022 |
| 18.10.2021 | 22.02.2022 | 22.06.2021 | 21.06.2022 | 16.08.2021 | |
| 15.03.2022 | | | 02.08.2022 | | |
| 17.05.2022 ^{a)} | | | | | |
| 05.09.2022 ^{a)} | | | | | |

Literatur

- ACKERMANN, G. (HRSG.) (2014): Antibiotika und Antimykotika. Substanzen, Krankheitsbilder. Erregerspezifische Therapie. 4., überarbeitete und erweiterte Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH. https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9783804729292_A24248011/preview-9783804729292_A24248011.pdf
- ANTÃO, E.-M.; WAGNER-AHLFS, C. (2018): Antibiotikaresistenz. Eine gesellschaftliche Herausforderung. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 61, 499–506. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Antibiotikaresistenz/Grundwissen/BGBL_61_02_Antao.pdf?blob=publicationFile
- AQS-MERKBLATT P14 (1995-05): AQS – Merkblatt zu den Rahmenempfehlungen der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA) für die Qualitätssicherung bei Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchungen; Bestimmung des gesamten organisch gebundenen Kohlenstoffs (TOC) in Wasser; Länderarbeitsgemeinschaft Wasser.
- AUTENRIETH, I. B. (2003): Die Ökologie der humanen Darmflora: physiologische und pathophysiologische Aspekte. Journal für Gastroenterologische und Hepatologische Erkrankungen 1, 14-17. <https://www.kup.at/kup/pdf/3462.pdf>
- BADEGEWÄSSERVERORDNUNG NRW (2007): Verordnung über die Qualität und die Bewirtschaftung der Badegewässer (Badegewässerverordnung) vom 11. Dezember 2007. https://recht.nrw.de/lmi/owa/br_text_anzeigen?v_id=10000000000000000584
- BAUER, J. (2019): Die unbekannte Welt der Mikrobiome. Einführung in das Rundgespräch. Rundgespräche Forum Ökologie, Bd. 47 »Die unbekannte Welt der Mikrobiome«, S. 11-15. https://www.pfeil-verlag.de/wp-content/uploads/2018/12/5_39_03_BA.pdf
- BAYERISCHES LANDESAMT FÜR UMWELT (Hrsg.) (2020): Fäkale Belastung und Vorkommen von Antibiotikaresistenzgenen in Mischwasserentlastungen in Bayern. Abschlussbericht 2020.
- BIOMÉRIEUX (2018): VITEK® 2 AST-N223 Resistenzkarte, Ref 413110, Dokumentenversion 045611-01, November 2018
- BIOMÉRIEUX (2020): VITEK® 2 GN Identifizierungskarte, Ref 21341, Dokumentenversion 044066-04, März 2020
- BLANCO, P.; HERNANDO-AMADO, S.; REALES-CALDERON, J. A.; CORONA, F.; LIRA, F.; ALCALDERICO, M.; BERNARDINI, A.; SANCHEZ, M. B.; MARTINEZ, J. L. (2016): Bacterial Multidrug Efflux Pumps: Much More Than Antibiotic Resistance Determinants. Microorganisms 4, 14. <https://www.mdpi.com/2076-2607/4/1/14>
- BOSCH, T. C. G. (2021): Mikrobiom als natürlicher Schutzfaktor. Perspektiven aus der Grundlagenforschung. Hautarzt 72, 563–569. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8193591/>
- BRUNSCH, A.; BEYERLE, L.; KNORZ, K.; BREPOLS, C.; DAHMEN, H.; CHRISTOFFELS, E.; SCHÄFER, H. (2020): Retentionsbodenfilter zur Entfernung von Mikroschadstoffen aus Mischwasserabschlägen und Kläranlagenablauf. KA Korrespondenz Abwasser, Abfall 67,

- Nr. 10, 780-788. <https://ibc-ingenieure.com/wp-content/uploads/2020/10/KA-2020-10-RBFplus-Artikel.pdf>
- BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT (Hrsg.) (2023): DART 2030. Deutsche Antibiotika-Resistenzstrategie. <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/themen/praevention/antibiotika-resistenzen/dart-2030.html>
- CAHILL, N.; O'CONNOR, L.; MAHON, B.; VARLEY, A.; MCGRATH, E.; RYAN, P.; CORMICAN, M.; BREHONY, C.; JOLLEY, K. A.; MAIDEN, M. C.; BRISSE, S.; MORRIS, D. (2019): Hospital effluent: A reservoir for carbapenemase-producing *Enterobacterales*? *Science of the Total Environment* 672, 618–624. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.428>
- CARROLL, A. C.; WONG, A. (2018): Plasmid persistence: costs, benefits, and the plasmid paradox. *Canadian Journal of Microbiology* 64, 293–304. <https://cdnsiencepub.com/doi/full/10.1139/cjm-2017-0609>
- CASTANHEIRA, M.; SIMNER, P. J.; BRADFORD, P. A. (2021): Extended-spectrum β -lactamases: an update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimicrobial Resistance* 3, Issue 3, 1-21. <https://academic.oup.com/jacamr/article/3/3/dlab092/6322891?login=false>
- CIMEN, C.; NOSTER, J.; STELZER, Y.; RUMP, A.; SATTLER, J.; BERENDS, M.; VOSS, A.; HAMPRECHT, A. (2023): Surface water in Lower Saxony: A reservoir for multidrug-resistant *Enterobacterales*. *One Health* 17, 100606. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2023.100606>
- DECIUS, M.; CHRISTIANSEN, B.; MARCIC, A.; PETZOLD, G.; SIMON, S. (2020): Abschlussbericht zum Projekt MRE-BGW Untersuchungsprogramm multiresistente Erreger (MRE) in Badegewässern (BGW) mit Fokussierung auf Krankenhausabwasser als mögliche Eintragsquelle von 4MRGN in schleswig-holsteinische Oberflächengewässer / Badegewässer. Ministerium für Soziales, Gesundheit, Jugend, Familie und Senioren des Landes Schleswig-Holstein, Kiel (Hrsg). <https://www.schleswig-holstein.de/DE/fachinhalte/B/badegewaesser/Downloads/berichtMreProjekt.html>
- DIN 38402-11 (2009-02): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Allgemeine Angaben (Gruppe A) - Teil 11: Probenahme von Abwasser (A 11); Beuth Verlag.
- DIN 38402-12 (1985-06): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Allgemeine Angaben (Gruppe A); Probenahme ausstehenden; Beuth Verlag.
- DIN 38402-30 (1998-07): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Allgemeine Angaben (Gruppe A) - Teil 30: Vorbehandlung, Homogenisierung und Teilung heterogener Wasserproben (A 30); Beuth Verlag.
- DIN 38402-60 (2013-12): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Allgemeine Angaben (Gruppe A) - Teil 60: Analytische Qualitätssicherung für die chemische und physikalisch-chemische Wasseruntersuchung (A 60); Beuth Verlag.

- DIN 38404-4 (1976-12): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung; Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C); Bestimmung der Temperatur (C 4); Beuth Verlag.
- DIN 58959-6 (2019-06): Medizinische Mikrobiologie - Qualitätsmanagement in der medizinischen Mikrobiologie - Teil 6: Anforderungen an Prüforganismen und ihre Verwendung bei der Leistungsprüfung; Beuth Verlag.
- DIN EN 1484 (2019-04): Wasseranalytik - Anleitungen zur Bestimmung des gesamten organischen Kohlenstoffs (TOC) und des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC); Deutsche Fassung EN 1484:1997; Beuth Verlag.
- DIN EN 27888 (1993-11): Wasserbeschaffenheit; Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit (ISO 7888:1985); Deutsche Fassung EN 27888:1993; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 11133 (2020-10): Mikrobiologie von Lebensmitteln, Futtermitteln und Wasser - Vorbereitung, Herstellung, Lagerung und Leistungsprüfung von Nährmedien (ISO 11133:2014, korrigierte Fassung 2014-11-01 + Amd. 1:2018 + Amd. 2:2020); Deutsche Fassung EN ISO 11133:2014 + A1:2018 + A2:2020; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 11731 (2019-03): Wasserbeschaffenheit - Zählung von Legionellen (ISO 11731:2017); Deutsche Fassung EN ISO 11731:2017; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 16266 (2008-05): Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von *Pseudomonas aeruginosa* - Membranfiltrationsverfahren (ISO 16266:2006); Deutsche Fassung EN ISO 16266:2008; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 17025 (2018-03): Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:2017); Deutsche und Englische Fassung EN ISO/IEC 17025:2017; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 19458 (2006-12): Wasserbeschaffenheit - Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen (ISO 19458:2006); Deutsche Fassung EN ISO 19458:2006; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 21676 (2022-01): Wasserbeschaffenheit - Bestimmung ausgewählter Arzneimittelwirkstoffe, Transformationsprodukte und weiterer organischer Stoffe gelöst in Wasser und behandeltem Abwasser - Verfahren mittels Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (HPLC-MS/MS oder -HRMS) nach Direktinjektion (ISO 21676:2018); Deutsche Fassung EN ISO 21676:2021; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 5667-1 (2023-04): Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 1: Anleitung zur Erstellung von Probenahmeprogrammen und Probenahmetechniken (ISO 5667-1:2020); Deutsche Fassung EN ISO 5667-1:2022; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 5667-3 (2019-07): Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 3: Konservierung und Handhabung von Wasserproben (ISO 5667-3:2018); Deutsche Fassung EN ISO 5667-3:2018; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 5667-6 (2016-12): Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 6: Anleitung zur Probenahme aus Fließgewässern (ISO 5667-6:2014); Deutsche Fassung EN ISO 5667-6:2016; Beuth Verlag.

- DIN EN ISO 7027-1 (2016-11): Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Trübung - Teil 1: Quantitative Verfahren (ISO 7027-1:2016); Deutsche Fassung EN ISO 7027-1:2016; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 7027-1 (2016-11): Wasserbeschaffenheit - Bestimmung der Trübung - Teil 1: Quantitative Verfahren (ISO 7027-1:2016); Deutsche Fassung EN ISO 7027-1:2016; Beuth Verlag.
- DIN EN ISO 8199 (2021-12): Wasserbeschaffenheit - Allgemeine Anforderungen und Anleitung für mikrobiologische Untersuchungen mittels Kulturverfahren (ISO 8199:2018); Deutsche Fassung EN ISO 8199:2018; Beuth 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. (2019): Assessment of the Prevalence of Antibiotic-Resistant Bacteria and the Concentration of Antibiotics in EU Bathing Waters in Western Germany. *Exposure and Health* 12, 323–334.
<https://doi.org/10.1007/s12403-019-00313-z>
- DOYLE, U.; SCHRÖDER, P.; SCHÖNFELD, J.; WESTPHAL-SETTELE, K. (2020): Was ist der One Health-Ansatz und wie ist er umzusetzen? UMID: Umwelt und Mensch – Informationsdienst Nr. 2/2020, S. 65-72. https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/4031/publikationen/umid-02-20-one_health.pdf
- EG-BADEGEWRL (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. ABl. 64/37 vom 4.03.2006.
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006L0007>
- EG-WRRRL (2000): Richtlinie 2000/60/RG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 23. Oktober 2000 zur Schaffung eines Ordnungsrahmens für Maßnahmen der Gemeinschaft im Bereich der Wasserpolitik. ABl. L 327 vom 22.12.2000. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=CELEX:02000L0060-20141120&rid=2>
- EMSCHERGENOSSENSCHAFT (2016): Abschlussbericht zum Projekt REDU-ANTIRESIST – Bewertung von Abwasserreinigungstechniken zur Reduktion klinisch relevanter Infektionserreger und Determinanten von Antibiotikaresistenzen. (Förder-Nr. ZMV11-2515NIK003)
- EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (2017-07): EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and Specific resistances of clinical and/or epidemiological importance; Version 2.0.
https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf
- EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (2023-01): Antimicrobial susceptibility testing EUCAST disk diffusion method; Version 11.0.
https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/2023_manuals/Manual_v_11.0_EUCAST_Disk_Test_2023.pdf

- 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 (5): D46-D54. https://www.krankenhaushygiene.de/pdfdata/hm/2018_HM_05_HyReKA_Uebersicht.pdf
- FISCHER, M. A.; BENDER, J. K.; KRIEBEL, N.; WEBER, R. E.; WOHLFARTH, E.; MAECHLER, F.; NOLL, I.; ABU SIN, M.; WERNER, G. (2023): Eigenschaften, Häufigkeit und Verbreitung von Vancomycin-resistenten Enterokokken in Deutschland – Update 2021/2022. Epidemiologisches Bulletin 28: 3-17. <https://edoc.rki.de/handle/176904/11224>
- FURUKAWA, T.; MEKATA, T.; AMARASIRI, M.; SEI, K. (2022): Concentration and reduction efficiency of vancomycin-resistant heterotrophic bacteria and *vanA* and *vanB* genes in wastewater treatment unit processes. Journal of Global Antimicrobial Resistance 30, 340-347. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.07.008>
- FÜSSLE, R. (2011): Prinzipien der Antibiotikatherapie. Anästh Intensivmed 2011; 52: 896-910 Aktiv Druck & Verlag GmbH. https://www.ai-online.info/images/ai-ausgabe/2011/12-2011/2011_12_896-910_Prinzipien%20der%20Antibiotikatherapie.pdf
- GHALY, T. M.; GILLINGS, M. R.; PENESYAN, A.; QI, Q.; RAJABAL, V.; TETU, S. G. (2021): The Natural History of Integrons. Microorganisms 9, 2212, 1-12. <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/11/2212>
- GILLINGS, M. R. (2014): Integrons: Past, Present, and Future. Microbiology and Molecular Biology Reviews 78, 257–277. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4054258/>
- GRUBERT (1998): Allgemeines zur Probenahmeplanung und Qualitätssicherung. In: Die Probenahme von Wasser. Ein Handbuch für die Praxis. SELENT, K.-D.; GRUPE, A. (Hrsg.). R. Oldenbourg Verlag GmbH, München, 242 Seiten.
- GRWV (2010): Grundwasserverordnung vom 9. November 2010 (BGBl. I S. 1513), die zuletzt durch Artikel 1 der Verordnung vom 12. Oktober 2022 (BGBl. I S. 1802) geändert worden ist. https://www.gesetze-im-internet.de/grwv_2010/GrwV.pdf
- HALLER, D. (2019): Mikrobiom-Signaturen und ihre funktionale Bedeutung in der Medizin. Rundgespräche Forum Ökologie, Bd. 47 »Die unbekannte Welt der Mikrobiome«, S. 101-108. https://www.pfeil-verlag.de/wp-content/uploads/2018/12/5_39_11_HA.pdf
- HAMPRECHT, H.; KRESKEN, M.; MACK, D.; MOLITOR, E.; GATERMANN, S. (2021): Empfehlungen zur Detektion von Carbapenemasen bei Enterobakterien (Enterobacterales). Nationales Antibiotika-Sensitivitätstest-Komitee (NAK). https://www.nak-deutschland.org/tl_files/nak-deutschland/NAK%202021/Vorgehen_Carbapenemase_NAK_20210930.pdf
- 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. Science of the Total Environment 743, 140804. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140804>

- HEISIG, P.; WIEDEMANN, B. (2001): Wirkungs- und Resistenzmechanismen der Chinolone. Pharmazie in unserer Zeit, Nr. 5, S. 382-393. http://phoenix.tuwien.ac.at/lectures/pharma/2001PZ382_2_artikel.pdf
- HEMBACH, N.; ALEXANDER, J.; HILLER, C.; WIELAND, A.; SCHWARTZ, T. (2019): Dissemination prevention of antibiotic resistant and facultative pathogenic bacteria by ultrafiltration and ozone treatment at an urban wastewater treatment plant. Scientific Reports 9, 12843. <https://www.nature.com/articles/s41598-019-49263-1>
- HOCQUET, D.; MULLER, A.; BERTRAND, X. (2016): What happens in hospitals does not stay in hospitals: antibiotic-resistant bacteria in hospital wastewater systems. Journal of Hospital Infection 93, 395-402. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhin.2016.01.010>
- HOFFMANN, M.; KIESEWETTER, K.; HOFFMANN, I.; HERBARTH, O.; LÜBBERT, C. (2022): Gramnegative Bakterien mit 3MRGN-Resistenzphänotyp in Krankenhausabwässern, Vorflutern und Kläranlagenabläufen in der Metropolregion Leipzig. Deutsches Ärzteblatt International 119, 679-80. <https://www.aerzteblatt.de/archiv/227883/Gramnegative-Bakterien-mit-3MRGN-Resistenzphaenotyp-in-Krankenhausabwaessern-Vorflutern-und-Klaeranlagenablaeufen-in-der-Metropolregion-Leipzig>
- HUTCHINGS, M.; TRUMAN, A. W.; WILKINSON, B. (2019): Antibiotics: past, present and future. Current Opinion in Microbiology 51, 72–80. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2019.10.008>
- HYREKA (2020): Hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern. Methodenkompendium der Laboranalytik. https://www.ukbonn.de/site/assets/files/15054/methodenkompendium_hyreka.pdf
- HYREKA (2022): Synthese- und Abschlussbericht. Hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern. https://www.ukbonn.de/site/assets/files/29796/hyreka_abschlussbericht_formatiert.pdf
- INSTITUTE FOR HEALTH METRICS AND EVALUATION (IHME); ROBERT KOCH-INSTITUT (RKI) (2022): Antimikrobielle Resistenzen: Krankheitslast in G7-Staaten und weltweit. EIN DRINGENDER AUFRUF ZUM HANDELN. <https://edoc.rki.de/handle/176904/9863>
- JACOBY, G. A. (2009): AmpC β -Lactamases. Clinical Microbiology Reviews 22, 161–182. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2620637/>
- JÄGER, H. (2019): Die Entwicklung des Ökosystems Mensch. internistische praxis 61, 373–384. https://www.medizinisches-coaching.net/wp-content/uploads/2019/10/J%C3%A4ger_PDF_ip63-3.pdf
- KAASE, M. (2012): Carbapenemasen bei gramnegativen Erregern in Deutschland. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 55, 1401–1404. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00103-012-1552-x>
- KAYSER, F. H.; BÖTTGER, E. C. (2005): Allgemeine Bakteriologie. Kayser, Medizinische Mikrobiologie (ISBN 3134448114), Georg Thieme Verlag, S. 162-184. https://www.researchgate.net/publication/265493131_4_Allgemeine_Bakteriologie

- KAYSER, H. (1998): Ursprung und Evolution der Antibiotikaresistenz. Der Verein «Forschung für Leben» informiert, Nr. 51, S. 3-7. <https://www.forschung-leben.ch/publikationen/biofokus/ursprung-und-evolution-der-antibiotikaresistenz/>
- KEHL, K.; SCHALLENBERG, A.; SZEKAT, C.; ALBERT, C.; SIB, E.; EXNER, M.; ZACHARIAS, N.; SCHREIBER, C.; PARČINA, M.; BIERBAUM, G. (2022): Dissemination of carbapenem resistant bacteria from hospital wastewater into the environment. Science of the Total Environment 806, 151339. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151339>
- 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. International Journal of Hygiene and Environmental Health 211, 534–545. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2008.04.003>
- KLARE, I.; WITTE, W.; WENDT, C.; WERNER, G. (2012): Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE). Aktuelle Daten und Trends zur Resistenzentwicklung. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 55, 1387–1400. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00103-012-1564-6>
- KLOß, F.; GERBACH, S. (2018): Hürden und Aussichten neuer antimikrobieller Konzepte in Forschung und Entwicklung. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 61, 595–605. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Antibiotikaresistenz/Grundwissen/BGBL_61_13_Kloss.pdf?blob=publicationFile
- KRESKEN, M.; DECKER-BURGARD, S.; DREWELow, B.; MAJCHER-PESZYNSKA, J.; PLETZ, M. W. R.; WELTE, T. (2010): Carbapeneme im Vergleich – Stellenwert von Doripenem. Chemotherapie Journal 19. Jahrgang Heft 5, 131-149. <http://www.igsz.de/FLOXA/ALT/1009c.pdf>
- KRINKO (2012): Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI). Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 55, 1311–1354. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00103-012-1549-5>
- KRINKO (2018): Hygienemaßnahmen zur Prävention der Infektion durch Enterokokken mit speziellen Antibiotikaresistenzen Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 61, 1310–1361. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00103-018-2811-2>
- 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 Antibiotika-Resistenzbestimmung: Konsequenzen für die Definition von MRGN. Epidemiologisches Bulletin 9, 82 – 83. <https://edoc.rki.de/handle/176904/5952>

- KRINKO (2020): Anforderungen der Hygiene an abwasserführende Systeme in medizinischen Einrichtungen Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 63, 484–501. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00103-020-03118-7>
- LANDESAMT FÜR NATUR, UMWELT UND VERBRAUCHERSCHUTZ NORDRHEIN-WESTFALEN (LANUV) (Hrsg.) (2019): Badegewässer-Screening. Untersuchung ausgewählter Badegewässer in Nordrhein-Westfalen auf antibiotikaresistente Bakterien und Antibiotikarückstände. LANUV-Fachbericht 93. https://www.lanuv.nrw.de/fileadmin/lanuvpubl/3_fachberichte/LANUV_Fachbericht_93_web.pdf
- LANDESZENTRUM GESUNDHEIT NORDRHEIN-WESTFALEN (2018): Vancomycin-resistente Enterokokken Informationen für Patientinnen und Patienten sowie Angehörige. https://www.lzg.nrw.de/media/pdf/inf_schutz/krankenhaushygiene/mre-netzwerk/vre_informationen_patienten_angehoerige.pdf
- LARSSON, D. G. J.; FLACH, C.-F. (2022): Antibiotic resistance in the environment. Nature Reviews Microbiology 20, 257-269. <https://www.nature.com/articles/s41579-021-00649-x>
- LOUDERMILK, E. M.; KOTAY, S. M.; BARRY, K. E.; PARIKH, H. I.; COLOSI, L. M.; MATHERS, A. J. (2022): Tracking *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase gene as an indicator of antimicrobial resistance dissemination from a hospital to surface water via a municipal wastewater treatment plant. Water Research 213, 118151. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118151>
- MAUER, C. (2011): Technische und ökonomische Aspekte der separaten Erfassung und Behandlung von Krankenhausabwasser. Dissertation. <https://d-nb.info/1018200487/34>
- MEDEMA, G.J., SHAW, S., WAITE, M., SNOZZI, M., MORREAU, A., GRABOW, W. (2003): Catchment characterisation and source water quality. In: Assessing Microbial Safety of Drinking Water: Improving Approaches and Methods. WHO, OECD, pp. 111-158. IWA Publishing, London. <https://www.who.int/publications/i/item/9241546301>
- MEINEN, A.; TOMCZYK, S.; WIEGAND, F. N.; ABU SIN, M.; ECKMANNS, T.; HALLER, S. (2023): Antibiotikaresistenz in Deutschland und Europa – Ein systematischer Review zur zunehmenden Bedrohung, beschleunigt durch den Klimawandel. Journal of Health Monitoring 8 (S3), 102-119. <https://edoc.rki.de/handle/176904/11078>
- MISCHNIK, A.; WERNER, G.; BENDER, J.; MUTTERS, N. T. (2019): Enterokokken mit speziellen Resistenzen – Epidemiologie, Hygiene und Therapie. Deutsche Medizinische Wochenschrift 144, 553–560. <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/a-0655-6454>
- 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, Volume 94, Issue 5. <https://academic.oup.com/femsec/article/94/5/fiy057/4963742?login=false>

- NIEDERSÄCHSISCHES LANDESGESUNDHEITSAMT (Hrsg.) (2019): Antibiotikaresistente Bakterien in niedersächsischen Badegewässer-Typen. Orientierendes Messprogramm 2018. [Suche | Niedersächsisches Landesgesundheitsamt \(niedersachsen.de\)](https://www.niedersachsen.de/Suche|NiedersaechsischesLandesgesundheitsamt(niedersachsen.de))
- NLWKN, UKB, IHPH (2019): Niedersächsisches Sondermessprogramm zum Vorkommen antibiotikaresistenter Bakterien und von Antibiotikarückständen in niedersächsischen Kläranlagen und Oberflächengewässern. Abschlussbericht. Niedersächsischer Landesbetrieb für Wasserwirtschaft, Küsten- und Naturschutz, Universitätsklinikum Bonn (Institut für Hygiene und Öffentliche Gesundheit; Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie). https://www.umwelt.niedersachsen.de/startseite/themen_im_fokus/multiresistente-bakterien-164411.html
- OESTERLEE, U.; HOLT, S. K.; SCHNEITLER, S.; RANDERATH, W. (2017): Nosokomiale Pneumonie. Thoraxchirurgie für den Allgemein- und Viszeralchirurgen, 233–242. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7122116/>
- OGEWV (2016): Verordnung zum Schutz der Oberflächengewässer (Oberflächengewässerverordnung - OGewV) vom 20. Juni 2016 (BGBl. I S. 1373), die zuletzt durch Art. 2 Abs. 4 des Gesetzes vom 09. Dezember 2020 (BGBl. I S. 2873) geändert worden ist. https://www.gesetze-im-internet.de/ogewv_2016/OGewV.pdf
- PAULUS, G. K.; HORNSTRA, L. M.; ALYGIZAKIS, N.; SLOBODNIK, J.; THOMADIS, 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. International Journal of Hygiene and Environmental Health 222, 635–64. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.01.004>
- PFEIFER, Y. (2007): ESBL und AmpC: β -Laktamasen als eine Hauptursache der Cephalosporin-Resistenz bei Enterobakterien. Epidemiologisches Bulletin 28, 247-250. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2007/Ausgabenlinks/28_07.pdf?blob=publicationFile
- PFEIFER, Y. (2010): ESBL, AmpC und Carbapenemasen: Vorkommen, Verbreitung und Diagnostik β -Lactamase-bildender Gram-negativer Krankheitserreger. Journal of Laboratory Medicine 34 (4), 205–215. <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jlm.2010.042/html>
- PFEIFER, Y.; ELLER, C.; LEISTNER, R.; VALENZA, G.; NICKEL, S.; GUERRA, B.; FISCHER, J.; WERNER, G. (2013): ESBL-Bildner als Infektionserreger beim Menschen und die Frage nach dem zoonotischen Reservoir. Hyg Med 38, 294-299. <https://edoc.rki.de/handle/176904/1810>
- PFENNIGWERTH N, SCHAUER J: Bericht des Nationalen Referenzzentrums für gramnegative Krankenhauserreger – Zeitraum 1. Januar 2021 bis 31. Dezember 2021. Epidemiologisches Bulletin 2022; 19:3-9. DOI 10.25646/10034. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2022/Ausgaben/19_22.pdf?blob=publicationFile

- PFENNIGWERTH, N.; CREMANN, M.; EISFELD, J.; HANS, J.; ANDERS, A.; GATERMANN, S. G. (2023): Bericht des Nationalen Referenzzentrums für gramnegative Krankenhaus-erger – Zeitraum 1. Januar 2022 bis 31. Dezember 2022. Epidemiologisches Bulletin 27, 3-10. <https://edoc.rki.de/handle/176904/11201>
- PILLS PARTNERS (2012): Pharmaceutical Input and Elimination from local sources. Final report of the European cooperation project PILLS. https://epawebapp.epa.ie/licences/lic_eDMS/090151b28067522b.pdf
- QIAGEN (2016): QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook. 4th Edition, May 2016. <https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=62a200d6-faf4-469b-b50f-2b59cf738962&lang=en>
- ROBERT KOCH-INSTITUT (2016 b): Colistin-Resistenz bei Gram-negativen Bakterien – die Situation in Deutschland. Epidemiologisches Bulletin 46, 513-516. <https://edoc.rki.de/handle/176904/2467>
- ROBERT KOCH-INSTITUT (2016 a): IfSG-Meldepflicht-Anpassungsverordnung: Zur Umsetzung der neuen Meldepflichten. Epidemiologisches Bulletin 16, 135-136. <https://edoc.rki.de/handle/176904/2308>
- ROBERT KOCH-INSTITUT (2019): EUCAST-Neudefinition der Kategorie „I“ – zum Umgang hinsichtlich der Meldepflicht. Epidemiologisches Bulletin 9, 84. <https://edoc.rki.de/handle/176904/5953>
- ROBERT KOCH-INSTITUT (2021): Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2020. Berlin 2021. <https://edoc.rki.de/handle/176904/8766>
- RODRIGUES, C; PASSET, V.; RAKOTONDRAO, A.; BRISSE, S (2018): Identification of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella quasipneumoniae*, *Klebsiella variicola* and Related Phylogroups by MALDI-TOF Mass Spectrometry. Front. Microbiol. 9:3000. doi: 10.3389/fmicb.2018.03000
- ROER, L.; OVERBALLE-PETERSEN, S.; HANSEN, F.; SCHØNNING, K.; WANG, M.; RØDER, B. L.; HANSEN, D. S.; JUSTESEN, U. S.; ANDERSEN, L. P.; FULGSANG-DAMGAARD, D.; HOPKINS, K. L.; WOODFORD, N.; FALGENHAUER, L.; CHAKRABORTY, T.; SAMUELSEN, Ø.; SJÖSTRÖM, K.; JOHANNESSEN, T. B.; NG, K.; NIELSEN, J.; ETHELBERG, S.; STEGGER, M.; HAMMERUM, A. M.; HASMAN, H. (2018): *Escherichia coli* Sequence Type 410 Is Causing New International High-Risk Clones. <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/msphere.00337-18>
- SCHLOTTER, M.; MEYER, F.; BERG, G. (2020): Mikrobiome – Forschung zwischen Theorie und praktischer Anwendung. BIOSpektrum 26. Jahrgang, 714-717. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s12268-020-1490-3.pdf>
- SCHMOCH, T.; HEININGER, A.; RICHTER, D.; BRENNER, T.; WEIGAND, M. A. (2021): Differenzierte Behandlung von multiresistenten gramnegativen Erregern im Intensivbereich. Anästhesiologie & Intensivmedizin 62, 398–409. <https://www.ai-online.info/archiv/2021/09-2021/differenzierte-behandlung-von-multiresistenten-gramnegativen-erregern-im-intensivbereich.html>

- SCHOCH, C. L.; CIUFO, S.; DOMRACHEV, M.; HOTTON, C. L.; KANNAN, R. K.; LEIPE, D.; MCVEIGH, R. M. O'NEILL, K.; ROBERTSE, S. S.; SOUSSOV, V.; SULLIVAN, J. P.; TURNER, S.; KARSCH-MIZRACHI, I. (2020): NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). 2020: baaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187.
<https://academic.oup.com/database/article/doi/10.1093/database/baaa062/5881509>
- 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. (2020): 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>
- 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.; PARCINA, M.; BIERBAUM, G. (2020): Bacteria isolated from hospital, municipal and slaughterhouse wastewaters show characteristic, different resistance profiles. Science of The Total Environment 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. International Journal of Hygiene and Environmental Health 222, 655–662.
<https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.03.006>
- SLEKOVEC, C.; PLANTIN, J.; CHOLLEY, P.; THOUVEREZ, M.; TALON, D.; BERTRAND, X.; HOCQUET, D. (2012): Tracking down antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a wastewater network. PloS ONE 7 (12), e49300.
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0049300>
- SMALLA, K.; KABISCH, J.; FIEDLER, G.; HAMMERL, J. A.; TENHAGEN, B.-A. (2023): Gesundheitsrisiken durch die Bewässerung von Nutzpflanzen mit aufbereitetem Abwasser, das Antibiotikarückstände, Resistenzgene und resistente Mikroorganismen enthält. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz 6, 660–668.
<https://link.springer.com/article/10.1007/s00103-023-03710-7>
- TIMMIS, K.; CAVICCHIOLI, R.; GARCIA, J. L.; NOGALES, B.; CHAVARRÍA, M.; STEIN, L.; MCGENITY, T. J.; WEBSTER, N.; SINGH, B. K.; HANDELSMAN, J.; DE LORENZO, V.; PRUZZO, C.; TIMMIS, J.; MARTÍN, J. L. R.; VERSTRAETE, W.; JETTEN, M.; DANCHIN, A.; HUANG, W.; GILBERT, J.; LAL, R.; SANTOS, H.; LEE, S. Y.; SESSITSCH, A.; BONFANTE, P.; GRAM, L.; LIN, R. T. P.; RON, E.; KARAHAN, Z. C.; VAN DER MEER, J. R.; ARTUNKAL, S.; JAHN, D.; HARPER, L. (2019): Die dringende Notwendigkeit für mikrobielle Bildung in unserer Gesellschaft. EDITORIAL. Environmental Microbiology published by Society for Applied Microbiology and John Wiley & Sons Ltd.
https://vaam.de/media/literacy_-_german_translation_nitzsche.jahn_2020.pdf

- TRESKOVA, M.; KUHLMANN, A.; FREISE, F.; KREIENBROCK, L.; BROGDEN, S. (2022): Occurrence of Antimicrobial Resistance in the Environment in Germany, Austria, and Switzerland: A Narrative Review of Existing Evidence. *Microorganisms* 10 (4), 728.
<https://www.mdpi.com/2076-2607/10/4/728>
- UMWELTBUNDESAMT (2009): Coliforme Bakterien im Trinkwasser. Empfehlung zur Risikoabschätzung und Maßnahmen bei systemischer Kontamination – Empfehlung des Umweltbundesamtes nach Anhörung der Trinkwasserkommission des Bundesministeriums für Gesundheit beim Umweltbundesamt. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 52, 474–482.
https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/377/dokumente/coliforme_bakterien.pdf
- UMWELTBUNDESAMT (2018): FAQ: Antibiotikaresistente Bakterien in Badegewässern.
<https://www.umweltbundesamt.de/themen/wasser/schwimmen-baden/badegewaesser/faq-antibiotikaresistente-bakterien-in#was-sind-antibiotikaresistente-bakterien>
- UMWELTBUNDESAMT (Hrsg.) (2018): Antibiotika und Antibiotikaresistenzen in der Umwelt. Hintergrund, Herausforderungen und Handlungsoptionen.
<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/antibiotika-antibiotikaresistenzen-in-der-umwelt>
- VALENZA, G.; SCHIERLING, M.; EISENBERGER, D.; NICKEL, S.; LEHNER-REINDL, V.; HUBER, S.; HÖLLER, C. (2019): Abschlussbericht zum Projekt „Antibiotikaresistente Bakterien (ARB) in bayerischen Badegewässern“ Erhebung 2017-2018. Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Erlangen (Hrsg.).
https://www.lgl.bayern.de/gesundheits/hygiene/wasserhygiene/badeseen/antibiotikaresistente_bakterien_in_badegewaessern.htm#:~:text=Die%20Studie%20des%20LGL%20best%20A4tigt,f%C3%BChren%20als%20nicht%20antibiotikaresistente%20Erreger
- VOIGT, A. M.; CIORBA, P.; DÖHLA, M.; EXNER, M.; FELDER, C.; LENZ-PLET, F.; SIB, E.; SKUTLAREK, D.; SCHMITHAUSEN, R. M.; FAERBER, H. A. (2020): The investigation of antibiotic residues, antibiotic resistance genes and antibiotic-resistant organisms in a drinking water reservoir system in Germany. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 224, 113449. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113449>
- VON LAER, A. (2023): Antibiotikaresistenzen: eine One Health Herausforderung aus Sicht der Humanmedizin. *Forum für den Öffentlichen Gesundheitsdienst* 2023.
https://www.bfr-akademie.de/media/wysiwyg/2023/OEGD2023/antibiotikaresistenzen_eine_one_health_herausforderung_aus_sicht_der_humanmedizin.pdf;
<https://www.bfr-akademie.de/deutsch/archiv/2023/oegd-2023.html> (Abstractband Seite 18-19)
- WAGNER, M. (2019): Mikrobiome – Wissensstand und Perspektiven. *Rundgespräche Forum Ökologie*, Bd. 47 »Die unbekannte Welt der Mikrobiome«, S. 17-27.
https://www.pfeil-verlag.de/wp-content/uploads/2018/12/5_39_04_WA.pdf

- WANG, L.; YUAN, L.; LI, Z.-H.; ZHANG, X.; SHENG, G.-P. (2021): Quantifying the occurrence and transformation potential of extracellular polymeric substances (EPS)-associated antibiotic resistance genes in activated sludge. *Journal of Hazardous Materials* 408, 124428. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124428>
- WEINBERG, J. (2012): Charakterisierung von Carbapenem-Resistenzmechanismen bei klinischen Isolaten aus der Familie der *Enterobacteriaceae*. Dissertation. <https://ediss.sub.uni-hamburg.de/handle/ediss/4738>
- WELLBROCK, K.; KNOBLOCH, J. K.-M.; HEIM, M.; GROTTKER, M.; BROCKMANN, V.; LINDNER, C.; BLÖCKER, F.; SCHLAUß, S.; VILLATORO, C. (2019) Spurenstoffe und Multiresistente Bakterien in den Entwässerungssystemen Schleswig-Holsteins. Ableitung von Kennwerten zur Quantifizierung der Herkunft, der Ausbreitung und des Rückhaltes. Abschlussbericht. Forschungsvorhaben im Auftrag des Ministeriums für Energiewende, Landwirtschaft, Umwelt, Natur und Digitalisierung des Landes Schleswig-Holstein. https://www.th-luebeck.de/fileadmin/media/03_Hochschule/02_Fachbereiche/Bauwesen/Bilder/Projekte/PrioSH/Abschlussbericht_1_Phase.pdf; https://www.th-luebeck.de/fileadmin/media/03_Hochschule/02_Fachbereiche/Bauwesen/Bilder/Projekte/PrioSH/Zusammenfassung_und_Ausblick.pdf
- WELTE, W.; NESTEL, U.; WACKER, T.; DIEDERICH, K. (1995): Structure and function of the porin channel. *Kidney International* 48, 930–940. <https://doi.org/10.1038/ki.1995.374>
- WERNER, G.; ABU SIN, M.; BAHRS, C.; BROGDEN, S.; FEßLER, A. T.; HAGEL, S.; KASPAR, H.; KÖCK, R.; KREIENBROCK, L.; KRÜGER-HAKER, H.; MAECHLER, F.; NOLL, I.; PLETZ, M. W.; TENHAGEN, B.-A.; SCHWARZ, S.; WALTHER, B.; MIELKE, M. (2023): Therapierelevante Antibiotikaresistenzen im One-Health-Kontext. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz* 66, 628–643. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00103-023-03713-4>
- WESTPHAL-SETTELE, K. (2023): Die Umwelt – ein Reservoir für Antibiotikaresistenzen. Forum für den Öffentlichen Gesundheitsdienst 2023. https://www.bfr-akademie.de/media/wy-siwyg/2023/OEGD2023/die_umwelt_ein_reservoir_fuer_antibiotikaresistenzen.pdf; <https://www.bfr-akademie.de/deutsch/archiv/2023/oegd-2023.html> (Abstractband Seite 22-23)
- 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://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Antibiotikaresistenz/Grundwissen/BGBL_61_06_Westphal-Settele.pdf?blob=publicationFile
- WHO (2017): Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. [WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed; WHO-global-PPL.pdf \(gardp.org\)](https://www.who.int/publications/m/item/global-priority-list-of-antibiotic-resistant-bacteria-to-guide-research-discovery-and-development-of-new-antibiotics)

- WIELER, L. H.; BROICH, K. (2018): Antibiotikaresistenzen: Große Herausforderungen erfordern komplexe Lösungen. Editorial. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz 61, 495–498.
<https://edoc.rki.de/bitstream/handle/176904/6192/Antibiotikaresistenzen%20Gro%C3%9Fe%20Herausforderungen%20erfordern%20komplexe%20L%C3%B6sungen.pdf?sequence=1>
- WITTE, W. (2008): Verbreitung multiresistenter Erreger. Trauma und Berufskrankheit 10, 125–132. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10039-007-1278-4>
- WITTE, W., KLARE, I. (1999): Antibiotikaresistenz bei bakteriellen Infektionserregern. Mikrobiologisch-epidemiologische Aspekte. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz 42, 8–16. <https://edoc.rki.de/bitstream/handle/176904/1718/266vsyxUgNsoE.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- YANG, J; LONG, H.; HU, Y.; FENG Y., McNALLY, A; ZONG, Z. (2022): Klebsiella oxytoca complex: update on taxonomy, antimicrobial resistance, and virulence. Clin Microbiol Rev 35:e00006-21. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00006-21>
- 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 Science & Technology 81, 535–543. <https://iwaponline.com/wst/article/81/3/535/73232/Performance-of-retention-soil-filters-for-the>
- ZACHARIAS, N.; WASSER, F.; ESSERT, S. M.; KISTEMANN, T.; AHRING, A.; SEIGER, D.; GATKE, C. (2023): Nachweis von Antibiotika und Antibiotika-resistenten Bakterien in klinisch-beeinflusstem Abwasser. Gewässerschutz – Wasser – Abwasser Band 256, 2/1-2/15. <https://www.isa.rwth-aachen.de/go/id/wsod>
- ZURFLUH, K.; BAGUTTI, C.; BRODMANN, P.; ALT, M.; SCHULZE, J.; FANNING, S.; STEPHAN, R.; NÜESCH-INDERBINEN, M. (2017): Wastewater is a reservoir for clinically relevant carbapenemase- and 16s rRNA methylase-producing Enterobacteriaceae. International Journal of Antimicrobial Agents 50, 436–440.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.04.017>

Abbildungsverzeichnis

| | | |
|----------------------|---|-----|
| Abbildung 1: | Lage der Kläranlagen, Krankenhäuser, Betriebe der Fleischwirtschaft und Badegewässer im Messprogramm des ARB-Projekts. | 37 |
| Abbildung 2: | Konzentrationen 3GC-resistenter (▲) <i>E. coli</i> und KEC-Gruppe sowie der Anteil mit bestätigter Carbapenemase(CP)-Bildung (■) in Abwasser aus Krankenhäusern (KH), einer Reha- und einer Sportklinik (B). | 57 |
| Abbildung 3: | Konzentrationen 3GC-resistenter <i>E. coli</i> und KEC-Gruppe in Roh-Abwasser (Zulauf, ▲) und behandeltem Abwasser (Ablauf, ■) aus Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser (KH) im Einzugsgebiet (B)..... | 58 |
| Abbildung 4: | Konzentrationen 3GC-resistenter <i>E. coli</i> und KEC-Gruppe in Oberflächenwasserproben aus dem Fließgewässer oberhalb (▲) und unterhalb (■) der Einleitung der Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet (B)..... | 60 |
| Abbildung 5: | Konzentrationen Carbapenemase(CP)-bildender <i>E. coli</i> und KEC-Gruppe in Roh-Abwasser (▲) und behandeltem Abwasser (■) aus Kläranlagen mit (siehe Abbildung 2) bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet (B)..... | 62 |
| Abbildung 6: | Konzentrationen 3GC-resistenter <i>E. coli</i> und KEC-Gruppe in Roh-Abwasser (▲), behandeltem Abwasser vor (●) bzw. nach (■) weitergehender Abwasserbehandlung (w. A.b.) (= Ablauf KA) (B). | 64 |
| Abbildung 7: | Konzentrationen 3GC-resistenter <i>E. coli</i> und KEC-Gruppe in Roh-Abwasser (▲) bzw. behandeltem Abwasser aus Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) von Betrieben der Fleischwirtschaft (B). | 65 |
| Abbildung 8: | Anzahlen Carbapenemase-bildender Bakterien-Isolate der Zielorganismen <i>E. coli</i> und KEC-Gruppe aufgeführt nach Spezies; Analytik mittels CHROMagar ESBL als primärem Selektivnährmedium..... | 79 |
| Abbildung 9: | Anzahlen Carbapenemase-bildender Bakterien-Isolate der Zielorganismen <i>E. coli</i> und KEC-Gruppe aufgeführt nach Spezies; Analytik mittels CHROMagar mSuperCARBA als primärem Selektivnährmedium..... | 79 |
| Abbildung 10: | Anzahl Carbapenemase-bildender Bakterien-Isolate der Zielorganismen <i>E. coli</i> und Arten der KEC-Gruppe aufgeführt nach Carbapenemasen und Nachweis mittels CHROMagar ESBL bzw. CHROMagar mSuperCARBA als primärem Selektivnährmedium. | 80 |
| Abbildung 11: | Konzentrationen Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE; <i>Enterococcus faecium</i>) in Krankenhaus-Abwasser (●) bzw. Roh-Abwasser (▲) und behandeltem Abwasser (■) aus Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser (KH) im Einzugsgebiet..... | 81 |
| Abbildung 12: | Fließschema Subkultivierung von Bakterienisolaten zur Bestimmung antibiotikaresistenter Bakterien | 124 |

| | | |
|----------------------|--|-----|
| Abbildung 13: | Fließschema zum Nachweis von 3GC-resistenten, ESBL- und CP-bildenden <i>Enterobacterales</i> | 125 |
| Abbildung 14: | Fließschema zum Nachweis von ESBL-bildenden <i>Enterobacterales</i> | 125 |
| Abbildung 15: | Fließschema zum Nachweis von CP-bildenden <i>Enterobacterales</i> mittels CHROMagar ESBL..... | 126 |
| Abbildung 16: | Fließschema zum Nachweis von CP-bildenden <i>Enterobacterales</i> mittels CHROMagar mSuperCARBA..... | 129 |
| Abbildung 17: | Fließschema zum Nachweis von Carbapenemase-bildenden Bakterien der AB-Gruppe..... | 131 |
| Abbildung 18: | Fließschema zum Nachweis von <i>P. aeruginosa</i> mit ausgewählten Antibiotikaresistenzen..... | 133 |
| Abbildung 19: | Fließschema zum Nachweis von Vancomycin-resistenten Enterokokken..... | 135 |
| Abbildung 20: | Fließschema der Identifizierung von Bakterienisolaten..... | 138 |

Tabellenverzeichnis

| | | |
|-------------------|--|----|
| Tabelle 1: | Kommunale Kläranlagen im Messprogramm des ARB-Projekts. Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet sowie solche mit weitergehender Abwasserbehandlung. | 40 |
| Tabelle 2: | Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser im Messprogramm des ARB-Projekts. Zwei Pilotanlagen in Nordrhein-Westfalen; jeweils mit Membranbioreaktor und anschließender Ozonung zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen. Die Anlage am Marienhospital Gelsenkirchen verfügt außerdem über eine Pulveraktivkohle-/ Sandfiltration, die parallel (wie im ARB-Projekt) oder zusätzlich zur Ozonung betrieben werden kann..... | 41 |
| Tabelle 3: | Betriebe der Fleischwirtschaft im Messprogramm des ARB-Projekts. - a) Keine Daten vorhanden. b) Ist die biologische Behandlungsstufe und/oder Membranfiltration nicht in Betrieb (Reparatur, Wartung), fließt das Abwasser nach Siebung und Flotation zur KA Geldern..... | 42 |
| Tabelle 4: | Probenahmestellen der Probenreihen der Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet (siehe Tabelle 1). Als Probenreihe ist die Gesamtheit der jeweils aufgeführten Probenahmestellen gemeint. amtl. MS-Nr. = amtliche Messstellenummer; - = keine amtliche Messstelle. a) namenloses Gewässer zum Großen Diekfluss. | 44 |
| Tabelle 5: | Probenahmestellen der Probenreihen der Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung (siehe Tabelle 1) sowie der Abwasserbehandlungsanlagen zur Reinigung von Krankenhausabwasser (siehe Tabelle 2). amtl. MS-Nr. = amtliche Messstellenummer; - = keine amtliche Messstelle; MBR = Membranbioreaktor; PAK = Pulveraktivkohle. | 46 |
| Tabelle 6: | Probenahmestellen an Abwasserbehandlungsanlagen von Betrieben der Fleischwirtschaft sowie, bei Direkteinleitung, Probenahmestellen im Gewässer (siehe Tabelle 3). a) namenloses Gewässer zum Hoppenmeer; b) namenloses Gewässer zur Ems. | 47 |
| Tabelle 7: | Probenahmestellen an Badegewässern. | 47 |
| Tabelle 8: | 3GC-resistente Zielorganismen nach Spezies. #: Krankenhausabwasser, entspricht Nr. in Abbildung 2; kommunale Kläranlagen (KA), a-c, mit Krankenhaus im Einzugsgebiet, d-f, ohne Krankenhaus im Einzugsgebiet. + Nachweis; - kein Nachweis. Rohabwasser: „Zulauf“ Kläranlage (Ablauf Sandfang); Behandeltes Abwasser: Ablauf Kläranlage. | 59 |
| Tabelle 9: | Konzentrationen resistenter <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Resistenzen gegenüber den Antibiotika Ceftazidim, Cefepim, Imipenem, Meropenem) in Abwasser (Abw.) aus Krankenhäusern (KH) bzw. einer Rehaklinik, in Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser aus Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet sowie aus Oberflächenwasser aus dem Fließgewässer unterhalb der jeweiligen Einleitung. Konzentrationsangaben in Exponentialschreibweise ohne | |

| | | |
|--------------------|--|----|
| | hochgestellte Ziffern (Bsp.: 5,8E+04 entspricht $5,8 \cdot 10^4 = 58.000$; 9,0E+00 entspricht $9 \cdot 10^0 = 9$)..... | 68 |
| Tabelle 10: | Konzentrationen resistenter <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Resistenzen gegenüber den Antibiotika Ceftazidim, Cefepim, Imipenem, Meropenem) in Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser (Abw.) aus Krankenhäusern (KH) mit Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) [mit jeweils einem Membranbioreaktor (MBR) sowie anschließender Ozonung (Krankenhaus 4, Kreiskrankenhaus Waldbröl; Krankenhaus 5, Marienhospital Gelsenkirchen) bzw. Pulveraktivkohle(PAK)-Filtration (KH 5)] bzw. in Rohabwasser einer Kläranlage ohne KH im Einzugsgebiet sowie aus Betrieben der Fleischwirtschaft mit einer ABA und in Oberflächenwasser aus einem Fließgewässer (Graben) oberhalb und unterhalb der Einleitung von Betrieb A. Konzentrationsangaben in Exponentialschreibweise ohne hochgestellte Ziffern (Bsp.: 9,0E+02 entspricht $9,0 \cdot 10^2 = 900$; 1,0E+00 entspricht $1 \cdot 10^0 = 1$)..... | 69 |
| Tabelle 11: | Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung Enterobacterales (Enterobakterien) aus Abwasser von Krankenhäusern bzw. einer Reha- und einer Sportklinik; gesamt und als 3MRGN bzw. 4MRGN nachgewiesene, diese jeweils mit Angaben zur Spezies sowie bei letzteren zum Carbapenemase-Nachweis..... | 71 |
| Tabelle 12: | Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung <i>Enterobacterales</i> (Enterobakterien) aus Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser aus Kläranlagen (KA) mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet; gesamt und als 3MRGN bzw. 4MRGN nach-gewiesene, diese jeweils mit Angaben zur Spezies sowie bei letzteren zum Carbapenemase-Nachweis. | 72 |
| Tabelle 13: | Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung <i>Enterobacterales</i> (Enterobakterien) aus Oberflächenwasser aus Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen (KA) mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet; gesamt und als 3MRGN bzw. 4MRGN nachgewiesene, diese jeweils mit Angaben zur Spezies sowie bei letzteren zum Carbapenemase-Nachweis. | 73 |
| Tabelle 14: | Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung Enterobacterales (Enterobakterien) aus Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser aus Kläranlagen (KA) ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet sowie aus Oberflächenwasser aus den Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung der KA; gesamt und als 3MRGN nachgewiesene, diese mit Angaben zur Spezies. 4MRGN wurden nicht nachgewiesen..... | 74 |
| Tabelle 15: | Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung <i>Enterobacterales</i> (Enterobakterien) aus Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser aus Kläranlagen (KA) mit weitergehender Abwasserbehandlung; gesamt und als 3MRGN nachgewiesene, diese mit Angaben zur Spezies. 4MRGN wurden nicht nachgewiesen..... | 75 |

| | | |
|--------------------|--|----|
| Tabelle 16: | Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung <i>Enterobacterales</i> (Enterobakterien) aus Oberflächenwasser aus Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen (KA) mit weitergehender Abwasserbehandlung; gesamt und als 3MRGN nachgewiesene, diese mit Angaben zur Spezies. 4MRGN wurden nicht nachgewiesen..... | 76 |
| Tabelle 17: | Anzahl Bakterien-Isolate der Ordnung <i>Enterobacterales</i> (Enterobakterien) aus Rohabwasser bzw. behandeltem Abwasser aus Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) von Betrieben der Fleischwirtschaft [Direkteinleiter Geflügelschlachtung (Betrieb A) bzw. Verarbeitung von Geflügel (Betrieb B); Indirekteinleiter Schweineschlachtung (Betriebe C und D)]; gesamt und als 3MRGN nachgewiesene, diese mit Angaben zur Spezies. 4MRGN wurden nicht nachgewiesen..... | 77 |
| Tabelle 18: | Anzahl Carbapenemase-bildender Bakterien-Isolate [n (CP-bildende)] der Zielorganismen <i>E. coli</i> und Arten der KEC-Gruppe – Nachweis mittels CHROMagar ESBL (Medium: E) bzw. CHROMagar mSuperCARBA (Medium: C) als primärem Selektivnährmedium – sowie Anteil nachgewiesener Carbapenemasen in Prozent [%]. - = kein Nachweis. Spezies: <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella variicola</i> , <i>Enterobacter asburiae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Citrobacter amalonaticus</i> , <i>Citrobacter braakii</i> , <i>Citrobacter farmeri</i> , <i>Citrobacter freundii</i> (fett : Spezies, die mittels beider Medien nachgewiesen wurden). | 80 |
| Tabelle 19: | Konzentrationen Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE; <i>Enterococcus faecium</i>) in unbehandeltem bzw. behandeltem Krankenhaus-Abwasser. Krankenhaus 4, Kreiskrankenhaus Waldbröl; Krankenhaus 5, Marienhospital Gelsenkirchen. Es sind nur Proben aufgeführt für die ein VRE-Nachweis erbracht wurde. Konzentrationsangaben in Exponentialschreibweise ohne hochgestellte Ziffern (Bsp.: 2,0E+02 entspricht $2,0 \cdot 10^2 = 200$; 4,0E+00 entspricht $4 \cdot 10^0 = 4$)..... | 82 |
| Tabelle 20: | Konzentrationen Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE; <i>Enterococcus faecium</i>) in Oberflächenwasser aus Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen mit bzw. ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Es sind nur Proben aufgeführt für die ein VRE-Nachweis erbracht wurde. Oberhalb der KA Rheinbach bzw. der KA Stemwede, Wehdem konnte an einem von drei bzw. drei von vier Probenahmetagen keine Probe entnommen werden (Gewässer trockengefallen). Konzentrationsangaben in Exponentialschreibweise ohne hochgestellte Ziffern (Bsp.: 3,9E+01 entspricht $3,9 \cdot 10^1 = 39$; 1,0E+00 entspricht $1 \cdot 10^0 = 1$). | 83 |
| Tabelle 21: | Konzentrationen Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE; <i>Enterococcus faecium</i>) in Rohabwasser und behandeltem Abwasser aus Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung (Ozonung; MBR; UV-Bestrahlung; RBF+) sowie in Oberflächenwasser aus | |

| | | |
|--------------------|---|----|
| | Fließgewässern unterhalb der Einleitung der KA. Es sind nur Proben aufgeführt für die ein VRE-Nachweis erbracht wurde. Konzentrationsangaben in Exponentialschreibweise ohne hochgestellte Ziffern (Bsp.: 5,0E+03 entspricht $5,0 \cdot 10^3 = 5.000$; 8,0E+00 entspricht $8 \cdot 10^0 = 8$)..... | 84 |
| Tabelle 22: | Vorkommen von ESBL- bzw. Carbapenemase-Genen im Abwasser aus Krankenhäusern (KH) bzw. einer Reha- und einer Sportklinik. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben). Zul. ABA = Zulauf Abwasserbehandlungsanlage. | 86 |
| Tabelle 23: | Vorkommen von ESBL- bzw. Carbapenemase-Genen im Rohabwasser ("Zulauf") und behandeltem Abwasser (Ablauf) aus Kläranlagen mit (a-d) bzw. ohne (e-j) Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben). ¹⁾ Ablauf Sandfang; Lüdensch. Sch. = Lüdenscheid-Schlittenbachtal, R.-W. = Rheda-Wiedenbrück, Sassend. = Sassendorf. | 86 |
| Tabelle 24: | Vorkommen von ESBL- bzw. Carbapenemase-Genen im Oberflächenwasser aus Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen (KA) mit (a-d) bzw. ohne (e-j) Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 1/3 = Nachweis in 1 von 3 Proben). Lüdensch. Schl. = Lüdenscheid-Schlittenbachtal, R.-W. = Rheda-Wiedenbrück, Sassend. = Sassendorf. | 87 |
| Tabelle 25: | Vorkommen von ESBL- bzw. Carbapenemase-Genen im Rohabwasser (Zulauf; nach Siebung bzw. Fettabscheider [Betrieb B]) und behandeltem Abwasser (Ablauf) aus Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) von Betrieben der Fleischwirtschaft [Direkteinleiter Geflügelschlachtung (Betrieb A) bzw. Verarbeitung von Geflügel (Betrieb B); Indirekteinleiter Schweineschlachtung (Betriebe C und D)]. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben)..... | 87 |
| Tabelle 26: | Vorkommen von Vancomycin-Resistenz-Genen im Abwasser aus Krankenhäusern (KH) bzw. einer Reha- und einer Sportklinik. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben). Zul. ABA = Zulauf Abwasserbehandlungsanlage. | 89 |
| Tabelle 27: | Vorkommen von Vancomycin-Resistenz-Genen im Rohabwasser ("Zulauf") und behandeltem Abwasser (Ablauf) aus Kläranlagen mit (a-d) bzw. ohne (e-j) Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Angegeben ist | |

| | | |
|--------------------|--|-----|
| | jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben). 1) Ablauf Sandfang; Lüdensch. Sch. = Lüdenscheid-Schlittenbachtal, R.-W. = Rheda-Wiedenbrück, Sassend. = Sassendorf..... | 89 |
| Tabelle 28: | Vorkommen von Vancomycin-Resistenz-Genen im Oberflächenwasser aus Fließgewässern oberhalb und unterhalb der Einleitung von Kläranlagen (KA) mit (a-d) bzw. ohne (e-j) Krankenhäuser im Einzugsgebiet. Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 1/3 = Nachweis in 1 von 3 Proben). Lüdensch. Schl. = Lüdenscheid-Schlittenbachtal, R.-W. = Rheda-Wiedenbrück, Sassend. = Sassendorf..... | 90 |
| Tabelle 29: | Vorkommen von Vancomycin-Resistenz-Genen im Rohabwasser (Zulauf; nach Siebung bzw. Fettabscheider [Betrieb B]) und behandeltem Abwasser (Ablauf) aus Abwasserbehandlungsanlagen (ABA) von Betrieben der Fleischwirtschaft [Direkteinleiter Geflügelschlachtung (Betrieb A) bzw. Verarbeitung von Geflügel (Betrieb B); Indirekteinleiter Schweineschlachtung (Betriebe C und D). Angegeben ist jeweils die Gesamtprobenanzahl (#) n sowie in wie vielen dieser Proben das jeweilige Gen nachgewiesen wurde (z. B. 3/3 = Nachweis in 3 von 3 Proben)..... | 90 |
| Tabelle 30: | Badegewässer – Probenahme (PN) Datum und Uhrzeit, Wassertemperatur, Trübung sowie Parameter nach Badegewässerverordnung (<i>Escherichia coli</i> , Intestinale Enterokokken)..... | 92 |
| Tabelle 31: | Vor-Ort-Parameter | 120 |
| Tabelle 32: | Arzneimittelwirkstoffe und Transformationsprodukte | 120 |
| Tabelle 33: | Einteilung der Proben..... | 122 |
| Tabelle 34: | Halbquantitative Bewertung von Nichtzielorganismen | 123 |
| Tabelle 35: | Kriterien für weitergehende Untersuchungen auf CP bei nicht Carpanemen-resistenten Zielorganismen..... | 128 |
| Tabelle 36: | Verwendete Vitek® 2 AST-Resistenzkarten | 145 |
| Tabelle 37: | Klassifizierung multiresistenter gramnegativer Stäbchen (KRINKO, 2019)..... | 146 |
| Tabelle 38: | Nachgewiesene Konzentrationen des Sulfonamid-Antibiotikums Sulfamethoxazol in Abwasserproben aus Krankenhausabwasserbehandlungsanlagen. Krankenhaus 4 = Kreiskrankenhaus Waldbröl (ABA = MBR und Ozonung), Krankenhaus 5 = Marienhospital Gelsenkirchen (ABA = MBR und Ozonung bzw. PAK/Sandfiltration). Sulfamethoxazol: Einsatz in Humanmedizin (oral verabreichbar) und Veterinärmedizin. | 163 |
| Tabelle 39: | Nachgewiesene Konzentrationen des Sulfonamid-Antibiotikums Sulfamethoxazol in Krankenhausabwasser, Abwasser aus Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet und | |

| | | |
|--------------------|--|-----|
| | Oberflächenwasserproben aus dem Gewässer oberhalb und unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage..... | 164 |
| Tabelle 40: | Nachgewiesene Konzentrationen des Sulfonamid-Antibiotikums Sulfamethoxazol in Abwasser aus Kläranlagen ohne Krankenhäusern im Einzugsgebiet und Oberflächenwasserproben aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage. Sulfamethoxazol: Einsatz in Humanmedizin (oral verabreichbar) und Veterinärmedizin..... | 165 |
| Tabelle 41: | Nachgewiesene Konzentrationen des Sulfonamid-Antibiotikums Sulfamethoxazol in Abwasser aus Kläranlagen (ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet) mit weitergehender Abwasserbehandlung (zum oxidativen Abbau von Spurenstoffen bzw. zur Hygienisierung) und Oberflächenwasserproben aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage sowie in Abwasser eines Betriebs der Fleischwirtschaft (Direkteinleiter, Geflügelschlachtung) bzw. Oberflächenwasser aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung eines anderen Betriebs der Fleischwirtschaft (Direkteinleiter, Geflügelverarbeitung) und aus einem Badegewässer. Sulfamethoxazol: Einsatz in Humanmedizin (oral verabreichbar) und Veterinärmedizin. | 166 |
| Tabelle 42: | Nachgewiesene Konzentrationen des Antibiotikums Trimethoprim (Klasse: Folsäureantagonist) in Abwasserproben aus Krankenhausabwasserbehandlungsanlagen [Krankenhaus 4 = Kreiskrankenhaus Waldbröl (ABA = MBR und Ozonung), Krankenhaus 5 = Marienhospital Gelsenkirchen (ABA = MBR und Ozonung bzw. PAK/Sandfiltration)] sowie in Krankenhausabwasser, Abwasser aus Kläranlagen mit Krankenhäusern im Einzugsgebiet und Oberflächenwasserproben aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage. Trimethoprim: Einsatz in Humanmedizin (oral oder intravenös verabreichbar) und Veterinärmedizin. | 167 |
| Tabelle 43: | Nachgewiesene Konzentrationen des Antibiotikums Trimethoprim in Abwasser aus Kläranlagen ohne Krankenhäuser im Einzugsgebiet bzw. mit weitergehender Abwasserbehandlung und Oberflächenwasserproben aus dem Gewässer unterhalb der Einleitung der jeweiligen Kläranlage sowie in Abwasser eines Betriebs der Fleischwirtschaft (Direkteinleiter, Geflügelschlachtung)..... | 168 |
| Tabelle 44: | Nachgewiesene Konzentrationen des Makrolid-Antibiotikums Clarithromycin in Abwasser- und Oberflächenwasserproben. [Krankenhaus 4 = Kreiskrankenhaus Waldbröl (ABA = MBR und Ozonung), Krankenhaus 5 = Marienhospital Gelsenkirchen (ABA = MBR und Ozonung bzw. PAK/Sandfiltration)]. Clarithromycin: Einsatz in Humanmedizin (oral oder intravenös verabreichbar). | 169 |
| Tabelle 45: | Nachgewiesene Konzentrationen des Nitroimidazol-Antibiotikums Metronidazol in Abwasser- und Oberflächenwasserproben. [Krankenhaus 4 = Kreiskrankenhaus Waldbröl (ABA = MBR und Ozonung), Krankenhaus 5 = Marienhospital Gelsenkirchen (ABA = | |

| | | |
|--------------------|---|-----|
| | MBR und Ozonung bzw. PAK/Sandfiltration)]. Metronidazol: Einsatz in Humanmedizin (oral oder intravenös verabreichbar) und Veterinärmedizin. | 170 |
| Tabelle 46: | Nachgewiesene Konzentrationen des Makrolid-Antibiotikums Erythromycin in Abwasser- und Oberflächenwasserproben. [Krankenhaus 5 = Marienhospital Gelsenkirchen (ABA = MBR und Ozonung bzw. PAK/Sandfiltration)]. Erythromycin: Einsatz in Humanmedizin (oral oder intravenös verabreichbar) und Veterinärmedizin. | 171 |
| Tabelle 47: | Nachgewiesene Konzentrationen des Makrolid-Antibiotikums Roxythromycin bzw. der Sulfonamid-Antibiotika Sulfadiazin, Sulfadimidin und Sulfadoxin in Abwasser- und Oberflächenwasserproben. Roxythromycin: Einsatz in Humanmedizin (oral verabreichbar); Sulfadiazin: Einsatz in Humanmedizin (oral verabreichbar) und Veterinärmedizin; Sulfadimidin und Sulfadoxin: Einsatz in Veterinärmedizin. | 171 |
| Tabelle 48: | Nachweisdaten und -orte für <i>Escherichia coli</i> ST410 mit KPC-2 | 174 |
| Tabelle 49: | Nachweisdaten und -orte für <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST392 mit KPC-2 | 175 |
| Tabelle 50: | Nachweise von <i>Klebsiella michiganensis</i> mit KPC-2 | 176 |
| Tabelle 51: | Nachweisdaten und -orte für <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST11 mit VIM-1 oder NDM-1 und VIM-1 | 177 |
| Tabelle 52: | Nachweisdaten und -orte für <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST45 mit KPC-2 oder GIM-1 und KPC-2 | 177 |
| Tabelle 53: | Nachweisdaten und -orte für <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST307 mit VIM-1 ... | 178 |
| Tabelle 54: | Nachweisdaten und -orte für <i>Escherichia coli</i> ST405 mit NDM-5..... | 181 |
| Tabelle 55: | Nachweisdaten und -orte für <i>Escherichia coli</i> ST10 mit OXA-244 | 181 |
| Tabelle 56: | Probenahmedaten der für das Projekt „Molekulare Epidemiologie“ relevanten Probenserien des ARB-Projekts. ^{a)} Eine Entnahme von Proben am Schacht am Krankenhaus war nur bei diesen Probenahmen möglich. ^{b)} Aufgrund verschiedener technischer Widrigkeiten konnten nur zwei von drei geplanten Probenahmen durchgeführt werden. | 186 |

IMPRESSUM

| | |
|---------------------|--|
| Herausgeber | Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) Leibnizstraße 10, 45659 Recklinghausen Telefon 02361 305-0 E-Mail: poststelle@lanuv.nrw.de |
| Bearbeitung | Berichtstext und Anhang A2: Dr. Barbara Dericks (LANUV) Anhang A1: Dr. Susanne Grobe und Bernd Schwanke mit Textanteilen von Dr. Gregor Braun, Dr. Uwe Bieling, Anne Massing (alle LANUV) Anhang A3: Prof. Dr. Sören Gatermann und Dr. Jörg B. Hans, Nationales Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger, Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Abteilung für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsstraße 150, 44780 Bochum, E-Mail: nrz@ruhr-uni-bochum.de |
| Veröffentlichung | Juni 2024 |
| Stand | April 2024 |
| Titelbild | AdobeStock / mariusz szczygiel |
| ISSN | 1864-3930 (Print), 2197-7690 (Internet), LANUV-Fachberichte |
| Informationsdienste | Informationen und Daten aus NRW zu Natur, Umwelt und Verbraucherschutz unter • www.lanuv.nrw.de Aktuelle Luftqualitätswerte zusätzlich im • WDR-Videotext |
| Bereitschaftsdienst | Nachrichtenbereitschaftszentrale des LANUV (24-Std.-Dienst) Telefon 0201 714488 |

Landesamt für Natur, Umwelt und
Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen

Leibnizstraße 10
45659 Recklinghausen
Telefon 02361 305-0
poststelle@lanuv.nrw.de

www.lanuv.nrw.de