

Erftverband, Bergheim
und
Institut für Hygiene und Public Health des Universitätsklinikums Bonn

Kurzbericht zum Forschungsprojekt

Antibiotika und Antibiotikaresistenzen im Abwasser (ARA)

-

Untersuchung des regionalen Beitrags klinischer
Abwässer zur Belastung der aquatischen Umwelt und
Praxiserprobung innovativer Verfahren der
weitergehenden Abwasserbehandlung

2020-2023

gefördert durch das

Ministerium für Umwelt,
Naturschutz und Verkehr
des Landes Nordrhein-Westfalen



Bearbeitung:

Alexander Ahring, M.Sc.	Erftverband
Dr. Nicole Zacharias	IHPH
David Seiger, M.Eng.	Erftverband
Carina Lüchtefeld, M.Sc.	IHPH
Sarah Maria Essert, M.Sc.	IHPH
Anna Marxer, M.Sc.	IHPH
Dr. Christian Gattke	Stadtentwässerungsbetriebe Köln, ehemals Erftverband
Dr. Tilo Keller	Erftverband
Prof. Dr. Thomas Kistemann	IHPH

Unter Mitarbeit von:

Luk Beyerle	Erftverband
Christoph Brepols	Erftverband
Martin Reif	Erftverband
Robert Krump	Erftverband
Osman Altunay	Erftverband
Natalie Tesch	Erftverband
Jan Faßbender	Erftverband
Felix Droop	IHPH
Lia Freier	IHPH
Regina Brang-Lamprecht	IHPH
Kira Kirchhoff	IHPH
Jana Glowka	IHPH

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	i
Abbildungsverzeichnis.....	ii
Tabellenverzeichnis.....	iii
Zusammenfassung.....	iv
Abstract.....	vi
1. Einleitung.....	1
1.1 Antibiotika und Resistenzen.....	1
1.2 Abwasser als Eintragspfad in die Umwelt.....	1
1.3 Projektziele.....	2
2. Material und Methoden.....	3
2.1 Überblick über die Monitoring-Programme.....	3
2.1.1 Klinikabwasser.....	4
2.1.2 Maßnahmenerprobung.....	5
2.2 Probenahme und Analysemethoden.....	6
2.2.1 Probenahme.....	6
2.2.2 Chemische Parameter.....	7
2.2.3 Mikro- und molekularbiologische Parameter.....	8
2.2.4 Datenauswertung und Ergebnisdarstellung.....	9
3. Ergebnisse.....	10
3.1 Klinikabwasser.....	10
3.1.1 Antibiotika.....	10
3.1.2 Indikatororganismen.....	13
3.1.3 Antibiotika-resistente Bakterien.....	13
3.1.4 Antibiotikaresistenzgene.....	14
3.2 Kläranlagen mit Membranbelebungsanlagen.....	15
3.2.1 Antibiotika.....	15
3.2.2 Indikatororganismen.....	16
3.2.3 Antibiotika-resistente Bakterien.....	17
3.2.4 Antibiotikaresistenzgene.....	18
3.3 RBF+ in Rheinbach.....	19
3.3.1 Antibiotika.....	19
3.3.2 Indikatororganismen.....	21
3.3.3 Antibiotika-resistente Bakterien.....	22
3.3.4 Antibiotikaresistenzgene.....	23
4. Synoptische Bewertung und Einordnung der Ergebnisse.....	25
5. Kernaussagen.....	31
6. Glossar.....	37
7. Literatur.....	I

Abkürzungsverzeichnis

3GCR	Resistenz gegen ein Cephalosporin der 3. Generation
AB	Antibiotika
ARA	Antibiotika und Antibiotikaresistenzen im Abwasser (gefördert durch das MUNV NRW, 2020-2023)
ARB	Antibiotika-resistente Bakterien
ARG	Antibiotikaresistenzgene
BB	Belebungsbecken
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
BG	Berichtsgrenze
BT	Bautechnik
ColR	Colistinresistenz
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNA	Desoxyribonucleid acid (dt. Desoxyribunukleinsäure, DNS)
ET	Elektrotechnik
EV	Ertverband
EZG	Einzugsgebiet
EW	Einwohnerwert
GAK	Granulierte Aktivkohle
GKW	Gruppenklärwerk
GU	Gene Units (dt.: Genkopie)
HGT	Horizontaler Gentransfer
HyReKA	Biologische bzw. hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern (gefördert durch das BMBF; FKZ: 02WRS1377, 2016-2019)
IHPH	Institut für Hygiene und Public Health
IPC	Internal positive control (dt. Interne positiv-Kontrolle)
KA	Kläranlage
KBE	Koloniebildende Einheit
KH	Krankenhaus
KHG	Krankenhaus-Kostendämpfungsgesetz
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am Robert Koch-Institut
LOD	Limit of Detection (dt.: Detektionslimit)
MBR	Membranbioreaktor
MPN	Most probable number (dt. Wahrscheinlichste Anzahl)
MRE	multiresistente Erreger
MRGN	Multiresistente gram-negative Bakterien
MSR	Mess-, Steuer- und Regelungstechnik
MT	Maschinentechnik
MUNV NRW	Ministerium für Umwelt, Naturschutz und Verkehr des Landes Nordrhein-Westfalen
PAK	Pulveraktivkohle
PKBW	Projektkostenbarwert
PBE	Plaque-bildende Einheit
RBF	Retentionsbodenfilter

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Monitoring- Standorte des ARA Projektes im Verbandsgebiet des Erftverbands.	3
Abbildung 2: Schematische Darstellung der beiden Betriebsarten des RBF+ in Rheinbach. .	6
Abbildung 3: Positivbefunde der untersuchten Antibiotika in klinisch beeinflussten Abwässern.	10
Abbildung 4: Konzentrationen ausgewählter Antibiotika in Grevenbroich.....	12
Abbildung 5: Konzentrationen ausgewählter Antibiotika in der KA Grevenbroich (ohne Krankenhausablauf).	12
Abbildung 6: Konzentrationen der Indikatororganismen in den Proben des Monitoring- Programms Marien-Hospital Euskirchen (Klinikabwasser).	13
Abbildung 7: Konzentrationen der Antibiotika-resistenten Bakterien in den Proben des Monitoring-Programms Marien-Hospital Euskirchen (Klinikabwasser).	13
Abbildung 8: Konzentration der ARGs in den Proben des Monitoring-Programms Elisabethenkrankenhaus Grevenbroich (Klinikabwasser).	14
Abbildung 9: Positivbefunde der untersuchten Antibiotika in den mit einer Membranbelegung ausgestatteten Kläranlagen (KA Glessen und GWK Kaarst-Nordkanal).	15
Abbildung 10: Konzentrationen von Sulfamethoxazol und Trimethoprim im Abwasser der KA Glessen.....	16
Abbildung 11: Konzentrationen der Indikatororganismen in den Proben der KA Glessen.	17
Abbildung 12: Konzentrationen der Antibiotika-resistenten Bakterien in den Proben des Monitoring-Programms KA Glessen (Membrankläranlage).	17
Abbildung 13: Konzentration der ARGs in den Proben des Monitoring-Programms GWK Kaarst-Nordkanal.	18
Abbildung 14: Konzentration der ARG in den Proben des Monitoring-Programms KA Glessen.	18
Abbildung 15: Positivbefunde der untersuchten Antibiotika an Zu- und Abläufen des RBF+ in Rheinbach (Routine-Betrieb).	19
Abbildung 16: Konzentrationen von Sulfamethoxazol im RBF-Zulauf sowie den drei RBF- Abläufen (RBF-Segment 1 ohne GAK, Segment 2 und 3 mit GAK).	20
Abbildung 17: Positivbefunde der untersuchten Antibiotika an Zu- und Abläufen des RBF+ in Rheinbach (Mischwasserabschläge).	21
Abbildung 18: Konzentrationen der Indikatororganismen in den Proben des Monitoring- Programms KA Rheinbach (Retentionsbodenfilter) im Routine-Betrieb.	21
Abbildung 19: Konzentrationen der Indikatororganismen in den Proben des Monitoring- Programms KA Rheinbach (Retentionsbodenfilter) im Falle eines Mischwasserabschlags.	22
Abbildung 20: Konzentrationen der Antibiotika-resistenten Bakterien in den Proben des Monitoring-Programms KA Rheinbach (Retentionsbodenfilter) bei Mischwasserabschlag.	23
Abbildung 21: Konzentrationen der ARG in den Proben des Monitoring-Programms KA Rheinbach (Retentionsbodenfilter) im Regelbetrieb.	23
Abbildung 22: Konzentrationen der ARG in den Proben des Monitoring-Programms KA Rheinbach (Retentionsbodenfilter) bei einem Mischwasserabschlag.	24
Abbildung 23: Anteile von multiresistenten Isolaten an den resistenten Gesamtisolaten der Rohabwasserproben des ARA Projektes im Vergleich zu den Proben des urbanen Fallbeispiels im Projekt HyReKA.	26
Abbildung 24: Quantifizierbare Konzentrationen koloniebildender Einheiten (KBE) von <i>E. coli</i> in den Zu- bzw. Abläufen der untersuchten Kläranlagen.	27

Abbildung 25: Quantifizierbare Konzentrationen koloniebildender Einheiten (KBE) von ESBL-
produzierendem *E. coli* in den Zu- bzw. Abläufen der untersuchten Kläranlagen.28
Abbildung 26: Mittlere und maximale Konzentrationen von Sulfamethoxazol in den Zu- bzw.
Abläufen der untersuchten Kläranlagen.29

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über die Monitoring-Programme sowie die zugehörigen
Probenahmestellen im ARA-Projekt. 4
Tabelle 2: Im Projekt untersuchte Antibiotika. 7
Tabelle 3: LOD_{95%} der qPCR-Ansätze zur absoluten Quantifizierung der untersuchten
Resistenzgene. 9

Zusammenfassung

Das vom Ministerium für Umwelt, Naturschutz und Verkehr des Landes Nordrhein-Westfalen geförderte Forschungsprojekt „Antibiotika und Antibiotikaresistenzen im Abwasser“ (ARA, 2020-2023) baut auf Erkenntnissen des BMBF-geförderten Forschungsvorhabens HyReKA (2016-2019) auf. In HyReKA zeigte sich, dass sich die Konzentration multiresistenter Erreger (MRE) im Abwasser eines Klinikums der Maximalversorgung und im nachgeschalteten kommunalen Kanalnetz deutlich von kommunalem Abwasser unterschied. Das ARA-Projekt hatte einerseits zum Ziel, den Beitrag kleiner bis mittelgroßer Krankenhäuser (Kliniken der Grund- und Regelversorgung) zur Verbreitung Antibiotika-resistenter Bakterien (inklusive MRE) sowie Antibiotika über den Abwasserpfad in die aquatische Umwelt zu ermitteln. Andererseits sollten verschiedene Maßnahmen der weitergehenden Abwasserbehandlung auf ihre Wirksamkeit und Effizienz bezüglich des Rückhaltes von Antibiotika-resistenten Bakterien und Antibiotikarückständen untersucht und mit der Reinigungsleistung konventioneller (d.h. mechanisch-biologischer) Kläranlagen verglichen werden.

Zu diesem Zweck haben der Erftverband (EV) und das Institut für Hygiene & Public Health (IHPH) des Universitätsklinikums Bonn im Verbandsgebiet des Erftverbandes zwei Monitoring-Programme durchgeführt, welche die Beprobung (1) von Klinikabwässern zweier Krankenhäuser der Grund- und Regelversorgung und (2) von mehreren Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung umfasste. Die untersuchten Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung umfassten zwei Anlagen mit Membranbioreaktor (MBR) sowie eine Anlage mit nachgeschaltetem Retentionsbodenfilter (RBF) mit beigemischter granulierter Aktivkohle (GAK) zum gezielten Rückhalt organischer Spurenstoffe. Im Zuge des Monitorings wurden verschiedene Antibiotika, Antibiotika-resistente Bakterien und Resistenzgene sowie weitere hygienisch-mikrobiologische Parameter untersucht.

Die Ergebnisse des Projektes bestätigen, dass Antibiotika und Antibiotika-resistente Bakterien sowie Resistenzgene ubiquitär im kommunalen Abwasser vorhanden sind. Bestimmte Last-Resort-Antibiotika (wie Piperacillin), besonders kritische multiresistente Bakterien nach MRGN-Klassifizierung der KRINKO (4MRGN-Erreger) und einzelne Resistenzgene (wie *bla_{NDM-1}*) wurden fast ausschließlich von Krankenhäusern emittiert. Die untersuchten Krankenhäuser der Grund- und Regelversorgung sind in dieser Hinsicht im Wesentlichen vergleichbar mit dem Maximalversorger aus dem HyReKA-Projekt, wobei Unterschiede in den relativen Anteilen von 3MRGN- und 4MRGN Erregern nachweisbar sind. Im Vergleich zum HyReKA-Projekt zeigte sich, dass insbesondere 3MRGN-Erreger in systematisch höheren Anteilen sowohl in klinisch beeinflusstem als auch klinisch unbeeinflusstem (d.h. rein kommunalem) Abwasser vorhanden sind. Ob sich daraus auf einen Trend im Aufkommen von MRE im Abwasser schließen lässt (das heißt eine Ausbreitung und ein sukzessives Vordringen von MRE aus dem klinischen-stationären auch in den häuslich-ambulanten Bereich erfolgt), muss in systematischen Langzeituntersuchungen geklärt werden.

Eine konventionelle Abwasserbehandlung reduziert Antibiotika-resistente Bakterien im Abwasserstrom erheblich (bis zu 99,9 %), jedoch ist für eine vollständige Elimination eine weitergehende Behandlung erforderlich. Die untersuchten MBR und der RBF erzielen als Maßnahme der weitergehenden Abwasserbehandlung gleichwertige Ergebnisse bezüglich der Reduktion Antibiotika-resistenter Bakterien. Die Untersuchungen ergaben keine Hinweise auf einen Selektionsvorteil von Antibiotika-resistenten Bakterien im Reinigungsprozess. Bezüglich der untersuchten Resistenzgene lassen sich weitgehend analoge Schlussfolgerungen formulieren, wobei die erzielten Reduktionsraten insgesamt variabler ausfallen. Antibiotika werden in der konventionellen Abwasserbehandlung stoffspezifisch sehr unterschiedlich stark

zurückgehalten. Eine weitergehende Abwasserbehandlung beispielsweise mit Aktivkohle sorgt für eine verlässliche Reduktion auch persistenter Antibiotika im Abwasser.

Die Entscheidung zwischen zentraler Abwasserbehandlung auf kommunalen Kläranlagen und dezentraler Abwasserbehandlung an Krankenhäusern, zum Zwecke des Rückhalts von Antibiotikaresistenzen, sollte für einzelne Kanalnetze individuell getroffen werden. Ein mögliches Entscheidungskriterium ist die erreichbare Reduktion der Gesamtfracht der Resistenzparameter. Insbesondere sind dabei Mischwasserabschläge zu berücksichtigen, weil diese große Anteile der Gesamtfracht Antibiotika-resistenter Bakterien (einschließlich MRE) und Resistenzgenen aus den Abwassersystemen in die Umwelt einbringen können. Neben der Abwasserbehandlung sind weitere Maßnahmen erforderlich, um das Resistenzauftreten in der Umwelt zu begrenzen. Letztlich ist, im Sinne des *One Health*-Konzeptes, eine integral-holistische Herangehensweise anzustreben, welche die Verbindung zwischen menschlicher Gesundheit, Tiergesundheit sowie Umwelt berücksichtigt.

Abstract

The research project "Antibiotics and Antibiotic Resistance in Wastewater" (ARA, 2020-2023), funded by the Ministry for Environment, Nature Conservation and Transportation of the State of North Rhine-Westphalia, builds on research findings from the BMBF-funded research project HyReKA (2016-2019). In HyReKA, it was concluded that the concentration of multidrug-resistant organisms (MDROs) in the wastewater of a maximum-care hospital and in the downstream sewer system differed significantly from that of municipal wastewater.

The ARA project aimed to determine the contribution of small to medium-sized hospitals (primary and secondary care hospitals) to the spread of antibiotic-resistant bacteria (including MDROs) and antibiotics into the aquatic environment via the wastewater path. Additionally, various advanced wastewater treatment measures were evaluated for their effectiveness and efficiency in retaining antibiotic-resistant bacteria and antibiotic residues, and compared with the purification performance of conventional wastewater treatment plants.

For this purpose, the Erftverband (EV) and the Institute for Hygiene & Public Health (IHPH) of the University Hospital Bonn conducted monitoring programs at various wastewater facilities in the Erft catchment area. These programs included (1) sampling of hospital wastewater from two primary and secondary care hospitals and from (2) several wastewater treatment plants with different advanced treatment technologies. The examined treatment plants with advanced wastewater treatment included two plants with a membrane bioreactor (MBR) and one wastewater treatment plant with a downstream retention soil filter (RSF) mixed with granular activated carbon (GAC) for targeted retention of organic trace substances. Various antibiotics, antibiotic-resistant bacteria, resistance genes, and other hygienic-microbiological parameters were investigated.

The project's results confirm that antibiotics, antibiotic-resistant bacteria, and resistance genes are ubiquitously present in wastewater. Certain last-resort antibiotics (such as piperacillin), particularly critical multidrug-resistant bacteria according to the MRGN classification of the KRINKO (4MRGN pathogens), and individual resistance genes (such as *bla_{NDM-1}*) are almost exclusively emitted by hospitals. The results obtained for the examined primary and secondary care hospitals are essentially comparable to the maximum-care hospital (investigated in the HyReKA project), with differences in the relative proportions of 3MRGN and 4MRGN pathogens. Compared to the HyReKA project, it was found that 3MRGN pathogens are present in systematically higher proportions in both clinically influenced and clinically uninfluenced (i.e., purely municipal) wastewater. Whether this indicates a trend in the occurrence of MDROs in wastewater (i.e., a spread and gradual advancement of MDROs from the clinical to the domestic-ambulatory sector) needs to be further clarified in systematic long-term studies.

Conventional wastewater treatment significantly reduces antibiotic-resistant bacteria in the wastewater (by up to 99.9%), but for complete elimination, advanced treatment is necessary. The investigated MBRs and the RSF achieve equivalent results in reducing antibiotic-resistant bacteria. The investigations found no evidence of a selection advantage for antibiotic-resistant bacteria in the purification processes. Similar conclusions can be drawn regarding the investigated resistance genes, although the achieved reduction rates are overall more variable. Antibiotics are retained very differently in conventional wastewater treatment depending on the substance. Advanced wastewater treatment, for example, with activated carbon ensures a reliable reduction of even the most persistent antibiotics in the wastewater.

The decision between centralized wastewater treatment at the municipal level and decentralized wastewater treatment at the hospital level for retaining antibiotic resistance

should be made individually for each sewer system and corresponding catchment area. A possible decision criterion is the achievable reduction of the overall load of resistance parameters in the entire sewer system. Combined sewage overflow, in particular, must be considered as it can introduce large amounts of antibiotic-resistant bacteria (including MDROs) and resistance genes from wastewater systems into the environment. Besides wastewater treatment, additional measures are necessary to limit the spread of resistance in the environment. Ultimately, an integral-holistic approach should be pursued in the sense of the One Health concept, which considers the connection between human health, animal health, and the environment.

1. Einleitung

1.1 Antibiotika und Resistenzen

Die Entdeckung von Penicillin in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts und die Nutzbarmachung vieler weiterer Antibiotikaklassen in den darauffolgenden Jahrzehnten revolutionierten die moderne Medizin. Der Einsatz von Antibiotika erzeugt allerdings einen Selektionsdruck auf bakterielle Lebensgemeinschaften, der die Ausbreitung Antibiotika-resistenter Stämme begünstigt. Der intensive Einsatz von Antibiotika in der Human- und Tiermedizin hat auf diese Weise in den letzten Jahrzehnten weltweit und auch in Deutschland zu einer zunehmenden Verbreitung von Antibiotikaresistenzen bei bakteriellen Krankheitserregern geführt (Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit et al., 2016). Die Ausbreitung Antibiotika-resistenter Krankheitserreger erschwert die medizinische Behandlung bakteriell verursachter Infektionen und stellt eine Bedrohung für die öffentliche Gesundheit und die medizinische Versorgung der Allgemeinbevölkerung dar. Dies gilt in besonderem Maße für multiresistente Erreger (MRE), gegen die eine Vielzahl gebräuchlicher Antibiotika nicht mehr wirksam sind, mit teils schwerwiegenden Konsequenzen für betroffene Patienten.

Weltweit existieren verschiedene Begrifflichkeiten, z.B. multidrug-resistant (MDR), extensively drug-resistant (XDR) und pandrug-resistant (PDR) (Magiorakos et al., 2012). In Deutschland hat die Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention am Robert Koch-Institut (KRINKO) im Jahr 2012 Empfehlungen herausgegeben, wie multiresistente Gram-negative Bakterien hinsichtlich ihrer Resistenzmuster bewertet werden sollten (KRINKO, 2012). Die Bezeichnungen 3MRGN bzw. 4MRGN wurden eingeführt, um multiresistente Gram-negative Bakterien zu kennzeichnen, die gegen drei bzw. vier klinisch wichtiger Antibiotikaklassen resistent sind. Sogenannte Reserve- oder Last-Resort-Antibiotika werden zur Sicherung von Behandlungsoptionen primär gegen multiresistente Krankheitserreger eingesetzt. Hierzu zählen beispielsweise Colistin und Carbapeneme.

Ungefähr zwei Drittel aller Infektionen mit multiresistenten Krankheitserregern ereignen sich im Klinikumfeld (Cassini et al., 2019), typischerweise als nosokomiale Infektion („Krankenhausinfektion“) von Patienten im Zuge einer anderen Behandlung. Zunehmend breiten sich Antibiotikaresistenzen zunehmend auch außerhalb von Krankenhäusern und medizinischen Einrichtungen aus. Abwasser stellt in diesem Zusammenhang einen wichtigen Ausbreitungspfad dar. Die Überwachung von Krankenhausabwässern wurde als potenziell Ressourcen-effiziente Ergänzung zur herkömmlichen klinischen Überwachung von Antibiotikaresistenzen vorgeschlagen, da eine einzige Abwasserprobe Bakterien von einer großen Zahl von Personen enthält.

1.2 Abwasser als Eintragspfad in die Umwelt

Über Abwässer gelangen Antibiotika und ihre Rückstände (AB) sowie Antibiotika-resistente Bakterien in die aquatische Umwelt (Kümmerer, 2009; Müller et al., 2018; WHO, 2014). Studien haben gezeigt, dass die meisten komplexen Antibiotika wie Carbapeneme und Colistin vom menschlichen Körper größtenteils unverändert ausgeschieden werden (Breilh et al., 2013; Davis and Janssen, 2020; Papp-Wallace et al., 2011), so dass die Substanzen im Abwasser nachweisbar sind und dort weiter potenziell wirksam oder selektierend sein können.

Antibiotika-resistente Bakterien im Abwasser werden von konventionellen Kläranlagen nicht vollständig eliminiert (Hembach et al., 2017; Müller et al., 2018). Verschiedene Studien

stimmen außerdem darin überein, dass konventionelle Abwasser-behandlungsanlagen die Konzentration von Bakterien im Wasser reduzieren, jedoch keinen wesentlichen Rückgang im relativen Anteil resistenter Bakterien bewirken (Amador et al., 2015; Blaak et al., 2015; Korzeniewska et al., 2013).

Zu beachten ist, dass große Anteile der mikrobiellen Gewässerbelastungen (vor allem mit Fäkalindikatoren) aus der Siedlungsentwässerung auf Mischwasserentlastungen zurückgeht (Rechenburg et al., 2006). Bei Starkregen gelangen über diesen Weg Krankheitserreger und Schadstoffe (unter anderem auch Antibiotika und Antibiotika-resistente Bakterien) mit dem durch Niederschlagswasser verdünnten Abwasser direkt aus dem Kanalnetz in die aufnehmenden Gewässer und führen zu einer hohen mikrobiellen Stoßbelastung (Atherholt et al., 1998; Gibson et al., 1998; Mascher et al., 2017). Durch die Behandlung mittels Retentionsbodenfiltern (RBF) können der Eintrag von Mikroorganismen und Schadstoffen sowie die hydraulischen Belastungen im aufnehmenden Gewässer erheblich gesenkt werden (Brunsch et al., 2020; Zacharias et al., 2020).

1.3 Projektziele

Im Forschungsprojekt „Biologische bzw. hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern“ (HyReKA, gefördert durch das BMBF, 2016-2019) wurde unter anderem die Belastung von Klinikabwasser mit Antibiotika-resistenten Bakterien und Antibiotika untersucht. Dabei wurde herausgearbeitet, dass sich das Abwasser eines Klinikums der Maximalversorgung und das Abwasser des nachgeschalteten kommunalen Kanalnetzes hinsichtlich der MRE-Konzentrationen stark von kommunalem Abwasser ohne Klinikeinfluss unterscheiden.

Aufbauend auf den im HyReKA-Projekt gewonnenen Erkenntnissen wurde im Rahmen des Forschungsprojektes „Antibiotika und Antibiotikaresistenzen im Abwasser“ (ARA, gefördert durch das MUNV NRW, 2020-2023), die Belastung von Abwässern aus Krankenhäusern der Grund- bzw. der Regelversorgung mit Antibiotika, Antibiotika-resistenten Bakterien und Resistenzgenen untersucht in verschiedenen Monitoring-Programmen. Außerdem wird die Reinigungsleistung verschiedener weitergehender Abwasserbehandlungsverfahren auf den Kläranlagen des Erftverbandes untersucht.

Ziel des Projekts ARA ist im Wesentlichen die Bearbeitung von zwei zentralen Fragestellungen:

(1) Die Untersuchung des Beitrages kleiner bis mittelgroßer Krankenhäuser hinsichtlich des Eintrags von Antibiotika-resistenten Bakterien (auch MRE) und Antibiotika in die aquatische Umwelt.

(2) Die Untersuchung der Wirksamkeit und Effizienz der weitergehenden Abwasserbehandlung (Membranbelebungsanlagen und RBF+) im Hinblick auf die Elimination Antibiotika-resistenter Bakterien und Antibiotika im Vergleich zur konventionellen (mechanisch-biologischen) Abwasserbehandlung.

Um die Fragestellungen des Projektes zu beantworten wurden für das Monitoring unterschiedliche chemische, mikrobiologische und molekularbiologische Untersuchungsparameter ausgewählt.

2. Material und Methoden

2.1 Überblick über die Monitoring-Programme

Die Karte in **Abbildung 1** zeigt die zum ARA-Projekt gehörenden Monitoring-Punkte und ihre Lage innerhalb bzw. außerhalb des EV-Verbandsgebietes.

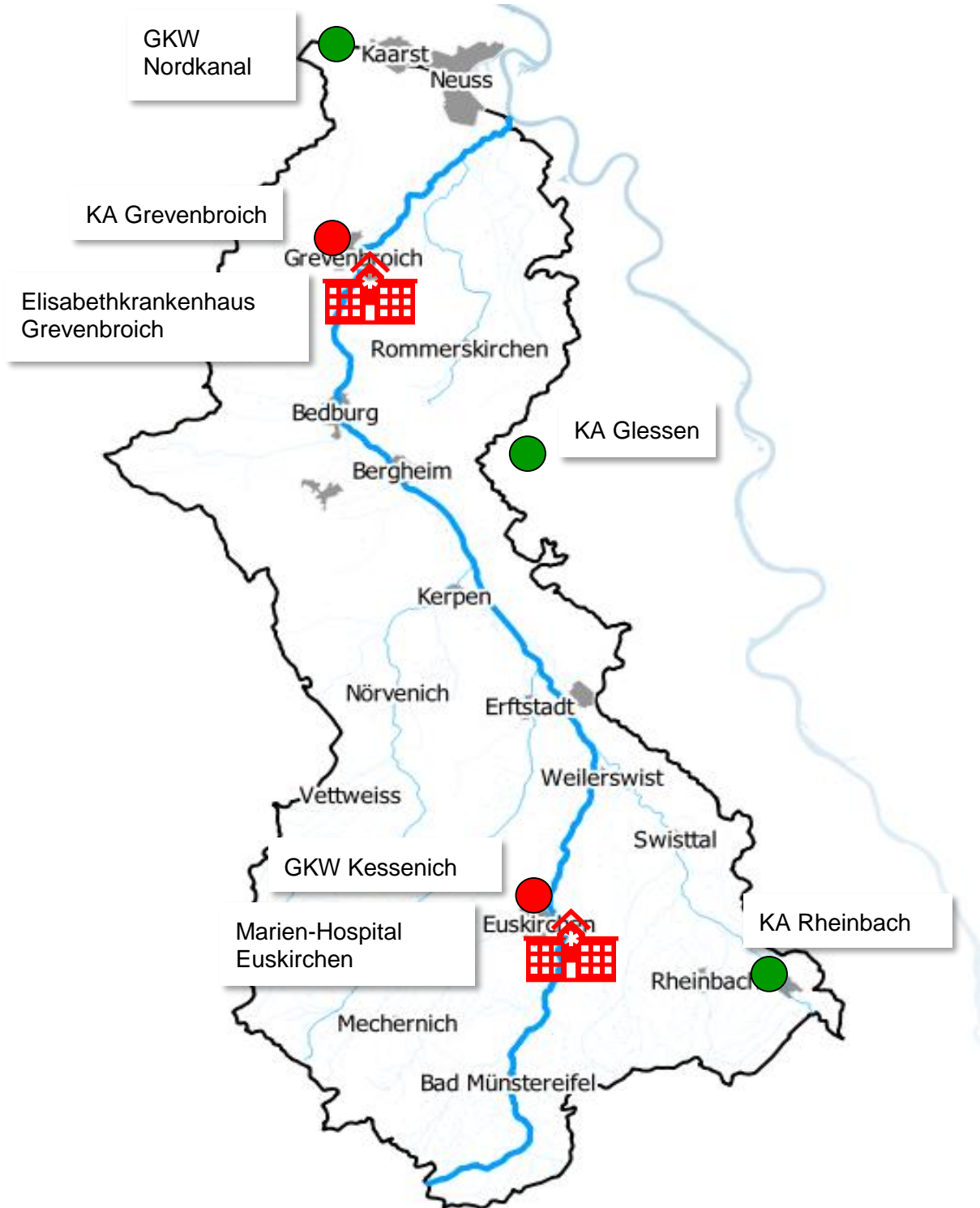


Abbildung 1: Monitoring- Standorte des ARA Projektes im Verbandsgebiet des Ertfverbandes.

In Rot sind Standorte zum Monitoring-Programm „Klinikabwasser“ dargestellt. In Grün sind Standorte zum Monitoring-Programm „Maßnahmenerprobung“ dargestellt.

Das erste Monitoring-Programm („Klinikabwasser“) bezieht sich auf das Klinikabwasser aus dem Elisabethkrankenhaus Grevenbroich und dem Marien-Hospital Euskirchen, sowie das kommunale Abwasser der jeweils nachgeschalteten EV-Kläranlagen (KA Grevenbroich bzw. GWK Euskirchen-Kessenich). Das zweite Monitoring-Programm („Maßnahmenerprobung“) analysiert verschiedene EV-Kläranlagen mit weitergehender Abwasserbehandlung. Im Falle der KA Glessen sowie des GWK Kaarst-Nordkanal ist dies das Membranbioreaktor-Verfahren (MBR-Verfahren). Der KA Rheinbach ist hingegen ein Retentionsbodenfilter mit granulierter Aktivkohle (RBF+) nachgeschaltet. Tabelle 1 gibt einen Überblick über alle Probenahmestellen und die Anzahl der untersuchten Proben.

Tabelle 1: Übersicht über die Monitoring-Programme sowie die zugehörigen Probenahmestellen im ARA-Projekt.

Monitoring-Programm	Probenahmestelle	Zeitraum	Proben
Klinikabwasser	Krankenhaus Grevenbroich	11/2020 - 03/2022	8
	KA Grevenbroich	11/2020 - 11/2021	16
	Krankenhaus Euskirchen	03/2022 - 02/2023	8
	GWK Euskirchen-Kessenich	03/2022 - 02/2023	16
Maßnahmenerprobung	GWK Kaarst-Nordkanal	11/2020 - 11/2021	16
	KA Glessen	02/2022 - 11/2022	23
	RBF Rheinbach Segment 1 (inkl. Schichten)	09/2020 - 01/2023	32
	RBF Rheinbach Segment 2 (inkl. Schichten)	09/2020 - 01/2023	32
	RBF Rheinbach Segment 3 (inkl. Schichten)	08/2020 - 01/2023	32
	RBF Mischwasserabschläge	09/2020 - 10/2022	25
Gesamt		08/2020 - 02/2023	208

2.1.1 Klinikabwasser

Das Marien-Hospital Euskirchen ist ein Krankenhaus der Regelversorgung mit 465 Betten und gleichzeitig Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Bonn. Jährlich werden ca. 16.000 Patienten stationär und 26.000 Patienten ambulant behandelt (Marien-Hospital, 2023). Es wurden acht Beprobungen des Klinikabwassers unmittelbar an der Einleitstelle in das städtische Kanalnetz durchgeführt. Über das kommunale Abwassernetz wird das Abwasser des Krankenhauses in das GWK Euskirchen-Kessenich eingeleitet. Das GWK Euskirchen-Kessenich besitzt eine Ausbaugröße von 132.000 EW. Tatsächlich angeschlossen sind 104.086 EW, was einem Auslastungsgrad der Anlage von rund 80 % entspricht. Im Jahr 2022 wurden im GWK Euskirchen-Kessenich insgesamt 9.957.577 m³ Abwasser behandelt (Ertfverband, 2023). Das GWK Euskirchen-Kessenich ist eine konventionelle Kläranlage mit drei Klärstufen (Ertfverband, 2023). Es wurden je acht Probenahmen am Zulauf (zwischen Rechen- und Sandfang) und Ablauf (nach der abschließenden Sandfiltration) der Anlage durchgeführt. Neben dem Abwasser des Marien-Hospitals nimmt das GWK Euskirchen-Kessenich außerdem Abwasser einer Fachklinik für Psychiatrie und Psychotherapie mit 175 Betten auf, für das jedoch keine signifikant erhöhte Belastung mit Antibiotika und Antibiotika-

resistenten Bakterien zu erwarten ist. Weiterhin sind dem Erftverband mehrere Pflegeheime im Einzugsgebiet des GWK mit insgesamt 542 Betten bekannt (Stand 2018).

Das Rheinland Klinikum Elisabethkrankenhaus Grevenbroich stellt 308 Betten im Rhein-Kreis Neuss (Bund, 2023). Es wurden acht Beprobungen des Klinikabwassers an einer von mehreren Einleitstellen in das städtische Kanalnetz durchgeführt. Das Abwasser des Krankenhauses wird ebenfalls über das kommunale Abwassernetz in eine kommunale Kläranlage eingeleitet. Die behandelnde Kläranlage ist die KA Grevenbroich mit einer Ausbaugröße von 97.100 EW. Tatsächlich angeschlossen sind 70.558 EW, was einer Auslastung der Anlage von rund 73 % entspricht. Im Jahr 2022 behandelte die Kläranlage eine Gesamtabwassermenge von 3.418.883 m³ (Erftverband, 2023). Es wurden je acht Probenahmen am Zulauf (vor dem Rechen) und Ablauf (nach der Nachklärung) der Anlage durchgeführt. Neben dem Elisabethkrankenhaus sind dem Erftverband im Einzugsgebiet der KA Grevenbroich mehrere Pflegeheime mit insgesamt 609 Betten bekannt (Stand 2018).

2.1.2 Maßnahmenprüfung

Der Erftverband betreibt insgesamt drei Kläranlagen mit Membranbioreaktor (MBR), wovon zwei in der Monitoring-Kampagne des ARA-Projektes berücksichtigt wurden. Das 2004 in Betrieb genommene GWK Kaarst-Nordkanal besitzt eine Ausbaugröße von 80.000 EW. Tatsächlich angeschlossen sind knapp 67.920 EW, was einer Auslastung von ca. 85 % entspricht. Insgesamt wurde im Jahr 2022 eine Gesamtabwassermenge von 4.925.030 m³ behandelt (Erftverband, 2023). Es wurden je acht Probenahmen am Zulauf (zwischen Rechen- und Sandfang) und Ablauf (nach der Membranfiltration) der Anlage durchgeführt. Die Membranen verfügen über eine Porenweite von 0,04 µm und sind direkt in die Belebungsbecken getaucht. Im Einzugsgebiet des GWK Kaarst-Nordkanal gibt es keine Krankenhäuser der Grund-, oder Regel- oder Maximalversorgung (d.h. das Abwasser ist klinisch unbeeinflusst), wobei dem Erftverband mehrere Pflegeheime mit einer Gesamtbettenzahl von 290 bekannt sind (Stand 2018).

Die deutlich kleinere KA Glessen wird seit 2008 nach dem MBR-Verfahren betrieben. Sie besitzt eine Ausbaugröße von 9.000 EW. Tatsächlich angeschlossen sind 7.724 EW, was einer Auslastung von ca. 86 % entspricht. Insgesamt wurden im Jahr 2022 rund 697.037 m³ Abwasser in der KA Glessen behandelt (Erftverband, 2023). Es wurden je acht Probenahmen am Zulauf (nach der Siebung) sowie Ablauf (nach der Membranfiltration) der Anlage durchgeführt. Die Membranen verfügen über eine Porenweite von 0,04 µm und sind in separaten Becken der Belebungsstufe nachgeschaltet. Im Einzugsgebiet der KA Glessen gibt es keine Krankenhäuser der Grund-, Regel oder Maximalversorgung, dem Erftverband sind zudem keine größeren Pflegeheime bekannt (Stand 2018).

Seit 2019 betreibt der Erftverband in Rheinbach einen in seiner Funktionsweise bisher einmaligen Retentionsbodenfilter (RBF+). Im Unterschied zu herkömmlichen Retentionsbodenfiltern ist dem Filtermaterial beim RBF+ granuliertes Aktivkohle (GAK) zum Rückhalt organischer Spurenstoffe beigefügt. Der RBF+ reinigt sowohl (zur weitergehenden Abwasserbehandlung) das aus der KA Rheinbach abfließende Abwasser als auch im Falle von Starkniederschlägen abgeschlagenes Mischwasser aus den Regenüberlaufbecken der Anlage. Um im durchgehenden Kläranlagenbetrieb die für den Betrieb wichtigen aeroben Bedingungen im Filtersubstrat aufrechtzuerhalten, ist die Filterfläche in drei Segmente unterteilt, die alternierend mit dem Kläranlagenablauf beschickt werden. In Mischwasserentlastungsfällen wird die gesamte Filterfläche eingestaut (siehe Abbildung 2).

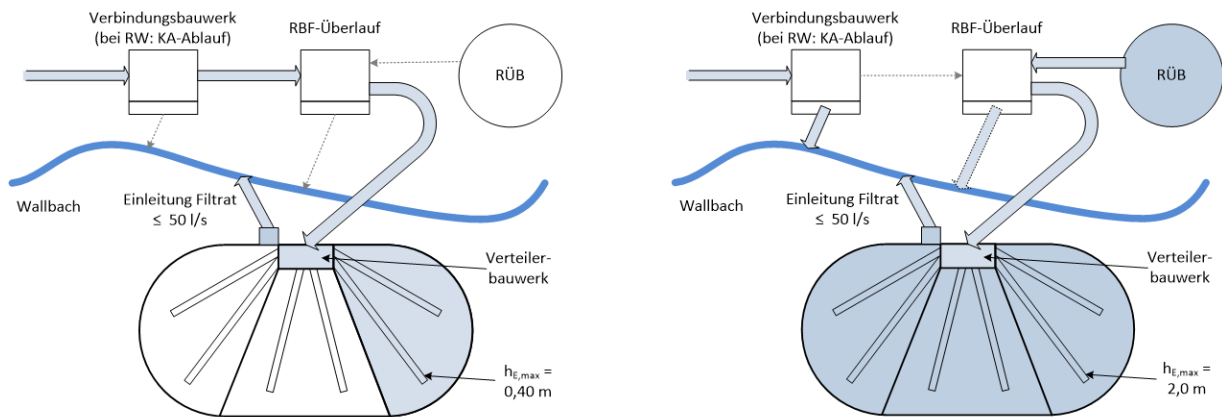


Abbildung 2: Schematische Darstellung der beiden Betriebsarten des RBF+ in Rheinbach.

Links: Routine-Betrieb zur weitergehenden Behandlung des Kläranlagenablaufs. Rechts: Behandlung von abgeschlagenem Mischwasser aus dem Regenüberlaufbecken der KA Rheinbach bei Regenwetter (Mischwasserabschläge an ca. 10-20 Tagen im Jahr).

Durch das eigens konzipierte, im RBF+ baulich integrierte Monitoring-System lässt sich über Steigrohre im Filterkörper neben Zu- und Ablauf auch das Sickerwasser in den einzelnen Filtersegmenten in verschiedenen Tiefen sowie Abständen vom Zulauf beproben. Den Filtersegmenten ist in der untersten Schicht in unterschiedlichen Anteilen GAK beigefügt, so dass deren Effekt systematisch beurteilt werden kann (Segment 1: 0 % GAK, Segment 2: 30 % GAK, Segment 3: 40 % GAK). Für das ARA-Projekt wurden sowohl Zulauf als auch Ablauf aller drei RBF-Segmente beprobt. Die dem RBF vorgeschaltete KA Rheinbach besitzt eine Ausbaugröße von 27.000 EW. Tatsächlich angeschlossen sind 25.045 EW, was einer Auslastung von rund 93 % entspricht. Im Jahr 2022 wurde eine Gesamtabwassermenge von 1.820.180 m³ gereinigt (Erftverband, 2023). Im Einzugsgebiet der KA Rheinbach gibt es keine Krankenhäuser der Grund-, Regel- oder Maximalversorgung (d.h. das Abwasser ist klinisch unbeeinflusst), wobei dem Erftverband mehrere Pflegeheime mit insgesamt 387 Betten (Stand 2018) sowie ein medizinisches Versorgungszentrum mit chirurgischem Schwerpunkt bekannt sind.

2.2 Probenahme und Analysemethoden

2.2.1 Probenahme

Alle Proben wurden auf hygienisch-mikrobiologische und chemische Parameter untersucht. Die Messwerte zur Mikrobiologie und Wasserchemie wurden für eine gemeinsame Interpretation immer aus der gleichen Probe ermittelt. In der Regel wurden die Proben zur repräsentativen Erfassung von Tagesgängen und Stoßbelastungen als Mischproben entnommen. Dies umfasst im Wesentlichen zeitproportionale 24h-Mischproben und – im Falle von Mischwasserentlastungen am RBF Rheinbach – Ereignismischproben, die mit Hilfe von automatischen Probenahmegeräten entnommen wurden. Zum Auffangen und Vereinigung genommenen Mischproben wurden für die mikrobiologischen Untersuchungen aufbereiteten Glas- oder Edelstahlbehälter verwendet. Die Temperatur im Innenraum der Probenahmegeräte wurde in den meisten Fällen bis zur Probenabholung konstant auf 4-6 °C gehalten (Ausnahme: Probenahme aus dem Kanalnetz). Die Proben wurden unter stetiger Kühlung innerhalb von 24 Stunden nach Beendigung der Probenahme zur weiteren

Untersuchung in die Laboratorien des Erftverbandes (chemische Untersuchungen) bzw. des IHPH (mikrobiologische und molekularbiologische Untersuchungen) transportiert.

In Ausnahmefällen (bei kurzfristigem Ausfall eines Probenahmegerätes) sind Proben auch als qualifizierte Stichprobe statt 24h-Mischprobe entnommen worden. Eine qualifizierte Stichprobe ist nach DIN 38402-11:2009-2 eine „Sonderform einer Mischprobe, bestehend aus mindestens fünf Stichproben, die in einem Zeitraum von höchstens 2 h im Abstand von nicht weniger als 2 min entnommen und gemischt werden“. Für die hier untersuchten Proben wurden 5 Stichproben mit gleichen Volumina in einem Abstand von je 2 Minuten genommen (DIN 38402-11:2009-2). Zur Mischung und Homogenisierung der Stichproben wurde ein desinfiziertes Sammelgefäß aus Glas oder Edelstahl genutzt.

2.2.2 Chemische Parameter

Tabelle 2: Im Projekt untersuchte Antibiotika.

Wirkstoffklasse	Wirkstoff	Berichtsgrenze [$\mu\text{g/l}$]
B-Lactame	Meropenem*†	0,10
	Piperacillin*†	0,10
Diaminopyrimidine	Trimethoprim	0,05
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	0,20
	Moxifloxacin*	0,10
	Ofloxacin*	0,20
Lincosamide	Clindamycin	0,10**
Makrolide	Azithromycin	0,10**
	Clarithromycin	0,10**
	Erythromycin	0,20
	Roxithromycin	0,10**
Nitroimidazole	Metronidazol*†	0,10
Oxazolidinone	Linezolid*†	0,10
Sulfonamide	Sulfadiazin	0,05
	Sulfadimidin	0,05
	Sulfamethoxazol	0,05
Tetracycline	Doxycyclin	0,20
	Chlortetracyclin	0,20
	Oxytetracyclin	0,20
	Tetracyclin	0,20

*Ab Juni 2021 im Parameterkanon enthalten

**Ab Juni 2021 halbierte Berichtsgrenze (statt 0,20 $\mu\text{g/l}$)

† Wirkstoff insbesondere im Klinikabwasser zu erwarten

Die Untersuchung der Wasserproben auf Antibiotika geschah im Labor des Erftverbands per Massenspektrometer mit vorgeschalteter Gaschromatographie (DIN EN ISO 15913:2003) bzw. Flüssigchromatographie (DIN EN ISO 15913:2003 und DIN EN ISO 21676:2022). Dabei wurden die Proben für die Gaschromatographie per Festphasenextraktion vorangereichert; die

Flüssigchromatographie erfolgte hingegen nach Direktinjektion der Probe. Insgesamt wurde auf diese Weise eine Gesamtzahl von 20 verschiedenen antibiotischen Wirkstoffen aus 9 verschiedenen Wirkstoffklassen untersucht (siehe Tabelle 2). Als Biozid kommt der Desinfektionsmittelwirkstoff Triclosan mit einer Berichtsgrenze von 0,02 µg/l hinzu.

2.2.3 Mikro- und molekularbiologische Parameter

Um eine hygienisch-mikrobiologische Bewertung der Proben durchzuführen, wurden verschiedene Indikatorparameter in Kulturverfahren quantifiziert. Die Abstimmung der Verfahren und Methoden erfolgte in Diskussion mit dem LANUV NRW. Festgelegt wurden *Escherichia coli* (DIN EN ISO 9308-3:1999), intestinale Enterokokken (DIN EN ISO 7899-1:1999) als bakterielle Fäkal-Indikatoren, somatische Coliphagen (ISO 10705-2, 2000) als Virenindikatoren und Sulfat-reduzierende Sporenbildner mit Bestimmung von *C. perfringens* (in Anlehnung an (DIN EN ISO 14189:2013) als Indikatoren für die Anwesenheit von Protozoen-Dauerformen. Des Weiteren wurde unter Berücksichtigung der globalen Prioritätenliste für Antibiotika-resistente Bakterien als Leitfaden für die Forschung, Entdeckung und Entwicklung neuer Antibiotika (WHO, 2017) acht verschiedene ESBL-produzierende Gram-negative Bakterienarten als Zielorganismen ausgewählt. Zu den mikrobiologischen Parametern gehörten Gram-negative ESBL-produzierende Bakterien der Arten *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. und *E. coli*, sowie *Pseudomonas* spp. und *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. und *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii*-Komplex, die jeweils eine Resistenz gegen ein Cephalosporin der 3. Generation (3GCR) zeigen. Der kulturelle Nachweis wurde nach (Schreiber et al., 2021) durchgeführt.

Für alle Umweltisolate wurden Antibiotika-Empfindlichkeitstests durchgeführt (Sib et al., 2019). Die Interpretation des Suszeptibilitätsstatus erfolgte nach den Kriterien des *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. Die Einstufung der Multiresistenz erfolgte über die KRINKO-Empfehlung. In dieser sind vier Antibiotikaklassen mit unterschiedlichen Leitsubstanzen festgelegt. Anhand der Anzahl an vorkommenden Resistenzen gegen diese Leitsubstanzen wurden die Bezeichnungen 3MRGN bzw. 4MRGN eingeführt (Multiresistente Gram-negative Stäbchen mit Resistenz gegen drei bzw. vier der definierten Antibiotikaklassen) (KRINKO, 2019, 2012).

Auch die Auswahl der zu bestimmenden Resistenzgene und die Extraktionsmethode wurde mit dem LANUV NRW abgestimmt. Damit die Werte der Resistenzgene mit den Daten aus dem HyReKA Projekt (BMBF, FKZ: 02WRS1377, 2016-2019) vergleichbar sind, wurde das Abwasser mit Aquadien™ Bacterial DNA Extraction and Purification Kit (BioRad, 3578121) unter Verwendung der W2 Wash Solution (BioRad, 3578119) nach dem Herstellerprotokoll für die qPCR aufbereitet. Kriterien für die Festlegung umfassten (i) Resistenzen gegenüber Reserveantibiotika, (ii) solche Resistenzen, die häufig genug in den untersuchenden Matrizen zu finden sind, damit eine Aussage über die Reduktion möglich ist, sowie (iii) Resistenzen, die auf mobilen Elementen verankert sind und zwischen Bakterien übertragen werden können. Die zu bestimmenden Resistenzgene wurden nach einer Literaturrecherche zu Vorkommen und Relevanz, sowie nach den Ergebnissen aus HyReKA begründet und festgelegt. In allen Proben untersucht wurden die Resistenzgene *mcr-1*, *bla_{TEM}*, *bla_{NDM-1}* und *ermB*. Außerdem wurden alle Proben auf die Konzentration von bakterieller 16s Ribosomal RNA getestet, um die Konzentrationen der Resistenzgene darüber zu normalisieren. Für die Etablierung der Methode wurden die Leitlinien zur Einzellabor-Validierung qualitativer real-time PCR-

Methoden des Bundesamts für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit¹ befolgt. In diesem Rahmen wurden auch die Gen-spezifischen Nachweisgrenzen (Limit of detection = LOD) bestimmt (Tabelle 3). Die Nachweisgrenze wird im Allgemeinen als die Konzentration der Ziel-DNA verstanden, bei der mindestens mit einer Wahrscheinlichkeit von 0,95 in der qPCR ein Amplifikationsprodukt detektiert wird (LOD_{95%}).

Tabelle 3: LOD_{95%} der qPCR-Ansätze zur absoluten Quantifizierung der untersuchten Resistenzgene.

Gen	LOD _{95%}	Konfidenzintervall
mcr-1	4.694	3.028, 7.285
blaNDM-1	7.534	5.001, 11.327
blaTEM	7.678	5.064, 11.644
ermB	4.184	2.685, 6.524
16S rRNA	1 Kopie/μL*	-

*bestimmt durch Reagenzien der Hersteller

2.2.4 Datenauswertung und Ergebnisdarstellung

Die Darstellung der im Labor bestimmten Konzentrationen an AB, Indikatororganismen, ARB und ARG erfolgt in Form der einzelnen Datenpunkte, ergänzt um eine 5-Punkte-Zusammenfassung mittels Box-Whisker-Plots (kurz: Boxplots). Bei weniger als fünf Datenpunkten (entsprechend der fünf dargestellten Merkmale) wird im ARA-Bericht auf die Zeichnung eines Boxplots verzichtet. Es ist in diesem Zusammenhang wichtig zu betonen, dass die 5-Punkte-Zusammenfassung in Form eines Boxplots nur ein Werkzeug der deskriptiven Statistik ist. Das bedeutet, dass Boxplots zwar die erhobenen Datensätze (d.h. statistische Stichproben) beschreiben, allerdings keine Interpretation hinsichtlich ihrer Verallgemeinerbarkeit und Repräsentativität für die zugrundeliegende Grundgesamtheit zulassen. Auch wenn im ARA-Projekt insgesamt sehr gute Vorkehrungen zur Erhebung repräsentativer Messdaten vorgenommen worden sind, kann aus statistischer Sicht nie vollständig ausgeschlossen werden, dass z.B. ein aus Messdaten bestimmter Konzentrationsmedian zufällig vom „wahren“ Konzentrationsmedian abweicht.

Aus Gründen der Messgenauigkeit können bei der Spurenstoffanalytik und bei der qPCR unterhalb eines gewissen Wertes (je nach Kontext Berichts-, Bestimmungs- oder Nachweisgrenze) Konzentrationen nicht mehr sicher bestimmt werden. Aus statistischer Sicht handelt es sich um sogenannte linkszensierte Daten, welche in diesem Bericht mithilfe zensierter Boxplots dargestellt werden. Das bedeutet, dass jeder Boxplot unterhalb des jeweils größten anzuwendenden Grenzwertes abgeschnitten wird. Für die Antibiotika werden zusätzlich die Anteile der Positivbefunde in Form von Heatmaps dargestellt. Für die Darstellung der Konzentrationen werden danach nur die Wirkstoffe mit den größten Befundanteilen berücksichtigt.

Für die Darstellungen der mikrobiologischen Daten wurden nur Daten mit einem numerischen Wert verwendet. Kategorien, die durch das Verfahren der mikrobiologischen Auswertung entstehen (d.h. mit Konzentrationswerten einhergehen, die nicht nachweisbar oder statistisch unsicher sind), wurden bei der grafischen Aufbereitung nicht berücksichtigt.

¹https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/07_Untersuchungen/Leitlinien%20zur%20Einzellabor%20Validierung.html

3. Ergebnisse

3.1 Klinikabwasser

3.1.1 Antibiotika

Abbildung 3 stellt die relative Häufigkeit der Positivbefunde für die 20 untersuchten Antibiotika sowie Triclosan in den klinisch beeinflussten Abwasserproben des ARA-Projektes farblich codiert als Heatmap dar. Ein Positivbefund entspricht einer nachgewiesenen Konzentration oberhalb der in Kapitel 2.2.2 angegebenen Berichtsgrenzen.

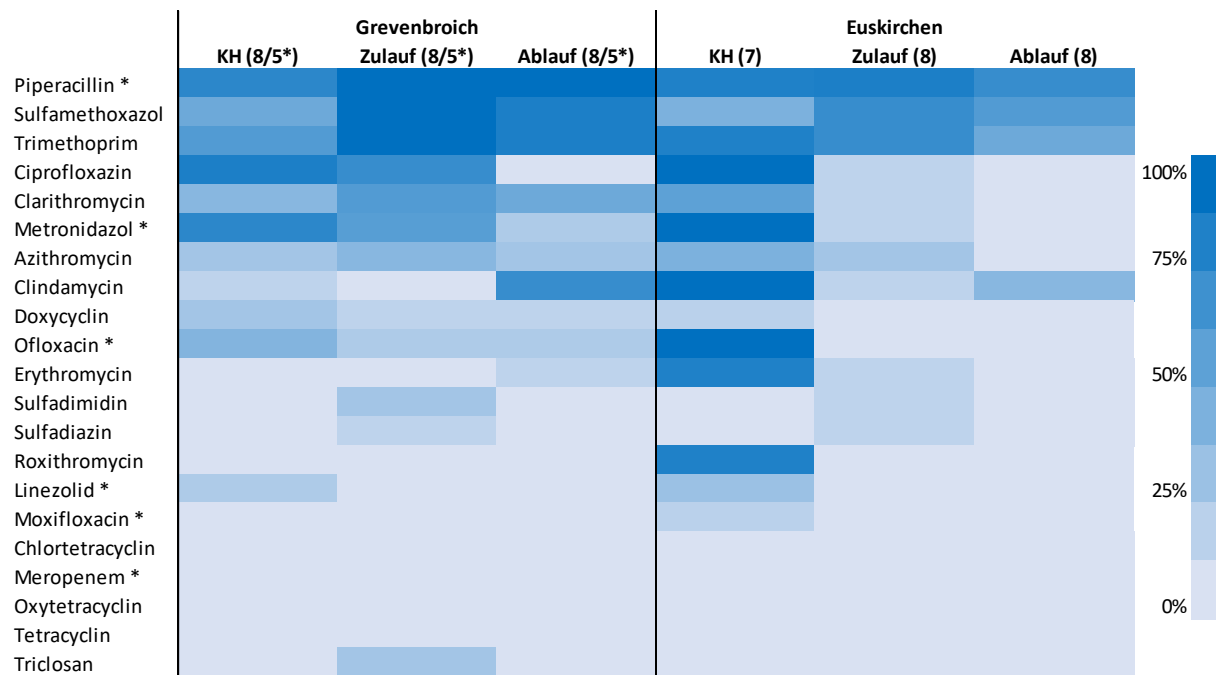


Abbildung 3: Positivbefunde der untersuchten Antibiotika in klinisch beeinflussten Abwässern.

KH = Ablauf Krankenhaus. In Klammern ist die Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben angegeben, die von der jeweiligen Probenahmestelle stammen. In Grevenbroich sind die dem Standardparameterkanon des Erftverbandes hinzugefügten Antibiotika (*) nicht in allen Abwasserproben untersucht worden, so dass sich die Probenzahl für diese Wirkstoffe wie angegeben verringert.

Die Wirkstoffe in Abbildung 3 sind an beiden Standorten (Grevenbroich und Euskirchen) grob nach ihren Befundhäufigkeiten im unbehandelten Klinikabwasser sortiert. Allgemein wurden die Wirkstoffe Piperacillin, Sulfamethoxazol, Trimethoprim und Ciprofloxazin im unbehandelten Abwasser am häufigsten nachgewiesen. Das Antibiotikum Piperacillin ist ein vornehmlich parenteral (d.h. „am Darm vorbei“, per Injektion oder Infusion direkt in den Blutkreislauf) verabreichtes Reserveantibiotikum, typischerweise zur Behandlung nosokomialer Infektionen. Die hohen Befundhäufigkeiten im klinisch beeinflussten Abwasser sind in dieser Hinsicht plausibel, da sich der Einsatz aus diesen Gründen vornehmlich im klinischen Umfeld abspielt. Die hohen Befundhäufigkeiten von Sulfamethoxazol, Trimethoprim, Ciprofloxacin, Clindamycin sowie verschiedenen Makrolid-Antibiotika wie Clarithromycin und Azithromycin bestätigen die Erkenntnisse aus HyReKA: All diese Stoffe werden regelmäßig in kommunalem Rohabwasser (auch ohne Klinikeinfluss) nachgewiesen (Voigt et al., 2020).

Die Befundanteile in Abbildung 3 deuten auf ein sehr heterogenes Eliminationsverhalten der verschiedenen Wirkstoffe in den beiden konventionellen Kläranlagen (KA Grevenbroich, GWK Euskirchen-Kessenich) hin. Aus HyReKA ist der gute Rückhalt von Ciprofloxacin im Klärprozess bereits bekannt: Obwohl Ciprofloxacin praktisch immer an den Zuläufen der Kläranlagen nachgewiesen wird, wird der Stoff kein einziges Mal an den Abläufen nachgewiesen. Vermutlich wird der Stoff aufgrund seines guten Sorptionsverhaltens (Kümmerer, 2009) mit dem Klärschlamm aus dem Abwasserstrom entzogen. Auch für Metronidazol weist der Vergleich der Befundhäufigkeiten an Zu- und Abläufen auf einen guten Rückhalt im konventionellen Klärprozess hin. Für andere Wirkstoffe, insbesondere Piperacillin, Sulfamethoxazol und Trimethoprim, ist an beiden Anlagen nur eine kleine Verringerung der Befundhäufigkeiten zwischen Zu- und Ablauf festzustellen. Diese Stoffe können als im Klärprozess weitgehend persistent betrachtet werden.

Abbildung 4 stellt die gemessenen Konzentrationen von sechs nach Befundhäufigkeit ausgewählten Antibiotika am Standort Grevenbroich dar. Die Zusammensetzung des Abwassers eines einzelnen (wenn auch relativ großen) Einleiters wie einem Krankenhaus unterliegt demnach größeren zufälligen Schwankungen als die Zusammensetzung des gesammelten Abwassers vieler tausender Einleiter am Ende eines Kanalnetzes. Dementsprechend ergibt sich auch eine stark erhöhte Streuung der Messwerte an den Klinikeinleitstellen gegenüber den KA-Zuläufen, welche sich einerseits in einer oft geringeren Befundzahl an den Klinikeinleitungen ausdrückt (vgl. Abbildung 3), zum anderen aber auch mit ungleich höheren Maximalbelastungen einhergeht. Besonders augenfällig sind in diesem Zusammenhang die gemessenen Piperacillin-Konzentrationen an der Einleitstelle des Elisabethkrankenhauses Grevenbroich, die im Minimum unterhalb der Berichtsgrenze und im Maximum bei über 3 mg/l liegen. Die Maximalkonzentrationen der anderen 5 Stoffe liegen zum Großteil ebenfalls im einstelligen bis zweistelligen Mikrogramm-pro-Liter-Bereich. Dieser Maximalbereich entspricht einem antibiotischen Milieu im Abwassersystem, das eine zeitweise Selektion Antibiotika-resistenter Krankheitserreger möglich – wenn nicht sogar wahrscheinlich – erscheinen lässt (Bengtsson-Palme and Larsson, 2016; Voigt et al., 2020).

Zur besseren Sichtbarkeit der Konzentrationsunterschiede zwischen KA-Zulauf und KA-Ablauf werden die Boxplots in Abbildung 5 ohne die Messergebnisse an der Klinikeinleitung dargestellt. Im Gesamtbild zeigt sich vor allem eine Verringerung der Maximalkonzentrationen in den KA-Abläufen durch die konventionelle Abwasserklärung in beiden Anlagen (Daten des Standortes Euskirchen im Kurzbericht nicht dargestellt). Die Reduktion der Konzentrationen fällt jedoch stoffspezifisch sehr unterschiedlich aus: So werden die Konzentrationen von Piperacillin (bei stärkerer Grundbelastung an den KA-Zuläufen) im Maximum und Median deutlich stärker gesenkt als die Konzentrationen von Sulfamethoxazol und Trimethoprim. Die relative Persistenz dieser beiden Stoffe im konventionellen Klärprozess haben bereits die HyReKA-Messergebnisse gezeigt. Beachtlich ist hier vor allem die noch relativ große Mediankonzentration von Sulfamethoxazol im Ablauf der KA Grevenbroich von rund 0,6 µg/l.

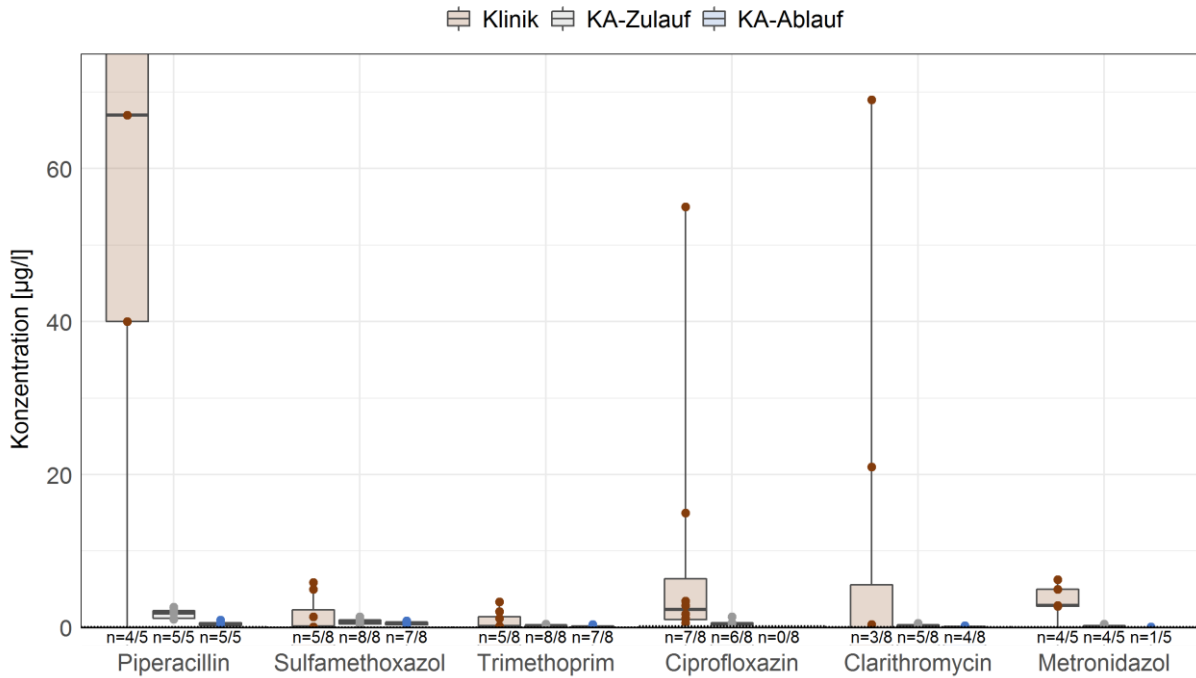


Abbildung 4: Konzentrationen ausgewählter Antibiotika in Grevenbroich.

Aus Darstellungsgründen befinden sich zwei extreme Messwerte für Piperacillin von 1,0 mg/l und 3,1 mg/l nicht im abgebildeten Wertebereich. n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. Konzentrationen oberhalb der jeweiligen Berichtsgrenze) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

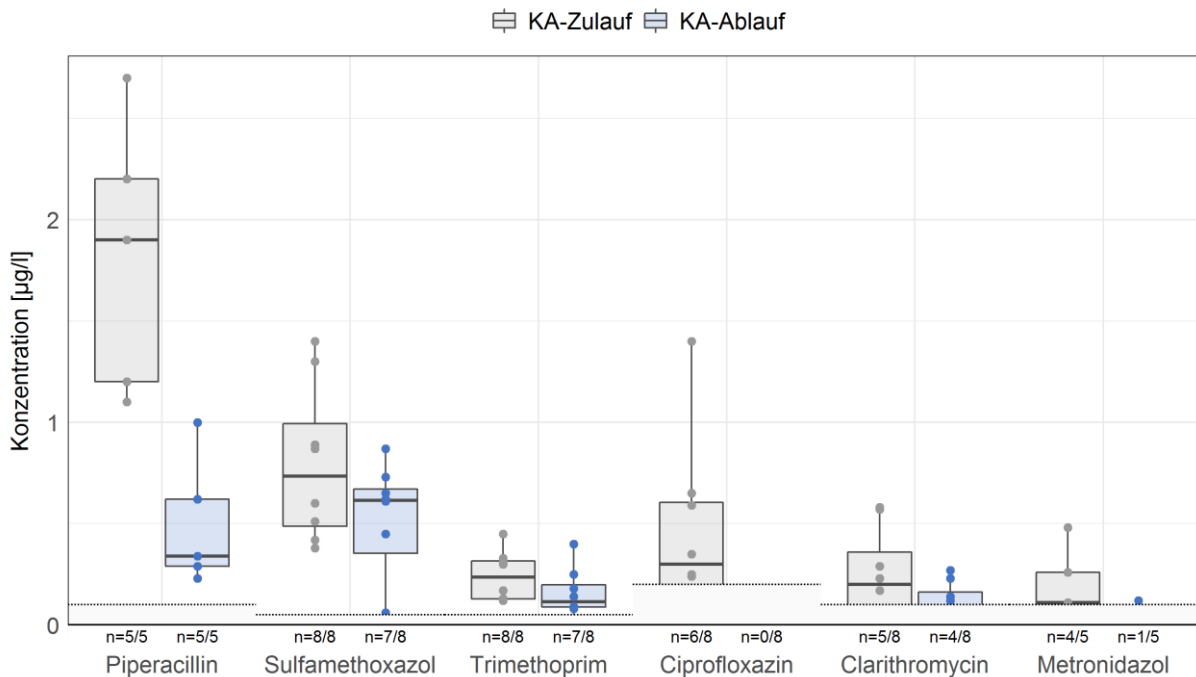


Abbildung 5: Konzentrationen ausgewählter Antibiotika in der KA Grevenbroich (ohne Krankenhausablauf).

Die Darstellung ist an der jeweiligen Berichtsgrenze abgeschnitten. n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. Konzentrationen oberhalb der jeweiligen Berichtsgrenze) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

3.1.2 Indikatororganismen

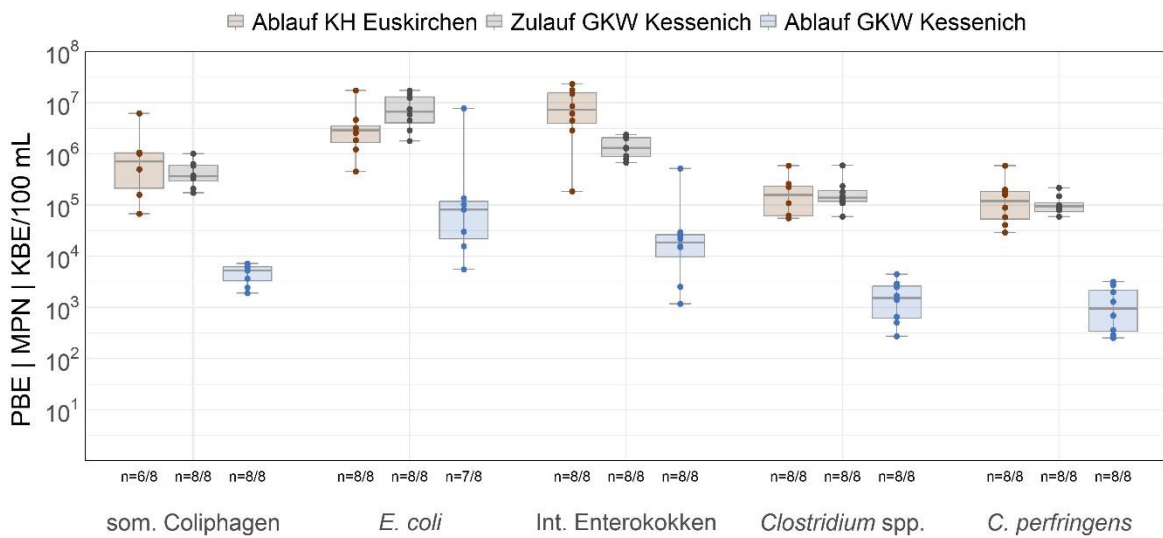


Abbildung 6: Konzentrationen der Indikatororganismen in den Proben des Monitoring-Programms Marien-Hospital Euskirchen (Klinikabwasser).

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. nachweisbar und statistisch sicher) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

Die Konzentrationen in den Proben des Rohabwassers im Kanalnetz unmittelbar nach der Abwassereinleitung aus dem Marien-Hospital Euskirchen und in den Zulaufproben des nachgeschalteten GWK Euskirchen-Kessenich sind für bewährte Indikatororganismen ähnlich (siehe Abbildung 6). Gleiches lässt sich für die Indikatororganismen des Monitoring-Programms Klinikabwasser an den Proben aus Grevenbroich feststellen (Daten Kurzbericht nicht dargestellt). Die Indikatororganismen wurden in beiden konventionellen Kläranlagen (GWK Euskirchen-Kessenich und KA Grevenbroich um ca. 2 Log-Stufen reduziert.

3.1.3 Antibiotika-resistente Bakterien

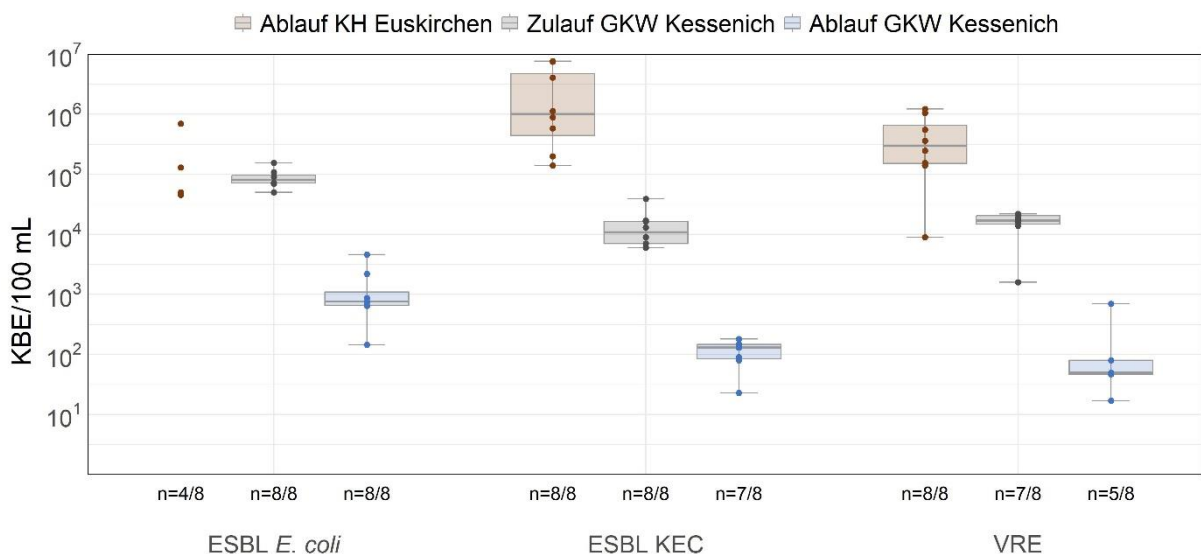


Abbildung 7: Konzentrationen der Antibiotika-resistenten Bakterien in den Proben des Monitoring-Programms Marien-Hospital Euskirchen (Klinikabwasser).

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. nachweisbar und statistisch sicher) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

In Abbildung 7 wird die Konzentration der Antibiotika-resistenten Bakterien in den Proben des Monitoring-Programms am Standort Euskirchen dargestellt. Vom Rohabwasser zum Ablauf der Kläranlage werden die dargestellten Antibiotika-resistenten Bakterien ausgehend vom Median um 2 bis 3 Log-Stufen reduziert. Gleiches lässt sich für die Antibiotika-resistenten Bakterien des Monitoring-Programms Klinikabwasser an den Proben aus Grevenbroich feststellen mit dem Unterschied, dass im Zulauf der KA Grevenbroich höhere Konzentrationen von ESBL-prod. KEC gemessen wurden als im Zulauf des GWK Kessenich (Daten Kurzbericht nicht dargestellt).

3.1.4 Antibiotikaresistenzgene

Das Vorkommen der Resistenzgene *mcr-1*, *bla_{TEM}*, *bla_{NDM-1}* und *ermB* wurde mittels qPCR bestimmt. Die generierten Daten für die Klinikabwässer der im Rahmen des Monitoring-Programms untersuchten Krankenhaus-Standorte sowie der angeschlossenen Kläranlagen sind in Abbildung 8 (Grevenbroich) zusammengefasst. Das ARG *mcr-1* lag im Rohabwasser des Elisabethenkrankenhauses Grevenbroich in der geringsten Konzentration vor. In der konventionellen Kläranlage wird das Gen im Median um 1 Log-Stufe reduziert. Die ARGs *ermB*, *bla_{NDM-1}* und *bla_{TEM}* konnten in allen untersuchten Proben nachgewiesen werden (Abbildung 8). Das Resistenzgen *ermB* zeigte dabei das höchste Vorkommen. Während das ARG *bla_{NDM-1}* in jeder Probe des Krankenhausabwassers nachgewiesen werden konnte, konnte dieses im Zulauf der behandelnden KA Grevenbroich nur noch in vier der acht betrachteten Abwasserproben nachgewiesen werden. Im Ablauf der KA Grevenbroich konnte das Gen *bla_{NDM-1}* nie nachgewiesen werden. Die beiden ARGs *ermB* und *bla_{TEM}* wurden in der konventionellen KA um 2,7 bzw. 2,8 Log-Stufen reduziert.

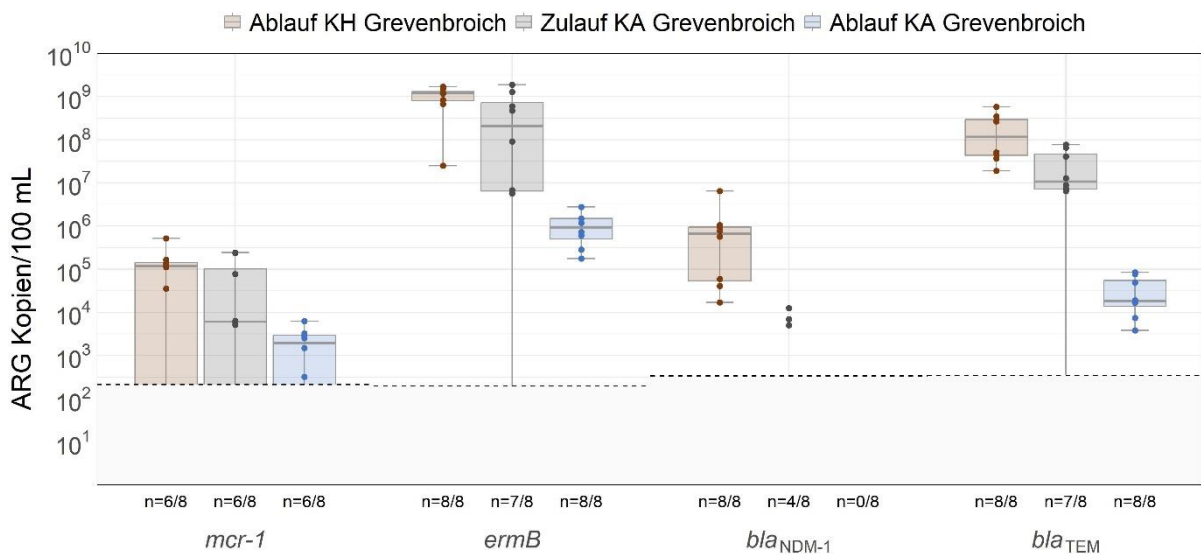


Abbildung 8: Konzentration der ARGs in den Proben des Monitoring-Programms Elisabethenkrankenhauses Grevenbroich (Klinikabwasser).

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. Konzentrationen oberhalb der jeweiligen LOD = Nachweisgrenze) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

Für den Standort des Monitoring-Programms am Marien-Hospital Euskirchen lagen die Konzentrationen der betrachteten ARGs im Rohabwasser des Krankenhauses in einer ähnlichen Verteilung wie am Standort Grevenbroich vor (Daten im Kurzbericht nicht dargestellt).

3.2 Kläranlagen mit Membranbelebungsanlagen

3.2.1 Antibiotika

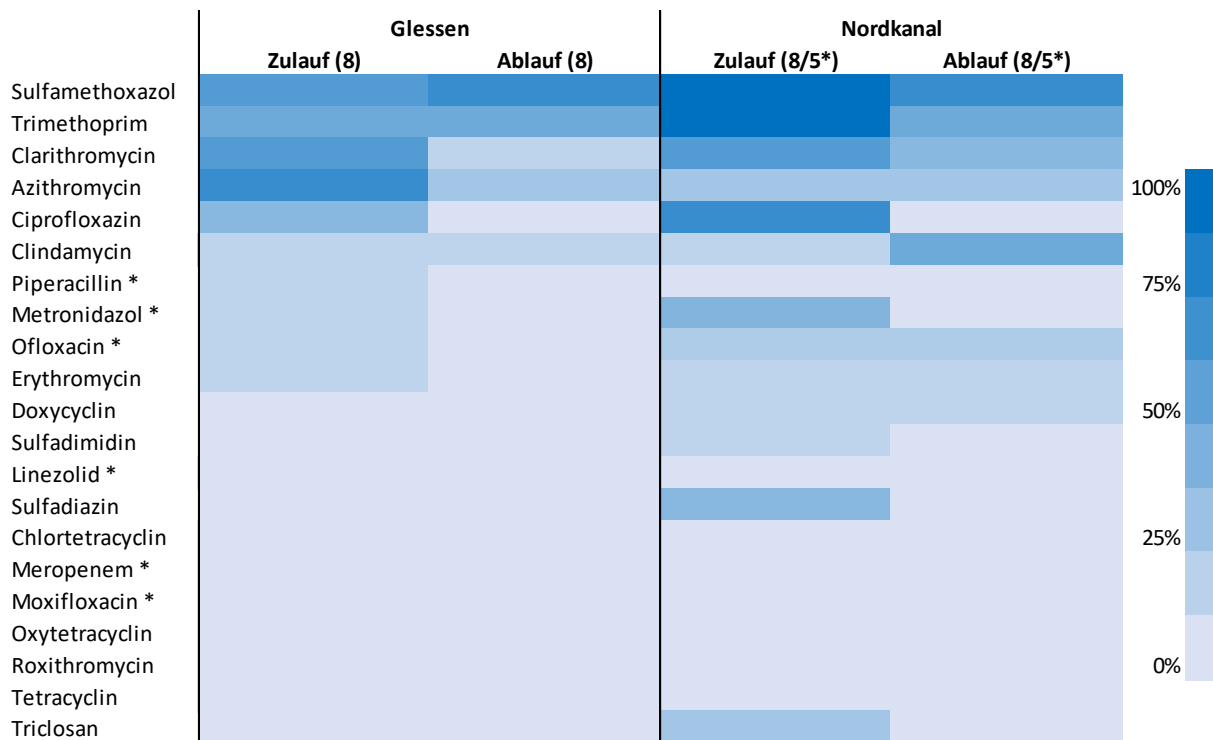


Abbildung 9: Positivbefunde der untersuchten Antibiotika in den mit einer Membranbelebung ausgestatteten Kläranlagen (KA Glessen und GWK Kaarst-Nordkanal).

In Klammern ist die Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben angegeben, die von der jeweiligen Probenahmestelle stammen. Am GWK Kaarst-Nordkanal sind die dem Standardparameterkanon des Erftverbandes hinzugefügten Antibiotika (*) nicht in allen Abwasserproben untersucht worden, so dass sich die Probenzahl für diese Wirkstoffe wie angegeben verringert.

Die Befundhäufigkeiten für die Kläranlagen mit MBR (Abbildung 9) spiegeln in weiten Teilen die Ergebnisse für das klinisch beeinflusste Abwasser in der KA Grevenbroich und dem GWK Euskirchen-Kessenich wider. Ein wesentlicher Unterschied ist die deutlich reduzierte Zahl an Piperacillin-Nachweisen im Rohabwasser: Unter allen untersuchten Antibiotika scheint Piperacillin daher der stärkste Anzeiger eines klinischen Einflusses auf das am KA-Zulauf beprobte Abwasser zu sein. Die dargestellten Befundhäufigkeiten am KA-Ablauf beziehen sich auf das Membranpermeat unmittelbar nach der Filtration. Der Vergleich der Befundhäufigkeiten zwischen KA-Zulauf und -Ablauf deutet bezüglich der untersuchten Antibiotika auf keine zusätzliche Reduktionsleistung der Membranfiltration hin. Dies war so zu erwarten, da die Membranfiltration vornehmlich eine Barriere für Bakterien und Partikel und nicht für (im Abwasser gelöst vorliegende) Spurenstoffe darstellt. Es zeigen sich insgesamt sehr ähnliche Befundmuster zur konventionellen Klärtechnik.

Abbildung 10 zeigt die Konzentrationsverteilungen für die Antibiotika mit den häufigsten Positivbefunden - Sulfamethoxazol und Trimethoprim - in der KA Glessen. Die Konzentrationsverteilungen am Zu- und Ablauf unterscheiden sich qualitativ nicht von den Werten der konventionellen Kläranlagen in Grevenbroich und Euskirchen-Kessenich. Zusätzlich zeigt die Abbildung Messwerte vom Ablauf der GAK-Filtration, die als Versuchsanlage das Membranpermeat am KA-Ablauf im Teilstrom behandelt und in einem

begleitenden Forschungsprojekt (ebenfalls gefördert durch das MUNV NRW) regelmäßig beprobt wird. Die ARA-Messwerte am Ablauf der GAK-Filtration sind dabei durch Messwerte aus dem begleitenden Forschungsprojekt zur Versuchsanlage ergänzt. Die GAK-Filtration bewirkt für Trimethoprim eine zusätzliche Reduktion der Konzentrationen auf Werte unterhalb der Berichtsgrenze. Die Sulfamethoxazol-Konzentrationen im Ablauf der GAK-Filtration liegen zum Teil höher, sind allerdings beeinflusst durch einen Durchbruch der beladenen Aktivkohle in der ersten Jahreshälfte 2022. Nach Austausch der Aktivkohle kehrten die am Ablauf gemessenen Konzentrationen auch für Sulfamethoxazol zu Werten unterhalb der Berichtsgrenze zurück, so dass sich insgesamt ein sehr guter und zuverlässiger Rückhalt beider Stoffe durch die GAK-Filtration ergibt. Die Messwerte am GWK Kaarst-Nordkanal deuten gegenüber der konventionellen Klärtechnik ebenfalls auf eine verbesserte Reinigungsleistung, hier bedingt durch den Einsatz von Pulveraktivkohle in der biologischen Verfahrensstufe (Forschungsprojekt "MBR-AKTIV", gefördert durch das MUNV NRW, Bastian et al., 2021) (Daten im Kurzbericht nicht dargestellt).

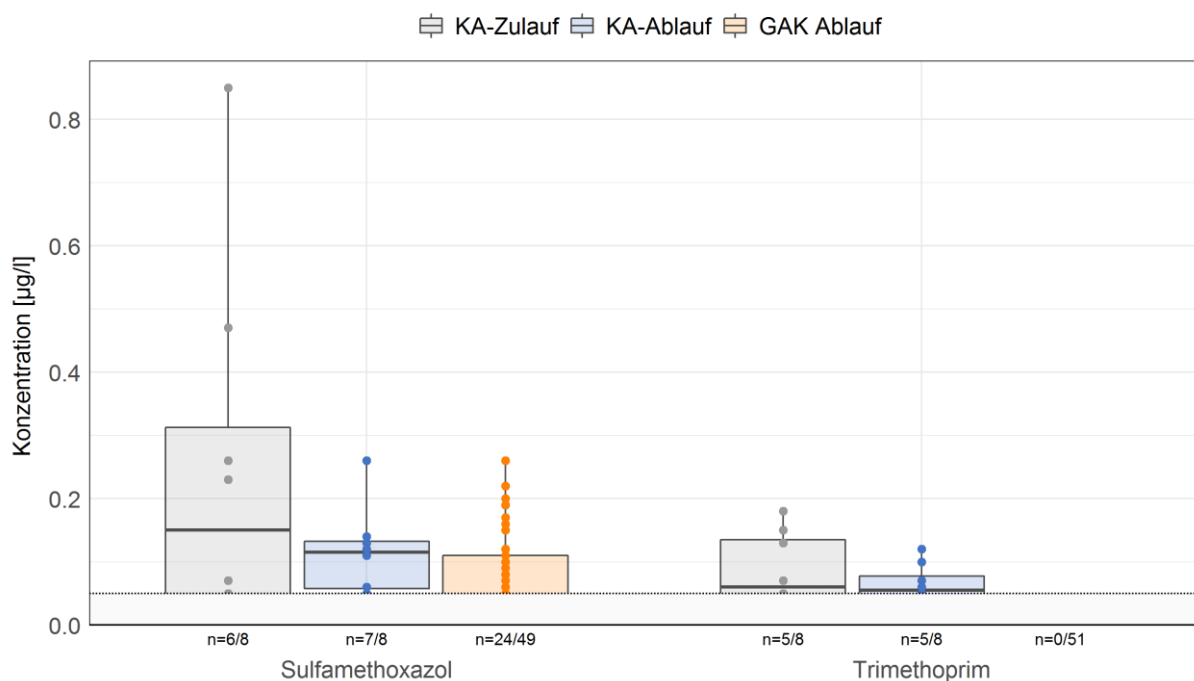


Abbildung 10: Konzentrationen von Sulfamethoxazol und Trimethoprim im Abwasser der KA Glessen.

Die Darstellung ist an der Berichtsgrenze abgeschnitten. n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. Konzentrationen oberhalb der Berichtsgrenze) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an. Die Konzentrationsverteilungen für Sulfamethoxazol am Ablauf der GAK-Filtration sind von einem Durchbruch der beladenen Aktivkohle beeinflusst (siehe Fließtext für nähere Erläuterungen).

3.2.2 Indikatororganismen

Die Konzentrationen der Indikatorparameter für die Membrankläranlagen sind in Abbildung 11 (KA Glessen) gezeigt. Die Mediane im Zulauf der Kläranlagen sind sehr ähnlich, im Ablauf der Kläranlage GWK Kaarst-Nordkanal konnten in den Proben häufiger Konzentrationen von *E. coli* und Enterokokken bestimmt werden. Die Konzentrationen bestätigten die Größenordnung an der KA Glessen. Die Passage durch den nachgeschalteten GAK-Filter bewirkte eine maximal geringfügige zusätzliche Reduktion.

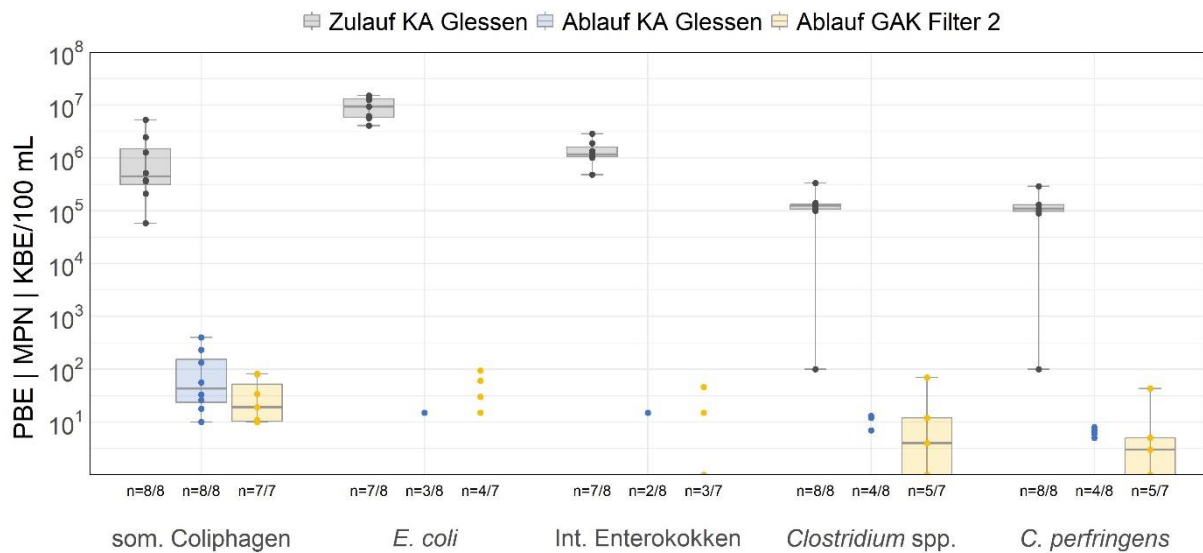


Abbildung 11: Konzentrationen der Indikatororganismen in den Proben der KA Glessen.

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. nachweisbar und statistisch sicher) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

3.2.3 Antibiotika-resistente Bakterien

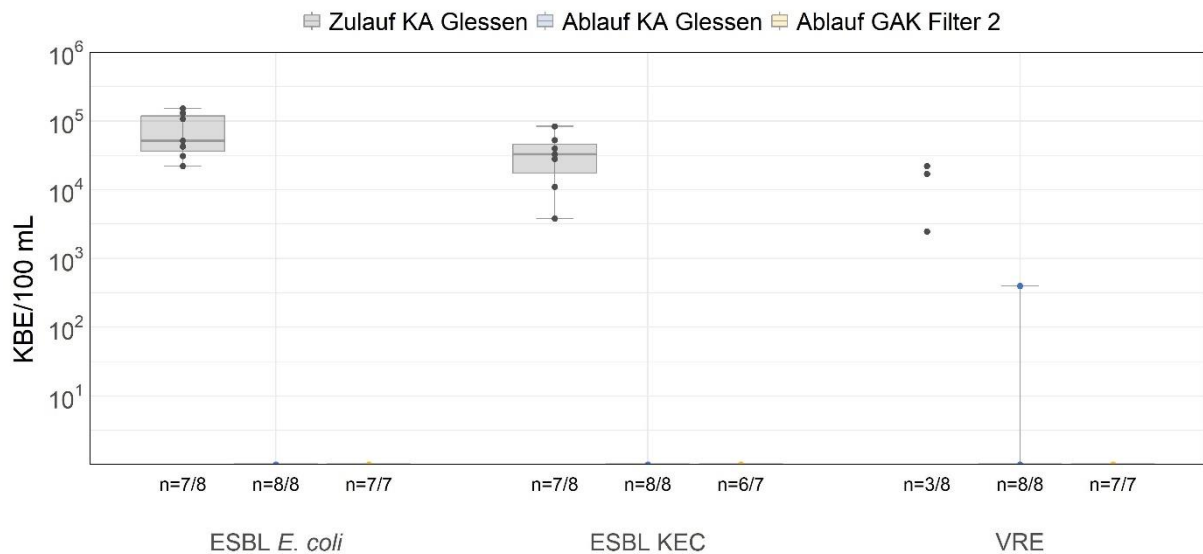


Abbildung 12: Konzentrationen der Antibiotika-resistenten Bakterien in den Proben des Monitoring-Programms KA Glessen (Membrankläranlage).

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. nachweisbar und statistisch sicher) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

Die Konzentrationen der Antibiotika-resistenten Bakterien in den Proben der KA Glessen sind in Abbildung 12 gezeigt. Die Zulaufkonzentrationen der gezeigten Antibiotika-resistenten Bakterien sind ausgehend vom Median jenen des GWK Kaarst-Nordkanal ähnlich (Daten nicht im Kurzbericht dargestellt). Im Ablauf beider MBR Kläranlagen konnten nur vereinzelt Antibiotika-resistenten Bakterien nachgewiesen werden. Eine entsprechende Wiederverkeimung im Ablauf der GAK findet nicht statt.

3.2.4 Antibiotikaresistenzgene

Das ARG *ermB* konnte in allen untersuchten Proben sowohl im Zu- als auch im Ablauf des GWK Kaarst-Nordkanal nachgewiesen werden (Abbildung 13). Durch die Aufbereitung des Abwassers mithilfe eines MBR fand eine Reduktion der *ermB*-Konzentration um >4 Log-Stufen statt. Gleiches gilt für das Gen *bla_{TEM}*. Das ARG *bla_{NDM-1}* wurde deutlich seltener und in deutlich geringerer Konzentration im Zulauf des GWK nachgewiesen, während *mcr-1* nur in vereinzelten Zulaufproben nachweisbar war.

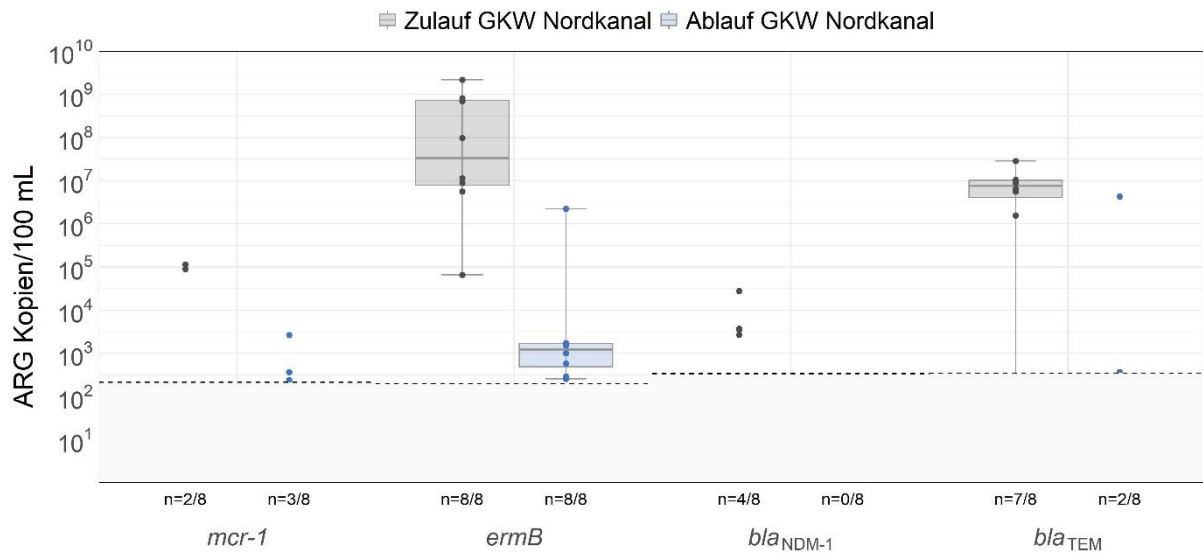


Abbildung 13: Konzentration der ARGs in den Proben des Monitoring-Programms GWK Kaarst-Nordkanal.

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. Konzentrationen oberhalb der jeweiligen LOD = Nachweisgrenze) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

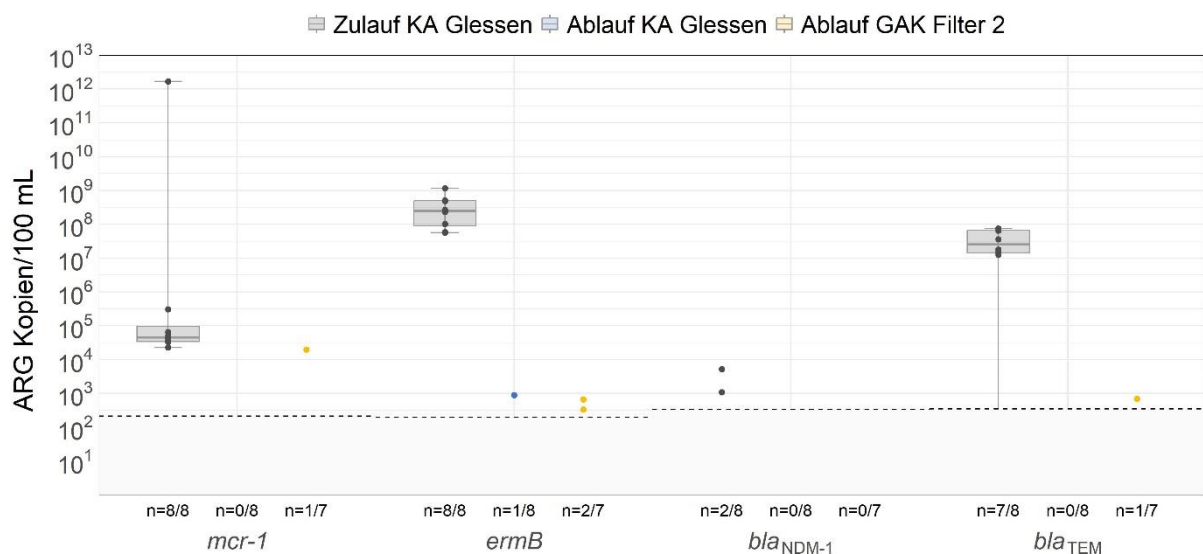


Abbildung 14: Konzentration der ARG in den Proben des Monitoring-Programms KA Glessen.

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. Konzentrationen oberhalb der jeweiligen LOD = Nachweisgrenze) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

Im Monitoring-Programm KA Glessen konnte das Resistenzgen *ermB* im Zulauf der Kläranlage immer nachgewiesen werden (Abbildung 14) Nach Aufbereitung in der Kläranlage fand eine fast komplette Reduktion der Genkonzentration (um 8 Log-Stufen) statt. Die beiden ARGs *mcr-1* und *bla_{TEM}* konnten im Zulauf in fast allen Proben nachgewiesen werden, während das Gen *bla_{NMD-1}* vereinzelt Zulaufproben nachweisbar war. Im Kläranlagenablauf als auch dem Ablauf des GAK-Filters waren alle Befunde für das ARG unterhalb der LOD.

3.3 RBF+ in Rheinbach

3.3.1 Antibiotika

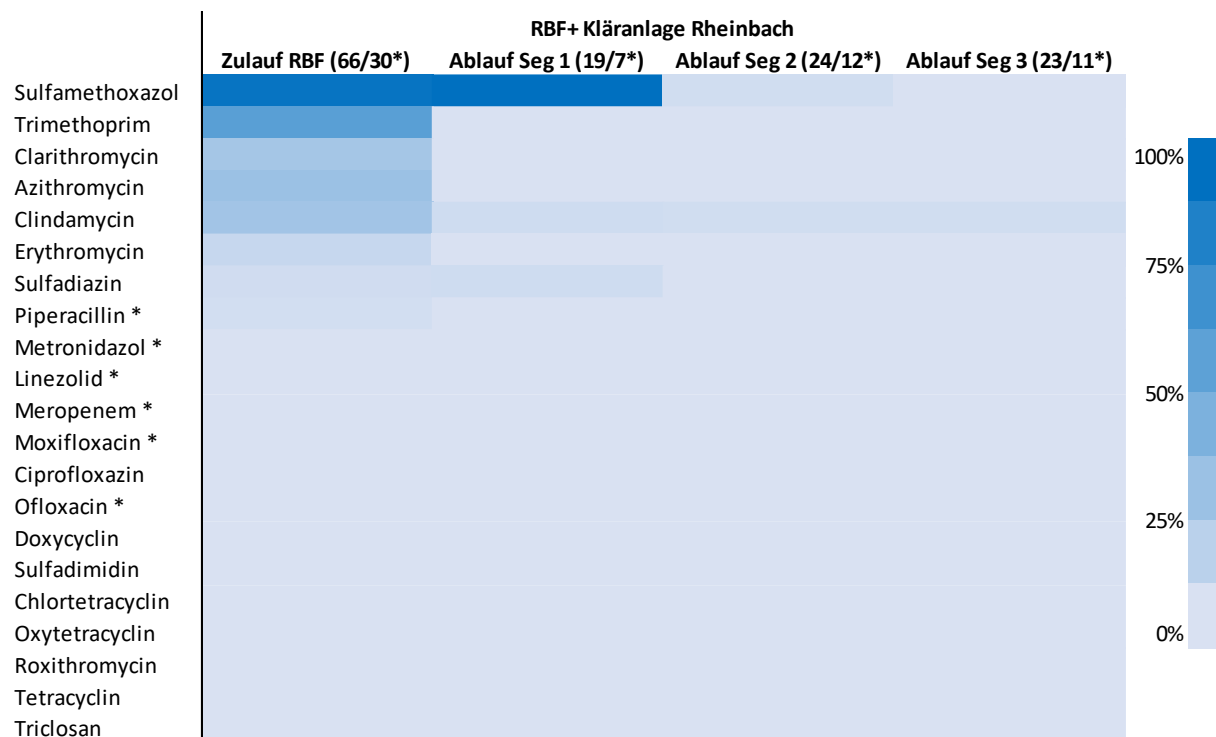


Abbildung 15: Positivbefunde der untersuchten Antibiotika an Zu- und Abläufen des RBF+ in Rheinbach (Routine-Betrieb).

In Klammern ist die Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben angegeben, die von der jeweiligen Probenahmestelle stammen. Die dem Standardparameterkanon des Erftverbandes hinzugefügten Antibiotika (*) sind nicht in allen Abwasserproben untersucht worden, so dass sich die Probenzahl für diese Wirkstoffe wie angegeben verringert.

Abbildung 15 zeigt die Befundhäufigkeiten der untersuchten Antibiotika (mit Triclosan) am Zulauf und Ablauf des RBF+ in Rheinbach im Routine-Betrieb. Sie sind erweitert um Daten anderer Forschungsprojekte des Erftverbandes („RBF Rheinbach“, gefördert durch das MUNV NRW, und „Flexreat“, gefördert durch das BMBF) und umfassen die gesamte Betriebszeit des RBF+ seit Ende 2019. Die Befundmuster im Zulauf sind im Wesentlichen identisch mit den entsprechenden Befundmustern an den KA-Abläufen (RBF+-Zulauf entspricht dem Ablauf der KA Rheinbach). An den verschiedenen RBF-Abläufen wird kein einziger Stoff noch regelmäßig nachgewiesen, mit Ausnahme von Sulfamethoxazol am Ablauf des (aktivkohlefreien) RBF-Segementes 1. Aufgrund der geringen Befundzahlen aller anderen Stoffe beschränkt sich die folgende Auswertung der gemessenen Konzentrationen auf Sulfamethoxazol (Abbildung 16). Es wird deutlich, dass alle drei Segmente eine Konzentrationsreduktion bewirken, eine

zuverlässige Reduktion auf Werte unterhalb der Berichtsgrenze aber nur in den Segmenten 2 und 3, d.h. mit zugesetzter GAK im Filterkörper möglich ist.

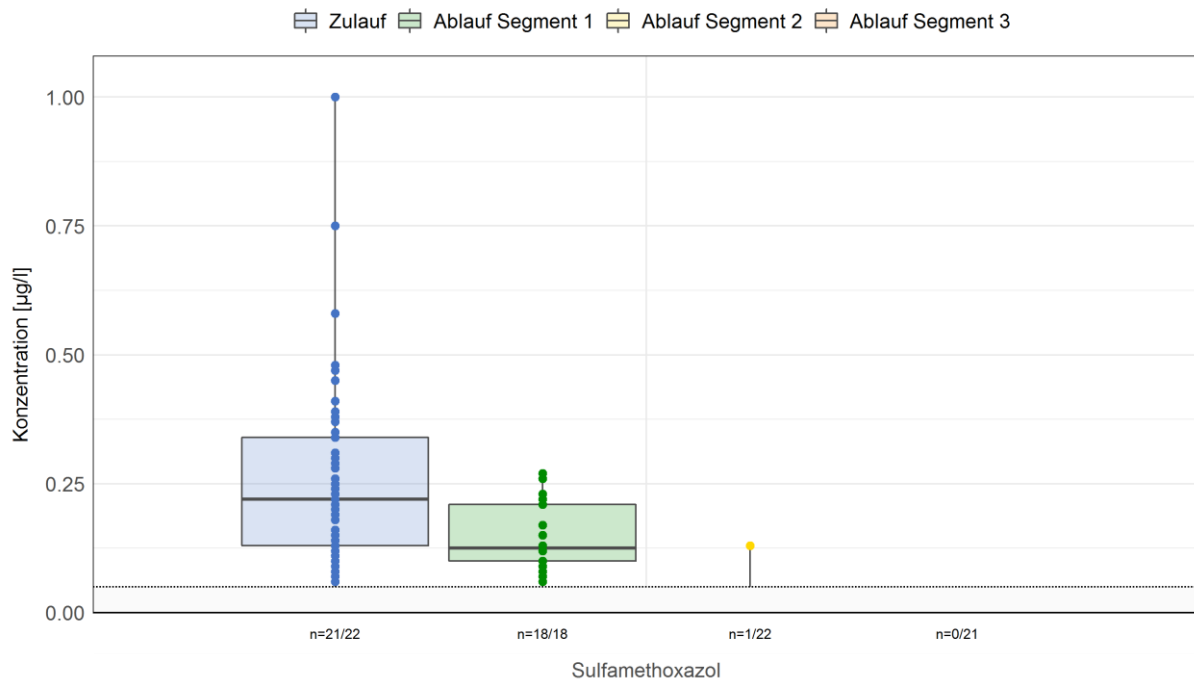


Abbildung 16: Konzentrationen von Sulfamethoxazol im RBF-Zulauf sowie den drei RBF-Abläufen (RBF-Segment 1 ohne GAK, Segment 2 und 3 mit GAK).

Die Darstellung ist an der Berichtsgrenze abgeschnitten. n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. Konzentrationen oberhalb der Berichtsgrenze) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

Abbildung 17 zeigt die Heatmap der Antibiotika-Befunde in den vom RBF+ behandelten Mischwasserabschlägen seit Ende 2019. Aufgrund der Verdünnung des Schmutzwassers mit Regenwasser finden sich insgesamt geringere Antibiotika-Konzentrationen im Zulauf des RBF als im Ablauf der Kläranlage Rheinbach. Es werden dementsprechend seltener Antibiotika im Zulauf des RBF nachgewiesen als im Routinebetrieb. Auch die Zusammensetzung der im Zulauf nachgewiesenen Wirkstoffe ist gegenüber dem Routinebetrieb verändert: Clindamycin ist nun das am häufigsten nachgewiesene Antibiotika. In den Abläufen aller drei RBF-Segmente finden sich kaum Antibiotika wieder. Eine wichtige Ausnahme ist Sulfamethoxazol, das im Ablauf des ersten Filtersegments in 100 % der genommenen Mischwasserproben nachgewiesen und damit häufiger als im Zulauf nachgewiesen wurde. Eine mögliche Erklärung hierfür ist eine Rücklösung von Sulfamethoxazol im Filterkörper des Segmentes 1 (ohne GAK).

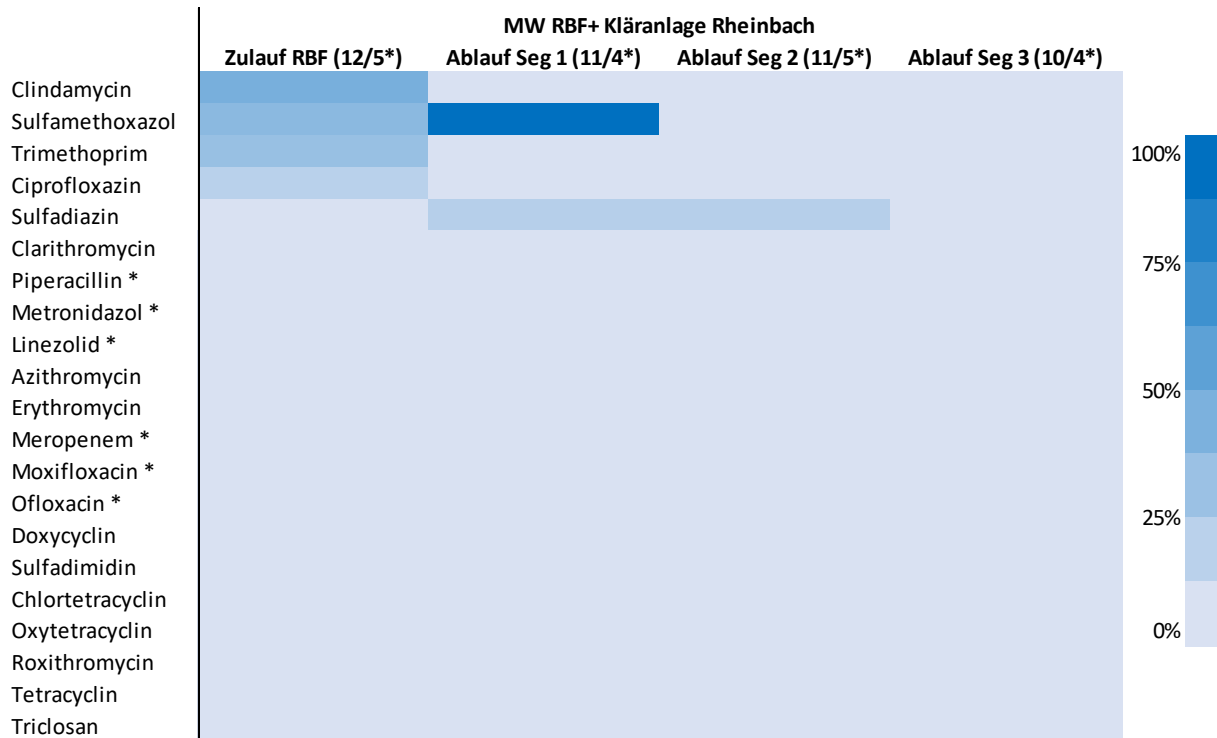


Abbildung 17: Positivbefunde der untersuchten Antibiotika an Zu- und Abläufen des RBF+ in Rheinbach (Mischwasserabschläge).

In Klammern ist die Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben angegeben, die von der jeweiligen Probenahmestelle stammen. Die dem Standardparameterkanon des Erftverbandes hinzugefügten Antibiotika (*) sind nicht in allen Abwasserproben untersucht worden, so dass sich die Probenzahl für diese Wirkstoffe wie angegeben verringert.

3.3.2 Indikatororganismen

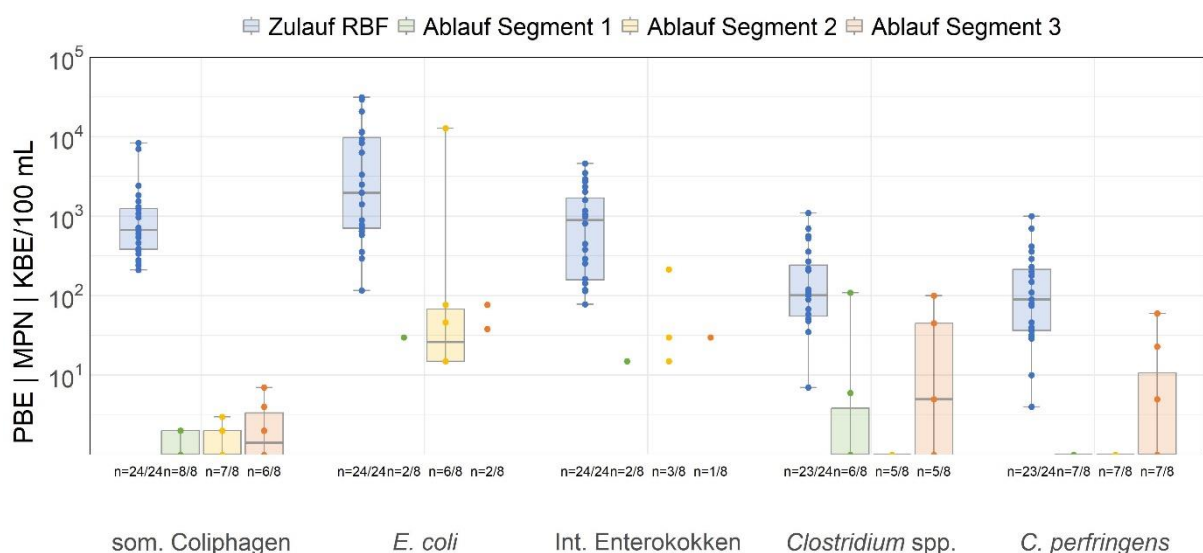


Abbildung 18: Konzentrationen der Indikatororganismen in den Proben des Monitoring-Programms KA Rheinbach (Retentionsbodenfilter) im Routine-Betrieb.

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. nachweisbar und statistisch sicher) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

Im Routine-Betrieb werden die Segmente des RBF+ alternierend mit dem Ablauf der KA Rheinbach beaufschlagt. Die Zulaufkonzentrationen (entspricht den Konzentrationen im Ablauf der KA Rheinbach). Über alle untersuchten Parameter hinweg erreicht der RBF+, zusätzlich zur Reinigungsleistung der KA, im Routine-Betrieb eine Reduktion um 2-3 Log Stufen (Abbildung 18). Neben dem Regelbetrieb als vierte Reinigungsstufe wird der RBF+ im Falle von Starkregen zur Behandlung des Mischwassers eingesetzt. Das Mischwasser hat eine völlig andere mikrobiologische Zusammensetzung als das geklärte Abwasser der Kläranlage. Auch hier zeigt sich eine Reduktionsleistung über alle Parameter von 2-3 Log-Stufen (Abbildung 19).

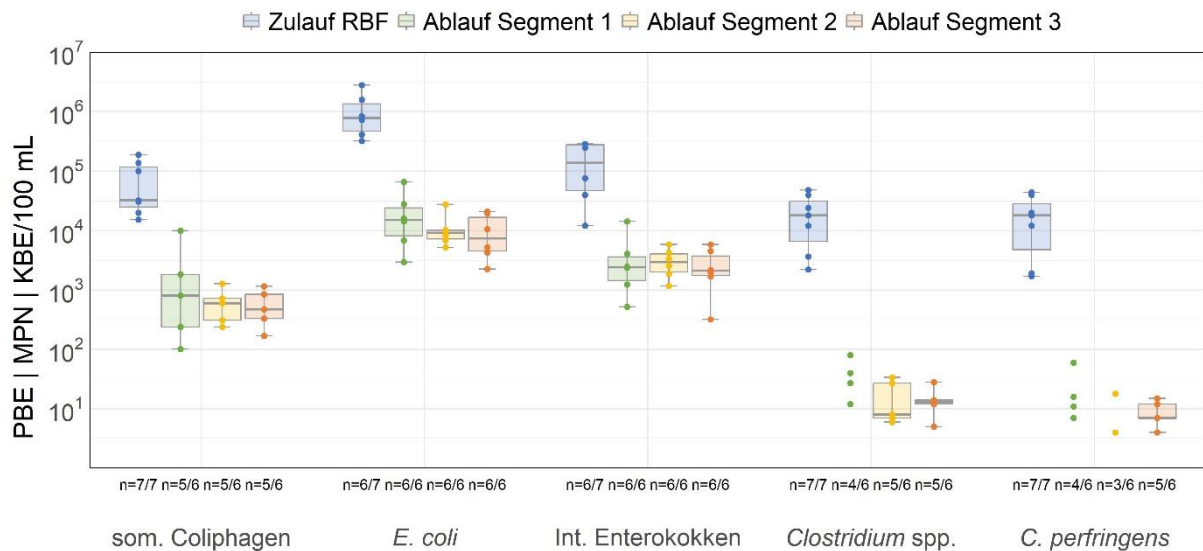


Abbildung 19: Konzentrationen der Indikatororganismen in den Proben des Monitoring-Programms KA Rheinbach (Retentionsbodenfilter) im Falle eines Mischwasserabschlags.

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. nachweisbar und statistisch sicher) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

3.3.3 Antibiotika-resistente Bakterien

Im Routine-Betrieb konnten nur im Zulauf des RBF+ Antibiotika-resistente Bakterien nachgewiesen werden (Daten im Kurzbericht nicht dargestellt), entsprechend der typischen Konzentration im Ablauf konventioneller Kläranlagen. Im Ablauf wurden in keiner Probe Antibiotika-resistente Bakterien nachgewiesen, unabhängig von dem Anteil der GAK in den einzelnen Segmenten. Im Falle der Behandlung von stärker belastetem Mischwasser zeigt sich, dass die Reduktion der Antibiotika-resistenten Bakterien bei der Passage durch den RBF+ mit 2-3 Log-Stufen der Reduktion der nicht resistenten Indikatorparameter entspricht (Abbildung 20).

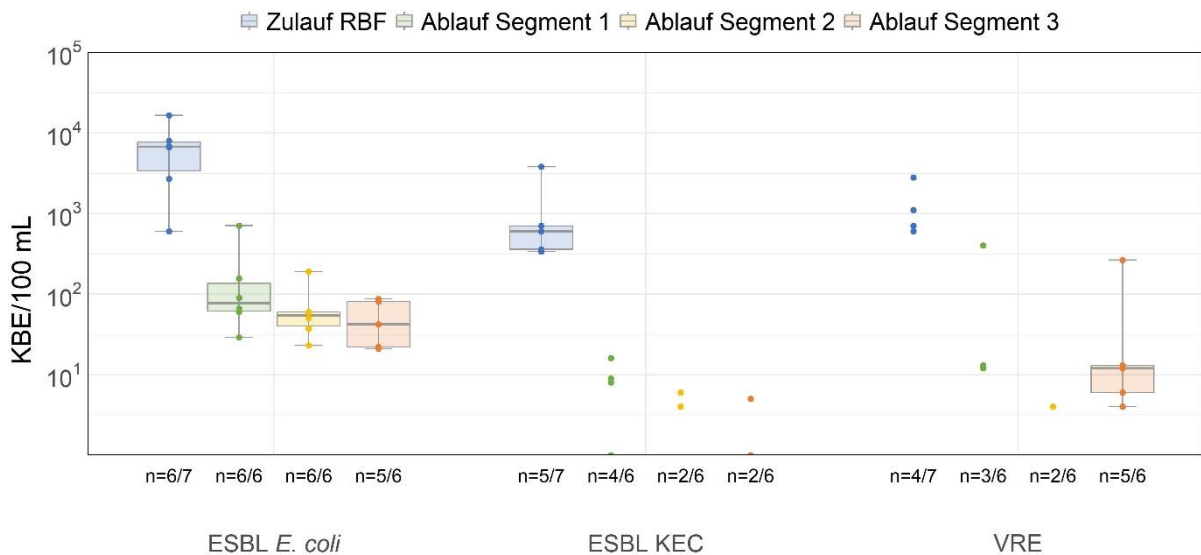


Abbildung 20: Konzentrationen der Antibiotika-resistenten Bakterien in den Proben des Monitoring-Programms KA Rheinbach (Retentionsbodenfilter) bei Mischwasserabschlag.

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. nachweisbar und statistisch sicher) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

3.3.4 Antibiotikaresistenzgene

Im Ablauf der Kläranlage Rheinbach (Zulauf RBF) konnten lediglich die Resistenzgene *ermB* und *bla_{TEM}* nachgewiesen werden. Die beiden ARGs *mcr-1* und *bla_{NDM-1}* konnten nur in vereinzelt Proben des Kläranlagenablaufs detektiert werden.

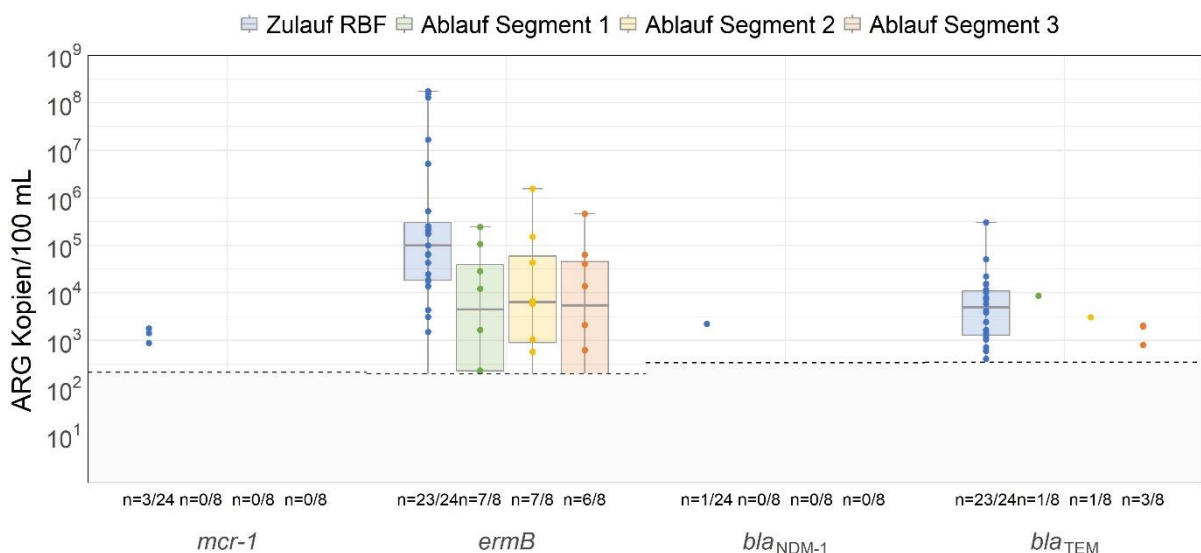


Abbildung 21: Konzentrationen der ARG in den Proben des Monitoring-Programms KA Rheinbach (Retentionsbodenfilter) im Regelbetrieb.

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. Konzentrationen oberhalb der jeweiligen LOD = Nachweisgrenze) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

Im Ablauf aller drei Segmente des Retentionsbodenfilters lagen die Konzentrationen der Resistenzgene *mcr-1* und *bla_{NDM-1}* unterhalb des jeweiligen LOD. Auch *bla_{TEM}* zeigte ein deutlich reduziertes Vorkommen mit nur vereinzelt Proben >LOD. Bei dem Gen *ermB* kann

eine Reduktion über die medianen Konzentrationen im Zu- und Ablauf des RBF im Regelbetrieb von ca. 1,5 Log-Stufen gezeigt werden. Der Anteil der Aktivkohle im Filterkörper scheint auf die Reduktion dieses ARGs keinen Einfluss zu haben.

Vergleichend mit der Beprobung im Regelbetrieb, traten auch bei den Mischwasserabschlägen die beiden ARGs *ermB* und *bla_{TEM}* am häufigsten und in den höchsten Konzentrationen auf. Das Gen *mcr-1* konnte nur in vier von sieben Proben detektiert werden, darunter war eine Probe mit einem Maximalwert von $5,6 \times 10^{11}$ GU/100 mL (Ausreißer). Das ARG *bla_{NDM-1}* konnte nur in einer einzelnen Probe im Ablauf des Segmentes 2 nachgewiesen werden. Im Ablauf der Segmente 1-3 konnte bei der Behandlung von Mischwasser in fast allen Proben das Resistenzgen *bla_{TEM}* nachgewiesen werden.

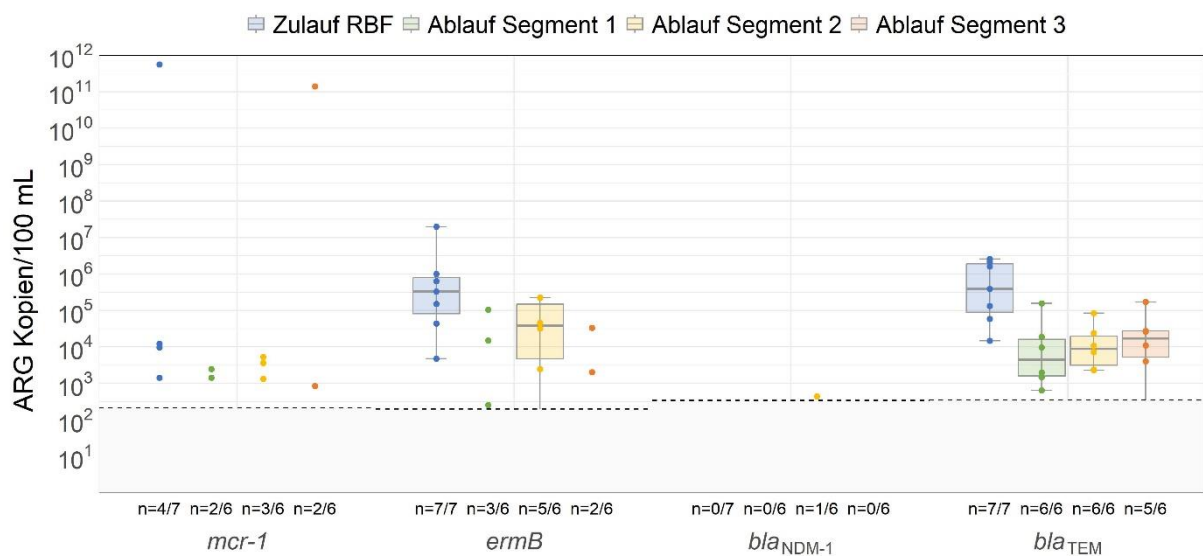


Abbildung 22: Konzentrationen der ARG in den Proben des Monitoring-Programms KA Rheinbach (Retentionsbodenfilter) bei einem Mischwasserabschlag.

n gibt die Anzahl der quantifizierbaren Konzentrationen (d.h. Konzentrationen oberhalb der jeweiligen LOD = Nachweisgrenze) im Verhältnis zur Gesamtzahl der untersuchten Abwasserproben an.

4. Synoptische Bewertung und Einordnung der Ergebnisse

Im HyReKA-Projekt wurde eine Bewertung der urbanen Gewässereinträge und Möglichkeiten der Eintragsminderung dargestellt (Pinnekamp et al., 2019). Anhand der Projektdaten sowie einer modellgestützten Frachtbilanzierung wurde der Frage nachgegangen, ob Krankenhäuser oder Siedlungsgebiete für den Haupteintrag von Antibiotika, Antibiotika-resistenten Bakterien und Antibiotikaresistenzgenen verantwortlich sind. Die Antwort fällt je nach Parameter unterschiedlich aus. Über alle im HyReKA-Projekt untersuchten Antibiotika wurden mehr als 80 % der Gesamtfracht dem Siedlungsgebiet als Ursprung zugeordnet, wobei einzelne Wirkstoffe wie Piperacillin mit deutlich größeren Frachtanteilen klinischem Abwasser zugeordnet werden konnte. Auch die Untersuchungen im ARA-Projekt zeigen, dass sich im näherungsweise unverdünnten Klinikabwasser extrem hohe Antibiotika-Konzentrationen einstellen können, auch für für Piperacillin. Die mikrobiologischen Untersuchungen im ARA-Projekt zeigen Konzentrationen von ESBL-produzierenden Bakterien (bzw. 3GCR-Bakterien) im Rohabwasser von 10^5 KBE/100mL, unabhängig von der Herkunft des Abwassers. Damit werden die Ergebnisse aus dem HyReKA-Projekt hinsichtlich des ubiquitären Vorhandenseins resistenter Bakterien im Abwasser bestätigt (unabhängig von Art und Anzahl der Antibiotikaresistenzen). Hinsichtlich der Antibiotikaresistenzgene haben Pinnekamp et al. (2019) im HyReKA-Projekt festgestellt, dass die untersuchten Gene *bla_{NDM-1}* und *bla_{TEM}* mit einem höheren Anteil an der Gesamtfracht aus Krankenhäusern als aus Siedlungsgebieten entlassen werden. Die Gene *ermB* und *mcr-1* werden hingegen mit einem Anteil von mehr als 90 % aus dem Siedlungsgebiet identifiziert. Das Antibiotikaresistenzgen *bla_{NDM-1}* wurde damit übereinstimmend im ARA-Monitoring sehr überwiegend im Krankenhausabwasser nachgewiesen (100 % der Proben). Die Gene *mcr-1*, *ermB* und *bla_{TEM}* konnten hingegen ähnlich häufig im klinisch beeinflussten und unbeeinflussten Abwasser nachgewiesen werden.

Abbildung 23 zeigt die Anteile der multiresistenten Isolate an den resistenten Gesamtisolaten im Rohabwasser der untersuchten Krankenhäuser und der nachgeschalteten Kläranlagen (ARA und HyReKA) sowie dem klinisch unbeeinflussten Rohabwasser. Multiresistente Bakterien mit dem Status 3MRGN nach KRINKO-Klassifizierung (d.h. mit Resistenz gegen 3 von 4 klinisch-relevanten Antibiotikagruppen) sind ubiquitär auch im klinisch unbeeinflussten Abwasser nachweisbar, Bakterien mit dem Status 4MRGN (d.h. mit Resistenz gegen alle 4 festgelegten Antibiotikagruppen) finden sich hingegen fast ausschließlich im klinischen sowie klinisch beeinflussten Abwasser. Das untersuchte Krankenhaus der Regelversorgung in Euskirchen (Marien-Hospital) emittiert dabei ähnliche Gesamtanteile multiresistenter Bakterien (3MRGN und 4MRGN) in das kommunale Abwassernetz wie der HyReKA-Maximalversorger, allerdings in umgekehrten Mengenverhältnissen: Unter allen multiresistenten Isolate finden sich im Abwasser des Regelversorgers mehr 3MRGN-Erreger, im Abwasser des Maximalversorgers hingegen mehrheitlich die besonders kritischen 4MRGN-Erreger. Dieses Muster ist auch an den Zuläufen der aufnehmenden Kläranlagen noch zu erkennen. Sowohl Regel- als auch Maximalversorger emittieren in gewissen Anteilen 4MRGN-Erreger mit zusätzlicher Resistenz gegen das Reserveantibiotikum Colistin (ColR). Die Erkenntnisse für den Regelversorger in Euskirchen lassen sich vermutlich auch auf den Grundversorger in Grevenbroich (Elisabethkrankenhaus) übertragen. Zwar fallen die Anteile multiresistenter Erreger im Klinikabwasser aus Grevenbroich insgesamt geringer aus, allerdings liegt dies wahrscheinlich an einer Untererfassung: In Grevenbroich konnte – anders als in Euskirchen – nicht der gesamte Abwasserstrom aus dem Krankenhaus an einer Probenahmestelle erfasst werden, und die Anteile multiresistenter Bakterien steigen im

gesammelten kommunalen Abwasser am Zulauf der Kläranlage Grevenbroich gegenüber der beprobten Klinikeinleitstelle an.

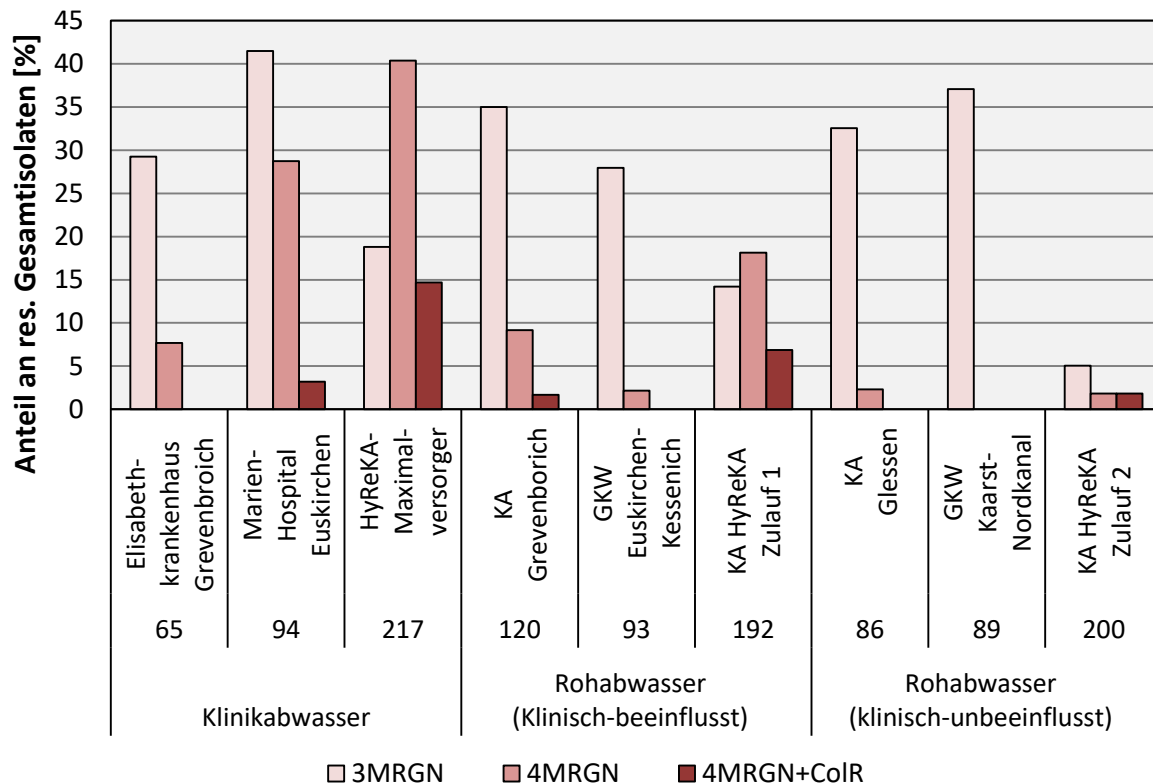


Abbildung 23: Anteile von multiresistenten Isolaten an den resistenten Gesamtisolaten der Rohabwasserproben des ARA Projektes im Vergleich zu den Proben des urbanen Fallbeispiels im Projekt HyReKA.

Eine immer noch im wissenschaftlichen Diskurs gestellte Frage ist, ob die Abundanz von resistenten und multiresistenten Bakterien im Abwasser und in der Umwelt stagniert oder es einen steigenden Trend gibt. In HyReKA wurde der Zulauf und auch der Ablauf der KA Rheinbach untersucht. Im Untersuchungszeitraum 2016-2019 konnten im Ablauf der KA Rheinbach (Regelbetrieb) bei 8,3 % der Isolate (n=189) ein 3MRGN-Status festgestellt werden, 0,5 % der Isolate wiesen in dem Untersuchungszeitraum auch einen 4MRGN-Status auf. Mit einem Anteil von 35 % multiresistenter Isolate im Ablauf der KA Rheinbach liegt der Anteil im ARA-Projekt vierfach höher als im HyReKA-Projekt. Die Zuläufe der kommunalen, klinisch nicht beeinflussten Kläranlagen in HyReKA wiesen im Mittel einen Anteil von 7,3 % 3MRGN- und 0,6 % 4MRGN-Isolaten auf. In ARA lag bei den Zuläufen der kommunalen, klinisch nicht beeinflussten Kläranlagen (GKW Kaarst-Nordkanal und KA Glessen) der Anteil an 3MRGN-Isolaten im Mittel bei 34,0 % und der Anteil an 4MRGN-Isolaten bei 1,2 % (Erhöhung der Multiresistenz um den Faktor 4,5). Auch hier müsste durch weitere Untersuchungen abgeklärt werden, ob die im ARA-Projekt höhere Belastung kommunaler Abwässer mit multiresistenten Krankheitserregern einen zeitlichen Trend widerspiegelt oder auf andere Faktoren zurückgeführt werden kann.

Abbildung 24 und Abbildung 25 zeigen exemplarisch die Zu- und Ablaufkonzentrationen für *E. coli* bzw. ESBL-bildendem *E. coli* an allen in den Projekten HyReKA (2016-2018) und ARA (2020-2023) untersuchten Kläranlagen des Ertfverbandes im direkten Vergleich. Die roten Pfeile zeigen die Reduktion der Mediankonzentrationen zwischen Zu- und Abläufen der

verschiedenen Anlagen an. Es zeigt sich, dass in der konventionellen Abwasserreinigung eine Reduktion der Mediankonzentrationen um ca. 2-3 Log-Stufen erzielt wird (entspricht einem Rückhalt von bis zu 99,9 % der Belastung im Zulauf). Für die Kläranlagen mit MBR, das GWK Nordkanal und die KA Glessen, ergibt sich eine Reduktion der Mediankonzentrationen von *E. coli* um ca. 5 Log-Stufen zwischen Zu- und Ablauf, was für ESBL-*E. coli* praktisch eine vollständige Reduktion bedeutet. Der RBF+ in Rheinbach erzielt als naturnahes Verfahren eine vergleichbare Reinigungsleistung: Über die gesamte Verfahrenskette vom Zulauf der vorgeschalteten KA Rheinbach bis zum Ablauf des RBF werden die Mediankonzentrationen von *E. coli* um ca. 5 Log-Stufen reduziert, ebenfalls gleichbedeutend mit einer vollständigen Reduktion der ESBL-*E. coli*. Für intestinale Enterokokken und VRE ergeben sich vergleichbare Ergebnisse (Daten im Kurzbericht nicht gezeigt). Für alle Verfahren gilt: Die Verringerung der Mediankonzentrationen fällt für die Indikatorbakterien und die jeweilige resistente Variante vergleichbar aus, d.h. es ergibt sich im Median weder eine An- noch eine Abreicherung der resistenten Bakterien in der Gesamtpopulation. Dieses Erkenntnis ist im Einklang mit den Ergebnissen verschiedener internationaler Studien zu dem Thema (Amador et al., 2015; Blaak et al., 2015; Korzeniewska et al., 2013). Auf Ebene etwaiger Multiresistenzen und der untersuchten Antibiotikaresistenzgene zeigt sich im ARA-Monitoring in den meisten Fällen ebenfalls kein Trend hin zu einer An- oder Abreicherung während der Abwasserbehandlung (Daten im Kurzbericht nicht gezeigt).

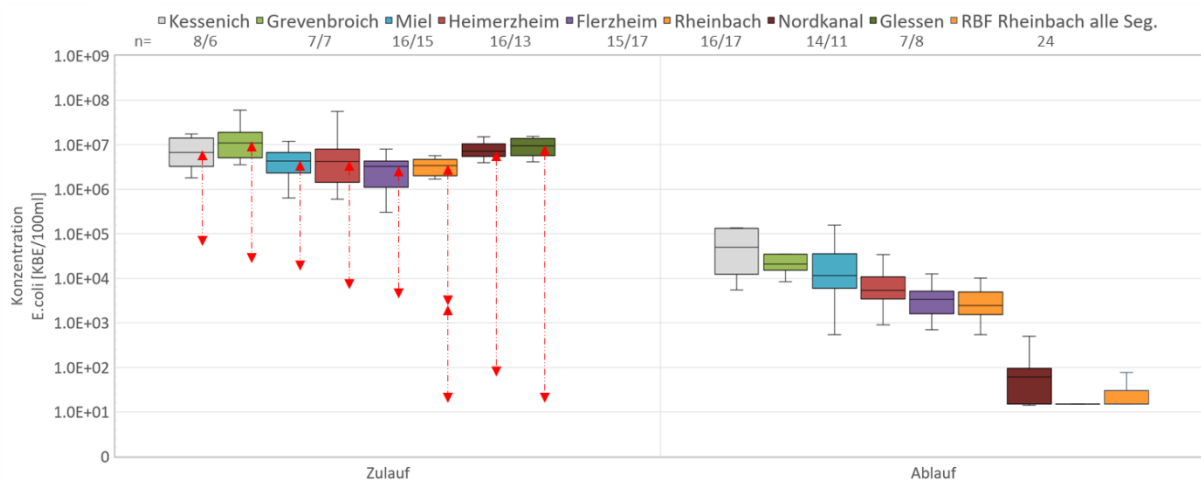


Abbildung 24: Quantifizierbare Konzentrationen koloniebildender Einheiten (KBE) von *E. coli* in den Zu- bzw. Abläufen der untersuchten Kläranlagen.

Das GWK Nordkanal und die KA Glessen sind mit einer Membranbelebung ausgestattet. Die Grafik ist Seiger (2023) entnommen.

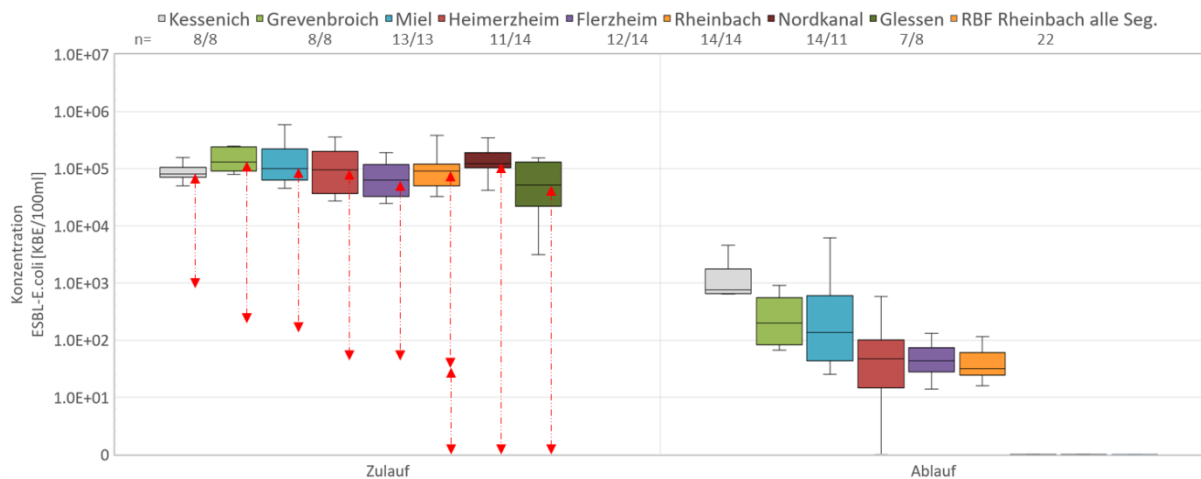


Abbildung 25: Quantifizierbare Konzentrationen koloniebildender Einheiten (KBE) von ESBL-produzierendem *E. coli* in den Zu- bzw. Abläufen der untersuchten Kläranlagen.

Das GWK Nordkanal und die KA Glessen sind mit einer Membranbelebung ausgestattet. Die Grafik ist Seiger (2023) entnommen.

Für den Vergleich der Reinigungsleistung hinsichtlich der untersuchten Antibiotika wurde Sulfamethoxazol ausgewählt, da dieser Wirkstoff über alle beprobten Anlagen die höchsten Befundanteile aufweist. Abbildung 26 zeigt als Balkendiagramm die mittleren und maximalen Sulfamethoxazol-Konzentrationen in den Zu- und Abläufen der in HyReKA und ARA untersuchten Kläranlagen. Die Mittel- und Maximalkonzentrationen an den Zu- und Abläufen sind sehr heterogen. Insgesamt schwanken die Reduktionsraten für die mittleren Sulfamethoxazol-Konzentrationen zwischen 6 % für das GWK Flerzheim (mit einer allerdings auch nur relativ geringen Ausgangsbelastung am Zulauf) und 80 % für das GWK Kaarst-Nordkanal. Die Reduktionsraten bezüglich der gemessenen Maximalwerte fallen insgesamt größer aus. Sie schwanken zwischen 38 % für die KA Grevenbroich und 80 % am GWK Kaarst-Nordkanal. Wie bereits in Abschnitt 3.2.1 erörtert spielt für den relativ guten Sulfamethoxazol-Rückhalt im GWK Kaarst-Nordkanal vermutlich die im Rahmen eines anderen Forschungsprojektes erfolgte Dosierung von Pulveraktivkohle (PAK) in die Belebung der Anlage eine Rolle. Der Effekt der PAK auf den Antibiotika-Rückhalt im GWK Kaarst-Nordkanal konnte im Projekt ARA aufgrund der Art der Probenahme nicht gezielt untersucht werden. Dies verhält sich anders mit der granulierten Aktivkohle (GAK) in den Segmenten 2 und 3 des RBF+ in Rheinbach sowie der Versuchsfilteranlage auf der KA Glessen. An beiden Standorten ist ersichtlich, dass die Aktivkohle die Sulfamethoxazol-Konzentrationen im Abwasser verlässlich auf Werte unterhalb der Berichtsgrenze reduziert (wobei die Messwerte an der Versuchsanlage in Glessen von einem zeitweiligen Sulfamethoxazol-Durchbruch gekennzeichnet sind, Daten im Kurzbericht nicht gezeigt).

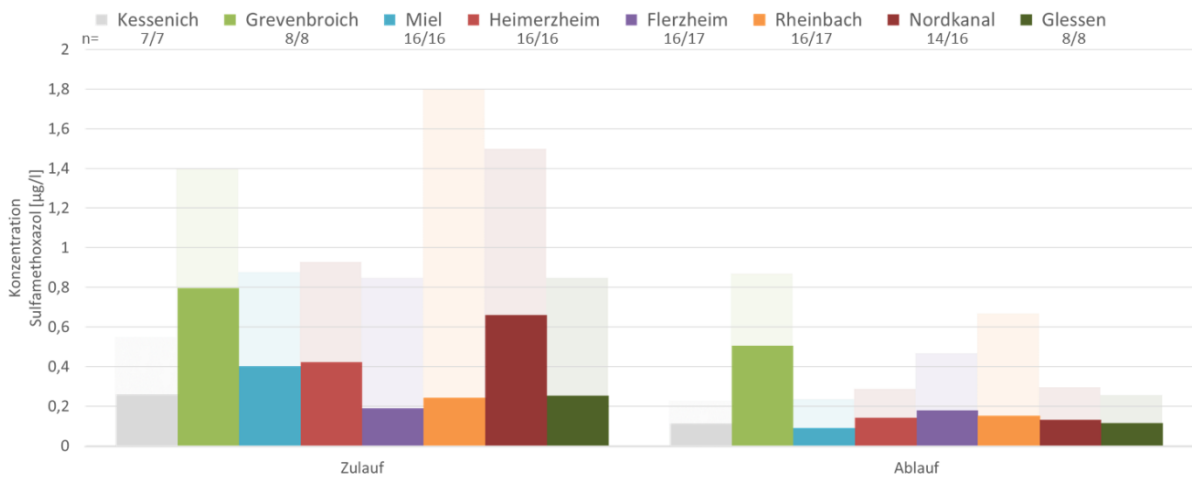


Abbildung 26: Mittlere und maximale Konzentrationen von Sulfamethoxazol in den Zu- bzw. Abläufen der untersuchten Kläranlagen.

Die Maximalwerte sind blass im Hintergrund dargestellt. Für die Bestimmung und Mittel- und Maximalwerte wurden Messwerte unterhalb der Berichtsgrenze der Berichtsgrenze gesetzt (*worst-case-Annahme*). Die Grafik ist Seiger (2023) entnommen.

Die guten Reinigungsergebnisse des RBF+ in Rheinbach sind insbesondere aufgrund der gegenüber dem MBR deutlich geringeren Betriebskosten beachtlich, weswegen der RBF+ in vielen Fällen das wahrscheinlich kostengünstigere Verfahren darstellt. Zu berücksichtigen ist allerdings, dass für den Bau eines RBF+ deutlich mehr Fläche benötigt wird, die nicht an allen Kläranlagenstandorten verfügbar ist. Da die benötigte Filterfläche zudem maßgeblich von der zu erwartenden Abwassermenge abhängig ist, stellt die Größe der vorgeschalteten Kläranlage einen bestimmenden Faktor für die Realisierbarkeit dar. Für deutlich größere Kläranlagen als die KA Rheinbach wird sich der RBF+ als Maßnahme der weitergehenden Abwasserbehandlung vermutlich nicht umsetzen lassen. Es ist des Weiteren wichtig zu betonen, dass der Kostenvorteil des RBF+ stark von der Annahme abhängig ist, dass keine regelmäßige Erneuerung der Aktivkohle im Filterkörper zur Aufrechterhaltung des Spurenstoffrückhaltes notwendig wird. Eine in Abstand von wenigen Jahren notwendige Erneuerung der Aktivkohle wäre unvermeidlich mit erheblichen Mehrkosten verbunden. Der Erftverband hat aus dem mehrjährigen Betrieb einer RBF+-Pilotanlage sowie Laborversuchen Hinweise, dass biologische Prozesse im Filterkörper die Lebensdauer der Aktivkohle im RBF+ gegenüber einer konventionellen GAK-Filtration wie auf der KA Glessen deutlich erhöhen. Mit Stand Herbst 2023 ist nach beinahe vierjährigem Betrieb der RBF+-Großtechnik noch kein Durchbruch organischer Spurenstoffe für die GAK-Segmente des Filters festgestellt worden. Ob sich allerdings tatsächlich eine Langlebigkeit der Aktivkohle über mehrere Jahrzehnte ergibt, wird sich erst im weiteren Betrieb des RBF+ in Rheinbach zeigen.

Vor dem Hintergrund der beschriebenen Unterschiede zwischen klinisch beeinflusstem und unbeeinflusstem Abwasser stellt sich die Frage, ob Maßnahmen zum besseren Rückhalt von Antibiotika und Antibiotikaresistenzen im Abwasser besser zentral (auf Ebene der kommunalen Kläranlagen) oder dezentral (auf Ebene der Risikoeinleiter, d.h. der Krankenhäuser) begegnet werden sollte (siehe beispielsweise auch Paulus et al. 2019). Die im ARB Projekt des LANUV (Dericks et al., 2023) untersuchten dezentralen Behandlungsanlagen am Marienhospital Gelsenkirchen² sowie am Waldkrankenhaus

² <https://klaerwerk.info/nuetzliches/allgemeine-meldungen-und-berichte/emschergenossenschaft-pills-kläranlage-geht-in-gelsenkirchen-an-den-start/>

Waldbröl (Mauer, 2011) zeigen, dass auch aufwendigere Maßnahmen zur gesonderten Aufbereitung von Krankenhausabwasser mit Erfolg realisierbar sind. Das IHPH untersucht seit September 2019 in dem Interreg Projekt SPOWAR³ mit mehreren Partnern aus Deutschland und den Niederlanden an der Entwicklung neuer Technologien für die effiziente und ressourcenschonende Behandlung von Abwasser ohne Einsatz von Verbrauchskemikalien (z.B. Bioziden). Als möglicher Anwendungsbereich wird in dem Projekt die dezentrale Behandlung von Abwasser aus Hochrisiko-Einrichtungen (Medizinische Einrichtungen) sowie anderen kritischen Bereichen genannt. Eine dezentrale Abwasseraufbereitung ist eventuell auch vor dem Hintergrund möglicher Abschläge aus der Mischkanalisation sinnvoll, welche große Frachtanteile Antibiotika-resistenter Bakterien an der Kläranlage vorbei in die Gewässer einbringen können (Pinnekamp et al. 2019). Auch die ARA-Untersuchungen am RBF+ in Rheinbach zeigen, dass das entlastete Abwasser aus der Mischkanalisation in Rheinbach deutlich größere Konzentrationen Antibiotika-resistenter Bakterien beinhaltet als das konventionell behandelte Abwasser im Ablauf der Kläranlage. Eine weitergehende Diskussion dieser Thematik findet sich in Kapitel 5.

³ <https://deutschland-niederland.eu/projects/spowar/>

5. Kernaussagen

- 1. Antibiotika-resistente Bakterien und Antibiotika sind ubiquitär in kommunalem Abwasser zu finden. Klinisch relevante, multiresistente Bakterien sowie kritische Last-Resort-Antibiotika werden jedoch in besonderem Maße über Krankenhausabwasser verbreitet.**

Die im Projekt untersuchten Antibiotika-resistenten Bakterien (ESBL-produzierende Bakterien und VRE) sind in den Zuläufen aller untersuchten Kläranlagen nachgewiesen worden, unabhängig von einer Beeinflussung durch Krankenhausabwasser in den zugehörigen Einzugsgebieten. Diese Bakterien werden dementsprechend auch aus dem ambulant-häuslichen Bereich (d.h. aus der Allgemeinbevölkerung) in die öffentlichen Kanalsysteme eingebracht. Hierzu zählen auch multiresistente Bakterien, die der 3MRGN-Gruppe zuzurechnen sind. Die besonders kritischen 4MRGN-Erreger finden sich hingegen fast ausschließlich in klinisch beeinflusstem Abwasser. In klinisch unbeeinflusstem Kommunalabwasser hingegen sind diese Erreger kaum vorhanden. Ebenso wie resistente Bakterien waren auch Antibiotikaresistenzgene in allen untersuchten Abwasserproben nachweisbar, allerdings mit deutlichen Unterschieden zwischen den verschiedenen Genen. Insbesondere das Resistenzgen bla_{NDM-1} zeigt eine erhöhte Nachweishäufigkeit in klinischem bzw. klinisch beeinflusstem Abwasser, wohingegen es in klinisch unbeeinflusstem Abwasser nur selten nachgewiesen werden konnte.

Die Antibiotika-Befundmuster ähneln sich in den untersuchten Kläranlagenzuläufen (sowohl klinisch beeinflusst als auch klinisch unbeeinflusst) weitgehend, mit wiederkehrend häufigen Nachweisen der Wirkstoffe Sulfamethoxazol, Trimethoprim, Ciprofloxazin sowie verschiedenen Makrolid-Antibiotika (insbesondere Clarithromycin und Azithromycin). Klinisch beeinflusstes Abwasser zeichnet sich durch die Anwesenheit zusätzlicher Wirkstoffe aus, die als Reserve- oder Last-Resort-Antibiotika ausschließlich im klinischen Umfeld eingesetzt werden. Als hochspezifischer Marker für eine klinische Beeinflussung sticht bei den ARA-Untersuchungsdaten Piperacillin heraus: An den KA-Zuläufen mit Klinikeinfluss wurde es praktisch immer nachgewiesen, an den KA-Zuläufen ohne Klinik im Einzugsgebiet war Piperacillin hingegen nie oder nur vereinzelt nachweisbar. In unverdünntem Klinikabwasser konnten dabei zum Teil sehr hohe Antibiotika-Konzentrationen bestimmt werden. So wurden in einzelnen Klinikabwasserproben aus Grevenbroich Tagesdurchschnittskonzentrationen für Piperacillin deutlich oberhalb therapeutisch wirksamer Werte festgestellt. Solch hohe Wirkstoffkonzentrationen lassen die Selektion von Antibiotika-resistenten Bakterien im Kanalsystem – zumindest zeitweilig und lokal – möglich erscheinen, ohne dass dies im ARA-Projekt gezielt untersucht wurde.

- 2. Die untersuchten Krankenhäuser der Grund-, Regel- und Maximalversorgung emittieren erhöhte Anteile klinisch relevanter, multiresistenter Bakterien. Im Abwasser der Grund- und Regelversorger finden sich allerdings mehrheitlich 3MRGN-Isolate. Im Abwasser des Maximalversorgers werden mehrheitlich die besonders kritischen 4MRGN-Isolate nachgewiesen.**

Die Untersuchungsergebnisse aus dem HyReKA-Projekt zeigen, dass die durch den Maximalversorger freigesetzten, Gram-negativen Krankheitserreger mit Antibiotikaresistenz zu zwei Dritteln einer der beiden klinisch relevanten, multiresistenten Gruppen (3MRGN oder

4MRGN) zugeordnet werden können. Dieser Gesamtanteil bestätigt sich im ARA-Projekt für den Regelversorger in Euskirchen. An der untersuchten Einleitstelle des Grundversorgers in Grevenbroich ist der Anteil geringer (ca. ein Drittel aller Gram-negativen Erreger haben eine Antibiotikaresistenz). Allerdings liegt hier eine Untererfassung nahe, da nicht der gesamte Abwasserstrom aus dem Krankenhaus erfasst wurde und die Anteile im gesammelten kommunalen Abwasser am Zulauf der Kläranlage Grevenbroich wieder deutlich zunehmen. Wie unter Kernaussage 1 beschrieben ist die Anwesenheit von 4MRGN-Erregern eine charakteristische Eigenschaft von klinisch beeinflusstem Abwasser. Die Untersuchungen im ARA-Projekt zeigen allerdings, dass die Grund- und Regelversorger deutlich geringere Anteile an 4MRGN-Erregern in das Abwasser freisetzen als der HyReKA-Maximalversorger (rund 10 % bzw. 30 % der resistenten Gram-negativen Bakterien beim Grund- bzw. Regelversorger, mehr als 50 % beim Maximalversorger). Umgekehrt emittieren Grund- und Regelversorger in größerem Ausmaß 3MRGN-Erreger (ca. 30 % bzw. 40 % der resistenten Gram-negativen Erreger gegenüber ca. 20 % beim Maximalversorger). Obwohl Klinikabwasser daher insgesamt ein größeres Risikopotenzial bezüglich der Verbreitung Antibiotika-resistenter Krankheitserreger als häuslich-kommunales Abwasser aufweist, bestehen je nach genauer Herkunft des Klinikabwassers (d.h. Klinikgröße und/oder Versorgungsstufe) Unterschiede bezüglich der Erregeranteile nach MRGN-Klassifizierung.

3. Die Erkenntnisse bezüglich des Emissionsgeschehens sollten anhand weiterer Klinikstandorte und Kanaleinzugsgebiete abgesichert werden. Für die Aufklärung etwaiger zeitlicher Trends im Aufkommen von Antibiotikaresistenzen im Abwasser bedarf es systematischer Langzeituntersuchungen.

Über HyReKA und ARA wurden projektübergreifend Abwässer von insgesamt drei Krankenhäusern untersucht (jeweils einem Grund-, Regel- und Maximalversorger). Um die Verallgemeinerbarkeit der Ergebnisse abzusichern, sollten die erhobenen Daten um weitere Krankenhäuser und medizinische Einrichtungen ergänzt werden. Das NRW-weite Monitoring-Programm des LANUV im parallellaufenden ARB-Projekt liefert in dieser Hinsicht vermutlich bereits wertvolle Hinweise. Der Datenvergleich zwischen dem HyReKA-Projekt (2016-2019) und dem ARA-Projekt (2020-2023) ergibt bei gleicher Methodik systematisch höhere Anteile multiresistenter Bakterien im späteren Messzeitraum. Dies betrifft insbesondere das Aufkommen von 3MRGN-Erregern im klinisch unbeeinflussten Abwasser. Ob sich aus dieser Diskrepanz ein zeitlicher Trend im Resistenzauftreten in Abwässern ableiten lässt, muss in Langzeitmessreihen unter Berücksichtigung weiterer Einflussfaktoren wie den spezifischen Eigenschaften der betrachteten Einrichtungen und Einzugsgebiete sowie den Witterungsverhältnissen während der Probenahmen ermittelt werden. Die Aufklärung etwaiger zeitlicher Trends ist essentiell für die Interpretation der erhobenen Messdaten. Diese können entweder einen mehr oder weniger statischen Zustand bei der Verbreitung multiresistenter Bakterien im Abwasser widerspiegeln, oder sie markieren einen Zwischenzustand in einem dynamischen Ausbreitungsgeschehen, welches durch ein sukzessives Vordringen multiresistenter Bakterien aus dem klinischen auch in den ambulanten und häuslichen Bereich gekennzeichnet ist.

4. Die konventionelle (d.h. mechanisch-biologische) Abwasserbehandlung erreicht bereits eine weitgehende Reduktion von Antibiotika-resistenten Bakterien im Abwasser, für einen vollständigen Rückhalt bedarf es allerdings einer weitergehenden Abwasserbehandlung.

Durch die konventionelle Klärung des Abwassers können die hygienisch-mikrobiologischen Parameter um 2-3 Log-Stufen reduziert werden. Dies entspricht einem Rückhalt von bis zu 99,9 % der Zulaufbelastung. Diese Erkenntnis ist sowohl nach den HyReKA- als auch nach den ARA-Daten unabhängig vom bakteriellen Resistenzstatus, was bedeutet, dass in der Kläranlage keine relative Zu- oder Abnahme des Anteils Antibiotika-resistenter Bakterien an der Gesamtpopulation stattfindet. Ebenso ergibt sich in der Kläranlage auch keine Verschiebung hinsichtlich des Anteils multiresistenter Bakterien (3MRGN und 4MRGN), d.h. dass der konventionelle Klärprozess offenbar keinen Selektionsdruck auf Bakterien hinsichtlich ihres Resistenzstatus ausübt. Dies bestätigt sich ebenso auf Ebene der untersuchten Resistenzgene, wenn deren Konzentrationen ins Verhältnis zum bakteriellen 16S rRNA-Gen (d.h. zum allgemeinen Bakterienaufkommen im Abwasser) gesetzt werden. Trotz des bereits guten Rückhaltes resistenter Bakterien in konventionellen Kläranlagen ergibt sich am KA-Ablauf immer noch eine Belastung beispielsweise mit ESBL-bildenden *E. coli* von ca. 100 KBE/100 ml im Median. Eine annähernde Totalelimination resistenter Bakterien am KA-Ablauf kann nur mit einer weitergehenden Abwasserbehandlung erzielt werden. Bezüglich der untersuchten Resistenzgene lassen sich weitgehend analoge Schlussfolgerungen formulieren, wobei die im konventionellen Klärprozess erzielten Reduktionsraten zwischen 1 und 3 Log-Stufen schwanken und damit insgesamt variabler ausfallen als für die kulturbasierten Untersuchungsparameter.

5. Membranbioreaktoren (MBR) und Retentionsbodenfilter (RBF) erreichen gleichwertige Reduktionsleistungen bezüglich (Antibiotika-resistenter) Bakterien und eignen sich in dieser Hinsicht gleichermaßen zur weitergehenden Abwasserbehandlung.

Sowohl die im ARA-Projekt beprobten MBR-Kläranlagen als auch das naturnahe Verfahren des RBF+ in Rheinbach erzielen eine Erhöhung der Reduktionsleistung um ca. 2 Log-Stufen gegenüber der konventionellen Abwasserbehandlung, d.h. über den gesamten Klärprozess ergibt sich eine Gesamtreduktion der Zulaufbelastung um ca. 5 Log-Stufen. Antibiotika-resistente Bakterien finden sich nach der Behandlung mittels MBR oder RBF+ entsprechend gar nicht mehr oder nur noch vereinzelt im Abwasserstrom, so dass ein praktisch vollständiger Rückhalt erzielt wird. Genau wie im rein konventionellen Klärprozess wirken die weitergehenden Behandlungsverfahren dabei nicht selektierend bezüglich des Resistenzaufkommens in der Bakterienpopulation. Die praktisch vollständige Elimination resistenter Bakterien beruht auf der durch Membranfiltration bzw. Bodenpassage erzielten Erhöhung des Gesamtrückhaltes von Mikroorganismen im Abwasser. Beide Verfahren – sowohl MBR als auch RBF+ – führen darüber hinaus zu einer vergleichbaren Reduktionsleistung bezüglich der Reduktion von Resistenzgenen um weitere 1-2 Log-Stufen, wobei sich zwischen den verschiedenen Genen und Anlagentypen teils relativ große Schwankungsbreiten zeigen. Antibiotika (und andere organische Spurenstoffe) lassen sich bei beiden Verfahren durch die Kombination mit Aktivkohle verlässlich aus dem Abwasserstrom entfernen – beispielsweise in Form von PAK als Zusatz zum Belebtschlamm beim MBR-Verfahren oder in Form von GAK als Zusatz zum RBF-Filtersubstrat. Die weitgehend

vergleichbare Reduktionsleistung beider Verfahren bezüglich der untersuchten Parameter ist insbesondere vor dem Hintergrund der deutlich geringeren Betriebskosten des RBF+ interessant. Die Realisierbarkeit eines RBF+ zur weitergehenden Abwasserbehandlung ist allerdings stark von der Größe der vorgeschalteten Kläranlage abhängig und das Einsatzpotenzial von der für den Bau zur Verfügung stehenden Fläche limitiert.

6. Eine weitergehende Abwasserbehandlung zur Reduktion von Antibiotikaresistenzen im Abwasser muss in ein Gesamtkonzept eingebettet sein, welches allen weiteren Behandlungszielen unter den örtlichen Gegebenheiten (Trenn- oder Mischsystem, Fremdwassereinfluss, Eigenschaften des Vorfluters) gerecht wird. Insbesondere ist die Rolle von Mischwasserabschlägen zu berücksichtigen, welche große Frachtanteile Antibiotika-resistenter Bakterien (inklusive multiresistenter Krankheitserreger) in die aquatische Umwelt emittieren.

Im Falle der Aufrüstung kommunaler Kläranlagen mit einer weitergehenden Abwasserbehandlung zur Eliminierung von Antibiotikaresistenzen ist aus Wirtschaftlichkeitserwägungen eine Priorisierung von Anlagen erforderlich. Diese Priorisierung muss dabei in den breiteren Kontext z.B. auch der Spurenstoffproblematik eingebettet sein. Mögliche Priorisierungskriterien sind sensible Gewässernutzungen (z.B. Trinkwassergewinnung) unterhalb der betreffenden Einleitung, die Größenklasse der Kläranlage sowie der anzunehmende Anteil des Abwasseraufkommens am Abfluss des aufnehmenden Gewässers. Darüber hinaus sind die Eigenschaften des Einzugsgebietes der Kläranlage zu berücksichtigen, hier insbesondere das Vorhandensein von Klinikeinleitungen sowie die Verdünnung des klinischen Abwassers im gesamten Abwasser, welches der Kläranlage zufließt. In diesem Zusammenhang ist auch die Rolle von Mischwasserentlastungen aus dem Kanalnetz von entscheidender Bedeutung. Die HyReKA-Ergebnisse haben bestätigt, dass Mischwasserentlastungen einen Haupteintragspfad für resistente Bakterien in die aquatische Umwelt darstellen. Aufgrund der bereits guten Eliminationsleistung von konventionellen Kläranlagen (bis zu 99,9 % der mikrobiellen Grundlast) erscheint deren Nachrüstung mit einer weitergehenden Behandlungsstufe wenig effektiv, wenn in einem Kanalgebiet über Mischwasserabschläge relevante Frachtanteile (resistenter) Krankheitserreger an der Kläranlage vorbei in die Gewässer eingebracht werden. Die Ergebnisse zum RBF+ in dieser Studie zeigen sehr deutlich, dass die Konzentrationen resistenter Bakterien in Mischwasserabschlägen um mehrere Log-Stufen höher liegen können als im Ablauf einer konventionellen Kläranlage. Im Zweifel sollten daher Maßnahmen zur Vermeidung (z.B. Schaffung zusätzlicher Speicherkapazitäten in den Kanalnetzen, intelligente Kanalnetzsteuerung, verstärkter Einsatz von Trennkanalisation) oder Behandlung (z.B. mittels Retentionsbodenfiltern) von Mischwasserabschlägen Vorrang vor der Etablierung weitergehender Behandlungsstufen auf den Kläranlagen haben.

7. Eine zentrale „end-of-pipe“-Lösung zur Entfernung von Antibiotikaresistenzen aus dem Abwasser (d.h. eine Ertüchtigung kommunaler Kläranlagen) erscheint leichter realisierbar als eine dezentrale Abwasserbehandlung an Krankenhäusern, unterläuft allerdings das Verursacherprinzip. Die Frage nach einer dezentralen oder zentralen Lösung ist nach derzeitigem Kenntnisstand nicht pauschal zu beantworten und erfordert passgenaue Einzelfallentscheidungen.

Die HyReKA-Ergebnisse belegen die besondere Rolle der untersuchten Maximalversorger-Klinik für die Verbreitung klinisch-relevanter, multiresistenter Erreger mit dem Abwasser (insbesondere solche mit 4MRGN-Status). Das betreffende Krankenhaus wurde in dieser Hinsicht als ein Risikoeinleiter identifiziert, ohne dass dies bereits regulatorische Konsequenzen gehabt hat. Macht man das Risiko an den Gesamtanteilen multiresistenter Bakterien, der Anwesenheit von 4MRGN-Erregern oder hohen Konzentrationen von (Last-Resort-)Antibiotika im Abwasser fest, müssten nach den ARA-Ergebnissen auch Krankenhäuser der Grund- und Regelversorgung als Risikoeinleiter eingestuft werden. Diese Krankenhäuser machen etwa zwei Drittel aller klinisch-stationären Einrichtungen in Deutschland aus, was folglich einer enormen Steigerung der Zahl potenzieller Risikoeinleiter gleichkäme (über 1.200 Einrichtungen in Deutschland, DeStatis 2022). Insgesamt lässt dies einen „end-of-pipe“-Ansatz zur Entfernung von Antibiotikaresistenzen deutlich leichter realisierbar erscheinen als eine dezentrale Behandlung an jedem einzelnen Klinikstandort, zumal dies die Nutzung von Skaleneffekten sowie der bereits vorhandenen Infrastruktur und Expertise aufseiten der kommunalen Abwasserbeseitigung ermöglichen würde. Eine zentrale Lösung scheint vor dem Hintergrund einer etwaigen fortschreitenden Ausbreitung multiresistenter Bakterien im Abwasser auch aus Vorsorgegesichtspunkten sinnvoll (siehe Kernaussage 3).

Dagegen spricht, dass eine zentrale Lösung der eigentlich wünschenswerten Umsetzung des Verursacherprinzips entgegensteht, sofern Krankenhäuser absehbar die Hauptemittenten z.B. von multiresistenten Erregern bleiben (siehe nochmals Kernaussage 3). Darüber hinaus sind die Entlastungen aus dem Mischsystem bei der Freisetzung multiresistenter Erreger in die aquatische Umwelt zu berücksichtigen, die bei zentraler Ertüchtigung der kommunalen Kläranlagen ohne weitere Maßnahmen nicht unterbunden werden (siehe Kernaussage 6). Eine Entscheidung für oder gegen eine zentrale Abwasserbehandlung (gegenüber einer dezentralen Behandlung) sollte außerdem auch im Verhältnis zu bereits bestehenden Anforderungen an das Abwasser von (industriellen) Indirekteinleitern vertretbar sein. Möglicherweise müssen Entscheidungen spezifisch für einzelne Einzugsgebiete kommunaler Kläranlagen getroffen werden. Als Entscheidungskriterium könnte hier eine Betrachtung der reduzierten Gesamtfrachten auf Ebene des Kanalsystems einschließlich Kläranlage dienen. Die im ARB-Projekt des LANUV untersuchten MBR-Anlagen am Marienhospital Gelsenkirchen und am Kreiskrankenhaus Waldbröl (jeweils mit nachgeschalteter Ozon- oder Aktivkohlebehandlung) zeigen, dass auch ein aufwendiges Verfahren der dezentralen Klinikabwasseraufbereitung mit Erfolg realisierbar ist. Die Abwasserverordnung sowie die geltenden kommunalen Abwassersatzungen beinhalten derzeit jedoch meist keine konkreten hygienischen Anforderungen an Indirekteinleitungen in das kommunale Abwassersystem.

8. Dem Problem einer wachsenden Verbreitung von Antibiotikaresistenzen über das klinische Umfeld hinaus kann nicht allein auf Ebene der Abwasserbehandlung begegnet werden, sondern es muss holistisch und unter Einbeziehung aller relevanten Bereiche und Akteure gelöst werden.

Ungefähr zwei Drittel aller Infektionen mit multiresistenten Krankheitserregern ereignen sich im Klinikumfeld. Dieser Umstand darf dem Problem einer Verbreitung von Antibiotikaresistenzen im Abwasser und der aquatischen Umwelt nichts von seiner Dringlichkeit und Relevanz nehmen. Er zeigt aber, dass die Grundproblematik in ihren Ursachen und Wirkungen über den Abwassersektor hinausreicht und weite Bereiche des gesellschaftlichen Lebens berührt. Dementsprechend sind neben der Abwasserbehandlung zusätzliche Maßnahmen erforderlich, um das Resistenzauftreten in der breiten Gesellschaft – und damit auch die weitere Emission von Antibiotika-resistenten Krankheitserregern in und über das Abwasser – zu begrenzen. Hierzu können beispielsweise zählen: Die effiziente Reduktion des Antibiotika-Einsatzes in der Humanmedizin und in der veterinärmedizinischen Anwendung, die Schaffung eines erhöhten Problembewusstseins in der Bevölkerung, die Aufklärung über den sachgerechten Umgang mit Antibiotika, sowie die Entwicklung neuer antibiotischer Wirkstoffe. Neben dem Gesundheits- und dem Abwassersektor betrifft dies weitere Bereiche wie die Veterinärmedizin, die Landwirtschaft und die Lebensmittelindustrie (hier beispielsweise Schlachtbetriebe). Für die wirksame Bekämpfung von Antibiotikaresistenzen ist letztlich, ganz im Sinne des *One-Health*-Konzeptes, eine holistische Herangehensweise anzustreben, welche die Verbindung zwischen menschlicher Gesundheit, Tiergesundheit sowie Umwelt berücksichtigt und eine gebietsübergreifende Zusammenarbeit von Humanmedizin, Veterinärmedizin, Umweltwissenschaften, öffentlicher Gesundheit sowie Politik erfordert.

6. Glossar

Antibiotika und Resistenzen

Antibiotika:

Substanzen, die einen hemmenden Einfluss auf den Stoffwechsel von Bakterien haben und so deren Vermehrung verhindern. Antibiotika werden in der Medizin zur lokalen oder systemischen Therapie bakterieller Infektionskrankheiten verwendet. Antibiotika lassen sich auf verschiedene Weise klassifizieren: Anhand der chemischen Struktur, anhand der Wirkweise oder nach dem Wirkungsort bzw. dem Wirkmechanismus. Bezüglich der Wirkweise werden bakterizide (abtötende) und bakteriostatische (das bakterielle Wachstum hemmende) Antibiotika unterschieden. Unter Betrachtung des Wirkmechanismus lassen sich Antibiotika in folgende Gruppen einteilen:

1. Hemmung der bakteriellen Zellwandsynthese:
Beta(β)-Laktam-Antibiotika und Glykopeptid-Antibiotika
2. Interferenzen mit dem bakteriellen Erbgut:
Chinolone, Nitroimidazol-Derivate und Rifampicin
3. Hemmung der bakteriellen Proteinbiosynthese:
Makrolide, Lincosamide, Ketolide, Tetrazykline, Aminoglykoside, Oxazolidinone, Chloramphenicol, Lipopeptide und Pleuromuline und
4. Interferenz mit der bakteriellen Tetrahydrofolsäure-Synthese:
Sulfonamide und Trimethoprim.

Reserveantibiotika:

Sogenannte Reserve- oder Last-Resort-Antibiotika werden zur Sicherung von Behandlungsoptionen primär gegen multiresistente Krankheitserreger eingesetzt. Hierzu zählen beispielsweise Colistin und Carbapeneme.

Antibiotikaresistenzgene (ARG):

Bakterielle Gene, die für die Resistenz gegenüber bestimmten Antibiotika verantwortlich sind und durch Mutationen oder horizontalen Gentransfer erworben werden.

Für das ARA Projekt wurden entsprechende Resistenzgene ausgewählt die (1) auf Plasmiden codiert sind und so einfach zwischen Bakterien weitergegeben werden, solche, die (2) häufig in Abwasser vorkommen und solche, die (3) eher seltener in kommunalem Abwasser vorkommen. Die für das ARA Projekt festgelegten Resistenzgene sind:

mcr-1: Codiert eine Resistenz gegen Colistin/Polymyxin (Reserveantibiotika), selten

blaNDM-1: Resistenz gegen eine Vielzahl von Beta-Lactam-Antibiotika, selten

blaTEM: Für 90 % aller Ampicillin-Resistenzen bei *E. coli* verantwortlich, sehr häufig

ermB: Resistenz gegen Makrolid Antibiotika, sehr häufig

Die Angabe erfolgt i.d.R. als *Gene Units* (dt. Geneinheiten) pro 100 ml (GU/100ml).

Bakterien mit Resistenz gegen ein 3. Generation Cephalosporin (3GCR):

Bakterien, die resistent gegen Antibiotika der dritten Generation von Cephalosporinen sind, einer wichtigen Klasse von Antibiotika für die Behandlung von bakteriellen Infektionen.

Biozide:

Chemische Substanzen, die zur Bekämpfung von Mikroorganismen wie Bakterien, Algen oder Pilzen eingesetzt werden.

Cycle Threshold-Wert (Ct-Wert) in der qPCR:

Ein wichtiger Parameter in der quantitativen Polymerase-Kettenreaktion (qPCR). Er gibt an, in welchem Zyklus das Fluoreszenzsignal während der PCR-Vervielfältigung einen vordefinierten Schwellenwert überschreitet. Der Ct-Wert ist ein Maß für die Anzahl der PCR-Zyklen, die benötigt werden, damit das Zielmolekül (DNA oder RNA) in der Probe nachweisbar wird. Der Wert ist invers proportional zur Menge des Zielgens in der Ausgangsprobe. Das bedeutet, dass eine niedrige Ausgangskonzentration des Zielmoleküls zu einem höheren Ct-Wert führt, während eine höhere Konzentration zu einem niedrigeren

Ct-Wert führt. Der Ct-Wert kann daher verwendet werden, um die Konzentration des Zielgens in der Probe zu quantifizieren, wenn er mit einer Standardkurve verglichen wird, die aus bekannten Konzentrationen des Zielgens erstellt wurde.

ESBL-produzierende Bakterien:

Bakterien, die das Enzym Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) produzieren, das sie gegenüber Beta-Lactam-Antibiotika, einschließlich Cephalosporinen, resistent macht.

Gene Units (dt.: Genkopie):

Eine Maßeinheit für die Anzahl der Kopien eines bestimmten Gens in einem Organismus oder einer Probe.

Genotypische Resistenz:

Resistenzverhalten von Bakterien, das über den Nachweis von Resistenzgenen z.B. mittels qPCR ermittelt wird.

Horizontaler Gentransfer:

Der Prozess, bei dem genetisches Material zwischen verschiedenen Bakterienzellen derselben oder unterschiedlicher Spezies innerhalb einer Generation ausgetauscht wird.

Interne positiv-Kontrolle (IPC, engl. *internal positive control*):

Die IPC wird zusammen mit den Proben analysiert und dient dazu, mögliche Hemmstoffe oder andere Faktoren zu detektieren, die die PCR-Reaktion beeinflussen könnten. Die IPC besteht typischerweise aus synthetischer DNA, RNA oder einem anderen stabilen Molekül, das nicht in der Probe vorhanden ist.

Last-Resort-Antibiotika:

Werden verwendet, um (schwerwiegende) Infektionen mit bakteriellen Krankheitserregern zu behandeln, die gegenüber den meisten herkömmlichen Antibiotika resistent sind. Diese Antibiotika sollten nur dann eingesetzt werden, wenn alle anderen Behandlungsoptionen ausgeschöpft oder nicht verfügbar sind, da ihre Verwendung mit Risiken wie Resistenzverbreitung und zum Teil schwerwiegenden Nebenwirkungen verbunden ist. Beispiele für Last-Resort-Antibiotika sind bestimmte Arten von Carbapenemen und Polymyxinen.

Minimale Hemmkonzentration (MHK):

Die niedrigste Konzentration eines Antibiotikums, die das Wachstum eines bestimmten Mikroorganismus hemmt oder verhindert. Die Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration ist notwendig, um die Wirksamkeit eines Antibiotikums gegenüber einem bestimmten Erreger zu bestimmen und somit Behandlungsrichtlinien für Infektionen festzulegen.

MRGN-Klassifizierung:

MRGN steht für "Multiresistente Gram-negative Erreger". Die Klassifizierung erfolgt nach einer Empfehlung der KRINKO (2012, 2019). Getestet wird die Resistenz gegen vier Antibiotikaklassen (mit Leitsubstanzen): Acylureidopenicilline (Piperacillin), 3./4. Generation Cephalosporine (Cefotaxim und/oder Ceftazidim), Carbapeneme (Imipenem und/oder Meropenem), Fluorchinolone (Ciprofloxacin). Anhand der Anzahl der vorkommenden Resistenzen werden Isolate als 3MRGN bzw. 4MRGN (Resistent gegen 3 bzw. 4 der genannten Klassen) klassifiziert. Außerdem wird ein Isolat, welches eine Carbapenemase besitzt, unabhängig von der phänotypischen Resistenz als 4MRGN eingestuft.

Multiplex-qPCR:

Eine molekularbiologische Technik, bei der mehrere Zielgene gleichzeitig in derselben Reaktionsmischung vervielfältigt und quantifiziert werden. Im Gegensatz zur herkömmlichen qPCR, bei der nur ein einzelnes Zielgen pro Reaktion vervielfältigt wird. Bei der Multiplex-qPCR werden spezifische Primer und Sonden verwendet, die jeweils auf die verschiedenen Zielgene passen, dabei ist jeder Primer/Sonde-Komplex mit einem anderen

Fluoreszenzfarbstoff markiert, was es ermöglicht, die Vervielfältigung der verschiedenen Zielgene separat zur gleichen Zeit zu überwachen.

Multiresistente Bakterien:

Bakterien, die gegenüber mehreren Antibiotikaklassen resistent sind. Die Bewertung von Resistenzen wird international unterschiedlich durchgeführt. In der internationalen Literatur haben sich die Begriffe *multidrug-resistant* (MDR), *extensively drug-resistant* (XDR) und *pandrug-resistant* (PDR) etabliert. Dabei gibt es international keine einheitlichen Vorgaben wie diese genau definiert und eingeordnet werden.

Normalisierung der Resistenzgene:

Die Normalisierung der Resistenzgene erfolgt über die zusätzliche Bestimmung der Konzentration des 16S ribosomalen RNA-Gens (rRNA). Die 16S rRNA ist ein Bestandteil der Ribosomen von Bakterien.

Dies wird angewandt um eine Einschätzung vorzunehmen, wie stark die Häufigkeit von Antibiotikaresistenzgenen relativ zur Gesamtzahl der Bakterien im untersuchten Probenmaterial ausgeprägt ist. Diese Methode ermöglicht es, die relative Häufigkeit von Resistenzgenen in verschiedenen Umgebungen oder Bakterienpopulationen zu vergleichen.

Phänotypische Resistenz:

Resistenzverhalten von Bakterien, das über kulturelle Verfahren z.B. MHK-Tests ermittelt wird.

Quantitative Polymerase-Kettenreaktion (qPCR):

Ist eine Variante der Polymerase-Kettenreaktion (PCR), welche eine Vervielfältigung definierter DNA- oder RNA-Abschnitte und ihre Quantifizierung ermöglicht. Auf diese Weise können u.a. Antibiotikaresistenzgene in Wasserproben nachgewiesen und in ihrer Menge erfasst werden. Unter Anwendung von spezifischen Primer- und SONDENSEQUENZEN (spez. Basenfolge), die komplementär zur Ziel-DNA sind, lassen sich Zielgene vervielfältigen. Dabei sind Primer und Sonden kurze, synthetisch hergestellte DNA- oder RNA-Moleküle, die an spezifische Bereiche der Ziel-DNA binden und es der DNA-Polymerase (Enzym) ermöglichen, eine neue DNA-Kette zu synthetisieren. Sonden sind mit Fluoreszenzfarbstoffen gekoppelt, die während des PCR-Zyklus messbare Signale emittieren, wenn die Sonde mit der Ziel-DNA hybridisiert wird. Die Fluoreszenzsignale werden dann gemessen, um die Anwesenheit und Menge der Ziel-DNA in der Probe zu bestimmen.

Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)

Gram-positive Bakterien der Gattung *Enterococcus* mit einer Resistenz gegenüber dem Last-Resort-Antibiotikum Vancomycin.

Abwasser

Einwohnerwert (EW):

Eine Kennzahl, die in der Abwasserwirtschaft verwendet wird, um die zu erwartende Menge und Schmutzfracht von Abwässern abzuschätzen, basierend auf der Einwohnerzahl sowie der Einwohnergleichwerte (entsprechend zusätzlicher Einleitungen aus Industrie und Gewerbe) einer bestimmten Region oder eines Gebiets.

Einzugsgebiet (der Kläranlage):

Das Gebiet, von dem das Abwasser einer bestimmten Kläranlage zufließt und behandelt wird. Wenn nicht anders genannt wird, bezieht sich der Begriff „Einzugsgebiet“ im Bericht immer auf das Einzugsgebiet einer Kläranlage.

Klinisch beeinflusstes Abwasser:

(Kommunales) Abwasser, in dem anteilig Abwasser aus klinischen Einrichtungen enthalten ist.

Klinisches Abwasser:

Abwasser aus einer klinischen Einrichtung.

Klinisch unbeeinflusstes Abwasser:

(Kommunales) Abwasser, in dem kein Abwasser aus klinischen Einrichtungen enthalten ist.

Kommunales Abwasser:

Abwasser aus Haushalten, Gewerbebetrieben und anderen Einrichtungen einer Gemeinde oder Stadt, das über ein Netz von Kanälen zu Kläranlagen geleitet wird, um gereinigt und behandelt zu werden, bevor es in die Umwelt abgeleitet wird.

Konventionelle Kläranlage:

Eine Kläranlage, die ein dreistufiges Verfahren (mechanische, chemische und biologische Prozesse) zur Reinigung von Abwasser verwendet. Das Verfahren wird als konventioneller Klärprozess oder konventionelle Abwasserbehandlung bezeichnet.

Membranbioreaktor-Verfahren (MBR-Verfahren):

Auch Membranbelebungsverfahren. Verfahren der weitergehenden Abwasserbehandlung, das eine biologische Reinigungsstufe mit der Verwendung von Membrantechnologie kombiniert, um Abwasser zu filtern und auf diese Weise Mikroorganismen und suspendierte Partikel aus dem Abwasser zu entfernen.

Mischwasser:

Setzt sich aus verschiedenen Wasserarten zusammen, hier insbesondere Schmutz- und Niederschlagswasser. Eine Kanalisation, welche Schutz- und Niederschlagswasser zusammen transportiert, wird dementsprechend Mischkanalisation oder Mischsystem genannt. Dem steht die Trennkanalisation (synonym Trennsystem) gegenüber, in der Schmutz- und Niederschlagswasser getrennt abgeleitet wird.

Regenüberlaufbecken (RÜB):

Ein Entlastungsbauwerk der Siedlungsentwässerung im Mischsystem oder im modifizierten Trennsystem mit Zwischenspeicherung und Überlauf in ein Gewässer. Es kommt in Kanalnetzen zur hydraulischen Entlastung zum Einsatz. Ein Teil des an einem RÜB ankommenden Wassers wird dann durch die Kanalisation zur Kläranlage weitergeleitet. Der andere Teil des Wassers kann in ein Gewässer entlastet werden.

Retentionsbodenfilter (RBF):

Werden vornehmlich für die Behandlung von Niederschlagsabflüssen aus Misch- und Trennsystemen sowie von Straßenflächen eingesetzt. Sie dienen auf diese Weise der Abminderung stofflicher und hydraulischer Gewässerbelastungen vor der Einleitung. Der klassische Aufbau des Filterkörpers ist (von oben nach unten): Eine Bepflanzung (in der Regel Schilf, *Phragmites australis*) dient dem Schutz vor Kolmation und Erosion sowie dem Aufbau einer organischen Sekundärfilterschicht. Darauf folgt eine Filterschicht Sand, eine Drainageschicht aus Kies mit einem Drainagerohrsystem. Das behandelte Wasser sickert so durch eine belebte Bodenschicht und wird auf diese Weise sowohl physikalisch gefiltert als auch biologisch gereinigt.

Weitergehende Abwasserbehandlung: Weitergehende Abwasserbehandlung bezeichnet den Prozess, bei dem Abwasser über die konventionelle Abwasserbehandlung hinaus einer zusätzlichen Aufbereitung unterzogen wird, um eine Entfernung von Verunreinigungen zu erreichen. Dies kann durch verschiedene Verfahren wie Filtration, Desinfektion, Adsorption, Oxidation oder andere fortgeschrittene physikalische, chemische oder biologische Methoden erfolgen. Das Ziel ist es, die Qualität des behandelten Abwassers weiter zu verbessern bevor es in die Umwelt zurückgeführt wird.

Sonstiges

Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification):

Die Bestimmungsgrenze bezeichnet den niedrigsten Wert einer analytischen Messgröße die von einem Messinstrument oder einer Messmethode noch zuverlässig quantifiziert werden kann. Erst oberhalb dieser Grenze kann einer Messung ein Zahlenwert zugeordnet werden. Sie ist mithilfe statistischer Methoden ermittelt und ist ein weiteres Maß für die Messempfindlichkeit. Die Bestimmungsgrenze liegt immer oberhalb des Detektionslimits/der Nachweisgrenze. Die im Bericht verwendete **Berichtsgrenze** ist die größte Bestimmungsgrenze, die für einen bestimmten Messparameter und eine bestimmte Messmethode garantiert werden kann.

Detektionslimit, Nachweisgrenze (Limit of Detection):

Bezeichnet den niedrigsten Wert bis zu der eine analytische Messgröße noch zuverlässig von einem Messinstrument oder einer Messmethode nachgewiesen werden kann. Das Detektionslimit wird mithilfe statistischer Methoden bestimmt und ist ein Maß für die Messempfindlichkeit.

LOD₉₅ steht für "Limit of Detection at 95% Confidence Level" und bezieht sich auf das Detektionslimit mit einer Konfidenz von 95%. Es ist ein statistischer Wert, der angibt, dass mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% ein analytischer Wert über dem angegebenen Limit liegt. Dieser Wert wird im Bericht bei der Darstellung der Antibiotikaresistenzgene verwendet.

Indikatorbakterien:

Bestimmte Arten von Mikroorganismen, die als Hinweis auf die potenzielle Kontamination oder Qualität von Wasser, Lebensmitteln oder Umweltmedien dienen. Sie werden verwendet, weil ihre Anwesenheit oder Konzentration auf Verunreinigungen oder potenzielle pathogene Organismen hinweisen kann. Indikatorbakterien sind oft nicht selbst Krankheitserreger, aber ihre Präsenz kann auf eine Verschmutzung hinweisen, die potenziell gesundheitsschädlich sein kann. Die Überwachung von Indikatorbakterien ist eine wichtige Methode zur Beurteilung der Sicherheit von Trinkwasser, Badegewässern und anderen Umweltressourcen.

Klinik der Grundversorgung, Regelversorgung und Maximalversorgung:

Unterschiedliche Kategorien von Krankenhäusern basierend auf ihrer Größe, Ausstattung und dem Spektrum der angebotenen medizinischen Versorgung.

Klinik der Grundversorgung: Vorhaltung der Fachabteilungen Allgemeine Innere Medizin und Allgemeinchirurgie (251 bis 350 Betten).

Klinik der Regelversorgung: Vorhaltung von mindestens zehn Disziplinen (darunter verschiedene Schwerpunktkompetenzen der Inneren Medizin/Chirurgie, Intensivmedizin, Geburtshilfe sowie Kinder- und Jugendmedizin), dabei sollte zumindest in der Inneren Medizin/Chirurgie eine Schwerpunktbildung erfolgen (351 bis 650 Betten).

Klinik der Maximalversorgung: Vorhaltung von mehr als 15 Disziplinen (darunter verschiedene Schwerpunktkompetenzen der Inneren Medizin/Chirurgie, Intensivmedizin, Geburtshilfe, Neurologie, Neurochirurgie, HNO, Augenheilkunde, Kinder- und Jugendmedizin); und zusätzlich für Universitätsklinika: Besondere Leistungen in Forschung und Lehre, die sich auch dadurch beweisen, dass relevante Patientenzahlen in qualitativ hochwertige wissenschaftliche Studien einbezogen werden (≥ 651 Betten)

Konfidenzintervall:

Ein statistisches Maß, das die Präzision einer Parameterabschätzung aus einer Stichprobe beschreibt (z.B. für den Mittelwert). Das Konfidenzintervall umschließt den wahren Wert dieses Parameters mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit (z.B. 95 %). Je enger das Konfidenzintervall, desto höher ist die Präzision der Schätzung

Log-Stufe (logarithmische Stufe)

Maßzahl für die Größenänderung einer mikrobiellen Population um jeweils eine Zehnerpotenz. Das bedeutet: Eine Verringerung um eine Log-Stufe entspricht einer zehnfachen Verkleinerung der Population (oder einer Reduktion um 90 %), eine Verringerung um zwei Log-Stufen entspricht bereits einer hundertfachen Verkleinerung (oder einer Reduktion um 99 %), usw.

Mikrobiologische Einheiten (KBE, MPN und PBE):

KBE (Koloniebildende Einheiten): Eine Maßeinheit, die die Anzahl der lebenden Bakterien angibt, die in der Lage sind, auf einem festen Nährmedium zu wachsen und sichtbare Kolonien zu bilden.

MPN (Most Probable Number - Wahrscheinlichste Anzahl): Eine statistische Methode zur Schätzung der Anzahl von Mikroorganismen in einer Probe, basierend auf dem Wachstum in flüssigen Nährmedien.

PBE (Plaque-bildende Einheiten): Eine Maßeinheit zur Quantifizierung von viralen Partikeln, die fähig sind, Bakterien zu infizieren und sichtbare Plaques (Löcher) auf einem Bakterienrasen auf einem festen Medium zu erzeugen.

7. Literatur

- Amador, P.P., Fernandes, R.M., Prudêncio, M.C., Barreto, M.P., Duarte, I.M., 2015. Antibiotic resistance in wastewater: occurrence and fate of Enterobacteriaceae producers of class A and class C β -lactamases. *J. Environ. Sci. Health Part A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* 50, 26–39. <https://doi.org/10.1080/10934529.2015.964602>
- Atherholt, T.B., LeChevallier, M.W., Norton, W.D., Rosen, J.S., 1998. Effect of rainfall on Giardia and crypto. *J. AWWA* 90, 66-80.
- Bastian, D., Drensla, K., Baumgarten, S., Wachendorf, N., Thiemig, C., Ehlen, K., Le, H., Montag, D., Wintgens, T., 2021. Bewertung und Optimierung des Betriebs von Membranbioreaktoren bei simultaner Pulveraktivkohle-Zugabe – MBR-AKTIV. Kurzbericht zum gleichnamigen Forschungsvorhaben, gefördert vom Ministerium für Umwelt, Landwirtschaft, Natur- und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen.
- Bengtsson-Palme, J., Larsson, D.G.J., 2016. Concentrations of antibiotics predicted to select for resistant bacteria: Proposed limits for environmental regulation. *Environ. Int.* 86, 140–149. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.10.015>
- Berendes, D.M., Yang, P.J., Lai, A., Hu, D., Brown, J., 2018. Estimation of global recoverable human and animal faecal biomass. *Nat. Sustain.* 1, 679–685. <https://doi.org/10.1038/s41893-018-0167-0>
- Birgy, A., Madhi, F., Hogan, J., Doit, C., Gaschignard, J., Caseris, M., Bidet, P., Cohen, R., Bonacorsi, S., 2018. CTX-M-55-, MCR-1-, and FosA-Producing Multidrug-Resistant Escherichia coli Infection in a Child in France. *Antimicrob. Agents Chemother.* 62, e00127-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.00127-18>
- Blaak, H., Lynch, G., Italiaander, R., Hamidjaja, R.A., Schets, F.M., de Roda Husman, A.M., 2015. Multidrug-Resistant and Extended Spectrum Beta-Lactamase-Producing Escherichia coli in Dutch Surface Water and Wastewater. *PLOS ONE* 10, 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127752>
- Bougnom, B.P., Piddock, L.J.V., 2017. Wastewater for Urban Agriculture: A Significant Factor in Dissemination of Antibiotic Resistance. *Environ. Sci. Technol.* 51, 5863–5864. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01852>
- BRD, 1981. Gesetz zur Änderung des Gesetzes zur wirtschaftlichen Sicherung der Krankenhäuser und zur Regelung der Krankenhauspflegesätze: Krankenhausfinanzierungsgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 10. April 1991 (BGBl. I S. 886), das zuletzt durch Artikel 5 des Gesetzes vom 11. Juli 2021 (BGBl. I S. 2754) geändert worden ist., BGBl. I S. 1568.
- Bréchet, C., Plantin, J., Sauget, M., Thouverez, M., Talon, D., Cholley, P., Guyeux, C., Hocquet, D., Bertrand, X., 2014. Wastewater Treatment Plants Release Large Amounts of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Escherichia coli Into the Environment. *Clin. Infect. Dis.* 58, 1658–1665. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu190>
- Breilh, D., Texier-Maugein, J., Allaouchiche, B., Saux, M.-C., Boselli, E., 2013. Carbapenems. *J. Chemother.* 25, 1–17. <https://doi.org/10.1179/1973947812Y.0000000032>
- Brunsch, A.F., Florez, P.Z., Langenhoff, A.A., Ter Laak, T.L., Rijnaarts, H.H., 2020. Retention soil filters for the treatment of sewage treatment plant effluent and combined sewer overflow. *Sci. Total Environ.* 699, 134426.
- Bund, 2023. Gesundheitsberichtserstattung des Bundes: Krankenhäuser (Anzahl und je 100.000 Einwohner) sowie Aufenthalte (Fallzahl, Berechnungs-/Belegungstage und Verweildauer). Gliederungsmerkmale: Jahre, Deutschland, Einrichtungsmerkmale (Einrichtungsart / Bettenzahl / Träger / Art der Zulassung).
- Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Paul-Ehrlich-Gesellschaft für Chemotherapie, Zentrum Infektiologie und Reisemedizin, 2016. Germap 2015: Antibiotika-Resistenz und -Verbrauch; Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland.
- Burmeister, A.R., 2015. Horizontal Gene Transfer. *Evol. Med. Public Health* 2015, 193–194. <https://doi.org/10.1093/emph/eov018>
- Cassini, A., Högberg, L.D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G.S., Colomb-Cotinat, M., Kretzschmar, M.E., Devleeschauwer, B., Cecchini, M., Ouakrim, D.A., Oliveira, T.C., Struelens, M.J., Suetens, C., Monnet, D.L., Strauss, R., Mertens, K., Struyf, T., Catry, B., Latour, K., Ivanov, I.N., Dobreva, E.G., Tambic Andrašević, A., Soprek, S., Budimir, A., Paphitou, N., Žemlicková, H., Schytte Olsen, S., Wolff Sönksen, U., Martin, P., Ivanova, M., Lyytikäinen, O., Jalava, J., Coignard, B., Eckmanns, T., Abu Sin, M., Haller, S., Daikos, G.L., Gikas, A., Tsioufas, S., Kontopidou, F., Tóth, Á., Hajdu, Á., Guólaugsson, Ó., Kristinsson, K.G., Murchan, S., Burns, K., Pezzotti, P., Gagliotti, C., Dumpis, U., Liuimiene, A., Perrin, M., Borg, M.A., de Greeff, S.C., Monen,

- J.C., Koek, M.B., Elstrøm, P., Zabicka, D., Deptula, A., Hryniewicz, W., Caniça, M., Nogueira, P.J., Fernandes, P.A., Manageiro, V., Popescu, G.A., Serban, R.I., Schréterová, E., Litvová, S., Štefkovicová, M., Kolman, J., Klavs, I., Korošec, A., Aracil, B., Asensio, A., Pérez-Vázquez, M., Billström, H., Larsson, S., Reilly, J.S., Johnson, A., Hopkins, S., 2019. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *Lancet Infect. Dis.* 19, 56–66. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30605-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30605-4)
- Chang, H.C., Wei, Y.F., Dijkshoorn, L., Vaneechoutte, M., Tang, C.T., Chang, T.C., 2005. Species-Level Identification of Isolates of the *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* Complex by Sequence Analysis of the 16S-23S rRNA Gene Spacer Region. *J. Clin. Microbiol.* 43, 1632–1639. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.4.1632-1639.2005>
- Christoffels, E., Mertens, F.M., Kistemann, T., Schreiber, C., 2014. Retention of pharmaceutical residues and microorganisms at the Altendorf retention soil filter. *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.* 70, 1503–1509. <https://doi.org/10.2166/wst.2014.404>
- Davies, J., Davies, D., 2010. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 74, 417–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>
- Davis, C.A., Janssen, E.M.-L., 2020. Environmental fate processes of antimicrobial peptides daptomycin, bacitracins, and polymyxins. *Environ. Int.* 134, 105271. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105271>
- Dericks, B., Grobe, S., Schwanke, B., Uphoff, J., 2023. Klinisch-relevante antibiotikaresistente Bakterien in Abwasser und Fließgewässern in NRW – ausgewählte Ergebnisse aus dem LANUV ARB-Projekt, in: 56. ESSENER TAGUNG Für Wasserwirtschaft, Gewässerschutz - Wasser - Abwasser. Aachen.
- DIN 38402-11:2009-2, 2009. German standard methods for the examination of water, waste water and sludge - General information (group A) - Part 11: Sampling of waste water (A 11). Beuth Verlag GmbH, Berlin. <https://doi.org/10.31030/1442438>
- DIN EN ISO 7899-1:1999, n.d. Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von intestinalen Enterokokken in Oberflächenwasser und Abwasser - Teil 1: Miniaturisiertes Verfahren durch Animpfen in Flüssigmedium (MPN-Verfahren) (ISO 7899-1:1998); Deutsche Fassung EN ISO 7899-1:1998. International Organization for Standardization.
- DIN EN ISO 8199:2021, n.d. Wasserbeschaffenheit - Allgemeine Anforderungen und Anleitung für mikrobiologische Untersuchungen mittels Kulturverfahren (ISO 8199:2018); Deutsche Fassung EN ISO 8199:2018. International Organization for Standardization.
- DIN EN ISO 9308-3:1999, n.d. Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von *Escherichia coli* und coliformen Bakterien in Oberflächenwasser und Abwasser - Teil 3: Miniaturisiertes Verfahren durch Animpfen in Flüssigmedium (MPN-Verfahren) (ISO 9308-3:1998); Deutsche Fassung EN ISO 9308-3:1998. International Organization for Standardization.
- DIN EN ISO 14189:2013, n.d. Wasserbeschaffenheit - Zählung von *Clostridium perfringens* - Verfahren mittels Membranfiltration (ISO 14189:2013); Deutsche Fassung EN ISO 14189:2016. International Organization for Standardization.
- DIN EN ISO 15913:2003, n.d. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung von ausgewählten Phenoxyalkancarbonsäure-Herbiziden, einschließlich Bentazon und Hydroxynitrilen mittels Gaschromatographie und massenspektrometrischer Detektion nach Fest-Flüssig-Extraktion und Derivatisierung (ISO 15913:2000); Deutsche Fassung EN ISO 15913:2003. International Organization for Standardization.
- DIN EN ISO 19458:2006, n.d. Wasserbeschaffenheit - Probenahme für mikrobiologische Untersuchungen (ISO 19458:2006); Deutsche Fassung EN ISO 19458:2006. International Organization for Standardization.
- DIN EN ISO 20776-1:2020-12, n.d. Empfindlichkeitsprüfung von Infektionserregern und Leistungsbewertung von Geräten zur antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung - Teil 1: Referenzmethode zur Testung der In-vitro-Aktivität von antimikrobiellen Substanzen gegen schnell wachsende aerobe Bakterien, die Infektionskrankheiten verursachen.
- DIN EN ISO 20776-2:2022-04, n.d. DIN EN ISO 20776-2:2019: Empfindlichkeitsprüfung von Infektionserregern und Evaluation von Geräten zur antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung - Teil 2: Evaluation der Leistung von Testsystemen zur antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung im Vergleich zur Referenzmethode der Bouillon-Mikrodilution (ISO 20776).
- DIN EN ISO 21676:2022, n.d. 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. International Organization for Standardization.
- DWA, 2014. Merkblatt M 227. "Membran-Bioreaktor-Verfahren (MBR-Verfahren)" der Deutsche Vereinigung für Wasserwirtschaft, Abwasser und Abfall e. V.
- Erftverband, 2023. Jahresbericht des Erftverbandes für das Jahr 2022. Abrufbar unter: https://www.erftverband.de/wp-content/uploads/2023/06/ev_jahresbericht_2022_web_komplett.pdf, zuletzt abgerufen 16.11.2023.
- Gibson, C.J., Stadterman, K.L., States, S., Sykora, J., 1998. Combined sewer overflows: A source of *Cryptosporidium* and *Giardia*? *Wat Sci Tech* 38, 67-72.
- Gujer, W., 1999. Siedlungswasserwirtschaft. Springer.
- Hassoun-Kheir, N., Stabholz, Y., Kreft, J.-U., de la Cruz, R., Romalde, J.L., Nesme, J., Sørensen, S.J., Smets, B.F., Graham, D., Paul, M., 2020. Comparison of antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes abundance in hospital and community wastewater: A systematic review. *Sci. Total Environ.* 743, 140804. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140804>
- Hembach, N., Schmid, F., Alexander, J., Hiller, C., Rogall, E.T., Schwartz, T., 2017. Occurrence of the *mcr-1* Colistin Resistance Gene and other Clinically Relevant Antibiotic Resistance Genes in Microbial Populations at Different Municipal Wastewater Treatment Plants in Germany. *Front. Microbiol.* 8, 1282. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01282>
- Honda, R., Tachi, C., Yasuda, K., Hirata, T., Noguchi, M., Hara-Yamamura, H., Yamamoto-Ikemoto, R., Watanabe, T., 2020. Estimated discharge of antibiotic-resistant bacteria from combined sewer overflows of urban sewage system. *NPJ Clean Water* 3, 15.
- Horstmeyer, N., Rapp-Fiegle, S., Helmreich, B., Drewes, J.E., 2014. Kosten der Abwasserbehandlung–Finanzierung, Kostenstrukturen und Kostenkenndaten der Bereiche Kanal, Sonderbauwerke und Kläranlagen.
- ISO 10705-2, 2000. Water quality - Detection and enumeration of bacteriophages - Part 2: Enumeration of somatic coliphages.
- Kehl, K., Schallenberg, A., Szekat, C., Albert, C., Sib, E., Exner, M., Zacharias, N., Schreiber, C., Parčina, M., Bierbaum, G., 2021. Dissemination of carbapenem resistant bacteria from hospital wastewater into the environment. *Sci. Total Environ.* 151339. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151339>
- Kistemann, T., Claßen, T., Koch, C., Dangendorf, F., Fischeder, R., Gebel, J., Vacata, V., Exner, M., 2002. Microbial Load of Drinking Water Reservoir Tributaries during Extreme Rainfall and Runoff. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 2188–2197. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2188-2197.2002>
- Korzeniewska, E., Korzeniewska, A., Harnisz, M., 2013. Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 91, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.01.014>
- Krapner, N., Hutinel, M., Schumacher, K., Gray, D.A., Genheden, M., Fick, J., Flach, C.-F., Larsson, D.G.J., 2021. Evidence for selection of multi-resistant *E. coli* by hospital effluent. *Environ. Int.* 150, 106436. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106436>
- KRINKO, 2019. Ergänzung zur Empfehlung der KRINKO „Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen“ (2012) im Zusammenhang mit der von EUCAST neu definierten Kategorie „I“ bei der Antibiotikaresistenzbestimmung: Konsequenzen für die Definition von MRGN 82–83. <https://doi.org/10.25646/5916>
- KRINKO, 2012. Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 55, 1311–1354. <https://doi.org/10.1007/s00103-012-1549-5>
- Krzywinski, M., Altman, N., 2014. Visualizing samples with box plots. *Nat. Methods* 11, 119–120. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2813>
- Kümmerer, K., 2009. Antibiotics in the aquatic environment – A review. *Chemosphere* 75, 417–441. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086>
- Kümmerer, K., Henninger, A., 2003. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent. *Clin. Microbiol. Infect.* 9, 1203–1214.
- Lamba, M., Graham, D.W., Ahammad, S.Z., 2017. Hospital Wastewater Releases of Carbapenem-Resistance Pathogens and Genes in Urban India. *Environ. Sci. Technol.* 51, 13906–13912. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03380>
- Lamba, M., Gupta, S., Shukla, R., Graham, D.W., Sreekrishnan, T.R., Ahammad, S.Z., 2018. Carbapenem resistance exposures via wastewaters across New Delhi. *Environ. Int.* 119, 302–308. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.07.004>

- Lee, H.-Y., Chen, C.-L., Wu, S.-R., Huang, C.-W., Chiu, C.-H., 2014. Risk factors and outcome analysis of acinetobacter baumannii complex bacteremia in critical patients. *Crit. Care Med.* 42, 1081–1088. <https://doi.org/10.1097/CCM.000000000000125>
- Lee, J., Jeon, J.H., Shin, J., Jang, H.M., Kim, S., Song, M.S., Kim, Y.M., 2017. Quantitative and qualitative changes in antibiotic resistance genes after passing through treatment processes in municipal wastewater treatment plants. *Sci. Total Environ.* 605–606, 906–914. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.250>
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R.B., Carmeli, Y., Falagas, M.E., Giske, C.G., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D.L., Rice, L.B., Stelling, J., Struelens, M.J., Vatopoulos, A., Weber, J.T., Monnet, D.L., 2012. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect.* 18, 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Malzahn, J., Garre, P., Mostert, C., 2018. Bedarf und Bedarfsgerechtigkeit - Umsetzung der Qualitätsagenda des Krankenhausstruktur-gesetzes—ein Vorschlag zur Vorgehensweise am Beispiel des Landes Nordrhein-Westfalen, in: *Krankenhaus-Report 2018*. Schattauer, Stuttgart, pp. 171–191.
- Marien-Hospital, 2023. Internetpräsenz des Krankenhauses Marien-Hospital Euskirchen. <https://www.marien-hospital.com/marien-hospital-euskirchen> abgerufen am 22.09.2023.
- Mascher, F., Mascher, W., Pichler-Semmelrock, F., Reinthaler, F.F., Zarfel, G.E., Kittinger, C., 2017. Impact of combined sewer overflow on wastewater treatment and microbiological quality of rivers for recreation. *Water* 9, 906.
- Mauer, C., 2011. Technische und ökonomische Aspekte der separaten Erfassung und Behandlung von Krankenhausabwasser = Technical and economic aspects of the separate collection and treatment of hospital wastewater. Aachen, Techn. Hochsch., Diss., 2011.
- Mendes, A.C., Novais, Â., Campos, J., Rodrigues, C., Santos, C., Antunes, P., Ramos, H., Peixe, L., 2018. mcr-1 in Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* with Hospitalized Patients, Portugal, 2016–2017. *Emerg. Infect. Dis.* 24, 762–766. <https://doi.org/10.3201/eid2404.171787>
- Müller, H., Sib, E., Gajdiss, M., Klanke, U., Lenz-Plet, F., Barabasch, V., Albert, C., Schallenberg, A., Timm, C., Zacharias, N., Schmithausen, R.M., Engelhart, S., Exner, M., Parcina, M., Schreiber, C., Bierbaum, G., 2018. Dissemination of multi-resistant Gram-negative bacteria into German wastewater and surface waters. *FEMS Microbiol. Ecol.* 94. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiy057>
- Narciso-da-Rocha, C., Varela, A.R., Schwartz, T., Nunes, O.C., Manaia, C.M., 2014. blaTEM and vanA as indicator genes of antibiotic resistance contamination in a hospital–urban wastewater treatment plant system. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* 2, 309–315. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2014.10.001>
- O'Neill, J., 2016. Review on antimicrobial resistance: tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. *Rev. Antimicrob. Resist. Tackling Drug-Resist. Infect. Glob. Final Rep. Recomm.*
- Overath, H., Merkel, W., Hiekel, S., 2000. Einleitung von Kläranlagenabläufen in kleine Fließgewässer: Bewertung der Ablaufqualität nach der EG-Badegewässer-Richtlinie. Ministerium für Umwelt und Naturschutz - Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen, Mülheim an der Ruhr.
- Papp-Wallace, K.M., Endimiani, A., Taracila, M.A., Bonomo, R.A., 2011. Carbapenems: Past, present, and future. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 4943–4960. <https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11>
- Paulus, G.K., Hornstra, L.M., Alygizakis, N., Slobodnik, J., Thomaidis, N., Medema, G., 2019. The impact of on-site hospital wastewater treatment on the downstream communal wastewater system in terms of antibiotics and antibiotic resistance genes. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 635–644. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.01.004>
- Pinnekamp, J., Firk, J., Schleiffer, P., 2019. Bewertung der urbanen Gewässereinträge und Möglichkeiten der Eintragsminderung. Auf: Abschlussveranstaltung des BMBF - Verbundvorhabens HyReKA in Berlin am 04.04.2019.
- Pires, J., Santos, R., Monteiro, S., 2023. Antibiotic resistance genes in bacteriophages from wastewater treatment plant and hospital wastewaters. *Sci. Total Environ.* 892, 164708.
- Ranjan, R., Thatikonda, S., 2021. β -Lactam Resistance Gene NDM-1 in the Aquatic Environment: A Review. *Curr. Microbiol.* 78, 3634–3643. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02630-6>
- Rechenburg, A., Kistemann, T., 2009. Sewage effluent as a source of *Campylobacter* sp. in a surface water catchment. *Int. J. Environ. Health Res.* 19, 239–249. <https://doi.org/10.1080/09603120802460376>
- Rechenburg, A., Koch, C., Classen, T., Kistemann, T., 2006. Impact of sewage treatment plants and combined sewer overflow basins on the microbiological quality of surface water. *Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res.* 54, 95–99.

- Resch, H., Schatz, R., 2020. Abwassertechnik verstehen. Ein kleines 1 x 1 der Abwassertechnik für Einsteiger und interessierte Laien. 2. überarb.
- Statistisches Bundesamt, 2024. (Destatis). 32213-0001: Länge des Kanalnetzes, Abwasserbehandlungsanlagen, Angeschlossene Einwohnerwerte, Jahresabwassermenge, Schmutzwasser: Bundesländer, Jahre (Stand 2019).
- Schmiege, D., Arredondo, A.M.P., Ntjal, J., Paris, J.M.G., Savi, M.K., Patel, K., Yasobant, S., Falkenberg, T., 2020a. One Health in the context of coronavirus outbreaks: A systematic literature review. *One Health* 10, 100170.
- Schmiege, D., Evers, M., Kistemann, T., Falkenberg, T., 2020b. What drives antibiotic use in the community? A systematic review of determinants in the human outpatient sector. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 226, 113497. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113497>
- Schmiege, D., Zacharias, N., Sib, E., Falkenberg, T., Moebus, S., Evers, M., Kistemann, T., 2021. Prevalence of multidrug-resistant and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in urban community wastewater. *Sci. Total Environ.* 785, 147269. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147269>
- Schreiber, C., Zacharias, N., Essert, S.M., Wasser, F., Müller, H., Sib, E., Precht, T., Parcina, M., Bierbaum, G., Schmithausen, R.M., Kistemann, T., Exner, M., 2021. Clinically relevant antibiotic-resistant bacteria in aquatic environments – An optimized culture-based approach. *Sci. Total Environ.* 750, 142265. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142265>
- Seiger, D., 2023. Vergleich verschiedener Verfahren zur Elimination antibiotikaresistenter Bakterien aus Abwasser (Masterarbeit). Fachhochschule Aachen.
- Sib, E., Lenz-Plet, F., Barabasch, V., Klanke, U., Savin, M., Hembach, N., Schallenberg, A., Kehl, K., Albert, C., Gajdiss, M., Zacharias, N., Müller, H., Schmithausen, R.M., Exner, M., Kreyenschmidt, J., Schreiber, C., Schwartz, T., Parčina, M., Bierbaum, G., 2020. Bacteria isolated from hospital, municipal and slaughterhouse wastewaters show characteristic, different resistance profiles. *Sci. Total Environ.* 746, 140894. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140894>
- Sib, E., Voigt, A.M., Wilbring, G., Schreiber, C., Faerber, H.A., Skutlarek, D., Parcina, M., Mahn, R., Wolf, D., Brossart, P., Geiser, F., Engelhart, S., Exner, M., Bierbaum, G., Schmithausen, R.M., 2019. Antibiotic resistant bacteria and resistance genes in biofilms in clinical wastewater networks. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 655–662. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.03.006>
- Statistisches Bundesamt, 2019. (Destatis). Fachserie. 19, Umwelt. 2, Wasserversorgung und Abwasserbeseitigung. 1, Öffentliche Wasserversorgung und öffentliche Abwasserentsorgung. 3, Strukturdaten zur Wasserwirtschaft, 3059633-6. Hervorgegangen aus: Fachserie / 19 / 2 / 1. Wiesbaden.
- Swayne, R., Ellington, M.J., Curran, M.D., Woodford, N., Aliyu, S.H., 2013. Utility of a novel multiplex TaqMan PCR assay for metallo- β -lactamase genes plus other TaqMan assays in detecting genes encoding serine carbapenemases and clinically significant extended-spectrum β -lactamases. *Int. J. Antimicrob. Agents* 42, 352–356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.06.018>
- Vijayakumar, V., Santiago, A., Smith, R., Smith, M., Robins-Browne, R.M., Nataro, J.P., Ruiz-Perez, F., 2014. Role of class 1 serine protease autotransporter in the pathogenesis of *Citrobacter rodentium* colitis. *Infect. Immun.* 82, 2626–2636. <https://doi.org/10.1128/IAI.01518-13>
- Voigt, A.M., Zacharias, N., Timm, C., Wasser, F., Sib, E., Skutlarek, D., Parcina, M., Schmithausen, R.M., Schwartz, T., Hembach, N., Tiehm, A., Stange, C., Engelhart, S., Bierbaum, G., Kistemann, T., Exner, M., Faerber, H.A., Schreiber, C., 2020. Association between antibiotic residues, antibiotic resistant bacteria and antibiotic resistance genes in anthropogenic wastewater – An evaluation of clinical influences. *Chemosphere* 241, 125032. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125032>
- Walsh, T.R., 2010. Emerging carbapenemases: a global perspective. *Int. J. Antimicrob. Agents* 36, S8–S14. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(10\)70004-2](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(10)70004-2)
- Wasser, L., 2012. Leitlinien zur Durchführung dynamischer Kostenvergleichsrechnungen (KVR-Leitlinien). 8. überarbeitete Auflage. Kult. Berl. GmbH.
- WHO, 2017. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics.
- WHO (Ed.), 2014. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- Zacharias, N., 2021. Vorkommen Antibiotika-resistenter Bakterien in der aquatischen Umwelt: Zusammenhänge zu dem Vorkommen antibiotisch wirkender Substanzen (PhD Thesis). Dissertation, Bonn, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, 2021.
- Zacharias, N., Essert, S.M., Brunsch, A.F., Christoffels, E., Kistemann, T., Schreiber, C., 2020. Performance of retention soil filters for the reduction of hygienically-relevant microorganisms in

- combined sewage overflow and treated wastewater. *Water Sci. Technol.* 81, 535–543. <https://doi.org/10.2166/wst.2020.132>
- Zarei-Baygi, A., Smith, A.L., 2021. Intracellular versus extracellular antibiotic resistance genes in the environment: Prevalence, horizontal transfer, and mitigation strategies. *Bioresour. Technol.* 319, 124181. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124181>
- Zhu, W., Lawsin, A., Lindsey, R.L., Batra, D., Knipe, K., Yoo, B.B., Perry, K.A., Rowe, L.A., Lonsway, D., Walters, M.S., Rasheed, J.K., Halpin, A.L., 2019. Conjugal Transfer, Whole-Genome Sequencing, and Plasmid Analysis of Four *mcr-1*-Bearing Isolates from U.S. Patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 63, e02417-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.02417-18>