



Antibiotikatransfer aus dem Boden in Nutzpflanzen

Manfred Grote (magrote@zitmail.uni-paderborn.de);
Didem Hanim Meriç (dyolcu@mail.uni-paderborn.de)

Zusammenfassung

Das weltweit steigende Risiko der Resistenzbildung bei humanpathogenen Mikroorganismen wird u.a. mit dem extensiven Antibiotika-Einsatz in der landwirtschaftlichen Tierproduktion in Verbindung gebracht. Der Eintrag humanpathogener Keime und (subinhibitorischer) Spurenkonzentrationen antibiotisch aktiver Stoffe in die Nahrungsmittelkette über Lebensmittel tierischer Herkunft ist seit längerer Zeit bekannt. Die Ergebnisse verschiedener Studien der letzten Jahre zeigen (Modellversuche, Screeningstudien in konventioneller Landwirtschaft), dass ein weiterer Eintragspfad über Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs möglich ist, da Antibiotika aus Güllebeaufschlagten Böden von Nutzpflanzen (Getreide, Gemüse) aufgenommen werden. Daraus resultierende Verbraucherrisiken sind auf Grund der schmalen Datenbasis noch nicht abschätzbar.

Einleitung: Antibiotikaeinsatz in der Landwirtschaft - Antibiotikaresistenzen

In der landwirtschaftlichen Tierhaltung fallen in Deutschland jährlich ca. 30 Mill. Tonnen Gülle an, die regional auf viehstarke Gebiete konzentriert sind. Mit der Gülle, die als Wirtschaftsdünger verwendet wird, gelangen die von den Tieren nach Anwendung ausgeschiedenen Antibiotika-Wirkstoffe und Metaboliten auf landwirtschaftlich genutzte Flächen, aber auch Antibiotika-resistente Mikroorganismen. Für das Jahr 2005 wurde der veterinärmedizinische Antibiotikaeinsatz auf mindestens 784 Tonnen geschätzt, wobei besonders intensiv Tetracycline mit einem Anteil von ca. 45 % für Schwein, Rind und Geflügel angewandt wurden. Zu den verordnungstarken Veterinärpharmaka zählen auch β -Lactame, Sulfonamide und Makrolide. Deutlich niedriger sind die Verbrauchsmengen an Fluorchinolonen und Kokzidiostatika [1 - 4].

Antibiotika zählen sowohl in der Veterinärmedizin als auch in der Humanmedizin zu den verordnungstärksten Indikationsgruppen, und das weltweit steigende Risiko der Resistenzbildung bei humanpathogenen Mikroorganismen wird auch mit dem extensiven Antibiotika-Einsatz in der Tiermast in Verbindung gebracht. Infolge der zunehmenden Resistenzentwicklung wurde die sub-therapeutische Anwendung von Antibiotika zum Zwecke der Leistungsförderung über das Futter EU-weit gestoppt (BGVV 1997). Ab 2006 dürfen Antibiotika gemäß VO 1831/2003/EEC nur noch nach tierärztlicher Verschreibung auf Grundlage des Arzneimittelrechtes zur Therapie angewendet werden. Der Eintrag humanpathogener Keime und (subinhibitorischer) Spurenkonzentrationen antibiotisch aktiver Stoffe in die Nahrungsmittelkette über Lebensmittel tierischer Herkunft ist seit längerer Zeit

bekannt [5-7]. Würden Antibiotika aus Gülle-beaufschlagten Böden von Nutzpflanzen aufgenommen, wäre ein weiterer Eintragspfad über pflanzliche Lebensmittel gegeben. Daraus resultierende mögliche Verbraucherrisiken sind noch nicht abschätzbar, da die Anzahl systematischer Untersuchungen gering und die Datenbasis zu schmal ist.

Modellstudie zur Aufnahme antibiotisch wirksamer Stoffe durch Nutzpflanzen

Die Aufnahme von Antibiotika-Wirkstoffen über die Pflanzenwurzeln wurde bereits vor über 50 Jahren experimentell erkannt [8]: Weizen, Mais und Feldsalat „assimilieren“ Penicillin und Streptomycin, wobei phytotoxische und bakterizide Effekte beobachtet wurden. Eine Modellstudie unter praxisnahen Bedingungen der konventionellen Landwirtschaft zeigte erstmalig, dass antibiotisch wirksame Stoffe aus Güllebeaufschlagten Böden von Nutzpflanzen aufgenommen werden. Dabei wurden Chlortetracyclin (CTC), Sulfadiazin (SFD) und Trimethoprim (TMP) als repräsentative Veterinärwirkstoffe eingesetzt, die intensiv in der landwirtschaftlichen Schweine- und Geflügelhaltung Anwendung finden [6, 9].

Zu Beginn der Studie wurden zur Gewinnung kontrolliert Antibiotika-belasteter Gülle arzneimittelfrei aufgezogene Ferkel mit SFD kombiniert mit TMP und CTC oral behandelt. Während der Medikation wurden Urin und Kot beprobt und dann zu Gülle vereinigt. Diese wurde nach den Medikationsperioden bis zu 8 Monate gelagert und zur Düngung von Feldsalat und Winterweizen auf Versuchspartzellen der FH Südwestfalen, Soest (FB Agrarwirtschaft: Frau Prof. Dr. M. Freitag) ausgebracht. Bodenproben wurden in unterschiedlichen Horizonten sowie Pflanzenproben in verschiedenen Wachstumsstadien bis zur Beerntung genommen. Zur Analyse dieser Proben auf Arzneistoffrückstände wurden LC-MS/MS-Methoden (ESI-Ion-Trap) entwickelt. Positive Befunde wurden mit hochauflösender MS (ISAS Dortmund, Dr. H. Hayen) abgesichert. Zusätzlich wurden, um das Aufnahmepotenzial verschiedener Nutzpflanzen für relevante Arzneistoffkontaminanten der Gülle festzustellen, Experimente in Hydrokultur durchgeführt (BfEL Detmold, seit 2008: Max Rubner Institut: Dir. U. Prof. Dr. T. Betsche, Dr. G. Langenkämper). Im Rahmen von Tracerstudien sind am Zentrum für Umweltforschung und Umwelttechnologie UFT, der Universität Bremen (Prof. Dr. W. Heyser) Tritium-markierte Wirkstoffe (Sulfamethazin, Tetracyclin) eingesetzt worden, um die Verteilung der Tritium-Einlagerungsaktivitäten in den Pflanzenkompartimenten mit Flüssig-Szintillationszählung zu ermitteln [10].

Die Rückstandsanalysen ergaben, dass während der Lagerung der Schweinegülle CTC und SFD nur bis zu 50 - 60% abgebaut wurden, so dass auf die Felder z.T. erhebliche Antibiotikafrachten gelangten (176 – 284 mg CTC/m² und 557 – 922 mg SFD/m²). In Extrakten der oberen Bodenhorizonte (0 – 20 cm), die nach der ersten Güllebeaufschlagung der Versuchsfelder beprobt wurden, sind SFD (90 µg/kg Trockenmasse) und CTC (bestimmt als iso-/epi-iso-CTC-Summenparameter: max. 240 µg/kg TM) nachgewiesen worden, aber nicht in tieferen Schichten bis zu 60 cm. Die höchsten Belastungen traten in Parzellen auf, die zweimal organisch gedüngt worden waren. Nach 3 Monaten waren die extrahierbaren Anteile der Antibiotika auf ca. 10 - 20 µg/kg TM gesunken. Die Bioverfügbarkeit der applizierten Veterinärpharmaka zeigte sich darin, dass Feldsalat und Winterweizen aus den organisch gedüngten Böden das Sulfadiazin und Chlortetracyclin über die Wurzel aufnahmen und in die Pflanzen transportierten. Bei den Getreidepflanzen ließ sich die zeitliche Veränderung der SFD/CTC-Gehalte in Wurzeln (max. 0,5 – 1 mg/kg TM) und Grünanteilen bis zur Erntereife verfolgen. Im Korn von zweimalig beaufschlagten Winterweizen-Feldern wurden an CTC ~44 µg/kg Frischgewicht nachgewiesen. Die Haupteinlagerungsorte der Tritiummarkierten Antibiotika auf zellulärer Ebene waren mit Hilfe mikroautoradiographischer Untersuchungen an Wurzelquerschnitten von Weizenpflanzen (Hydrokultur) deutlich erkennbar geworden, so z.B. in der Wurzelrinde, in den Xylemgefäßen und den Blättern. Untersuchungen internationaler Forschergruppen, die unter Gewächshausbedingungen durchgeführt wurden [11], belegen ebenfalls das relativ hohe Aufnahmepotential von Nutzpflanzen, insbesondere für Tetracycline.

Die Ergebnisse der Modellstudie waren als Hinweis auf einen möglichen Eintragungspfad von Antibiotika-Rückständen aus der landwirtschaftlichen Tierhaltung in pflanzliche Lebens- und Futtermittel zu werten. Da in der Regel die Antibiotikagehalte in Gülle aus der landwirtschaftlichen Praxis geringer sind als die Gehalte, die im Rahmen der beschriebenen Studie erreicht wurden, blieb zu klären, ob der Antibiotikatransfer Boden-Getreide auch in der Praxis der konventionellen Landwirtschaft von Bedeutung ist.

Screeningstudie

Ständige Einträge geringer Antibiotikamengen über belastete Nutzpflanzen in Futtermittel und in die Nahrungsmittelkette wären vor dem Hintergrund der zunehmenden Resistenzproblematik als kritisch zu bewerten. Deshalb wurden im Rahmen einer Screening-Studie Winterweizen, Gerste und Triticale beprobt, die in Regionen Nordrhein-Westfalens und Niedersachsen mit intensiver Schweinehaltung angebaut worden waren [12].

In den Jahren 2005 und 2006 wurden mit Unterstützung der Landwirtschaftskammern Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen in den Kreisen Borken, Coesfeld und Warendorf sowie der Grafschaft Bentheim während der laufenden Ernte Boden- und Getreideproben gezogen. Die

Analyse des Getreides der Ernte 2005 führte zu positiven Befunden für CTC, Tetracyclin (TC), Iso-Chlortetracyclin (iso-CTC), Doxycyclin (DC) und Demeclocyclin (DMC). Vielfach lagen die Gehalte unter der jeweiligen Bestimmungsgrenze (~ 8-18 µg/kg Frischgewicht, FG). In einigen Getreideproben wurden Tetracycline im Bereich zwischen ~ 30 (iso-CTC, DC), ~ 60 (DMC, CTC) und maximal 95 µg/kg FG (iso-CTC) bestimmt. Die Ursache der relativ hohen Gehalte an DMC (im Winterweizen aus dem Kreis Borken bleibt ungeklärt (kein zugelassener Wirkstoff, Metabolit des CTC s. Abb. 1). Zwischen den (extrahierbaren) Tetracyclin-Gehalten in Boden und Korn und der von den Betriebsleitern angegebenen Medikamentierung der jeweiligen Viehbestände ergab sich nur in wenigen Fällen ein Zusammenhang (Tab. 1). Einige Befunde in Boden und Korn könnten auf eine Remobilisierung an Bodenpartikel gebundener Antibiotika hinweisen. Im Unterschied zur Ernte des Vorjahres aus Nordrhein-Westfalen, wurde im Getreide des Jahres 2006, das durch extreme Trockenheit während der Wachstumsperiode gekennzeichnet ist, keine Tetracycline nachgewiesen. Allerdings enthielten drei Proben aus Niedersachsen der Ernte 2006 Spuren an Doxycyclin, das nicht appliziert worden war (Metabolit von appliziertem Oxytetracyclin).

Nach den Ergebnissen der Screeningstudie ist offensichtlich, dass auch in der landwirtschaftlichen Praxis in viehstarken Gebieten ein Antibiotikatransfer aus dem Boden bis in das Getreidekorn möglich ist. Ein hoher und langfristiger Einsatz von Tetracyclinen wird zweifellos diesen Transfer begünstigen. Anzeichen für eine flächendeckende Belastung des Getreides durch antibiotikahaltige Gülle in Gebieten mit hohem Viehbesatz ergaben sich bislang nicht.

Antibiotikaaufnahme in Gemüse

In der Landwirtschaft werden als Wirtschaftsdünger neben Schweinegülle auch tierische Ausscheidungen aus der Geflügelhaltung (z. B. Hühner- und Putenmist, Hühner-trockenkot, Flüssigdünger) eingesetzt. Ein wichtiger Anwendungsbereich ist dabei neben dem Getreide- auch der Gemüseanbau. Der Transfer von Veterinärpharmaka unterschiedlicher Indikationsgruppen aus dem güllebeaufschlagten Boden über die Wurzel in die Gemüsepflanzen könnte durch relativ lange Wachstumszeiten einiger Gemüsearten begünstigt werden. Im Rahmen eines „Gemüse-Projektes“ wurde daher das Aufnahmepotential von Weißkohl, der in Deutschland am meisten verzehrte Gemüseart, und Porree für verordnungsstarke Wirkstoffe zunächst über Dotierungsexperimente in Hydrokultur ermittelt (Dotierungskonzentration der Nährlösung: 5 µmol/L je Antibiotikum) [13]. Exemplarisch wurden dazu die Wirkstoffe Sulfadiazin (SFD), Enrofloxazin (ENR), Tetracyclin (TC), Chlortetracyclin (CTC) und Monensin (MON) ausgewählt. Die erkennbaren Wirkungen der Antibiotika auf die in Hydrokultur angezogenen Gemüsepflanzen reichten beim Porree von nicht erkennbaren Effekten (MON, SFD), schwach ausgeprägtem Ausbleichen in jungen Blattabschnitten (CTC) bis zu sehr auffälligen Effekten durch ENR. Wesentlich ausgeprägter waren die (phytotoxischen) Wir-

kungen der Antibiotika auf die Weißkohlpflanzen: Der mit CTC dotierte Weißkohl zeigte gelbliche Verfärbungen der Leitbahnen, MON führte an einigen Blättern zu Läsionen und schließlich zum Welken, während die Dotierung mit ENR eine fast vollständige Ausbleichung der jungen Blätter bewirkte.

Die ermittelten Arzneistoffrückstände umfassten - je nach Wirkstoff, Gemüseart und Pflanzenteil beim Porree sowie Weißkohl mehrere Größenordnungen ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bis mg/kg Frischgewicht, FG). So erreichten CTC und TC in den Wurzeln beider Gemüsepflanzen die höchsten Konzentrationen (Weißkohl: ca. $10 \text{ mg}/\text{kg}$ FG; Porree: ca. $20 \text{ mg}/\text{kg}$ FG), sowie ENR in Weißkohl (ca. $12 \text{ mg}/\text{kg}$ FG), das zu geringen Anteilen zum Ciprofloxazin (CIP) metabolisiert wird. In ähnlich hohen Gehalten (ca. $7 \text{ mg}/\text{kg}$ FG) wurde ENR in alten Weißkohlblättern und Wurzeln gefunden. Alle dotierten Wirkstoffe ließen sich in Stängeln und Blättern (jung und alt) des Weißkohls sowie den jungen und alten Blattabschnitten des Porrees nachweisen. Dabei erreichten ENR und CTC (einschließlich seiner Umwandlungsprodukte wie z. B. Demeclocyclin (DMC) und TC die relativ höchsten Gehalte. SFD und MON lagen in deutlich niedrigeren Konzentrationen vor ($< 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ FG).

Die Ergebnisse der Aufnahmeexperimente in Hydrokultur mit Weißkohl und Porree zeigen also ein besonders hohes Aufnahme- und Transportpotential für Tetracycline und ENR. Rückstandsanalytische Daten über die Belastungssituation von Gemüse aus landwirtschaftlicher Praxis werden im Rahmen weiterer Projekte gewonnen.

Fazit

Eine Konsequenz aus den vorgestellten Untersuchungsergebnisse über den Antibiotikatransfer in Nutzpflanzen wäre ein systematisches Monitoring von Erntegütern, um die Belastungssituation zu erfassen. Infolge zunehmender Brisanz der Resistenzlage sind Strategien und interdisziplinäre Ansätze zu entwickeln, die zu einem nachhaltigeren Einsatz von Veterinärantibiotika in der Landwirtschaft führen, mit dem Ziel der Resistenzprävention. Derartige Ansätze sind in der vom Bundesministerium für Gesundheit im Jahre 2008 herausgegebenen „Deutschen Antibiotika-Resistenzstrategie DART“ enthalten.

Literatur

- [1] GERMAP 2008, Antibiotika-Resistenz und Verbrauch, Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, BVL, Oktober 2008.
- [2] G. Hamscher, H. Theresia Pawelzick, H. Höper, H. Nau, *Environmental Toxicology and Chemistry* (2005) 24 (4): 861-868.
- [3] S. Thiele-Bruhn, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* (2003) 166 (2): 145-167.
- [4] M. Grote, *internist. prax. "Medizin und Umwelt"* (2007) 47: 919-926.
- [5] K. Kümmerer, A review - Part 1, *Chemosphere* 75 (2009 a): 417-434.
- [6] M. Grote, A. Vockel, D. Schwarze, A. Mehlich, M. Freitag, *Fresenius Environmental Bulletin - FEB* (2004) 13: 1216-1224.
- [7] GSF - Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit (Hrsg.) (2007) Kommunikation FLUGS-Fachinformationsdienst. Antibiotika und Antibiotikaresistenzen. Neuherberg: 1-14.
- [8] N.A. Krasilnikov, *Soil, microorganisms and higher plants*, in: *Academy of Sciences of the USSR (Hrsg): Interaction between soil microorganisms and plants, Part IV*, Moskau: 1958, Übersetzung von 1961. Washington .D.C.: The national science foundation.
- [9] M. Grote, C. Schwake-Anduschus, H. Stevens, R. Michel, T. Betsche, M. Freitag, *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* (2006) 1:38-50.
- [10] M. Grote, C. Schwake-Anduschus, R. Michel, H. Stevens, W. Heyser, G. Langenkämper, T. Betsche, M. Freitag, *Landbauforschung Völknerode - FAL Agricultural Research* (2007) 57: 25-32.
- [11] K. Kumar, S.C. Gupta, S.K. Baidoo, Y. Chander, C. Rosen, *Journal of Environmental Quality* (2005) 34: 2082-2085.
- [12] M. Freitag, D. H. Yolcu, H. Hayen, T. Betsche, M. Grote, *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* (2008) 3: 174-184.
- [13] M. Grote, D. H. Meriç, G. Langenkämper, H. Hayen, T. Betsche, M. Freitag, *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* (2009) 4: 287-304.

Korrespondenzadresse:

Prod. Dr. Manfred Grote
Department Chemie
Fakultät für Naturwissenschaften
Universität Paderborn
Warburgerstr. 100
33098 Paderborn
Tel: 05251 – 602191, Fax: 05251 – 603549

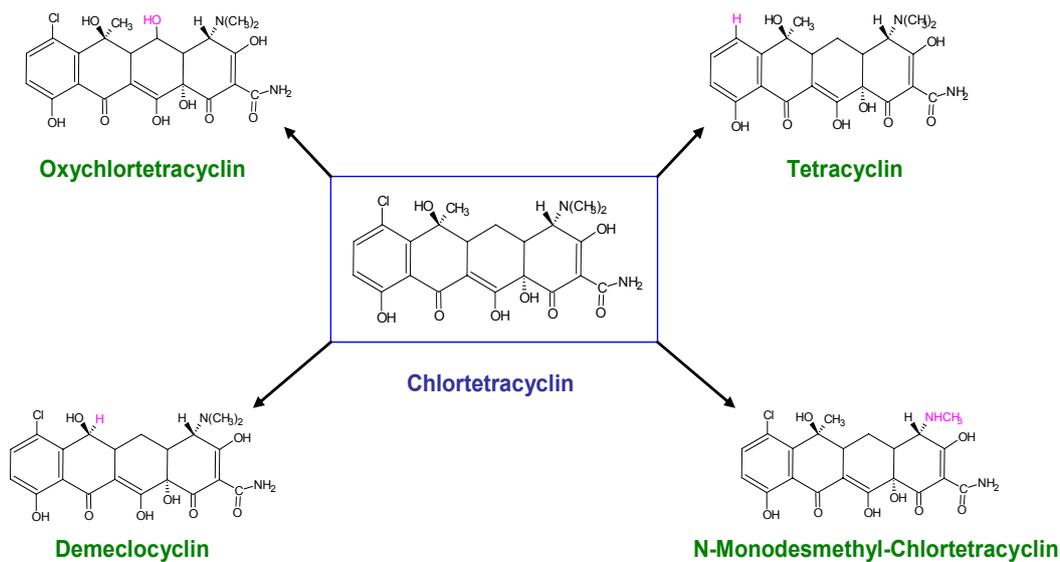


Abb. 1 Mögliche Metabolisierungsprodukte von Chlortetracyclin

Tabelle 1: Nachgewiesene Tetracycline in Boden und Korn aus Betrieben in viehstarken Gebieten, Ernte 2005

Kreis	Betrieb	a) Einsatz von TC und CTC	Boden [$\mu\text{g}/\text{kg TM}$]		Korn [$\mu\text{g}/\text{kg FG}$]		
			TC	b) ΣCTC	TC	CTC	c) iso-CTC
Coestfeld	1	CTC	(-)	51,2	(+)	58,3 (+DMC 68,4)	53,4
	2	k.A.	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	3	TC	30,2	23,1	(-)	(-)	(-)
	4	TC	10,3	(-)	(-)	(-)	(-)
	5	TC	120,4	22,6	(-)	(-)	(-)
Borken	1	TC	26,3	31,2	(-)	(-)	(+)
	2	k.A.	(-)	(-)	(-)	(-)	71,5
	3	k.A.	(-)	(-)	(-)	(-)	95,9
	4	TC	(-)	(-)	(-)	(-)	29,5
	5	k.A.	(-)	(-)	(-)	(-)	42,3
	6	CTC	(-)	(-)	(-)	(-)	37,7
Waren- dorf	1	CTC	17,7	13,9	(-)	(-)	(-)
	2	CTC	(-)	33,7	(-)	(-)	(-)
	3	CTC	10,5	(+)	(-)	(-)	(+)

TC: Tetracyclin, **CTC:** Chlortetracyclin, **iso-CTC:** Isochlortetracyclin, **epi-:** Epimer, **DMC:** Demeclocyclin (Metabolit von CTC?)

a) Angaben der Betriebsleiter

b) Summe iso-CTC und epi-iso-CTC (Bildung aus CTC, entsteht während der Extraktion des Bodens)

c) Summe iso-CTC und epi-iso-CTC; **(+)** kleiner Bestimmungsgrenze; **(-)** kleiner Nachweisgrenze

k.A. keine Angaben **TM** Trockenmasse **FG** Frischgewicht;