



Heike Engels (Autor)

Verhalten von ausgewählten Tetrazyklinen und Sulfonamiden in Wirtschaftsdünger und in Böden

FORSCHUNGSBERICHT AGRARTECHNIK

des Arbeitskreises Forschung und Lehre der
Max-Eyth-Gesellschaft Agrartechnik im VDI (VDI-MEG)

427

Heike Engels

**Verhalten von ausgewählten Tetrazyklinen
und Sulfonamiden in Wirtschaftsdünger
und in Böden**

Dissertation
Göttingen 2004

CUVILLIER VERLAG
 GÖTTINGEN

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/2652>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

1 Einleitung

1.1 Problemstellung

Arzneimittelwirkstoffe werden in der Nutztierhaltung in nennenswertem Umfang eingesetzt; dabei handelt es sich in erster Linie um Antibiotika. 1999 wurden im gesamten EU-Gebiet einschließlich der Schweiz insgesamt 13.200 t Antibiotika verbraucht (FEDESA 2001). Auf die Humanmedizin entfielen 8.500 t, als Tierarzneimittel wurden 3.900 t Antibiotika verabreicht. 800 t Antibiotika wurden als Leistungsförderer eingesetzt. Mit dem EU-weiten Verbot aller antibiotisch wirksamen Futterzusatzstoffe bis 2006 wird dieser Einsatz allerdings in Zukunft keine Rolle mehr spielen (KOM 2002). Eine im Vergleich zu Angaben der FEDESA (2001) detailliertere Auflistung des Gesamtverbrauches an Tierarzneimitteln z.B. hinsichtlich einzelner Wirkstoffe und Tierarten bzw. Nutzungsrichtungen ist weder EU- noch deutschlandweit verfügbar, da keine zentrale Erfassung der Daten erfolgt.

Die potenziellen Eintragsquellen von Antibiotika in die Umwelt sind vielfältig: nach Verabreichung beim Tier werden sie in zum Teil aktiver und unveränderter Form sowie als aktive Metabolite durch den tierischen Organismus ausgeschieden. Somit kann über Wirtschaftsdünger wie Gülle oder Festmist ein Eintrag dieser Stoffe in Böden stattfinden (Abbildung 1).

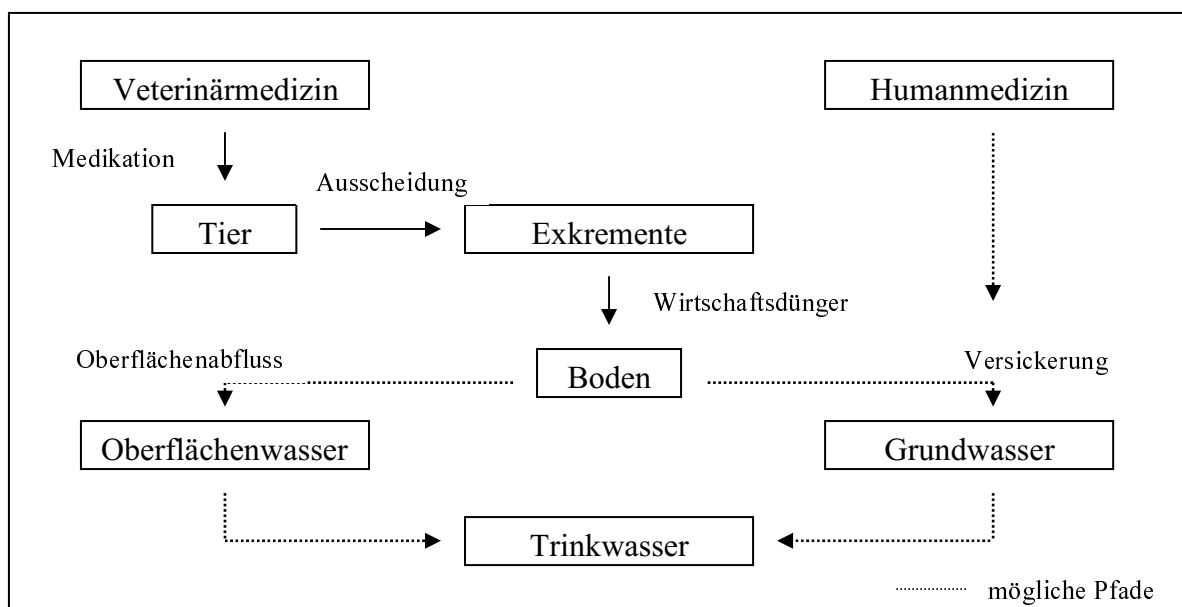


Abbildung 1: Eintragspfade für Antibiotika in die Umwelt

Eine weitere Eintragsquelle in die Umwelt ist in der Aquakultur zu sehen, bei der die Antibiotika im Bedarfsfall direkt in die Gewässer ausgebracht werden. Auch über den

Pflanzenbau erfolgt ein Eintrag: seit den 1950er Jahren werden Antibiotika als Pflanzenschutzmittel vor allem bei der Produktion von Obst, Gemüse und Zierpflanzen eingesetzt. McManus et al. (2002) schätzten den Verbrauch in den USA zu diesem Zweck auf 0,5 % des gesamten Antibiotika-Verbrauchs, der für die USA mit ca. 10.000 t angegeben wird. Neueste Untersuchungen von Hamscher et al. (2003) wiesen einen Eintrag von Antibiotika sogar über Stäube aus der Schweine- und Geflügelhaltung nach. Über den weiteren Verbleib bzw. das Verhalten der über diese verschiedenen Eintragswege in die Umwelt eingebrachten Antibiotika gibt es derzeit nur wenig Kenntnis.

Verschiedene Erhebungen ergaben, dass es sich bei den veterinärmedizinisch angewandten Antibiotika hauptsächlich um Tetracykline und Sulfonamide handelt (FEDESA 1999; Winckler und Grafe 2000; Grafe 2001; Abbas et al. 2001; Thiele-Bruhn et al. 2003). Es handelt sich bei beiden Wirkstoffgruppen um so genannte Altpräparate. Mit dem Begriff Altpräparate werden Tierarzneimittel umschrieben, die vor dem 01.01.1978 zur Anwendung kamen oder zwischen 1978 und 1998 zugelassen wurden (Winckler und Grafe 2000; Grafe 2001). Vor 1998 unterlagen diese Wirkstoffe keiner Umweltverträglichkeitsprüfung (UVP). Mit Wirkung zum 01.01.1998 ist eine vom Ausschuss für Tierarzneimittel (CVMP) der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) erarbeitete Leitlinie (EMA/CVMP-055/96) zur Durchführung einer UVP von neu zuzulassenden Tierarzneimitteln in Kraft getreten. Eine Überarbeitung erfolgte im Jahr 2000 (EMA/CVMP/VICH/592/98; VICH GL 6 –Ecotoxicity Phase I) (EMA 2000). Unter Berücksichtigung der eingesetzten Menge des Wirkstoffes, der biologischen Abbaubarkeit, der Adsorption im Boden und anderer Parameter wird im ersten Schritt ein Expositionsszenario erstellt und die zu erwartende Konzentration im Boden PEC_{soil} ermittelt (Phase I). Bei der Überschreitung bestimmter Schwellen- bzw. Triggerwerte ($PEC_{soil} > 100 \mu\text{g kg}^{-1}$; $PEC_{water} > 1 \mu\text{g l}^{-1}$) sind weitere Untersuchungen zur Ökotoxizität, zum Abbau im Boden bzw. Wasser sowie zur Adsorption erforderlich (Phase II).

Da sich die Leitlinie jedoch nur auf die Zulassung neuer Tierarzneimittel bezieht, werden Altpräparate diesbezüglich nicht untersucht. Somit besteht ein erheblicher Mangel an umweltrelevanten Informationen über das Verhalten der Altpräparate nach der Ausscheidung durch das Tier. Auf die Bewertungslücke hinsichtlich der Umweltrelevanz dieser Wirkstoffe wurde bereits an verschiedener Stelle hingewiesen (Montforts et al. 1999; Winckler und Grafe 2000; Tolls 2001; Hamscher et al. 2002; Höper et al. 2002; Thiele-Bruhn et al. 2003).

Nur durch ein genaueres Wissen um die Wirkungen der Altpräparate in der Umwelt ist eine Risikobewertung möglich und können mögliche Präventivmaßnahmen eingeleitet werden. Wichtige Kriterien für eine Risikobewertung von Antibiotika hinsichtlich des Bodenschutzes sind verlässliche Angaben zur Expositionsabschätzung, zu potentiellen Austrägen ins Grundwasser oder zu den Auswirkungen auf die mikrobielle Bodenbiozönose. Einen weiteren wichtigen Aspekt stellt die mögliche Induktion und Verbreitung von Antibiotikaresistenzen im Boden und in anderen Ökosystemen dar.

1.2 Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist daher, Erkenntnisse hinsichtlich Umweltverhalten, Exposition und potentiellen Austrägen ins Grundwasser am Beispiel von ausgewählten Altpräparaten aus den Wirkstoffgruppen der Tetracycline und Sulfonamide zu gewinnen, um einen Beitrag zur Abschätzung der Umweltgefährdung zu leisten.

In einer früheren Studie konnten Winckler und Grafe (2000) eine ausgeprägte Persistenz von Tetracyclin in Schweinegülle nachweisen. Auf diesen ersten Ergebnissen aufbauend lag ein Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit auf der Persistenz von Tetracyclin in Masthähnchenfestmist, da neben der Schweinemast auch in der Geflügelmast ein erheblicher Einsatz von Tetracyclinen stattfindet (Grafe 2001). Weiterhin sollte als Ergänzung zu einer Untersuchung von Grafe (2001) eine Erhebung zu den Gehalten an ausgewählten Tetracyclinen und Sulfonamiden in Gülleproben aus der Praxis durchgeführt werden. Ein Vergleich zwischen zwei Probennahmejahren sollte mögliche Veränderungen in der Verschreibungspraxis aufzeigen. Im Hinblick auf den Eintragungspfad Boden-Wasser wurde die Mobilität von Tetracyclin und Sulfadiazin in verschiedenen Böden nach Ausbringung über Gülle im Gefäß- und Lysimetermaßstab untersucht.

Folgende Fragestellungen wurden bearbeitet

- Wie verhält sich der Wirkstoff Tetracyclin bei der Lagerung von Masthähnchenfestmist, welche Einflussfaktoren auf den Abbau gibt es?
- Wie sieht die tatsächliche Belastung der Schweinegülle mit Tetracyclin- und Sulfonamidrückständen aus? Gibt es Unterschiede in der Belastung der Schweinegülle mit ausgewählten Antibiotika in den Winterhalbjahren 1999/2000 und 2001/2002?
- Sind die Wirkstoffe Tetracyclin und Sulfadiazin im Boden mobil und gibt es Unterschiede in der Verlagerungsneigung bei verschiedenen Böden?

2 Literaturübersicht

2.1 Begriffsbestimmungen

Tierarzneimittel sind Medikamente, die in der Veterinärmedizin in therapeutisch wirksamer Dosierung verabreicht werden und verschreibungspflichtig durch den Tierarzt sind. Der Begriff Arzneimittel hat laut Richtlinie 65/65/EWG folgende Definition:

Arzneimittel sind alle Stoffzusammensetzungen, die als Mittel zur Heilung oder zur Verhütung menschlicher oder tierischer Krankheiten bezeichnet werden; alle Stoffe oder Stoffzusammensetzungen, die dazu bestimmt sind, im oder am menschlichen oder tierischen Körper zur Erstellung einer ärztlichen Diagnose oder zur Wiederherstellung, Besserung oder Beeinflussung der menschlichen oder tierischen Körperfunktionen angewandt zu werden. (Tier-)Arzneimittel unterliegen dem Arzneimittelgesetz.

Die in dieser Arbeit näher untersuchten Tetrazykline sind den Tierarzneimitteln zuzuordnen und gehören zur Gruppe der Antibiotika (Kroker et al. 1996). Als Breitband-Antibiotika werden sie sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin eingesetzt. Sie werden von Streptomycesarten gewonnen. Der Begriff Antibiotika leitet sich aus der Entstehung derselben in verschiedenen Mikroorganismen wie Bakterien oder Pilzen ab (Kroker et al. 1996). Die Bezeichnung Breitband-Antibiotika wird für solche Substanzen verwendet, die ein sehr weites Wirkungsspektrum haben, also sowohl gegen grampositive als auch gramnegative Bakterien eingesetzt werden können. Demzufolge ist ihr Einsatz in der therapeutischen Praxis sehr häufig. Unter dem Oberbegriff Chemotherapeutika werden sowohl die natürlichen als auch die synthetisch hergestellten Antibiotika mit vergleichbarer Wirkung zusammengefasst (Kroker et al. 1996).

In der vorliegenden Arbeit wurden neben den Tetrazyklinen auch Sulfonamide berücksichtigt, um ein weiteres häufig eingesetztes Tierarzneimittel in die Untersuchungen zur Persistenz und Mobilität mit einzubeziehen. Sulfonamide stellen Derivate des p -Amino-Benzoe-Sulfonamids (Sulfanilamid) dar. Sie bestehen aus einem Benzolkern mit einer Amino- und einer Sulfonamidgruppe (Kroker et al. 1996). Sulfonamide gehören wie die Tetrazykline zu den Breitband-Antibiotika.

Neben den Tetrazyklinen und Sulfonamiden gibt es noch weitere wichtige Antibiotikagruppen. Unter anderem sind die Aminoglykoside, β -Laktame, Polymyxine,

Chinolone, Makrolide und Lincosamide zu nennen. Die Gruppen unterscheiden sich in der Wirkungsart und dem Wirkungsort in der Bakterienzelle.

Antimikrobiell wirksame Substanzen werden auch als Futterzusatzstoffe verwendet. Im Gegensatz zu Tierarzneimitteln unterliegen sie dem Futtermittelgesetz. Pharmakologisch wirksame Futterzusatzstoffe werden in subtherapeutischen Dosierungen verfüttert, um leistungssteigernde Effekte wie z.B. eine erhöhte Mastleistung beim Tier zu erzielen. Antimikrobiell wirksame Substanzen finden sich sowohl bei Tierarzneimitteln als auch unter den Futterzusatzstoffen. Allerdings werden als Futterzusatzstoffe keine Antibiotika verwendet, die auch in der Humanmedizin oder als Tierarzneimittel zugelassen sind.

Als pharmakologisch wirksame Futterzusatzstoffe sind derzeit noch in der EU zugelassen (Stand Frühjahr 2004): Avilamycin, Flavophospholipol, Monensin-Natrium, Salinomycin-Natrium. Da der Einsatz dieser Substanzen in den vergangenen Jahren aufgrund potentieller Kreuzresistenzen zu therapeutisch eingesetzten Antibiotika zunehmend kritisch betrachtet wurde, hat die EU im Frühjahr 2002 ein Verbot der vier noch zugelassenen antimikrobiell wirkenden Futtermittelzusatzstoffe ab 2006 vorgeschlagen (KOM 2002). Einzige Ausnahme ist Avilamycin, das für Puten weiterhin Anwendung finden darf (Anonymous 2003). Im Entwurf zur diesbezüglichen Verordnung wurde weiterhin festgelegt, dass Zusatzstoffe grundsätzlich nur noch für zehn Jahre zugelassen werden; nach Ablauf dieses Zeitraums muss jeweils eine Neuzulassung beantragt werden. Firmen, die bereits nach geltenden Vorschriften zugelassene Futtermittelzusatzstoffe in den Verkehr bringen, haben innerhalb der nächsten sieben Jahre eine Neubewertung und Neuzulassung ihrer Produkte zu beantragen. Dazu müssen die Unternehmen nachweisen, dass der Zusatzstoff positive Wirkungen auf das Tier hat und dass für die Gesundheit von Mensch und Tier sowie für die Umwelt keine Gefahr besteht (KOM 2002).

2.2 Physikochemische und pharmakokinetische Eigenschaften ausgewählter Antibiotika

Antibiotika werden hinsichtlich ihrer Wirkung auf das Bakterienwachstum als bakterizid bzw. bakteriostatisch bezeichnet. Die erfolgreiche Wirkung gegen Bakterien ist von der Konzentration der antibakteriell wirkenden Substanz am Infektionsort abhängig. Sie muss hoch genug sein, um eine bakterizide oder bakteriostatische Wirkung erzielen zu können. Die Anwendung bakteriostatisch wirkender Antibiotika setzt ein funktionstüchtiges Abwehrsystem im zu behandelnden Organismus voraus, da der Beginn der klinischen Wirksamkeit sich erst nach zwei bis drei Tagen Behandlungsdauer erkennen läßt. Bei

bakterizid wirkenden Antibiotika tritt ein sofortiger Zelltod des zu bekämpfenden Keimes ein, eine Wirksamkeit ist in diesem Fall nach ein bis zwei Tagen zu beobachten (Kroker et al. 1996).

Tetrazykline

Tetrazykline bestehen aus einem Naphthacen-Kern (Abbildung 2) und sind kaum wasserlöslich, ihre dazugehörigen Hydrochloride weisen dagegen eine bessere Wasserlöslichkeit auf. Sie sind relativ stabil in Säure, aber nicht im basischen Milieu und formen Salze in beiden Medien (Halling-Sørensen et al. 2002). Die verschiedenen Derivate innerhalb der Tetrazyklingruppe wie z.B. Chlor- oder Oxytetrazyklin unterscheiden sich lediglich durch kleine Veränderungen an der Molekülstruktur (Abbildung 2). Tetrazykline zeigen eine hohe Affinität zu polyvalenten Kationen (z.B. Magnesium, Kalzium, Eisen) unter der Bildung von Chelatverbindungen. Aus diesem Grund können sich Tetrazykline in Zähnen, Knochen und Knorpel ablagern, vor allem, wenn sie in der Wachstumsphase verabreicht werden (Brüggemann et al. 1966). Die orale Bioverfügbarkeit ist stark abhängig vom Füllungszustand des Magens und der Zusammensetzung der verabreichten Nahrung. Sie beträgt durchschnittlich ca. 50 % (Kroker 2002).

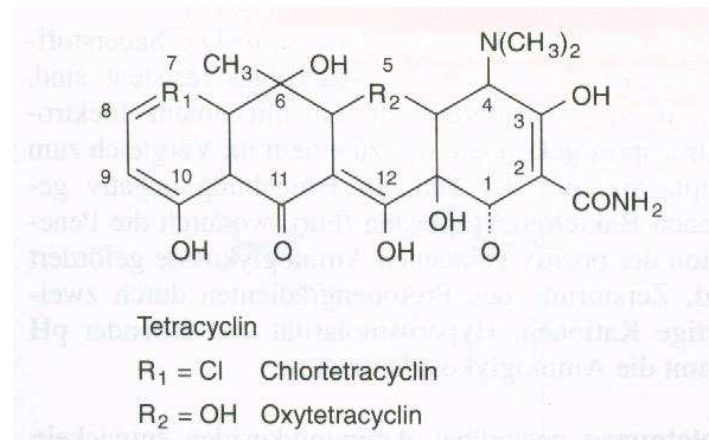


Abbildung 2: Struktur der Tetrazykline (R = Rest) (Kroker et al. 1996)

Tetrazykline werden je nach Tierart zu veränderlichen Anteilen in aktiver Form renal durch globuläre Filtration (Niere) oder über die Fäzes ausgeschieden. Die Anteile der ausgeschiedenen an den verabreichten Substanzmengen sind je nach Applikationsart und verabreichter Tetrazyklinsubstanz unterschiedlich, können aber bis zu 80 % der eingesetzten Tetrazyklinmenge betragen (Kroker 1983; Winckler und Grafe 2000). Tetrazykline können oral über das Trinkwasser in gelöster Form (vor allem bei Geflügel) bzw. als Pulver über das Futter sowie parenteral verabreicht werden. Die enterale

Resorption sowie die Proteinbindung und die Urinausscheidung ist je nach Tierart und verabreichtem Tetrazyklin unterschiedlich (Tabelle 1).

Tabelle 1: Pharmakokinetische Daten von Tetrazyklinen (Kroker et al. 1996)

Substanz	Enterale Resorption (%)	Halbwertszeit (h)	Proteinbindung (%)	Urinausscheidung (%)
Tetrazyklin	bis 50 (Hund)	5 (Hund)	36 (Rind)	56-85 (Hund)
	bis 80 (Mensch)	10 (Kalb)	70-80 (Hund)	40 (Mensch)
		10 (Mensch)	25-55 (Mensch)	
Chlortetrazyklin	24 (Hund)	5 (Hund)	38 (Rind)	ca. 20 (Mensch)
	47 (Kalb)	9 (Kalb)	61 (Hund)	
	25-30 (Mensch)	5-6 (Mensch)	ca. 50 (Mensch)	
Oxytetrazyklin	60 (Mensch)	3 (Huhn)	< 30	30 (Mensch)
		bis 11 (Pferd)		
		8-10 (Mensch)		

Es gelten Dosierungsmengen für Tetrazykline von etwa 20–50 mg/kg je Tag für Kälber, Schweine, Hunde und für Huhn/Taube 50–100 mg/kg je Tag. Die Wartezeiten betragen nach parenteraler Verabreichung 21 (Oxytetrazyklin) bzw. 10 (Tetrazyklin) Tage, nach oraler Gabe 14 Tage (Kroker et al. 1996).

Bei feuchter Lagerung der Tetrazykline, Lichteinwirkung und hohen Temperaturen bilden sich über Dehydratation Epi-, Epianhydro- oder Anhydroprodukte, die zwar nicht antibiotisch wirksam sind, sich aber unter bestimmten Umständen wieder zur Hauptsubstanz umwandeln können (Kroker et al. 1996; Kroker 1997; Kühne et al. 2002). Rückstände lassen sich in Niere, Leber, Muskulatur, Milch und Eiern finden (Kroker 2002). Bei zum Verzehr bestimmten Tieren muss vor der Schlachtung eine Wartezeit eingehalten werden. Tetrazykline wirken bakteriostatisch. Indikationsgebiete sind Infektionen der Atemwege, des Urogenital- und des Magen-Darm-Traktes sowie der Haut (Kroker et al. 1996).

Sulfonamide

Sulfonamide sind nahezu unlöslich in Wasser, formen aber Salze im stark sauren oder basischen Milieu, welche gut wasserlöslich sind (Ingerslev und Halling-Sørensen 2000) (Tabelle 2). Im Stoffwechsel des Warmblüterorganismus kommen Sulfonamide in drei Hauptformen vor: als freies sowie als an Plasmaproteine gebundenes Sulfonamid und als