

**Aus dem Institut für Lebensmitteltoxikologie
und Chemische Analytik
- Lebensmitteltoxikologie -
der Tierärztlichen Hochschule Hannover**

**Tränkeanlagen in Broiler- und Putenmastbetrieben –
Eine Untersuchung der Verschleppungsproblematik von Oxytetracyclin**

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung des Grades einer

Doktorin der Veterinärmedizin

(Dr. med. vet.)

durch die Tierärztliche Hochschule Hannover

Vorgelegt von:

Britta Kogelheide

aus Bad Zwischenahn

Hannover 2007

Wissenschaftliche Betreuung: Priv.Doz. Dr. G.Hamscher

1. Gutachter: Priv.Doz. Dr. G. Hamscher

2. Gutachter: Prof. Dr. U. Neumann

Tag der mündlichen Prüfung: 21.05.2007

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung.....	1
2	Schrifttum.....	2
2.1	Puten- und Hähnchenmast.....	2
2.2	Tierarzneimittel.....	4
2.2.1	Tierarzneimittel – Zulassungsverfahren.....	4
2.2.2	Tierarzneimittel – Verabreichung über Futter oder Tränkewasser.....	8
2.2.2.1	Verabreichung von Tierarzneimitteln über das Futter.....	8
2.2.2.2	Verabreichung von Tierarzneimitteln über das Tränkewasser..	9
2.2.3	Tierarzneimittelrückstände.....	10
2.2.4	Tierarzneimittel in der Umwelt.....	14
2.3	Wasserqualität.....	16
2.4	Resistenzproblematik.....	18
2.5	Risikoanalyse.....	21
3	Material und Methoden.....	22
3.1	Feldversuch.....	22
3.1.1	Versuchsdurchführung.....	22
3.1.2	Fragebogen.....	24
3.1.3	Untersuchung von Tränkewasserproben durch das Veterinärinstitut in Hannover.....	25
3.1.4	Untersuchung von Wasserproben durch das Institut für Bedarfsgegenstände in Lüneburg.....	26
3.2	Modellversuch.....	27
3.2.1	Aufbau der Modellanlage.....	30
3.2.2	Versuchsdurchführung.....	31
3.2.3	Untersuchung der Proben aus dem Modellversuch mittels LC-ESI-MS-MS.....	34
4	Ergebnisse.....	39

4.1	Auswertung des Fragebogens.....	39
4.2	Ergebnisse der Untersuchung der Tränkewasserproben durch das Veterinärinstitut in Hannover.....	47
4.3	Ergebnisse der Untersuchung der Wasserproben durch das Institut für Bedarfsgegenstände in Lüneburg.....	48
4.4	Ergebnisse des Modellversuches.....	52
5	Diskussion.....	55
5.1	Diskussion der Ergebnisse des Feldversuches.....	57
5.2	Diskussion der Ergebnisse des Modellversuches.....	60
5.2.1	PE-Rohrleitung.....	60
5.2.2	PVC-Rohrleitung.....	61
5.2.3	Bedeutung des Modellversuches für die Praxis.....	62
5.3	Schlussfolgerungen.....	63
5.4	Perspektiven.....	65
6	Zusammenfassung.....	66
7	Summary.....	68
8	Schrifttumsverzeichnis.....	70
9	Anhang I.....	80

Abkürzungsverzeichnis

ADI	Acceptable daily intake
AMG	Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln
ArgeVet	Arbeitsgemeinschaft der leitenden Veterinärbeamten
ATC	Anhydrotetrazyklin
BEC	Background equivalent concentration
BTK	Bundestierärztekammer
BVL	Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
bzw.	Beziehungsweise
Ca	Calcium
cm	Zentimeter
CTC	Chlortetrazyklin
DIN	Deutsches Institut für Normung
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EN	Europäische Norm
ESI	Elektrospray-Ionisation
et al.	Et alii
EU	Europäische Union
FAO	Food and Agriculture Organisation
Fe	Eisen
FEDESA	European Federation of Animal Health
g	Gramm
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HPLC-MS-MS	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie gekoppelt mit Tandem-massenspektrometrie
IC	Ionenaustauschchromatographie
ICP-OES	Optische Emmissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
IE	Internationale Einheiten

ISO	International Organisation for Standardization
JECFA	Joint Expert Committee on Food Additives
kg	Kilogramm
l	Liter
LAVES	Niedersächsisches Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit
LC	Liquid Chromatography
LF	Leitfähigkeit
M	Molar
Mg	Magnesium
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
Mn	Mangan
MRL	Maximum residue limit
MS-MS	Tandem-Massenspektrometrie
n	Probenanzahl
nm	Nanometer
OTC	Oxytetracyclin
PE	Polyethylen
pH	Potentia hydrogenii
PVC	Polyvinylchlorid
t	Tonnen
u.a.	Und andere
UV	Ultraviolett
VO	Verordnung
WHO	World Health Organisation
z.B.	Zum Beispiel

%	Prozent
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µS	Mikrosiemens
®	Eingetragenes Warenzeichen

Tabellenverzeichnis

- Tab. 1** Tägliche Verzehrsmengen von Lebensmitteln als Grundlage der Festlegung der MRL-Werte
- Tab. 2** Für Tetrazykline gelten gemäß VO (EWG) 2377/90 folgende zulässige Rückstandshöchstwerte
- Tab. 3** Nachweis von Fluoreszenz mittels UV-Lampe (336 nm) in Hühnerknochen nach Applikation von Oxytetrazyklin an Tag 1, 5, 15 und 25 nach Behandlungsende
- Tab. 4** Nachweismethoden der Wasserinhaltsstoffe der im Rahmen des Feldversuches entnommenen Wasserproben
- Tab. 5** Wasserinhaltsstoffe des bei dem Modellversuch eingesetzten Stadtwassers
- Tab. 6** HPLC-Parameter
- Tab. 7** HPLC-Gradientenprogramm
- Tab. 8** MS-Parameter
- Tab. 9** MS-MS-Parameter
- Tab. 10** Tränkeanlagenhersteller in den besuchten Betrieben
- Tab. 11** Alter der Tränkeanlagen
- Tab. 12** Im Bereich der Putenmast eingesetzte Reinigungsmittel
- Tab. 13** Im Bereich der Hähnchenmast eingesetzte Reinigungsmittel
- Tab. 14** Hinweise der Tränkeanlagenhersteller zur Reinigung der Anlagen
- Tab. 15** Arzneimittel, die im letzten Mastdurchgang vor der Probenahme bei den Puten eingesetzt wurden
- Tab. 16** Arzneimittel, die im letzten Mastdurchgang vor der Probenahme bei den Hähnchen eingesetzt wurden
- Tab. 17** Störanfälligkeit der verschiedenen Tränkeanlagen
- Tab. 18** In der Putenmast verwendetes Wasser
- Tab. 19** In der Hähnchenmast verwendetes Wasser
- Tab. 20** Auszug aus der Trinkwasser-Verordnung
- Tab. 21** Wasserinhaltsstoffe der Proben, die in Putenmastbetrieben entnommen wurden
- Tab. 22** Wasserinhaltsstoffe der Proben, die in Hähnchenmastbetrieben entnommen wurden

Tab. 23 Von den Grenzwerten der Trinkwasser-Verordnung abweichende Wasserqualitäten (fett gedruckt)

Tab. 24 Ergebnisse aus Versuch I

Tab. 25 Ergebnisse aus Versuch II

Tab. 26 Ergebnisse aus Versuch III

1 Einleitung

In der modernen Geflügelfleischproduktion geht es um die Herstellung qualitativ hochwertiger Lebensmittel.

Bei großen Tierzahlen tritt die Einzeltierbehandlung aus Gründen der Praktikabilität sowie der Ökonomie in den Hintergrund, so dass Arzneimittel über das Futter oder das Tränkewasser verabreicht werden (Kamphues, 1996; Bleyl, 2004).

In dieser Untersuchung sollte es darum gehen, herauszufinden, inwieweit die Applikation bestimmter Arzneimittel über das Tränkewasser zu Problemen führen kann. Dabei stellt sich das Problem der Verschleppungen dieser Substanzen in den Tränkeanlagen als ein Risiko für die Verbraucher hinsichtlich der möglichen Entstehung von Resistenzen dar (Kamphues, 1996).

Hierzu sollten im Rahmen eines Feldversuches Wasserproben aus Tränkeanlagen von Broiler- und Putenmastställen entnommen werden. Diese Proben sollten sowohl auf die Wasserqualität als auch auf das Vorhandensein antimikrobiell wirksamer Substanzen untersucht werden. Daneben wurden mittels eines Fragebogens u.a. technische Daten zu den Tränkeanlagen erfragt, sowie Informationen über die Vorgehensweisen der Reinigung und Desinfektion gesammelt.

Um ein Bild über den Status von Verschleppungen im Bereich der Tränkeanlagen zu erhalten, sollten die Wasserproben in Ställen entnommen werden, aus denen die Tiere kurz zuvor ausgestallt worden sind.

Die Proben, an denen die Wasserqualität geprüft werden sollte, wurden aus den die Ställe versorgenden Wasserleitungen entnommen und zwar vor Eintritt des Wassers in die Tränkeanlage. Dagegen wurden diejenigen Proben, die auf das Vorhandensein antimikrobiell wirksamer Substanzen untersucht werden sollten, direkt aus den Bereichen der Tränkeleitungen entnommen, welche den Tieren vor der Ausstallung tatsächlich zugänglich waren. In einem zweiten Schritt wurde im Institut für chemische Analytik der Zentrumsabteilung Lebensmitteltoxikologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover eine Modell-Tränkeanlage aufgebaut. Anhand dieses Modellversuches sollte am Beispiel von Oxytetracyclin überprüft werden, inwieweit organische Säuren in der Lage sind, über das Tränkewasser zu verabreichende Tierarzneimittel aus den Leitungen herauszulösen.

2 Schrifttum

2.1 Puten- und Hähnchenmast

Die Hähnchenmast erfolgt in Deutschland vornehmlich als Kurzmast. In der Regel werden für die Mast 22 bis 24 Küken pro Quadratmeter in Bodenhaltung eingestallt (Berk, 2004). Die Mastdauer beträgt 34 Tage und es werden Mastendgewichte von 1,6 kg erreicht (Redmann, 2005).

Gegen Ende der Mast muss für 35 kg Hähnchen ein Quadratmeter Bodenfläche zur Verfügung stehen. Das entspricht 20 – 25 Hähnchen pro Quadratmeter (Siegmann und Neumann, 2005).

Die Wasserversorgung wird im Allgemeinen über Nippeltränkeanlagen mit oder ohne Tropfschale gewährleistet, wobei ein Tränkenippel für höchstens für 15 Tiere erreichbar sein sollte (Siegmann und Neumann, 2005). Auch sollte darauf geachtet werden, dass die Höhe der Tränkeeinrichtungen dem Wachstum der Tiere angepasst wird, um eine uneingeschränkte Wasseraufnahme zu ermöglichen (Berk, 2004).

Der Wasserverbrauch der Hähnchen richtet sich u.a. nach der Umgebungstemperatur, der Luftfeuchtigkeit und dem Alter der Tiere. Im Normalfall benötigen Hähnchen, gemessen an ihrem Futterverbrauch die 1,6 bis 1,8 fache Menge an Wasser. Überschreiten allerdings die Außentemperaturen den Wert von 21 °C, steigt die Wasseraufnahme pro Grad Celsius um ca. 6,5 %. Die Temperatur des Tränkewassers sollte 10 bis 12 °C nicht deutlich unter- oder überschreiten, da sowohl zu kaltes als auch zu warmes Wasser sich negativ auf die Akzeptanz auswirken, was zu einer verminderten Wasser- und damit auch Futteraufnahme führen kann (Berk, 2004). Bei Stallinnentemperaturen von mehr als 30°C steigt der Wasserbedarf dergestalt, dass die Relation von Wasser- zu Futteraufnahme 4:1 beträgt (Kamphues und Siegmann, 2005).

Empfohlen wird die Verwendung von Wasser mit Trinkwasserqualität, da beispielsweise eisenhaltiges Wasser zu Verstopfungen der Tränkeventile oder sogar der Tränkeleitungen führen kann (Berk, 2004).

Im Bereich der Putenmast wird in Deutschland zum überwiegenden Teil die Langmast praktiziert. Unterschieden werden können bei der Putenmast der 22 bis 24-Wochen-Rhythmus oder auch „all in all out“ mit 2 bis 2,2 Mastdurchgängen pro Jahr, der 18-Wochen-Rhythmus

oder auch „Rotationsverfahren“ mit bis zu 2,9 Mastdurchgängen pro Jahr, sowie der 13-Wochen-Rhythmus mit bis zu 4 Mastdurchgängen pro Jahr. Bei allen drei Verfahren werden die weiblichen und männlichen Putenküken in den ersten 4 bis 6 Wochen der Mast gemeinsam gehalten. Erst danach erfolgt eine räumliche Trennung der Hennen und der Hähne (Berk, 2004).

Die Mastdauer beträgt für die Hennen 16 Wochen und es werden Mastendgewichte von 9,9 kg erreicht. Die Hähne dagegen werden 21 Wochen gemästet und können Mastendgewichte von 19,5 kg erreichen (Redmann, 2005). Neben diesen Mastverfahren gibt es noch die Kurzmast, in der in einem Zeitraum von 12 Wochen so genannte „Babyputen“ produziert werden, die Mastendgewichte von 4,5 kg aufweisen (Berk 2004; Redmann, 2005).

Die Wasserversorgung von Puten wird üblicherweise über Rundtränken gewährleistet. Ebenso wie bei den Hähnchen nehmen Faktoren wie beispielsweise die Außentemperatur, die Luftfeuchtigkeit und das Alter der Tiere Einfluss auf den Wasserverbrauch der Puten. Im Durchschnitt beträgt der Wasserverbrauch ca. 2 bis 2,5 fache des Futtermittelsverbrauches (Berk, 2004). Stallinnentemperaturen von über 30°C führen zu einer Erhöhung des Wasserbedarfs, so dass die Relation von Wasser- zu Futteraufnahme 9:1 betragen kann (Kamphues und Siegmann, 2005).

Pro Quadratmeter nutzbarer Stallbodenfläche sollte die Besatzdichte bei den Hennen 6 Tiere und somit 45 – 52 kg Körpermasse nicht übersteigen. Bei den Hähnen kann unterschieden werden zwischen leichten und schweren Tieren. Für die leichten Hähne gilt, dass pro Quadratmeter Stallbodenfläche 3 Tiere und sich daraus ergebend 50 – 56 kg Körpermasse einzuhalten sind. Bei den schweren Hähnen gelten 2 -2,5 Tiere und somit 50 – 58 kg Körpermasse pro Quadratmeter Stallbodenfläche als Grenzwerte (Siegmann und Neumann, 2005).

2.2 Tierarzneimittel

2.2.1 Tierarzneimittel - Zulassungsverfahren

Bleyl beschreibt 2004 die Vorteile und Risiken der Tränkwassermedikation. Daneben geht er auf die Prüfungsvorschriften ein, die für Tierarzneimittel bestehen, sofern diese für die Tränkwassermedikation zugelassen werden sollen.

Demnach werden solche Arzneimittelprüfungen mit gereinigtem Wasser durchgeführt, welches folgende Voraussetzungen erfüllen muss:

1. pH-Wert: 5-7
2. keine Cl^- und NH_3^+ -Ionen
3. Leitfähigkeit unter $10 \mu\text{S}/\text{cm}$ (Die Trinkwasserverordnung erlaubt einen Spielraum von $100 - 1.000 \mu\text{S}/\text{cm}$)

Entsprechend den Vorgaben der Verordnung des Rates (EWG) Nr. 2377/90 „Zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs“ dürfen in den Mitgliedstaaten der Europäischen Union neue Wirkstoffe nur dann für die Anwendung bei Lebensmittel liefernden Tieren zugelassen werden, wenn Rückstandshöchstmengen festgelegt worden sind (Prügner, 1994).

Zugelassene Höchstmengen in Lebensmitteln tierischer Herkunft werden als MRL-Werte (maximum residue limits), getrennt nach Tierarten und Geweben in den **Anhängen I und III** der Verordnung EWG 2377/90 aufgeführt.

So findet sich in **Anhang I** ein Verzeichnis der pharmakologisch wirksamen Substanzen, für deren Rückstände Höchstmengen festgesetzt worden sind.

In Anhang II sind diejenigen Substanzen aufgelistet, für die keine Rückstandshöchstmengen festgelegt wurden, da dies im Interesse des Schutzes der öffentlichen Gesundheit als nicht notwendig erachtet wird.

Anhang III enthält eine Liste mit Wirkstoffen für die vorläufige Höchstmengen festgelegt wurden. Eine Substanz kann nur für einen begrenzten Zeitraum in diesen Anhang aufgenommen werden und nur sofern keine Anhaltspunkte dafür vorliegen, dass die

Rückstände des betreffenden Stoffes in der vorgeschlagenen Konzentration eine Gefahr für die Gesundheit des Verbrauchers darstellen.

In Anhang IV finden sich die Wirkstoffe, für die keine Höchstmengen festgelegt werden können, da die Rückstände dieser Substanzen in jeder Konzentration eine Gesundheitsgefährdung für den Verbraucher darstellen. Wirkstoffe aus diesem Anhang dürfen bei Lebensmittel liefernden Tieren nicht eingesetzt werden.

In der Verordnung (EWG) 2377/90 des Rates vom 26. Juni 1990 zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs werden Höchstmengen definiert als:

„Höchstkonzentration von Rückständen aus der Verwendung von Tierarzneimitteln, bei der die Gemeinschaft akzeptieren kann, dass sie legal zugelassen wird, oder sie als eine in oder auf einem Nahrungsmittel annehmbare Konzentration anerkannt wird.

Dabei werden für Rückstände die Art und Menge zugrunde gelegt, bei denen davon ausgegangen wird, dass sie im Rahmen der annehmbaren Tagesdosis bzw. einer vorläufigen annehmbaren Tagesdosis mit zusätzlichem Sicherheitsfaktor keinerlei toxikologische Gefahr für die menschliche Gesundheit darstellen.“

MRL-Werte werden auf der Grundlage des ADI (acceptable daily intake) festgelegt. Der ADI bezeichnet die Dosis einer Substanz, die je nach aktuellem wissenschaftlichem Kenntnisstand täglich lebenslang von einer Person aufgenommen werden kann, ohne eine die Gesundheit gefährdende Wirkung zu haben. In diesem Zusammenhang sind die Höchstmengen so festzulegen, dass bei täglicher Aufnahme die Summe der Rückstände den ADI nicht überschreitet (Jülicher, 1992; Schmerold und Scheid, 1994).

Wartezeiten für Fertigarzneimittel werden auf der Grundlage der MRL-Werte festgelegt und müssen so bestimmt werden, dass bei ihrer Einhaltung zulässige Höchstmengen an Rückständen in Lebensmitteln, also die jeweiligen MRL-Werte, unterschritten werden (Schmerold und Scheid, 1994; Kroker, 2003; TÄHAV, § 12a).

Die Wartezeit beschreibt den Zeitraum zwischen der letzten Anwendung einer pharmakologisch wirksamen Substanz und dem Zeitpunkt, an dem ein Lebensmittel lieferndes Tier geschlachtet wird bzw. ein Lebensmittel gewonnen wird (Schmerold und Scheid, 1994; Kroker, 2003).

Laut Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch - LFGB (Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände und Futtermittelgesetzbuch) Abschnitt 2, § 10, Abs. 3 gilt bezüglich der Wartezeit folgendes:

„Sind Stoffe mit pharmakologischer Wirkung, die als Arzneimittel zugelassen oder registriert sind oder als Futtermittel-Zusatzstoffe zugelassen sind, einem lebenden Tier zugeführt worden, so dürfen

1. von dem Tier Lebensmittel gewerbsmäßig nur gewonnen werden,
2. von dem Tier gewonnene Lebensmittel gewerbsmäßig nur in Verkehr gebracht werden,

wenn die festgesetzten Wartezeiten eingehalten worden sind.“

Bei der Festlegung der MRL-Werte für Arzneimittel werden von der EU folgende tägliche Verzehrsmengen von Lebensmitteln unterstellt:

Tab. 1: Tägliche Verzehrsmengen von Lebensmitteln als Grundlage der Festlegung der MRL-Werte

Matrix	Menge (in g)
Muskulatur	300
Leber, Ei	100
Niere, Fett	50
Honig	20

Tab. 2: Für Tetrazykline gelten gemäß der VO (EWG) 2377/90 folgende MRL-Werte

Matrix	Menge (in µg/kg)
Muskel, Milch	100
Ei	200
Leber	300
Niere	600

Gibt es für eine Tierart für eine bestimmte Indikation kein zugelassenes Arzneimittel, kann man von einem „Therapienotstand“ sprechen. Therapienotstand bedeutet genau, dass eine notwendige Behandlung der Tiere mit verfügbaren, d.h. für diese Tierart und die gewünschte Indikation nicht möglich ist, da kein wirksames Arzneimittel zugelassen ist (Prügner, 1994).

Laut § 56a Abs. 2 Arzneimittelgesetz – AMG (Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln) darf der Tierarzt, soweit die notwendige arzneiliche Versorgung der Tiere ansonsten ernstlich gefährdet wäre und eine unmittelbare oder mittelbare Gefährdung der Gesundheit von Mensch und Tier nicht zu befürchten ist, bei Einzeltieren oder Tieren eines bestimmten Bestandes zugelassene oder von der Zulassung freigestellte Arzneimittel nach folgenden Maßgaben anwenden oder verabreichen lassen:

1. soweit für die Behandlung ein zugelassenes Arzneimittel für die betreffende Tierart und das betreffende Anwendungsgebiet nicht zur Verfügung steht, darf ein Arzneimittel mit der Zulassung für die betreffende Tierart und ein anderes Anwendungsgebiet angewendet werden;
2. soweit ein geeignetes Arzneimittel für die betreffende Tierart nicht zur Verfügung steht, darf bei Tieren, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen, ein anderes, für die Anwendung bei solchen Tieren zugelassenes Arzneimittel angewendet werden;
3. soweit für die Anwendung bei Tieren, die der Gewinnung von Lebensmitteln dienen, ein geeignetes, zugelassenes Arzneimittel nicht zur Verfügung steht, dürfen zugelassene Arzneimittel angewendet werden, die solche Wirkstoffe enthalten, die in den Anhängen I bis III der Verordnung (EWG) 2377/90 aufgeführt sind;

Bei der Umwidmung eines Arzneimittels für ein Lebensmittel lieferndes Tier muss zusätzlich bedacht werden, dass die Wartezeiten nicht mehr denen entsprechen, die für die angegebenen Zieltierarten und Indikationen angegeben wurden, da die Untersuchungen über das Rückstandsverhalten einer Substanz nur für bestimmte Tierarten und Indikationen vorgenommen werden. Für solche Fälle, in denen eine andere Tierart behandelt werden soll, müssen angepasste Mindestwartezeiten eingehalten werden (Bottermann, 1994).

Entsprechend den Vorgaben der Verordnung über tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV), § 12 a gelten folgende Mindestwartezeiten im Falle einer „Umwidmung“:

28 Tage für essbare Gewebe, 7 Tage für Eier, 7 Tage für Milch

2.2.2 Tierarzneimittel – Verabreichung über Futter oder Tränkwasser

Bei der Verabreichung von Tierarzneimitteln über Futter oder Tränkwasser muss bedacht werden, dass eine therapeutische Dosis für das Durchschnittstier einer Tiergruppe berechnet wird. Als Grundlage dieser Berechnung dient die Menge an Futter oder Wasser, die von den Tieren aufgenommen wird.

Die Futter- und Wasseraufnahme unterliegt jedoch äußeren Einflüssen, wie beispielsweise der Umgebungstemperatur und der Schwere der Erkrankung des Einzeltieres (Kamphues, 1996; Bleyl, 2004).

2.2.2.1 Verabreichung von Tierarzneimitteln über das Futter

1996 veröffentlichten Rassow und Schaper die Ergebnisse einer Datenauswertung zum Einsatz von Fütterungsarzneimitteln in Schweine- und Geflügelbeständen in der Region Weser-Ems. Den Schwerpunkt dieser Veröffentlichung bildeten die rechtlichen Grundlagen sowie die eingesetzten Wirkstoffe. Der größte Teil tierärztlicher Herstellungsaufträge für Fütterungsarzneimittel im Bereich der Hähnchen- und Putenmast in den Jahren 1990 und 1991 wurde für die Infektionsprophylaxe erteilt. Dabei stellten die Tetracycline die wichtigste Wirkstoffgruppe für die Putenmast dar, gefolgt von Neomycin, Sulfonamiden, Colistin und Ampicillin. Bei den Hähnchen waren die Tetracycline nach Furazolidon und Kupfersulfat die am häufigsten eingesetzten Wirkstoffe in Form von Fütterungsarzneimitteln (Rassow und Schaper, 1996).

Kamphues beschrieb 1996 die Risiken, die von der Applikation von Tierarzneimitteln über Futter und Wasser ausgehen können. So bestehen bei dieser Art der Applikation von Arzneimitteln Risiken für den Anwender bei direktem Kontakt mit dem Arzneimittel, beispielsweise durch die Entwicklung von Photoallergien, ausgelöst durch Quinoxalin oder Vertretern aus der Gruppe der Sulfonamide.

Daneben stellt auch eine mögliche Verschleppung von Wirkstoffen und eine daraus resultierende Kontamination folgender Futterchargen ein Risiko dar, da es zu Rückstandsbildungen in Lebensmitteln tierischer Herkunft kommen kann (Kamphues, 1996).

Bei der Verabreichung von Tetracyclinen über das Futter besteht das Risiko der Komplexbildung zwischen dem Wirkstoff mit Calcium-Ionen aus dem Futter. Daraus können sich verminderte Resorptionsraten des Wirkstoffes ergeben (Kamphues, 1996; Goronczy und Piontkowski, 1999).

2.2.2.2 Verabreichung von Tierarzneimitteln über das Tränkewasser

Ebenso wie bei der Verabreichung von Tierarzneimitteln über das Futter, stellt die Verabreichung über das Tränkewasser eine Methode zur Behandlung von Tiergruppen dar, da die Einzeltierbehandlung bei größeren Beständen schwer durchführbar und wenig ökonomisch ist (Bleyl, 2004; Kietzmann und Lüders, 2005).

Allerdings spielt für diese Art der Arzneimittelapplikation die Wasserqualität eine Rolle bezüglich der therapeutischen Dosis, die im Tier erreicht werden soll, da sowohl die Löslichkeit als auch die Stabilität des Wirkstoffes durch beispielsweise den pH-Wert und den Härtegrad des Wassers beeinflusst werden (Kietzmann und Lüders, 2005; Kamphues und Siegmann, 2005).

So ist im Falle der Tetracykline die Löslichkeit des Wirkstoffes in hartem Wasser aufgrund von Komplexbildung mit Calcium-Ionen eingeschränkt (Bleyl, 2004).

Ein Risiko von Verschleppungen kann in solchen Fällen bestehen, in denen Arzneimittel an den Wasser führenden Bereichen des Rohrleitungssystems ausfallen können (Bleyl, 2004).

2.2.3 Tierarzneimittelrückstände

Die Fragestellung von Rückstandsbildungen in Eiern nach Tränkewasserapplikation von Doxycyclin und Oxytetracyclin bei legenden Hennen in Käfighaltung wurde 1991 von Yoshimura et al. bearbeitet. Dazu wurden den Tieren über sieben Tage die genannten Arzneimittel verabreicht und die Eier auf das Vorhandensein von Rückständen untersucht.

Dabei konnte nachgewiesen werden, dass die Arzneimittelkonzentrationen im Eigelb während der Behandlung anstiegen, die höchsten Werte allerdings erst zwei Tage nach Beendigung der Applikation erreicht wurden.

Im Gegensatz dazu erreichten die Konzentrationen im Eiweiß ihre höchsten Werte zur Mitte der Behandlung. Auch zwischen den beiden untersuchten Arzneimitteln ergaben sich Unterschiede bezüglich Konzentration und Persistenz. Die im Vergleich höheren Doxycyclin-Konzentrationen lassen sich auf die höhere Lipophilie in Verbindung mit besserer oraler Absorption und Gewebegängigkeit zurückführen (Yoshimura et al., 1991).

1995 beschäftigten sich Kietzmann et al. mit der Fragestellung von Arzneimittelrückständen bei unbehandelten Schweinen. Zur Durchführung dieser Untersuchung wurden zwei Tiergruppen von jeweils vier Schweinen aufgestellt. Der einen Tiergruppe wurde über einen Zeitraum von fünf Tagen Sulfadimidin verabreicht, die andere Tiergruppe erhielt keine pharmakologisch wirksamen Substanzen. Nach Beendigung der Behandlung wurden die Tiergruppen in die jeweils andere, lediglich trocken gereinigte, Bucht umgesetzt.

Den Tieren wurde während des Zeitraums der Applikation des Arzneimittels sowie an weiteren fünf Tagen mittels Blasenpunktion Harnproben entnommen und die Sulfadimidinkonzentration ermittelt.

Die Arzneimittelkonzentrationen lagen bei den behandelten Tieren während der Behandlung bei Werten um 50 µg/ml. Am 5. Tag nach Behandlungsende wurden bei den zuvor behandelten Tieren Konzentrationen von unter 0,1 µg/ml gemessen. Bei den Tieren jedoch, die zuvor nicht behandelt worden waren, ergaben sich fünf Tage nach dem Umsetzen in die andere Bucht Arzneimittelkonzentrationen von 4 µg/ml (Kietzmann et al., 1995).

Allerdings konnte im Rahmen dieser Untersuchung der genaue Eintragungsweg des Wirkstoffes in die zuvor unbehandelten Schweine nicht ermittelt werden.

Im Jahr 2000 untersuchten Kühne et al. Knochen geschlachteter Tiere auf Tetrazyklin-Rückstände. Diese Untersuchung wurde durchgeführt, um zum einen die Aussagekraft der Fluoreszenz-Messung von Knochen zu testen und zum anderen um herauszufinden, in welchem Ausmaß Tetrazykline in Knochen geschlachteter Tiere nachgewiesen werden können. Aus letzteren sollte sich die Möglichkeit der Abschätzung eines potentiellen Risikos der Übertragung von Tetrazyklinen aus Knochenmehl auf die Folgeprodukte ergeben (Kühne et al., 2000).

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde 30 Hühnern Oxytetracyclin in geringer Dosierung über das Futter appliziert und an Tag 1, 5, 15 und 25 die Tierkörper mittels Fluoreszenz-Methode (UV-Lampe, 366 nm) auf das Vorhandensein von Rückständen der verabreichten Substanz untersucht.

Zusätzlich wurde mit den speziell vorbereiteten Osis femoris eine HPLC-Untersuchung durchgeführt, so dass bei vorhandener Fluoreszenz die Konzentration des Arzneimittels im Knochengewebe bestimmt werden konnte.

Tab. 3: Nachweis von Fluoreszenz mittels UV-Lampe (336 nm) in Hühnerknochen nach Applikation von Oxytetracyclin an Tag 1, 5, 15 und 25 nach Behandlungsende

Tag 1	vollständige und regelmäßige Fluoreszenz
Tag 5	Rückgang der fluoreszierenden Bereiche, jedoch mit Schwankungen innerhalb der Tiergruppe
Tag 15	nur noch fluoreszierende Punkte in den Knochen
Tag 25	keine Fluoreszenz mehr sichtbar

Die niedrigsten Arzneimittelkonzentrationen, die mit der Fluoreszenz-Messung noch positive Ergebnisse erbrachten, betragen 0,05 mg/kg (Kühne et al., 2000).

Im Rahmen eines Feldversuches wurden die Knochen von Puten, Enten und Kälbern untersucht. Bei der Untersuchung von Putenknochen wurde in allen Proben positive Fluoreszenz in tieferen Gewebeschichten nachgewiesen. Dies ist als Hinweis auf zeitlich weiter zurück liegende Applikationen zu werten (Kühne et al., 2000).

Von den untersuchten Entenknochen wiesen 95,3% Fluoreszenz auf. Bei den Kälberknochen zeigten 18,8% der Proben Fluoreszenz, wobei in 10 Proben mehr als eine Substanz aus der Gruppe der Tetrazykline mittels HPLC-Analyse nachgewiesen werden konnte (Kühne et al., 2000).

2001 untersuchten Kühne et al. die Entstehung von Anhydrotetrazyklinen während einer Hitze-Behandlung von Produkten tierischer Herkunft, die mit Tetrazyklinen belastet waren.

Anhydrotetrazykline weisen eine etwa 70% geringere antimikrobielle Wirksamkeit als Tetrazykline auf (Kühne et al., 2001). Sie können sowohl bei feuchter Lagerung als auch bei hohen Temperaturen über Dehydratationen aus Tetrazyklinen entstehen (Löscher et al., 2003).

In Knochen geschlachteter und als tauglich beurteilter Tiere, die auch als Tierfutter Verwendung finden, können Tetrazykline nachgewiesen werden, obwohl dieser Rohstoff einer Hitze-Behandlung unterzogen wird. Als Folge einer Erhitzung auf 133 °C bei einem Druck von 3 bar für 45 min vermindert sich die Konzentration des Tetrazyklins um 50%, wohingegen die Konzentration von Anhydrotetrazyklin zunimmt (Kühne et al., 2001).

McEvoy veröffentlichte 2002 einen Überblick über die Inzidenz und die Kontrolle von Kontaminationen in Tierfutter als Ursache für Rückstände in Lebensmitteln. Er unterschied zwischen natürlichen Kontaminanten, den Mykotoxinen (z.B. Aflatoxin M1, Zeranol), Tierarzneimitteln (Sulfonamide, Chlortetrazyklin, β -Lactame, Nitrofurane, Chloramphenicol, Nitroimidazole) und Futterzusatzstoffen (z.B. Coccidiostatika).

Als Risiken, die von kontaminiertem Tierfutter ausgehen, beschreibt er sowohl Vergiftungserscheinungen bei den Tieren als auch die Entstehung von Rückständen in Lebensmitteln tierischer Herkunft.

Als Ursachen für Kontaminationen von Tierfutter werden Verschleppungen in Futtermittelherstellungsbetrieben genannt (Kamphues, 1996; McEvoy, 2002; Bleyl, 2004).

Europaweit gehören die Tetrazykline mit 67% zu den am häufigsten eingesetzten Antibiotika im Bereich der Nutztiere (Rassow und Schaper, 1996, FEDESA, 1998).

Aufgrund der Fähigkeit der Tetrazykline mit verschiedenen Anionen (z.B. Phosphat) und Kationen (z.B. Calcium) Komplexe einzugehen, kann es nach Anwendung beim Tier zu einer

Akkumulation dieser Substanzen im Knochengewebe kommen (Kamphues, 1996; Kühne et al., 2000; Löscher et al., 2003).

Die Tetrazyklin-Konzentrationen können 50 mg/kg Knochengewebe betragen, wobei Knochen als Rohstoff für Tiermehle und Gelatine dienen und als Verunreinigungen in Separatorenfleisch gelangen können (Kühne et al., 2000).

2.2.4 Tierarzneimittel in der Umwelt

In den letzten Jahren wurde zunehmend über Vorkommen und Verhalten von Arzneimitteln in unterschiedlichen Umweltkompartimenten berichtet. Hauptquelle für den Eintrag von Human- und Tierarzneimitteln in die Umwelt ist die Ausscheidung dieser Substanzen sowie ihrer Metabolite nach Applikation. In geringem Maße trägt die unsachgemäße Entsorgung von Arzneimitteln zu einem Umwelteintrag bei. Unbehandelte Abwässer aus der industriellen Arzneimittelproduktion scheinen hingegen keinen signifikanten Beitrag zu leisten (Daughton und Ternes, 1999; Hamscher et al., 2000; Bleyl und Rohweder, 2005). Insofern können Humanarzneimittel insbesondere über den Weg Abwasser – Kläranlage – Oberflächengewässer in das Grundwasser und somit auch in das Trinkwasser gelangen (Daughton und Ternes, 1999; Witte et al., 1999). Bei den Tierarzneimitteln wurde die Beaufschlagung von landwirtschaftlichen Nutzflächen mit antibiotikahaltiger Gülle als wichtigster Eintragsweg identifiziert (Winckler und Grafe, 2000 und 2001; Hamscher et al., 2000 und 2002).

Hamscher et al. veröffentlichten im Jahre 2000 erste Ergebnisse ihrer Untersuchungen über den Nachweis von Tetrazyklinen in Ackerböden, die zuvor mit antibiotikahaltiger Gülle gedüngt worden sind. Obwohl die in den Bodenproben ermittelten Arzneimittelkonzentrationen in der Regel subtherapeutische Dosen aufwiesen, können noch keine Prognosen bezüglich langfristiger ökotoxikologischer Wirkungen geringer Arzneimittelwirkstoffmengen z.B. auf Bodenmikroorganismen und ihrer Habitate getroffen werden (Hamscher et al. 2000; Bleyl und Rohweder, 2005).

Einen im Rahmen der Tierarzneimittel-Zulassung und fortlaufender Überwachungsprogramme umfassend untersuchten Eintragsweg von Rückständen pharmakologisch wirksamer Substanzen in die Nahrungskette stellen Lebensmittel tierischer Herkunft dar (Kroker, 2003 b). Darüber hinaus zeigen aktuelle Untersuchungen am Beispiel des Chlortetrazyklins, dass bestimmte Tierarzneimittel nach Güllendüngung von Nutzpflanzen über die Wurzeln aufgenommen werden können (Grote et al., 2006; Schlenker, 2006). Somit ergibt sich prinzipiell auch die Möglichkeit der Aufnahme von pharmakologisch wirksamen Stoffen aus pflanzlicher Nahrung für den Menschen (Grote et al., 2006).

2003 veröffentlichten Hamscher et al. die Ergebnisse ihrer Untersuchung über Antibiotika in Staub von Schweinemastbetrieben. Stäube in einem Schweinestall setzen sich u.a. aus

Futterpartikeln, getrocknetem Kot sowie Hautschuppen der Tiere zusammen (Hamscher et al., 2003).

In dieser Untersuchung wurden Stäube aus Schweineställen in dem Zeitraum von 1981 bis 2000 gesammelt und auf das Vorkommen antimikrobiell wirksamer Substanzen untersucht. Einmal jährlich wurde eine der 10 – 15 in einem Stall entnommenen Staubproben auf das Vorhandensein antimikrobiell wirksamer Substanzen untersucht. Auf diese Weise konnten in 18 der insgesamt 20 Proben verschiedene Substanzen nachgewiesen werden. Gefunden wurden Tetrazykline, Tylosin, Sulfadimidin und Chloramphenicol in Konzentrationen zwischen 0,2 und 12,5 mg pro kg Stallstaub. Diese Befunde legen den Verdacht nahe, dass Arzneimittel auch über Stäube in die Umwelt eingetragen werden können (Hamscher et al., 2003; Bleyl und Rohweder, 2005).

2.3 Wasserqualität

Für die Beurteilung der Wasserqualität kann als Referenz nur die Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch (Trinkwasserverordnung – TrinkwV 2001) herangezogen werden.

Als chemische Parameter im Sinne von Anlage 2 der Trinkwasserverordnung gelten u.a. Nitrat, Nitrit, Benzol, Pflanzenschutzmittel und Biozidprodukte, Selen, Quecksilber, Blei, Cadmium und Kupfer.

Nitrat und sein Reduktionsprodukt Nitrit geben Hinweise auf Verunreinigungen des Wassers, beispielsweise durch Düngemittel. Diese Parameter gelten somit als direkte Indikatoren für die Wasserqualität (Römpp, 1999).

„Die Summe aus Nitratkonzentration in mg/l geteilt durch 50 und Nitritkonzentrationen in mg/l geteilt durch 3 darf nicht größer als 1 mg/l sein.“ (Trinkwasserverordnung, Anlage 2).

Zu den Indikatorparametern entsprechend der Anlage 3 der Trinkwasserverordnung gehören beispielsweise Aluminium, Eisen, Mangan, die elektrische Leitfähigkeit, die Oxidierbarkeit, die Färbung, der Geruchsschwellenwert, der Geschmack, Koloniezahlen bei 22 °C und 36 °C, die Trübung, die Wasserstoffionen-Konzentration sowie Sulfat.

Sulfate sind die Salze der Schwefelsäure. Sulfate können u.a. mit Calcium Verbindungen eingehen und das entstehende Calciumsulfat ist in Wasser nur schwer löslich (Römpp, 1999). Das wiederum kann eine Veränderung der inneren Oberflächen von Wasserleitungen zur Folge haben, wodurch sich für Algen, Bakterien und auch Arzneimittel Ablagerungsmöglichkeiten bieten.

Wichtige in der Natur vorkommende Sulfate sind Gips ($\text{CaSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$), Anhydrit (CaSO_4), Glaubersalz (Na_2SO_4), Bittersalz (MgSO_4) und Schwerspat (BaSO_4). Sulfate bilden zusammen mit Chromaten, Molybdaten und Wolframaten eine Klasse der Mineralien. Wo Sulfat-Mineralie angereichert vorkommen, kann das Trinkwasser höhere Sulfat-Gehalte aufweisen. Im Übrigen können Sulfate auch aus Luftverunreinigungen („saurer Regen“), Düngemitteln (zur Sulfat-Nutzbarmachung wird die Sulfat-Reduktase benötigt) und anderen anthropogenen Quellen in die Gewässer gelangen (Römpp, 1999). „Geogen bedingte Überschreitungen bleiben bis zu einem Grenzwert von 500 mg/l außer Betracht.“ (Trinkwasserverordnung, Anlage 3).

Die elektrische Leitfähigkeit des Wassers gibt den gesamten Gehalt an im Wasser gelösten Ionen an. Pharmazeutische Prüfungen von für die Tränkemedikation zugelassenen Tierarzneimitteln werden mit gereinigtem Wasser durchgeführt, das eine Leitfähigkeit von 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$ aufweist (Bleyl, 2004). In der Trinkwasser-Verordnung sind Werte von 100 – 1.000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ als Referenz angegeben.

Der Säuregehalt des Wassers, der über den pH-Wert ermittelt wird, spielt bei der Verabreichung von Tetrazyklinen eine gewisse Rolle in dem Sinne, dass ein niedriger pH-Wert die Löslichkeit von Tetrazyklinen fördert. So kann durch Zugabe von Zitronensäure der Tetrazyklin-Blutplasmaspiegel bei Ferkeln und auch bei Geflügel erhöht werden, da die Zitronensäure mit freien Calciumionen, in Konkurrenz zu den Tetrazyklinen, Chelatkomplexe bildet (Kamphues, 1996; Goronzy und Piontkowski, 1999).

Magnesium und Calcium gehören zu den Ionen, die mit Tetrazyklinen Chelate bilden und somit die Löslichkeit einschränken können. Hohe Gehalte an diesen Ionen im Tränkewasser können somit Verschleppungen Vorschub leisten (Bleyl, 2004).

2.4 Resistenzproblematik

Laut Frey und Löscher (2001) stellen gegen antimikrobiell wirksame Substanzen resistente Krankheitserreger ein ernst zu nehmendes Problem dar, welches sowohl im Bereich der Humanmedizin als auch in der Veterinärmedizin zu weit reichenden Konsequenzen bezüglich der Therapierbarkeit von Erkrankungen durch verschiedenste pathogene Keime führt.

Ist der Selektionsdruck auf die Krankheitserreger groß genug, so können sich für resistente Keime Wachstumsvorteile ergeben, was zu einer entsprechenden Entwicklung dieser Keime führen kann (Witte et al., 1999 a). Ein solcher Selektionsdruck wird immer dann ausgeübt, wenn Substanzen mit antimikrobieller Wirkung bei Mensch und/oder Tier eingesetzt werden.

Bei der Behandlung von Tieren mit antimikrobiell wirksamen Substanzen besteht das Risiko der Ausbildung von Resistenzen, welche auch im Bereich der Humanmedizin Bedeutung erlangen können (Kietzmann und Lüders, 2005). Eine Behandlung mit zu niedriger Dosierung und/oder über einen zu kurzen Zeitraum gilt als größter prädisponierender Faktor (ArgeVet, 2000).

Witte et al. beschreiben 1999 am Beispiel von Wirkstoffen, die in der Tiermast als Leistungsförderer eingesetzt werden, die Wege der Verbreitung übertragbarer Resistenzen gegen antimikrobiell wirksame Substanzen zwischen verschiedenen Ökosystemen. Sie stellen neben dem Eintragungsweg Fäkalien – Abwässer – Oberflächengewässer in die Umwelt auch den Weg Lebensmittel liefernde Tiere – Fleischprodukte – Menschen dar. Beispielhaft dargestellt wird der Zusammenhang des Einsatzes von „Avoparcin“ als Leistungsförderer in der Geflügel- und Schweinemast (Sorum et al., 2006). So konnten im Rahmen der Untersuchung von Kotproben aus Betrieben, die diesen Wirkstoff einsetzen, glykopeptidresistente *Enterokokken* nachgewiesen werden, während in Kotproben aus Betrieben, die diese Substanz nicht einsetzen, diese Resistenzen nicht gefunden werden (Witte et al., 1999 b).

Daneben wurden Hackfleischproben sowie das Auftauwasser tief gefrorener Geflügelprodukte auf das Vorhandensein resistenter *Enterokokken* mit teilweise positiven Ergebnissen untersucht. Daraus lässt sich ein Übertragungsweg von kontaminierten Fleischprodukten auf den Menschen ableiten (Witte et al., 1999 b).

Die Weltgesundheitsorganisation (WHO, 1999) hat Empfehlungen ausgesprochen, durch deren Umsetzung der Einsatz von Leistungsförderern im Bereich der konventionellen Tiermast stark limitiert werden soll. Dieser Empfehlung wurde insofern entsprochen, als das

seit dem 01.01.2006 der Einsatz von Leistungsförderern EU-weit verboten wurde (EU-Kommission, 2002). Dadurch soll die Ausbildung von Kreuzresistenzen zwischen veterinärmedizinisch und humanmedizinisch relevanten Keimen reduziert werden.

Man kann Resistenzen unterteilen in:

1. natürliche Resistenzen
2. erworbene Resistenzen

zu 1.: Ein Erreger kann von einem Stoff mit antimikrobieller Wirksamkeit nicht beeinflusst werden, wenn an dem Keim für diesen Wirkstoff kein Wirkort vorhanden ist (Witte et al., 1999 a).

Einige Beispiele für natürliche Resistenz:

Sulfonamide verhindern die bakterieneigene Synthese von Folsäure, die an der Nucleinsäuresynthese beteiligt ist (Karlson et al., 1998). Demzufolge wirken Sulfonamide nicht bei Bakterien, die exogene Folsäure nutzbar machen können.

Benzylpenicilline sind bei gramnegativen Bakterien kaum wirksam, da sie die äußere Zellmembran dieser Keime nicht durchdringen können. Ursächlich hierfür ist die im Vergleich zu grampositiven Keimen dickere Mureinschicht.

zu 2.: Erworbene Resistenzen (mutationsbedingt) finden sich bei Krankheitserregern, die ihr genetisches Material dahingehend verändern können, dass zuvor wirksame Substanzen keine Wirkung bei diesen Erregern mehr zeigen. Diese können ohne Einwirkung einer antimikrobiell wirksamen Substanz durch Spontanmutation entstehen und bei der Zellteilung weitergegeben werden.

Sekundär kann eine mutationsbedingte Resistenz unter dem Selektionsdruck einer Substanz mit antimikrobieller Wirksamkeit auftreten (Witte et al., 1999 a). In einem solchen Fall kommt es entweder zu Veränderungen des Genoms der Krankheitserreger oder zur Ausbildung von Enzymen, welche die Wirksamkeit eines solchen Stoffes unterbinden, z.B. Penicillinasen oder Cephalosporinasen.

Allerdings kann es auch zu Veränderungen an den Transportsystemen der bakteriellen Zellwände kommen. Dadurch kann entweder der Wirkstoff nicht in die Bakterienzelle

gelangen oder er wird aus der Zelle ausgeschleust, bevor er seine Wirkung entfalten konnte (Witte et al., 1999 a, Frey und Löscher, 2001).

Veränderungen des Genoms bzw. der DNS bei Bakterien können durch verschiedene Prozesse erfolgen:

1. Transformation = zum Teil natürliche Umwandlungsprozesse der DNS
2. Transduktion = Übertragung von Resistenzgenen auf andere Bakterien
3. Konjugation = Austausch von Resistenzen über direkten Zellkontakt

Der Bereich der erworbenen Resistenzen stellt im Hinblick auf den Einsatz von antimikrobiell wirksamen Substanzen bei Mensch und Tier (hier vor allem der Einsatz bei Lebensmittel liefernden Tieren) einen Risikofaktor für den Verbraucher dar (Gündogan et al., 2006).

2.5 Risikoanalyse

Die Risiken, die von verschleppten Tierarzneimitteln in Tränkeanlagen ausgehen, bestehen einerseits in der Gefahr der Bildung von Resistenzen bei Krankheitserregern (Witte et al., 1999 a; Frey und Löscher, 2001; Kietzmann und Lüders, 2005). Andererseits kann es zu nachweisbaren Konzentrationen bei Tieren in der postmedikamentösen Phase kommen (Kühne et al., 2000; McEvoy, 2002).

Resistente Bakterienstämme können von bisher eingesetzten Wirkstoffen nicht mehr beeinflusst werden so dass verschiedene Arzneimittel im Krankheitsfall bei Mensch und Tier wirkungslos werden können (Witte et al., 1999 b).

Seit 1948 wurden Tetrazykline als Leistungsförderer in der Schweine- und Hähnchenmast eingesetzt. Aufgrund der Feststellung von Resistenzentwicklungen wurden die Tetrazykline 1976 europaweit als Leistungsförderer und somit als Futtermittelzusatzstoff verboten (Ungemach und Bottermann, 1998), was jedoch zu einem vermehrten Einsatz dieser Substanzen als Fütterungsarzneimittel in der Nutztierhaltung führte (Kühne et al., 2000).

In der Konsequenz konnte kein Rückgang von Tetrazyklin-Resistenzen bei veterinärmedizinischen Isolaten von Mikroorganismen erreicht werden. Aus diesem Grunde befasste sich schließlich eine internationale Expertenkommission mit diesem Thema. Diese Kommission (JECFA) bestand aus Mitgliedern der Welternährungsorganisation (FAO) und Mitgliedern der Weltgesundheitsorganisation (WHO).

Die Gefahrenannahme wurde folgendermaßen formuliert:

1. Die Anwendung von Tetrazyklinen bei Lebensmittel liefernden Tieren kann zur Bildung von Rückständen in essbaren Geweben, Eiern und Milch führen.
2. Die Aufnahme von Lebensmitteln, die Tetrazyklin-Rückstände aufweisen, kann die Selektion resistenter *Enterobacteriaceae* der menschlichen Darmflora zur Folge haben.

Durch den Einsatz von antimikrobiell wirksamen Substanzen im Bereich der Tiermast zum Zwecke der Leistungsförderung ergibt sich zum einen das Risiko von Rückstandsbelastungen von Lebensmitteln tierischer Herkunft und damit verbunden zum anderen das Risiko von Resistenzbildungen bei Krankheitserregern, die auch im Bereich der Humanmedizin eine gewisse Relevanz aufweisen können.

3 Material und Methoden

3.1 Feldversuch

3.1.1 Versuchsdurchführung

Nach einigen Vorgesprächen mit Verantwortlichen der Geflügelwirtschaft, wurden Adressen von Landwirten genannt, die bereit waren, diese Untersuchung durch die Erlaubnis der Stallbesichtigung sowie der Beantwortung von Fragen zu unterstützen.

Vor Beginn des Feldversuches wurden die Landwirte schriftlich über das Vorhaben informiert und die Termine telefonisch vereinbart.

Die erste Stallbesichtigung und Probenahme fand am 19. 10. 2004, die letzte Probenahme am 21.01.2005 statt.

Während der Stallbegehungen wurden die Tränkeanlagen besichtigt, zudem mittels eines Fragebogens technische Daten dieser Anlagen erfragt, sowie Informationen zu den Verfahren der Reinigung und Desinfektion, der Tierzahlen und der eingesetzten Arzneimittel gesammelt. Bei dieser Gelegenheit wurden auch die Wasserproben entnommen.

Jeweils eine Probe wurde direkt aus der Tränkeleitung entnommen, und zwar aus einem Bereich der Anlage, der den Tieren tatsächlich zugänglich war. Diese Proben wurden zur Untersuchung auf das Vorhandensein antimikrobiell wirksamer Substanzen in das Veterinärinstitut Hannover geschickt.

Die Proben, anhand derer die Wasserqualität erfasst werden sollte, wurde direkt aus der den Stall versorgenden Wasserleitung entnommen und zur Analyse in das Institut für Bedarfsgegenstände in Lüneburg geschickt.

Der Versand der Proben erfolgte über einen Kurierdienst in isolierten und mit Kühllakkus versehenen Transportkisten. Bis zur Versendung wurden die Wasserproben bei -20 °C eingefroren.

Als Probengefäße dienten Kunststoffbecher mit Schraubverschluss (handelsübliche „Urinbecher“), die ein Fassungsvermögen von 125 ml aufwiesen. Nach Absprache mit den Untersuchungseinrichtungen wurden diese Probengefäße als geeignet beurteilt, auch bezüglich der Stabilität während des Einfrierens.

Vor Entnahme der Wasserproben wurden die Probenbehälter mit einem wasserfesten Stift dauerhaft gekennzeichnet. Vermerkt wurden hier eine fortlaufende Nummer, das Datum der Probennahme und die Geflügelart (Hähnchen oder Puten). Dadurch konnten Verwechslungen der Proben ausgeschlossen werden.

Für die Untersuchung der Wasserqualität im Institut für Bedarfsgegenstände in Lüneburg wurde auf dem Begleitbogen vermerkt, ob es sich um Brunnen- oder um Stadtwasser handelt.

Insgesamt sind bei 23 Landwirten Probenahmen durchgeführt worden. Es handelte sich um 12 Putenmastbetriebe und 11 Hähnchenmastbetriebe.

Von den Landwirten, die Putenmast betrieben, stellten fünf jeweils zwei räumlich getrennte Betriebseinheiten für die Untersuchung zur Verfügung, ebenso wie fünf der Landwirte mit Hähnchenmast. So konnten für diese Untersuchung insgesamt 33 Betriebseinheiten bzw. Ställe aus acht verschiedenen Landkreisen beprobt und ausgewertet werden.

3.1.2 Fragebogen

Anhand dieses Fragebogens sollten technische Daten sowie weitere Informationen über die Tränkeanlagen von den Landwirten ermittelt werden.

1. Um welche Art von Tränkeanlage handelt es sich (Nippeltränke, Rundtränke)?
2. Aus welchem Material besteht die Anlage?
3. Von welcher Firma wurde die Anlage hergestellt und seit wann ist sie in Betrieb?
4. Wie viele Tiere werden pro Mastdurchgang durch diese Anlage mit Wasser versorgt?
5. Wie und wie oft wird die Anlage pro Mastdurchgang gereinigt?
6. Gibt der Anlagenhersteller Hinweise zur Reinigung während des Mastdurchganges?
7. Wie wird die Anlage zwischen den Mastdurchgängen gereinigt?
8. Welche Arzneimittel wurden im letzten Mastdurchgang eingesetzt?
9. Wird nach Applikation von Arzneimitteln die Anlage gespült, um Ablagerungen oder Rückstände aus der Anlage zu entfernen?
10. Werden durch den Anlagenhersteller Wartungsarbeiten durchgeführt?
11. Ist diese Tränkeanlage störanfällig (verstopfte Leitungen, Lecks)?
12. Verwenden sie Stadtwasser oder Brunnenwasser?

3.1.3 Untersuchung der Tränkwasserproben durch das Veterinärinstitut in Hannover

Im Veterinärinstitut Hannover wurden die Tränkwasserproben auf das Vorhandensein antimikrobiell wirksamer Substanzen untersucht. Es handelte sich hierbei um die Proben, die direkt aus der Tränkeleitung entnommen worden sind.

Die Wasserproben wurden zunächst einem Hemmstofftest unterzogen.

Der Hemmstofftest wurde mit dem Testbakterium *Bacillus subtilis* BGA durchgeführt. Dieses Bakterium wächst auf Nährböden, auf welche die Wasserproben aufgebracht wurden.

Diese Nährböden wurden 18-24 Stunden bei 30 °C bebrütet und anschließend beurteilt.

Es wurden folgende Bestimmungsgrenzen ohne Anreicherung erzielt:

Sulfonamide: 100 ng/ml

Chinolone: 10 ng/ml

Tetrazykline: 20 ng/ml

In den Fällen, in denen eine antimikrobiell wirksame Substanz in der Wasserprobe vorhanden war, hat sich ein Hemmhof auf dem Nährboden ausgebildet, d.h. das Testbakterium wurde in seinem Wachstum gehemmt oder auch abgetötet.

Entscheidend für die Beurteilung ist nicht allein die Ausbildung sondern auch die Größe eines Hemmhofes (in Anlehnung an die AVVFIH, 2002):

Hemmzonen, die eine Breite < 1 mm aufweisen gelten als negativ.

Als zweifelhaft betrachtet werden Hemmzonen von 1-2 mm Breite.

Hemmzonen, die eine Breite von > 2 mm aufweisen gelten als positiv.

3.1.4 Untersuchung der Wasserproben durch das Institut für Bedarfsgegenstände in Lüneburg

Im Institut für Bedarfsgegenstände in Lüneburg wurden die Wasserproben untersucht, die direkt aus der Wasserleitung, also vor Eintritt in die Tränkeanlage entnommen worden sind.

Überprüft wurde hier die Wasserqualität, also die Konzentration charakteristischer Inhaltsstoffe, die Verschleppungen Vorschub leisten könnten. Beurteilt wurden die Untersuchungsergebnisse nach den Vorgaben der Trinkwasser-Verordnung.

Tab. 4: Nachweismethoden der Wasserinhaltsstoffe der im Rahmen des Feldversuches entnommenen Wasserproben

Parameter	Methode
Calcium, Magnesium, Eisen, Mangan	ICP-OES (EN ISO 11885)
Sulfat, Nitrat	IC (DIN EN ISO 10304-1)
Nitrit	Photometrie (DIN EN 26777 D 10)
Leitfähigkeit	Konduktometrie (EN 27888)

3.2 Modellversuch

Aus den Befragungen der Landwirte haben sich zwei wesentliche Fragen ergeben, die mit Hilfe eines Modellversuches näher untersucht werden sollten.

Die eine Frage bezieht sich auf die Materialien, aus denen die Wasserleitungen der Tränkeanlagen bestehen, also PVC und PE.

Gibt es Unterschiede im Bereich der inneren Oberfläche beider Materialien bzw. stellt eines dieser Materialien ein besonderes Risiko hinsichtlich der Verschleppung von Arzneimitteln aufgrund seiner spezifischen inneren Oberfläche dar?

Die zweite Frage betrifft die in der Praxis eingesetzten organischen Säuren, die vornehmlich während des Mastdurchganges und häufig nach Einsatz von Arzneimitteln dem Tränkewasser zugesetzt werden. Eingesetzt werden Ameisensäure, Zitronensäure und Säuregemische, die wiederum Ameisensäure und Zitronensäure, aber auch Essigsäure, Propionsäure und Milchsäure enthalten können.

Diese Säuren sollen die Löslichkeit der Arzneimittel verbessern. Dadurch soll die Aufnahme des Arzneimittels durch die Tiere gesteigert und somit Verschleppungen entgegengewirkt werden. Außerdem sollen laut Herstellerangaben diese Säuren die Darmflora der Tiere positiv beeinflussen, indem eine pH-Wert-Senkung des Mageninhaltes nach der Futteraufnahme unterstützt und beschleunigt wird.

Um einen Vergleich der beiden Materialien, PVC und PE, vornehmen zu können, wurden im Landhandel jeweils ein 5 m langes Rohrleitungsstück PVC und PE, mit einem jeweiligen Durchmesser von 1 Zoll, entsprechend den Vorgaben aus der Befragung der Landwirte, dazu Rohrwinkel, die als Einfüllstutzen dienen sollten und Schraubverschlüsse zum Verschließen der Rohrleitungen erworben.

Beschriftung des PE-Rohres:

PE – LD, PN – 6, ISO-Norm, 32 x 3,01, Herstellungsdatum und fortlaufende Nummerierung entsprechend der Maschinennummern bei der Herstellung.

Beschriftung des PVC-Rohres:

PVC – U, Druckrohr, 32 x 1,8, DIN 8061/63, PN 10, CA/ZN, Maschinenummer und Uhrzeit.

Das Beiblatt 1 zu DIN 8061 gibt eine Orientierung bezüglich der chemischen Widerstandsfähigkeit des Materials gegenüber den in dem Beiblatt aufgeführten Durchflusstoffen. Nicht in Betracht gezogen werden können allerdings Einflüsse, wie z.B. der hydraulische Innendruck, Temperaturen sowie sonstige mechanische Belastungen.

So wird hier eine chemische Widerstandsfähigkeit gegenüber Säuren, Laugen, Eisen, Calcium, Magnesium, Zucker, Wasser sowie Wasserstoffperoxyd bei Temperaturen von 20 °C angegeben. Daraus ergibt sich grundsätzlich eine positive Beurteilung des Materials bezüglich der Eignung mit den genannten Substanzen als Durchflusstoffe in Kontakt zu kommen (Beiblatt 1 zu DIN 8061).

Die in diesem Modellversuch eingesetzten Säuren wurden auf Anfrage von zwei Landwirten zur Verfügung gestellt, so dass mit den Formulierungen gearbeitet werden konnte, die tatsächlich in der Praxis verwendet werden. Es handelte sich hier um Ameisensäure, Zitronensäure (Granulat) und ein Säuregemisch (Salstop®-Vital).

Bei „Salstop®-Vital“ handelt es sich laut Herstellerangaben um eine Mischung aus Salzen der Propionsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Milchsäure und Phosphorsäure und ihren freien Säuren, sowie Emulgatoren.

In dem Modellversuch wurden diese Säuren in Konzentrationen eingesetzt, in welcher sie auch von den Landwirten verwendet werden.

Ameisensäure: 0,5 – 0,75 l pro 1.000 l Wasser

Zitronensäure: 200 g pro 1.000 l Wasser

Salstop®-Vital: 1 – 3 kg pro 1.000 l Wasser

Bei dem Arzneimittel, mit dem diese Untersuchung durchgeführt wurde, handelte es sich um Ursocyclin-Pulver 20® (100 g enthalten: Oxytetracyclin (als Hydrochlorid) in 20 g Lactose; Reg.-Nr. 08/10/262; Vertrieb: „Serumwerk Bernburg AG), das einzige für Puten zugelassene Oxytetracyclin.

Aufgebaut wurde diese Modellanlage in einem Labor des Institutes für Lebensmitteltoxikologie und Chemische Analytik der Tierärztlichen Hochschule Hannover, in dem zuvor noch keine Versuche mit Tetrazyklinen durchgeführt worden sind.

3.2.1 Aufbau der Modellanlage

Bereits während des Aufbaus der Modellanlage wurden die ersten Unterschiede zwischen den beiden Materialien deutlich. Das starre PVC-Rohr ließ sich relativ unproblematisch mit laborüblichen Metallstativen und verstellbaren Halterungen befestigen. Somit konnte ein Gefälle von ca. 20% vom Einfüllstutzen zum Schraubverschluss erzielt werden. Im Gegensatz dazu war das im Vergleich wesentlich flexiblere PE-Rohr nur schwer in die gewünschte Position zu bringen.

Vor Beginn der Versuchsreihe wurde zunächst das Fassungsvermögen der Rohrleitungen ermittelt. Das PVC-Rohr hatte ein Fassungsvermögen von 3,6 l, während das PE-Rohr 2,4 l Wasser aufnehmen konnte. Die Differenz der Fassungsvermögen ergibt sich aus der unterschiedlichen Wanddicke der Rohre.

Anhand dieser Volumina wurde die Menge an Säuren berechnet, die dem Wasser nach Arzneimittleinsatz, entsprechend den Vorgaben aus der Praxis, zugesetzt werden musste.

Um die Menge des einzusetzenden Arzneimittels berechnen zu können wurde vorausgesetzt, dass eine Pute in der 17. – 18. Mastwoche etwa ein Gewicht von 15 kg Körpergewicht aufweist und einen durchschnittlichen Wasserverbrauch von 0,85 – 0,9 l hat.

Bei einer Behandlungsdauer von fünf Tagen und einer Wartezeit für essbare Gewebe bei der Pute von sieben Tagen, wäre eine Behandlung zu diesem späten Zeitpunkt der Mast unter Einhaltung der Wartezeit möglich.

Tab. 5: Wasserinhaltsstoffe des bei dem Modellversuch eingesetzten Stadtwassers

pH	Mg mg/l	Ca mg/l	Mn mg/l	Fe mg/l	Nitrat mg/l	Nitrit mg/l	Sulfat mg/l	Leitfähigkeit µS/cm
8,0	4,4	97,9	<0,002	<0,02	0,7	<0,02	91	557

3.2.2 Versuchsdurchführung

Zunächst wurden die Rohrleitungen mit Wasser gespült.

Für das PVC-Rohr wurden 15 g Ursocyclin® in einem Kunststoffkanister mit einer kleinen Menge Wasser vollständig gelöst und daraufhin der Kanister mit Wasser aufgefüllt, bis die zuvor berechnete Menge von 3,6 l Wasser erreicht war. Durch Schwenken des Kanisters wurde eine bestmögliche Verteilung des Arzneimittels in der kompletten Wassermenge erreicht.

Das mit Arzneimittel versetzte Wasser ist in das am unteren Ende durch den Schraubverschluss verschlossene PVC-Rohr eingefüllt und eine Stunde in der Rohrleitung belassen worden, um eine „Worst-case“-Situation zu simulieren.

Nach einer Stunde wurde das mit Arzneimittel versetzte Wasser abgelassen und das Rohr erneut verschlossen.

Es folgte eine erneute Befüllung des Rohres mit Wasser und, sobald das Rohr vollständig gefüllt war, wurde das Wasser wiederum abgelassen und aus diesem Spülwasser die erste Probe entnommen.

Direkt im Anschluss wurden die zweite und die dritte Probe auf die gleiche Weise entnommen.

Die gleiche Vorgehensweise wurde für das PE-Rohr angewandt, wobei hier eine Arzneimittelmenge von 10 g Ursocyclin® in einem Kunststoffkanister in einer kleinen Menge Wasser gelöst wurde. Anschließend wurde der Kunststoffkanister auf die zuvor ermittelte Wassermenge von 2,4 l aufgefüllt. Durch Schwenken des Kanisters wurde eine vollständige Lösung des Arzneimittels in der gesamten Wassermenge erreicht.

In diesem ersten Versuchsdurchlauf sollte ermittelt werden, inwieweit Wasser in der Lage ist, das Arzneimittel aus den Rohrleitungen zu entfernen. Die Ergebnisse sind in **Tab. 28**, **Tab. 29** und **Tab. 30** in den Zeilen **Wasser 1**, **Wasser 2** und **Wasser 3** dargestellt.

Im Vergleich dazu sollten nun die Ameisensäure, die Zitronensäure und das Salstop®-Vital eingesetzt werden, um feststellen zu können, ob es Unterschiede hinsichtlich der Reinigungswirkung zwischen dem Wasser und den Säuren oder zwischen den Säuren untereinander gibt.

Beide Rohrleitungen wurden nach Gewinnung der ersten Proben aus der reinen Wasserspülung zunächst mehrmals mit Wasser gespült, um eine größtmögliche Reinigung der Rohrleitungen zu erreichen.

Für den zweiten Versuchsdurchlauf, also der Spülung mit Zitronensäure, wurde wiederum die für das jeweilige Rohr berechnete Arzneimittelmenge in einem Kanister in einer geringen Menge Wasser gelöst und der Kunststoffkanister anschließend auf die für das jeweilige Rohr ermittelte Wassermenge aufgefüllt. Die Rohrleitungen wurden erneut mit dem arzneimittelhaltigen Wasser beschickt und es folgte eine einstündige Einwirkzeit.

Für das PVC-Rohr wurden 0,72 g Zitronensäure in 3,6 l Wasser gelöst, für das PE-Rohr wurden 0,5 g Zitronensäure in 2,4 l Wasser gelöst.

Die erste Probe des zweiten Versuchsdurchlaufes wurde durch Spülung der Rohrleitungen mit zitronensäurehaltigem Wasser gewonnen. Die jeweils zweite und dritte Probe wurden derart gewonnen, dass die Rohrleitungen noch jeweils zweimal mit Wasser gespült wurden.

Die Ergebnisse des zweiten Versuchsdurchlaufes sind in **Tab. 28**, **Tab. 29** und **Tab. 30** in den Zeilen *Zitronensäure 1*, *Zitronensäure 2* und *Zitronensäure 3* dargestellt.

Die gleiche Vorgehensweise wurde mit dem Säuregemisch „Salstop[®]-Vital“ wiederholt.

Berechnet wurde eine Menge von 5,4 g Salstop[®]-Vital in 3,6 l Wasser für das PVC-Rohr und 3,6 g Salstop[®]-Vital in 2,4 l Wasser für das PE-Rohr. Auch hier wurde nach Ablassen des Arzneimittels eine Spülung mit den Säurelösungen vorgenommen und daraus die erste Probe gewonnen. Um die zweite und dritte Probe zu erhalten, wurde wieder jeweils zweimal mit Wasser gespült.

Die Ergebnisse des dritten Versuchsdurchlaufes sind in **Tab. 28**, **Tab. 29** und **Tab. 30** in den Zeilen **Salstop[®]-Vital 1**, **Salstop[®]-Vital 2** und **Salstop[®]-Vital 3** dargestellt.

Für den vierten Versuchsdurchlauf mit der Ameisensäure wurde eine Menge von 1,8 ml Ameisensäure auf 3,6 l Wasser für das PVC-Rohr und eine Menge von 1 ml Ameisensäure auf 2,4 l Wasser für das PE-Rohr berechnet.

Die Vorgehensweise entspricht der zuvor beschriebenen.

Die Ergebnisse des vierten Versuchsdurchlaufes sind in **Tab. 28**, **Tab. 29** und **Tab. 30** in den Zeilen *Ameisensäure 1*, *Ameisensäure 2* und *Ameisensäure 3* dargestellt.

Berechnung der Verschleppung:

PVC-Rohr:

15 g Ursocyclin® in 3,6 l Wasser

Das entspricht einer Menge von 4,16 g Ursocyclin® pro Liter Wasser.

In 100 g Ursocyclin® sind 20 g Oxytetracyclin enthalten.

Daraus ergibt sich ein Gehalt von 832.000 µg/l Wasser.

Damit entspricht beispielsweise ein nachgewiesener Gehalt von 402,2 µg/l in der Probe einer Verschleppung von 0,048%.

PE-Rohr:

10 g Ursocyclin® in 2,4 l Wasser

Das entspricht einer Menge von 4,16 g Ursocyclin® pro Liter Wasser.

Damit entspricht beispielsweise ein nachgewiesener Gehalt von 72,4 µg/l in der Probe einer Verschleppung von 0,009%.

3.2.3 Untersuchung der Proben aus dem Modellversuch mittels HPLC-ESI-MS-MS

Die eingesetzte Methode basiert auf dem von Hamscher et al. 2002 publizierten Verfahren zur Bestimmung von Tetrazyklinen in verschiedenen Umweltmatrices.

Die HPLC-Parameter sind in **Tab. 6**, das HPLC-Gradientenprogramm ist in **Tab. 7** und die MS-Parameter sind in **Tab. 8** dargestellt.

Reagenzien:

Alle Chemikalien haben mindestens p.a. Qualität, Fließmittel für die HPLC Gradientenqualität, Wasser für die HPLC wird aus der Millipore-QF-Anlage entnommen.

- Spüllösung für Analysengefäße: Na₂-EDTA gesättigtes Methanol
- 1 M Citratpuffer pH 4,7
- 0,5 M Citratpuffer pH 4
- NaOH-Plätzchen zur pH-Werteinstellung des Puffers
- Methanol
- Reinstwasser
- Äquilibrier/Elutionsmix: essigsaures Methanol pH 2,5
- Eisessig zur pH-Werteinstellung des Methanols
- Bakerbond speTMSDB1 6 ml gepackt mit 200 mg Styrene Divinyl Benzene Copolymere
- Oxytetrazyklin Referenzsubstanz (Riedel de Haen, Best.-Nr. 46598)

Geräte:

Laborwaage

Magnetrührer

Prepstation

Variable Pipetten

Rotationsverdampfer mit Wasserbad

Ultraschallbad

pH-Meter

LCQ-MS (Thermo Finnigan, San Jose)

HPLC-Säule Puresil RP 18, 5 µm, 4,6 x 150 mm (Waters, Eschborn)

Probenahme und Probenaufbewahrung

Nach Entnahme werden die Wasserproben beschriftet und bis zur Analyse bei ca. -18 °C gelagert.

Probenaufbereitung, Messung und Berechnung

Probenvorbereitung

Alle für die Probenaufbereitung benötigten Glasgeräte werden vor dem Benutzen mit Na₂-EDTA gesättigtem Methanol gespült. Es werden 25 ml Probe mit 25 ml 1 M Citratpuffer pH 4,7 eine Minute gerührt.

Festphasenextraktion

Für die Festphasenextraktion mit der Prep-Station werden die SDB 1 Kartuschen wie folgt behandelt:

Als erstes erfolgt die Äquilibration der Kartuschen mit 10 ml Methanol pH 2,5 und dann mit 5 ml Methanol. Es schließt sich die Konditionierung mit 12 ml 0,5 M Citratpuffer pH 4,7 an. Dann wird die Probe aufgegeben. Die Tropfgeschwindigkeit wird mittels Vakuum so eingestellt, dass noch einzelne Tropfen erkennbar sind.

Es folgen 2 Spülschritte, zuerst mit 12 ml Milli-Q-Wasser und dann mit 2 ml Methanol. Die Elution wird mit 10 ml Methanol pH 2,5 in 25 ml Spitzkolben durchgeführt. Die Extrakte werden am Vakuumrotationsverdampfer zur Trockene eingeengt (40°C, 130 mbar; wenn im Kolben keine Flüssigkeit mehr zu sehen ist, Vakuum auf 30 mbar absenken.)

Qualitative und quantitative Bestimmung von Oxytetracyclin mit HPLC-MS-MS

Die qualitative und quantitative Bestimmung von Oxytetracyclin wird mittels HPLC-MS-MS durchgeführt. Die Substanz wird an einer RP-C18-Phase mittels eines linearen Gradientensystems chromatographiert. Der Fluss von 1 ml/Minute wird vor Einlass in das Massenspektrometer 1:10 gesplittet. Die Kopplung erfolgt über ein Elektrospray-Interface, das im Positivmodus betrieben wird. Oxytetracyclin wird anhand der Retentionszeit und des substanzspezifischen Massenspektrums qualifiziert und über sein intensivstes Fragmention (s. **Tab. 9**) durch Vergleich der Peakflächen mit der einer externen Referenzsubstanz quantifiziert. Der lineare Bereich der Methode liegt bei 0,1 – 10 ng pro Injektion ($r^2 > 0,99$).

Tab. 6: HPLC-Parameter

HPLC-Säule	Puresil RP 18 (Waters, Eschborn)
Flussrate	1 ml/min
Fließmittel C	0,5% Ameisensäure und 1 mM Ammoniumacetat in Wasser
Fließmittel D	Acetonitril
Standardinjektionsvolumen	8 μ l
Detektion	MS-MS

Tab. 7: HPLC-Gradientenprogramm

Zeit (min)	C (%)	D (%)
0	100	0
1	100	0
10	50	50
11	50	50
12	1	99
15	1	99
16	100	0
24	100	0

Tab. 8: MS-Parameter

ESI-Nadel-Spannung	+ 5.000 V
Trockengas	Stickstoff
Sheathgas	100
Auxgas	0
Temperatur-Kapillare	150 °C

Tab. 9: MS-MS-Parameter

Substanz	[M + H]⁺ (m/z)	Stoßenergie (%)	Fragmentation (m/z) (rel. Intensität in %)
OTC	461	20	426 (7) 443* (100) 444 (9)

* Ion, das zur Quantifizierung verwendet wird

Berechnung:

Die Konzentration der Analyten wird mittels der Methode des externen Standards bestimmt.

Die Linearität des Verfahrens im Bereich 0,1 – 10 ng/Injektion ist gegeben ($r^2 > 0,99$).

Die Ergebnisse werden in $\mu\text{g/l}$ angegeben.

$$C_R = F_R/F_S \times m_S \times V_{\text{Ges}}/V_{\text{inj}} \times 1/m_P$$

C_R = Konzentration des Analyten

F_R = Peakflächeneinheiten der Probe

F_S = Peakflächeneinheiten Standard

m_S = Menge Referenzsubstanz (ng)

V_{Ges} = Gesamtvolumen der Probelösung (μl)

V_{inj} = Injektionsvolumen (μl)

m_P = Probenvolumen (ml)

Validierungsparameter:

Die mittlere Wiederfindung im Sickerwasser beträgt bei einem Zusatz von 0,2 – 1 $\mu\text{g/l}$ 83,5%.

Die mittlere Variation der Wiederfindung in Sickerwasser beträgt bei einem Zusatz von 0,2 – 1 $\mu\text{g/l}$ 15,9%.

Die Bestimmungsgrenze (definiert als die niedrigste Konzentration bei der das Verfahren mit einem Signal-Rauschverhältnis von mindestens 6:1 detektiert) beträgt für das beschriebene Verfahren 0,1 $\mu\text{g/l}$.

Die Nachweisgrenze (definiert als die niedrigste Konzentration detektiert mit einem Signal-Rausch-Verhältnis von mindestens 3:1) für Oxytetracyclin in Wasser beträgt 0,05 $\mu\text{g/l}$.

Angabe des Ergebnisses

Die Angabe des berechneten Ergebnisses erfolgt ohne Korrektur um die mittlere Wiederfindung, da sämtliche vorliegende Untersuchungen in Leitungswasser durchgeführt worden sind.

4 Ergebnisse

4.1 Auswertung des Fragebogens

Zu Frage 1: Um welche Art von Tränkeanlage handelt es sich (Nippeltränke, Rundtränke)?

Im Bereich der Hähnchenmast wurden nur Nippeltränken eingesetzt, bei der Putenmast werden hauptsächlich Rundtränken verwendet, wobei drei Landwirte bei den jungen Puten Nippeltränken einsetzen und ein Landwirt für die gesamte Dauer der Mast Nippeltränken einsetzt.

Zu Frage 2: Aus welchem Material besteht die Anlage?

Die Frage nach den Materialien, aus denen die Tränkeanlagen bestehen, ist nicht pauschal nach den Typen der Anlagen zu beantworten, vor allem, was die Rundtränken für die Putenmast betrifft.

Hier handelt es sich zwar durchweg um Kunststoffe die zum Einsatz kommen, allerdings muss hier unterschieden werden zwischen PVC und PE. Das PVC unterscheidet sich vom PE durch geringere Flexibilität und eine gleichmäßigere innere Oberfläche.

Die Nippeltränken dagegen weisen sehr ähnliche Bauweisen auf und es gibt keine wesentlichen Unterschiede bezüglich des Materials.

Es kommen hier vor allem PVC und Edelstahl zum Einsatz. Aus PVC bestehen sämtliche Leitungsrohre und Verbindungsstücke, während die Tränkenippel selbst aus Edelstahl sind.

Zu Frage 3: Von welcher Firma wurde die Anlage hergestellt und seit wann ist sie in Betrieb?

Tab. 10: Tränkeanlagenhersteller in den besuchten Betrieben

Putenmastbetriebe	Hähnchenmastbetriebe
7 x Plasson	11 x Lubing
2 x Ziggity	1 x big dutchman
1 x Lubing	1 x Roxell
1 x Areon	-
1 x Prüllage	-

Tab. 11: Alter der Tränkeanlagen

Tränkeanlagenhersteller	Alter der Anlagen	Bemerkungen
Plasson	3 – 19 Jahre	Bei der 19 Jahre alten Anlage wurden 2001 die Wasserleitungen ausgetauscht
Lubing	1 – 16 Jahre	Bei der 16 Jahre alten Anlage wurden 2002 die Tränkenippel und die Dosiereinheit ausgetauscht
Ziggity	5 und 10 Jahre	-
big dutchman	1 und 2 Jahre	-
Areon	10 Jahre	-
Roxell	2 Jahre	-
Prüllage	3 Jahre	-

Zu Frage 4: Wie viele Tiere werden pro Mastdurchgang durch diese Anlage mit Wasser versorgt?

In den Putenmastbetrieben lagen die Tierzahlen zwischen 2.500 und 6.000 Tieren pro Mastdurchgang, in den Hähnchenmastbetrieben betragen die Tierzahlen zwischen 18.000 und 40.000 Tieren pro Mastdurchgang.

Zu Frage 5: Wie und wie oft wird die Anlage pro Mastdurchgang gereinigt?

Alle Landwirte spülen die Leitungen mindestens einmal pro Woche mit Wasser.

Tab. 12: Im Bereich der Putenmast eingesetzte Reinigungsmittel

Putenmastbetriebe	
Anzahl der Landwirte (n)	Reinigungsmittel
6	Organische Säuren (Ameisensäure, Zitronensäure) und Wasserspülung
2	Säuregemische (Salstop [®] -Vital, TAD-Aquades [®])
1	Schwamm, Ameisensäure, Chlorbleichlauge
1	keine Reinigung

Tab. 13: Im Bereich der Hähnchenmast eingesetzte Reinigungsmittel

Hähnchenmastbetriebe	
Anzahl der Landwirte (n)	Reinigungsmittel
8	Säuregemische (Ameisensäure, Zitronensäure, Essigsäure)
2	Chlorbleichlauge
2	Keine Reinigung; Reinigungswirkung des regulären Wasserdruckes, dadurch kein stehendes Wasser in den Leitungen und somit keine Reinigung notwendig
1	Wasserstoffperoxyd (für die Wasserstabilität)

Zu Frage 6: Gibt der Tränkeanlagenhersteller Hinweise zur Reinigung während des Mastdurchgangs?

Tab. 14: Hinweise der Tränkeanlagenhersteller zur Reinigung der Anlagen

Anzahl der Landwirte (n)	Antworten
17	Nein
2	Eventuell finden sich Hinweise zu Reinigung und Desinfektion der Anlage in den Betriebsunterlagen.
1	Die Reinigung erfolgt mit einem Schwamm, der durch die Leitungen geschickt wird.
1	Die Firma Lubing gibt Hinweise zur Reinigung zwischen den Mastdurchgängen.
1	Die Firma Ziggity empfiehlt „Aqua-Clean [®] “, da dieses Präparat die Gummidichtungen nicht angreift.

Zu Frage 7: Wie wird die Tränkeanlage zwischen den Mastdurchgängen gereinigt?

Sowohl bei den Putenmastbetrieben als auch bei den Hähnchenmastbetrieben wird mit Wasserstoffperoxyd, Rohrreiniger auf der Basis von Natronlauge, Chlorbleichlauge aber auch Säuren und Säuregemischen gereinigt. Nur ein Landwirt gab an, die Reinigung der Tränkeanlage an eine Reinigungsfirma abzugeben.

Zu Frage 8: Welche Arzneimittel wurden im letzten Mastdurchgang eingesetzt?**Tab. 15:** Arzneimittel, die im letzten Mastdurchgang vor der Probenahme bei den Puten eingesetzt wurden

Wirkstoffgruppen	Häufigkeit (n)
Tetrazykline	10
Benzympenicillin	9
Polypeptid-Antibiotika	3
Makrolide	2
Aminoglykoside	1
Gyrasehemmer	1

Tab. 16: Arzneimittel, die im letzten Mastdurchgang vor der Probenahme bei den Hähnchen eingesetzt wurden

Wirkstoffgruppen	Häufigkeit (n)
keine	2
Benzympenicillin	8
Polypeptid-Antibiotika	4
Makrolide	4
Trimethoprim-Sulfonamid-Kombination	4
Aminoglykoside	2
Lincosamide	1

Zu Frage 9: Wird nach Applikation von Arzneimitteln die Tränkeanlage gespült, um Ablagerungen oder Rückstände aus der Anlage zu entfernen?

Putenbetriebe:

In einem Fall wird die Anlage nach Tränkemedikation mit einem Schwamm gereinigt, der durch die Wasser führenden Leitungen geschickt wird.

In einem Fall werden die Leitungen mit Wasser gespült und die Rundtränken werden einzeln mit einem Schwamm (mit der Hand, von außen) gereinigt.

In den übrigen Fällen werden die Anlagen mit Wasser gespült und anschließend dem Tränkewasser Säuren, vornehmlich Ameisen- und/oder Zitronensäure zugesetzt.

Hähnchenbetriebe:

In einem Fall werden nach Tränkemedikation keine besonderen Maßnahmen ergriffen.

Ein Landwirt gibt an, dass das Arzneimittel im Vormischer so lange verdünnt und in die Wasserleitungen eingeleitet wird, bis es völlig aus den Leitungen verschwunden, bzw. vollständig von den Tieren aufgenommen worden ist.

Die übrigen Hähnchenmäster setzen dem Tränkewasser nach Applikation von Arzneimitteln organische Säuren, häufig als Säuregemische, zu.

Ein Landwirt gibt an, nach Tränkemedikation zunächst eine Wasserspülung durchzuführen. Säuren setzt er erst ab dem 21. Lebenstag zu, da vor diesem Mastzeitpunkt die Säuren von den Tieren schlecht vertragen werden.

Zu Frage 10: Werden durch den Anlagenhersteller Wartungsarbeiten durchgeführt?

Die Tränkeanlagenhersteller führen keine Wartungsarbeiten an den Anlagen aus.

Zu Frage 11: Ist diese Tränkeanlage störanfällig (verstopfte Leitungen, Lecks)?**Tab. 17:** Störanfälligkeit der verschiedenen Tränkeanlagen

Antworten	Häufigkeit (n)
Die Anlage ist nicht störanfällig.	11
Bisher ist die Anlage nicht störanfällig, aber im ersten Mastdurchgang gab es kurzfristig Schwierigkeiten mit der Wasserdurchflussmenge, da vermutlich noch Staubpartikel vom Einbau die Tränkenippel „verstopft“ hatten.	2
Bei den Nippeltränken für die Putenaufzucht stellte sich als problematisch heraus, dass der Wasserfluss durch Halskontakt der Tiere bewirkt wird. Da die Puten diesen Zusammenhang nur schwer begreifen, muss in der Anfangsphase der Mast alle 2 Stunden an den Leitungen geschüttelt werden, um die Wasserversorgung der Tiere zu gewährleisten.	2
Beim Hochziehen eines Teils der Tränken (Platzgewinn gegen Ende der Mast) bleibt Wasser in den Leitungen der hochgezogenen Tränken stehen; diese werden hin und wieder mit Wasser durchgespült.	1
Hin und wieder kommt es zu Lecks in den Leitungen, da es in Abhängigkeit von der Qualität des Brunnenwassers zu Verstopfungen der Tränkenippel kommt (an den ersten 10 Tagen werden die Tiere mit Stadtwasser getränkt, danach mit Brunnenwasser).	1
Die Rundtränken für Puten weisen eine leichte Schiefelage auf, wodurch die Einstreu stellenweise nass wird. Dieses Problem kann durch austarieren und gleichzeitige Anpassung des Wasserdruckes in den Leitungen behoben werden.	1
Die „Störanfälligkeit“ der Nippeltränken für Hähnchen besteht darin, dass Dichtungsringe ausgewechselt werden müssen (wenn die Anlage leckt); dies wird in Eigenleistung durchgeführt. („Vermutlich greifen die Säuren das Gummi der Dichtungsringe an“.)	1
Die Anlage ist nicht störanfällig, aber die Tränkenippel (Nippeltränken für Hähnchen) müssen alle 15 Jahre ausgetauscht werden.	1
Bis auf Einzelteile ist die Anlage (Nippeltränken für Hähnchen) nicht störanfällig. „Garantie-Ansprüche“ bei Ersatz- oder Einzelteilen sind allerdings kaum geltend zu machen, da sich die Herstellerfirma auf unsachgemäße Handhabung rausredet, wobei keine eindeutige Montageanleitungen oder Sicherheitshinweise gegeben werden.	1
Die Tränkeanlage ist soweit nicht störanfällig, aber im ersten Mastdurchgang mit dieser Anlage kam es zu erhöhten Kükenverlusten. Die Ursache war eine zu geringe Wasserdurchlaufmenge der Tränkenippel. Der Anlagenhersteller hat die Tränkenippel daraufhin ausgetauscht.	1

Zu Frage 13: Verwenden Sie Stadtwasser oder Brunnenwasser?**Tab. 18:** In der Putenmast verwendetes Wasser

Häufigkeit (n)	Bemerkungen/Antworten
Stadtwasser	
7	<p>1 Landwirt:</p> <p>bis vor 4 Jahren wurden die Tiere mit Brunnenwasser getränkt (viel Eisen), was zu braunen Ablagerungen an den Stallwänden, den Rundtränken und dem Vormischer führte, die sich nicht mehr entfernen lassen. Außerdem „verschlammten“ die Wasserleitungen und die Anschlüsse verstopften. Nach Erneuerung der Wasserleitungen und der Umstellung auf Stadtwasser sind diese Schwierigkeiten nicht mehr gegeben.</p> <p>pH-Wert Brunnenwasser: 4,7 pH-Wert Stadtwasser: 6,0</p> <p>Die Hennen waren bei Einsatz des Brunnenwassers im Schnitt etwa 0,4 kg schwerer als bei dem jetzt eingesetzten Stadtwasser.</p>
Brunnenwasser	
5	<p>1 Landwirt:</p> <p>Brunnenwasser mit eigener Wasseraufbereitung</p>
	<p>1 Landwirt:</p> <p>„Enteisungsanlage“ in Erprobung, da das Wasser aus dem alten Brunnen viel Nitrat enthält, das Wasser aus dem neuen Brunnen dagegen viel Eisen.</p>

Tab. 19: In der Hähnchenmast verwendetes Wasser

Wasser	Häufigkeit (n)	Bemerkungen
Stadtwasser	11	<p>1 Landwirt:</p> <p>Stadtwasser am 1.-10. Masttag, danach Brunnenwasser (viel Eisen)</p>

4.2 Ergebnisse der Untersuchung der Tränkewasserproben durch das Veterinärinstitut in Hannover

Die Untersuchung der Wasserproben, die direkt aus der Tränkeleitung entnommen wurden, ergab zwei positive Befunde:

In der Probe mit der Nummer **07** wurde **Oxytetracyclin** nachgewiesen:

A-Probe: 448 µg/l

B-Probe: 427 µg/l

In diesem Putenmastbetrieb wird mit Brunnenwasser getränkt. Das Wasser wird durch eine Wasseraufbereitungsanlage und einen Filter in den Stall geleitet.

In diesem Brunnenwasser konnten Eisen-Gehalte von 0,49 mg/l ermittelt werden.

Die Plasson-Rundtränken sind 11 Jahre alt und die Wasserleitungen bestehen aus PVC.

Während eines Mastdurchgangs wird die Anlage mit Wasser gespült und nach Medikation der Tiere mit Tetracyclinen wird dem Wasser Ameisensäure zugesetzt. Zwischen den Mastdurchgängen wird die Anlage mit Rohrreiniger auf Laugenbasis gereinigt.

In der Probe mit der Nummer **30** wurde **Enrofloxacin** nachgewiesen:

A-Probe: 10 µg/l

B-Probe: 12 µg/l

In diesem Betrieb wurde im Jahr 2001 von Brunnenwasser auf Stadtwasser umgestellt und gleichzeitig wurden die Rohrleitungen erneuert. Das damals eingesetzte Brunnenwasser wies hohe Eisengehalte auf und der pH-Wert betrug 4,7. Die durch die hohen Eisengehalte bedingten braunen Ablagerungen waren noch zum Zeitpunkt der Betriebsbegehung sichtbar.

Die Plasson-Rundtränken sind 19 Jahre alt und die Wasserleitungen aus PE. Während eines Mastdurchgangs wird die Anlage mit Wasser gespült und es wird Benzalkoniumchlorid eingesetzt. Zwischen den Mastdurchgängen wird eine Reinigung mit Wasserstoffperoxyd durchgeführt.

4.3 Ergebnisse der Untersuchung der Wasserproben durch das Institut für Bedarfsgegenstände in Lüneburg

Um die Qualität des Tränkewassers beurteilen zu können, wurden die Grenzwerte der Trinkwasser-Verordnung herangezogen. In Zusammenarbeit mit dem Institut für Bedarfsgegenstände des LAVES in Lüneburg wurde die Untersuchung der Wasserproben aus dieser Feldstudie auf neun Parameter aus der Trinkwasser-Verordnung festgelegt.

Tab. 20: Auszug aus der Trinkwasser-Verordnung

pH	Mg mg/l	Ca mg/l	Mn mg/l	Fe mg/l	Nitrat mg/l	Nitrit mg/l	Sulfat mg/l	Leitfähigkeit µS/cm
6,5 – 9,5	30	400	0,05	0,2	50	0,1	240	100 – 1.000

Tab. 21: Wasserinhaltsstoffe der Proben, die in Putenmastbetrieben entnommen wurden

Stadtwasser									
Probennummer	pH	Mg mg/l	Ca mg/l	Mn mg/l	Fe mg/l	Nitrat mg/l	Nitrit mg/l	Sulfat mg/l	LF* µS/cm
01	8,5	3,5	34,1	<0,001	<0,003	10	<0,02	31	238
09	7,8	3,9	39	<0,002	<0,003	10,4	<0,02	33	269
12	7,7	3,9	36,5	<0,002	<0,02	11,1	<0,02	32,6	272
26	7,1	1,9	30,9	<0,002	0,04	<0,3	<0,02	16	158
27	7,3	1,9	30,0	<0,002	<0,02	<0,3	<0,02	16	180
29	7,6	4,8	36,8	0,007	0,06	1,3	<0,02	36	288
30	7,5	2,0	34,5	<0,005	0,16	<0,3	0,03	16	179
Brunnenwasser									
Probennummer	pH	Mg mg/l	Ca mg/l	Mn mg/l	Fe mg/l	Nitrat mg/l	Nitrit mg/l	Sulfat mg/l	LF* µS/cm
03	7,3	9,0	35,6	0,005	0,02	126	<0,02	46	362
05	4,4	1,6	8,5	0,052	0,12	73	0,02	28	272
07	7,4	8,8	66,4	0,006	0,49	<0,3	<0,02	65	510
08	4,4	1,7	8,2	0,05	0,10	71	<0,02	28	271
18	6,6	7,5	46,5	0,008	0,029	51	<0,02	42	293
19	6,5	7,9	49,5	0,006	0,018	62	<0,02	55	373
20	6,3	2,2	21,0	0,058	5,87	<0,3	<0,02	40	242
21	6,4	16,1	53,9	0,077	0,010	43	<0,02	72	416
Trinkwasser-Verordnung									
	pH	Mg mg/l	Ca mg/l	Mn mg/l	Fe mg/l	Nitrat mg/l	Nitrit mg/l	Sulfat mg/l	LF* µS/cm
	6,5 - 9,5	30	400	0,05	0,2	50	0,1	240	100- 1.000

* LF = elektrische Leitfähigkeit

Tab. 22: Wasserinhaltsstoffe der Proben, die in Hähnchenmastbetrieben entnommen wurden

Stadtwasser									
Probennummer	pH	Mg mg/l	Ca mg/l	Mn mg/l	Fe mg/l	Nitrat mg/l	Nitrit mg/l	Sulfat mg/l	LF* µS/cm
02	5,44	1,9	51	0,005	0,31	1,9	<0,02	77	442
04	7,73	6,1	21	0,003	0,22	0,5	<0,02	30	269
06	7,5	4,6	90,9	<0,005	0,02	<0,3	<0,02	111	539
10	8,3	4,5	37,0	<0,005	0,06	8,3	<0,02	37,7	316
11	8,0	4,0	38,2	<0,005	0,11	8,3	<0,02	37,8	315
13	7,3	3,2	24,1	<0,002	0,03	3,6	<0,02	23,6	201
14	7,4	3,4	24,5	<0,002	0,005	4,2	<0,02	24,7	201
15	7,8	4,4	41,2	<0,002	<0,02	1,7	<0,02	33,3	287
16	7,9	2,3	31,7	<0,013	0,006	<1,9	<0,02	33	285
17	7,7	3,4	36,5	<0,0004	0,004	<1,9	<0,02	31	245
22	8,1	3,0	28,1	0,018	0,070	9,8	<0,02	19	195
23	8,4	2,2	23,4	<0,002	<0,006	4,9	<0,02	12	130
25	7,9	6,9	22,2	<0,002	<0,02	0,6	<0,02	29	211
28	7,8	5,0	19,2	<0,002	0,028	0,7	<0,02	39	195
Brunnenwasser									
Probennummer	pH	Mg mg/l	Ca mg/l	Mn mg/l	Fe mg/l	Nitrat mg/l	Nitrit mg/l	Sulfat mg/l	LF* µS/cm
24	5,9	11,4	25,8	0,06	<0,006	69	<0,052	37	453
Trinkwasser-Verordnung									
	pH	Mg mg/l	Ca mg/l	Mn mg/l	Fe mg/l	Nitrat mg/l	Nitrit mg/l	Sulfat mg/l	LF* µS/cm
	6,5 – 9,5	30	400	0,05	0,2	50	0,1	240	100 – 1.000

* LF = elektrische Leitfähigkeit

Abweichungen von den Grenzwerten der Trinkwasser-Verordnung konnten in insgesamt acht Fällen ermittelt werden. In allen Fällen handelte es sich um Brunnenwasser.

Tab. 23: Von den Grenzwerten der Trinkwasser-Verordnung abweichende Wasserqualitäten (fett gedruckt)

Proben- nummer	pH	Mangan mg/l	Eisen mg/l	Nitrat mg/l
03	7,3	0,005	0,02	126
05	4,4	0,052	0,12	73
07	7,4	0,006	0,49	<0,3
08	4,4	0,05	0,10	71
19	6,5	0,006	0,018	62
20	6,3	0,058	5,87	<0,3
21	6,4	0,077	0,010	43
24	5,9	0,06	<0,006	69
Trinkwasser- Verordnung	6,5 – 9,5	0,05	0,2	50

4.4 Ergebnisse des Modellversuches

Tab. 24: Ergebnisse aus Versuch I

	PVC- Rohr Oxytetracyclin* µg/l	Verschleppung %	PE-Rohr Oxytetracyclin* µg/l	Verschleppung %
Wasser 1	402,2	0,048	72,4	0,009
Wasser 2	33,5	0,004	12,8	0,002
Wasser 3	9	0,001	6,5	0,001
<i>Zitronensäure 1</i>	412,3	0,05	7892,3	0,951
<i>Zitronensäure 2</i>	7	0,001	41,5	0,005
<i>Zitronensäure 3</i>	1,4	< 0,001	7,2	0,001
Salstop®-Vital 1	255,3	0,031	1373,8	0,166
Salstop®-Vital 2	7	0,001	3,6	< 0,001
Salstop®-Vital 3	0,6	< 0,001	3,9	< 0,001
<i>Ameisensäure 1</i>	527,9	0,064	7661,2	0,923
<i>Ameisensäure 2</i>	3,4	< 0,001	24,8	0,003
<i>Ameisensäure 3</i>	0,8	< 0,001	14,3	0,002

* Die Nachweisgrenze für Oxytetracyclin betrug 0,05 µg/l.

Tab. 25: Ergebnisse aus Versuch II

	PVC-Rohr Oxytetracyclin* µg/l	Verschleppung %	PE-Rohr Oxytetracyclin* µg/l	Verschleppung %
Wasser 1	261,9	0,032	6770,5	0,861
Wasser 2	11,8	0,001	63,3	0,008
Wasser 3	2,7	< 0,001	21,5	0,003
<i>Zitronensäure 1</i>	43,3	0,005	5123,4	0,617
<i>Zitronensäure 2</i>	14,4	0,002	18,2	0,002
<i>Zitronensäure 3</i>	1,9	< 0,001	14,3	0,002
Salstop®-Vital 1	130,3	0,016	3890,7	0,469
Salstop®-Vital 2	5,8	0,001	10,4	0,001
Salstop®-Vital 3	1,3	< 0,001	8,1	0,001
<i>Ameisensäure 1</i>	204,4	0,025	6408,1	0,772
<i>Ameisensäure 2</i>	6,7	0,001	20,1	0,002
<i>Ameisensäure 3</i>	1,3	< 0,001	7,1	0,001

* Die Nachweisgrenze für Oxytetracyclin betrug 0,05 µg/l.

Tab. 26: Ergebnisse aus Versuch III

	PVC-Rohr Oxytetracyclin* µg/l	Verschleppung %	PE-Rohr Oxytetracyclin* µg/l	Verschleppung %
Wasser 1	697,8	0,084	980,1	0,118
Wasser 2	9,2	0,001	18,5	0,002
Wasser 3	4,4	0,001	9,2	0,001
<i>Zitronensäure 1</i>	148,4	0,018	706,4	0,085
<i>Zitronensäure 2</i>	4,6	0,001	15,1	0,002
<i>Zitronensäure 3</i>	1,2	< 0,001	10,1	0,001
Salstop®-Vital 1	397,9	0,048	556,4	0,067
Salstop®-Vital 2	2,2	< 0,001	8,6	0,001
Salstop®-Vital 3	0,8	< 0,001	3,2	< 0,001
<i>Ameisensäure 1</i>	192,4	0,023	483,1	0,058
<i>Ameisensäure 2</i>	5,5	0,001	7,9	0,001
<i>Ameisensäure 3</i>	0,8	< 0,001	2,8	< 0,001

* Die Nachweisgrenze für Oxytetracyclin betrug 0,05 µg/l.

5 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden im Rahmen eines Feldversuches Wasserproben aus Tränkeanlagen aus Broiler- und Putenmastställen entnommen und zum einen auf die Wasserqualität unter Zugrundelegung der Trinkwasserverordnung als Referenz und zum anderen auf das Vorhandensein antimikrobiell wirksamer Substanzen untersucht.

Die Untersuchungen bezüglich der Wasserqualität ergaben in acht Fällen Abweichungen von den Grenzwerten der Trinkwasser-Verordnung (vgl. **Tab. 23**). Es handelte sich hierbei ausschließlich um Proben von Brunnenwasser.

In 2 Fällen war der Nitratgehalt zu hoch, in einem Fall war der Mangangehalt zu hoch, in einem Fall waren der Mangan- und der Eisengehalt zu hoch, in zwei Fällen waren der pH-Wert zu niedrig und der Mangan- sowie der Nitratgehalt zu hoch, in einem Fall war nur der Eisengehalt zu hoch und in einem Fall war der pH-Wert zu niedrig und der Nitratgehalt zu hoch.

Die Proben, an denen die Wasserqualität geprüft wurde, stammten aus den die Ställe versorgenden Wasserleitungen vor Eintritt in die Tränkeanlage. Die Untersuchung wurde im Institut für Bedarfsgegenstände in Lüneburg durchgeführt.

Die Untersuchungen bezüglich des Vorhandenseins antimikrobiell wirksamer Substanzen in den Wasserproben ergaben zwei positive Befunde.

In einem Fall wurde Oxytetracyclin in einer Konzentration von 448 µg/l in der A-Probe und 427 µg/l in der B-Probe ermittelt.

In einem zweiten Fall wurde Enrofloxacin in einer Konzentration von 10 µg/l in der A-Probe und 12 µg/l in der B-Probe ermittelt.

Die Proben, die auf antimikrobiell wirksame Substanzen untersucht stammten, wurden direkt aus den Tränkeleitungen und zwar aus Bereichen, die den Tieren vor der Ausstellung tatsächlich zugänglich waren. Die Untersuchungen wurden mittels Drei-Platten-Hemmstofftest im Veterinärinstitut Hannover durchgeführt.

In einem zweiten Schritt wurde im Institut für chemische Analytik der Zentrumsabteilung Lebensmitteltoxikologie der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover eine Modell-

Tränkeanlage aufgebaut, um zu überprüfen, inwieweit organische Säuren in der Lage sind, über das Tränkewasser zu verabreichende Tierarzneimittel aus den Leitungen herauszulösen.

Hier kann als Ergebnis festgehalten werden, dass PVC-Rohrleitungen besser zu reinigen sind als Rohrleitungen aus PE.

Das Risiko der Verschleppung von Arzneimitteln mit antimikrobieller Wirksamkeit ist ein komplexes Problem für Tierhalter, für Tierärzte in Bezug auf Wartezeitregelungen und für den Verbraucher im Bezug auf Resistenzbildungen.

Im Rahmen der Geflügelmast kann es vorkommen, dass den Tieren, unter dem Einfluss verschiedener Faktoren, während eines Mastdurchgangs verschiedene Tierarzneimittel mit antimikrobieller Wirksamkeit verabreicht werden.

Beispielsweise muss bei Anwendung von Tetracyklinen bedacht werden, dass ein potentieller Antagonismus mit bakterizid wirksamen Antibiotika (z.B. Aminoglykoside, Polypeptide und Fluorchinolonen) besteht. Daneben kann es zur Komplexbildung mit zweiwertigen Kationen (Calcium, Magnesium, Eisen) und damit verbundener verminderter Resorptionsfähigkeit kommen (Goronczy und Piontkowski, 1999; Löscher et al. 2003).

Die antibakterielle Wirkung von Colistin wird durch zweiwertige Kationen, wie Eisen, Calcium und Magnesium antagonisiert. Mit Ampicillin ist Colistin chemisch-physikalisch inkompatibel (Frey und Löscher, 2001).

Auf der anderen Seite sind verschiedene Arzneimittel geeignet, sich unter bestimmten Bedingungen in den Tränkeleitungen abzulagern. Abgelagerte Substanzen können allerdings zu einem späteren Zeitpunkt erneut in Lösung gehen, verschleppt werden und letztendlich von den Tieren aufgenommen werden, wenn auch in geringen Mengen.

5.1 Diskussion der Ergebnisse des Feldversuches

Im Rahmen des Feldversuches wurden 23 Betriebe, von denen zehn jeweils zwei räumlich getrennte Betriebseinheiten aufwiesen, so dass insgesamt 33 Ställe bzw. Betriebseinheiten erfasst werden konnten. Dabei handelte es sich um 12 Putenmastbetriebe und 11 Hähnchenmastbetriebe.

Die Fragebögen wurden zum größten Teil vollständig ausgefüllt. Die Auswertung ergab, dass in 70% der Ställe die Tiere mit Stadtwasser und in 30% der Ställe die Tiere mit Brunnenwasser getränkt wurden.

Stadtwasser hat Trinkwasserqualität und wird bezüglich seiner Inhaltsstoffe sowie des mikrobiologischen Status mindestens einmal jährlich entsprechend den Vorgaben der Trinkwasserverordnung überprüft.

Brunnenwasser dagegen unterliegt keiner amtlichen Überwachung. Die Überprüfung der qualitativen Beschaffenheit muss vom Besitzer und Nutzer des Brunnens eigenverantwortlich veranlasst werden.

Anhand des Fragebogens berichteten zwei Landwirte von hohen Eisengehalten des verwendeten Brunnenwassers. Ein Landwirt tauschte seine Rohrleitungen parallel zur Umstellung auf Stadtwasser aus, da Anschlüsse des Leitungssystems „verschlammt“ und dadurch nicht mehr ausreichend durchgängig waren. Die Rundtränken waren nicht ausgetauscht worden und wiesen noch vier Jahre nach der Umstellung braune Ablagerungen auf, die manuell nicht zu entfernen waren.

Laut Angaben der an dieser Untersuchung beteiligten Landwirte wird das Tränkewasser nahezu regelmäßig mit organischen Säuren versetzt, um die Darmflora der Tiere positiv zu beeinflussen. Geworben wird von den Herstellern mit vorbeugenden Effekten bezüglich mikrobiell bedingter Darmerkrankungen.

Rechtlich können organische Säuren als Futtermittelzusatzstoffe mit konservierender Wirkung eingeordnet werden. Entsprechend der Verordnung (EG) 1831/2003 sind „Futtermittelzusatzstoffe Stoffe, Mikroorganismen oder Zubereitungen, die keine Futtermittel-Ausgangserzeugnisse oder Vormischungen sind und bewusst Futtermitteln oder Wasser zugesetzt werden, um gemäß Artikel 5 die Tierproduktion, die Leistung oder das

Wohlbefinden der Tiere, insbesondere durch Einwirkung auf die Magen- und Darmflora oder die Verdaulichkeit der Futtermittel, positiv zu beeinflussen.“

Als weitere Indikation für den Einsatz organischer Säuren gilt die Reinigung der Tränkleitungen nach Tränkewassermedikation, insbesondere nach Einsatz von Tetracyklinen. Durch die Senkung des pH-Wertes kommt es zu einer Verbesserung der Löslichkeit der Tetracycline. Im Falle von Oxytetracyclin ergeben sich günstige Effekte bezüglich des zu erreichenden Wirkstoffspiegels nach Zusatz von Zitronensäure (Kamphues, 1996).

In der Praxis kommen vornehmlich Ameisen- und Zitronensäure sowie Säuregemische, welche ebenfalls zu hohen Teilen Ameisen- und/oder Zitronensäure, auch Essigsäure, Milchsäure und andere Säuren enthalten, zum Einsatz.

Durch den Zusatz von Arzneimitteln zum Tränkewasser kann es zu Geschmacksbeeinträchtigungen kommen, was verminderte Wasser- und in der Folge auch verminderte Futteraufnahme zur Folge haben kann. Dies führt in der Konsequenz zu verminderten Gewichtszunahmen.

Um einer verminderten Akzeptanz entgegenzuwirken, wird dem medikierten Tränkewasser häufig Zucker zugesetzt (Bleyl, 2004). Das wiederum kann die Wachstumsbedingungen für Algen und Bakterien verbessern. Algenwachstum an den inneren Oberflächen der Rohrleitungen bietet seinerseits Adsorptionsstellen für schwerlösliche Arzneimittel, so dass hieraus ein erhöhtes Risiko von Verschleppungen resultieren kann.

Durch einige Vermarktungsfirmen von Hähnchenfleisch und Hähnchenfleischprodukten wird mit dem Verzicht der Anwendung von Tetracyklinen während der Mast geworben, was die Sicherheit der Produkte hinsichtlich möglicher Rückstände unterstreichen soll. In der Putenmast kann dagegen kaum auf die Anwendung von Tetracyklinen verzichtet werden, da für diese Tierart zur Behandlung von Infektionen mit Chlamydien, Rickettsien und Mycoplasmen keine wirksamen Alternativen zur Verfügung stehen. Alternative Wirkstoffe könnten ausschließlich durch Umwidmung angewendet werden. Solange jedoch mit Ursocyclin® ein wirksames Präparat zur Verfügung steht, wird die Umwidmung eines anderen Präparates nicht möglich sein.

Im Bereich der Hähnchenmast wird in der Regel mit Nippeltränken und im Bereich der Putenmast vornehmlich mit Rundtränken gearbeitet (siehe Antworten auf Frage 1 des Fragebogens).

Die Tränkesysteme mit Nippeltränken werden häufig mit den Tränkeleitungen installationsfertig abgegeben, während bei den Rundtränken gewisse Freiräume bezüglich der Materialauswahl sowie der Installation der Tränkeleitungen für den Tierhalter bestehen.

Bei den Nippeltränken finden sich als Materialien PVC und Edelstahl (siehe Antworten auf Frage 2 des Fragebogens). Die Tränkeleitungen bestehen aus PVC, ebenso die „Aufhängungen“ der Tränkenippel. Die Tränkenippel, bestehend aus einem Gehäuse und einem darin vertikal aufgehängten Stift, sind aus Edelstahl gefertigt.

Edelstahl gilt als äußerst stabil und korrosionsbeständig, so dass ein jahrelanger Einsatz dieses Materials möglich ist. Aufgrund der Korrosionsbeständigkeit kommt es in diesen Bereichen nicht zu Veränderungen der inneren Oberflächen, was dazu führt, dass nachteilige Beeinflussungen des Lösungsmittels Wasser nicht stattfinden können. Auch eine Ablagerung von Keimen, Algen oder Arzneimitteln an diesen glatten Oberflächen ist kaum möglich.

Die Rundtränken-Systeme bestehen im Bereich der Rundtränken aus PVC, während die Tränkeleitungen selbst entweder aus PVC oder aber aus PE bestehen (siehe Antworten auf Frage 2 des Fragebogens).

Festzuhalten ist also, dass im Rahmen der Broiler- und Putenmast die Tiere zum Teil mit Stadtwater aber auch mit Brunnenwater getränkt werden. Als Materialien für Tränkeanlagen finden sich in der Hauptsache PVC, PE und Edelstahl. Der nahezu regelmäßige Zusatz von organischen Säuren zum Tränkewater wird begründet mit der positiven Wirkung, die diese Säuren auf die Darmflora der Tiere ausüben. Im Bereich der Putenmast kann auf den Einsatz von Oxytetracyclin fast nicht verzichtet werden.

5.2 Diskussion der Ergebnisse des Modellversuches

In einem Pilotversuch wurde eine Modell-Tränkeanlage aufgebaut und die Reinigungswirkung verschiedener organischer Säuren in einer PVC- sowie einer PE-Wasserleitung bei Einsatz von Ursocyclin® verglichen.

5.2.1 PE-Rohrleitung

Während nach Wasserspülung des PE-Rohres eine Konzentration von 72,4 µg/l Oxytetracyclin in der Spülflüssigkeit ermittelt wurde, betrug die Konzentration des Wirkstoffes in der Spülflüssigkeit nach der Spülung mit Zitronensäure 7.892,3 µg/l.

Eine mögliche Erklärung für diese Werte ist eine nicht ausreichende Reinigung der Rohrleitung auch durch mehrmalige Wasserspülungen, so dass in den zweiten Versuchsdurchlauf, der eine Spülung mit Zitronensäure, Arzneimittelreste aus dem vorherigen Spülvorgang mit Wasser eingeflossen sind.

Vergleichbare Werte diesbezüglich finden sich im ersten Versuchsdurchlauf bei dem PVC-Rohr nicht, was den vorläufigen Schluss zulässt, dass das PVC-Rohr schneller und leichter zu reinigen ist als das PE-Rohr.

Um eine solche Verschleppung von einem Versuchsdurchlauf in den nächsten zu verhindern, wurden in den nachfolgenden Versuchen die Rohrleitungen mit einem Gemisch aus Zitronensäure und Ameisensäure, jeweils anteilig entsprechend der zuvor berechneten Dosierung, vorgespült.

Man erkennt zwar im Verlauf der jeweils durchgeführten drei Spülungen, in der Reihenfolge Säure, Wasser, Wasser einen deutlichen Abfall in der Konzentration des Arzneimittels in den Spülproben, allerdings lassen sich in Versuch I mit dem PE-Rohr noch Spuren von Oxytetracyclin im Bereich von 3,9 µg/l bei dem Säuregemisch und bei der Ameisensäure noch Reste im Bereich von 14,3 µg/l nachweisen. In diesem „Modellversuchs-Tränkewasser“ sind demnach Arzneimittel-Rückstände als Verschleppungen nachweisbar.

Auf der anderen Seite sind sowohl die Zitronensäure als auch die Ameisensäure in der Lage, bereits nach der ersten Spülung des PE-Rohres die größten Mengen Oxytetracyclin aus der Anlage auszuspülen, nämlich 7.892,3 µg/l bzw. 7.661,2 µg/l.

Dieses Ergebnis wird durch die ermittelten Verschleppungskonzentrationen, berechnet in % an der eingesetzten Arzneimittelmenge, bestätigt.

Bereits im ersten Versuchsdurchlauf bewegen sich die Verschleppungswerte unter 1 %.

Der zweite Versuchsdurchlauf mit dem PE-Rohr ergibt im Vergleich zum ersten ein gleichmäßigeres Ergebnis, doch auch hier zeigt sich die tendenzielle Überlegenheit der Ameisensäure dahingehend, dass nach der dritten Spülung die geringsten Arzneimittelkonzentrationen in der Spülflüssigkeit (7,1 µg/l) nachweisbar waren. Die Verschleppung sinkt jetzt auf Werte von 0,001 %.

Der dritte Versuchsdurchlauf bestätigt die Ergebnisse der ersten beiden, wobei jetzt nach der dritten Spülung Werte von 2,8 µg/l nach Einsatz von Ameisensäure gemessen werden und die Verschleppung somit auf einen Wert von < 0,001 % zurückgeht.

5.2.2 PVC-Rohrleitung

Der erste Versuchsdurchlauf mit dem PVC-Rohr zeigt im Vergleich zu der PE-Rohrleitung deutlich einheitlichere Ergebnisse bezüglich der Konzentrationen des Arzneimittels in den Wasserproben.

Die Ameisensäure spült hier die größte Menge an Arzneimittel aus der Rohrleitung heraus (527,9 µg/l), wohingegen nach der letzten Spülung nur noch Spuren (0,8 µg/l) nachweisbar sind.

Im zweiten Versuchsdurchgang wird das Ergebnis des ersten, dass dieses Material scheinbar besser und schneller zu reinigen ist bestätigt, da hier nach der dritten Spülung nach Einsatz von Säuregemisch und Ameisensäure nur noch 1,3 µg/l zu ermitteln sind. Die Verschleppung geht hier nach der dritten Spülung auf < 0,001 % zurück.

Auch hier bestätigt das Ergebnis des dritten Versuchsdurchganges die Ergebnisse der ersten beiden, da nach der dritten Spülung sowohl mit dem Säuregemisch als auch mit der Ameisensäure Konzentration von 0,8 µg/l in der Probe nachweisbar sind und die Verschleppung einen Wert von < 0,001% aufweist.

5.2.3 Bedeutung des Modellversuches für die Praxis

Die Ergebnisse des Modellversuches sind nicht direkt auf die Praxis übertragbar, da verschiedene Faktoren im Labor nicht berücksichtigt werden konnten. Zu nennen wäre hier der Wasserdruck, der im Stall durch Wasserpumpen, den Durchmesser sowie die Länge der Rohrleitungen aufgebaut wird. Dies kann mit einer fünf Meter langen Rohrleitung mit einem Gefälle von ca. 20% nicht entsprechend nachgestellt werden.

Auch die regelmäßige Entnahme von Wasser aus den Leitungen durch trinkende Tiere kann schwerlich nachgestellt werden. Dass mit Arzneimittel versetztes Wasser eine Stunde lang in einer Tränkeleitung steht, kommt so in der Praxis in der Regel nicht vor.

In dem durchgeführten Versuch wurde somit eine Extremsituation dargestellt, die einerseits erste Hinweise auf die Materialeigenschaften der in der Praxis eingesetzten Rohrleitungssysteme erbrachte und andererseits die Reinigungswirkung der in der Praxis verwendeten organischen Säuren zeigte.

5.3 Schlussfolgerungen

Aus den Ergebnissen des Feldversuches geht hervor, dass fünf von 23 Landwirten ihre Tiere mit Brunnenwasser tränken. Von den insgesamt neun untersuchten Proben Brunnenwasser kam es bei acht Proben zu Abweichungen von den Referenzwerten der Trinkwasserverordnung.

Besonders erhöhte Gehalte an Eisen und Mangan können Verschleppungen insofern Vorschub leisten, als diese beiden Substanzen zu Veränderungen der inneren Oberflächen der Tränkeleitungen führen können. Auch Verschlammungen von Anschlüssen (als Wasser führende Bestandteile der Tränkeanlage) sind möglich (siehe Antwort auf Frage 13 des Fragebogens aus dem Feldversuch).

Das wiederum kann Ablagerungen von schwerlöslichen Arzneimittelbestandteilen, sowie das Wachstum von unerwünschten Keimen und Algen begünstigen.

Nach dieser Untersuchung kann die Empfehlung ausgesprochen werden, in der Geflügelmast Wasser von Trinkwasserqualität zu verwenden.

Diese Ergebnisse machen deutlich, dass im Bezug auf die Anwendung von Tetrazyklinen einfache Maßnahmen ergriffen werden können, um das Risiko von Verschleppungen deutlich zu senken.

Die wichtigste Maßnahme bezieht sich auf das Material der Tränkeleitungen und aller anderen Wasser führenden Teile der Tränkeanlage. Es sollten nur solche Materialien verwendet werden, die möglichst schnell und gründlich zu reinigen sind, wie beispielsweise bestimmte Polyvinylchloride (PVC). Diese sollten den DIN-Normen für die Trinkwasserzulassung (Beiblatt 1 zu DIN 8061) entsprechen und somit eine geprüfte chemische Widerstandsfähigkeit gegenüber Wasserinhaltsstoffen sowie Säuren und Laugen aufweisen.

Chemische Widerstandsfähigkeit bedeutet, dass das Material der Wasserleitungen die Qualität des Wassers bzw. aller relevanten Durchflusstoffe nicht beeinträchtigt. Das PVC-Rohr, das in dem Modellversuch eingesetzt wurde, war gemäß der DIN-Nummer 8061/63 gefertigt.

Die Verwendung von Polyethylen (PE) kann, bezogen auf die Ergebnisse des Modellversuches, als zumindest nicht unkritisch bezüglich der Eignung als Material für eine Tränkeleitung betrachtet werden.

Hinsichtlich der Reinigungswirkung der in der Praxis eingesetzten organischen Säuren lassen sich keine eindeutigen Unterschiede feststellen, wobei allerdings Ameisensäure im Vergleich zu Zitronensäure die tendenziell bessere Wirksamkeit aufweist.

Aus den Untersuchungen lassen sich folgende Schlussfolgerungen ziehen:

1. die Verwendung von Wasser, das Trinkwasserqualität aufweist scheint geeignet, das Risiko von Arzneimittelverschleppungen zu verhindern.
2. PVC lässt sich schneller und gründlicher reinigen bzw. von Arzneimittelrückständen befreien als PE.
3. Säuren können Oxytetracyclin besser aus Wasserleitungen lösen als Wasser.

5.4 Perspektiven

Die aus der vorgestellten Pilotstudie gewonnenen Erkenntnisse sind als vorläufig zu betrachten.

Sicherlich wäre es von Vorteil, wenn weitere Untersuchungen in diesem Bereich durchgeführt würden. So könnten beispielsweise Feldstudien in der Praxis durchgeführt werden, in deren Rahmen Reinigungsversuche während des Mastdurchganges wichtige zusätzliche Ergebnisse liefern könnten. Auch die Einflüsse des Wasserdruckes sowie möglicherweise wechselnder Temperaturen könnten so in die Ergebnisse einfließen, woraus sich eine stärkere Praxisnähe ergäbe.

Sinnvoll wäre ebenso die Versuchsdurchführung mit weiteren Arzneimittelwirkstoffen, um das Problem von Arzneimittelverschleppungen umfassender betrachten und beurteilen zu können.

6 Zusammenfassung

Britta Kogelheide

Tränkeanlagen in Broiler- und Putenmastbetrieben

- Eine Untersuchung der Verschleppungsproblematik von Oxytetracyclin -

Mit dieser Untersuchung sollte herausgefunden werden, ob derzeit in konventionell geführten Broiler- und Putenmastbetrieben ein Problem mit verschleppten Arzneimitteln im Bereich der Tränkeanlagen besteht. Um eine Abschätzung eines möglicherweise vorhandenen Risikos vornehmen zu können, wurden im Rahmen eines Feldversuches Wasserproben aus Tränkeanlagen in Geflügelmastbetrieben entnommen und auf eventuell vorhandene Hemmstoffe hin untersucht.

Die Tränkewasserproben wurden zunächst einem Dreiplatten-Hemmstofftest unterzogen und bei positivem Ergebnis wurde mittels HPLC-MS-MS eine Identifizierung und Quantifizierung der antimikrobiell wirksamen Substanzen vorgenommen. Parallel wurden Wasserproben auf Inhaltsstoffe gemäß der Trinkwasserverordnung hin untersucht die geeignet sind, Verschleppungen von Arzneimitteln in Tränkeanlagen Vorschub zu leisten.

Um eine Bewertung der Untersuchungsergebnisse vornehmen zu können, wurden von Tierhaltern mittels Fragebogen Informationen zu den Tränkeanlagen, den Arzneimitteln sowie der Wasserqualität eingeholt.

Als Ergebnis dieses Feldversuches lässt sich unter bestimmten Bedingungen bei der Verabreichung von Arzneimitteln über das Tränkewasser ein Restrisiko von Verschleppungen in Tränkeanlagen ableiten, da zwei der Wasserproben aus den Tränkeleitungen im Hemmstofftest als positiv aufgefallen sind und die Substanzen Enrofloxacin und Oxytetracyclin, wenn auch in subtherapeutischen Mengen, nachgewiesen werden konnten.

Beide positiven Ergebnisse stammen aus Putenmastbetrieben. Einer der beiden Tierhalter trinkt seine Tiere mit Brunnenwasser, der andere trinkt seine Tiere seit nunmehr drei Jahren mit Stadtwasser, zuvor setzte auch er Brunnenwasser ein, welches ihm als stark eisenhaltig bekannt war.

Die Ergebnisse des Feldversuches erlauben eine gewisse Abschätzung der derzeitigen Verschleppungsproblematik. Möglichkeiten der Einflussnahme, die das Risiko von

Verschleppungen in der Praxis minimieren bzw. verhindern können, lassen sich aus diesen Ergebnissen jedoch noch nicht ableiten.

Um die in der Praxis als Tränkeleitungen verwendeten Kunststoffe Polyvinylchlorid (PVC) und Polyethylen (PE) sowie die Reinigungswirkung der in der Praxis eingesetzten organischen Säuren am Beispiel von Oxytetracyclin beurteilen zu können, wurde eine „Modell-Tränkeanlage“ aufgebaut. Auf diese Weise wurden Spülproben gewonnen und die enthaltenen Arzneimittelkonzentrationen mittels HPLC-MS-MS quantifiziert.

Anhand der Daten aus der Untersuchung der in diesem Modellversuch gewonnenen Spülproben kann eine vorläufige Beurteilung der Materialien als Tränkeleitungselemente vorgenommen werden.

1. In der Geflügelmast sollten die Tiere mit Wasser von Trinkwasserqualität getränkt werden. Wesentlich sind hier die kontrollierten Wasserinhaltsstoffe, wie beispielsweise Eisen und Mangan, welche mit verschiedenen antimikrobiell wirksamen Substanzen, wie zum Beispiel Tetracyclinen, komplexieren können, woraus sich ein erhöhtes Verschleppungsrisiko ergeben kann.
2. Wird in der Tierhaltung mit Wasser von Trinkwasserqualität getränkt, sollten auch alle Materialien, die mit diesem Wasser in Kontakt kommen, für den Trinkwassereinsatz zugelassen sein. Eine solche Zulassung setzt bei dem verwendeten Material eine hohe chemische Beständigkeit gegenüber Wasser und organischen Säuren voraus.
3. Die Materialeigenschaften von PVC sind insofern als günstiger zu beurteilen, da es kaum zu Adsorption des Arzneimittels kommt, wodurch eine schnellere und gründlichere Reinigung ermöglicht wird. Das PE ist in diesem Zusammenhang als ungünstiger zu bewerten, da es zu Adsorption an der inneren Oberfläche des Materials kommt. Auch aufgrund der, im Vergleich zum PVC, höheren Elastizität des PE, besteht bei der Installation dieses Materials als Leitung im Stall die Gefahr, dass Senken entstehen, in denen es zu stehendem Wasser sowie zum Absetzen von Arzneimitteln kommen kann.

7 Summary

Britta Kogelheide

Broiler and turkey drinking systems

- A study of oxytetracycline carry-over -

The aim of this study was to establish whether antibiotic residues constitute a problem in broiler and turkey drinking systems.

A risk-assessment field study was conducted. Water samples from the drinking systems were subjected to a three-plate microbial inhibition test. Positive samples were subjected to HPLC-MS-MS for identification and quantification of the antibiotics in question. Water samples were also tested for any contents, which would facilitate the occurrence of pharmaceutical residues in drinking systems.

The results of the field study were assessed on the basis of a questionnaire completed by the farmers providing information on the drinking systems, pharmaceuticals used and water quality.

The results of this field study indicate that there is a slight risk of antibiotic residues as two of the water samples from the drinking systems gave positive inhibition test results. The antibiotics enrofloxacin and oxytetracyclin were found, although in subtherapeutic doses. Both positive results came from turkey farms. One of these two farmers gave his turkey well water, the other drinking (tap) water. The latter farmer had been using drinking water for three years but previously used well water, which was known to contain high amounts of iron.

However, our results did not give any indication of how the risk of antibiotic residues could be minimized or prevented in practice.

We therefore constructed an experimental model drinking system for the collection of rinsewater samples. We placed oxytetracycline and water and organic acids used in practice in the water of this drinking system.

The aim of this model experiment was to compare the synthetic polyvinylchloride (PVC) and polyethylene (PE), which are used in the pipes of drinking systems and to establish the effectiveness of the cleaning of the pipes following the application of antibiotics via the water in the drinking systems.

The results of the analysis of the rinsewater samples from this model experiment permit preliminary assessment of the materials used as elements of the drinking systems.

1. Farmed chicken and turkey should be given drinking water because food is being produced for human consumption. The essential properties of this water in comparison to well water are that its contents are safe and controlled for example in regard to iron and manganese and microbial levels. Bacterial pollution of water can have a negative effect on animals health necessitating the use of pharmaceuticals. Iron and manganese can bind with some pharmaceuticals, thus increasing the risk of residues.
2. When drinking water is used in poultry husbandry, all material, which comes into contact with this, must also be approved for use with drinking water. Such approval also requires a high chemical stability, so that there is no long-term negative influence on the water by inappropriate materials. Chemical stability more precisely, resilience towards detergents, plays a major role as those substances can negatively influence material properties.
3. PVC is more suitable than PE, as scarcely any adsorption of pharmaceuticals occurs with the former, which allows faster and more thorough cleaning. PE is less suitable, as adsorption takes place on the inner surface of this material. Furthermore, PE is more elastic than PVC, so there is also the danger that PE pipeline may sag. This in turn can lead to the collection of stagnant water, where antibiotic sedimentation can occur.

8 Schrifttumsverzeichnis

ARBEITSGEMEINSCHAFT DER LEITENDEN VETERINÄRBEAMTEN

(ArgeVET) (2000)

Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antimikrobiell wirksamen Tierarzneimitteln

BEIBLATT 1 ZU DIN 8061

Rohre aus weichmacherfreiem Polyvinylchlorid

Chemische Widerstandsfähigkeit von Rohren und Rohrleitungsteilen aus PVC-U

Normenausschuss für Kunststoffe (FNK) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V.

Februar 1984

BERK, J. (2004)

Faustzahlen zur Haltung von Mastgeflügel

in: Jahrbuch für die Geflügelwirtschaft 2004

Verlag Ulmer, Stuttgart, 113 - 123

BLEYL, D. W. R. (2004)

Einsatz der Tränkwassermedikation: Vorteile und Risiken

Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle (BbT) 11, 47 - 52

BLEYL, D. W. R. und U. ROHWEDER (2005)

Arzneimittel – ubiquitäre Umweltchemikalien

Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle (BbT) 12, 197 - 206

BOTTERMANN, H. (1994)

Rechtsverbund der Vorschriften über den Verkehr mit Tierarzneimitteln

Tierärztliche Umschau 49, 682 – 688

DAUGHTON, D.G. UND T. TERNES (1999)

Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtl change?
Environmental Health Perspectives 107, Suppl. 6, 907 - 938

FEDESA (European Federation of Animal Health) (1998)

Pressemitteilung vom 6. September 1998
Deutsches Tierärzteblatt 11, 1093

GORONCZY, P. und A. PIONTKOWSKI (1999)

Zur Beurteilung von Fütterungsarzneimitteln aus mehreren Arzneimittel-Vormischungen
Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle (BbT) 6, 73 - 79

GROTE, M., C. SCHWAKE-ANDUSCHUS, H. STEVENS, R. MICHEL, T. BETSCHE
und M. FREITAG (2006)

Antibiotika-Aufnahme von Nutzpflanzen aus Gülle-gedüngten Böden
– Ergebnisse eines Modellversuches
Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit 1, 38 - 50

GÜNDOGAN, N., A. DEVREN und S. CITAK (2006)

Incidence, protease activity and antibiotic resistance of *Escherichia coli* and *Serratia marcescens* isolated from meat, chicken and meatball samples
Archiv für Lebensmittelhygiene 57, 113 - 117

HAMSCHER, G., H.T. PAWELZICK, S. SCZESNY, H. NAU und J. HARTUNG (2003)

Antibiotics in Dust Originating from a Pig-Fattening-Farm - A New Source of Health Hazard
for Farmers?
Environmental Health Perspectives, 111, 1590 – 1594

HAMSCHER, G., S. SCZESNY, A. ABU-QUARE, H. HÖPER, und H. NAU (2000)
Stoffe mit pharmakologischer Wirkung einschließlich hormonell aktiver Substanzen in der
Umwelt: Nachweis von Tetracyclinen in güllegedüngten Böden
Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 107, 332 - 334

HAMSCHER, G., S. SCZESNY, H. HÖPER, und H. NAU (2002)
Determination of Persistent Tetracycline Residues in soil Fertilized with Liquid Manure
by High-Performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Tandem Mass
Spectrometry
Analytical Chemistry, 74, 1509 - 1518

JÜLICHER, B. (1992)
Tierarzneimittelrückstände und Lebensmittelüberwachung – Auswirkungen des EG-Rechts
Bundesgesundheitsblatt 6, 281 - 285

KAMPHUES, J. (1996)
Risiken bei der Medikierung von Futter und Wasser in Tierbeständen
Deutsche tierärztliche Wochenschrift 103, 250 - 256

KAMPHUES, J. und O. SIEGMANN (2005)
Tränkwasser
in: SIEGMANN, O. und U. NEUMANN (Hrsg.)
Kompendium der Geflügelkrankheiten
6. Auflage, Schlütersche Verlagsgesellschaft, 46 - 48

KARLSON, P., D. DOENECKE, G. FUCHS, J. KOOLMAN und G. SCHÄFER (1998)
Ernährung, Mineralhaushalt und Vitamine
in: KARLSON, P (Hrsg.):
Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler
13. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 35, 341 - 363

KELLY, M., J.A. TARBIN, H. ASHWIN und M. SHARMAN (2006)

Verification of compliance with organic meat production standards by detection of permitted and nonpermitted uses of veterinary medicines (tetracyclines antibiotics)

Journal of agricultural and food chemistry 54(4), 1523 - 1529

KENNEDY, D.G., A. CANNAVAN und R.J. MCCRACKEN (2000)

Regulatory problems caused by contamination, a frequently overlooked cause of veterinary drug residues

Journal of Chromatog. A., 882(1 – 2), 37 - 52

KIETZMANN, M., W. MARKUS, J. CHAVEZ und W. BOLLWAHN (1995)

Arzneimittelrückstände bei unbehandelten Schweinen

Deutsche tierärztliche Wochenschrift 102, 441 - 442

KIETZMANN, M. und H. LÜDERS (2005)

Therapie

in: SIEGMANN O. und U. NEUMANN (Hrsg.)

Kompendium der Geflügelkrankheiten

6. Auflage, Schlütersche Verlagsgesellschaft, 96 - 108

KROKER, R. (2003) a

Pharmaka zur Behandlung und Verhütung bakterieller Infektionen

in: LÖSCHER, W., F.R. UNGEMACH und R. KROKER (Hrsg.)

Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren

6. Auflage, Parey Verlag, Berlin, 208 - 247

KROKER, R. (2003) b

Kompaktwissen Tierarzneimittelrückstände

2. Auflage, Behr's Verlag, Hamburg,

KROKER, R., R. SCHERKL und F.R. UNGEMACH (2002)

Chemotherapie bakterieller Infektionen

in: FREY, H.-H. und W. LÖSCHER (Hrsg.)

Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin

2. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, 353 - 389

KÜHNE, M., G. HAMSCHER, U. KÖRNER, D. SCHEDL und S. WENZEL (2001)

Formation of anhydrotetracycline during a high-temperature treatment of animal-derived feed contaminated with tetracycline

Food Chemistry 75, 423 - 429

KÜHNE, M., S. WEGMANN, A. KOBE und R. FRIES (2000)

Tetracycline residues in bones of slaughtered animals

Food Control 11, 175 – 180

MCEVOY, J. D. G. (2002)

Contamination of animal feedstuffs as a cause of residues in food:

A review of regulatory aspects incidence and control

Analytica Chimica Acta 473, 3 - 26

PRÜGNER, W. (1994)

Anwendung von Arzneimitteln bei lebensmittelliefernden Tieren: gesetzliche Aspekte

Tierärztliche Umschau 49, 647 - 653

RASSOW, D. und H. SCHAPER (1996)

Zum Einsatz von Fütterungsarzneimitteln in Schweine- und Geflügelbeständen in der Region
Weser-Ems

Deutsche tierärztliche Wochenschrift 103, 244 - 249

REDMANN, T. (2005)

Herdenüberwachung

in: SIEGMANN, O. und U. NEUMANN (Hrsg.)

Kompendium der Geflügelkrankheiten

6. Auflage, Schlütersche Verlagsgesellschaft, 80

RÖMPP (1999)

Basislexikon Chemie

10. Auflage, Verlag Thieme, Stuttgart

SCHLENKER, G. (2006)

Umweltbelastung durch Arzneimitteleinsatz

Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle (BpT) 13., 186 - 189

SCHMEROLD, I., S. SCHEID (1994)

Rückstandsproblematik beim Einsatz von Tierarzneimitteln:

Höchstmengen und Wartezeit

Tierärztliche Umschau 49, 709 - 713

SIEGMANN, O. und U. NEUMANN (2005)

Haltung

in: SIEGMANN, O. und U. NEUMANN (Hrsg.)

Kompendium der Geflügelkrankheiten

6. Auflage, Schlütersche Verlagsgesellschaft, 48 - 55

SORUM, M., P.J. JOHNSON, B. AASNES, T. ROSVOLL, H. KRUSE, A. SUNDSFJORD
und G.S. SIMONSEN (2006)

Prevalence, persistence, and molecular characterization of glycopeptide-resistant enterococci
in Norwegian poultry and poultry farmers 3 to 8 years after the ban on avoparcin

Applied and Environmental Microbiology 72 (1), 516 - 521

UNGEMACH, F.R. und H. BOTTERMANN (1998)

Futtermittelzusatzstoffe – Diskussion ohne Ende?

Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle 5, 257 - 261

WHO (World Health Organisation) (1996)

Evaluation of certain veterinary drug residues in foods.

45th report of the Joint FAO/WHO Committee on Food Additives, Geneva, 32 – 40

WHO (World Health Organisation) (1999)

Evaluation of certain veterinary drug residues in foods.

50th report of the Joint FAO/WHO Committee on Food Additives, Geneva, 50 – 54

WINCKLER, C. und A. GRAFE (2000)

Charakterisierung und Verwertung von Abfällen aus der Massentierhaltung unter Berücksichtigung verschiedener Böden

Hrsg.: Umweltbundesamt Berlin, Forschungsbericht 297 33 911, UBA-FB000074

WINCKLER, C. und A. GRAFE (2001)

Use of veterinary drugs in intensive animal production – evidence for persistence of tetracycline in pig slurry

Journal of Soils and Sediments 1, 66 - 70

WITTE, W., I. KLARE und G. WERNER (1999) a

Einsatz von Antibiotika als Leistungsförderer in der Tiermast und Antibiotikaresistenz bei bakteriellen Infektionserregern des Menschen

Fleischwirtschaft 4, 90 - 94

WITTE, W., I. KLARE und G. WERNER (1999) b

Der Einsatz von Avoparcin als Leistungsförderer und die Resistenzentwicklung gegen Glykopeptide bei Enterokokken

Tierärztliche Praxis, 27 (G), 310 - 315

YANG, H., B. DETTMAN, J. BEAM, C. MIX und X. JIANG (2006)

Occurrence of ceftriaxone-resistant commensal bacteria on a dairy farm and a poultry farm
Canadian Journal of Microbiology 52 (10), 942 - 950

YOSHIMURA, H., N. OSAWA, F.S.C. RASA, D. HERMAWATI, S. WERDININGSIH,
N.M.R. ISIRANTHI und T. SUGIMORI (1991)

Residues of doxycycline and oxytetracycline in eggs after medication via drinking water to
laying hens

Food Additives and Contaminants, 8, 65 - 69

Gesetze, Verordnungen und Vorschriften

GESETZ ÜBER DEN VERKEHR MIT ARZNEIMITTELN

(Arzneimittelgesetz – AMG)

Arzneimittelgesetz in der Fassung der Bekanntmachung vom 12. Dezember 2005 (Bundesgesetzblatt I S. 3394), zuletzt geändert durch Artikel 2 des Gesetzes vom 21. Dezember 2006 (Bundesgesetzblatt I S. 3367).

LEBENSMITTEL-,BEDARFSGEGENSTÄNDE- UND FUTTERMITTELGESETZBUCH (LEBENSMITTEL- UND FUTTERMITTELGESETZBUCH - LFGB)

Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch in der Fassung der Bekanntmachung vom 26. April 2006 (Bundesgesetzblatt I S. 945)

MINDESTANFORDERUNGEN IN DER PUTENHALTUNG

„PUTENVEREINBARUNG“ (1999)

Niedersächsisches Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (ML), Hannover und Niedersächsische Geflügelwirtschaft, Landesverband e.V., Oldenburg (Hrsg.)

VEREINBARUNG ÜBER MINDESTANFORDERUNGEN IN DER JUNGHÜHNERMAST - „HÄHNCHENVEREINBARUNG“ (1997)

Niedersächsisches Ministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (ML), Hannover und Niedersächsische Geflügelwirtschaft, Landesverband e.V., Oldenburg (Hrsg.)

VERORDNUNG (EG) NR. 1831/2003

des Europäischen Parlamentes und des Rates vom 22. September 2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung

Amtsblatt der EG Nr. L 268/29

VERORDNUNG (EWG) NR. 2377/90

des Rates vom 26. Juni 1990 zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprungs

Amtsblatt der EG Nr. L 224/1

VERORDNUNG ÜBER DIE QUALITÄT VON WASSER FÜR DEN MENSCHLICHEN
GEBRAUCH

(Trinkwasserverordnung – TrinkwV 2001)

Trinkwasserverordnung vom 21. Mai 2001 (Bundesgesetzblatt I S. 959), geändert durch
Artikel 363 der Verordnung vom 31. Oktober 2006 (Bundesgesetzblatt I S. 2407).

VERORDNUNG ÜBER TIERÄRZTLICHE HAUSAPOTHEKEN – TÄHAV

In der Fassung vom 20. Dezember 2006 (Bundesgesetzblatt I S. 3456).

RICHTLINIE 96/23/EG

des Rates über Kontrollmaßnahmen hinsichtlich bestimmter Stoffe und ihrer Rückstände in
lebenden Tieren und tierischen Erzeugnissen und zur Aufhebung der Richtlinien
85/358/EWG und 86/469/EWG und der Entscheidung 89/187/EWG und 91/664/EWG
Amtsblatt der EG Nr. L 125/10

9 Anhang I

Beschreibung der Methoden zur Untersuchung auf Wasserinhaltsstoffe gemäß den DIN-Normen:

ICP-OES (EN ISO 11885):

Es handelt sich hierbei um optische Emissionspektrometrie (OES) mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP), welche eine Standardmethode in der Wasser-, Abwasser- und Schlammanalytik darstellt.

Die Probenzuführung in das Spektrometer erfolgt über eine peristaltische Pumpe. In eine Misch- oder Sprühkammer wird der Analyt über einen Zerstäuber mit dem Trägergasstrom (Argon) zu einem Aerosol vermischt und in die Fackel eingetragen. Die groben Tröpfchen werden von den Wandungen der Sprühkammer abgefangen und laufen in ein Sammelgefäß. Die feinen Tröpfchen zirkulieren etwa zwanzigmal durch die Kammer und erreichen schließlich als Aerosol die Fackel.

In einem, durch induktive Kopplung erzeugten, Argon-Plasma (Temperatur etwa 10.000 K) wird der Analyt atomisiert oder ionisiert und zur Emission elektromagnetischer Strahlung angeregt.

Die Fackel besteht aus konzentrisch angeordneten Rohren aus Quarzglas. Im Zentrum befindet sich ein ebenfalls konzentrisch angeordnetes Rohr aus Aluminiumoxid, durch das mit einem Argonstrom das Aerosol des Analyten in das Plasma eingeführt wird.

Durch das seitlich angeordnete Rohr wird radial Argon eingeblasen (Plasmastrom, 12-15 Liter/Minute). Der starke Argonstrom erreicht den Bereich der Hochfrequenzspule und dient einerseits zur Aufrechterhaltung des Argon-Plasmas, andererseits kühlt er aber auch die Quarzwandungen und bewahrt sie vor dem Schmelzen.

In das innere Quarzrohr wird ein Hilfsstrom eingeblasen, der das Ende des zentralen Rohrs kühlt. Der eigentliche Plasmakern ist undurchsichtig. In ihm herrschen Temperaturen von etwa 10.000 K.

Die analytisch nutzbare Zone, in der die für die einzelnen Elemente charakteristische Emission elektromagnetischer Strahlung erfolgt, liegt etwas oberhalb der Hochfrequenzspule.

Je nach Beobachtungshöhe und damit sich ändernder Temperatur überwiegen in Abhängigkeit von den jeweiligen Anregungs- und Ionisationsenergien unterschiedliche Anregungs- und Ionisationszustände des Analyten.

Das von der Fackel emittierte Licht wird spektral zerlegt, Detektoren zugeführt und registriert. Im optischen System fällt das emittierte Licht über einen Eingangsspalt und ein Spiegelsystem auf ein E'chell-Gitter (Reflektionsgitter), wo es durch Beugung spektral zerlegt wird.

Bei einem E'chell-Gitter handelt es sich um ein sehr exakt gearbeitetes Gitter mit Sägezahnprofil, wobei die Reflexion an der schmalen Kante des Zahnes erfolgt. Erreicht wird eine sehr hohe Dispersion.

Das gestreute Licht fällt auf einen Schmidt-Kreuzdispersionsreflektor, der das sichtbare Licht durchlässt, den UV-Anteil aber reflektiert.

Jeder der Strahlengänge wird noch einmal in einer Ebene zerlegt, die senkrecht zur ersten Beugungsebene steht. Nach Fokussierung entsteht jeweils ein zweidimensionales Bild des Spektrums auf den Flächen die mit ortsempfindlichen Detektoren bestückt sind. Letztendlich erhält man für die analytisch wichtigen Spektrallinien elektrische Signale, die ortsabhängig und proportional der Lichtintensität sind.

Wie jede optische Methode können auch in der ICP-OES sowohl spektrale Störungen als auch Einflüsse der Matrix auf die Intensität des analytischen Signals auftreten. Diese müssen durch entsprechende Kontrollexperimente mit Standardlösungen aufgedeckt und dann entsprechend berücksichtigt oder kompensiert werden.

Auch das Plasma selbst liefert ein Untergrundsignal. Als charakteristische Größe verwendet man hier den BEC-Wert, der auch gleichzeitig Hinweise auf die Empfindlichkeit liefert.

Der BEC (background equivalent concentration) ist die Konzentration des Analyten, die ein genau gleich großes Signal, wie der Untergrund liefert und wird folgendermaßen definiert:

$$\text{BEC} = I_{\text{Untergrund}} / I_{\text{netto}} \times C_{\text{Analyt}}$$

Mit Hilfe des BEC lässt sich auch die ungefähre Nachweisgrenze abschätzen:

$$\text{CN} = \text{BEC} \times k \times \sigma_{\text{rel}}$$

Wobei σ_{rel} die relative Standardabweichung der Blindlösung ohne Untergrundkorrektur ist und k der Faktor, der die statistische Sicherheit bestimmt (meist $k = 3$ für eine Sicherheit von 99,5%).

IC (DIN EN ISO 10304-1):

Chromatographie ist ein physikalisch-chemisches Verfahren zur analytischen Trennung gelöster oder gasförmiger Stoffgemische. Durch diese Trennung können Einzelkomponenten, wie Sulfat oder Nitrat, eines Stoffgemisches, beispielsweise Wasser, identifiziert und auch quantifiziert werden.

Die Proben werden auf eine stationäre Phase aufgegeben. Diese stationäre Phase enthält, im Falle von Kationenaustauschern Sulfonsäuregruppen, oder, im Falle von Anionenaustauschern, Ammoniumgruppen.

An der stationären Phase stellt sich ein Gleichgewicht ein, das über den pH-Wert und die Ionenstärke der mobilen Phase beeinflusst werden kann. Die Trennung (der Probe) erfolgt in Abhängigkeit der Größe und Ladung der Ionen.

Photometrie (DIN EN 26777 D 10):

Bei diesem Verfahren handelt es sich um die Messung der Konzentration einer Substanz mittels Licht. Gemessen wird, wie viel Licht von einem bestimmten Stoff absorbiert wird. Man verwendet hierfür monochromatisches Licht (polychromatisches Licht wird mittels eines Prismas zerlegt, so dass nur bestimmte Wellenlängenbereiche durchgelassen werden), das durch eine Küvette gestrahlt wird. Die Lichtquelle ist eine Wolframlampe.

Die Lichtmenge, die schließlich auf der Photozelle auftrifft, lässt eine Bestimmung der Konzentration der gesuchten Substanz in der Probe zu.

Konduktometrie (EN 27888):

Bei der konduktometrischen Bestimmung wird der elektrische Leitwert (G) (bzw. der Widerstand R) von Elektrolytlösungen gemessen. Die Messung erfolgt mit Wechselspannung.

Das Produkt aus Leitwert G und Zellkonstante ergibt die Leitfähigkeit von Elektrolyten.

$$\kappa = G \times K = 1/R \times K$$

κ = Leitfähigkeit

G = Leitwert = 1/R

R = elektrischer Widerstand

K = Zellkonstante der verwendeten Messelektrode

Die Zellkonstante ist gleich der Länge der Messstrecke/Querschnitt bzw. Elektrodenabstand/effektive Elektrodenoberfläche.

Die Leitfähigkeitsmessung ist stoffspezifisch, da alle in einer Lösung vorliegenden Ladungsträger (Ionen) ihren Beitrag zur Leitfähigkeit leisten. Deren Beitrag zur Leitfähigkeit ist abhängig von der Art (Ionenbeweglichkeit) und Konzentration der vorhandenen Ionen.

Über weite Konzentrationsbereiche herrscht eine lineare Abhängigkeit zwischen Ionenkonzentration und Leitfähigkeit der Lösung. Da die Ionenbeweglichkeit sehr stark temperaturabhängig ist, ist auch die Leitfähigkeit eine stark temperaturabhängige Größe.

Da sich die Leitfähigkeit proportional zur Elektrolytkonzentration verhält, spielt in der Konduktometrie die Verdünnung durch Reagenzzugabe (Silbernitrat, 0,1M) eine große Rolle.

Um den Verdünnungseffekt klein zu halten, muss mit relativ hohem Elektrolytvolumen und möglichst geringem Reagensvolumen (d.h. hohe Reagenzkonzentration) gearbeitet werden.

Die Temperatur muss im Verlauf der Titration konstant gehalten werden.

Es werden 10 ml der jeweiligen Analysenlösung sowie 20 ml entionisiertes Wasser in die Titrierzelle gegeben. Dann werden die Elektroden (Doppel-Platin-Stab-Elektroden) so in die Zelle eingesetzt, dass die Wirkung des Magnetrührers optimal ist, d.h. ausgefallenes Silberhalogenid sollte sich nicht zwischen den beiden Elektroden verfangen. Schließlich werden die Elektroden an das Konduktometer angeschlossen.

Titriert wird zunächst in 0,2 ml Schritten. In der Nähe des Wendepunktes wird mit möglichst kleinen Volumenschritten titriert, um die Genauigkeit zu erhöhen.

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Herrn PD Dr. Gerd Hamscher vom Institut für Lebensmitteltoxikologie und Chemische Analytik der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover für die freundliche Betreuung, die Unterstützung bei dem Modellversuch sowie seine Geduld bei der Anfertigung dieser Arbeit. Vielen Dank auch an Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Heinz Nau für hilfreiche Diskussionen im Vorfeld und im Verlauf des Projektes. Auch Frau Beate Priß sei gedankt für die Hilfestellungen im Labor.

Dank gebührt auch Frau Dr. Annette Hänsel und Frau Gunda Labbert vom Rückstandskontrolldienst des LAVES für die Bereitstellung des Themas sowie der Unterstützung in allen Fragen des täglichen Lebens.

Auch dem Präsidenten des LAVES, Herrn Dr. Eberhard Haunhorst, sei gedankt für die Unterstützung, wodurch die Ausfertigung dieser Arbeit erst ermöglicht wurde.

Besonderen Dank möchte ich Herrn Martin Boosen aussprechen, der als Technischer Sachverständiger des LAVES seinerzeit wichtige Kontakte ermöglicht sowie wesentliche Hinweise zu technischen Fragen geliefert hat.

Herrn Dr. Johannes vom Veterinärinstitut in Hannover und Herrn Dr. Prehn vom Institut für Bedarfsgegenstände in Lüneburg danke ich für die Untersuchung der Wasserproben aus dem Feldversuch.

Herrn Dr. Löhren möchte ich danken für die Herstellung der Kontakte zu den Landwirten, so dass eine Probenahme erst möglich wurde. Auch Herrn Burchard möchte ich in diesem Zusammenhang danken, da auch er die Kontaktaufnahme zu den Landwirten unterstützt hat.

Frau McAllister möchte ich danken für die freundliche Korrektur der englischen Zusammenfassung.

Meiner Familie und allen Freunden, die immer um Rat und gute Laune bemüht waren, danke ich sehr.