

Vorkommen und Verbreitung Antibiotika-resistenter Bakterien in Abwasser und Gewässern

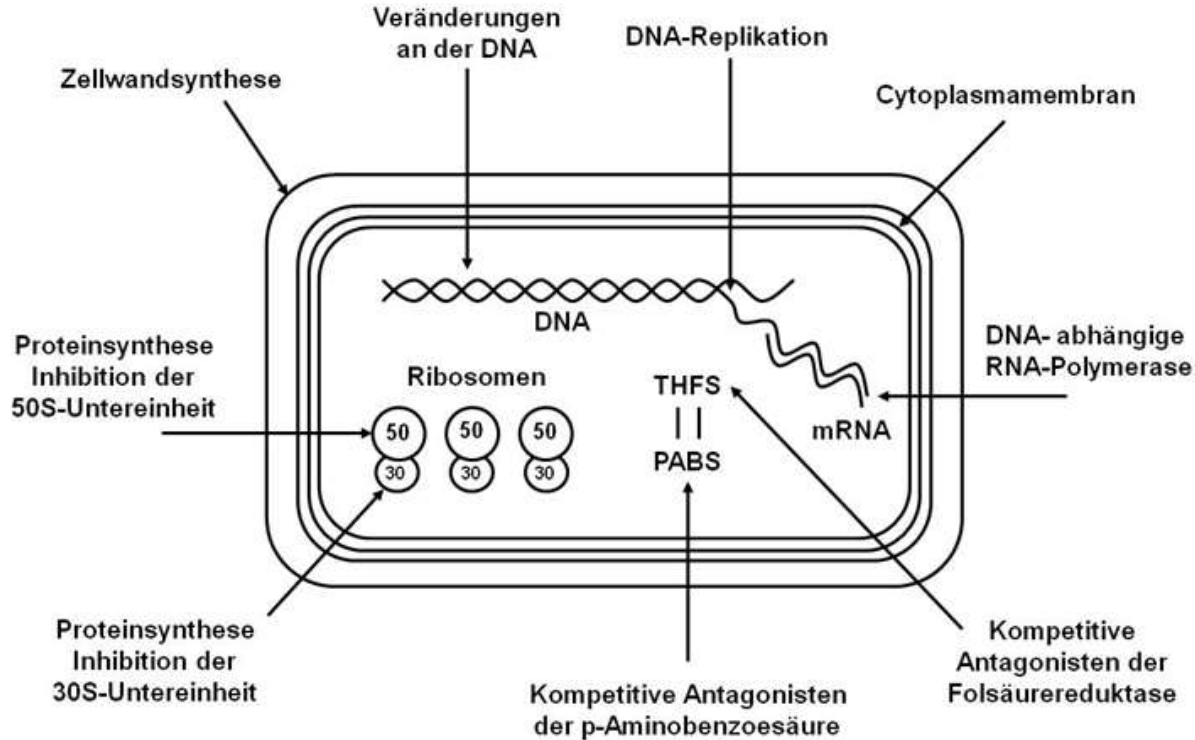
Dr. Christiane Schreiber

22. Symposium Flussgebietsmanagement beim Wupperverband
Gebietsforum Wupper der Bezirksregierung Düsseldorf

Wuppertal, 23. Mai 2019



Wirkweisen von Antibiotika (AB)



➤ Lösung aus Bakterien-Sicht: Resistenz

- Intrinsisch vs. erworben
- Erworbene Resistenzen können weitergegeben werden.



GEFÖRDERT VOM

Quelle: Dissertation Schreiber 2011

Horizontaler Gentransfer: Konjugation

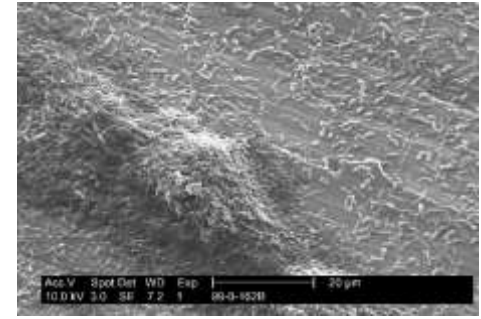
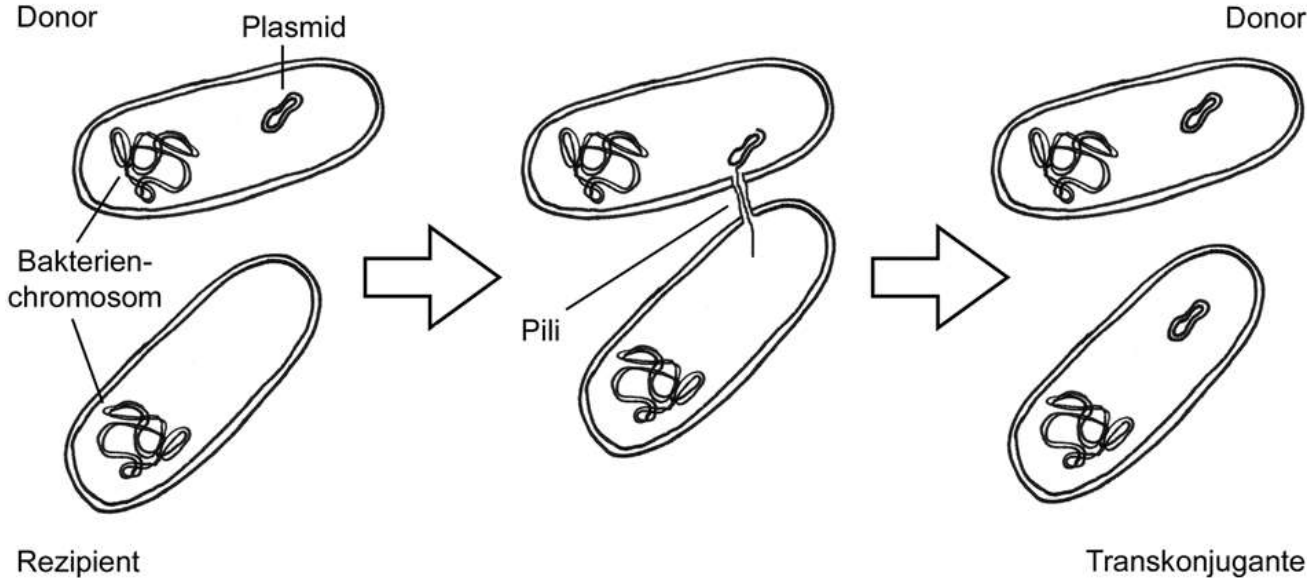


Foto: Public Health Image Library (PHIL); ID 2263, Content providers: CDC/ Janice Haney Carr

Quelle: Dissertation Schreiber 2011

GEFÖRDERT VOM

Antibiotikaresistenzen – (k)eine neue Thematik ?

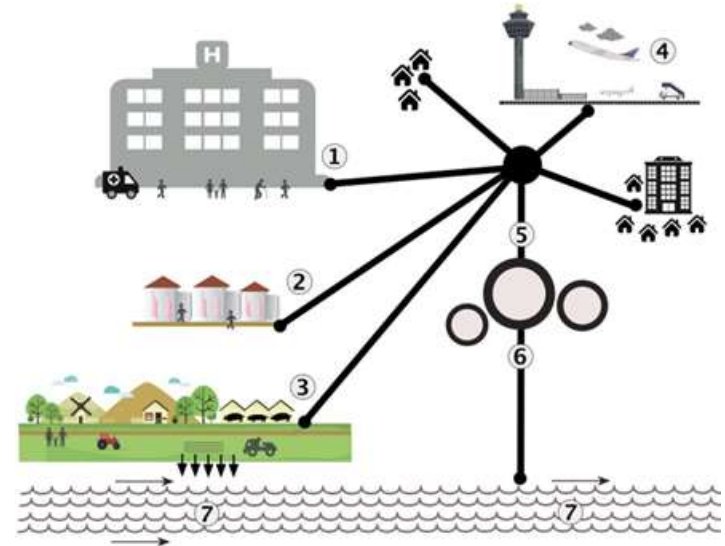
- „Von der Erkennung eines Risikos bis zur Risikoregulierung vergehen nach meiner Erfahrung 20 – 30 Jahre“ (Zitat Prof. Exner)
- Mikroverunreinigungen / Spurenstoffe seit 1990er Jahren im Fokus
 - Antibiotika /-rückstände, Antibiotikaresistente Bakterien (ARB)
- Weltweiter Anstieg des Vorkommens antibiotikaresistenter Bakterien
- 2015 von WHO als Bedrohung für die Weltbevölkerung definiert
- Verschiedene Initiativen (z.B. DART) sollen Resistenzausbreitung entgegenwirken

Verbundprojekt HyReKA

BMBF-Forschungsprojekt „HyReKA“

Biologische bzw. hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern

- Bundesweites Verbundprojekt
- Laufzeit 2016-2019
- ca. 7,5 Mil. Fördervolumen (FKZ: 02WRS1377)



Verbundprojekt HyReKA - Ziele

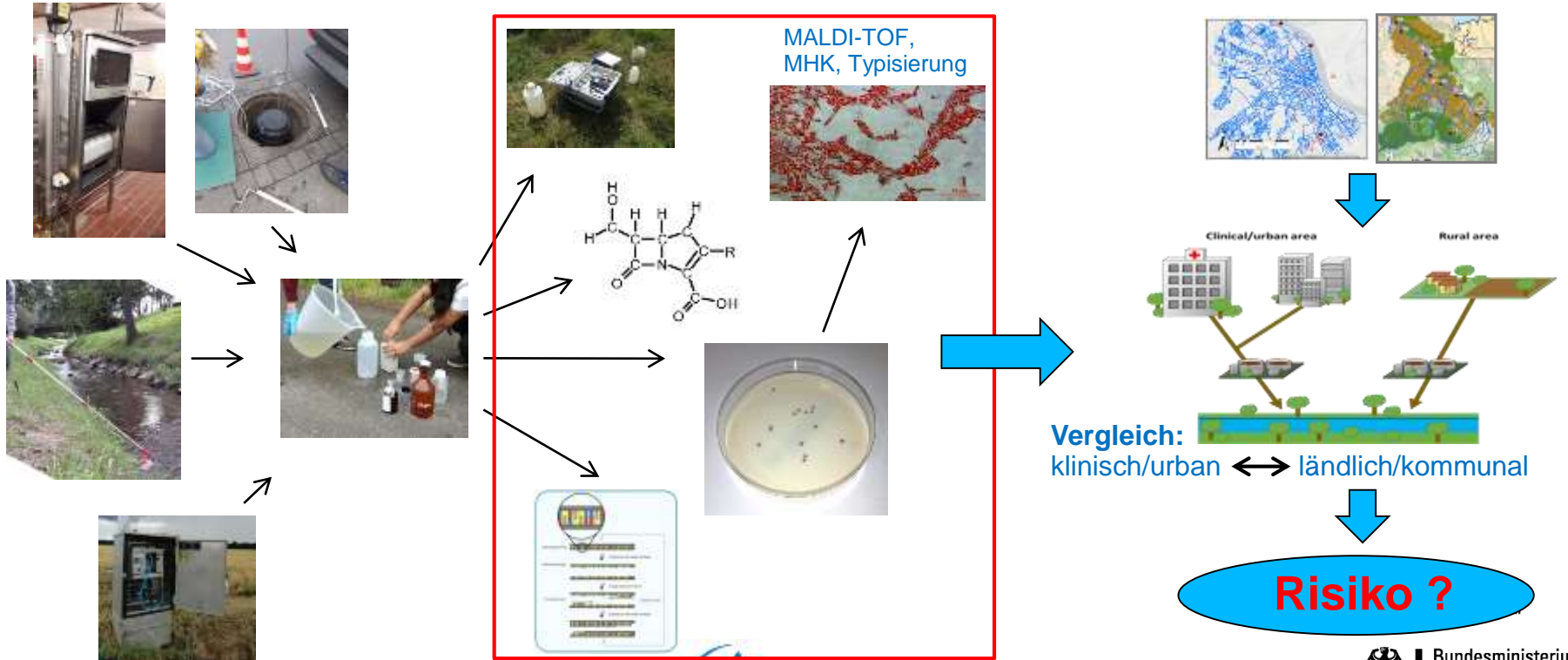
- Belastungssituation, Einträge und Verbreitungswege in die Umwelt von
 - Antibiotika-resistenten Bakterien (ARB),
 - Antibiotikaresistenzgenen (ARG),
 - Antibiotika (AB)
- Microbial Dissemination: Verbreitung
- Microbial Source Tracking: Rückverfolgung
- Identifikation mögl. Unterbrechungen der Verbreitung
 - Hot spots, critical control points, mögl. Behandlung

→ Handlungsempfehlungen



Studiendesign

Multidisziplinäre Charakterisierung von Kontaminationspfaden



Antibiotikaresistente Erreger im Fokus - MRE

Gängige Klassifizierung der Antibiotika-Resistenzen

**Multi-resistant
(3 bzw. 4 MRGN, MRE)**

Resistenz gegenüber
3 bzw. 4
Antibiotika-Klassen

**Extensively drug-
resistant (XDR)**

Resistenz gegenüber
allen außer 1 bis 2
Antibiotika-Klassen

Pan-resistant

Resistenz gegenüber
allen
Antibiotika-Klassen

Antibiotikaresistente Erreger im Fokus - MRE

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

Tab. 2: Neue Klassifizierung multiresistenter gramnegativer Stäbchen auf Basis ihrer phänotypischen Resistenzeigenschaften bei Anwendung des EUCAST-Systems

(R = resistent, I = sensibel bei erhöhter (*Increased*) Dosierung/Exposition, S = sensibel bei normaler Dosierung)

Quelle: Epidemiologische Bulletin 9/2019: 83

Antibiotikaresistente Erreger im Fokus – HyReKA – kulturelle Analytik

Antibiotikaresistente Bakterien (ARB)

- ESBL (extended spectrum beta-lactamase)-Bildner
 - *E. coli*
 - KEC: Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter
 - *Pseudomonas aeruginosa* (bzw. *Pseudomonas* spp.)
 - *Acinetobacter baumannii* (bzw. *Acinetobacter* spp.)
- MRSA: Methicillin-resistente Staphylococcus aureus
- VRE: Vankomycin-resistente Enterokokken



Fotos: GHC/IHPH

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Antibiotikaresistente Erreger im Fokus – HyReKA - Molekularbiologische Analytik

➤ Taxonomische Marker:

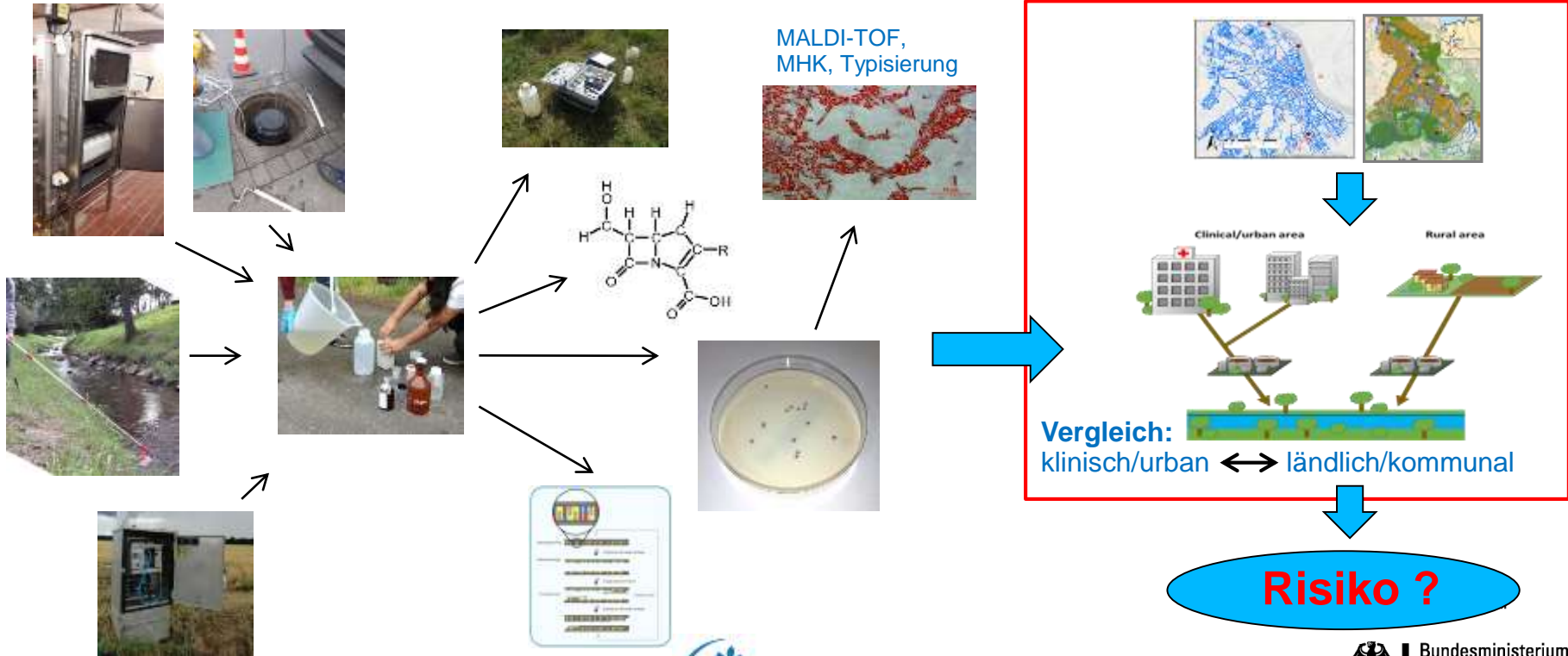
- Wasserproben: Zielspezies Teil der Population?
 - Gen-Nachweis mit (quantitativer) PCR
- Isolate: Identifizierung und Typisierung
 - MALDI-TOF und DLST, MLST

➤ Antibiotikaresistenzgene (ARG):

- Wasserproben: Populationsanalysen: ARG im Wasser?
 - (quantitative) PCR
- Isolate: ARG in Zielspezies aktiv und transferabel?
 - MHK und qPCR

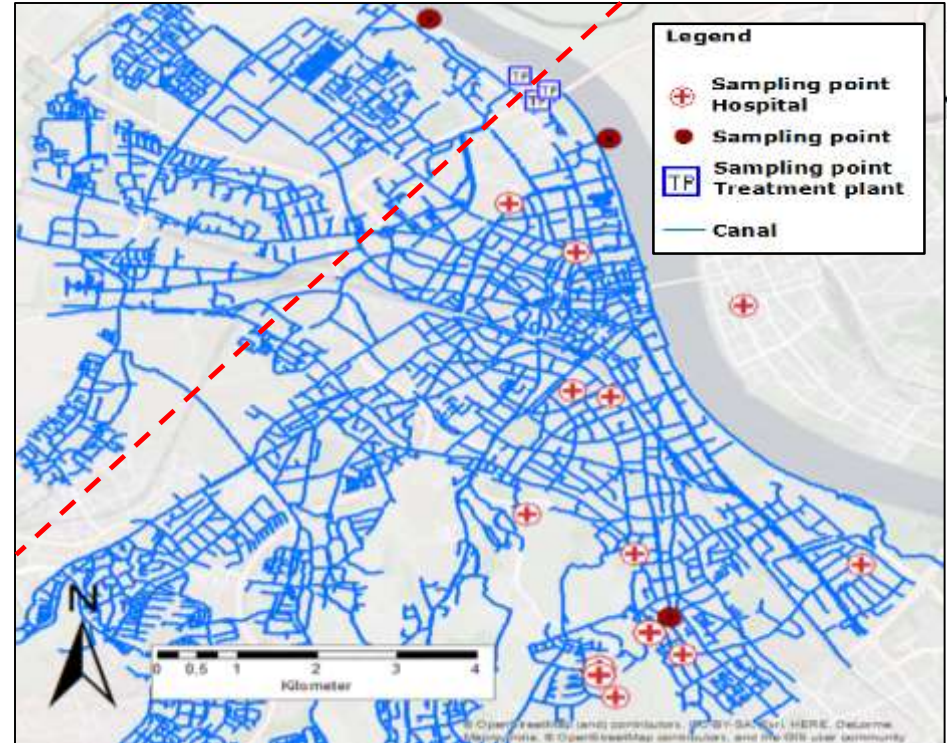
Studiendesign

Multidisziplinäre Charakterisierung von Kontaminationspfaden



Klinisch/urbanes System

- Sanitäre Einrichtungen in Patientenzimmern
- Abwasser-Kanalsystem
- Kläranlage (KA)
- Vorfluter



GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



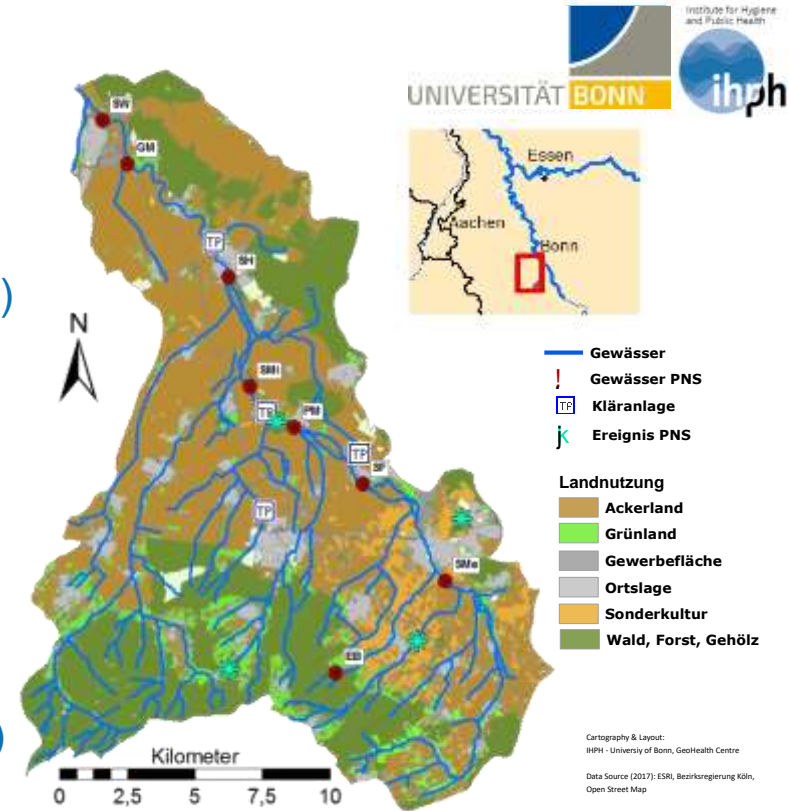
NaWaM
Naheliegender Wassermanagement



RiSKWa
Risikoanalyse von neuen Schadstoffen und
Wirkstoffen in Wasserqualität

Ländlich/kommunales System

- Gewässerverlauf Swist:
 - 8 Stellen ohne/mit Einfluss von Abwasser (16 PN)
- Alle einleitenden Kläranlagen (KA):
 - 4 kommunale KA, je Zulauf & Ablauf (16 PN)
- Niederschlagsereignis-bezogene Proben:
 - Mischkanalisation: Retentionsbodenfilter (RBF) Zu- und Ablauf (8 PN)
 - Trennkanalisation: Regenrückhaltebecken (7 PN)
 - Landwirtschaft: Drainage (Feld), Abflüsse Grünland, Oberläufe



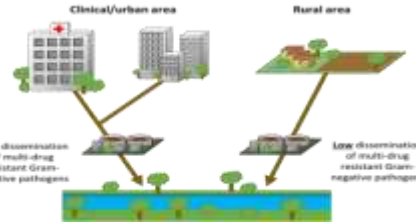
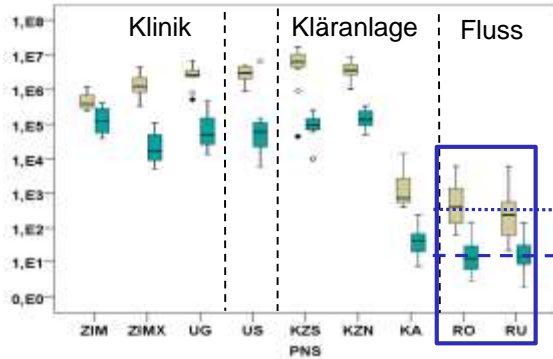
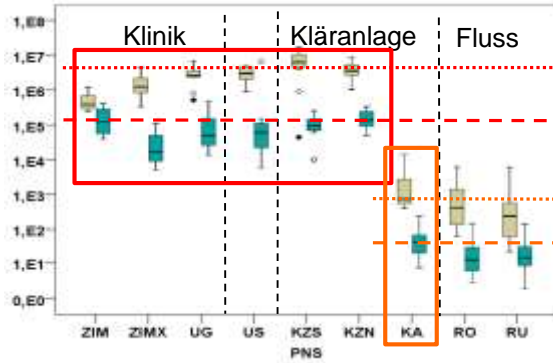
GEFÖRDERT VOM



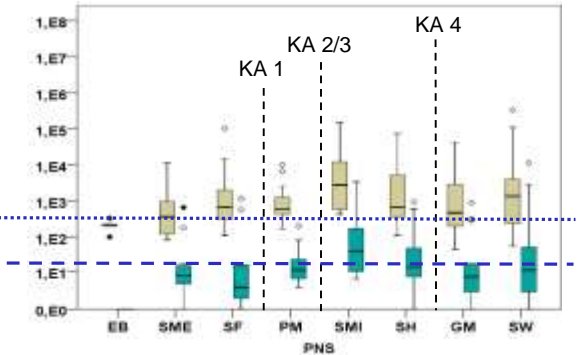
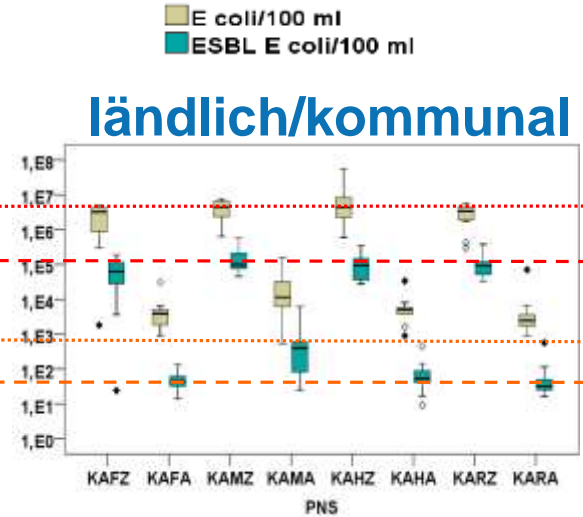
Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Belastungssituation: ESBL *E. coli*

klinisch/urban



ländlich/kommunal



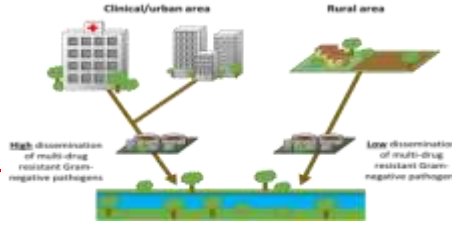
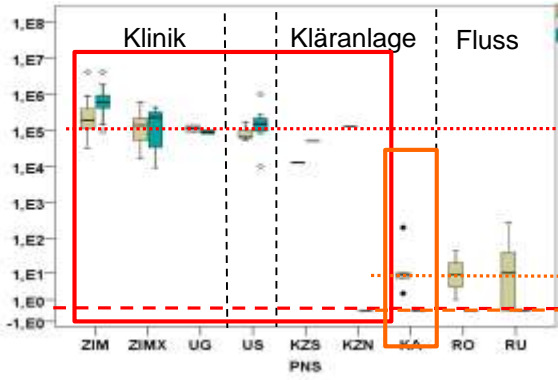
- Positive Proben: 80% k/u vs. 90% l/k
- Konzentration im Abwasser ähnlich
- Konzentrationen im Gewässer steigend mit Abwasseranteil
- Im Oberlauf (EB) nie

Belastungssituation: *P. aeruginosa* auf ESBL-Agar

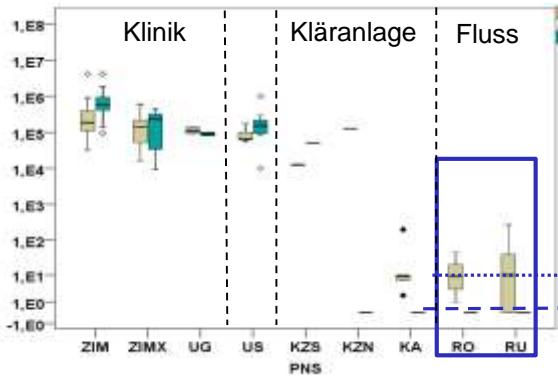
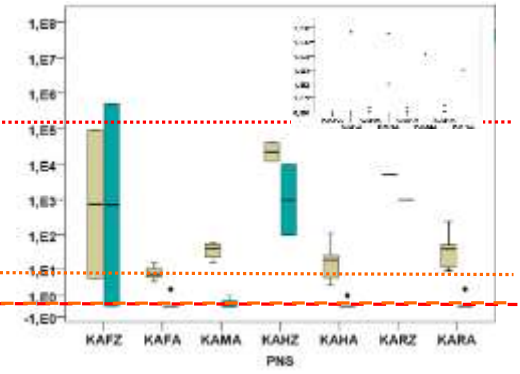
mit Resistenz gegen Ceftazidim und/oder Cefotaxim

■ *P. aeruginosa*/100 ml
■ ESBL *P. aeruginosa*/100 ml

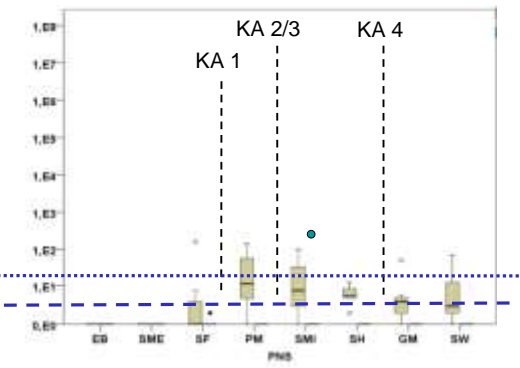
klinisch/urban



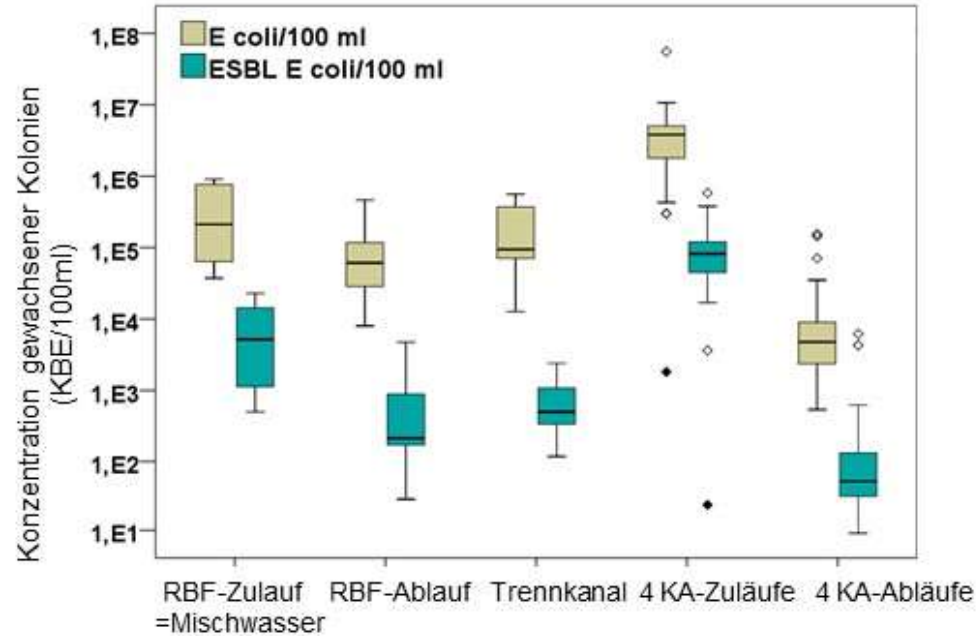
ländlich/kommunal



- Konzentration am höchsten auf Station → Verdünnung
- Rohabwasser ohne Klinik wenig belastet
- Gewässer sporadisch positiv (vs. regelmäßig *Pseudomonas* spp.)



Punktquellen Siedlungsentwässerung



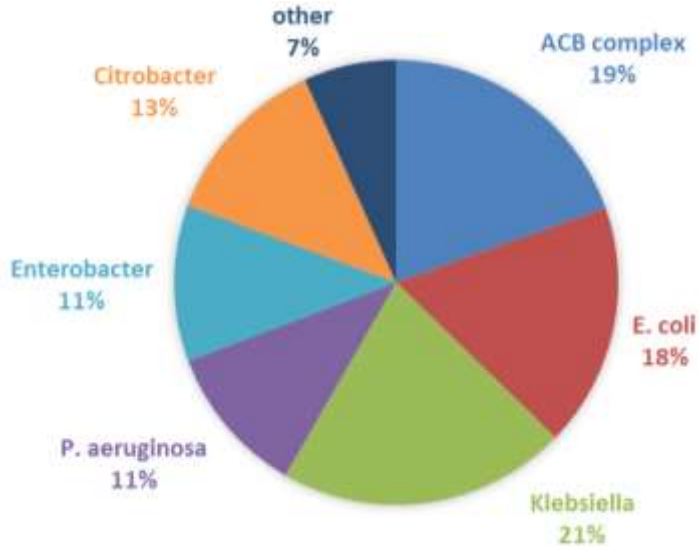
GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Belastungssituation: ESBL-Isolate nach Art

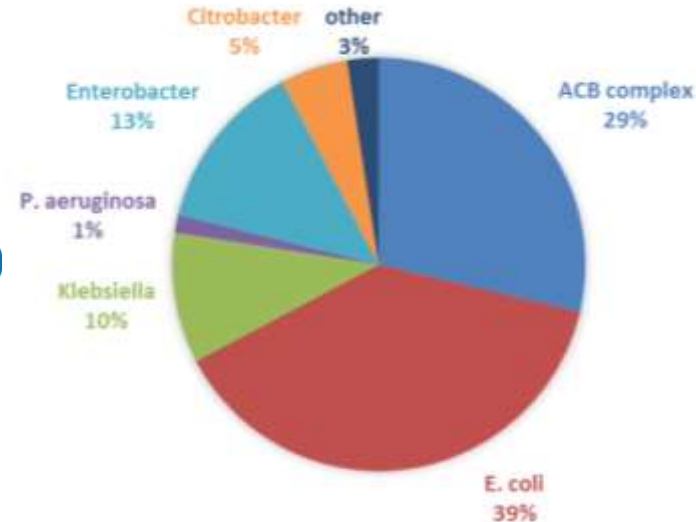
Klinisch/urban



➤ Klinisch hoch relevante MRE in klinisch/urbanem System häufiger (*P.aeruginosa*, KEC)

➤ In ländlich/kommunalem System *E. coli* dominant

Ländlich/kommunal



(Müller et. al., 2018)



NaWaM
Naheliegenes Wassermanagement



RiSKWa
Risikomanagement von neuen Schadstoffen und Wirkstoffen in der Landwirtschaft

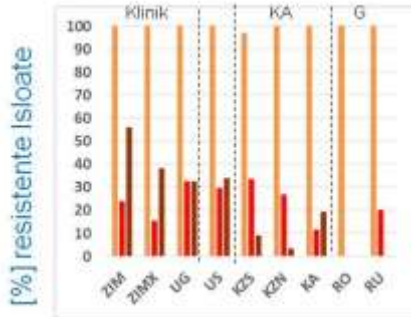
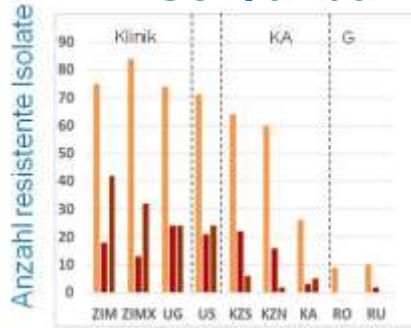
GEFÖRDERT VOM



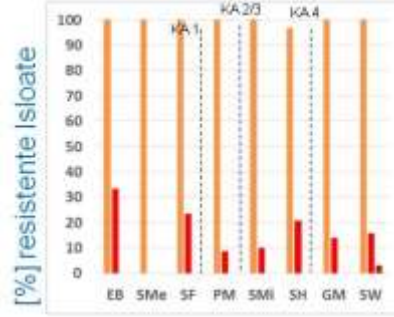
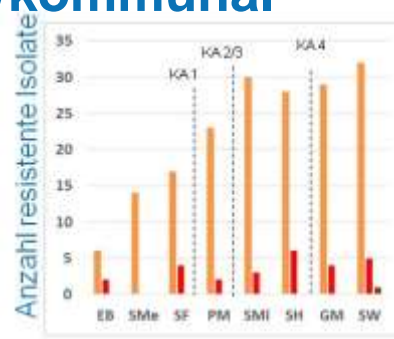
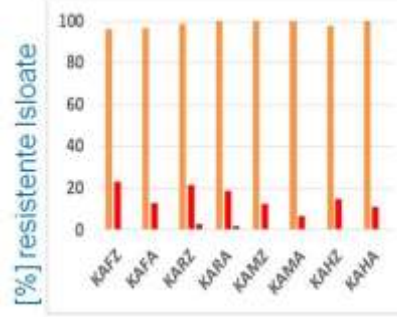
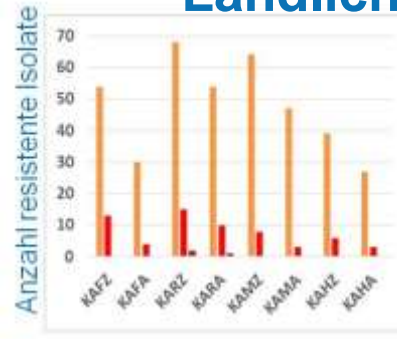
Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Belastungssituation: Multiresistente Isolate ländlich-kommunales System

Klinisch/urban



Ländlich/kommunal



- Vorkommen 3/4 MRGN im Abwasser: klinisch > klinisch/urban > urban > l/kommunal
- Reduktion in KA
- Es werden MRGN in Gewässer eingeleitet
- Gewässer: MRGN (noch) selten

(Müller et. al., 2018)

GEFÖRDERT VOM

Belastungssituation: Resistenzgene (ARG)

| | | PNS | n | ermB | bla _{TEM} | bla _{CTX-M-32} | mcr-1 | bla _{NDM} | bla _{CMY2} | mecA |
|--|---|----------------------|-----|------|--------------------|-------------------------|-------|--------------------|---------------------|------|
| Fallbeispiel A: klinisch-urbanes System | Abwasser | ZIM | 7 | 100 | 100 | 100 | 20 | 100 | 100 | 80 |
| | | ZIMX | 7 | 83 | 71 | 83 | 29 | 86 | 86 | 67 |
| | | UG | 6 | 100 | 80 | 100 | 60 | 100 | 100 | 75 |
| | | US | 6 | 80 | 100 | 100 | 33 | 100 | 100 | 67 |
| | | KZ _{LaufN} | 7 | 80 | 100 | 100 | 83 | 83 | 83 | 67 |
| | | KZ _{LaufS} | 7 | 100 | 100 | 100 | 100 | 86 | 100 | 71 |
| | | KA _{ablauf} | 7 | 100 | 86 | 33 | 14 | 57 | 17 | 57 |
| | GW | RO | 7 | 80 | 83 | 20 | 17 | 40 | 20 | 29 |
| | | RU | 7 | 75 | 100 | 0 | 0 | 40 | 0 | 20 |
| | Fallbeispiel B: ländlich-kommunales System | Zulauf KA | KA1 | 11 | 100 | 100 | 82 | 55 | 73 | 82 |
| KA2 | | | 10 | 100 | 100 | 100 | 100 | 80 | 90 | 90 |
| KA3 | | | 11 | 100 | 100 | 92 | 67 | 83 | 83 | 67 |
| KA4 | | | 11 | 100 | 100 | 100 | 82 | 64 | 91 | 91 |
| Ablauf KA | | KA1 | 11 | 89 | 18 | 9 | 0 | 64 | 11 | 10 |
| | | KA2 | 10 | 100 | 30 | 50 | 20 | 80 | 70 | 30 |
| | | KA3 | 11 | 100 | 90 | 40 | 30 | 60 | 22 | 13 |
| | | KA4 | 11 | 100 | 45 | 18 | 9 | 64 | 45 | 9 |
| Fließgewässer (GW) | | EB | 13 | 8 | 23 | 15 | 0 | 38 | 23 | 15 |
| | | SMe | 15 | 53 | 20 | 27 | 0 | 40 | 13 | 20 |
| | | SF | 15 | 53 | 40 | 20 | 0 | 47 | 0 | 7 |
| | | PM | 15 | 67 | 47 | 13 | 0 | 40 | 20 | 20 |
| | | SMi | 15 | 100 | 67 | 33 | 0 | 40 | 27 | 20 |
| | | SH | 15 | 87 | 64 | 20 | 0 | 40 | 13 | 27 |
| | | GM | 11 | n.b. | 100 | n.b. | 0 | 64 | n.b. | 18 |
| SW | 15 | 73 | 40 | 13 | 0 | 40 | 13 | 20 | | |

- Unbehandeltes Abwasser:
 - Je ARG ≥67%-100% positiv (*mcr-1* nur 55%)
- Abwasserbehandlung in KA reduziert ARG unterschiedlich gut
- Gewässer:
 - Viele ARG noch rel. selten
 - Zum Teil Zunahme im Gewässerverlauf erkennbar (*ermB*, *bla_{TEM}*)

(Schreiber et al., 2019)

Risiko: Rückübertragung auf Menschen?

Verzehr:

- Trinken: Situation in Roh- und Trinkwasser nach Ergebnissen des TZW Karlsruhe derzeit (noch) unbedenklich
- Muscheln aus Rhein
 - Dreikantmuschel (*Dreissena polymorpha*), Körbchenmuschel (*Corbicula*)
 - z.T. mit resistenten Bakterien belastet: 30 Isolate als ESBL-Bildner identifiziert

Risiko: Rückübertragung auf Menschen?

Gewässernutzung:

- Wasserspiele, Baden, Bewässern, Tränkewasser etc.
- Ausgewiesene Badegewässer stellen sich derzeit nach verschiedenen Länderstudien als eher unkritisch dar

Risiko: Rückübertragung auf Menschen?

➤ Oberflächengewässer

- Flüsse und Seen überwachungs-bedürftig
 - Künftiger Trend Carbapenemasen und Colistin?
 - Bewertung konsentieren, historische Kontrolle
- Handlungsbedarf bei Belastung wenn Nutzung zur **Trinkwasseraufbereitung**
- Bei Belastung **Badegewässer** Risiko v.a. bei prädisponierenden Faktoren



(Quelle: Exner et al 2018)

GEFÖRDERT VOM

Risiko: Rückübertragung auf Menschen?

➤ Trinkwasser

- Bei systemischem Nachweis im Verteilungsnetz
 - Risiko für vulnerable Personen (z.B. KH)
 - Bestimmung AB-Resistenz angeraten für Coliforme, *P. aeruginosa*; Carbapenemase-Gene
- Konsequenzen für Gesunde bislang nicht abschätzbar (z.B. Resistenz Darmbakterien)



(Quelle: Exner et al 2018)

GEFÖRDERT VOM

Zusammenfassung

- Verbreitung ARB in Abwasser und Gewässern:
 - ESBL nahezu ubiquitär, VRE selten, MRSA kaum Wasser-Relevanz
- Vergleich klinisch/urban vs. ländlich/kommunal
 - deutlich mehr und stärker multiresistente Erreger (4MRGN) im Klinikabwasser
 - Frachtbetrachtung bestätigen Kliniken als Schwerpunktemittenten für 4MRGN
- Deutliche Reduktion ARB durch die Kläranlagen (ca. 2-4 log-Stufen)
- Dissemination ARB aus Abwasser in Gewässer; Persistenz?
 - Punkt-Quellen: behandeltes Abwasser 😊, Entlastungsbauwerke (CSO, Trennkana) !
 - diffuse Quellen: Einträge je nach Landnutzung

GEFÖRDERT VOM

Fazit

➤ Krankenhäuser

- V.a. Hochrisikobereiche, wo Antibiotika bestimmungsgemäß eingesetzt wird scheinen betroffen; direkte Exposition vulnerabler Patienten im Sanitärbereich (hochresistente Erreger)
- **akuter Handlungsbedarf:** KRINKO Empfehlung in Vorbereitung

➤ Abwasser-Entsorgungsgebiete bzw. Kläranlagen

- Belastung inkl. Carbapenemase-Bildner z.T. kritisch, v.a. mit Kliniken
- **Handlungsbedarf bei erhöhter Konzentration:** gezielte Behandlung (hoch-)belasteter Abwässer: (de-)zentral?, alle Punktquellen im EZG berücksichtigen (z.B.CSO), Frachten

➤ Gewässer-Monitoring zur Beobachtung der Resistenzentwicklung

Vielen Dank allen Kollegen ...

- GeoHealth Centre: Probennahme, Kultivierung, EZG-Charakterisierung, Risk
 - H. Müller, N. Zacharias, C. Timm, S. Essert, R. Brang-Lamprecht, T. Kistemann
- Wasserchemie: Antibiotika-Analytik mit LC-MS
 - A. Voigt, D. Skutlarek, H. Färber
- AG Parcina: MALDI-TOF, MHK-Testung
 - E. Sib, F. Lenz-Plet, V. Barabasch, U. Klanke, M. Parčina
- AG Bierbaum: Typisierung
 - M. Gajdiss, C. Albert, A. Schallenberg, G. Bierbaum
- Koordination: info@hyreka.net
 - R. Schmithausen, T. Schwartz/KIT
- Gesamtprojekt-Leitung:
 - M. Exner
 - Erftverband: Probennahme, chemische Analytik, Daten
 - TZW Karlsruhe: qPCR Wasser ländlich/kommunales System
 - KIT: qPCR Wasser klinisch/urbanes System



GEFÖRDERT VOM



Vielen Dank...



... dem BMBF und allen Forschungspartnern ...



FKZ: 02WRS1377

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Vielen Dank...

... Ihnen für die Aufmerksamkeit !



www.hyreka.net

www.ihph.de

Dr. rer. nat. Christiane Schreiber
IHPH - Institut für Hygiene & Öffentliche
Gesundheit

Universität Bonn/ Universitätsklinikum
Venusberg-Campus 1
D-53127 Bonn

christiane.schreiber@ukbonn.de