

Antibiotikaresistenzen in Oberflächenwässern und Badegewässern

Thomas Berendonk

Überblick

- Einleitung – warum beschäftigt sich eine Professur für Gewässerökologie und Hydrobiologie mit Antibiotikaresistenzen ?
- Resistente *Escherichia coli* im Abwasser und Oberflächengewässern, sowie Badegewässern
- Die Wahrscheinlichkeit von SchwimmerInnen mit resistenten *Escherichia coli* kolonisiert zu werden.
- Europaweite Daten zu Resistenzgenen im Ablauf der Kläranlagen und Oberflächengewässern

Antibiotikaresistenz

Tagesschau 6.11.2018



Todesfälle durch resistente Keime 1 HD
Europaweite Studie

> 2007	ca. 25.000 †
> 2015	ca. 33.000 †
> Infizierte:	ca. 670.000

Quelle: ECDC

tagesschau

00:12:20
00:15:25

UT

Cassini et al. The Lancet Infectious Diseases 2018

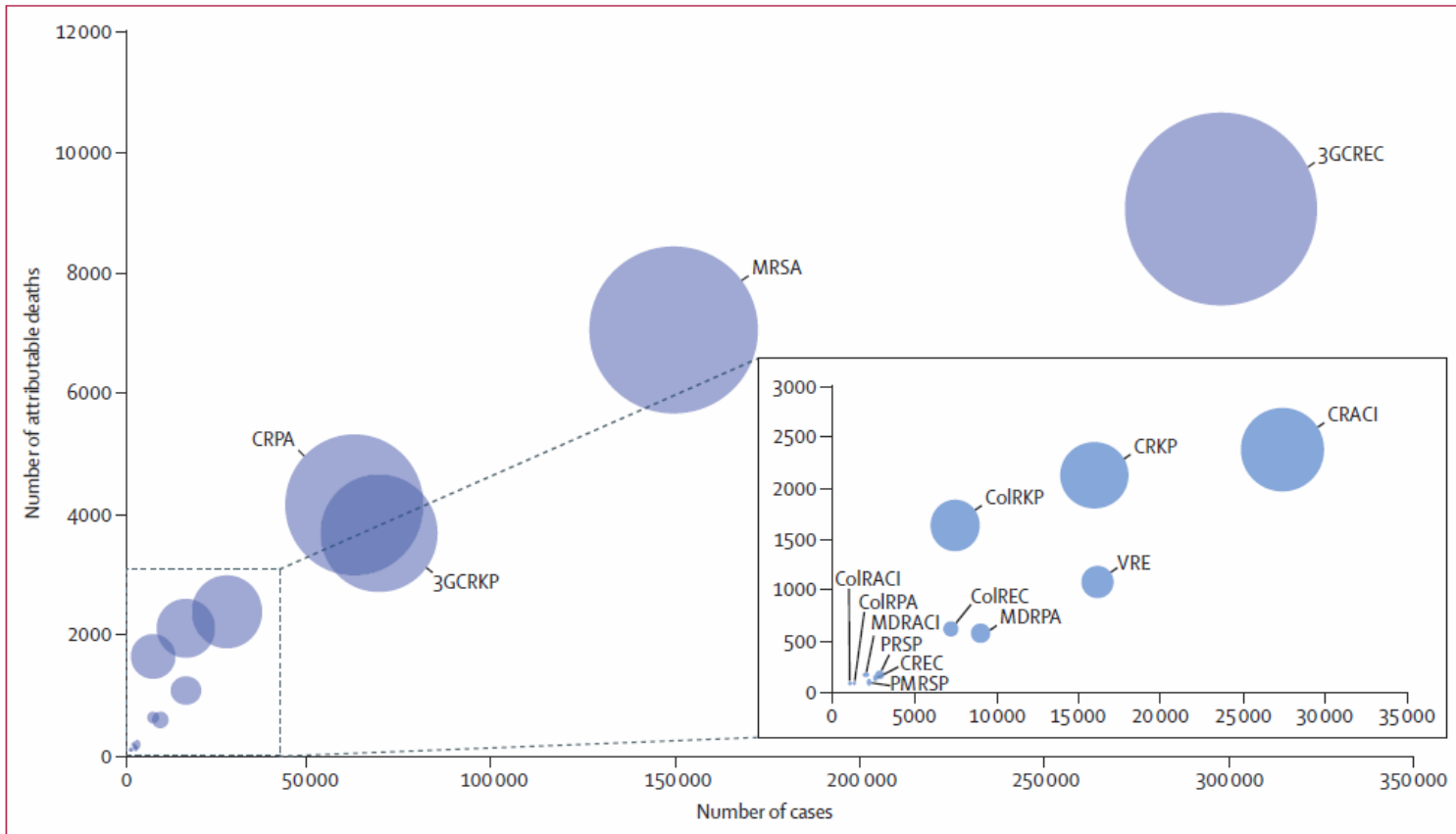
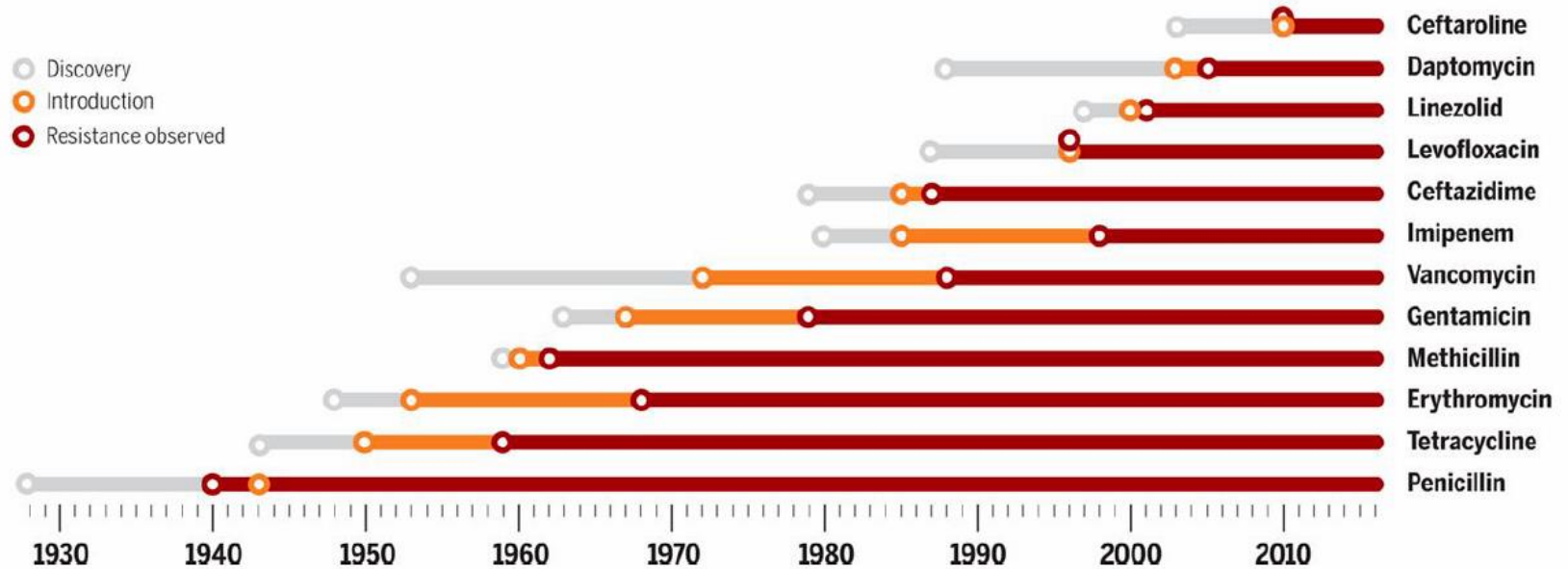


Figure 1: Infections with antibiotic-resistant bacteria, EU and European Economic Area, 2015

Diameter of bubbles represents the number of disability-adjusted life-years. ColRACI=colistin-resistant *Acinetobacter* spp. CRACI=carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. MDRACI=multidrug-resistant *Acinetobacter* spp. VRE=vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. ColREC=colistin-resistant *Escherichia coli*. CREC=carbapenem-resistant *E. coli*. 3GCREC=third-generation cephalosporin-resistant *E. coli*. ColRKP=colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. CRKP=carbapenem-resistant *K. pneumoniae*. 3GCRKP=third-generation cephalosporin-resistant *K. pneumoniae*. ColRPA=colistin-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. CRPA=carbapenem-resistant *P. aeruginosa*. MDRPA=multidrug-resistant *P. aeruginosa*. MRSA=meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. PRSP=penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. PMRSP=penicillin-resistant and macrolide-resistant *S. pneumoniae*.

The rise of resistance

Bacteria have developed resistance to every antibiotic discovered so far, sometimes even before the drug reached the market. The appearance of resistance does not mean that a drug has become completely useless.

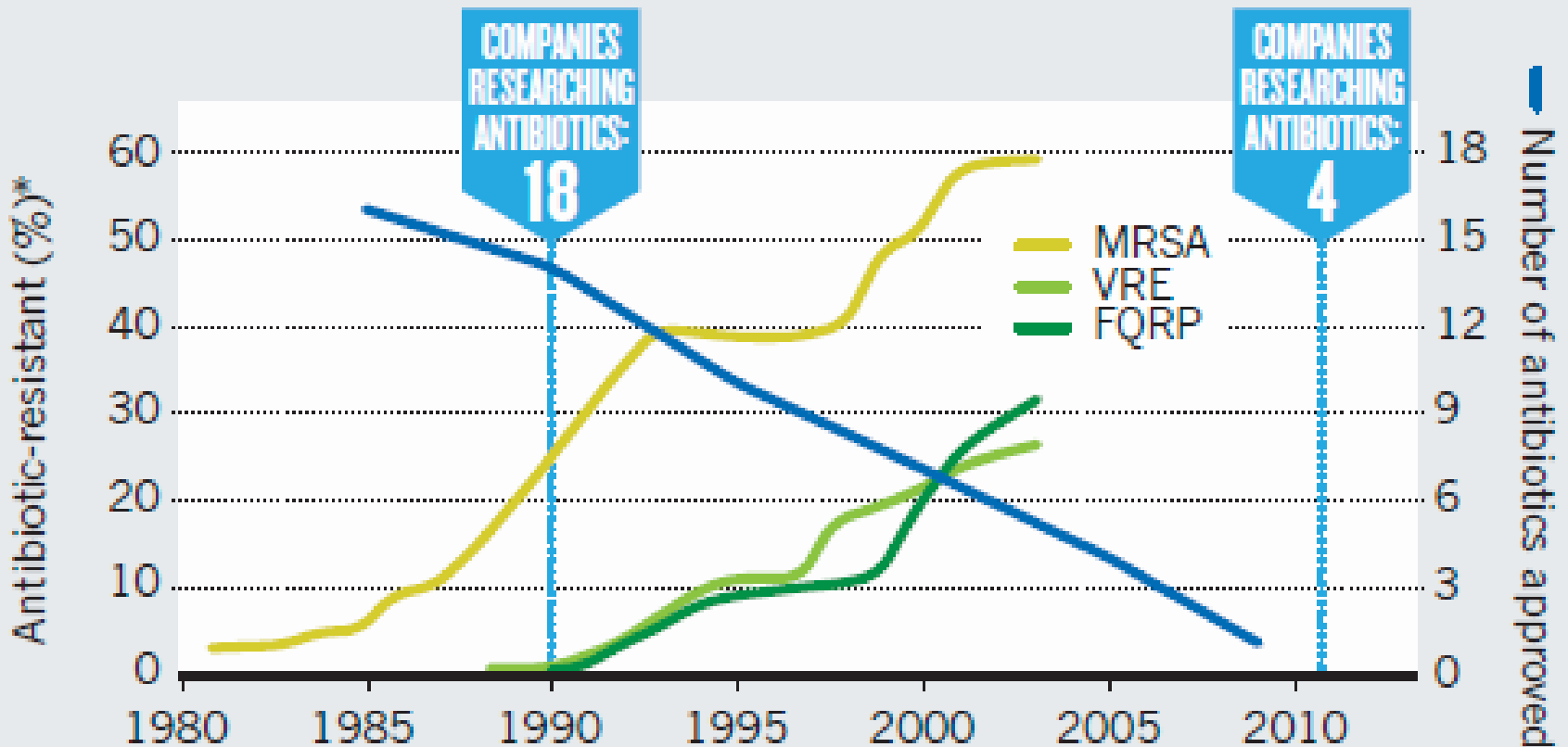


Kai Kupferschmidt Science 2016;352:758-761



A PERFECT STORM

As bacterial infections grow more resistant to antibiotics, companies are pulling out of antibiotics research and fewer new antibiotics are being approved.



*Proportion of clinical isolates that are resistant to antibiotic. MRSA, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. VRE, vancomycin-resistant *Enterococcus*. FQRP, fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa*.

The rise of resistance

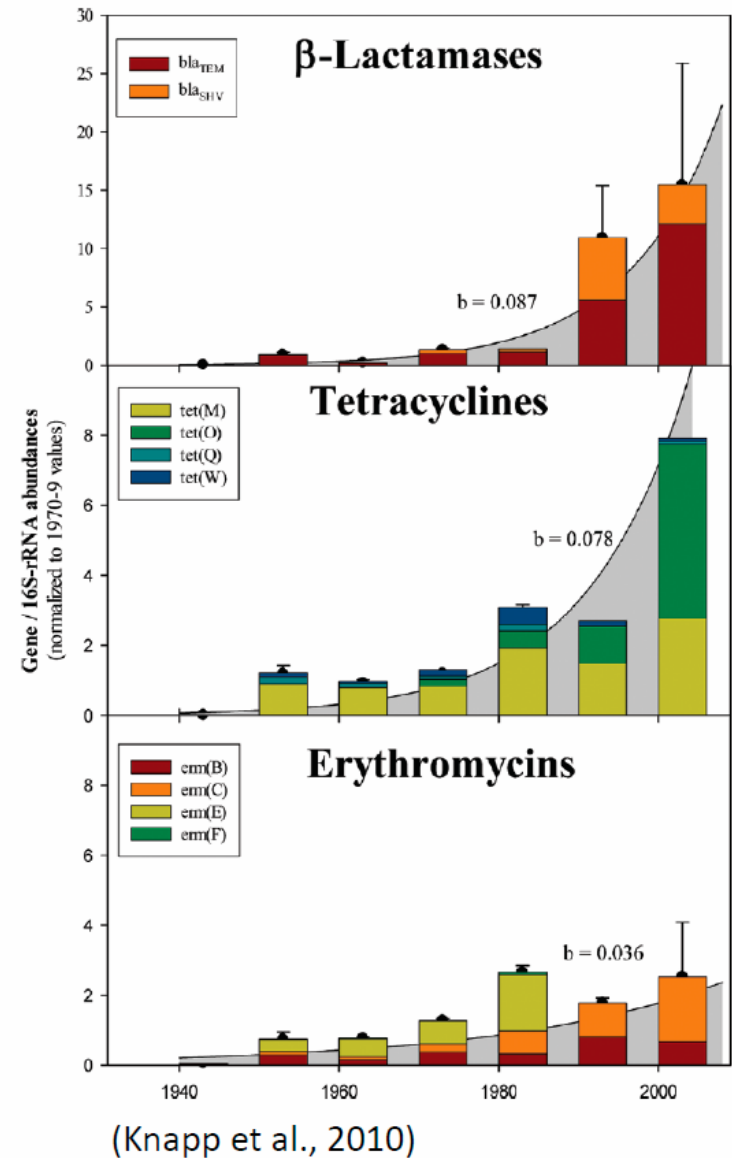


Tagesschau 12.09.2019:

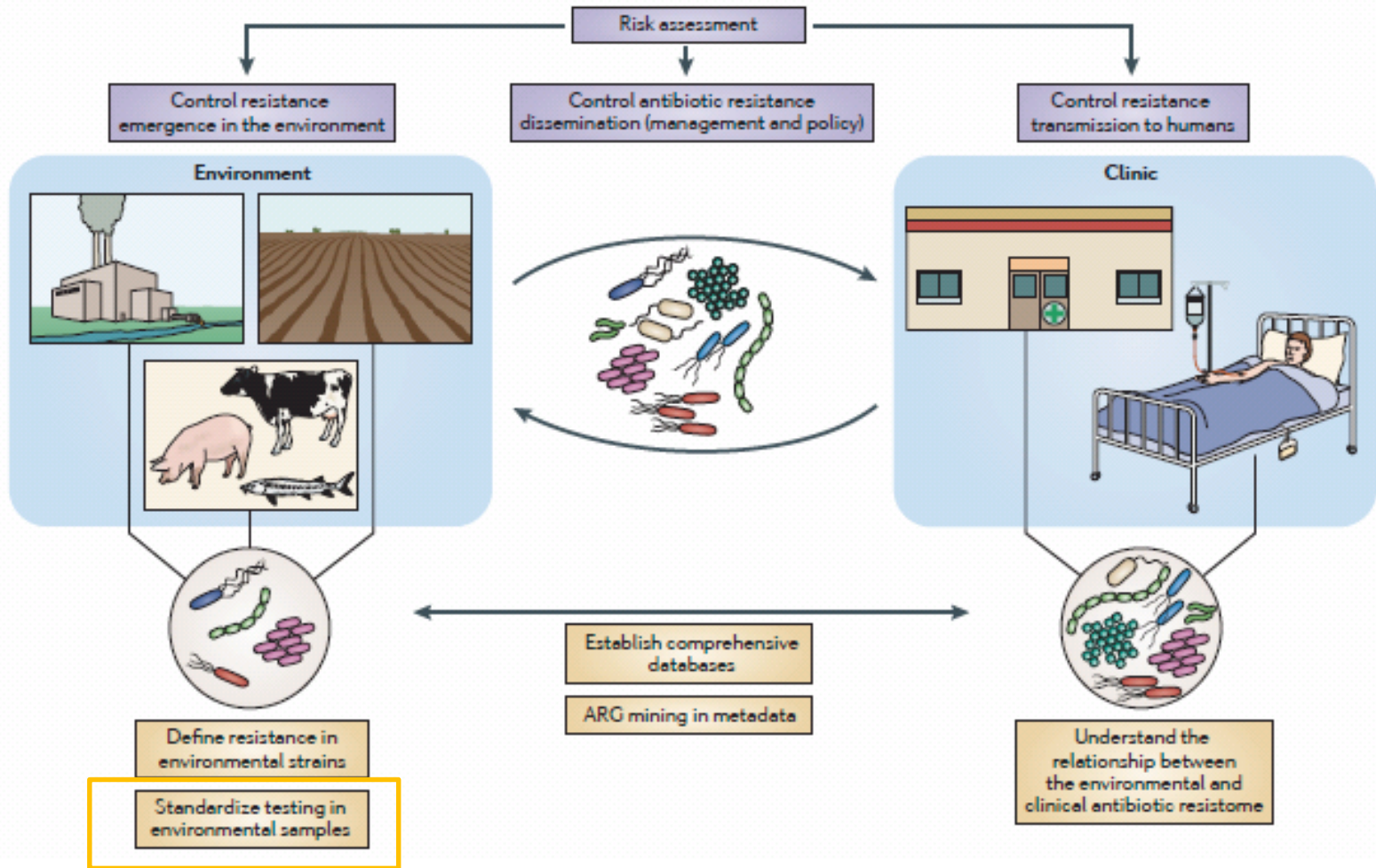
Weltgrößtes Pharmaunternehmen steigt aus der Antibiotikaforschung aus

Evidence of Increasing Antibiotic Resistance Gene Abundances in Nature

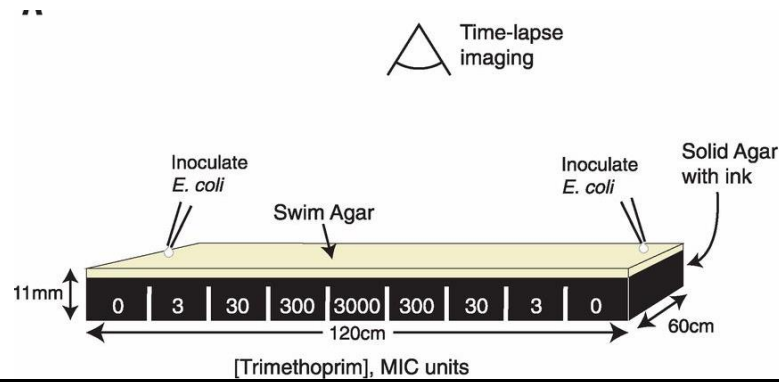
Relative increase of antibiotic resistance genes among soils collected at five sites in The Netherlands from 1940 to 2008.



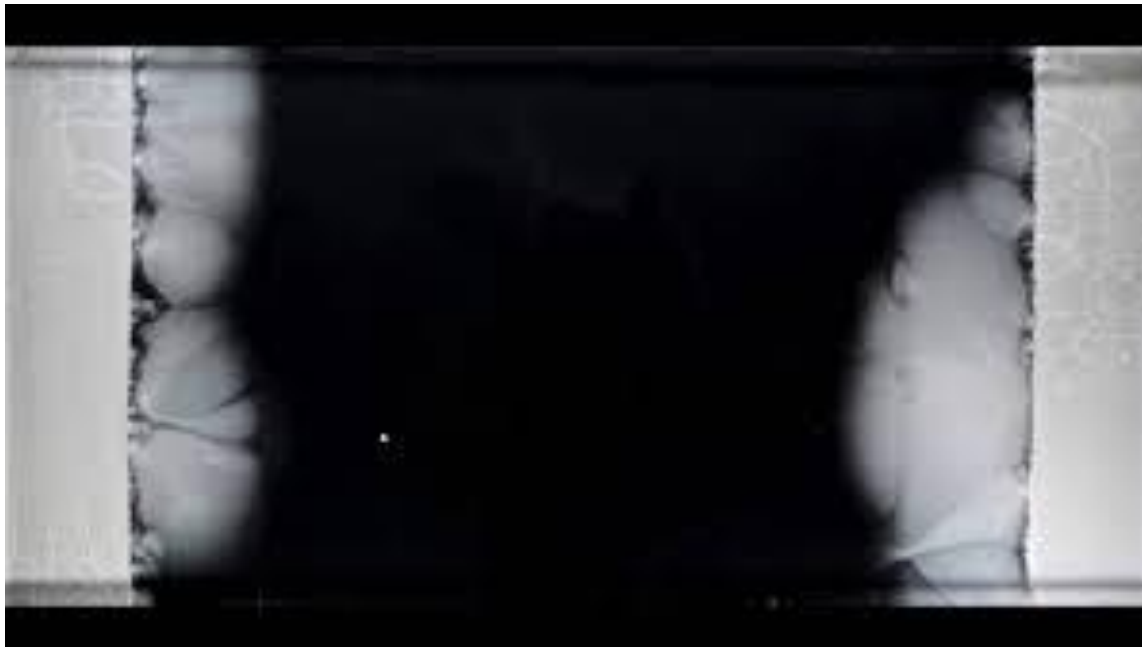
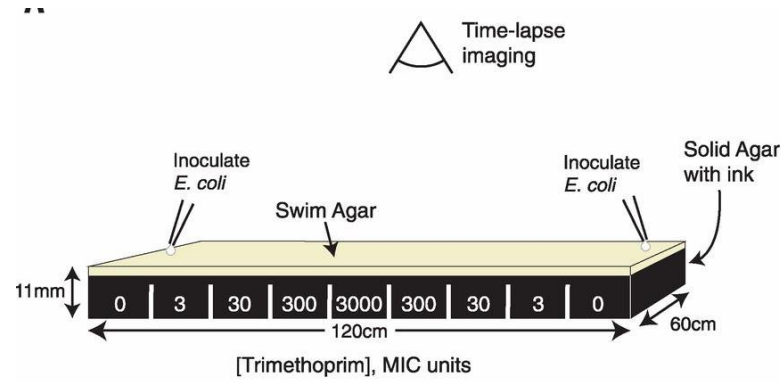
Antibiotikaresistenz in der Umwelt



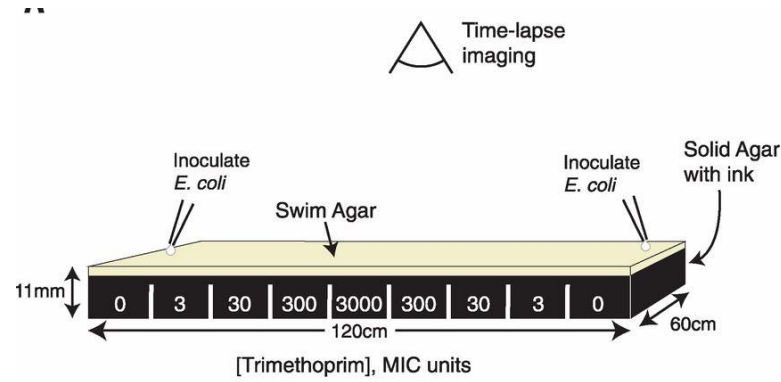
Evolution in *Escherichia coli*



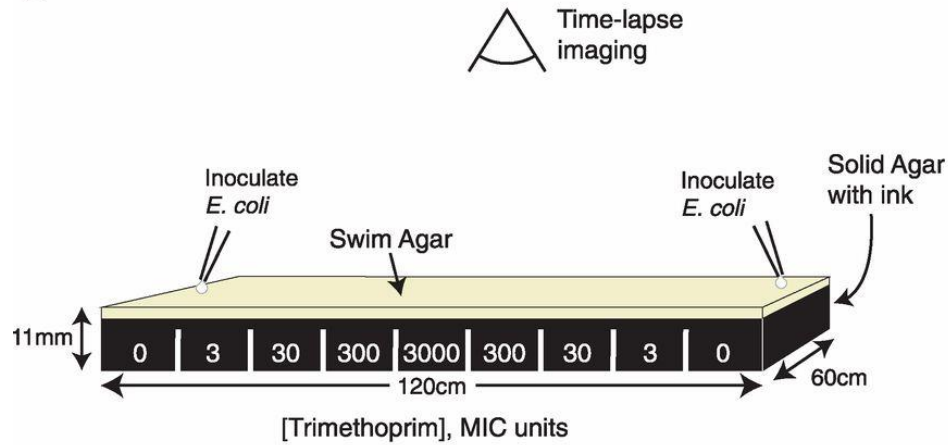
Evolution of bacteria



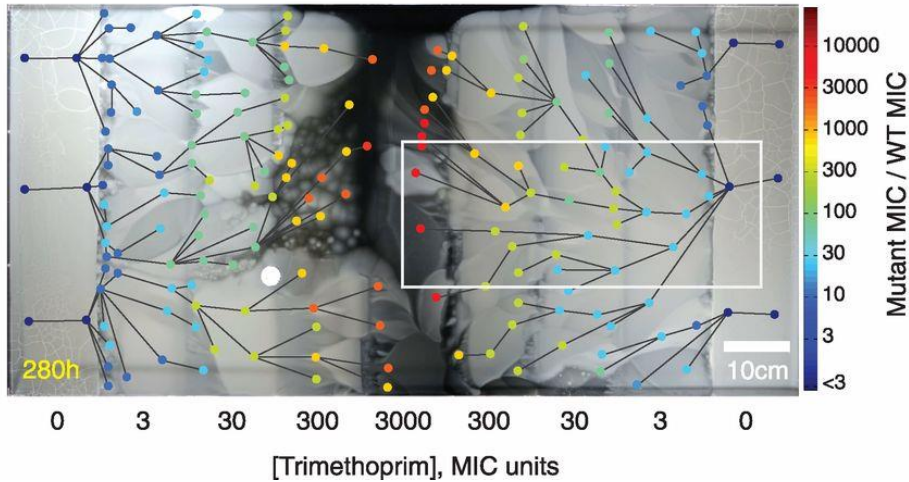
Evolution of bacteria



A

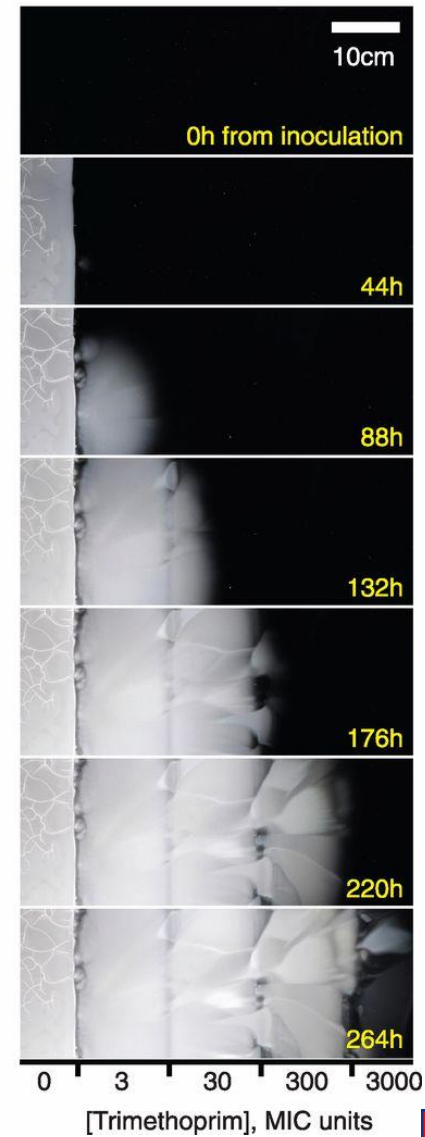


B



C

(inset from B)



- Resistente *Escherichia coli* im Abwasser und Oberflächengewässern, sowie Badegewässern

Beispiel Abwasser Dresden und die Elbe



Ein paar Zahlen – Kläranlagenablauf Bsp. Dresden

-> 10 resistente E. coli/ml (10^3 /L) (e.g. Morano et al. 2019)

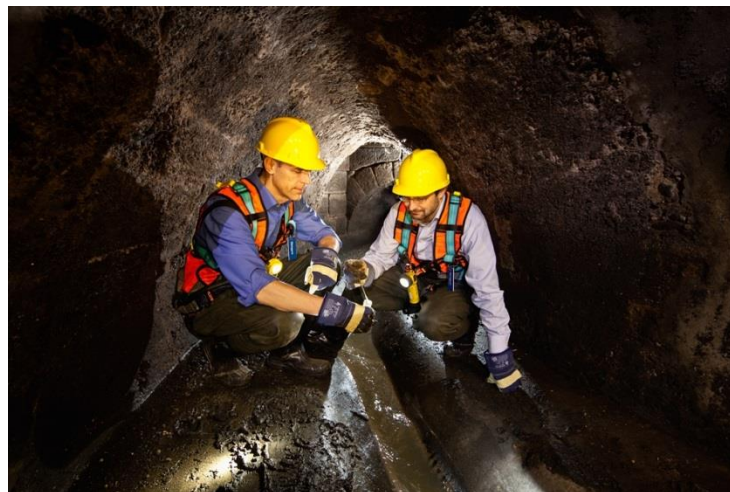
Volumen Kläranlagenablauf : $\sim 10^8$ L/d (10^5 m³)

-> 10^{11} resistente E.coli/Tag (Hundert Milliarden)

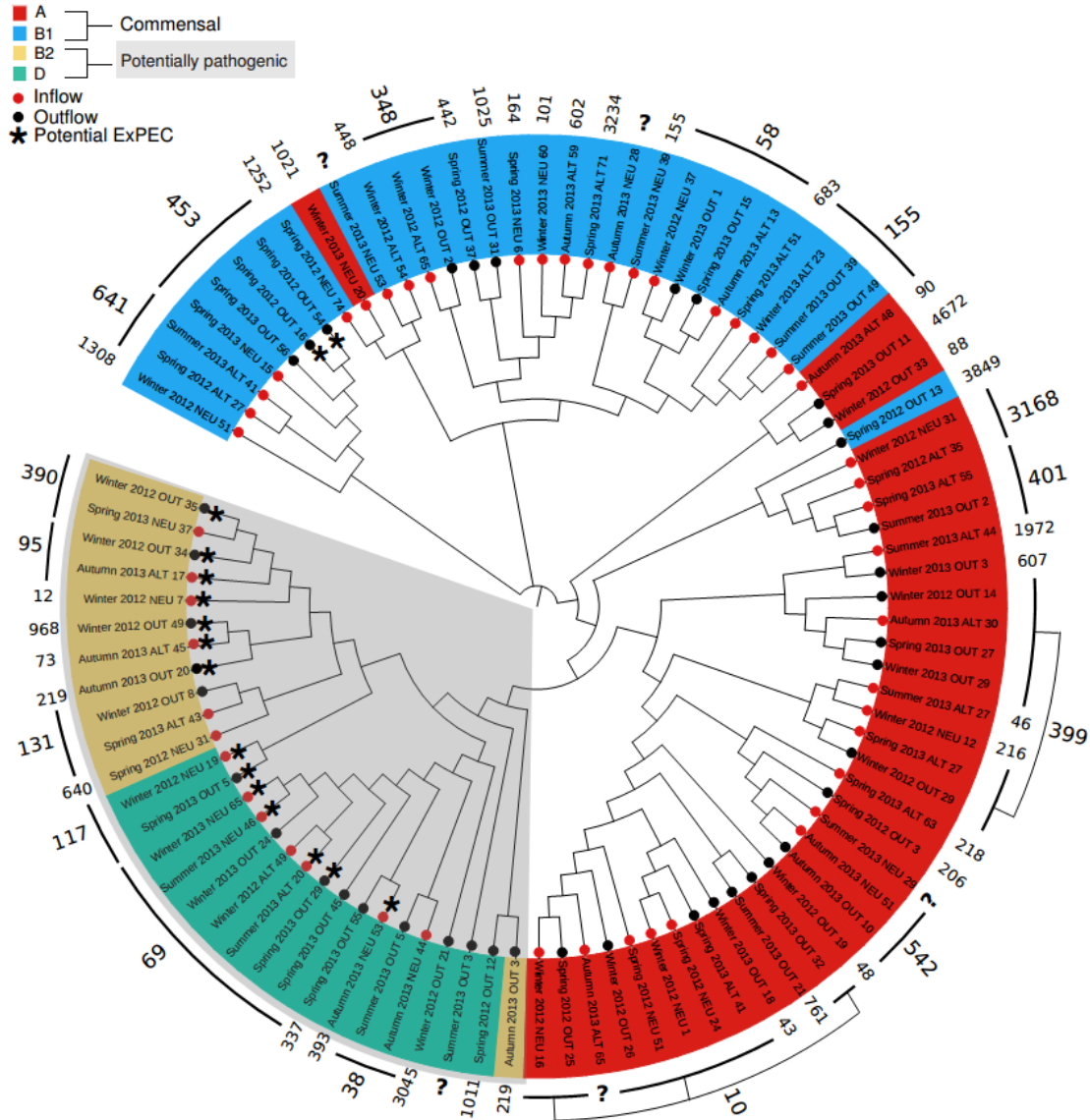
E. coli : Umweltbakterium
1 : 10 – 10000

?

Darum Gewässerökologie und Hydrobiologie
und Antibiotikaresistenzen



Genome analyses of 100 isolates

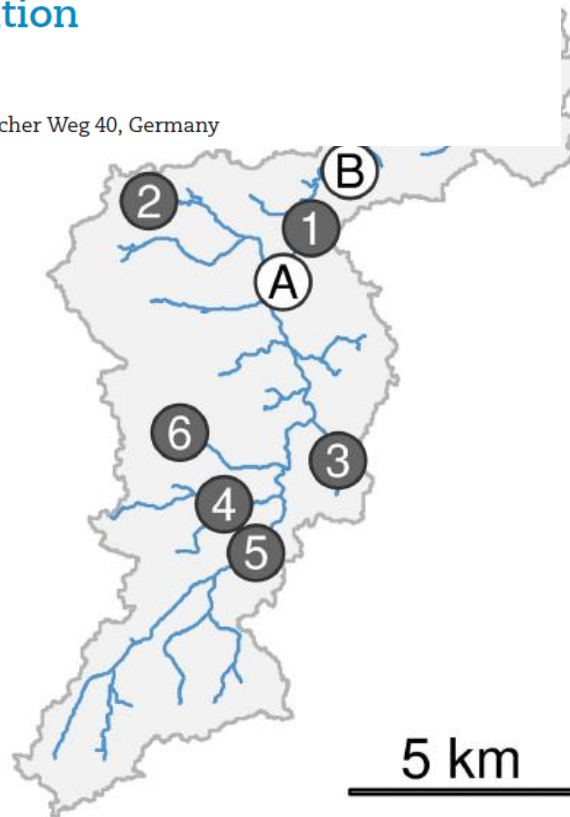


RESEARCH ARTICLE

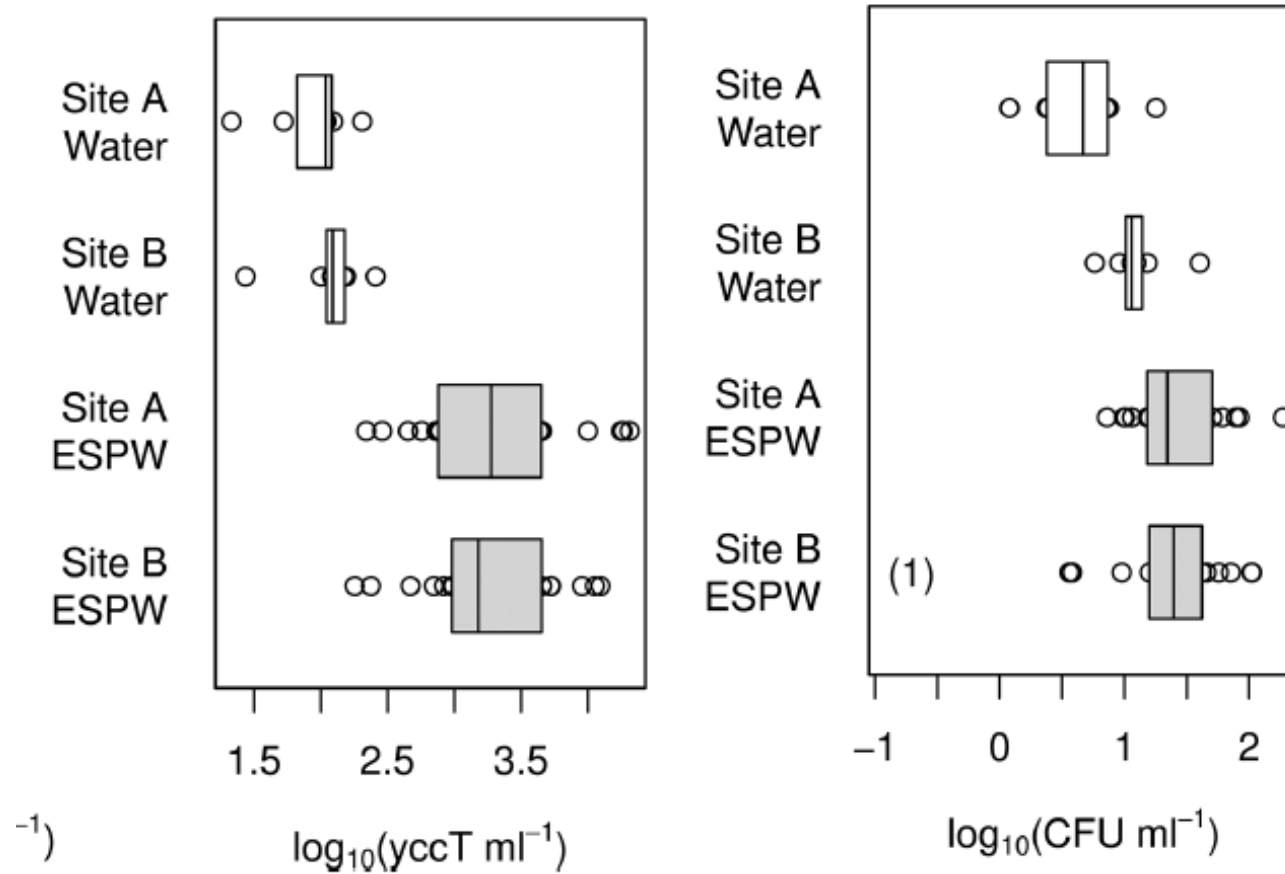
Antibiotic resistant bacteria and resistance genes in the bottom sediment of a small stream and the potential impact of remobilization

S. Heß*, T. U. Berendonk and D. Kneis

TU Dresden, Institute of Hydrobiology, 01062 Dresden, Zellescher Weg 40, Germany



E. coli vor und nach der Einleitung und im Sediment



⁻¹⁾

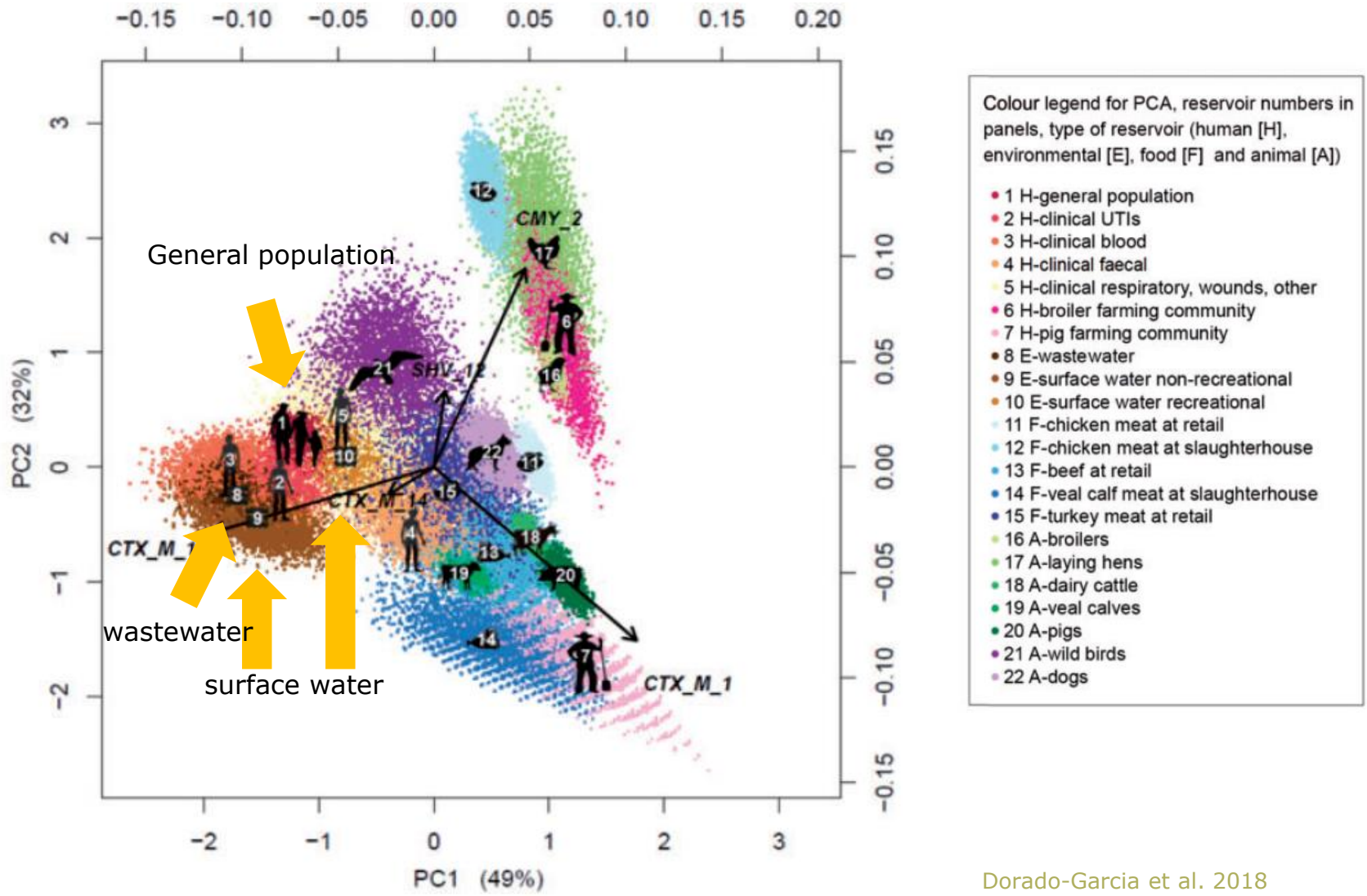
J Antimicrob Chemother 2018; **73**: 339–347
doi:10.1093/jac/dkx397 Advance Access publication 18 November 2017

**Journal of
Antimicrobial
Chemotherapy**

Molecular relatedness of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from humans, animals, food and the environment: a pooled analysis

Alejandro Dorado-García^{1,2*†}, Joost H. Smid^{1†}, Wilfrid van Pelt³, Marc J. M. Bonten^{3,4}, Ad C. Fluit⁴, Gerrita van den Bunt^{3,5}, Jaap A. Wagenaar², Joost Hordijk², Cindy M. Dierikx³, Kees T. Veldman⁶, Aline de Koeijer^{3,6}, Wietske Dohmen¹, Heike Schmitt¹, Apostolos Liakopoulos⁶, Ewa Pacholewicz¹, Theo J. G. M. Lam⁷, Annet G. Velthuis⁶, Annet Heuvelink⁷, Maaïke A. Gonggrijp⁷, Engeline van Duijkeren³, Angela H. A. M. van Hoek³, Ana Maria de Roda Husman^{1,3}, Hetty Blaak³, Arie H. Havelaar^{1,8}, Dik J. Mevius^{2,6} and Dick J. J. Heederik¹

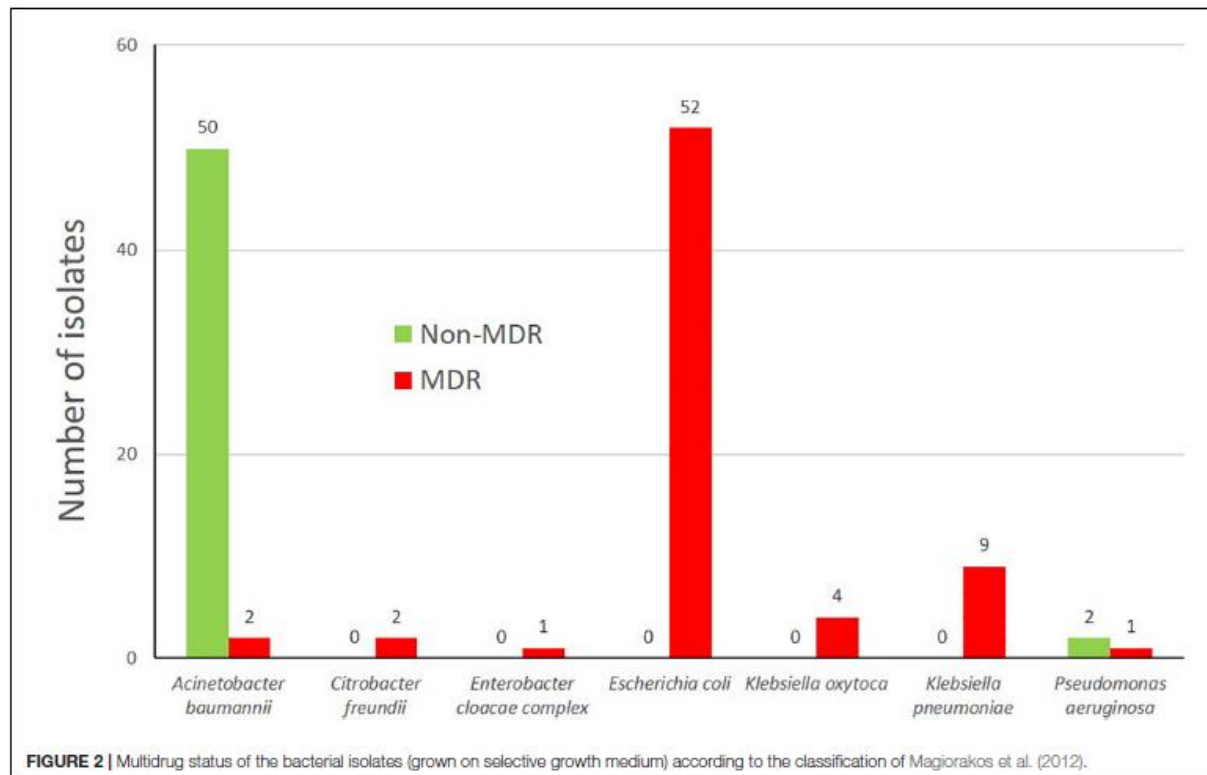
Resistente *Escherichia coli* und deren molekulare Ähnlichkeiten



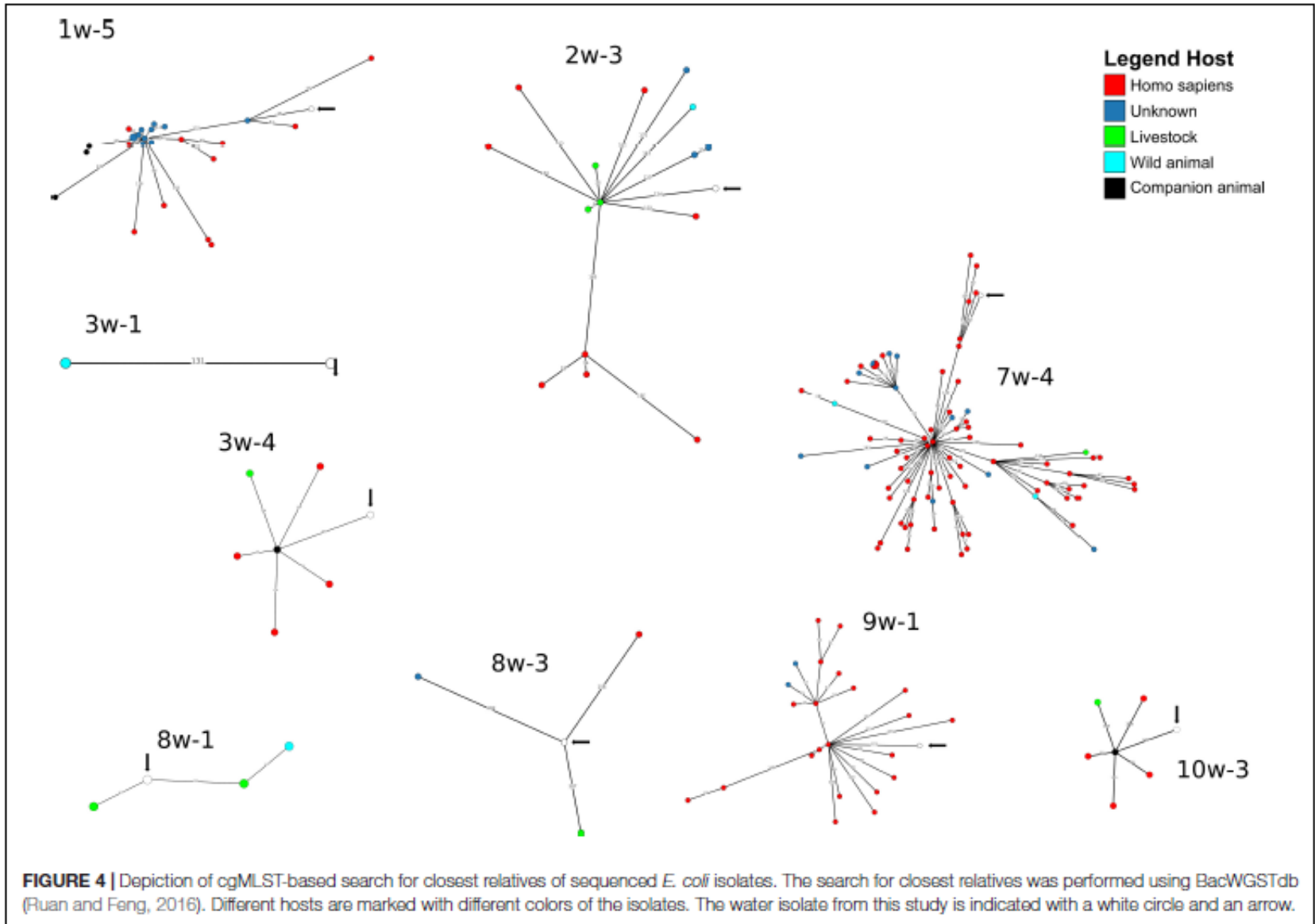


Multidrug-Resistant and Clinically Relevant Gram-Negative Bacteria Are Present in German Surface Waters

Linda Falgenhauer^{1,2*}, Oliver Schwengers^{1,2,3}, Judith Schmiedel^{1,2}, Christian Baars⁴, Oda Lambrecht⁴, Stefanie Heß^{5,6}, Thomas U. Berendonk⁵, Jane Falgenhauer^{1,2}, Trinad Chakraborty^{1,2} and Can Imirzalioglu^{1,2}



Escherichia coli Typisierung



- Die Wahrscheinlichkeit von SchwimmerInnen mit resistenten *Escherichia coli* kolonisiert zu werden.

Risk Factors for Community-Acquired Urinary Tract Infections Caused by ESBL-Producing *Enterobacteriaceae* –A Case–Control Study in a Low Prevalence Country

Arne Søråas^{1*}, Arnfinn Sundsfjord^{2,3}, Irene Sandven⁴, Cathrine Brunborg⁴, Pål A. Jenum¹ 2013

Variable	Adjusted OR	95% CI	P
Travelling to Asia, Middle East or Africa ^a			
- During the past 6 weeks	21	4.5–97	<0.001
- Between the previous 6 weeks to 24 months	2.3	1.2–4.4	0.017
Use of fluoroquinolones the past 90 days	16	3.2–80	<0.001
Use of β -lactams except mecillinam in the past 90 days	5.0	2.1–12	<0.001
Diabetes mellitus	3.2	1.0–11	0.051
Recreational freshwater swim past year	2.1	1.0–4.3	0.040
Age	0.89	0.82–0.97	0.014
Number of fish meals per week	0.68	0.51–0.90	0.008

^aOnly trips lasting >24 hours are included.

doi:10.1371/journal.pone.0069581.t004

OR = Odds Ratio, Chancenverhältniss

Exposure to and colonisation by antibiotic-resistant *E. coli* in UK coastal water users: Environmental surveillance, exposure assessment, and epidemiological study (Beach Bum Survey)



Anne F.C. Leonard^{a,*}, Lihong Zhang^{a,*}, Andrew J. Balfour^a, Ruth Garside^a, Peter M. Hawkey^b, Aimee K. Murray^a, Obioha C. Ukoumunne^c, William H. Gaze^{a,*}

Table 3

The number (%) of surfers and controls colonised by antibiotic-resistant *E. coli*.

	Surfers (N = 143)	Controls (N = 130)	Risk ratio (95% CI)	p value
Carriage of cefotaxime-resistant <i>E. coli</i>	13 (9.1%)	4 (3.1%)	2.95 (1.05 to 8.32)	0.040
Carriage of <i>bla</i> _{CTX-M} bearing <i>E. coli</i>	9 (6.3%)	2 (1.5%)	4.09 (1.02 to 16.4)	0.046



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Resistente darmbacteriën bij open water zwemmers

RIVM Briefrapport 2019-0113
H. Blaak et al.

Resistente Darmbakterien bei Freibadschwimmern

Tabel 3.4-1. ESBL-EC dragerschap in zwemmers vs. algemene bevolking.

	ESBLAT	Zwemmers ^a	Waargenomen	Verwacht	SIR	2,5% OG	97,5% BG	p-waarde
Geslacht								
Man	4,9%	7,1%	7	4,9	1,4	0,6	2,9	0,447
Vrouw	4,0%	11,5%	18	6,3	2,9	1,7	4,5	0,000
Geboorteland								
Nederland	4,3%	9,6%	24	10,7	2,2	1,4	3,3	0,001
Ander land	9,4%	20,0%	1	0,5	2,1	0,0	11,9	0,750
Leeftijdsgroep								
13-19	4,9%	33,3%	1	0,1	6,8	0,1	37,9	0,279
20-39	3,8%	8,8%	5	2,2	2,3	0,7	5,3	0,143
40-64	4,9%	9,6%	18	9,3	1,9	1,2	3,1	0,014
65-70	4,3%	12,5%	1	0,3	2,9	0,0	16,2	0,576
Bilddingsniveau								
Hoog	5,5%	9,6%	18	10,3	1,7	1,0	2,8	0,037
Middel	3,5%	9,5%	6	2,2	2,7	1,0	5,9	0,050
Laag	4,2%	33,3%	1	0,1	7,9	0,1	43,8	0,244
Reizen buiten de EU in de afgelopen 6 maanden								
Ja	8,8%	18,9%	10	4,6	2,2	1,0	4,0	0,042
Nee	3,7%	7,4%	15	7,6	2,0	1,1	3,3	0,023
Trainingszustand de afgelopen 12 maanden								
Ja	5,7%	36,4%	4	0,6	6,4	1,7	16,4	0,008
Nee	4,3%	8,6%	21	10,5	2,0	1,2	31,1	0,006
Antibioticagebruik in de afgelopen 12 maanden								
Ja	5,4%	9,1%	3	1,8	1,7	0,3	4,9	0,533
Nee	4,0%	9,9%	22	9,0	2,4	1,5	3,7	0,000
Professioneller Kontakt mit Patienten								
Ja	4,1%	22,2%	8	1,5	5,4	2,3	10,7	0,000
Nee	4,5%	7,7%	17	9,9	1,7	1,0	2,8	0,048
Overall	4,5%	9,8%	25	11,4	2,2	1,4	3,2	0,001

De percentages geven het percentage ESBL-EC positieve deelnemers weder onder de deelnemers van ESBLAT en de zwemmers, in de verschillende sub- of risicogroepen. Naast de percentages staan het aantal waargenomen dragers onder de zwemmers en het aantal dat verwacht zou worden als per categorie de prevalentie bij ESBLAT deelnemers en zwemmers hetzelfde was. ^aGebruikt zijn de resultaten van na evenementen. SIR = Standardised Incidence Ratio (gestandaardiseerde incidentieratio), OG = ondergrens, BG = bovengrens.

Resistente Darmbakterien bei Freibadschwimmern

Blaak et al.

- Die durchschnittlichen ESBL-EC-Konzentrationen in Wasser, in dem Schwimmveranstaltungen lagen in der Größenordnung dessen, was zuvor an offiziellen Schwimmorten festgestellt wurde (1,3 KBE / 100 ml, Blaak et al. 2014).
- Es wurde geschätzt, dass bei diesen Konzentrationen die durchschnittliche Chance, eine ESBL-EC pro Schwimmveranstaltung zu erhalten, bei Frauen 13%, bei Männern 16% und bei Kindern 21% beträgt (Schijven et al. 2015).
- Diese Ergebnisse basieren auch auf Daten zur Wasseraufnahme beim Schwimmen in Süßwasser, die anhand einer repräsentativen Stichprobe von 8.000 Niederländern erhoben wurden

- Europaweite Daten zu Resistenzgenen im Ablauf der Kläranlagen und Oberflächengewässern

Antibiotikaresistenz und der europäische Kontext

Kläranlagen und Gewässer



StARE
Stopping Antibiotic
Resistance Evolution

2013 Water JPI Pilot Call focused on "Emerging water contaminants-anthropogenic pollutants and pathogens"

Water JPI

National Funding Agencies
Portugal
Spain
Cyprus
Germany
Ireland
Norway
Finland

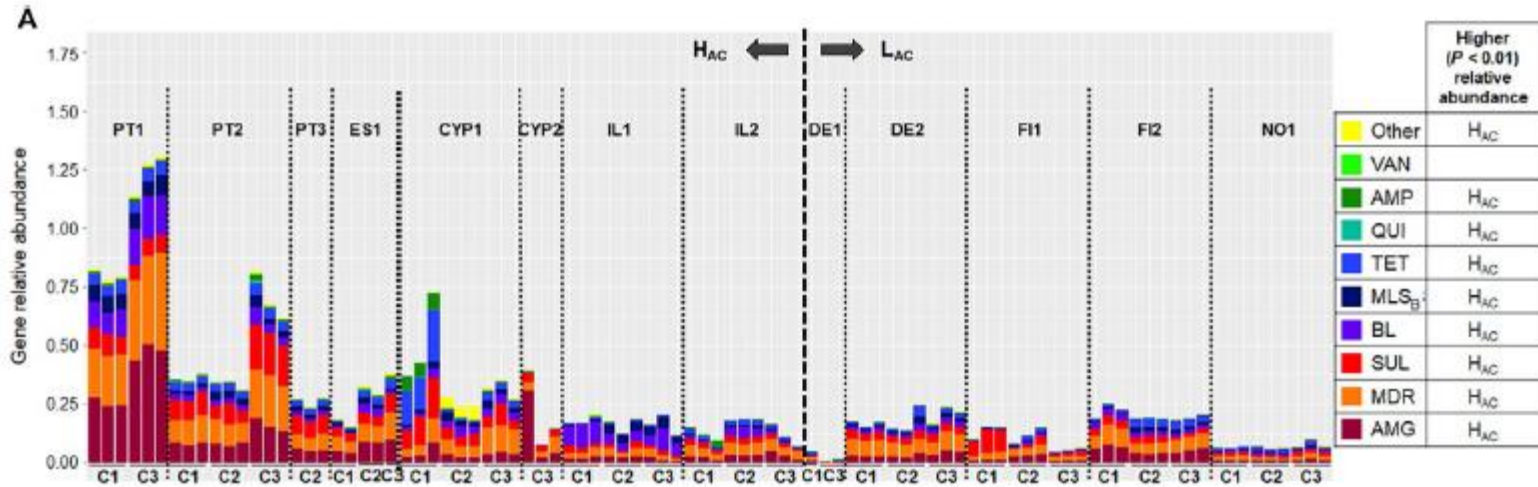
Partners

7 countries, 10 institutions



Antibiotikaresistenz und der europäische Kontext

Kläranlagen und Gewässer

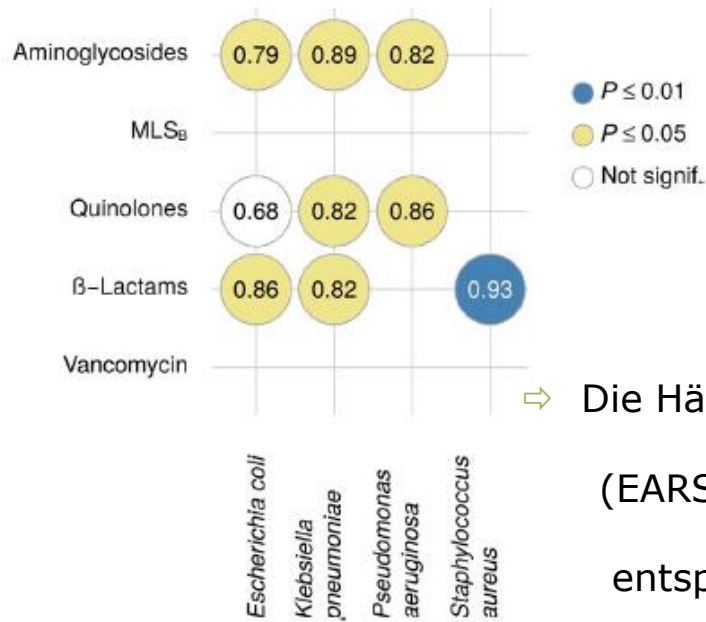


Nationen mit höheren Antibiotikaverbrauch Nationen mit geringerem Antibiotikaverbrauch

- ⇒ Antibiotikaverbrauch und relative Anzahl der Resistenzgenkopien im Ablauf der Kläranlagen korrelieren

Antibiotikaresistenz und der europäische Kontext

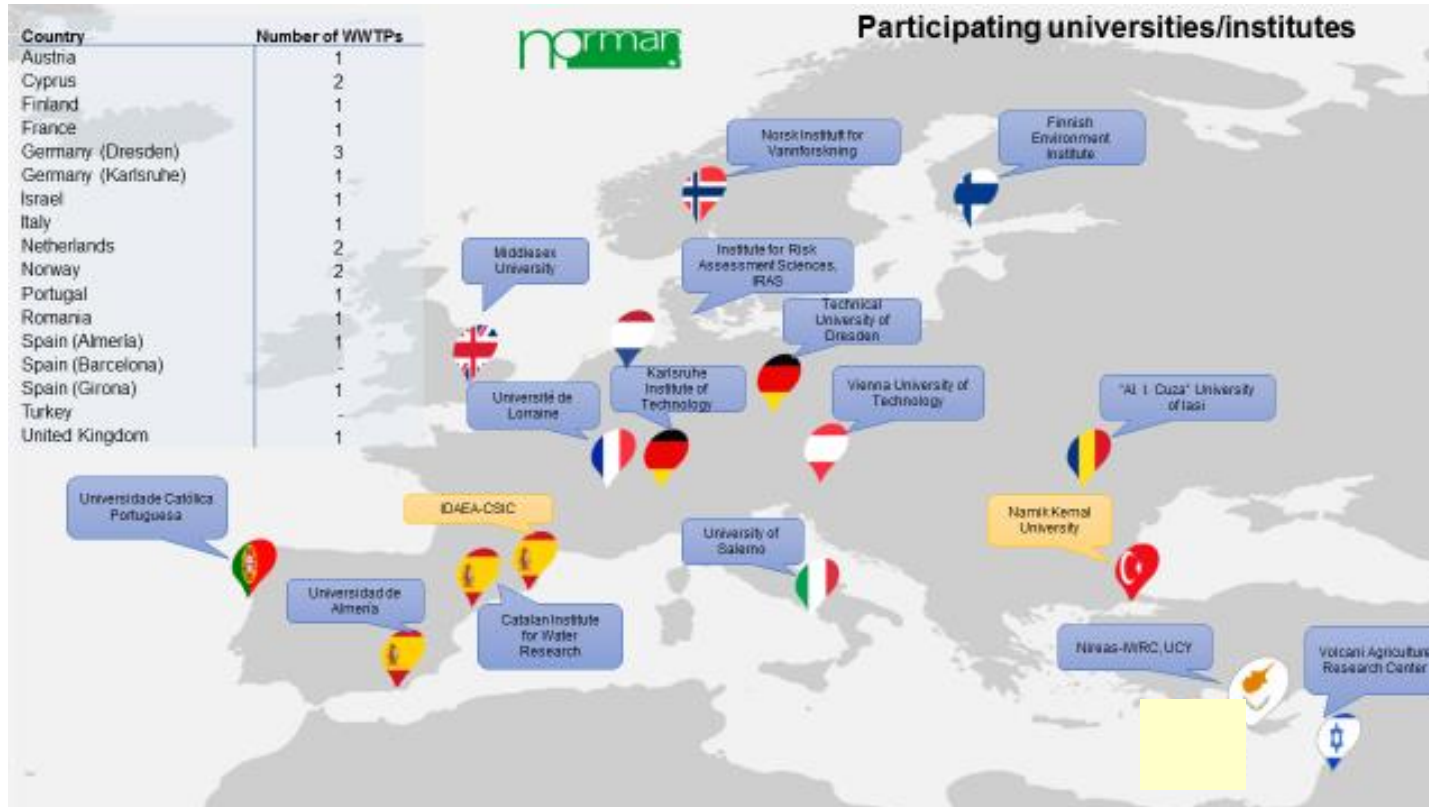
Kläranlagen und Gewässer



⇒ Die Häufigkeit resistenter Bakterien in Kliniken (EARS-Net) korreliert mit der relativen Anzahl entsprechender Resistenzgenkopien in Kläranlagenabläufen

Antibiotikaresistenz und der europäische Kontext

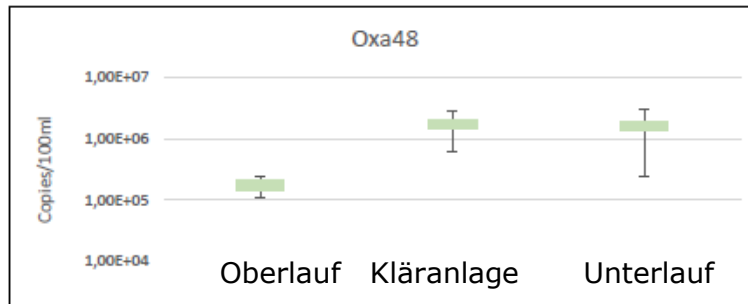
Kläranlagen und Gewässer



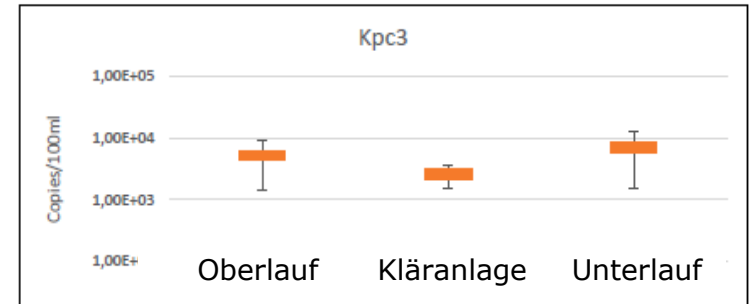
Antibiotikaresistenz und der europäische Kontext

Kläranlagen und Gewässer

β -Lactamase, Carbapenemase – z.B Imipinem



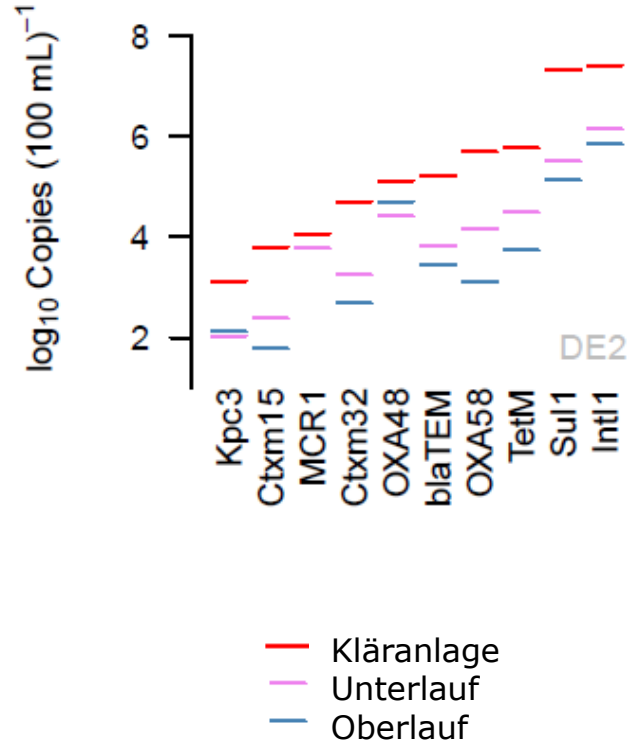
β -Lactamase – Penicillin *K. pneumoniae*



⇒ Für bestimmte Resistenzgenkopien ist die Konzentration im Gewässer nach dem Kläranlagenablauf erhöht.

Antibiotikaresistenz und der europäische Kontext

Kläranlagen und Gewässer



- Ein Beispiel aus Deutschland

⇒ Genereller Trend der Konzentrationen unterschiedlicher Resistenzgenkopien

gilt aber für alle Nationen

Zusammenfassung

- Resistente *Escherichia coli* scheinen persistent in Oberflächengewässern
- Die europäischen Ergebnisse unterstützen die Hypothese das Resistenzgene in den Gewässern angereichert werden.
- Einzelne Studien belegen die prinzipielle Möglichkeit einer erhöhten Besiedlung mit resistenten *Escherichia coli* für intensive Nutzer von Badegewässern (Oberflächengewässer). Diese Studien stammen aus Norwegen, UK und den Niederlanden.
- Offene Fragen: Viele
- Dringender Bedarf für viel mehr Resistenzdaten in der Umwelt (vergleichbar zu existierenden Daten im klinischen Bereich)



Ex- COST Action DARE members

NORMAN-network



JPI-water StARE Stopping antibiotic resistance evolution



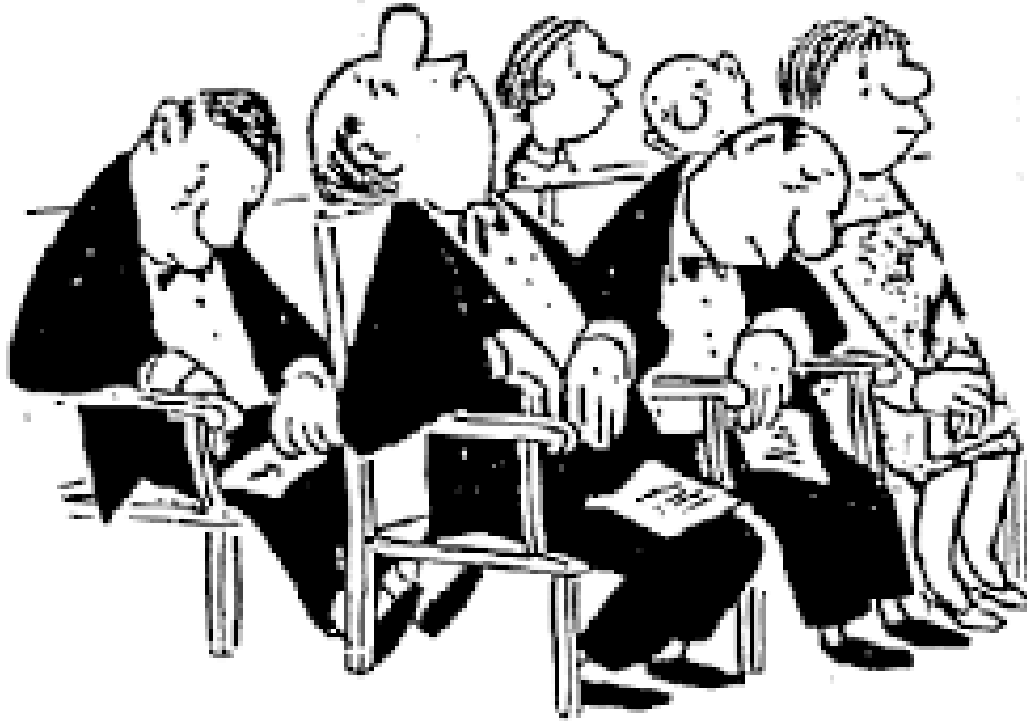
ANSWER



"HYREKA" <http://hyreka.ihph.de/>

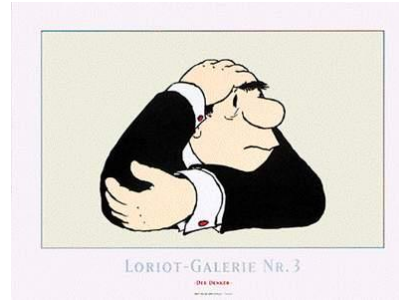


Danke fürs Zuhören



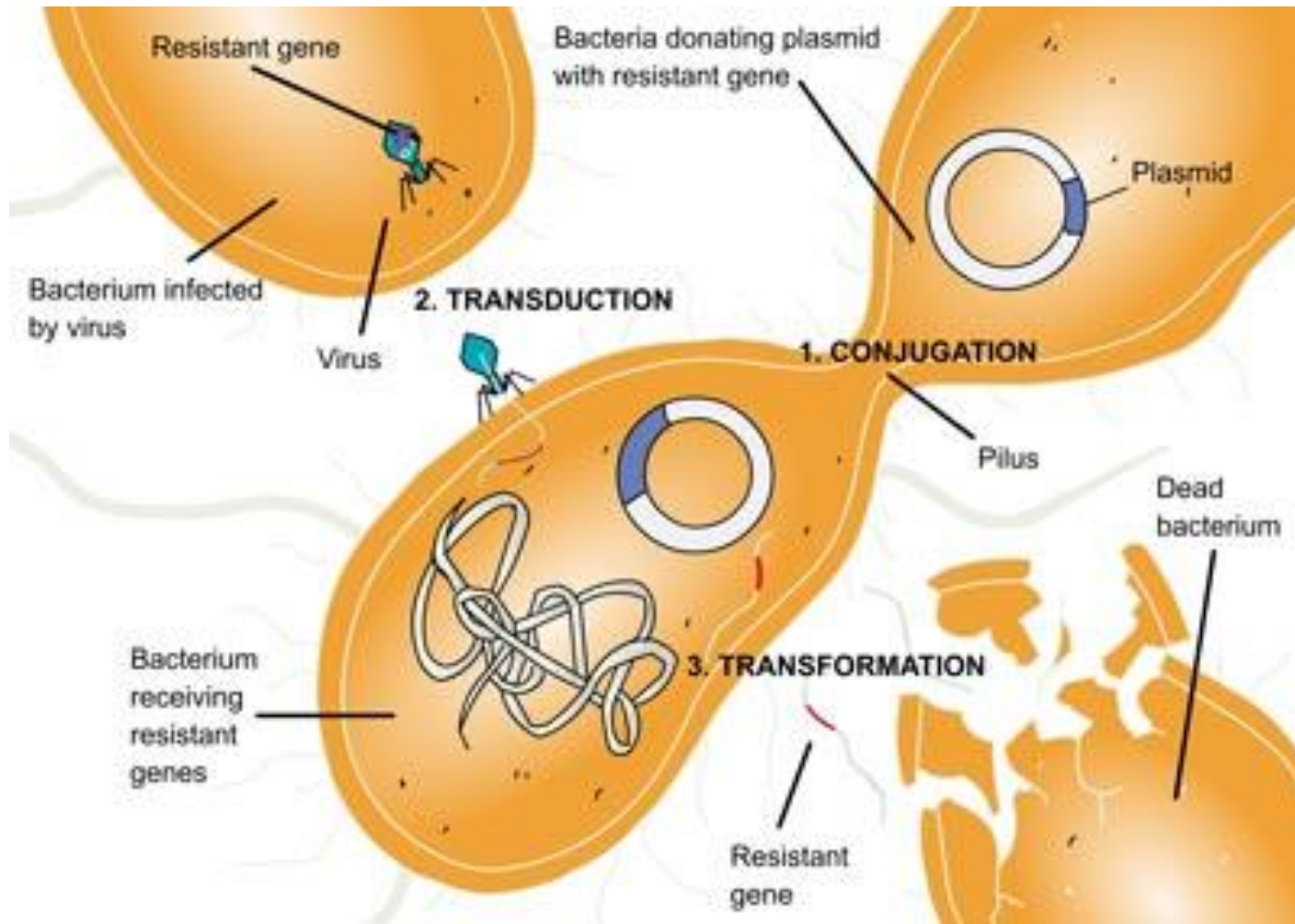
Loriot

What do we not know ?

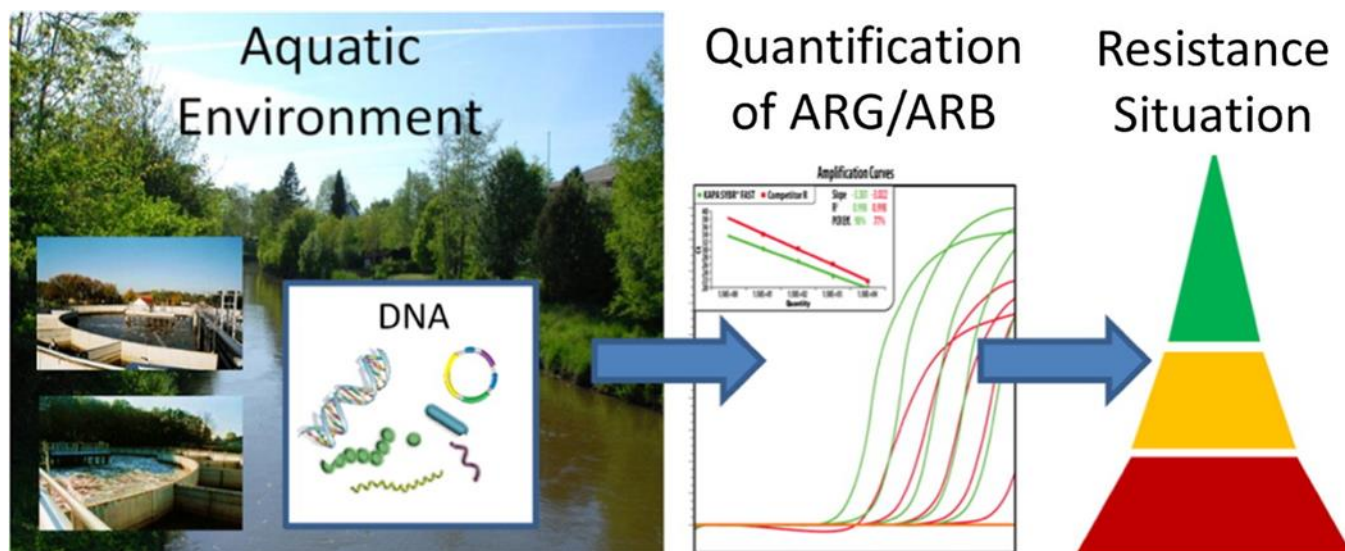


- We have still to know to what extent natural environments are enriched with antibiotic resistance due to anthropogenic sources.
- The understanding of biological processes that increase or reduce the abundance of antibiotic resistance is rudimentary at best.
- Methods and technologies for the monitoring of antibiotic resistance in water are still in development and under discussion (especially an integrated monitoring „one health“).
 - ⇒ The importance of CSOs is still unclear
- Threshold values of ARGs for regulative purposes are difficult to formulate
 - ⇒ For natural waters
 - ⇒ For wastewater reuse

Vertical and horizontal gene transfer: Conjugation, transformation and transduction



Antibiotic resistance gene (ARG) quantification

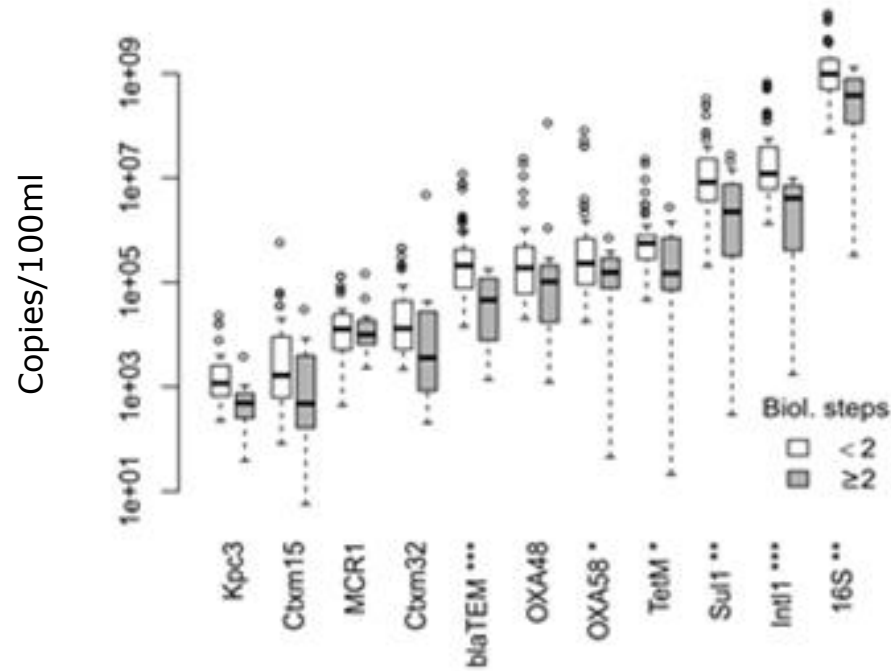


Antibiotic resistance gene (ARG) quantification

- Quantification as number of ARG copies per 16S („bacterial mass“)
 - ⇒ „relative number of resistance genes“
- Quantification as number of ARG copies per volume
 - ⇒ „absolute number of resistance genes“ (concentration)
- Quantification as number of different types of resistance genes
 - ⇒ „diversity of resistance genes“

Antibiotic resistance and the European context

Treatment plant effluent

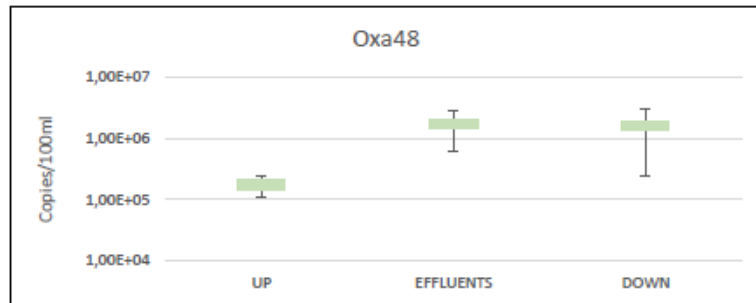


- ⇒ Treatment plants with more than two biological steps (secondary clarifier) release less antibiotic resistance genes (absolute number)

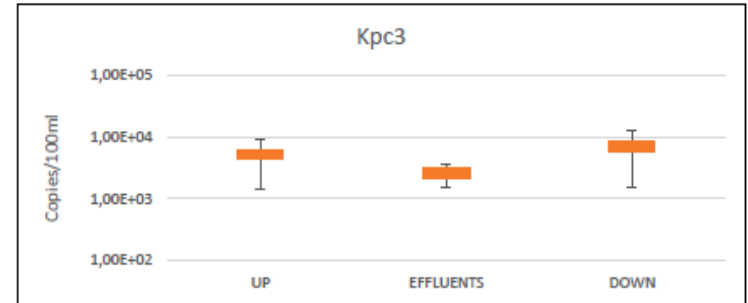
Antibiotic resistance and the European context

Treatment plant effluent and receiving water

β -Lactamase, Carbapenemase – z.B Imipinem



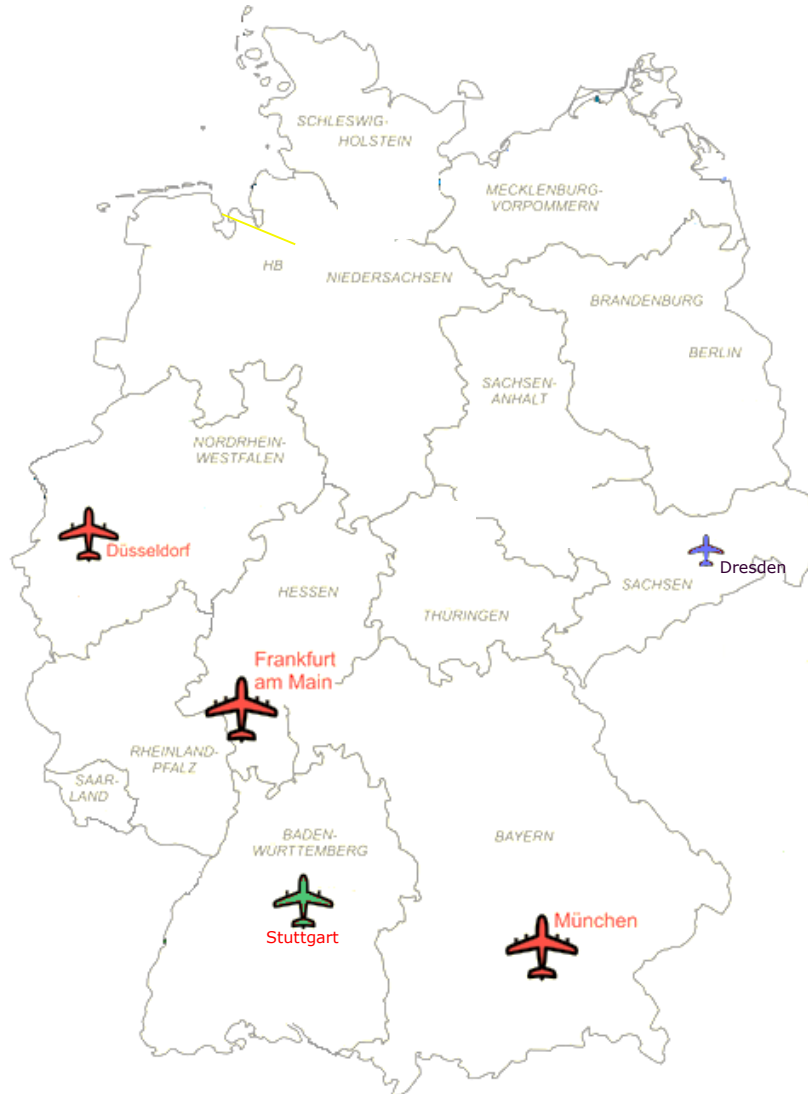
β -Lactamase – Penicillin *K. pneumoniae*



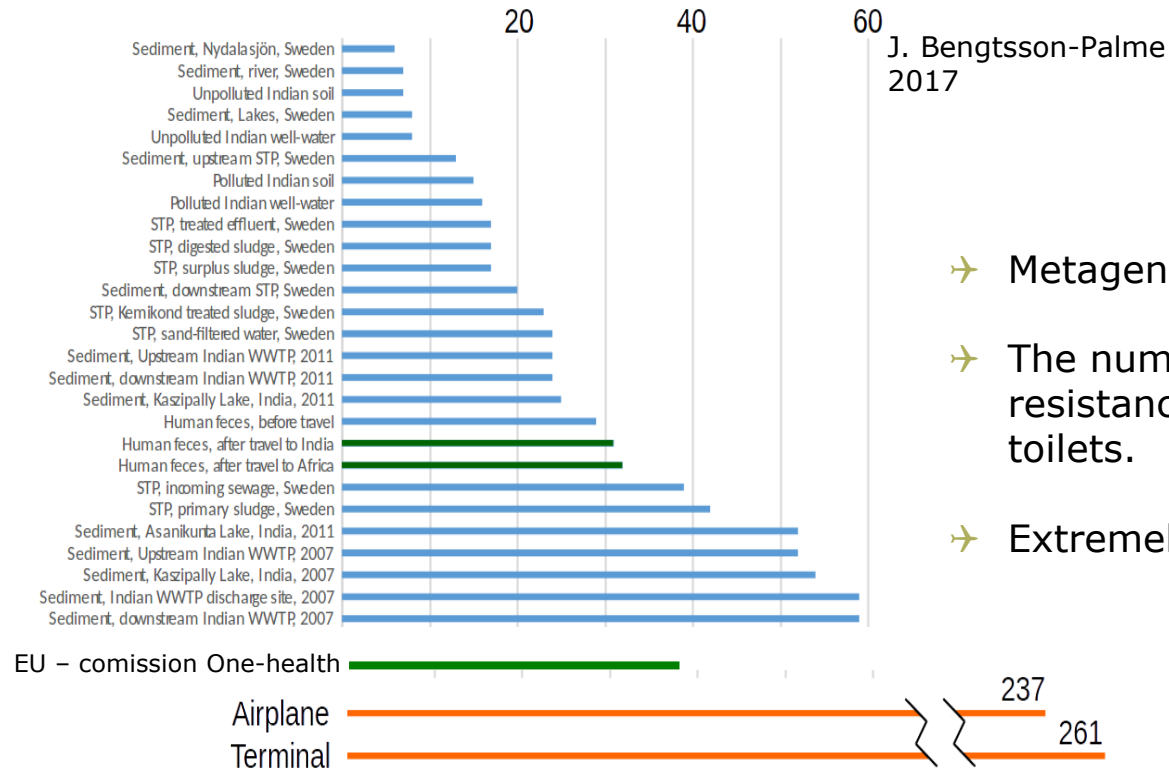
⇒ For certain types of ARGs the absolute number of ARGs is increased downstream of the treatment plant

Metagenomics of airport wastewater

- Diversity of resistance genes
⇒ airplane and terminal



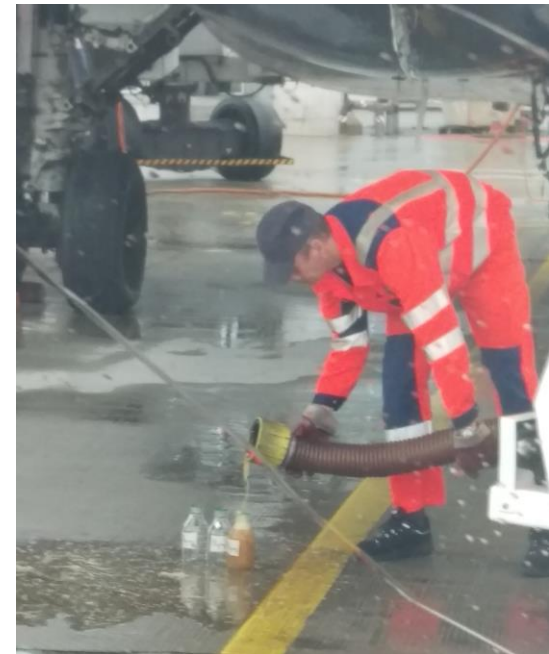
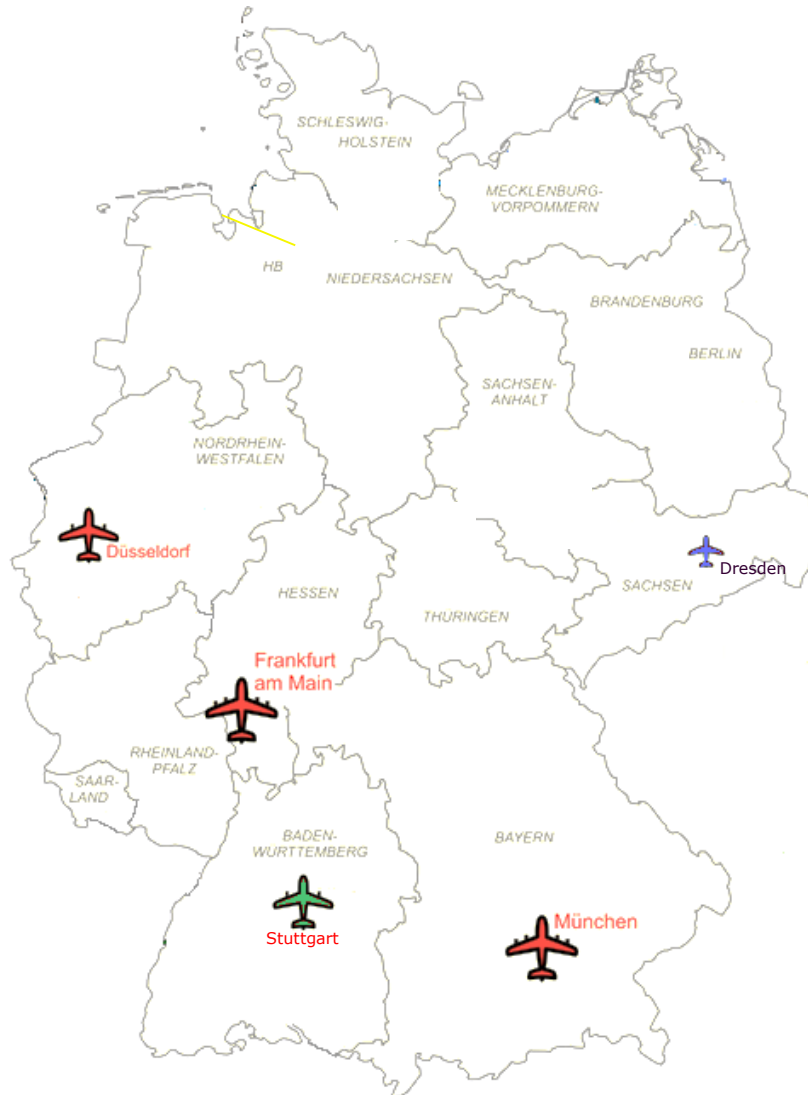
Antibiotic resistance at plane toilets



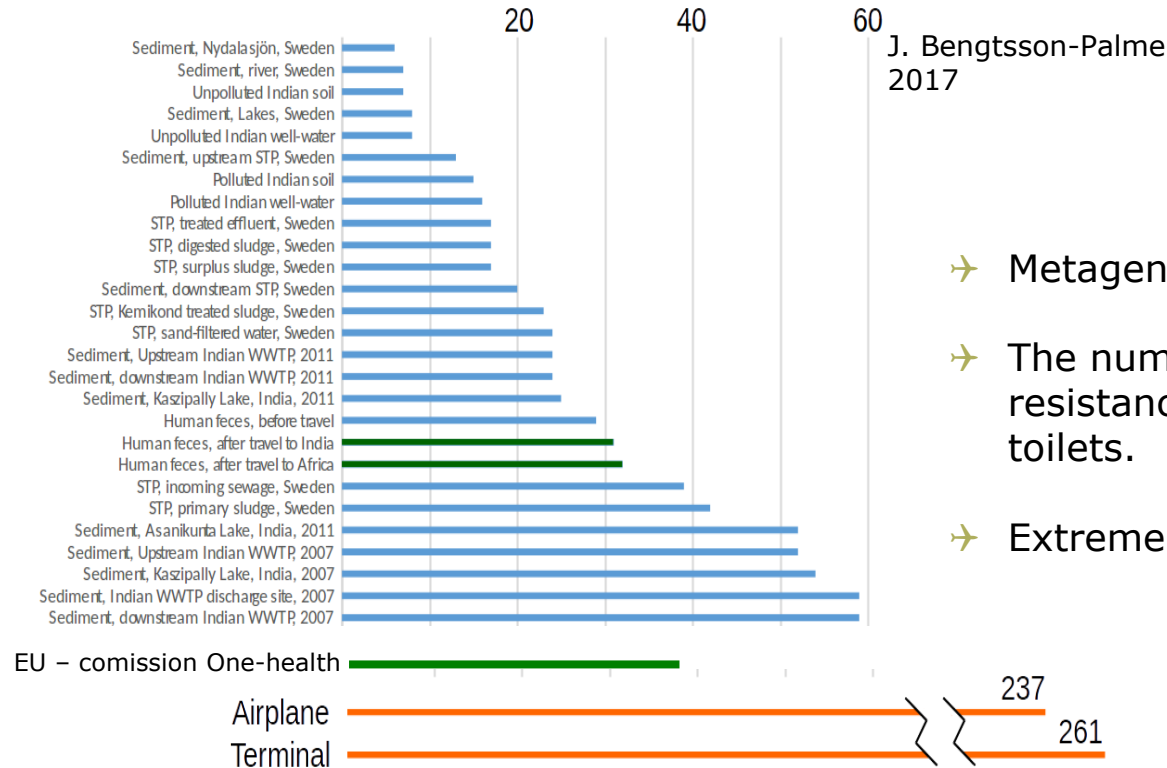
- ➔ Metagenomic analysis
- ➔ The number of DIFFERENT TYPES of resistance genes is highest in plane toilets.
- ➔ Extremely high Diversity

Metagenomics of airport wastewater

- Diversity of resistance genes
⇒ airplane and terminal

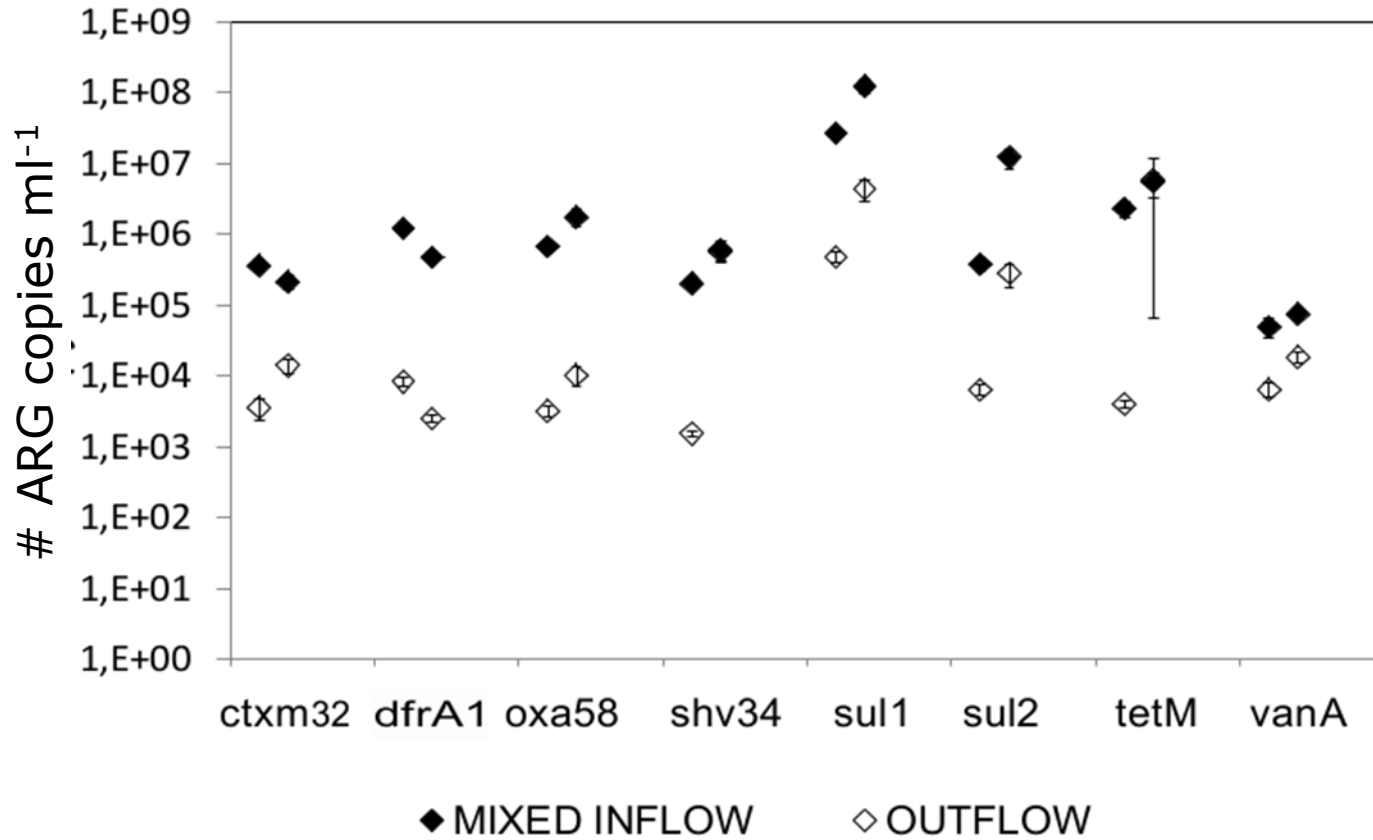


Antibiotic resistance at plane toilets

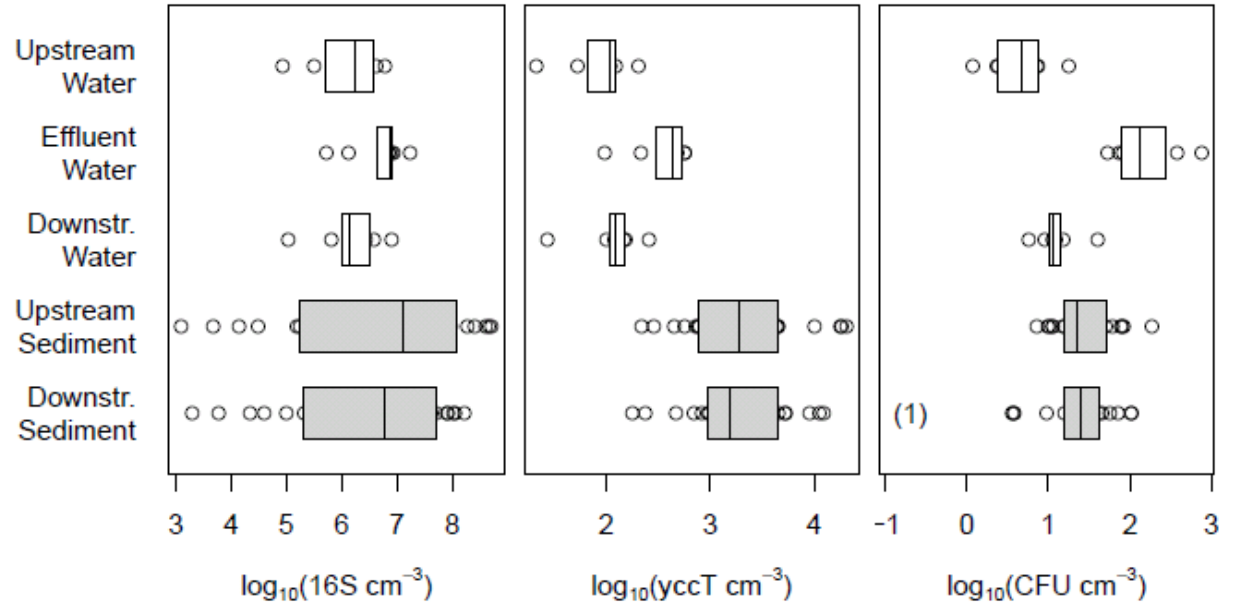
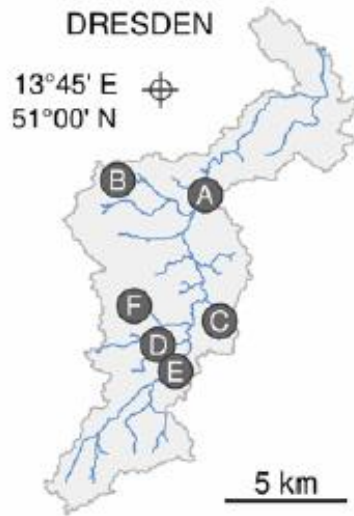


- ➔ Metagenomic analysis
- ➔ The number of DIFFERENT TYPES of resistance genes is highest in plane toilets.
- ➔ Extremely high Diversity

of Antibiotic resistance gene (ARG) per ml (2012–2013)

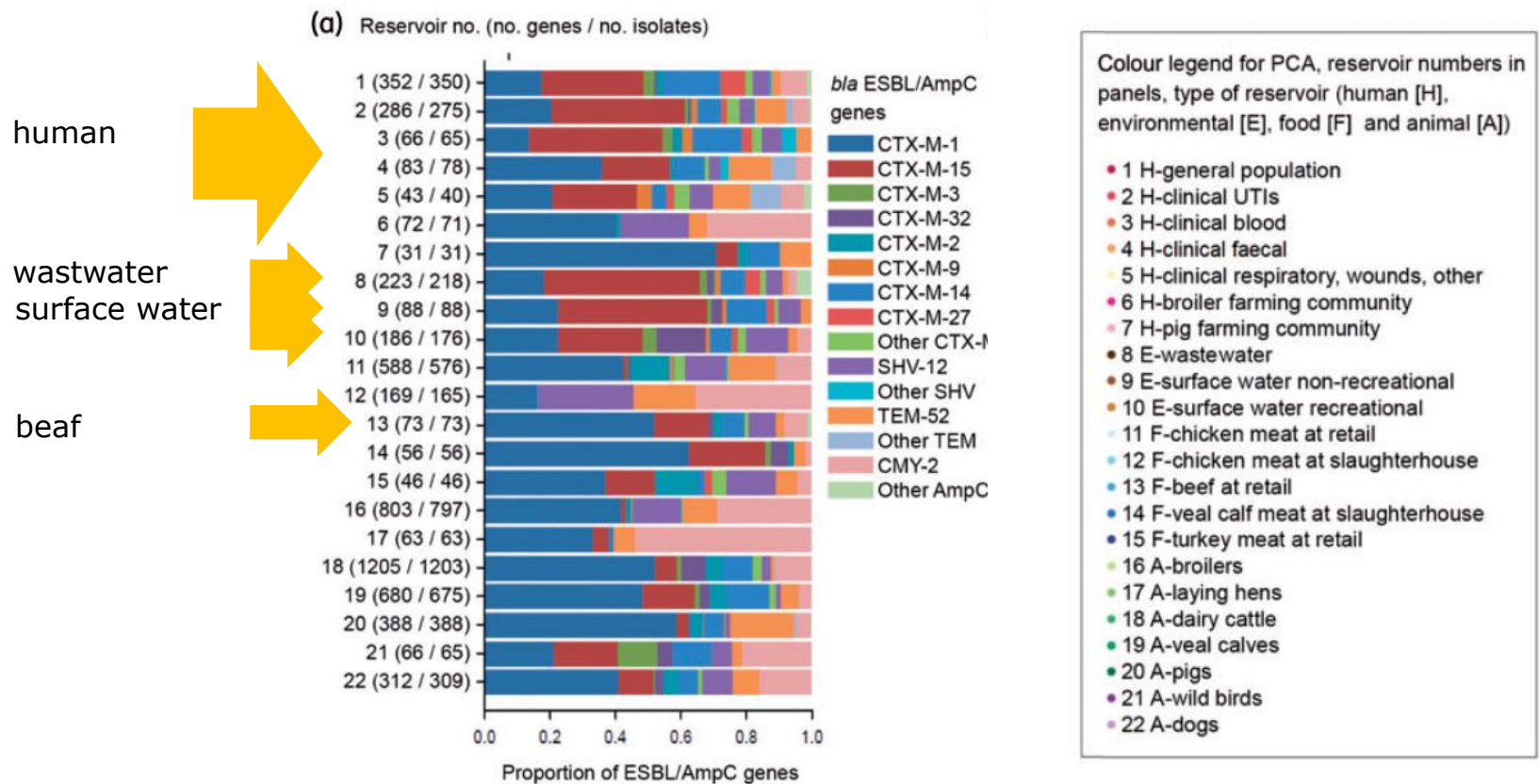


... and the receiving water ?



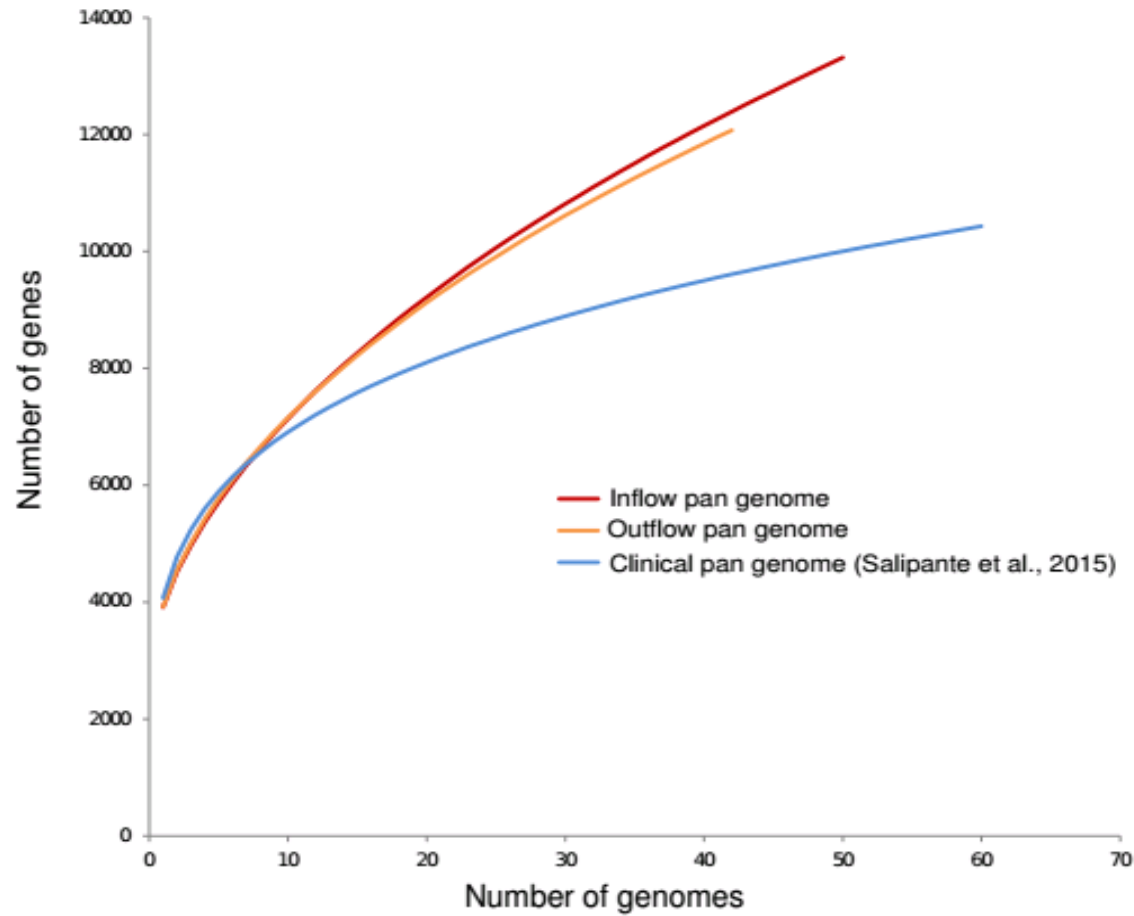
ESBL/AmpC-producing Escherichia coli

- isolates of 35 studies in the netherlands from the years 2005 and 2015
- plasmids of 5808 isolates across 22 environments

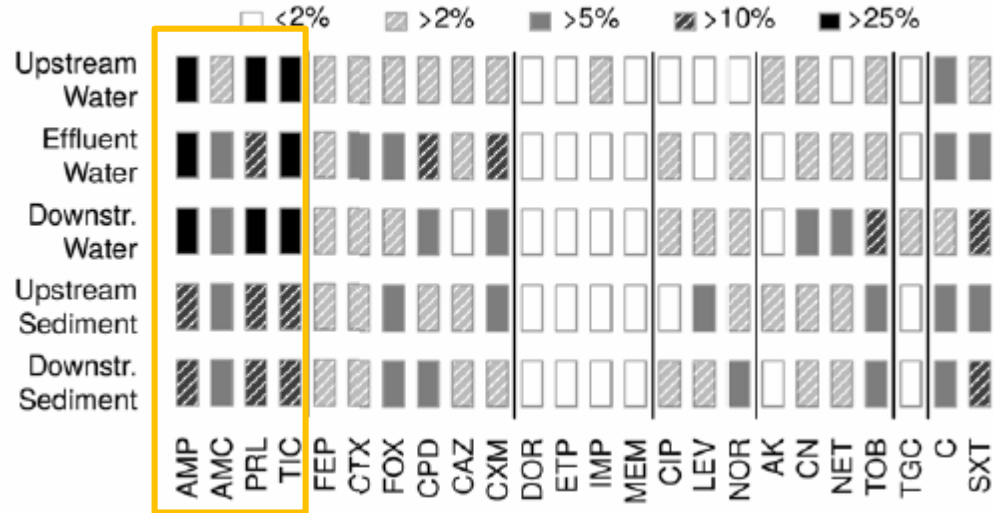
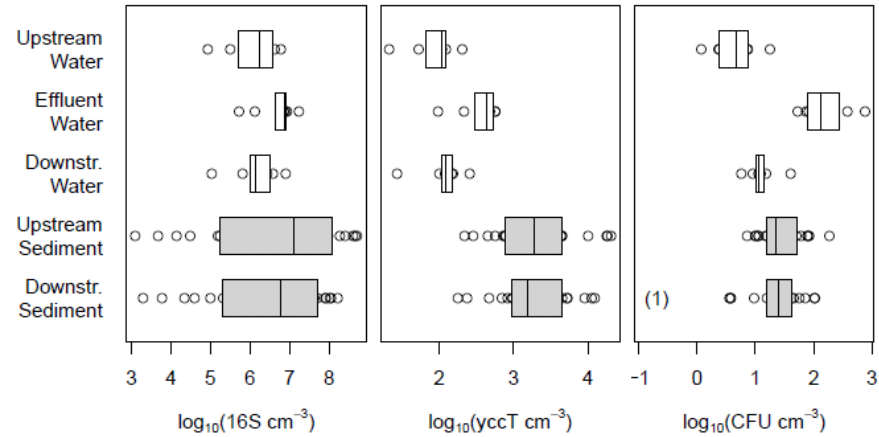
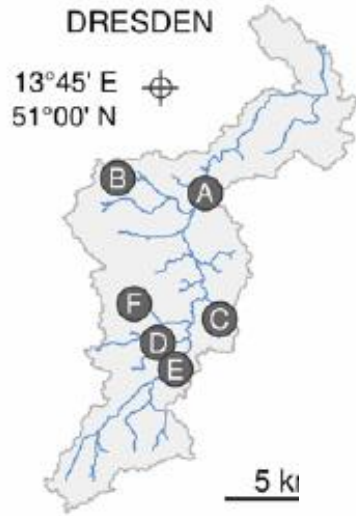


Dorado-Garcia et al. 2018

Genome analyses of 100 isolates



... and the receiving water ?

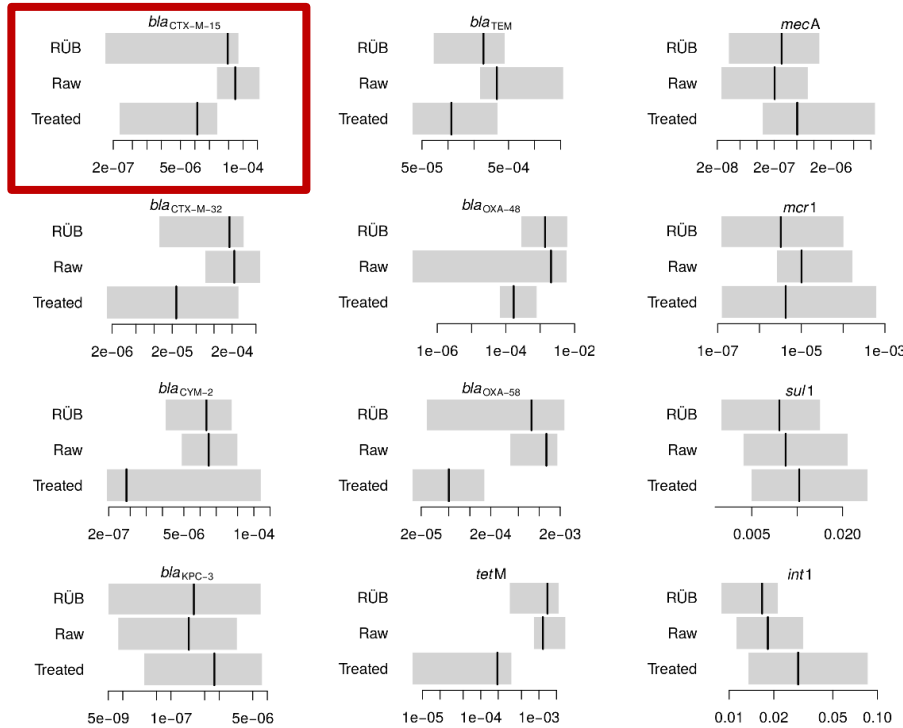


Penicilline

Antibiotikaresistenz in Deutschland

Regenüberlaufbecken (sieben Ereignisse in zwei Jahren)

Entlastung/RÜB
Zulauf
Ablauf



- Relative Anzahl der Resistenzgenkopien in den RÜBs ist ähnlicher zum Zulauf der Kläranlage als zum Ablauf