

Kommunale Kläranlagen, Eliminationsverfahren

Bewertung unterschiedlicher Kläranlagen und Abwasserbehandlungs-
verfahren zur Entfernung fakultativ-pathogener Bakterien und Antibiotika-
Resistenzen

Prof. Dr. Thomas Schwartz

Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Institut für Funktionelle Grenzflächen (IFG), Abteilung Mikrobiologie/Molekularbiologie

Problematik: Antibiotikaresistenz, ein heutiges und zukünftiges Risiko für den Mensch



In **Europa** jährlich ca. **25.000 Todesfälle** durch Infektionen mit Antibiotika-resistenten Bakterien.

Ein Teil der gesunden Bevölkerung ist bereits **Träger dieser Bakterien**, ohne Infektionsgeschehen.

In Deutschland ist etwa **jede 10. Person Träger** multiresistente Erreger (MRE) (siehe Tabelle).

Ausgewählte MRE	Besiedlung (%)	MRE-Träger Deutschland
MRSA	1-2%	1.1 Millionen
Vancomycin-resistente Enterokokken	1%	810 000
ESBL-bildende E. coli	7%	5,7 Millionen
Carbapenemase-produzierende Bakterien	0,1-0,3%	162 000
Summe	Ca. 10%	7,8 Millionen

Aus: Antibiotikaeinsatz und Resistenzentwicklung in Deutschland: Studie im Auftrag der Bundestagsfraktion Bündnis '90/Die Grünen

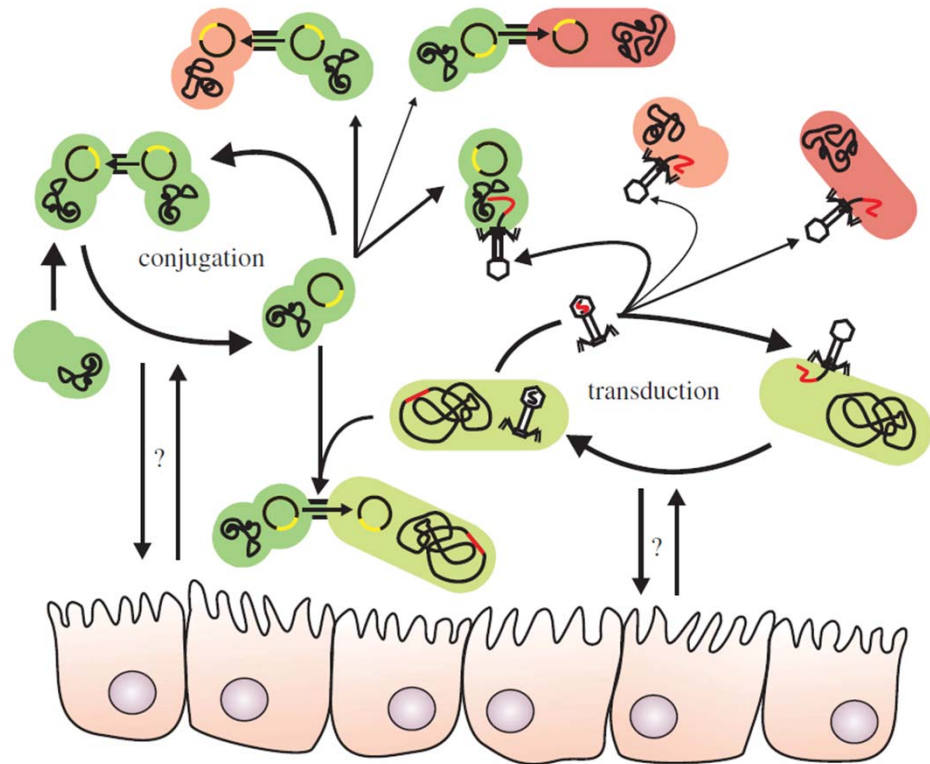
Vermeidung einer Kolonisierung und Verbreitung von Antibiotika-Resistenzen ist oberstes Ziel!

Verbreitung über Horizontalen Gentransfer im menschlichen Darmsystem (Mikrobiom)



Eindringende fakultativ-pathogene Bakterien, wie **Enterobakterien** und **Enterokokken**, können in natürlichen Bakterien-Biozönosen (z.B. Darmsysteme oder anderen Biofilmen) Resistenzgene erwerben und vor allem auch weitergeben (d.h. Konjugation, Transformation, Transduktion).

➔ **Risikogeschehen bei Kolonisierung**

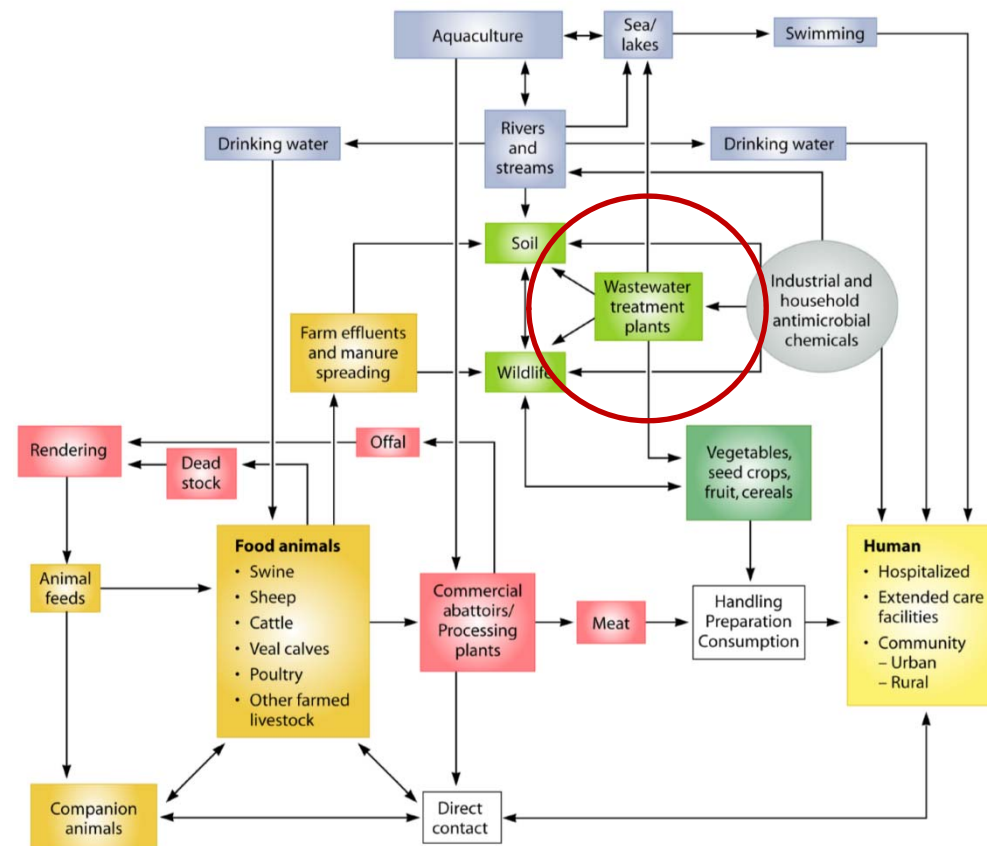


van Schaik, 2014

Verbreitungswege der ARGs/ARBs



Verbreitung von Antibiotika und Antibiotikaresistenzen über die Landwirtschaft, häusliche Bereiche, Krankenhäuser, Kläranlagen und assoziierten Umweltbereiche.

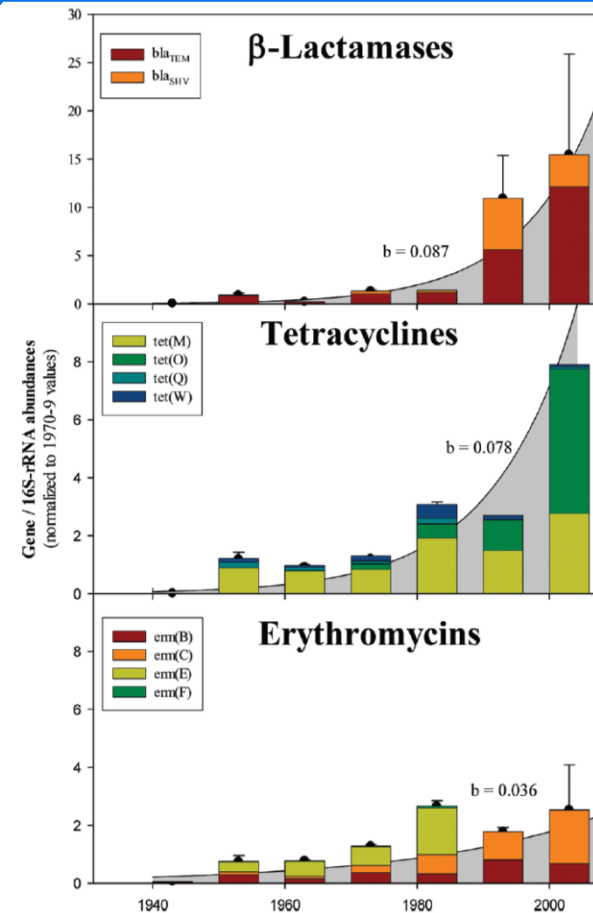


Davies & Davies, 2010

Hinweis auf Zunahme der Antibiotika-Resistenzgene in der Umwelt

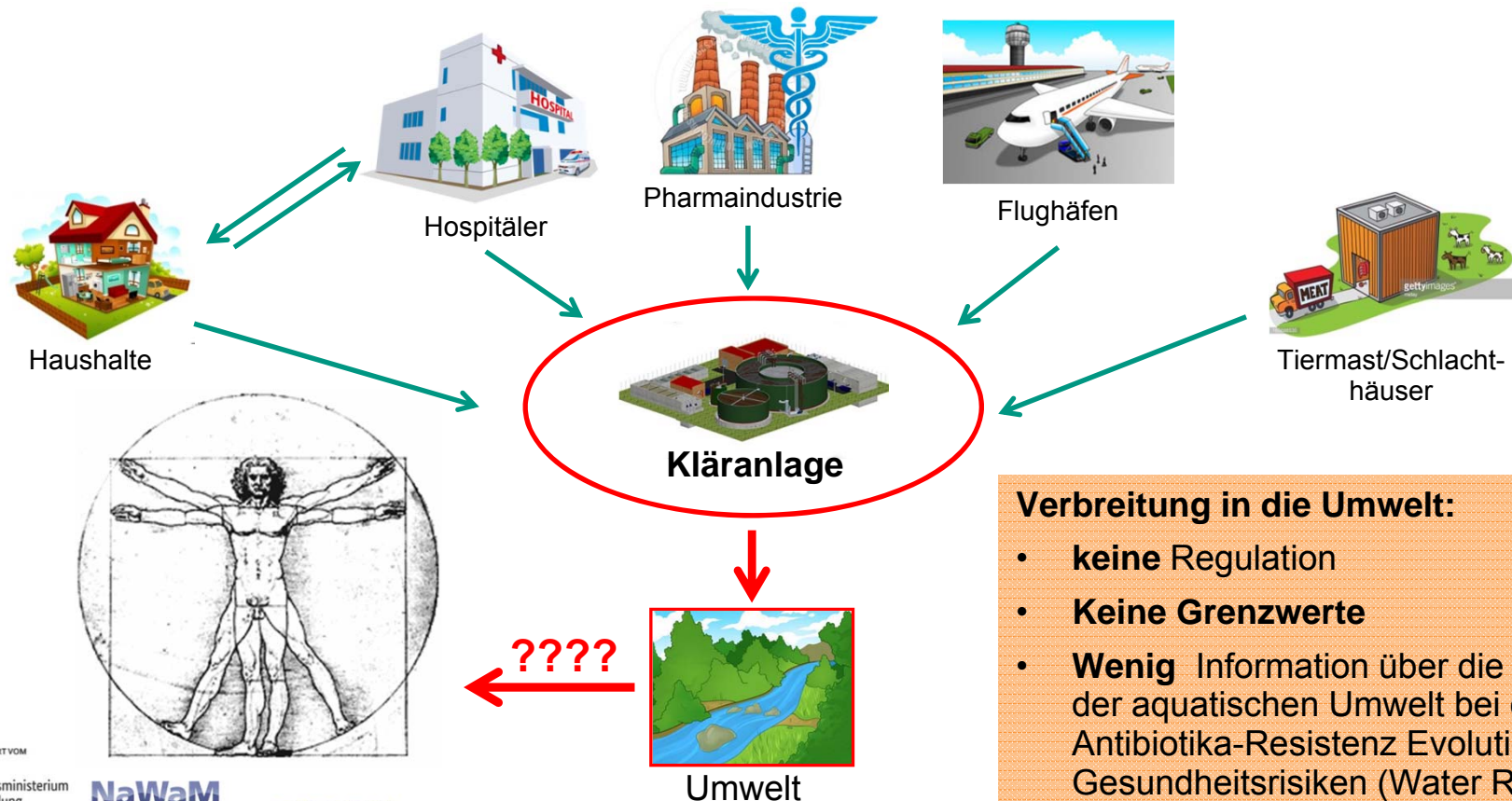


Relative Zunahme von Antibiotika-Resistenzgenen in 5 unterschiedlichen Böden in den Niederlanden von 1940 bis 2008.



(Knapp et al., 2010)

Antibiotikaresistenzen und fakultativ-pathogene Bakterien: Auftreten und Verbreitung (HyReKA)



Verbreitung in die Umwelt:

- **keine** Regulation
- **Keine Grenzwerte**
- **Wenig** Information über die Rolle der aquatischen Umwelt bei der Antibiotika-Resistenz Evolution bzw. Gesundheitsrisiken (Water Reuse)

In HyReKA untersuchte Antibiotika-Resistenzen und fakultativ-pathogene Bakterien



Antibiotika-Resistenzgene: alle **klinisch relevant** und auf verschiedene Bakterien übertragbar über **mobile genetische Elemente**

Colistin Resistenz (*mcr-1*)

Vancomycin Resistenz (*vanA*)

Methicillin Resistenz (*mecA*)

Imipenem Resistenz (*blaVIM*)

Metallo- β -Lactamase (*blaNDM-1*, *blaKPC-3*)

Erythromycin Resistenz (*ermB*)

Serin- β -Lactamase (OXA48)

Tetracyclin Resistenz (*tetM*)

Sulfonamid Resistenz (*su1*)

Serin- β -Lactamase (*blaTEM*)

Serin- β -Lactamase (*blaCTX-M-32*, *blaCMY-2*)

Fakultativ-pathogene Bakterien: alle Abwasser-relevante Keime können Träger von Antibiotika-resistenzgenen sein und sind von klinischer Relevanz.

E. coli

Klebsiella pneumoniae

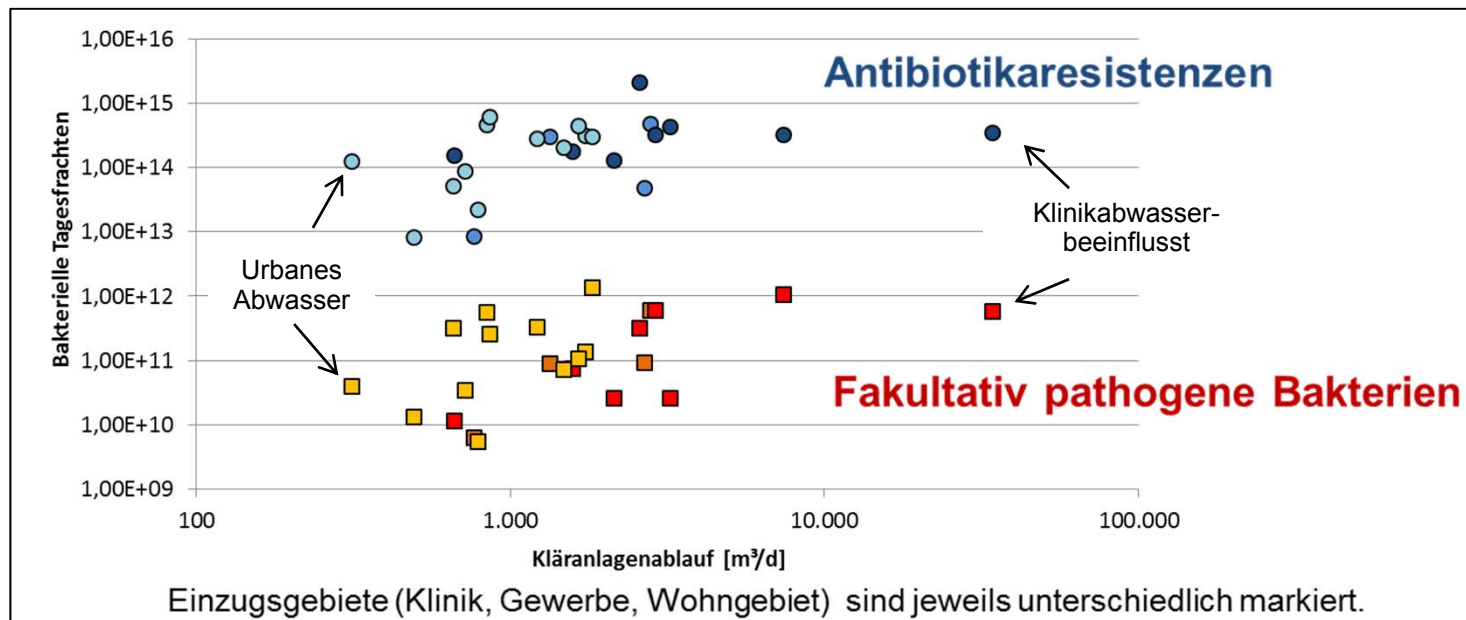
Acinetobacter baumannii

intestinale Enterokokken

Pseudomonas aeruginosa

Die Häufigkeit des Auftretens dieser kritischen Keime und Antibiotikaresistenzen wird mit spezifischen molekularbiologischen Methoden (qPCR) und im Kulturverfahren nachgewiesen

Tagesfrachten an Antibiotikaresistenzen und fakultativ-pathogenen Bakterien bei unterschiedlichen Kläranlagen (n=24)



- Innerhalb aller untersuchten Kläranlagen liegen die Frachten an Antibiotikaresistenzgenen und fakultativ pathogenen Bakterien in Abläufen auf einem vergleichbar hohen Niveau.
- Neben den Großkläranlagen tragen auch kleinere Kläranlagen zur Umweltbelastung bei.

Korrelation von Klinikabwässern mit der Abwasser-mikrobiologie von Kläranlagen (Pearson-Analyse)

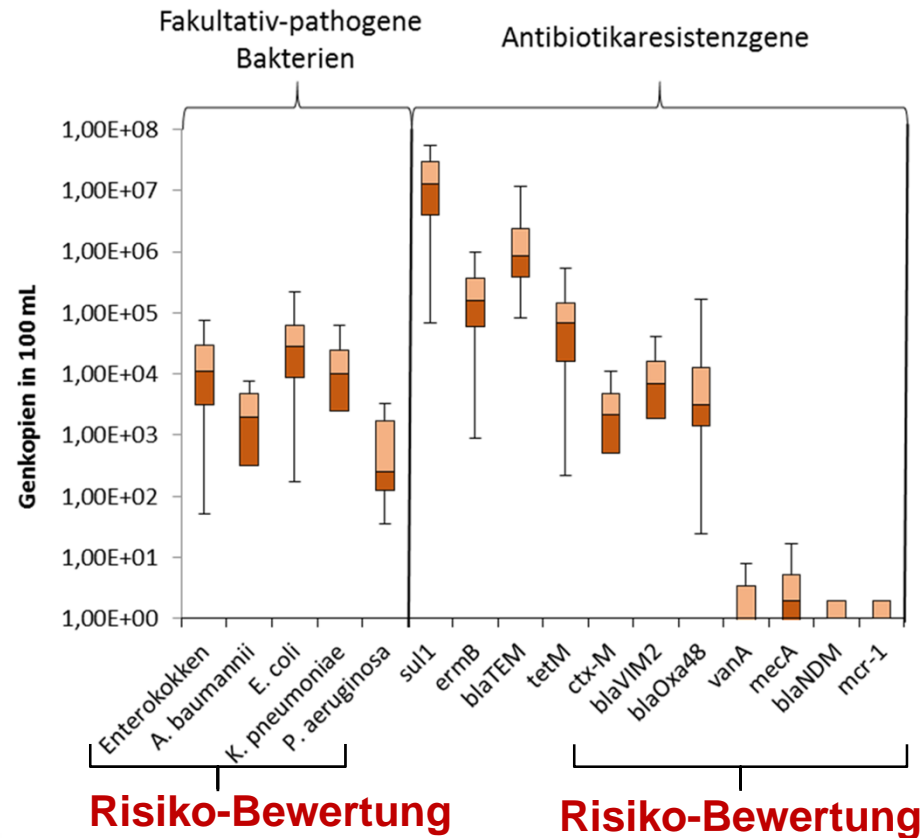


Resistenz gegen	Cephalosporine (CTX-M32)	Carbapeneme (blaOXA-48)	Cephalosporine (CTX-M)	Ampicillin (CMY-2)	Methicillin (mecA)	Carbapeneme (blaNDM-1)	Colistin (mcr-1)	Vancomycin (vanA)	Mobiles gen. Element (int1)
<i>E. coli</i>	0,203	0,138	0,267	0,051	-0,026	0,395	0,161	-0,058	0,067
<i>K. pneumoniae</i>	0,674	0,148	0,775	0,403	0,128	0,766	0,123	0,271	0,218
Enterokokken	0,719	0,364	0,825	0,321	0,365	0,783	0,143	0,718	0,601
<i>A. baumannii</i>	0,479	0,549	0,536	0,348	0,588	0,723	0,352	0,027	0,667
<i>P. aeruginosa</i>	0,358	0,679	0,557	0,279	0,623	0,815	0,263	-0,077	0,896

Pearson Korrelation: Werte von +1 = linearer Zusammenhang, 0 = kein Zusammenhang bis -1 = absolut gegenteilige Korrelation

- In Krankenhaus-beeinflussten Kläranlagen zeigen sich deutliche Korrelationen zwischen Resistenzen gegen Reserveantibiotika und fakultativ-pathogenen Bakterien
- Dies bestätigen multiresistente Bakterienisolate aus Kläranlagen mit Klinikabwasser (3/4 MRGN) (Uniklinikum Bonn).

Antibiotikaresistenzen und fakultativ pathogene Bakterien in Kläranlagen-Ausläufen (n=24)

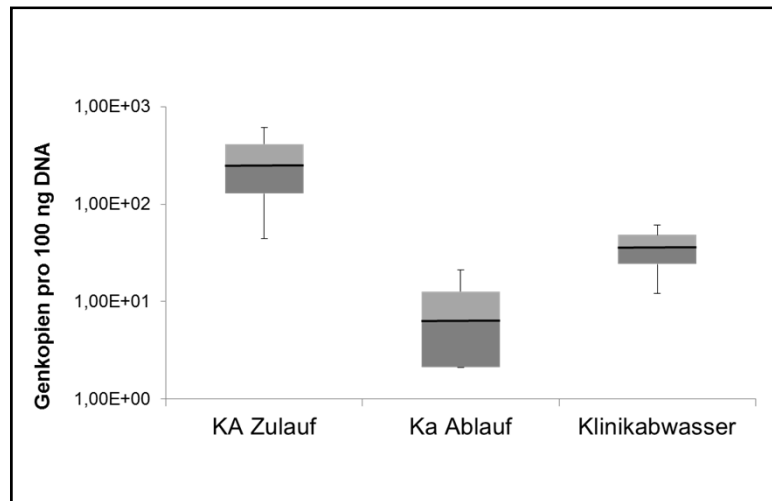


- Kommunale Kläranlagen emittieren eine hohe Bandbreite an Antibiotikaresistenzen.
- Krankenhäuser tragen besonders kritische Antibiotikaresistenzen (z.B. Carbapenemasen) ein.
- Geflügelverarbeitung zeigt hohe Abundanzen für Colistinresistenz (mcr-1)
- Multiresistente Bakterien (3-4 MRGN) im Ablauf von Kläranlagen vorhanden.

Besonders kritische Antibiotikaresistenzgene (gegen Reserveantibiotika gerichtet)



Mobile Colistinresistenz (*mcr-1* Gen)



Vancomycin Resistenz (*vanA*)

Imipenem Resistenz (*blaVIM*)

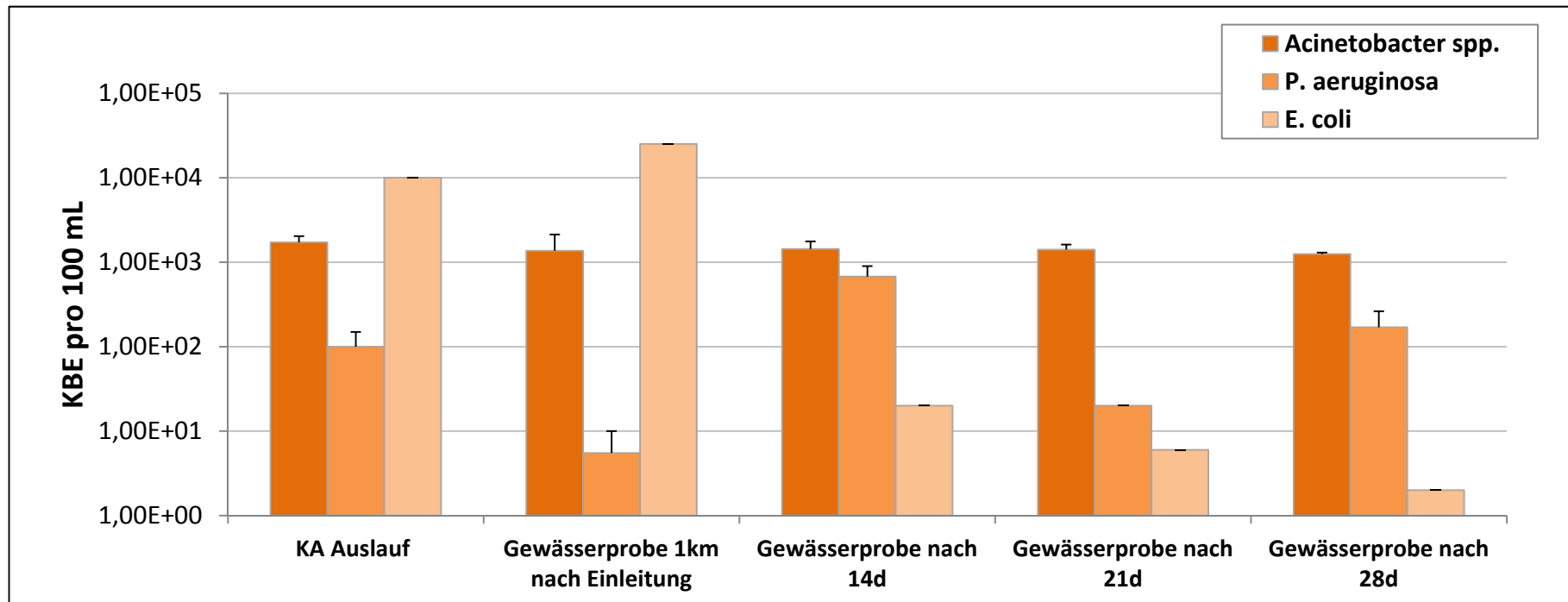
Metallo- β -Laktam Resistenz (*blaNDM-1*)

- *mcr-1* Gen wurde in den meisten Rohabwässern auch kommunaler Kläranlagen nachgewiesen.
- Geklärtetes Abwasser enthielt teilweise immer noch *mcr-1*. In 5 von 24 untersuchten Kläranlagen-Ausläufen nachgewiesen.
- Das Vorkommen von *mcr-1* ist unabhängig von der Kläranlagengröße.

Andere humanmedizinisch relevante Resistenzgene gegen Reserveantibiotika für den Einsatz beim Menschen wurden ebenfalls in geklärtem Abwasser nachgewiesen (*blaNDM-1*: 5/24 und *vanA* 3/24),

Hembach, Schmid, Alexander, Hiller, Rogall, Schwartz (2017) Occurrence of the *mcr-1* Colistin Resistance Gene and other Clinically Relevant Antibiotic Resistance Genes in Microbial Populations at Different Municipal Wastewater Treatment Plants in Germany. **Frontiers in Microbiology**, Volume 8:1282.

Persistenz fakultativ-pathogener Bakterien aus Kläranlagen im aufnehmenden Oberflächengewässer



- Fakultativ-pathogene Bakterien nach Einleitung auch nach 1 km deutlich kultivierbar.
- Persistenz der Bakterien auch nach 3-4 Wochen in den Wasserproben kultivierbar

Forderungen für Kläranlagen



Kommunale Kläranlagen sind HotSpots für die Verbreitung von Antibiotikaresistenzgenen und fakultativ-pathogenen Bakterien

**WHO und UN-Vollversammlung fordern:
Verbreitungswege von Antibiotika-resistenten Bakterien
sind zu unterbrechen**

Was können wir tun?

- den **Kontakt** mit Antibiotika-resistenten Bakterien zu **vermeiden bzw. zu reduzieren** (Problem: Water reuse).
- den **Abbau von mikrobiologisch-aktiven Substanzen** zu verstärken, um den Selektionsdruck auf antibiotikaresistente Bakterien zu vermindern.
- **eine Elimination von Antibiotika-resistenten Pathogenen in der Abwasseraufbereitung durch weiterführende Maßnahmen zu bewirken.**

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

NaWaM

 **RiSKWa**

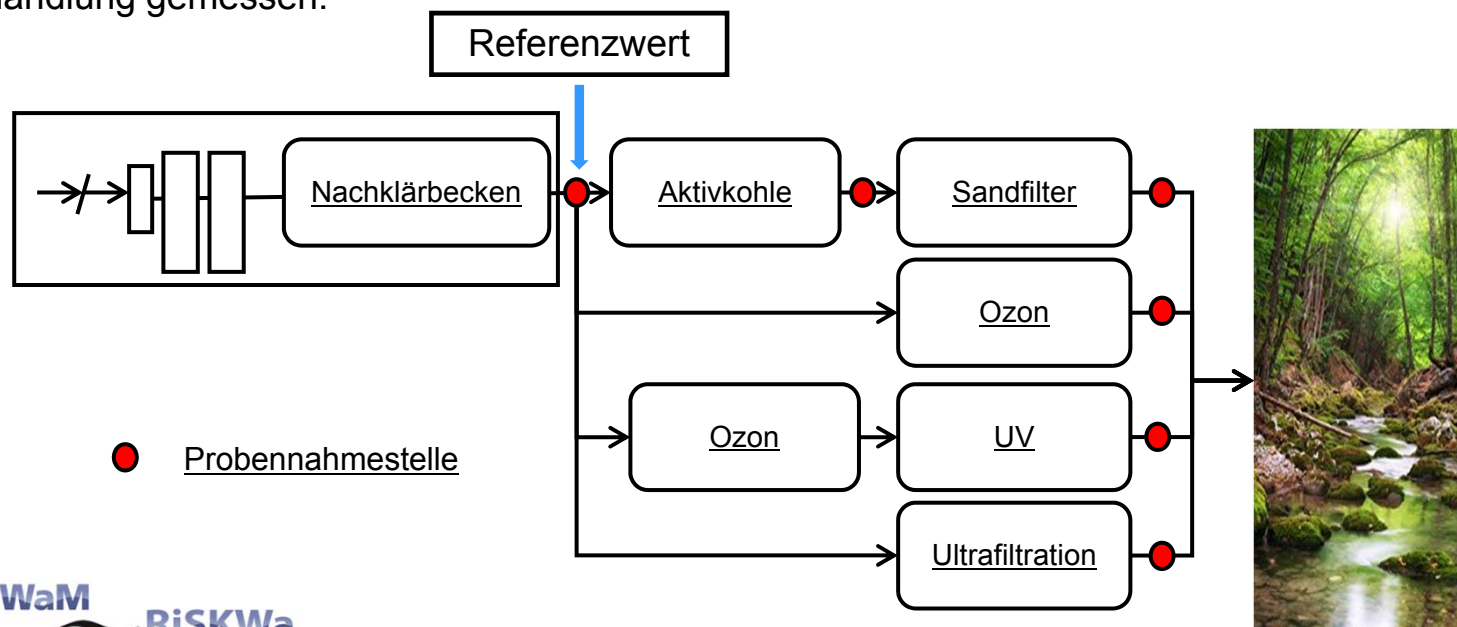
Rückhalt von Pathogenen und Resistenzgenen



- Anders als Spurenstoffe und andere chemische Kontaminanten besitzen Mikroorganismen ein **Vermehrungspotential**.
- Abwasserbehandlungsverfahren sollten **Reduktionsleistungen von 99% bezogen auf eine konventionellen Behandlung** für relevante mikrobiologische Parameter ermöglichen. Dies wäre nicht nur effektiv, sondern auch nachhaltig (regrowth).
- Bisherige Guidelines sehen für den **unbedenklichen Gebrauch** von Wasser Reduktionsverfahren mit **mindestens 3 bis 5 log** „reduction credits“ vor (99,9 bis 99,99% Reduktion/Elimination, The Drinking Water Safety Act, WHO, AUS)

Erweiterte Behandlungsmaßnahmen an einer kommunalen Kläranlage

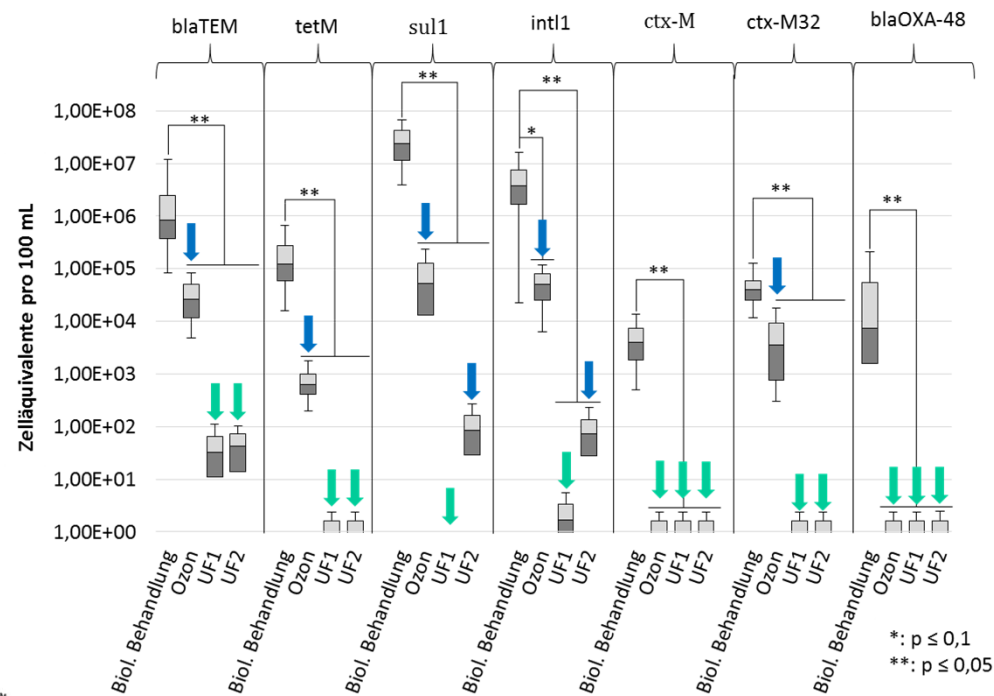
- Zulauf von ~ **440.000** Einwohnern
- Approx. **80.000 – 100.000** m³ Abwasser pro Tag
 - Von Haushalten, Kliniken, Industrie
 - Hohe Abundanzen an Antibiotikaresistenzen (Gene und Bakterien) nach konventioneller Behandlung gemessen.



Reduktionspotential von Antibiotikaresistenzen



- Ozonparameter: 1g/g DOC; Kontaktzeit 8 Minuten
- Ultrafiltration 1: 20 nm, 1 bar Druck, inside-out
- Ultrafiltration 2: 25 nm, 1 bar Druck, outside-in



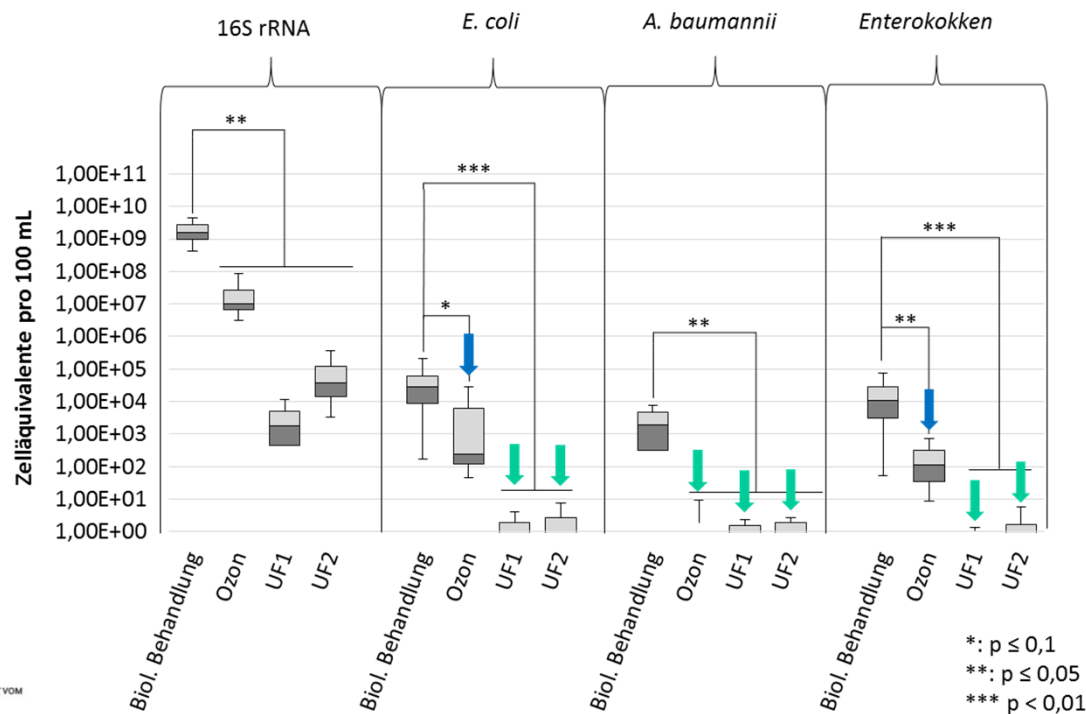
- Reduktion ist abhängig vom Resistenzgen und Trägerbakterien
- **Ozon**: deutliche Reduktion
- **Ultrafiltration**: stärkste Reduktion bis unter Detektionslimit.
- Membran-Parameter relevant (UF1 vs. UF2).
- Ozon-Behandlung entlastet Ultrafiltration

↓ **Reduktion**
 ↓ **unter Detektionslimit**

Reduktionspotential von fakultativ-pathogenen Bakterien



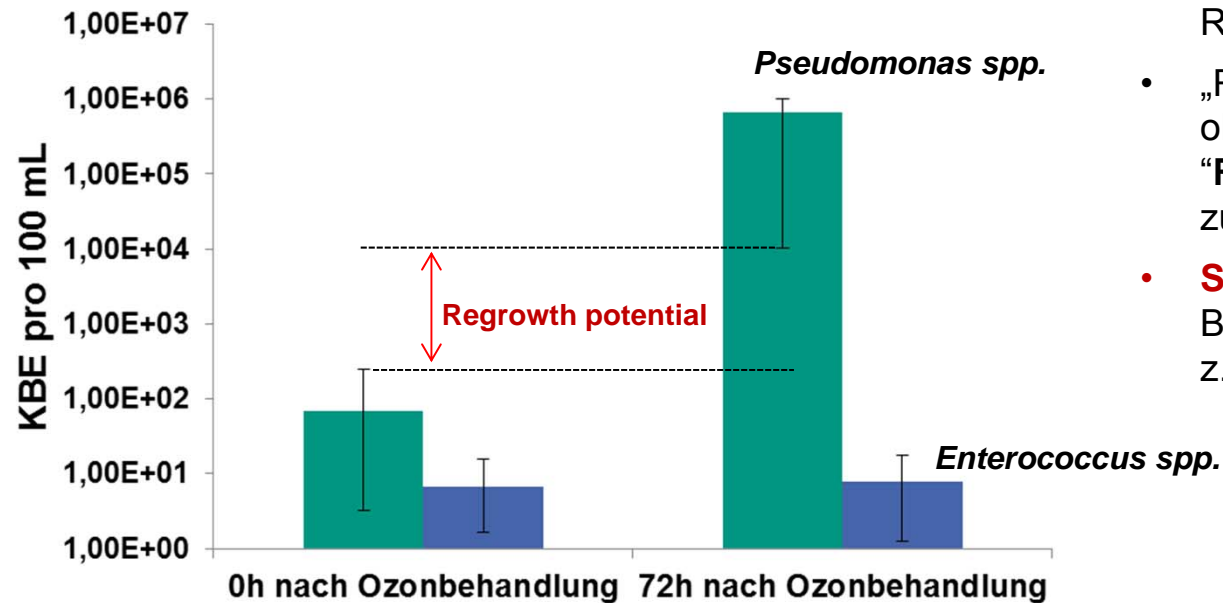
- Ozonparameter: 1g/g DOC; Kontaktzeit 8 Minuten
- Ultrafiltration 1: 20 nm, 1 bar Druck, inside-out
- Ultrafiltration 2: 25 nm, 1 bar Druck, outside-in



- **Ozon:** deutliche Reduktion, aber nur teilweise unter Detektionslimit.
- **Ultrafiltration:** starke Reduktion, überwiegend unter Detektionslimit
- Kulturverfahren zeigen vergleichbare Trends für Ozonung und UF: zeigen aber keine „viable but not culturable“ (VBNC) oder kurzfristig geschädigte Bakterien an.

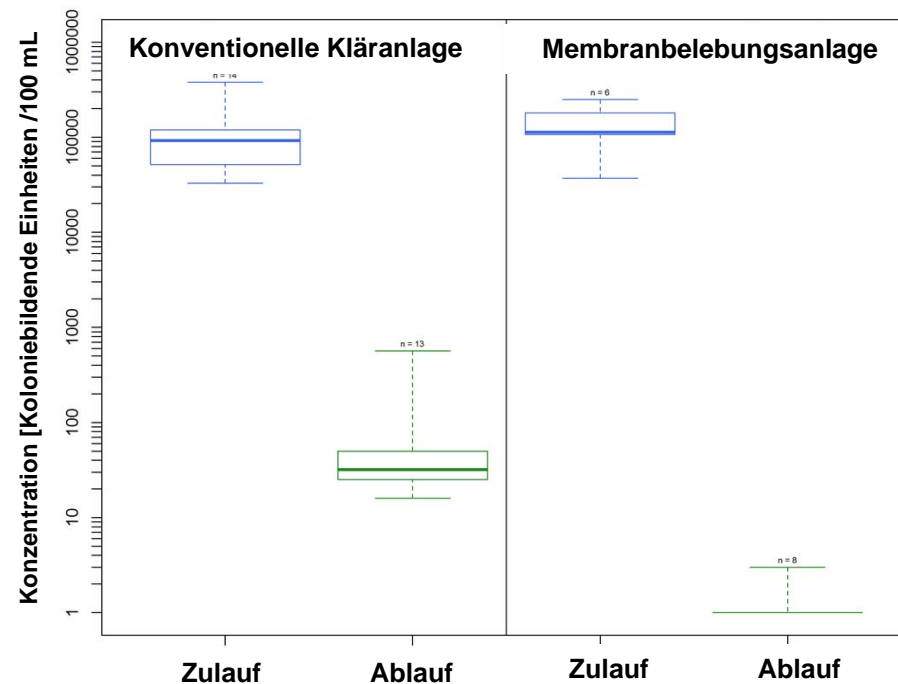
↓ Reduktion
 ↓ unter Detektionslimit

Verändertes Wachstumspotential nach Ozonbehandlung



- Bakterien zeigen unterschiedliches Re-growth Verhalten
- „Regrowth“ im original Abwasser ohne Zusätze von Nährstoffen
„**Regrowth**“ **Potential**: im Falle von zu geringer Elimination
- **Stärkere Reduktion** via angepasster Behandlungsmethoden ist wichtig: z.B. Membranverfahren.

Eliminierung von ESBL-bildenden *E. coli* durch Membranbelebungsanlage



- Untersuchungen an Kläranlage des Erftverbandes (58.000 Einwohner ohne Klinikbezug).
- Membranen (0,1 µm) in Belebungsbecken getaucht.

Kultivierung auf Selektivagar-Platten von:

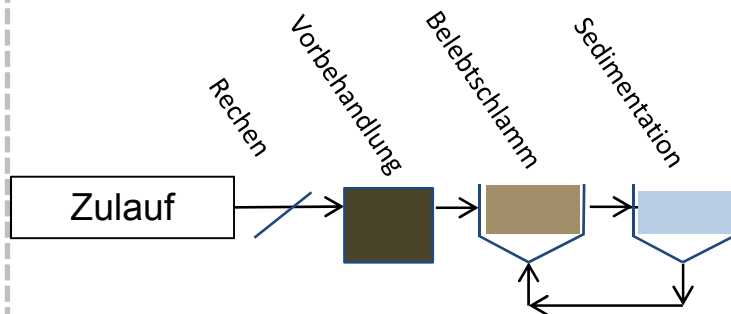
- ESBL-bildende *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*
- *Pseudomonas* spp. / *P. aeruginosa*
- *Acinetobacter* spp. / *A. baumannii*

Ergebnisse sind für alle Parameter ähnlich gut.

Vorschlag des Vorgehens: Prozess-Kombination

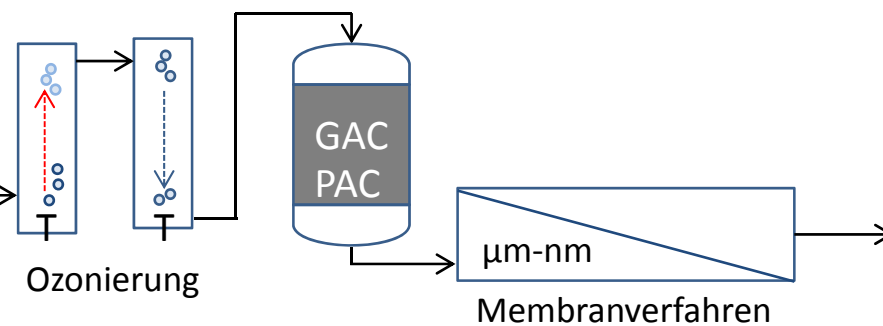


Konventionelle Abwasser-Behandlung



- **N, P-Reduktion**,
- **Bio-degradation** von Substanzen im Belebtschlamm
- **2 – 3 log Stufen Reduktion** von Bakterien
- Risiko der **Akkumulation** und **horizontaler Gentransfer**

Vorschlag für kombinierte Technologien



Ozonierung und GAC/PAC (Fokus: Spurenstoffelimination)

- Oxidation von **Verunreinigungen** und **Spurenstoffen**
- Minderung des Selektionsdruck
- Kombination von Ozonung mit GAC/PAC Filtration: **nicht ausreichende** Reduktion von Bakterien (Regrowth)

Membranverfahren: (Fokus: Bakterienelimination)

- **Ausreichende Reduktion bis unter Detektionslimit**
- Behandlung des Retentats eventuell notwendig

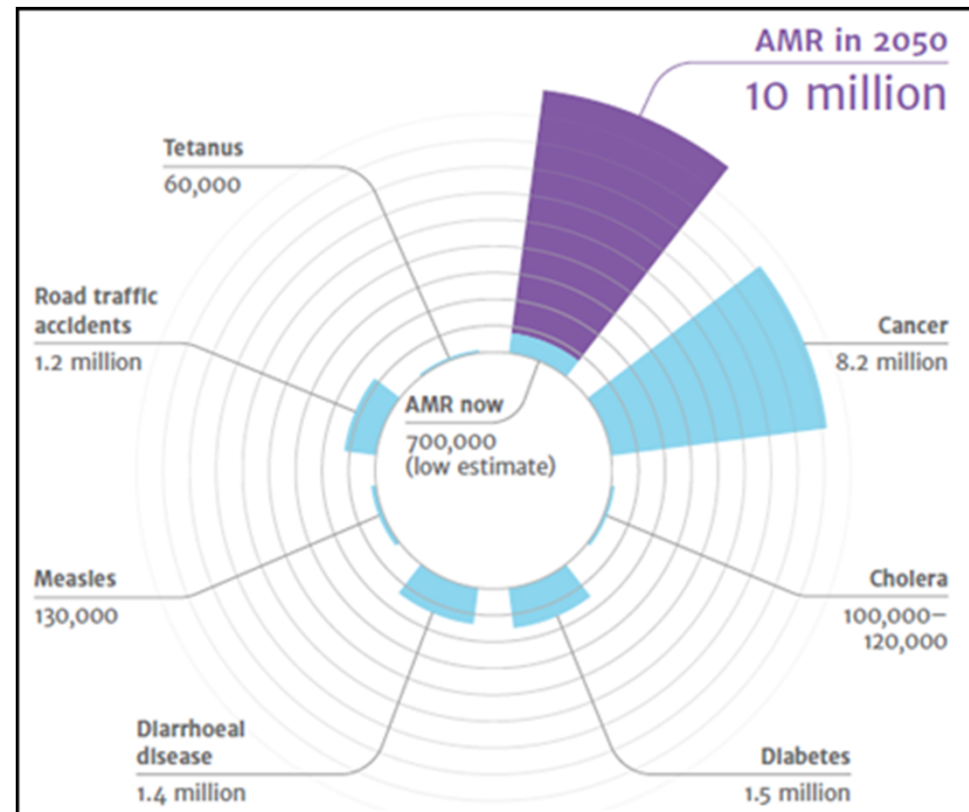
Erweiterte kombinierte Technologien sind geeignet, erfolgreich ARBs/ARGs an **Kläranlagen** oder auch **dezentral** zu beseitigen. **Jetzt: Regularien sind notwendig**, um Techniken zu implementieren mit dem Ziel die aquatische Umwelt und damit auch die Menschen zu schützen

Unerwünschter Zukunftsausblick, ohne geeignete Gegenmaßnahmen



Im Jahr 2050 ist damit zu rechnen, dass mehr als 10 Millionen Todesfälle durch Antibiotika-resistenzen verursacht sind; weit mehr als alle anderen Ursachen, die zum Tod führen.

Das wollen wir nicht!!!!



Aus: Tackling drug-resistant infections globally, Jim O'Neill, 2016.

Schlussfolgerungen und „Take Home Messages“



- Die konventionelle Abwasserbehandlung an Kläranlagen verhindert nur zum Teil die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen.
- Zum **Schutz der Trinkwassergewinnung, Badegewässer und Bewässerung** in der Landwirtschaft müssen an **belastet eingestuften Kläranlagen** Maßnahmen zur Gesundheitsvorsorge getroffen werden. Nicht alle Kläranlagen müssen mit zusätzlichen Behandlungsverfahren ausgestattet werden.
- **Mikrobiologische Indikatoren für Handlungsbedarf:** Resistenzen/Gene gegen Carbapeneme, Colistin, Vancomycin (Reserveantibiotika) in fakultativ-pathogenen Bakterien (ESKAPE-Gruppe), sowie **Multiresistenz (4 MRGN)**. Reduktion der genannten Indikatoren muss ausreichend hoch sein, besser Elimination (99-99,99% bezogen auf Nachklärung oder 5-7 Logstufen bezogen auf Zulauf Kläranlage).
- Eine **dezentrale Abwasserbehandlung** an Kliniken oder in der Tierverarbeitung trägt zur Minderung der Belastung in Kläranlagen bei (z.B. Multiresistenz, Carbapenem-Resistenz *blaNDM-1* bei Kliniken; Colistin-Resistenz *mcr-1* bei Tierverarbeitung).
- **Technische Lösungen stehen bereits zur Verfügung** und können an erforderlichen Stellen (Kliniken, Kläranlagen) bereits eingesetzt werden (Kombinationen mit Membranverfahren höchst effektiv).

Regularien zum Nachweis bzw. zur Reduktion von Antibiotika-resistenten Bakterien sind notwendig.

Danksagung:



Norman Hembach, Dr. Johannes Alexander (KIT)
Jürgen Wachtendorf, Ulrike Biebert-Petermann (OOWV)
Christian Hiller, Georg Hiller (Zweckverband Klärwerk Steinhäule)
Arne Wieland, Jürgen Vogt (Xylem Services GmbH)
Michael Savin, Prof. Brigitte Petersen (Universität Bonn)
Alexander Ahring (Erftverband)
Prof. Gabriele Bierbaum, Dr. Christiane Schreiber (Uniklinikum Bonn)

Allen Partnern des HyReKA-Verbundes

Dank auch an Prof. Martin Exner, Dr. Ricarda Schmithausen (Uniklinikum Bonn)
und Romy Durst und Dr. Verena Höcke (Projektträger Karlsruhe)

Danke für Ihre Aufmerksamkeit

