

Wastewater Treatment Plants Release Large Amounts of Extended-Spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* into the Environment

Caroline Bréchet, Julie Plantin, Marlène Sauget, Michelle Thouverez, Daniel Telon, Pascal Cholley, Christophe Guyeux, Didier Hocquet and Xavier Bertrand
CID 2014;58:1658-1665

Hintergrund

- weltweite Zunahme von extended-spectrum β -Lactamase-produzierenden *Enterobacteriaceae*
- die häufigsten extended-spectrum β -Lactamasen sind die vom CTX-M-Typ, *E. coli* ist die häufigste ESBL-tragende Spezies
- komplexe Epidemiologie: Verbreitung innerhalb und ausserhalb von Spitalern, horizontale Weitergabe von Plasmiden
- Kolonisierung mit ESBL-prod. *E. coli* in der Bevölkerung ist häufig -> gelangen in's Abwasser
- unklar, inwieweit diese Abgabe von ESBL-prod. *E. coli* an die Umwelt zu ihrer Verbreitung beitragen

Studienziele

- Quantifizierung von ESBL-prod. *E. coli* im Abwasser von Besançon
- Vergleich der Mengen an ESBL-prod. *E. coli* in Spital- und allgemeinem Abwasser
- Erfassung des Effekts der Abwasserverarbeitung auf die Menge an ESBL-prod. *E. coli*
- Erfassung der klonalen Diversität der verschiedenen *E. coli* und der Diversität der *bla*_{ESBL}-Gene

Methoden

- Studien-Setting
 - Abwasseranlage von Besançon (120'000 Personen, 30'000m³ Abwasser/Tag): Abwasser von 2 Universitätsspitalern, städtisches Abwasser und Regenwasser, aber kein Abwasser von Tierzuchten
 - Abwasserreinigung: Sedimentation, Degradation von biologischen Rückständen, Filtration -> Klärschlamm (als Dünger verwendet) + Restwasser (fliesst in den Doubs)
 - Proben-Entnahme an 11 Stellen des Netzwerks, 1x/Woche, während 10 Wochen (01/11-04/11)
- Bestimmung der *E. coli*-Menge und Resistenz-Testung
 - „most probable number“-Verfahren mit anschliessender Kultur auf chromogenen Agar-Platten
 - 5 zufällig gewählte CFU/Platte mittels MALDI als *E. coli* bestätigt
 - Resistenz-Testung gemäss EUCAST
- Klinische Isolate: alle ESBL-prod. *E. coli* zwischen Januar und April 2011
- Genotypisierung: Pulsed-field Gel-Elektrophorese und Multi-Locus-Sequenz-Typing (klonale Komplexe definiert als mind. 5 Loci gemeinsam habend)
- ESBL-Identifizierung: PCR und Sequenzierung

Resultate

- 110 Wasser- und Schlamm-Proben, 100% positiv für *E. coli*, 96% positive für ESBL-prod. *E. coli* (Figur 2)
- Mittlere *E. coli*-Menge in städtischem Abwasser höher als in Spitalabwasser (752'847 vs. 353'635 CFU/ml, p=0.013)
- Menge an ESBL-prod. *E. coli* in städtischem Abwasser tiefer als in Spitalabwasser (751 vs. 27'447 CFU/ml, p<0.001)

- Absolute Menge an ESBL-prod. *E. coli* in geklärtem Abwasser tiefer als in ungeklärtem (22 vs. 481 CFU/ml), allerdings proportional höher in geklärtem als ungeklärtem Wasser (0.6% vs. 0.3%, $p=0.017$) -> Klärungs-Rate 98% für *E. coli*, 94% für ESBL-prod. *E. coli*
- Schätzung, dass 6×10^{11} ESBL-prod. *E. coli*/Tag in den Doubs gelangen und der Klärschlamm 2.6×10^5 ESBL-prod. *E. coli*/Gramm enthält
- ESBL-prod. *E. coli* aus Spitalabwasser mit mehr zusätzlichen Resistenzen als die aus städtischem Abwasser
- 51 klinische Isolate bestehend aus 22 verschiedenen STs, die meisten davon sowohl in klinischen Isolaten und dem Abwasser
- 88% der *E. coli* produzierten CTX-M-type ESBLs (50% CTX-M-1, 25% CTX-M-15, 10% CTX-M-14 -> keine klare Assoziation zwischen ESBL-Type und Ort der Probe-Entnahme

Diskussion

- totale *E. coli*-Menge in städtischem Abwasser höher als in Spitalabwasser
- höhere Proportion an ESBL-prod. *E. coli* in Spitalabwasser möglicherweise auch bedingt durch erhöhten Antibiotika-Gehalt im Abwasser -> Entwicklung von Resistenzen
- schlechtere Klärung von ESBL-prod. *E. coli* im Vergleich zu „normalen“ *E. coli* möglicherweise bedingt durch Selektionsdruck durch Antibiotika-Residuen im Abwasser (Hinweis dafür: *E. coli* vor Klärung weniger Chinolon-resistent als nach Klärung)
- hohe Menge von ESBL-prod. *E. coli* die in Form von Dünger in die Umgebung gelangen -> Einfluss auf globale Verteilung unklar
- wenig ST131 in der Umgebung -> in früheren Studien schon beschrieben

Limitationen

- Studie während einer Trockenperiode durchgeführt - > möglicherweise Unterschätzung der tatsächlichen Menge an (ESBL-prod) *E. coli* im Abwasser

Konklusionen

- Abwasser ist eine mögliche Quelle für die Verbreitung von ESBL-prod. *E. coli*; werden durch Klärungs-Vorgänge nur ungenügend entfernt