

INNOVATIEPROGRAMMA MICROVERONTREINIGINGEN UIT RWZI-AFVALWATER

Antibioticaresistentie

Verwijdering van resistente bacteriën
en genen

Imke Leenen, H2Oké

Bas van der Zaan, KWR

Heike Schmitt, RIVM



WHO-bericht

Antibiotic resistance is a rapidly evolving health issue extending far beyond the human health sector.

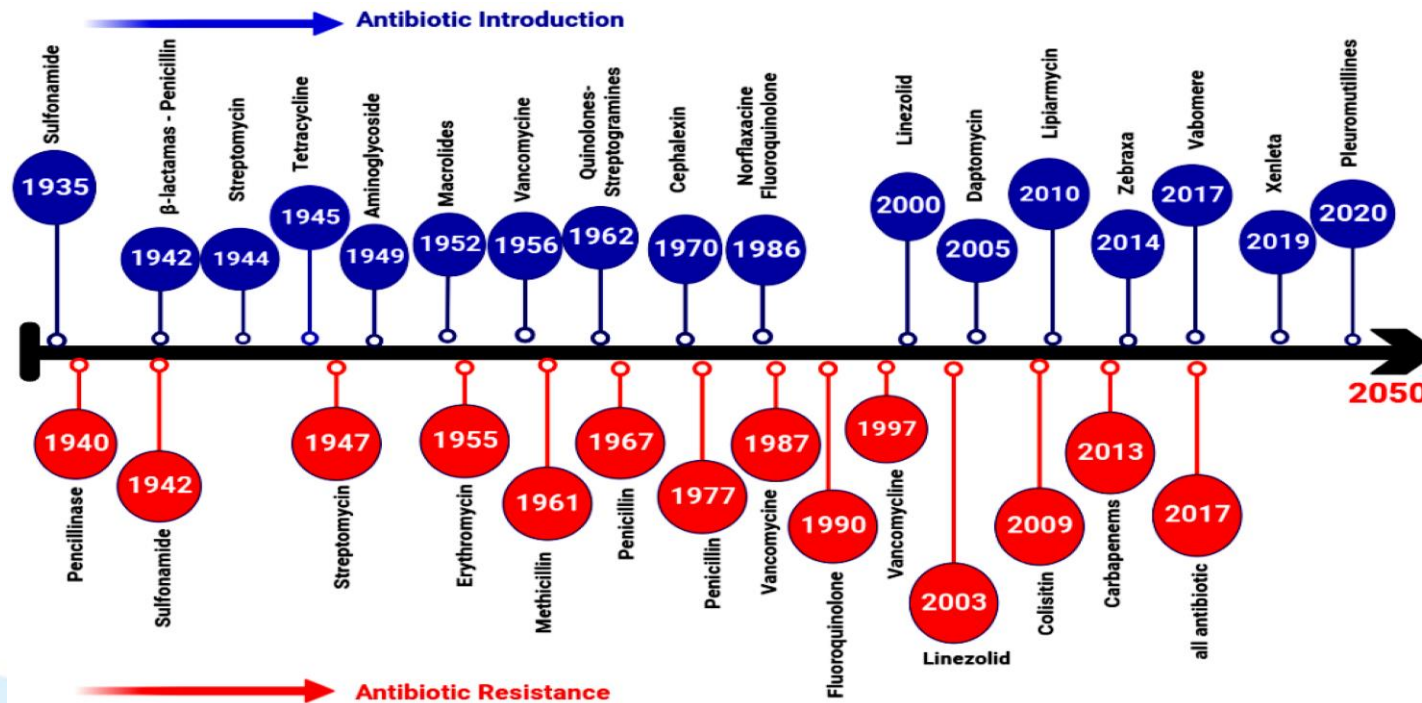
Awareness of the seriousness of the situation and the need for urgent action is required at the highest political level, globally and at country level. A cross sectoral approach is required for effective action at global and national levels.



*“The misuse of penicillin could lead to the propagation of mutant forms of bacteria that would resist the new miracle drug”
- Alexander Fleming*

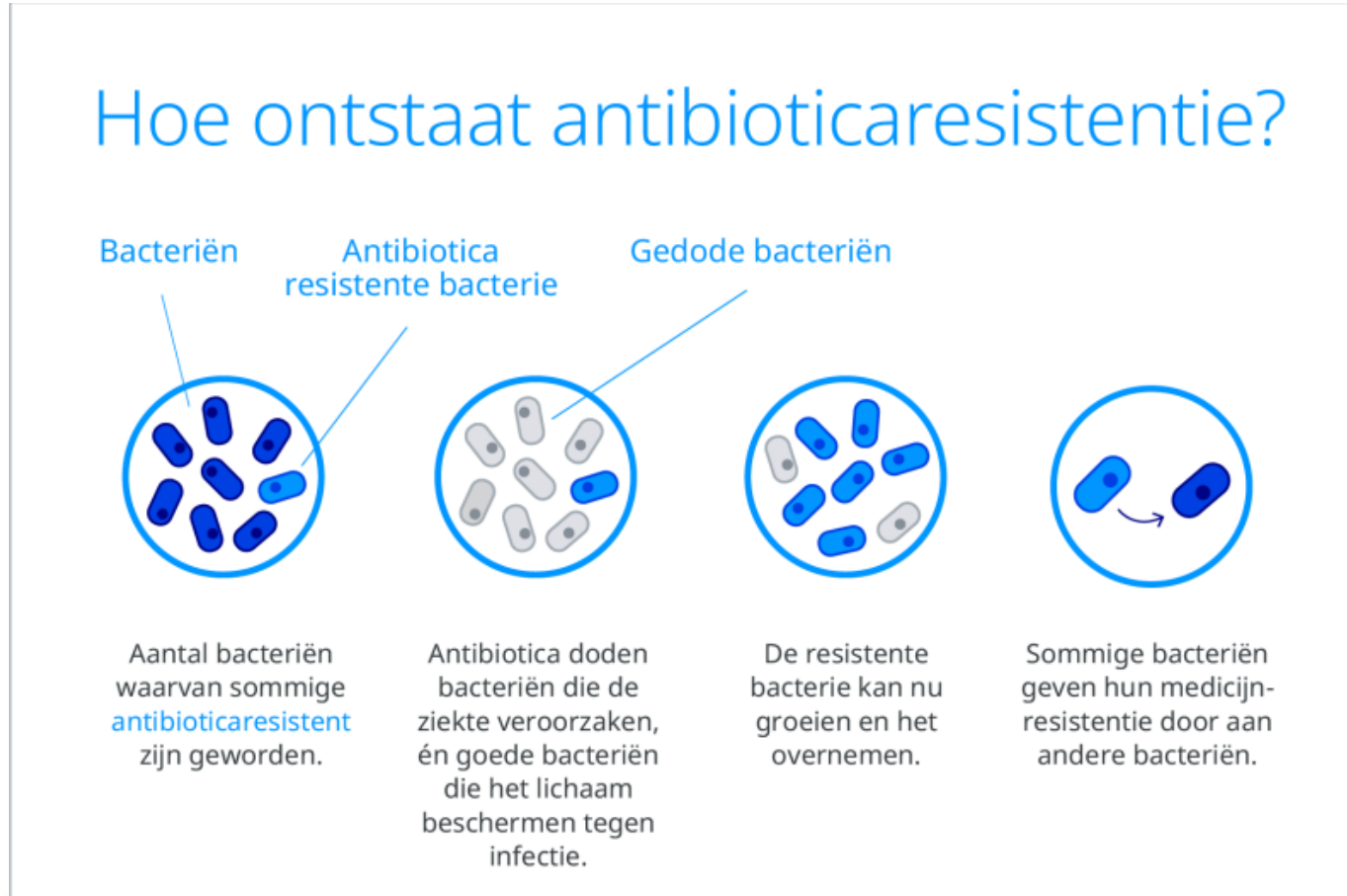
Antibiotica/antimicrobiële resistentie (AMR)

- Antibiotica zijn aanwezig in mens en dier
- Relatie tussen gebruik van antibiotica en de ontwikkeling van resistentie



Helmy, Y.A. et al. *Antibiotics* **2023**, 12, 274.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12020274>

Hoe ontstaat antibioticaresistentie?



Vermenigvuldiging van resistente bacteriën en/ of overdracht van resistentiegenen

Antibiotica/antimicrobiële resistentie (AMR)

- ⇒ Antibiotica zijn aanwezig in mens en dier
- ⇒ Relatie tussen gebruik van antibiotica en de ontwikkeling van resistentie

- ⇒ Antibiotica residuen en AMR ook aanwezig in ons milieu o.a. via:
 - ⇒ Effluent van rwzi's
 - ⇒ Rioolwater- en hemelwateroverstortingen
 - ⇒ Mest (en afspoeling)



Antibiotica resistente bacteriën en genen

Antibiotica resistente bacteriën:

- ⇒ Minder gevoelig of ongevoelig voor antibiotica
- ⇒ Natuurlijk en/of verkregen resistentie
- ⇒ Geen discriminatie via hun 'voorkomen'

Multiresistente bacteriën:

- ⇒ Resistent tegen vele antibiotica

Antibiotica resistentie genen:

- ⇒ Gen-overdracht tussen micro-organismen



Antibiotica resistente bacteriën

ESBL (Extended Spectrum Beta-lactase) producerende bacteriën

- ⇒ Vooral intestinale bacteriën, zoals *E. coli* and *Klebsiella*
- ⇒ Ongevaarlijk in de darmen van gezonde mensen
- ⇒ Ernstige infecties in patiënten
- ⇒ Resistent voor beta-lactam antibiotica en Meestal ook voor andere antibiotica
- ⇒ Wereldwijde toename van ESBL
- ⇒ Ander bekend voorbeeld: Multi resistentie *Staphylococcus aureus* (MRSA)



Antibiotica resistente genen

AMR genen Resistomap SmartChip Real-TimePCR

- Aanwezigheid van genen
- Relatieve hoeveelheid t.o.v. 16S gen
- Genen geselecteerd ism RIVM
- Kalibratielijn van RIVM gebruikt



Selectie van 24 genen

Vancomycin	vanA
Integrans	intl1_2
MLSB	ermF
MLSB	ereA
Sulfonamide	sul1_2
Tetracycline	tetM
Tetracycline	tetW
Tetracycline	tetQ
Aminoglycoside	strB
Aminoglycoside	aadA_1
Aminoglycoside	aadA10
Other	merA
Other	qacE ⁺ 1_1
Other	mcr1
Beta Lactam	blaNDM
Beta Lactam	blaVIM
Beta Lactam	blaGES
Beta Lactam	blaVEB
Beta Lactam	blaOXA51
MGE	tnpA_1
MDR	qacF/H
MDR	emrB/qacA_1
Integrans	intl1_1

Doel van onderzoek

Kennis vergaren over:

- ⇒ De verwijdering van AMR (ESBL) en antibiotica resistentiegenen door geavanceerde waterzuiveringstechnieken
- ⇒ De aanwezigheid van AMR en genen in rwzi effluents
- ⇒ Is de verwijdering van *Escherichia coli* een indicator voor de verwijdering van ESBL en/of antibiotica resistentiegenen?



Opzet van het onderzoek

- ⇒ 13 technieken
- ⇒ Analyse van ESBL (AMR), antibiotica resistentiegenen en *E. coli*
- ⇒ 2-4 monsters per techniek
- ⇒ Ingaande stroom, uitgaande stroom en na elke afzonderlijke stap/unit.

Weinig monsters per techniek

- Resultaten geven indicatie
- Resultaten zijn niet generiek toepasbaar



Onderzochte technieken

- ⇒ Adsorptie aan poedervormig kool: PACAS Nereda (Simpelveld)
- ⇒ Adsorptie aan Granulair Actief kool (GAK): BODAC (Emmen), Bio-GAK (Emmen) en Upflow GAK (Hapert).
- ⇒ Adsorptie aan overige niet fossiele materialen: AdOx (Leiden Noord), DEX-filter (Lelystad)
- ⇒ Combinatie Oxidatie en actief Kool: O3-STEP (Horstermeer) en PAC-O3 (Leiden Noord)
- ⇒ Combinatie Oxidatie en Biologische afbraak: Microforce (Walcheren) en B-O3 (Horstermeer)
- ⇒ Combinatie Oxidatie en Filtratie: G(e)ozond (Wervershoof, ozon en keramisch filter) en Nanofiltratie+UV/H₂O₂ (Asten)
- ⇒ Demo's: PACAS (Leiden Noord) en Oxidatie met ozon (Houten)



Verwachte resultaten van de technieken

- ⇒ Adsorptie aan actief kool: niet effectief
- ⇒ Adsorptie aan overige materialen: niet effectief
- ⇒ Oxidatie (Ozon): Effect op zowel AMR als genen, afhankelijk van de gebruikte dosis
- ⇒ Biologische afbraak: niet effectief, mogelijk wel in een combinatie met oxidatie.
- ⇒ Filtratie: Effectief voor zowel AMR en de genen (afhankelijk van poriegrootte van filter)
- ⇒ UV/H₂O₂: Effectief, afhankelijk van de dosis



Resultaten: Adsorptie-technieken

ESBL:

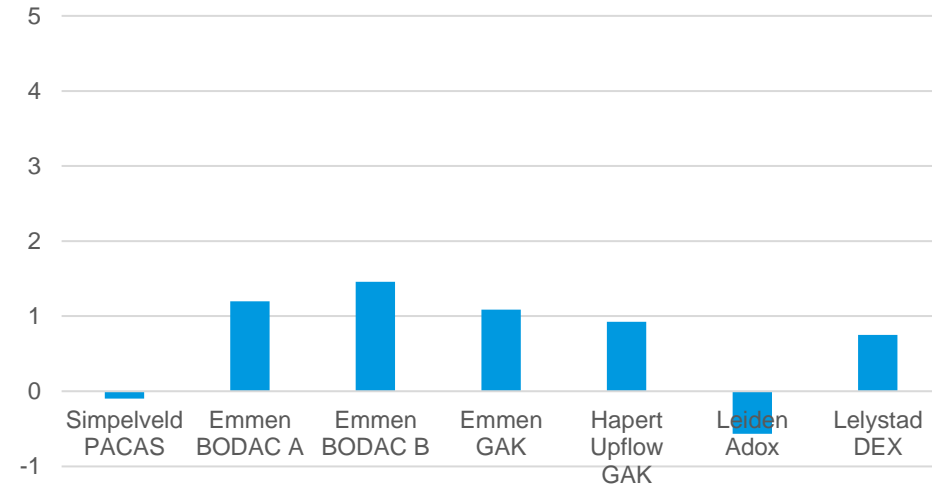
- Geen verwijdering PACAS en AdOx
- Enige verwijdering BODAC (B>A), (upflow) GAK en DEX

Genen:

- Gensamenstelling blijft nagenoeg gelijk na de verschillende stappen: kleine verschillen zichtbaar
- Ook genconcentraties blijven nagenoeg gelijk, soms lichte afname

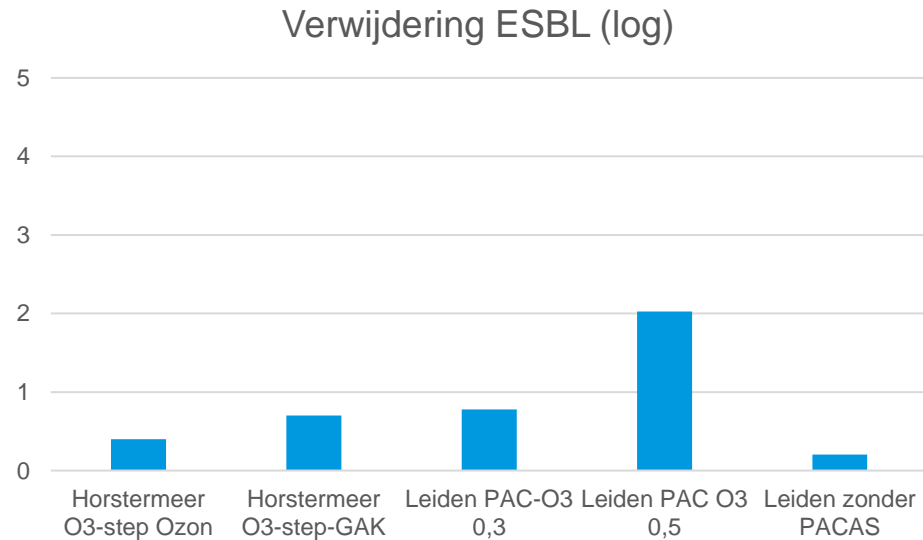
Zelfde beeld bij alle adsorptietechnieken

Gemiddelde verwijdering ESBL (log)



Demo Leiden Nrd
PACAS: geen
verwijdering

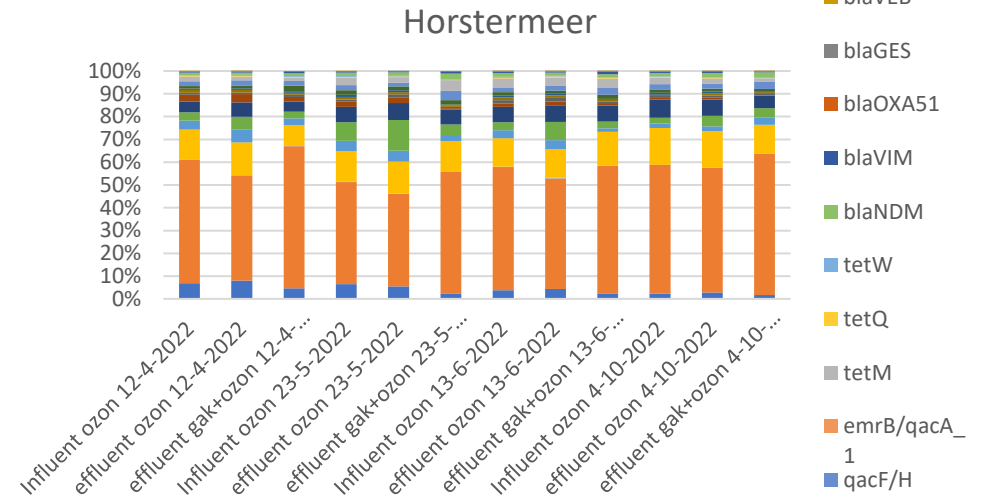
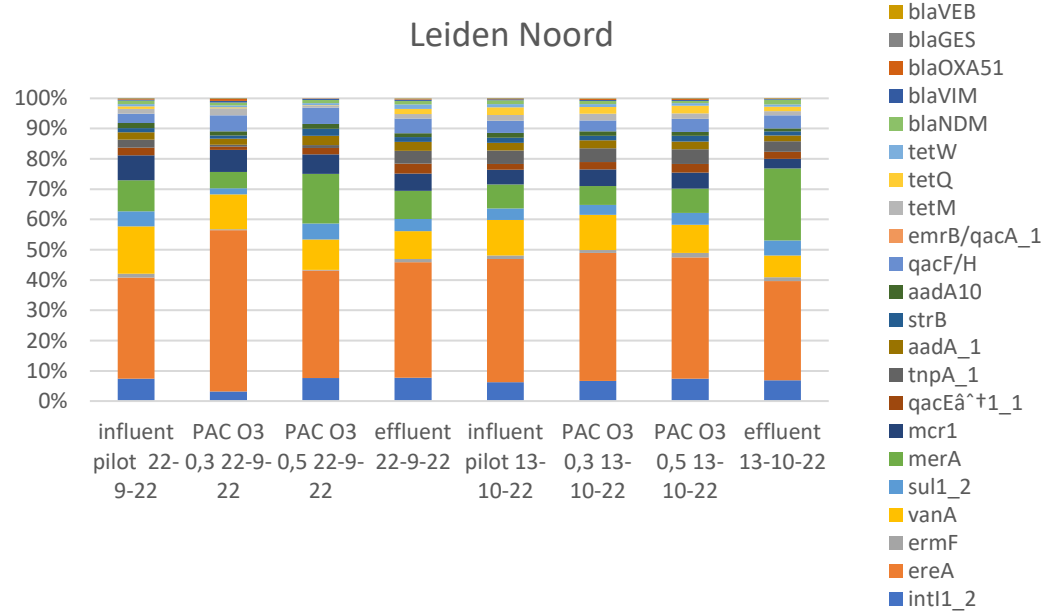
Resultaten: Oxidatie-Actief Kool (O3-Step/PAC-O3)



Demo Houten:
oxidatie met ozon
(0,4g/gDOC): 0,4-
1 log verwijdering

- Weinig verwijdering bij lage dosering
- Enige verwijdering bij 0,5 O3
- Inflow technieken: circa 3-4 log ESBL/l

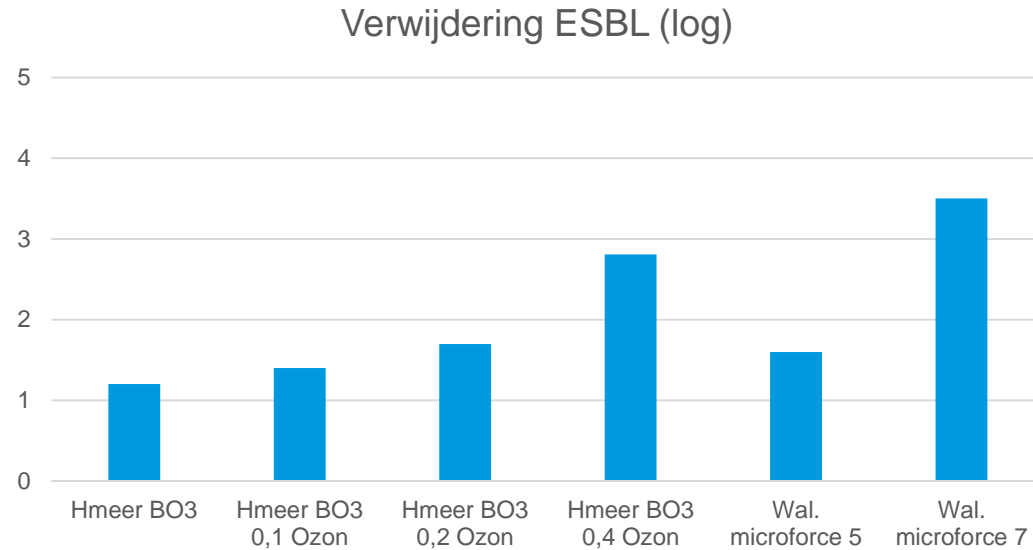
Resultaten: Oxidatie-Actief Kool (O3-Step/PAC-O3)



- Lichte tot geen verschuiving in gensamenstelling

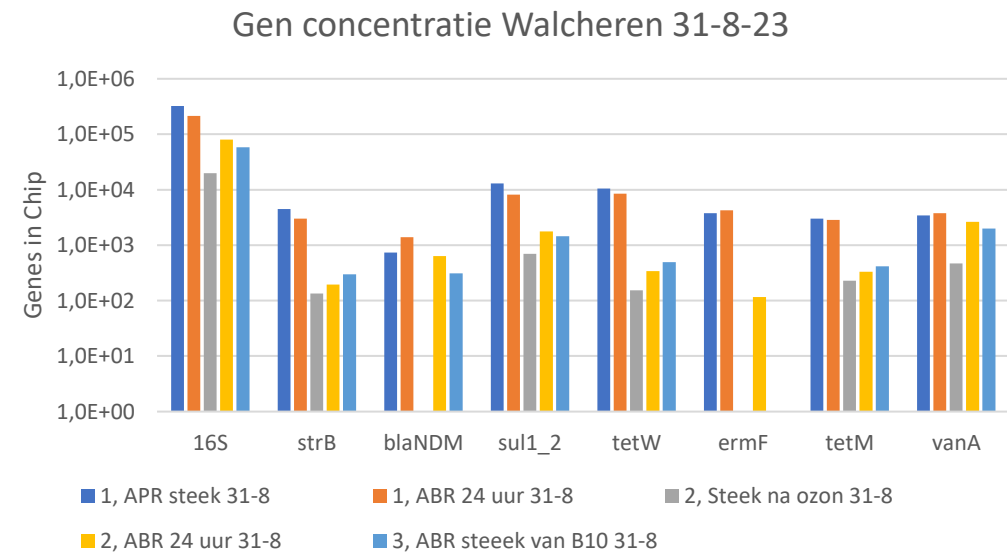
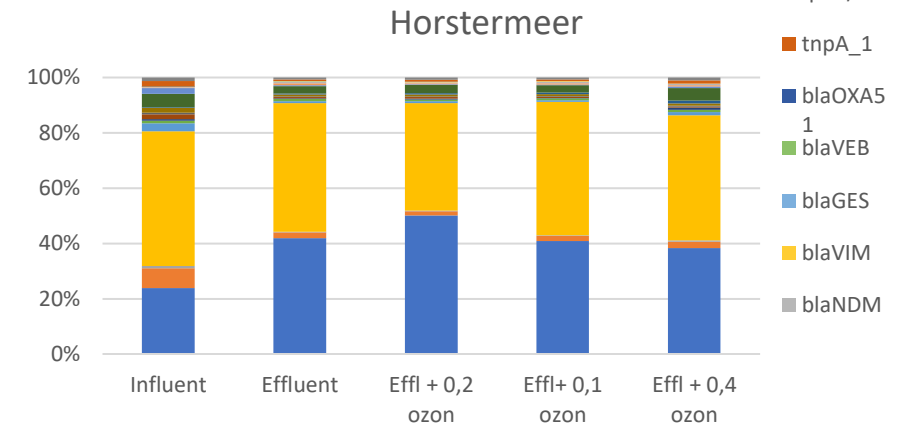
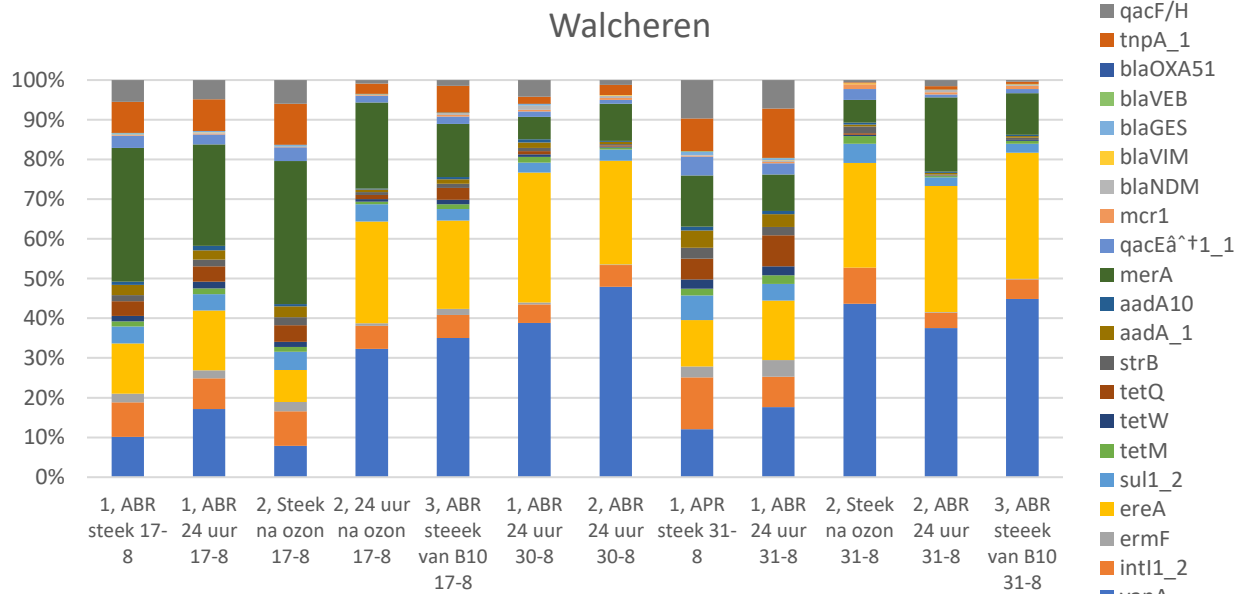
|

Resultaten: Oxidatie-Biologische afbraak (B-O3/Microforce)



- Verwijdering neemt toe bij hogere ozondosering
 - B-O3 0,4 ozon: 2,8 log
 - Microforce 7 g/m³ ozon: 3,5 log

Resultaten: Oxidatie-Biologische afbraak (B-O3/Microforce)



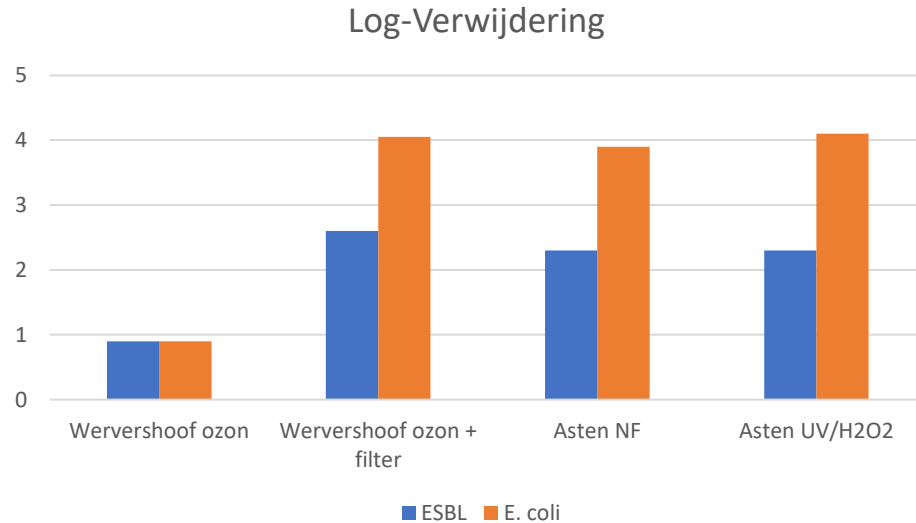
- BO3:

- Lichte verschuiving gen-samenstelling
- Genen 1 log-verwijdering (0,4 O3)

- Microforce:

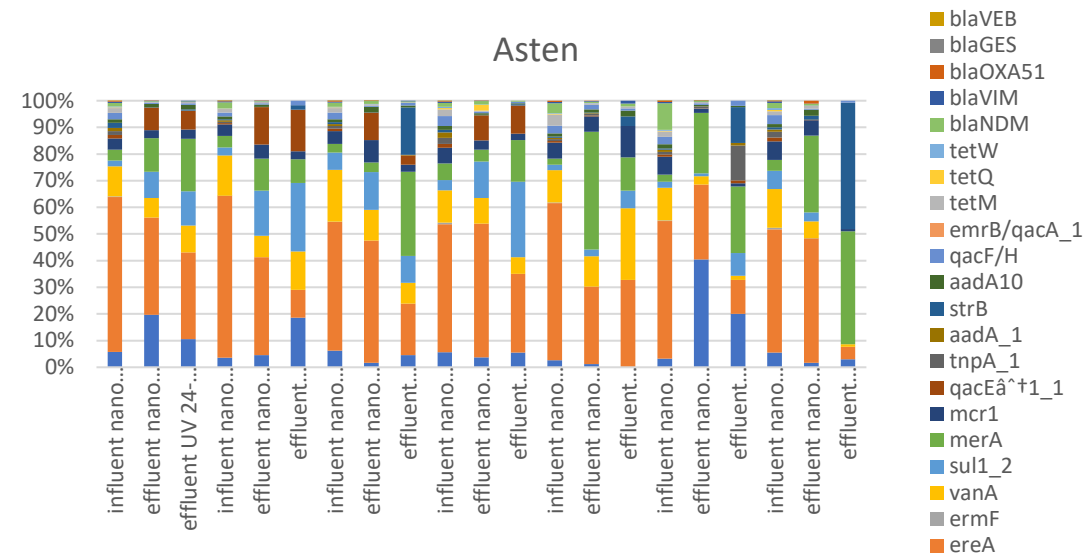
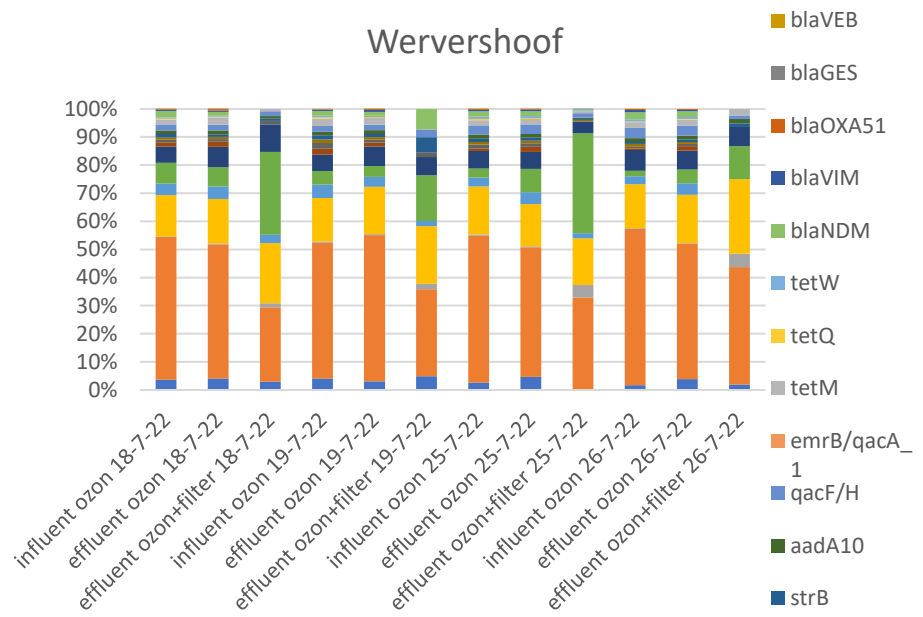
- verschuiving gen-samenstelling na ozon
- Duidelijke afname genconcentratie na ozon

Resultaten: Oxidatie-Filtratie (G(e)ozond en NF-Uv/H2O2)



- G(e)ozond (Ozon en keramisch filter)
 - Totale verwijdering > 4 log E. coli; >2,6 log ESBL
 - Filtratie belangrijkste stap
- NF-UV/H2O2
 - NF verwijdering > 4 log E. coli; >2,3 log ESBL
 - Effect UV/H2O2 onduidelijk → verwijdering al compleet

Resultaten: Oxidatie-Filtratie (G(e)ozond en NF-Uv/H2O2)



- G(e)ozond (Ozon en keramisch filter)
 - Verschuiving gensamenstelling na filter, niet na ozon
- NF-UV/H2O2
 - Verschuiving gensamenstelling na NF, maar ook na UV/H2O2
 - Afname < detectielimiet sommige genen

Conclusie en samenvatting

- ⇒ ESBL en resistentiegenen aanwezig in alle rwzi-effluenten

- ⇒ Adsorptietechnieken: ineffectief / weinig tot geen verwijdering
- ⇒ Oxidatie met ozon (icm andere technieken):
 - ⇒ vaak relatief lage verwijdering tot 0,3 gO₃/g DOC (0-1,5)
 - ⇒ > 0,4/0,5 of 7g/m³ betere verwijdering (2-3,5)
- ⇒ Filtratietechnieken: Effectief >4 log-verwijdering
- ⇒ UV: onbekend > 1-log verwijdering (effect op gensamenstelling)

Niet getoond: E. coli-verwijdering goede indicator voor ESBL-verwijdering bij nageschakelde technieken

Wat mee nemen in keuze technieken

- ⇒ Adsorptietechnieken **niet** effectief voor verwijdering AMR
- ⇒ Oxidatie door ozon alleen effectief bij hoge doseringen.
- ⇒ Filtratietechnieken: hoge verwijderingsrendementen (in deze studie met beperkt aantal monster





Bedankt voor uw aandacht!

Imke Leenen, H2Oké
Imke.leenen@stowa.nl
Imke.leenen@outlook.com



stowa

InnovatieProgramma MicroVerontreinigingen uit Afvalwater (IPMV)



Ministerie van Infrastructuur
en Waterstaat