

Abschlussbericht zum Projekt MRE-BGW

**Untersuchungsprogramm multiresistente Erreger
in Badegewässern mit Fokussierung auf Kranken-
hausabwasser als mögliche Eintragsquelle von
4MRGN in schleswig-holsteinische Oberflächenge-
wässer / Badegewässer**



Abschlussbericht zum Projekt MRE-BGW

Untersuchungsprogramm multiresistente Erreger (MRE) in Badegewässern (BGW) mit Fokussierung auf Krankenhausabwasser als mögliche Eintragsquelle von 4MRGN in schleswig-holsteinische Oberflächengewässer/Badegewässer

März 2020

Autorinnen und Autoren:

Dr. rer. nat. Maja Decius*, Dr. med. Bärbel Christiansen*,
Dr. med. Anne Marcic**, Gudrun Petzold**, Sven Simon**

* ZE Medizinaluntersuchungsamt und Hygiene; Universitätsklinikum Schleswig-Holstein (UKSH); Arnold-Heller-Str.3; Haus V41; 24105 Kiel

** Ministerium für Soziales, Gesundheit, Jugend, Familie und Senioren (MSGJFS); Öffentlicher Gesundheitsschutz, Hygiene, Infektionsschutz, umweltbezogener Gesundheitsschutz; Adolf-Westphal-Str. 4; 24143 Kiel

Impressum:

Herausgeber:

Ministerium für Soziales, Gesundheit,
Jugend, Familie und Senioren
des Landes Schleswig-Holstein
Adolf-Westphal-Str. 4
24143 Kiel

Ansprechpartnerin:

Gudrun Petzold
Tel. 0431/988-5421

Foto:

Gudrun Petzold
Sozialministerium

März 2020

Diese Druckschrift wird im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit der schleswig-holsteinischen Landesregierung herausgegeben. Sie darf weder von Parteien noch von Personen, die Wahlwerbung oder Wahlhilfe betreiben, im Wahlkampf zum Zwecke der Wahlwerbung verwendet werden. Auch ohne zeitlichen Bezug zu einer bevorstehenden Wahl darf die Druckschrift nicht in einer Weise verwendet werden, die als Parteinahme der Landesregierung zugunsten einzelner Gruppen verstanden werden könnte. Den Parteien ist es gestattet, die Druckschrift zur Unterrichtung ihrer eigenen Mitglieder zu verwenden.

Die Landesregierung im Internet: www.schleswig-holstein.de

Inhalt

1. Einleitung und Zielsetzung	4
Antibiotikaresistente Bakterien in Badegewässern.....	4
Zielsetzung dieser Studie.....	4
2. Methodik	5
Messstellen und Untersuchungsorganismen.....	5
Untersuchungszeitraum und Probenahme	5
Begleitparameter	5
Anzucht der humanmedizinisch relevanten MRGN.....	5
Spezies-Differenzierung und Antibiogramm	6
3. Ergebnisse	7
4. Diskussion.....	8
5. Fazit	9
6. Literatur.....	10

1. Einleitung und Zielsetzung

Antibiotikaresistente Bakterien in Badegewässern

Bakterien verfügen über die Fähigkeit Resistenzen gegen Antibiotika auszubilden. Der Einsatz von Antibiotika fördert die Bildung von Resistenzen. Empfindliche Bakterien werden abgetötet, resistente Bakterien überleben und vermehren sich weiter. Antibiotikaresistente Bakterien finden sich vermehrt dort, wo Antibiotika eingesetzt werden, zum Beispiel in Krankenhäusern oder in der Landwirtschaft.

Krankenhausabwässer können ein Reservoir für antibiotikaresistente Bakterien und gegebenenfalls auch klinisch relevante multiresistente Erreger darstellen. In ihrem weiteren Verlauf gelangen die Krankenhausabwässer in Kläranlagen. Die gereinigten Abwässer werden in Oberflächengewässer eingeleitet und können daher Badegewässer beeinflussen.

Ob und wie sich antibiotikaresistente Bakterien über das Abwasser ausbreiten und wie sie sich in der Umwelt darstellen, wurde im Verbundprojekt „Hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle antibiotikaresistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern (HyReKA)“ untersucht (<http://hyreka.net/index.php?page=konzept>).

Schleswig-Holstein, das „Land zwischen den Meeren“ ist geprägt durch eine Vielfalt an Bädern an Nord- und Ostsee sowie Flüssen und Seen. Die Badegewässerqualität wird routinemäßig für verschiedene Parameter von den zuständigen Gesundheitsämtern überwacht und wurde 2019 wie bereits in den Vorjahren als sehr gut bewertet (<https://www.schleswig-holstein.de/DE/Themen/B/badegewaesser.html>).

Das Vorkommen antibiotikaresistenter Bakterien in schleswig-holsteinischen Badegewässern wurde bislang nicht untersucht.

Zielsetzung dieser Studie

Zielsetzung der Studie des Ministeriums für Soziales, Gesundheit, Jugend, Familie und Senioren (MSGJFS) war eine orientierende Überprüfung, ob klinisch relevante multiresistente Erreger in schleswig-holsteinischen Badegewässern vorkommen, die möglicherweise im Zusammenhang mit der Einleitung von Krankenhausabwässern stehen. Darauf basierend sollte eine Abschätzung von notwendigen Handlungsempfehlungen und Maßnahmen abgeleitet werden.

2. Methodik

Messstellen und Untersuchungsorganismen

Zu den untersuchten Messstellen gehören: **Klinikabwasser (Sammelschacht), Zu- und Abläufe von Kläranlagen** und **Badegewässer**. Es wurden 4 Untersuchungsgebiete mit insgesamt 21 Probenahmestellen ausgewählt. In diesen 4 Untersuchungsgebieten mündeten 3 Vorfluter in Küstengewässer und einer in ein Fließgewässer.

Die Untersuchungsorganismen wurden auf Grund ihrer klinischen und hygienischen Relevanz und in Anlehnung an die Erkenntnisse der HyReKa-Studie sowie gemäß der global priority list of antibiotic-resistant bacteria der WHO ausgewählt.

Im Rahmen dieser Studie erfolgte eine Fokussierung auf folgende humanmedizinisch besonders relevante Erreger:

4MRGN (multiresistente gramnegative Stäbchen) mit Carbapenem-Resistenz, Herkunft primär Humanmedizin, Einfluss auf Verbreitung in der Umwelt durch Einleitung in Gewässer/Krankenhausabwasser: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsiella oxytoca*.

Untersuchungszeitraum und Probenahme

Die Untersuchungen erfolgten während der Badesaison 2019 von Mitte Juni bis Mitte September. Es wurden stichprobenartig gezogene Schöpfproben genommen. Innerhalb eines Untersuchungsgebietes (Klinikabwasser, Zu- und Abläufe der entsprechenden Kläranlage und Badegewässer) wurden sämtliche Proben je Untersuchungszyklus am selben Tag genommen und umgehend dunkel und gekühlt ins Untersuchungslabor transportiert.

Begleitparameter

Bei den Probenahmen wurden folgende Begleitparameter vor Ort erhoben:

- Lufttemperatur
- Wassertemperatur
- Niederschlag in den letzten 24 Stunden
- Windstärke und Windrichtung

Anzucht der humanmedizinisch relevanten MRGN

Mit den Laboruntersuchungen wurde das Medizinaluntersuchungsamt (ZE MUA und Hygiene, UKSH, Kiel) beauftragt. Die Laboruntersuchungen erfolgten in Anlehnung an die HyReKA-Studie. Für die Anzucht der humanmedizinisch relevanten MRGN wurde ESBL-Selektivagar (ESBL-Agar, Mast Diagnostica) verwendet.

Aus den Abwasserproben („Sammelschacht“ und „vor Klärwerk“) wurde wegen der zu erwartenden hohen Zahl von Mikroorganismen eine Verdünnungsreihe bis 10^{-3} hergestellt und aus allen Verdünnungen jeweils 0,1 ml und 1 ml sowie 0,1 ml aus der Ausgangsprobe auf ESBL-Agar ausplattiert.

Die Proben „nach Klärwerk“ und „Badegewässer“ wurden filtriert (in der Regel 100 ml), wobei Membranfilter mit einer Porengröße von 0,45 µm (Microsart CN-Filter, Firma Sartorius) verwendet wurden. Die Filter wurden anschließend auf ESBL-Agarplatten aufgelegt.

Die Agarplatten wurden 24 Stunden bei 42 °C bebrütet. Alle gewachsenen Kolonien wurden gezählt. Von morphologisch gleichen Kolonien wurden jeweils Isolate angelegt. Die Anzahl der Isolate wurde in 5er Schritten festgelegt (bis 5 morphologisch gleiche Kolonien = 1 Isolat, 5 – 10 morphologisch gleiche Kolonien = 2 Isolate, 10 bis 15 morphologisch gleiche Kolonien = 3 Isolate usw.). Die Isolierung der Kolonien erfolgte auf Blutplatten (Columbia-Agar mit Schafblut, Firma Oxoid). Diese wurden 24 Stunden bei 36 °C bebrütet.

Spezies-Differenzierung und Antibiogramm

Die Spezies-Differenzierung erfolgte mittels MALDI-Biotyper (Firma Bruker Daltonic GmbH). Bestätigte Isolate (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsiella oxytoca*) wurden mittels Vitec-Antibiogramm (Vitec II, Firma Biomérieux) und gegebenenfalls E-Test (Firma Liofilchem) und/oder Carbapenemase-Test (β-Carba-Test, Firma Bio-Rad) weiter untersucht. Die Interpretation der Ergebnisse erfolgte nach EUCAST-Kriterien (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, deutsch: Europäischer Ausschuss für Antimikrobielle Anfälligkeitsprüfung, <http://www.eucast.org/>).

Die Einordnung der multiresistenten gramnegativen Stäbchen (MRGN) erfolgte entsprechend der „Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert-Koch-Institut“ (KRINKO)¹. Die Bezeichnung 3MRGN wird für Bakterien mit Resistenz gegen drei der vier Antibiotikagruppen (Acylureidopenicilline, 3./4. Generations-Cephalosporine, Carbapeneme, Fluorchinolone) und 4MRGN für Bakterien mit Resistenz gegen alle 4 Antibiotikagruppen verwendet. Bei Vorliegen einer Carbapenemase werden *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsiella oxytoca* unabhängig von den Ergebnissen der phänotypischen Resistenztestung immer als 4MRGN bewertet.

3. Ergebnisse

Insgesamt wurden 104 Wasserproben untersucht: 33 Proben aus Sammelschächten nach Einleitung von Klinikabwässern, 19 Proben aus den Zuläufen der entsprechenden Kläranlagen, 19 Proben aus den Abläufen der Kläranlagen und 33 Proben aus Badegewässern.

Erwartungsgemäß ließen sich in den untersuchten Wasserproben Extended Spectrum β -Lactamase bildende (ESBL) Bakterien der Wasser- und Umgebungsflora nachweisen.

Das Ergebnis des Nachweises der humanmedizinisch relevanten 4MRGN und auch der möglicherweise humanmedizinisch relevanten 3MRGN ist der Tabelle 1 zu entnehmen.

In keiner der untersuchten Badegewässerproben wurden humanmedizinisch besonders bedenkliche 4MRGN (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsiella oxytoca*) nachgewiesen.

Aus den Abläufen der Kläranlagen konnten über alle Probenahmeorte und -zeitpunkte hinweg zwei Isolate 4MRGN *Pseudomonas aeruginosa*, aus den Zuläufen zu den Kläranlagen drei Isolate 4MRGN *Pseudomonas aeruginosa* sowie aus den beprobten Sammelschächten nach Einleitung von Klinikabwässern insgesamt sechs Isolate 4MRGN *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen werden.

In den Badegewässern ließ sich ein Isolat 3MRGN *Klebsiella pneumoniae* nachweisen.

Aus den Abläufen der Kläranlagen konnten über alle Probenahmeorte und -zeitpunkte hinweg ein Isolat 3MRGN *Pseudomonas aeruginosa*, fünf Isolate 3MRGN *Klebsiella pneumoniae*, aus den Zuläufen zu den Kläranlagen zwei Isolate 3MRGN *Pseudomonas aeruginosa* und sieben Isolate 3MRGN *Klebsiella pneumoniae* sowie aus den beprobten Sammelschächten nach Einleitung von Klinikabwässern insgesamt zehn Isolate 3MRGN *Pseudomonas aeruginosa* und acht Isolate 3MRGN *Klebsiella pneumoniae* nachgewiesen werden.

Tabelle 1: Ergebnis des Nachweises humanmedizinisch relevanter 4MRGN und möglicherweise relevanter 3MRGN nach Art der Probenahmestelle.

Art der Probenahmestelle	Proben Ingesamt	4 MRGN	3 MRGN	4 MRGN	3 MRGN	4 MRGN	3 MRGN	4 MRGN	3 MRGN
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
Sammelschacht	33	6	10	0	0	0	8	0	0
Zulauf-Kläranlage	19	3	2	0	0	0	7	0	0
Ablauf-Kläranlage	19	2	1	0	0	0	5	0	0
Badegewässer	33	0	0	0	0	0	1	0	0
Gesamt	104	11	13	0	0	0	21	0	0

4. Diskussion

Die Abwässer aus Krankenhäusern können grundsätzlich ein Reservoir für potentiell humanmedizinisch relevante pathogene Bakterien darstellen^{2, 3}. In ihrem weiteren Verlauf gelangen die Krankenhausabwässer zusammen mit den anderen kommunalen Abwässern in die Kläranlagen. Die gereinigten Abwässer werden in Oberflächengewässer eingeleitet und können daher je nach Wetter- und Strömungsverhältnisse in geringer Entfernung liegende Badegewässer beeinflussen.

Multiresistente gramnegative Stäbchen (MRGN) gehören zu den klinisch besonders bedenklichen nosokomialen Infektionserregern. MRGN treten vermehrt auf und verbreiten sich rasch. Sie besitzen die Fähigkeit immer neue Resistenzgene auszubilden, die zwischen verschiedenen gramnegativen Spezies ausgetauscht werden können⁴.

Im Rahmen der Studie „Antibiotikaresistente Bakterien (ARB) in bayrischen Badegewässern“ aus dem Jahr 2019 wurden bayrische Badegewässer bezüglich des Vorkommens von Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA), Vancomycin-resistenter Enterokokken (VRE) und multiresistenter gramnegativer Stäbchen (MRGN) untersucht. Es konnten weder VRE noch MRSA nachgewiesen werden. MRGN kamen in 10 Badeseen vor. Allerdings zählten hierunter auch 2MRGN und 3MRGN. Insgesamt konnten in 117 Wasserproben aus bayrischen Badegewässern 2 *Pseudomonas* sp. Isolate mit 4MRGN-Phänotyp und 2 *Acinetobacter* sp. Isolate mit 4MRGN-Phänotyp nachgewiesen werden. (https://www.lgl.bayern.de/gesundheit/hygiene/wasserhygiene/doc/bericht_mre_in_bayerischen_badegewaessern.pdf)

Dieses Ergebnis deckt sich auch mit den Ergebnissen der Studie zur Verbreitung von antibiotikaresistenten Erregern in Kläranlagen und Oberflächengewässern des Landes Niedersachsen aus dem Jahr 2019. 4MRGN kamen in 2 von 112 Proben vor, keine davon in Badegewässern. Insgesamt wurden resistente Isolate (VRE, 3MRGN, 4MRGN) häufiger in Abwässern als in Oberflächenwässern nachgewiesen. MRSA konnte in keiner der Proben nachgewiesen werden. (https://www.umwelt.niedersachsen.de/startseite/themen_im_fokus/multiresistente-bakterien-164411.html)

Im Jahr 2018 hat das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen (LANUV) EU-Badegewässer in Nordrhein-Westfalen auf antibiotikaresistente Bakterien untersucht. Aus insgesamt 40 Proben ließen sich nur in 2 Proben 3MRGN in geringer Konzentration isolieren. In den übrigen Proben wurden keine klinisch relevanten Isolate nachgewiesen. (<https://www.umwelt.nrw.de/presse/detail/news/2019-03-22-untersuchung-der-nrw-badegewaesser-auf-antibiotikaresistente-bakterien-ergebnisse-liegen-vor/>)

Auch in der vorliegenden schleswig-holsteinischen Studie konnte gezeigt werden, dass in keiner der 33 untersuchten Badegewässerproben klinisch besonders relevante 4MRGN (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsiella oxytoca*) nachweisbar waren. Grundsätzlich konnte erwartungsgemäß festgestellt werden, dass deutlich mehr resistente Isolate in Abwässern (Sammelschacht, Zulauf Kläranlage) als im Ablauf der Kläranlagen und insbesondere in Badegewässern nachgewiesen wurden. VRE und MRSA spielen auf Grundlage der Ergebnisse der Studien aus Bayern und Niedersachsen als antibiotikaresistente Untersuchungsorganismen in Gewässern eine untergeordnete Rolle und wurden daher in der vorliegenden Studie nicht berücksichtigt.

5. Fazit

Im Rahmen dieser Studie wurden gezielt Badegewässer ausgewählt, die möglicherweise unter dem Einfluss von Krankenhausabwässern stehen. Es konnte gezeigt werden, dass in keiner der 33 untersuchten Badegewässerproben humanmedizinisch besonders relevante 4MRGN (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* und *Klebsiella oxytoca*) nachweisbar waren. Diese Ergebnisse decken sich mit den Untersuchungsergebnissen aus anderen Bundesländern.

Hinweise auf eine akute Gefährdung der Gesundheit für die Allgemeinbevölkerung durch diese multiresistenten Bakterien in schleswig-holsteinischen Badegewässern, die möglicherweise durch behandelte Abwässer aus Siedlungen und Kliniken beeinflusst sind, werden auf Grundlage der Ergebnisse der vorliegenden Studie nicht gesehen.

Vergleichbare Rückschlüsse werden auch aus der HyReKA-Studie⁵ und den Studien der anderen Bundesländer gezogen.

Nach derzeitigem Kenntnisstand ergibt sich daraus keine Notwendigkeit einer Ergänzung der Routineuntersuchungsparameter für Badegewässer in Schleswig-Holstein.

Weitergehende regelmäßige Screeningprogramme zum Vorkommen von antibiotikaresistenten Bakterien in schleswig-holsteinischen Badegewässern sind derzeit nicht sinnvoll. Bisher ist noch unklar, welche Konzentration an antibiotikaresistenten Bakterien in Gewässern als kritisch für die menschliche Gesundheit angesehen werden muss. Bei einer weiteren Zunahme von multiresistenten Erregern sollte, vor allem unter dem Aspekt von vulnerablen Bevölkerungsgruppen, in regelmäßigen Abständen die Situation in den Oberflächengewässern erneut geprüft werden.

6. Literatur

- ¹ Robert-Koch-Institut (RKI): Ergänzung zur Empfehlung der KRINKO „Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen“ (2012) im Zusammenhang mit der von EUCAST neu definierten Kategorie „I“ bei der Antibiotika-Resistenzbestimmung: Konsequenzen für die Definition von MRGN. Epi Bul 9/2019
- ² Munoz-Price, I. S., Hayden, M. K., Lolans, K., Won, S., Calvert, K., Lin, M., Stemer, A., Weinstein, R. A., 2010. Successful control of an outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* at a long-term acute care hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 31, 341-347
- ³ Sib, E., Voigt, A. M., Wilbring, G., Schreiber, C., Faerber, H. A., Skutlarek, D., Parcina, M., Mahn, R., Wolf, D., Brossart, P., Geiser, F., Engelhart, S., Exner, M., Bierbaum, G., Schmithausen, R. M., 2019. Antibiotic resistant bacteria and resistance genes in biofilms in clinical wastewater networks. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.03.006>
- ⁴ Empfehlung der KRINKO „Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen“ (2012).
- ⁵ Exner, M., Schmithausen, R., Schreiber, C., Bierbaum, G., Parcina, M., Engelhart, S., Kistemann, T., Sib, E., Walger, P., Schwartz, T., 2018. Zum Vorkommen und zur vorläufigen hygienisch-medizinischen Bewertung von Antibiotika-resistenten Bakterien mit humanmedizinischer Bedeutung in Gewässern, Abwässern, Badegewässern sowie zu möglichen Konsequenzen für die Trinkwasserversorgung. *Hyg. Med.* 43-5