

Aus dem
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

**Verteilung von klinisch relevanten multiresistenten Bakterien
im Abwasser der Stadt Magdeburg**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
Dr. med.
(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von
aus
Magdeburg 2023

Markus Ansgar Goldbeck
Münster

Bibliographische Beschreibung:

Goldbeck, Markus Ansgar:

Verteilung von klinisch relevanten multiresistenten Bakterien im Abwasser der Stadt Magdeburg

2023, - 57 Blatt, 23 Abbildungen, 8 Tabellen

Kurzreferat

Die Häufigkeit von multiresistenten Erregern (MRE) steigt Jahr für Jahr an. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) zählt die Zunahme von MRE zu den zehn größten gesundheitlichen Bedrohungen. Das Abwassersystem verbindet als Infrastruktur alle Bereiche einer Stadt und ermöglicht es daher mit relativ wenigen Untersuchungen ein Bild über die regionale MRE-Belastung zu erhalten.

In der vorliegenden prospektiv-deskriptiven Studie wurde das Abwasserkanalnetz der Stadt Magdeburg von den Wohngebieten bis zum Klärwerk auf die klinisch relevanten MRE-Gruppen der vierfach multiresistenten, meist Carbapenemase-produzierenden gramnegativen Stäbchen (4MRGN) und der Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) untersucht. An 24 repräsentativen Untersuchungsstellen der Stadt und des Klärwerks wurden zu drei Zeitpunkten Abwasserproben gewonnen und kulturell auf MRE untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass Abwasser von Krankenhäusern signifikant stärker als Abwasser von Pflegeeinrichtungen oder Wohngebieten mit 4MRGN und VRE belastet waren. Die im Einzugsgebiet nachgewiesenen MRE konnten ebenfalls in verschiedenen Klärstufen des Klärwerks und teilweise auch noch in der Elbe nachgewiesen werden, in die die geklärten Abwässer eingeleitet werden.

Schlüsselwörter: Multiresistente Erreger, MRGN, VRE, Abwasser

1	Einführung	1
1.1	Zunahme von multiresistenten Erregern	1
1.2	Klinisch relevante multiresistente Erreger	1
1.2.1	Enterokokken	4
1.2.2	Vancomycin-resistente Enterokokken	4
1.2.3	Klinisch relevante gramnegative Stäbchen	4
1.2.4	Multiresistente gramnegative Stäbchen	5
1.3	Multiresistente Erreger im Abwasser	6
1.4	Ziele der Arbeit	7
2	Material und Methoden	8
2.1	Material	8
2.2	Entnahmestellen	10
2.3	Zeitraum	15
2.4	Probenahme	15
2.5	Kultureller Erregernachweis	17
2.6	Phänotypische Resistenztestung mittels Agardiffusionstest	25
2.7	Molekularbiologischer Carbapenemase-Nachweis	28
2.8	Statistische Analyse	28
3	Ergebnisse	30
3.1	Krankenhäuser	31
3.2	Pflegeeinrichtungen	34
3.3	Häusliches Abwasser	36
3.4	Vergleich der MRE-Belastung des Abwassers von Krankenhäusern, Pflegeheimen und des häuslichen Abwassers	38
3.4.1	4MRGN	38
3.4.2	Vancomycin-resistente Enterokokken	39
3.5	Klärwerk Magdeburg	40
4	Diskussion	46
4.1	Limitationen	53
4.2	Ausblick	55
5	Zusammenfassung	57

Abkürzungen

Tabelle 1: Abkürzungen

4MRGN	Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen vier der vier Antibiotikagruppen
A.ö.R.	Anstalt des öffentlichen Rechts
CCA	Chromogener Coliformer Agar
DIN	Deutsches Institut für Normung e.V.
DKTIG	Deutsche Krankenhaus TrustCenter und Informationsverarbeitung GmbH
DNA	Desoxyribonucleic acid
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
ESKAPE	Enterokokken: Vancomycin-resistent; <i>Staphylococcus aureus</i> : Methicillin-resistent (MRSA); <i>Klebsiella pneumoniae</i> : Carbapenem-resistent; <i>Acinetobacter baumannii</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; Enterobacterales: Extended-Spectrum-Betalaktamase-Bildner/ESBL
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
EW	Einwohnergleichwerte
Gen.	Generation
HyReKA	Biologische bzw. hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern
IMP	Imipenemase
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention
LTHT	Lecithin, Tween 80, Histidin und Thiosulfat
MALDI-TOF	Matrix-assisted laser desorption time-of-flight
mbH	Mit beschränkter Haftung
MCR-1	Mobilized colistin resistance
MHK	Minimale Hemmkonzentration
MRE	Multiresistente Erreger

MRGN	Multiresistente gramnegative Stäbchen
MRSA	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>
NDM	New Delhi Metallo-Beta-Laktamase
OXA-48	Oxacillinase-48
PCR	Polymerase chain reaction
RKI	Robert-Koch-Institut
spp.	species pluralis
UV	ultraviolett
VIM	Verona Integron-encoded Metallo-Beta-Laktamase
VRE	Vancomycin-resistente Enterokokken
WHO	World Health Organization

1 Einführung

1.1 Zunahme von multiresistenten Erregern

Im Jahr 2015 starben in Deutschland 2.363 Menschen an den Folgen einer Infektion mit mehrfach-Antibiotika-resistenten/multiresistenten Erregern (MRE) (Cassini et al. 2019). Weltweit wurde 2019 die Zahl der Todesfälle durch MRE auf 1,27 Millionen geschätzt. Insgesamt stieg die Zahl der Todesfälle im Zusammenhang mit multiresistenten Erregern in der EU von 2007 bis 2015 deutlich an (European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) 2009; Murray et al. 2022). Multiresistente Erreger kommen sowohl bei gramnegativen, wie bei grampositiven Bakterien vor. Einige dieser Erreger zeigen eine hohe Assoziation mit nosokomialen Infektionen und werden auch als ESKAPE-Gruppe (**E**nterokokken, **S**taphylococcus aureus, **K**lebsiella pneumoniae, **A**cinetobacter baumannii complex, **P**seudomonas aeruginosa, **E**nterobacterales) zusammengefasst. Vor allem das vermehrte Auftreten von gramnegativen Bakterien, welche gegen die vier klinisch relevanten Antibiotikaklassen (4MRGN) resistent sind, ist Besorgnis erregend, da diese Bakterien für schwerste Wundinfektionen, Pneumonien und Septitiden verantwortlich sind.

Verschiedene Faktoren werden als ursächlich für die zunehmende Ausbreitung von Resistenzen vermutet:

- insgesamt zu häufiger Einsatz von Antibiotika in der Humanmedizin
- falscher Einsatz von Antibiotika bei viralen Infektionen
- prophylaktischer Einsatz von Antibiotika in der Tiermast
- Eintrag von Antibiotikarückständen in die Umwelt über menschliche und tierische Ausscheidungen
- Verbreitung von multiresistenten Erregern über das Medium Abwasser

1.2 Klinisch relevante multiresistente Erreger

Anfang 2019 hat die Weltgesundheitsorganisation (WHO) die Ausbildung von Antibiotikaresistenzen in die Liste der zehn größten Bedrohungen der Menschheit aufgenommen (World Health Organization 2019). Zuvor hatte die WHO bereits im Jahr 2017 eine Liste mit Bakterien veröffentlicht, welche Priorität in der Untersuchung und Entwicklung neuer Antibiotika haben sollen (World Health Organization 2017). Als erste Priorität finden sich *A. baumannii complex*, *P.*

aeruginosa und Enterobacterales. *Enterococcus faecium* erhielt die zweite Priorität. Diese Bakterien finden sich auch oft unter dem Akronym „ESKAPE“ wieder. Eine 2019 durchgeführte Studie kam zu dem Ergebnis, dass *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* und *P. aeruginosa* jeweils mit mehr als 250.000 Todesfällen/Jahr weltweit assoziiert sind. Wobei *E. coli*, gefolgt von *K. pneumoniae*, für die meisten Todesfälle verantwortlich waren (Murray et al. 2022). Die verstärkte Ausbreitung, Resistenzbildung und damit verbundene erhöhte Mortalität haben in den letzten Jahren durch diese Erreger stark zugenommen. Hierbei spielen verschiedene Resistenzmechanismen eine Rolle. Zum einen können Bakterien über eine natürliche Resistenz verfügen, wenn die Ziel-Struktur des Antibiotikums fehlt. Dies trifft beispielsweise auf Penicillin zu, welches als β -Lactam-Antibiotikum die Zellwandsynthese hemmen kann. Besitzt ein Bakterium keine Zellwand, kann Penicillin nicht wirken (z.B. bei Mykoplasmen).

Zum anderen entstehen erworbene/sekundäre Resistenzen zu einem großen Teil über Selektionsprozesse, die durch den horizontalen Gentransfer zwischen Bakterien derselben und unterschiedlicher Spezies noch verstärkt werden. Über zirkuläre, extrachromosomale DNA (Plasmide) können Resistenzgene durch Konjugation oder Transformation in andere Bakterien übertragen werden. Zu den Resistenzmechanismen zählen beispielsweise: Produktion von Enzymen, welche Antibiotika abbauen (z.B. Betalaktamasen); Effluxpumpen, welche für eine Ausschleusung von Antibiotika aus dem Zellinneren führen und Zielstrukturen, welche Antibiotika binden und somit unwirksam machen können (z.B. Chloramphenicol-Acetyltransferase) (Hof und Dörries 2009).

Die Produktion von Enzymen, insbesondere die Produktion von Carbapenemasen bei gramnegativen Stäbchenbakterien, stellt ein großes Problem dar, weil diese Enzyme Carbapeneme als klinisch wichtigste Reserveantibiotika mit breitem Wirkspektrum inaktivieren.

Die Antibiotikagruppe der Carbapeneme enthält zwei Untergruppen (Kattan et al. 2008).

- Gruppe 1: Ertapenem
- Gruppe 2: Imipenem, Meropenem und Doripenem (in Deutschland nicht mehr verfügbar)

Diese Antibiotika werden vorwiegend intravenös bei schweren Infektionen mit gramnegativen Stäbchenbakterien als Reserveantibiotika eingesetzt. Eine Studie

zeigte, dass im Zeitraum von 2001 bis 2015 die definierte Tagesdosis von Carbapenemen pro 100 Liegetage auf den teilnehmenden Intensivstationen um 230 % angestiegen war. Der Einsatz von Meropenem ist in gleichem Zeitraum um 638 % gestiegen (Remschmidt et al. 2017).

Carbapenemasen können entweder zu den Serin-Carbapenemasen oder Metallo-Carbapenemasen gezählt werden und führen durch den Abbau von Carbapenemen zur Inaktivierung dieser wichtigen Antibiotika. Verantwortlich für die Ausbildung dieses Abwehrmechanismus sind Gene, welche sich, wie oben dargestellt, meist auf Plasmiden befinden. Zu den bekanntesten und im klinischen Alltag wichtigsten Carbapenemase-Resistenzgenen gehören Oxacillinase-48 (OXA-48), Verona Integron-encoded Metallo-Beta-Laktamase (VIM), New Delhi Metallo-Beta-Laktamase (NDM), *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC) und Imipenemase (IMP). Diese Gene können z.B. mittels PCR in Bakterien nachgewiesen werden.

Bei Enterokokken spielen die Resistenzen gegen Glykopeptide, wie Vancomycin eine wichtige Rolle. Hier werden vor allem drei klinisch relevante Resistenzen unterschieden, da diese phänotypisch-unterschiedliche Formen annehmen. VanA und vanB kommen lediglich bei *E. faecium* und *E. faecalis* vor. Dabei zeigt sich bei vanA eine Resistenz gegen Vancomycin und Teicoplanin. VanB erzeugt eine Resistenz nur gegen Vancomycin. VanC spielt bei *E. gallinarum* und *E. casseliflavus* eine Rolle. Hier führt es zur Resistenz gegen Vancomycin. Im Gegensatz zu den meist auf Plasmiden befindlichen Resistenzgenen vanA und vanB, werden vanC-Resistenzen meist chromosomal kodiert und sind deshalb weniger leicht übertragbar.

Im Zeitraum 2015 bis 2018 stieg die Anzahl der mit Carbapenem-resistenten *K. pneumoniae* infizierten Patienten in Deutschland von 1.583 auf 3.879 an. Die Anzahl an klinisch relevanten *E. faecium* VRE-Nachweisen stieg im gleichen Zeitraum von 1.347 auf 2.382 Patienten (European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) 2019). Im Jahr 2015 lag die Zahl der durch multiresistente Erreger verstorbenen Patienten in Deutschland bei 2.363.

1.2.1 Enterokokken

Enterokokken sind nicht-bewegliche grampositive Kokken, fakultativ anaerob, Oxidase- und Katalase-negativ und können Kohlenhydrate fermentieren. Zu den wichtigsten klinisch relevanten Arten zählen *E. faecium* und *E. faecalis*, wobei *E. faecium* ca. 10 % und *E. faecalis* ca. 90 % der Infektionen mit Enterokokken ausmachen. Enterokokken sind bis 45 °C hitzestabil und widerstehen einem pH-Wert von 9,6. Sie gehören zum physiologischen Mikrobiom des menschlichen Dickdarms und besitzen eine Resistenz gegen Gallenflüssigkeit. Insbesondere bei immunsupprimierten Patienten kann es nach wiederholten Antibiotikatherapien zu einer verschobenen Zusammensetzung der Darmflora zugunsten von Enterokokken kommen, was das Risiko für Harnwegsinfektionen, Peritonitiden, Weichteilinfektionen, Endokarditiden bis hin zu einer lebensbedrohlichen Sepsis durch Enterokokken erhöht (Gatermann 2016).

1.2.2 Vancomycin-resistente Enterokokken

Zur Behandlung von Enterokokken-Infektionen werden bei *E. faecalis* primär Aminopenicilline (Ampicillin) bzw. bei *E. faecium* primär Glykopeptide (Vancomycin) eingesetzt. Durch die vermehrte Resistenzentwicklung gegen Glykopeptide entwickelt sich zunehmend bei *E. faecium* eine Selektion zu Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE). Diese Resistenz wird vor allem über die übertragbaren Glykopeptid-Resistenzgenotypen vanA und vanB verursacht (Klare et al. 2012). Eine Infektion mit VRE schränkt die Therapieoptionen stark ein und führt zu einem höheren Risiko für Komplikationen. Reserveantibiotika wie Oxazolidinone (Linezolid) oder cyclische Lipopeptide (Daptomycin) sind zwar vorhanden, jedoch sollte ihr Einsatz abgewogen werden, um weitere Resistenzentwicklungen zu vermeiden.

1.2.3 Klinisch relevante gramnegative Stäbchen

1.2.3.1 Nonfermenter

Pseudomonas aeruginosa und *Acinetobacter baumannii* gehören zur Gruppe der nichtfermentativen gram-negativen Stäbchenbakterien, die sich durch die Unfähigkeit auszeichnen, Kohlenhydrate zu fermentieren. Beide Erreger besitzen eine hohe Umwelttoleranz und können besonders im feuchten Milieu überleben

(Campa 1993). Insbesondere *A. baumannii* besitzt ebenfalls eine große Toleranz gegenüber Austrocknung und überlebt daher auch sehr gut im trockenen Milieu (Wendt et al. 1997). Sie zählen zu den fakultativ-pathogenen Erregern und gehören in einer geringen Zahl zur menschlichen Normalflora, können aber bei immunsupprimierten oder älteren Patienten zu Pneumonien, Harnwegsinfektionen, Otitis externa, Wundinfektionen und Septitiden führen (Steinmetz 2016). Als klinisch relevante Vertreter, welche sehr oft Resistenzen gegenüber Antibiotika entwickeln, gelten *A. baumannii complex* und *P. aeruginosa* (Hübner und Kramer 2016). Zum *A. baumannii complex* gehören *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. seifertii* und *A. dijkshoorniae*.

1.2.3.2 Enterobacterales

Die Gruppe der Enterobacterales hat einige gemeinsame Eigenschaften. Die Vertreter der Gruppe sind gramnegative Stäbchen, fakultativ anaerob, können Kohlenhydrate fermentieren, besitzen Katalase und sind je nach Spezies beweglich oder unbeweglich. Sie gehören zur physiologischen Darmflora des Menschen und verursachen nur bei Verschleppung in andere Körperregionen oder bei immungeschwächten Menschen Infektionen. Diese können dann aber lebensbedrohlich werden. Enterobacterales lösen Erkrankungen von Harnwegsinfektion, Pneumonie, Meningitis, Peritonitis über Wundinfektion bis zur Sepsis aus. Die wichtigsten unter ihnen mit einer Assoziation zur Multiresistenz sind *E. cloacae complex*, *E. coli*, *C. freundii complex*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *S. marcescens* (Suerbaum et al. 2016) und *K. aerogenes*. Zum *C. freundii complex* gehören *C. freundii*, *C. braakii*, *C. gillanii*, *C. murlinae*, *C. portucalensis*, *C. sedlakii*, *C. werkmanii* und *C. youngae*. Zum *E. cloacae complex* gehören *E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. cancerogenus*, *E. chengduensis*, *E. chuandaensis*, *E. hormaechei*, *E. kobei*, *E. kobei*, *E. ludwigii*, *E. roggkampii* und *E. sichuanensis*.

1.2.4 Multiresistente gramnegative Stäbchen

Der Begriff „Multiresistente gramnegative Stäbchen“ wurde von der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) im Jahr 2012 definiert. Eingeschlossen werden alle Enterobacterales und aus der Gruppe der Nonfermenter *P. aeruginosa* und *A. baumannii complex* solche, die gegen drei von

vier Antibiotikaklassen (3MRGN) und gegen vier von vier Antibiotikaklassen (4MRGN) resistent sind (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) 2012, S. 1313). Als Antibiotikaklassen wurden Wirkstoffe gewählt, welche eine hohe klinische Relevanz haben: Acylureidopenicilline, Cephalosporine der dritten und vierten Generation, Carbapeneme und Fluorchinolone. Außerdem empfiehlt die KRINKO, Enterobacterales und *Acinetobacter spp.* mit einer Resistenz gegen Carbapeneme ebenfalls als 4MRGN zu klassifizieren, auch wenn eine Sensibilität für Ciprofloxacin vorliegt (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) 2012, S. 1313). Bei 4MRGN sind die Therapiemöglichkeiten stark eingeschränkt. Es muss eine individuelle Therapie anhand eines Antibiogramms eingeleitet werden. Hier kommen dann Reserveantibiotika wie Colistin (Polymyxin), Ceftolozan/Tazobactam und Ceftazidim/Avibactam (Cephalosporin der fünften Gen./Betalactamaseinhibitor-Kombinationen) oder Tobramycin mit Amikacin (Aminoglycoside) zum Einsatz.

1.3 Multiresistente Erreger im Abwasser

Das Abwasser spielt für die Ausbreitung von MRE eine wichtige Rolle, da trotz Klärung auf diesem Weg MRE aus einem Stadtgebiet in natürliche Gewässer freigesetzt werden können. Mit MRE infizierte Patienten sind in Krankenhäusern häufig (Renschmidt et al. 2017). Es liegt nahe, dass bei der täglichen Hygiene die Erreger von der kontaminierten Haut des Patienten abgespült oder vom Patienten mit Urin oder Stuhlgang ausgeschieden werden und in das Abwassersystem des Krankenhauses gelangen. Ebenfalls kann bei aus dem Krankenhaus entlassenen Patienten eine Erregerverschleppung ins häusliche Abwasser erfolgen. Durch eine Einleitung in das städtische Kanalnetz kommt es zu einer Vermischung mit Abwasser aus anderen Bereichen der Stadt und damit auch zu Kontakt mit anderen Bakterien, eventuell sogar zum Austausch von Resistenzplasmiden. Der Klärprozess im Klärwerk beginnt mit der mechanischen Behandlung. Hierbei filtern Rechenanlagen grobe Verunreinigungen (z.B. Plastiktüten) aus dem Abwasser. Es gelangt danach in den Sand- und Schwimmstofffang. Fette werden von der Wasseroberfläche entfernt, Sand lagert sich als Sediment ab und wird ebenfalls aus dem Abwasser entfernt. Der letzte Schritt der mechanischen Reinigungsstufe bildet die Vorklärung. Durch eine langsame Fließgeschwindigkeit setzt sich Klärschlamm

als Sediment auf dem Beckenboden ab, Partikel mit einer geringeren Dichte als Wasser schwimmen an der Wasseroberfläche. Sediment und leichtere Partikel werden als Klärschlamm abgenommen und gelangen zur weiteren Verarbeitung in Faultürme. Das Abwasser gelangt danach in die biologische Reinigungsstufe. In der Kaskadenbelebungsanlage sorgen Bakterien unter stetiger Belüftung für eine Aufspaltung von organischen Kohlenstoffverbindungen und für die Denitrifikation (NO_3^- zu N_2). Diese Bakterien bilden den Belebtschlamm. In der Nachklärung wird dieser Belebtschlamm vom Abwasser getrennt und in die Kaskadenbelebungsanlage rückgeführt. In der chemischen Reinigungsstufe sorgen Eisen- und Aluminiumsalze für eine Abtrennung von Phosphor aus dem Abwasser. Als letzter Schritt gelangt das geklärte Abwasser über den Ablauf des Klärwerks in den Vorfluter (Bundesministerium Land- und Forstwirtschaft, Regionen und Wasserwirtschaft), d.h. in der Regel in ein oberirdisches Fließgewässer, welches letztlich in das Meer fließt.

1.4 Ziele der Arbeit

Das primäre Ziel der Arbeit war die Untersuchung des Abwassers im Stadtgebiet Magdeburg auf klinisch relevante MRE. Am Untersuchungsort (Magdeburg) erfolgte gemäß Information der Trinkwasserversorgung Magdeburg (TWM) bisher keine routinemäßige Untersuchung des Abwassers auf multiresistente Bakterien. Eine Voraussetzung für das Projekt war die Entwicklung eines Laborverfahrens zur kulturellen Analyse von Abwasser auf das Vorliegen von MRE. Während sich die meisten neueren Studien auf genotypische Nachweisverfahren fokussierten (Piedra-Carrasco et al. 2017; Nasri et al. 2017; Caucci et al. 2016), war es ein Ziel der vorliegenden Studie primär kostengünstige kulturelle Verfahren zu verwenden und im Nachgang Resistenzgene molekularbiologisch nachzuweisen. Weiterhin wurde im Rahmen der Studie untersucht, in welchem Umfang sich das Abwasser von Krankenhäusern im Vergleich zum Abwasser von Pflegeheimen und häuslichen Abwasser unterscheidet. Abschließend wurde untersucht, ob die nachgewiesenen MRE im städtischen Klärwerk eliminiert werden.

2 Material und Methoden

2.1 Material

Tabelle 2: Material

Bezeichnung	Hersteller	Beschreibung
1 - 10 µl Pipette	Eppendorf	
20 - 200 µl Pipette	Eppendorf	
100- 1000 µl Pipette	Eppendorf	
Absaugleiste	PALL Life Sciences	
Allplex Entero-DR Assay	Seegene	PCR-Set
Allpex Entero-DR IC	Seegene	PCR-Kontrollösung
Aztreonam ATM 30 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Biorad C100 Thermal Cycler CFX-96 Real-Time System	Biorad	PCR
Drigalskispatel	IsoLAB	
CCA-Agar	Oxoid	Festnährmedium
Cefepim FEP 30 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Cefotaxim CTX 5 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Ceftazidim CAZ 10 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Cetrimid-Agar	Oxoid	Festnährmedium
Cetrifuge 5415 D	Eppendorf	Zentrifuge
CHROMagar™ KPC (KPC-Agar)	Graso	Festnährmedium
Ciprofloxacin CIP 5 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Colistin CT 10 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Columbia-Agar	BD	Festnährmedium
D7100	Nikon	Digitalkamera
Digital heatblock Inkubator	VWR	
Disc Dispenser	Oxoid	Dispenser für Antibiotikablättchen
DNA/RNA UV-Cleaner UVC/ T-M-AR	Kisker	UV-Reiniger
Easypet	Eppendorf Easypet	Pipettierhilfe
Einmalpinzetten transparent	mediWare	
Environmental Shaker-Inkubator ES-20/60	Peqlab	Schüttelinkubator
Ertapenem ETP 10 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Glasflaschen, steril, 300 ml	unbekannt	

ID-Platte VITEK MS	BIOMÉRIEUX	Target für Massenspektrometer
Imipenem IPM 10 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Impfösen 1 µl weiß	Greiner Bio-one	
Incidin OxyWipe S	ECOLAB	Desinfektionstücher
Inkubationsraum	unbekannt	
Deluxe Automatik	Privileg	Kühlschrank
Lineal, 30 cm	unbekannt	
Linezolid LZD 10 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Low-Profile PCR-Tubes 8-Tube strip, white TLS 0851	Biorad	Probengefäß für PCR
MacConkey-Agar	Oxoid	Festnährmedium
Meropenem MEM 10 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Microbial storage PL 170C/M	Microbank	Röhrchen zur Kryokonservierung
MicroFunnel Filter 4810, 0,45 µm	PALL	
Micronaut-S	Merlin Diagnostika	MHK-Standardplatte
Millipore Caso-Bouillon m. LTHTh 10 ml	Merck	Flüssignährmedium
Mobilien W 90	VARIOLAB	Absaugbank
Müller-Hinton-Agar hell	BD	Festnährmedium
Na Thiosulfate 20 mg, 500 ml	Diagonal	Probenahmegefäß
optical Flat 8-Cap strips for 0,2 ml tube strips/plates TCS 0803	Biorad	Probengefäß für PCR
Piperacillin PRL 30 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Pipettenspitzen mit Filter	Starlab	
Probenahmehilfsmittel 1	unbekannt	
Probenahmehilfsmittel 2	unbekannt	
Slanetz-Bartley-Agar	Oxoid	Festnährmedium
Schere, steril	unbekannt	
Schraubbecher, steril, 100 ml	Sarstedt	
serologische Pipetten 10 ml	Greiner Bio-one Cellstar	
Sicherheitswerkbank Hera guard	Herasafe	
Sicherheitswerkbank Hera safe	Herasafe	
Sonorex super RK 514 BH	Bandelin	Ultraschallreiniger
Stieltupfer	LR Raucotupf	

Teicoplanin TEC 30 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Trichter, steril	unbekannt	
Universal 320	Hettich	Zentrifuge
Vancomycin VA 30 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
Vancomycin VA 5 µg	Oxoid	Antibiotikablättchen
VITEK MS MALDI-TOF	BIOMÉRIEUX	Massenspektrometer
VRE-Agar	BIOMÉRIEUX	Festnährmedium
Whatman Faltenfilter 110 mm, 4-7 µm Porengröße	GE Healthcare	

2.2 Entnahmestellen

Am 31.12.2018 hatte die Stadt Magdeburg als Landeshauptstadt Sachsen-Anhalts 238.697 Einwohner (Statistisches Landesamt 2019, S. 9). Das gesamte Abwasser wird über die Abwassergesellschaft Magdeburg mbH im Klärwerk Gerwisch geklärt. Abbildung 1 gibt eine Übersicht über die Beprobungsstellen im Stadtgebiet Magdeburg.

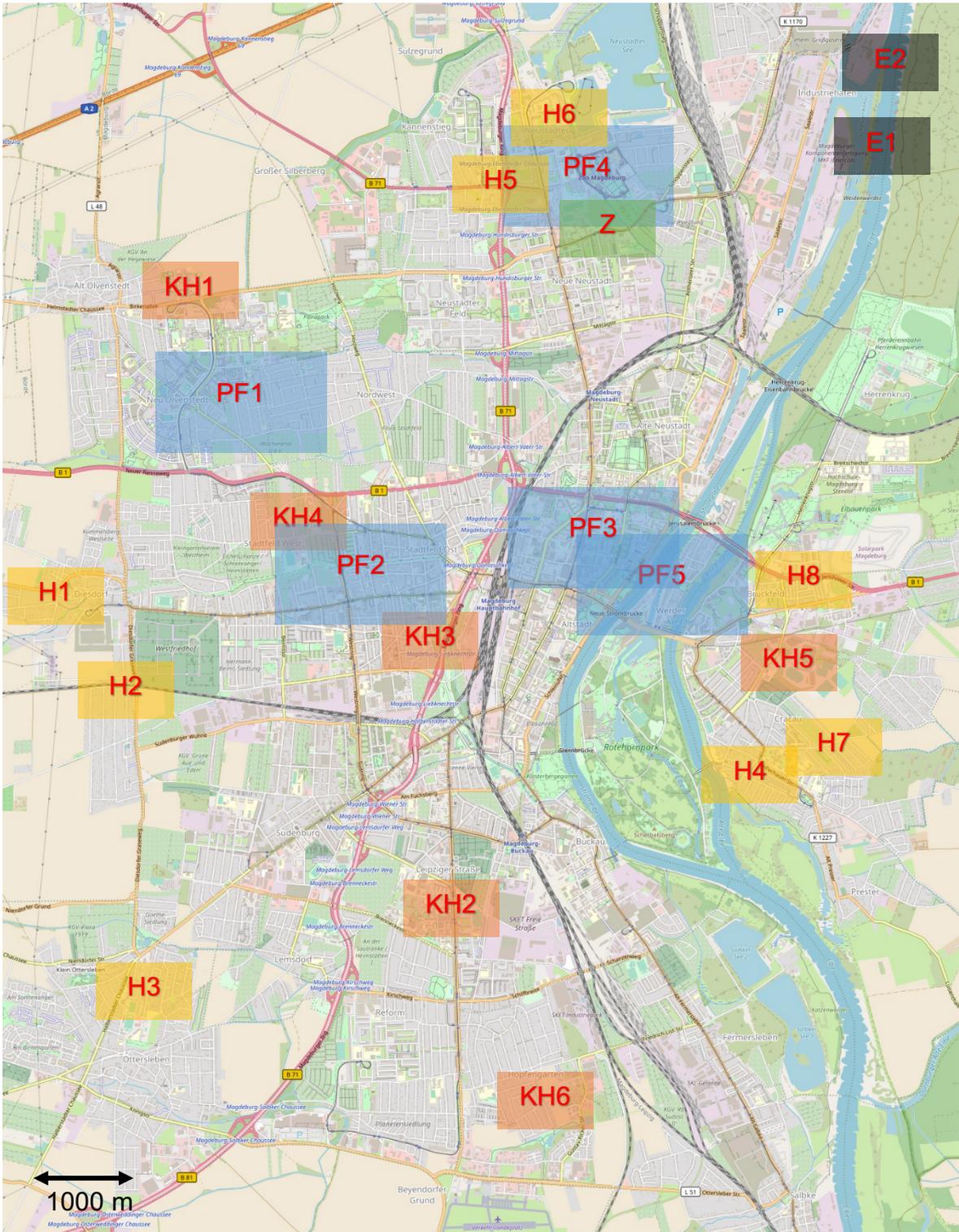


Abbildung 1: Übersicht der Untersuchungsstellen im Stadtgebiet Magdeburg. KH: Abwasser Krankenhaus, PF: Abwasser Pflegeeinrichtung, H: häusliches Abwasser ohne Krankenhaus oder Pflegeheim im Einzugsgebiet, Z: Abwasser Zoo, E: Elbe. (OpenStreetMap contributors)

In enger Absprache mit dem Kanalnetzbetreiber der Stadt Magdeburg erfolgte die Auswahl geeigneter Probenahmepunkte. Hierbei war wichtig, alle **Krankenhäuser** Magdeburgs (KH1 – KH5) und ein Rehabilitationszentrum (KH6) einzuschließen, da diese als MRE-Haupteinleiter vermutet wurden. Außerdem wurden die vier **Pflegeeinrichtungen** Magdeburgs (PF1 – PF4) in die Beprobung eingeschlossen, welche die höchste Bettenkapazität aufwiesen. Eine weitere beprobte Pflegeeinrichtungen verfügt über einen Intensivpflegebereich (PF5). Nach eigenen Angaben verfügten die Pflegeheime im Jahr 2017 im Durchschnitt über 154,4 Betten (91 bis 192). Die Krankenhäuser wiesen im selben Jahr eine Fallzahl (stationär + teilstationär) von durchschnittlich 20.149 (608 bis 48.127 Fälle) auf (Deutsche Krankenhaus TrustCenter und Informationsverarbeitung GmbH (DKTIG) 2019). Die Probenahmen erfolgten am jeweiligen Übergabeschacht zum Gesamtkanalnetz.

Um eine ausreichende Menge **häuslichen Abwassers** zu gewinnen, erfolgte die Abnahme an einer Abwasserleitung, welche einen gesamten Straßenzug beinhaltet. Aus historischen/baulichen Gründen schieden Abwasserleitungen in Innenstadtnähe für eine Beprobung aus. Zudem musste darauf geachtet werden, dass kein Krankenhaus und keine Pflegeeinrichtung an der Abwasserleitung des Straßenzugs angeschlossen ist. Insgesamt wurde an acht Stellen (H1 – H8) im Stadtgebiet Magdeburg häusliches Abwasser abgenommen. Zusätzlich wurde Abwasser des städtischen Zoos (Z) entnommen.

Die Stadt Magdeburg verfügt zum größten Teil über Mischwasserkanäle, welche Schmutz- und Regenwasser gemeinsam sammeln und dem **Klärwerk** zuführen. Über 1.000 km Kanalnetz leiten das Mischwasser (Abwasser/Regenwasser) in das 1999 in Betrieb genommene Klärwerk Magdeburg/Gerwisch, welches über eine Mischwasserzufluss-Kapazität von rund 7.500 m³ pro Std. verfügt. Es übernimmt mit seiner Ausbaugröße 426.000 EW das Abwasser der gesamten Landeshauptstadt Magdeburg, sowie weiterer 21 Vororte (Abwassergesellschaft Magdeburg mbH).

Die chronologische Reihenfolge des Klärprozesses:

- **Zufluss Nord / Zufluss Stadtgebiet (KL1 + KL2)**
- **Gesamtzulauf Klärwerk (KL3)**
- Rechenanlage (mechanische Behandlung)
- **Sand- und Schwimmstofffang (KL4)**
- Vorklärung
- **Kaskadenbelebungsanlage (KL5)**
- Nachklärung
- **Chemische Reinigungsstufe (KL6)**
- **Ablauf Klärwerk (KL7)**
- **Einleitung Elbe**

(Probenahmestellen KL1 – KL7 in Fettschrift, Abb. 2)

Die Elbe als Vorfluter des Klärwerks wurde vor Einleitung (E1) und nach Einleitung (E2) des geklärten Abwassers beprobt. Zusätzlich erfolgt auf dem Gelände des Klärwerks eine Behandlung des geklärten Wassers (nach chemischer Reinigungsstufe) mit UV-Licht. Dieses Wasser wird ausschließlich für innerbetriebliche Abläufe des Klärwerks verwendet. Hier wurden ebenfalls nach der UV-Behandlung Proben genommen (KL8).

Abwasserreinigung Klärwerk Magdeburg / Gerwisch - Fließschema

Stand: 10/2021

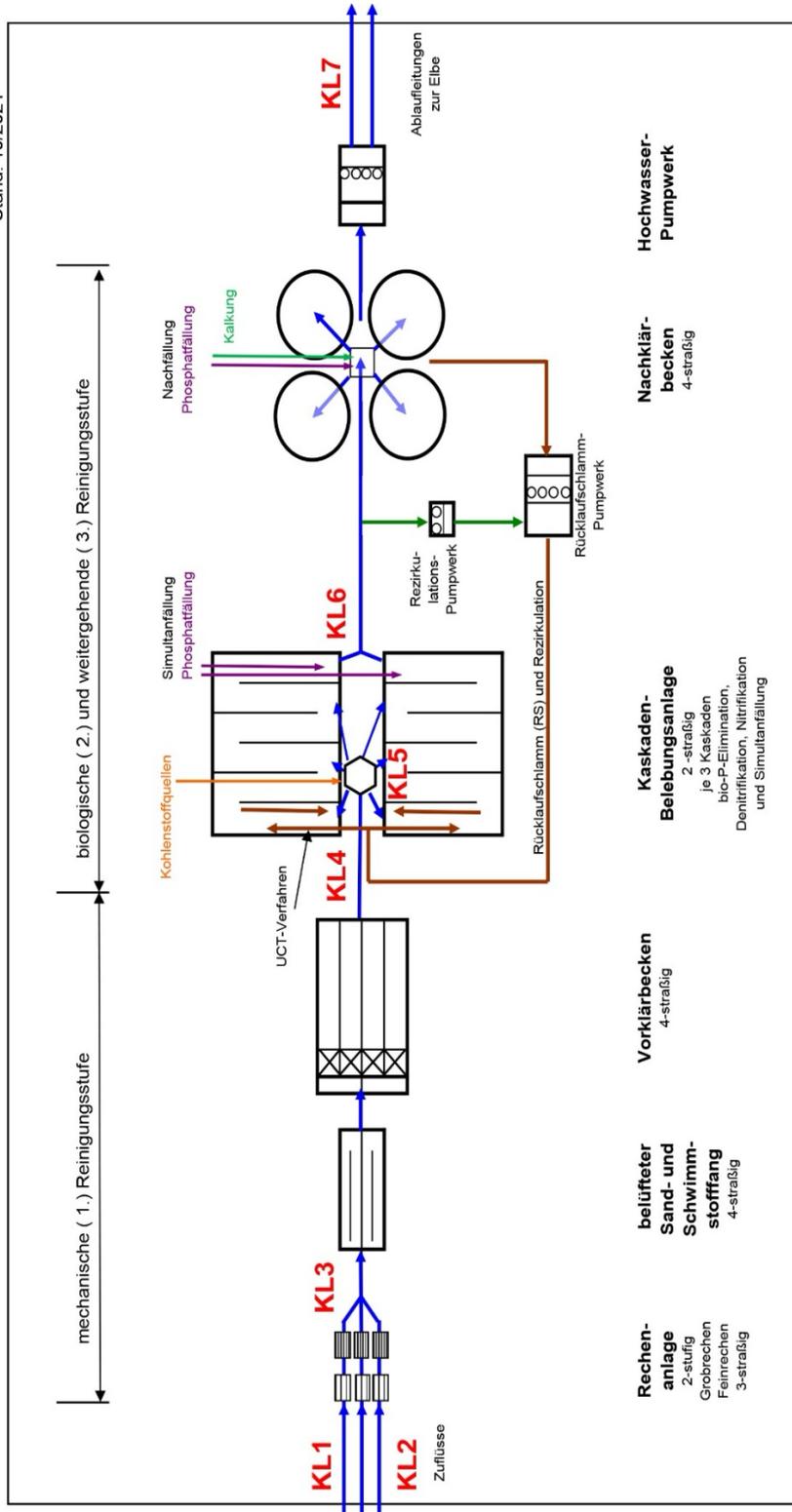


Abbildung 2: Fließschema Abwasserbehandlung mit Darstellung der Klärstufen des Klärwerks Magdeburg/Gerwisch. Eingezeichnet (rot) sind die Abnahmepunkte im Klärwerk (KL1 – KL7). Die weiteren Abnahmepunkte KL8 (Klärwerk nach UV-Behandlung) und Elbe vor Einlauf (E1) und nach Einlauf (E2) sind nicht dargestellt. Die Vorlage für die Abbildung wurde freundlicherweise von der Städtische Werke Magdeburg GmbH zur Verfügung gestellt.

2.3 Zeitraum

Es wurden zu drei verschiedenen Zeitpunkten (Tab. 3) Abwasserproben gewonnen und jeweils am darauffolgenden Tag bearbeitet. Da das Kanalnetz vorwiegend aus Mischwasserkanälen (Abwasser + Regenwasser) besteht, war eine Beprobung an möglichst niederschlagsarmen Tagen notwendig. Größere Niederschläge hätten eventuell durch den Verdünnungseffekt das Ergebnis beeinflusst.

Tabelle 3: Dargestellt sind die Zeitpunkte der Beprobung. Die Wetterdaten wurden im Internet ermittelt (WetterKontor).

	Lufttemperatur max.	Niederschlag in den letzten 48 Std.
Dienstag, 19.02.2019 8:30 bis 15:30 Uhr	10,9 °C	0,7 l/m ²
Donnerstag, 28.03.2019 8:15 bis 14:00 Uhr	12,3 °C	2,7 l/m ²
Montag, 02.09.2019 8:15 bis 14:30 Uhr	21,4 °C	0,0 l/m ²

2.4 Probenahme

Die Entnahme der Abwässer erfolgte in Anlehnung an die DIN 38402-11:2009-02 (Deutsches Institut für Normung e.V.) als einzelne Stichprobe. Hierzu standen zwei Probenahmehilfsmittel (Abb. 3 und 4) zur Verfügung. Es erfolgte eine eindeutige Identifizierung der Beprobungsstelle anhand einer eindeutigen Schachtnummer. Abweichend zur DIN 38402-11:2009-02 erfolgte vor Ort und zu Beginn jeder einzelnen Probenahme eine Wischdesinfektion der Probenahmehilfsmittel mit Incidin OxyWipe S. Nach der erforderlichen Einwirkzeit wurde das Probenahmegerät in den Abwasserstrom für wenige Sekunden eingelegt, um Desinfektionsmittelrückstände zu beseitigen.

Es wurden jeweils 500 ml Abwasser an jeder Beprobungsstelle gewonnen (Abb. 5), in Behälter mit 20 mg Natriumthiosulfat abgefüllt (Abb. 6) und bis zur Weiterverarbeitung bei 4 – 8 °C gelagert.



Abbildung 3: Probenahmehilfsmittel 1. Hiermit wurden Abwasserproben genommen.



Abbildung 4: Probenahmehilfsmittel 2. Hiermit wurden Abwasserproben genommen, wenn der Abnahmeschacht sehr tief lag.



Abbildung 5: Probenahme mit Probenahmehilfsmittel 1. Der Probenahmebehälter wurde in den jeweiligen Abwasserstrom gehalten, um eine Probe zu gewinnen.



Abbildung 6: Umfüllen der Probe in Na-Thiosulfat zur Konservierung.

2.5 Kultureller Erregernachweis

Am Folgetag nach der Probenahme wurden die weiteren Arbeitsschritte im Hygienelabor des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene des Universitätsklinikums Magdeburg A.ö.R. durchgeführt.

Zur Vermeidung von Kontaminationen erfolgten alle kulturellen Verfahren in einer mikrobiologischen Sicherheitswerkbank mit sterilen Materialien.

Die Originalprobe wurde kurz aufgeschüttelt und 200 ml davon über einen Whatman-Faltenfilter (Porengröße: 4 – 7 μm) grob vorfiltriert. So konnten grobe Feststoffe entfernt werden. Je nach Verunreinigung dauerte die Filtration von wenigen Min. bis zu 1,5 Std. (Abb. 7).

Von den gewonnenen 200 ml wurden 100 ml bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ als Rückstellprobe tiefgefroren und die verbliebenen 100 ml noch einmal feinfltriert. Für die zweite Filtration wurden 100 ml Abwasser auf einen $0,45\text{ }\mu\text{m}$ MicroFunnel Filter gegeben und mittels einer Absaugleiste mit $0,7\text{ Bar}$ Unterdruck filtriert. Es zeigte sich je nach Verunreinigung/Trübung eine Filtrationszeit von Sekunden bis zu mehreren Minuten (Abb. 8 – 10).



Abbildung 7: Vor-Filtration mit Whatman-Filter. Das Abwasser wurde auf das Filterpapier gegeben und vorfiltriert.

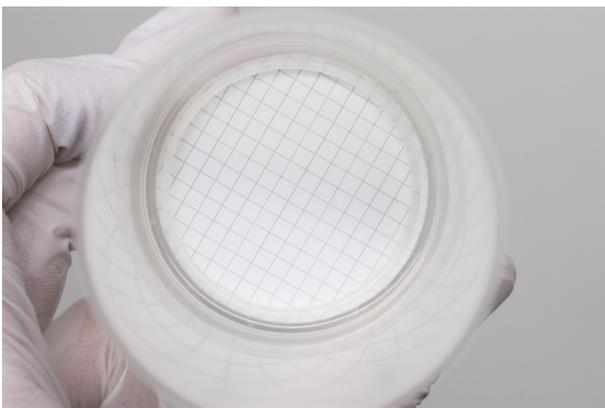


Abbildung 8: MicroFunnel Filter vor Filtration. Durch diesen Filter erfolgte die zweite Filtration.



Abbildung 9: MicroFunnel Filter Filtration

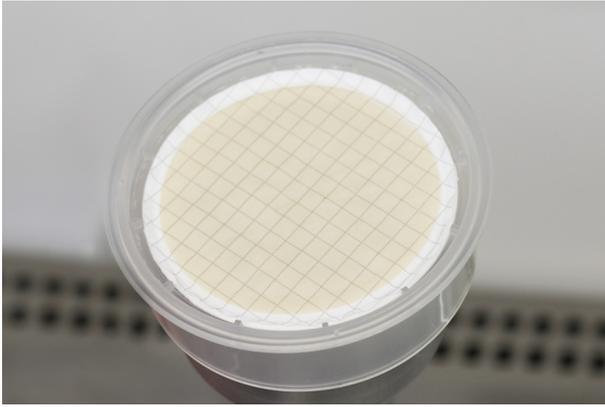


Abbildung 10: MicroFunnel Filter nach Filtration. Trübung des Filters.

Nach der zweiten Filtration wurden die verwendeten MicroFunnel Filter mit einer sterilen Schere zerschnitten, in einen sterilen 100 ml Becher gegeben und mit 20 ml CASO-Bouillon (mit LTHTh-Enthemmer) in einem Ultraschallbecken für 5 Min. resuspendiert.

Im nächsten Schritt wurden aus der Suspension jeweils 9 ml in die zwei leeren Caso-Bouillon-Reagenzröhrchen umgefüllt und die Röhrchen zur selektiven Anreicherung mit Antibiotika-getränkten Plättchen versetzt:

- 60 µg Vancomycin und 30 µg Aztreonam, zur ersten Selektion auf Vancomycin-resistente Enterokokken
- 20 µg Ertapenem zur Selektion auf Carbapenem-resistente Enterobacterales und Nonfermenter

Anschließend erfolgte eine Schüttelinkubation bei 35 ± 1 °C für 24 Std., bis zur Trübung der Bouillon (Abb. 11).



Abbildung 11: Bouillon vor und nach Inkubation bei 35 ± 1 °C. Links ist die Bouillon noch unbeimpft und klar. Rechts ist die Bouillon nach Beimpfung, mit Antibiotikum versetzt und für ca. 24 Std. inkubiert, getrübt.

Nach Inkubation wurden die Proben nochmals kurz aufgeschüttelt und dann jeweils 100 µl auf die entsprechenden Nährmedien inokuliert und mit einem sterilen Drigalskispatel ausplattiert (Abb. 12).

Für die Selektion bzw. Detektion von Enterokokken, Enterobacterales bzw. Pseudomonaden wurden verschiedene Nährmedien inokuliert:

- Slanetz-Bartley-Agar selektiert das Wachstum für Enterokokken und hemmt das Wachstum von gramnegativen Erregern (z.B. Enterobacterales, Nonfermenter).
- Chromogener Coliformer Agar (CCA) erlaubt nur das Wachstum von gramnegativen Stäbchenbakterien.
- Um eine Selektion von *P. aeruginosa* zu erreichen, wurde Ceftrimid-Agar eingesetzt.

Inkubiert wurden der Slanetz-Bartley-Agar für 48 Std., CCA und Ceftrimid-Agar für 24 Std. jeweils bei 35 ± 1 °C.

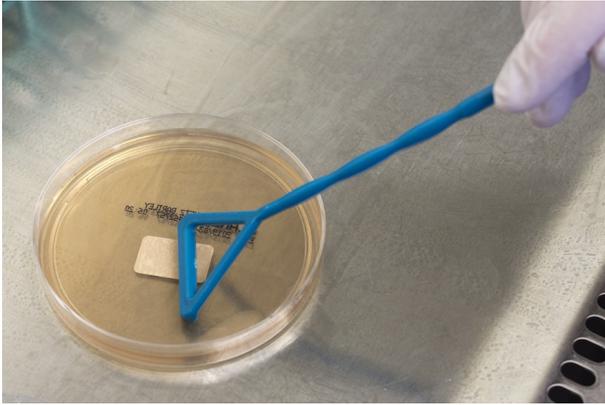


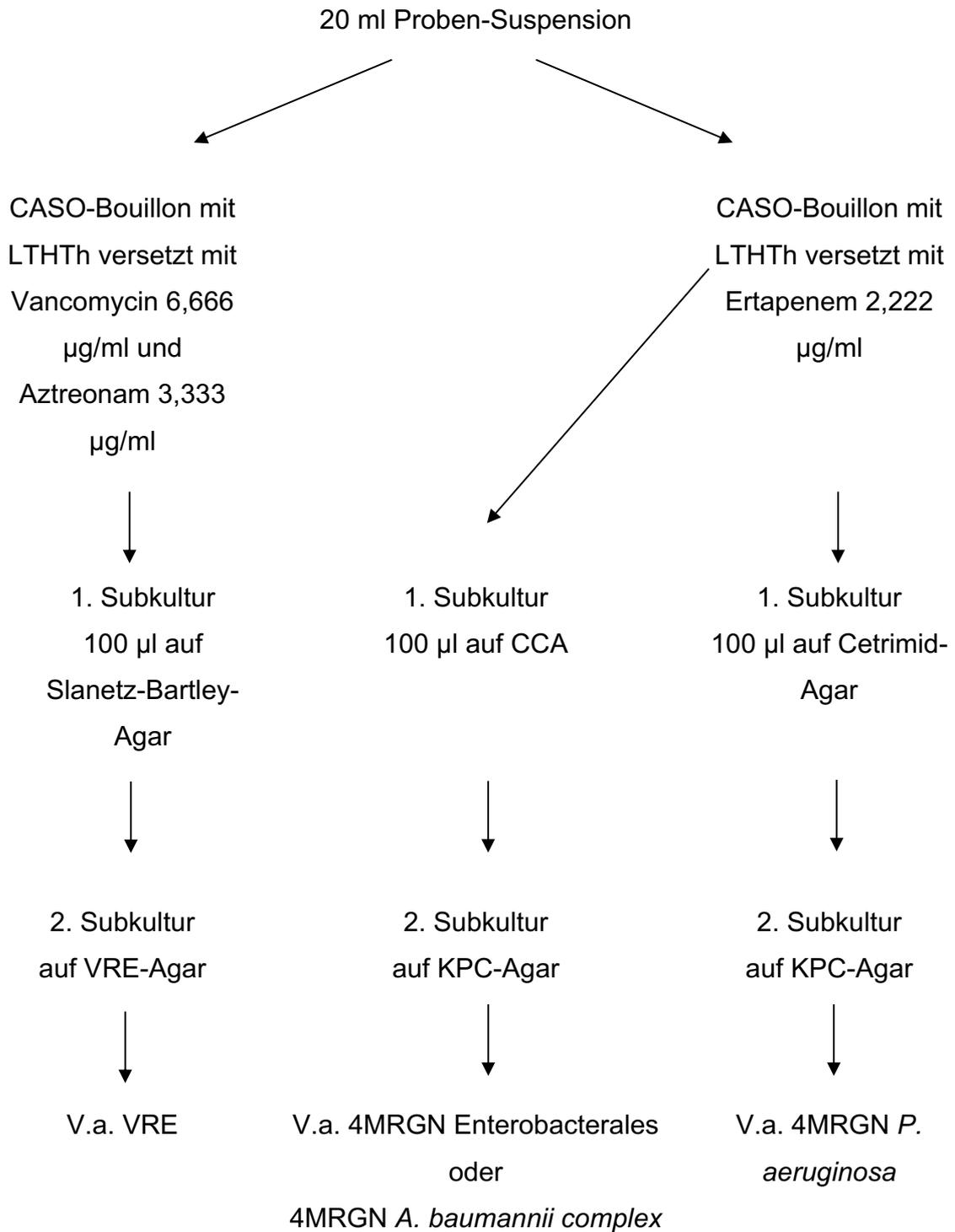
Abbildung 12: Ausplattieren von 100 μ l Bouillon mit dem DriGalskispatel

Nach der Inkubation wurden die Platten auf kulturelles Wachstum überprüft und verdächtige Kolonien wie folgt weiterverarbeitet:

- Enterokokken vom Slanetz-Bartley-Agar wurden auf VRE-Agarplatten zur Selektion von Vancomycin-resistenten Enterokokken subkultiviert.
- Enterobacterales und *A. baumannii complex* sowie *P. aeruginosa* wurden auf Carbapenem-haltigen chromogenen Agar (KPC-Agar) subkultiviert, um Carbapenem-resistente Erreger zu selektionieren.

Die Inkubation der Subkulturen erfolgte für 48 Std. bei 35 ± 1 °C. Trotz dieser selektiven Subkulturen war die Dichte der Kolonien auf den Nährmedien weiterhin sehr hoch (Abb. 13). Erst nach mehreren Fraktionierungsschritten auf MacConkey bzw. Columbia-Agar, konnten Einzelkolonien isoliert werden.

Schema der ersten Probenahme:



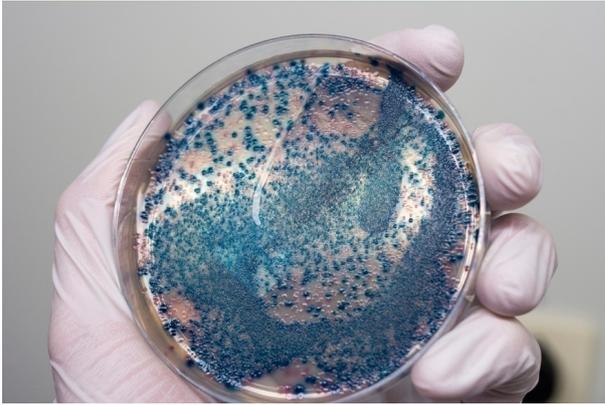
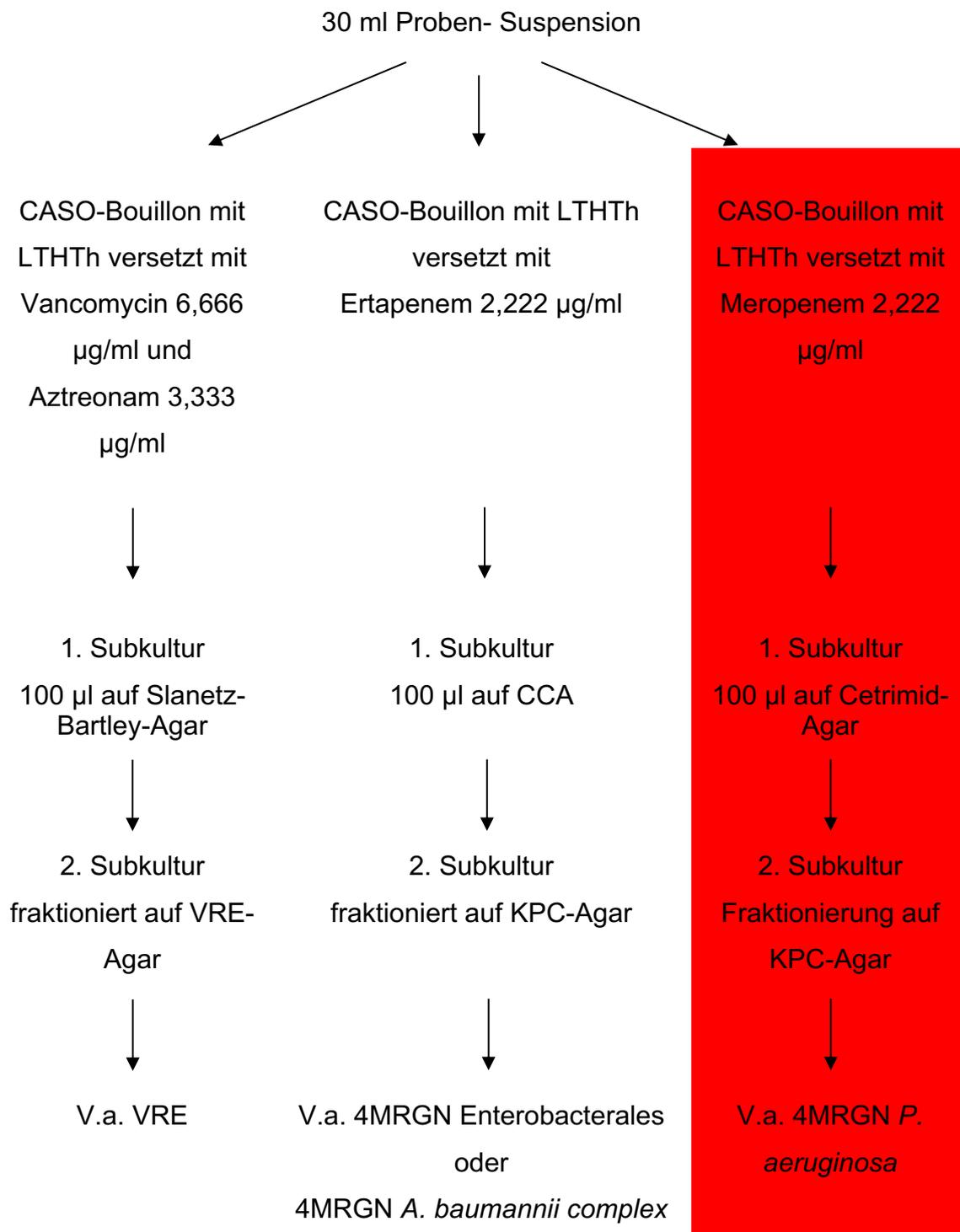


Abbildung 13: CCA-Agar nach der ersten Subkultur. Bakterienkolonien bewachsen das Nährmedium.

Die isolierten Bakterienkolonien wurden zuerst über ihre Morphologie (Farbe, Größe, Erhabenheit, Berandung, Konsistenz) orientierend und danach mittels „matrix-assisted laser desorption time-of-flight“ (MALDI-TOF) definitiv identifiziert. *Escherichia coli* zeigte sich auf dem KPC-Agar dunkel-rosa bis rötlich, *Klebsiella*, *C. freundii* complex und *Enterobacter* bläulich, *P. aeruginosa* transparent, *A. baumannii* complex leicht gelb. Erreger, welche nicht von der KRINKO als 4MRGN klassifiziert werden, wurden nicht weiter berücksichtigt (z. B. *P. putida*). Isolate, welche die gleiche Morphologie besaßen, wurden als ein Isolat gewertet.

Die Aufarbeitung der zweiten und dritten Probenahme wurde zugunsten einer besseren Selektion von *P. aeruginosa* angepasst. Dies war notwendig, da Ertapenem eine Wirklücke u.a. gegen *P. aeruginosa* aufweist (Livermore et al. 2003). Eine bessere antibiotische Wirkung ist mit Meropenem zu erzielen. So wurde der MicroFunnel Filter 0,45 µm nun mit 30 ml CASO-Bouillon (mit LTHTh-Enthemmer) resuspendiert und eine zusätzliche 9 ml Suspension mit 20 µg Meropenem versetzt.

Somit ergab sich in der zweiten und dritten Probenahme folgendes geändertes Schema:



2.6 Phänotypische Resistenztestung mittels Agardiffusionstest

In dieser Studie kam in erster Linie der phänotypische Nachweis von multiresistenten Erregern in Frage, da diese Methode die direkte Wirkung von Antibiotika auf entsprechende Erreger in vitro simuliert. Eine molekularbiologische Untersuchung der 4MRGN-Isolate wurde anschließend zur Identifikation von Carbapenemasen durchgeführt (2.7 Molekularbiologischer Carbapenemase-Nachweis).

Nach Erregeridentifikation wurde eine Resistenztestung mit dem Agardiffusionstest durchgeführt (Bauer et al. 1966). Hierzu wurden die jeweiligen Isolate auf Müller-Hinton-Agar ausplattiert, mit den aufgelegten Antibiotikablättchen (Tab. 4) 24 Std. bei 35 ± 1 °C inkubiert und danach die Diameter der Hemmhöfe mittels eines Lineals bestimmt. Anhand der EUCAST breakpoints (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing 2018) wurde die Antibiotikaempfindlichkeit der Isolate in sensibel, intermediär und resistent kategorisiert.

Tabelle 4: Folgende Antibiotika wurden im Agardiffusionstest untersucht. Lag ein Messwert zwischen sensibel und resistent, so wurde das Isolat als intermediär gewertet:

Verdacht auf	Antibiotika-Gruppe	Wirkstoff	Diameter in mm	
			sensibel	resistent
VRE	Glykopeptide	Vancomycin 5 µg	≥ 12	< 12
		Teicoplanin 30 µg	≥ 16	< 16
	Oxazolidinone	Linezolid 10 µg	≥ 19	< 19
4MRGN Enterobacterales	Acylureidopenicilline	Piperacillin 30 µg	≥ 20	< 17
	3./4. Gen. Cephalosporine	Cefotaxim (Gen. 3a) 5 µg	≥ 20	< 17
		Ceftazidim (Gen. 3b) 10 µg	≥ 22	< 19
		Cefepim (Gen. 4) 30 µg	≥ 27	< 24
	Carbapeneme	Ertapenem 10 µg	≥ 25	< 22
		Imipenem 10 µg	≥ 22	< 16
		Meropenem 10 µg	≥ 22	< 16
Fluorchinolone	Ciprofloxacin 5 µg	≥ 26	< 24	
4MRGN <i>P. aeruginosa</i>	Acylureidopenicilline	Piperacillin 30 µg	≥ 18	< 18
	3./4. Gen. Cephalosporine	Ceftazidim (Gen. 3b) 10 µg	≥ 17	< 17
		Cefepim (Gen. 4) 30 µg	≥ 21	< 21
	Carbapeneme	Imipenem 10 µg	≥ 20	< 17
		Meropenem 10 µg	≥ 24	< 18
Fluorchinolone	Ciprofloxacin 5 µg	≥ 26	< 26	
4MRGN <i>A. baumannii</i> complex:	Carbapeneme	Imipenem 10 µg	≥ 23	< 17
		Meropenem 10 µg	≥ 21	< 15
	Fluorchinolone	Ciprofloxacin 5 µg	≥ 21	< 21

Tab. 2 Klassifizierung multiresistenter gramnegativer Stäbchen auf Basis ihrer phänotypischen Resistenzeigenschaften (R=resistent oder intermediär empfindlich, S = sensibel)

Antibiotikagruppe	Leitsubstanz	Enterobakterien		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Acinetobacter baumannii</i>	
		3MRGN ¹	4MRGN ²	3MRGN ¹	4MRGN ²	3MRGN ¹	4MRGN ²
Acylureidopenicilline	Piperacillin	R	R	Nur eine der 4 Antibiotikagruppen wirksam (sensibel)	R	R	R
3./4. Generations-Cephalosporine	Cefotaxim und/oder Cefazidim	R	R		R	R	R
Carbapeneme	Imipenem und/oder Meropenem	S	R		R	S	R
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	R	R		R	R	R

¹ 3MRGN (Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen)
² 4MRGN (Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen)

Abbildung 14: Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut 2012 - Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) 2012, S. 1313)

Da die KRINKO explizit alle Enterobacterales als 4MRGN definiert, welche eine phänotypische Resistenz gegen ein Carbapenem-Antibiotikum aufweisen (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) 2012, S. 1313), wurde eine Resistenztestung mit den drei Carbapenemen Ertapenem, Imipenem und Meropenem durchgeführt.

Da in allen Resistenztestungen nach der ersten Probenahme eine Resistenz gegen Piperacillin nachweisbar war, wurde ab der zweiten Probenahme die Resistenztestung angepasst und anstatt Piperacillin, das Polymyxin Colistin als weiteres Antibiotikum untersucht. Dies war möglich, da für die Klassifizierung als 4MRGN auch ein alleiniger Nachweis einer Carbapenem-Resistenz ausreichend ist und die zusätzliche Untersuchung von Piperacillin dann entfallen kann (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) 2012). 4MRGN-Isolate, welche eine phänotypische Resistenz gegen Colistin aufwiesen, wurden im Anschluss mittels Bestimmung der MHK verifiziert. Colistin ist ein wichtiges Reserveantibiotikum zur Behandlung einer Infektion mit 4MRGN, weshalb die Entwicklung einer Colistin-Resistenz durch die Einschränkung der Therapiemöglichkeiten klinisch relevant ist.

Anhand der Klassifikation der KRINKO (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) 2012) wurden die Isolate in die Klasse 4MRGN eingeteilt (Abb. 14). Gemäß der zum Zeitpunkt der

Untersuchung gültigen Einstufung wurden dabei intermediäre Isolate wie resistente Isolate bewertet.

Enterococcus faecium mit Vancomycin-Resistenz wurden als VRE klassifiziert.

Um eine spätere genotypische Resistenztestung mittels PCR zu ermöglichen erfolgte eine Kryokonservierung bei -85 °C (2.7 Molekularbiologischer Carbapenemase-Nachweis).

2.7 Molekularbiologischer Carbapenemase-Nachweis

Zusätzlich zur phänotypischen Resistenztestung erfolgte bei den identifizierten 4MRGN eine genotypische Analyse auf die häufigsten Carbapenemase-Gene OXA-48, VIM, NDM, KPC und IMP. Wenn ein Erreger mehrfach in einer Probe vorkam und auch die phänotypische Resistenz übereinstimmte, wurde der molekularbiologische Carbapenemase-Nachweis nur mit einem Isolat durchgeführt. Es unterscheidet sich somit die Zahl der nachgewiesenen 4MRGN ($n = 117$) von der Zahl der molekularbiologischen Carbapenemase-Nachweise ($n = 93$).

Für den Nachweis wurde der Seegene Allplex Entero-DR Assay auf dem Biorad C100 Thermal Cycler CFX-96 Real-Time System verwendet.

Zunächst wurden die Isolate innerhalb von 30 Min. von -85 °C auf 20 °C aufgetaut und in 10 ml CASO-Bouillon suspendiert, für 24 Std. bei $35 \pm 1\text{ °C}$ inkubiert und anschließend auf Columbia-Agar über Nacht bei $35 \pm 1\text{ °C}$ subkultiviert. Zum Aufschluss der DNA wurde jeweils eine Kolonie des Erregers in 200 μl destilliertem Wasser mit 10 μl Entero-DR IC resuspendiert und bei 100 °C in einem Heizblock für 10 Min. erhitzt. Im Anschluss folgte die Zentrifugation für 1 Min. bei 13.000 Umdrehungen/Min., bevor die Proben bis zur abschließenden PCR-Analyse, entsprechend der Herstellerangaben, bei -20 °C tiefgekühlt wurden.

2.8 Statistische Analyse

Zur statistischen Analyse der erhobenen Daten wurden die nicht parametrischen Teststatistiken Mann-Whitney-U-Test (Vergleich von zwei Gruppen) bzw. zum Vergleich von multiplen Gruppen der Kruskal-Wallis-Test verwendet (Statistics Kingdom; Statistics Kingdom).

Die Signifikanzanalyse der Gruppen erfolgte beim Kruskal-Wallis-Test mit dem post hoc Dunn's-Test. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde beim Vergleich von zwei Gruppen als signifikant bewertet. Der Vergleich von multiplen Gruppen erfolgte unter

Berücksichtigung der Bonferroni-Korrektur. Beim Vergleich von drei Gruppen wurde der p-Wert entsprechend auf $p < 0,05/3 = 0,017$ adjustiert.

3 Ergebnisse

Im Rahmen der Arbeit wurden insgesamt 102 Abwasserproben bearbeitet, 625 Erreger identifiziert, 332 Resistenztestungen durchgeführt und 157 MRE gefunden. Hiervon waren 40 Isolate Vancomycin-resistente *E. faecium*. Vancomycin-resistente *E. faecalis* wurden nicht nachgewiesen. Zunächst konnten 117 Erreger phänotypisch als 4MRGN klassifiziert werden. *Klebsiella pneumoniae* (n = 25), *C. freundii complex* (n = 17) und *E. cloacae complex* (n = 15) waren die am häufigsten kulturell nachgewiesenen 4MRGN. Während des kulturellen Nachweisverfahrens wurde eine unbekannte Anzahl Isolate verworfen, da diese nicht als 4MRGN oder VRE eingruppiert werden (z. B. *P. putida*).

Für den molekularbiologischen Carbapenemase-Nachweis wurden 24 Isolate ausgeschlossen, bei denen die jeweilige Spezies doppelt in einer Probe isoliert worden war. Somit wurde der molekularbiologische Carbapenemase-Nachweis nur mit 93 verschiedenen 4MRGN durchgeführt.

Klebsiella pneumoniae (n = 7), *C. freundii complex* (n = 6) und *E. cloacae complex* (n = 15) waren die häufigsten 4MRGN mit Gennachweis im städtischen Abwasser (Krankenhäuser, Pflegeeinrichtungen und häusliches Abwasser) (Abb. 15).

Im Ergebnis wiesen 65 der 93 getesteten Erreger genau ein Resistenzgen und acht von 93 Isolaten zwei Resistenzgene auf. Bei 19 der 4MRGN-Isolaten war der molekularbiologische Nachweis auf alle fünf untersuchten Carbapenemasen negativ. Das mit Abstand am häufigsten nachgewiesene Resistenzgen war OXA-48 (n = 68). Ebenfalls wurden die Metallo-carbapenemasen NDM (n = 6) und VIM (n = 8) nachgewiesen. Die Resistenzgene KPC und IMP konnten in keinem Isolat nachgewiesen werden.

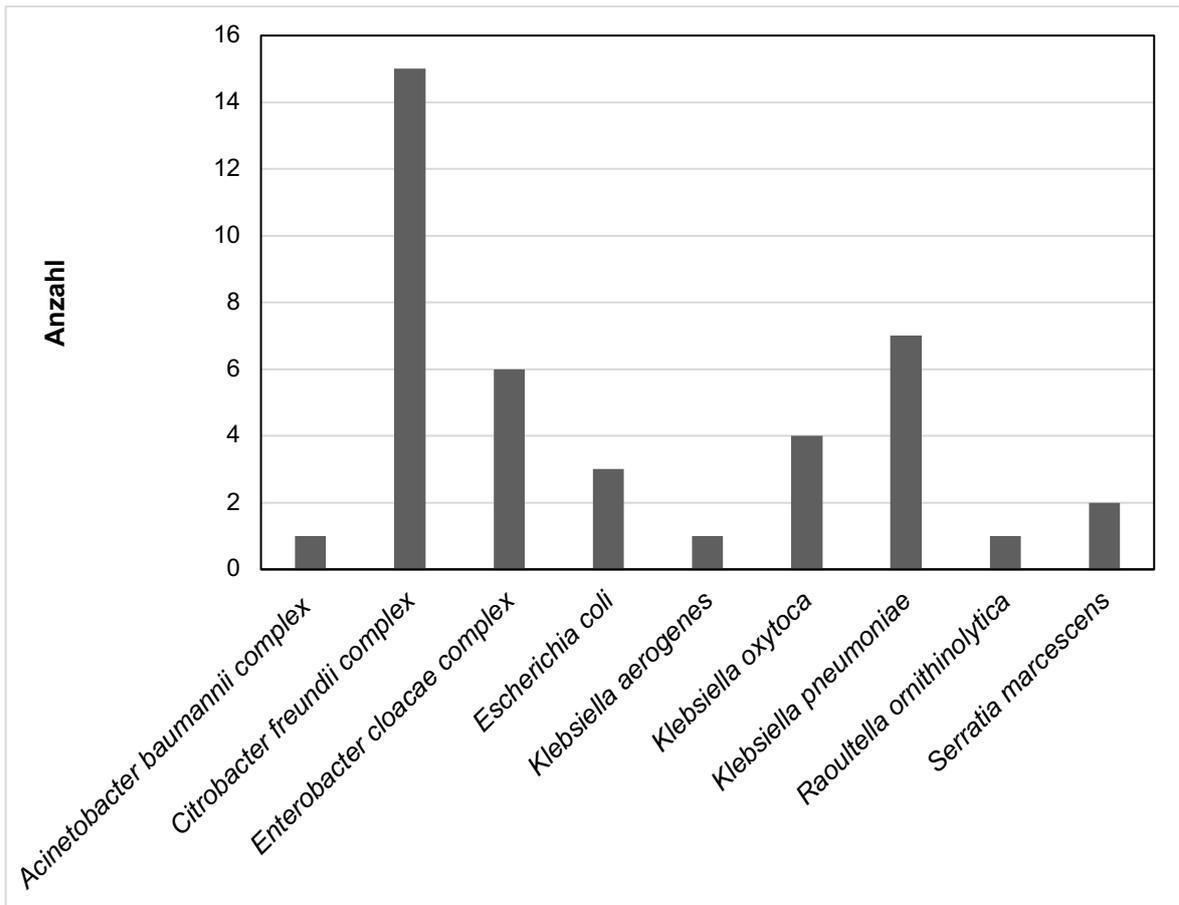


Abbildung 15: 4MRGN (mit Gennachweis) im Abwasser. Dargestellt ist die Gesamtzahl der nachgewiesenen Spezies-Carbapenemase-Kombinationen im Abwasser von Krankenhäusern, Pflegeeinrichtungen und im häuslichen Abwasser, aufgetrennt nach den jeweiligen Bakterien.

3.1 Krankenhäuser

Im Abwasser der Krankenhäuser und des Rehabilitationszentrums konnten in vielen Proben eine große Vielfalt von multiresistenten Erregern nachgewiesen werden (Tab. 5a). In 13 von 18 Proben der Krankenhaus- und Rehabilitationszentrumsabwässer fanden sich Erreger, welche als 4MRGN (mit Gennachweis) oder als VRE klassifiziert werden konnten. Vor allem multiresistente *K. pneumoniae*, *C. freundii complex* und *E. faecium* traten gehäuft auf. Je nach Ausstattung und Größe der Krankenhäuser variierte das Erregerspektrum von groß/Intensivstation bis klein/ohne Intensivstation. So zeigte sich in den beiden größten Krankenhäusern mit Intensivstationen (KH1 und KH2), im Gegensatz zu den übrigen Krankenhäusern, ein deutlich breiteres Erregerspektrum im Bereich der multiresistenten Erreger: neun verschiedene Spezies bei KH1 + KH2 gegenüber fünf verschiedenen Spezies bei KH3 – KH6 (Tab. 5a und Abb. 16). Außerdem waren

hier Keime wie *K. pneumoniae*, *C. freundii complex* und *E. faecium* an allen drei Probezeitpunkten durchgängig nachweisbar. Die beiden kleineren Krankenhäuser (KH3 und KH4) hatten ein kleineres Erregerspektrum in den Proben. In 40 weiterführenden Untersuchungen auf Resistenzgene fanden sich OXA-48 (n = 31), NDM (n = 1) und VIM (n = 7) (Tab. 5a).

Eine statistische Analyse mit dem Kruskal-Wallis-Test zeigte, dass das Auftreten von 4MRGN (mit Gennachweis) im Abwasser von Krankenhäusern signifikant höher war, als im Abwasser von Pflegeheimen ($p < 0,0002$) und im häuslichen Abwasser ($p < 0,0001$). Ebenfalls signifikant höher war das Auftreten von VRE im Abwasser von Krankenhäusern, als im Abwasser von Pflegeheimen ($p < 0,0122$) und im häuslichen Abwasser ($p < 0,0024$).

Tabelle 5a: Im Abwasser von Krankenhäusern nachgewiesene VRE und 4MRGN mit molekulargenetischem Carbapenemasenachweis

	Erreger	19.02.2019	28.03.2019	02.09.2019
KH1	VRE	1	1	1
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	0	OXA-48	OXA-48
	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	0	OXA-48	OXA-48
	<i>Escherichia coli</i>	0	0	OXA-48
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	OXA-48	OXA-48
	<i>Serratia marcesens</i>	0	OXA-48	0
	verschiedene Spezies mit Carbapenemasenachweis	1	4	4
	verschiedene Carbapenemasen	1	1	1
KH2	VRE	1	1	1
	<i>Acinetobacter baumannii complex</i>	NDM	Ohne Gennachweis	0
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	0	OXA-48	0
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	OXA-48	0	0
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	OXA-48	OXA-48	VIM OXA-48

	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	0	VIM, OXA-48	VIM OXA-48
	<i>Escherichia coli</i>	0	VIM	VIM
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	VIM, OXA-48
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	OXA-48	0	0
	<i>Raoultella ornitholytica</i>	OXA-48	0	0
	<i>Serratia marcescens</i>	0	VIM	0
	verschiedene Spezies mit Carbapenemasenachweis	4	4	4
	verschiedene Carbapenemasen	2	2	2
KH3	kein Keimnachweis	0	0	0
KH4	VRE	1	0	1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ohne Genachweis	0	Ohne Genachweis
KH5	VRE	1	1	0
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	0	0	OXA-48
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	0	OXA-48	OXA-48
	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	OXA-48	0	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	OXA-48	OXA-48
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	OXA-48	OXA-48	OXA-48
	verschiedene Spezies mit Carbapenemasenachweis	2	3	3
	verschiedene Carbapenemasen	1	1	1
KH6	VRE	1	0	0
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	0	OXA-48	0
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	OXA-48	OXA-48	0
	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Ohne Genachweis	0	Ohne Genachweis
	verschiedene Spezies mit Carbapenemasenachweis	1	1	0

	verschiedene Carbapenemasen	1	1	0
KH1-6	VRE gesamt	5	3	3
	4MRGN (mit Gennachweis) gesamt	9	14	12

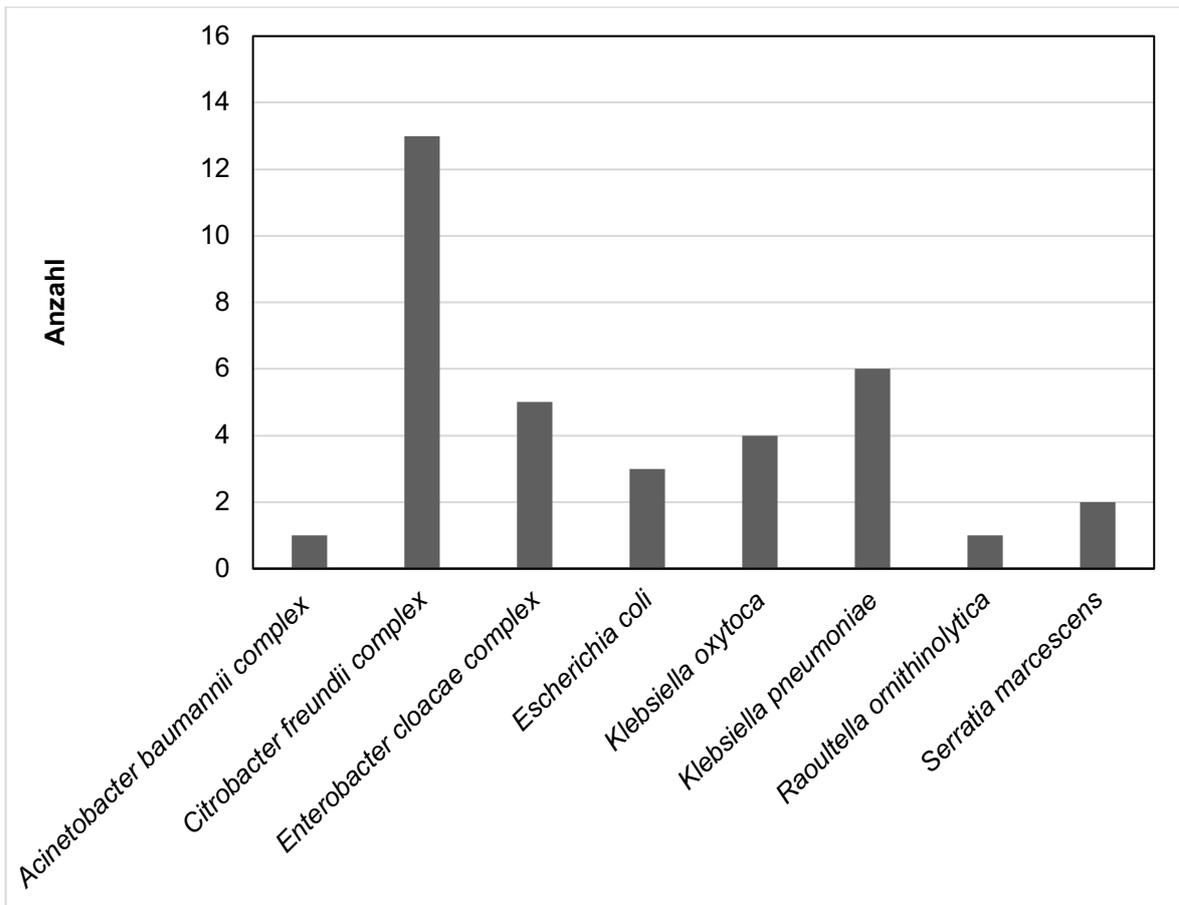


Abbildung 16: 4MRGN (mit Gennachweis) im Abwasser von den Krankenhäusern KH1 – KH6. Dargestellt ist die Gesamtzahl der nachgewiesenen unterschiedlichen Spezies-Carbapenemase-Kombinationen im Abwasser der Krankenhäuser, aufgetrennt nach den jeweiligen Bakterien.

3.2 Pflegeeinrichtungen

Das Abwasser der fünf Pflegeeinrichtungen wies ein weniger großes Spektrum an multiresistenten Erregern auf (Tab. 5b). Beschränkt man sich bei den Ergebnissen auf die Pflegeeinrichtungen ohne Intensivpflege (PF1 – PF4), wurden lediglich zwei Isolate der Klasse 4MRGN und ein Isolat der Klasse VRE im gesamten Zeitraum (zwölf Proben) identifiziert. Wobei bei nur einem Isolat eine Carbapenemase nachgewiesen wurde. In sechs molekularbiologischen Untersuchungen fand sich

ein OXA-48. NDM und VIM wurden nicht nachgewiesen. Sechs von den zwölf untersuchten Proben des gesamten Pflegebereichs enthielten MRE. Das Abwasser der Intensivpflegeeinrichtung (PF5) wies in allen drei Proben die gesuchten Erreger auf. Auch zeigte sich das Keimspektrum mit *C. freundii* complex, *E. cloacae* complex, *P. aeruginosa* und *E. faecium* sehr ähnlich zu dem der Krankenhäuser (Abb. 17). Jedoch wurde in keiner Pflegeeinrichtung ein Erreger durchgängig nachgewiesen.

Tabelle 5b: Im Abwasser von Pflegeheimen nachgewiesene VRE und 4MRGN mit positivem molekulargenetischen Carbapenemasenachweis

	Erreger	19.02.2019	28.03.2019	02.09.2019
PF1	VRE	0	1	0
PF2	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	Ohne Gennachweis	0	0
PF4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ohne Gennachweis	0	0
PF3	kein Keimnachweis	0	0	0
PF5	VRE	1	1	0
	<i>Citrobacter freundii</i> complex	0	0	OXA-48
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	0	0	Ohne Gennachweis
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ohne Gennachweis	0	Ohne Gennachweis
PF1-5	VRE gesamt	1	2	0
	4MRGN (mit Gennachweis) gesamt	0	0	1

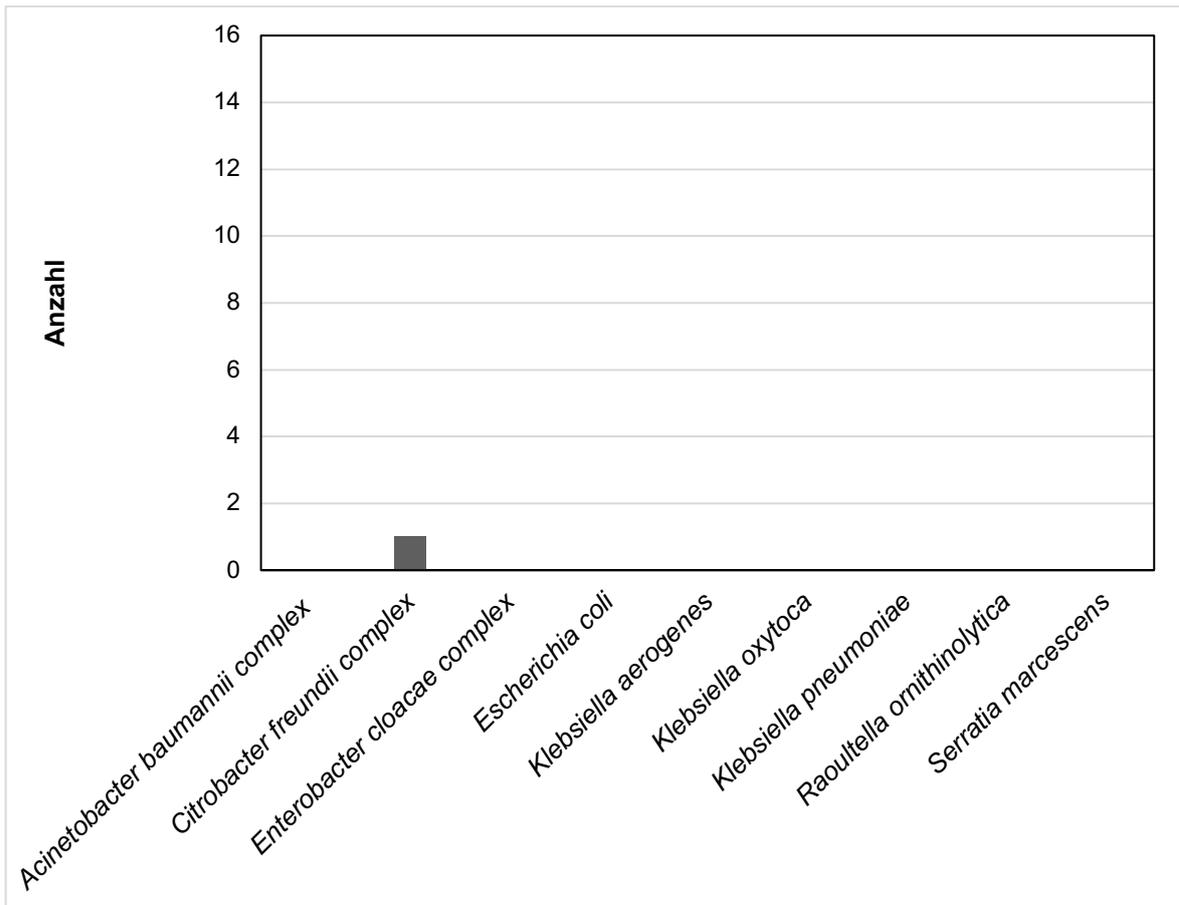


Abbildung 17: 4MRGN (mit Gennachweis) im Abwasser von Pflegeeinrichtungen PF1 – PF5. Dargestellt ist die Gesamtzahl der nachgewiesenen unterschiedlichen Spezies-Carbapenemase-Kombinationen im Abwasser der Pflegeheime, aufgetrennt nach den jeweiligen Bakterien.

3.3 Häusliches Abwasser

In sieben von 24 Proben des häuslichen Abwassers konnten MRE nachgewiesen werden. Insgesamt wurden hier vier VRE bzw. fünf 4MRGN identifiziert. Lediglich drei Isolate, *C. freundii complex*, *K. aerogenes* und *K. pneumoniae*, enthielten Carbapenemasen (Tab. 5c und Abb. 18). In fünf Untersuchungen auf Resistenzgene im häuslichen Abwasser fanden sich drei OXA-48-positive Isolate. NDM und VIM konnten auch hier nicht nachgewiesen werden. Im Zoo wurden in einer von drei Proben 4MRGN gefunden (nicht in Abbildung dargestellt). Auch im häuslichen Abwasser und im Abwasser des Zoos konnte kein multiresistenter Erreger durchgängig nachgewiesen werden. Bei den drei gefundenen Erregern im Zoo wurden keine Resistenzgene nachgewiesen.

Tabelle 5c: Im Abwasser von Wohngebieten und des Zoos nachgewiesene VRE und 4MRGN mit molekulargenetischen Carbapenemasenachweis

	Erreger	19.02.2019	28.03.2019	02.09.2019
H1	VRE	0	1	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	0	0
H2	kein Keimnachweis	0	0	0
H3	kein Keimnachweis	0	0	0
H4	kein Keimnachweis	0	0	0
H5	VRE	0	0	1
	<i>Citrobacter freundii</i> complex	0	0	OXA-48
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	0	Ohne Gennachweis	0
	<i>Klebsiella aerogenes</i>	0	0	OXA-48
H6	VRE	0	1	0
	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	0	0	Ohne Gennachweis
H7	ohne Keimnachweis	0	0	0
H8	VRE	0	1	0
Zoo	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex			Ohne Gennachweis
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>			Ohne Gennachweis
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex			Ohne Gennachweis
H1-H8	VRE gesamt	0	3	1
H1-H8	4MRGN (mit Gennachweis) gesamt	1	0	2

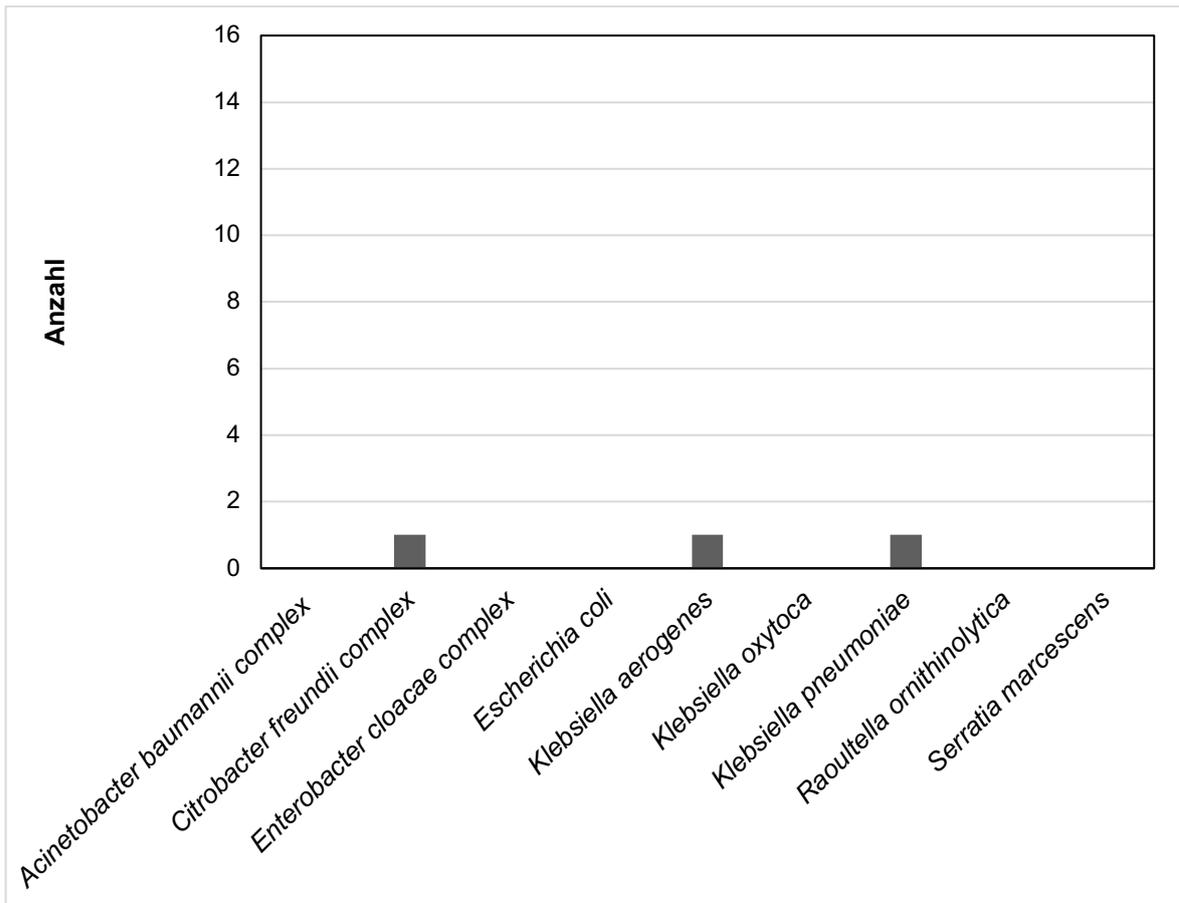


Abbildung 18: 4MRGN (mit Gennachweis) im häuslichen Abwasser. Dargestellt ist die Gesamtzahl der nachgewiesenen unterschiedlichen Spezies-Carbapenemase-Kombinationen im häuslichen Abwasser, aufgetrennt nach den jeweiligen Bakterien.

3.4 Vergleich der MRE-Belastung des Abwassers von Krankenhäusern, Pflegeheimen und des häuslichen Abwassers

3.4.1 4MRGN

Zum Vergleich der 4MRGN-Belastung im Abwasser von Krankenhäusern, Pflegeheimen und des häuslichen Abwassers wurde die Anzahl der verschiedenen Spezies-Carbapenemase-Kombinationen der drei Probenahmen verglichen (Tab. 5a – c, Abb. 19). Die Belastung des Krankenhausabwassers mit 4MRGN war im Vergleich zum Abwasser von Pflegeheimen bzw. zum häuslichen Abwasser bei den ersten zwei Beprobungsterminen und auch in der Summe signifikant höher ($p < 0,05$, Abb. 19). Der Unterschied zwischen dem Abwasser von Pflegeheimen und dem häuslichen Abwasser hingegen war nicht signifikant ($p > 0,05$).

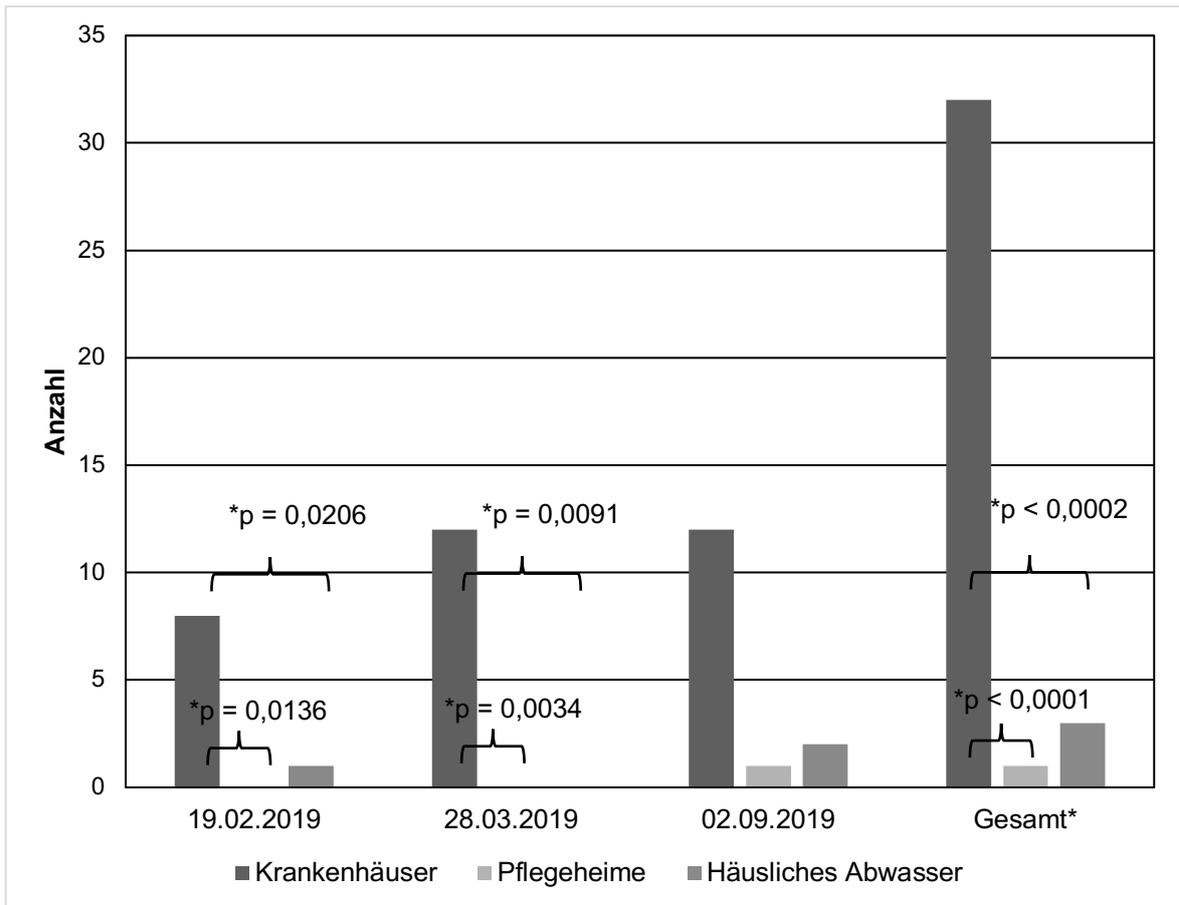


Abbildung 19: Vergleich der 4MRGN Belastung mit positivem Carbapenemase-Gennachweis im Abwasser von Krankenhäusern, Pflegeeinrichtungen und im häuslichen Abwasser bei den drei durchgeführten Probenahmen. Dargestellt ist die Anzahl der nachgewiesenen unterschiedlichen Spezies-Carbapenemase-Kombinationen bei den einzelnen Probenahmen mit den jeweiligen p-Werten. Gesamt entspricht der Summe der drei Probenahmeterminen. Der Asterisk markiert einen signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied der Belastung des Krankenhausabwassers im Vergleich zum Abwasser von Pflegeheimen bzw. zum häuslichen Abwasser. Der Unterschied zwischen dem Abwasser von Pflegeheimen und dem häuslichen Abwasser war nicht signifikant (p-Werte nicht dargestellt).

3.4.2 Vancomycin-resistente Enterokokken

Zum Vergleich der VRE-Belastung im Abwasser von Krankenhäusern, Pflegeheimen und des häuslichen Abwassers wurde die Anzahl der auf VRE-positiv getesteten Probenahmeorte an allen drei Probenahmen verglichen (Tab. 5a – 5c, Abb. 20). Die Belastung des Krankenhausabwassers war im Vergleich zum Abwasser von Pflegeheimen bzw. zum häuslichen Abwasser in der ersten Beprobung und in der Summe ebenfalls signifikant höher ($p < 0,05$, Abb. 20). Der Unterschied zwischen Pflegeheimen und häuslichen Abwasser war auch hier nicht signifikant ($p > 0,05$).

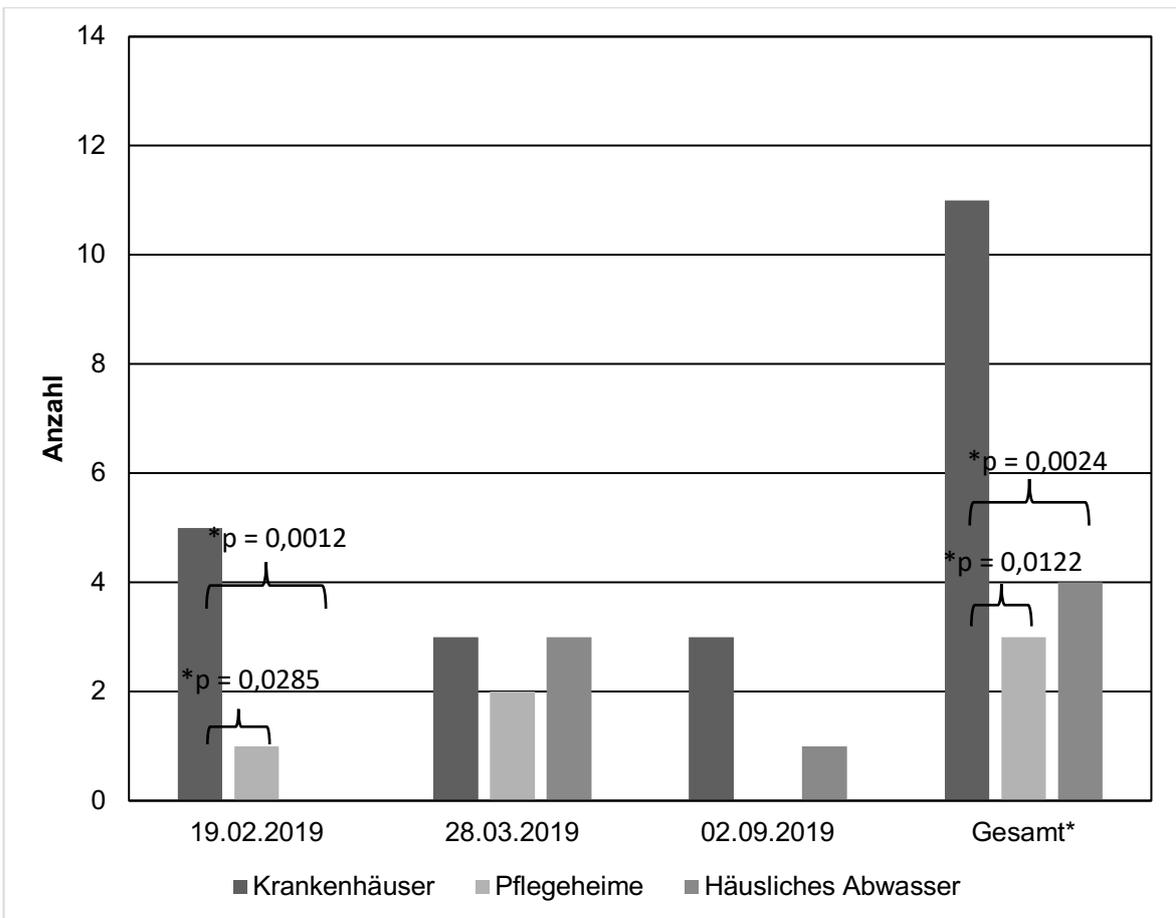


Abbildung 20: Vergleich der VRE-Belastung im Abwasser von Krankenhäusern, Pflegeeinrichtungen und im häuslichen Abwasser bei den drei durchgeführten Probenahmen. Dargestellt ist die Anzahl der nachgewiesenen VRE bei den einzelnen Probenahmen. Gesamt entspricht der Summe der drei Probenahmetermine. Der Asterisk zeigt in der ersten Probenahme und im Gesamtvergleich einen signifikanten ($p < 0,05$) Unterschied der Belastung des Krankenhausabwassers im Vergleich zum Abwasser von Pflegeheimen und häuslichen Abwasser an. Der Unterschied zwischen Pflegeheimen und häuslichem Abwasser war nicht signifikant (p -Werte nicht dargestellt).

3.5 Klärwerk Magdeburg

Im Klärwerk wurden in 16 von 18 Proben MRE nachgewiesen. Das qualitative Vorkommen der Erreger war hier somit mit Abstand am größten (Tab. 5d, Abb. 22). Nachgewiesen wurden 35 4MRGN-Isolate mit Gennachweis und 16 VRE-Isolate, wobei fast durchgängig eine große Vielfalt herrschte. Insgesamt 38 Isolate wurden auf Resistenzgene untersucht. Hierbei fanden sich OXA-48 ($n = 32$), NDM ($n = 5$) und VIM ($n = 1$). Lediglich zwei Vancomycin-resistente *E. faecium* konnten im Zulauf des Stadtgebiets (KL2) und im Gesamtzulauf des Klärwerks (KL3) durchgängig

nachgewiesen werden. *Escherichia coli* 4MRGN wurde in allen drei Proben im Zulauf der Biologie (KL5) nachgewiesen. Die drei Proben nach UV-Behandlung (KL8) des geklärten Abwassers wiesen in einem Fall VRE auf.

Die statistische Analyse mit dem Mann-Whitney-U-Test ergab, dass die Anzahl der nachgewiesenen 4MRGN mit Gennachweis vom Zulauf Klärwerk KL3 (n = 5) im Vergleich zum Ablauf des Klärwerks KL7 (n = 4) nicht signifikant unterschiedlich war (U = 7, Z = 1,0328, p = 0,3017) (Abb. 21). Nach UV-Behandlung (KL8) war der 4MRGN-Nachweis negativ.

Tabelle 5d: In den Klärstufen nachgewiesene VRE und 4MRGN mit molekularbiologischem Carbapenemasenachweis

	Erreger	19.02.2019	28.03.2019	02.09.2019
KL1	VRE	1	1	0
	<i>Escherichia coli</i>	NDM OXA-48	0	0
	<i>Klebsiella aerogenes</i>	0	Ohne Gennachweis	0
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	Ohne Gennachweis
	4MRGN (mit Gennachweis)	1	0	0
KL2	VRE	1	1	1
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	OXA-48	0	0
	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	0	0	OXA-48
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	OXA-48	0
	<i>Raoultella ornitholytica</i>	0	OXA-48	0
	4MRGN (mit Gennachweis)	2	2	1
KL3	VRE	1	1	1
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	OXA-48	0	OXA-48
	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	OXA-48	0	0
	<i>Escherichia coli</i>	0	OXA-48	OXA-48

	<i>Klebsiella aerogenes</i>	0	0	Ohne Gennachweis
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	OXA-48	0
	4MRGN (mit Gennachweis)	3	2	2
KL4	VRE	0	1	1
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	0	0	OXA-48
	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	0	0	OXA-48
	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	0	NDM OXA-48
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	OXA-48	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	VIM	0	0
	<i>Serratia marcescens</i>	0	0	OXA-48
	4MRGN (mit Gennachweis)	2	1	4
KL5	VRE	0	1	1
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	0	0	OXA-48
	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	0	OXA-48	OXA-48
	<i>Escherichia coli</i>	OXA-48	NDM	NDM OXA-48
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	OXA-48	0	0
	<i>Serratia marcescens</i>	0	OXA-48	0
	4MRGN (mit Gennachweis)	2	3	3
KL6	VRE	1	keine	0
	<i>Escherichia coli</i>	0	Abnahme	NDM, OXA-48
	<i>Klebsiella aerogenes</i>	0		0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0		OXA-48
	4MRGN (mit Gennachweis)	0	0	2
KL7	VRE	0	1	1
	<i>Citrobacter freundii complex</i>	0	OXA-48	Ohne Gennachweis
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	OXA-48	0	0

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	OXA-48	0	0
	<i>Serratia marcescens</i>	0	OXA-48	0
	4MRGN (mit Gennachweis)	2	2	0
KL8	VRE	1	0	0
	4MRGN (mit Gennachweis)	0	0	0
KL1- KL8	VRE gesamt	5	6	5
KL1- KL8	4MRGN (mit Gennachweis) gesamt	12	10	12

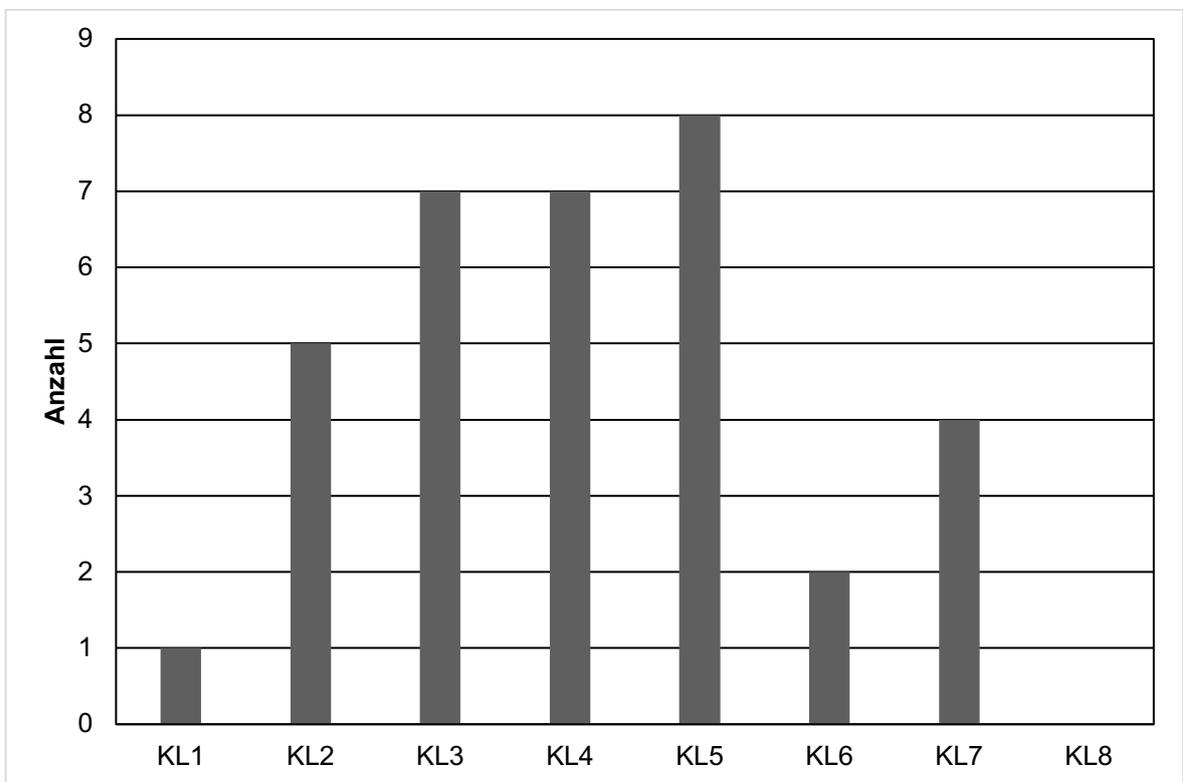


Abbildung 21: Gesamtanzahl 4MRGN (mit Gennachweis) in den Klärwerkstufen KL1 – KL8. Dargestellt ist die Gesamtzahl der nachgewiesenen unterschiedlichen Spezies-Carbapenemase-Kombinationen im gesamten Klärwerk, aufgetrennt nach der jeweiligen Klärwerkstufe. KL1: Zufluss Nord, KL2: Zufluss Stadtgebiet, KL3: Gesamtzulauf Klärwerk, KL4: Sand- und Schwimmstofffang, KL5: Kaskadenbelebungsanlage, KL6: Chemische Reinigungsstufe, KL7: Ablauf Klärwerk, KL8: nach UV-Behandlung.

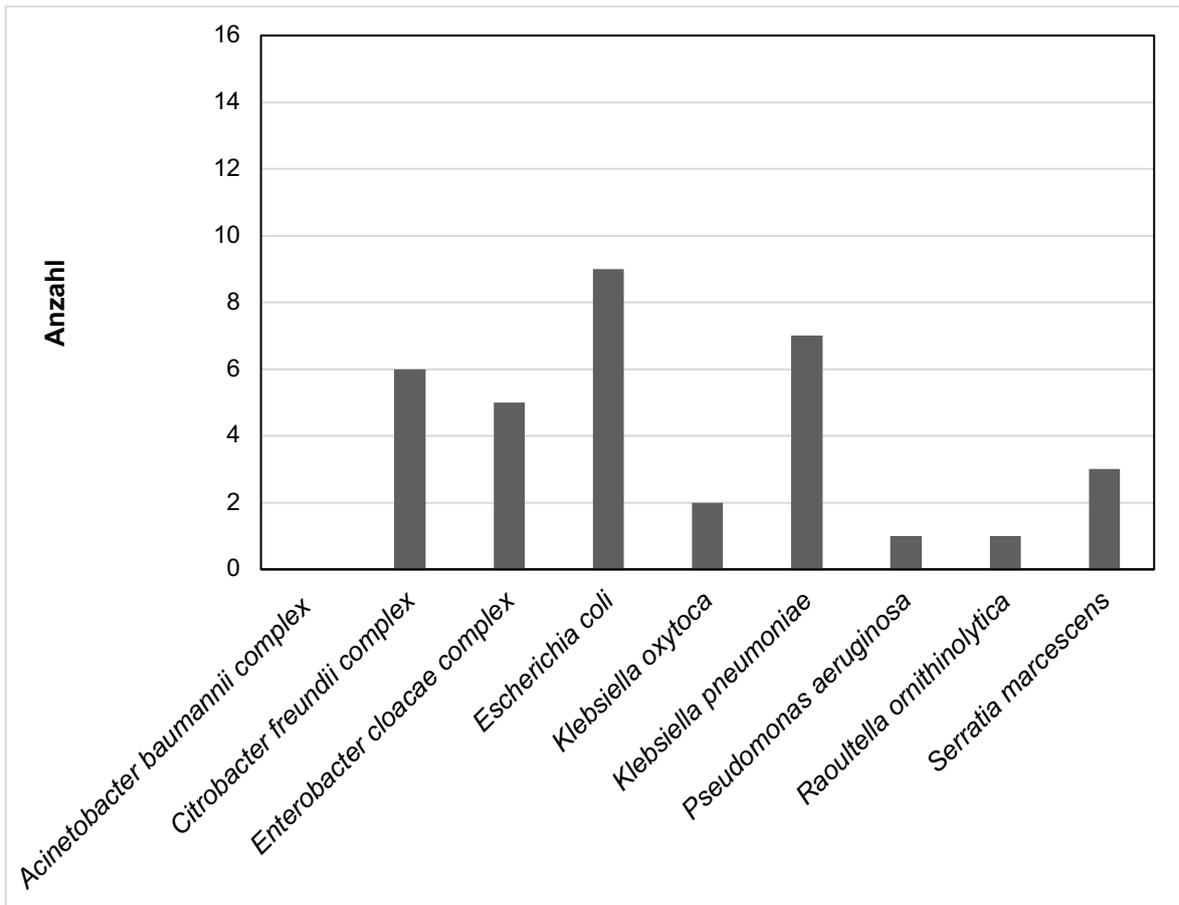


Abbildung 22: 4MRGN (mit Gennachweis) in den Klärwerkstufen KL1 – KL8. Dargestellt ist die Gesamtzahl der nachgewiesenen unterschiedlichen Spezies-Carbapenemase-Kombinationen im gesamten Klärwerk, aufgetrennt nach den jeweiligen Bakterien.

In den Proben der Elbe vor dem Einlaufpunkt des geklärten Abwassers (E1) wurde *C. freundii complex* (4MRGN) einmal nachgewiesen. Die molekularbiologische Analyse ergab das Resistenzgen OXA-48. Zudem waren in zwei von drei Proben VRE vorhanden (nicht in Abbildung und Tabelle aufgeführt).

Nach dem Einlaufpunkt in die Elbe (E2) wurden lediglich in einer von drei Proben VRE nachgewiesen. 4MRGN konnten nicht nachgewiesen werden (nicht in Abbildung oder Tabelle aufgeführt).

In der zweiten und dritten Probenahme wurde das Acylaminopenicillin Piperacillin gegen das Polymyxin Colistin ausgetauscht. Es fanden sich unter den 4MRGN fünf Isolate, welche eine zusätzliche Resistenz gegen das Reserveantibiotikum Colistin aufwiesen. Zu diesen Isolaten gehörten ausschließlich *E. cloacae complex* und *S. marcescens*, welche eine intrinsische Resistenz gegen Colistin besitzen. Diese

Erreger befanden sich in den Proben des Klärwerkes, in einem Krankenhaus, in einem Pflegeheim und im Zooabwasser.

4 Diskussion

In dieser Studie wurde erstmals in der Stadt Magdeburg das Abwasser auf MRE untersucht. In 102 Proben verteilt auf drei Probenahmen wurden 157 MRE nachgewiesen, die sich in 4MRGN (n = 117) und VRE (n = 40) aufteilen. Die bei verdächtigen Isolaten mit einem 4MRGN-Phänotypus in der kulturellen Resistenztestung durchgeführte molekulargenetische Untersuchung auf die häufigsten Carbapenemase-Resistenzgene (OXA-48, VIM, NDM, KPC und IMP) bei 93 verschiedenen 4MRGN-Isolaten konnte in 73 Fällen ein für die Resistenz ursächliches Carbapenemase-Gen nachweisen. Hierbei konnte im Abwasser der Krankenhäuser eine signifikant ($p < 0,05$) höhere Anzahl von 4MRGN mit Carbapenemase-Gennachweis bzw. VRE detektiert werden, als im Abwasser von Pflegeeinrichtungen oder aus dem häuslichen Bereich. Im Klärwerk konnte ebenfalls eine hohe Belastung durch MRE festgestellt werden.

Mithilfe von Vorversuchen wurde auf Basis früherer wissenschaftlicher Arbeiten (Serani 2006; Müller et al. 2018), ein eigenes kulturelles Nachweisverfahren etabliert. Mittels Selektivnährmedien wurde in mehreren Schritten eine Selektion der gesuchten multiresistenten Erreger erreicht. Das Auftreten von natürlich-resistenter Begleitflora, welche nicht als MRGN oder VRE einzustufen ist, konnte dabei allerdings nicht vollständig unterdrückt werden. So zeigte sich während der ersten Probenahme, nach Selektion mit Ertapenem in Kombination mit KPC-Agar, ein vermehrtes Auftreten von *P. aeruginosa*, welche gegen die Carbapeneme Imipenem und Meropenem sensibel waren und damit nicht der Klasse der 4MRGN zugeordnet werden konnten. Diese Erreger bewuchsen trotz ihrer Carbapenem-Sensibilität den KPC-Agar, da das Nährmedium hauptsächlich zur Selektionierung von Enterobakterien ausgelegt ist. Daraufhin wurde ab der zweiten Probenahme eine Anpassung im Nachweisverfahren etabliert. Im ersten Anreicherungs-schritt wurde Ertapenem durch 20 µg Meropenem in der Boullion ersetzt, wodurch sensible *P. aeruginosa* weitgehend unterdrückt werden konnten. Diese Umstellung zeigte gute Erfolge und wurde daher auch für die dritte Probenahme verwendet.

Es wurden einige Erreger gefunden, welche eine Multiresistenz aufwiesen, aber anhand ihrer relativ geringen Virulenz eher als Umweltkeime und nicht als typische humanpathogene Krankenhauskeime eingeordnet wurden. Hierzu zählt unter

anderem *P. putida*. Dieser Keim wurde sehr häufig nachgewiesen, spielt aber kaum eine Rolle als Erreger schwerer Infektionen.

Eine weitere Elimination der restlichen Begleitflora erfolgte nach Identifikation mittels Massenspektroskopie (MALDI-TOF). Als nächster Schritt wurde mit einem Agardiffusionstest der Nachweis von Resistenzen gegen Antibiotika festgestellt. Mittels abschließendem molekulargenetischen PCR-Nachweis konnten in den meisten verdächtigen Isolaten entsprechende Carbapenemase-Resistenzgene nachgewiesen und die Einteilung als 4MRGN bestätigt werden.

Das hier durchgeführte Verfahren kombinierte den kulturellen Erregernachweis mit einem phänotypischen und genotypischen Resistenznachweis und ermöglichte so gleichzeitig die Zuordnung einzelner Resistenzgene zu verschiedenen Bakterienspezies. Im überwiegenden Teil vergleichbarer Studien wurden hingegen ausschließlich molekulargenetische Methoden (PCR) verwendet und es wurde dabei besonders auf das generelle Vorkommen bestimmter Resistenzgene untersucht (Korzeniewska und Harnisz 2018; Buelow et al. 2018; Piedra-Carrasco et al. 2017; Caucci et al. 2016).

Der Vorteil der hier eingesetzten kulturellen Methodik ist, dass tatsächlich vitale Erreger nachgewiesen wurden und nicht nur DNA evtl. bereits abgestorbener Bakterien. Die Nachteile der angewendeten kulturellen Nachweismethode werden weiter unten diskutiert (siehe Abschnitt 4.1 Limitationen).

Wird ausschließlich das Abwasser vor der Behandlung im Klärwerk betrachtet, konnten 48 (n = 35 4MRGN mit Carbapenemasenachweis und n = 13 VRE) der gesamten 59 (n = 39 4MRGN mit Carbapenemasenachweis und n = 20 VRE) im gesamten Stadtgebiet (Krankenhäuser, Pflegeeinrichtungen, häusliches Abwasser sowie Zoo) nachgewiesenen MRE den Krankenhäusern zugeordnet werden. Dies lag im Falle der 4MRGN und VRE signifikant ($p < 0,05$, Abb. 19 und Abb. 20) über der Nachweisrate im Abwasser von Pflegeheimen und der des häuslichen Abwassers. Demnach fungierten Krankenhäuser als „Hotspot“ für 4MRGN und auch für VRE, was die Ergebnisse früherer Untersuchungen verschiedener Autoren bestätigt (Nasri et al. 2017; Stalder et al. 2014; Varela et al. 2013; Buelow et al. 2018). Es zeigte sich auch, dass die beiden Krankenhäuser der Maximalversorgung (KH1 und KH2) tendenziell ein größeres Spektrum an MRE im Abwasser aufwiesen

als kleinere Krankenhäuser, das Rehabilitationszentrum (KH3 – KH 6), die Pflegeeinrichtungen (PF1 – PF5) und das häusliche Umfeld. Ebenfalls wurde in Krankenhäusern der Maximalversorgung auch eine höhere Anzahl von Resistenzgenen nachgewiesen, als in den kleineren medizinischen Einrichtungen. Eventuell spielen hier Fallzahlen, Unterschiede in den Fachdisziplinen und die Anzahl der vorhandenen Intensivbetten eine Rolle, da in der Intensivmedizin vermehrt auf Carbapeneme zur Antibiotikatherapie zurückgegriffen wird.

Sobald sich in einem Abwassersystem 4MRGN etabliert haben, muss damit gerechnet werden, dass es zum Austausch von Resistenzgenen zwischen verschiedenen Bakterienspezies durch sogenannte horizontale Gentransfers kommt (Szekeres et al. 2017; Nasri et al. 2017). Dieser Transfer erfolgt unter anderem mittels Plasmiden, Bakteriophagen oder als freie DNA.

Die Carbapenemase-Resistenzgene KPC, VIM, OXA-48, IMP und NDM wurden gehäuft im Klinikabwasser nachgewiesen. Diese Resistenzgene sind vor allem bei *K. pneumoniae*, *E. coli*, *A. baumannii complex*, *P. aeruginosa* und *C. freundii complex* nachweisbar (Müller et al. 2018). Die Nachweisrate unterschied sich je nach Probenahmeort (KH1 – KH6) erheblich. In Bezug auf die Resistenzgene zeigt sich eine Heterogenität im KH1 mit OXA-48, NDM und VIM und Homogenität mit ausschließlich OXA-48 in den anderen Krankenhäusern (KH2 – KH6). Bei 40 Testungen wurden bei 31 Isolaten OXA-48, bei einem Isolat NDM und bei sieben Isolaten VIM nachgewiesen. Somit fallen von acht VIM-Nachweisen sieben auf eines der größten Krankenhäuser. Es ist zu vermuten, dass dies durch die hohe Patientenanzahl und dem damit verbundenen hohen Eintrag an MRE in das Krankenhaus bedingt ist. Große Krankenhäuser tauschen häufig schwerkranke Patienten mit anderen Krankenhäusern aus, sodass ein erhöhtes Risiko für den Nachweis von MRE und insbesondere 4MRGN plausibel ist. Schaut man auf die Konsistenz der nachgewiesenen MRE in den drei Probenahmen, zeigt sich lediglich bei drei MRE, dass sie durchgängig nachweisbar waren (VRE, *C. freundii complex* 4MRGN und *K. pneumoniae* 4MRGN). Diese MRE werden häufig auf Intensivstationen bei Patienten mit einer Sepsis isoliert (Renschmidt et al. 2017). Für eine generelle Aussage zur Häufigkeit von MRE in Klinikabwässern wären aber weitere Probenahmen notwendig.

Das Auftreten von MRE im Abwasser von Pflegeeinrichtungen war sehr unterschiedlich. Sechs der neun Erreger wurden im Abwasser der Pflegeeinrichtung mit vorhandener Intensivpflege nachgewiesen, wobei lediglich ein *C. freundii complex*-Isolat eine Carbapenemase aufwies. Dies kann auf einen Zusammenhang mit der Morbidität von Patienten hinweisen. Bewohner von Intensivpflegeeinrichtungen (z.B. PF5) werden oftmals aus den Kliniken der Maximalversorgung verlegt. Daher besteht hier ebenfalls ein erhöhtes Risiko für den Nachweis von multiresistenten Erregern. Bewohner von Pflegeeinrichtungen ohne Intensivpflege kommen eher aus dem häuslichen Umfeld und es scheint plausibel, dass die Bewohner weniger häufig MRE-Träger sind. Auffallend ist, dass bei den sechs molekularbiologischen Untersuchungen auf Carbapenemasen in den Pflegeheimen (PF1 – PF5) lediglich ein OXA-48 nachgewiesen wurde. Weitere Resistenzgene wurden nicht detektiert, was allerdings auch an der geringen Anzahl nachgewiesener Erreger liegen könnte. Da kein Erreger durchgängig in allen drei Probenahmen vorlag, wäre eine höhere Anzahl von Probenahmeterminen notwendig, um die Belastung der Pflegeeinrichtungen genauer zu bewerten. Insgesamt zeigte diese Studie, dass Abwässer von Pflegeheimen bezüglich der Belastung mit 4MRGN im direkten Vergleich signifikant weniger belastet waren als die Abwässer von Krankenhäusern und die Abwasserbelastung eher mit der von normalen Wohngebieten vergleichbar war. Frühere Studien zur MRE-Belastung in Pflegeheimen zeigten einerseits, dass Bewohner von Pflegeheimen stärker mit MRE belastet sind als die Normalbevölkerung (Legeay et al. 2019; Pérez-Moreno et al. 2021). Andererseits wurde auch gezeigt, dass Bewohner von Pflegeheimen als Quelle von Carbapenemasebildenden Enterobacterales keine große Rolle spielen (Cunha et al. 2016). Insgesamt erscheint es nach der Literatur und den eigenen Beobachtungen plausibel, dass Pflegeheime eine Mittelstellung zwischen dem Keimspektrum von Krankenhäusern und dem Keimspektrum einer normalen Wohnbevölkerung aufweisen.

In Analogie zur Untersuchung von Krankenhausabwässern ist die Untersuchung von Abwässern von Pflegeheimen eine im Vergleich zur Untersuchung aller Bewohner einfache Methodik um die MRE-Belastung in einem Pflegeheim zu analysieren. Bisher wurden entsprechende Untersuchungen allerdings nur in wenigen Einzelfällen veröffentlicht (Bedenić et al. 2020).

Das häusliche Abwasser war signifikant weniger mit 4MRGN mit Carbapenemasenachweis und VRE belastet als die Krankenhäuser. Nur neun MRE-Isolate konnten insgesamt in 28 Probenahmen gefunden werden. Hierbei zeigte sich, dass eher Vancomycin-resistente *E. faecium* im häuslichen Abwasser vorkommen. Aufgrund des diskontinuierlichen Abwasserflusses von einzelnen Häusern oder Wohnungen war es notwendig, das Abwasser von mehreren Objekten eines Straßenzuges zusammenzufassen. Hierdurch ergibt sich eher ein Durchschnittswert des häuslichen Abwassers. Dieser Durchschnittswert kann ein Anhaltspunkt für die Belastung des häuslichen Abwassers sein. Hier wären durch eine qualitative Stichprobe mit mehreren Probenahmen in 24 Stunden oder durch eine kontinuierliche Beprobung genauere Ergebnisse möglich. Aufgrund der Gegebenheiten des Kanalnetzes der Stadt Magdeburg konnten lediglich in den äußeren Stadtteilen Abwasserproben gewonnen werden (Abb. 1).

Die einzelnen Nachweise im häuslichen Abwasser erscheinen plausibel, lag doch die Zahl der Entlassungen aus deutschen Krankenhäusern im Jahr 2016 bei 19,4 Millionen Patienten (Klauber et al. 2019). Diese Patienten können weiterhin mit multiresistenten Erregern besiedelt sein, auch wenn sie keine Infektion aufweisen. Eine kleine Studie mit 527 Probanden aus Niedersachsen gibt den Hinweis, dass MRE auch in der Normalbevölkerung nachweisbar sind (Hillenbrand 2023). Hierbei wurden bei 30 Personen MRGN nachgewiesen, wobei lediglich 13 Isolate als 3MRGN und kein Isolat als 4MRGN eingeteilt wurde. Durch tägliche Körperpflege könnte eine Verschleppung der Erreger in die private Wohnsituation und ins Abwasser erfolgt sein. So erklären sich auch die diskontinuierlichen Nachweise der Keime. In ihrem Erregerspektrum ähneln sich das Abwasser aus Pflegeeinrichtungen und das häusliche Abwasser sehr. So wurden multiresistente *E. faecium*, *A. baumannii complex*, *C. freundii complex*, *E. cloacae complex* und *Klebsiella spp.* in beiden Abwässern nachgewiesen. Dreimal wurde das Resistenzgen OXA-48 in fünf Testungen detektiert. NDM und VIM konnten zu keiner Zeit nachgewiesen werden. Auch hier ist die Anzahl der positiven Nachweise von Resistenzgenen mit fünf relativ gering.

Im Abwasser des städtischen Zoos wurden in zwei von drei Probenahmen keine der gesuchten multiresistenten Erreger festgestellt. Die dritte Probe beinhaltete jedoch drei verschiedene 4MRGN, welche aber alle in der molekulargenetischen Analyse keine Resistenzgene trugen. Eventuell kann es durch die Benutzung von

Sanitäreanlagen durch Besucher oder Mitarbeiter zur Übertragung gekommen sein. Eine Besiedlung von Zootieren mit multiresistenten Erregern kann ebenfalls in Betracht gezogen (Zoologischer Garten Magdeburg) und daher nicht ausgeschlossen werden.

Das Klärwerk sammelt das gesamte Abwasser aller im Stadtgebiet untersuchten Bereiche. So wurden insgesamt 50 der gefundenen 93 multiresistenten Erreger (4MRGN mit positivem Gennachweis und VRE) im Klärwerk nachgewiesen. Die häufigsten Vertreter waren Vancomycin-resistente *E. faecium* mit 16 Isolaten. Auffällig ist, dass als zweithäufigster Erreger *E. coli* auftrat. Lediglich im Krankenhausabwasser der beiden größten Kliniken (KH1 und KH2) konnten einige *E. coli* ebenfalls nachgewiesen werden. Vancomycin-resistente *E. faecium* wurde durchgängig über den Zulauf des Stadtgebiets (KL2) in das Klärwerk eingetragen. So zeigt sich im Einlauf des Klärwerks (KL3) ebenfalls eine Nachweisrate bei drei von drei durchgeführten Beprobungen. Schaut man sich den weiteren Verlauf des Abwassers innerhalb des Klärwerks an, zeigt sich, dass *E. faecium* nicht durchgängig in jeder Klärwerksstufe (KL1 – KL7) nachgewiesen wurde. Dies könnte durch die niedrige Probenahmefrequenz oder durch die Verdünnung des Erregers im Gesamtabwasser bedingt sein. Von 41 genotypisch getesteten 4MRGN wiesen 32 das Gen OXA-48, fünf das Gen NDM und einer das Gen VIM auf. Auch hier ist die Vielfalt der gefundenen Erreger groß und ähnelt dem der anderen Proben. Es konnte kein auffälliger Unterschied der verschiedenen Erreger in den Proben der einzelnen Klärstufen beobachtet werden. Der Ablauf des Klärwerks (KL7) beinhaltete ebenfalls MRE der Klassen 4MRGN und VRE und die statistische Analyse ergab keinen signifikanten Unterschied zum MRE-Nachweis im Zulauf ($p > 0,05$). Die Schlussfolgerung ist, dass das angewandte biologische Klärverfahren keine qualitative Reduktion von MRGN und VRE zulässt. Andere Studien konnten belegen, dass kommunale Klärwerke zumindest eine quantitative Reduktion der MRE-Konzentration von drei log-Stufen erzielen können (Exner 2018). Dies hängt vermutlich vom Erreger an sich ab. *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter spp.* zeigen ein umweltrobusteres Verhalten als *E. coli* im Bezug zur Klärwerksbehandlung (Pinnekamp 2018). Gilt *E. coli* eher als weniger robust und kommt es zu einer quantitativen Reduzierung durch Klärwerke (Reinthalter et al. 2003), kann es aber zu einer Resistenzzunahme gegen Antibiotika kommen (Da

Ferreira Silva et al. 2007). Je nach Klärwerk und Klärstufe kommt es zu unterschiedlichen Wirksamkeitsraten (Bouki et al. 2013). Trotz quantitativer Reduzierung werden weiterhin MRE in das Oberflächengewässer abgegeben, welches das geklärte Abwasser aufnimmt. Eine UV-Behandlung des geklärten Wassers zeigte bereits auf den ersten Blick auf den Agar-Medien eine deutliche keimreduzierende Wirkung. Es waren hier nur noch sehr vereinzelt Kolonien zu finden und es wurden lediglich in einer von drei Proben Vancomycin-resistente Enterokokken nachgewiesen. Die Behandlung des gesamten Abwassers mittels UV-Licht kann als erweiterte Klärstufe in Klärwerken erwogen werden (siehe Ausblick 4.2).

Der Ablauf des Klärwerks führt direkt in die Elbe. Hier wurden vor der Einspeisung (E1) drei VRE (erste und zweite Probe) und zwei *C. freundii complex* (erste Probe) nachgewiesen. Beide *C. freundii complex*-Isolate wiesen hierbei das Resistenzgen OXA-48 auf.

Nach Einspeisung in die Elbe (E2) konnten in der ersten Probe ebenfalls VRE nachgewiesen werden, weitere MRE wurden nicht festgestellt. Eine mögliche Quelle für MRE im ländlichen Raum liegt in Abwässern aus der Tierhaltung. Große Mengen Antibiotika werden in Tiermastbetrieben eingesetzt und können z.B. als Gülle auf landwirtschaftliche Nutzflächen gelangen. Eine Untersuchung in einem amerikanischen Schweinemastbetrieb ergab einen Nachweis von Carbapenemasebildnern in bis zu 64 % der gewonnenen Umgebungsproben und in 14 % der Schweinekotproben (Mollenkopf et al. 2018).

In der Großtierhaltung eingesetzte Antibiotika oder deren noch antibiotisch aktive Metabolite können in den Wasserkreislauf geraten und resistente Bakterien in Gülle und Gärresten erzeugen. Auch spielt die direkte Ausscheidung von multiresistenten Erregern durch Masttiere eine Rolle und führt so zu einer weiteren Belastung der landwirtschaftlichen Flächen (Westphal-Settele et al. 2018; Umweltbundesamt 2018). Regenfälle spülen aktive Antibiotikaformen und multiresistente Erreger in Bäche und Flüsse. Es zeigt sich, dass eine Verbreitung von Multiresistenzen nicht auf das Abwasser begrenzt ist, sondern gesamtzivilisatorisch gesehen werden muss.

Citrobacter freundii complex konnte in der ersten Probenahme zwar stromaufwärts festgestellt werden, stromabwärts aber nicht mehr. Dies liegt wahrscheinlich an der

sehr starken Verdünnung durch die Größe der Elbe. Daher kann ein Vorkommen anderer MRE in der Elbe nicht ausgeschlossen werden. Eine genauere Untersuchung ist durch die Größe der Elbe methodisch allerdings schwer umzusetzen. Andere Studien zeigen, dass die gesuchten Erreger und deren Resistenzgene bereits in Oberflächengewässer weit verbreitet sind. Sogar das Colistin-Resistenzgen MCR-1 wurde bereits im Zu- und Ablauf von Klärwerken in Deutschland nachgewiesen (Hembach et al. 2017). Bei einer Infektion mit einem multiresistenten Erreger der Klasse 4MRGN bleibt vielfach als letzte Therapieoption nur noch das Reserveantibiotikum Colistin.

Auch das Magdeburger Abwasser wies einzelne Erreger (*S. marcescens* und *E. cloacae complex*,) auf, welche gegen Colistin resistent sind, wobei *S. marcescens* eine intrinsische Resistenz besitzt.

Dies ist im Falle von *E. cloacae complex* besonders alarmierend, da sich diese Erreger auch im Abwasser von einem Krankenhaus und einer Pflegeeinrichtung fanden und es sich potentiell um eine Resistenz durch das plasmidkodierte MCR-1 Gen handeln könnte. Die Untersuchung der Colistin-Resistenz erfolgte mittels Bestimmung der MHK und nicht mittels eines Tests auf das MCR-1-Gen. Wenn es sich um eine Gen-vermittelte Resistenz handelt, könnte es zu einem Austausch dieser Gene im Abwasser und somit zu einer Verbreitung der Resistenzen gegen Colistin kommen. Colistin wird im Bereich der Tiermast ebenfalls eingesetzt. Daher ist das Risiko weiterer Resistenzen und deren Verbreitung über Oberflächengewässer erhöht. Eine gezielte Untersuchung des Abwassers in Magdeburg auf Colistin-Resistenzen könnte neue Erkenntnisse in der Verbreitung bringen.

Das Thema der multiresistenten Erreger im Abwasser ist aktueller denn je und so fördert auch seit 2016 das Bundesministerium für Bildung und Forschung das Verbundprojekt HyReKA. HyReKA untersucht hierbei die quantitative und qualitative Belastung von Abwässern mit MRE (HyReKA 2016).

4.1 Limitationen

Im Rahmen der durchgeführten Untersuchungen erfolgten die Probenahmen als einzelne Stichproben und zeigen somit nur Momentaufnahmen des Abwasserflusses. Um ein noch genaueres Bild der MRE-Belastung zu erhalten,

wäre es sinnvoll, qualifizierte Stichproben zu nehmen, die entweder als diskontinuierliche Mischprobe über zwei oder 24 Stunden oder als kontinuierliche Probenahme durchgeführt werden könnten. Diese Art der Probenahme würde unter anderem tageszeitabhängige Spitzen im Abwasserfluss von häuslichem Abwasser (morgens und abends) und vermutete jahreszeitabhängige Konzentrationsspitzen von MRE im Abwasser genauer abbilden. Jedoch wären solche Verfahren erst mit erhöhtem finanziellem und baulichem Aufwand umzusetzen, da viele Probenahmestellen für einen Einbau von automatisierten Untersuchungen zu eng sind.

Eine weitere technische Limitation der vorliegenden Studie könnte sein, dass schnell wachsende MRE langsamer wachsende MRE überwuchern, was dazu führen könnte, dass langsamer wachsende MRE unterrepräsentiert sind. Diese Möglichkeit müsste mit einem molekularen Nachweisverfahren überprüft werden, das auch in komplexen MRE-Gemischen relativ sicher verschiedene Spezies nachweisen kann (Serani 2006).

Eine weitere Limitation der Studie ist die Änderung der 4MRGN im Untersuchungszeitraum. Am 28. Februar 2019 veröffentlichte das Robert Koch-Institut/KRINKO eine Ergänzung (Abb. 23) zur bestehenden Einteilung der multiresistenten gramnegativen Stäbchen (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) 2019). Diese trat rückwirkend zum 01.01.2019 in Kraft. Es bestand eine Übergangszeit, in der die alte und neue Definition verwendet werden durften. Eine Änderung in der Einteilung der MRGN war notwendig, da die EUCAST zuvor eine neue Einteilung veröffentlicht hatte.

Die Kategorie „I“ wird neu definiert. Zuvor galt „I“ für intermediär und wurde von der KRINKO wie „R“ resistent bewertet. Die neue Definition beschreibt „I“ als „sensibel bei erhöhter Dosierung/Exposition“.

Antibiotikagruppe	Leitsubstanz	Enterobacterales		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Acinetobacter baumannii</i>	
		3MRGN ¹	4MRGN ²	3MRGN ¹	4MRGN ²	3MRGN ¹	4MRGN ²
Acylureidopenicilline	Piperacillin	R	R	Nur eine der 4 Antibiotikagruppen wirksam (S oder I)	R	R	R
3./4. Generations-Cephalosporine	Cefotaxim und/oder Ceftazidim	R	R		R	R	R
Carbapeneme	Imipenem und/oder Meropenem	S oder I	R		R	S oder I	R
Fluorchinolone	Ciprofloxacin	R	R		R	R	R
			oder Nachweis einer Carbapenemase ³		oder Nachweis einer Carbapenemase ³		oder Nachweis einer Carbapenemase ³

Tab. 2: Neue Klassifizierung multiresistenter gramnegativer Stäbchen auf Basis ihrer phänotypischen Resistenzeigenschaften bei Anwendung des EUCAST-Systems

(R = resistent, I = sensibel bei erhöhter (*Increased*) Dosierung/Exposition, S = sensibel bei normaler Dosierung)

¹ 3MRGN (Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 3 der 4 Antibiotikagruppen)

² 4MRGN (Multiresistente gramnegative Stäbchen mit Resistenz gegen 4 der 4 Antibiotikagruppen)

³ Unabhängig vom Ergebnis der phänotypischen Resistenzbestimmung für Carbapeneme sowie der anderen drei Substanzklassen

Abbildung 23: KRINKO 2019 - Ergänzung zur Empfehlung der KRINKO (Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) 2019, S. 83)

Die Einteilung der multiresistenten gramnegativen Stäbchenbakterien erfolgte in dieser Arbeit anhand der damals einzig gültigen Einteilung. Im Falle von Isolaten mit positiven PCR-Nachweis eines Carbapenemasegens ändert die Änderung der KRINKO bzw. EUCAST-Vorgaben aber in keinem Fall die 4MRGN-Klassifizierung, weil Isolate mit positiven Gennachweis immer als 4MRGN klassifiziert werden.

4.2 Ausblick

Zusammenfassend lassen die vorliegenden Untersuchungen die Aussage zu, dass ein großer Teil des städtischen Abwassers mit MRE belastet ist und dass das Magdeburger Klärwerk eine Ausbreitung der MRE in die Elbe nicht sicher verhindert. Wie stark die Verbreitung von MRE in der Umwelt insgesamt ist, ist noch relativ unklar. Hier könnte eine verstärkte oder routinemäßige Testung der Abwasserströme - vor allem des Klinikabwassers - Klarheit schaffen.

Der Nachweis dieser Bakterien im häuslichen Abwasser lässt die Vermutung zu, dass auch andere Bereiche im Alltag besiedelt sein könnten. Oberflächen in z.B. Supermärkten, öffentlichem Personennahverkehr oder Arztpraxen könnten ebenfalls Träger von MRE sein. Auch erscheint es sinnvoll, Erreger, welche im Krankenhausabwasser nachgewiesen wurden, im entsprechenden Krankenhaus zu suchen und somit den Weg vom Patienten bis ins Klärwerk zu verfolgen.

Zudem ist die Verbreitung von 4MRGN, welche auch gegen Colistin resistent sind, relativ unbekannt. Da Colistin als Reserveantibiotikum bei Patienten mit 4MRGN-Infektionen zum Einsatz kommt, sollte die Resistenzbildung in Zukunft verstärkt beobachtet und untersucht werden.

Der Nachweis von 4MRGN und VRE im Klinikabwasser zeigt, dass Handlungsbedarf schon vor der Einleitung in das Gesamtkanalnetz besteht. Als eine Option könnte eine dezentrale Aufbereitung der Krankenhausabwässer erfolgen. Eine Reduktion der bakteriellen Last wäre im Vorfeld, bevor das Abwasser in das Kanalnetz gelangt und sich die Chance zum Austausch der Resistenzmechanismen ergibt (Duong et al. 2008), möglich. Dies wäre allerdings mit Kosten je nach Verfahrenskombination in Höhe von ca. 2,33 bis 5,09 € pro Kubikmeter Abwasser verbunden (Seidel 2013). Auch könnte das Klärwerk um eine zusätzliche vierte Klärstufe erweitert werden. Verschiedene Verfahren stehen zur Auswahl, wobei die Ozonbehandlung, Membranfiltration und UV-Behandlung zur stärksten Reduktion von multiresistenten Erregern führt (Czekalski et al. 2016). Optimal sollte eine Kombination mehrerer Verfahren gewählt werden. Ebenfalls reduzieren diese Maßnahmen ein weiteres Problem: Antibiotikarückstände im Abwasser. Diese Rückstände haben immer noch eine Restwirkung, gelangen über Körperausscheidungen ebenfalls in das Abwasser und führen dort zu einer Selektion unter den Bakterien (Duong et al. 2008). Auch das geklärte Wasser ist nicht frei von Antibiotikarückständen. Klärwerke schaffen zur Zeit keinen vollständigen Abbau dieser Rückstände. Reste gelangen direkt in das Oberflächenwasser und können auch hier zu Selektionsprozessen führen (Jelic et al. 2011). Indirekt gelangen diese Reste auch über Klärschlamm in die Umwelt (Stenzel et al. 2019). Eine Gesamtbeurteilung des Abwassers von Pflegeeinrichtungen ist, aufgrund der Größe der hier untersuchten Stichprobe, allein durch diese Arbeit nur eingeschränkt möglich. Diese Arbeit soll zunächst eine grobe Übersicht der Lage zeigen. Eine detailliertere Arbeit, welche über die fünf Pflegeeinrichtungen hinausgeht, wäre der nächste Schritt. Ebenfalls sollte die Ausbreitung von multiresistenten Erregern im häuslichen Umfeld und auch in Arztpraxen untersucht werden, da unklar ist, wie weit das private Umfeld bereits mit diesen Erregern belastet ist.

5 Zusammenfassung

Diese Studie untersuchte das erste Mal das Abwasser im Stadtgebiet Magdeburg, sowie das Abwasser der einzelnen Klärstufen im angeschlossenen Klärwerk in Gerwisch in Bezug auf MRE. Im Rahmen dessen wurde ein eigenes Verfahren zum Nachweis von MRE im Abwasser mittels Kultivierung und Agardiffusionstest entwickelt. Die nachgewiesenen 4MRGN wurden zusätzlich molekularbiologisch auf die häufigsten Carbapenemasen untersucht. So konnte gezeigt werden, dass das Abwasser von Krankenhäusern signifikant stärker mit 4MRGN und VRE belastet war im Vergleich zu Abwasser von Pflegeeinrichtungen und häuslichem Abwasser. Die Unterschiede zwischen der MRE-Belastung des Abwassers von Pflegeheimen und des häuslichen Abwassers waren weder für 4MRGN noch VRE signifikant. Die Untersuchung des Abwassers innerhalb der einzelnen Klärwerkstufen ergab keinen signifikanten Unterschied im Nachweis von 4MRGN im Zulauf und Ablauf des Klärwerks. Entsprechend muss davon ausgegangen werden, dass die derzeitigen Klärverfahren nicht ausreichend sind, um die Einleitung von VRE und MRGN in die Elbe zu unterbinden.

Literaturverzeichnis

1. Abwassergesellschaft Magdeburg mbH. Online verfügbar unter <https://www.agm-magdeburg.de/>, zuletzt geprüft am 17.02.2020.
2. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C.; Turck, M. (1966): Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. In: American Journal of Clinical Pathology. Jahrgang: 45 (Heft 4_ts), S. 493–496.
3. Bedenić, B.; Siroglavić, M.; Slade, M.; Šijak, D.; Dekić, S.; Musić, M. Š. et al. (2020): Comparison of clinical and sewage isolates of *Acinetobacter baumannii* from two long-term care facilities in Zagreb; mechanisms and routes of spread. In: Archives of microbiology. Jahrgang: 202 (Heft 2), S. 361–368.
4. Bouki, C.; Venieri, D.; Diamadopoulos, E. (2013): Detection and fate of antibiotic resistant bacteria in wastewater treatment plants: a review. In: Ecotoxicology and environmental safety. Jahrgang: 91, S. 1–9.
5. Buelow, E.; Bayjanov, J. R.; Majoor, E.; Willems, R. J.; Bonten, M. J.; Schmitt, H.; van Schaik, W. (2018): Limited influence of hospital wastewater on the microbiome and resistome of wastewater in a community sewerage system. In: FEMS microbiology ecology. Jahrgang: 94 (Heft 7).
6. Bundesministerium Land- und Forstwirtschaft, Regionen und Wasserwirtschaft: Wie funktioniert eine Kläranlage? Online verfügbar unter <https://info.bml.gv.at/themen/wasser/wasserqualitaet/abwasserreinigung/klaeranlage.html>, zuletzt geprüft am 24.01.2024.
7. Campa, M. (1993): *Pseudomonas aeruginosa* as an opportunistic pathogen: Plenum Press (Infectious agents and pathogenesis).
8. Cassini, A.; Högberg, L. D.; Plachouras, D.; Quattrocchi, A.; Hoxha, A.; Simonsen, G. S. et al. (2019): Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. In: The Lancet Infectious Diseases. Jahrgang: 19 (Heft 1), S. 56–66.
9. Caucci, S.; Karkman, A.; Cacace, D.; Rybicki, M.; Timpel, P.; Voolaid, V. et al. (2016): Seasonality of antibiotic prescriptions for outpatients and resistance genes in sewers and wastewater treatment plant outflow. In: FEMS microbiology ecology. Jahrgang: 92 (Heft 5).
10. Cunha, C. B.; Kassakian, S. Z.; Chan, R.; Tenover, F. C.; Ziakas, P.; Chapin, Kimberle C.; Mermel, L. A. (2016): Screening of nursing home residents for colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae admitted to acute care hospitals: Incidence and risk factors. In: American journal of infection control. Jahrgang: 44 (Heft 2), S. 126–130.

11. Czekalski, N.; Imminger, S.; Salhi, E.; Veljkovic, M.; Kleffel, K.; Drissner, David et al. (2016): Inactivation of Antibiotic Resistant Bacteria and Resistance Genes by Ozone: From Laboratory Experiments to Full-Scale Wastewater Treatment. In: Environmental science & technology. Jahrgang: 50 (Heft 21), S. 11862–11871.
12. Da Ferreira Silva, M.; Vaz-Moreira, I.; Gonzalez-Pajuelo, M.; Nunes, O. C.; Manaia, C. M. (2007): Antimicrobial resistance patterns in Enterobacteriaceae isolated from an urban wastewater treatment plant. In: FEMS microbiology ecology. Jahrgang: 60 (Heft 1), S. 166–176.
13. Deutsche Krankenhaus TrustCenter und Informationsverarbeitung GmbH (DKTIG) (2019): Deutsches Krankenhaus Verzeichnis. Online verfügbar unter <https://www.deutsches-krankenhaus-verzeichnis.de/suche/Regional.html>, zuletzt geprüft am 17.02.2020.
14. Deutsches Institut für Normung e.V.: DIN 38402-11:2009-02. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Allgemeine Angaben (Gruppe A) - Teil 11: Probenahme von Abwasser (A11).
15. Duong, H. A.; Pham, N. H.; Nguyen, H. T.; Hoang, T. T.; Pham, H. V.; van Pham, C. et al. (2008): Occurrence, fate and antibiotic resistance of fluoroquinolone antibacterials in hospital wastewaters in Hanoi, Vietnam. In: Chemosphere. Jahrgang: 72 (Heft 6), S. 968–973.
16. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2009): The bacterial challenge, time to react. A call to narrow the gap between multidrug-resistant bacteria in the EU and the development of new antibacterial agents (ECDC/ EMEA joint technical report), zuletzt geprüft am 30.11.2021.
17. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) (2019): Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net).
18. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (2018): Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1.
19. Exner, M. (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.
20. Gatermann, S. (2016): Enterokokken und weitere katalasenegative grampositive Kokken: Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie: Springer Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch), S. 213–215.
21. Hembach, N.; Schmid, F.; Alexander, J.; Hiller, C.; Rogall, E. T.; Schwartz, T. (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. In: Frontiers in microbiology. Jahrgang: 8, S. 1282.

22. Hillenbrand, J. (2023): MRGN-Prävalenz in der normalgesunden Bevölkerung Niedersachsens. Universität Osnabrück.
23. Hof, H.; Dörries, R. (2009): Medizinische Mikrobiologie: Georg Thieme Verlag.
24. Hübner, N.; Kramer, A. (2016): Krankenhaus- und Praxishygiene: Hygienemanagement und Infektionsprävention in medizinischen und sozialen Einrichtungen: Elsevier, Urban & Fischer.
25. HyReKA (2016): Biologische bzw. hygienisch-medizinische Relevanz und Kontrolle Antibiotika-resistenter Krankheitserreger in klinischen, landwirtschaftlichen und kommunalen Abwässern und deren Bedeutung in Rohwässern. Wissenschaftliches Gesamtkonzept. Online verfügbar unter <http://www.hyreka.net/index.php?page=konzept>, zuletzt geprüft am 26.02.2020.
26. Jelic, A.; Gros, M.; Ginebreda, A.; Cespedes-Sánchez, R.; Ventura, F.; Petrovic, M.; Barcelo, D. (2011): Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. In: Water research. Jahrgang: 45 (Heft 3), S. 1165–1176.
27. Kattan, J. N.; Villegas, M. V.; Quinn, J. P. (2008): New developments in carbapenems. In: Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Jahrgang: 14 (Heft 12), S. 1102–1111.
28. Klare, I.; Witte, W.; Wendt, C.; Werner, G. (2012): Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE). Aktuelle Daten und Trends zur Resistenzentwicklung. In: Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz. Jahrgang: 55 (Heft 11-12), S. 1387–1400.
29. Klauber, J.; Geraedts, M.; Friedrich, J.; Wasem, J. (2019): Krankenhaus-Report 2019. Das digitale Krankenhaus: Springer Open.
30. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) (2012): Hygienemaßnahmen bei Infektionen oder Besiedlung mit multiresistenten gramnegativen Stäbchen. Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI). In: Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz. Jahrgang: 55 (Heft 10), S. 1311–1354.
31. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) (2019): 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 Antibiotikaresistenzbestimmung: Konsequenzen für die Definition von MRGN.

32. Korzeniewska, E.; Harnisz, M. (2018): Relationship between modification of activated sludge wastewater treatment and changes in antibiotic resistance of bacteria. In: *The Science of the total environment*. Jahrgang: 639, S. 304–315.
33. Legeay, C.; Hue, R.; Berton, C.; Cormier, H.; Chenouard, R.; Corvec, S.; Birgand, G. (2019): Control strategy for carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in nursing homes: perspectives inspired from three outbreaks. In: *The Journal of hospital infection*. Jahrgang: 101 (Heft 2), S. 183–187.
34. Livermore, David M.; Sefton, Armine M.; Scott, Geoffrey M. (2003): Properties and potential of ertapenem. In: *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. Jahrgang: 52 (Heft 3), S. 331–344.
35. Mollenkopf, D. F.; Mathys, D. A.; Feicht, S. M.; Stull, J. W.; Bowman, A. S.; Daniels, J. B.; Wittum, T. E. (2018): Maintenance of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in a Farrow-to-Finish Swine Production System. In: *Foodborne pathogens and disease*. Jahrgang: 15 (Heft 6), S. 372–376.
36. Müller, H.; Sib, E.; Gajdiss, M.; Klanke, U.; Lenz-Plet, F.; Barabasch, V. et al. (2018): Dissemination of multi-resistant Gram-negative bacteria into German wastewater and surface waters. In: *FEMS microbiology ecology*. Jahrgang: 94 (Heft 5).
37. Murray, C. J. L.; Ikuta, K. S.; Sharara, F.; Swetschinski, L.; Robles Aguilar, G.; Gray, A. et al. (2022): Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. In: *The Lancet*. Jahrgang: 399 (Heft 10325), S. 629–655.
38. Nasri, E.; Subirats, J.; Sànchez-Melsió, A.; Mansour, H. B.; Borrego, C. M.; Balcázar, J. L. (2017): Abundance of carbapenemase genes (blaKPC, blaNDM and blaOXA-48) in wastewater effluents from Tunisian hospitals. In: *Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)*. Jahrgang: 229, S. 371–374.
39. OpenStreetMap contributors: OpenStreetMap. Online verfügbar unter <https://www.openstreetmap.org/>, zuletzt geprüft am 11.04.2023.
40. Pérez-Moreno, M. O.; Moral-Parras, P.; Domenech-Spanedda, M. F.; Casacuberta-Barberà, N.; Bas-García, I.; Centelles-Serrano, M. J.; Vila-Pérez, M. (2021): Extended-Spectrum β -Lactamase- and Carbapenemase-Producing Enterobacteriales Intestinal Carriage Among Outpatients: Microbiological and Epidemiological Differences Between Private Dwelling Residents and Nursing Home Residents. In: *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*. Jahrgang: 27 (Heft 7), S. 879–888.
41. Piedra-Carrasco, N.; Fàbrega, A.; Calero-Cáceres, W.; Cornejo-Sánchez, T.; Brown-Jaque, M.; Mir-Cros, A. et al. (2017): Carbapenemase-producing enterobacteriaceae recovered from a Spanish river ecosystem. In: *PloS one*. Jahrgang: 12 (Heft 4).

42. Pinnekamp, J. (2018): 51. Essener Tagung für Wasserwirtschaft, "Wasserwirtschaft im Umbruch". 14. bis 16. März 2018 in der Messe Essen Ost: Gesellschaft zur Förderung der Siedlungswasserwirtschaft an der RWTH Aachen e.V (Gewässerschutz - Wasser - Abwasser, 247).
43. Reinthaler, F.F; Posch, J.; Feierl, G.; Wüst, G.; Haas, D.; Ruckebauer, G. et al. (2003): Antibiotic resistance of *E. coli* in sewage and sludge. In: Water research. Jahrgang: 37 (Heft 8), S. 1685–1690.
44. Renschmidt, C.; Schneider, S.; Meyer, E.; Schroeren-Boersch, B.; Gastmeier, P.; Schwab, F. (2017): Surveillance of Antibiotic Use and Resistance in Intensive Care Units (SARI). In: Deutsches Arzteblatt international. Jahrgang: 114 (Heft 50), S. 858–865.
45. Seidel, U. (2013): Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben "Elimination von Arzneimitteln und organischen Spurenstoffen Entwicklung von Konzeptionen und innovativen, kostengünstigen Reinigungsverfahren". Analyse der Eliminationsmöglichkeiten von Arzneimitteln in den Krankenhäusern in NRW. MedCon Ruhr GmbH.
46. Serani, D. S. (2006): Experimentelle Prüfung verschiedener Methoden der quantitativen Bestimmung gesamtcoliformer und fäkalcoliformer Bakterien (*E. coli*) für die qualitative Bewertung von Wasserproben. Diplomarbeit im Studiengang Biotechnologie. Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg. Fachamt für Umweltuntersuchungen Hamburg.
47. Stalder, T.; Barraud, O.; Jové, T.; Casellas, M.; Gaschet, M.; Dagot, C.; Ploy, M. (2014): Quantitative and qualitative impact of hospital effluent on dissemination of the integron pool. In: The ISME journal. Jahrgang: 8 (Heft 4), S. 768–777.
48. Statistics Kingdom: Kruskal Wallis test calculator - with post-hoc Dunn's test multiple comparisons. Online verfügbar unter <https://www.statskingdom.com/kruskal-wallis-calculator.html>, zuletzt geprüft am 27.03.2023.
49. Statistics Kingdom: Mann-Whitney U test. Online verfügbar unter https://www.statskingdom.com/170median_mann_whitney.html, zuletzt geprüft am 27.03.2023.
50. Statistisches Landesamt (2019): Bevölkerungsstand Sachsen-Anhalt.
51. Steinmetz, I. (2016): Nichtfermentierende Bakterien (Nonfermenter): *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*: Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie: Springer Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch), S. 261–269.
52. Stenzel, F.; Jung, R.; Wiesgickl, S.; Dexheimer, K.; Eißing, M.; Mundt, M. (2019): Arzneimittelrückstände in Rezyklaten der Phosphorrückgewinnung aus Klärschlämmen. Abschlussbericht. Jahrgang: 2019 (Heft 31). Online verfügbar unter <https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/anzneimittelrueckstaende-in-rezyklaten-der>, zuletzt geprüft am 25.02.2020.

53. Suerbaum, S.; Hornef, M.; Karch, H. (2016): Enterobakterien: Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie: Springer Berlin Heidelberg (Springer-Lehrbuch), S. 227–254.
54. Szekeres, E.; Baricz, A.; Chiriac, C. M.; Farkas, A.; Opris, O.; Soran, M. et al. (2017): Abundance of antibiotics, antibiotic resistance genes and bacterial community composition in wastewater effluents from different Romanian hospitals. In: Environmental pollution (Barking, Essex: 1987). Jahrgang: 225, S. 304–315.
55. Umweltbundesamt (2018): Antibiotika und Antibiotikaresistenzen in der Umwelt. Hintergrund, Herausforderungen Hintergrund, Herausforderungen und Handlungsoptionen und Handlungsoptionen.
56. Varela, A. R.; Ferro, G.; Vredenburg, J.; Yanik, M.; Vieira, L.; Rizzo, L. et al. (2013): Vancomycin resistant enterococci: from the hospital effluent to the urban wastewater treatment plant. In: The Science of the total environment. Jahrgang: 450-451, S. 155–161.
57. Wendt, C.; Dietze, B.; Dietz, E.; Rüden, H. (1997): Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. In: Journal of clinical microbiology. Jahrgang: 35 (Heft 6), S. 1394–1397.
58. Westphal-Settele, K.; Konradi, S.; Balzer, F.; Schönfeld, J.; Schmithausen, R. (2018): Die Umwelt als Reservoir für Antibiotikaresistenzen : Ein wachsendes Problem für die öffentliche Gesundheit? In: Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz. Jahrgang: 61 (Heft 5), S. 533–542.
59. WetterKontor: Rückblick für Magdeburg. Online verfügbar unter <https://www.wetterkontor.de/de/wetter/deutschland/rueckblick.asp>, zuletzt geprüft am 17.02.2020.
60. World Health Organization (2017): Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics.
61. World Health Organization (2019): Ten threats to global health in 2019. Online verfügbar unter <https://www.who.int/news-room/feature-stories/ten-threats-to-global-health-in-2019>, zuletzt geprüft am 20.02.2020.
62. Zoologischer Garten Magdeburg: Trauer im Zoo Magdeburg: Kleiner Giraffenbulle gestorben. Aktuelle Pressemeldungen. Online verfügbar unter <https://www.zoo-magdeburg.de/pressemeldungen/trauer-im-zoo-magdeburg-kleiner-giraffenbulle-gestorben/>, zuletzt geprüft am 25.02.2020.

Danksagungen

Ich möchte mich bei Prof. Geginat für die Überlassung des spannenden Themas, seine Ratschläge und die Betreuung und Begutachtung dieser Arbeit bedanken.

Ebenfalls bedanke ich mich recht herzlich für die Betreuung durch Dr. rer. nat. Bauer, dass sie mir jederzeit zur Seite stand.

Mein weiterer Dank gebührt dem gesamten Team des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene, insbesondere dem Team des Hygienelabors für die stetige Unterstützung und Zusammenarbeit. Ebenfalls möchte ich mich bei den Städtischen Werken Magdeburg für die Möglichkeit des Auswertens der Daten bedanken.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meinen Eltern und meiner Freundin Katrin für das Verständnis und den bedingungslosen Rückhalt während des gesamten Studiums und darüber hinaus.

Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

„Verteilung von klinisch relevanten multiresistenten Bakterien im Abwasser der Stadt Magdeburg“

im Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg mit Unterstützung durch Professor Geginat ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Vechta, den 26.06.2023

Markus Ansgar Goldbeck

Der Lebenslauf ist in der Version aus Datenschutzgründen nicht enthalten.