

Resistenta gula stafylokocker (MRSA) och antibiotikaresistensgener förekommer i svenskt kommunalt avloppsvatten

<http://urn.kb.se/resolve?urn=urn:nbn:se:liu:diva-17709>

Stefan Börjesson

Methicillinresistenta *Staphylococcus aureus* (MRSA), även kända som resistenta gula stafylokocker, är en bakterieart som utvecklat resistens mot alla penicilliner och penicillinliknande antibiotika (β -laktam antibiotika). Detta innebär stora problem inom sjukvården eftersom β -laktamerna är den vanligast använda antibiotikaklassen. *S. aureus* ingår ofta i normalfloran hos en stor del av befolkningen men är också en opportunistisk patogen som kan orsaka en rad olika sjukdomar. Bland annat är *S. aureus* den främsta orsaken till variga sårinfektioner men den kan också orsaka allvarligare sjukdomar som t ex blodförgiftning, lung- och hjärnhinneinflammation. De vårdrelaterade sjukdomarna (populärt kallad sjukdomssjukan) utgörs till stor del av *S. aureus* infektioner. I stora delar av världen dominerar nu MRSA över de methicillinkänsliga *S. aureus* vid infektioner inom sjukvården, vilket leder till längre sjukhusvistelser, högre dödlighet och högre kostnader för samhället. MRSA i Sverige är fortfarande ganska ovanligt men trenden är här som i övriga världen en ökning i antalet MRSA infektioner. Hur spridning och utveckling av MRSA sker i sjukvården är utförligt studerat, men vilken roll andra miljöer har för spridning och utveckling av MRSA är mindre känt.

I denna avhandling har vi försökt öka kunskapen om förekomst av MRSA i ickekliniska miljöer. Syftet var att undersöka om MRSA kan förekomma i avloppsvatten och hur MRSA och förekomsten av genen *mecA* (som ger methicillinresistensen hos stafylokocker) påverkas av reningsprocesserna i ett kommunalt avloppsvattenreningsverk. Dessutom ville vi bestämma släktskap mellan MRSA i avloppsvattnet och MRSA inom sjukvården. För att kunna utföra projektet samlades vattenprover in från ett kommunalt avloppsvattenreningsverk. I verket togs vattenprover från flera provpunkter som var utvalda för att täcka upp de olika stegen i reningsprocessen. MRSA i avloppsvattnet identifierades dels genom odling från vattnet men också genom identifiering av MRSA-DNA med hjälp av en känslig molekylärbiologisk metodik, en så kallad Realtids-PCR. För att identifiera och koncentrationsbestämma *mecA* genen i avloppsvatten utvecklade vi en helt ny Realtids-PCR.

Med hjälp av de utvalda metoderna kunde vi för första gången observera MRSA i avloppsvatten. Våra resultat visar att MRSA främst förekommer under ett tidigt skede i reningsprocessen och att det sker en minskning av MRSA i både antal och variationsrikedom. Det finns en antydning till att det under reningsprocessen också sker ett urval mot MRSA med utvidgad antibiotikaresistens och möjligen högre virulens. När MRSA stammarna från avloppsvattnet jämfördes med de 20 vanligaste inom sjukvården isolerade MRSA stammar i Sverige 2007 – 2008 visade resultaten att samma MRSA stammar förekom i avloppsvattnet eller att stammarna var närbesläktade med sjukvårdsstammarna. Våra resultat tyder därför på

att MRSA som hittats i avloppsvattnet är en spegling av bärandet i samhället. Resultatet av projektet visar också att *mecA* koncentrationen varierar över året men att någon klar trend ej kan ses. Vid en jämförelse mellan obehandlat och behandlat avloppsvatten kunde vi i de flesta proverna observera en sänkning av *mecA* koncentrationen, sänkningen varierade mellan 3 och 300 ggr.

Utöver undersökning av MRSA och *mecA* genen utvecklades i doktorandprojektet realtids-PCR för att identifiera och kvantifiera gener som ger resistens mot aminoglykosider och tetracykliner, vilka är två vanligt använda antibiotikaklasser. Målet var att använda realtids-PCR för att undersöka förekomsten och koncentrationen av generna i olika miljöer kopplade till avloppsvatten. Generna som undersöktes var *aac(6')-Ie+aph(2'')* som ger bakterier resistens mot aminoglykosidantibiotika, samt generna *tetA* och *tetB* som ger gramnegativa bakterier resistens mot tetracyklinantibiotika. Tillsammans med den utvecklade metoden för kvantifiering av genen *mecA*, användes dessa fyra metoder på tre olika avloppsvattenmiljöer: jordprov från en översilningsvåtmark behandlad med lakvatten, biofilmprov från ett kommunalt reningsverk samt slamprov från ett sjukhusavlopp. De utvecklade metoderna visade en hög tillförlitlighet för identifiering och kvantifiering av de aktuella generna i avloppsvattenmiljöerna. De högsta koncentrationerna av alla gener kunde detekteras i sjukhusavloppet och de lägsta koncentrationerna i översilningsvåtmarken. Förekomst och koncentration av generna *tetA* och *tetB* undersöktes också i det kommunala avloppsvattenreningsverket och hur koncentrationerna av generna påverkas av reningsprocessen. Våra mätningar visade att koncentrationen av de båda generna varierade över året men utan tydlig trend. Precis som för genen *mecA* kunde en minskning av *tetA* och *tetB* påvisas över reningsprocessen. När obehandlat och behandlat avloppsvatten jämfördes varierade reduktionen av *tetA* mellan 4 och 300 ggr och för *tetB* mellan 3 och 40 ggr. Minskningen av *tetA* och *tetB* koncentrationerna verkar delvis bero på utfällnings- och sedimentationsprocesserna som utförs vid reningen av avloppsvattnet. Koncentrationerna av de båda generna påverkas också starkt av mängd biomassa och borttagandet av biomassa i reningsverket.