



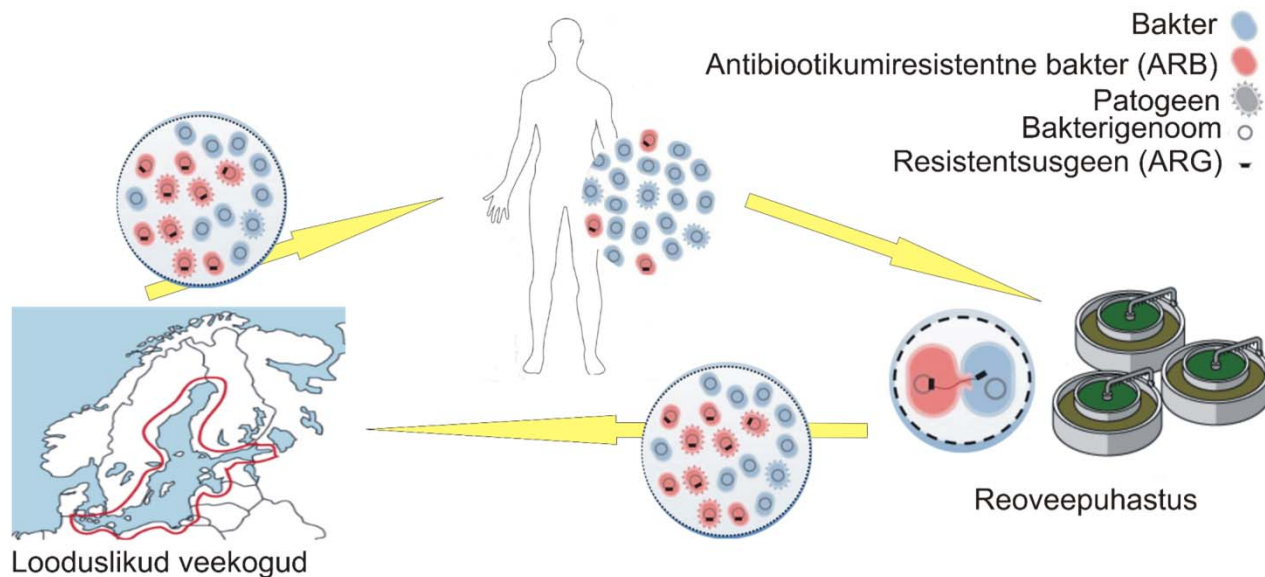
# Keskkonnatehnoloogia ja antibiootikumiresistentsus

Jaak Truu

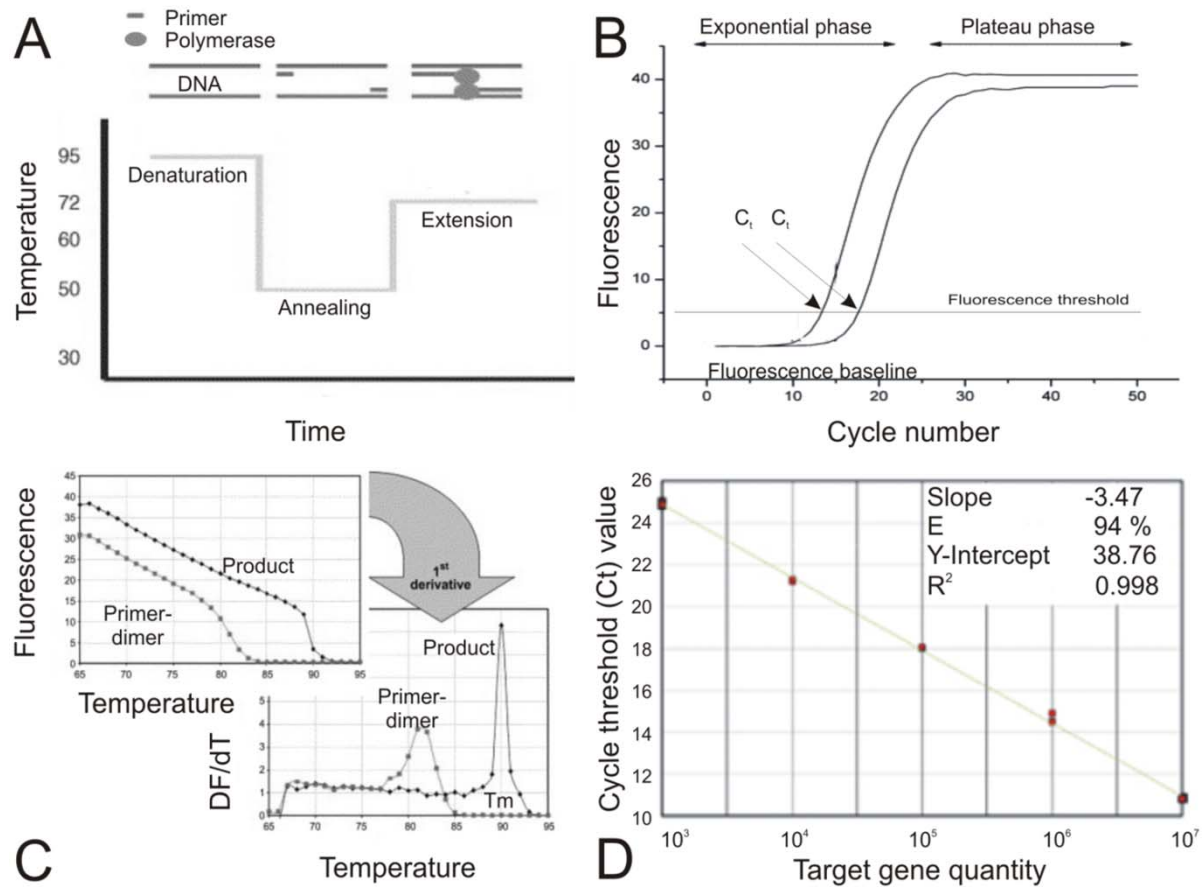
Ökoloogia ja maateaduste instituut

Tartu Ülikool

# Antibiootikumidele resistentsete bakterite arvukuse muutus reoveepuhastuse käigus ja levik keskkonda



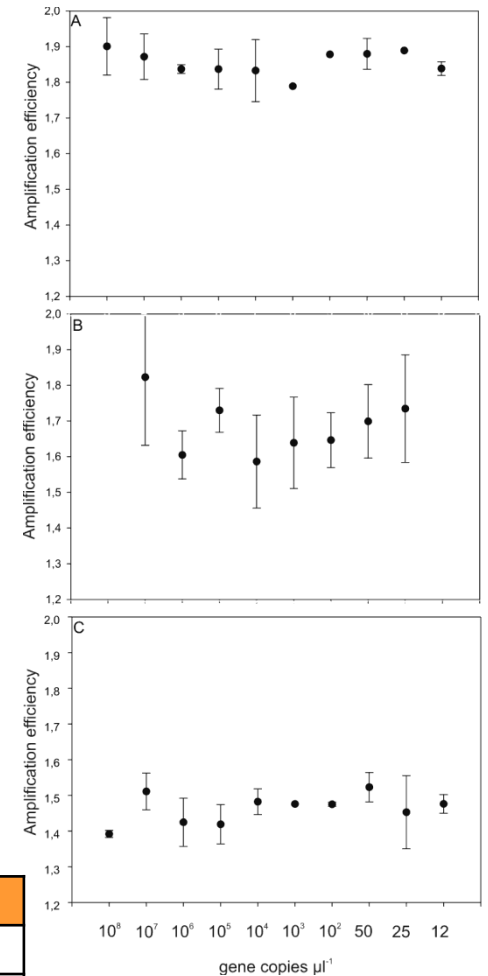
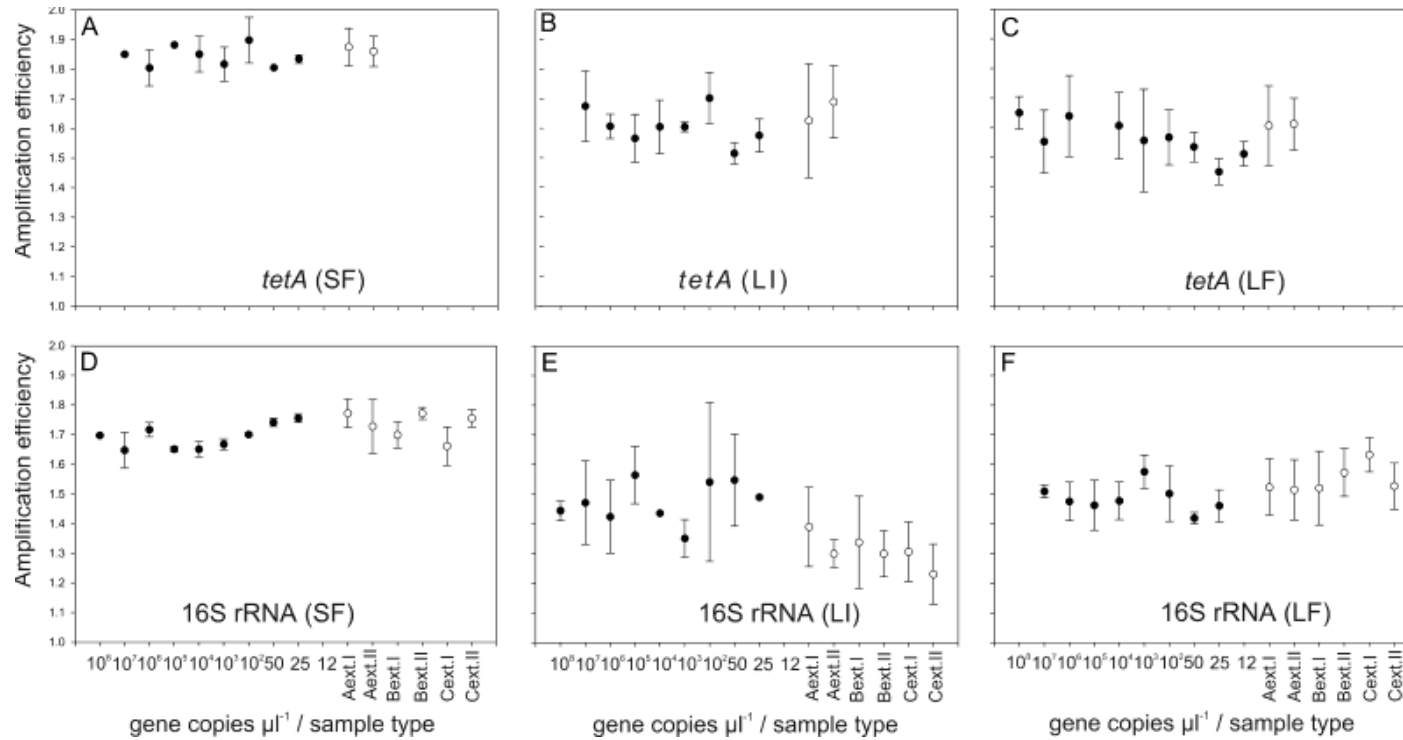
Antibiootikumid on hädavajalikud bakteriaalsete infektsioonide raviks, kuid kuna organism omastab ravimitest vaid väikese osa, jõuab enamus sellest jääkainetega keskkonda. Paljud antibiootikumidele resistentsust kodeerivad geenid (ARG) paiknevad geenivahendajates, mille abil on nad võimelised levima mikroobiliikide vahel. Reoveepuhastusjaamad on üks peamisi vahelülisid ARB levimisel inimese ja looduskeskkonna vahel, viimasest võivad ARB taas sattuda kontakti inimesega ja põhjustada tõsiseid tervisehädasid.



## Metoodika

Nõlvak, H., Truu, M., & Truu, J. (2012). Evaluation of quantitative real-time PCR workflow modifications on 16S rRNA and tetA gene quantification in environmental samples. *Science of the Total Environment*.

# Amplifikatsiooni efektiivsus



LI – LUX<sup>TM</sup> (Invitrogen); LF – LUX<sup>TM</sup> (Fermentas); SF – SYBR green (Fermentas)

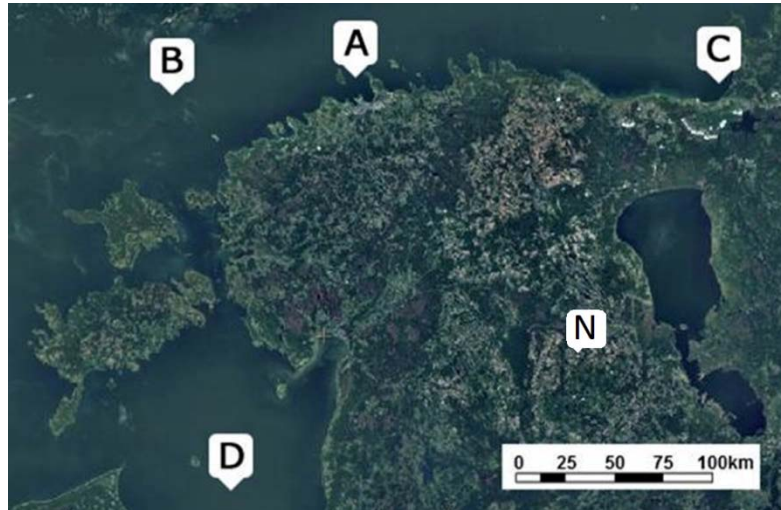
Variable	Factor	P value
16S rDNA efficiency	PCR chemistry	P<0.001
<i>tetA</i> efficiency	PCR chemistry	P<0.001
Lambda efficiency	PCR chemistry	P<0.0001

# Amplifikatsiooni efektiivsus

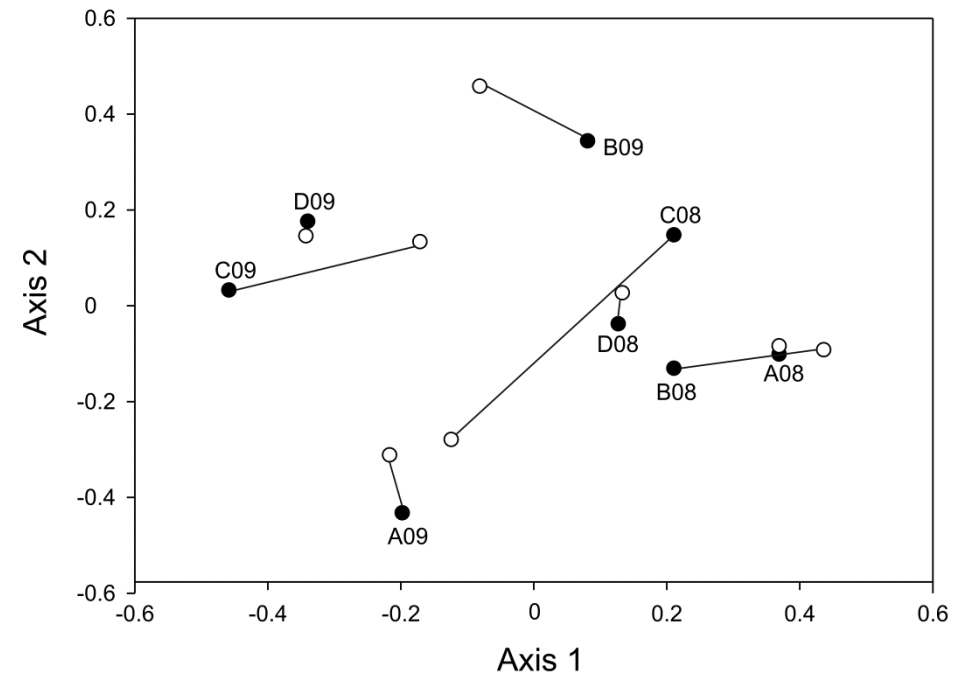
Standardkõvera ja proovide individuaalne amplifikatsiooni efektiivsus

Amplification target	qPCR variant	$\text{Eff}_{\text{slope}} = 10^{(-1/\text{slope})}$	$\text{Eff}_{\text{LinRegPCR}}$
16S rRNA	LI	2.0214	1.4699
	LF	1.9659	1.4840
	SF	1.8085	1.6857
<i>tetA</i>	LI	1.9749	1.6060
	LF	2.0039	1.568
	SF	1.9741	1.8411
Bacteriophage $\lambda$ DNA	LI	1.9411-2.0187	1.4333
	LF	1.9833-2.3025	1.4797
	SF	1.9832-2.0584	1.8599

# ARG Läänemere bakterikoosluses



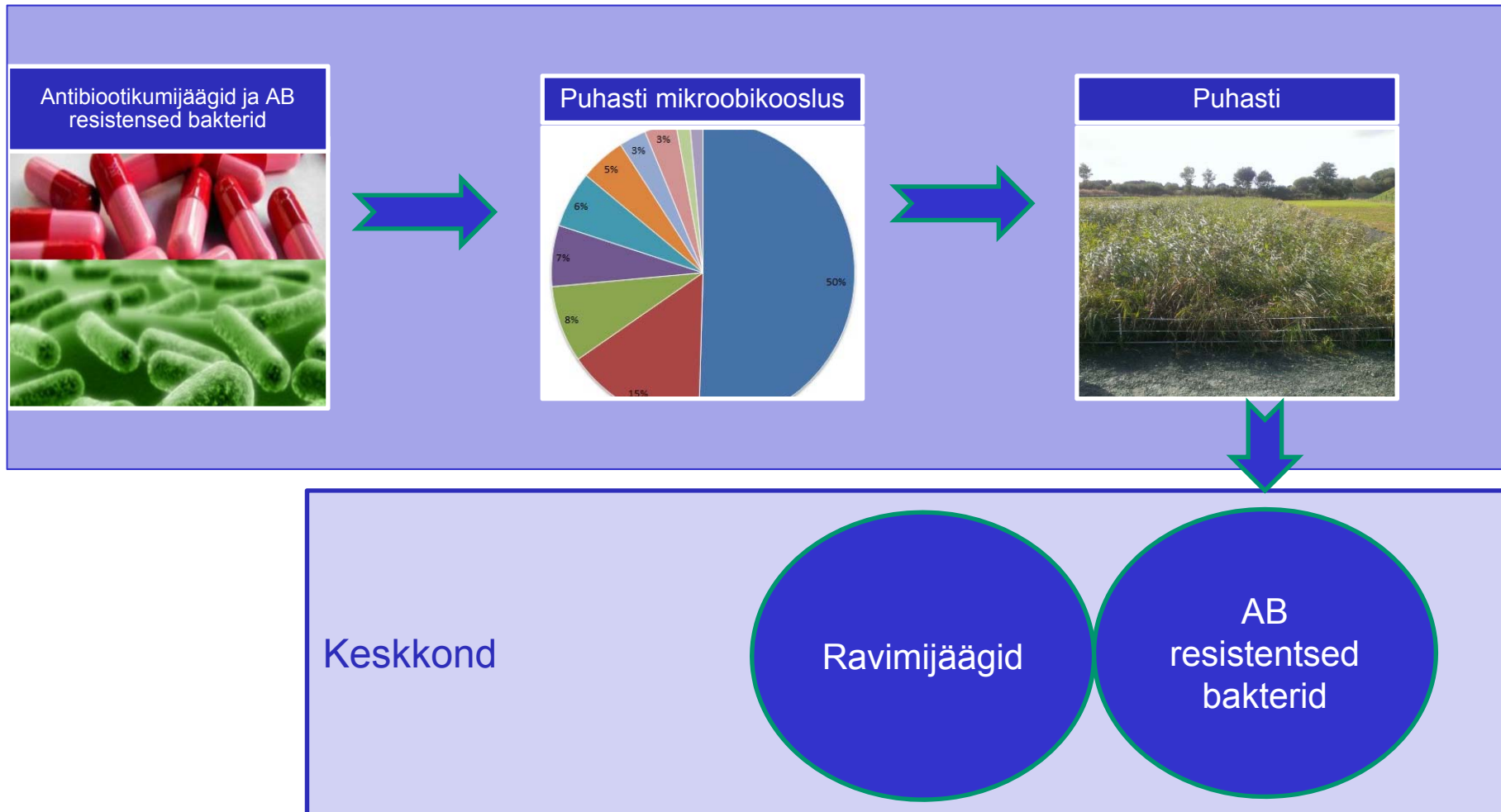
Proovid koguti kahel järjestikusel aastal Läänemere eri piirkondadest



*tetA*, *tetB*, *tetM* (tetratsükliini resistentsus); *ermB* (makroliidide resistentsus), *sul1* (sulfoonamiidide resistentsus), *blaSHV*, *ampC* ( $\beta$ -laktaamresistentsus); *qnrS* (kinoloonide resistentsus).

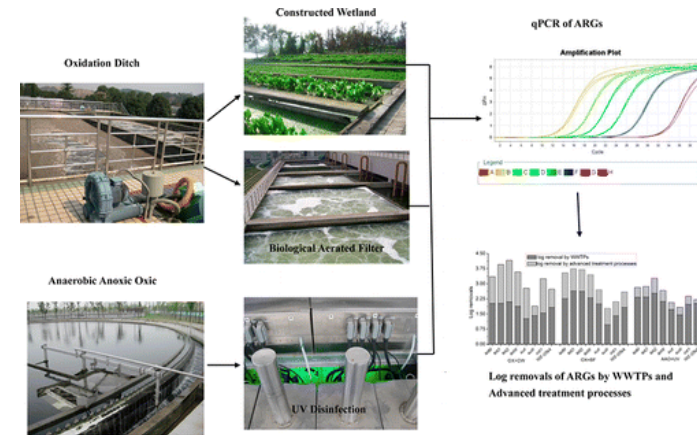
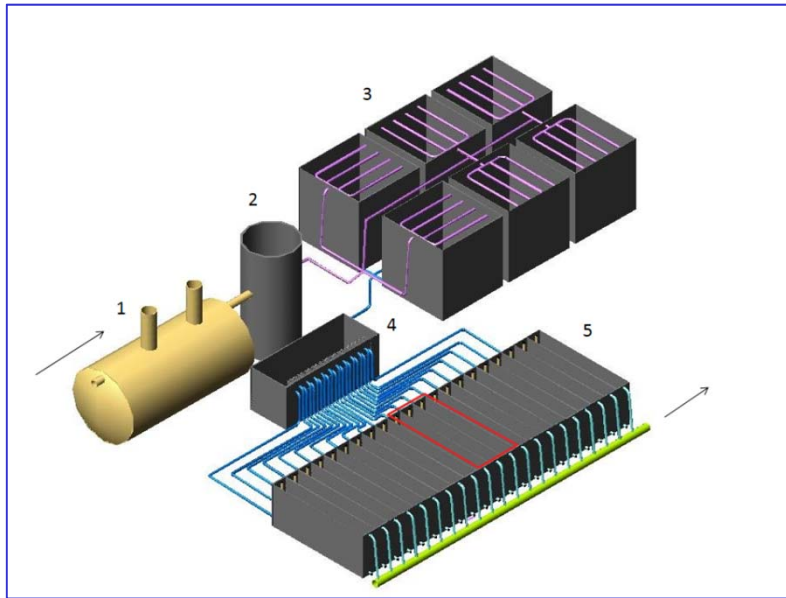
Tiirik, K., Nõlvak, H., Oopkaup, K., Truu, M., Preem, J.-K., Heinaru, A., & Truu, J. (2013). Characterization of the bacterioplankton community and its antibiotic resistance genes in the Baltic Sea. *Biotechnology and Applied Biochemistry*.

# Antibiootikumijääkide mõju reoveepuhasti mikroobikooslusle





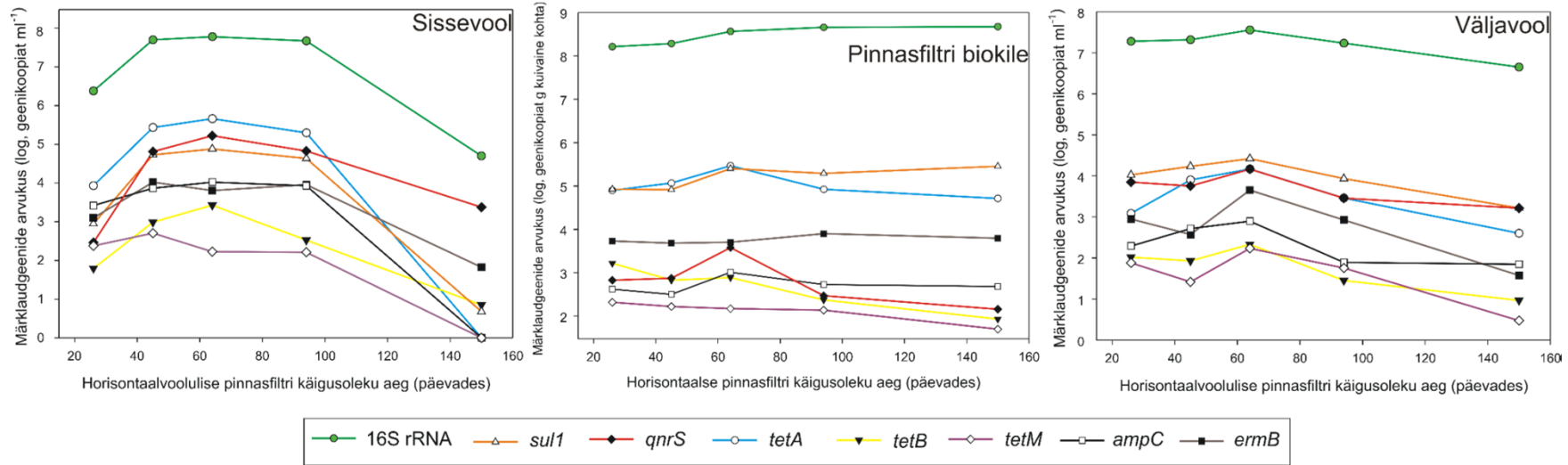
# Tehimärgalapuhasti



Chen, H., & Zhang, M. (2013). Effects of advanced treatment systems on the removal of antibiotic resistance genes in wastewater treatment plants from Hangzhou, China. *Environmental Science & Technology*



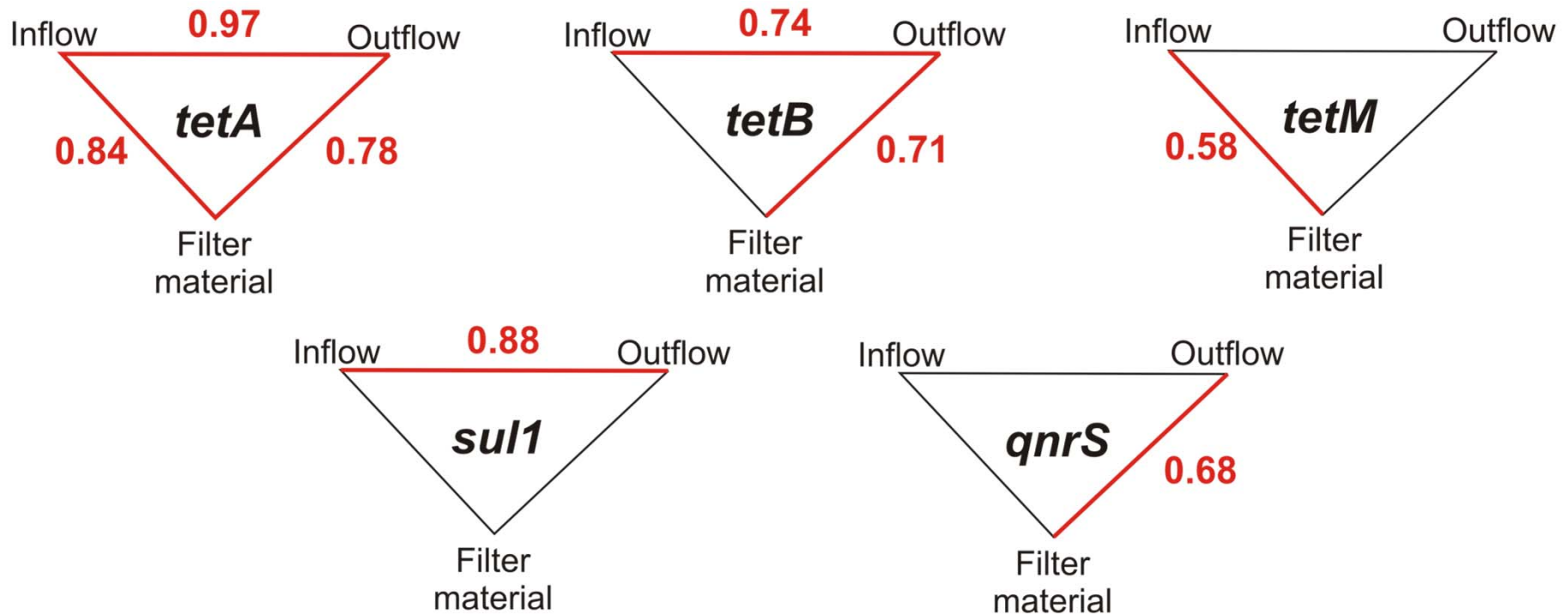
# ARG arvukuse dünaamika tehimärgalapuhastis



Reoveepuhastuse käigus HSSFV-s ARG kontsentratsioon enamasti vähenes ning ARG arvukus süsteemi väljavoolus oli samas suurusjärgus aktiivmudapuhastite väljavooluga. ARG arvukus HSSFV filtermaterjali biokiles ning väljavoolus sõltus süsteemi tööparameetritest (filtri T(°C), süsteemi käigusoleku aeg).

*Dynamics of antibiotic resistance genes and their relationship with system treatment efficiency in a horizontal subsurface flow constructed wetland. Sci Total Environ 2013, 461-462:636-644*

## Correlations of ARG abundancies in inflow, outflow and filter material of HSSF CW (p<0.05)

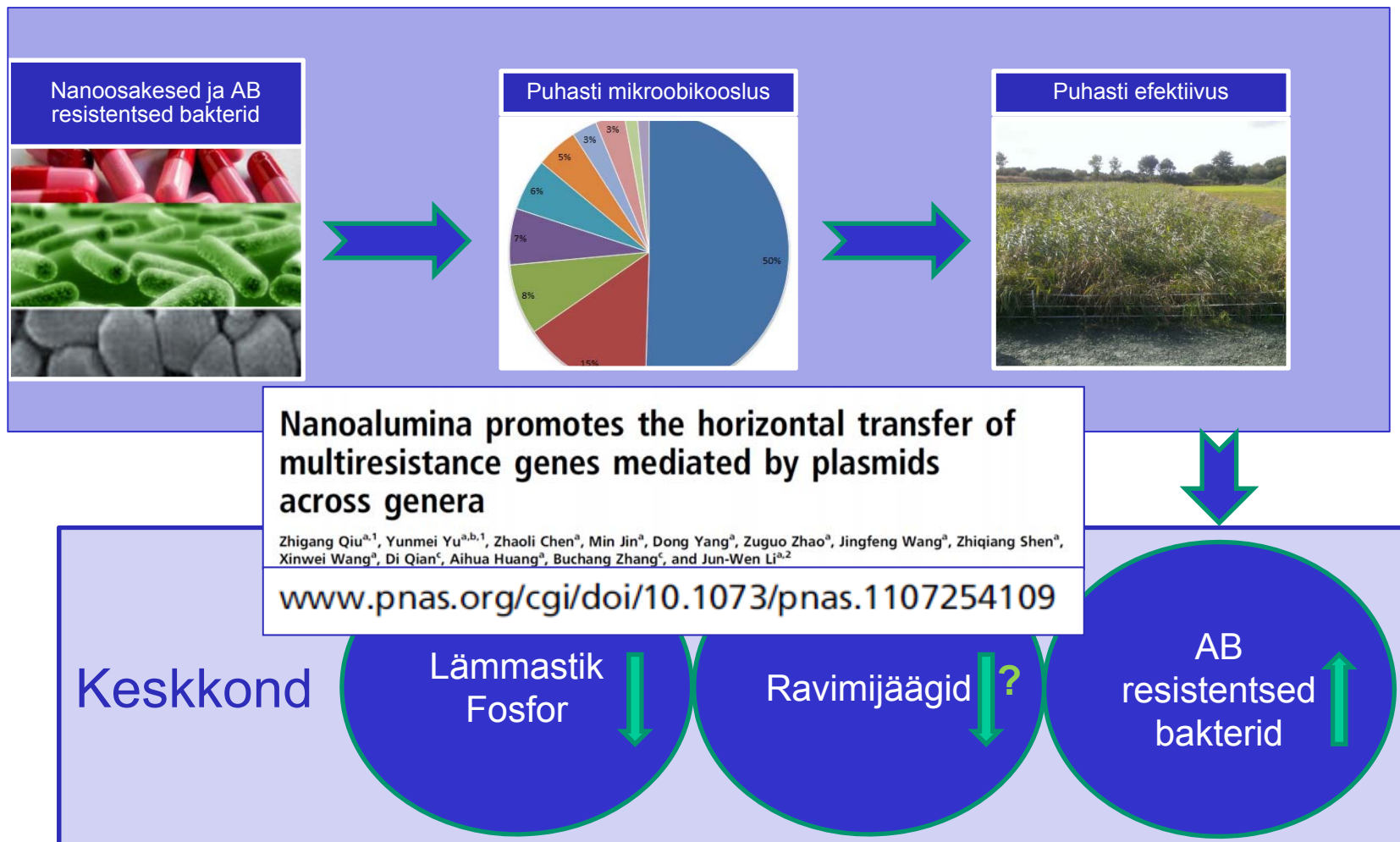


No correlations were found for *ermB* and *ampC* abundancies as well as targeted ARG-s relative abundancies.

\* For details concerning HSSF CW filter material microbial community composition see poster P38

Märklaud-geen	HSSFW käigusoleku aeg	Temperatuur (°C)	Sisse- voolu pH	NO <sub>2</sub> -N PE	NO <sub>3</sub> -N PE	NH <sub>4</sub> -N PE	BOD <sub>7</sub> PE	TOC PE
tetA <sup>F</sup>				0.72			- 0.73	
tetA <sup>E</sup>				0.84			- 0.76	
tetB <sup>F</sup>	- 0.82	0.83			- 0.51	- 0.62	- 0.54	- 0.58
tetB <sup>E</sup>	- 0.64	0.76				- 0.60	- 0.86	
tetM <sup>F</sup>	- 0.69	0.67				- 0.52		
tetM <sup>E</sup>		0.70				- 0.69	- 0.68	- 0.56
sul1 <sup>F</sup>	0.67		- 0.59					
sul1 <sup>E</sup>		0.60		0.69		- 0.66	- 0.88	
ermB <sup>F</sup>	0.53					0.59		
ermB <sup>E</sup>		0.64		0.56		- 0.70	- 0.75	
ampC <sup>F</sup>			- 0.65					
ampC <sup>E</sup>		0.56				- 0.59	- 0.83	
qnrS <sup>F</sup>		0.58					- 0.60	
qnrS <sup>E</sup>	- 0.63	0.73				- 0.76	- 0.76	

# Nanoosakesed ja antibiootikumiresistentsus - koostoime



Ravimijäägid ja sünteetilised nanoosakesed reovees:  
mõju reoveepuhastusprotsessile ja  
ravimresistentsuse geenide levikule keskkonnas

Tartu Ülikool

KBFI

Eesti Maaülikool

Kestus 2012-2015

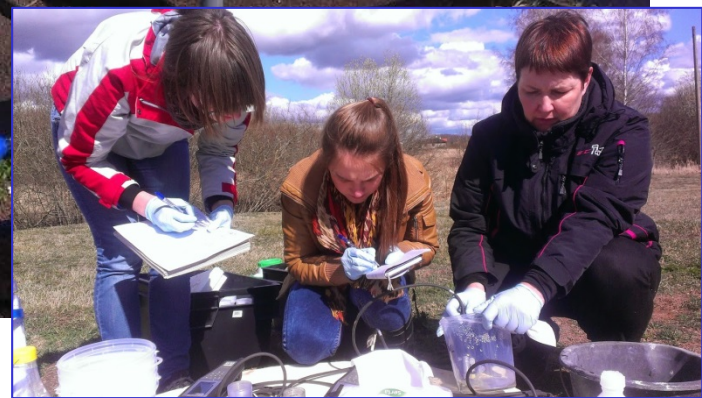
Alameede „Keskkonnatehnoloogia teadus- ja  
arendustegevuse toetamine”

# Projekti eesmärgid

1. Antibiootikumiresistentsuse kujunemist reovett puhastavas mikroobikoosluses
2. Antibiootikumijääkide mõju reoveepuhastusprotsessi efektiivsusele
3. Sünteetiliste nanoosakeste mõju reoveepuhastusprotsessi efektiivsusele ja mikroobikooslusele reoveepuhastis
4. Antibiootikumide ja sünteetiliste nanoosakeste koosmõju reoveepuhastusprotsessi efektiivsusele ja mikroobikooslusele puhastis
5. Antibiootikumiresistentsuse geenide esinemine erinevate Eesti reoveepuhastite väljavooludes
6. Antibiootikumijääkide lagundamist reoveesette käitlemisel kompostimisel ja nanoosakeste mõju kompostimisprotsessile



# Eksperimentaalne tehismärgalapuhasti





# Jäämuda kompostimiskatsed



# Veise läga ja selle digestaadi mõju rohumaa mikroobikooslusele

Proov	Tüüp	Geen						
		tetA	tetB	sul1	qnrS	blaTEM1	blaCTX	E. faecalis
1	Läga	0.0034	0	0.0127	0.0039	0.0202	0.0427	0.0006
	Digestaat	0.0017	0.0004	0.0164	0.0011	0.0001	0.0067	0.0001
2	Läga	0.0008	0.0001	0.0098	0.0030	0.0146	0.0281	0.0001
	Digestaat	0.0021	0.0044	0.0595	0.0021	0.0002	0.0035	0.0001
3	Läga	0.0020	0.0002	0.0112	0.0020	0.0091	0.0422	0.0001
	Digestaat	0.0038	0.0022	0.0523	0.0000	0.0002	0.0049	0.0001

# Fotobioreaktorid



Fotobioreaktorites kasvatatakse erinevaid vetikaid. Vetikate biomassi kasutatakse energia tootmiseks (biogaas ja biodiisel). Toitainete allikana on võimalik fotobioreaktorites kasutada reovett.

# Tõvestavate bakterite arvu vähenemine fotobioreaktoris

