

## ARISE

Evaluierung innovativer molekularer Analyseverfahren und -ansätze zur Überwachung von Antibiotikaresistenzen im Abwasser

|                                 |  |                        |            |
|---------------------------------|--|------------------------|------------|
| <b>Programm / Ausschreibung</b> | KIRAS, Kooperative F&E-Projekte, KIRAS Kooperative F&E-Projekte 2022 | <b>Status</b>          | laufend    |
| <b>Projektstart</b>             | 01.01.2024   | <b>Projektende</b>     | 31.12.2026 |
| <b>Zeitraum</b>                 | 2024 - 2026  | <b>Projektlaufzeit</b> | 36 Monate  |
| <b>Keywords</b>                 | Abwassermonitoring, Antimikrobielle Resistenzen, Diagnostik          |                        |            |

### Projektbeschreibung

Antimikrobielle Resistenzen stellen eine der größten medizinischen Herausforderungen dar. Sie verursachen Kosten im Gesundheitswesen und lassen Infektionen, die bisher als gut behandelbar galten, zunehmend fatal enden. Die genaue Kenntnis des epidemiologischen Geschehens ist dabei eine wichtige Säule in der Bekämpfung dieser globalen Bedrohung und erfordert koordinierter Maßnahmen auf allen Ebenen. Zum Schutz von Mensch und Umwelt soll nun im Zuge der Überarbeitung der europäischen Kommunalabwasserrichtlinie (91/271/EWG) eine verpflichtende Überwachung von AMR in Abwässern auf den Weg gebracht werden. Doch anders als bei viralen Erregern wie SARS-CoV-2 oder Polio, steckt das AMR-Abwassermonitoring noch in den Anfängen.

Ziel des ARISE-Projektes ist es die essentiellen methodischen Grundlagen zu schaffen und zukunftsweisende Analysekonzepte für die Überwachung von Antibiotikaresistenzen im Abwasser zu entwickeln, zu testen und zu realisieren. So werden erstmals i) alle wesentlichen molekularen Analyseverfahren zum Nachweis von Antibiotikaresistenzgenen (ARG) einer systematischen und vergleichenden Evaluierung unterzogen, ii) der gesamte Analyseworkflow (von Probenahme-Technik, Probenaufbereitung und -extraktion, bis hin zu bioinformatisch-biostatistischen Auswertung) unter Einsatz geeigneter Prozesskontrollen für ein Abwassermonitoring evaluiert und optimiert, sowie iii) innovative Analyseansätze zur universellen mikrobiologischen Referenzierbarkeit der Ergebnisse der ARG-Analysenmethoden getestet. Evaluert werden dabei verschiedenste Verfahren, wie quantitative PCR, digitale PCR, Shotgun-Metagenomsequenzierung, Array-basierte Hochdurchsatz-qPCR, sowie ein neues Capture-Assay-basiertes Hochdurchsatz-Sequenzierverfahren zur gezielten Anreicherung und quantitativen Analyse AMR-Markern. Die Evaluierung der Analyseverfahren erfolgt dabei einheitlich und vergleichend unter standardisierten Labortestbedingungen sowie in ausgewählten Fallstudien. Darüber hinaus soll eine Verknüpfung von molekularbiologischen und klassischen kulturbasierten Methoden ein vollständiges Bild über die Vergleichbarkeit und Aussagekraft der Methoden liefern wie es in dieser Form derzeit nicht gegeben ist. Die umfassende Betrachtung an innovativen molekularen AMR-Analysenmethoden, gepaart mit einer systematischen Vergleichsstudie ihrer Leistungscharakteristik und der neuartigen Kombination mit relevanter Begleitdiagnostik, führt zusammenfassend zu einer soliden Wissens- und Datenbasis. Diese ermöglicht die erfolgreiche Umsetzung einer abwasserbasierten AMR-Überwachung der Zukunft für die Bedarfsträger, wie von der EU vorgeschlagen.

## **Abstract**

Antimicrobial resistances represent one of the greatest medical challenges. They result in healthcare costs and increasingly cause infections that were previously considered well-treatable to end fatally. A precise understanding of the epidemiological situation is an important pillar in the fight against this global threat and requires coordinated measures at all levels. As part of the revision of the European Urban Wastewater Treatment Directive (91/271/EEC), mandatory monitoring of AMR in wastewater is now to be launched to protect human health and the environment. However, unlike viral pathogens such as SARS-CoV-2 or polio, AMR wastewater monitoring is still in its infancy.

The aim of the ARISE project is to create the methodological foundation and develop pioneering analysis concepts for monitoring antibiotic resistance in wastewater. To achieve this, the project will i) systematically evaluate the entire spectrum of molecular analysis methods for the detection of antibiotic resistance genes (ARGs), ii) evaluate and optimize the entire analysis workflow - from sampling techniques, sample preparation and extraction, to bioinformatic and biostatistical evaluation, by using appropriate process controls for wastewater monitoring and iii) test innovative analysis approaches for universal microbiological referencing of the results of ARG analysis methods. A broad range of methods will be evaluated, including quantitative PCR, digital PCR, shotgun metagenome sequencing, array-based high-throughput qPCR, and a new capture assay-based high-throughput sequencing method for targeted enrichment and quantitative analysis of AMR markers. The evaluation of the analysis methods will be performed under standardized laboratory test conditions, as well as in selected case studies. Furthermore, linkage between molecular and culture-based methods will provide a comprehensive understanding of the comparability and validity of the methods.

The comprehensive examination of innovative molecular AMR analysis methods, coupled with a systematic comparative study of their performance characteristics and novel combination with relevant companion diagnostics, leads to a solid knowledge and data foundation, which enables the successful implementation of a wastewater-based AMR surveillance of the future for the stakeholders, as proposed by the EU.

## **Projektkoordinator**

- Karl Landsteiner Privatuniversität für Gesundheitswissenschaften GmbH

## **Projektpartner**

- Technische Universität Wien
- Medizinische Universität Graz
- SAN Group GmbH
- Medizinische Universität Wien
- Bundesministerium für Arbeit, Soziales, Gesundheit, Pflege und Konsumentenschutz
- Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Klima- und Umweltschutz, Regionen und Wasserwirtschaft