

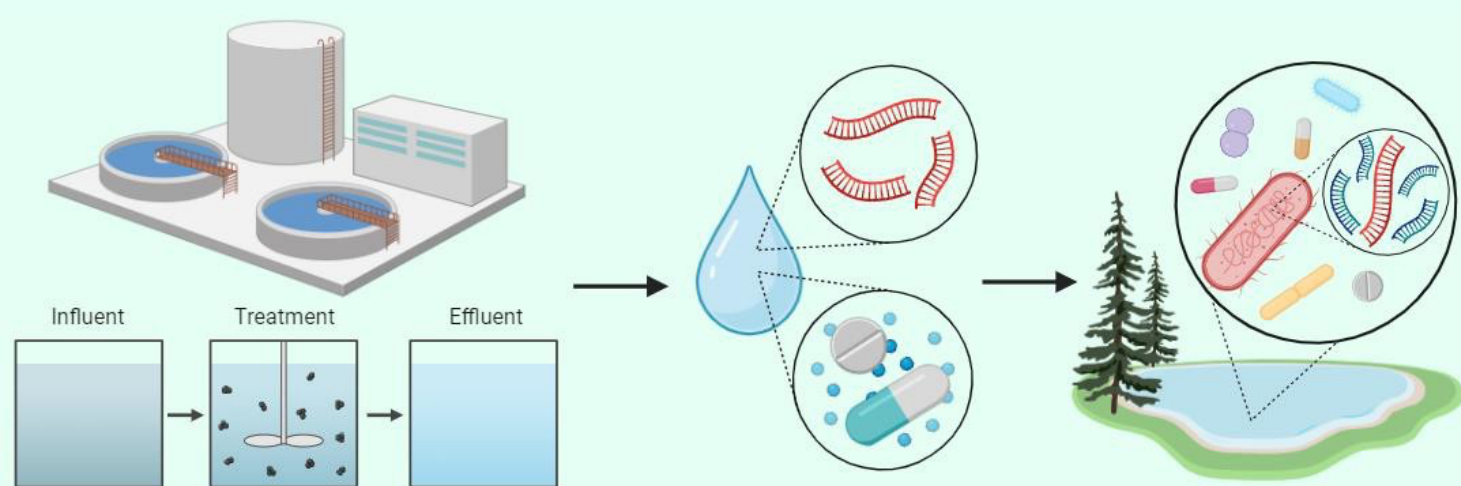
# Tetracycline antibiotica en resistentiegenen in oppervlaktewater

Naam: Maaïke Modderman 498064

Lectoraat: International Water Technology (IWT)

## Inleiding

Antimicrobiële resistentie (AMR) is een ernstige wereldwijde bedreiging voor de volksgezondheid, die in 2019 direct verantwoordelijk was voor 1,27 miljoen sterfgevallen en bijdroeg aan 4,95 miljoen sterfgevallen [1]. Onjuist gebruik van antibiotica leidt tot resistente bacteriën en resistentiegenen, die via waterbehandelingsprocessen en afvalstromen in het milieu terecht komen [2]. Dit draagt bij aan de verspreiding van AMR, waarbij zelfs niet-resistente bacteriën zich aanpassen en resistent worden. Het monitoren van AMR is essentieel om deze dreiging aan te pakken.



## Doel

### Doel:

➤ Het opzetten en optimaliseren van een HPLC-methode voor de detectie van tetracycline-antibiotica in influent en effluent water en deze data koppelen aan de aanwezigheid van resistentiegenen (tetM en tetB).

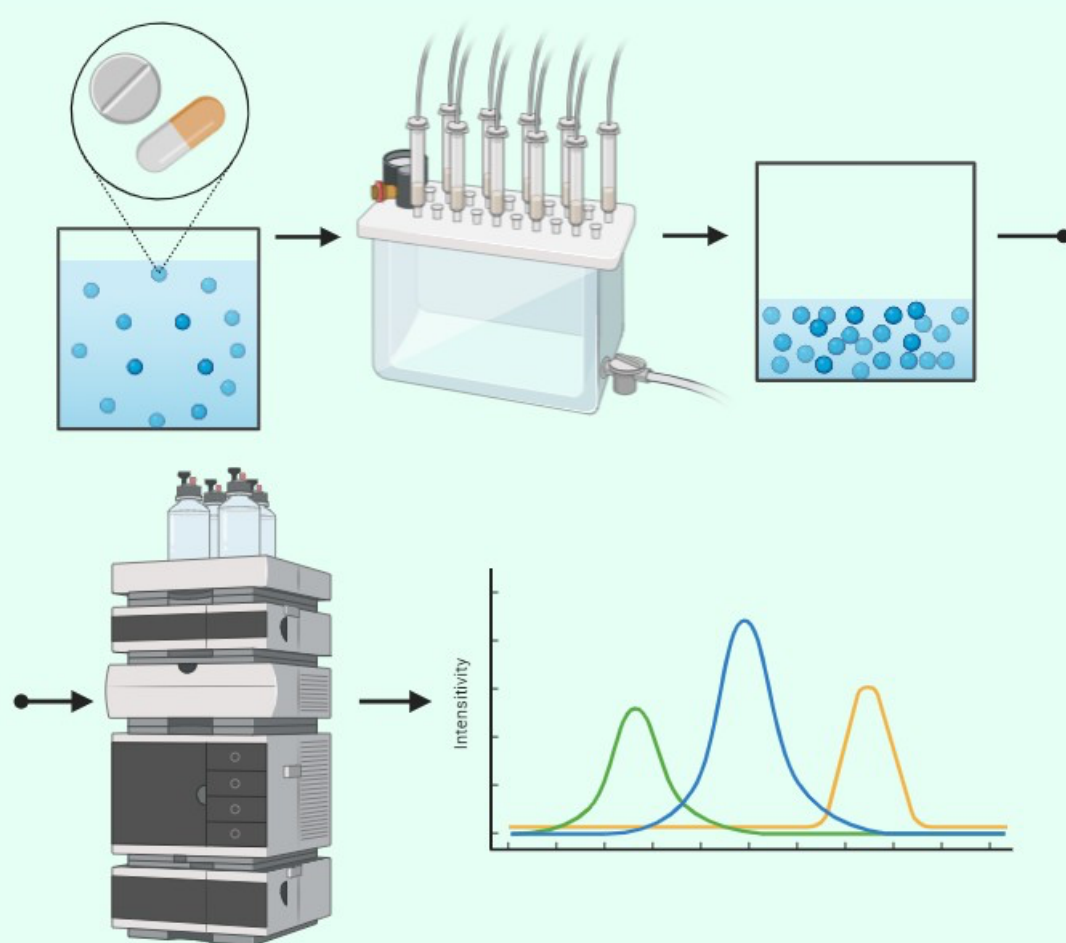
### Subdoel:

➤ Het bepalen van de het effect van de zuivering in de RWZI in Glanerbrug op de aanwezigheid van de antibiotica groep tetracycline vergelijk influent-effluent.  
➤ Onderzoek waar de groep van tetracyclines uit bestaat die we aan kunnen treffen in influent/effluent.  
➤ Koppeling aanwezigheid van resistentiegenen (tetM en tetB) in het influent/effluent aan de aanwezige tetracycline antibiotica met behulp van een qPCR methode.

## Methode

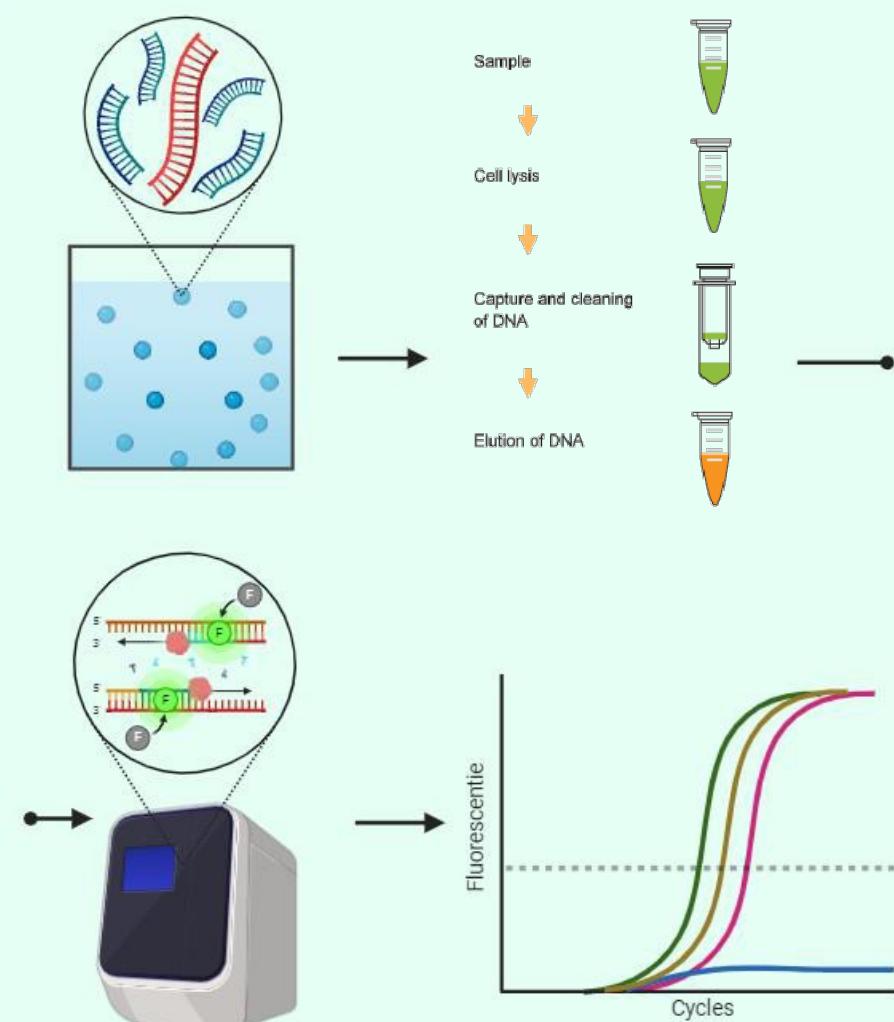
### High-Performance Liquid Chromatography

1. HPLC Protocol optimaliseren door limit of detection vast te stellen een kalibratielijijn te maken.
2. Antibiotica uit het influent en effluent op concentreren door middel van Solid Phase Extraction,
3. Geconcentreerde antibiotica op HPLC meten.
4. Uit de resultaten van de HPLC vaststellen welke tetracyclines aanwezig zijn in het influent en effluent.

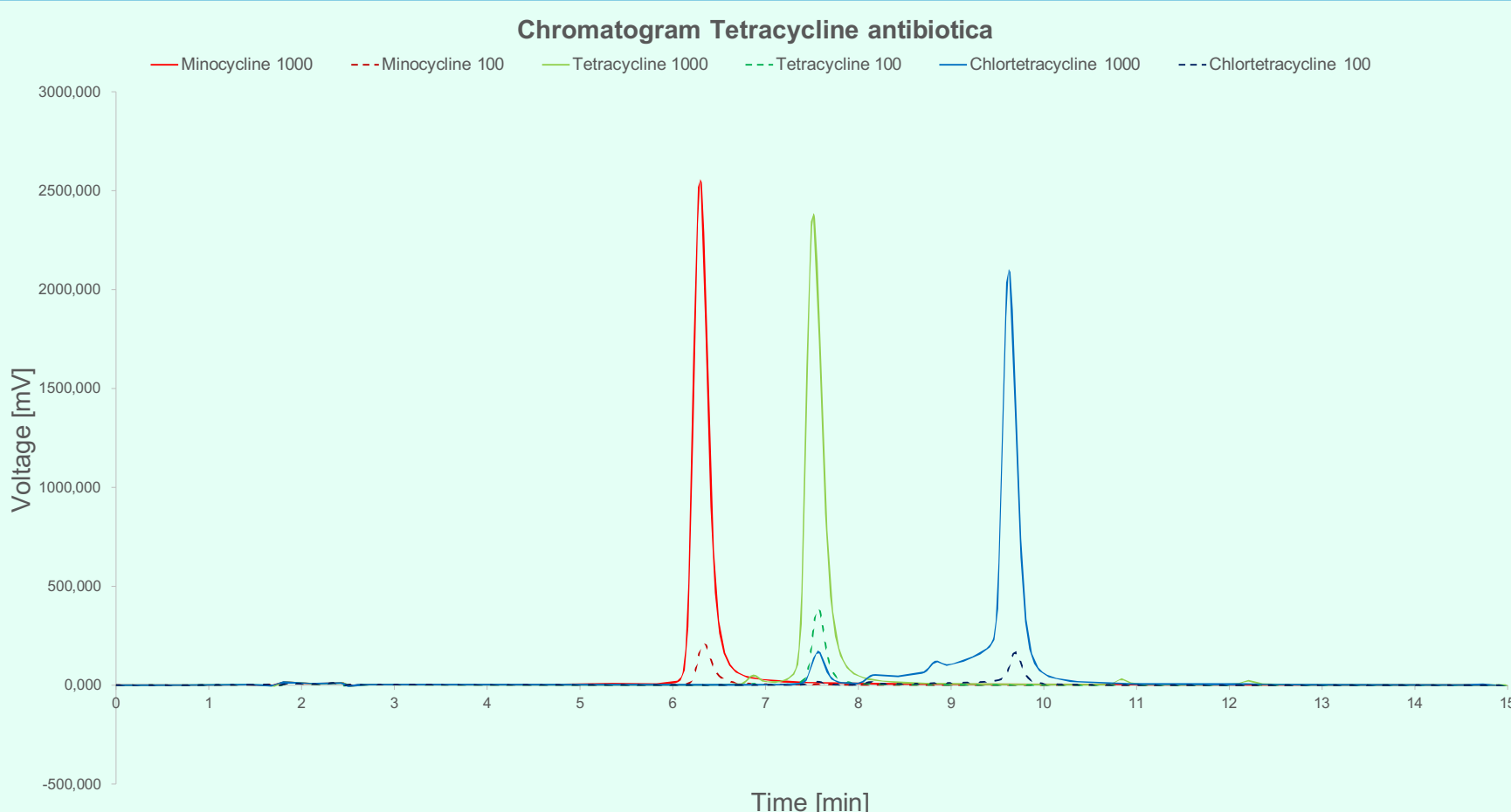


### Quantitative PCR

1. Het DNA uit het influent en effluent purificeren met behulp van DNA extractie.
2. De tetracycline resistentiegenen worden geamplificeerd met specifieke primers en probe's voor de gewenste genen in het qPCR apparaat.
3. Aan de hand van de resultaten wordt vastgesteld of de resistentiegenen TetM of TetB aanwezig zijn.



## Resultaten tot nu toe



Gemiddelde retentietijden van de tetracycline antibiotica:

- Minocycline: 6,3 minuten
- Tetracycline: 7,5 minuten
- Chlortetracycline: 9,7 minuten

## Vervolg stage

### High-Performance Liquid Chromatography methode:

- Doxycycline stockoplossingen maken en meten met HPLC.
- Detectielimiet vaststellen en kalibratielijijn maken. Kan er lager worden gemeten dan 1µg/mL?
- Solid Phase Extractie uitvoeren op influent en effluent aan de hand van het detectielimiet.
- Het meten van Tetracycline antibiotica in het influent en effluent.

### Quantitative PCR:

- Optimale annealing temperatuur van de primers en probe's vaststellen.
- Positieve controle voor TetM en TetB zoeken.
- Het uitvoeren van de qPCR methode met het influent en effluent water.



[1] Antimicrobial Resistance Collaborators, „Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis,” The Lancet, pp. 629-655, 19 Februari 2022.

[2] E. Marti, E. Variatza en J. L. Balcazar, „The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance,” Trends in Microbiology, vol. 22, nr. 1, pp. 36-41, Januari 2014.

[3] Figures made in Biorender.com.