

Bakterielle Resistenzmechanismen – Spezielle Formen der Resistenz

Autoren:

Prof. Dr. med. Holger Rohde,
Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene,
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE)

Dr. rer. nat. Kora Huber
Mikrobiologin
Consultant Infektiologie

Hintergrund

„Könnte man alle Krebserkrankungen beseitigen, dann würde sich die Lebenserwartung der Amerikaner um zwei Jahre erhöhen. Demgegenüber ist nach Einführung der Antibiotika die Lebenserwartung um 10 Jahre gestiegen“ (Donowitz et al. 1988).

Auch wenn dieses Zitat der Infektiologie-Experten Donowitz und Mandell schon einige Jahre zurückliegt, gehören Antibiotika nach wie vor zu den erfolgreichsten Therapieformen in der Medizin (Lin et al. 2015). Zahlreiche neue Therapieansätze sind erst durch die Verfügbarkeit potenter Breitspektrumantibiotika möglich geworden:

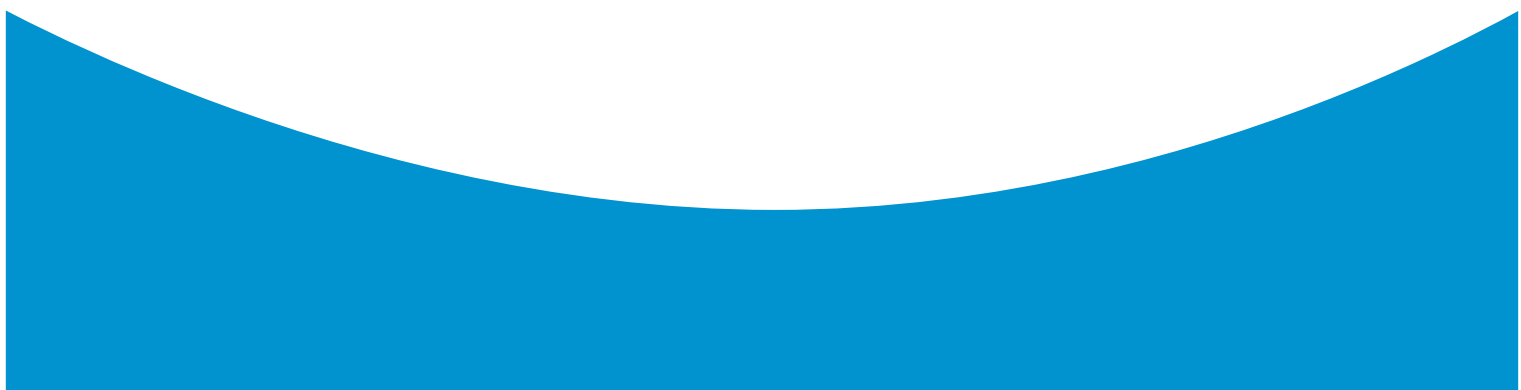
- Durchführung großer chirurgischer Eingriffe
- Invasive Eingriffe bei älteren und multimorbiden Patienten, die in ihrer Immunabwehr geschwächt sind
- Versorgung polytraumatisierter Patienten, z.B. nach schweren Unfällen
- Maßnahmen und Behandlungen bei Tumorkranken, die die körpereigene Immunabwehr dramatisch reduzieren
- Organtransplantationen

Allerdings wird die Antibiotikawirksamkeit durch eine steigende Anzahl antibiotikaresistenter Bakterien weltweit beeinträchtigt, die insbesondere bei Patienten mit Risikofaktoren vermehrt vorkommen (siehe hierzu CME-Modul „Bakterielle Resistenzmechanismen – Grundlagen“). Infektionen durch antibiotikaresistente Erreger erhöhen das Risiko für eine inadäquate Antibiotikatherapie und gehen mit erhöhter Morbidität und Letalität sowie erhöhten Behandlungskosten einher (Kaase et al. 2016). Sie werden mittlerweile als eine der größten globalen Bedrohungen des Gesundheitswesens bewertet (<https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/77009/G20-starten-internationale-Forschungsinitiative-zu-Antibiotikaresistenzen>)

Die zunehmende Resistenz bei Erregern bakterieller Infektionen bestimmt zunehmend auch die politische Diskussion und führt zu erhöhter medialer Aufmerksamkeit (World Economic Forum. Global risks 2013. World Economic Forum. Global risks 2014. (<https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/77009/G20-starten-internationale-Forschungsinitiative-zu-Antibiotikaresistenzen>))

Konkret gelten eine generelle Verringerung des Antibiotikaverbrauchs im veterinär- und humanmedizinischen Bereich, eine Verbesserung von Hygienestandards sowie die Erforschung und Entwicklung neuer Antibiotika als wichtige Kernstrategien im Kampf gegen Resistenzen. Dieses wurde in der Deutschen Antibiotika Resistenz-Strategie (DART) verankert (DART, Kaase et al. 2016).

In Europa versterben schätzungsweise pro Jahr 25 000 Menschen an bakteriellen Infektionen mit multiresistenten Erregern. Die jährlichen Kosten für die europäische Union betragen 1,5 Milliarden Euro (Blair et al. 2015). Antibakterielle Resistenz ist komplex und dynamisch. Viele generelle Mechanismen antimikrobieller Resistenz sind lange bekannt, und es konnte eine Vielzahl spezifischer Faktoren (z. B. Beta-Laktamasen, Effluxsysteme) identifiziert werden. Im Rahmen mikrobieller Evolution und dem kontinuierlichen Austausch genetischen Materials werden jedoch kontinuierlich neue Faktoren mit zum Teil neuartigen Mechanismen entdeckt. Durch Rekombination alter und neuer Mechanismen entstehen hierdurch völlig neuartige Resistenzphänotypen (Blair et al. 2015, Livermore 2003).



Mikrobiom

Die Gesamtzahl der Bakterien in allen menschlichen Mikrobiomen (Darm, Haut, Nase, Mund, Rachen, Vagina) enthält fünf bis acht Millionen unterschiedliche Gene. Zum Vergleich: Alle menschlichen Körperzellen enthalten nur 20 000 Gene. Vermutlich können rund 10 000 Bakterienarten im Darm des erwachsenen Menschen vorkommen. Die meisten dieser Mikroorganismen lassen sich auf Nährböden nicht oder nur

sehr schwer anzüchten. Die Zusammensetzung des Darmmikrobioms kann deshalb nur mit molekularbiologischen Methoden bestimmt werden. Bereits eine einwöchige Einnahme eines Antibiotikums ändert die Zusammensetzung und Aktivität der Darmflora in signifikanter Weise. Dutzende Spezies verschwinden, andere nehmen ihren Platz ein (Feldmeier 2012).

Von besonderer Bedeutung ist die Besiedlung mit multiresistenten Erregern (MRE), wofür es eine Reihe an Risikofaktoren gibt. Hierzu gehören: Antibiotikabehandlung innerhalb der vergangenen 6 Monate, Aufenthalt in einem Pflegeheim, gastroösophagealer Reflux oder entzündliche Darmerkrankungen, eine vorangegangene Besiedlung mit MRE und internationale Reisen, insbesondere nach Asien. Die Besiedlung mit MRE kann bis zu über einem Jahr andauern (Medianwert in der COMBAT-Studie: 30 Tage) (Arcilla et al. 2017, Hamprecht et al. 2016, Ruppé et al. 2015).

Wirkmechanismen der Antibiotika und Hauptformen der Resistenz

Im klinischen Alltag steht eine Vielzahl unterschiedlicher Antibiotika zur Verfügung, die anhand ihres Wirkmechanismus in definierte Gruppen eingeteilt werden. Analog werden auch bakterielle Resistenzmechanismen entsprechend ihres Wirkmechanismus gruppiert (Abb. 1 und 2) (siehe hierzu auch Tabelle wichtiger Klinikantibiotika im CME-Modul „Bakterielle Resistenzmechanismen – Grundlagen“):

- **Eingriff in die bakterielle Zellwandsynthese**
durch Verhinderung des Peptidoglycan-Aufbaus (z. B. Beta-Laktam-Antibiotika [Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme, Monobaktame], Glykopeptide wie Vancomycin)
- **Inhibierung der bakteriellen Proteinsynthese**
(z. B. Makrolide, Oxazolidinone Lincosamide: Bindung an ribosomale 50S-Untereinheit; Aminoglykoside, Tetracycline, Glycylcycline: Bindung an ribosomale 30S-Untereinheit)
- **Eingriff in die Nukleinsäuresynthese**
(z. B. Fluorchinolone [Angriffspunkt = DNA-Topoisomerasen], Rifampin)
- **Inhibierung bakterieller Stoffwechselwege**
(z. B. Polymyxine, Daptomycin)

Abbildung 1: Bakterielle Angriffspunkte verschiedener Antibiotika (Tenover 2006).

- **Penetrationsresistenz**
durch Veränderung der Strukturen in der äußeren Bakterienmembran (z. B. Modifizierung von Porinen und Transportsystemen); bei gramnegativen Bakterien, insbesondere *Enterobacteriaceae* und Nonfermenter (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*)
- **Bakterielle Effluxpumpen**, die das Antibiotikum aktiv aus der Bakterienzelle herauspumpen (bei *Pseudomonas aeruginosa* u. a. Nonfermentern, *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*) (Blair 2015)
- **Veränderung der bakteriellen Zielstruktur**
(bei Gram+ und Gram-)
 - Modifikation der Penicillin-Binde-Proteine (PBP) bei Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (**MRSA**): Ein neues PBP2a führt die notwendigen Peptidoglycan-Synthese-Schritte durch.
 - Modifikation der Peptidseitenketten im Peptidoglycan-Stützgerüst bei Vancomycin-resistenten Enterokokken (**VRE**) erschwert die Bindung der Glykopeptid-Antibiotika (Vancomycin-Affinität wird um den Faktor 1000 verringert).
 - Veränderung der ribosomalen Bindestelle erschwert oder verhindert das Anbinden der Antibiotika, deren Wirkung über bakterielle Ribosomen erfolgt.
- **Inaktivierung des Antibiotikums durch bakterielle Enzyme** (z. B. Beta-Laktamasen, insbesondere bei gramnegativen Bakterien [*Enterobacteriaceae*, Nonfermenter], auch bei grampositiven Bakterien [Staphylokokken]). Aminoglykosid-modifizierende Enzyme und andere Target-modifizierende Enzyme

Abbildung 2: Hauptformen der bakteriellen Resistenz (Tenover 2006, Wright 2011).

Antibiotikaresistenz wird von spezifischen Genen oder Gengruppen kodiert. Sind diese Gene natürlicher Bestandteil des Erregers, so spricht man von einer primären Resistenz. Genetische Resistenzdeterminanten können jedoch, wenn sie auf beweglichen genetischen Elementen (z. B. Plasmiden) lokalisiert

sind, auch zwischen Erregern einer Spezies oder sogar über Speziesgrenzen hinweg transferiert werden. Dies führt beim jeweiligen Empfänger zu einer erworbenen, sekundären Resistenz (Abb. 3) (Blair et al. 2015).

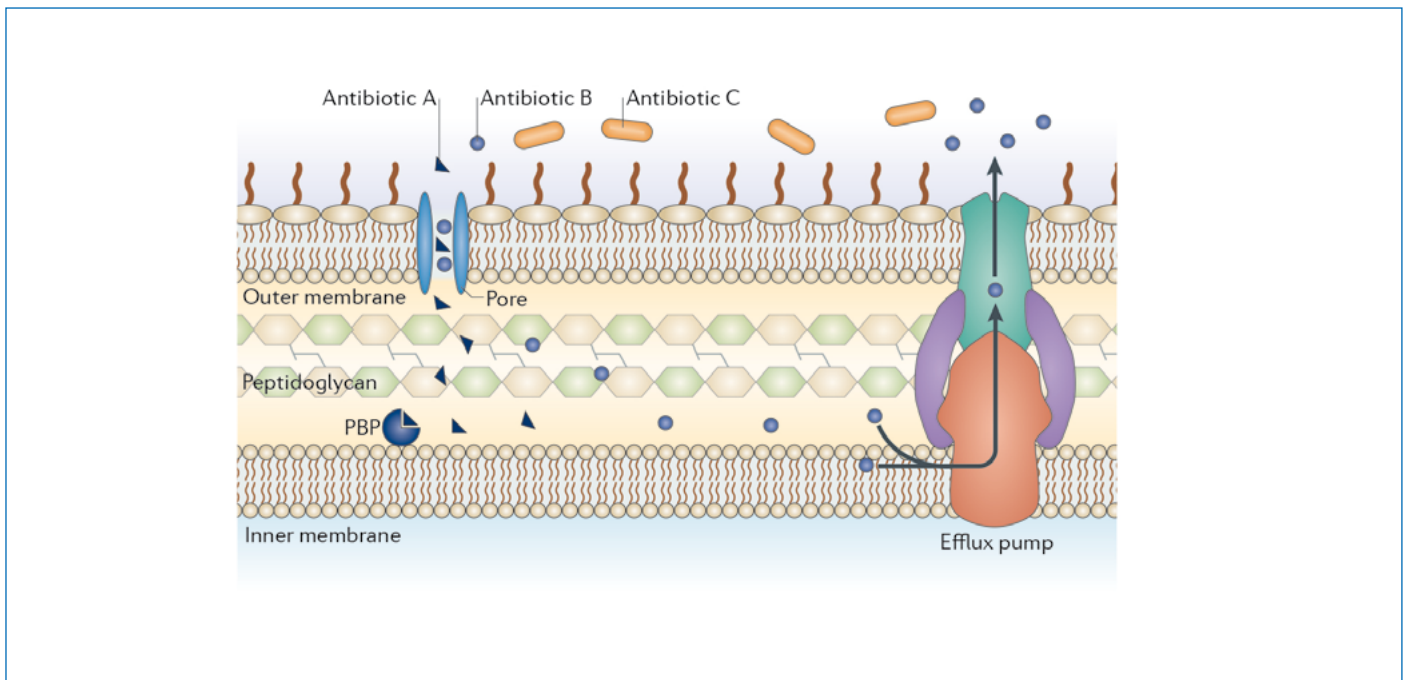


Abbildung 3: Überblick über intrinsische Resistenzmechanismen (Blair et al. 2015). Das Beispiel zeigt ein Beta-Laktam-Antibiotikum, das an ein Penicillin-Binde-Protein (PBP) bindet.

Antibiotikum A kann über ein durch die äußere Membran verlaufendes Porin (Tunnelprotein) in die Bakterienzelle gelangen und seine Zielstrukturen, die Penicillin-Binde-Proteine (PBP), erreichen und blockieren und somit die Peptidoglykan-Synthese inhibieren.

Antibiotikum B kann auch via Porin die äußere Membran passieren und in die Bakterienzelle gelangen, aber im Gegensatz zu Antibiotikum A wird es effizient über Effluxsysteme wieder nach draußen transportiert.

Antibiotikum C kann nicht die äußere Membran passieren und ist somit nicht in der Lage, an seine Zielstrukturen – die PBP – zu gelangen

Bakterielle Resistenzentwicklung durch Mutation

Da die bakterielle DNA repliziert wird, treten zufallsmäßig inkorrekte Basensubstitutionen in einer Häufigkeit von etwa 10^{-9} bis 10^{-10} pro Gen auf (Livermore 2003). Diese können zu veränderten biologischen Eigenschaften der betroffenen Strukturen und damit auch zu einer veränderten Antibiotikaempfindlichkeit führen.

- Veränderung der bakteriellen Zielstruktur mit einem Herabsetzen der Bindungsfähigkeit für Antibiotika: vermindert die Wirksamkeit von Beta-Laktam-Antibiotika, Vancomycin, Fluorchinolonen, Aminoglykosiden, Colistin, Makroliden, Rifampicin
- Antibiotika-Inaktivierung (veränderte Substratspezifität von Beta-Laktamasen, Aminoglykosid-modifizierende Enzyme)

- Hochregulieren („Upregulation“) bzw. Herunterregulieren („Downregulation“) der Efflux-Pumpensysteme (ursprünglich vor allem Resistenzmechanismus gegenüber Tetracyklinen, mittlerweile gegen viele unterschiedliche Antibiotika)
- Veränderung der bakteriellen Zellwandpermeabilität (Porine und aktive Transportsysteme, die verloren gehen oder aber aktiviert werden können) → verminderte Aufnahme von Beta-Laktamen, Aminoglykosiden, Fluorchinolonen u. a.

Unabhängig von Mutationen können ähnliche Effekte nach Insertion oder Deletion beweglicher genetischer Elemente (IS-Elemente) beobachtet werden.

„Ancient Resistome“ („Urzeitliches“ Resistom = Pool der Resistenzgene)

- Unter Resistom versteht man alle Gene eines Bakteriums, die eine Resistenz gegenüber Antibiotika verleihen (Wright 2005). Wenngleich der Fokus auf die Antibiotikaresistenz bei Infektionserregern hospitalisierter Patienten gerichtet ist oder generell auf Bakterien, die Krankheiten verursachen, ist die Resistenzentwicklung gegenüber Antibiotika ein natürliches, ökologisches Phänomen und das Ergebnis einer Evolution über Milliarden Jahre (Blair 2015).
- Bakterien aus der arktischen Permafrost-Region verfügen seit mindestens 5000 Jahren über unterschiedliche Resistenzmechanismen. Aus verschiedenen Bodenschichten konnten Bakterien mit acht Resistenzgenen isoliert werden, die Resistenz gegen Beta-Laktame, Aminoglykoside und Tetracycline kodieren können (Perron et al. 2015).
- Klassische Experimente zeigen, dass antibakterielle Substanzen die Selektion bereits vorhandener Varianten bewirken und nicht die Entstehung neuer Mutanten (Blair et al. 2015, Livermore 2003, Olaitan et al. 2016).

Bakterielle (Multi-)Resistenz durch Mutation

Bakterien können „hypermutable“ werden und haben dann eine bis zu 200-fach höhere Mutationsrate als normale Zellen und somit eine höhere Wahrscheinlichkeit, gegenüber einem Antibiotikum resistent zu werden (Livermore 2003).

Hypermutableität kann transient sein, also vorübergehend durch Induktion auftreten. Die Selektion oder vorübergehende Induktion von Hypermutableität erklärt, weshalb Varianten mit multipler Mutation in vivo schneller aufgetreten sind, als dies von Laborversuchen zu erwarten war.

Beispiel Fluorchinolon-Resistenz bei *Enterobacteriaceae*

- Substanzielle Fluorchinolon-Resistenz bei *Enterobacteriaceae* erfordert Mutationen in den Genen für Untereinheiten der Topoisomerase II und IV (*gyrA* bzw. *gyrC*), zusammen mit Mutationen, bezüglich Efflux-Überregulierung oder Reduzierung der Membranpermeabilität oder beidem (Livermore 2003).

Beispiel Multiresistenz bei *Pseudomonas aeruginosa*

- Mutation in Gen *mexR* bewirkt Impermeabilität der äußeren Membran mit Resistenzen gegenüber vielen Antibiotika (z. B. Beta-Laktamen, Fluorchinolonen).
- Mehrere Multi-Drug-Effluxsysteme (Breitspektrum-Effluxpumpen), von denen zwei (MexCD-OprJ und MexEF-OprN) normalerweise reprimiert sind und erst durch Mutationen aktiviert werden, pumpen das Antibiotikum aktiv aus der Zelle.

- Effluxsysteme können mit Porin-Veränderungen korreliert sein, sodass bei verstärkter Aktivierung der Effluxsysteme gleichzeitig die Permeabilität der äußeren Membran durch Veränderung der Porine (OprD) reduziert wird und nicht mehr genug Antibiotikum in die Zelle gelangen kann. Als Folge kommt es zu einer Erhöhung der minimalen Hemmkonzentrationen (MHK), die erforderlich sind, um das Wachstum der Bakterien zu hemmen (Blair 2015, Livermore 2003).
- Veränderung bakterieller Zielstrukturen, z. B. Topoisomerase und DNA-Gyrase
- Bildung diverser Beta-Laktamasen

Bakterielle Resistenzentwicklung durch horizontalen Gentransfer (HZG)

Bakterielle Resistenzgene liegen häufig in einer mobilen Form vor und werden mittels eines Vektors (Bakteriophagen oder Plasmide) übertragen. Bei der Konjugation von Bakterien kann es – unabhängig von Vermehrungsvorgängen – zu einer Übertragung von Erbgut zwischen Individuen der gleichen Spezies oder auch verschiedener Spezies kommen. Dabei wird ein zuvor repliziertes Plasmid auf eine Empfängerzelle übertragen. Neben der Übertragung von Plasmiden können auch lineare DNA-Fragmente zwischen Bakterienzellen ausgetauscht werden. Damit es im Rahmen dieser Prozesse zu einer stabilen genetischen Veränderung im Empfängerstamm kommen kann, muss das übertragene DNA-Fragment im Empfängerstamm im Chromosom oder Plasmiden integriert werden. Spezielle Formen solcher linearen DNA-Fragmente stellen Transposons und Integrons dar.

Transposons, mobile genetische Elemente, können Resistenzen weitergeben. Bakterielle Transposons sind DNA-Abschnitte, die ihren Ort auf dem zellulären Genom wechseln können und häufig Gene enthalten, die eine Antibiotikaresistenz vermitteln. Sie können vom Bakterienchromosom auch auf Plasmide übertragen werden und auf diese Weise die Entstehung neuer Resistenzplasmide ermöglichen. Sie können auch umgekehrt von Plasmiden auf das Chromosom

Beispiel Cephalosporine (Gr. 3) – Resistenz bei *Enterobacter*, *Citrobacter* u. a.:

- Dereprimierte Mutanten mit Hyperproduktion von AmpC-Beta-Laktamasen führen zur Hydrolyse der o. g. Antibiotika.

wechseln oder innerhalb des Chromosoms ihre Position verändern. Transposons tragen zur Verbreitung von Resistenzen bei, weil einerseits stille chromosomale Gene aktiviert werden können, andererseits auch Plasmide mit Multiresistenzen entstehen. Diese Resistenzplasmide können wiederum durch Gentransfer auf anderen Bakterien übertragen werden (Abb. 4) (Blair et al. 2015, Livermore 2003, Sheppard et al. 2016).

Integrons sind weit verbreitet bei gramnegativen Bakterien und befinden sich in Plasmiden oder Transposons (Livermore 2003). Es sind kleinere bis mittelgroße Genabschnitte bei Bakterien, die in der Lage sind, DNA-Bereiche aus einem Chromosom oder einem Plasmid einzufangen und sich danach zu verselbstständigen. Damit können diese Genbereiche in andere Bakterien eingebracht werden. Integrons tragen zum sogenannten horizontalen Genpool von Bakterien bei. Hauptsächlich werden auf diese Weise Resistenzgene zwischen verschiedenen Bakterienspezies ausgetauscht. Die „eingefangenen“ Gene werden als Genkassetten bezeichnet. Integrons beinhalten Gene für einen Promotor, zur Expression der Genkassette, eine Integrase für den Einbau ins Wirtsgenom und attI- bzw. attC-Bereiche, die als Erkennungsstellen für den Einbau dienen (Abb. 4) (Sheppard et al. 2016).

Beispiele:

In Integrons häufig lokalisiert sind Gene, die die Produktion diverser Carbapenemasen (OXA, PSE, VIM und IMP) sowie viele Aminoglykosid-modifizierende Enzyme codieren (Livermore 2003).

Integrons, die bei gramnegativen Bakterien weitverbreitet sind, haben eine beängstigende Fähigkeit hinsichtlich Rekrutierung, Verbreitung und Expression von Resistenzgenen (Livermore 2003).

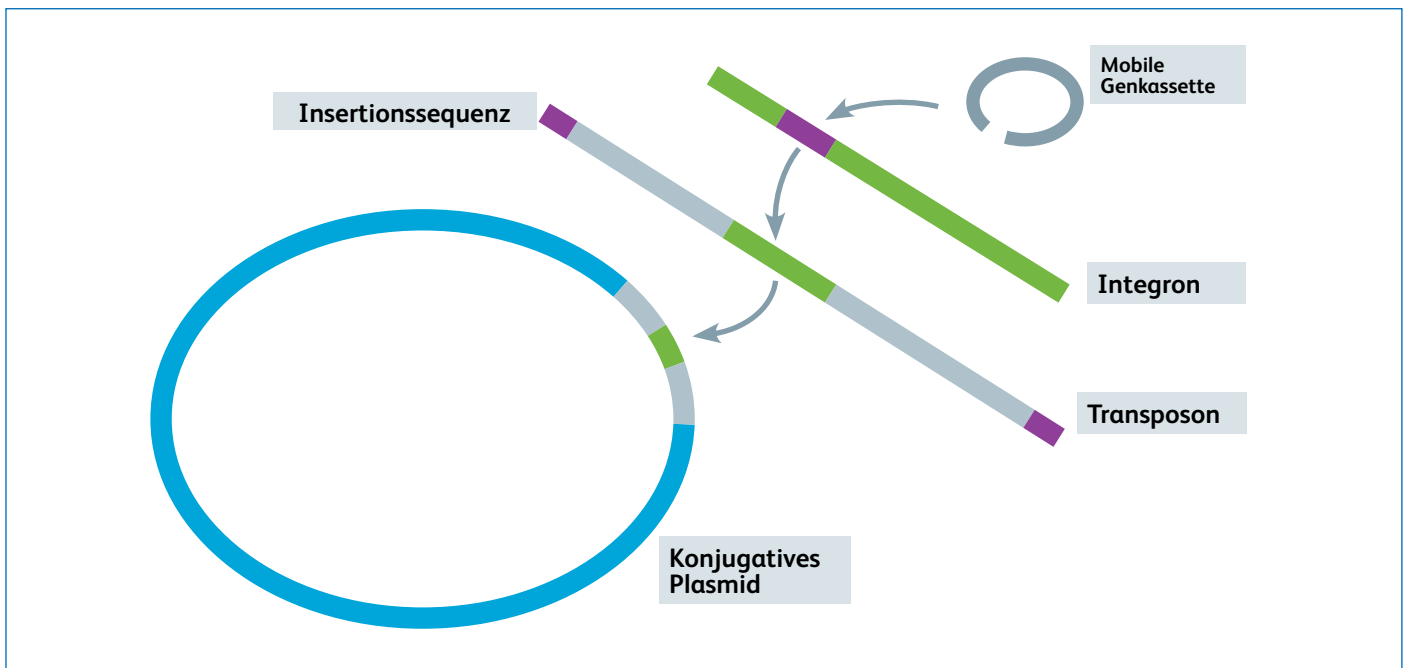


Abbildung 4: „Nestled Russian-Doll-Like“ genetische Mobilität führt zur raschen Resistenzverbreitung („Verborgene Puppe in der Puppe“) (Sheppard et al. 2016).

Man geht davon aus, dass viele Resistenzdeterminanten, die man auf Plasmiden findet, ursprünglich chromosomalen Ursprungs waren.

- Die Plasmid-codierten SHV-Beta-Laktamasen leiten sich von chromosomalen *Klebsiella-pneumoniae*-Beta-Laktamasen ab.
- Die Plasmid-codierten AmpC-Beta-Laktamasen bei *Klebsiella* spp. und *E. coli* haben chromosomalen Ursprung und sind sogenannte „chromosomal escapes“ von *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii* und *Enterobacter cloacae*.
- Viele Plasmide und Transposons tragen multiple Resistenzgene, was zur Resistenz gegenüber unterschiedlichen Antibiotika führt und eine bakterielle Multiresistenz hervorruft:
Beispiel: ESBL-bildende *Klebsiella*-Stämme sind häufiger auch resistent gegenüber Aminoglykosiden und Fluorchinolonen als Stämme ohne ESBL-Produktion.
- Die Gene für die Produktion von Extended-Spektrum-Beta-Laktamasen (ESBL) sind überwiegend Plasmid-codiert, ebenso die Aminoglykosid-modifizierenden Enzyme.

(Livermore 2003, Philippon et al. 2002).

Plasmide wie auch lineare DNA-Fragmente inklusive Transposons und Integrons können durch unterschiedliche Mechanismen transferiert werden. Hierzu zählen Konjugation, Transduktion und Transformation.

Resistenzübertragung durch Konjugation

In der Mikrobiologie versteht man unter Konjugation die Übertragung von DNA von einem Donor-Bakterium auf ein unabhängiges Bakterium (Rezipient). Neben der Übertragung innerhalb einer Bakterienart kann Plasmid-DNA auch über Speziesgrenzen hinaus übertragen werden. Das spendende Bakterium besitzt den F-Faktor, der zur Konjugation befähigt. Dieser ist entweder frei in Form eines Plasmids oder aber im Chromosom des Bakteriums lokalisiert. Die übertragenen Gene können auch Resistenzgene sein. Damit trägt die Konjugation entscheidend zur Verbreitung von Antibiotikaresistenzen unter verschiedenen Bakterien bei. Weitere Formen der Übertragung sind Transduktion und Transformation.

Charakteristika spezifischer Resistenzmechanismen

Permeabilitätsresistenz

Aufgrund der äußeren Membran gramnegativer Bakterien ist es für viele Antibiotika nicht möglich, ins Innere der Bakterienzelle zu gelangen und dort den Wirkmechanismus an den bakteriellen Zielstrukturen auszuführen. Dies ist Ursache dafür, dass einige Antibiotika nur bei grampositiven Bakterien wirksam sind, die über keine äußere Membran verfügen.

Permeabilitätsresistenz bei gramnegativen Bakterien kann primär sein oder aber durch Mutation erworben werden (Blair et al. 2015).

Beispiele

- Aktuelle Daten haben bestätigt, dass bei *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii* eine Verminderung der Porin-Expression signifikant zur Resistenz gegenüber Carbapenem- und Cephalosporin-Antibiotika beiträgt (Blair et al. 2015).
- Klinisch relevante Carbapenem-Resistenz bei *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp.) kann auch in Abwesenheit von Carbapenemasen auftreten, sofern Mutationen die Porin-Produktion reduzieren.
- Carbapeneme erhöhen den Selektionsdruck für Mutationen in Porin-Genen sowie in Genen, die für die Porin-Produktion verantwortlich sind (Blair et al. 2015, Lavigne et al. 2013, Novais et al. 2012; Tängdén et al. 2013).

Resistenzübertragung durch Transduktion

Als Transduktion bezeichnet man die Übertragung von DNA-Fragmenten zwischen zwei Bakterien, die durch eine Infektion mit Bakteriophagen vermittelt wird. Durch diesen Mechanismus können sowohl Plasmide wie auch DNA-Fragmente übertragen werden.

Resistenzübertragung durch Transformation

Als Transformation wird in der Molekularbiologie die Aufnahme von freier DNA durch Bakterien bezeichnet. Die Transformation ist neben der Transduktion und Konjugation ein weiterer Weg des Austausches von DNA zwischen Bakterien. Bakterien können beispielsweise die Informationen für Antibiotikaresistenzen bei der Transformation aufnehmen.

Resistenz durch erhöhten Efflux

- Bakterielle Effluxpumpen transportieren aktiv viele Antibiotika aus der Bakterienzelle heraus und verursachen so eine intrinsische Resistenz bei vielen gramnegativen Bakterien gegenüber Antibiotika, die bei grampositiven Bakterien wirksam sind.
- Eine durch Mutation bedingte Überproduktion bestimmter Effluxpumpen kann auch Resistenzen gegenüber Antibiotika verursachen, die zuvor noch gut wirksam waren.
- Einige Effluxpumpen haben eine hohe Substratspezifität (z. B. Tet-Effluxpumpen).
- Viele Effluxpumpen können zahlreiche, strukturell unterschiedliche Substrate verwenden und werden als „Multi-Drug-Resistance“ (MDR)-Effluxpumpen bezeichnet (Blair et al. 2015).
- Es gibt gut untersuchte Beispiele für MDR-Effluxpumpen, die in den Bakterien vorhanden sind, und ständig werden neue Systeme entdeckt und beschrieben.

Beispiele für kürzlich neu entdeckte Effluxpumpen

(Blair et al. 2015)

- MdeA in *Streptococcus mutans*
- FuaABC in *Stenotrophomonas maltophilia*
- KexD in *Klebsiella pneumoniae*
- LmrS bei *Staphylococcus aureus*

- Bakterien können auf ihrem Chromosom mehrere Gene zur Produktion von MDR-Effluxpumpen besitzen, einige davon können durch den Transfer auf Plasmide mobilisiert werden und diese Resistenz übertragen.
- Innerhalb der MDR-Effluxpumpen ist die RND-Familie (Resistance Nodulation Division Pump) bei gramnegativen Bakterien am besten untersucht.
- Bei Überproduktion verursachen RND-Effluxpumpen klinisch relevante Multiresistenz, da sie eine extrem breite Palette an unterschiedlichen Antibiotika aus der Bakterienzelle herauspumpen können (Blair et al. 2015).

Beispiele für RND*-Multiresistenz-Effluxpumpen

(Blair et al. 2015)

- AcrB in *E. coli*
- MexB in *Pseudomonas aeruginosa*
- KexD in *Klebsiella pneumoniae*

*Resistance Nodulation Division Pump

- Bakterien, die eine Überproduktion von Effluxpumpen haben, einschließlich *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus*, wurden bereits in den 90er-Jahren isoliert (Kosmidis et al. 2012).
- Effluxpumpen-Überproduktion ist ein häufiger Resistenzmechanismus bei klinischen Infektionserregern. Informationen hierzu können für die Entwicklung neuer Therapeutika genutzt werden, die die Produktion von Effluxpumpen-Proteinen verhindern.
- Die „High-Level-Expression“ von Effluxpumpen-Genen kann durch Mutationen entstehen, weiterhin kann ein Anstieg der Effluxpumpen-Produktion durch entsprechende Indikatoren ausgelöst werden (Blair et al. 2015).
- Resistenzplasmide können z.B. Gene zur Ausbildung von RND-Effluxpumpen enthalten und gleichzeitig Gene, die Metallo-Beta-Laktamasen kodieren, sodass es durch Weitergabe zur Verbreitung hochresistenter Bakterienstämme kommen kann (Blair et al. 2015).

Beispiele für die Entstehung hochresistenter Erreger

- Kürzlich wurde ein Plasmid (IncH1) eines *Citrobacter freundii*-Stammes isoliert, das neben einer RND-Multiresistenz-Effluxpumpe auch ein Gen zur Ausbildung der New-Delhi-Metallo-Beta-Laktamase 1 (NDM1) enthielt (Dolejska et al. 2013).
- Eine überaus beunruhigende Entwicklung, da diese Resistenzmechanismen übertragbar sind und sich rasch auf andere klinisch relevante Erreger ausbreiten können (Blair et al. 2015).

Resistenz durch Veränderungen der bakteriellen Zielstruktur

Die meisten Antibiotika binden mit hoher Spezifität und Affinität an ihre bakteriellen Zielstrukturen und interferieren mit deren biologischer Funktion und auf diesem Weg mit (über) lebenswichtigen Prozessen für die Bakterienzelle. Veränderungen dieser Angriffspunkte und Zielstrukturen können eine effiziente Antibiotikabindung verhindern, sodass die Funktionen der Bakterienzelle weiter ungehindert ablaufen können.

Beispiele

- **Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA):**

Die Methicillin-Resistenz ist bedingt durch die Akquisition des Staphylokokken-Kassetten-Chromosom-*mec* (SCC*mec*)-Elements. Dieses trägt das *mecA*-Gen, das das gegenüber Beta-Laktam-Antibiotika nicht empfindliche Penicillin-Binde-Protein 2a (PBP2a) kodiert. PBP2a katalysiert die für die Peptidoglykan-Synthese notwendigen Schritte, die ansonsten das ursprüngliche PBP2 durchführt. Der Aufbau der lebensnotwendigen Zellwandkomponenten kann somit auch in Gegenwart hoher Methicillin-Konzentrationen ungehindert erfolgen (Katayama et al. 2000; Kriegeskorte et al. 2014).

- **Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE)**

Die Glykopeptide Vancomycin und Teicoplanin verhindern eine effiziente Peptidoglykan-Synthese und wirken bakterizid, indem sie sich an das freie C-terminale Ende der Peptidseitenkette grampositiver Bakterien anlagern und so die enzymatische Quervernetzung des Peptidoglykans verhindern. Dadurch vermindert sich die durch das Peptidoglykan-Stützskelett hervorgerufene Festigkeit der Bakterienzelle und es kommt durch einströmende Flüssigkeit zur Zellyse. Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) können eine alternative Peptidseitenkette synthetisieren, bei der das C-terminale D Alanin durch D-Lactat oder D-Serin ersetzt wird. Anstatt durch eine Amidbindung sind die beteiligten Aminosäuren nun durch eine Esterbindung miteinander verbunden. In der Folge können zwischen der Peptidkette und dem Vancomycin-Molekül nur noch vier statt wie bisher fünf Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden.

Durch diese geringfügige Modifikation wird die Affinität des Vancomycins gegenüber der Zielstruktur um den Faktor 1000 verringert (Blair et al. 2015).

- **Fluorchinolon-Resistenz**

Fluorchinolon-Resistenz-Gene aus der *qnr*-Familie können über Plasmide auf verschiedene Erreger übertragen werden. Die *qnr*-Gene kodieren „Pentapeptid-Repeat-Proteine“ (PRPs), die die Topoisomerase IV und die

Gyrase vor den bakteriziden Angriffen der Fluorchinolone schützen. Hierdurch werden die durch Fluorchinolon-Aktion verursachten DNA-Doppelstrang-Brüche verhindert, da die Topoisomerase normal arbeiten kann (Blair et al. 2015, Vetting et al. 2011).

- **Aminoglykosid-Resistenz**

Aminoglykoside sind Proteinsynthese-Inhibitoren, die ihre Wirkung durch Bindung an das bakterielle Ribosom entfalten. Ein Mechanismus der Aminoglykosid-Resistenz beruht auf der Veränderung des Target-Ribosoms durch Methylierung. *ArmA*-Gene, die die Methyltransferase kodieren, wurden weltweit in Aminoglykosid-resistenten *Enterobacteriaceae* gefunden (Blair et al. 2015).

- **Polymyxin-Resistenz**

Die Polymyxin-Antibiotika Polymyxin B und Polymyxin E (=Colistin) sind zyklische Polypeptid-Antibiotika, deren Wirkung auf der Bindung an Lipopolysaccharid (LPS), in der äußeren Membran gramnegativer Bakterien besteht. Das seit vielen Jahren zugelassene Colistin hat in den letzten Jahren eine Renaissance zur Behandlung Carba-penem-resistenter, gramnegativer Bakterien erhalten (MDR *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii*). Resistenz wird z. B durch Veränderung der Regulatoren für die bakterielle LPS-Produktion hervorgerufen, wodurch es zu einer Veränderung der Zielstruktur mit verminderter Polymyxin-Bindung kommt. Mutationen können eine Überproduktion an *pmrC* haben, die eine Lipid-A-Modifikation (z. B Addition von Phosphoethanolamin an Lipid A bei *K. pneumoniae* und *A. baumannii*, Addition von 4-Amino-4-Deoxy-L-Arabinose bei *P. aeruginosa*) zur Folge hat. Aufgrund der vermehrten Anwendung wird zunehmend über resistente Stämme berichtet, deren Ursache nicht mehr länger nur chromosomal bedingt ist, sondern auch über Plasmide übertragen werden kann (Frieden 2016). Bei der übertragbaren Colistin-Resistenz wird die Verminderung der Empfindlichkeit durch ein neu beschriebenes Resistenzgen *mcr-1* determiniert. *mcr-1* ist auf einem Plasmid lokalisiert und somit durch den oben beschriebenen Mechanismus effizient transferierbar. *mcr-1* kodiert ein Enzym aus der Gruppe der Phosphoethanolamin-Transferasen, das Phosphoethanolamin an Lipopolysaccharide anhängt, wodurch das Bakterium unempfindlich gegenüber Colistin wird. Berichte über das vermehrte Auftreten Colistin-resistenter, zum Teil *mcr-1*-positiver Stämme (z. B *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Acinetobacter baumannii*) nehmen weltweit zu und stellen eine erhebliche Bedrohung dar (Mendelson 2016).

Resistenz durch direkte bakterielle Antibiotika-modifikation

Mittlerweile wurden tausende unterschiedliche bakterielle Enzyme identifiziert, die Antibiotika verschiedener Klassen (Beta-Laktam-Antibiotika, Aminoglykoside, Fluorchinolone u. a.) auf diverse Arten modifizieren und inaktivieren (Abb. 5):

- a:** Zeigt ein empfindliches Bakterium, dessen Zielstruktur (Target) effizient durch das Antibiotikum inhibiert wird.
- b:** Durch Akquisition und Produktion eines Enzyms, das das Antibiotikum zerstört (z.B. durch Beta-Laktamasen) wird die Bindung des Antibiotikums an seine Zielstrukturen verhindert. Es kommt zur Resistenz.
- c:** Die Akquisition und Produktion eines Enzyms, das die Struktur des Antibiotikums modifiziert (z.B. Aminoglykosid-modifizierende Enzyme) kann ebenfalls die Bindung an die Zielstruktur verhindern und Resistenz verursachen (Blair et al. 2015).

Die Enzym-katalysierte Modifikation von Antibiotika ist eine der Hauptursachen für bakterielle Resistenzen. Bereits kurze Zeit nach dem Einsatz von Penicillin in größerem Maße wurde die erste Beta-Laktamase, die sogenannte „Penicillinase“ im Jahr 1940 isoliert, die alle Penicilline ohne Beta-Laktamase-Inhibitor durch Hydrolyse des Beta-Laktam-Rings inaktivieren kann (Abraham et al. 1988).

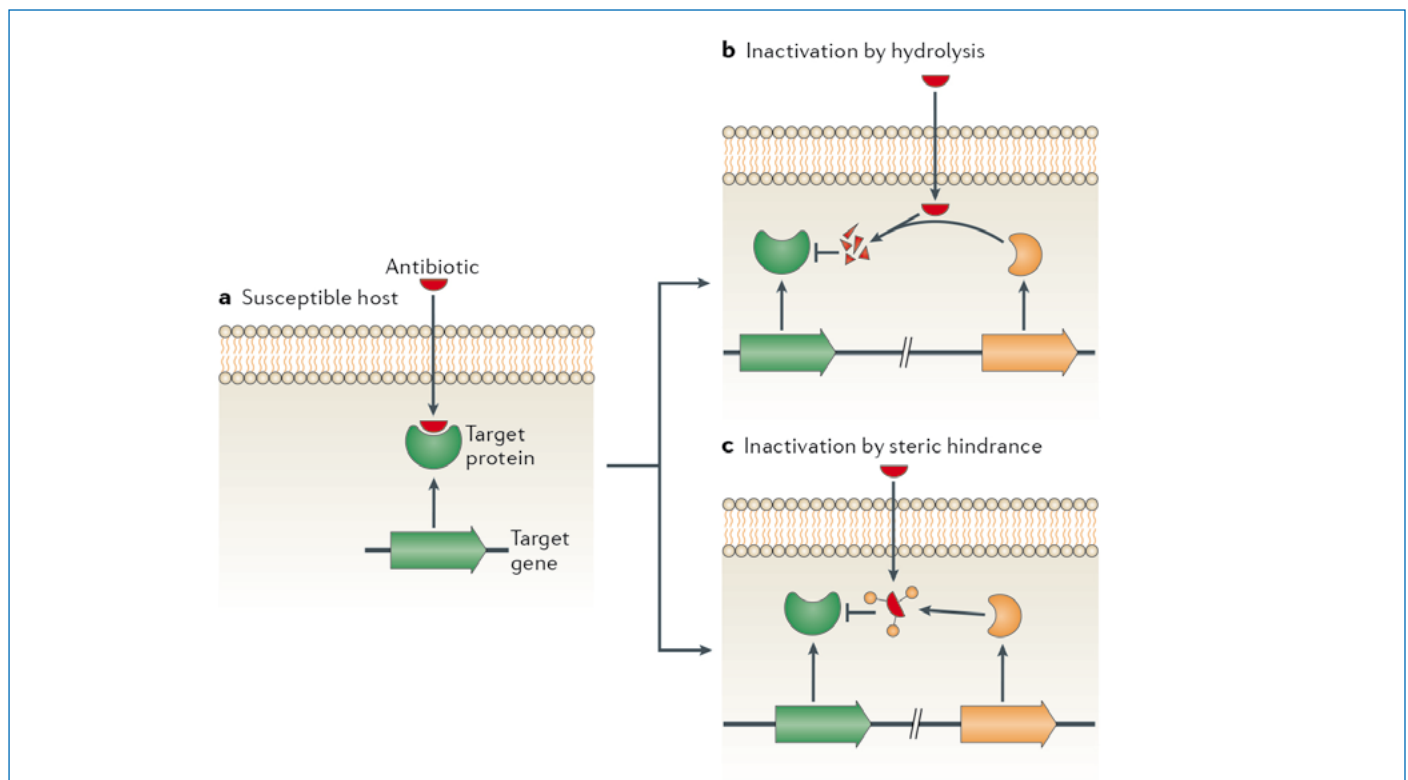


Abbildung 5: Direkte bakterielle Interaktionen bei Antibiotika-Inaktivierung durch Hydrolyse (Blair et al. 2015).

Resistenz durch Beta-Laktamasen

- Beta-Laktam-Antibiotika (Penicilline, Cephalosporine, Carbapeneme und Monobaktame) können durch eine Vielzahl an unterschiedlichen Beta-Laktamasen inaktiviert werden (siehe CME-Modul „Bakterielle Resistenzmechanismen – Grundlagen“).
- Mittlerweile sind mehr als 1300 Beta-Laktamasen bekannt, die vor allem von gramnegativen Erregern, insbesondere aus der Familie der *Enterobacteriaceae* und der Gruppe der Nonfermenter, gebildet werden (Bush 2013).
- Die Enzyme werden nach strukturellen und biochemischen Eigenschaften in unterschiedliche Klassen eingeordnet, siehe hierzu CME-Modul „Bakterielle Resistenzmechanismen – Grundlagen“ (Beta-Laktamase-Klassifikation und geeignete bzw. ungeeignete Antibiotika, Tab. 3) (Bush und Jacoby 2010, Bush 2013, 2015, 2016, Livermore 2015, Nordmann 2015, Witte et al. 2003).

Eine klinisch relevante und häufig verwendete Einteilung ist die Klassifizierung nach Ambler (Tab. 1).

Tabelle 1: Beta-Laktamase-Klassifikation nach Ambler (Ambler und Chain 1988).

Ambler-Klasse	Aktives Zentrum	Enzym-Typ	Erreger
A	Serin	Breitspektrum Beta-Laktamasen (TEM, SHV) Beta-Laktamasen mit erweitertem Spektrum (ESBL; z. B. TEM, SHV, CTX-M) Carbapenemasen (z. B. KPC, GES, SME)	<i>Enterobacteriaceae</i> und Nonfermenter (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i>)
B	Zink	Metallo-Carbapenemasen (z. B. VIM, IMP, NDM)	<i>Enterobacteriaceae</i> und Nonfermenter
C	Serin	AmpC Cephalosporinasen (AmpC) u. a.	<i>Enterobacter</i> Spezies <i>Citrobacter</i> Spezies
D	Serin	OXA-Carbapenemasen (OXA) u. a.	<i>Enterobacteriaceae</i> und Nonfermenter

Beta-Laktamasen vom ESBL-, AmpC- oder Carbapenemase-Typ bereiten in der Klinik besondere Therapieprobleme (Abb. 6) (Pfeiffer 2015).

Multiresistente Erreger (MRE) und β -Laktamase-Bildung

- **ESBL** = „extended-spectrum β -lactamase“
 - Resistenz gegen Penicilline und Cephalosporine
 - **ESBL-Gene sind zwischen gram-negativen Bakterien übertragbar**
 - Häufige Enzymvarianten sind **CTX-M-ESBL** sowie **TEM-** und **SHV-ESBL**
- **AmpC- β -Laktamasen**
 - Resistenz gegen Penicilline und Cephalosporine
 - AmpC-Gene sind z.T. zwischen gramnegativen Bakterien übertragbar
 - Häufige Plasmid-kodierte Enzymvarianten: **CMY, DHA, ACC**
- **Carbapenemasen**
 - Resistenz gegen Penicilline, Cephalosporine und Carbapeneme
 - **Carbapenemase-Gene sind zwischen gram-negativen Bakterien übertragbar**
 - Häufige Enzymvarianten: **KPC, OXA-48, VIM, NDM**

MRE: Sowohl ESBL- als auch Carbapenemase-Bildner sind neben der β -Laktamresistenz häufig auch resistent gegenüber Substanzen anderen Antibiotikaklassen (Fluorchinolone, Aminoglykoside, Sulfonamide etc.)

Abbildung 6: MRE und Beta-Laktamase-Bildung (Pfeiffer 2015).

Extended-Spectrum-Beta-Laktamasen (ESBL)

- Es gibt hunderte von CTX-M-Genvarianten, die ESBLs codieren. Diese Gene werden nach Subgruppen klassifiziert und haben ihren Ursprung von chromosomalen Genen des Bodenbakteriums *Kluyvera* sp. (Rossolini et al. 2008).
- Die Gene können über Plasmide mittels Konjugation auf verschiedenen Bakterienspezies übertragen werden.
- CTX-M-14- und CTX-M-15-Enzyme sind die weltweit und auch in Deutschland am häufigsten isolierten ESBL, insbesondere bei *E. coli* und *Klebsiella pneumoniae* (Poirel et al. 2012, Kresken et al. 2016, Zhao et al. 2013).
- CTX-M-15 ESBL-produzierende *Klebsiella pneumoniae* sind ein besonderes Problem bei nosokomialen Klinikinfektionen, wohingegen CTX-M-14-ESBL-produzierende *E. coli* vor allem bei Patienten im ambulanten Bereich isoliert werden (Blair et al. 2015).
- Plasmide, die zur IncFII-Inkompatibilitätsgruppe gehören (überwiegend bei gramnegativen Bakterien nachgewiesen) sind vor allem mit der Ausbreitung des bla_{CTX-M-15}-Gens assoziiert, bla_{CTX-M-14}-Gene findet man auf dem IncK-Plasmid pCT bei *Enterobacteriaceae*-Isolaten von Menschen, Tieren und aus der Umgebung (Blair et al. 2015).
- ESBLs vom SHV- und TEM-Genvarianten-Typ kommen seltener vor als ESBLs vom CTX-M-Typ.

Siehe hierzu auch CME-Modul „Bakterielle Resistenzmechanismen – Grundlagen“.

Carbapenemasen

Der Anstieg an *Enterobacteriaceae* mit Genen zur ESBL-Produktion führte zu einem vermehrten klinischen Einsatz an Carbapenem-Antibiotika während der letzten 10 Jahre. Als Folge stieg die Zahl an klinischen gramnegativen Bakterienisolaten an, die aufgrund ihrer genetischen Ausstattung in der Lage sind, Beta-Laktamasen zu produzieren, die auch Carbapenem-Antibiotika hydrolysieren können, die sogenannten „Carbapenemasen (Abb. 7) (Nordmann 2015, Pfeiffer 2015).

Wenngleich Carbapenemasen zunächst auf Chromosomen einzelner Spezies identifiziert wurden, sind sie heute überwiegend Plasmid-kodiert und kommen in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Acinetobacter baumannii* vor. Sie verfügen über ein hohes Übertragungspotenzial.

- Die Serin-Carbapenemase KPC wurde zuerst bei *Klebsiella pneumoniae* identifiziert und seitdem bei verschiedenen *Enterobacteriaceae* nachgewiesen.
- Das bla_{KPC}-Gen ist auf einem Tn-3-Familie-Transposon (TN4401) lokalisiert, das auf einer Vielzahl von Plasmiden vorkommt. Plasmidtypen sind IncF, IncI2, IncA/C, IncR und ColE1. Über horizontalen Gentransfer kann das bla_{KPC}-Gen auf verschiedenen Spezies übertragen werden.
- KPC-Carbapenemasen wurden weltweit am häufigsten isoliert, vor allem KPC-2 und KPC-3 (Blair et al. 2015, Frieden 2016).
- Die erstmals 2009 in Indien beschriebene NDM-Carbapenemase ist eine weltweit bei gramnegativen Erregern (*Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*) verbreitete Metallo-Beta-Laktamase (MBL), die Resistenz gegenüber allen Beta-Laktam-Antibiotika verursacht (einschließlich der neuen Beta-Laktamase-Inhibitor-Kombinationen) mit Ausnahme des Monobaktams Aztreonam. Die Verbreitung von NDM-Carbapenemasen wird durch die extreme Mobilität des bla_{NDM}-Gens untermauert. NDM-produzierende Isolate wurden mittlerweile in verschiedenen Spezies nachgewiesen. Die Gene können sowohl auf dem Bakterienchromosom als auch auf Plasmiden lokalisiert sein und mit hoher Frequenz zwischen beiden wechseln (Blair et al. 2015, Nordmann et al. 2011).
- Die Übertragungswege sind vielfältig. Bei einem Ausbruch an Infektionen durch NDM-produzierende Erreger in Chicago konnte als Ursache ein kontaminiertes Endoskop identifiziert werden (Frieden 2016)
- Infektionen mit Carbapenemase-bildenden *Enterobacteriaceae* (CRE) stellen eine besondere Bedrohung dar, da nur noch sehr wenige Antibiotika über eine gute In-vitro-Wirksamkeit verfügen (Nordmann 2016).
- Die Centers for Disease Control and Prevention (CDC) bewerten Carbapenem-resistente *Enterobacteriaceae* (CRE) als bakterielle „Nightmare“-Erreger mit höchster Bedrohungsstufe („urgent threat“), deren Häufigkeit in Kliniken und Pflegeeinrichtungen weltweit ansteigt. CRE-Infektionen sind assoziiert mit verlängerten Klinikaufenthalten, einer Expansion der Kosten sowie erhöhter Morbidität und Letalität (<https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/index.html>).

- Als „Worst Nightmare“ wird die Übertragung von MBL (IMP, VIM, SPM, SIM, FIM, siehe Abb. 7) auf *Pseudomonas-aeruginosa*-Stämme bewertet. *P. aeruginosa* kann auch Serin-Carbapenemasen (KPC und GES) akquirieren (Frieden 2016).
- Hochresistente *P.-aeruginosa*-Stämme können neben Serin-Carbapenemasen (z.B. KPC) und Metallo-Beta-

Laktamasen (z.B. NDM) auch Resistenzgene für Penetrationsresistenz (z.B. OprD2-Verlust) und Multi-Drug-Effluxpumpen besitzen sowie Veränderungen der Zielstrukturen durchführen (Frieden 2016).



Abbildung 7: Carbapenemasen, Erreger, geografische Regionen (Pfeiffer 2015).

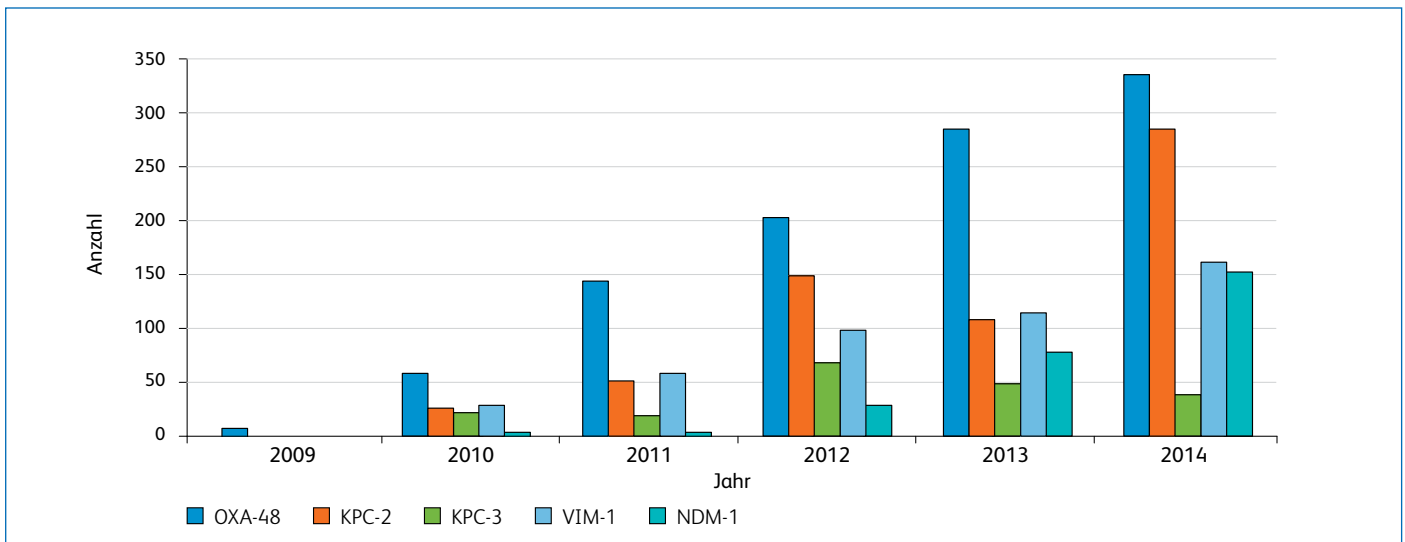


Abbildung 8: Verteilung der häufigsten in Deutschland bei *Enterobacteriaceae* isolierten Carbapenemasen in den Jahren 2009–2014 (Robert Koch-Institut, Epid Bull 2/2016).

- In Deutschland dominieren Carbapenemasen des OXA-48- und KPC-2-Typs (Abb. 8) (RKI 2016).
- Eine Studie zur molekularen Epidemiologie Carbapenemase-produzierender *E. coli* und *Klebsiella pneumoniae* (Nachweis der Carbapenemase-Bildung über PCR und phänotypische Methoden) in Deutschland ergab, dass die isolierten OXA-48-Carbapenemasen (n=14) überwiegend zu unterschiedlichen Klonen gehörten, wohingegen die Hälfte der KPC-2-produzierenden *Klebsiella pneumoniae* (n=8) dem ST11-Klon angehörten (Kaase et al. 2016).

Carbapenemase-unabhängige Carbapenem-Resistenz

Grundsätzlich kann die bakterielle Resistenz gegenüber Carbapenem-Antibiotika verschiedene Ursachen haben (Abb. 9) (Poulou et al. 2013). Je nachdem, ob nur *Enterobacteriaceae* gemeint sind oder auch andere gramnegative Erreger einbezogen werden (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*), spricht man von „CRE“ (Carbapenem-resistenten *Enterobacteriaceae*) oder „CRO“ (Carbapenem-resistenten Organismen). Sofern die Resistenz durch eine Carbapenemase verursacht wird, stellt man ein „CP“ (Carbapenemase) davor (Abb. 12) (Frieden 2016).

Carbapenem-Resistenzmechanismen

- **Efflux-Pumpen**
Aktiver Transport von antibiotischen Substanzen nach außen;
z. B. häufig bei *P. aeruginosa* (>80%)
- **Porinverlust**
Mutationen in Poringen führen zum Porinverlust (Permeabilitätsverlust)
Porine = Außenmembranproteine (OMP, outer membrane proteins)
Kommt ESBL/AmpC-Bildung hinzu → Carbapenemresistenz (ETP, MPM)
Häufig bei *Enterobacter aerogenes* (>90%), *K. pneumoniae*
- **Carbapenemase-Bildung**
Enzymatische Spaltung der Carbapeneme durch spezielle β -Laktamasen = Carbapenemasen

Abkürzungen

- CRE:** Carbapenem-resistente *Enterobacteriaceae*
- CP-CRE:** Carbapenemase-bildende Carbapenem-resistente *Enterobacteriaceae*
- CRO:** Carbapenem-resistente Organismen (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter Baumannii*)
- CP-CRO:** Carbapenemase-bildende Carbapenem-resistente Organismen (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter Baumannii*)

Abbildung 9: Carbapenem-Resistenzmechanismen/Abkürzungen (Frieden 2016, Pfeiffer 2015, Poulou 2013).

Bakterielle Antibiotika-Inaktivierung durch den Transfer chemischer Gruppen

Die Ergänzung chemischer Gruppen an Antibiotikamoleküle kann Antibiotikaresistenz verursachen, wenn dadurch eine Bindung an das bakterielle Zielprotein – z. B. durch sterische Hinderung – nicht mehr möglich ist (siehe auch Abb. 4). Es können unterschiedliche chemische Gruppen transferiert werden, einschließlich Acyl-, Phosphat-, Nukleotidyl- und Ribitol-Gruppen. Die hierbei verantwortlichen Enzyme bilden eine große, unterschiedliche Familie von Antibiotika-Resistenz-Enzymen (Blair et al. 2015).

Ausblick: Raschere mikrobiologische Diagnostik zur Resistenzerkennung und gezielter Antibiotikatherapie

Metagenomische Methoden ermöglichen die Identifizierung von Mikroorganismen unabhängig von ihrer Kultivierbarkeit und bieten ein gewaltiges Potenzial für die Identifizierung und Entwicklung neuer biotechnologischer und pharmazeutischer Produkte. Als Metagenom bezeichnet man die Gesamtheit der genetischen Information der Mikroorganismen. Die Metagenomik erfasst mit modernen molekularbiologischen Methoden die Gesamtheit des bakteriellen Genoms und kann so Informationen über vorhandene Resistenzen geben (Streit et al. 2004). Die mikrobiologischen Testergebnisse können innerhalb weniger Stunden erhalten werden, sodass bereits

Aminoglykosid-Antibiotika sind besonders anfällig für Modifikationen, wobei Aminoglykosid-modifizierende Enzyme einen hohen Resistenzgrad hervorrufen können. Es gibt drei Klassen Aminoglykosid-modifizierender Enzyme: Acetyltransferasen, Phosphotransferasen und Nukleotidyltransferasen. Diese Klassen sind evolutionsbedingt sehr unterschiedlich und variieren hinsichtlich der Aminoglykoside, die sie modifizieren können, und auch hinsichtlich des Molekülbereichs, den sie modifizieren (Norris et al. 2013).

nach kurzer Zeit eine gezielte Antibiotikatherapie möglich ist. Kosten und Komplexität der metagenomischen Sequenzierung haben den breiteren Einsatz jedoch bisher behindert (Schmidt et al. 2017).

Molekulare Testsysteme, die auf der Identifizierung bestimmter Antibiotikaresistenz-Marker beruhen, können durch raschere Diagnostik kulturelle Methoden ersetzen und durch frühzeitige gezielte Antibiotikatherapie einen Beitrag zur Reduzierung der Resistenz im Rahmen von „Antibiotic Stewardship“ ermöglichen (Hornischer et al. 2016).

Auswahlkriterien zur Therapieentscheidung

- Lokale Resistenzsituation
- Patientenspezifische Risikofaktoren
- Ergebnisse des Antibiogramms: Interpretation und Therapieentscheidung im Dialog mit dem Mikrobiologen
- Phänotypische Beurteilung (minimale Hemmkonzentration = MHK) → Bewertung „sensibel, intermediär, resistent“
- Bei genotypischer Auswertung nach Resistenzdeterminanten z. B dem Nachweis unterschiedlicher Beta-Laktamasen: Therapieentscheidung entsprechend Anhang 1; entsprechende Kombinationstherapie geeigneter Antibiotika, die sich ergänzen
- Diskussion der Problemfälle interdisziplinär mit Antibiotic-Stewardship-Team (ABS-Team) → Verbesserung der frühzeitigen adäquaten Therapie
- In der Zukunft sollten schnelle Diagnostiktests zur Verfügung stehen, die eine umfassendere gezielte Therapie ermöglichen. Heute scheidet der breite Einsatz dieser Testsysteme meist am Preis.

Literatur

- Abraham EP, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. 1940. *Rev Infect Dis* 1988;10(4):677–678
- Arcilla MS, van Hattem JM, Haverkate MR et al. Import and spread of extended-spectrum β lactamase-producing Enterobacteriaceae by international travellers (COMBAT study): a prospective, multicentre cohort study. *Lancet Infect Dis* 2017;17(1):78–85
- Blair JM, Webber MA, Baylay AJ et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol* 2015;13(1):42–51
- Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54(3):969–976
- Bush K. The ABCD's of β -lactamase nomenclature. *J Infect Chemother* 2013;19(4):549–559
- Bush K. A resurgence of β -lactamase inhibitor combinations effective against multidrug-resistant Gram-negative pathogens. *Int J Antimicrob Agents* 2015;46(5):483–493
- Bush K. Overcoming β -lactam resistance in Gram-negative pathogens. *Future Med Chem* 2016;8(9):921–924
- DART. www.bmbf.de <https://www.bmbf.de/de/antibiotikaresistenzen-274.html>
- Dolejska M, Villa L, Poirel L et al. Complete sequencing of an IncHI1 plasmid encoding the carbapenemase NDM-1, the ArmA 16S RNA methylase and a resistance-nodulation-cell division/multidrug efflux pump. *J Antimicrob Chemother* 2013;68(1):34–39
- Donowitz GR, Mandell GL. Beta-lactam antibiotics (1). *N Engl J Med* 1988;18;318(7):419–426
- Robert Koch-Institut. *Epid Bull* 2/2016. https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Archiv/2016/Ausgaben/02_16.pdf?__blob=publicationFile
- Feldmeier H. Mikrobiom: Lebenswichtiges Getümmel im Darm. In: *Pharmazeutische Zeitung online*. Ausgabe 47/2012
- Frieden T. Antibiotic resistance and where we are today. Special opening plenary session: looking back, moving forward. IDWeek Oct 26–30, 2016, New Orleans, LA, USA
- Hamprecht A, Rohde AM, Behnke M et al. Colonization with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae on hospital admission: prevalence and factors. *J Antimicrob Chemother* 2016;71(10):2957–2963
- Hornischer K, Häußler S. Diagnostics and Resistance Profiling of Bacterial Pathogens. *Curr Top Microbiol Immunol* 2016;398:89–102 (<https://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/index.html>)
- Kaase M, Schimanski S, Schiller R et al. Multicentre investigation of carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in German hospitals. *Int J Med Microbiol* 2016;306(6):415–420
- Katayama Y, Ito T, Hiramatsu K. A New Class of Genetic Element, *Staphylococcus* Cassette Chromosome *mec*, Encodes Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44(6):1549–1555
- Kosmidis C, Schindler BD, Jacinto PL et al. Expression of multidrug resistance efflux pump genes in clinical and environmental isolates of *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents* 2012;40(3):204–209
- Kresken M, Körber-Irrgang B, Hafner D et al. Prevalence of multidrug resistance among bacterial pathogens obtained from patients in hospitals and the role of tigecycline: results of the PEG 2013 study. ECCMID 2016, Amsterdam NL, P0326
- Kriegeskorte A, Idelevich EA, Layer F et al. Detection of *mecC*-positive, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates. 24th ECCMID, Barcelona, 10–13 May 2014, P0350
- Lavigne JP, Sotto A, Nicolas-Chanoine MH et al. An adaptive response of *Enterobacter aerogenes* to imipenem: regulation of porin balance in clinical isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2013;41(2):130–136
- Lin J, Nishino K, Roberts MC et al. Mechanisms of antibiotic resistance. *Front Microbiol* 2015;6:34

- Livermore DM. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. *Clin Infect Dis* 2003;36(Suppl1):S11–S23
- Livermore D. Which role and indications for new beta-lactams and beta-lactamase inhibitor-combinations? 25th ECCMID, Copenhagen, DK, April 25–28, 2015, S004
- Mendelson M. Perspective from Africa. *IDWeek* Oct 26–30, 2016, New Orleans, LA, USA, Symposium, 884: global perspective on antimicrobial resistance
- Nordmann P, Poirel L, Walsh TR et al. The emerging NDM carbapenemases. *Trends Microbiol* 2011;19(12):588–595
- Nordmann P. Emerging antibiotic resistance in Gram-negatives. *Antimicrobial Research Award and Lectures. ICAAC 2015*
- Nordmann P. Epidemiology of multi/extreme drug resistance in Enterobacteriaceae. *ECCMID 2016, S204*
- Norris AL, Serpersu EH. Ligand promiscuity through the eyes of aminoglycoside N3 acetyltransferase IIa. *Protein Sci* 2013;22(7):916–928
- Novais A, Rodrigues C, Branquinho R et al. Spread of an OmpK36-modified ST15 *Klebsiella pneumoniae* variant during an outbreak involving multiple carbapenem-resistant Enterobacteriaceae species and clones. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31(11):3057–3063
- Olaitan AO, Rolain JM. Ancient resistome. *Microbiol Spectr* 2016;4(4). doi:10.1128
- Perron GG, Whyte L, Turnbaugh PJ et al. Functional characterization of bacteria isolated from ancient arctic soil exposes diverse resistance mechanisms to modern antibiotics. *PLoS One* 2015;10(3):e0069533
- Pfeiffer Y, Robert Koch-Institut. ESBL-, AmpC- und Carbapenemase-bildende Keime beim Menschen. *BfR Symposium, Berlin 2015*
- Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002;46(1):1–11
- Poirel L, Bonnin RA, Nordmann P. Genetic support and diversity of acquired extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative rods. *Infect Genet Evol* 2012;12(5):883–893
- Poulou A, Voulgari E, Vrioni G et al. Outbreak caused by an ertapenem-resistant, CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* sequence type 101 clone carrying an OmpK36 porin variant. *J Clin Microbiol* 2013;51(10):3176–3182
- Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum β lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(Suppl 1):33–41
- Ruppé E, Armand-Lefèvre L, Estellat C et al. High rate of acquisition but short duration of carriage of multidrug-resistant Enterobacteriaceae after travel to the tropics. *Clin Infect Dis* 2015;61(4):593–600
- Schmidt K, Mwaigwisya S, Crossman LC et al. Identification of bacterial pathogens and antimicrobial resistance directly from clinical urines by nanopore-based metagenomic sequencing. *J Antimicrob Chemother* 2017;72(1):104–114
- Sheppard AE, Stoesser N, Wilson DJ et al. Nested Russian doll-like genetic mobility drives rapid dissemination of the carbapenem resistance gene blaKPC. *Antimicrob Agents Chemother* 2016;60(6):3767–3778
- Streit WR, Schmitz RA. Metagenomics – the key to the uncultured microbes. *Curr Opin Microbiol* 2004;7(5):492–498
- Tängdén T, Adler M, Cars O et al. Frequent emergence of porin-deficient subpopulations with reduced carbapenem susceptibility in ESBL-producing *Escherichia coli* during exposure to ertapenem in an in vitro pharmacokinetic model. *J Antimicrob Chemother* 2013;68(6):1319–1326
- Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am J Med* 2006;119(Suppl1):S3–S10
- Vetting MW, Hegde SS, Wang M et al. Structure of QnrB1, a plasmid-mediated fluoroquinolone resistance factor. *J Biol Chem* 2011;286(28):25265–25273
- Witte M, Mielke M. β -Laktamasen mit breitem Wirkungsspektrum. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz* 2003;46:881–890
- <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/77009/G20-starten-internationale-Forschungsinitiative-zu-Antibiotikaresistenzen>
- Wright GD. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Adv Drug Deliv Rev* 2005;57(10):1451–1470

Wright GD. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Chem Commun* 2011;47(14):4055–4061

Zhao WH, Hu ZQ. Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria. *Crit Rev Microbiol* 2013;39(1):79–101

