

Juli 1998
Nr. 51

Der Verein «Forschung für Leben» informiert:

Ursprung und Evolution der Antibiotikaresistenz

Prof. Dr. med. Fritz Hermann Kayser

_____Impressum

Der Verein «Forschung für Leben», gegründet 1990, bezweckt die Information der Bevölkerung über die Ziele und die Bedeutung der biologisch-medizinischen Forschung. Er bringt den Nutzen, aber auch die Gefahren, die sich aus der Forschung ergeben, einfach und klar zur Sprache und baut durch Aufklärung Ängste und Misstrauen ab.

«Forschung für Leben» besteht aus gegen 200 Mitgliedern und Gönnermitgliedern. Die Einzelmitgliedschaft beträgt jährlich Fr. 50.–, die Gönnermitgliedschaft Fr. 500.–.

Bei Interesse oder für weitere Informationen kontaktieren Sie bitte die Geschäftsstelle:
Verein «Forschung für Leben»
Postfach, 8033 Zürich
Geschäftsführerin: Dr. Regula Pfister
Tel. 01 361 49 47, Fax 01 361 53 32
E-Mail: vffleben@access.ch
Internet: <http://www.access.ch/vffleben>

Ursprung und Evolution der Antibiotikaresistenz

Bedeutung der genetischen Variabilität, des natürlichen Gentransfers und gentechnologischer Methoden

___ Infektionskrankheiten gestern und heute

Infektionskrankheiten (IK) sind seit Jahrtausenden bekannt. Über ihre Ursachen haben wir aber erst seit etwas mehr als 100 Jahren genaue Kenntnisse. IK werden nicht durch giftige Ausdünstungen, die sog. Miasmen (Hippokrates, 4. Jahrhundert vor Christus) hervorgerufen – eine Vorstellung, die sich bis ins 19. Jahrhundert hielt – sondern durch «kontagiöse Agentien», die einen sehr unterschiedlichen Grad der Organisation aufweisen können. Zu diesen kontagiösen Agentien zählen infektiöse Moleküle (Prionen), Viren, Bakterien, Pilze, Protozoen und sogar primitive Tiere wie die Würmer. Vereinfachend, wenn auch nicht ganz korrekt, werden die Ursachen von Infektionskrankheiten des Menschen auch unter dem Begriff pathogene Mikroorganismen zusammengefasst.

Infektionskrankheiten traten in der Bevölkerung zu allen Zeiten häufig auf. Im Mittelalter und bis ins 19. Jahrhundert waren die grossen bakteriellen Seuchen wie Pest, Fleckfieber und Cholera sowie die Pocken (Virusinfektion) besonders gefürchtet, da sie häufig den Tod zur Folge hatten. Aber auch Infektionen, die nicht zu den Seuchen gerechnet werden, waren weit verbreitet und führten ebenfalls häufig zum Tod (= Letalität). Die Letalität der bakteriellen Pneumonie betrug 30%, die der bakteriellen Hirnhautentzündung je nach Erreger 20 bis 100%, die der Herzklappenentzündung 95%. Infektiöse Komplikationen nach chirurgischen Eingriffen wiesen eine Letalität von bis zu 50% auf. Auch heute noch zählen die IK zu den häufigsten Krankheiten des Menschen. Die meisten Infektionen sind aber entweder banaler Natur (Schnupfen) oder können durch wirksame Medikamente erfolgreich behandelt werden. Von Ausnahmen abgesehen (z.B. die HIV-Infektion, die spongiformen Enzephalopathien, verschiedene Hepatitiden) haben die IK, die früher die grossen Killer-Krankheiten waren, daher ihren Schrecken weitgehend verloren.

___ Therapie der Infektionskrankheiten

Die Medikamente, die für eine erfolgreiche Therapie von IK zum Einsatz kommen, werden als Antiinfektiva bezeichnet. Man kann ohne zu übertreiben sagen, dass Auffinden und Entwicklung der Antiinfektiva zu den grössten Errungenschaften der Medizin unseres Jahrhunderts zählen. Die wichtigste Gruppe der Antiinfektiva, die zur Therapie bakterieller Infektionen eingesetzt werden, sind die Antibiotika. Diese sind Naturstoffe, d.h. sie werden von Bakterien und Pilzen produziert, die in verschiedenen Biotopen leben, und wirken gegen Bakterien und Pilze. Die Produzenten halten sich mit diesen Produkten andere Mikroorganismen, die Konkurrenten im Lebensraum sind, vom Leib. Daneben gibt es reine Syntheseprodukte, die aus der Retorte des Chemikers stammen, z.B. die Sulfonamide. Oft werden fälschlicherweise alle Antiinfektiva als Antibiotika bezeichnet.

___ Resistenzentwicklung gegen Antibiotika: genetische Variabilität plus Selektion

Das Problem der Resistenz gegen Antibiotika ist so alt wie ihr Einsatz in der Medizin. Schon bald nach der Einführung des erstentdeckten Antibiotikums, des Penicillins (1928) fand man Bakterien, die aufgrund der Bildung eines penicillinabbauenden Enzyms, der Penicillinase, gegen Penicillin resistent geworden waren. Und mit der Einführung jedes neuen Antibiotikums konnte man die gleiche Erfahrung machen: gelegentlich rasch, manchmal erst nach längerem Gebrauch, vereinzelt aber auch bisher noch gar nicht, kam es zum Auftreten von resistenten Varianten. Die Fachleute wurden dadurch nicht überrascht. Eine grundlegende Eigenschaft lebender Zellen ist nämlich ihre Veränderlichkeit. Beruht diese auf der Änderung der Erbstruktur, spricht man von genetischer Variabilität. Natürlich weisen auch Bakterien eine genetische Variabilität auf, die zum Auftreten von Genen führen kann, die

für Resistenz verantwortlich sind. Genetische Variabilität äussert sich selten. Nur wenn die seltenen Resistenz-Varianten gegenüber den vielen empfindlichen Zellen einen Vorteil aufweisen, werden sie selektiert und nehmen schliesslich den Platz der empfindlichen Zellen ein. Der Gebrauch der Antibiotika führt nie zur Evolution von Resistenz-Genen. Die Antibiotika, die in Medizin, Veterinärmedizin und Landwirtschaft eingesetzt werden, selektieren nur die auf natürliche Weise entstandenen resistenten Varianten.

___Herkunft der Resistenz-Gene in humanpathogenen Bakterien

Fremdentwicklung

Die Resistenz-Forschung der letzten Jahre hat gezeigt, dass zahlreiche Antibiotika-Resistenzgene sich vor sehr langer Zeit, lange vor dem Einsatz von Antibiotika in der Medizin, entweder in Antibiotika-Produzenten entwickelt haben oder in Bakterien entstanden sind, die mit den Produzenten eng zusammenlebten. Gleichzeitig mit der Evolution der Antibiotika-Produktion bei den Produzenten entwickelten sich Resistenzmechanismen. Durch Re-

sistenz schützten sich die Antibiotika-Produzenten vor ihren eigenen Produkten. Weiterhin entstand Resistenz als Antwort gegen die Antibiotika bei Bakterien, die eng mit Antibiotika-Produzenten im gleichen Mikrobiotop zusammenlebten. Auf unbekannte Art und Weise sind dann diese *Resistenz-Determinanten auf «humane» Bakterien* übertragen worden, sicher ein *sehr seltenes Ereignis*.

Eigenentwicklung

Entstehen Resistenz-Gene in der Bakterienflora des Menschen selber, spricht man von Eigenentwicklung. Resistenz, die durch Eigenentwicklung entstanden ist, richtet sich zumeist gegen Antinfektiva, die keine Antibiotika sind, sondern die aus der Retorte des Chemikers stammen. Bakterienstämme, die derartige Resistenzen aufweisen, sind erst seit dem Einsatz dieser Antinfektiva in der Medizin oder Veterinärmedizin entstanden.

___Molekulare Mechanismen der genetischen Variabilität

Resistenzentwicklung kann eine Folge von seltenen, spontanen, ungerichteten Mutationen in be-

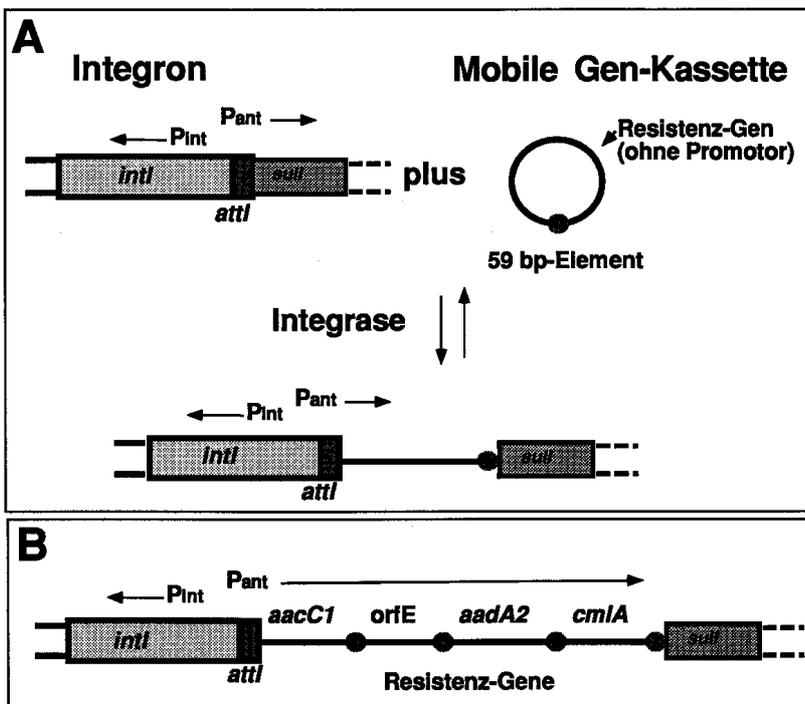


Abbildung 1: Das Integron-Konzept

A: Modell eines Integrons. Dieses stellt eine genetische Struktur dar, die die Determinanten eines ortsspezifischen Rekombinationssystems aufweist. Ein Integron ist in der Lage, Gene von mobilen Genkassetten zu fangen und zu integrieren. Ausserdem stellt es den Promotor für die Transkription der Kassettengene, die selbst keinen Promotor besitzen, zur Verfügung.

B: Modell des Resistenz-Integrons In4. Dieses weist 3 Resistenzgene sowie einen offenen Leserahmen (orfE) unbekannter Funktion auf. In4 ist durch sukzessive Integration von R-Genen am Ort att entstanden.

stimmten Genen einzelner Zellen sein, die dann selektiert werden.

Resistenz kann auch durch Rekombinationsprozesse zustande kommen, die zur Umstrukturierung der Desoxyribonukleinsäure (DNS) einer Zelle führen. Zwei Prozesse der Rekombination haben für die Resistenzentwicklung eine besondere Bedeutung.

Die Integration von mobilen Resistenz-Genkassetten in ein Integron (Abbildung 1). Als Integron wird ein genetisches Element bezeichnet, das die Determinanten eines ortsspezifischen Rekombinationssystems aufweist. Dieses ist in der Lage, Gene mobiler Kassetten durch Rekombination zwischen dem sog. 59 bp-Element und dem Locus *attI* zu integrieren. Durch sukzessive Integration von Resistenz-(R-)Genen kann es so an einer eng umschriebenen Stelle der DNS zu einer Anhäufung von R-Genen kommen.

Der andere, für eine gesteigerte Mobilität von DNS verantwortliche Mechanismus ist die Transposition (Abbildung 2). Wenn transponierbare DNS-Sequenzen Resistenz-Marker aufweisen, werden sie als Resistenz-Transposons bezeichnet. Derartige Re-

sistenz-Transposons können mit grosser Häufigkeit von einem DNS-Molekül in ein anderes transloziert werden. Man bezeichnet sie deshalb auch als *hüpfende Gene*. Auch Resistenz-Integrone können Bestandteil von transponierbarer DNS sein. Ist das der Fall, dann entsteht ein kombiniertes Mehrfachresistenz-Transposon/Integron.

Interzelluläre Mechanismen der genetischen Variabilität

Bakterien vermehren sich durch einfache Querteilung. Das gesamte Erbgut wird deshalb immer nur von einer Elternzelle auf Tochterzellen weitergegeben. Prozesse der Sexualität existieren nicht. Diese Art der Vermehrung hat enorme Nachteile für die Evolution der Bakterien. Um diese Nachteile auszugleichen, haben Bakterien Mechanismen entwickelt, die einen *unilateralen Transfer von Erbgut zwischen verschiedenen Zellen* erlauben. Diese Prozesse werden mit dem Begriff Parasexualität bezeichnet. Die bisher bekannten parasexuellen Mechanismen sind die Transformation, die Transduktion sowie die Konjugation. Bei der Trans-

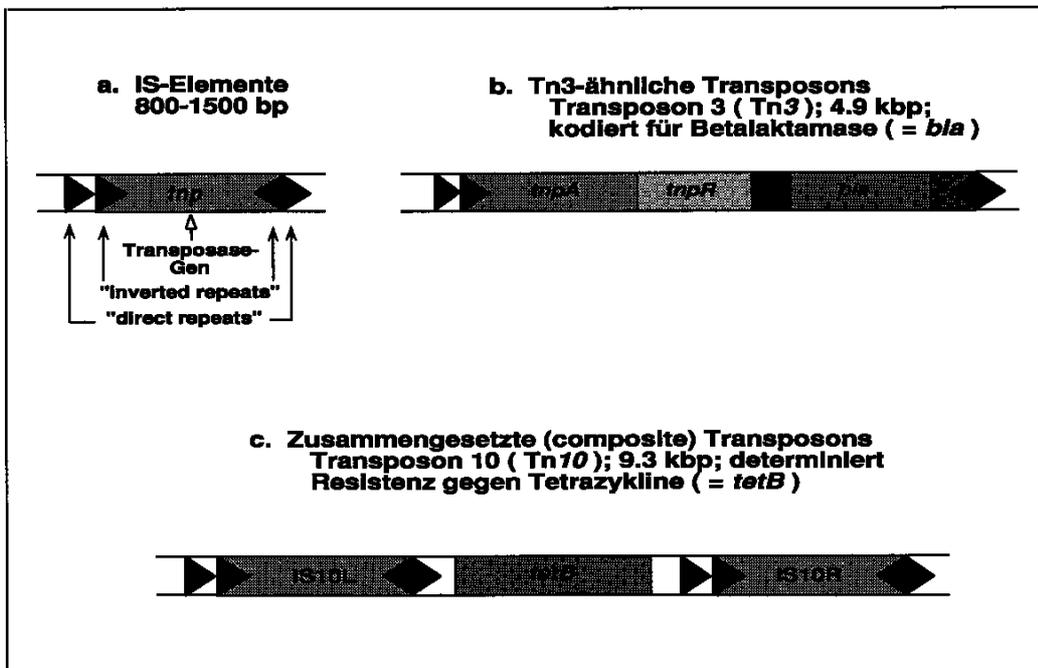


Abbildung 2: Transponierbare DNS-Elemente

a. Insertions-Sequenzen. Einfachste transponierbare DNS-Elemente.

b. Tn3-Transposons. Diese enthalten neben dem Transposase-Gen *tnp* die Regulatorsequenz *tnpR*. Tn3-Transposons werden bei der Transposition redupliziert, so dass eine Kopie am ursprünglichen Ort verbleibt, während die andere an der neuen Stelle inseriert wird.

c. Zusammengesetzte (composite) Transposons. Sie bestehen aus 2 IS-Elementen, die eine verschieden grosse, für die Transposition nicht notwendige Sequenz, z.B. ein Resistenzgen, einrahmen.

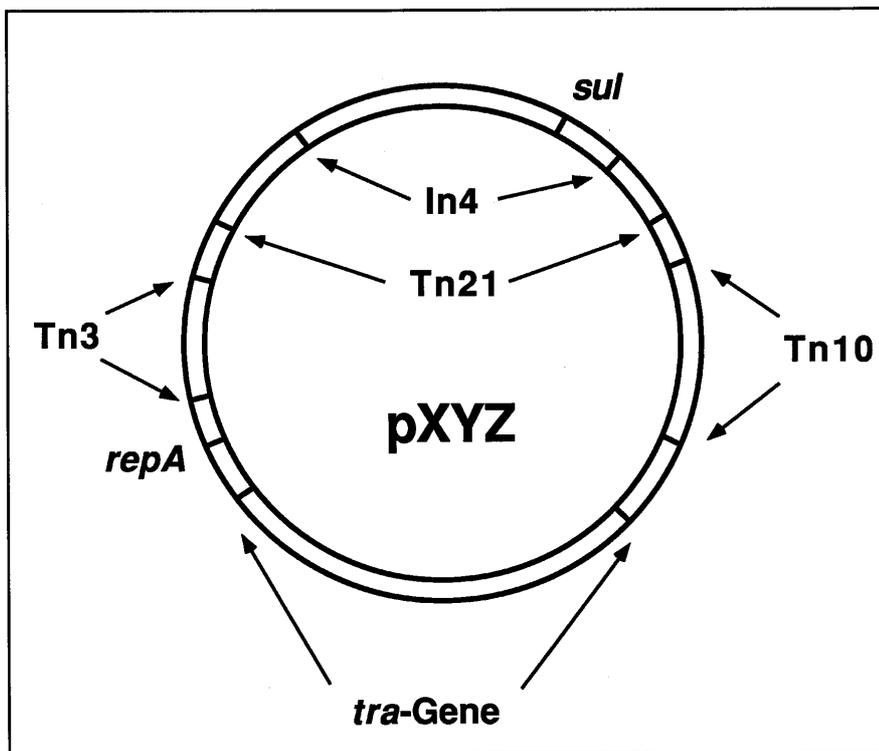


Abbildung 3: Modell eines konjugativen Mehrfachresistenz-Plasmids (= pXYZ)

Tn21 Transposon 21

In4 Integron 4. Kodiert für Resistenz gegen Sulfonamide (sul), Chloramphenicol (=cmI), Apramycin, Lividomycin, Paromomycin, Ribostamycin (= aac1), Spectinomycin, Streptomycin (= aadA2).

Tn3 Transposon 3. Kodiert für Resistenz gegen Ampicillin (= bla, Betalaktamase)

Tn10 Transposon 10. Kodiert für Resistenz gegen Tetrazykline (= tetB)

repA Kodiert für das Replikationsprotein

tra Transfer-Gene. Verantwortlich für Transfer des Plasmids vom Donor zum Rezeptor.

formation wird «nackte» DNS von einer Spender- auf eine Empfängerzelle transferiert. Bei der Transduktion übernehmen Viren der Bakterien, die *Bakteriophagen*, den Transport. Die Konjugation umfasst den Transfer von DNS über einen direkten Kontakt unter Ausbildung einer *Zytoplasmabrücke* zwischen Donor und Rezeptor.

Die Konjugation stellt die effizienteste Form der lateralen Ausbreitung von Resistenz-DNS zwischen Bakterien dar. Sie wird sehr häufig von im Zytoplasma der Bakterienzelle vorhandenen genetischen Strukturen, den sog. Plasmiden, ermöglicht. Diese tragen Gene (*tra*-Gene), die für den Transfer verantwortlich sind. Transferiert wird bei der Konjugation – von Ausnahmen abgesehen – nur das Plasmid selber. Derartige Plasmide werden konjugative Plasmide genannt. Neben den *tra*-Genen und Sequenzen, die die eigenständige Replikation des Plasmids steuern, können Plasmide noch weitere Gene tragen, zum Beispiel auch Antibiotika-Resi-

stenzgene. Derartige Plasmide werden *konjugative Resistenzplasmide* genannt (Abbildung 3). Häufig weisen konjugative Resistenzplasmide mehrere Resistenz-Marker auf. Diese sind immer entweder Teil eines Transposons (s. Resistenz-Transposon) oder integriert in ein Integron (siehe Resistenz-Integron) oder Bestandteil der kombinierten Struktur Resistenz-Integron/Resistenz-Transposon. Die *Mehrfachresistenz* resultiert aus einem der grossen Probleme der Plasmid-determinierten Resistenz: Transfer mehrerer R-Marker „en bloc“ durch Konjugation von einem Donor auf eine empfindliche Rezeptorzelle, die dadurch Resistenz gegen mehrere Antibiotika erwirbt. Das andere grosse Problem besteht darin, dass konjugative Mehrfachresistenzplasmide *nicht nur innerhalb einer Bakterienart, sondern zwischen verschiedenen Arten, Gattungen, ja sogar Familien* transferiert werden können, ein Phänomen, das auch als Promiskuität der Bakterien bezeichnet wird.

Eine Krankengeschichte mag die Problematik, die mit den konjugativen Mehrfachresistenz-Plasmiden verbunden ist, illustrieren:

Einem Patienten müssen wegen Zystenbildung beide Nieren entfernt werden. Ihm wird in der Folge eine Fremdniere transplantiert. Um die Abstossung des Fremdorgans zu verhindern, wird der Patient mit Immunsuppressiva behandelt. Da diese Behandlung seine Infektabwehr schwächt, bekommt der Patient eine schwere Allgemeininfektion (= Sepsis), verursacht durch das Bakterium *Salmonella enterica*, Serotyp *Dublin*. Anfänglich zeigt der Erreger Empfindlichkeit gegen alle Standard-Antibiotika, die zur Therapie von Salmonellosen eingesetzt werden. Der Patient wird deshalb erfolgreich mit dem Antibiotikum Ampicillin behandelt. Einige Monate nach Beendigung dieser Therapie bekommt der Patient wiederum eine Sepsis, verursacht durch denselben Erreger. Im Unterschied zum ersten Keim weist der neue jedoch Resistenz gegen 10 verschiedene Antibiotika auf, einschliesslich Resistenz gegen Ampicillin. Beide Erreger werden vergleichend untersucht und es wird festgestellt, dass der 2. Keim ein konjugatives Mehrfachresistenz-Plasmid besitzt, das beim ersten Stamm nicht vorhanden war. Das Plasmid wurde wahrscheinlich durch Colibakterien, die zur normalen Darmflora gehören, auf den Salmonellenstamm *Dublin* transferiert. Die Mehrfachresistenz bereitete bei der Therapie der Salmonellen-Sepsis erhebliche Schwierigkeiten, die aber mit neueren Antibiotika, gegen die der Keim empfindlich war, überwunden werden konnten.

___Massnahmen gegen das Resistenzproblem

Was kann gegen das Resistenzproblem getan werden? Nach dem Gesagten ist klar, dass die Entwicklung resistenter Varianten nicht verhindert werden kann. Allerdings ereignen sich alle oben geschilderten Mechanismen der genetischen Variabilität recht selten. Resistente Populationen – und nur diese können Infektionen verursachen, Einzelzellen nicht – entstehen eben nur dann, wenn die seltenen Resistenzvarianten selektioniert werden. Es gilt also, dass der *Selektionsdruck niedrig gehalten* werden muss, um das Auftreten resistenter Populatio-

nen zu verzögern. Antibiotika sollen deshalb in der Humanmedizin, in der Veterinärmedizin und auch in der Landwirtschaft nur dann eingesetzt werden, wenn es wirklich notwendig ist.

Eine weiteres Massnahmenpaket betrifft das *Auffinden und die Entwicklung „neuer“ Antibiotika*, gegen die resistente Bakterien noch keine Resistenz aufweisen. Voraussetzung dafür ist die Aufklärung der genetischen und biochemischen Grundlagen der Resistenzen gegen „alte“ Substanzen.

Vermehrt wird auch an der *Entwicklung von Impfstoffen* gegen bakterielle Erreger gearbeitet. Die Einführung der Haemophilus-Impfung Hib beim Kind hat z.B. zu einer deutlichen Reduktion schwerer Haemophilus-Infekte geführt.

Bei allen Forschungs- und Entwicklungsprojekten, die zur Lösung des Problems Antibiotikaresistenz beitragen können, ist der Einsatz gentechnologischer Methoden unerlässlich. Ohne diese Technik müsste man von vornherein die Flinte ins Korn werfen.

Verantwortlich für die Redaktion dieses Beitrages:

Prof. Dr. med. Fritz Hermann Kayser
Universität Zürich,
Institut für medizinische Mikrobiologie
Gloriastrasse 32, Postfach, 8028 Zürich
Tel. 01 634 27 00, Fax 01 634 49 06
E-Mail: Kayser@immv.unizh.ch

Nachdruck mit Quellenangabe gestattet.