

Frieder Joachim Holzapfel
Dr. med.

Experimentelle Untersuchungen zur phänotypischen und genotypischen Konstanz von *Pseudomonas aeruginosa*-Stämmen mit erhöhter Formaldehydtoleranz

Geboren am 22.07.1953 in Stuttgart
Reifeprüfung am 30.05.1975 in Kirchberg/Jagst
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1983 bis WS 1990/91
Physikum am 27.08.1985 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Karlsbad-Langensteinbach
Staatsexamen am 20.02.1991 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Hygiene
Doktorvater: Prof. Dr. med. Volker Hingst

Grundlage dieser Arbeit war die Anwendung verschiedener molekularbiologischer, genetischer und biochemischer Methoden zur Aufklärung der Resistenzeigenschaften verschiedener *Pseudomonas aeruginosa*-Stämme gegen Formaldehyd.

Durch Suspensionsversuche konnte nachgewiesen werden, daß bestimmte *Pseudomonas aeruginosa*-Isolate in Medien mit 1 % Formaldehyd über einen Zeitraum von 30 min lebensfähig sind, daß aber keiner der untersuchten Stämme eine Inkubationszeit von 60 min überlebte. In Untersuchungen zur Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration wurde festgestellt, daß für eine sichere Vermehrungshemmung der Keime bei einer Inkubationsdauer von 48 Stunden bei 37 °C Formaldehydkonzentrationen von > 0,25 % eingesetzt werden müssen.

Im Verlauf von Passageversuchen zeigte sich, daß die Überlebenschance einiger untersuchter Pseudomonaden auf Festmedien mit 0,12 % Formaldehyd gegenüber einer Flüssigkultur mit gleicher Formaldehydkonzentration erhöht war.

In Transformationsversuchen von DSM 423 mit verschiedenen formaldehydresistenten *Pseudomonas aeruginosa*-Stämmen wurde nur eine diskrete Erhöhung der ursprünglich vorhandenen Formaldehydresistenz von DSM 423 festgestellt.

Bei Austestung der verschiedenen Teststämme im Antibiogramm konnte gezeigt werden, daß eine erhöhte Formaldehydresistenz meist gemeinsam mit einer erhöhten Antibiotikaresistenz auftritt.

Zur genauen Bestimmung der Formaldehydresistenz wurde die Aktivität der GSH-abhängigen Formaldehyddehydrogenase vor und nach Vorkultivierung in formaldehydhaltigem Medium bestimmt. Dabei zeigte sich, daß durch die Vorkultivierung eine erhebliche Steigerung der Aktivität dieses Enzyms erreicht werden konnte. Dieses Ergebnis wurde aber nur bei Stämmen beobachtet, die schon vor der Vorkultivierung eine detektierbare Formaldehydresistenz besaßen. Bei Transformanden von DSM 423 konnte nach Vorkultivierung keine Steigerung der Resistenz gemessen werden.

DNA-Gelelektrophoresen der untersuchten Stämme zeigten, daß weder Antibiotikastreß, Aufzucht in einem formaldehydhaltigen Medium noch Transformationen eine Veränderung im Bandenmuster bewirken konnten.

Ein ursächlicher Zusammenhang von erhöhter Formaldehydtoleranz bei *Pseudomonas aeruginosa* durch Vermittlung von Resistenzplasmiden ist nach den Ergebnissen dieser Untersuchungen nicht nachweisbar, da die beobachtete starke Zunahme der spezifischen Aktivität der Formaldehyddehydrogenase (bei unverändertem DNA-Bandenmuster) nach Vorkultivierung mit formaldehydhaltiger Bouillon (CSL) unabhängig von der Anschaltung von Genen auf einem Plasmid erfolgen kann.

Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten daher auf einen (überwiegend ?) enzymatischen Regulationsmechanismus als Ursache für eine erhöhte Formaldehydresistenz bei *Pseudomonas aeruginosa* hin. Andere Mechanismen wie eine „Abschottung“ der Zelle durch den Verschuß von Zellkanälen und Zellporen für den Wirkstoff Formaldehyd oder die Ausbildung eines mucoiden Bakterientypus sind ebenfalls denkbar.