Katja Probst

Dr. sc. hum.

Diagnostic of carbapenemase genes and their transmission through horizontal gene transfer

Fach/ Einrichtung: Hygiene

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Klaus Heeg

Weltweit nimmt die Zahl an Carbapenemase-produzierenden Bakterien in Gesundheitseinrichtungen zu. Für schwere Infektionen mit diesen Bakterien verbleiben nur noch wenige Therapieoptionen, weshalb Infektionskontrollen und Hygienemaßnahmen essenziell sind, um der weiteren Verbreitung entgegenzuwirken. Effiziente und sensitive Screening-Methoden sind daher wichtig, um eine frühe Identifizierung von Patienten, die mit Carbapenem-resistenten Bakterien besiedelt sind, zu gewährleisten. Zudem spielen auch Kontaminationen in der Krankenhausumgebung bei nosokomialen Infektionen sowie bei Ausbrüchen eine große Rolle und sollten daher vom Screening nicht ausgeschlossen werden. Ein Hauptziel dieser Dissertation war es, eine neu entwickelte multiplex qPCR als primäre genotypische Methode zur Carbapenemase-Detektion aus Rektalabstrichen sowie aus Umgebungsproben im Vergleich zum kulturellen Verfahren zu validieren.

Die qPCR hatte eine hohe Sensitivität für die lokale Carbapenemase-Resistenzsituation und erwies sich als zuverlässige initiale Screening-Methode mit Vorteilen gegenüber dem kulturellen Verfahren. Zusätzlich zur Zeitersparnis bei der Isolation kolonisierter Patienten, entfällt die Selektion und Auswahl individueller Bakterienkolonien zur weiteren Charakterisierung, da die gesamte Komposition der Probe betrachtet wird.

Im Vergleich zur Detektion von Carbapenemasen in Rektalabstrichen, wies die qPCR bei den Umgebungsproben eine geringere analytische Empfindlichkeit auf. Daher können nur Umgebungen mit einem hohen Besiedelungsgrad zuverlässig identifiziert werden, die jedoch auch ein höheres Risiko der Verbreitung von Carbapenemase-positiven Bakterien mit sich bringen.

Carbapenemase-Gene sind meist auf Plasmiden zu finden, was die Übertragung zwischen Bakterien durch horizontalen Gentransfer erleichtert. Selektionsdruck, der während der Antibiotikatherapie auf Bakterien entsteht, steht im Verdacht den Transfer von Resistenzgenen zu fördern. Ein weiteres Ziel dieser Dissertation war es daher, die Übertragungsmöglichkeiten von *bla*_{VIM-1}-Plasmiden innerhalb der Enterobacterales zu ermitteln und den Einfluss von Antibiotika auf die Konjugation zu beurteilen.

Homologe des Plasmid-IncN2-Typs wiesen eine hohe Übertragungseffizienz auf, weshalb der Plasmid-Typ eine große Rolle zu spielen scheint. Dennoch haben auch regulatorische Gene sowie Transposons und Insertionssequenzen einen nicht zu vernachlässigenden Einfluss, wie zahlreiche Publikationen aufzeigen. Konjugation wird außerdem durch koexistierende Plasmide meist negativ beeinflusst sowie durch den Verwandtschaftsgrad von Donor und Rezipient.

Geringe Konzentrationen des Fluorochinolon-Antibiotikums Ciprofloxacin erhöhten die Übertragungsfrequenz lediglich bei den IncN2-Plasmiden sowie bei einem IncN1-Plasmid, weshalb dieser Effekt bei den getesteten *bla*_{VIM-1}-Plasmiden nicht weit verbreitet war (14,3 %). Um mehr über die genetischen Hintergründe des induzierten IncN2-Plasmidtransfers von *C. amalonaticus* KE3510 herauszufinden, wurden verschiedene potenzielle Mechanismen überprüft. Eine Überexpression der für die Konjugation verantwortlichen *tra*-Gene konnte zum getesteten Zeitpunkt nicht bestätigt werden. Da auch andere DNA-interagierende Substanzen zu einer erhöhten Konjugation führten, ist ein Einfluss der durch DNA-Schäden induzierbaren SOS-Antwort naheliegend. An dieser stressinduzierten Reaktion beteiligte Gene waren geringfügig hochreguliert, weshalb eine SOS-abhängige Mutagenese von *C. amalonaticus* KE3510 untersucht wurde. Es konnten Deletionen zweier Gene festgestellt werden, die zur Regulation der Plasmidkopienzahl benötigt werden. Ein gesteigerte Konjugationsrate aufgrund einer erhöhten Anzahl an Plasmiden konnte experimentell allerdings nicht bestätigt werden. Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass nur ein geringer Anteil an Carbapenemase-positiven Bakterien ihr Plasmid hoch effizient übertragen kann, was in Einzelfällen durch Antibiotikatherapie noch gefördert wird. Dies ist von klinischer Relevanz, da auch eine geringe Anzahl an Bakterien mit hoch-übertragbaren Plasmiden ausreichend ist, um Resistenzgene erfolgreich zu verbreiten und zur Entstehung neuer multiresistenter Bakterien beizutragen.