

Lena Marlene Hellmich

Dr. med.

Resistenzentwicklung von *Pseudomonas aeruginosa* im Kontext der Zystischen Fibrose

Fachgebiet: Hygiene

Doktorvater: Prof. Dr. med. Alexander Dalpke

Antimikrobielle Resistenzen stellen ein erhebliches globales Gesundheitsproblem dar. Aufgrund der zunehmenden Antibiotikaresistenz wurden Carbapenem-resistente *Pseudomonas aeruginosa* von der Weltgesundheitsorganisation als zweitgefährlichster Krankheitserreger in der Kategorie mit „kritischer Priorität“ für zukünftige Forschungs- und Entwicklungsinvestitionen eingestuft.

Pseudomonas aeruginosa ist eine wesentliche Ursache für nosokomiale Infektionen, insbesondere bei immungeschwächten Personen, sowie bei Personen mit Zystischer Fibrose. Chronische Atemwegsbesiedlung, Infektionen und Exazerbationen sind mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität bei Zystischer Fibrose assoziiert. Eine kontinuierliche Antibiotikabehandlung kann dazu beitragen, die Lungenfunktion aufrechtzuerhalten und das Überleben bis ins mittlere Alter zu sichern. Gleichzeitig fördert der langjährige Antibiotikaeinsatz die Entwicklung antimikrobieller Resistenzen, wodurch gängige Behandlungsoptionen zunehmend an Wirksamkeit verlieren.

Ein fundiertes Verständnis der zugrunde liegenden Mechanismen ist entscheidend für die Entwicklung neuer antimikrobieller Therapien. Neben bekannten, Carbapenem-Resistenz vermittelnden Mechanismen bleiben weitere Faktoren, die zur Ausbildung eines resistenten Phänotyps beitragen, weitestgehend unklar. So ist beispielsweise die Rolle horizontal übertragbarer Beta-Laktamasen nicht vollständig verstanden.

Ziel dieser Arbeit war es den Mechanismus des Resistenzerwerbes von *Pseudomonas aeruginosa* zu bestimmen. Dazu wurden Isolate aus Sputum Proben von sieben Personen mit Zystischer Fibrose vor und nach dem Erwerb von Resistenz gegen die vier zentralen Antibiotikaklassen (4MRGN) sequenziert. Um die Dynamik des pulmonalen Mikrobioms während der Resistenzentwicklung zu analysieren, wurde parallel die 16S rDNA der Sputum Proben sequenziert. Zudem wurden 4MRGN-Isolate von *P. aeruginosa* aus dem Sputum von Personen mit Zystischer Fibrose auf das Vorhandensein von Carbapenemase-Genen untersucht, um deren Einfluss auf die Resistenzsituation zu bewerten. Ferner wurde analysiert, inwiefern horizontaler Gentransfer von Beta-Laktamasen, insbesondere von gramnegativen Bakterien des Atemweg-Mikrobioms, zur Resistenzentwicklung von *Pseudomonas aeruginosa* im Kontext der Zystischen Fibrose beiträgt.

Angesichts der klonalen Natur der Isolate sowie des fehlenden Nachweises von Carbapenemasen und horizontalem Gentransfer scheint die Antibiotikaresistenz durch spontane Mutationen entstanden zu sein. Die Ergebnisse zeigen, dass der Resistenzentwicklung ein vielschichtiger und individueller Prozess zugrunde liegt, der maßgeblich durch Mutationen in resistenzdeterminierenden und pathoadaptiven Genen geprägt wird. Die Analyse von Basenaustauschmutationen identifizierte Mutationen in Genen, die mit Carbapenem-Resistenz assoziiert sind, darunter *oprD*, *ponA*, *pbpA*, *pbpC*, *pbpG*, *ampC*, *ampD* sowie *mexR*, *mexB*, *mexD*, *mexJ* und *mexZ*. Zusätzlich konnten pathoadaptive genetische Veränderungen identifiziert werden. Dazu zählt neben der Verbesserung der antimikrobiellen Resistenz der Verlust von Beweglichkeit und Virulenzfaktoren, die Umgestaltung regulatorischer Netzwerke und Stoffwechselwege, sowie die Bildung von Biofilmen. Auffallend häufig waren Mutationen in *PA5248*, *PA2315*, *copS*, *ndpA2*, *chpA* und anderen Genen, die mit Sekretionssystemen, der Pyoverdinin-Biosynthese, Typ IV Pili und der Biofilmbildung assoziiert sind.

Die Ergebnisse dieser Arbeit unterstreichen die zentrale Bedeutung der Biofilmbildung bei der Resistenzentwicklung von *Pseudomonas aeruginosa* und rücken sie in den Fokus neuer antipseudomonaler Behandlungsstrategien. Um gezielte antimikrobielle Therapien zu entwickeln, welche die Biofilmbildung hemmen und biofilmassoziierte Resistenzmechanismen überwinden, sind weiterführende Studien erforderlich.