

Die Resistenzentwicklung von bakteriellen Krankheitserregern durch Plasmide. Mechanismus und Methoden

G. Lebek

Institut für Hygiene und Medizinische Mikrobiologie der Universität Bern

Zusammenfassung:

Zur Charakterisierung der Besonderheit des plasmidischen Weges zur Antibiotika-Resistenz werden die natürliche und die auf Mutation im Chromosom fußende Resistenz geschildert. Sodann folgt ein Überblick über die bisher in den verschiedenen Krankheitserregern beobachteten R-Plasmide mit ihren Erscheinungsformen und Gesetzmäßigkeiten. Als weiterer Weg der Entwicklung neuer R-Plasmide wird der kürzlich aufgedeckte Mechanismus der sog. Transposons vorgestellt. Schließlich wird auf das Phänomen der Segregation als Fehlermöglichkeit bei der Resistenzbestimmung hingewiesen.

Schlüsselwörter:

Plasmidische Antibiotika-Resistenz – R-Konjugation – Segregation von Resistenzeigenschaften – Transposon.

Summary:

In order to characterize the development of plasmid mediated antibiotic resistance we also discuss the two other forms of resistance: natural resistance and resistance based on mutation in the chromosome. A summary follows on the characteristics of R-plasmids recognized in various pathogenic strains. As a new way of plasmid development the recently discovered mechanism of transposition is presented. Finally segregation as a possible source of errors of resistance testing is mentioned.

Key words:

Plasmid mediated antibiotic resistance – Conjugation – Segregation – Transposition.

Keime mit plasmidischer Antibiotikaresistenz können einige Besonderheiten aufweisen, die mit der extrachromosomalen Lokalisation der Resistenzgene zusammenhängen. Zur Vermeidung von Fehlern bei der Resistenzbestimmung ist die richtige Deutung dieser kulturell erfaßbaren Besonderheiten erforderlich. Hierzu aber gehören Kenntnisse über die Wege zur Resistenzentwicklung bakterieller Krankheitserreger.

Resistenztypen

I. Die natürliche Resistenz

Sie ist eine Lücke im Wirkungsspektrum eines Antibiotikums als Species-Eigenschaft der Keime. Beispiel: Resistenz von *Proteus mirabilis* gegen Polymyxin B und Tetracyclin. Die Eigenschaften dieser Keime sind durch genetische Mechanismen nicht verändert.

II. Die auf Mutationen im Chromosom fußende Resistenz

Sie ist das Ergebnis einer (Einschrittresistenz vom Streptomycin-Typ) oder mehrerer hintereinander erfolgenden, (Mehrschrittresistenz vom Penicillin-Typ) spontanen Mutationen in Genen, die im Bakterienchromosom lokalisiert sind.

Die Wahrscheinlichkeit solcher ungerichtet auftretender Mutationen beträgt 10^{-9} bis 10^{-11} pro Bakterienzelle (1). In einer Infektionspopulation findet sich deshalb nur eine geringe Zahl antibiotikaresistenter Keime. Wirkt nun das betreffende Antibiotikum auf diese Bakterienpopulation ein, so werden alle empfindlich gebliebenen Keime an der Vermehrung gehindert oder gar abgetötet, während sich die resistenten weiter vermehren können. So finden sich in der Population bald nur noch resistente Keime (Selektion). Natürlich ist

die selektierte Resistenz nur gegen das selektierende Antibiotikum gerichtet. Mittel mit gleichem Wirkungsmechanismus sind jedoch mitbetroffen (Kreuzresistenz), zum Beispiel die Tetracyclinderivate bzw. Sulfonamide untereinander. Damit in einer Bakterienpopulation Keime auftreten können, die gleichzeitig gegen zwei verschiedene Antibiotika resistent sind, sind wegen der geringen Wahrscheinlichkeit einer Doppelmutation Bakterienzahlen von 10^{18} bis 10^{22} notwendig, die einem Bakterienhaufen von mehr als einer Tonne entsprechen. Aus diesem Grunde kann die Selektion zur Antibiotikaresistenz mutierter Keime durch gleichzeitige Anwendung von zwei oder mehr Mitteln vermieden werden, was man sich bei der Kombinationstherapie der Tuberkulose zunutze macht. Denn die Erreger dieser Krankheit sind nur zur Entwicklung dieser Resistenzform fähig.

Bei Krankheitserregern des Menschen spielt die chromosomale Antibiotikaresistenz nur eine untergeordnete Rolle. Abgesehen von der Seltenheit solcher Mutationen sind mutierte Keime in ihrer Virulenz und Vermehrungshäufigkeit beeinträchtigt. Vor allem mehrfache Mutationen, die zum Beispiel für die Tetracyclinresistenz β -hämolyisierender Streptokokken und die Methicillinresistenz der Staphylokokken bis zum Erreichen einer therapeutisch relevanten Resistenzhöhe notwendig sind, führen gleichzeitig zur Einbuße gewisser, für das Überleben der Erreger wichtiger Eigenschaften. Deshalb besteht ein natürlicher Selektionsvorteil der nichtmutierten, sensiblen Keime über die chromosomal resistenten.

III. Die plasmidische Resistenz

Sie ist die Folge des Erwerbs bestimmter, Resistenzplasmide genannter genetischer Einheiten, welche Gene für Enzyme bzw. Proteine enthalten, die Antibiotika inaktivieren oder ihren Transport zum Wirkungsort behindern. Da die Keime dieser Resistenzform nicht mutiert sind und somit ihre biologische Unversehrtheit behalten haben, verhalten sie sich als virulente Krankheitserreger trotz ihrer Resistenzeigenschaften. Hieraus ergibt sich die medizinische Bedeutung der Keime dieser Resistenzform.

A. R-Faktor als konjugierendes oder nichtkonjugierendes Plasmid bei gramnegativen Stäbchen

1. Die bisher bekannten Determinanten

a) Der von Watanabe als RTF (resistance transfer factor) bezeichnete Komplex bewirkt die autonome Reduplikation in der Bakterienzelle, weiterhin die als Konjugation bzw. R-Infektion bezeichnete Vereinigung der R-tragenden (Spender-) Zelle mit einer Nachbarzelle, und schließlich den eigenen Transfer in dieselbe

(2, 3) (Abb. 1, 2). Für die R-Infektion ist die Bildung eines aus Protein bestehenden Anhangsgebildes Voraussetzung (4-6) (Sexualpilus), das durch Determinanten des RTF kodiert wird. Die Pili erweisen sich als Rezeptoren für bestimmte, aus RNS oder DNS bestehende Coli-Phagen (Sexphagen). Denn nach Kontakt R-tragender Colibakterien mit solchen Phagen stellten sich elektronenoptisch die Pili als lange Schläuche dar, auf denen die kugelförmigen Phagen sitzen. Sie lysieren nur solche Keime, die Pili bilden, da sie nur in diese eindringen können. Umgekehrt lassen sich Keime als Träger von R-Faktoren oder anderen konjugierenden Plasmiden dadurch erkennen, daß sie durch solche Sexphagen lysierbar sind. Es stellte sich später heraus, daß es mindestens vier verschiedene Arten solcher Sexphagen gibt, die sich spezifisch nur an Sexpili bestimmter R-Faktoren anheften. Die eine Art der Sexpili gleicht der des F-Faktors – eines konjugierenden Plasmids in Colibakterien – (und wird deshalb F-Pilus genannt), die andere der des col I-Faktors (und wird deshalb I-Pilus genannt), die dritte gehört zu

Abb. 1:

R-Infektion

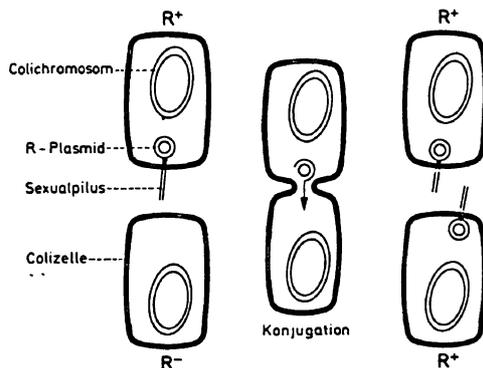
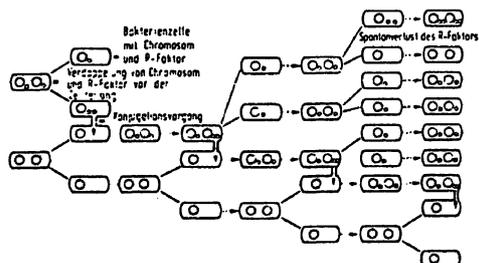


Abb. 2:

Verbreitung des R-Faktors innerhalb einer Bakterienpopulation



R-Faktoren aus *Pseudomonas*keimen (P-Gruppe genannt) (6–8) und die vierte wird durch R-Faktoren der N-Gruppe gebildet (Tab. 3).

Der RTF enthält weiterhin gewöhnlich ein Gen, welches ein Repressor (5, 6) genanntes Protein bildet, das die eigene Übertragungsfähigkeit durch Hemmung der Pili-bildung um den Faktor 100 bis 1000 reduziert. Dieses auf den ersten Blick unverständliche Gen hat eine wichtige Selektionsaufgabe, weil es als Sicherheitsventil dafür fungiert, daß nicht alle R-Faktor-tragenden Bakterien durch Sexphagen vernichtet werden können.

Der Wirtsbereich der konjugierenden R-Faktoren ist relativ weit, denn R-Infektionen können zwischen allen Spezies der Enterobacteriaceae erfolgen, außerdem zwischen den Keimen der *Yersinia*-*Pasteurella*-Gruppe, der *Aeromonaden*, der *Cholera*vibrionen und der *Pseudomonas*keime. Es gibt auch R-Faktoren, deren Wirtsbereich auf eine Keimart beschränkt ist, z. B. auf *Pseudomonas*keime. Offensichtlich sind für das Zustandekommen einer R-Infektion besondere Kompatibilitäten zwischen den Oberflächen der Partnerkeime erforderlich.

Es kommen in der Natur R-Faktoren mit defektem oder gar fehlendem RTF-Anteil vor (nichtkonjugierende Plasmide) (9), welche durch Konjugation nicht übertragbar sind. Sie können dann übertragen werden, wenn sie sich mit einem anderen extrachromosomalen Element rekombinieren, welches einen intakten Transferfaktor von der Art des RTF besitzt. Wenn sie durch Phagen transduziert werden, ist ihr Wirtsbereich sehr eng. Nicht selten erfolgt bei dieser Aktion eine Aufspaltung des Plasmids, so daß nur ein Teil der Resistenzeigenschaften gleichzeitig transduziert wird. Auch die konjugierenden R-Faktoren können transduziert werden, wodurch für sie eine zweite Transfermöglichkeit besteht.

Die Aufnahme von R-Faktoren ist in beträchtlichem Umfang auch von den sogenannten Restriktionssystemen der Empfängerkeime abhängig. Auf diesen Umstand weist das unterschiedliche Vorkommen von R-Faktoren bei den verschiedenen Enterobacteriaceae-Spezies hin. So sind besonders *Klebsiellen* und *Salmonellen* im Verhältnis zu anderen Spezies (z. B. *Colibakterien*) selten von R-Faktoren befallen. Die Bakterien besitzen Schutzmechanismen gegen das Eindringen fremder DNS. Dieser Restriktion genannte Mechanismus wird durch chromosomale Gene gebildet, welche spezielle Nukleasen codieren. Die Spezifität besteht darin, daß diese Enzyme nur bestimmte Nukleotidsequenzen der DNS angreifen. Dringt in die Bakterienzelle eine fremde DNS ein, welche eine solche Nukleotidsequenz besitzt, dann wird sie durch die Restriktionsnukleasen zerschnitten. Es hat sich nun gezeigt, daß die Restriktionssysteme der *Colibakterien* gegen R-Faktoren fast inaktiv sind. So erklärt sich auch ihre große

Verbreitung in *Colibakterien*. Im Gegensatz hierzu sind die Restriktionssysteme der *Salmonellen* außerordentlich aktiv gegen R-Faktoren. Konjugation mit *Salmonellen* findet genau so leicht wie mit *Colibakterien* statt, nur wird der eindringende R-Faktor meist zerstört (Tab. 1).

Tab. 1:

Verbreitung von R-Faktoren bei Enterobacteriaceae-Stämmen von Patienten

Spezies	Anzahl der geprüften Stämme	Anzahl von R-faktor-tragenden Stämmen	%
<i>Salmonella</i>	348	74	21,0
<i>Shigella</i>	37	32	86,5
<i>Enteritis coli</i>	183	124	67,7
<i>E. coli</i>	840	529	63,0
<i>Klebsiella</i>	349	145	41,5
<i>Aerobacter</i>	152	63	41,4
<i>Proteus</i>	330	87	26,4
Total	2239	1054	47,1

Die Beantwortung der Frage, unter welchen Bedingungen R-Infektionen erfolgen können, ist für den therapeutisch tätigen Arzt von Bedeutung. Es liegen folgende Untersuchungsergebnisse vor (10): Der Mechanismus der R-Infektion ist wenig empfindlich gegen pH-Änderungen, denn R-Infektionen können zwischen pH 5,5 und 8,0 bei einem pH-Optimum zwischen 7,0 und 8,0 erfolgen. Auch in bezug auf die erforderlichen Temperaturbedingungen stellt der Übertragungsmechanismus keine besonderen Anforderungen. R-Infektionen sind zwischen 18°C und 40°C, nicht jedoch bei 15°C und 45°C möglich. Für die R-Infektionen brauchen sich weiterhin die Keime weder zu vermehren, noch benötigen sie unter praxisnahen Bedingungen eine Energiezufuhr. Auch ist bekannt, daß R-Infektionen sehr schnell erfolgen; *in vitro* kann man beobachten, daß ein R-Faktor innerhalb von 10 sek übertragen wird. Modellversuche zur Prüfung der R-Infektionen unter praxisnahen Bedingungen bestätigen die Möglichkeit einer Übertragung im Urinsediment, auf Zellstoff nach Versprühen von Urin und in angefeuchtem Bakterienstaub. Somit können sich R-Infektionen unter Bedingungen einer Schmutz- und Schmierinfektion ergeben — ein Hinweis für die Bedeutung der Krankenhaushygiene zur Verhinderung von R-Infektionen.

b) Obwohl die *Resistenzdeterminanten* (11) sicher nur einen kleinen Teil des R-Faktors ausmachen, hat ihre Anwesenheit wegen der ausgedehnten Verwendung

der Antibiotika in Human- und Veterinärmedizin, in der Landwirtschaft und zum Teil in der Lebensmittelindustrie zu der weltweit starken Verbreitung der R-Faktoren in der Natur geführt. Es können einzelne, mehrere oder alle der genannten Resistenzdeterminanten in einem R-Faktor enthalten sein (Tab. 2).

Die durch die Determinanten verursachten Resistenzeigenschaften lassen sich auf einen der beiden Mechanismen zurückführen (12): Hemmung der Permeabilität oder enzymatische Inaktivierung des Antibiotikums. Das bekannteste Beispiel für die enzymatische Inaktivierung ist die Wirkung der β -Laktamasen, welche den β -Laktamring der Penicilline zur unwirksamen Penicillinsäure hydrolysieren. Durch die R-Faktor-gebildeten β -Laktamasen können Ampicillin, Carbenicillin und die Cephalosporin-Derivate gespalten werden. Es gibt mehrere Arten von ihnen, die gegenüber Carbenicillin und besonders gegenüber den verschiedenen Cephalosporinen unterschiedlich aktiv sind. Neben der Bildung von β -Laktamasen können R-Faktoren auch eine Diffusionshemmung für einzelne oder alle Penicilline bzw. Cephalosporine bewirken.

Der Chloramphenicol-Resistenzdeterminant ist ein Gen für eine spezifische Acetyltransferase. Zellfreie Extrakte R-bedingter Chloramphenicol-resistenter Keime wandeln in Gegenwart von Acetyl-Coenzym A das Chloramphenicol in die 3-Acetoxy- und 1,3-Diacetoxy-Derivate um, die antibakteriell unwirksam sind.

Für die Resistenz gegen die Aminoglykosid-Antibiotika (Streptomycin, Kanamycin, Neomycin, Gentamycin bzw. Tobramycin, Sisomycin, Amikacin) bilden R-Faktoren unterschiedliche Inaktivierungsenzyme: phosphorylierende, adenylierende und acetylierende Enzyme. Bisher sind in R-Faktoren neun unterschiedliche Determinanten für solche Inaktivierungsenzyme gefunden worden, die gegenüber den einzelnen Mit-

gliedern der Aminoglykosid-Antibiotika unterschiedliche Aktivitäten besitzen, so daß sich von R-Faktor zu R-Faktor unterschiedliche Kreuzresistenzen gegen diese Antibiotika ergeben. Daneben scheinen R-Faktoren auch die Permeation einzelner Aminoglykosid-Antibiotika zu hemmen.

Der Determinant für die Tetracyclinresistenz scheint ein Gen für ein Enzym zu sein, welches den intrazellulären Tetracyclintransport hemmt. Auch für die Sulfonamidresistenz wird die Wirkung eines diffusionshemmenden Proteins vermutet. Der Trimethoprim-Resistenzdeterminant dagegen codiert die Bildung einer unempfindlichen Dihydrat-Reduktase, außerdem vielleicht auch ein diffusionshemmendes Protein.

Die Resistenzhöhen der durch verschiedene R-Faktoren verursachten Resistenzeigenschaften können unterschiedlich sein, und auch derselbe R-Faktor kann in verschiedenen Spezies und sogar in verschiedenen Stämmen ein und derselben Spezies unterschiedliche Resistenzhöhen ausbilden. Von medizinischem Interesse ist die Tatsache, daß im allgemeinen die plasmidischen Resistenzeigenschaften höher liegen als die therapeutisch erreichbaren Spiegel im Serum, Gewebe und Ausscheidungsprodukt.

c) Determinanten für eine relative UV-, Hg-Ionen- und eine Colicin-Resistenz und für andere Eigenschaften (6): Von ihrem Wirkungsmechanismus ist bisher nichts bekannt. Medizinisch kann eine UV- und Hg-Ionen-Resistenz bei Krankheitserregern insofern bedeutungsvoll sein, als die zur Bekämpfung des bakteriellen Hospitalismus oft eingesetzten UV-Strahlen und die auf Quecksilberionen-Basis beruhenden Desinfektionsmittel gegen R-tragende Keime weniger wirksam werden. Es sind noch weitere Gegenwirkungen durch R-Faktoren beobachtet worden, so zum Beispiel die Fähigkeit zur Hämolyse- bzw. zur Schleimbildung und zu beson-

Tab. 2:

Bisher beobachtete R-Plasmide

Vorkommend in	Konjugativ	Resistenzdeterminanten
Enterobacteriaceae	+ oder -	G, A, S, T, C, K, Su, Trim
Staphylokokken	-	P, T, C, S, K, E, Ol, Li
Pneumokokken	-	T, C, E, Linco
Enterokokken	- oder +	T, C, S, K
Streptokokken Gruppe A, B, C	-	T, C, S, K
Haemophilus influenzae	- oder +	A, T, C, K, Trim
Neisseria gonorrhoeae	- oder +	β -Lactamase-empfindliche Penicilline
B. subtilis, pumilus u.a.	-	β -Lactamase-empfindliche Penicilline
Bacteroides-Spezies u.a.	- oder +	?

Zeichenerklärung: G = Gentamycin (u.a. Aminoglykoside); A = Ampicillin; S = Streptomycin; T = Tetracyclin; C = Chloramphenicol; K = Kanamycin; Su = Sulfonamide; Trim = Trimethoprim; P = Penicillin; E = Erythromycin; Ol = Oleandomycin; Li = Lincomycin.

deren Stoffwechselleistungen. Letztere können die bakteriologische Diagnostik erschweren. Es wird auch diskutiert, ob R-Faktoren nicht auch Gene zur Virulenz-erhöhung besitzen, wie aus verschiedenen Beobachtungen geschlossen wird (10a).

d) Determinanten für Phagenrestriktion bzw. -modifikation: Ähnlich wie die Chromosome der Bakterien können auch R-Faktoren eigene Restriktions- und Modifikationssysteme besitzen. Die medizinische Bedeutung dieser Determinanten besteht darin, daß R-Faktoren die Phagentypisierung verfälschen können, indem sie die eingedrungene Phagen-DNS zerstören und ihre Wirtskeime für diese Phagen unempfindlich machen.

B. Resistenzplasmide bei anderen Krankheitserregern

1. Staphylokokken-Plasmide

Pathogene Staphylokokken menschlicher Herkunft sind schon seit längerer Zeit selten nur gegen ein Antibiotikum, dagegen vorwiegend gegen mehrere von ihnen resistent. Eine Erklärung dafür gab der Nachweis der Staphylokokken-Plasmide (13). Wie die R-Faktoren enthalten sie Gene zur Bildung von Enzymen, die spezifisch bestimmte Antibiotika inaktivieren oder ihr Eindringen in das Bakterieninnere verhindern. So gibt es Penicillinase-Plasmide, die die Zelle zur Produktion einer β -Laktamase induzieren, die die Benzyl-Penicilline, Penicillin V, Carbenicillin und Ampicillin aufspalten und dadurch inaktivieren. Die plasmidtragende Staphylokokkenzelle entzieht sich dadurch dem Eingriff des Antibiotikums. Diese Plasmide enthalten ein Induktorsystem und bilden bei Zellkontakt mit Penicillin vermehrt Penicillinase. Bisher sind mindestens zwei solcher Plasmidarten nachgewiesen worden. Weiterhin gibt es Plasmide (11), die eine Resistenz gegen die sogenannten Makrolid-Antibiotika (Erythromycin, Oleandomycin, Spiramycin), gegen Lincomycin und Clindamycin, gegen Kanamycin, Chloramphenicol, Tetracyclin und Streptomycin bewirken. Daneben kommen noch Determinanten für eine Resistenz gegen Hg-Ionen und UV-Strahlen vor. Die Staphylokokken-Plasmide können sich im Gegensatz zu den R-Faktoren nicht so leicht durch Rekombination verbinden, jedoch nicht selten in das Bakterienchromosom integrieren. Eine Staphylokokkenzelle kann ein oder mehrere verschiedene Plasmide tragen und deshalb einzelne oder alle der genannten Resistenzeigenschaften aufweisen.

Die Häufigkeit der Penicillinase-Plasmide ist mit etwa 80% unter den Stämmen von *Staphylococcus aureus* zu schätzen. Die Tetracyclin-Resistenz findet sich unter 40%, die Erythromycinresistenz unter etwa 20% der Stämme. Hieraus ergibt sich, daß die Mehrfachresistenz unter den Staphylokokken nicht ein so großes Ausmaß

erreicht wie die R-Faktor-bedingte unter den Enterobacteriaceae.

2. Resistenz-Plasmide in anderen Kokken

In jüngster Zeit sind weitere Resistenzplasmide in anderen Kokken-Spezies nachgewiesen worden, so bei Streptokokken der Gruppen A, B, C und D. Diese nichtkonjugierenden Plasmide bilden eine Resistenz besonders gegen Tetracycline und gegen Chloramphenicol aus (14). Daneben traten jüngst auch in Gonokokken Penicillinase-Plasmide auf (15). Diese sind in einigen Staaten bereits endemisch. Deshalb muß in Kenntnis der weltweiten Reisewellen mit einer Ausbreitung solcher Plasmide gerechnet werden, worauf sich der Therapeut einstellen muß. Interessant ist der Befund, daß die bisher in diesen Keimen nachgewiesenen Penicillinase-Plasmide nicht einheitlich sind, da Gonokokken aus Ghana ein anderes Plasmid enthielten als dieselben Keime aus Asien. Die plasmidtragenden Gonokokken verursachten mannigfache Komplikationen, wie Salpingitis, Epididymitis und disseminierte Gonorrhoe.

3. Resistenz-Plasmide in *Hämophilus influenzae*

Seit Anfang 1974 sind auch Penicillinase-Plasmide in *Hämophilus influenzae* (16) nachgewiesen. Da dieser Keim neben *Neisseria meningitidis* und Pneumokokken zu den wichtigsten Meningitis-Erregern gehört, ist dieser Befund insofern zu beachten, als die bisherige Therapie mit dem Penicillinase-empfindlichen Ampicillin nicht in jedem Fall bei dieser Infektion wirksam ist.

C. Das Auftreten von Transposons

Der Nachweis neuer Resistenzplasmide in bisher plasmidfrei geglaubten Krankheitserregern hat die Frage nach der Entstehungsweise erneut aufgeworfen. Die bisher artikulierten Hypothese von der Entwicklung von Resistenzplasmiden aus Bodenbakterien ist auf die Entstehung der neuen Plasmide nicht anwendbar.

Eine Erklärungsmöglichkeit bietet der erst vor kurzem aufgedeckte Mechanismus, daß Plasmide durch Aufnahme von translozierbaren Resistenzgenen (sog. Transposons) zu R-Plasmiden werden können, oder R-Plasmide das Resistenzspektrum erweitern können. Solche Transposons besitzen die Fähigkeit, zwischen zyklischen DNS-Molekülen zu wechseln, ohne daß die komplizierten zellulären Rekombinationsmechanismen in Aktion treten müssen. So ist nachgewiesen, daß das Penicillinase-Gen der *Hämophilus*-Plasmide ein Transposon ist, welches von Klebsiellen stammt (17). Das Auftreten der Transposons läßt erwarten, daß die Entwicklung und Ausbreitung von Resistenz-Plasmiden noch nicht abgeschlossen ist. Damit wir nicht durch unbedachte Verwendung von Antibiotika therapeutisch

in eine noch schwierigere Situation gelangen, sollten Antibiotika nur dort eingesetzt werden, wo sie sinnvoll wirken, ohne zu schaden; auch die Krankenhaushygiene ist zu intensivieren, um Keimmischungen unter Antibiotika-Selektion nach Möglichkeit zu vermeiden. Antibiotika, die in der Humanmedizin therapeutisch genutzt werden, sollten in der Landwirtschaft als nutritive Zusätze zu Tierfutter nicht verwendet werden.

D. Klassifizierung von R-Faktoren (Tab. 3)

Aus epidemiologischen Gründen ist es zuweilen notwendig, die bei nosokomialen Infektionen auftretenden R-Faktoren zu klassifizieren. Dies erfolgt zunächst mit Hilfe von Sexphegen (MS_2^- , If_1^- , PRR_1^- und IKe -Phagen). Diese vermehren sich spezifisch in Keimen mit Plasmiden der Gruppen F, I, N und P. Die vier unterschiedlichen Sexpili-Arten sind für die Phagen die Rezeptoren, das heißt, Keime mit den entsprechenden Sexpili sind empfindlich gegen den dem Sexpilus-Typ zugehörigen Sexphegen. Hierdurch erfolgt die Einteilung in:

1. fi^+ -Gruppe
2. fi^- -Gruppe mit I-Pili bzw. mit anderen Pili
3. P-Gruppe
4. N-Gruppe

Innerhalb dieser Gruppen ist eine weitere Einteilung in die sogenannten Inkompatibilitätsgruppen möglich (Tab. 3). Es hat sich nämlich gezeigt, daß in einer Bakterienzelle nicht zwei Plasmide derselben Inkompatibilitätsgruppe für längere Zeit verbleiben können, während R-Faktoren unterschiedlicher Inkompatibilitätsgruppen dies sehr wohl vermögen.

Die Klassifizierung von R-Faktoren hat sich bei größeren Hospitalismusausschüben und Salmonellen- bzw. Shigellenepidemien als nützlich erwiesen (18, 19).

E. Besondere phänotypische Erscheinungen bei plasmidtragenden Keimen

Die Vermehrung von Resistenzplasmiden ist nur teilweise mit der des Chromosoms synchronisiert. Unter bestimmten Bedingungen kann die Vermehrung des Plasmids unterbleiben. Als Folge davon verschwinden gleichzeitig die vom Plasmid gebildeten Resistenzeigenschaften. Je nachdem zu welchem Zeitpunkt dieser Segregation genannte Vorgang eintritt und welchen Umfang er einnimmt, werden die zur Resistenzbestimmung herangezogenen Keime entweder die betreffenden Resistenzeigenschaften völlig verloren haben, oder nur in einem Teil der Population ausbilden. In letzterem Falle werden innerhalb des Hemmhofes in

Tab. 3:

Klassifizierung von R-Faktoren

1. Einteilung mit Hilfe von MS_2^- , If_1^- , PRR_1^- und IKe -Phagen in *E. coli*
Hierdurch identifiziert als:
 fi^+ -Gruppe
 fi^- -Gruppe, I-Pili/andere Pili
P-Plasmid
N-Plasmid
2. Feststellung der Inkompatibilitätsgruppen
 - a) innerhalb der fi^+ -Gruppe (bisher 6) in *E. coli* K_{12}
 - b) innerhalb der fi^- -Gruppe mit I-Pilus (bisher 4) in *E. coli* K_{12}
 - c) innerhalb der fi^- -Gruppe mit anderem Pilus (bisher 17) in *E. coli* K_{12}
 - d) innerhalb der P-Plasmide (bisher 8) in *Pseudomonas aeruginosa*

wechselnder Menge Kolonien auswachsen. Zum sicheren Erfassen solcher Segregationsphänomene müssen die plasmidischen Resistenzeigenschaften bekannt sein, denn nur diese können segregieren. Segregationsphänomene brauchen nicht immer das ganze R-Plasmid zu erfassen. Es kommt vor, daß nur ein Teil der Resistenzeigenschaften verschwindet, wenn z.B. Transposons aus dem R-Plasmid ausscheiden.

Neben Resistenzeigenschaften können auch die anderen plasmidisch codierten Eigenschaften segregieren, z.B. das Hämolysevermögen, die Schleimbildung, Bildung von Bacteriocinen u.a.

Welche Bedingungen fördern die Segregationsphänomene? (10)

1. Vermehrung der Keime unter ungünstigen Nährstoff- und Temperaturbedingungen, z.B. auf dem Transport im Krankheitsprodukt oder bei längerer Lagerung der Kultur bei Zimmertemperatur.
2. Vermehrung der Keime auf hemmstoffhaltigen Medien (Fuchsin und andere Anilinfarbstoffe).
3. Subkultivierung der Keime

Für die Exaktheit der Resistenzbestimmung ist nicht nur die Normierung der Keimeinsaat notwendig, sondern ebenso die Vermeidung der genannten Bedingungen. Nicht alle Keime sind gleichermaßen anfällig für eine Segregation. Bei *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonellen* und *Proteuskeimen* treten solche Phänomene besonders leicht ein (10).

Schrifttum

1. ZAEHNER, H.: *Biologie der Antibiotika*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York 1965.
2. WATANABE, T.: Infective heredity of multiple drug resistance in bacteria. *Bact. Rev.* **27**, 87 (1963).
3. WATANABE, T.: Infectious drug resistance in bacteria. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **56**, 43 (1971).
4. BRINTON, C. C., GEMSKI, P., CARNAHAN, J.: A new type of bacterial pilus genetically controlled by the fertility factor of *E. coli* K12 and its role in chromosomal transfer. *Proc. nat. Acad. Sci.* **52**, 776 (1964).
5. MEYNELL, E., MEYNELL, G. G., DATTA, N.: Phylogenetic relationships of drug resistance factors and other transmissible bacterial plasmids. *Bact. Rev.* **32**, 55 (1968).
6. MEYNELL, G. G.: *Bacterial plasmids*. MacMillan, London 1972.
7. HOLLOWAY, B. W., RICHMOND, M. H.: R-factors used for genetic studies in strains of *Pseudomonas aeruginosa* and their origin. *Genet. Res.* **21**, 103 (1973).
8. SYKES, R. B., RICHMOND, M. H.: Intergenetic transfer of a β -lactamase gene between *Pseudomonas aeruginosa* and *E. coli*. *Nature (Lond.)* **226**, 952 (1970).
9. ANDERSON, E. S., LEWIS, M. J.: Characterisation of a transfer factor associated with drug resistance in *Salmonella typhimurium*. *Nature (Lond.)* **208**, 843 (1965).
10. LEBEK, G.: Die infektiöse bakterielle Antibiotikaresistenz. Huber, Bern, Stuttgart, Wien 1969.
- 10a. LEBEK, G.: Antibiotika-Resistenz bei Salmonellen. *Bundesgesundheitsblatt* **19**, 41 (1976).
11. MITSUHASHI, S.: *Transferable drug resistance factor R*. University Park Press, Baltimore, London, Tokyo 1971.
12. BANVENISTE, R., DAVIES, J.: Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* **42**, 471 (1973).
13. NOVICK, R. P.: Extrachromosomal inheritance in bacteria. *Bact. Rev.* **33**, 210 (1969).
14. LEBEK, G.: Eigene Beobachtungen.
15. WHO, *Weekly Epidemiological Record*, Nr. 38 and 51 (1976).
16. WHO, *Weekly Epidemiological Record*, Nr. 21 (1974).
17. LAUFS, R., KAULFERS, P. M.: Molecular characterization of a plasmid specifying Ampicillin resistance and its relationship to other R-factors from *Haemophilus influenzae*. *J. Gen. Microbiol.* **103**, 277 (1977).
18. ANDERSON, E. S.: Transferable drug resistance in *Salmonella* in South and Central America. *Wkly. epidem. Rec.* **49**, 65 (1974).
19. GRINDLEY, J. N., ANDERSON, E. S.: I-Like resistance factors with the f_i^+ character. *Genet. Res.* **17**, 267 (1971).

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. med. Gerhard Lebek
Hygiene-Institut
Friedbühlstr. 51
CH-3008 Bern

