

# 3 Material

## 3.1 Mikroorganismen

Alle im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Referenzstämme stammen entweder aus der Stammsammlung des Robert Koch-Instituts (RKI), aus der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DMSZ), Braunschweig oder der American Type Culture Collection (ATCC). Weiterhin wurden uns klinische Isolate von Dr. Alouch vom Centre Hospitalier De Versailles, Les Chesnay Cedex, und von Prof. Witte und Dr. Klare vom Robert Koch-Institut in Werningerode<sup>1</sup> und von Kees Maquelin von der Erasmus Universität in Rotterdam zur Verfügung gestellt. Klinische Hefe Isolate wurden uns freundlicherweise von Fau Dr. Tintelnot, der Leiterin der Mykologie des RKI überlassen.

### 3.1.1 Bakterien

Die in Tabelle 3.1 aufgeführten *Enterococcus* Spezies waren Gegenstand einer vergleichenden phänotypischen, genotypischen und schwingungsspektroskopischen Studie (vergleiche Abschnitt 5.1).

Tabelle 3.1: Liste der verwendeten *Enterococcus* Spezies

Spezies <sup>a</sup>	Stamm	Station	Probenherkunft
<i>E. faecium</i>	1	MED	Urin
<i>E. hirae</i> <sup>b</sup>	2	MED	Urin
<i>E. hirae</i> <sup>b</sup>	3	ICU	Blutkultur
<i>E. faecalis</i>	4	MED	Urin
<i>E. faecium</i>	5	SUR	Urin
<i>E. durans</i> <sup>b</sup>	6	ICU	Lebensmittel
<i>E. durans</i> <sup>b</sup>	8	ICU	Lebensmittel
<i>E. faecalis</i>	9	PED	Träger
<i>E. faecalis</i>	10	ICU	Träger
<i>E. faecalis</i>	11	CIP	
<i>E. faecium</i>	12	CIP	
<i>E. faecalis</i>	13	CIP	
<i>E. gallinarum</i>	14	Träger	ELD
<i>E. faecium</i>	15	Träger	ELD
<i>E. casseliflavus</i>	16	Träger	ELD
<i>E. hirae</i> <sup>b</sup>	17	Träger	MED

<sup>1</sup>Nationales Referenzzentrum für Staphylokokken und Fachgebiet für nosokomiale Infektionen

### 3 Material

Fortsetzung von Tabelle 3.1

Spezies <sup>a</sup>	Stamm	Station	Probenherkunft
<i>E. faecalis</i>	18	Träger	PED
<i>E. faecium</i>	19	Lebensmittel	ICU

<sup>a</sup>Speziesidentifizierungsergebnis erfolgte mit dem API-System (BIOMERIEUX, Frankreich)

<sup>b</sup>Stämme wurden reidentifiziert

**Referenzdatenbank auf Basis von Mikrokoloniespektren** Die in Tabelle 3.2 aufgeführten GRAM-positiven und GRAM-negativen Bakterien Spezies wurden für den Aufbau einer Referenzdatenbank (vergleiche Abschnitt 5.3.2) verwendet. Bei den Stämmen handelt es sich sowohl um gut definierte klinische Isolate, als auch um Referenzstämme aus internationalen Stammsammlungen.

Tabelle 3.2: Liste der verwendeten Bakterien Spezies

Bakterien Spezies <sup>a</sup>	Anzahl der verwendeten Stämme
<i>S. aureus</i>	<b>13</b>
Coagulase negative Staphylokokken	<b>18</b>
<i>S. epidermidis</i>	6
<i>S. haemolyticus</i>	2
<i>S. hominis</i>	2
<i>S. warneri</i>	2
<i>S. capitis</i>	2
<i>S. saprophyticus</i>	2
<i>S. schleiferi</i>	2
<i>Streptococcus</i> spp.	<b>11</b>
<i>Str. salivarius</i>	3
<i>Str. pyogenes</i>	3
<i>Str. pneumoniae</i>	2
<i>Str. oralis</i>	2
<i>Str. variant</i>	1
<i>E. faecalis</i>	<b>6</b>
<i>E. gallinarum</i>	2
<i>E. casseliflavus</i>	1
<i>Enterococcus faecium</i> Gruppe	<b>9</b>
<i>E. faecium</i>	5
<i>E. hirae</i>	2
<i>E. durans</i>	2
<i>E. coli</i>	<b>10</b>
<i>E. cloacae</i>	<b>6</b>
<i>E. aerogenes</i>	<b>6</b>
<i>P. aeruginosa</i>	<b>5</b>

### 3.1.2 Vancomycin-resistente und Vancomycin-sensitive *E. faecium* Stämme

Tabelle 3.3: Liste der verwendeten VRE/VSE-Stämme aus Werningerode (Datensatz 1)

Labornamen	Stamm	Empfindlichkeit <sup>a</sup>	MHK ( µl/ml)
VRE 1	UW 786 <sup>b</sup>	R	256
VRE 2	UW 1081 <sup>c</sup>	R	128
VRE 3	UW 14681 <sup>c</sup>	R	512
VRE 4	UW 14901 <sup>c</sup>	R	512
VRE 5	UW 15271 <sup>c</sup>	R	128
VRE 6	UW 15531 <sup>c</sup>	R	512
VRE 7	UW 15561 <sup>c</sup>	R	512
VRE 8	UW 16581 <sup>c</sup>	R	256
VRE 9	UW 17151 <sup>c</sup>	R	64
VRE 10	UW 17181 <sup>c</sup>	R	64
VSE 1	UW 1152	S	≤ 1
VSE 2	UW 1156	S	≤ 1
VSE 3	UW 1216	S	≤ 1
VSE 4	UW 1223	S	≤ 1
VSE 5	UW 1320	S	≤ 1
VSE 6	UW 1371	S	≤ 1
VSE 7	UW 1421	S	≤ 1
VSE 8	UW 1422	S	≤ 1
VSE 9	UW 1483	S	≤ 1
VSE 10	UW 1717	S	≤ 1

<sup>a</sup>Empfindlichkeit gegenüber dem Glykopeptidantibiotikum Vancomycin

<sup>b</sup>bei diesem Stamm liegt ein konstitutive Glykopeptidresistenz vor

<sup>c</sup>bei diesen Stämmen liegt ein durch Glykopeptide induzierbarer VanA-Resistenzmechanismus vor

Tabelle 3.4: Liste der verwendeten VRE/VSE-Stämme aus Rotterdam (Datensatz 2)

Labornamen	Stamm	Empfindlichkeit <sup>a</sup>	MHK ( µl/ml)
VRE 11	019665-7	R	> 256
VRE 12	037326-9	R	> 256
VRE 13	011596-0	R	> 256
VRE 14	0283205	R	> 256
VRE 15	0738155	R	> 256
VRE 16	023295-21	R	> 256
VRE 17	020820-7	R	> 256
VRE 18	066561-9	R	> 256
VRE 19	029204-4	R	> 256
VRE 20	070002-3	R	> 256

### 3 Material

Fortsetzung von Tabelle 3.4

Labornamen	Stamm	Empfindlichkeit <sup>a</sup>	MHK ( µl/ml)
VSE 11	SKZ 10A III	S	1,5
VSE 12	SKZ 2B III	S	2
VSE 13	SKZ 18 III	S	3
VSE 14	SKZ 3A III	S	3
VSE 15	SKZ 21A III	S	3
VSE 16	SKZ 20 III	S	1,5
VSE 17	20 DZ III	S	2
VSE 18	SKZ 9 III	S	2
VSE 19	SKZ 14A III	S	1,5
VSE 20	19 DZ III	S	2

<sup>a</sup>Empfindlichkeit gegenüber dem Glykopeptidantibiotikum Vancomycin

#### 3.1.3 Methicillin-resistente und Methicillin-sensitive *S. aureus* Stämme

Tabelle 3.5: Liste der verwendeten MRSA/MSSA-Stämme aus Les Chesnay (Datensatz 1)

Labornamen	Stamm	Empfindlichkeit <sup>a</sup>	MHK ( µl/ml)
MRSA 1	2.2.2	R	512
MRSA 2	3.1.1	R	32
MRSA 3	1.2.5	R	64
MRSA 4	5.2.16	R	128
MRSA 5	8.2.1	R	16
MRSA 6	9.1.3	R	32
MRSA 7	1.1.3	R	512
MRSA 8	1.1.5	R	16
MRSA 9	3.1.2	R	32
MRSA 10	2.2.3	R	32
MSSA 1	7.1.9	S	1
MSSA 2	1.1.9	S	1
MSSA 3	4.4.21	S	1
MSSA 4	1.2.9	S	0,5
MSSA 5	4.5.5	S	0.5

<sup>a</sup>Empfindlichkeit gegenüber dem  $\beta$ -Lactamantibiotikum Oxacillin

Tabelle 3.6: Liste der verwendeten MRSA/MSSA-Stämme aus Werningerode (Datensatz 2)

Labornamen	Stamm	Empfindlichkeit <sup>a</sup>	MHK ( µl/ml)
MRSA 11	134/93 <sup>b</sup>	R	4
MRSA 12	994/933 <sup>b</sup>	R	4
MRSA 13	1150/933 <sup>b</sup>	R	4

Fortsetzung von Tabelle 3.6

Laborname	Stamm	Empfindlichkeit <sup>a</sup>	MHK ( µl/ml)
MRSA 14	842/963 <sup>c</sup>	R	8
MRSA 15	359/963 <sup>c</sup>	R	4
MRSA 16	792/963 <sup>c</sup>	R	4
MRSA 17	799/963 <sup>d</sup>	R	4
MRSA 18	788/963 <sup>d</sup>	R	8
MRSA 19	397/963 <sup>d</sup>	R	8
MRSA 20	600/963 <sup>d</sup>	R	8
MSSA 6	380/99	S	0,5
MSSA 7	381/99	S	0,5
MSSA 8	383/99	S	0,5
MSSA 9	384-1/99	S	0,5
MSSA 10	385/99	S	0,5
MSSA 11	386/99	S	0,5
MSSA 12	387/99	S	0,5
MSSA 13	388/99	S	0,5
MSSA 14	389/99	S	0,5
MSSA 15	391/99	S	0,5

<sup>a</sup>Empfindlichkeit gegenüber dem  $\beta$ -Lactamantibiotikum Oxacillin<sup>b</sup>überregional verbreiteter „norddeutscher“ Epidemiestamm<sup>c</sup>Vertreter des „Berliner“ Epidemiestammes mit geringen genomischen Unterschieden<sup>d</sup>MRSA mit unterschiedlichen genomischen FingerprintsTabelle 3.7: Liste der verwendeten isogenen *S. aureus* Stämme (MRSA/MSSA) aus Werningerode (Datensatz 3)

Laborname	Stamm	Empfindlichkeit <sup>a</sup>	Resistenzgenotyp
MRSA 21	1150/935 <sup>b</sup>	R	<i>mecA</i> , <i>grlA</i>
MSSA 16	PS 95	S	$\leq 1$
MRSA 22	2287/975 <sup>b</sup>	R	<i>mecA</i>
MSSA 17	PS 29	S	$\leq 1$
MRSA 23	942/975 <sup>b</sup>	R	<i>mecA</i> , <i>ermC</i> , <i>grlA</i>
MSSA 18	PS 55	S	$\leq 1$
MRSA 24	2557/975 <sup>b</sup>	R	<i>mecA</i> , <i>grlA</i>
MSSA 19	PS 94	S	$\leq 1$

<sup>a</sup>Empfindlichkeit gegenüber dem  $\beta$ -Lactamantibiotikum Oxacillin<sup>b</sup>„neu“ entstandene MRSA und ihre bisher empfindlichen natürlichen Verwandten

### 3 Material

#### 3.1.4 Hefen

Tabelle 3.8: Liste der verwendeten *Candida* Spezies

Spezies <sup>a</sup>	Stamm	Station	Probenherkunft
<i>C. albicans</i>	Kontrolle A	DSMZ	
<i>C. albicans</i>	Kontrolle C	DSMZ	
<i>C. albicans</i>	317/95	HIV	Rachenabstrich
<i>C. albicans</i>	1810/95	HIV	Rachenabstrich
<i>C. albicans</i>	48867 ST. A	ATCC	
<i>C. albicans</i>	10261 ST. B	ATCC	
<i>C. dubliniensis</i>	723/95	HIV	Rachenabstrich
<i>C. dubliniensis</i>	A450	CIP	
<i>C. dubliniensis</i>	A451	CIP	
<i>C. dubliniensis</i>	M454/97	HIV	Rachenspülwasser
<i>C. dubliniensis</i>	M487/97	HIV	Rachenspülwasser
<i>C. dubliniensis</i>	2528/94	Immunschwäche	Sputum
<i>C. tropicalis</i>	13	HIV	Rachenspülwasser
<i>C. tropicalis</i>	16	HIV	Sputum
<i>C. tropicalis</i>	32	Immunschwäche	Bronchiallavage
<i>C. tropicalis</i>	39	HIV	Sputum
<i>C. tropicalis</i>	750	ATCC	
<i>C. tropicalis</i>	66029	ATCC	
<i>C. glabrata</i>	31 I/95	HIV	Rachenspülwasser
<i>C. glabrata</i>	326 I/95	Immunschwäche	Magenbiopsie
<i>C. glabrata</i>	33371 I/94	HIV	Rachenabstrich
<i>C. glabrata</i>	242 II/95	HIV	Sputum
<i>C. glabrata</i>	66032	ATCC	
<i>C. glabrata</i>	90030	ATCC	
<i>C. kefyr</i>	146 I/96	HIV	Rachenspülwasser
<i>C. kefyr</i>	430 II/96	HIV	Rachenspülwasser
<i>C. kefyr</i>	A 367	DSMZ	
<i>C. kefyr</i>	A 410	DSMZ	
<i>C. kefyr</i>	66028	ATCC	
<i>C. krusei</i>	3	HIV	Rachenabstrich
<i>C. krusei</i>	8	HIV	Rachenabstrich
<i>C. krusei</i>	15	HIV	Bronchiallavage
<i>C. krusei</i>	30	HIV	Rachenspülwasser
<i>C. krusei</i>	47	HIV	Rachenabstrich
<i>C. krusei</i>	6258	ATCC	
<i>C. parapsilosis</i>	547/94	HIV	Rachenabstrich
<i>C. parapsilosis</i>	683/95	HIV	Rachenabstrich
<i>C. parapsilosis</i>	1074 I/94	HIV	Bronchiallavage
<i>C. parapsilosis</i>	1091/94	HIV	Rachenspülwasser
<i>C. parapsilosis</i>	2680/94	HIV	Rachenabstrich

Fortsetzung von Tabelle 3.8

Spezies <sup>a</sup>	Stamm	Station	Probenherkunft
<i>C. parapsilosis</i>	36	Immunschwäche	Sputum

<sup>a</sup>Speziesidentifizierungsergebnis erfolgte mit dem API System (BIOMERIEUX, Frankreich)

#### 3.1.4.1 Nährmedien

Für die Kultivierung der in dieser Arbeit untersuchten Mikroorganismen wurden in Abhängigkeit von den unterschiedlichen Nährstoffanforderungen der Organismen verschiedene Kulturmedien (sowohl Flüssig- als auch Festnährmedien) verwendet, die im folgenden Abschnitt aufgeführt sind.

**Flüssignährmedien** Die Nährmedien wurden mit deionisiertem Wasser angesetzt und mindestens 20 Minuten bei 121 °C und einem Druck von 1,4 bar autoklaviert. Das LB-Medium wurde ausschließlich für die Kultivierung von Bakterien und das NSDA-Medium für die Kultivierung von Hefen verwendet.

- LB-Medium:
  - 1 % Bacto-Trypdon (DIFCO 0123-01)
  - 0,5 % Bacto-Yeast-Extract
  - 1 % NaCl
  
- NSDA-Medium:
  - 2 % Dextrose
  - 1 % Neopeptone (DIFCO 0119)
  - 2 % Agar (OXOID Nr. 3)

#### Festnährmedien

- CASO-Agarplatten zur Kultivierung von Bakterien (MERCK, Darmstadt)
- SABOURAUD zur Kultivierung von Hefen 2 % Glucose-Agarplatten (MERCK, Darmstadt)

#### 3.1.5 Chemikalien

- Antibiotikasensitivitätsdisks beladen mit 5 µg Oxacillin (SANOFI Diagnostics PASTEUR, Frankreich)
- Oxacillin, Na-Salz, Monohydrat (SIGMA, Taufkirchen)

### 3 *Material*