

Literaturverzeichnis

- [1] DARNELL, J. ; LODISH, H. ; BALTIMORE, D.: Principles of cellular organization and function. In: FREEMAN, W.H. (Hrsg.) ; COMPANY (Hrsg.): *Molecular cell biology*. New York, 1986
- [2] NAUMANN, D.: Infrared spectroscopy in microbiology. In: MEYERS, R.A. (Hrsg.): *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Chichester : John Wiley & Sons, 2000, S. 102–131
- [3] SCHLEGEL, H.G.: *Allgemeine Mikrobiologie*. Bd. 7. New York : Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1992
- [4] RATLEDGE, C. ; EVANS, C.T.: Lipids and their metabolism. In: ROSE, A.H. (Hrsg.) ; HARRISON, J.S. (Hrsg.): *The Yeasts*. New York : Academic Press, 1989, S. 367–455
- [5] FARKAS, V.: Polysaccharide Metabolism. In: ROSE, A.H. (Hrsg.) ; HARRISON, J.S. (Hrsg.): *The Yeasts*. New York : Academic Press, 1989, S. 317–366
- [6] MASLOW, J.N. ; MULLIGAN, M.E. ; ARBEIT, R.D.: Molecular epidemiology: application of contemporary techniques to the typing of microorganisms. In: *Clin. Infect. Dis.* 17 (1993), S. 153–164
- [7] MADIGAN, M.T. ; MARTINKO, J.M. ; PARKER, J.: *Brock-Mikrobiologie*. Heidelberg, Berlin : Spektrum Akademischer Verlag, 2001
- [8] GRÄFE, U.: *Biochemie der Antibiotika: Struktur - Biosynthese - Wirkmechanismus*. Heidelberg, Berlin, New York : Spektrum Akademischer Verlag, 1992
- [9] BRANDIS, H. ; PULVERER, G.: *Lehrbuch der medizinischen Mikrobiologie*. Bd. 6. Stuttgart, New York : Gustav Fischer Verlag, 1988
- [10] MULLIGAN, M.E. ; KWOK, R.Y. ; CITRON, D.M. ; JOHN, J.F.Jr. ; SMITH, P.B.: Immunoblots, antimicrobial resistance, and bacteriophage typing of oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus*. In: *J. Clin. Microbiol.* 26 (1988), S. 2395–2401
- [11] PATEL, R. ; PIPER, K. E. ; ROUSE, M. S. ; STECKELBERG, J. M. ; UHL, J. R. ; KOHNER, P. ; HOPKINS, M. K. ; COCKERILL, 3rd ; KLINE, B. C.: Determination of 16S rRNA sequences of enterococci and application to species identification of nonmotile *Enterococcus gallinarum* isolates. In: *J. Clin. Microbiol.* 36 (1998), Nr. 11, S. 3399–407

- [12] DUTKA-MALEN, Silvie ; EVERS, Stefan ; COURVALIN, Patrice: Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. In: *J. Clin. Microbiol.* 33 (1995), Nr. 1, S. 24 – 27
- [13] PATEL, J.B. ; LEONARD, D.G.B. ; PAN, X. ; MUSSER, J.M. ; BERMAN, R.E. ; NACHAMKIN, I.: Sequence-based identification of Mycobacterium species using the MicroSeq 16S rDNA bacterial identification system. In: *J. Clin. Microbiol.* 38 (2000), Nr. 1, S. 246–251
- [14] BELGRADER, P. ; BENETT, W. ; HADLEY, D. ; RICHARDS, J. ; STRATTON, P. ; MARIELLA, R.J. ; MILANOVICH, F.: PCR detection of bacteria in seven minutes. In: *Science* 284 (1999), S. 449–50
- [15] RAMSAY, G.: DNA chips: state-of-the art. In: *Nature Biotechnology* 16 (1998), Nr. 1, S. 40–4
- [16] MONSTEIN, H.-J. ; QUEDNAU, M. ; SAMUELSSON, A. ; AHRNE, S. ; ISAKSSON, B. ; JONASSON, J.: Division of the genus Enterococcus into species groups using PCR-based molecular typing methods. In: *Microbiol.* 144 (1998), S. 1171–1179
- [17] WILLIAMS, D.W. ; WILSON, M.J. ; LEWIS, M.A.O.: Deoxyribonucleic acid typing methods for medically important microorganisms. In: *Br. J. Biomed. Sci.* 56 (1999), S. 56–65
- [18] OLIVE, D.M. ; BEAN, P.: Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. In: *J. Clin. Microbiol.* 37 (1999), Nr. 6, S. 1661–1669
- [19] GARCIA-MARTINEZ, J. ; ACINAS, S.G. ; ANTON, A.I. ; RODRIGUEZ-VALERA, F.: Use of the 16S-23S ribosomal genes spacer region in studies of prokaryotic diversity. In: *J. Microbiol. Methods* 36 (1999), S. 55–64
- [20] WALSH, C.: Deconstructing Vancomycin. In: *Science* 284 (1999), S. 442–443
- [21] GE, M. ; CHEN, Z. ; ONISHI, H.R. ; KOHLER, J. ; SILVER, L.L. ; KERNS, R. ; FUKUZAWA, S. ; THOMPSON, C. ; KAHNE, D.: Vancomycin derivatives that inhibit peptidoglycan biosynthesis without binding D-Ala-D-Ala. In: *Science* 284 (1999), S. 507–511
- [22] MCMANUS, M.C: Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. In: *Am. J. Health-Syst. Pharm.* 54 (1997), S. 1420–1433
- [23] RUSSELL, A.D. ; CHOPRA, I.: *Understanding antibacterial action and resistance.* 2nd. Hertfordshire : Ellis Horwood, 1996
- [24] ARTHUR, M. ; REYNOLDS, P. ; COURVALIN, P.: Glycopeptide resistance in enterococci. In: *Trends in Microbiol.* 4 (1996), Nr. 10, S. 401–407

- [25] ARTHUR, M. ; COURVALIN, P.: Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. In: *Antimicrob. Agents Chemother.* 37 (1993), Nr. 8, S. 1563–1571
- [26] ROLINSON, G.N.: Forty years of β -lactam research. In: *J. Antimicrob. Chemother.* 41 (1998), S. 589–603
- [27] TIPPER, D.J. ; STROMINGER, J.L.: Mechanism of action of penicillins: a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. In: *Proc. Nat. Acad. Sci.* 54 (1965), S. 1133–1141
- [28] BROWN, D.F. ; REYNOLDS, P.E.: Intrinsic resistance to β -lactam antibiotics in *Staphylococcus aureus*. In: *FEBS Letters* 122 (1980), S. 275–278
- [29] HARTMANN, B.J. ; TOMASZ, A.: Altered penicillin binding proteins in methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. In: *Antimicrob. Agents and Chemother.* 19 (1981), S. 726–735
- [30] HARTMAN, B.J. ; TOMASZ, A.: Expression of methicillin resistance in heterogeneous strains of *Staphylococcus aureus*. In: *Antimicrob. Agents Chemother.* 29 (1986), S. 85–92
- [31] HESSE, M. ; MEIER, H. ; ZEEH, B.: *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*. Bd. 4. Stuttgart, New York : Georg Thieme Verlag, 1991
- [32] GRIFFITHS, P.R. ; DE HASETH, J.A.: *Fourier Transform infrared spectrometry*. New York : John Wiley & Sons, 1986
- [33] GÜNZLER, H. ; BÖCK, H.: *IR-Spektroskopie*. Weinheim : Verlag Chemie, 1975
- [34] SKOOG, L.D. ; LEARY, J.J.: Raman Spectroscopy. In: *Principles of instrumental analysis* Bd. 4. Toronto, Montreal, London, Sydney, Tokyo : Saunders College Publishing, 1992, S. 296–309
- [35] RIDDLE, J.W. ; KABLER, P.W. ; KENNER, B.A. ; BORDNER, R.H. ; ROCKWOOD, S.W. ; STEVENSON, H.J.R.: Bacterial identification by infrared spectrophotometry. In: *J. Bacteriol.* 72 (1956), S. 593–603
- [36] HAYNES, W.C. ; MELVIN, E.H. ; LOCKE, J.M. ; GLASS, C.A. ; SENTI, F.R.: Certain factors affecting the infrared spectra of selected microorganisms. In: *Appl. Microbiol.* 6 (1958), S. 298–304
- [37] NORRIS, K.P.: Infrared spectroscopy and its application to microbiology. In: *J. Hyg.* 57 (1959), S. 326–345
- [38] NAUMANN, D. ; HELM, D. ; LABISCHINSKI, H.: Microbiological characterizations by FT-IR spectroscopy. In: *Nature* 351 (1991), S. 81–82

- [39] HELM, D. ; LABISCHINSKI, H. ; NAUMANN, D.: Elaboration of a procedure for identification of bacteria using Fourier-Transform IR spectral libraries: a stepwise correlation approach. In: *J. Microbiol. Methods* 14 (1991), S. 127–142
- [40] HELM, D. ; LABISCHINSKI, H. ; SCHALLEHN, G. ; NAUMANN, D.: Classification and identification of bacteria by Fourier-Transform infrared spectroscopy. In: *J. Gen. Microbiol.* 137 (1991), S. 69–79
- [41] DALTERIO, R.A. ; NELSON, W.H. ; BRITT, D. ; SPERRY, J.F. ; PURCELL, F.J.: A resonance Raman microprobe study of chromobacteria in water. In: *Appl. Spectrosc.* 40 (1986), Nr. 2, S. 271–72
- [42] DALTERIO, R.A. ; BAEK, M. ; NELSON, W.H. ; BRITT, D. ; SPERRY, J.F. ; PURCELL, F.J.: The resonance Raman microprobe detection of single bacterial cells from a chromobacterial mixture. In: *Appl. Spectrosc.* 41 (1987), Nr. 2, S. 241–44
- [43] OTTO, A. ; MROZEK, I. ; GRABHORN, H. ; AKEMANN, W.: Surface-enhanced Raman scattering. In: *J. Phys. :Condens. Matter* 4 (1992), S. 1143–1212
- [44] LI-VIEN, D. ; COLTHUP, N.B. ; FATELEY, W.G. ; GRASSELLI, J.G.: *The handbook of infrared and Raman characteristic frequencies of organic molecules*. Boston : Academic Press, 1991
- [45] NAUMANN, D.: FT-infrared and FT-Raman spectroscopy in biomedical research. In: GREMLICH, H.-U. (Hrsg.) ; YAN, B. (Hrsg.): *Infrared and Raman spectroscopy of biological materials, Practical spectroscopy series* Bd. 24. Marcel Dekker, 2000, S. 323–377
- [46] COLTHUP, N.B. ; DALY, L.H. ; WIBERLEY, S.E.: *Introduction to infrared and Raman spectroscopy*. 3rd. San Diego, California : Academic Press, Inc., 1990
- [47] DIEM, M. ; BOYDSTON-WHITE, S. ; CHIRIBOGA, L.: Infrared spectroscopy of cells and tissues: shining light onto a novel subject. In: *Appl. Spectrosc.* 53 (1999), Nr. 4, S. 148A–161A
- [48] STUART, B.: *Biological Applications of Infrared Spectroscopy*. Chichester : John Wiley & Sons, 1997 (Analytical Chemistry by Open Learning)
- [49] NAUMANN, D. ; LABISCHINSKI, H.: The characterization of microorganisms by Fourier-transform infrared spectroscopy. In: NELSON, Wilfred H. (Hrsg.): *Modern techniques for rapid microbiological analysis*. New York, Deerfield Beach, Weinheim : VCH-Publisher, 1991, S. 43–96
- [50] WARD, J.H.: Hierarchical grouping to optimize an objective function. In: *J. Am. Stat. Assoc.* 58 (1963), S. 236–244
- [51] KAISER, H. F.: The application of electronic computers to factor analysis. In: *Educ. Psychol. Meas.* 20 (1960), S. 141–151

- [52] ZELL, A.: *Simulation Neuronaler Netze*. Addison-Wesley, 1994
- [53] RIEDMILLER, M. ; BRAUN, H.: A direct adaptive method for faster backpropagation learning: The RPROP algorithm. In: *Proceedings of the IEEE international conference on neural networks (ICNN)*, 1993, S. 586–591
- [54] HELM, D.: *Untersuchungen zur Klassifizierung und Identifizierung von Bakterien mittels ihrer FT-IR Spektren unter besonderer Berücksichtigung des Genus Staphylococcus Rosenbach 1884*, Freie Universität Berlin, Diss., 1992
- [55] SAVITZKY, A. ; GOLAY, M.J.E.: Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. In: *Anal. Chem.* 36 (1964), Nr. 8, S. 1627–1639
- [56] YANG, H. ; GRIFFITHS, P.R.: Application of multilayer feed-forward neural networks to automated compound identification in low-resolution open-path FT-IR Spectrometry. In: *Anal. Chem.* (1999), S. 751–761
- [57] GOODACRE, R.: Applications of artificial neural networks to the analysis of multivariate data. In: CARTWRIGHT, H. (Hrsg.): *Intelligent data analysis in science*. Oxford, 2000, S. 123–152
- [58] SCHEFFÉ, H.: A method for judging all contrasts in the analysis of variance. In: *Biometrika* 40 (1953), S. 87–104
- [59] KIRSCHNER, C. ; MAQUELIN, K. ; PINA, P. ; NGO THI, N.A. ; CHOO-SMITH, L.-P. ; SANDT, C. ; AMI, D. ; ORSINI, F. ; DOGLIA, S.M. ; ALLOUCH, P. ; SOCKALINGUM, G.D. ; MAINFAIT, M. ; PUPPELS, G.J. ; NAUMANN, D.: Classification and identification of Enterococci: a phenotypic, genotypic and vibrational spectroscopic study. In: *J. Clin. Microbiol.* 39 (2001), Nr. 5, S. 1763–1770
- [60] TSAKRIS, A. ; WOODFORD, N. ; POURNARAS, S. ; KAUFMANN, M. ; DOUBOYAS, J.: Apparent increased prevalence of high-level aminoglycoside-resistant *Enterococcus durans* resulting from false identification by a semiatomated software system. In: *J. Clin. Microbiol.* 36 (1998), Nr. 5, S. 1419–1421
- [61] IWEN, P.C. ; KELLY, D.M. ; LINDER, J. ; HINRICHS, S.H.: Revised approach for identification and detection of ampicillin and vancomycin resistance in *Enterococcus* species by using MicroScan panels. In: *J. Clin. Microbiol.* 34 (1996), Nr. 7, S. 1779–1783
- [62] SADER, H. S. ; BIEDENBACH, D. ; JONES, R. N.: Evaluation of Vitek and API 20S for species identification of enterococci. In: *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 22 (1995), Nr. 4, S. 315–9
- [63] WILLEY, B. M. ; JONES, R. N. ; MCGEER, A. ; WITTE, W. ; FRENCH, G. ; ROBERTS, R. B. ; JENKINS, S. G. ; NADLER, H. ; LOW, D. E.: Practical approach to the identification of clinically relevant *Enterococcus* species. In: *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 34 (1999), Nr. 3, S. 165–71

- [64] SINGER, D. ; JOCHIMSEN, E.M. ; GIELERAK, P. ; ; JARVIS, W.R.: Pseudo-Outbreak of *Enterococcus durans* infections and colonization associated with introduction of an automated identification system software update. In: *J. Clin. Microbiol.* 34 (1996), Nr. 11, S. 2685–87
- [65] MONTENEGRO, M.A. ; NAZARENO, M.A. ; DURANTINI, E.N. ; BORSARELLI, C.D.: Singlet molecular oxygen quenching ability of carotenoids in a reverse-micelle membrane mimetic system. In: *Photochem. Photobiol.* 75 (2002), Nr. 4, S. 353–361
- [66] OZAWA, Y. ; COURVALIN, P. ; GALIMAND, M.: Identification of enterococci at the species level by sequencing of the genes for D-alanine:D-alanine ligases. In: *System. Appl. Microbiol.* 23 (2000), S. 230–7
- [67] PFALLER, M.A.: Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. In: *Clin. Infect. Dis.* 22 (1996), S. S89–S94
- [68] REISS, E. ; TANAKA, K. ; BRUKER, G. ; CHAZALET, V. ; COLEMAN, D. ; DEBEAUIS, P. ; HANAZAWA, R. ; LATGE, J.-P. ; LORTHOLARY, J. ; MAKIMURA, K. ; MORRISON, C.J. ; MURUYAMA, S.Y. ; NAOE, S. ; PARIS, S. ; J., Sarfati. ; SHIBUYA, K. ; SULLIVAN, D. ; UCHIDA, K. ; YAMAGUCHI, H.: Molecular diagnosis and epidemiology of fungal infections. In: *Med. Mycol.* 36, Supplement 1 (1998), S. 249–257
- [69] BARNS, S.M. ; LANE, D.J. ; SOGIN, M.L. ; BIBEAU, C. ; WEISBURG, W.G.: Evolutionary relationships among pathogenic *Candida* species and relatives. In: *J. Bacteriol.* 173 (1991), S. 2250–2255
- [70] BECKER, K. ; BADEHORN, D. ; DEIWICK, S. ; PETERS, G. ; FEGELER, W.: Molecular genotyping of *Candida* species with special respect to *Candida (Torulopsis) glabrata* strains by arbitrarily primed PCR. In: *J. Med. Microbiol.* 49 (2000), S. 575–581
- [71] NGO THI, N.A.: *Dissertation In Vorbereitung*, Diss.
- [72] LECLERQ, R. ; DERLOT, E. ; DUVAL, J.: Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. In: *N. Engl. J. Med.* 319 (1988), S. 157–161
- [73] GOODACRE, R. ; TIMMINS, E.M. ; BURTON, R. ; KADERBHAI, N. ; WOODWARD, A.M. ; KELL, D.B. ; ROONEY, P.J.: Rapid identification of urinary tract infection bacteria using hyperspectral whole-organism fingerprinting and artificial neural networks. In: *Microbiology* 144 (1998), S. 1157–1170
- [74] GOODACRE, R. ; ROONEY, P.J. ; KELL, D.B.: Discrimination between methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* using pyrolysis mass spectrometry and artificial neural networks. In: *J. Antimicrob. Chemother.* 41 (1998), S. 27–34

- [75] GOODACRE, R. ; ROONEY, P.J. ; KELL, D.B.: Rapid analysis of microbial systems using vibrational spectroscopy and supervised learning methods: application to the discrimination between methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. In: MANTSCH, H.H. (Hrsg.) ; JACKSON, M. (Hrsg.): *Infrared spectroscopy: New tool in medicine, Proceedings of SPIE* Bd. 3257. Bellingham, Washington, 1998, S. 220–229
- [76] AL-MASAUDI, S.B. ; DAY, M.J. ; RUSSELL, A.D.: Antimicrobial resistance and gene transfer in *Staphylococcus aureus*. In: *J. Appl. Bacteriol.* 70 (1991), S. 279–290
- [77] KAAZ, G.W. ; SEO, S.M. ; DORMAN, N.J.: Emergence of teicoplanin resistance during therapy of *Staphylococcus aureus* endocarditis. In: *J. Infect. Dis.* 162 (1990), S. 103–108
- [78] NOBLE, W.C. ; VIRANI, Z. ; CREE, R.G.: Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to *Staphylococcus aureus*. In: *FEMS Microbiol. Lett.* 72 (1992), S. 195–198
- [79] JEVONS, M.P.: Celbenin resistant staphylococci. In: *Br. Med. J.* 1 (1961), S. 124–125
- [80] REYNOLDS, P.E. ; BROWN, D.J.F.: Penicillin-binding proteins of β -lactam-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. Effect of growth conditions. In: *FEBS Lett.* 192 (1985), S. 28–32
- [81] CHAMBERS, H.F. ; HARTMAN, B.J. ; TOMASZ, A.: Increased amounts of a novel penicillin-binding protein in a strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* exposed to nafcillin. In: *J. Clin. Invest.* 76 (1985), S. 325–331
- [82] BUSCHELMAN, B. J. ; BALE, M. J. ; JONES, R. N.: Species identification and determination of high-level aminoglycoside resistance among enterococci. Comparison study of sterile body fluid isolates, 1985-1991. In: *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 16 (1993), Nr. 2, S. 119–22
- [83] VINCENT, S. ; KNIGHT, R.G. ; GREEN, M. ; SAHM, D.F. ; SHLAES, D.M.: Vancomycin susceptibility and identification of motile enterococci. In: *J. Clin. Microbiol.* 29 (1991), Nr. 10, S. 2335–2337
- [84] WILKE, W. W. ; MARSHALL, S. A. ; COFFMAN, S. L. ; PFALLER, M. A. ; EDMUND, M. B. ; WENZEL, R. P. ; JONES, R. N.: Vancomycin-resistant *Enterococcus raffinosus*: molecular epidemiology, species identification error, and frequency of occurrence in a national resistance surveillance program. In: *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 29 (1997), Nr. 1, S. 43–9
- [85] BODNAR, U.R. ; NOSKIN, G.A. ; SURIANO, T. ; COOPER, I. ; REISBERG, B.E. ; PERTESON, L.R.: Use of in-house studies of molecular epidemiology and full spe-

- cies identification for controlling spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* isolates. In: *J. Clin. Microbiol.* 34 (1996), Nr. 9, S. 2129–2132
- [86] MOELLERING, R. C.: Vancomycin-resistant enterococci. In: *Clin. Infect. Dis.* 26 (1998), S. 1196–9
- [87] CHENG, S. ; MCCLESKEY, F.-K. ; GRESS, M.J. ; PETROZIELLO, J.M. ; LIU, R. ; NAMDARI, H. ; BENINGA, K. ; SALMEN, A. ; DELVECCHIO, V.G.: A PCR assay for identification of *Enterococcus faecium*. In: *J. Clin. Microbiol.* 35 (1997), Nr. 5, S. 1248–1250
- [88] BRYCE, E.A. ; ZEMCOV, S.J. ; CLARKE, A.M.: Species identification and antibiotic resistance patterns of the enterococci. In: *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 10 (1991), Nr. 9, S. 745–747
- [89] DEVRIESE, L.A. ; POT, B. ; VAN DAMME, L. ; KERSTERS, K. ; HAESBROUCK, F.: Identification of *Enterococcus* species isolated from foods of animal origin. In: *Int. J. Food Microbiol.* 26 (1995), Nr. 2, S. 187–197
- [90] TRITZ, D. M. ; IWEN, P. C. ; WOODS, G. L.: Evaluation of MicroScan for identification of *Enterococcus* species. In: *J. Clin. Microbiol.* 28 (1990), Nr. 6, S. 1477–8
- [91] JONES, R. N. ; MARSHALL, S. A. ; PFALLER, M. A. ; WILKE, W. W. ; HOLLIS, R. J. ; ERWIN, M. E. ; EDMOND, M. B. ; WENZEL, R. P.: Nosocomial enterococcal blood stream infections in the SCOPE Program: antimicrobial resistance, species occurrence, molecular testing results, and laboratory testing accuracy. SCOPE Hospital Study Group. In: *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 29 (1997), Nr. 2, S. 95–102
- [92] KE, D. ; PICARD, F.J. ; MARTINEAU, F. ; MENARD, C. ; ROY, PH. ; OUELLETTE, M. ; BERGERON, MG.: Development of a PCR assay for rapid detection of enterococci. In: *J. Clin. Microbiol.* 37 (1999), Nr. 11, S. 3497–503
- [93] PRYCE, T.M. ; WILSON, R.D. ; KULSKI, J.K.: Identification of enterococci by ribotyping with horseradish-peroxidase-labelled 16S rDNA probes. In: *J. Microbiol. Methods* 36 (1999), Nr. 3, S. 147–155
- [94] ROGER, M. ; FAUCHER, M.-C. ; FOREST, P. ; ST.-ANTOINE, P. ; COUTLEE, F.: Evaluation of a vanA-Specific PCR Assay for Detection of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* during a Hospital Outbreak. In: *J. Clin. Microbiol.* 37 (1999), Nr. 10, S. 3348–49
- [95] TYRRELL, G. J. ; BETHUNE, R. N. ; WILLEY, B. ; LOW, D. E.: Species identification of enterococci via intergenic ribosomal PCR (published erratum appears in *J. Clin. Microbiol.* 1997 Sep;35(9);2434). In: *J. Clin. Microbiol.* 35 (1997), Nr. 5, S. 1054–60

- [96] KIEFER, W. ; SPIEKERMANN, M.: Special techniques and applications. In: SCHRADER, B. (Hrsg.): *Infrared and Raman spectroscopy*. Weinheim, New York : VCH Publishers, 1995, S. 465–488
- [97] TINDALL, B. ; BRAMBILLA, E. ; STEFFEN, M. ; NEUMANN, R. ; PUKALL, R. ; KROPPESTEDT, R. M. ; ; STACKEBRANDT, E.: Cultivable microbial biodiversity: gnawing at the Gordian knot. In: *Environ. Microbiol.* 2 (2000), Nr. 3, S. 310–18
- [98] NAUMANN, D. ; SCHULTZ, Ch. P. ; HELM, D.: What can infrared spectroscopy tell us about the structure and composition of intact bacterial cell? In: MANTSCH, H. H. (Hrsg.) ; CHAPMANN, D. (Hrsg.): *Infrared spectroscopy of biomolecules*. New York : Wiley-Liss, 1996, S. 279–310
- [99] HORBACH, I. ; NAUMANN, D. ; FEHRENBACH, F.J.: Simultaneous infections with different serogroups of *Legionella pneumophila* investigated by routine methods and Fourier transform infrared spectroscopy. In: *J. Clin. Microbiol.* 26 (1988), S. 1106–1110
- [100] KÜMMERLE, M. ; SCHERER, S. ; SEILER, H.: Rapid and reliable identification of food-borne yeasts by Fourier-transform infrared spectroscopy. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (1997), Nr. 6, S. 2207–2214
- [101] TINTELNOT, K. ; HAASE, G. ; SEIBOLD, M. ; BERGMANN, F. ; STAEMMLER, M. ; FRANZ, T. ; ; NAUMANN, D.: Evaluation of phenotypic markers for selection and identification of *Candida dubliensis*. In: *J. Clin. Microbiol.* 38 (2000), Nr. 4, S. 1599–1608
- [102] TIMMINS, E.M. ; HOWELL, S. A. ; ALSBERG, B.K. ; NOBLE, W. C. ; ; GOODACRE, R.: Rapid differentiation of closely related *Candida* species and strains by pyrolysis-mass spectrometry and Fourier-transform infrared spectroscopy. In: *J. Clin. Microbiol.* 36 (1998), Nr. 2, S. 367–74
- [103] CHOO-SMITH, L.-P. ; MAQUELIN, K. ; VREESWIJK, Van ; BRUINING, H.A. ; PUPPELS, G. ; NGO THI, N.A. ; KIRSCHNER, C. ; NAUMANN, D. ; AMI, D. ; VILLA, A.M. ; ORSINI, F. ; DOGLIA, S.M. ; LAMFARRAJ, H. ; SOCKALINGUM, G.D. ; MAINFAIT, M. ; ALLOUCH, P. ; ENDTZ, H.PH.: Investigating microbial (micro)-colony heterogeneity by vibrational spectroscopy. In: *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (2001), Nr. 4, S. 1461–1469
- [104] NAUMANN, D.: FT-IR and FT-NIR Raman spectroscopy in biomedical research. In: DE HASETH, J. A. (Hrsg.): *Fourier transform spectroscopy: 11th International Conference, AIP Conference Proceedings 430*, Woodbury, N.Y., 1998, S. 96–109
- [105] WHEELER, A.P. ; BERNARD, G.R.: Treating patients with severe sepsis. In: *N. Engl. J. Med.* 340 (1999), Nr. 3, S. 207–214

- [106] GOODACRE, R. ; TIMMINS, E.M. ; ROONEY, P.J. ; ROWLAND, J. J. ; KELL, D.B.: Rapid identification of Streptococcus and Enterococcus species using diffuse reflectance-absorbance Fourier transform infrared spectroscopy and artificial neural networks. In: *FEMS Microbiol. Lett.* 140 (1996), S. 233–239
- [107] GOODACRE, R. ; BURTON, R. ; KADERBHAI, N. ; TIMMINS, E.M. ; WOODWARD, A. ; ROONEY, P.J. ; KELL, D.B.: Intelligent systems for the characterization of microorganisms from hyperspectral data. In: STOPA, P.J. (Hrsg.) ; BARTOSZCZE, M.A. (Hrsg.): *Rapid methods for the analysis of biological materials in the environment*. Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 2000, S. 111–136
- [108] SCHMITT, J. ; UDELHOVEN, T.: Use of artificial neural networks in biomedical diagnosis. In: GREMLICH, H.U. (Hrsg.) ; YAN, B. (Hrsg.): *Infrared and Raman spectroscopy of biological materials*. New York, Basel : Dekker, M., 2001, S. 379–419
- [109] SCHMITT, J. ; UDELHOVEN, T. ; NAUMANN, D. ; FLEMMING, H.-C.: Stacked spectral data processing and artificial neural networks applied to FTIR and FT-Raman spectra in biomedical applications. In: MANTSCH, H.H. (Hrsg.) ; JACKSON, M. (Hrsg.): *Infrared spectroscopy: new tool in medicine, Proceedings of SPIE* Bd. 3257, Bellingham, Washington, 1998, S. 236–244
- [110] UDELHOVEN, T. ; NAUMANN, D. ; SCHMITT, J.: Development of a hierarchical classification system with artificial neural networks and FT-IR spectra for the identification of bacteria. In: *Appl. Spectros.* 54 (2000), Nr. 10, S. 1471–79
- [111] MAQUELIN, K. ; KIRSCHNER, C. ; CHOO-SMITH, L.-P. ; NGO THI, A.N. ; VAN-VREESWIJK, T. ; STÄMMLER, M. ; ENDTZ, H.P. ; BRUINING, H.A. ; NAUMANN, D. ; PUPPELS, G.J.: Prospective study of the performance of vibrational spectroscopies for rapid identification of bacterial and fungal pathogens from blood cultures. In: *J. Clin. Microbiol.* 41 (2003), Nr. 1, S. 324–329
- [112] SOCKALINGUM, G. W. ; BOUHEDJA, W. ; PINA, P. ; ALLOUCH, P. ; MANDRAY, C. ; LABIA, R. ; MILLOT, J. M. ; ; MANFAIT, M.: ATR-FTIR spectroscopic investigation of imipenem-susceptible and -resistant *Pseudomonas aeruginosa* isogenic strains. In: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 232 (1997), S. 240–246
- [113] BOUHEDJA, W. ; SOCKALINGUM, G. D. ; PINA, P. ; ALLOUCH, P. ; BLOY, C. ; LABIA, R. ; MILLOT, J.M. ; MANFAIT, M.: ATR-FTIR spectroscopic investigation of *E. coli* transconjugants β -lactams-resistance phenotype. In: *FEBS Letters* 412 (1997), S. 39–42
- [114] SOCKALINGUM, G. ; BOUHEDJA, E.-W. ; ALLOUCH, P. ; BLOY, C. ; MAINFAIT, M.: Exploiting FTIR spectroscopic data for rapid characterization and classification of microorganisms. In: MANTSCH, H.H. (Hrsg.) ; JACKSON, M. (Hrsg.): *Proceedings of IR-Spectroscopy: New tool in medicine* Bd. 3257. San Jose : Bellingham, Washington, 1998, S. 230–235

- [115] MAQUELIN, K. ; CHOO-SMITH, L.-P. ; PUPPELS, G.J. ; KIRSCHNER, C. ; NGO THI, N.A. ; NAUMANN, D.: Vibrational spectroscopic studies of microorganisms. In: CHALMERS, J.M. (Hrsg.) ; GRIFFITHS, P.R. (Hrsg.): *Handbook of vibrational spectroscopy* Bd. 5. Chichester, UK : John Wiley & Sons, 2001
- [116] CHAMBERS, H.F. ; HACKBARTH, C.J.: Effect of NaCl and nafcillin on penicillin-binding protein 2a and heterogeneous expression of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. In: *Antimicrob. Agents Chemother.* 31 (1987), S. 1982–1988
- [117] BEISE, F.: *Zellwandchemische und biologische Konsequenzen der Inaktivierung Penicillin-bindender Proteine bei Staphylococcus aureus.*, Freie Universität Berlin, Diss., 1992
- [118] MANI, N. ; TOBIN, P. ; JAYASWAL, R.K.: Isolation and characterization of autolysis-defective mutants of *Staphylococcus aureus* created by Tn917-lac mutagenesis. In: *J. Bacteriol.* 175 (1993), S. 1493–1499
- [119] BARZILAI, A. ; HYATT, A.C. ; HODES, D.S.: Demonstration of differences between strains of *Staphylococcus aureus* by peptidoglycan fingerprinting. In: *J. Infect. Dis.* 4 (1984), S. 583–588
- [120] MAIDHOF, H.: *Zellwandwachstum von Staphylococcus aureus: Untersuchungen an sensitiven und β -Lactam resistenten Stämmen*, Freie Universität Berlin, Diss., 1993
- [121] ZEROUAL, W. ; MAINFAIT, M. ; CHOISY, C.: FT-IR spectroscopy study of perturbations induced by antibiotic on bacteria. In: *Path. Biol* 43 (1995), Nr. 4, S. 300–305
- [122] NELSON, W.H. *Patent Nr. WO94/11526*. 1994

Literaturverzeichnis

Anhang

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Arbeitsgruppe P 34 von Herrn Prof. Dieter Naumann am Robert Koch-Institut angefertigt. Ich möchte Dieter Naumann an dieser Stelle ganz besonders für seine motivierende und engagierte Betreuung der Arbeit danken. Seine ständige Diskussionsbereitschaft und konstruktive Kritik waren bei der Anfertigung der Publikationen und insbesondere dieser Arbeit sehr hilfreich.

Bei Herrn Prof. Hucho möchte ich mich für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens bedanken.

Maren Stämmeler danke ich ganz herzlich für ihren Einsatz bei der Durchführung der klinischen Studie, die ohne ihre Hilfe sicherlich nicht möglich gewesen wäre.

Insbesondere möchte ich mich bei allen Mitgliedern von Dieter Naumann's Arbeitsgruppe für die nette Arbeitsatmosphäre, die anregenden Diskussionen und die große Hilfsbereitschaft bedanken. Vielen Dank für die schöne Zeit am RKI!

Publikationen

Poster- und Buchbeiträge

- KIRSCHNER, C., NGO THI, N.A., NAUMANN, D. (1999) FT-IR spectroscopic investigations of antibiotic sensitive and resistant microorganisms. In: *Spectroscopy of Biological Molecules: New Directions* (Hrsg.: Greve, J., Puppels, G.J. und Otto, C.), Kluwer Academic Publishers, S. 561-562.
- NGO THI, N.A., KIRSCHNER, C., NAUMANN, D. (1999) FT-IR microscopy: A rapid method for classifying microorganisms. In: *Spectroscopy of Biological Molecules: New Directions* (Hrsg.: Greve, J., Puppels, G.J. und Otto, C.), Kluwer Academic Publishers, S. 557-558.
- NGO THI, N.A., KIRSCHNER, C., NAUMANN, D. (2000) FT-IR microspectrometry: A new tool for characterizing microorganisms. In: *Biomedical Spectroscopy: Vibrational Spectroscopy and other Novel Techniques, Proceedings of SPIE*, (Hrsg.: Mahadevan-Jansen, A., Puppels, G.J.), Bellingham, Washington, 3918, S. 36-44.
- NGO THI, N.A., KIRSCHNER, C., NAUMANN, D. (2000) Rapid characterization of clinically relevant microorganisms by FT-IR microspectrometry. In: *Informationsbulletin FT-IR Diagnostik*, S. 11-12.
- KIRSCHNER, C., NGO THI, N.A., STÄMMLER, M., NAUMANN, D. (2001) Rapid identification of pathogens from blood cultures by FT-IR Microspectroscopy. In: *Spectroscopy of Biological Molecules*, Kluwer Academic Publishers.
- MAQUELIN, K., KIRSCHNER, C., CHOO-SMITH, L.-P., NGO THI, N.A., NAUMANN, D., PUPPELS, G.J. (2002) Vibrational spectroscopic studies of microorganisms. In: *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, vol. 5, (Hrsg.: Chalmers, J.M., Griffiths, P.R.), John Wiley & Sons, Ltd., Chichester, UK.
- KIRSCHNER, C., OFSTAD, R., SKARPEID, H.-J., KOHLER, A. (2002) FT-IR imaging: a new technique for assessing meat quality. In: *Book of abstracts: Euro-Conference of modern analytical methods for food and beverage authentication*, Lednice, Czech Republic, 29 - 31. August 2002, S. 35.

Zeitschriftenartikel

- MAYER, C., MORITZ, R., KIRSCHNER, C., BORCHARD, W., MAIBAUM, R., WINGENDER, J., FLEMMING, H.-C. (1999) The role of intermolecular interactions: Studies on model systems for bacterial biofilms. *Int. J. Biol. Macromol.*, 26, S. 3-16.
- CHOO-SMITH, L.-P., MAQUELIN, K., VAN VREESWIJK, T., BRUINING, H.A., PUPPELS, G.J., NGO THI, N.A., KIRSCHNER, C., NAUMANN, D., AMI, D., VILLA, A.M., ORSINI, F., DOGLIA, S.M., LAMFARRAJ, H., SOCKALINGUM, G.D., MAINFAIT, M., ALLOUCH, P., ENDTZ, H.P. (2001) Investigating microbiological (micro)-colony heterogeneity by vibrational spectroscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, S. 1461-1469.
- KIRSCHNER, C., MAQUELIN, K., PINA, P., NGO THI, N.A., CHOO-SMITH, L.-P., SANDT, C., AMI, D., ORSINI, F., DOGLIA, S.M., ALLOUCH, P., SOCKALINGUM, G.D., MAINFAIT, M., PUPPELS, G.J., NAUMANN, D. (2001) Classification and identification of Enterococci: A phenotypic, genotypic and vibrational spectroscopic study. *J. Clin. Microbiol.*, 39(5), S. 1763-1770.
- MAQUELIN, K., KIRSCHNER, C., CHOO-SMITH, L.-P., VAN DEN BRAAK, N., ENDTZ, H.P., NAUMANN, D., PUPPELS, G.J., (2002) Identification of medically relevant microorganisms by vibrational spectroscopy: A review. *J. Microbiol. Methods*, 51(3), S. 255-271.
- MAQUELIN, K.*, KIRSCHNER, C.*, CHOO-SMITH, L.-P., VAN VREESWIJK, T., ENDTZ, H.P., BRUINING, H.A., PUPPELS, G.J., NGO THI, N.A., STÄMMLER, M., NAUMANN, D. (2003) Prospective study of the performance of vibrational spectroscopies for rapid identification of bacterial and fungal pathogens recovered from blood cultures. *J. Clin. Microbiol.*, 41(1), S. 324-329 (* indicates that both authors contributed equally to this work).
- KIRSCHNER, C., OFSTAD, R., SKARPEID, H.-J., HØST, V., KOHLER, A. Monitoring of denaturation processes in aged beef loin by FT-IR microspectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* (im Druck).

8 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei Zielsetzungen verfolgt. Zum einen wurden verschiedene schwingungsspektroskopische Techniken, wie die FTIR-Spektroskopie, die FT-RAMAN-Spektroskopie und die FTIR-Mikroskopie hinsichtlich ihrer Einsetzbarkeit zur Charakterisierung und Differenzierung von humanpathogenen Mikroorganismen vergleichend untersucht und bewertet. Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Möglichkeit, ein neues Antibiotikaempfindlichkeitsverfahren auf Basis von schwingungsspektroskopischen Techniken zu realisieren.

Schwingungsspektroskopischen Techniken ermöglichen es, Untersuchungen an intakten mikrobiellen Zellen durchzuführen, ohne diese dabei zu zerstören. Dabei liefern die erhaltenen Spektren einen komplexen biochemischen Fingerabdruck aller zellulären Bestandteile. Weitere Vorteile der Techniken liegen in der Schnelligkeit und einfachen Durchführbarkeit bezüglich der Probenpräparation, die ohne jegliche Agenzien wie z. B. Farbstoffindikatoren auskommt. Diese Eigenschaften prädestinieren schwingungsspektroskopische Methoden für das Gebiet der Mikrobiologie, insbesondere der klinischen Routinediagnostik. Hier werden überwiegend phänotypische Techniken eingesetzt, die zumeist nur einen oder einige wenige Zellbestandteile (z. B. ein bestimmtes Enzym) detektieren können und, da sie zumeist nur mit größeren Mengen einer Reinkultur durchgeführt werden können, zeit- und arbeitsintensiv sind.

Enterococcus Spezies zählen zu den zweithäufigsten Verursachern von Nosokomialinfektionen, so dass ihnen eine besondere klinische Signifikanz zukommt. Aus diesem Grund wurde ein Datensatz bestehend aus sieben verschiedenen *Enterococcus* Spezies ausgewählt, an dem gezeigt werden konnte, dass sowohl die FTIR-Spektroskopie, als auch die FT-RAMAN-Spektroskopie eine potenzielle Alternative zu den konventionellen Techniken darstellen. Mittels beider Techniken konnte eine korrekte Klassifizierung auf Speziesebene erhalten werden, die weder mit dem konventionellen API- noch dem MICROSCAN- System erreicht wurde. Darüber hinaus stimmten nur die Klassifizierungsergebnisse der FTIR- und der RAMAN-Spektroskopie, die auf einer hierarchischen Clusteranalyse basierten, mit den Ergebnissen der 16S-RNA-Sequenzierung, dem „Goldstandard“ für die mikrobielle Analyse, überein. Durch eine spezifische Wellenlängenselektion, bei der die sehr intensiven Banden des in zwei *Enterococcus* Stämmen exprimierten Pigments Carotinoid aus der Clusteranalyse der RAMAN-Spektren ausgeschlossen wurden, konnten nahezu identische Klassifikationsschemata für beide schwingungsspektroskopische Techniken erhalten werden. Beide Techniken zeichnen sich zudem auch durch eine hohe Reproduzierbarkeit aus, wie an stammspezifischen Subclustern bestehend aus unabhängigen Wiederholungskulturen, deutlich wurde. Um diese Reproduzierbarkeit zu gewährleisten, müssen standardisierte Wachstumsbedingungen und Probenpräparationen eingehalten werden.

Das hohe Differenzierungspotenzial dieser Techniken beschränkt sich jedoch nicht nur auf Bakterien, sondern kann auch auf Hefen angewandt werden, wie anhand einer FTIR-spektroskopischen Studie an sieben verschiedenen Spezies der Gattung *Candida* gezeigt werden konnte. Es konnte eine eindeutige Differenzierung auf Speziesebene für die Gattung *Candida* erreicht werden.

Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass mikrospektrometrische Messungen an Mikrokolonien (50 bis 80 μm) durch die Erarbeitung einer ortsgetreuen Replikatechnik Spektren liefern, die reproduzierbar sind und ein genügend hohes Signal/Rausch-Verhältnis aufweisen. Die Vorteile dieser Methodik liegen vor allem in ihrer Schnelligkeit und einfachen Probenpräparation, da die Mikrokolonien in Abhängigkeit vom Organismus nach nur 6 bis 8 h auf optische Materialien übertragen und anschließend ohne weitere präparative Schritte gemessen werden können. Das hohe Potenzial der FTIR-Mikrospektrometrie im Hinblick auf Zeitbedarf und Präzision zur Identifizierung von Mikroorganismen konnte im Rahmen einer klinischen Studie, die an Blutkulturen durchgeführt wurde, unter Beweis gestellt werden. Es konnte eine korrekte Identifizierung von 98,3% der untersuchten Proben erreicht werden. Dieses sehr gute Identifizierungsergebnis ist auch in wesentlichen Teilen auf das Auswerteverfahren zurückzuführen, das auf einem Identifizierungsmodell unter Anwendung von hierarchisch organisierten neuronalen Netzen basierte.

Im zweiten Teil der Arbeit, der die Entwicklung eines spektroskopischen Antibiotikaempfindlichkeitstests beinhaltete, wurde zunächst die Möglichkeit geprüft, ob die in den FTIR-Spektren der Zellen enthaltenen spektralen Informationen spezifisch genug sind, um sensitive von resistenten Stämmen differenzieren zu können. Hierzu wurden gezielt Mikroorganismen mit spezifischen Antibiotikaresistenzen untersucht. Dabei handelte es sich um epidemiologisch repräsentative Datensätze von Vancomycin-resistenten/Vancomycin-sensitiven *Enterococcus* (VRE/VSE) Stämmen und von Methicillin-resistenten/Methicillin-sensitiven *S. aureus* (MRSA/MSSA) Stämmen. VRE und MRSA unterscheiden sich dabei in mehreren Aspekten, die sich auch in den Spektren widerspiegeln. Die durch das *VanA*-Gen vermittelte Vancomycinresistenz bei den hier untersuchten VRE-Stämmen wird durch Glykopeptidantibiotika induziert, während die *mecA*-Gen vermittelte β -Lactamresistenz konstitutiv vorliegt. Diese unterschiedlichen Mechanismen, die die Expression des jeweiligen Resistenzgens auslösen, sind dafür verantwortlich, dass für die beiden VRE/VSE-Datensätze keine Differenzierung zwischen sensitiven und resistenten Stämmen auf Basis ihrer Spektren *per se* erzielt werden konnte. Von den drei MRSA/MSSA-Datensätzen konnte jedoch trotz der konstitutiv vorliegenden β -Lactamresistenz auch nur bei einem Datensatz mittels Clusteranalyse eine Diskriminierung in resistente und sensitive Stämme erfolgen. Dieser Datensatz enthielt überwiegend hoch resistente MRSA-Stämme, bei denen der Resistenzphänotyp stärker ausgeprägt ist. Die Anwendung von künstlichen neuronalen Netzen führte bei beiden Spezies zu keiner signifikant verbesserten Klassifizierung, da die gesamten Datensätze sowohl der MRSA/MSSA-Stämme als auch der VRE/VSE-Stämme genotypisch relativ heterogen waren, so dass die dadurch bedingten großen stammspezifischen Varianzen das weniger stark ausgeprägt Resistenz- bzw. Sensitivitätsverhalten überdeckten.

Aufgrund dieser nur sehr eingeschränkt möglichen Differenzierbarkeit zwischen sensitiven und resistenten Zellen auf Basis ihrer Spektren *per se* wurde im Rahmen dieser Arbeit ein neues Verfahren zur Untersuchung der Wechselwirkung von Antibiotika mit mikrobiellen Zellen basierend auf mikrospektrometrischen Messungen entwickelt. Mit Hilfe dieses Verfahrens konnte zum ersten Mal der Einfluss eines typischen β -Lactams auf resistente und sensitive Zellen untersucht werden, die als Mikrokolonien auf festem Nährmedium kultiviert wurden. Hierdurch gelang zum einen die eindeutige Differenzierung zwischen resistenten und sensitiven Zellen und zum anderen konnte die Wirkungsweise des hierbei verwendeten β -Lactamantibiotikums mit den in den Spektren gefundenen Veränderungen korreliert werden.

8 Zusammenfassung

Abstract

In this thesis, two objectives were addressed. First, different vibrational spectroscopic techniques, such as FTIR spectroscopy, FT-RAMAN spectroscopy and FTIR microspectroscopy were investigated in comparison with respect to their applicability for the characterization and differentiation of pathogenic microorganisms. The second part of the work was focused on the development and evaluation of a new method based on infrared spectroscopy to test the antibiotic susceptibility behavior of microorganisms.

Vibrational spectroscopic techniques allow the investigation of intact microbial cells in a non-destructive manner and produce complex, biochemical-like fingerprint spectra providing information about all cellular components. These techniques are rapid, because little biomass is needed significantly reducing culturing time. Further advantages are ease of use, since they require virtually no sample handling and, apart from the culture medium, no consumables, such as labels or dyes. Therefore, vibrational spectroscopies have a great potential in the field of microbiology, especially in clinical diagnostic microbiology. Most clinical microbiological laboratories rely on phenotypical methods, which can detect one or a few cellular compounds only per test, e. g. one specific enzyme. Performing these tests is often laborious and time-consuming, since a substantial amount of time is accounted for the initial culturing steps, in order to obtain enough biomass to perform the test.

Based on the results obtained from a collection of seven different *Enterococcus* species, which have emerged as one of the leading causes of nosocomial infections worldwide, it could be demonstrated that both methods, FTIR and RAMAN spectroscopy provide a potential alternative to conventional typing methods. Both spectroscopic techniques proved to be capable of discriminating accurately at the species level while the routinely used phenotypic identification systems (API, MICROSCAN) performed poorly. Moreover, the species classification based on the spectroscopic data, was consistent only with the results obtained by the 16S RNA sequencing, which is the „gold standard“ for microbial identification. Comparison of FTIR and RAMAN clustering, based on a specific wavelength selection discarding the signal contributions of carotenoids, showed that there was considerable consistency between both methods, since very similar classification schemes were obtained. Additionally, replicate cultures of all strains were grouped in strain specific subclusters illustrating the excellent reproducibility of both methods. Standardization of culturing conditions and sampling preparations are prerequisites to obtain such highly reproducible classification results.

The results of a FTIR spectroscopic study obtained from a collection of seven different *Candida* species proved that the high differentiation capacity of the IR technique

is not restricted to the analysis of bacteria, but can be also applied to yeasts. A clear classification at the species level could be achieved for the genus *Candida*.

By using FTIR microspectroscopy to measure microbial microcolonies, it was demonstrated, that high quality IR-spectra can be obtained by applying a special replica technique. This technique enables to transfer microcolonies growing on solid culture plates spatially accurate to an IR-transparent sample holder. The spectra recorded from such microcolonies (50 to 80 μm) were reproducible and of a sufficient signal to noise ratio. The most obvious advantage of this technique was the short time required for obtaining microcolonies, which already develop after only 6 to 8 h depending on the organism. By using this microspectroscopic technique to measure microcolonies as replicas there are minimal sample preparation steps prior to spectral acquisition enabling a rapid microbial identification method. The high potential of the microspectroscopic approach with respect to speed and precision for microbial identification was shown, based on a clinical study. In the course of this study, blood cultures were analyzed by FTIR microspectroscopy, parallel to the routine diagnostic microbiological analysis. High identification accuracy was achieved with 98,3% of the microorganisms being correctly identified. The high identification accuracy can be ascribed to a large extent to the excellent identification model, based on a hierarchical organized neural network.

The second part of the work focused on the development of a new antibiotic susceptibility test based on infrared spectroscopy. The aim of this study was to examine if the spectral information contained in the IR spectra of microorganisms are sufficient to discriminate sensitive from resistant cells. For this purpose microorganisms with specific antibiotic resistances were investigated. Representative datasets comprising Vancomycin resistant/Vancomycin sensitive *Enterococcus* (VRE/VSE) and Methicillin resistant/Methicillin sensitive *S. aureus* (MRSA/MSSA) strains were used to examine whether the resistant and sensitive strains can be differentiated on the basis of their spectra *per se*. There are several differences between VRE and MRSA, which are reflected by their infrared spectra. The Vancomycin resistance in *E. faecium*, which is encoded by the *VanA* gene, was investigated, since the resistance mechanism is induced only in the presence of glycopeptide antibiotics. Contrary, the β -lactam resistance in MRSA, encoded by the *mecA* gene, is constitutively present. These differences in the resistance mechanisms, which trigger the expression of the respective resistance gene, might be the reason that no differentiation between resistant and sensitive strains on the basis of their spectra *per se* could be achieved for the two VRE/VSE data sets. However, despite the constitutive β -lactam resistance, only one of the MRSA/MSSA datasets could be discriminated by means of hierarchical clustering according to resistant and sensitive strains. This dataset consisted in contrast to the other two datasets, mainly of high resistant MRSA strains, indicating that the resistance phenotype is much more pronounced. The classification results for both species could not be significantly improved by using artificial neural networks because of the greater genotypic heterogeneity of the total datasets of both species. The prevalence of the strain variance that presumably masks the less significant variance arising from the antibiotic susceptibility may account for the poor classification result obtained even with supervised classifiers such as ANNs.

Based on these results indicating that the possibility to discriminate between sensitive and resistant cells on the basis of their spectra *per se* is very limited, a new method for rapid drug susceptibility testing based on the microspectroscopic technique was developed. The aim of this pilot study was to investigate for the first time the molecular effect of a typical β -lactam antibiotic on the infrared spectra of sensitive and resistant *S. aureus* strains (MSSA,MRSA) growing as microcolonies on solid agar plates. Based on the results of this microspectroscopic approach, a clear differentiation between resistant and sensitive cells could be achieved and in addition, the mode of action of the β -lactam antibiotic could be correlated to the changes that occurred in the spectra upon influence of the antibiotic.