

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie der
Heinrich Heine Universität Düsseldorf
Direktor: Univ. Prof. Dr. med. K. Pfeffer

**Verteilung der SHV und TEM Betalactamasen sowie
der Resistenzintegrone in *Klebsiella pneumoniae*
Isolaten**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich Heine Universität
Düsseldorf

vorgelegt von
Agnes Krahmer – Moellenberg
2005

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Bernd Nürnberg
Dekan
Referent: Prof. Dr. F.-J. Schmitz
Korreferentin: Univ.-Prof. Dr. H. Idel

Inhalt

1 Einleitung

1.1 Bedeutung von *Klebsiella spp.* in der Medizin

1.2 Grundlagen der untersuchten Resistenzmechanismen

1.2.1 Resistenz

1.2.2 Betalactamasen

1.2.2.1 SHV

1.2.2.2 TEM

1.2.3 Integrone

1.3 Ziel der Arbeit

2 Material und Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Geräte

2.1.2 Chemikalien

2.1.2.1 Feststoffe, Puffer und Lösungen

2.1.2.2 Antibiotika

2.1.2.3 Fertigkits

2.1.2.4 Primer

2.1.3 Bakterien

2.1.4 Nährmedien

2.2 Methoden

2.2.1 Allgemeine Methoden

2.2.1.1 Sterilisation

2.2.1.2 Bakterienkonservierung

2.2.1.3 Agardiffusionstest

2.2.1.4 Lysate Herstellung

2.2.1.5 PCR

2.2.1.6 Agarosegelelektrophorese

2.2.1.7 Aufreinigung

2.2.1.8 Sequenzierreaktion

2.2.1.9 DNA-Fällung

2.2.1.10 Sequenzierung

3 Ergebnisse

4 Diskussion

5 Zusammenfassung

6 Anhang

6.1 Basenfolge SHV 1/11/27, TEM 1

6.2 Gesamtergebnisse tabellarisch, sortiert nach Isolatnamen

7 Literaturquellverzeichnis

8 Lebenslauf

9 Abstract

1 EINLEITUNG

1.1 Bedeutung von *Klebsiella spp.* in der Medizin:

Die Gattung *Klebsiella spp.* wurde nach dem deutschen Pathologen und Biologen Edwin Klebs (1834-1913) benannt. Klebsiellen kommen im Darm und Respirationstrakt von Mensch und Tier, aber auch sehr häufig in der Umwelt vor, wo sich die Bakterien stark im Wasser vermehren können (z.B. im Belebtecken von Kläranlagen, auf feuchten oder faulenden Pflanzen, in organischen Industrieabwässern.).

Eine Aufnahme über Lebensmittel (z.B. Salate) kann zur vorübergehenden Besiedlung im Darm führen und so im Krankenhaus als Erregerreservoir dienen.[1]

Der Genus <i>Klebsiella</i>	
Name	Synonym
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i> Ornithin positive / <i>Klebsiella</i> Gruppe 47
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Indol (+) <i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Klebsiella planticola</i>	<i>Klebsiella trevisanii</i>
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. ozaenae</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae subsp. rhinoscleromatis</i>	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>
<i>Klebsiella terrigena</i>	

[2]

Klebsiella rhinoscleromatis ist beim Rhinosklerom, einer chronischen, anfangs infiltrativ-hypertrophischen, später narbig-sklerosierenden Entzündung der Nasenschleimhaut beteiligt. [1]

Klebsiella ozaenae führt ebenfalls zu Entzündungen der Nasenschleimhaut; diese ist durch Produktion zähflüssigen Schleims mit Bildung übelriechender Borken charakterisiert. [1]

Klebsiella oxytoca (gr. Säure hervorbringen) unterscheidet sich von der klinisch und bakteriologisch sehr ähnlichen *Klebsiella pneumoniae* durch die positive Indolreaktion. [1]

In den vergangenen Jahren wurden weitere Arten mit bisher ungeklärter medizinischer Bedeutung beschrieben:

- ***Klebsiella terrigena*** (lat./gr. von der Erde entstehend) wurde bisher fast ausschließlich in Umweltmaterial nachgewiesen.
- ***Klebsiella planticola*** (lat. Pflanzen bewohnend) überwiegend auf Pflanzen, nur ausnahmsweise in klinischem Untersuchungsmaterial
- ***Klebsiella Gruppe 47*** ein klinisch bedeutungsvolleres, wenn auch bisher nur selten diagnostiziertes Indol- und ODC-positives Taxon, das wahrscheinlich als Biovar von *Klebsiella planticola* anzusehen ist. [1]

***Klebsiella pneumoniae*:**

Morphologie: Gram-negativ, unbegeißelt, unbeweglich, Polysaccharidkapsel, 11O- und 82K- Antigene, keine Hämolyse.

Kultureller Nachweis: Ösentest 2-3 cm spinnbare Kolonien, biochemisch: Lactose positiv; Biochemische Differenzierung

Pathologie: fakultativ pathogener natürlicher Bewohner des Darmtraktes, macht 10% aller nosokomialen Infektionen aus (v.a. bei Prädisponierten),

Virulenzfaktor: antiphagozytäre Kapsel

Klinik: Friedländer Pneumonie (3% aller bakteriellen Pneumonien), Lungenabszesse, Pleuritis, Bronchitis, Sinusitis, Mastoiditis, Otitis, Husten, Auswurf, Fieber Cholezystitis, HWI, Wundinfektionen, Meningitis, Endocarditis, Osteomyelitis und Septikämie.

Mikroskopie:

Im Original- und Primärkulturpräparat meist plumpe, kokkoide Gram-negative Stäbchen. Bei Zugabe von spezifischem Kapsel-Antiserum zu frischem Kulturmateriel kommt es zur Präzipitation an der Kapseloberfläche wodurch diese sichtbar wird, ohne sie zu vergrößern

(sogenannte Quellungsreaktion). Mit dieser Methode lässt sich die serologische Typisierung durchführen. [1]

Isolierung:

Die Isolierung erfolgt in der Regel auf Blut- oder Endo-Agar. Die bekapselten Klebsiellen Arten sind an ihren schleimigen, halbkugeligen Kolonien zu erkennen; auf Indikatornährböden führt die meist vorhandene Lactose-Saccharose-Vergärung zum Farbumschlag, der allerdings bei starker Kapsel- bzw. Schleimbildung schwach ausgebildet sein kann.

Differentialdiagnostisch müssen schleimig wachsende *E. coli*- oder *Enterobacter*-Stämme unterschieden werden. [1]



Photo eines auf Blutagar
ausgestrichenen
Klebsiella pneumoniae
Isolates

Identifizierung:

Die medizinisch bedeutsamen Klebsiellen sind kapselbildend und unbeweglich.

Für epidemiologische Zwecke werden mittels Quellungsreaktion serologisch derzeit 82 definierte Polysaccharid-Kapsel-(K-)Antigene unterschieden, die speziesübergreifend bei allen bekapselten Klebsiellenarten auftreten können.[1] Nach Orskov werden bei Infektionen des

Respirationstraktes meist die Kapseltypen 1-6 nachgewiesen; bei Pneumonien überwiegt Typ 1 vor Typ 2 und Typ 3. *Klebsiella rhinoskleromatis* gehört zum Kapseltyp 3, bei *Klebsiella ozaenae* werden meist die K-Typen 4-6 nachgewiesen, Abgesehen von Typ 2 sind die Harnwegsinfektionen meist Kapseltypen oberhalb Typ 6 beteiligt. Typ 68 ist häufig bei *Klebsiella oxytoca* anzutreffen.

Die Bestimmung der 11 definierten O-Antigene wird seltener durchgeführt. Es bestehen Antigengemeinschaften mit O-Antigenen von *E.coli*. [1]

Differenzierung der medizinisch wichtigen *Klebsiella*-Arten (nach Ewing 1986)

	Hst	Ind	MR	VP	Zit	Gel	Mao	Muk	LDC	Pek	Azt	Glu	ONPG	Dul
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	d(11)	+	+	+	+	+	+	-	d(75)	+	+	d(35)
<i>Klebsiella ozaenae</i>	d(15)	-	+	-	d(28)	-	-	d(25)	d(36)	-	-	d(56)	d(80)	-
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	d(33)	+	+	d(64)	+	+	+	+	+	+	+	d(53)

Bebrütung 48 Stunden bei 36°C.

+: ≥ 90 % positiv, -: ≤ 10 % positiv

d: 11-89 % positiv, Angabe positiver Reaktionen (%) in Klammern

[1]

Reaktionsenzyme der oben angegebenen Abkürzungen: Ind=Indol-Bildung; MR= Methylrot; VP= Acetoinbildung (Voges Proskauer); ZIT=Citrate; Gel=Gelatinase; Mao=Matonate Utilisation; LDC= Lysin DeCarboxylase; Glu= Glukose; ONPG= Ortho-Nitrophenyl- β -D-Galaktopyranosidase; Dul= Dulcitol Fermentation

Reaktionen der Unterscheidung der *Klebsiella-pneumoniae*-/*oxytoca*-Gruppe von *Klebsiella terrigena* und *planticola* (nach Farmer u. Mitarb. 1985)

Wachstum und Glucoseabbau bei

	Ind	ODC	5°C	10°C	41°C	44,5°C
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	-	+	+	d
<i>Klebsiella terrigena</i>	-	-	+	+	-	-
<i>Klebsiella planticola</i>	d	-	+	+	+	-
<i>Klebsiella Gruppe 47</i>	+	+	+	+	+	-

+: ≥ 90 % positiv, -: ≤ 10 % positiv; d: 11-89 % positiv

Reaktionsenzyme der oben angegebenen Abkürzungen: Ind: Indol-Bildung; ODC Ornithin DeCarboxylase

[1]

1.2 Grundlagen der untersuchten Resistenzmechanismen

1.2.1 Resistenz

Definition:

Eine Bakterienresistenz liegt vor, wenn Bakterien in Anwesenheit therapeutisch relevanter Konzentrationen eines Chemotherapeutikums (Antibiotikums) ihre Vermehrung nicht einstellen. Sie sind gegenüber der Wirksubstanz unempfindlich.[6]

Ursachen für Resistenzen:

- Natürliche Resistenz:

Der Wirkmechanismus eines bestimmten Antibiotikums kommt nicht zum Zuge, da die natürlichen, genetisch fixierten Eigenschaften des Bakteriums keinen Angriffspunkt für das Antibiotikum bieten. Es handelt sich also um eine bekannte, immer vorhandene Überempfindlichkeit, die bei der Therapie zu berücksichtigen ist.

In jeder Bakterienpopulation existieren einzelne Individuen, die durch natürliche, zufällige, sehr seltene, aber immer vorhandene Mutationen gegen bestimmte Wirkmechanismen von Antibiotika resistent geworden sind. Es besteht dabei kein Zusammenhang zwischen vorausgegangenen oder bestehenden Therapiemaßnahmen. Diese sogenannten „Persister“ entwickeln sich unter einer Antibiotikatherapie aufgrund eines Selektionsvorteils und werden zu einem therapeutischen Problem.[6]

- Erworbene (übertragene, sekundäre) Resistenz

Die sekundäre Resistenz steht im Zusammenhang mit der Antibiotikatherapie. Neben dem bereits oben angesprochenen Resistenzmechanismus spielt hier der Austausch des genetischen Materials zwischen einzelnen Bakterien eine wichtige Rolle. Resistenz-Transfer-Faktoren, auch *Plasmide* genannt, sind DNA-Elemente, die sich außerhalb des Nukleotids in der Zelle befinden und die Information für Antibiotikaresistenz tragen. [6]

Plasmide:

Diese extrachromosomalen Elemente, liegen in der Bakterienzelle als „autonome“, ringförmig angeordnete, doppelsträngige DNA- Moleküle vor. Sie kodieren für Eigenschaften, die dem Bakterium Selektionsvorteile verschaffen können.

Plasmide können von einer Zelle zur anderen übertragen werden.

Man unterscheidet:

- 1) Plasmide (selbst übertragbar), die die Wirtszelle in einen Donorzustand versetzten (z.B. F-,U-, R-Faktoren) und einen Mechanismus für die Konjugation mit einer Rezeptorzelle vermitteln. Plasmide können dabei chromosomale DNA des Wirts oder andere Plasmid-DNA mitübertragen.
- 2) Nichtinfektöse Plasmide (nicht selbst übertragbar), die zum Austausch einen Transferfaktor eines transduzierenden Bakteriophagen benötigen.

Manche Plasmide liegen nur in einer Kopie, andere in bis zu 50facher Kopie pro Zelle vor. [7]

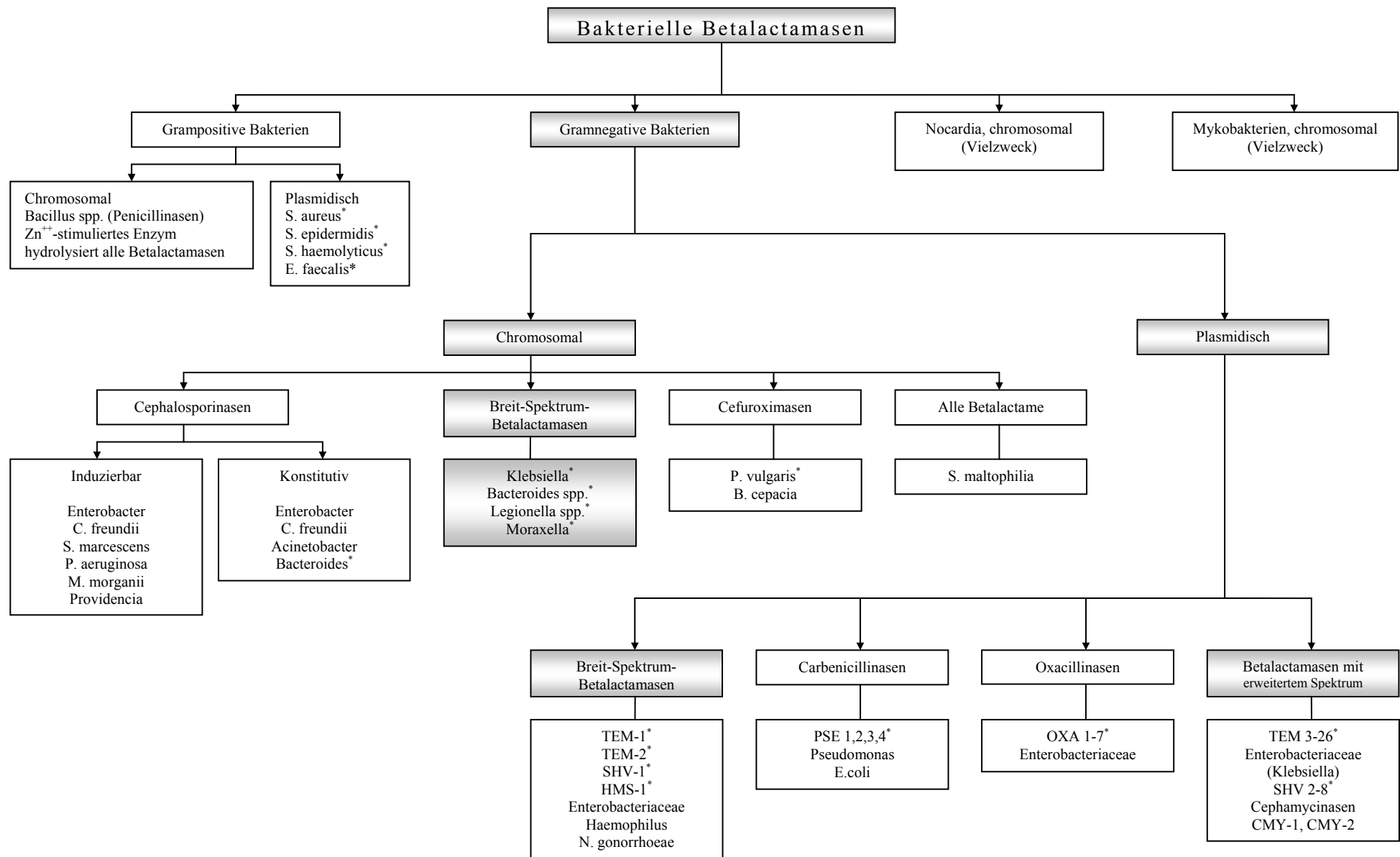
- Induzierte Resistenz:

Alle gramnegativen Stäbchenbakterien (außer *Salmonella*) besitzen zumindest eine chromosomal kodierte Information für eine Betalactamase. Nur wenige Bakterien exprimieren dieses Gen konstitutiv und sind somit von vornherein gegen die meisten Betalactamantibiotika resistent. Unter einer Therapie mit diesen Antibiotika, wenn diese z.B. unzureichend dosiert sind, können nach und nach auch bis dahin empfindliche Bakterien ohne neue Resistenzgene ihren Resistenzphänotyp ändern.

Die Produktion plasmidkodierter Betalactamasen unterliegt nicht der Regulation durch das Chromosom. Solche Enzyme werden also ständig produziert, und zwar in großer Menge, ganz besonders wenn das Plasmid in mehrfacher Kopie in der Bakterienzelle vorliegt.[6]

1.2.2 Betalactamasen

Sind bakterielle Enzyme, die den Betalactamring hydrolytisch öffnen können (oftmals durch Penicillin selbst induzierte Penicillinasen). Betalactam-Antibiotika verlieren dadurch ihre antibakterielle Aktivität. Betalactamasen werden in den meisten Bakterien (s. Tabelle auf Seite 9) in niedrigen Konzentrationen nachgewiesen. Sie werden charakterisiert und klassifiziert nach ihrem Substratspektrum (den Betalactam-Antibiotika die von einer bestimmten Betalactamase hydrolysiert werden), der Verminderung ihrer Aktivität durch Betalactamase-Inhibitoren, der Lokalisation ihres Gens (bla-Gen) auf dem Bakterien-Chromosom oder auf einem extrachromsomalen Plasmid, ihrem isoelektrischen Punkt (z.B. TEM-Betalactamasen, SHV-Betalactamasen), den Spezies, bei denen sie häufig auftreten, der Induzierbarkeit ihrer Synthese (induzierbar sind zumeist nur chromosomale Betalactamasen, während plasmidische konstitutiv produziert werden – ausgenommen die Penicillinasen bei Staphylokokken), ihrer Aminosäuresequenz, u.a. Betalactamasen als Ursache der Resistenz finden sich sowohl bei grampositiven als auch bei gramnegativen Erregern. Bei letzteren ist die Vielfalt sehr viel größer. In den letzten Jahren sind neue plasmidische Betalactamasen nachgewiesen worden, die insbesondere *Klebsiella pneumoniae* gegen Cephalosporine auch neuer Generation, Cephamycine eingeschlossen, und Aztreonam resistent werden lassen.[3]



*Enzyme werden durch Clavulansäure, Sulbactam und Tazobactam gehemmt.
Nach Neu (1992), verändert

1.2.2.1 SHV Betalactamasen

(Sulf-Hydryl-Variable, durch Parachlorimercurobenzoat, einem Inhibitor von Sulfhydrylgruppen unterschiedlich hemmbare Betalactamasen: Hydrolyse von Cephaloridin komplett gehemmt, Hydrolyse von Benzylpenicillin nicht gehemmt.) Gruppe von Betalactamasen, die sowohl Penicilline als auch Cephalosporine hydrolysieren (Breitspektrumbetalactamasen) und deren Gene auf R-Faktoren (=Resistenzfaktor) lokalisiert und damit übertragbar sind, kommen bevorzugt in der Gattung *Klebsiella* vor. Seit 1983 weltweites Auftreten neuer SHV Enzyme mit erweitertem Breitspektrum (EBS), welche auch Antibiotika mit einer Oximino-Gruppe (z.B. Cefotaxim, Ceftazidim, Aztreonam) spalten (s.Tabelle), durch Mutation aus älteren SHV Betalactamase-Genen (SHV-1, SHV-2) entstanden. Beispielhaft sind einige aufgeführt [4]:

Betalactamasen	Isoelektrischer Punkt	MHK ¹ (mg/l) gegenüber			Vorkommen (Land, Spezies)
		Cefotaxim	Ceftazidim	Aztreonam	
SHV-1	7,6	0,13	1	0,5	Schweiz, E.coli (1974,P ²)
SHV-2	7,6	64	32	32	Deutschland, E.coli (1983,P) Deutschland, K. oxyt. (1983,P)
SHV-3	7,0	64	32	32	Frankreich, K. pneum. (1988,P)
SHV-4 (CAZ-5)	7,8	128	128	256	Frankreich, K. pneum. (1988,P)
SHV-5 (CAZ-4)	8,2	64	128	256	Chile, K. pneum. (1987,I ²) Frankreich, K. pneum. (1988,P)
SHV-6	7,6	0,5	32	4	Deutschland, K. pneum. (1990,I) Frankreich, K. pneum. (1991,P)

¹ von Transkonjuganten

² erste Isolierung (I) oder Publikation(P)

[4]

1.2.2.2 TEM Betalactamasen

Plasmidische Betalactamasen kommen bei *Enterobacteriaceae*, *Neisseria*, *Haemophilus* vor. Derzeit sind 135 verschiedene TEM-Betalactamasen bekannt. Benannt nach *Temoniera*, einer griechischen Patientin, von welcher ein *E.coli* Stamm isoliert wurde, bei dem ein Enzym mit breitem Spektrum (sowohl Penicilline als auch Cephalosporine hydrolysierend) identifiziert wurde. TEM-Enzyme sind plasmid kodiert, die genetische Information ist also übertragbar (R-Faktoren, z.B. Plasmid pMUC, welches das Gen blaT-6 für die Synthese der Betalactamase TEM-6 trägt). Bis Anfang der 80er Jahre bestand die TEM Enzymreihe nur aus den Betalactamsen TEM-1 und TEM-2. Seither sind weltweit neue Enzyme des TEM-Typs nachgewiesen worden (s.Tabelle Seite 58/59), entstanden durch Mutationen in TEM Genen. Der therapeutisch bedeutsamste Unterschied zu TEM-1 ist die Verbreiterung des Spektrums hydrolysierbarer Betalactamasen unter Einschluß der meisten Oximino-Gruppen (z.B. Cefuroxim, Cefotaxim, Ceftazidim, Aztreonam). Enzyme dieses Typs (auch SHV-Betalactamasen) werden, aufgrund ihres erweiterten Breitspektrums, als Extended Spectrum Betalactamasen (ESBL) bezeichnet. Sie sind Ursache dafür, daß in einzelnen Regionen, z.B. Frankreich oder Argentinien, zwischen 10 und 20% der Infektionen mit Klebsiellen nicht mehr mit den genannten Antibiotika behandelt werden können [5].

TEM-Betalactamasen					
Betalactamase	isoel. Punkt	MHK ¹ (mg/l) gegenüber			Vorkommen (Land, Spezies)
		Cefotaxim	Ceftazidim	Aztreonam	
TEM-1	5,4	0,13	0,25	0,13	Griechenland, E. coli (1963, I) ²
TEM-2	5,6	0,13	0,5	0,25	England, P. aerug. (1969, I)
TEM-3 (CTX-1)	6,3	32	64	16	Frankreich, K. pneum. (1987, P)
TEM-4	5,9	32	32	16	Frankreich, E. coli (1987, P) Deutschland, E. coli (1990, I)
TEM-5 (CAZ-1)	5,55	4	128	8	Frankreich, K. pneum. (1987, P)
TEM-6	5,85	1	128	64	Deutschland, E. coli (1987, P)
TEM-7 (CTZ-1)	5,41	0,5	64	2	Frankreich, C. freundii (1988, P)
TEM-8 (CAZ-2)	5,9	0,5	32	4	Frankreich, E. coli (1988, P)
TEM-9 (RHH-1)	5,5	2	128	128	England, K. pneum. (1987, P)
TEM-10	5,57	1	64	32	USA, K. pneum. (1989, P)
TEM-11 (CAZ-10)	5,7	0,06	4	0,25	Belgien, K. pneum. (1989, P)
TEM-12	5,25	0,06	4	0,25	USA, E. coli (1987, P)
TEM-13	5,6	4	16	0,5 (WT)	³ M. morganii (1990, P)
TEM-14	6,3	8	8	1	K. pneumoniae (1990, P)
TEM-15	6,0	1	8	0,5	K. pneumoniae (1990, P)
TEM-16	6,3	1	4	0,5	K. pneumoniae (1990, P)
TEM-17	5,9	64	64	64 (WT)	K. pneumoniae (1990, P)
TEM-18	6,3	0,5	2	0,5	K. pneumoniae (1990, P)
TEM-19	5,4	0,06	4	0,13 (WT)	E. coli (1990, P)

¹ von Transkonjuganten oder Wildtypen (WT)

² erste Isolierung (I) oder Publikation (P)

³ Stämme, die diese Enzyme produzieren, wurden in Frankreich, Belgien, England, Chile und Deutschland isoliert, aber das genaue Ursprungsland wurde nicht beschrieben.[5]

1.2.3 Integrone

Integrone und die Verbreitung von Resistenzgenen unter Bakterien: Mutationen im bakteriellen Chromosom führen im allgemeinen zur Resistenz gegenüber nur einem Antibiotikum. Mutationen, die zur chromosomal vermittelten Resistenz gegenüber zwei Antibiotika mit verschiedenen Resistenzmechanismen führen, sind sehr selten. Chromosomale Resistenz bleibt zumeist auf das Bakterium, in dem das Mutationsereignis eingetreten ist und dessen folgende Generationen (vertikale Resistenzweitergabe) beschränkt. Durch die Übernahme von Resistenzgenen (horizontale Resistenzweitergabe) können Mikroorganismen auch resistent werden gegenüber Antibiotika. Dies kann erfolgen durch Aufnahme von DNA ohne Zellkontakt, entweder in freier Form (Transformation) oder als Teil eines Bakteriophagenoms (Transduktion), bzw. im Anschluß an Zellkontakt (Konjugation).

Vorraussetzung für den gleichzeitigen Transfer mehrerer Resistenzgene ist deren extrachromosomale Lokalisation auf Plasmiden, welche Gene für Resistenzen gegenüber den verschiedenen Antibiotika tragen können. Antibiotikaempfindliche Wildtypstämme werden durch Aufnahme derartiger Resistenzfaktoren resistent und gleichzeitig ihrerseits zu potentiellen Überträgern. Die Plasmide können auf Stämme der Spezies oder Genera übertragen werden [8], (siehe auch unter Grundlagen-Resistenz).

Integrone sind genetische Elemente, die nicht selbst mobil sind, aber Genkassetten (s.u.) mit potentiell mehreren hintereinander liegenden Resistenzgenen in ihrer Struktur aufnehmen können. Sie können mobilisiert und in anderen Integrone, Plasmiden oder in das Bakterienchromosom eingebaut werden. Auf diesem Weg kann eine schnelle Resistenzausbreitung erfolgen.

Definition Integron:

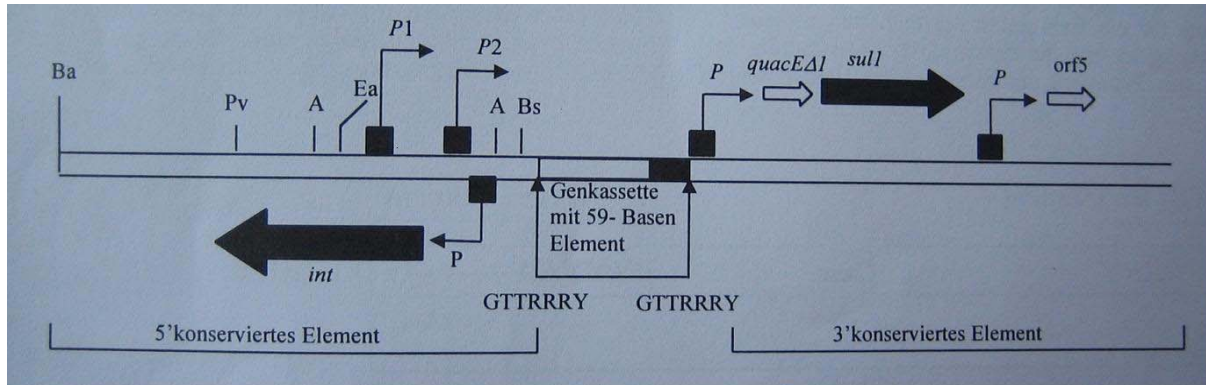
Viele vermittelte Antibiotikaresistenzen werden über Genkassetten übertragen. Darunter versteht man kleine mobile Elemente, die oft in Ringform vorliegen. Für die Expression dieser Gene fehlt ihnen allerdings

die enzymatische Ausstattung in Form eines Promotors und eines replizierenden Enzyms (Integrase). Resistenzgene im Bakteriengenom werden häufig von zwei hochkonservierten Regionen flankiert. Die Regionen stimmen mit den charakteristischen Bestandteilen von Genkassetten überein. Aus diesen Beobachtungen entwickelten Hall und Collis eine allgemeine Integronddefinition. Danach ist ein Integron jede zusammengehörige genetische Einheit, die über eine spezifische Rekombinationsschnittstelle für den Einbau von Genkassetten und die Enzymausstattung für die Replikation der jeweiligen Gene verfügt.

Eine Integrase katalysiert die Rekombination von Genkassetten. Sie wird durch die *int*-Sequenz codiert, die der Steuerung eines Promotors P_{ANT} unterliegt. Der Promotor P1 oder P_{ANT} befindet sich innerhalb des 5'-konservierten Segmentes (CS), welches auch für die Transskription der Antibiotika Resistenzgene verantwortlich ist. In einigen Fällen wurde ein zweiter Promotor P2, beschrieben, der beobachtet wurde wenn P_{ANT} eine schwache Bindung zeigte. In diesem Fall kann P2 zum Hauptpromotor werden. Von Promotor P1 in der 5'-CS existieren drei Versionen: Ein P1 mit schwacher Aktivität, ein starker Promotor und eine Hybrid-Version. Einige Integrone mit schwachem P1 weisen einen zweiten Promotor auf. Dies hat potentiell Konsequenzen für die Expression der in den Integrone enthaltenen Genkassetten. Die relative Aktivität des Promotors kann die Menge an transkribierter mRNA für die in den Genkassetten enthaltenen Resistenzgene beeinflussen. Auch die Position des Gens könnte bei mehreren Resistenzgenen in einem Integron insofern von Bedeutung sein, als das jedem Gen nachgeschaltete 59-Basen Element potentiell als Terminationssequenz dienen kann.

Mit Hilfe der 5'-CS-3'-CS Primer (Sequenz siehe Material und Methoden) kann die Präsenz von Integrone in Bakterienstämmen überprüft werden. Weiterhin ist die Bestimmung der Integrone Länge von Bedeutung, da hier Rückschlüsse auf die in den Genkassetten befindlichen Gene möglich sind. Wird zusätzlich mit dem 3'-CS noch ein Int_2F Primer (Sequenz siehe Material und Methoden) eingesetzt, so ist die generelle Strukturaufklärung des Integrone wahrscheinlich. Die Int_2F -Region lässt sich strangaufwärts von der 5'-CS Region nachweisen. So kann zusätzlich

eine Aussage über die in dem Integron enthaltene Genkassette getroffen werden, ist das 59-Basenpaar-Element und das Resistenzgen vorhanden oder vielleicht sogar deletiert.



Typische Struktur eines Integrans der Klasse 1; Restriktionsschnittstellen: A: *Ava*I; Ba: *bam*HI; Bs: *Bst*UI; Ea: *Eag*I; Pv: *Pvu*II; P, P1-P2: Promotoren; *quacEΔ1*, *sull*: typische Resistenzgene im Bereich des 3'CS; *orf5*: Open reading frame 5; *int*: Integrase

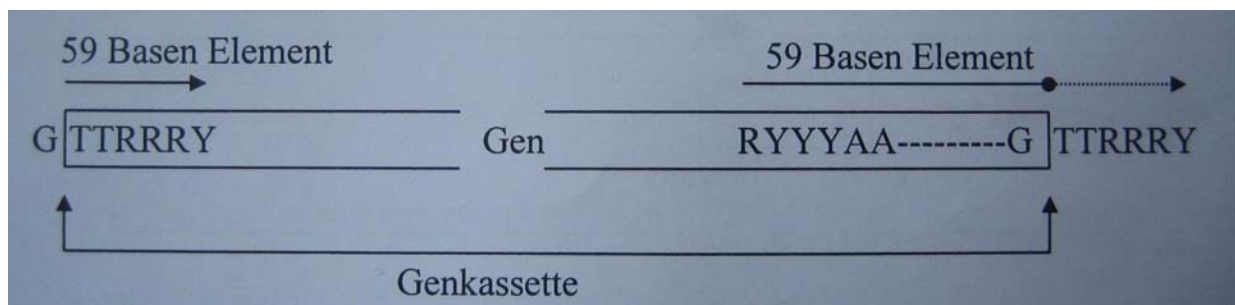
Bestandteile von Genkassetten:

Genkassetten enthalten eine Basensequenz, die ein Resistenzgen oder einen offenen Leserahmen (ORFs) codiert. Die Funktionen der Genprodukte der publizierten sechs ORFs sind nicht bekannt.

Alle 59 bekannten Genkassetten zeigen einen analogen Aufbau: Die kodierende Sequenz wird sowohl am 3'-Ende als auch am 5'-Ende von Teilen des 59-Basen Elementes flankiert. Nur bei der nicht in ein Integron eingebauten Ringform der Genkassette findet sich ein ungeteiltes 59-Basen Element. Kommt es zum Einbau einer Genkassette, dienen die beiden Enden des geteilten 59-Basen Elements als spezifische Anheftungsregion. In 5'-Richtung bindet die sogenannte Core Region, bestehend aus der Sequenz GTTRRRY an die *att*I Schnittstelle des Integrans. Der Kontakt zu der Schnittstelle wird über die Integrase katalysiert. In 3'-Richtung endet die Genkassette mit einer inversen Core Region auf die Sequenz RYYAAC---G. Wird nur eine einzige Genkassette eingebaut, schließt sich weiter in 3'-Richtung das andere Integronende mit der Sequenz TTRRRY an.

Sind mehrere Gene vorhanden, verfügt jedes davon über sein eigenes 59-Basen Element. In diesem Fall schließt die nächste Insertionskassette

am 3'-Ende des 59-Basen Elementes der ersten Kassette an. Integrons enthalten nicht immer Genkassetten. Da Genkassetten als mobile genetische Elemente ohne enzymatische Ausstattung für die Expression der enthaltenen Gene zu sehen sind, bildet erst die enzymatische Ausstattung des Integrons mit Promotor und Integrase den vollständigen Rahmen für eine Expression der enthaltenen Resistenzgene.



Schematischer Aufbau einer Genkassette und ihres zugehörigen 59-Basen Elementes modifiziert nach Hall et al.

Integrons sind in der Lage, Resistenzgene in den Wirtsorganismus einzuschleusen, soweit sie dort eine entsprechende Anheftungsregion vorfinden. Hierbei bindet die Anheftungsregion der Resistenzgene an eine passende spezifische Anheftungssequenz innerhalb der Genkassetten.

Die Verbreitung von Genkassetten findet in Ausnahmefällen auch ohne Integrons statt, wie sich am Beispiel einer *aadB*-Kassette für *Actinetobacter* zeigen ließ [10]. Die Insertionskassetten können auch ohne die Unterstützung einer Integrase unspezifisch eingebaut werden, die Expression kann aber nur stattfinden, wenn ein entsprechender räumlich richtig orientierter Promotor vorhanden ist.

Für die Resistenzentwicklung gegenüber Antibiotika ist vor allem die Möglichkeit bedeutsam, mehrere der ungebundenen Genkassetten-Ringform aufzunehmen und in beliebiger Reihenfolge innerhalb des Integrons anzuordnen. Dabei kann es zur Fusion zwischen zwei Genkassetten kommen. Durch diesen Vorgang können sowohl neue Anordnungen von Resistenzgenen entstehen, als auch neue Operons gebildet werden [11].

Integronherkunft und Verbreitung:

Eine Erklärung für die Verbreitung könnte darin bestehen, dass Integrone zwar selbst keine mobilen genetischen Einheiten sind, aber manchmal Bestandteil von Transposons sein können. Transposons verfügen über die Fähigkeit, sich aus einem Plasmid in ein anderes zu integrieren. Es gibt Kontrollmechanismen dafür, wie häufig Transposons in einem Plasmid auf ein anderes oder in ein Ringchromosom transponieren. Transposons dienen in diesem Verständnis als nächst größere Trägereinheit genetischer Information, die ihrerseits in Plasmide integriert und verarbeitet werden können [13].

Nach *Fluit et al.* gibt es Hinweise für die Abstammung der Integrone von den Transposons [12].

Die Bedeutung von Integrone wird zukünftig nicht nur in der Verbreitung von Antibiotikaresistenzgenen und der Entstehung neuer Rekombinationen und Mutationen des Integrone liegen. Auch das Ausbleiben des zu erwartenden Rückgangs resistenter Bakterien nach Einstellung des Antibiotikaeinsatzes für die betroffene Substanzgruppe kann auf Integrone zurückgeführt werden. Weitere Untersuchungen müssen in Zukunft darüber Aufschluss geben, welche Bedeutung Integrone für die Entwicklung und Verbreitung von Antibiotikaresistenzen haben [13].

1.3 Ziel der Arbeit

Aufgabenstellung ist es die internationalen Stammkulturen der SENTRY Studie (Antimicrobial Surveillance programme, internationale Kollektion der Jahre 1998-2001, aus 48 europäischen und weiteren internationalen Ländern [aus Deutschland Beteiligung der Universitätskliniken Düsseldorf und Freiburg], Isolate aus dem Blut, aus Wundabstrichen, aus dem Respirationstrakt und dem Uro-Genitaltrakt) und die klinischen Stammkulturen aus Deutschland (nationale Kollektion aus dem Nationalen Referenzzentrum für Klebsiellen in Kiel) auf das Vorkommen der Gene SHV und TEM zu untersuchen, anschließend aufzureinigen und zu sequenzieren.

Im weiteren Verlauf sollen die Klebsiellenisolate der internationalen SENTRY Studie auf das Vorkommen und die Länge der Integrone 3'CS-5'CS und 3'CS-Int₂F gescreent werden.

Anschließend sollte der Resistenzphänotyp für diese Isolate ermittelt werden und dem Vorliegen von Integrone gegenübergestellt werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Materialien

2.1.1 Geräte

Autoklav	Westima-Sauter
Elektrophoresekammern (u. Zubehör)	BioRad
Spannungsgerät	BioRad
Analysewaage und Grobwaage	Sartorius
Thermocycler	Perkin-Elmer
DNA Sequenzer	377 ABI Prism
Vortexer	Witeg elektrik
Sterilbank	Bio Garhood



← Thermocycler der Firma Perkin Elmer

Pipetten	Eppendorf, Gillson
Mehrkanalpipetten	BioHit, ProLine, Finn
Multipipetten	Eppendorf, Gillson
Glasgeräte	Schott
Petrischalen	Greiner

Mikrotiterplatten (96 Loch Platten, gerade Bodenform)	Greiner
Mikrobank	Pro-Lab
Tischzentrifuge	Heraeus
Thermomixer	Eppendorf
Mikrowelle	Moulinex
Plastik- und Einwegartikel, wie z.B. Reaktionsgefäße stammten von den Firmen Greiner, Biozym, Eppendorf und Perkin Elmer	

2.1.2 Chemikalien

2.1.2.1 Feststoffe, Puffer und Lösungen

Ethidiumbromidlösung (Konz.: 10mg/ml)	BioRad
Agarose Ultra Pure	Fluka
Agar	Fluka
Ethanol	Riedel de Häen
EDTA	Sigma
Borsäure	ICN Biomedicals INC.
Tris	Merck
NaCl	Merck
Glucose	Merck

1 kB-Marker	
1 kB Marker von Life Technologies	100 µl
Bluemarker	150 µl
Glycerin	350 µl
Wasser	400 µl

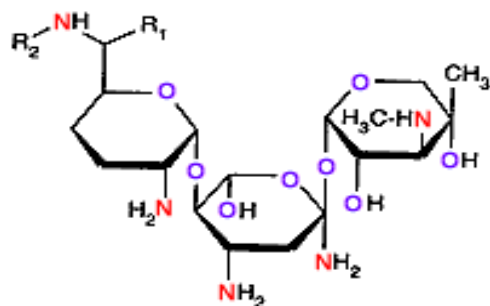
Tris - Base - EDTA - Puffer (TBE - Puffer) 10 - fach	
Tris-Base [Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan]:	108 g
Borsäure [B(OH ₃)]:	55 g
0,5 M Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA, pH 8):	40 ml
Auffüllen mit einem Liter Wasser	1 l

Bluemarker (6 x conc. Gelladungspuffer) (Gibco BGL)	
Bromphenolblau (0,25 % w/v) = BPB	
Xylenecyanole FF (0,25 % w/v)	
Sucrose (40 % w/v)	
mit Glycerin 1 : 1 verdünnt	

2.1.2.2 Antibiotika

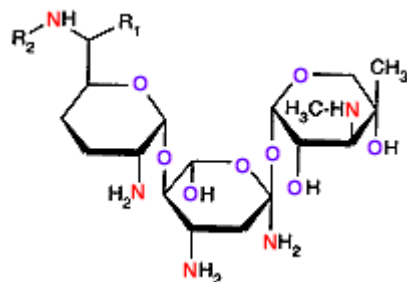
Antibiotikatestplättchen	Becton Dickison
--------------------------	-----------------

Gentamicin (CN), chemische Strukturformel:

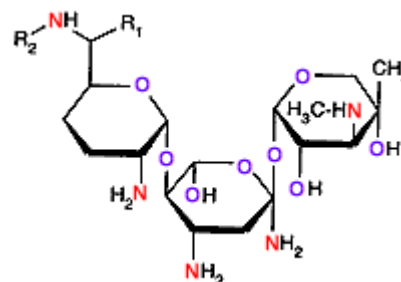


Tobramycin (TOB)

Amicacin (AN), chemische Strukturformel:



Trimethoprim (SXT), chemische Strukturformel:



2.1.2.3 Fertigkits

Expand High Fidelity PCR System	Roche
PCR Nucleotide-Mix	Roche
PCR-Purifications-Kit	Qiagen
Mikrobank	Roche
Micronaut-S-MHK Platten Zur ESBL Detektion	Merlin
ABI Prism TM Ready-Reaction-Dye-Terminator-Cycle Sequencing-Kit	Perkin Elmer
Terminator Ready Rxn-Mix (Sequenziermix)	Perkin Elmer

2.1.2.4 Primer

Die Primer wurden bei der Firma INVITROGEN life technologies hergestellt.

TEM:

SHV(A): 5' zu 3': ATA AAA TTC TTG AAG ACG AAA

SHV(B): 5' zu 3': GAC AGT TAC CAA TGC TTA ATC A

SHV:

SHV(C): 5' zu 3': GGG TTA TTC TTA TTT GTC GC

SHV(D): 5' zu 3': TTA GCG TTG CCA GTG CTC

5'CS:

5' zu 3': GGC ATC CAA GCA GCA AG

3'CS:

5' zu 3': AAG CAG ACT TGA CCT GA

Int₂F:

5' zu 3': TCT CGG GTA ACA TCA AGG

2.1.3 Bakterien

Die uns vorliegenden Bakterienstämme stammen aus der SENTRY Studie und kommen aus den Herkunftsländern die in der Gesamtübersicht der Bakterienstämme angegeben sind.

2.1.4 Nährmedien

Blutagar	
Setzt sich zusammen aus Mueller Hinton-Agar mit einem Zusatz von 100 ml Schafsblut. Die Platten kamen bei der Anzucht der Klebsiellenisolate zum Einsatz.	

Mueller - Hinton - Boullion	
Rindfleisch, getrocknetes Extrakt aus 300 g:	2 g/l
Caseinhydrolysat:	17,5 g/l
Stärke:	1,5 g/l

Mueller - Hinton - Agar	
Rindfleisch, getrocknetes Extrakt aus 300 g:	2 g/l
Caseinhydrolysat:	17,5 g/l
Stärke:	1,5 g/l
Agar:	17 g/l
pH:	7,4 ± 0,2

Trypton - Soja - Boullion (TSB)	
Trypton:	17 g/l
Sojamehlpepton:	3 g/l
D - Glucose:	2,5 g/l
Fand Anwendung zur Herstellung von Übernachtskulturen, z.B. bei resistenzvermittelten Versuchen.	

2.2 Methoden

2.2.1 Allgemeine Methoden

2.2.1.1 Sterilisation

Alle verwendeten Reaktionsgefäße, Pipettenspitzen und Medien wurden bei 1,2 bar Überdruck und 121°C 20 Minuten in gespannter Wasserdampfdruckatmosphäre autoklaviert. Thermolabile Zusätze wie Antibiotika wurden nach dem Autoklavieren sterilfiltriert und zugesetzt. Glasgeräte wurden nach dem Spülen für 8 Stunden in einem Trockenschrank bei 160°C erhitzt und so sterilisiert.

2.2.1.2 Bakterienkonservierung



Die gewachsenen Bakterien sind auf den Agarplatten nur kurze Zeit lebensfähig. Um diese dauerhaft zur Verfügung bereit zu halten, wurden einzelne Kolonien der *Klebsiellen* isolate auf MikrobankTM gebracht. Dieses System ermöglicht die Aufbewahrung der Bakterien bei minus 70 bis minus 273°C über mehrere Jahre. Die Mikrobank ist ein steriles Kryogefäß mit einem speziellen Kryomedium und 25 Keramikugeln. Die Kugeln weisen durch eine spezielle Säurebehandlung eine poröse Oberfläche auf, an die sich die Mikroorganismen binden. Diese Keramikugeln dienen so als Träger und erleichtern wesentlich die Lagerung und Kultivierung verschiedenster Mikroorganismen.

Durchführung:

Von einer Agarplatten-Kultur wird eine Einzelkolonie entnommen und in das Röhrchen überführt. Dies wird verschlossen und ein paar mal umgeschwenkt. Das Kryomedium wird mit einer 1 ml Pipette abgezogen. Zum Ansetzen einer gewünschten Kultur bedient man sich nun der MikrobankTM, entnimmt eine Keramikugel und rollt diese auf einer

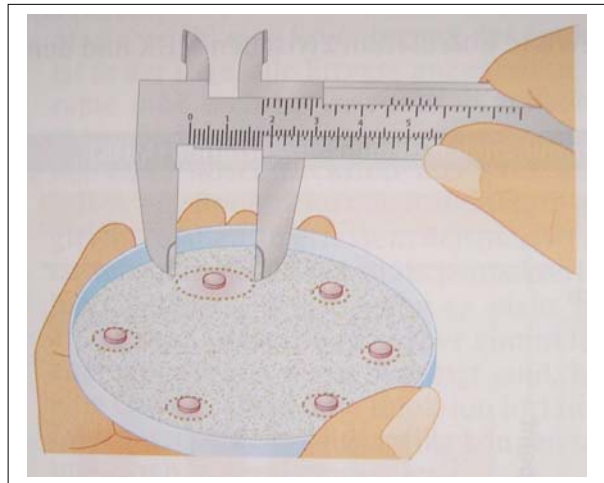
Agarplatte aus oder gibt sie in ein Reagenzgefäß mit Nährmedium, zur Erstellung einer Übernachtskultur.

2.2.1.3 Agardiffusionstest

Dieser Test ist eine semiquantitative Methode zur Bestimmung der Empfindlichkeit von Bakterien gegen Antibiotika. Er ermöglicht nach DIN 58940 die Einstufung der Bakterien in resistent, intermediär-resistent und sensibel gegen das verwendete Antibiotikum. Intermediär-resistent bedeutet, daß das Resistenzgen zwar genotypisch vorhanden ist, die Resistenz aber phänotypisch nicht vollständig ausgeprägt ist.

Durchführung:

Aus einer über 24h bei 37°C bebrüteten Übernachtskultur des zu testenden Stammes werden 0,5 ml entnommen und auf einer Mueller-Hinton-Agarplatte ausgestrichen. Der Überstand wird verworfen. Nach kurzem Eintrocknen werden Antibiotika-Papierplättchen, mit einer definierten Konzentration, auf die beimpfte Platte gelegt. Das Antibiotikum kann so diffundieren und es entsteht ein Konzentrationsgefälle. Die Platte wird über 24h bei 37°C bebrütet. Solange die Wirkstoffkonzentration ausreicht, wird das Wachstum der Bakterien gehemmt und es bildet sich eine Zone ohne Keimwachstum. Sobald aber die Konzentration unter einen kritischen Wert sinkt, können sich die Bakterien wieder vermehren. Der Durchmesser der Hemmzone steht in einem linearen Verhältnis zur MHK und wird unter zur Hilfenahme eines Meßschiebers ausgemessen.



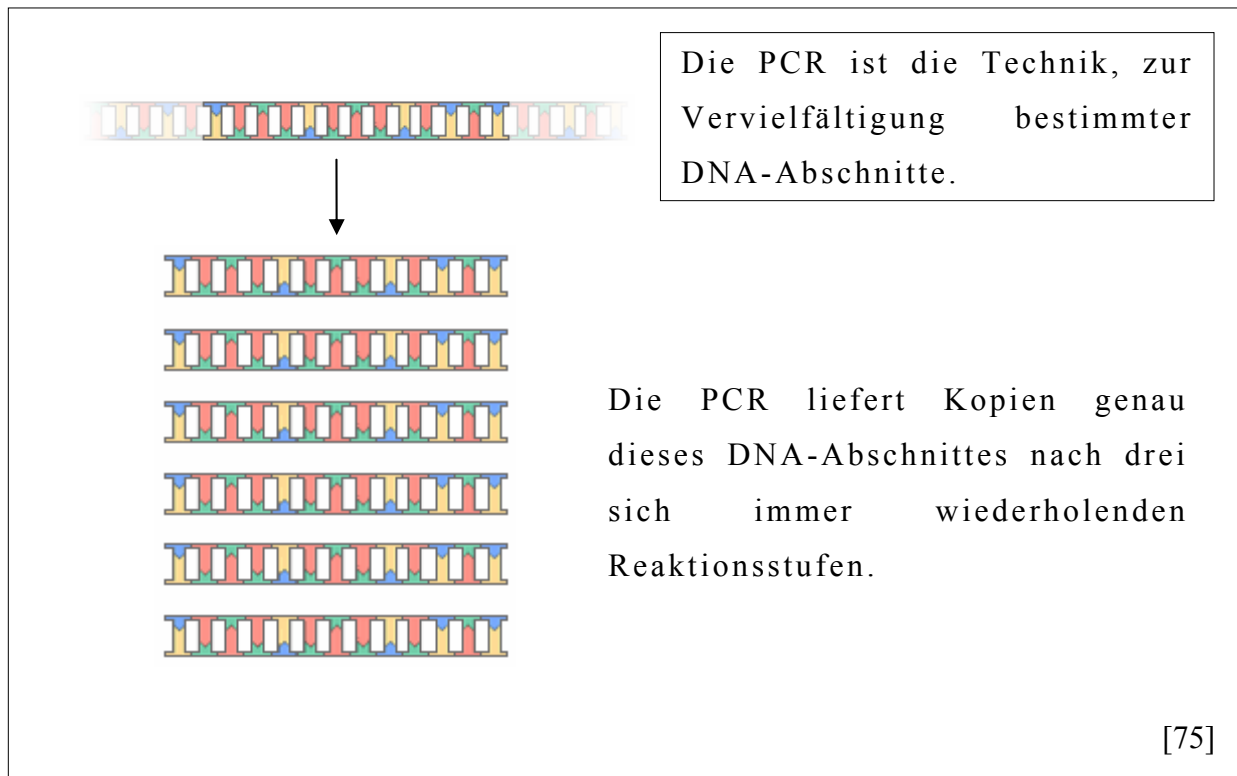
2.2.1.4 Herstellung der Lysate

Von *Klebsiella pneumoniae* werden Kochlysate hergestellt. Dafür werden einige Kolonien einer Übernachtskultur auf Agarplatte, in 200 µl destilliertem Wasser gelöst. Anschließend bei 95°C im Thermomixer für 10 Minuten lysiert.

2.2.1.5 Polymerase Ketten Reaktion (PCR)

Die Polymerase Ketten Reaktion (PCR, polymerase chain reaction) ist eine in-vitro-Technik, mit der man gezielt Desoxyribonucleinsäure – (DNA-) Abschnitte, die von zwei bekannten DNA-Sequenzen eingerahmt wird, vervielfältigen kann. Um die DNA amplifizieren zu können, benötigt man als Starthilfe Oligonucleotidprimer (Primer). Dabei handelt es sich um kurze, einzelsträngige DNA Moleküle, die komplementär zu den Enden einer definierten Sequenz der DNA-Matrize (template) sind. Eine DNA Polymerase verlängert unter den richtigen Reaktionsbedingungen und in der Gegenwart von Desoxynucleosidtriphosphaten (dNTPs: Adenosintriphosphat, Tymintriphosphat, Cytosintriphosphat und Guanintriphosphat) die Primer entlang der einzelsträngigen, denaturierten DNA-Matrize und synthetisiert so neue DNA-Stränge, deren Sequenz komplementär zur Matrize ist. Diese DNA Moleküle liegen am Ende der Reaktion als Doppelstränge vor. Um diese Synthese zu wiederholen, muß man doppelsträngige DNA erneut durch Hitze aufschmelzen und nach Abkühlen der Mischung die Primer wieder binden lassen. Sobald die richtige Temperatur für die Enzymreaktion erreicht ist, verlängert die DNA Polymerase die Primer. Jede zusätzliche Strangsynthese bedeutet eine neue Vermehrungsrunde. Dabei dienen auch die neu synthetisierten DNA-Stränge als Matrize und tragen so dazu bei, daß mit jedem neuen Zyklus die Konzentration der vervielfältigten Zielsequenzen exponentiell steigt. [74]

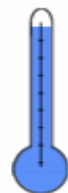
Schematische Darstellung einer Polymerasen Ketten Reaktion:



Denaturierung

Der erste Schritt ist die Denaturierung.

Bei $> 90^{\circ}\text{C}$ wird der DNA-Doppelstrang in die beiden komplementären Einzelstränge separiert.



$> 90^{\circ}\text{C}$

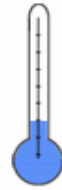


Annealing

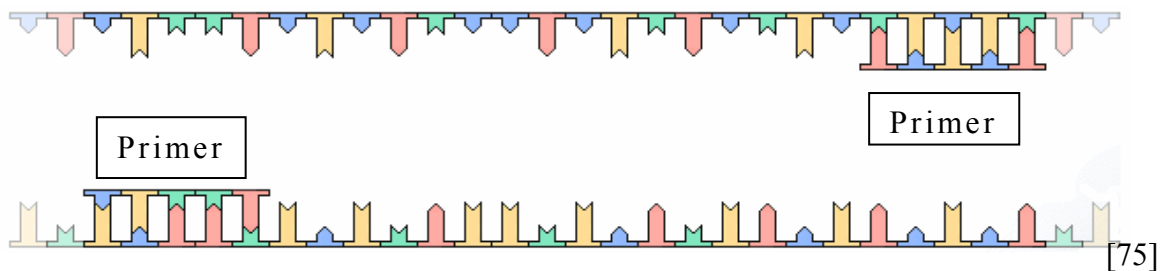
Nun werden die sogenannten Primer (bei ca. 50-62°C) angelagert. Diese sind wiederum komplementär zu dem Startsegment auf dem jeweiligen DNA-Einzelstrang.

Der Vorgang wird als Annealing bezeichnet.

Ziel ist es nicht die gesamte DNA zu vervielfältigen, sondern lediglich eine charakteristische Sequenz (meist 100-600 Basenpaare).



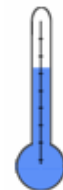
50 – 62°C



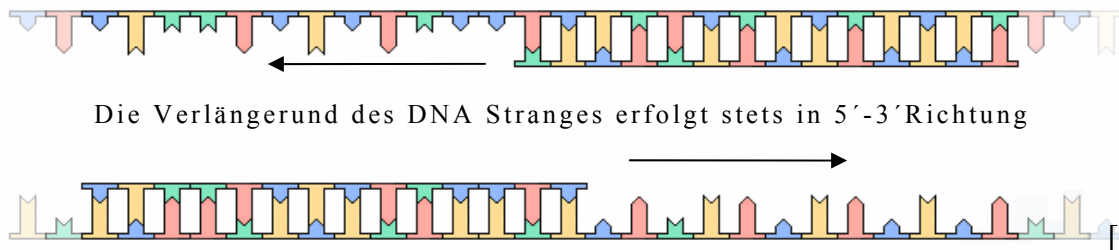
Extension

Beim anschließenden Erhitzen auf max. 72°C erfolgt nun die Verlängerung der DNA-Stränge (Extension).

In der Reaktionslösung sind neben den vier DNA-Bausteinen (Nucleotide) auch das hitzestabile Enzym Taq DNA-Polymerase enthalten (isoliert aus *Bacterium Thermus aquaticus*), das die Reaktion katalysiert.

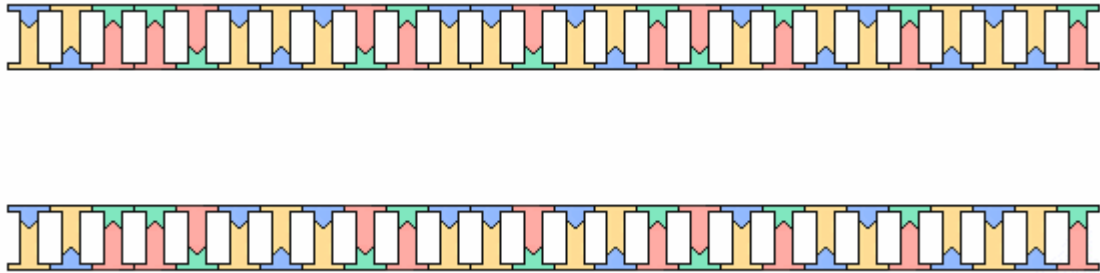


bis 72°C



Endprodukte

Endprodukte des ersten PCR-Zyklus sind nunmehr 2 DNA-Stränge.

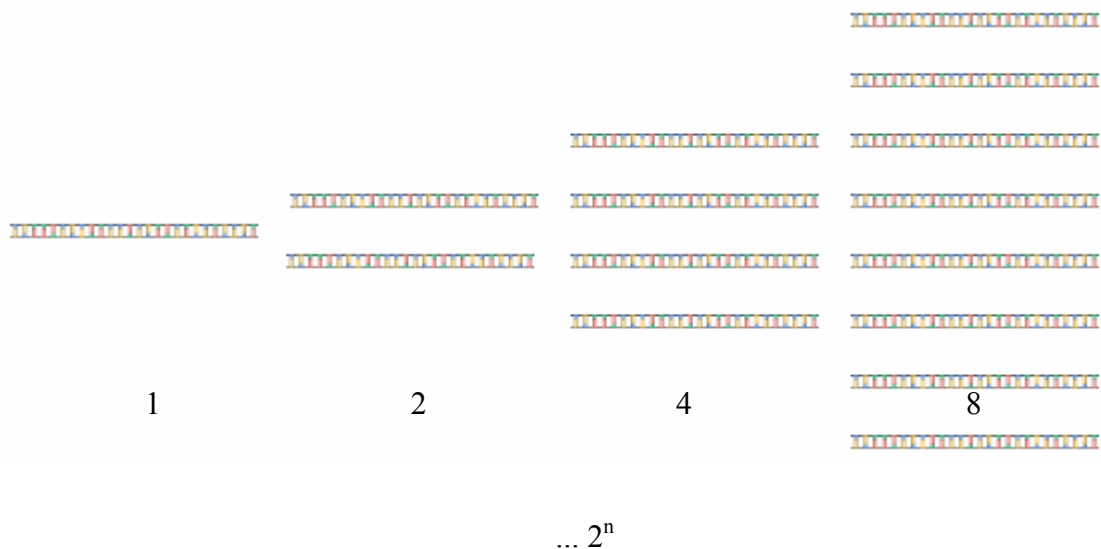


[75]

Effizienz der Reaktion

Jeder weitere PCR-Schritt erhöht die Anzahl der DNA-Stränge um jeweils die doppelte Zahl.

Nach der PCR mit 30 – 40 Zyklen liegt eine ausreichende Menge spezifischer DNA-Stränge vor für die sich anschließende Detektion.



Versuchsansatz:

[75]

Einfachansatz , 50 µl insgesamt:

PCR-Puffer	: 5µl
MgCl ₂	: konzentrationsabhängig (5µl)
dNTP-Mix	: 2µl
Primer	: 2µl , jeweils
Taq-Polymerase	: 0,6 µl
Zellysat	: 0,6 µl
H ₂ O	: auf 50µl auffüllen (32,8µl)

PCR Bedingungen:

Für 3'CS – 5'CS, 3'CS – Int ₂ F			Für SHV und TEM		
Denaturierung:	94°C	8'	Denaturierung:	94°C	8'
Denaturierung:	94°C	1'	Denaturierung:	94°C	1'
Annealing:	55°C	1'	Annealing:	58°C	1'
Elongation:	72°C	2'	Elongation:	72°C	1'
Zykluszahl:	35		Zykluszahl:	35	
Elongation:	72°C	10'	Elongation:	72°C	10'

2.2.1.6 Agarosegelelektrophorese

Eine der einfachsten und schnellsten Analysemethoden von PCR-Produkten ist die Auftrennung der amplifizierten DNA mit Hilfe der Gelelektrophorese. Neben dem Nachweis der erfolgreichen DNA-Amplifikation gibt die gelelektrophoretische Auftrennung Auskunft über die Anzahl und das Molekulargewicht der entstandenen PCR-Produkte. Das Molekulargewicht eines PCR-Produktes läßt sich durch Vergleich mit einem geeigneten DNA-Größenmarker bestimmen, der bei jeder Gelelektrophorese mitgeführt wird. Dadurch wird erkennbar, ob das PCR-Produkt der erwarteten Molekülgröße entspricht, oder ob es sich um ein anderes Amplifikationsprodukt handelt. Ferner wird bei jeder Gelelektrophorese eine Positivkontrolle (d.h. ein Referenzstamm mit dem gesuchten Gen) und eine Negativkontrolle (d.h. der Mastermix ohne DNA) mitgeführt. Das elektrophoretische Trennprinzip beruht auf der unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeit der elektronegativ geladenen DNA-Moleküle in der Elektrolytlösung unter dem Einfluß eines

elektrischen Feldes zur Anode. Man verwendet zur Auftrennung der amplifizierten DNA Agarosegele, deren Konzentration, d.h. Porengröße, neben der Stromstärke und den Pufferbedingungen die Wanderungsgeschwindigkeit und damit die Schärfe der Trennung mitbestimmen. Um den Verlauf der Elektrophorese sichtbar zu machen, wird zu den Proben und dem Referenzstamm ein Bluemarker gegeben. Der Bluemarker besteht aus Bromphenolblau, das im elektrischen Feld mitwandert und aus Glycerin, das dafür sorgt, daß die Probe in den Geltaschen nach unten sinkt. Für den Nachweis der PCR-Produkte wird bei dem Gießen der Gele Ethidiumbromidlösung zugegeben. Das Ethidiumbromid lagert sich zwischen den Basenpaaren der DNA-Fragmente ein (Interkalation), so daß diese unter UV-Licht durch Fluoreszenz des Ethidiumbromids sichtbar gemacht werden können.

Durchführung:

1g der Agarose in einem Erlenmeyerkolben einwiegen und mit 100ml TBE-Puffer versetzen.

Die Agarose kurz in der Mikrowelle aufkochen, bis sie vollkommen gelöst ist, anschließend 10 µl Ethidiumbromid zugeben und kurz umschwenken.

Den Gelschlitten in die Gießvorrichtung einspannen und mit zwei 20-Slot-Kämmen versehen.

Das Gel gießen (es ist darauf zu achten, daß sich keine Blasen bilden) und erkalten lassen.

Den Gelschlitten entnehmen, in die Elektrophoresekammer setzen und TBE Puffer zufügen (das Gel muß vollkommen bedeckt sein).

Das PCR-Produkt oder die aufgereinigte DNA mit jeweils 4 µl Bluemarker mischen.

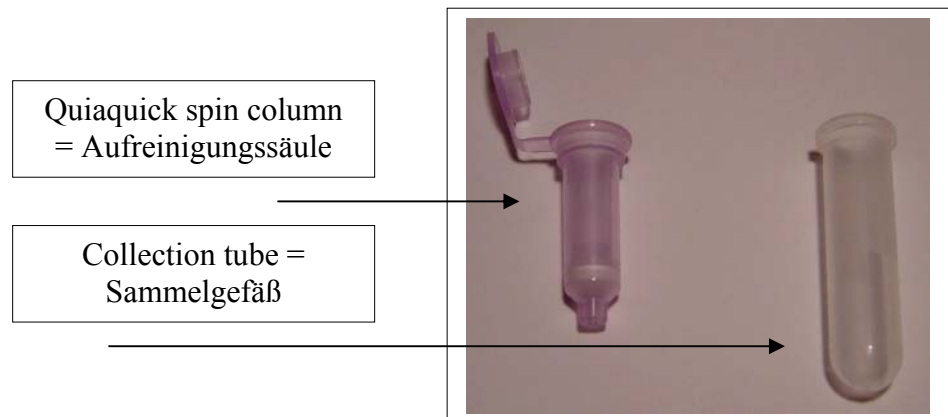
Das Eppendorfcup eine Minute bei 13000 Umdrehungen zentrifugieren.

Die Proben in die Gelslots füllen und eine Spannung von 80 V anlegen.

Die DNA-Fragmente wurden unter UV-Licht sichtbar gemacht.

2.2.1.7 Aufreinigung

An die Polymerasekettenreaktion schließt sich die Aufreinigung an, um das gewonnene Amplifikat von den in der PCR zugesetzten Substanzen, wie Primer, Nukleotide, Salze und Taq-Polymerase zu befreien. Dazu wurde das PCR-Purification-Kit der Firma Qiagen verwendet.



Zunächst findet eine Vermischung des 300 µl PB Puffer mit dem PCR-Produkt statt (Es wurden jeweils 2 PCR-Ansätze in eine Säule gegeben).. Der nächste Schritt beinhaltet das Einfüllen des Gemisches in eine Aufreinigungssäule, die in einem 2 ml großen Sammelgefäß steht. Durch anschließendes Zentrifugieren bei 13000 Umdrehungen pro Minute über 2 Minuten lang, trennt sich die von den überschüssigen Substanzen. Hierbei bindet die DNA an die Membran der Aufreinigungssäule, alle anderen Substanzen sammeln sich in dem Collection Tube. Der Inhalt des Sammelgefäßes wird verworfen, die Aufreinigungssäule wird zurückgestellt in das geleerte Sammelgefäß und mit 700 µl Waschpuffer (PE-Puffer) gefüllt. Erneut wird für 2 Minuten zentrifugiert bei 13000 Umdrehungen pro Minute. Die aufgefangene Lösung im Sammelgefäß wird wieder verworfen. Dann noch einmal zentrifugieren für 60 Sekunden, um den Waschpuffer vollständig zu entfernen. Die Sammelgefäße werden jetzt durch 1,5 ml fassende Eppendorf Cups ersetzt. Es schließt sich nun das Eintröpfeln von 50 µl 10 mM Tris-Cl (pH 8,5) in die Mitte der Membran der Aufreinigungssäule und das erneute Zentrifugieren für 60

Sekunden, nach 5 minütiger Einwirkzeit, an. Dabei wird die gereinigte DNA mit den 50 µl Elutionspuffer im Eppendorf Cup aufgefangen.

Zur Kontrolle der Aufreinigung werden 4 µl des Produktes durch Gelelektrophorese überprüft. Dazu läßt man drei Marker mit verschiedener Konzentration (50ng/µl, 25 ng/µl und 15 ng/µl) mitlaufen, um von der Helligkeit der DNA Banden auf die DNA Menge in den Proben schließen zu können. Von den Markern werden 5 µl aufgetragen und die Helligkeit der Banden der Probe mit der Helligkeit 1,6 Kp-Bande der Marker verglichen.

2.2.1.8 Sequenzierreaktion

Nach der Aufreinigung schließt sich die Sequenzierreaktion des PCR-Produktes an. Diese ist mit der PCR vergleichbar, jedoch wird nur ein Strang der DNA amplifiziert.

Diese Reaktion erfolgte mit der von der Firma Applied Biosystems Inc. (ABI PRISM) 1990 eingeführten Taq-Cycle-Sequenzierung-Methode. Das Verfahren ermöglicht durch die Anwendung der thermostabilen Taq-Polymerase eine automatische DNA Sequenzierung in einem Thermocycler mit Einbau fluoreszenzmarkierten Dinukleotiden (Dye Terminatoren) anstelle der Nukleotidmonophosphate und unmittelbaren Abbruch des DNA-Stranges hinter diesen (modifizierte Kettenabbruchmethode nach Sanger). In der Sequenzierreaktion werden normalerweise 50 ng DNA eingesetzt. Die entsprechende Menge des Aufreinigungsproduktes wird über die Helligkeit der Banden wie oben beschrieben ermittelt. Der Ansatz der Sequenzierreaktion enthält:

Bei KB 50: 8µl Aufreinigungsprodukt zum Sequenzieren, 1µl des 5'-Primers, 3µl Big Dye Terminator Mix und 3µl H₂O → 15µl Sequenzieransatz.

Bei KB 25: 12µl Aufreinigungsprodukt zum Sequenzieren, 1µl des 5'-Primers, 4µl Big Dye Terminator Mix und 3µl H₂O → 20µl Sequenzieransatz.

Bei KB 15: 15µl Aufreinigungsprodukt zum Sequenzieren, 1µl des 5'-Primers und 4µl Big Dye Terminator Mix → 20µl Sequenzieransatz.

Während der nun folgenden Abläufe im Thermocycler erfolgt die Markierung der DNA je nach Wahl des Primers aus vom 3' oder 5' Ende, indem die Taq-Polymerase anstelle der Nukleotidmonophosphate die fluoreszenzmarkierten Didesoxynukleotide (DidesoxyA, Didesoxy C, DidesoxyG und DidesoxyT) einbaut und unmittelbar danach zum Abbruch des DNA Stranges führte (s.o.).

Das Temperaturprogramm für die Sequenzierung lautet:

Denaturierung: 96°C 5 min

Denaturierung: 96°C 30 sec

Annealing: 50°C 15 sec

Polymerisation: 60°C 4 min

} Reaktion läuft über 25 Zyklen

2.2.1.9 DNA Fällung

Nach der Sequenzierreaktion folgt die Fällung der DNA, die eine Aufbereitung der Proben für die Sequenzierung im Sequenzer beinhaltet. Hierzu erfolgt zunächst die Gabe von destilliertem H₂O (ad 100 µl) zu jeder Probe, daran schließt sich eine Überführung dieser Probe in 250µl 100%igem Ethanol und 10µl 3M Natriumacetat (pH: 4,6) gefülltes Eppendorfcup an. Dieses Gemisch wird 30 Minuten zentrifugiert bei 13000 Umdrehungen /Minute. Der Überstand wird danach vorsichtig abdekantiert und 300µl 70%iger Ethanol in das Eppendorfcup gegeben, um die DNA umzukristallisieren und von überschüssigen Salzen zu befreien. Nach Vortexen werden die Ansätze nochmals für 15 Minuten bei 13000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der Alkoholüberstand wird abpipettiert, das restliche Ethanol ca. 1 Stunde bei 37°C zum Verdampfen gebracht. Dadurch wird das vollständige Trocknen der Pellets im Eppendorfcup erreicht. Die Fällung ist damit abgeschlossen.

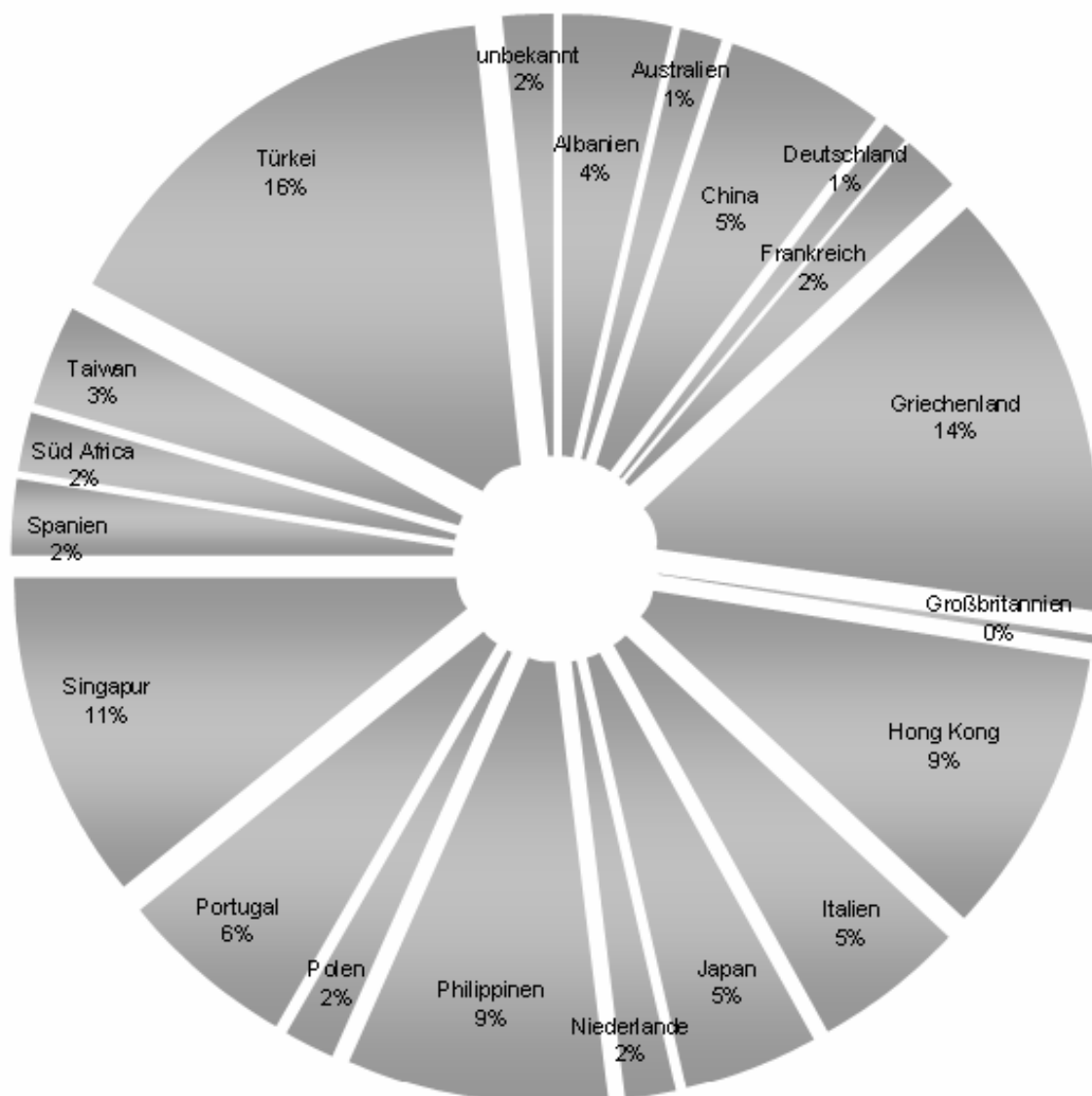
2.2.1.10 Sequenzierung

Die ausgefällte DNA wird in 4µl Puffer aufgenommen, der aus deionisiertem Formamid und EDTA besteht. Danach werden die Proben für 2 Minuten erhitzt, um sie zu denaturieren. Die Proben müssen zur Weiterverarbeitung auf Eis aufbewahrt werden. Die Proben werden auf ein Gel aufgetragen und elektrophoretisch getrennt. Aufgrund der markierten dNTP's des DNA-Stranges kann die Basensequenz detektiert werden. Die Konzentrationen der einzelnen dNTP's werden in einer Kurve aufgezeichnet, der jeweils höchste Peak gibt an, welche Base sich an dieser Stelle des DNA-Strangs befindet.

Die Sequenzierung wurde nach der Didesoxy-Terminationsmethode mit dem ABI PRISMTM 373 A, bzw. 377 DNA Sequenzer durch das Biologisch-Medizinische-Forschungsinstitut (BMFZ) durchgeführt.

3 ERGEBNISSE

Prozentuale Verteilung der aus den einzelnen Ländern stammenden Klebsiellenisolate der SENTRY Studie sind in dem unten dargestellten Kreisdiagramm aufgeführt. Die Gesamtzahl der Isolate beträgt 243. Die meisten Isolate kommen mit 16% aus der Türkei, mit 14% aus Griechenland, mit 11% aus Singapur, mit jeweils 9% aus Hongkong und den Philippinen. Mit 6 % aus Portugal, mit 5 % aus Italien, Japan und China. (Bei 2 % der Isolate ist die Herkunft nicht bekannt.)



Die Gesamtzahl der aus dem Referenzzentrums für Klebsiellen in Kiel stammenden zu untersuchenden klinischen Klebsiellenisolate beträgt 99.

Daraus resultiert ein im nachfolgenden Diagramm dargestelltes Verteilungsmuster zwischen den Isolaten der SENTRY Studie und den klinischen Isolaten die aus Deutschland stammen (Mit einer Gesamtzahl von 342 Stämmen):



Gesamtergebnisse in tabellarischer Form:

In der Tabelle Ergebnisse 3.1 sind die Klebsiellenstämme der SENTRY – Studie aufgeführt, die anhand des Herkunftslandes und anschließend nach Isolatbezeichnung sortiert wurden. Gleiches gilt für die in Tabelle Ergebnisse 3.2 aufgeführten Isolate die aus Kiel/Deutschland stammen. In der ersten Spalte steht die Isolatbezeichnung, in der zweiten Spalte ist das Herkunftsland beschrieben.

Spalte 3 und 4 geben Aufschluß über das Screening der Gene SHV und TEM, dabei bedeutet ein freies Kästchen, dass in der PCR kein positives Ergebnis vorlag. Bei positivem Ergebnis ist das Kästchen grau hinterlegt und die bei der Sequenzierung ermittelte Betalactamase namentlich eingetragen.

Spalte fünf und sechs beinhalten bei grauer Hinterlegung ein jeweils positives Ergebnis bezüglich der Integrone 3'CS-5'CS und 3'CS-Int₂F im Screening. Der eingetragene Zahlenwert gibt die Anzahl der gefundenen Integrone wieder, sowie die Länge der Integrone, die anhand eines Referenzmarkers abgelesen wurde.

Spalte 7 bis 10 beinhalten die Ergebnisse der Resistenztestung mittels Agardiffusionstest und Verwendung von Antibiotikatestplättchen der Firma Becton Dickison. Die Abkürzungen stehen für folgende Antibiotika: GN für Gentamicin, TOB für Tobramycin, AN für Amikacin und SXT für Trimethoprim. Die eingetragenen Buchstaben stehen für: R=resistent, I=intermediär und S= für sensibel gegenüber dem verwendeten Antibiotikum.

Eine tabellarische Sortierung in alphabetischer Reihenfolge der Klebsiellenisolate ist im Anhang aufgeführt.

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
24A003	Albanien	SHV-1				S	R	S	S
24A007	Albanien	SHV-1		1000	1600	R	R	R	S
24A038	Albanien	SHV-1		1200	1700	R	R	R	R
24A041	Albanien	SHV-1		1200 + 1500	1600 + 2000	R	R	R	R
24A045	Albanien	SHV-1	TEM-1	700 + 1000	1300 + 1600	R	R	R	R
24A052	Albanien	SHV-1		1200	1800	R	R	R	S
24E011	Albanien	SHV-11		700	1200	R	R	R	R
24E031	Albanien	SHV-1		700	1400	R	R	S	R
24E050	Albanien	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
944 140	Australien	SHV-1	TEM-1	1000	1400	S	R	R	S
944 336	Australien	SHV-11		2000	2500	S	R	S	R
944 736	Australien	SHV-1				R	R	S	S
942377	China	SHV-11		1600	2000	R	R	R	R
942802	China	SHV-11				R	S	R	R
943199	China	SHV-27		1400	2000	R	R	R	R
943203	China	SHV-1				S	S	S	S
943209	China	SHV-11	TEM-1	800	1400	R	R	S	S
943443	China	SHV-11	TEM-1	1400	2000	R	R	R	R
943513	China	SHV-11				S	S	S	S
943515	China	SHV-11	TEM-1	1400	2000	R	R	R	R
943516	China	SHV-11				S	S	S	S
943522	China	SHV-11				S	R	I	R
943525	China	SHV-11				S	R	S	S
945317	China	SHV-1				S	S	S	S
945321	China	SHV-1	TEM-1			S	S	S	S
08C003	Deutschland	SHV-1		1800 + 2500	2000 + 2500	R	R	S	R
08E088	Deutschland	SHV-11		1000	1500	R	R	I	R
04A197	Frankreich	SHV-1	TEM-18	800 + 1500	1300 + 2000	R	R	I	R
04A220	Frankreich	SHV-1				S	S	S	R
04A368	Frankreich	SHV-1	TEM-1	700	1400	I	R	R	R
06A395	Frankreich	NEW	TEM-18	800	1500	R	R	R	R
06E046	Frankreich	NEW	TEM-18	900	1300	S	R	I	I
09A018	Griechenland	SHV-1				R	R	R	S
09A160	Griechenland	SHV-1				R	R	R	S
09A191	Griechenland	SHV-1		1600 + 3000	2000 + 3000	R	R	R	R

Tabelle 3.1

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
09A199	Griechenland	SHV-1	TEM-1			R	R	R	S
09A205	Griechenland	SHV-1	TEM-1	1600 + 3000	2000 + 3600	R	R	R	R
09A225	Griechenland	SHV-1		1600	2200	R	R	R	R
09A250	Griechenland	SHV-1		1600 + 3000	2200 + 3600	R	R	R	R
09A251	Griechenland	SHV-1		1600 + 3000	2000 + 3000	S	R	I	R
09A256	Griechenland	SHV-1	TEM-1			R	R	R	S
09A316	Griechenland	SHV-1				R	R	R	S
09A317	Griechenland	SHV-1	TEM-1			R	R	I	S
09A323	Griechenland	SHV-1		800	1600	S	S	S	R
09A355	Griechenland	SHV-1		1600	2000	S	R	I	R
09A433	Griechenland	SHV-1		1500	2200	S	R	I	R
09A434	Griechenland	SHV-1		800	1300	S	R	R	R
09A440	Griechenland	SHV-1	TEM-1	1600	2000	R	R	R	R
09A452	Griechenland	SHV-1		1500	2200	S	R	R	R
09A484	Griechenland	SHV-1		1600 + 3000	2200 + 3600	I	R	R	R
09A514	Griechenland	SHV-1		1600 + 3000	2000 + 3000	S	R	I	R
09A555	Griechenland	SHV-1	TEM-1			R	R	R	R
09A565	Griechenland	SHV-1		3000	3600	S	R	I	S
09A567	Griechenland	SHV-1				R	R	I	I
09A578	Griechenland	SHV-1		1600	2000	R	R	R	R
09A604	Griechenland	SHV-1				R	R	R	R
09C025	Griechenland	SHV-1		1500	2000	R	R	R	R
09C030	Griechenland	SHV-1	TEM-1	1500	2000	R	R	R	R
09C032	Griechenland	SHV-1	TEM-1	1500	2000	R	R	R	R
09C043	Griechenland	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
09D025	Griechenland	SHV-11				I	R	S	S
09D053	Griechenland	SHV-1		1200	1600	R	R	R	I
09D080	Griechenland	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
09D114	Griechenland	SHV-1	TEM-1	1000 + 1500	1600 + 2000	R	R	R	R
09E091	Griechenland	SHV-1		2500	3500	R	R	S	S
09E094	Griechenland	SHV-1				R	R	R	R
20A181	Großbritannien	SHV-1				R	R	R	S
2045569	Hong Kong	SHV-11				R	R	R	R
2045571	Hong Kong	SHV-11				R	R	R	R
2046077	Hong Kong	SHV-11				S	R	R	R

Tabelle 3.1

Klebstella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
2046095	Hong Kong	SHV-11		1400	1600	R	R	R	S
2046097	Hong Kong	SHV-11				S	R	S	R
2046117	Hong Kong	SHV-11		1000	1600	S	R	I	R
2046875	Hong Kong	SHV-11		800	1400	R	R	S	S
2046880	Hong Kong	SHV-11		2000	2600	S	R	R	R
2046897	Hong Kong	SHV-11				S	R	R	R
2046918	Hong Kong	SHV-11	TEM-1	1000	1600	S	R	S	R
943098	Hong Kong	SHV-11	TEM-1	1400	2500	R	R	I	R
943120	Hong Kong	SHV-11	TEM-1	1600	2000	R	R	I	R
943137	Hong Kong	SHV-11		700	1300	R	R	R	S
943152	Hong Kong	NEW				S	S	S	S
943153	Hong Kong	NEW		1000	1400	S	S	S	S
943154	Hong Kong	SHV-11		800 + 1600	1400 + 2000	S	R	S	R
943157	Hong Kong	SHV-11		1800	2000	S	R	I	R
944082	Hong Kong	SHV-11				R	R	I	R
944091	Hong Kong	SHV-1				R	R	S	R
944110	Hong Kong	SHV-11				S	R	I	I
944114	Hong Kong	SHV-11				R	R	R	R
945115	Hong Kong	SHV-11				R	R	I	R
945142	Hong Kong	SHV-11		800	1300	R	R	S	R
10A119	Italien	SHV-1		1900	2500	S	R	R	R
10A168	Italien	SHV-1		1600	2500	S	R	R	R
10A207	Italien	SHV-1		1500	2200	R	R	S	I
10A266	Italien	SHV-1		1800	2500	S	R	R	R
10A442	Italien	SHV-1		1600	2200	S	R	S	S
10E019	Italien	SHV-1		1600	2200	S	R	R	R
10E064	Italien	SHV-1		1000	1600	S	S	S	S
11A094	Italien	NEW		1600	2200	R	R	S	R
11A099	Italien	SHV-1		1200	1800	R	R	R	R
11A195	Italien	SHV-1		2200	2800	S	R	R	R
11A274	Italien	SHV-1		2200	2800	S	R	I	R
11A295	Italien	SHV-1		2000	2500	S	R	I	R
2047962	Japan	SHV-11				S	S	S	S
2047971	Japan	NEW		1000	1600	S	S	S	R
2048015	Japan	NEW		1000	1600	S	S	S	S

Tabelle 3.1

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
942878	Japan	NEW		1000	1500	S	S	S	S
944542	Japan	NEW		1000	1600	S	S	S	I
944566	Japan	NEW		1000	1500	S	S	S	S
944676	Japan	NEW		1000	1600	S	S	S	S
945229	Japan	SHV-11		1000	1600	S	S	S	I
945233	Japan	SHV-11		1000	1600	S	S	S	S
945250	Japan	NEW		1000	1600	S	S	I	S
945267	Japan	SHV-1		1000	1600	S	S	S	I
12A419	Niederlande	SHV-11				R	R	I	R
12A517	Niederlande	SHV-1				I	R	R	R
12C021	Niederlande	SHV-11		2200	3000	R	R	I	R
12C170	Niederlande	SHV-11				R	R	R	S
2045029	Philippinen	SHV-1	TEM-1			S	R	S	R
2045646	Philippinen	SHV-11				S	R	R	R
2045802	Philippinen	SHV-1	TEM-1	500 + 1000	700 + 1300	R	R	R	R
2046351	Philippinen	SHV-1				S	R	S	R
2046374	Philippinen	SHV-11				R	R	I	R
2046726	Philippinen	SHV-1				S	S	S	S
943618	Philippinen	SHV-1		700	1200	S	R	I	R
943619	Philippinen	SHV-1				S	R	I	R
943743	Philippinen	SHV-11				S	R	I	R
943765	Philippinen	SHV-1		700	1200	R	R	R	R
943880	Philippinen	SHV-1				S	S	S	S
943886	Philippinen	SHV-1		800	1200	R	R	S	R
944164	Philippinen	SHV-11		1000 + 3000	1600 + >3000	I	R	S	R
944183	Philippinen	SHV-11				S	R	R	R
944434	Philippinen	SHV-11				S	S	S	S
944462	Philippinen	SHV-11				S	S	S	S
944467	Philippinen	SHV-1		500 + 1000	800 + 1400	R	R	I	R
944481	Philippinen	SHV-1				S	R	R	R
944504	Philippinen	SHV-11		800	1400	R	R	I	R
944505	Philippinen	SHV-11		800	1400	S	S	S	R
944507	Philippinen	SHV-11				S	R	R	R
14A076	Polen	NEW	TEM-1			R	R	R	R
14A151	Polen	SHV-11				R	I	S	S

Tabelle 3.1

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
14C042	Polen	NEW		1900	2400	R	R	R	R
14E015	Polen	NEW	TEM-1	700 + 1500	1400 + 2000	R	R	R	R
15A145	Portugal	SHV-1	TEM-1	750	1400	R	R	S	R
15A280	Portugal	NEW	TEM-1	1500	2500	R	R	S	R
15A322	Portugal	SHV-1	TEM-1	800	1300	R	R	R	R
15A498	Portugal	NEW	TEM-1	1950	2200	R	R	S	R
15A508	Portugal	NEW		1400	2000	R	R	S	R
15A527	Portugal	NEW	TEM-1	1500	2600	R	R	S	R
15A615	Portugal	NEW	TEM-1	1600	2000	R	R	S	R
15A653	Portugal	NEW	TEM-1	1500	2000	R	R	S	R
15A667	Portugal	NEW	TEM-1	1600	2000	R	R	S	R
15C090	Portugal	NEW	TEM-1	1600	2000	R	R	S	R
15C136	Portugal	NEW	TEM-1	1500	2000	R	R	R	R
15D120	Portugal	NEW	TEM-1			R	R	I	S
15D143	Portugal	NEW	TEM-1	1400	2000	R	R	S	R
15E050	Portugal	NEW	TEM-1	1500	1800	R	R	S	I
2044813	Singapur	SHV-1		1400	2000	S	R	R	S
2044939	Singapur	SHV-1		1600	2000	R	R	R	R
2044944	Singapur	SHV-11				R	R	R	R
2044955	Singapur	SHV-1				R	R	I	R
2044980	Singapur	SHV-11		800 + 2000	1600 + 2500	R	R	S	R
2044985	Singapur	SHV-11				R	R	R	R
2044988	Singapur	SHV-11		800	1600	S	R	I	R
2045720	Singapur	SHV-11		1000	1300	R	R	S	R
2045729	Singapur	SHV-11				S	R	S	S
2045734	Singapur	SHV-1		1600	2000	S	S	S	R
2046655	Singapur	SHV-11		800	1400	R	R	S	S
2046659	Singapur	SHV-1	TEM-1			R	R	R	R
2046660	Singapur	SHV-11	TEM-1	1000 + 2000	1600 + 3000	R	R	R	R
2046662	Singapur	SHV-1	TEM-1			R	R	S	R
2046986	Singapur	SHV-11	TEM-1			R	R	R	R
2046988	Singapur	SHV-11		800	1400	R	R	R	R
2047124	Singapur	SHV-11	TEM-1	800	1400	R	R	R	R
2047127	Singapur	SHV-11	TEM-1	800	1400	R	R	R	S
2047528	Singapur	SHV-1				R	R	S	S

Tabelle 3.1

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
2047531	Singapur	SHV-11		1400	2000	S	S	S	R
2047540	Singapur	SHV-11		800	1400	R	R	S	S
941919	Singapur	SHV-11	TEM-1			S	R	R	S
942349	Singapur	SHV-1		800 + 1600	1400 + 2000	S	R	S	R
942753	Singapur	SHV-11	TEM-1			R	R	R	S
942762	Singapur	SHV-11	TEM-1	800	1200	R	R	S	S
944838	Singapur	SHV-11		1000	1600	R	R	I	R
16A035	Spanien	SHV-1	TEM-1			R	R	R	R
16A111	Spanien	SHV-11				R	R	R	R
16A175	Spanien	SHV-11	TEM-1			R	R	R	R
16A495	Spanien	SHV-11	TEM-1			S	R	R	S
16C083	Spanien	SHV-11	TEM-1			S	R	R	S
18C100	Spanien	SHV-1	TEM-1	800	1300	R	R	S	I
2045968	Süd Afrika	SHV-1		1400	1600	R	R	I	S
2047028	Süd Afrika	SHV-1	TEM-1	800 + 3000	1600 + >3000	R	R	R	R
2047109.2	Süd Afrika	SHV-1		1200	2000	R	R	I	S
943550	Süd Afrika	SHV-1		800	1400	R	R	R	R
945007	Süd Afrika	SHV-11				R	R	S	R
2048271	Taiwan	NEW		1600	2000	R	R	R	R
2048326	Taiwan	NEW		1600	2000	R	R	S	R
2048465	Taiwan	SHV-11	TEM-1			R	R	R	R
2048468	Taiwan	NEW		1600	2000	R	R	R	R
2048469	Taiwan	SHV-11	TEM-1	1000	1400	R	R	S	R
2048497	Taiwan	SHV-11				R	R	R	S
942980	Taiwan	SHV-11	TEM-1	1000	1500	R	R	R	R
942992	Taiwan	NEW		1800	2000	R	R	R	R
22A014	Türkei	SHV-11				R	R	R	S
22A027	Türkei	SHV-1	TEM-1	700	1400	R	R	R	R
22A169	Türkei	SHV-1		1500	2000	S	S	R	R
22A171	Türkei	SHV-1		1500	1600	S	S	R	R
22A205	Türkei	SHV-11	TEM-1			R	R	R	S
22A206	Türkei	SHV-1	TEM-1			S	R	R	S
22A211	Türkei	SHV-1				S	S	S	S
22E041	Türkei	SHV-11		1800	2400	S	R	R	R
22E099	Türkei	SHV-11	TEM-1	1800 + 2400	2500 + 2800	R	R	R	R

Tabelle 3.1

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
23A037	Türkei	SHV-1		1300	1800	R	R	R	R
23A091	Türkei	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
23A092	Türkei	SHV-11	TEM-1	1000	2000	R	R	R	R
23A134	Türkei	SHV-11	TEM-1	1600	2000	R	R	S	R
23A139	Türkei	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
23A144	Türkei	SHV-1	TEM-1	<500	800	R	R	R	R
23A145	Türkei	SHV-1		1600	2000	S	S	R	R
23A158	Türkei	SHV-1	TEM-1	1600	2200	R	R	I	R
23A168	Türkei	SHV-1	TEM-1	1100	1600	R	R	R	R
23A180	Türkei	SHV-11	TEM-1	1100	1800	R	R	R	R
23D002	Türkei	SHV-1		1200	1600	R	R	R	S
23D005	Türkei	SHV-1		1000	2000	R	R	R	R
23D009	Türkei	SHV-1	TEM-1			R	R	R	R
23D022	Türkei	SHV-1	TEM-1	700	1600	R	R	R	R
23D050	Türkei	SHV-11		1800 + 2600	2600 + 3000	R	R	S	S
23E001	Türkei	SHV-1		1200	1800	S	R	R	R
23E005	Türkei	SHV-1		700 + 1200	1300 + 1800	R	R	I	R
23E028	Türkei	SHV-1		1500	2400	S	R	R	R
23E031	Türkei	SHV-1	TEM-1	1500 + 2200	2000 + 2700	R	R	I	R
23E032	Türkei	SHV-11	TEM-1	1500	2000	R	R	R	R
23E037	Türkei	SHV-1				S	S	S	R
23E045	Türkei	SHV-11	TEM-1			R	R	S	S
23E047	Türkei	SHV-1	TEM-1	1100	1600	R	R	R	R
23E049	Türkei	SHV-11		1100	1500	R	R	R	R
23E054	Türkei	SHV-11		1100	1500	R	R	R	R
23E074	Türkei	SHV-1		1000	1600	R	R	R	R
23E078	Türkei	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
23E090	Türkei	SHV-11	TEM-1	1200	1600	R	R	R	R
23E100	Türkei	SHV-11		1600 + 1800	2000 + 2200	R	R	S	R
25A013	unbekannt	SHV-1		1900	2200	R	R	R	S
25A034	unbekannt	SHV-1	TEM-1	2500	3000	R	R	S	R
25A115	unbekannt	SHV-1		1100	1600	R	S	R	R
25A155	unbekannt	SHV-1		1100	1800	R	R	S	R

Tabelle 3.1

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
410	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500 + 700	1000 + 1300	S	S	S	S
415	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
416	Deutschland	SHV-1	TEM-1	800	1200	S	S	S	S
418	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	S	S	S
424	Deutschland	SHV-1		500	800	S	S	S	R
425	Deutschland	SHV-1		1000 + 1200	1600 + 1800	S	S	S	R
426	Deutschland	SHV-1		1000	1600	S	S	S	S
427	Deutschland	SHV-1	TEM-1			I	R	S	R
430	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	S
433	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	S
439	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
442	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	S
444	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	S
446	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	S	S	S	S
448	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	S	S	S	S
449	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	S	S	S	S
451	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	S
455	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1200	1600	S	S	S	S
456	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	S
459	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1200	1600	S	S	S	S
ESBL 94	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 101	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 107	Deutschland	SHV-1		800	1000	R	R	R	R
ESBL 122	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	R	R	I
ESBL 123	Deutschland	SHV-1				R	R	S	S
ESBL 125	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	R	S	R
ESBL 129	Deutschland	SHV-1	NEW	700	1300	R	R	S	R
ESBL 18	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	I	S	R
ESBL 2	Deutschland	SHV-11				S	I	S	S
ESBL 23	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	R
ESBL 28	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	R	R	S	R
ESBL 34	Deutschland	SHV-11				S	S	S	S
ESBL 37	Deutschland	SHV-1				S	R	S	S
ESBL 39	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 42	Deutschland	SHV-1				S	R	I	S

Tabelle 3.2

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
ESBL 44	Deutschland	SHV-1				R	R	I	S
ESBL 51	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 52	Deutschland	SHV-1				S	R	I	S
ESBL 53	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 61	Deutschland	SHV-27	TEM-1	1200	1600	S	S	S	R
ESBL 76	Deutschland	SHV-1		1200	1600	S	S	S	I
ESBL 8	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	R	R	R
ESBL 87	Deutschland	SHV-1				S	S	S	R
ESBL 9	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	R	R	R	R
ESBL 92	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	R
ESBL 97	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 10	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	R	R	I	R
ESBL 103	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 104	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 106	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 11	Deutschland	SHV-1	TEM-1			I	I	S	R
ESBL 12	Deutschland	SHV-1	TEM-1			I	I	S	R
ESBL 124	Deutschland	SHV-1		1200	1700	R	R	S	S
ESBL 13	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	R	R	R
ESBL 130	Deutschland	SHV-1	NEW	1000	1600	R	I	S	R
ESBL 134	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	I	S	R
ESBL 139	Deutschland	SHV-1				S	R	S	R
ESBL 14	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	R	S	R
ESBL 140	Deutschland	NEW	TEM-1	1000	1600	R	R	S	R
ESBL 142	Deutschland	SHV-1		1200	1700	S	S	S	S
ESBL 143	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	R	R	I	R
ESBL 144	Deutschland	NEW	TEM-1	500	800	R	I	S	R
ESBL 145	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	R	R	S	R
ESBL 147	Deutschland	SHV-1	TEM-1	700	1000	S	S	S	S
ESBL 15	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	R	S	R
ESBL 151	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1200	1600	S	I	S	R
ESBL 155	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	S	S	S	S
ESBL 156	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	S	S	S	S
ESBL 16	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	R	S	R

Tabelle 3.2

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
ESBL17	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	I	R	S	R
ESBL19	Deutschland	SHV-1		1000	1600	S	S	S	S
ESBL20	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	S	S	I
ESBL25	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	R	R	S	R
ESBL3	Deutschland	SHV-1				S	I	S	S
ESBL33	Deutschland	SHV-11				S	S	S	S
ESBL36	Deutschland	SHV-1	TEM-1			I	R	I	S
ESBL38	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL4	Deutschland	SHV-1				S	I	S	S
ESBL40	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	I	S	S
ESBL41	Deutschland	SHV-1				I	R	I	S
ESBL43	Deutschland	SHV-1		1200	1700	I	R	I	S
ESBL46	Deutschland	SHV-1		1200	1700	S	R	S	S
ESBL77	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	S	S	I
ESBL78	Deutschland	SHV-1		1000	1600	S	S	S	S
ESBL79	Deutschland	SHV-1		500	800	S	S	S	I
ESBL80	Deutschland	SHV-1		1200	1700	S	S	S	R
ESBL81	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	I	S	R
ESBL82	Deutschland	SHV-1				S	S	S	I
ESBL83	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	I
ESBL84	Deutschland	SHV-1	TEM-1	700	1000	S	S	S	I
ESBL85	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	I
ESBL86	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	I
ESBL88	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	I
ESBL89	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	I
ESBL90	Deutschland	SHV-1	TEM-1	700	1000	S	S	S	I
ESBL91	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	I
Obels11.469	Deutschland	SHV-1				R	R	S	R
Obels18.468	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	R	S	R
Obs1	Deutschland	SHV-11				R	R	S	R

Tabelle 3.2

Häufigkeit von SHV und TEM in der internationalen SENTRY und regionalen Studie

Auf der nachfolgenden Seite ist eine Darstellung der gesamten Klebsiellenisolate der regionalen und internationalen Studie in einem Balkendiagramm aufgezeigt (Tabelle 3.3 und 3.5). 99 Isolate aus der regionalen Studie stammen aus Deutschland und 243 Isolate stammen aus der internationalen SENTRY Studie.

Daneben die graphische Darstellung der Häufigkeit des Vorkommens der Betalactamasen SHV und TEM. 99 Isolate aus der regionalen Studie, 243 Isolate aus der SENTRY Studie beinhalten die Betalactamase SHV. 52 Stämme aus der regionalen und 75 Isolate aus der SENTRY Studie beinhalten die Betalactamase TEM.

In der Tabelle Ergebnisse 3.4 sieht man die graphische Auftragung der prozentualen Häufigkeit des Vorkommens der Betalactamase TEM in der regionalen Studie der Klebsiellenisolate in einem Kreisdiagramm. TEM positiv waren 51,5% der Klebsiellenisolate. Die prozentuale Verteilung für SHV ist graphisch nicht aufgetragen, die Häufigkeit beträgt in beiden Studien 100%.

In der Tabelle Ergebnisse 3.6 sieht man die graphische Auftragung der prozentualen Häufigkeit des Vorkommens der Betalactamase TEM in der internationalen SENTRY Studie in einem Kreisdiagramm. TEM positiv waren 30,8% der Klebsiellenisolate.

Verteilung von TEM und SHV in den Ländern der SENTRY Studie versus den aus Deutschland/Kiel stammenden Klebsiellenisolate

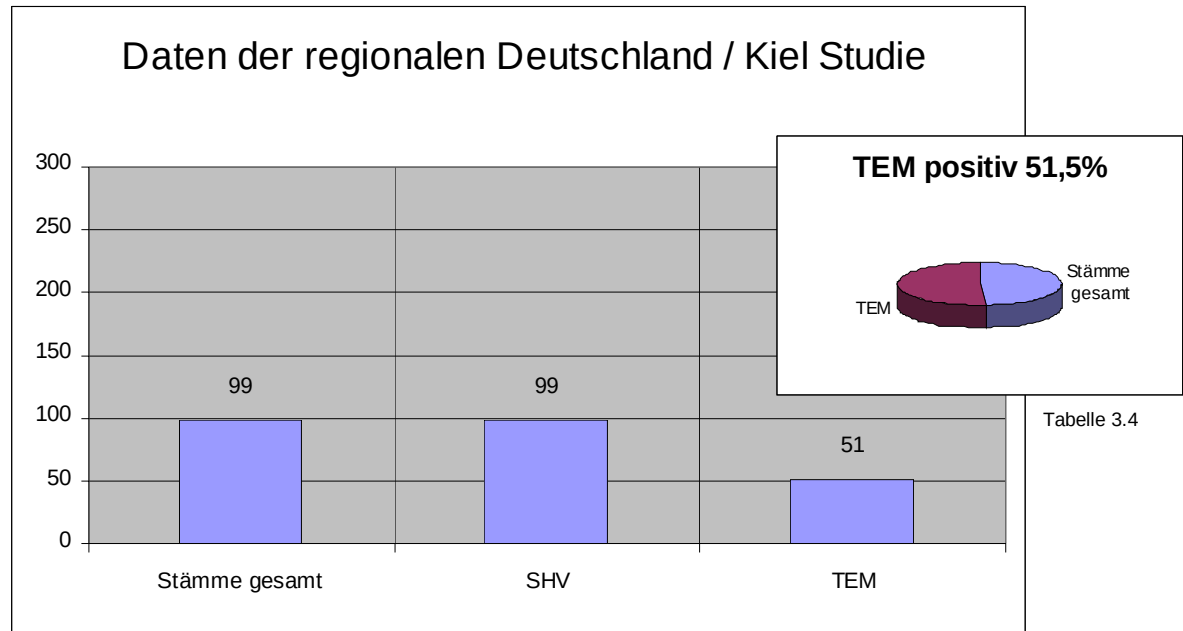


Tabelle 3.3

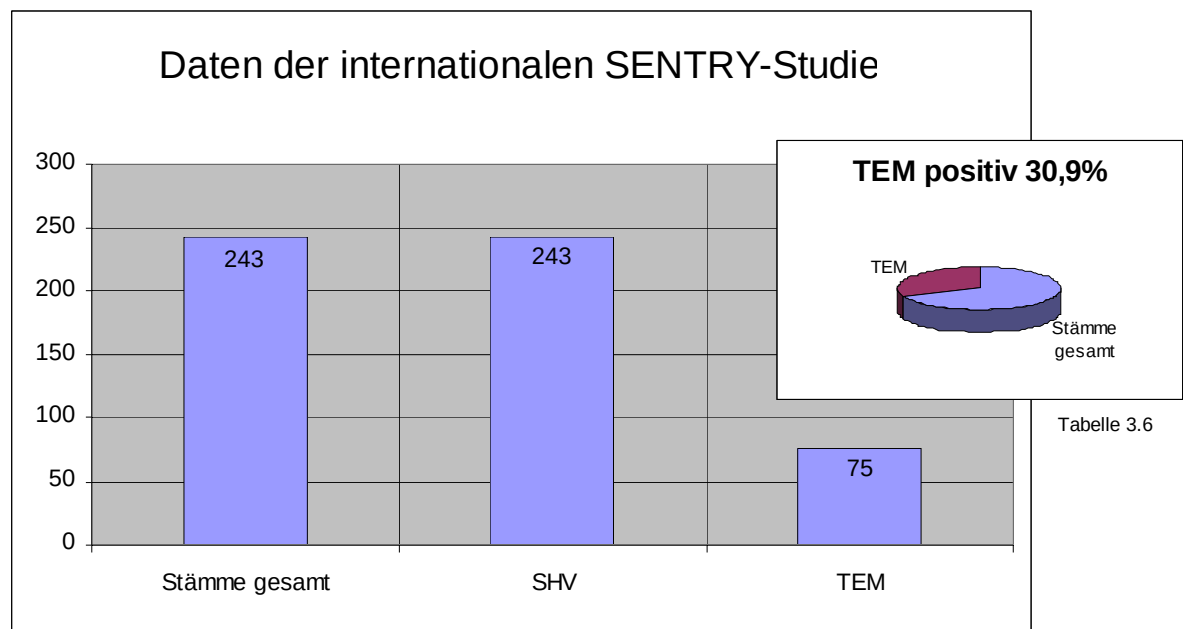


Tabelle 3.5

Verteilung von SHV und TEM in den Ländern der SENTRY Studie

In der folgenden Ergebnistabelle 3.7 sind alle Länder der SENTRY Studie auf der Abszisse aufgeführt, dabei findet eine nähere Unterteilung der einzelnen Länder in Stämme gesamt (dies bedeutet die jeweilige Anzahl der Stämme aus dem einzelnen Land) und in die Anzahl der SHV und TEM haltigen Isolate statt. Die Anzahl ist dabei als absolute Zahl auf der Ordinate aufgetragen, deren Maximalwert 40 Stämme ausweist.

In allen Ländern ist die Anzahl der Gesamtstämme gleichbedeutend mit der Anzahl der SHV positiv gescreenten Klebsiellenstämme, die Betalactamase SHV kam in 100 Prozent der untersuchten Klebsiellen vor.

Aus Albanien stammen neun Isolate der 243 Klebsiellenstämme aus der SENTRY Studie, davon ist einer TEM positiv. Australien ist mit drei Isolaten vertreten, ein Isolat ist TEM positiv. Aus China stammen 13 Klebsiellen, vier sind TEM positiv. Deutschland ist mit zwei Isolaten vertreten, keiner ist TEM positiv. Aus Frankreich stammen fünf Klebsiellenisolate, vier sind TEM positiv. Aus Griechenland stammt die zweithöchste Anzahl getesteter Klebsiellen mit vierunddreißig Stück, neun weisen die Betalactamase TEM auf. Großbritannien ist mit einem Isolat vertreten, der TEM nicht beinhaltet. Hong Kong ist mit dreiundzwanzig Klebsiellen vertreten, von denen drei TEM positiv sind. Italien hat insgesamt zwölf Isolate von denen keiner TEM positiv getestet wurde. Japan hat elf Isolate zur SENTRY Studie beigetragen, von denen keiner TEM aufwies. Die Niederlande sind mit vier Isolaten vertreten, von denen keiner die Betalactamase TEM enthielt. Die Philippinen sind mit insgesamt 21 Stämmen vertreten, von denen zwei TEM positiv waren. Aus Polen stammen vier Isolate, von denen zwei TEM positiv waren. Aus Portugal kommen vierzehn Isolate von denen dreizehn die Betalactamase TEM aufwiesen. Aus Singapur stammen 26 Isolate die in neun Fällen TEM

positiv waren. Spanien ist mit sechs Isolaten vertreten von denen fünf positiv auf TEM waren, Süd Afrika ist mit fünf Isolaten vertreten von denen einer TEM positiv war. Aus Taiwan kamen acht der untersuchten Klebsiellen, davon waren drei TEM positiv. Aus der Türkei stammt die größte Anzahl der untersuchten Isolate mit achtunddreißig, wovon siebzehn der getesteten Klebsiellen auf die Betalactamase TEM positiv waren. Von insgesamt vier Stämmen ist die Herkunft nicht geklärt, von diesen war ein Stamm TEM positiv.

Verteilung von TEM und SHV in den Ländern der SENTRY Studie

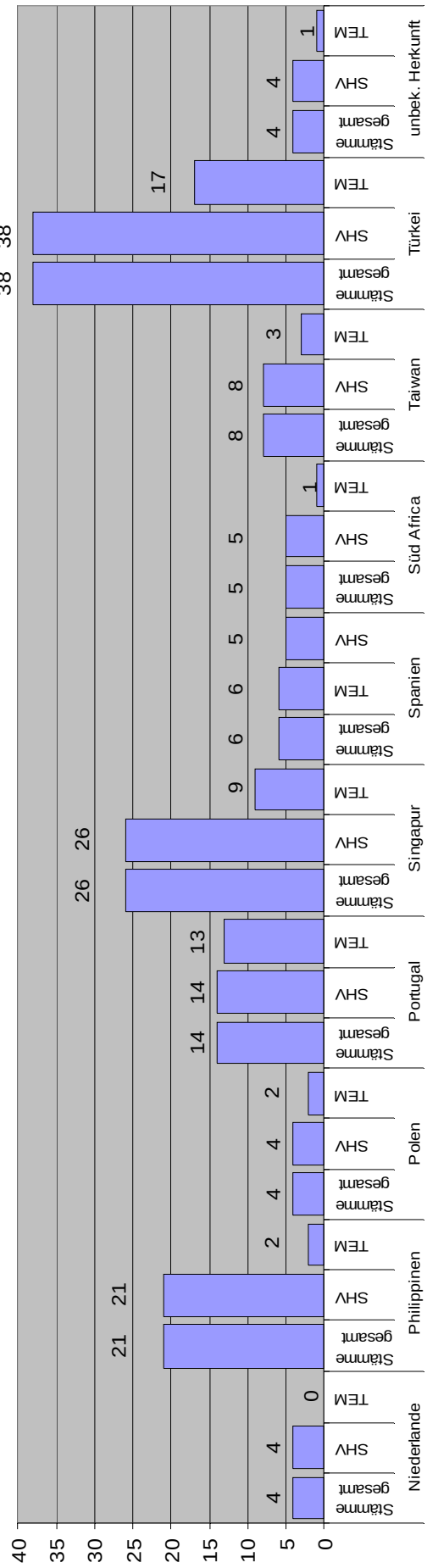
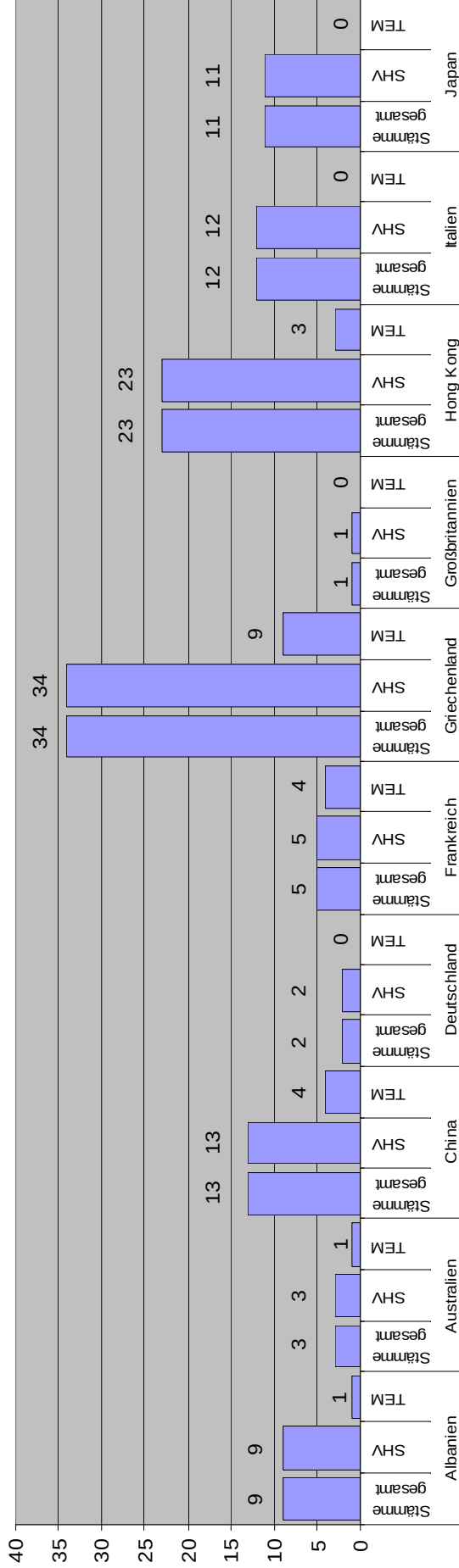


Tabelle 3.7

Klassifizierung der Betalactamasen SHV und TEM

Die durch Sequenzierung klassifizierten SHV Betalactamasen entsprachen dem SHV-1, SHV-11 und SHV-27 Typ. Eine Tabelle 3.8 zu den klassifizierten Betalactamasen findet sich auf der Seite 55 und 56. Dort werden die Betalactamasen SHV-1 bis SHV-29 aufgeführt. Insgesamt sind SHV Betalactamasen von 1-57 bekannt (letzte Aktualisierung vom 06.10.2004).

Die durch Sequenzierung klassifizierten TEM Betalactamasen entsprachen dem TEM-1 und TEM-18 Typ. Eine Tabelle 3.9 zu den klassifizierten Betalactamasen findet sich auf den Seiten 57 und. Dort werden die klassifizierten Betalactamasen TEM-1 bis TEM-26 aufgeführt. Insgesamt sind TEM Betalactamasen von 1-135 bekannt (letzte Aktualisierung vom 06.10.2004).

SHV Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant β -Lactamases

β-Lactamase	Alternativer Name	Aminosäure an Position																						
		7	8	18	25	35	43	48	54	64	69	75	89	113	119	122	126	129	130	140	141	142	145	146
SHV-1		Y	I	T	A	L	R	E	G	E	M	V	E	L	V	L	A	M	S	A	T	V	P	A
SHV-2																								
SHV-2A						Q																		
SHV-3																								
SHV-4																								
SHV-5																								
SHV-6																								
SHV-7			F				S																	
SHV-8																								
SHV-9	SHV-5a								Del											R				
SHV-10									Del										G	R				
SHV-11	SHV-1-2a					Q																		
SHV-12	SHV-5-2a					Q																		
SHV-13						Q																		
SHV-14			F				S																	
SHV-15						Q		K				M	K											
SHV-16	163DRWET167 insertion																							
SHV-17	Withdrawn																							
SHV-18			F				S																	
SHV-19																								
SHV-20																								
SHV-21																F								
SHV-22																								
SHV-23	Not yet released																							
SHV-24																								
SHV-25				A		Q												V						
SHV-26																								
SHV-27																								
SHV-28		F																						
SHV-29						Q	S																	

																				β-Lactamase		
149	156	158	169	173	175	179	187	188	192	193	195	205	206	226	238	240	243	267	278	Aminosäure an Position	pl	Literatur
T	G	N	L	L	G	D	A	A	K	L		R	Q	P	G	E	A	T	Q	SHV-1	07. Jun	[14]
															S					SHV-2	07. Jun	[14]
															S					SHV-2A	07. Jun	[15]
												L			S					SHV-3	07. Aug	[16]
												L			S	K				SHV-4	07. Aug	[17]
															S	K				SHV-5	08. Feb	[18]
						A														SHV-6	07. Jun	[19]
															S	K				SHV-7	07. Jun	[20]
						N														SHV-8	07. Jun	[21]
									N	V					S	K				SHV-9	08. Feb	[22,23]
									N	V					S	K				SHV-10	08. Feb	[23]
																				SHV-11	07. Jun	[24]
															S	K				SHV-12	08. Feb	[24]
															A					SHV-13	07. Jun	[25]
																				SHV-14	07. Jun	[26]
															S	K				SHV-15		[27]
																				SHV-16	07. Jun	[28]
																				SHV-17		
															A	K				SHV-18	07. Aug	[29]
				F																SHV-19	07. Jun	[30]
				F											S					SHV-20	07. Jun	[30]
				F											S					SHV-21	07. Jun	[30]
		K													D	K				SHV-22	07. Jun	[30]
																				SHV-23		[34]
						G														SHV-24		[31]
																				SHV-25	07. Mai	[32]
							T													SHV-26	07. Jun	[32]
	D																			SHV-27		[35]
																				SHV-28		[36]
															A					SHV-29		[37]

Abkürzungen in der folgenden Tabelle: A=Alanin, C=Cystein, D=Asparaginsäure, E=Glutaminsäure, F=Phenylalanin, G=Glycin, H=Histidin, I=Isoleucin, K=Lysin, L=Leucin, M=Methionin, N=Asparagin, P=Prolin, Q=Glutamin, R=Arginin, S=Serin, T=Threonin, U=-Selenocystein, V=Valin, W=Tryptophan, Y=Tyrosin

TEM Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant β -Lactamases

β-Lactamase	Alternativer Name	Aminosäure an Position																						
		4	5	6	16	21	39	42	51	69	80	84	92	104	115	124	127	130	145	153	157	158	163	164
TEM-1	RTEM-1	S	I	Q	F	L	Q	A	L	M	V	V	G	E	D	S	I	S	P	H	D	H	D	R
TEM-2							K																	
TEM-3	CTX-1 TEM-14						K							K										
TEM-4						F								K										
TEM-5	CAZ-1																							S
TEM-6														K										H
TEM-7							K																	S
TEM-8	CAZ-2						K							K										S
TEM-9	RHH-1					F								K										S
TEM-10	MGH-1 TEM-E3 TEM-23																							S
TEM-11	CAZ-Io						K																	H
TEM-12	YOU-2 CAZ-3 TEM-E2																							S
TEM-13														K										
TEM-15														K										
TEM-16	CAZ-7						K							K										H
TEM-17														K										
TEM-18							K							K										
TEM-19																								
TEM-20																								
TEM-21							K							K						R				
TEM-22							K							K										
TEM-24	CAZ-6						K							K										S
TEM-25	CTX-2					F																		
TEM-26	YOU-1													K										S
TEM-27																								H

																			β -Lactamase		
165	173	179	182	184	196	204	218	237	238	240	244	262	265	268	275	276	280	289		pl	Literatur
W	I	D	M	A	G	R	G	A	G	E	R	V	T	S	R	N	A	H	TEM-1	05. Apr	[38,39]
																			TEM-2	05. Jun	[40,41]
									S										TEM-3	06. Mrz	[42,42,44]
									S				M						TEM-4	05. Sep	[45,46]
								T		K									TEM-5	Mai 55	[46,47]
																			TEM-6	05. Sep	[48,49]
																			TEM-7	05. Apr	[50,51]
									S										TEM-8	05. Sep	[52,53,58]
													M						TEM-9	05. Mai	[48,54]
										K									TEM-10	05. Jun	[55,56,58]
																			TEM-11	05. Jun	[49,57,58]
																			TEM-12	Mai 25	[58,59,60]
													M						TEM-13	05. Jun	[49,58]
									S										TEM-15	06. Mrz	[49,58,61]
																			TEM-16	06. Mrz	[50,53]
																			TEM-17	05. Mai	[71]
																			TEM-18	06. Mrz	[49,70,72]
									S										TEM-19	05. Apr	[49,62]
			T						S										TEM-20	05. Apr	[63,64,66]
									S										TEM-21	06. Apr	[63,64,66,73]
								G	S										TEM-22	06. Mrz	[65,66]
								T		K									TEM-24	06. Mai	[52,53,58]
									S				M						TEM-25	05. Mrz	[60,67]
																			TEM-26	05. Jun	68
										K			M						TEM-27	05. Sep	[69]

Abkürzungen in der folgenden Tabelle: A=Alanin, C=Cystein, D=Asparaginsäure, E=Glutaminsäure, F=Phenylalanin, G=Glycin, H=Histidin, I=Isoleucin, K=Lysin, L=Leucin, M=Methionin, N=Asparagin, P=Prolin, Q=Glutamin, R=Arginin, S=Serin, T=Threonin, U=-Selenocystein, V=Valin, W=Tryptophan, Y=Tyrosin

Häufigkeit der Betalactamase SHV in der internationalen SENTRY Studie und in der regionalen Deutschland Studie

Auf der nachfolgenden Seite befindet sich eine graphische Darstellung der Häufigkeit des Vorkommens der gefundenen Betalactamasen SHV in der internationalen SENTRY Studie (s. Tabelle 3.10). In Tabelle 3.11 ist die prozentuale Verteilung an den in der SENTRY Studie gesamt gefundenen Betalactamasen SHV im Kreisdiagramm dargestellt.

Darunter dargestellt in der Tabelle 3.12 die Häufigkeit des Vorkommens der gefundenen Betalactamasen SHV in der nationalen Deutschland Studie. Tabelle 3.13 erteilt Auskunft über die prozentuale Verteilung an den in der Deutschland-Studie gefundenen Betalactamasen SHV.

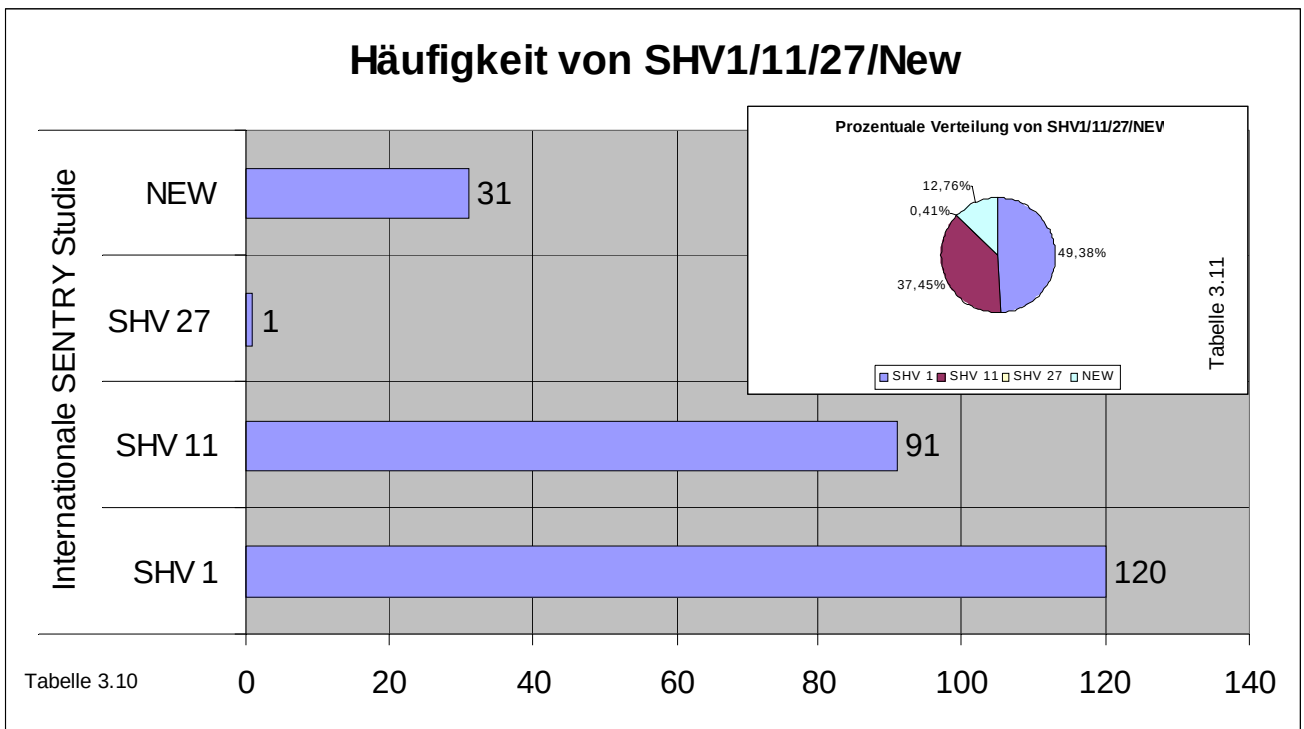
Dem schließt sich die graphische Darstellung der Häufigkeit des Vorkommens der gefundenen Betalactamasen TEM in der internationalen SENTRY Studie (s. Tabelle 3.14) an. In Tabelle 3.15 ist die prozentuale Verteilung an den in der SENTRY Studie gesamt gefundenen Betalactamasen TEM im Kreisdiagramm dargestellt.

Darunter dargestellt ist in der Tabelle 3.16 die Häufigkeit des Vorkommens der gefundenen TEM Betalactamasen in der nationalen Deutschland Studie. Tabelle 3.17 gibt Aufschluss über die prozentuale Verteilung an den in der Deutschland Studie gefundenen Betalactamasen TEM.

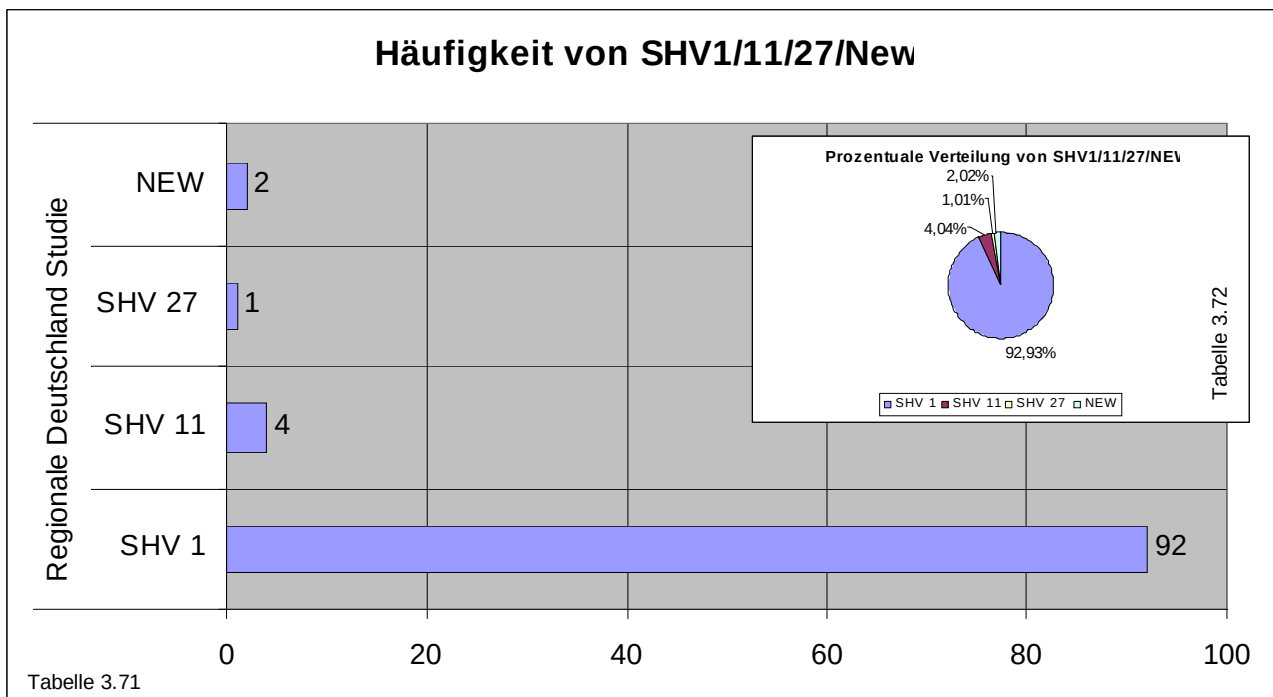
Die als NEW benannten Betalactamasen bezeichnen dabei jeweils die bei der Sequenzierung neu gefundener Betalactamasen des Typs SHV oder TEM, die bisher noch nicht klassifiziert wurden.

Betalactamase SHV

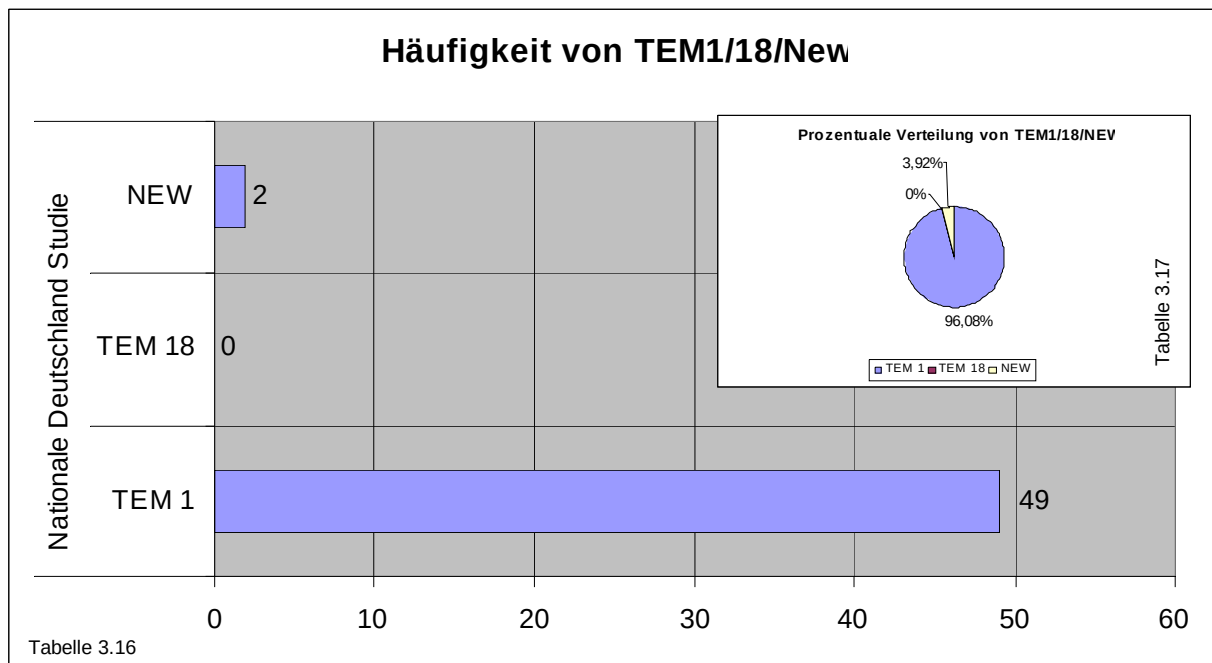
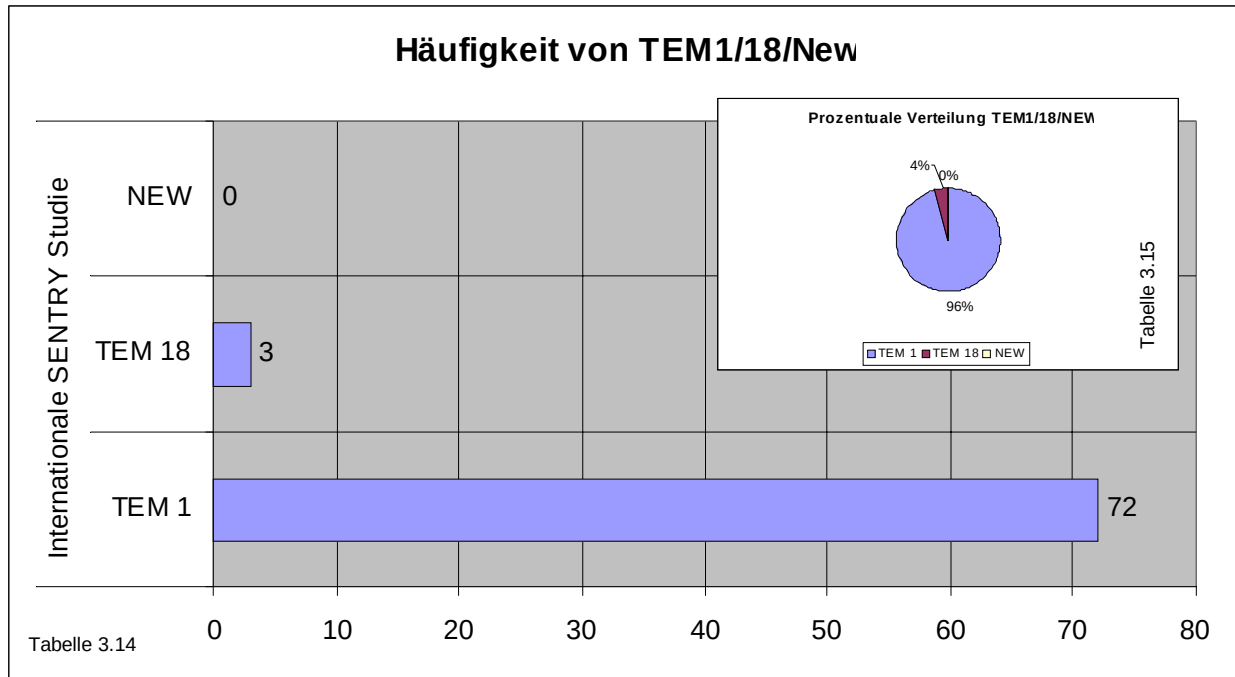
Häufigkeit von SHV1/11/27/New



Häufigkeit von SHV1/11/27/New



Betalactamase TEM



Alignment der als NEW identifizierten Betalactamasen des Typs SHV in *Klebsiella pneumoniae*,

die noch nicht klassifiziert wurden.

Darstellung der einzelnen Basen im Vergleich mit SHV 1. In der ersten Spalte jeweils der Stammname der Klebsiellen. Änderungen im Vergleich zu SHV 1 sind mit einer Graustufe zur besseren Identifizierung hinterlegt.

SHV-1 ACTTTCTTATAGTTCATCACGGCCTTGAGTCAAAAAATAGCGTGCTTAGGCAGGGCTAGA

SHV-1 TATTGATTATTCGAAATAAAAGATGAAAAATGATGAAGGAAAAAAGAGGAATTGTGAATC

15D143	-----GCCCTCACT
15C136	-----GCCCTCACT
15A509	-----GCCCTCACT
ESBL 144	-----GCCCTCACT
15C090	-----GCCCTCACT
15A667	-----GCCCTCACT
15A499	-----GCCCTCACT
06E046	-----GCCCTCACT
ESBL 140	-----GCCCTCACT
945250	-----GCCCTCACT
15A280	-----GCCCTCACT
15E050	-----GCCCTCACT
15D120	-----GCCCTCACT
06A395	-----GCCCTCACT
15A653	-----GCCCTCACT
15A527	-----GCCCTCACT
15A615	-----GCCCTCACT
942878	-----GCCCTCACT
944566	-----GCCCTCACT
944676	-----GCCCTCACT
2048015	-----GCCCTCACT
944542	-----GCCCTCACT
2047971	-----GCCCTCACT
943153	-----GCCCTCACT
2048468	-----GCCCTCACT
2048326	-----GCCCTCACT
943152	-----GCCCTCACT
11A094	-----GCCCTCACT
942992	-----GCCCTCACT
2048271	-----GCCCTCACT
14A076	-----GCCCTCACT
14E015	-----GCCCTCACT
14C042	-----GCCCTCACT
SHV-1	AGCAAAACGCCGGGTTATTCTTATTTGTCGCTTCTTTACTCGCCTTTATCGGCCCTCACT

15D143	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
15C136	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
15A509	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
ESBL 144	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
15C090	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
15A667	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
15A499	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
06E046	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
ESBL 140	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
945250	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
15A280	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
15E050	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
15D120	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
06A395	CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC

15A653 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 15A527 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 15A615 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 942878 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 944566 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 944676 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 2048015 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 944542 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 2047971 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 943153 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 2048468 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 2048326 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 943152 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 11A094 TAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGACTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 942992 CAAGGATGTAT-GTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 2048271 CAAGGATGTAT-GTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 14A076 CAAGGATGTAT-GTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 14E015 CAAGGATGTAT-GTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 14C042 CAAGGATGTATTGTGGTTAAGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC
 SHV-1 CAAGGATGTATTGTGGTTATGCGTTTATTTCGCCTGTGTATTATCTCCCTGTTAGCCACC

15D143 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15C136 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15A509 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 ESB1 144 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15C090 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15A667 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15A499 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 06E046 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 ESB1 140 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 945250 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15A280 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15E050 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15D120 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 06A395 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15A653 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15A527 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 15A615 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 942878 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 944566 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 944676 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 2048015 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 944542 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 2047971 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 943153 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 2048468 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 2048326 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 943152 CTGCCGCTGGCGGTACACTCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 11A094 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 942992 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 2048271 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 14A076 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 14E015 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 14C042 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC
 SHV-1 CTGCCGCTGGCGGTACACGCCAGCCCGCAGCCGCTTGAGCAAATTAACCTAAGCGAAAGC

15D143 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 15C136 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 15A509 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 ESB1 144 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 15C090 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 15A667 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 15A499 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 06E046 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 ESB1 140 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 945250 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 15A280 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 15E050 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
 15D120 CAGCTGTCGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC

06A395 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
15A653 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
15A527 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
15A615 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
942878 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
944566 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
944676 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
2048015 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
944542 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
2047971 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
943153 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
2048468 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
2048326 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
943152 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
11A094 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
942992 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
2048271 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
14A076 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
14E015 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
14C042 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC
SHV-1 CAGCTGTCTGGGCCGCGTAGGCATGATAGAAAATGGATCTGGCCAGCGGCCGCACGCTGACC

15D143	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
15C136	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
15A509	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
ESBL 144	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
15C090	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
15A667	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
15A499	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
06E046	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
ESBL 140	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
945250	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
15A280	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
15E050	GCAGTGTCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC

15D120 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
06A395 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
15A653 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
15A527 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
15A615 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
942878 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
944566 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
944676 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
2048015 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
944542 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
2047971 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
943153 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
2048468 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
2048326 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
943152 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
11A094 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
942992 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
2048271 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
14A076 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
14E015 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
14C042 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC
SHV-1 GCAGTGCTGGCGCGGGTGGATGCCGGTGACGAACAGCTGGAGCGAAAAGATCCACTATCGC

15D143	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
15C136	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
15A509	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
ESBL 144	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
15C090	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
15A667	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
15A499	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
06E046	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
ESBL 140	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
945250	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
15A280	GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG

15E050 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 15D120 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 06A395 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 15A653 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 15A527 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 15A615 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 942878 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 944566 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 944676 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 2048015 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 944542 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 2047971 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 943153 GTCGGCGAACTCTGTCGCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 2048468 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCGTGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 2048326 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCGTGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 943152 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCGTGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 11A094 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 942992 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 2048271 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 14A076 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 14E015 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 14C042 GTCGGCGAACTCTGTCGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTG
 SHV - 1 GTCGGCGAACTCTGCGCCGCCGCCATTACCATGAGCGATAACAGCGCCGCCAATCTGCTA

15D143 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15C136 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15A509 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 ESBL 144 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15C090 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15A667 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15A499 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 06E046 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 ESBL 140 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 945250 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15A280 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15E050 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15D120 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 06A395 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15A653 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15A527 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 15A615 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 942878 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 944566 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 944676 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 2048015 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 944542 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 2047971 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 943153 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 2048468 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 2048326 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 943152 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 11A094 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 942992 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 2048271 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 14A076 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 14E015 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 14C042 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC
 SHV - 1 CTGGCCACCGTCGGCGGCCCGCAGGATTGACTGCCTTTTTTGCGCCAGATCGGCGACAAC

15D143 GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACCTGAATGAGGCGCTTC-----
 15C136 GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACCTGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCGC
 15A509 GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACCTGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCGC
 ESBL 144 GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACCTGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCGC
 15C090 GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACCTGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCGC
 15A667 GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACCTGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCGC
 15A499 GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACCTGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCGC
 06E046 GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACCTGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCGC
 ESBL 140 GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACCTGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCGC
 945250 GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACCTGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCGC

15A280	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
15E050	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
15D120	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
06A395	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
15A653	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
15A527	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
15A615	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
942878	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
944566	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
944676	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
2048015	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
944542	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
2047971	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
943153	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
2048468	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
2048326	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
943152	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
11A094	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
942992	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
2048271	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
14A076	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
14E015	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
14C042	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG
SHV - 1	GTCACCCGCCTTGACCGCTGGGAAACGGAACGAATGAGGCGCTTCCCGGCGACGCCCCG

15D143	-----
15C136	GACACCACTACCCCGGCCAGCATG-----
15A509	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGAC-----
ESBL 144	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCC-----
15C090	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
15A667	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
15A499	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
06E046	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
ESBL 140	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
945250	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
15A280	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
15E050	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
15D120	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
06A395	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
15A653	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
15A527	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
15A615	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
942878	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
944566	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
944676	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
2048015	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
944542	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
2047971	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
943153	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
2048468	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
2048326	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
943152	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
11A094	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCA-----
942992	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
2048271	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
14A076	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGTTGCTGACCAGCCAGCGT
14E015	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCA-----
14C042	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT
SHV - 1	GACACCACTACCCCGGCCAGCATGGCCGCGACCCTGCGCAAGCTGCTGACCAGCCAGCGT

15D143	-----
15C136	-----
15A509	-----
ESBL 144	-----
15C090	CTGAGCG-----
15A667	CTGAGCGC-----
15A499	CTGAGCGC-----
06E046	CTGAGCGCCCGTTGCA-----
ESBL 140	CTGAGCGCCCGTTGCA-----

945250	CTGAGCGCCCGTTTCGCA-----
15A280	CTGAGCGCCCGTTTCGCA-----
15E050	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCA-----
15D120	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTG-----
06A395	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
15A653	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
15A527	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
15A615	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
942878	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
944566	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
944676	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
2048015	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
944542	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
2047971	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
943153	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
2048468	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTG-----
2048326	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTG-----
943152	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
11A094	-----
942992	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
2048271	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTG-----
14A076	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
14E015	-----
14C042	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGG-----
SHV-1	CTGAGCGCCCGTTTCGCAACGGCAGCTGCTGCAAGTGGATGGTGGACGATCGGGTCGCCGGA
SHV-1	CCGTTGATCCGCTCCGTGCTGCCGGCGGGCTGGTTTATCGCCGATAAGACCGGAGCTGGC
SHV-1	GAGCGGGGTGCGCGCGGGATTGTCGCCCTGCTTGGCCCGAATAACAAAGCAGAGCGCATT
SHV-1	GTGGTGATTTATCTGCGGGATACCCCGGCGAGCATGGCCGAGCGAAATCAGCAAATCGCC
SHV-1	GGGATCGGCGCGGCGCTGATCGAGCACTGGCAACGCTAACCCGGCGGTGGCCGCGCGCGT
SHV-1	TATCCGGCCCGCAGCACCTCGCAGGCGTGCCGGGCGATATGACTGGCGGCGGCATCGGAA
SHV-1	AGATGCCGGTCGGTAATGATGGTGGTGAACCGGGTCAAAGGTAACGCCATAAACGTGGCC
SHV-1	ACCTGATTGTATTTGAACTGTCGCACAGCAGGATGCTTCTCGCGCTGACCTGGCTGACG
SHV-1	GTCTCCTTGACGGTAACCTTGTTCTCATCAGGGGTGAATATCCCGCGACTGTCCCAGCCG
SHV-1	CTGGCGGAGATAAAGGCCGTAT

Auf der nachfolgenden Seite sind in Spalte eins die jeweiligen Klebsiellenisolatbezeichnungen angegeben, in den nachfolgenden Spalten werden die entsprechenden Positionen und der jeweilige Basenaustausch genannt.

SHV 1 Position	175	181	182	192	200	206	213	238	259	290	354	522	528	555
06A395						A nach T						C nach G		
06E046						A nach T						C nach G		
11A094	C nach T	C nach T					C nach A			T nach A				
14A076				Deletion									C nach A	
14C042					T nach A									C nach T
14E015				Deletion									C nach A	
15A280						A nach T						C nach G		
15A499						A nach T						C nach G		
15A509						A nach T						C nach G		
15A527						A nach T						C nach G		
15A615						A nach T						C nach G		
15A653						A nach T						C nach G		
15A667						A nach T						C nach G		
15C090						A nach T						C nach G		
15C136						A nach T						C nach G		
15D120						A nach T						C nach G		
15D143						A nach T						C nach G		
15E050						A nach T						C nach G		
2047971						A nach T						C nach G		
2048015						A nach T						C nach G		
2048271				Deletion										
2048326								A nach G		T nach A				
2048468								A nach G		T nach A				
942878						A nach T						C nach G		
942992				Deletion										
943152									G nach T		G nach C			
943153			A nach G									C nach G		C nach T
944542						A nach T						C nach G		
944566						A nach T						C nach G		
944676						A nach T						C nach G		
945250						A nach T						C nach G		
ESBL 140						A nach T						C nach G		
ESBL 144						A nach T						C nach G		

Alignment der als NEW identifizierten Betalactamasen des Typs TEM in *Klebsiella pneumoniae*

Darstellung der einzelnen Basen im Vergleich mit TEM 1. In der ersten Spalte jeweils der Stammname der Klebsiellen. Änderungen im Vergleich zu TEM 1 sind mit einer Graustufe zur besseren Identifizierung hinterlegt.

TEM-1	-----
ESBL 129	TACGCTTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCA
ESBL 130	TACGCTTATTTTTATAGGTTAATGTCATGATAATAATGGTTTCTTAGACGTCAGGTGGCA
TEM-1	----TCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATA
ESBL 129	CTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATA
ESBL 130	CTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTTCTAAATACATTCAAATA
TEM-1	TGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGA
ESBL 129	TGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGA
ESBL 130	TGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATTGAAAAAGGAAGA
TEM-1	GTATGAGTATTCAACATTTTCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTC
ESBL 129	GTATGAGTATTCAACATTTTCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTC
ESBL 130	GTATGAGTATTCAACATTTTCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGCGGCATTTTGCCTTC
TEM-1	CTGTTTTTGCTCAGCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTG
ESBL 129	CTGTTTTTGCTCAGCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGAAGATCAGTTGGGTG
ESBL 130	CTGTTTTTGCTCAGCCAGAAACGCTGGT-----
TEM-1	CACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCC
ESBL 129	CACGAGTGGGTTACATCGAGCTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCC
ESBL 130	-----
TEM-1	CCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGTGCGGTATTAT
ESBL 129	CCGAAGAACGTTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGTGCGGTATTAT
ESBL 130	-----
TEM-1	CCCGTGTTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACT
ESBL 129	CCCGTGTTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACT
ESBL 130	-----
TEM-1	TGGTTGAGTACTACCCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAAT
ESBL 129	TGGTTGAGTACTACCCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAAT
ESBL 130	-----
TEM-1	TATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGA
ESBL 129	TATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGA
ESBL 130	-----
TEM-1	TCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTA
ESBL 129	TCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTT-----
ESBL 130	-----

Im Bezug auf TEM 1, befinden sich hier bei den beiden neu gefundenen TEM Betalactamasen 64 Basen vor Position 1. Weiterhin ein Austausch der Base T nach C an Position 136 und C nach T an Position 173.

Verteilung der Klasse I Integrone in den Klebsiellenisolaten der SENTRY Studie

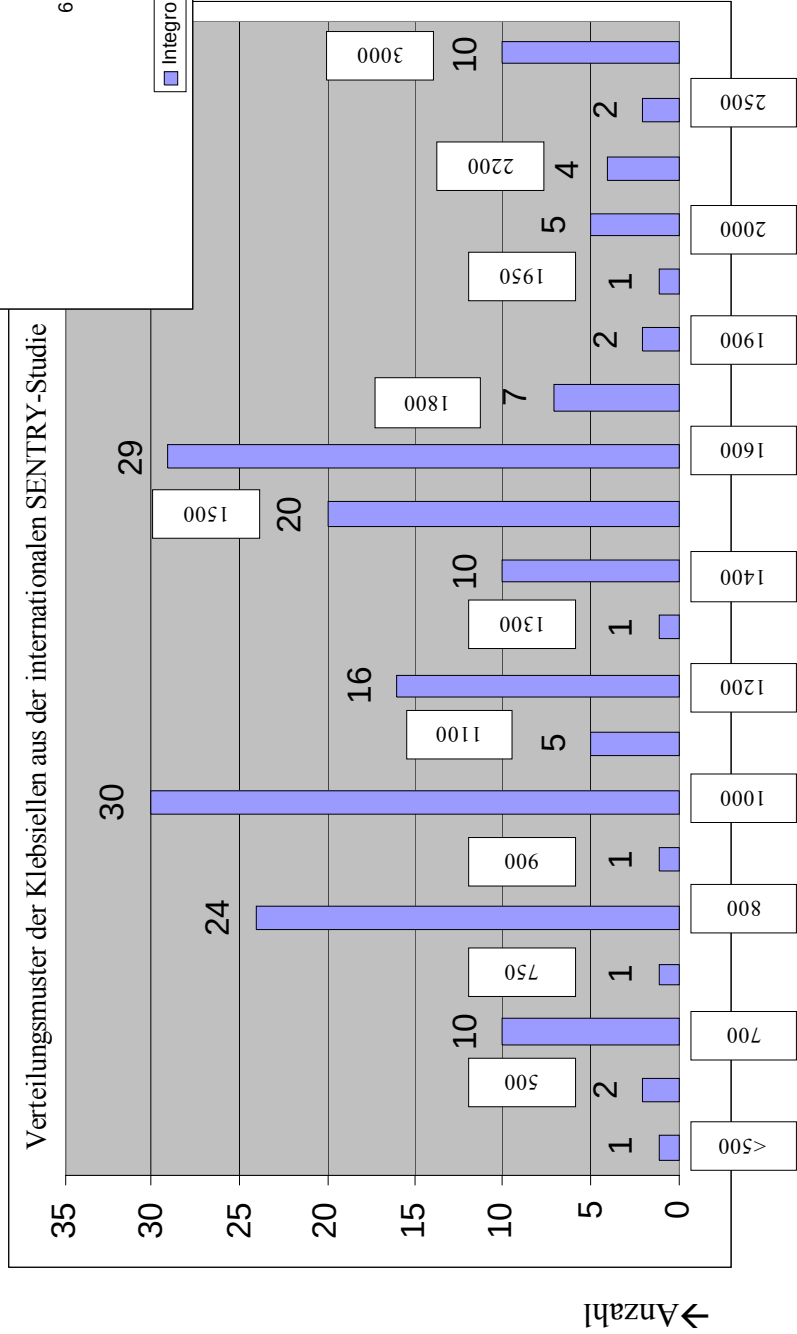
Ergebnistabelle 3.19 und 3.21 geben die Häufigkeit der gefundenen Integrone in den Klebsiellenstämmen der SENTRY Studie wieder. Tabelle 3.19 gibt Aussage über das Ergebnis der 3'CS-5'CS Polymerase Ketten Reaktion und Tabelle 3.21 über das Ergebnis der 3'CS-Int₂F Polymerase Ketten Reaktion. Die Integrone Länge wurde anhand eines Referenzmarkers abgelesen.

Dabei ist auf der Abszisse die Integrone Länge aufgetragen, die Ordinate gibt die Häufigkeit wieder. Wenn das Klebsiellenisolat mehr als ein Integrone aufwies ist dies in der Tabelle berücksichtigt worden.

In der rechten oberen Ecke der Seiten 72 und 73 ist ein Kreisdiagramm dargestellt (Tabelle 3.20 und 3.22), welches die prozentuale und absolute Verteilung der Integrone positiven Stämme zeigt. Daraus ergibt sich, dass von den 243 untersuchten Isolaten der SENTRY Studie 164 Isolate Integrone aufweisen, dies entspricht einem Prozentsatz von 67%.

Integron 3'CS-5'CS

Häufigkeit in Bezug auf die Integronlänge



→ Integronlänge

Tabelle 3.19

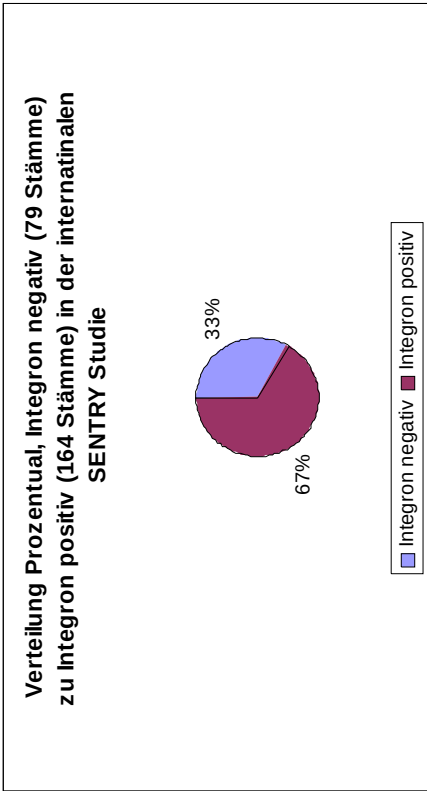
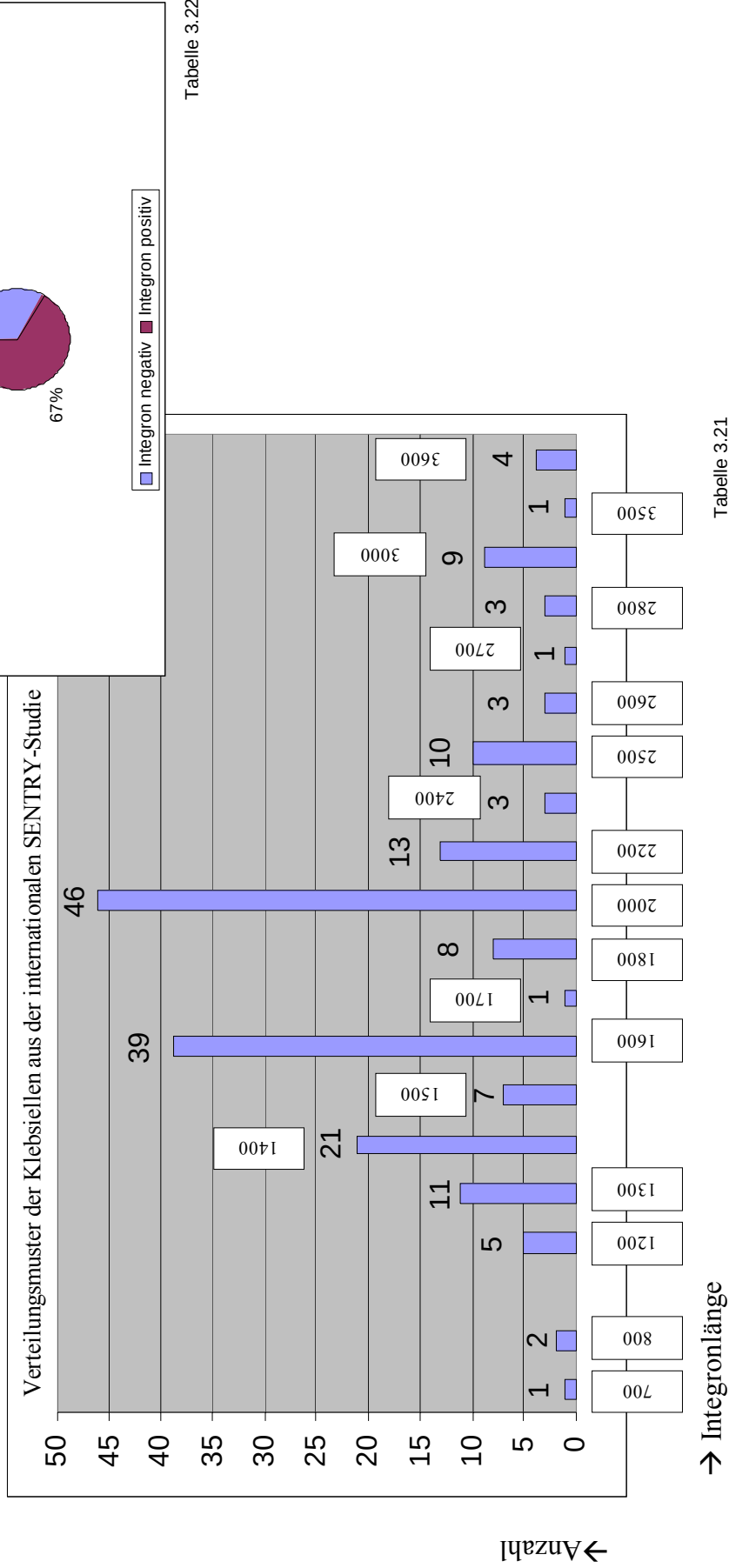


Tabelle 3.20

Integron 3'CS-Int₂F

Häufigkeit in Bezug auf die Integronegröße



Verteilung der Antibiotikaresistenz bei Integron pos/neg Stämmen der SENTRY Studie

Sentry Studie, gesamt 243 Stämme	Gentamicin	Tobramicin	Amikacin	Trimethoprim
	CN	TOB	AN	SXT
Integron negativ, 79 Stämme	51	60	36	37
Integron positiv, 164 Stämme	112	143	91	128

Tabelle 3.21

Die oben dargestellte Tabelle 3.21 enthält die Information, wieviele der Integron positiven oder negativen Klebsiellenstämme der SENTRY Studie gegen das in der Tabelle aufgeführte Antibiotikum resistent waren. So waren z.B. 51 der 79 nichtintegronhaltigen Klebsiellenstämme und 112 der 164 integronhaltigen Klebsiellenstämme gegen das Antibiotikum Gentamicin resistent .

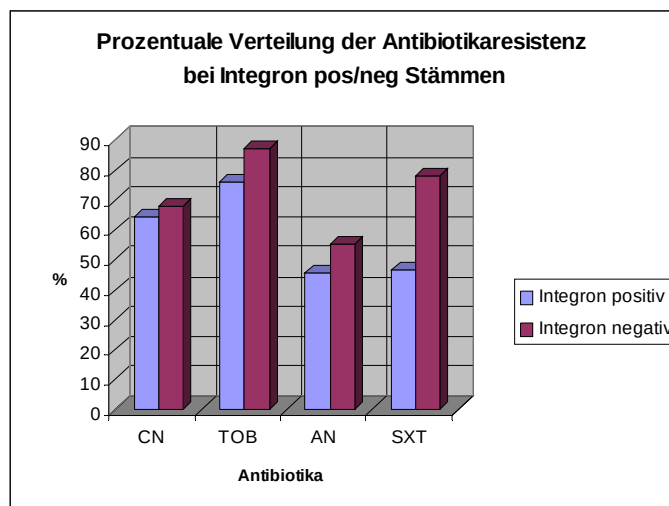


Tabelle 3.22

Sentry Studie, gesamt 243 Stämme	Gentamicin	Tobramicin	Amikacin	Trimethoprim
	CN	TOB	AN	SXT
Integron negativ, 79 Stämme	64,58%	75,95%	45,57%	46,84%
Integron positiv, 164 Stämme	68,29%	87,20%	55,49%	78%

Tabelle 3.23

Tabelle 3.21 zeigen die graphische Darstellung der prozentualen Änderung und Tabelle 3.23 die prozentuale Veränderung in Zahlen der Antibiotikaresistenz und Änderung im Bezug auf die integron-haltigen/ nicht-integron-haltigen Klebsiellenstämme der SENTRY Studie.

4 DISKUSSION

Bedeutung von *Klebsiella pneumoniae* und Verteilung der Betalactamasen SHV und TEM in der Deutschlandstudie und in der SENTRY Studie

In Deutschland werden jährlich circa 16 Millionen Menschen vollstationär behandelt. Hinzu kommen medizinische Maßnahmen im Rahmen der ambulanten medizinischen Versorgung und anderen Einrichtungen des Gesundheitswesens. Pflege und Behandlung sind je nach Ihrer Art mit einem endogenen und exogenen Infektionsrisiko verbunden.

Klebsiellen sind häufige Erreger nosokomialer Infektionen, die typischerweise abwehrgeschwächte Patienten mit schwerwiegenden Grunderkrankungen betreffen (Podschun und Ullmann 1998). Sie sind gramnegative, bekapselte Stäbchenbakterien aus der Familie der Enterobacteriaceae, die Bestandteil der normalen Darmflora des Menschen sind und ubiquitär in der Umwelt vorkommen (Podschun und Ullmann 1998). So werden schätzungsweise 8% aller bakteriell bedingten Hospitalinfektionen durch Klebsiellen, vor allem durch die Spezies *K. pneumoniae* und *K. oxytoca* verursacht (Podschun und Ullmann 1998, Prince et al. 1997). Sowohl in Nordamerika als auch in Deutschland gelten Klebsiellen mit, je nach Infektionsart, 3-17% als der dritthäufigste gramnegative Erreger nosokomialer Harnwegsinfektionen, Pneumonien und Bakteriämien (Horan et al. 1988, Zastrow 1990, Gikas et al. 1998, Podschun und Ullmann 1998).

Generell kann es klinisch zu folgenden Infektionen kommen: der Friedländer Pneumonie (3% aller bakteriellen Pneumonien), einem Lungenabszess, einer Pleuritis, Bronchitis, Sinusitis, Mastoiditis, Otitis und Infektinszeichen wie Fieber. Des weiteren zur Cholezystitis, zum Harnwegsinfekt, zur Wundinfektion, Meningitis, Endocarditis, Osteomyelitis und Septikämie.

Seit der Erstbeschreibung wurden bei *Klebsiella* viele verschiedene ESBL-Typen beschrieben unter denen gegenwärtig die TEM- und SHV-Typen

vorherrschend sind, bei denen durch Punktmutationen oder Deletion des Ursprungsgens mehr als 57 Subtypen von SHV und 135 Subtypen von TEM unterscheidbar sind (Stand 06.10.2004).

Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang eine in mehreren Arbeiten beschriebene Assoziation zwischen ESBL-Produktion und der Ausprägung verschiedener *Klebsiella*-Pathogenitätsfaktoren. Das Vorhandensein des für die ESBL-Produktion kodierenden Plasmids sind auch für die Expression bestimmter Adhäsine kodiert, welche ESBL-bildenden Stämmen stärkere adhäsive Eigenschaften an humane intestinale Epithelzellen vermitteln (Darfeuille-Michaud 1992, Di Martino 1996, Livrelli 1996, Di Martino 1997). Es steht zu befürchten, dass Infektionen durch ESBL-produzierenden Klebsiellen nicht nur schwer therapierbar sind, sondern dass diese auch deutlich virulenter ist als nicht-ESBL-produzierende Klebsiellen.

Innerhalb dieser Arbeit wurden das SHV und TEM Vorkommen sowie Verteilung in der internationalen SENTRY Studie (Teile der Klebsiellenstammkulturen der Jahre 1998-2001 aus 48 europäischen und weiteren internationalen Ländern) und der regionalen Deutschlandstudie mit Stämmen des Referenzzentrums für Klebsiellen in Kiel bestimmt. Weiterhin wurde der jeweilige Subtyp/Typ der einzelnen SHV und TEM-Betalactamasen bestimmt.

In beiden untersuchten Studien konnte aufgezeigt werden, dass die Häufigkeit des Betalactamase-kodierenden-Gens SHV in hundert Prozent der Klebsiellenstämme nachgewiesen wurde. Hingegen war das Betalactamase-Gen TEM, in der nationalen Deutschland Studie mit über 51 Prozent bei 99 untersuchten Isolate vorhanden. Die internationale SENTRY Studie zeigte im Ländervergleich sehr unterschiedliche TEM-Verteilungen und in ihrer Gesamtheit mit knapp einunddreißig Prozent von 243 untersuchten Isolate ein niedrigeres Vorkommen des Gens TEM als in der nationalen Studie.

Bei den Klebsiellenisolaten der Türkei konnte TEM in 44,7% nachgewiesen werden, bei 38 untersuchten Isolaten. In Griechenland konnten 26,5% der Isolate TEM positiv getestet werden bei 34 untersuchten Stämmen. Singapur mit 26 Klebsiellenstämmen zeigte eine TEM Verteilung von 34,6 Prozent und in Hong Kong wurden 23 Stämme untersucht und nur 13 Prozent waren TEM positiv. Bei 21 untersuchten Stämmen aus den Philippinen zeigten sich 9,5 Prozent TEM positiv.

Im Vergleich der im Screening gefundenen klassifizierten SHV und TEM Betalactamasen konnte folgende Verteilung festgestellt werden. Die SENTRY Studie zeigt mit 50 Prozent eine SHV 1 Typisierung, mit 37 Prozent das Vorkommen von SHV 11 und mit 0,5% die Häufigkeit von SHV 27. In dem internationalen Kollektiv wurden 13 Prozent einer bisher noch nicht klassifizierten Betalactamase eines Subtyps von SHV detektiert. Die Deutschlandstudie zeigte hingegen mit 93 Prozent einen überwiegenden Anteil des SHV 1 Typs, SHV 11 wurde in 4 Prozent, SHV 27 in einem Prozent der untersuchten Stämme nachgewiesen. Zwei Prozent der Isolate wurden als nicht klassifizierte Subtypen des Gens SHV eingestuft.

Die prozentuale Verteilung des TEM 1 Gens ist in beiden Studien annähernd gleich, TEM 1 konnte in der SENTRY und regionalen Deutschlandstudie in 96% nachgewiesen werden. TEM 18 wurde in 4 Prozent der Isolate der SENTRY Studie gefunden, während in der Deutschlandstudie dieser Subtyp nicht nachgewiesen wurde. Des weiteren wurde in der SENTRY Studie kein noch nicht klassifizierter TEM-Typ detektiert, in der Deutschlandstudie wurden 4 Prozent der gefundenen TEM-Gene noch nicht klassifiziert.

Bei den noch nicht klassifizierten Stämmen mit dem Typ/Subtyp SHV zeigte sich bei 23 der 33 nicht klassifizierten Stämme die selbe Mutation an Position 206, ein Austausch der Base A nach T und an Position 522, ein Austausch der Base C nach G. Dabei sind 2 dieser Klebsiellenstämmen aus Deutschland und 2 aus Frankreich, sieben aus Japan und 12 aus Portugal. Es zeigt sich länderspezifisch, z.B. in Portugal eine Anhäufung der oben angegebenen Mutationen, so dass die Vermutung nahe liegt, dass hier klonal identische Stämme aus einer Einrichtung verglichen wurden.

Derzeit ist es nicht geklärt, ob die gegenwärtige weltweite Verbreitung ESBL-bildender Stämme von einander unabhängig entstandenen und von genetisch unterschiedlichen Stämmen ausgeht oder ob sie auf der Ausbreitung eines bzw. weniger erfolgreicher Klone beruht.

Eine klonale Ausbreitung könnte sich insbesondere im Hinblick auf die Konzeption therapeutischer Alternativen zur Chemotherapie als wichtig erweisen. (Podschun et al.2000)

Integrans – Genetische Hintergründe und Bedeutung für die Resistenzentwicklung

Integronepidemiologie

Klasse 1 Integrans sind weltweit in der Umwelt und im klinischen Umfeld, vor allem innerhalb der Familie der *Enterobacteriaceae*, verbreitet. Dabei ist Antibiotika- Multiresistenz häufig mit einer Integronpräsenz innerhalb einer Bakterienspezies assoziiert [82]. In diesem Zusammenhang sind klinische Ausbrüche eines einzigen multiresistenten Bakterienstammes mit einem [83-85] oder mehreren Integrans [86;87] beschrieben worden.

Im Intestinaltrakt von Menschen und Tieren existieren viele Mitglieder der Familie der *Enterobacteriaceae* nebeneinander und sind dort häufig verschiedenen Antibiotikaklassen ausgesetzt. Das somit entstehende Potential für Antibiotika-Resistenz unter bestehendem Antibiotika-Selektionsdruck bietet eine plausible Erklärung für das häufige Auftreten von Integrans innerhalb der Familie der *Enterobacteriaceae* und die daraus resultierende Problematik der Antibiotika- Resistenz [88]. Eine kürzlich publizierte Studie von *Bonten et al.* zeigte, dass sich von 7 nachweisbaren Clustern Integronhaltiger Erreger auf zwei beobachteten Intensivstationen in der Mehrzahl der Fälle (26 von 34 Fällen) die Akquisition solcher Isolate erst während des Aufenthaltes auf einer Intensivstation ereignete. Dabei konnte sowohl eine Übertragung (19 Episoden) als auch Interspezies- Transfer (2 Fälle) und Intra- Spezies Transfer beobachtet werden (*Bonten et al.*). Ein horizontaler Inter-

Spezies Transfer zwischen nicht verwandten, multiresistenten Enterobakteriaceae-Isolaten wurde von dieser Arbeitsgruppe bereits in einer früheren Arbeit beschrieben

Da Integrone von den konservierten Segmenten (CS), dem 5'-CS (Conserved Segment) und 3'-CS flankiert werden und innerhalb des 5'-CS Region das Integrasegen, sowie der Promotor lokalisiert sind (4), wurde in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe der Primer 5'-CS-3'-CS das Integrone detektiert. Zur weiteren Klassifizierung des Integrone kamen die Primer Int₂F-3'-CS zum Einsatz, die direkt die Präsenz von IntI1-Integrase belegen, die für Integrone der Klasse I typisch sind.

Zur Bestimmung der Länge der Produkte wurden mittels Gelelektrophorese das Amplifikat aufgetrennt und der approximierte Basenumfang durch Vergleich mit einem mitgeführten Referenzmarkers (Lambda-ladder) ermittelt.

Es zeigte sich, dass die untersuchten Klebsiellenisolate der SENTRY Studie in 67% integronehaltig waren. Dabei wiesen mehrere Isolate bis zu vier Integrone unterschiedlicher Länge auf. Es konnte eine durchschnittliche Häufung der mit 5'-CS-3'-CS untersuchten Isolate mit einer Länge von ca. 800-1000 Basen und 1400-1600 Basen ermittelt werden. Die Variation der gefundenen Integrone-längen zeigte ein Intervall von unter 500 bis 3000 Basen.

Wie zu erwarten waren die Integrone-längen der Klebsiellenisolate mit dem untersuchten Primern 3'-CS-Int₂F länger. Bei allen untersuchten Klebsiellenisolaten konnte neben dem 5'-CS-3'-CS Region die 3'-CS-Int₂F Region nachgewiesen werden. Dabei konnte eine Häufung der Längen um 1400-1600 und um 2000 Basen dokumentiert werden. Die Variation der gefundenen Integrone-längen zeigt ein Intervall von 700-3600 Basen.

Vorhergegangene Arbeiten von *Schmitz et al.* dokumentieren eine Zunahme integronehaltiger Klebsiellenstämme in den letzten Jahren dokumentieren.

Dabei ist die Herkunft von Integrone im klinischen Umfeld noch nicht vollständig bekannt, jedoch stellt die Umwelt ein potentiell Reservoir dar [89]. Einen maßgeblichen Einfluss dürfte, trotz einer EU-weiten

Verbotes einiger Substanzen, der weltweite Antibiotika- Einsatz in Form von Wachstumsbeschleunigern in der Massentierhaltung ausüben. Der mit subinhibitorisch dosierten Antibiotika einhergehende Selektionsdruck könnte erklären, dass Klasse 1 Integrons oftmals in bakteriellen Isolaten aus tierischen Quellen nachgewiesen wurden und somit über die Nahrungskette in den menschlichen Organismus gelangen [90] können. Integrons wurden auch in Bakterien- Isolaten aus Gewässern und Böden nachgewiesen [88]. In Umgebungen von Abwassereinleitungen aus Industrieanlagen mit hohem Verbrauch an quaternären Ammoniumverbindungen (z.B. in der Textilindustrie) wurden im Vergleich zu rein landwirtschaftlich genutzten Flächen ein höheres Vorkommen von Bakterien „mit“ Klasse 1 Integrons und einer erhöhten Resistenz gegenüber quaternären Ammoniumverbindungen nachgewiesen. Obwohl Integrons hauptsächlich innerhalb der Familie der *Enterobacteriaceae* und anderen Gram- negativen Bakterien vorkommen, belegen neuere Untersuchungsergebnisse, dass auch einige Gram-positive Bakterien und Mykobakterien als Integron- Reservoir angesehen werden können [91].

Antibiotikaresistenzzunahme bei Integron negativen, im Vergleich zu Integron positiven Klebsiellenstämmen der SENTRY Studie

In der vorliegenden Studie wurde das Vorliegen von Integrons der Klasse 1 in einem internationalen Kollektiv von *Klebsiella*-Isolaten untersucht. Vorarbeiten von Schmitz *et al.* konnten zeigen, dass die klinische Bedeutung solcher Rekombinationselemente zunehmend bei der Verbreitung von antimikrobieller Resistenz zugenommen hat.

Durch den Einsatz der umfangreichen SENTRY-Stammsammlung und der Resistenztestung der Integron negativen gegenüber den Integron positiven Stämmen wird diese Aussage gestützt.

Es konnte eine Steigerung der Resistenz von Integron negativen zu Integron positiven Klebsiellenstämmen für die folgenden Antibiotika,

Gentamicin 5,78%, Tobramicin 14,81%, Amikacin 21,77% und Trimethoprim von 66,52 Prozent dokumentiert werden.

Die Bedeutung von Integrons, die Entstehung neuer Rekombinationen und Mutationen des Integrons, lassen so die Verbreitung von Antibiotikaresistenzgenen und ihres Resistenzphänotyps wahrscheinlich werden.

In Krankenhäusern ergeben sich daraus die folgenden Risiken:

- Die Besiedlung mit integronhaltigen Bakterien ist signifikant mit der Entwicklung einer Multiresistenz assoziiert (*Leverstein-Van Hall et al., 2003*).
- Die Senkung des Antibiotikaselektionsdruckes führt nicht automatisch zu einer Wiederherstellung der Sensitivität gegenüber einem Antibiotikum. Integrons tragen mit ihren Resistenzgenkassetten offenbar dazu bei, Resistenzen gegenüber Substanzen, die wenig oder nicht mehr verwendet werden, aufrecht zu erhalten (*Chiew et al., 1998*).
- Die Möglichkeit, dass Integrons selbst als Bestandteil von mobilen genetischen Elementen auftreten können, bedingt allerdings, dass somit Resistenzeigenschaften, die Integron-vermittelt sind, gemeinsam mit Virulenzeigenschaften des Trägerplasmids verbreitet werden. Der daraus resultierende Empfängerstamm verfügt damit über einen erheblichen Wettbewerbsvorteil. Bisher existiert ein solcher Bericht über die kombinierte Verbreitung von Resistenz und Virulenz bei Salmonellen (*Guerra et al., 2002*).

Grundsätzlich sollte bei multiresistenten nosokomialen Erregern der Einhaltung von Hygienemaßnahmen eine vorrangige Bedeutung zuteil werden und diese Maßnahmen eine Basis im Krankenhaus darstellen.

Im Einzelnen zählen dazu:

- 1) Der Gebrauch von Einmal-Handschuhen bei pflegerischen und ärztlichen Tätigkeiten.
- 2) Nach Beendigung des Kontaktes mit dem betreuten Patienten müssen die Handschuhe umgehend sachgerecht entsorgt werden, um das Risiko einer Keimübertragung auf andere Personen und bisher nicht kontaminierte Oberflächen weitestgehend zu reduzieren.
- 3) Händedesinfektion zusätzlich zum Gebrauch von Einmal-Handschuhen und nach jeder Tätigkeit im Umgang mit potentiell erkrankten oder kontaminierten Personen innerhalb und außerhalb der Patientenzimmer.
- 4) Regelmäßiger Kittelwechsel des Klinikpersonals.
- 5) Regelmäßige intensive Schulung und Information des Klinikpersonals über Grundlagen und Ausmaß nosokomialer Epidemien und Endemien von Problemkeimen, mögliche Infektketten, Kontakt-Isolierungsmöglichkeiten, allgemeine Hygienemaßnahmen und Reinigungs- sowie Desinfektionsverfahren.
- 6) Schnellstmögliche Entlassung eines Problemkeim-Trägers aus der stationären Versorgung nach Abschluss aller erforderlichen Behandlungen, um so eine potentielle Infektionsquelle zu eliminieren.
- 7) Bei geplanter Verlegung frühzeitige Information der aufnehmenden Abteilung/Station, um durch Vorbereitung und Einleitung geeigneter Maßnahmen das Risiko einer inter- oder intrainstitutionellen Verbreitung möglichst gering zu halten. Dies gilt auch für ambulante Eingriffe und Untersuchungen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die nosokomialen Infektionserkrankungen verlangen in der heutigen Zeit von Klinikern, Mikrobiologen und Krankenhaushygienikern ein gemeinsames und koordiniertes Vorgehen. Eines der größten Probleme in der modernen Infektiologie stellt dabei die in jüngerer Zeit beobachtete Zunahme multiresistenter, überwiegend Gram-negativer Bakterien dar.

Sowohl in Nordamerika als auch in Deutschland gelten Klebsiellen mit, je nach Infektionsart, 3-17% als der dritthäufigste gramnegative Erreger nosokomialer Harnwegsinfektionen, Pneumonien und Bakteriämien (*Horan et al. 1988, Zastrow 1990, Gikas et al. 1998, Podschun und Ullmann 1998*).

Epidemiologische Untersuchungen belegen, dass bei *Enterobacteriaceae* innerhalb kürzester Zeit eine Vielzahl neu erworbener Resistenzen, teils sogar gegenüber erst in jüngster Vergangenheit therapeutisch eingesetzter antimikrobiell wirksamer Substanzen, zu verzeichnen war.

Diese Phänomen lässt sich durch einen inter- und intraspeziellen horizontalen DNA-Transfer erklären. Diese werden über Plasmide und Transposons weitergegeben. Dabei spielen Betalactamasen, wie SHV und TEM, sowie Integrons und die darin enthaltenen Resistenzgene eine wichtige Rolle.

In dieser Arbeit zeigte sich eine sehr hohe Prävalenz sowohl der Betalactamasen SHV mit 100% und TEM mit durchschnittlich 37%. Integrons konnten mit einer Prävalenz von 67% in den Klebsiellenisolaten der SENTRY Studie nachgewiesen werden.

Legt man die Ergebnisse und die zunehmende Resistenzentwicklung der letzten Jahre zugrunde, so sehen wir uns in naher Zukunft einer Vielzahl nosokomialer Infektionserreger gegenüber, die über multikompatible genetische Mechanismen zum Erwerb und zur Expression neuer Antibiotikaresistenzen verfügen die signifikant mit der Entwicklung einer Multiresistenz assoziiert sind.

Umso wichtiger ist es, die in der Diskussion angesprochenen simplen Hygienemaßnahmen durchzuführen, um eine Ausbreitung nosokomialer Infektionen zu zu minimieren.

6 ANHANG

Basenfolgen der verschiedenen bei der Sequenzierung gefundenen SHV/TEM Typen

Sind im Folgenden aufgeführt:

SHV 1 ORIGIN [77]

```

1  actttcttat agttcatcac ggccttgagt caaaaaatag cgtgcttagg cagggctaga
61  tattgattat tcgaaataaa agatgaaaaa tgatgaagga aaaaagagga attgtgaatc
121 agcaaaacgc cgggttattc ttatttgctg cttctttact cgcctttatc ggccctcact
181 caaggatgta ttgtggttat gcgttatatt cgctgtgta ttatctccct gttagccacc
241 ctgccgctgg cggtagacgc cagcccgag ccgcttgagc aaattaaact aagcgaaagc
301 cagctgtcgg gccgcgtagg catgatagaa atggatctgg ccagcgccg cagctgacc
361 gcctggcgcg ccgatgaacg ctttcccatg atgagcacct ttaaagtagt gctctgcggc
421 gcagtgtctg cgcggttgga tgccggtgac gaacagctgg agcgaaagat ccactatcgc
481 cagcaggatc tggtagacta ctgcggggtc agcgaaaaac accttgccga cggcatgacg
541 gtcggcgaac tctgcgccgc cgccattacc atgagcgata acagcgccgc caatctgcta
601 ctggccaccg tcggcgggcc cgaggattg actgcctttt tgcgccagat cggcgacaac
661 gtcacccgcc ttgaccgctg ggaaacggaa ctgaatgagg cgcttcccgg cgacgcccgc
721 gacaccacta ccccgccag catggccgcg accctgcgca agctgctgac cagccagcgt
781 ctgagcgccc gttcgcaacg gcagctgctg cagtggatgg tggacgatcg ggtcgccgga
841 ccgttgatcc gtcctgtgct gccggcgggc tggtttatcg ccgataagac cggagctggc
901 gagcggggtg cgcggggat tgcgcctg ctggcccga ataacaagc agagcgcat
961 gtggtgattt atctgcggga taccgcgcg agcatggccg agcgaaatca gcaaatcgcc
1021 gggatcgcg cgcgctgat cgagcactgg caacgctaac ccggcggtgg ccgcgcgct
1081 tatccggccc gcagcacctc gcaggcgtgc cgggcgatat gactggcggc ggcacggaa
1141 agatgccggt cggtaatgat ggtggtgaac cgggtcaaag gtaacgccat aaacgtggcc
1201 acctgattgt atttcgaact gtcgcacagc aggatgcttc tcgcgctgac ctggctgacg
1261 gtctccttga cggtaacctt gttctcatca ggggtgaata tcccgcgact gtcccagccg
1321 ctggcggaga taaaggccgt at

```

SHV 11 ORIGIN [78]

```

1  ccctttcggg cagggtttaa cagaacattt ttttcattcc acgggtcagg gcgacccgcg
61  tcagcttata gctatcctga tgggcgtcgc tgaaaacgcc aaaaaaatag cgttcatcgt
121 caatggtttg gctaacaatt cggtagctca acggttgccc ggatagcgca ccgtactgcg
181 caggcgtcac cgagacctcg gtcgcgtcat cggcgacgct gaccaacagc ccgtccgcct
241 taccgcccac cagcatgacc ttaattatcg ggtgcaccag ttcctcccgg gatggcatat
301 agcgttggcg aaccgcaggg accggcgggc gtggtgatcg gcaaacagcg acgcccgaca
361 gagtgcggta ttagtactt tcttatagtt catcacggcc ttgagtcaaa aaatagcgtg
421 cttaggcagg gctagatatt gattattcga aataaaagat gacaaatgat gaaggaaaaa
481 agaggaattg tgaatcagca aaacgccggg ttattcttat ttgtcgcttc tttactcgcc
541 tttatcggcc ctactcaag gatgtattgt ggttatgcgt tatattcgcc tgtgtattat
601 ctccctgtta gccaccctgc cgctggcggt acacgccagc ccgcagccgc ttgagcaaat
661 taaacaaagc gaaagccagc tgtcgggccc cgtaggcatt atagaaatgg atctggccag
721 cggccgcacg ctgaccgcct ggcgcgccga tgaacgcttt cccatgatga gcacctttaa
781 agtagtgctc tgcggcgag tgcggcgcg ggtggatgcc ggtgacgaac agctggagcg
841 aaagatccac tatcgccagc aggatctggg ggactactcg ccggtcagcg aaaaacacct
901 tgccgacggc atgacggtcg gcgaactctg cgccgcccgc attaccatga gcgataacag
961 cgccgccaat ctgctgctgg ccaccgtcgg cggccccgca ggattgactg cttttttgcg
1021 ccagatcggc gacaacgtca cccgccttga ccgctgggaa acggaactga atgaggcgct
1081 tcccggcgat gccgcgaca ccactacccc ggccagcatg gccgcgaccc tgcgcaagct
1141 gctgaccagc cagcgtctga gcgcccgttc gcaacggcag ctgctgcagt ggatggtgga
1201 cgatcgggtc gccggaccgt tgatccgctc cgtgctgccg gcgggctggg ttatcgccga
1261 taagaccgga gctggcgaac ggggtgcgcg cgggattgtc gccctgcttg gcccgataaa
1321 caaagcagag cgcattgtgg tgatttatct gcgggatacc ccggcgagca tggccgagcg
1381 aatcagcaa atcgccggga tcggcgcggc gctgatcgag cactggcaac gctaaccggg

```

1441	cggtggccgc	gcgcgttata	cggctcgtag	cacctcgag	gcgtgccggg	cgatatgact
1501	ggcggcggca	tccgagagat	gccggtcggt	aatgatgggtg	gtgaaccggg	tcaaaggtaa
1561	cgccatgaac	gtggccacct	gattgtat	cgaactgtcg	cacagcagga	tgcttctcgc
1621	gctgacctgg	ctgacggtct	ccttgacggg	aaccttggtc	tcatcagggg	tgaatatccc
1681	gcgactgtcc	cagccgctgg	cggagataaa	ggccgtatcg	atagccaggt	ggcgtaacgt
1741	acgcgcggcc	gattcgccca	cgcaggagcg	gttctcccg	cacagagtgc	cgccgggtgtg
1801	gatcacgccg	cactggctgg	catcgatcag	cagctgggtt	atctcaaaat	cattgggtgac
1861	cacctggaga	tcgttccggg	cgaggatcgc	cgcggccagc	gccaggggtg	tagtcccggc
1921	atccagataa	atgcaactgt	ttttggcgat	atgactcgcc	gccagcgcg	cgatcgctg
1981	tttctcctca	ctctgca				

SHV 27 ORIGIN [79]

1	atgcgttata	ttcgccctgtg	tattatctcc	ctgttagcca	ccctgccgct	ggcggtacac
61	gccagccccg	agccgcttga	gcaaattaaa	ctaagcgaaa	gccagctgtc	gggccgcgta
121	ggcatgatag	aaatggatct	ggccagcggc	cgcacgctga	ccgcctggcg	cgccgatgaa
181	cgctttccca	tgatgagcac	ctttaaagta	gtgctctgcg	gcgcagtgtc	ggcgcggtgtg
241	gatgccgggtg	acgaacagct	ggagcgaaag	atccactatc	gccagcagga	tctggtggac
301	tactcgccgg	tcagcgaaaa	acatcttgcc	gacggcatga	cggtcggcga	actctgtgcc
361	gccgccatta	ccatgagcga	taacagcgcc	gccaatctgc	tgctggccac	cgctcgccggc
421	cccgcaggat	tgactgcctt	tttgcgccag	atcgacgaca	acgtcaccgc	ccttgaccgc
481	tgggaaacgg	aactgaatga	ggcgcttccc	ggcgacgccc	gcgacaccac	taccccggcc
541	agcatggccg	cgaccctgcg	caagctgctg	accagccagc	gtctgagcgc	ccgttcgcaa
601	cggcagctgc	tgacgtggat	ggtggacgat	cgggtcgccg	gaccgttgat	ccgctccgtg
661	ctgccggcgg	gctgggtttat	cgccgataag	accggagctg	gcgagcgggg	tgcgcgcggg
721	attgtcgccc	tgcttggccc	gaataacaaa	gcagagcgca	ttgtggtgat	ttatctgcgg
781	gatacgccgg	cgagcatggc	cgagcgaaat	cagcaaatcg	ccgggatcgg	cgcgcgctg
841	atcgagcact	ggcaacgcta	a			

TEM 1 ORIGIN [80]

1	tcggggaaat	gtgcgcggaa	cccctatttg	tttatttttc	taaatacatt	caaatatgta
61	tccgctcatg	agacaataac	cctgataaat	gcttcaataa	tattgaaaaa	ggaagagtat
121	gagtattcaa	cattttcgtg	tcgcccttat	tccctttttt	gcggcatttt	gccttcctgt
181	ttttgctcac	ccagaaacgc	tggtgaaagt	aaaagatgct	gaagatcagt	tggtgtcacg
241	agtgggttac	atcgaactgg	atctcaacag	cggtaagatc	cttgagagtt	ttcgccccga
301	agaacgtttt	ccaatgatga	gcacttttaa	agttctgcta	tgtggtgcgg	tattatccccg
361	tgttgacgcc	gggcaagagc	aactcggtcg	ccgcatacac	tattctcaga	atgacttggg
421	tgagtactca	ccagtcacag	aaaagcatct	tacggatggc	atgacagtaa	gagaattatg
481	cagtgtctgc	ataacatga	gtgataacac	tgccggccaac	ttacttctga	caacgatcgg
541	aggaccgaag	gagctaaccg	cttttttgca	caacatgggg	gatcatgtaa	ctcgccttga
601	tcgttgggaa	ccggagctga	atgaagccat	accaaacgac	gagcgtgaca	ccacgatgcc
661	tgagcaatg	gcaacaacgt	tgcgcaaaact	attaactggc	gaactactta	ctctagcttc
721	ccggcaacaa	ttaatagact	ggatggaggc	ggataaaagt	gcaggaccac	ttctgcgctc
781	ggcccttccg	gctggctggg	ttattgctga	taaatctgga	gccgggtgagc	gtgggtctcg
841	cggatatcatt	gcagcactgg	ggccagatgg	taagccctcc	cgtatcgtag	ttatctacac
901	gacggggagt	caggcaacta	tggatgaacg	aaatagacag	atcgctgaga	taggtgcctc
961	actgattaag	catttggtaa				

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
410	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500 + 700	1000 + 1300	S	S	S	S
415	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
416	Deutschland	SHV-1	TEM-1	800	1200	S	S	S	S
418	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	S	S	S
424	Deutschland	SHV-1		500	800	S	S	S	R
425	Deutschland	SHV-1		1000 + 1200	1600 + 1800	S	S	S	R
426	Deutschland	SHV-1		1000	1600	S	S	S	S
427	Deutschland	SHV-1	TEM-1			I	R	S	R
430	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	S
433	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	S
439	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
442	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	S
444	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	S
446	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	S	S	S	S
448	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	S	S	S	S
449	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	S	S	S	S
451	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	S
455	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1200	1600	S	S	S	S
456	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	S
459	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1200	1600	S	S	S	S
04A197	Frankreich	SHV-1	TEM-18	800 + 1500	1300 + 2000	R	R	I	R
04A220	Frankreich	SHV-1				S	S	S	R
04A368	Frankreich	SHV-1	TEM-1	700	1400	I	R	R	R
06A395	Frankreich	NEW	TEM-18	800	1500	R	R	R	R
06E046	Frankreich	NEW	TEM-18	900	1300	S	R	I	I
08C003	Deutschland	SHV-1		1800 + 2500	2000 + 2500	R	R	S	R
08E088	Deutschland	SHV-11		1000	1500	R	R	I	R
09A018	Griechenland	SHV-1				R	R	R	S
09A160	Griechenland	SHV-1				R	R	R	S
09A191	Griechenland	SHV-1		1600 + 3000	2000 + 3000	R	R	R	R
09A199	Griechenland	SHV-1	TEM-1			R	R	R	S
09A205	Griechenland	SHV-1	TEM-1	1600 + 3000	2000 + 3600	R	R	R	R
09A225	Griechenland	SHV-1		1600	2200	R	R	R	R
09A250	Griechenland	SHV-1		1600 + 3000	2200 + 3600	R	R	R	R

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
09A251	Griechenland	SHV-1		1600 + 3000	2000 + 3000	S	R	I	R
09A256	Griechenland	SHV-1	TEM-1			R	R	R	S
09A316	Griechenland	SHV-1				R	R	R	S
09A317	Griechenland	SHV-1	TEM-1			R	R	I	S
09A323	Griechenland	SHV-1		800	1600	S	S	S	R
09A355	Griechenland	SHV-1		1600	2000	S	R	I	R
09A433	Griechenland	SHV-1		1500	2200	S	R	I	R
09A434	Griechenland	SHV-1		800	1300	S	R	R	R
09A440	Griechenland	SHV-1	TEM-1	1600	2000	R	R	R	R
09A452	Griechenland	SHV-1		1500	2200	S	R	R	R
09A484	Griechenland	SHV-1		1600 + 3000	2200 + 3600	I	R	R	R
09A514	Griechenland	SHV-1		1600 + 3000	2000 + 3000	S	R	I	R
09A555	Griechenland	SHV-1	TEM-1			R	R	R	R
09A565	Griechenland	SHV-1		3000	3600	S	R	I	S
09A567	Griechenland	SHV-1				R	R	I	I
09A578	Griechenland	SHV-1		1600	2000	R	R	R	R
09A604	Griechenland	SHV-1				R	R	R	R
09C025	Griechenland	SHV-1		1500	2000	R	R	R	R
09C030	Griechenland	SHV-1	TEM-1	1500	2000	R	R	R	R
09C032	Griechenland	SHV-1	TEM-1	1500	2000	R	R	R	R
09C043	Griechenland	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
09D025	Griechenland	SHV-11				I	R	S	S
09D053	Griechenland	SHV-1		1200	1600	R	R	R	I
09D080	Griechenland	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
09D114	Griechenland	SHV-1	TEM-1	1000 + 1500	1600 + 2000	R	R	R	R
09E091	Griechenland	SHV-1		2500	3500	R	R	S	S
09E094	Griechenland	SHV-1				R	R	R	R
10A119	Italien	SHV-1		1900	2500	S	R	R	R
10A168	Italien	SHV-1		1600	2500	S	R	R	R
10A207	Italien	SHV-1		1500	2200	R	R	S	I
10A266	Italien	SHV-1		1800	2500	S	R	R	R
10A442	Italien	SHV-1		1600	2200	S	R	S	S
10E019	Italien	SHV-1		1600	2200	S	R	R	R
10E064	Italien	SHV-1		1000	1600	S	S	S	S

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
11A094	Italien	NEW		1600	2200	R	R	S	R
11A099	Italien	SHV-1		1200	1800	R	R	R	R
11A195	Italien	SHV-1		2200	2800	S	R	R	R
11A274	Italien	SHV-1		2200	2800	S	R	I	R
11A295	Italien	SHV-1		2000	2500	S	R	I	R
12A419	Niederlande	SHV-11				R	R	I	R
12A517	Niederlande	SHV-1				I	R	R	R
12C021	Niederlande	SHV-11		2200	3000	R	R	I	R
12C170	Niederlande	SHV-11				R	R	R	S
14A076	Polen	NEW	TEM-1			R	R	R	R
14A151	Polen	SHV-11				R	I	S	S
14C042	Polen	NEW		1900	2400	R	R	R	R
14E015	Polen	NEW	TEM-1	700 + 1500	1400 + 2000	R	R	R	R
15A145	Portugal	SHV-1	TEM-1	750	1400	R	R	S	R
15A280	Portugal	NEW	TEM-1	1500	2500	R	R	S	R
15A322	Portugal	SHV-1	TEM-1	800	1300	R	R	R	R
15A499	Portugal	NEW	TEM-1	1950	2200	R	R	S	R
15A509	Portugal	NEW		1400	2000	R	R	S	R
15A527	Portugal	NEW	TEM-1	1500	2600	R	R	S	R
15A615	Portugal	NEW	TEM-1	1600	2000	R	R	S	R
15A653	Portugal	NEW	TEM-1	1500	2000	R	R	S	R
15A667	Portugal	NEW	TEM-1	1600	2000	R	R	S	R
15C090	Portugal	NEW	TEM-1	1600	2000	R	R	S	R
15C136	Portugal	NEW	TEM-1	1500	2000	R	R	R	R
15D120	Portugal	NEW	TEM-1			R	R	I	S
15D143	Portugal	NEW	TEM-1	1400	2000	R	R	S	R
15E050	Portugal	NEW	TEM-1	1500	1800	R	R	S	I
16A035	Spanien	SHV-1	TEM-1			R	R	R	R
16A111	Spanien	SHV-11				R	R	R	R
16A175	Spanien	SHV-11	TEM-1			R	R	R	R
16A495	Spanien	SHV-11	TEM-1			S	R	R	S
16C083	Spanien	SHV-11	TEM-1			S	R	R	S
18C100	Spanien	SHV-1	TEM-1	800	1300	R	R	S	I
2044813	Singapur	SHV-1		1400	2000	S	R	R	S

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
2044939	Singapur	SHV-1		1600	2000	R	R	R	R
2044944	Singapur	SHV-11				R	R	R	R
2044955	Singapur	SHV-1				R	R	I	R
2044980	Singapur	SHV-11		800 + 2000	1600 + 2500	R	R	S	R
2044985	Singapur	SHV-11				R	R	R	R
2044988	Singapur	SHV-11		800	1600	S	R	I	R
2045029	Philippinen	SHV-1	TEM-1			S	R	S	R
2045569	Hong Kong	SHV-11				R	R	R	R
2045571	Hong Kong	SHV-11				R	R	R	R
2045646	Philippinen	SHV-11				S	R	R	R
2045720	Singapur	SHV-11		1000	1300	R	R	S	R
2045729	Singapur	SHV-11				S	R	S	S
2045734	Singapur	SHV-1		1600	2000	S	S	S	R
2045802	Philippinen	SHV-1	TEM-1	500 + 1000	700 + 1300	R	R	R	R
2045968	Süd Afrika	SHV-1		1400	1600	R	R	I	S
2046077	Hong Kong	SHV-11				S	R	R	R
2046095	Hong Kong	SHV-11		1400	1600	R	R	R	S
2046097	Hong Kong	SHV-11				S	R	S	R
2046117	Hong Kong	SHV-11		1000	1600	S	R	I	R
2046351	Philippinen	SHV-1				S	R	S	R
2046374	Philippinen	SHV-11				R	R	I	R
2046655	Singapur	SHV-11		800	1400	R	R	S	S
2046659	Singapur	SHV-1	TEM-1			R	R	R	R
2046660	Singapur	SHV-11	TEM-1	1000 + 2000	1600 + 3000	R	R	R	R
2046662	Singapur	SHV-1	TEM-1			R	R	S	R
2046726	Philippinen	SHV-1				S	S	S	S
2046875	Hong Kong	SHV-11		800	1400	R	R	S	S
2046880	Hong Kong	SHV-11		2000	2600	S	R	R	R
2046897	Hong Kong	SHV-11				S	R	R	R
2046918	Hong Kong	SHV-11	TEM-1	1000	1600	S	R	S	R
2046986	Singapur	SHV-11	TEM-1			R	R	R	R
2046988	Singapur	SHV-11		800	1400	R	R	R	R
2047028	Süd Afrika	SHV-1	TEM-1	800 + 3000	1600 + >3000	R	R	R	R
2047109.2	Süd Afrika	SHV-1		1200	2000	R	R	I	S

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
2047124	Singapur	SHV-11	TEM-1	800	1400	R	R	R	R
2047127	Singapur	SHV-11	TEM-1	800	1400	R	R	R	S
2047528	Singapur	SHV-1				R	R	S	S
2047531	Singapur	SHV-11		1400	2000	S	S	S	R
2047540	Singapur	SHV-11		800	1400	R	R	S	S
2047962	Japan	SHV-11				S	S	S	S
2047971	Japan	NEW		1000	1600	S	S	S	R
2048015	Japan	NEW		1000	1600	S	S	S	S
2048271	Taiwan	NEW		1600	2000	R	R	R	R
2048326	Taiwan	NEW		1600	2000	R	R	S	R
2048465	Taiwan	SHV-11	TEM-1			R	R	R	R
2048468	Taiwan	NEW		1600	2000	R	R	R	R
2048469	Taiwan	SHV-11	TEM-1	1000	1400	R	R	S	R
2048497	Taiwan	SHV-11				R	R	R	S
20A181	Großbritannien	SHV-1				R	R	R	S
22A014	Türkei	SHV-11				R	R	R	S
22A027	Türkei	SHV-1	TEM-1	700	1400	R	R	R	R
22A169	Türkei	SHV-1		1500	2000	S	S	R	R
22A171	Türkei	SHV-1		1500	1600	S	S	R	R
22A205	Türkei	SHV-11	TEM-1			R	R	R	S
22A206	Türkei	SHV-1	TEM-1			S	R	R	S
22A211	Türkei	SHV-1				S	S	S	S
22E041	Türkei	SHV-11		1800	2400	S	R	R	R
22E099	Türkei	SHV-11	TEM-1	1800 + 2400	2500 + 2800	R	R	R	R
23A037	Türkei	SHV-1		1300	1800	R	R	R	R
23A091	Türkei	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
23A092	Türkei	SHV-11	TEM-1	1000	2000	R	R	R	R
23A134	Türkei	SHV-11	TEM-1	1600	2000	R	R	S	R
23A139	Türkei	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
23A144	Türkei	SHV-1	TEM-1	<500	800	R	R	R	R
23A145	Türkei	SHV-1		1600	2000	S	S	R	R
23A158	Türkei	SHV-1	TEM-1	1600	2200	R	R	I	R
23A168	Türkei	SHV-1	TEM-1	1100	1600	R	R	R	R
23A180	Türkei	SHV-11	TEM-1	1100	1800	R	R	R	R

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
23D002	Türkei	SHV-1		1200	1600	R	R	R	S
23D005	Türkei	SHV-1		1000	2000	R	R	R	R
23D009	Türkei	SHV-1	TEM-1			R	R	R	R
23D022	Türkei	SHV-1	TEM-1	700	1600	R	R	R	R
23D050	Türkei	SHV-11		1800 + 2600	2600 + 3000	R	R	S	S
23E001	Türkei	SHV-1		1200	1800	S	R	R	R
23E005	Türkei	SHV-1		700 + 1200	1300 + 1800	R	R	I	R
23E028	Türkei	SHV-1		1500	2400	S	R	R	R
23E031	Türkei	SHV-1	TEM-1	1500 + 2200	2000 + 2700	R	R	I	R
23E032	Türkei	SHV-11	TEM-1	1500	2000	R	R	R	R
23E037	Türkei	SHV-1				S	S	S	R
23E045	Türkei	SHV-11	TEM-1			R	R	S	S
23E047	Türkei	SHV-1	TEM-1	1100	1600	R	R	R	R
23E049	Türkei	SHV-11		1100	1500	R	R	R	R
23E054	Türkei	SHV-11		1100	1500	R	R	R	R
23E074	Türkei	SHV-1		1000	1600	R	R	R	R
23E078	Türkei	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
23E090	Türkei	SHV-11	TEM-1	1200	1600	R	R	R	R
23E100	Türkei	SHV-11		1600 + 1800	2000 + 2200	R	R	S	R
24A003	Albanien	SHV-1				S	R	S	S
24A007	Albanien	SHV-1		1000	1600	R	R	R	S
24A038	Albanien	SHV-1		1200	1700	R	R	R	R
24A041	Albanien	SHV-1		1200 + 1500	1600 + 2000	R	R	R	R
24A045	Albanien	SHV-1	TEM-1	700 + 1000	1300 + 1600	R	R	R	R
24A052	Albanien	SHV-1		1200	1800	R	R	R	S
24E011	Albanien	SHV-11		700	1200	R	R	R	R
24E031	Albanien	SHV-1		700	1400	R	R	S	R
24E050	Albanien	SHV-1		1200	1600	R	R	R	R
25A013	unbekannt	SHV-1		1900	2200	R	R	R	S
25A034	unbekannt	SHV-1	TEM-1	2500	3000	R	R	S	R
25A115	unbekannt	SHV-1		1100	1600	R	S	R	R
25A155	unbekannt	SHV-1		1100	1800	R	R	S	R
94 1919	Singapur	SHV-11	TEM-1			S	R	R	S
942349	Singapur	SHV-1		800 + 1600	1400 + 2000	S	R	S	R

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
942377	China	SHV-11		1600	2000	R	R	R	R
942753	Singapur	SHV-11	TEM-1			R	R	R	S
942762	Singapur	SHV-11	TEM-1	800	1200	R	R	S	S
942802	China	SHV-11				R	S	R	R
942878	Japan	NEW		1000	1500	S	S	S	S
942980	Taiwan	SHV-11	TEM-1	1000	1500	R	R	R	R
942992	Taiwan	NEW		1800	2000	R	R	R	R
943098	Hong Kong	SHV-11	TEM-1	1400	2500	R	R	I	R
943120	Hong Kong	SHV-11	TEM-1	1600	2000	R	R	I	R
943137	Hong Kong	SHV-11		700	1300	R	R	R	S
943152	Hong Kong	NEW				S	S	S	S
943153	Hong Kong	NEW		1000	1400	S	S	S	S
943154	Hong Kong	SHV-11		800 + 1600	1400 + 2000	S	R	S	R
943157	Hong Kong	SHV-11		1800	2000	S	R	I	R
943199	China	SHV-27		1400	2000	R	R	R	R
943203	China	SHV-1				S	S	S	S
943209	China	SHV-11	TEM-1	800	1400	R	R	S	S
943443	China	SHV-11	TEM-1	1400	2000	R	R	R	R
943513	China	SHV-11				S	S	S	S
943515	China	SHV-11	TEM-1	1400	2000	R	R	R	R
943516	China	SHV-11				S	S	S	S
943522	China	SHV-11				S	R	I	R
943525	China	SHV-11				S	R	S	S
943550	Süd Afrika	SHV-1		800	1400	R	R	R	R
943618	Philippinen	SHV-1		700	1200	S	R	I	R
943619	Philippinen	SHV-1				S	R	I	R
943743	Philippinen	SHV-11				S	R	I	R
943765	Philippinen	SHV-1		700	1200	R	R	R	R
943880	Philippinen	SHV-1				S	S	S	S
943886	Philippinen	SHV-1		800	1200	R	R	S	R
944082	Hong Kong	SHV-11				R	R	I	R
944091	Hong Kong	SHV-1				R	R	S	R
944110	Hong Kong	SHV-11				S	R	I	I
944114	Hong Kong	SHV-11				R	R	R	R

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
944140	Australien	SHV-1	TEM-1	1000	1400	S	R	R	S
944164	Philippinen	SHV-11		1000 + 3000	1600 + >3000	I	R	S	R
944183	Philippinen	SHV-11				S	R	R	R
944336	Australien	SHV-11		2000	2500	S	R	S	R
944434	Philippinen	SHV-11				S	S	S	S
944462	Philippinen	SHV-11				S	S	S	S
944467	Philippinen	SHV-1		500 + 1000	800 + 1400	R	R	I	R
944481	Philippinen	SHV-1				S	R	R	R
944504	Philippinen	SHV-11		800	1400	R	R	I	R
944505	Philippinen	SHV-11		800	1400	S	S	S	R
944507	Philippinen	SHV-11				S	R	R	R
944542	Japan	NEW		1000	1600	S	S	S	I
944566	Japan	NEW		1000	1500	S	S	S	S
944676	Japan	NEW		1000	1600	S	S	S	S
944736	Australien	SHV-1				R	R	S	S
944838	Singapur	SHV-11		1000	1600	R	R	I	R
945007	Süd Afrika	SHV-11				R	R	S	R
945115	Hong Kong	SHV-11				R	R	I	R
945142	Hong Kong	SHV-11		800	1300	R	R	S	R
945229	Japan	SHV-11		1000	1600	S	S	S	I
945233	Japan	SHV-11		1000	1600	S	S	S	S
945250	Japan	NEW		1000	1600	S	S	I	S
945267	Japan	SHV-1		1000	1600	S	S	S	I
945317	China	SHV-1				S	S	S	S
945321	China	SHV-1	TEM-1			S	S	S	S
ESBL 94	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 101	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 107	Deutschland	SHV-1		800	1000	R	R	R	R
ESBL 122	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	R	R	I
ESBL 123	Deutschland	SHV-1				R	R	S	S
ESBL 125	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	R	S	R
ESBL 129	Deutschland	SHV-1	NEW	700	1300	R	R	S	R
ESBL 18	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	I	S	R
ESBL 2	Deutschland	SHV-11				S	I	S	S

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
ESBL 23	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	R
ESBL 28	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	R	R	S	R
ESBL 34	Deutschland	SHV-11				S	S	S	S
ESBL 37	Deutschland	SHV-1				S	R	S	S
ESBL 39	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 42	Deutschland	SHV-1				S	R	I	S
ESBL 44	Deutschland	SHV-1				R	R	I	S
ESBL 51	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 52	Deutschland	SHV-1				S	R	I	S
ESBL 53	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL 61	Deutschland	SHV-27	TEM-1	1200	1600	S	S	S	R
ESBL 76	Deutschland	SHV-1		1200	1600	S	S	S	I
ESBL 8	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	R	R	R
ESBL 87	Deutschland	SHV-1				S	S	S	R
ESBL 9	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	R	R	R	R
ESBL 92	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	R
ESBL 97	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL10	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	R	R	I	R
ESBL103	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL104	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL106	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL11	Deutschland	SHV-1	TEM-1			I	I	S	R
ESBL12	Deutschland	SHV-1	TEM-1			I	I	S	R
ESBL124	Deutschland	SHV-1		1200	1700	R	R	S	S
ESBL13	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	R	R	R
ESBL130	Deutschland	SHV-1	NEW	1000	1600	R	I	S	R
ESBL134	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	I	S	R
ESBL139	Deutschland	SHV-1				S	R	S	R
ESBL14	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	R	S	R
ESBL140	Deutschland	NEW	TEM-1	1000	1600	R	R	S	R
ESBL142	Deutschland	SHV-1		1200	1700	S	S	S	S
ESBL143	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	R	R	I	R
ESBL144	Deutschland	NEW	TEM-1	500	800	R	I	S	R
ESBL145	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	R	R	S	R

Klebstiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
ESBL147	Deutschland	SHV-1	TEM-1	700	1000	S	S	S	S
ESBL15	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	R	S	R
ESBL151	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1200	1600	S	I	S	R
ESBL155	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	S	S	S	S
ESBL156	Deutschland	SHV-1	TEM-1	500	800	S	S	S	S
ESBL16	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	R	S	R
ESBL17	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	I	R	S	R
ESBL19	Deutschland	SHV-1		1000	1600	S	S	S	S
ESBL20	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	S	S	I
ESBL25	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	R	R	S	R
ESBL3	Deutschland	SHV-1				S	I	S	S
ESBL33	Deutschland	SHV-11				S	S	S	S
ESBL36	Deutschland	SHV-1	TEM-1			I	R	I	S
ESBL38	Deutschland	SHV-1				S	S	S	S
ESBL4	Deutschland	SHV-1				S	I	S	S
ESBL40	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	I	S	S
ESBL41	Deutschland	SHV-1				I	R	I	S
ESBL43	Deutschland	SHV-1		1200	1700	I	R	I	S
ESBL46	Deutschland	SHV-1		1200	1700	S	R	S	S
ESBL77	Deutschland	SHV-1	TEM-1	1000	1600	S	S	S	I
ESBL78	Deutschland	SHV-1		1000	1600	S	S	S	S
ESBL79	Deutschland	SHV-1		500	800	S	S	S	I
ESBL80	Deutschland	SHV-1		1200	1700	S	S	S	R
ESBL81	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	I	S	R
ESBL82	Deutschland	SHV-1				S	S	S	I
ESBL83	Deutschland	SHV-1	TEM-1			S	S	S	I
ESBL84	Deutschland	SHV-1	TEM-1	700	1000	S	S	S	I
ESBL85	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	I
ESBL86	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	I
ESBL88	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	I
ESBL89	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	I
ESBL90	Deutschland	SHV-1	TEM-1	700	1000	S	S	S	I
ESBL91	Deutschland	SHV-1		700	1000	S	S	S	I
Obels11.469	Deutschland	SHV-1				R	R	S	R

Klebsiella	Herkunftsland	SHV - PCR	TEM - PCR	3'CS - 5'CS	3'CS - Int2F	GN	TOB	AN	SXT
Obels18.468	Deutschland	SHV-1	TEM-1			R	R	S	R
Obs1	Deutschland	SHV-11				R	R	S	R

8 LITERATURQUELLVERZEICHNIS

- [1] Mikrobiologische Diagnostik
Friedrich Burkhardt, Thieme 1992
Seite 145-147

- [2] Orskov I./F., Serotyping of Klebsiella.
In Bergan,T.: Methods in Microbiology, Vol.14
Academic Press, London 1984

- [3] Lexikon der Mikrobiologie und Infektiologie
Bauerfeind / Shah.
Schatauer Verlag,1995
S.100 Beta-Lactamasen
- [4] S.305 SHV
- [5] S.323 TEM

- [6] H.Hof, R.L. Müller, R. Dörries
Mikrobiologie-Duale Reihe
Seite 268

- [7] Klinisches Wörterbuch – Pschyrembel, 257. Auflage,
de <gruyter Verlag 1996
Seite 1201-1202

- [8] Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie
Bauerfeind A., Peters G.
Herausgeber: Brandis H., Köhler W., Eggers H., Pulverer G.
Gustav Fischer Verlag; 1994
Seite 304-344

- [9] Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by
site.specific recombination
Hall RM, Collis CM
Mol Microbiol; 1995
15(4): 593-600

- [10] Identification and charachterization of an aad-b gene cassette at a
secondary site in a plasmid from Actinetobacter.
Segal H., Elisha BG.
FEMS Microbiol Lett 1997; 153(2):321-6.

- [11] Gene cassettes: a new class of mobile element,
Recchia GD., Hall RM.,
Microbiology 1995
141 (Pt12):3015-3027

- [12] Class I Integrons, gene cassettes, mobility and epidemiology.
Fluit AC., Schmitz FJ.
Eur. J. Clin Microbiol Infect Dis 1999
18(11): 761-770

- [13] Aufbau, Funktion und Verbreitung von Integrans als mobile Überträger von Antibiotikaresistenzgenen
Geisel R., Schmitz FJ.
Der Mikrobiologe 12/2000
Seite 201-207
- [14] Bradford, P.A. 1999. Automated thermal cycling is superior to traditional methods for nucleotide sequencing of *bla_{SHV}* genes. Antimicrob. Agents Chemother. 43: 2960-2963.
- [15] 2. Podbielski, A., J. Schonling, B. Melzer, K. Warnatz, and H.-G. Leusch. 1991. Molecular characterization of a new plasmid-encoded SHV-type β -lactamase (SHV-2 variant) conferring high-level cefotaxime resistance upon *Klebsiella pneumoniae*. J. Gen. Microbiol. 137:569-578.
- [16] Nicolas, M.-H., V. Jarlier, N. Honore, A. Philippon, and S. T. Cole. 1989. Molecular characterization of the gene encoding SHV-3 β -lactamase responsible for transferable cefotaxime resistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. 33:2096-2100.
- [17] Peduzzi, J., M. Barthelemy, K. Tiwari, D. Mattioni, and R. Labia. 1989. Structural features related to hydrolytic activity against ceftazidime of plasmid-mediated SHV-type CAZ-5 β -lactamase. Antimicrob. Agents Chemother. 33:2160-2163.
- [18] Billot-Klein, D., L. Gutmann, and E. Collatz. 1990. Nucleotide sequence of the SHV-5 β -lactamase gene of a *Klebsiella pneumoniae* plasmid. Antimicrob. Agents Chemother. 34:2439-2441.
- [19] Arlet, G., M. Rouveau, and A. Philippon. 1997. Substitution of alanine for aspartate at position 179 in the SHV-6 extended-spectrum β -lactamase. FEMS Microbiol. Lett. 152:163-167.
- [20] Bradford, P. A., C. Urban, A. Jaiswal, N. Mariano, B. A. Rasmussen, S. J. Projan, J. J. Rahal, and K. Bush. 1995. SHV-7, a novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase, identified in *Escherichia coli* isolated from hospitalized nursing home patients. Antimicrob. Agents Chemother. 39:899-905.
- [21] Rasheed, J. K., C. Jay, B. Metchock, F. Berkowitz, L. Weigel, J. Crellin, C. Steward, B. Hill, A. A. Medeiros, F. C. Tenover. 1997. Evolution of extended-spectrum β -lactam resistance (SHV-8) in a strain of *Escherichia coli* during multiple episodes of bacteremia. Antimicrob. Agents Chemother. 41:647-653.

- [22] Prinarakis, E. E., E. Tzelepi, M. Gazouli, A. F. Mentis, and L. S. Tzouvelekis. 1996. Characterization of a novel SHV β -lactamase variant that resembles the SHV-5 enzyme. *FEMS Microbiol. Lett.* 139:229-234.
- [23] Prinarakis, E. E., V. Miriagou, E. Tzelepi, M. Gazouli, and L. S. Tzouvelekis. 1997. Emergence of an inhibitor-resistant β -lactamase (SHV-10) derived from an SHV-5 variant. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41:838-840.
- [24] Nuesch-Inderbinen, M.T., F.H. Kayser, and H. Hachler. 1997. Survey and molecular genetics of SHV β -lactamases in *Enterobacteriaceae* in Switzerland: two novel enzymes, SHV-11 and SHV-12. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41:943-949.
- [25] Yuan, M., L.M.C. Hall, P.H.M. Savelkoul, C.M.J.E. Vandenbroucke-Grauls, and D. M. Livermore. 2000. SHV-13, a novel extended-spectrum β -lactamase, in *Klebsiella pneumoniae* isolates from patients in an intensive care unit in Amsterdam. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:1081-1084.
- [26] Yuan, M., L.M.C. Hall, J. Hoogkamp-Korstanje, and D.M. Livermore. 2001. SHV-14, a novel β -lactamase variant in *Klebsiella pneumoniae* form Nijmegen, The Netherlands. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 309-311.
- [27] Child, J.A., D.M. Livermore, and M.J. Gill. SHV-15 and SMY-2 extended spectrum β -lactamases in a strain of *Escherichia coli* imported from India into the United Kingdom. GenBank ECO011428
- [28] Arpin, C., R. Labia, C. Andre, C. Frigo, Z. El Harrif, and C. Quentin. 2001. SHV-16, a β -lactamase with a pentapeptide duplication in the omega loop. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 2480-2485.
- [29] Rasheed, J.K., G.J. Anderson, H. Yigit, A.M. Queenan, A. Doménech-Sanchez, J.M. Swenson, J.W. Biddle, M.J. Ferraro, G.A. Jacoby, and F.C. Tenover. 2000. Characterization of the extended-spectrum β -lactamase reference strain, *Klebsiella pneumoniae* K6 (ATCC 700603), which produces the novel enzyme SHV-18. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:2382-2388.
- [30] Essack, S.Y., L.M.C. Hall, D.G. Pillary, M.L. McFadyen, and D.M. Livermore. 2001. Complexity and diversity of *Klebsiella pneumoniae* strains with extended-spectrum β -lactamases isolated in 1994 and 1996 at a teaching hospital in Durban, South Africa. *Antimicrob. Agents Chemother.* 45: 88-95.
- [31] Kurokawa, H., T. Yagi, N. Shibata, K. Shibayama, K. Kamachi, and Y. Arakawa. 2000. A new SHV-derived extended-spectrum β -lactamase (SHV-24) that hydrolyzed ceftazidime through a single-amino-acid substitution (D179G) in the omega-loop. *Antimicrob.*

Agents Chemother. 44:1725-1727.

- [32] Chang, F.-Y., L.K Siu, C.-P. Fung, M.-H. Huang, and M. Ho. 2001. Diversity of SHV and TEM β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae*: gene evolution in Northern Taiwan and two novel β -lactamases, SHV-25 and SHV-26. Antimicrob. Agents Chemother. 45: 2407-2413.
- [33] Omitted
- [34] Essack, S, D. Livermore. 1999. Personal communication.
- [35] Corkill, J.E., L.E. Cuevas, R.Q. Gurgel, J. Greensill, and C.A. Hart. 2001. SHV-27, a novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase, identified in *Klebsiella pneumoniae* isolates from a Brazilian hospital. J. Antimicrob. Chemother. 47: 463-465.
- [36] Yu, Y., Zhou, W. and Chen, Y. GenBank AF299299
- [37] Yigit, H., Queenan, A.M., Anderson, G.J., Domenech-Sanchez, A., Biddle, J.W., Steward, C.D., Alberti, S., Bush, K. and Tenover, F.C. GenBank AF301532_1.
- [38] Datta, N., and P. Kontomichalou. 1965. Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. Nature (London) 208:239-241.
- [39] Sutcliffe, J.G. 1978. Nucleotide sequence of the ampicillin resistance gene of *Escherichia coli* plasmid pBR322. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:3737-3741.
- [40] Matthew, M., and R.W. Hedges. 1976. Analytical isoelectric focusing of R factor determined β -lactamases: correlation with plasmid compatibility. J. Bacteriol. 125:713-718.
- [41] Ambler, R.P., and G.K. Scott. 1978. Partial amino acid sequence of penicillinase coded by *Escherichia coli* plasmid R6K. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75:3732-3736.
- [42] Sirot, D., J. Sirot, R. Labia, A. Morand, P. Courvalin, A. Darfeuille-Michaud, R. Perroux, and R. Cluzel. 1987. Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel β -lactamase. J. Antimicrob. Chemother. 20:323-334.
- [43] Sougakoff, W., S. Goussard, and P. Courvalin. 1988. The TEM-3 β -lactamase, which hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins, is derived from the TEM-2 penicillinase by two amino acid substitutions. FEMS Microbiol. Lett. 56:343-348.

- [44] Courvalin, P. 1997. Personal communication. TEM-14 has been entirely sequenced and is indistinguishable from TEM-3.
- [45] Paul, G.C., G. Gerbaud, A. Bure, A.M. Philippon, B. Pangon, and P. Courvalin. 1989. TEM-4, a new plasmid-mediated β -lactamase that hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33:1958-1963.
- [46] Sougakoff, W., A. Petit, S. Goussard, D. Sirot, A. Bure, and P. Courvalin. 1989. Characterization of the plasmid genes *blaT-4* and *blaT-5* which encode the broad-spectrum β -lactamases TEM-4 and TEM-5 in Enterobacteriaceae. *Gene* 78:339-348.
- [47] Petit, A., D.L. Sirot, C.M. Chanal, J.L. Sirot, R. Labia, G. Gerbaud, and R.A. Cluzel. 1988. Novel plasmid-mediated β -lactamase in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* more resistant to ceftazidime than to other broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 32:626-630.
- [48] Bauernfeind, A., and G. Hörl. 1987. Novel R-factor borne β -lactamase of *Escherichia coli* conferring resistance to cephalosporins. *Infection* 15:257-259.
- [49] Mabilat, C., and P. Courvalin. 1990. Development of "oligotyping" for characterization and molecular epidemiology of TEM β -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 34:2210-2216.
- [50] Gutmann, L., M.D. Kitzis, D. Billot-Klein, F. Goldstein, G. Tran Van Nhieu, T. Lu, J. Carlet, E. Collatz, and R. Williamson. 1988. Plasmid-mediated β -lactamase (TEM-7) involved in resistance to ceftazidime and aztreonam. *Rev. Infect. Dis.* 10:860-866.
- [51] Collatz, E., G. Tran Van Nhieu, D. Billot-Klein, R. Williamson, and L. Gutmann. 1989. Substitution of serine for arginine in position 162 of TEM-type β -lactamases extends the substrate profile of mutant enzymes, TEM-7 and TEM-101, to ceftazidime and aztreonam. *Gene* 78:349-354.
- [52] Chanal, C.M., D.L. Sirot, A. Petit, R. Labia, A. Morand, J.L. Sirot, and R.A. Cluzel. 1989. Multiplicity of TEM-derived β -lactamases from *Klebsiella pneumoniae* strains isolated at the same hospital and relationships between the responsible plasmids. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33:1915-1920.
- [53] Chanal, C., M-C. Poupart, D. Sirot, R. Labia, J. Sirot, and R. Cluzel. 1992. Nucleotide sequences of CAZ-2, CAZ-6, and CAZ-7 β -lactamase genes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36:1817-1820.
- [54] Spencer, R.C., P.F. Wheat, T.G. Winstanley, D.M. Cox, and S.J. Pledsted. 1987. Novel β -lactamase in a clinical isolate of *Klebsiella*

- pneumoniae* conferring unusual resistance to β -lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 20:919-921.
- [55] Quinn, J.P., D. Miyashiro, D. Sahm, R. Flamm, and K. Bush. 1989. Novel plasmid-mediated β -lactamase (TEM-10) conferring selective resistance to ceftazidime and aztreonam in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. 33:1451-1456.
 - [56] Rice L.B., S.H. Marshall, L.L. Carias, L. Sutton L, and G.A. Jacoby. 1993. Sequences of MGH-1, YOU-1, YOU-2 extended spectrum β -lactamase genes. Antimicrob Agents Chemother. 37:2760-2761.
 - [57] Vuye, A., G. Verschraegen, and G. Claeys. 1989. Plasmid-mediated β -lactamases in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* resistant to ceftazidime. Antimicrob. Agents Chemother. 33:757-761.
 - [58] Goussard, S. and P. Courvalin. 1999. Updated sequence information for TEM β -lactamase genes. Antimicrob. Agents Chemother. 43:367-370.
 - [59] Webber, D.A., C.C. Sanders, J.S. Bakken, and J.P. Quinn. 1990. A novel chromosomal TEM derivative and alterations in outer membrane proteins together mediate selective ceftazidime resistance in *Escherichia coli*. J. Infect. Dis. 162:460-465.
 - [60] Chanal, C., D. Sirot, H. Malaure, M.-C. Poupart, and J. Sirot. 1994. Sequences of CAZ-3 and CTX-2 extended-spectrum β -lactamase genes. Antimicrob. Agents Chemother. 38:2452-2453.
 - [61] Courvalin, P. 1997. Personal communication: TEM-17 was originally defined by oligotyping and when its amino acid sequences was determined, it turned out to be identical to TEM-15. However, an enzyme with the sequence defined as TEM-17 has subsequently been discovered.
 - [62] Courvalin P. 1997. Personal communication: The gene for the original TEM-19 has been only partially sequenced but shows a G at 238 rather than the S proposed by oligotyping. The sequence of TEM-19 has been retained, however, since an ESBL with G238S has subsequently been discovered (Jacoby, G.A., P. Han, M. Alvarez, F. Tenover, Survey of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) production in US clinical isolates. Program Abstr. 35th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. abstr. C40.)
 - [63] Ben Redjeb, S., G. Fournier, C. Mabilat, A. Ben Hassen, and A. Philippon. 1990. Two novel transferable extended-spectrum β -lactamases from *Klebsiella pneumoniae* in Tunisia. FEMS Microbiol. Lett. 67:33-38.

- [64] Arlet, G., G. Bami, D. Décrè, A. Flippo, O. Gaillot, P.H. Lagrange, and A. Philippon. 1995. Molecular characterisation by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM β -lactamases. *FEMS Microbiol. Lett.* 134:203-208.
- [65] Arlet, G., M. Rouveau, G. Fournier, P.H. Lagrange, and A. Philippon. 1993. Novel, plasmid-encoded, TEM-derived extended-spectrum β -lactamase in *Klebsiella pneumoniae* conferring higher resistance to aztreonam than to extended-spectrum cephalosporins. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37:2020-2023.
- [66] Arlet, G., S. Goussard, P. Courvalin, and A. Philippon. 1999. Sequences of the genes for the TEM-20, TEM-21, TEM-22, and TEM-29 extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43:969-971.
- [67] Poupart, M.-C., C. Chanal, D. Sirot, R. Labia, and J. Sirot. 1991. Identification of CTX-2, a novel cefotaximase from a *Salmonella mbandaka* isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 35:1498-1500.
- [68] Naumovski, L., J.P. Quinn, D. Miyashiro, M. Patel, K. Bush, S.B. Singer, D. Graves, T. Palzkill, and A.M. Arvin. 1992. Outbreak of ceftazidime resistance due to a novel extended-spectrum β -lactamase in isolates from cancer patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 36:1991-1996.
- [69] Morosini, M.I., R. Canton, J. Martinez-Beltran, J.C. Negri, J.C. Perez-Diaz, F. Baquero, and J. Blazquez. 1995. New extended-spectrum TEM-type β -lactamase from *Salmonella enterica subsp. enterica* isolated in a nosocomial outbreak. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:458-461.
- [70] Sirot, D., and R. Labia. 1997. Personal communication.
- [71] Rosenau, A., B. Cattier, N. Gousset, P. Harriau, A. Philippon, and R. Quentin. 2000. *Capnocytophaga ochracea*: characterization of a plasmid-encoded extended spectrum TEM-17 β -lactamase in the phylum *Flavobacter-Bactrerioides*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:760-762.
- [72] Courvalin, P. 1997. Personal communication. TEM-18 with Q39K and E104K was proposed by oligotyping, but subsequent fuller sequencing indicated identity to TEM-3. However, an enzyme with the sequence proposed for TEM-18 has subsequently been discovered. See Reference 51.
- [73] Tessier, F., C. Arpin, A. Allery, C. Quentin, 1998. Molecular characterization of a TEM-21 β -lactamase in a clinical isolate of

- Morganella morganii*. Antimicrob. Agents Chemother. 42:2125 - 2127.
- [74] Wink M., Wehrle H.
PCR (Polymerase Kettenreaktion) im medizinischen und biologischen Labor, Handbuch für den Praktiker;
1. Auflage; GIT Verlag; Darmstadt (1994).
- [75] PCR Trainingsprogramm Version 2
Roche Diagnostics GmbH
- [76] Die Daten wurden erhoben von Kai Siodla,
Arbeitsgruppe Prof. Dr.Schmitz
Mikrobiologisches Institut
Heinrich Heine Universität Düsseldorf
- [77] Klebsiella pneumoniae beta-lactamase SHV-1 gene, complete cds.
MEDLINE [20106982](#)
PUBMED [10639363](#)
- [78] Klebsiella pneumoniae beta-lactamase (blaSHV-11) gene, complete cds.
protein_id="[AAS98183.1](#)"
aus Pubmed Datenbank der Nukleotide
- [79] Klebsiella pneumoniae SHV-27 beta lactamase (bla-SHV-27) gene, complete cds.
MEDLINE [21167735](#)
PUBMED [11266422](#)
- [80] Klebsiella pneumoniae plasmid E3 beta-lactamase TEM-1 gene, complete cds.
protein_id="[AAG47772.1](#)"
- [81] rki.de/cln_011/nn_389374/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/krankenhaushygiene__node.html__nnn=true
- [82] Leverstein-Van Hall MA, HE MB, AR TD, Paauw A, Fluit AC, Verhoef J. Multidrug resistance among Enterobacteriaceae is strongly associated with the presence of integrons and is independent of species or isolate origin. J.Infect.Dis. 2003;187(2):251-9.
- [83] Norskov-Lauritsen N, Sandvang D, Hedegaard J, Fussing V, Mortensen KK, Sperling-Petersen HU et al. Clonal origin of aminoglycoside-resistant Citrobacter freundii isolates in a Danish county. J.Med.Microbiol. 2001;50(7):636-41.
- [84] Girlich D, Karim A, Poirel L, Cavin MH, Verny C, Nordmann P. Molecular epidemiology of an outbreak due to IRT-2 beta-

- lactamase-producing strains of *Klebsiella pneumoniae* in a geriatric department. *J.Antimicrob.Chemother.* 2000;45(4):467-73.
- [85] Lee K, Lim JB, Yum JH, Yong D, Chong Y, Kim JM et al. bla(VIM-2) cassette-containing novel integrons in metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* isolates disseminated in a Korean hospital. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2002;46(4):1053-8.
 - [86] White PA, McIver CJ, Rawlinson WD. Integrons and gene cassettes in the enterobacteriaceae. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2001;45(9):2658-61.
 - [87] Maguire AJ, Brown DF, Gray JJ, Desselberger U. Rapid screening technique for class 1 integrons in Enterobacteriaceae and nonfermenting gram-negative bacteria and its use in molecular epidemiology. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2001;45(4):1022-9.
 - [88] Goldstein C, Lee MD, Sanchez S, Hudson C, Phillips B, Register B et al. Incidence of class 1 and 2 integrases in clinical and commensal bacteria from livestock, companion animals, and exotics. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2001;45(3):723-6.
 - [89] Leverstein-Van Hall MA, Paauw A, Box AT, Blok HE, Verhoef J, Fluit AC. Presence of integron-associated resistance in the community is widespread and contributes to multidrug resistance in the hospital. *J.Clin.Microbiol.* 2002;40(8):3038-40.
 - [90] Morabito S, Tozzoli R, Caprioli A, Karch H, Carattoli A. Detection and characterization of class 1 integrons in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Microb.Drug Resist.* 2002;8(2):85-91.
 - [91] Nandi S, Maurer JJ, Hofacre C, Summers AO. Gram-positive bacteria are a major reservoir of Class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 2004;101(18):7118-22.

8 LEBENSLAUF

Angaben zur Person:

Name: Agnes Krahmer – Moellenberg
Wohnort: Amselstraße 22
47929 Grefrath

Geburtstag und –ort: 30.10.1974, Tönisvorst
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung:

1981 – 1985 Gemeinschaftsgrundschule Oedt
1985 – 1994 Liebfrauenschule Mülhausen, Grefrath
1994 – 1996 Berufsschulzentrum Krefeld - Uerdingen

Berufsausbildung:

1994 – 1996 Technischen Zeichnerin, Fachrichtung Maschinenbau und
Anlagentechnik, bei der Firma ITT Richter Chemie–Technik,
Kempen
Apr. 1997–Apr. 2000 Vorklinisches Studium Humanmedizin, HHU Düsseldorf
Okt. 2000–Apr. 2003 Klinisches Studium Humanmedizin, HHU Düsseldorf
Okt. 2003–Sep. 2004 Praktisches Jahr, Hospital zum Heiligen Geist, Kempen

Praktika / Famulaturen:

01.07.-31.08.1997 Krankenpflegepraktikum, Hospital zum Heiligen Geist, Kempen
23.02.-25.03.1998 Krankenpflegepraktikum, Städtisches Krankenhaus Nettetal
GmbH
11.09.-10.10.2000 Chirurgische Famulatur, Hospital zum Heiligen Geist, Kempen
19.02.-05.03.2001 Internistische Famulatur, Hospital zum Heiligen Geist, Kempen
06.03.-20.03.2001 Famulatur in Gynäkologie und Geburtshilfe, Hospital zum
Heiligen Geist, Kempen
20.08.-21.09.2001 Famulatur auf dem Gebiet der Medizinischen Mikrobiologie und
Virologie, HHU Düsseldorf
26.08.-27.09.2002 Gynäkologische Famulatur, Praxis Dr. med. Kugel, Krefeld
10.05.-04.06.2004 PJ-begleitendes Praktikum, Anästhesieabteilung, Hospital zum
Heiligen Geist, Kempen

Berufliche Tätigkeit:

Aug. 1996-März 1997	Technische Zeichnerin, ITT Richter-Chemie-Technik, Kempen
Dez. 2004-aktuell	Assistenzärztin in der Inneren Medizin, Evangelisches Krankenhaus Bethesda, Mönchengladbach

Nebentätigkeiten:

Seit 1994	Ehrenamtliche Dozentin für die Notfalldarstellung, Jugendrotkreuz, Landesverband Nordrhein in Düsseldorf
Seit 2000	Dozentin für Lebensrettende Sofortmaßnahmen am Unfallort, Deutsches Rotes Kreuz, Kreisverband Viersen
Juli 1998-Nov. 1999	Studentische Aushilfskraft, ITT Richter-Chemie-Technik, Kempen
Juli 2000-Sept. 2001	Studentische Aushilfskraft, Klinikum Krefeld
WS 1999/2000	Studentische Hilfskraft, Zentrum für Anatomie, HHU Düsseldorf
WS 2000/2001	Studentische Hilfskraft, Zentrum für Anästhesiologie, HHU Düsseldorf
Apr. 2002-März 2003	Studentische Hilfskraft, Institut für Mikrobiologie und Virologie, HHU Düsseldorf

Promotion:

Prof. Dr. med. Franz-Josef Schmitz, Ph.D.
Chefarzt des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie, Hygiene und Transfusionsmedizin am Klinikum Minden

Sonstiges:

Okt. 1996	Teilnahme am Seminar Rhetorik und Kommunikation
Feb. 1997	Ausbildung zum Rettungshelfer
WS 1999/2000	Teilnahme Sonographie-Grundkurs, HHU Düsseldorf
SS 2000	Teilnahme CT-Grundkurs, HHU Düsseldorf
Nov. 2002-Juli 2003	Akupunkturkurs 1-6 und Praxiskurse 1-3, Deutsche Akupunkturgesellschaft Düsseldorf
2003-2004	PJ begleitende EKG- und Sonographiefortbildung

Greifath-Oedt, den 01.10.2005

9 ABSTRACT

Verteilung der SHV und TEM Betalactamasen sowie der Resistenzintegrons

in *Klebsiella pneumoniae* Isolaten

vorgelegt von

Agnes Krahmer-Moellenberg

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die internationale SENTRY Stammkollektion sowie Stammkulturen des nationalen Referenzzentrums für Klebsiellen in Kiel auf das Vorkommen der unterschiedlichen Betalactamase-Gene SHV und TEM untersucht. Im weiteren Verlauf wurde das Vorkommen von mobilen genetischen Resistenzelementen, den so genannten Integrons, analysiert.

Während das SHV Gen bei allen Klebsiellenisolaten nachgewiesen werden konnte, fand sich das TEM Gen im deutschen Kollektiv bei 51 %, in der internationalen Stammkollektion bei 31 % der untersuchten Isolate. Hinsichtlich der Verteilung der SHV Gene waren in der internationalen SENTRY Kollektion 50 % der Isolate mit einer SHV 1-Typisierung assoziiert, 37 % mit einer SHV 11- und 0,5 % mit der SHV 27-Typisierung. Bei ca. 13 % fand sich eine bisher nicht klassifizierte Betalactamase vom SHV Subtyp. Im deutschen Kollektiv fand sich SHV 1 bei 93 %, SHV 11 in 4 %, SHV 27 in 1 % der untersuchten Isolate. In 2 % konnten bisher nicht klassifizierte SHV Subtypen detektiert werden. TEM 1 überwiegt in beiden Kollektiven mit ca. jeweils 96 %, die restlichen Isolate konnten in der SENTRY Studie dem TEM 18 Typ zugeordnet werden, im deutschen Kollektiv waren die restlichen 2 gefundenen TEM Gene noch nicht klassifiziert.

Derzeit ist nicht geklärt, ob die gegenwärtige weltweite Verbreitung ESBL-bildender Stämme von einander unabhängig entstandenen und von genetisch unterschiedlichen Stämmen ausgeht oder ob sie auf der Ausbreitung eines bzw. weniger erfolgreicher Klone beruht.

Integrons sind genetische Elemente, die nicht selber mobil sind, aber Genkassetten mit potentiell mehreren hintereinander liegenden Resistenzgenen in ihrer Struktur aufnehmen können. Über die Verbreitung von Integrons kann eine schnelle phänotypische und genotypische Resistenzausbreitung erfolgen. In 67 % der SENTRY Klebsiellenisolaten waren Integrons nachweisbar. Dabei wiesen mehrere Isolate bis zu vier Integrons unterschiedlicher Länge auf. Die Variation der gefunden Integronlängen lag zwischen 500 und 3000 Basenpaaren. Die Integron-haltigen Isolate waren mit einer deutlich ausgeprägteren Kreuzresistenz gegenüber verschiedenen Antibiotikaklassen assoziiert im Vergleich zu den Integron-freien Isolaten.

Da sowohl Betalactamasen, als auch Integrons nosokomial übertragen werden und hierdurch die Multiresistenz von Bakterienisolaten im Krankenhaus zunimmt, muss reagiert werden, indem zum Einen adäquate Krankenhaushygienemaßnahmen greifen und zum anderen eine Reduktion des Antibiotikaselektionsdruckes durchgeführt werden muss.

Minden, den 04.10.2005

Professor Dr. med. F.-J. Schmitz Ph.D.