

## Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	3
Summary.....	5
Abkürzungsverzeichnis.....	7
Inhaltsverzeichnis.....	8
1 Einleitung .....	12
2 Literaturübersicht .....	14
2.1 Die Familie der <i>Enterobacteriaceae</i> .....	14
2.1.1 <i>Escherichia coli</i> .....	15
2.1.2 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	18
2.2 Antibiotika.....	18
2.2.1 $\beta$ -Laktam-Antibiotika .....	19
2.2.1.1 Pencilline.....	20
2.2.1.2 Cephalosporine.....	21
2.2.2.3 Carbapeneme.....	22
2.2.2 Chinolon-Antibiotika.....	22
2.2.3 Makrolid-Antibiotika.....	23
2.2.4 Aminoglykosid-Antibiotika .....	23
2.2.5 Tetracyclin-Antibiotika .....	23
2.3 Resistenzgen-tragende mobile genetische Elemente .....	24
2.3.1 Plasmide.....	24
2.3.2 Transposons.....	25
2.3.3 Integrons und Genkassetten .....	26
2.3.4 Bakteriophagen .....	27
2.4 Beta-Laktamasen .....	28
2.4.1 Wichtige Vertreter der <i>Extended-Spectrum <math>\beta</math>-Lactamases (ESBL)</i> .....	29
2.4.1.1 TEM-ESBLs.....	29
2.4.1.2 SHV-ESBLs.....	30

---

2.4.1.3 CTX-M-ESBLs.....	31
2.4.2 Andere $\beta$ -Laktamasen.....	31
2.4.2.1 OXA- $\beta$ -Laktamasen.....	31
2.4.2.2 AmpC- $\beta$ -Laktamasen.....	32
2.4.2.3 Carbapenemasen.....	32
2.5 Plasmid-vermittelte Resistenz gegen Chinolone .....	33
2.5.1 Das Chinolon-Resistenzgen <i>qnr</i> .....	34
2.5.2 Das Chinolon-Resistenzgen <i>aac(‘6)-1b-cr</i> .....	34
2.5.3 Das Chinolon-Resistenzgen <i>qepA</i> .....	34
2.6 Darstellung des Problems und Zielsetzung der Arbeit .....	35
<b>3 Material und Methoden .....</b>	<b>39</b>
<b>3.1 Material.....</b>	<b>39</b>
<b>3.1.1 Bakterienstämme .....</b>	<b>39</b>
<b>3.1.1.1 Bakterienisolate von Menschen.....</b>	<b>39</b>
<b>3.1.1.2 Tierische Bakterienisolate.....</b>	<b>39</b>
<b>3.1.1.3 Auswahl der Isolate.....</b>	<b>39</b>
<b>3.1.1.3 Referenzstämme.....</b>	<b>41</b>
<b>3.1.2 Oligonukleotid-Primer .....</b>	<b>42</b>
<b>3.1.3 Chemikalien, Nährmedien, Puffer und Lösungen .....</b>	<b>44</b>
<b>3.1.8 Enzyme.....</b>	<b>47</b>
<b>3.1.9 Kits .....</b>	<b>47</b>
<b>3.1.10 Software .....</b>	<b>48</b>
<b>3.1.10.1 Lokal ausführbare Software.....</b>	<b>48</b>
<b>3.1.10.2 Web-basierte Software und Ressourcen.....</b>	<b>48</b>
<b>3.2 Methoden .....</b>	<b>49</b>
<b>3.2.1 Bakterienanzucht.....</b>	<b>49</b>
<b>3.2.2 Herstellung und Lagerung der Reinkulturen .....</b>	<b>49</b>

---

3.2.3 Resistenztestung.....	49
3.2.3.1 VITEK2-System.....	50
3.2.3.2 E-Teststreifen.....	50
3.2.4 Identifizierung von ESBL/AmpC Produzenten .....	51
3.2.4.1 <i>Double-Disc Synergy Test (DDST)</i> .....	51
3.2.4.2 Phänotypischer AmpC- und Carbapenemasenachweis.....	51
3.2.5 DNA-Isolation.....	52
3.2.6 DNA-Aufreinigung.....	52
3.2.7 <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i> .....	52
3.2.8 Identifizierung von PMQR-Allelen .....	53
3.2.9 Identifizierung der phylogenetischen Gruppen von <i>E. coli</i> .....	54
3.2.10 <i>Multi-Locus Sequence Typing (MLST)</i> von ESBL-Produzenten .....	54
3.2.11 <i>Inc Typing</i> der <i>E. coli</i> Plasmide .....	55
3.2.12 Gelelektrophorese .....	55
3.2.12.1 Horizontale Gelelektrophorese.....	55
3.2.12.2 <i>Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)</i> .....	56
3.2.13 DNA-Sequenzierung.....	58
3.2.13.1 Sequenzierung von PCR-Amplikons.....	58
3.2.13.2 Genomsequenzierung.....	58
3.2.14 <i>Galleria mellonella</i> -Modell .....	59
3.2.15 Genomanalyse und Bioinformatik.....	61
3.2.16 Statistik .....	67
4. Ergebnisse.....	68
4.1 Charakterisierung der ESBL-verdächtigen Bakterienisolate.....	68
4.1.1 Häufigkeitsverteilung der Isolate nach dem Probenmaterial .....	68
4.1.2 Häufigkeitsverteilung der Isolate nach der Erkrankung der Patienten .....	69
4.1.3 Häufigkeitsverteilung der Isolate nach taxonomischer Zugehörigkeit .....	69

---

4.1.4 Resistenzquoten .....	70
4.1.5 Nachweis und Klassifizierung von $\beta$ -Laktamasen bei Cephalosporin-resistenten Isolaten	73
4.1.5.1 Identifizierte ESBL-/AmpC-Produzenten.....	73
4.1.5.2 Identifizierte $\beta$ -Laktamase und ESBL Allele.....	74
4.1.6 Eigenschaften der Carbapenem-resistenten Isolate .....	79
4.1.7 Eigenschaften der Ciprofloxacin-resistenten Isolate.....	80
4.1.8 Kombination zwischen $\beta$ -Laktamase- und PMQR-Typen .....	82
4.1.9 Phylogenetische Gruppen unter den <i>Escherichia coli</i> -Isolaten.....	88
4.2 Nähere Charakterisierung von ausgewählten CTX-M-1- und CTX-M-15-bildenden <i>E. coli</i> -Isolaten.....	91
4.2.1 Sequenztypen .....	92
4.2.2 Plasmidprofil.....	94
4.2.3 Resistenzgene .....	98
4.2.5 Virulenzgene und Virulenz-assozierte Gene.....	101
4.2.6 Virulenz im <i>Galleria mellonella</i> Modell .....	107
4.2.7 Risikofaktoren für einen hohen larviziden Effekt.....	111
5 Diskussion .....	112
6 Zusammenfassung .....	128
7 Literaturverzeichnis .....	129
8 Veröffentlichungen .....	138
9 Eidesstattliche Erklärung.....	139
10 Curriculum vitae .....	140
11 Danksagung.....	142
12 Anhang.....	144