

Universität Hohenheim
Institut für Mikrobiologie

D I P L O M A R B E I T

UNTERSUCHUNG VON HEMMSTOFFPROFILIEN FÜR EINE IDENTIFIZIERUNG
VON BAKTERIEN MIT HILFE DER DISKRIMINANZANALYSE

vorgelegt von:
Elke Olesch-Sottile
Juni 1987

Ich versichere hiermit, die Diplomarbeit nur unter Verwendung der in der Arbeit angegebenen Quellen und Hilfsmittel selbständig angefertigt zu haben.

Die Arbeit wurde noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Hemmingen, den 21. Juni 1987

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. R. Süsmuth vom Institut für Mikrobiologie der Universität Hohenheim in Zusammenarbeit mit der Laborgemeinschaft Dr. Schulz, Dr. Perthen in Ludwigsburg angefertigt.

Herrn Prof. Dr. R. Süsmuth danke ich für die ausgezeichnete Betreuung dieser Arbeit.

Besonders danke ich Herrn Dr. Schulz und Herrn Dr. Perthen, die die ersten Anregungen für die Anfertigung dieser Arbeit gaben, vor allem aber durch das Bereitstellen von Geräten und Materialien ihre Durchführung erst ermöglichten.

Zu großem Dank bin ich Herrn Dr. R. Jakob verpflichtet. Er erstellte die Programme, die für die Auswertung der Daten notwendig waren und sorgte für den Ablauf der Diskriminanzanalyse im Rechenzentrum der Universität Hohenheim.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung.....	1
2. Materialien.....	5
2.1. Chemikalien.....	5
2.2. Nährmedien.....	5
2.2.1. Stammhaltung.....	5
2.2.2. Flüssigkultur.....	5
2.3. Salzlösung.....	6
2.4. Geräte.....	6
2.5. Plastikmaterialien.....	6
2.6. Organismen.....	6
3. Methoden.....	8
3.1. Photometrische Messung.....	8
3.2. Versuchsanordnung.....	8
3.2.1. Vorbereitung der Mikrotiterplatten.....	8
3.2.2. Beimpfen und Inkubieren der Mikrotiterplatten..	9
3.3. LSI-Wert.....	9
4. Entwicklung des Testsystems: Ergebnisse und Diskussion.....	11
4.1. Auswahl des Flüssigmediums.....	11

4.2.	Konzentration der Mikroorganismen.....	16
4.2.1.	Auswahl der Konzentration.....	16
4.2.2.	Schwankungen der Konzentration im Ansatz.....	18
4.3.	Inkubationsdauer.....	19
4.3.1.	Wachstumskurven.....	19
4.3.2.	Verlauf der LSI-Werte.....	19
4.4.	Auswahl der Chemikalien.....	27
5.	Das Testsystem.....	36
5.1.	Versuchsanordnung.....	36
5.1.1.	Vorbereitung der Mikrotiterplatten.....	36
5.1.2.	Beimpfen und Inkubieren der Mikrotiterplatten..	38
5.2.	Berechnung der LSI-Werte.....	39
5.3.	Diskriminanzanalyse.....	40
5.3.1.	Vorgehen bei der Diskriminanzanalyse.....	40
5.3.2.	Ergebnisse.....	41
5.3.3.	Randomisieren der Gruppen.....	55
5.3.4.	Einordnung neuer Fälle.....	59
5.3.5.	Diskussion.....	65

Seite

6. Ausblick..... 66

7. Zusammenfassung..... 67

Literaturverzeichnis..... 68

Anhang

1. Einleitung

In der medizinischen Mikrobiologie war man in den letzten Jahren bemüht, neue Verfahren für eine präzise und möglichst rasche Identifizierung von Bakterien zu entwickeln. Je schneller die Diagnose gestellt werden kann, desto eher können Morbiditäts- und Mortalitätsraten durch eine gezielte Therapie gesenkt werden.

Neben den medizinischen und humanitären Interessen, die Zeitdauer, die für eine Identifizierung notwendig ist, zu senken, spielt auch das wirtschaftliche Interesse eine bedeutende Rolle. Schnelle Identifizierung und Resistenzbestimmung senken beispielsweise die Quantität der erforderlichen Antibiotika, da nicht nur mit dem wirksamsten Mittel, sondern auch mit der richtigen Dosis therapiert werden kann.

Mit den üblichen biochemischen, biologischen und immunologischen Methoden ist eine Identifizierung meistens sehr zeitaufwendig. Durch den Einsatz der elektronischen Datenverarbeitung konnten auf diesen Gebieten erste Erleichterungen geschaffen werden.

Die konventionellen Methoden zur Bakterienidentifizierung nutzen meist nur qualitative und binäre (+/-) Daten. Mit dem Einsatz moderner Techniken und Methoden können heute aber auch quantitative Daten erhalten werden, deren rasche Auswertung mit Hilfe der Computertechnologie möglich geworden ist.

Quantitative Daten erhält man bei einer Reihe von Untersuchungsmethoden, so z.B. a) bei der Gaschromatographie, b) der Massenspektroskopie, c) der Messung von Enzymaktivitäten und d) bei der Untersuchung von antimikrobiellen Hemmstoffprofilen.

Zur Auswertung der quantitativen Daten ist der Einsatz neuer mathematischer Modelle notwendig geworden, da die Modelle für qualitative Daten nicht immer übernommen werden können. Neben anderen werden folgende Modelle zur Verarbeitung quantitativer Daten genutzt:

a) das Modell nach Bayes. Es ähnelt einer Methode für qualitative Daten, die von Lapage, Bascomb, Willcox und Curtiss 1970 entwickelt wurde (24).

b) die Diskriminanzanalyse. Hier wird die Lage eines unbekanntes Organismus im n-dimensionalen Raum berechnet und der Organismus in die Gruppe eingeordnet, deren Mittelpunkt seiner Lage am nächsten kommt (4).

c) die Nächste-Nachbarn-Regel (5, 20).

d) die SIMCA (Statistical Isolinear Multicategory Analysis)-Methode. Sie basiert auf der Hauptkomponentenanalyse von Daten. Es ist die einzige Methode, die Organismen, die nicht eindeutig in eine bekannte Gruppe eingeordnet werden können, erkennt und für diese neue Kategorien festlegt (35).

Die Auswertung von Hemmstoffprofilen für die Bakterienidentifizierung wurde z.B. von Darland (1975) beschrieben. Hier wurden die Ergebnisse eines Agardiffusionstestes, der zur Bestimmung von Antibiotikaresistenzen diente, für eine Identifizierung genutzt. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der Diskriminanzanalyse.

Durch den Einsatz der Photometrie zur Messung des Bakterienwachstums können heute die Hemmstoffprofile wesentlich schneller als mit dem Agardiffusionstest bestimmt werden, die Inkubationszeit von wenigen Stunden reicht in den meisten Fällen dafür aus, während mit der ursprünglichen Methode meist 12-20h inkubiert werden musste, um die Hemmhöfe eindeutig erkennen zu können.

Bei der photometrischen Bestimmung der Hemmstoffprofile wird das Wachstum der Bakterien in einer Kontrollkammer mit dem Wachstum in einer anderen Kammer verglichen. Diese enthält eine Substanz, die das Wachstum der Mikroorganismen hemmen kann.

Das erste in dieser Hinsicht kommerziell genutzte System war der Autoturb (Eli Lilly). Dieses Gerät wurde für die Untersuchung antibiotikaproduzierender Stämme entwickelt. Das Gerät war in der Lage, die Eigenschaften von Isolaten quantitativ mit Hilfe einer Anzahl von pathogenen Stämmen zu bewerten.

Mitte der 70er Jahre wurde das Autobac-System (entwickelt von Pfizer, Groton, Ct., gehört jetzt zu General Diagnostics, Morris Plains, N.J.) auf den Markt gebracht. Zu Beginn wurde mit diesem System nur die Empfindlichkeit auf Antibiotika getestet, später wurden die Daten auch für eine Identifizierung genutzt. Da das Autobac-System das erste System war, das Hemmstoffprofile zur Bakterienidentifizierung heranzog, soll es an dieser Stelle etwas ausführlicher beschrieben werden.

Im Autobac-System wird weisses Licht mit einem Einfallswinkel von 30° zur Trübungsmessung genutzt. Ein langer Plastikzylinder in verschiedene Abteilungen unterteilt, stellt das Inkubationssystem dar. Jede Kammer, ausser

einer, enthält eine Filterscheibe, die mit Antibiotika oder anderen mikrobiellen Hemmstoffen getränkt ist. Die letzte Kammer stellt die Kontrollkammer dar, das Wachstum, das in ihr gemessen wird, wird mit dem Wachstum in den anderen Kammern verglichen.

Die zu testenden Bakterienkolonien werden in Salzlösung suspendiert, die anschliessend mit Bouillon vermischt wird, so dass eine Bakteriensuspension von 10^6 Zellen/ml entsteht. Der Ansatz wird auf die Kammern verteilt, jede Kammer enthält dann 1.5 ml der Bakteriensuspension.

In einem Brutschrank werden die Küvetten 3-5h unter Schütteln inkubiert. Während der Inkubation werden die auf die Filterscheiben aufgebrachten Hemmstoffe langsam gelöst und können so zu einer Hemmung des Bakterienwachstums führen. Anschliessend wird mit dem Autobac-Photometer ausgewertet. Fällt das Wachstum der Kontrollkammer unter einen bestimmten Wert, muss weiter inkubiert werden, erst wenn der Schwellenwert überschritten wird, kann eine Auswertung erfolgen. Um den Schwellenwert zu erreichen, muss sich die Bakterienzahl mindestens dreimal verdoppelt haben.

Da es bei der Verwendung der ursprünglichen Testsubstanzen, nämlich in der Klinik eingesetzte Antibiotika, zu Schwierigkeiten bei der Identifizierung durch die Ausbildung resistenter Stämme kommen konnte, wurde mittlerweile auf den Einsatz solcher Substanzen verzichtet und diese durch in der Therapie nicht oder nur selten verwendete Stoffe ersetzt.

Die Bakterienidentifizierung erfolgt mit Hilfe der quadratischen Diskriminanzanalyse.

Im Augenblick können mit diesem System ca. 30 verschiedene gramnegative Keime, hauptsächlich Enterobacteriaceae (*E. coli*, *Salmonella spec.*, *Shigella spec.* usw.) und *Pseudomonas spec.* identifiziert werden. An einer Erweiterung auf andere gramnegative und auf grampositive Organismen wird gearbeitet.

Abbot Laboratories brachten Ende der 70er Jahre ein vollautomatisiertes System, ähnlich dem Autobac-System, das MS-2 (entwickelt von Akro-Media), auf den Markt. Im Unterschied zum Autobac-System kommen die Mikroorganismen erst während der log-Phase ihres Wachstums mit den Reagenzien in Kontakt. Inzwischen ist das System zum Quantum-System weiterentwickelt worden. Es können Enterobacteriaceae, *Pseudomonas spec.* und Hefen innerhalb von 4-6h Inkubationszeit identifiziert werden.

Obwohl die vorgestellten Testsysteme einige Vorteile gegenüber herkömmlichen Methoden bieten, dazu gehört z.B. die Schnelligkeit, mit der die Bakterienidentifizierung durchgeführt werden kann, muss man bei der Verwendung dieser Systeme doch auch Nachteile in Kauf nehmen. Zum einen können längst nicht alle vorkommenden Bakterienarten bestimmt werden, die Identifizierung ist im Moment noch auf die in der Klinik am häufigsten vorkommenden gramnegativen Organismen beschränkt, zum anderen ist der apparative Aufwand erheblich, die Anschaffung der Geräte sehr kostspielig.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es nun, zu untersuchen, ob die Verwendung von Hemmstoffprofilen zur Bakterienidentifizierung nicht auch mit einfacheren Mitteln und Methoden möglich ist. Die Photometrie soll dabei zur Messung des Bakterienwachstums genutzt werden, da sie die einfachste und schnellste Methode für diesen Zweck ist. In diesem Zusammenhang bietet sich die Verwendung von Mikrotiterplatten als Reaktionsgefäße an, d.h. es soll geprüft werden, ob Hemmstoffprofile zur Bakterienidentifizierung auch mit Hilfe einer Mikromethode erstellt werden können.

Ferner sollen Substanzen, bei denen über eine antimikrobielle Wirksamkeit nichts bekannt ist, auf ihre Verwendbarkeit überprüft werden.

Die Grundlagen für ein neues Testsystem, mit dessen Hilfe es später möglich sein soll, sowohl gramnegative wie auch grampositive aerobe Mikroorganismen zu bestimmen, sollen erstellt werden. Die Tauglichkeit der ausgearbeiteten Versuchsanordnung soll dann mit Hilfe der Diskriminanzanalyse überprüft werden, die auch für die Identifizierung eingesetzt werden soll.

2. Materialien

2.1. Chemikalien

Es wurden über 120 verschiedenen Substanzen auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit geprüft.

Der grösste Teil dieser Chemikalien wurde von der Firma Merck, Darmstadt, bezogen.

Floxuridin wurde von Fluka, Neu-Ulm, geliefert.

Einige der Chemikalien, dazu gehören Patulin, Penicillinsäure, Phenolphthalein, Ochratoxin, Kojisäure, Maleinsäureanhydrid und Pestizide, stammen aus dem mikrobiologischen Institut der Universität Hohenheim.

Aus der toxikologischen Abteilung der Laborgemeinschaft Dr. Schulz und Dr. Perthen in Ludwigsburg stammen u.a. Nikotin, Benzylamin, Ethosuximid und Ethinamat.

2.2. Nährmedien

2.2.1. Stammhaltung

a) Grampositive Keime:

ASS-Agar, Merck

Zusammensetzung (g/l)

Proteose-Pepton 10.0; Fleischextrakt 10.0; D(+)-Glucose 2.0; Natriumchlorid 3.0; di-Natriumhydrogenphosphat 2.0; Natriumacetat 1.0; Adenin 0.01; Guanin 0.01; Uracil 0.01; Xanthin 0.01; Agar-Agar 12.0.

pH: 7.4

b) Gramnegative Keime:

Mueller-Hinton-Agar, Merck

Zusammensetzung (g/l)

Fleischinfus 5.0; Caseinhydrolysat 17.5; Stärke 1.5; Agar-Agar 12.5:

pH: 7.4

2.2.2. Flüssigkultur

a) Glucose-Bouillon, Merck

Zusammensetzung (g/l)

Pepton aus Casein 10.0; NaCl 5.0; D(+)-Glucose 5.0.

pH: 7.3

b) Mueller-Hinton-Bouillon, Merck

Zusammensetzung (g/l)

Fleischinfus 5.0; Caseinhydrolysat 17.5; Stärke 1.5.

pH: 7.4

c) Eugonic-Bouillon, Pfizer

Zusammensetzung (g/l)

Pepton aus Casein (tryptisch) 14.0; Pepton aus Sojamehl (papainisch) 5.0; NaCl 4.0; Natriumsulfit 0.2; L-Cystein 0.7; D(+)-Glucose 5.5; Na-Citrat 1.0.

pH: 7.1

d) Caso-Bouillon, Merck

Zusammensetzung (g/l)

Pepton aus Casein 17.0; Pepton aus Sojamehl 3.0; D(+)-Glucose 2.5; NaCl 5.0; di-Kaliumhydrogenphosphat 2.5.

pH: 7.3

2.3. Salzlösung

1000 ml deion. Wasser; 5 g NaCl; 0.12 g MgSO₄ * 7 H₂O

2.4. Geräte

a) Mikro-Shaker, Dynatech

b) Photometer:

Easy Reader EAR 400 FW

SLT Labinstrumente GmbH, Austria

2.5. Plastikmaterialien

a) Eppendorf Multipipette 4780

b) Eppendorf Combitips (steril) : 5 ml und 0.5 ml

c) Mikrotiterplatten, F-Form; Institut Virion, Vertrieb: Multimed, Wicker und Löscher GmbH

d) PS-Abdeckplatten, Standard, 127.0/85/11 mm; Greiner Labortechnik für Medizin und Forschung

2.6. Organismen

Stamm	Code	Herkunft
Bacillus cereus	K520	DSM 31; ATCC 14579
Bacillus pasteurii	K523	Institut für Tierhygiene, Hohenheim

<i>Citrobacter diversus</i>	K321	Wildstamm; Dr. Schulz, Ludwigsburg
<i>E. coli</i> K 12	K601	DSM 498; ATCC 23716
<i>E. coli</i> C 600	K602	Prof. Heumann, Erlangen
<i>E. coli</i> PBR 322	K603	Wildstamm; Schrempf, Würzburg
<i>E. coli</i> B	K604	Institut für Mikrobiologie, Hohenheim
<i>Enterobacter aerogenes</i>	K350	DSM 30053
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	K400	ATCC 17933
<i>Pseudomonas diminuta</i>	K405	Institut für Tierhygiene, Hohenheim
<i>Proteus mirabilis</i>	K343	ATCC 27035
<i>Proteus vulgaris</i>	K340	DSM 30118; ATCC 13015
<i>Salmonella typhimurium</i>	K700	Institut für Mikrobiologie, Hohenheim
<i>Serratia marcescens</i>	K630	Institut für Mikrobiologie, Hohenheim
<i>Staphylococcus aureus</i>	K570	Institut für Tierhygiene, Hohenheim
<i>Streptococcus lactis</i>	K475	Institut für Mikrobiologie, Hohenheim

3. Methoden

3.1. Photometrische Messung

Da eine möglichst schnelle und unkomplizierte Auswertung der Hemmstoffprofile erfolgen sollte, wurde die Photometrie zur Bestimmung des Bakterienwachstums genutzt.

Als Reaktionsgefäße wurden sogenannte Mikrotiterplatten verwendet. Die Platten besitzen meist 96 Vertiefungen und können mit unterschiedlichen Kapazitäten geliefert werden. Die hier eingesetzten Mikrotiterplatten besitzen eine Kapazität von 0,25 ml pro Nöpfchen und einen planen Napfboden (F-Form).

Die Absorption von Testproben kann mit speziell dafür entwickelten Photometern in allen einzelnen Vertiefungen gemessen werden. Das hier eingesetzte Photometer von SLT Labinstrumensts GmbH, Austria, besitzt einen eingebauten Mikroprozessor, der die Platten innerhalb von 60 sec auswertet und gleichzeitig die Resultate ausdruckt.

Sechs Wellenlängen stehen für Messungen zur Auswahl. Es kann sowohl im 1-Wellenlängen- als auch im 2-Wellenlängenbereich gemessen werden. Im 2-Wellenlängenbereich werden die Proben durch alternierende Wellenlängen gemessen, eine bestimmt die entsprechende Probe, die andere wird als Referenzmessung benutzt.

Mit Hilfe eines Interface kann das Gerät ausserdem direkt an ein Computer-System angeschlossen werden.

(Kenndaten des Photometers: s. Anhang).

3.2. Versuchsanordnung

3.2.1. Vorbereitung der Mikrotiterplatten

In die Reihen 1-12 einer sterilen Platte wurden entweder 0.01 ml aqua dest. zur Kontrolle, bzw. zur Bestimmung der Parameter "Einfluss der Medien" (s. 4.1.) und "Konzentration der Mikroorganismen" (s. 4.2.) oder aber 0.01 ml der in sterilem Wasser gelösten Substanzen pipettiert.

Die Platten wurden entweder sofort verwendet oder bei -25°C gelagert.

3.2.2. Beimpfen und Inkubieren der Mikrotiterplatten

Die Bakterienstämme wurden vor Beginn eines Versuches auf die entsprechenden Stammplatten neu überimpft und ca 24h bei 37°C bebrütet. Damit war gewährleistet, dass sich die Bakterien beim Ansetzen eines Versuches noch in der stationären Phase befanden. Bei älteren Kulturen kann die Lebendzellzahl unter Umständen exponentiell abnehmen, was die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse stark beeinflusst hätte.

Von diesen Stammplatten wurde für alle Versuche eine Bakteriensuspension in Salzlösung hergestellt, die 1:10 mit Bouillon verdünnt wurde. Je 0.1 ml dieses Ansatzes wurde in die Reihen A-G der Mikrotiterplatten pipettiert.

Die Platten wurden auf dem Schüttelgerät von Dynatech geschüttelt und anschliessend bei 37°C inkubiert.

3.3. Der LSI-Wert

Nach Inkubationsende wurden die Platten wieder geschüttelt und die Extinktionen bei 405 nm gemessen. Für die Beurteilung der Kriterien "Einfluss der Medien" und "Konzentration der Mikroorganismen" und für die Wachstumskurven konnten die ermittelten Extinktionen direkt herangezogen werden.

Um die Hemmung des Bakterienwachstums mit verschiedenen Substanzen eindeutig miteinander vergleichen zu können, wurden die Extinktionen in die sogenannten LSI (light scatter index) -Werte umgerechnet:

$$LSI = \frac{\log G_c / G_x}{\log G_c / G_k} = \frac{\log G_c - \log G_x}{\log G_c - \log G_k}$$

$$= \frac{\log \text{des Wachstums in der Testkammer}}{\log \text{des Wachstums in der Kontrolle}}$$

G_c = Extinktion der Kontrolle, d.h. der Bakteriensuspension ohne Hemmstoff;

G_x = Extinktion der Testkammer, d.h. der Bakteriensuspension mit Hemmstoff;

G_k = Extinktion vor der Inkubation

Bei totaler Resistenz der Bakterien ist $\log G_e = \log G_k$; der LSI-Wert beträgt dann 0.
Für vollständige Hemmung erhält man $\log G_e = G_k$; $LSI = 1$.

In den meisten Fällen lagen die LSI-Werte also zwischen 0 und 1. Selten erhielt man auch Werte unter 0, bzw. über 1. Werte kleiner als Null bedeuten, dass das Wachstum in der Testkammer höher lag, als das in der Kontrollkammer. Man kann somit auf eine Wachstumsförderung der entsprechenden Substanz schließen.

Werte über 1 zeigten an, dass die Extinktion der Testkammer unter die der Kontrolle vor Beginn der Inkubation gefallen war. Dies kann auf eine Lyse der Bakterien hinweisen.

In Kapitel 5.1. wird eine ausführliche Versuchsanordnung, bei der alle in Kapitel 4. gewonnenen Ergebnisse berücksichtigt werden, beschrieben.

Mit dieser Versuchsanordnung wurden dann die Daten für die Diskriminanzanalyse gewonnen.

4. Entwicklung des Testsystems: Ergebnisse und Diskussion

4.1. Auswahl des Flüssigmediums

Es wurden insgesamt vier Flüssigmedien auf ihre Verwendbarkeit im Testsystem geprüft. Folgende Eigenschaften waren dabei von Bedeutung:

- a) möglichst schnelles Wachstum aller verwendeten Keime innerhalb von 4-6h und
- b) möglichst geringe Eigenfärbung des Mediums.

Um die Wachstumsprofile zweifelsfrei miteinander vergleichen zu können, wurde wie oben beschrieben von jedem Keim eine Suspension in steriler Salzlösung hergestellt und diese Ausgangssuspension jeweils 1:10 mit den verschiedenen Bouillons verdünnt, so dass die Bakterienzahl in allen vier Absätzen identisch war.

In Tab. 4.1. sind die Extinktionen dreier Stämme (E.coli B, P. mirabilis und Serratia marcescens) zu verschiedenen Zeiten in den unterschiedlichen Medien aufgeführt. Die Eigenfärbung des Mediums wurde als Leerwert abgezogen.

Einen Überblick über den Wachstumsverlauf in den verschiedenen Nährmedien geben die Abbildungen 4.1.-4.3.

Alle 16 verwendeten Stämme wurden so untersucht.

Es wurde deutlich, dass das Wachstum der meisten Organismen nach 4-6h in der Caso-Bouillon am besten war. Sie wies eine geringe Eigenfärbung auf, die aber niedriger war als bei den anderen Medien. Die Farbtintensität war nicht nur von der Zusammensetzung des Mediums abhängig, sondern wurde auch durch das Autoklavieren beeinflusst. Dabei schienen sowohl Gerätetyp, die Beschickung, wie auch die Dauer eine Rolle zu spielen.

Bouillon	Zeit [h]	Extinktionen bei 405 nm		
		K604	K343	K630
Caso	0	0.020	0.000	0.000
	1	0.050	0.012	0.051
	2	0.075	0.025	0.082
	3	0.123	0.051	0.112
	4	0.154	0.075	0.221
	5	0.218	0.121	0.327
	6	0.321	0.163	0.431
	7	0.436	0.203	0.624
	8	0.519	0.235	0.945
	24	0.901	0.363	1.363
Eugonic	0	0.031	0.005	0.006
	1	0.055	0.009	0.023
	2	0.081	0.011	0.066
	3	0.100	0.037	0.149
	4	0.137	0.058	0.255
	5	0.169	0.101	0.498
	6	0.182	0.143	0.601
	7	0.243	0.168	0.698
	8	0.301	0.199	0.774
	24	0.445	0.299	0.943
Mueller-Hinton	0	0.014	0.000	0.001
	1	0.034	0.002	0.019
	2	0.049	0.009	0.057
	3	0.069	0.021	0.078
	4	0.091	0.034	0.173
	5	0.123	0.052	0.285
	6	0.161	0.069	0.401
	7	0.225	0.103	0.527
	8	0.306	0.148	0.671
	24	0.850	0.191	1.106
Glucose	0	0.003	0.001	0.015
	1	0.031	0.000	0.034
	2	0.062	0.003	0.052
	3	0.071	0.013	0.103
	4	0.134	0.021	0.213
	5	0.187	0.043	0.298
	6	0.201	0.063	0.344
	7	0.243	0.098	0.437
	8	0.251	0.121	0.519
	24	0.263	0.213	0.901

Tab. 4.1. Wachstum von *E. coli* B, *P. mirabilis* und *S. marcescens* in verschiedenen Flüssigmedien

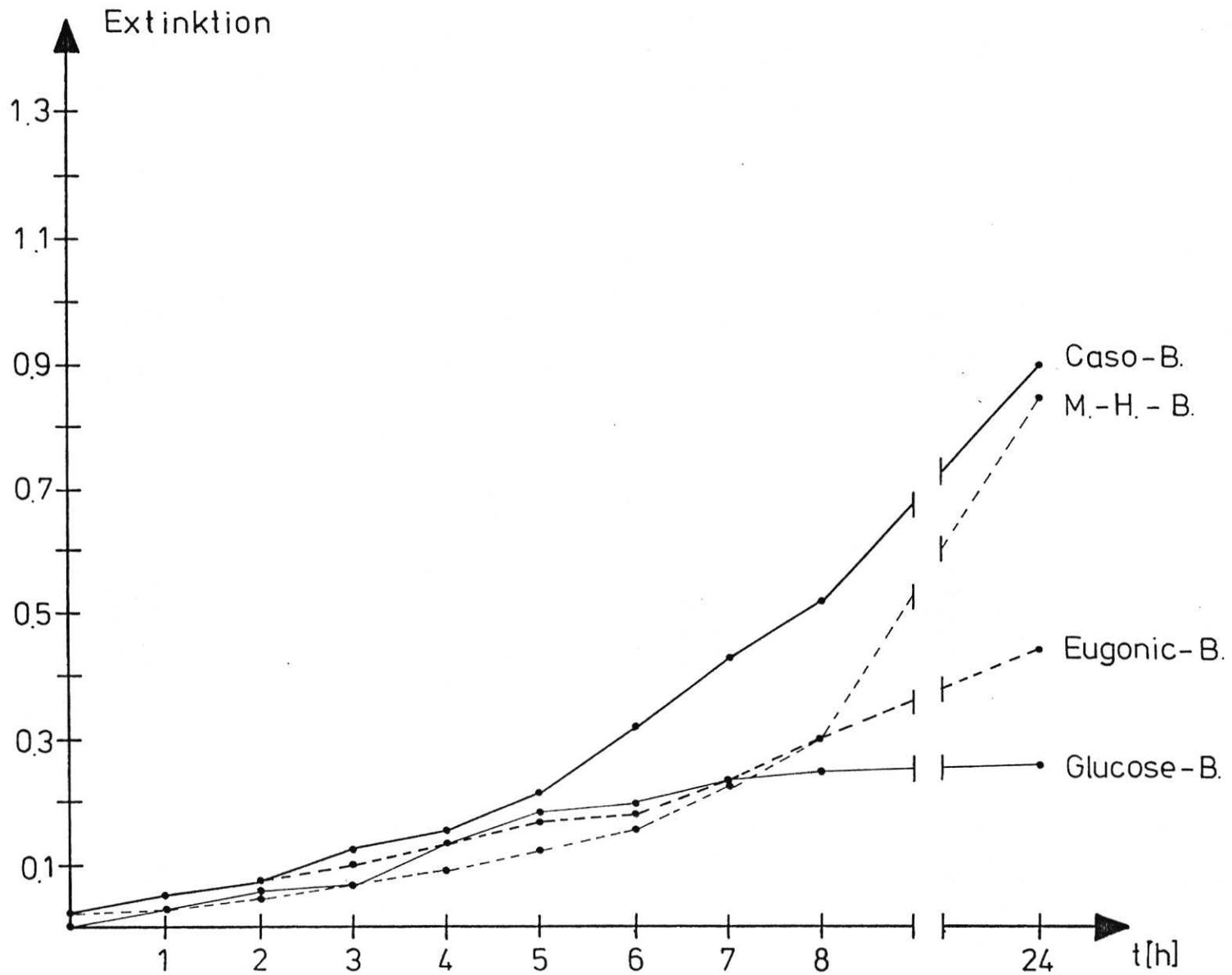


Abb. 4.1. Wachstum von *E. coli* K12 in verschiedenen Flüssigmedien:
Extinktionen gemessen am SLT-Photometer bei 405 nm

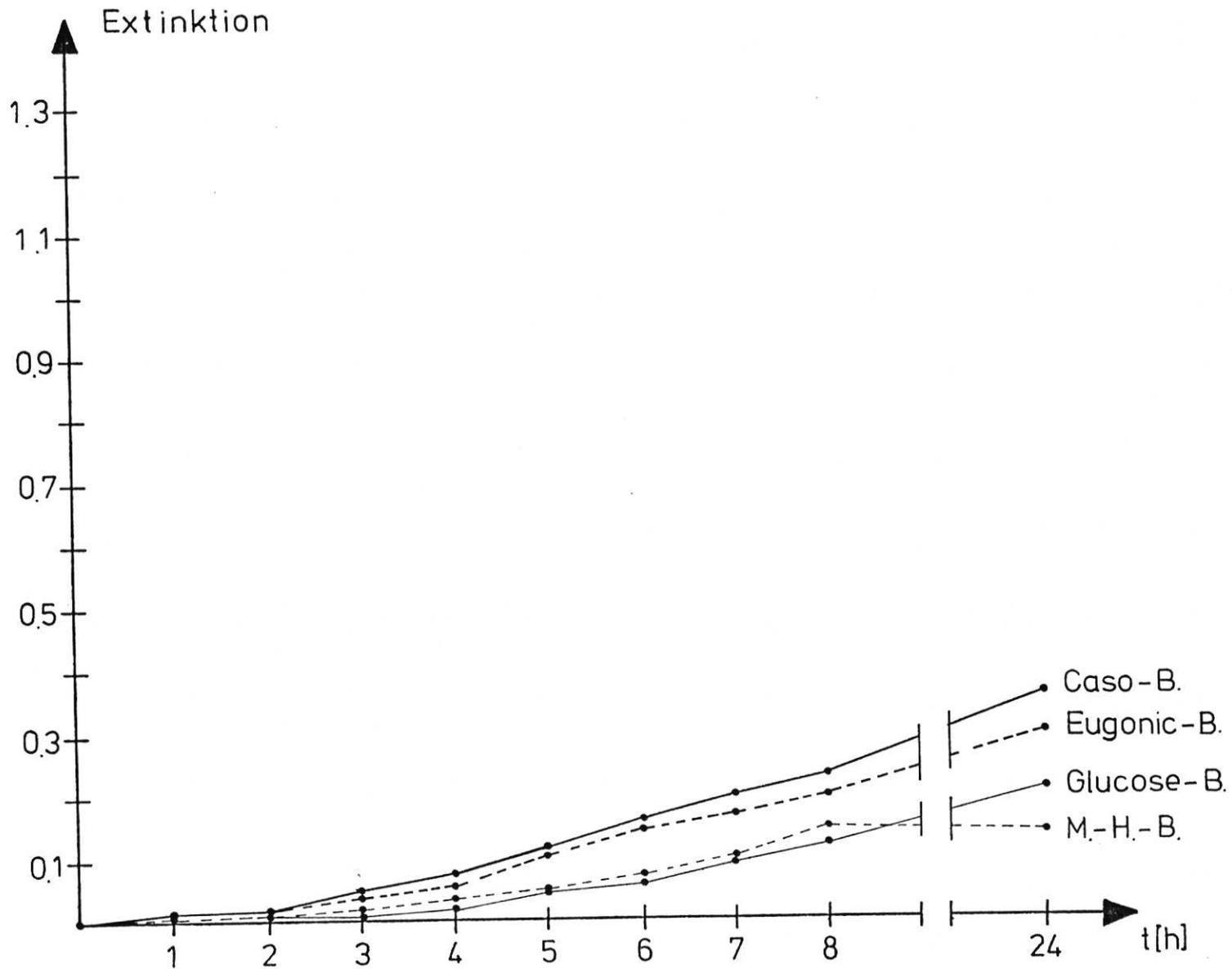


Abb. 4.2. Wachstum von *P. mirabilis* in verschiedenen Flüssigmedien:
Extinktionen gemessen am SLT-Photometer bei 405 nm

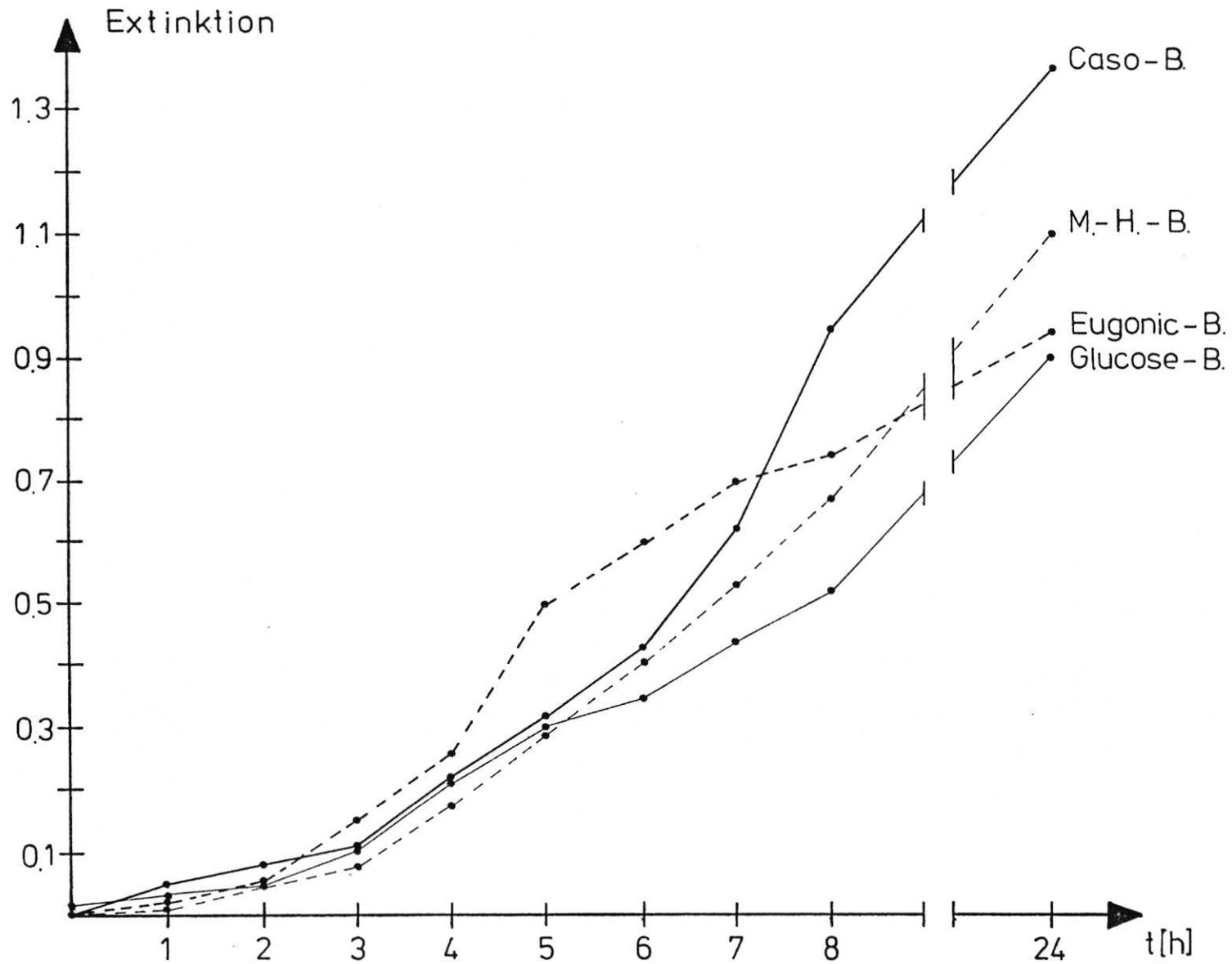


Abb. 4.3. Wachstum von *S. marcescens* in verschiedenen Flüssigmedien; Extinktionen gemessen am SLT-Photometer bei 405 nm

4.2. Konzentration der Mikroorganismen

4.2.1. Auswahl der Konzentration

Das neue Testsystem soll eine Identifizierung nach möglichst kurzer Inkubationsdauer erlauben. Für die Konzentration der Mikroorganismen bedeutet dies, sie muss nach einer Inkubationsdauer von 4-5h so hoch sein, dass sie photometrisch eindeutig erfasst werden kann. Mit Hilfe des verwendeten SLT-Photometers lassen sich erst Konzentrationen über 10^8 KBE/ml eindeutig erkennen. (s. Abb. 4.4.: die Zellzahlen wurden durch Ausplattieren bestimmt).

Die Konzentration der Mikroorganismen im Ansatz, d.h. zum Zeitpunkt $T=0$ der Inkubation, sollte daher nicht unter 10^7 KBE/ml liegen. Vor allem Stämme mit relativ langer Generationszeit, hier z.B. *Proteus mirabilis*, können sonst nicht im angestrebten Zeitraum bestimmt werden.

Andererseits darf die Konzentration auch nicht zu hoch sein. Die Nährstoffe würden sonst zu schnell verbraucht und das Wachstum in der Kontrolle bei schnell wachsenden Organismen schon vor Inkubationsende zum Erliegen kommen.

Für das Testsystem wurde eine Anfangskonzentration von $5 \cdot 10^7$ KBE/ml als am geeignetsten ermittelt. Für jeden Versuchsansatz musste also eine Suspension in Salzlösung von ca. $5 \cdot 10^8$ KBE/ml hergestellt werden, die dann mit Bouillon 1:10 verdünnt wurde.

$5 \cdot 10^8$ KBE/ml entsprechen beim SLT-Photometer ungefähr einer Extinktion von 0.3, gemessen bei einer Wellenlänge von 405 nm.

Die genaue Anzahl der Organismen bei einer bestimmten Extinktion ist von verschiedenen Parametern abhängig. Dazu gehören:

- a) die Zellgrösse und -form;
- b) das Alter der Zellen: jüngere Zellen sind durchscheinender als ältere;
- c) die Verteilung der Partikel. Beim Herstellen einer Suspension werden die Bakterien zwar zufällig verteilt, während des Wachstums kann es aber zur Haufenbildung, z.B. bei Kokken, oder zur Bildung von fädigen Aggregaten kommen.

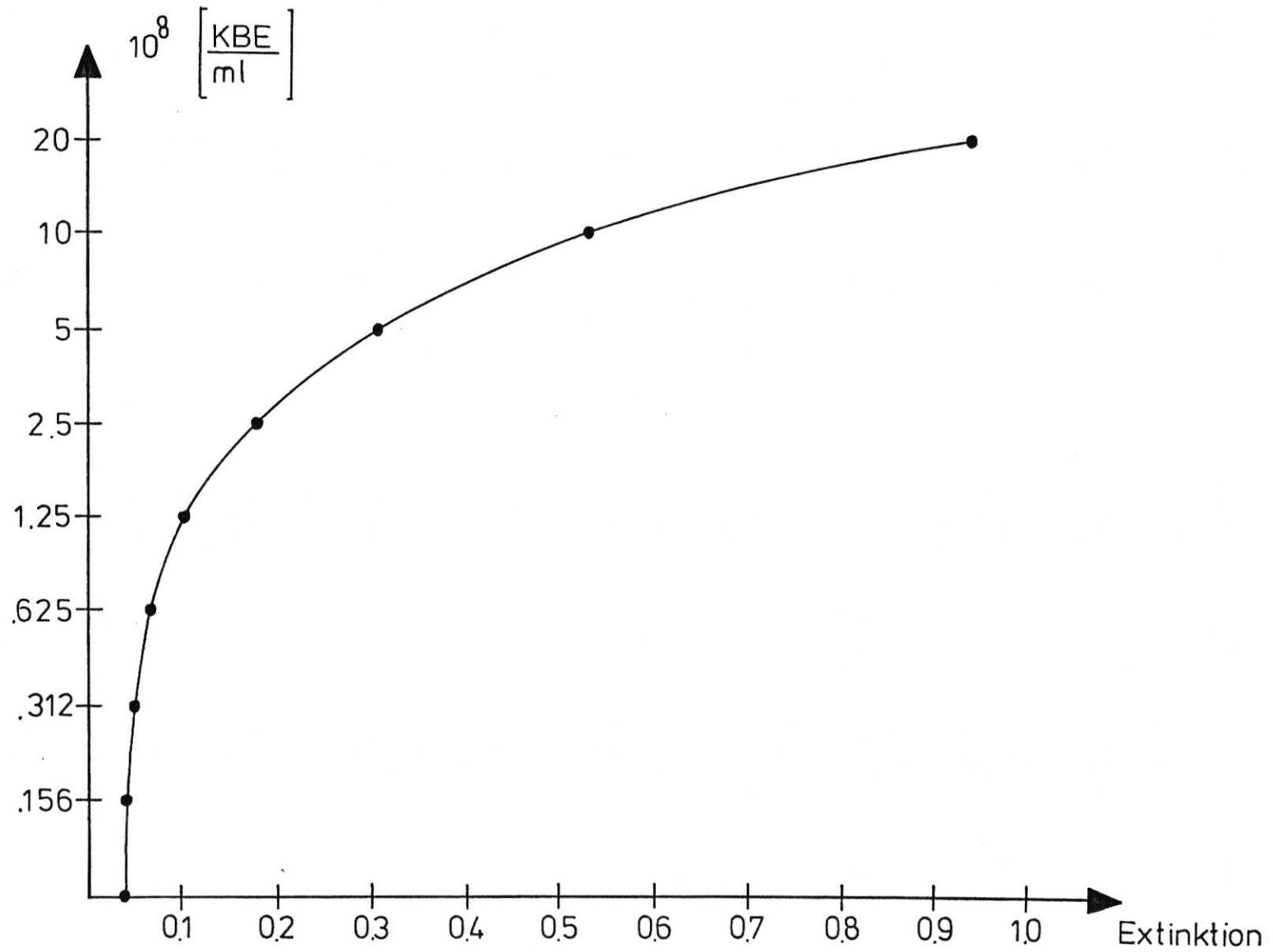


Abb. 4.4. Extinktionen und KBE/ml einer in Salzlösung gelösten Bakteriensuspension gemessen am SLT-Photometer bei 405 nm

4.2.2. Schwankungen der Konzentration im Ansatz

Ein gewisses Mass an Schwankungen der Mikroorganismenzahl sollte das Testsystem tolerieren können, vor allem wenn man an einen möglichen Einsatz in der Routine denkt.

Ein Einfluss der Mikroorganismenkonzentration auf die LSI-Werte konnte aber nachgewiesen werden.

Dabei veränderten sich die LSI-Werte in den meisten Fällen der Erwartung entsprechend: bei gleicher Hemmstoffkonzentration sanken die LSI-Werte bei höheren Mikroorganismenkonzentrationen und stiegen bei niedrigeren, abhängig also von der Anzahl der Hemmstoffmoleküle, die auf eine Zelle wirken.

Als Beispiel sollen die folgenden LSI-Werte dienen:

Hemmstoff: Natriumazid [1mg/ml]			
Stamm	Zellzahl/ml		
	$5 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^8$
K601	0.385	0.179	0.197
K350	0.480	0.331	0.256
K343	0.207	0.180	0.182
K340	0.298	0.330	0.253
K400	0.154	0.094	0.083
K700	0.374	0.261	0.213
K630	0.316	0.228	0.165
K475	0.023	0.006	0.014
K570	0.126	0.022	0.054
K405	0.238	0.248	0.178
K602	0.213	0.181	0.139
K603	0.352	0.153	0.093
K604	0.376	0.209	0.184
K520	0.612	0.563	0.521
K523	0.560	0.348	0.212
K321	0.345	0.234	0.182

Tab. 4.2. LSI-Werte bei verschiedenen Mikroorganismenkonzentrationen

4.3. Inkubationsdauer

4.3.1. Wachstumskurven

Im folgenden Versuch wurden für alle Keime Wachstumskurven mit den unter Kapitel 4.1. und 4.2. gewonnenen Ergebnissen erstellt, d.h. Wachstum der Organismen in Caso-Bouillon mit einer Ausgangskonzentration von $5 \cdot 10^7$ KBE/ml.

Der Wachstumsverlauf war bei den verschiedenen Stämmen zum Teil recht unterschiedlich. Er eignet sich aber wahrscheinlich nicht als zusätzlicher Parameter für die Bakterienidentifizierung. Die aus Untersuchungsmaterialien isolierten Stämme können ja schon durch den Transport oder durch eine Vorbehandlung des Patienten mit Antibiotika in ihrer Vitalität beeinträchtigt sein, so dass erhebliche Differenzen im Wachstumsverlauf gegenüber den hier untersuchten Stämmen auftreten können.

Wachstumskurven s. Abb. (4.6.-4.10.)

4.3.2. Verlauf der LSI-Werte

Gleichzeitig mit dem Kontrollwachstum wurde der zeitliche Verlauf der LSI-Werte bei verschiedenen Hemmstoffen untersucht. Diese Ergebnisse waren wichtig, um zu erkennen, ob die LSI-Werte über einen bestimmten Zeitraum konstant blieben oder ob sie sich zeitabhängig veränderten.

Zur Veranschaulichung der Ergebnisse soll die Abbildung 4.5. dienen, s.a. Tab. 4.3.

Alle Möglichkeiten wurden dabei realisiert: die LSI-Werte blieben über einen längeren Zeitraum konstant, sanken oder stiegen an. Der Verlauf war sowohl abhängig vom verwendeten Stoff, wie auch von dem Bakterienstamm.

In den meisten Fällen blieben die LSI-Werte in einem Zeitraum von 4-6h jedoch relativ konstant. Der günstigste Zeitpunkt für eine Auswertung lag also bei ca. 5h nach Inkubationsbeginn.

Der Vergleich von LSI-Werten, die an verschiedenen Tagen ermittelt wurden, zeigte ausserdem, dass eine Auswertung vor 4h nicht sinnvoll ist.

Nach 3h Inkubationsdauer schwanken die LSI-Werte vor allem bei langsam wachsenden Keimen beträchtlich, eine Identifizierung würde durch solche Schwankungen erschwert, wenn nicht gar unmöglich gemacht.

Zeit [h]	Hemmstoff:	Acetylbutyro-	Kalium-
	Acetylbutyro- lacton 1:200	lacton 1:200	rhodanid 20 mg/ml
	Stamm:		
	K 601	K 350	K 601
3	0.130	0.456	0.642
4	0.264	0.449	0.807
5	0.278	0.350	0.888
6	0.257	0.231	0.922
7	0.272	0.189	0.986
8	0.256	0.169	1.004

Tab. 4.3. LSI-Werte in Abhängigkeit von der Zeit

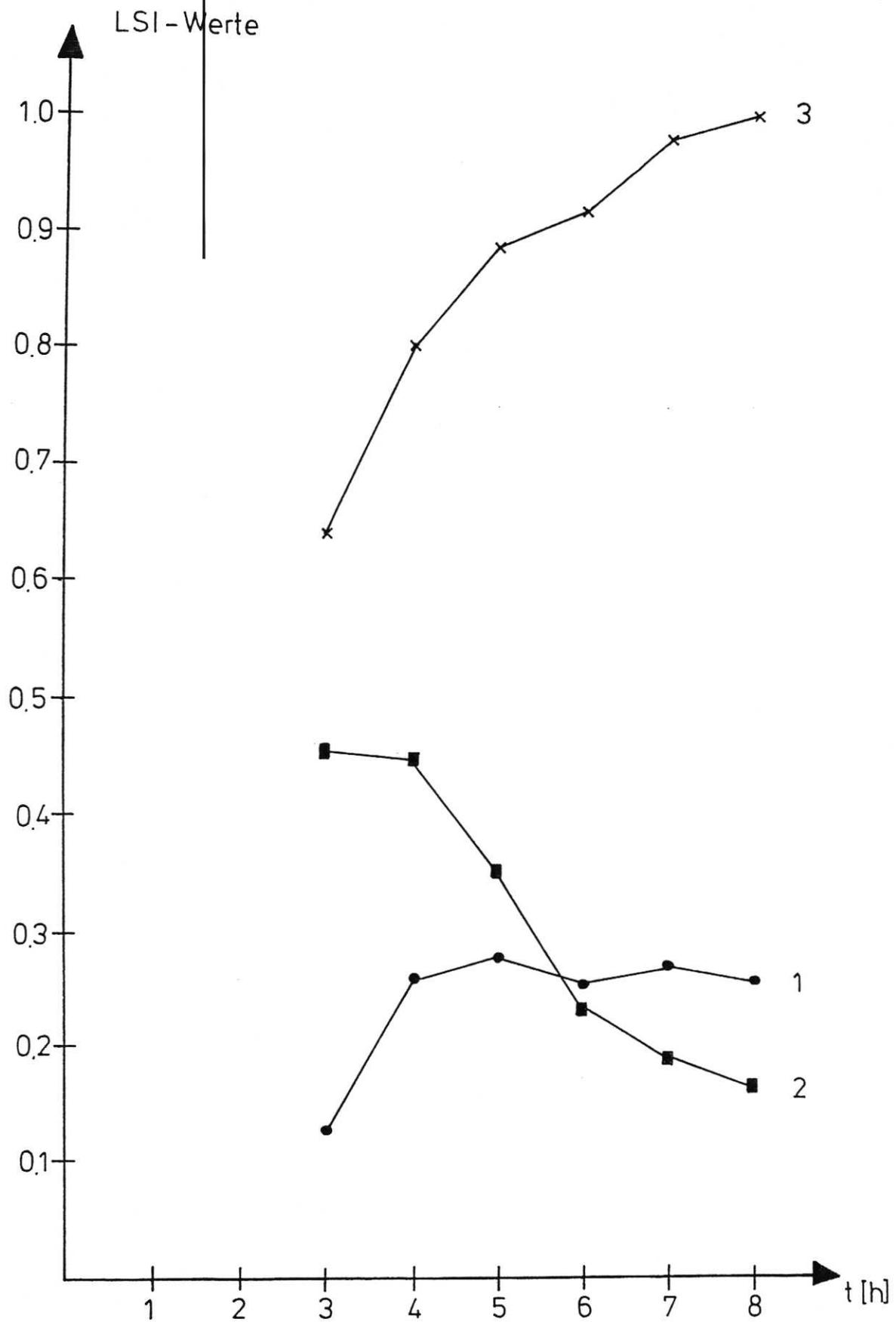


Abb. 4.5. Verlauf der LSI-Werte in Abhängigkeit von der Zeit
 1: bei *E. coli* K12 mit Acetylbutyrolacton (1:200)
 2: bei *E. aerogenes* mit Acetylbutyrolacton (1:200)
 3: bei *E. coli* K 12 mit Kaliumrhodanid (20mg/ml)

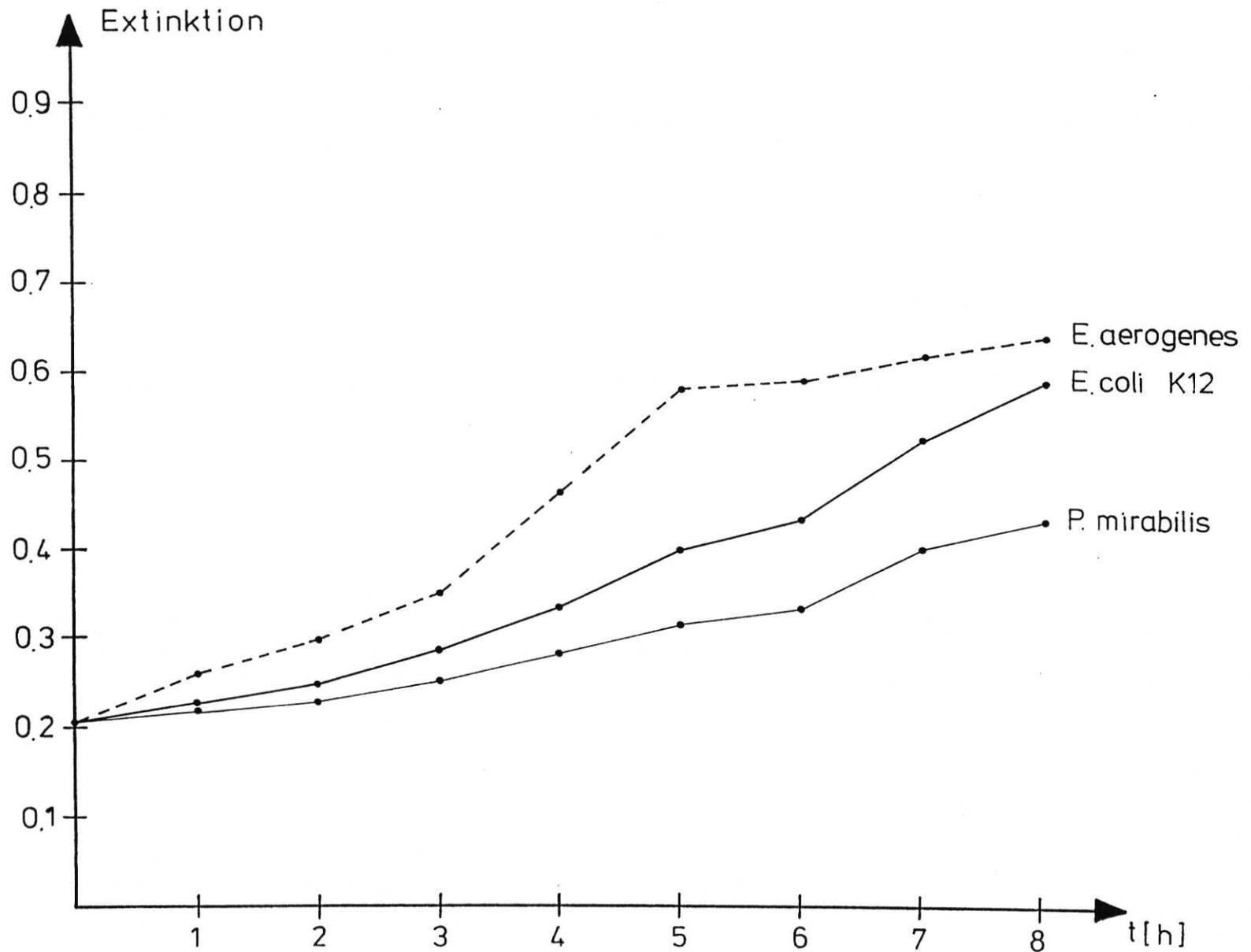


Abb. 4.6. Wachstumskurven; Nährmedium: Caso-Bouillon;
Extinktionen gemessen am SLT-Photometer bei 405 nm

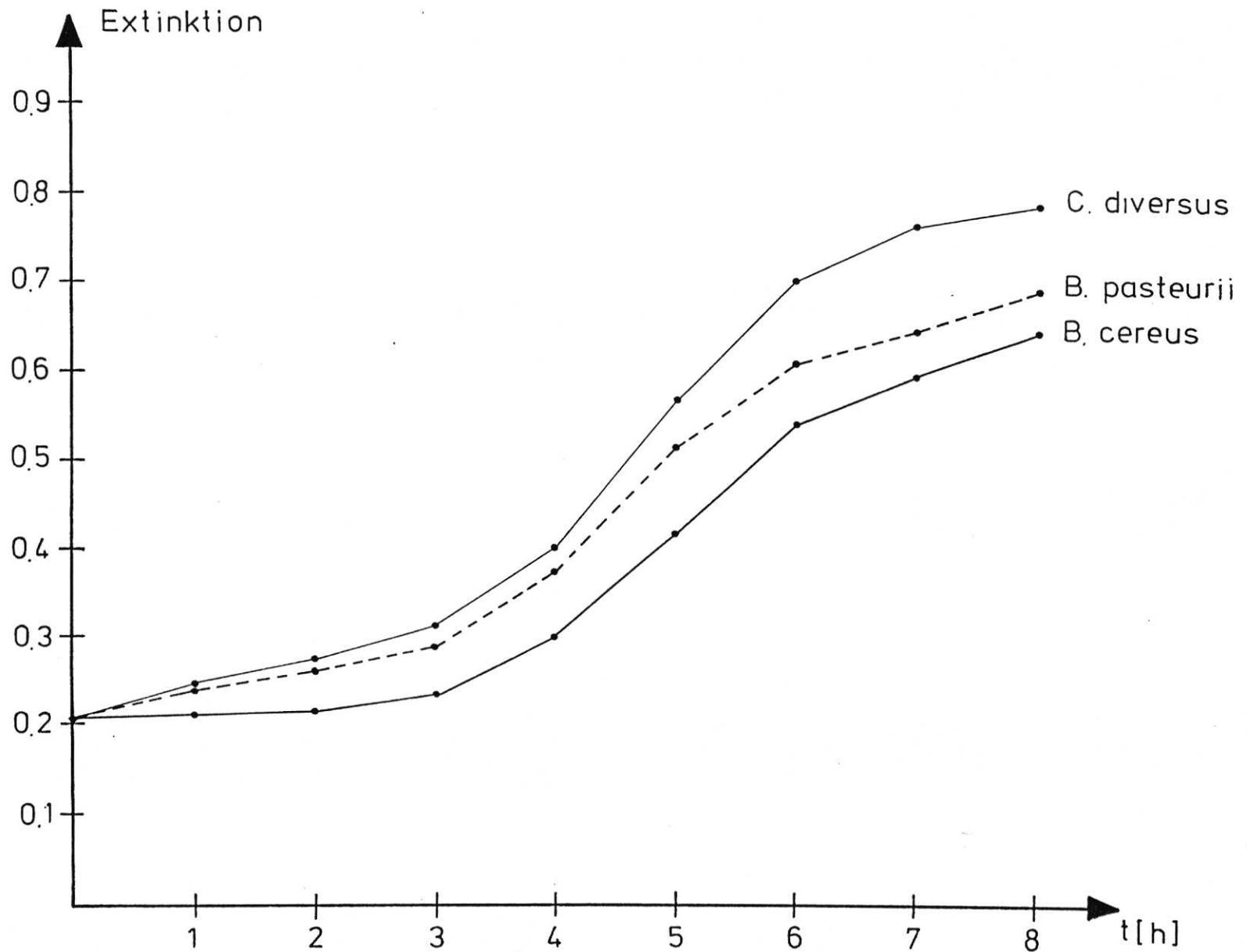


Abb. 4.7. Wachstumskurven; Nährmedium: Caso-Bouillon;
Extinktionen gemessen am SLT-Photometer bei 405 nm

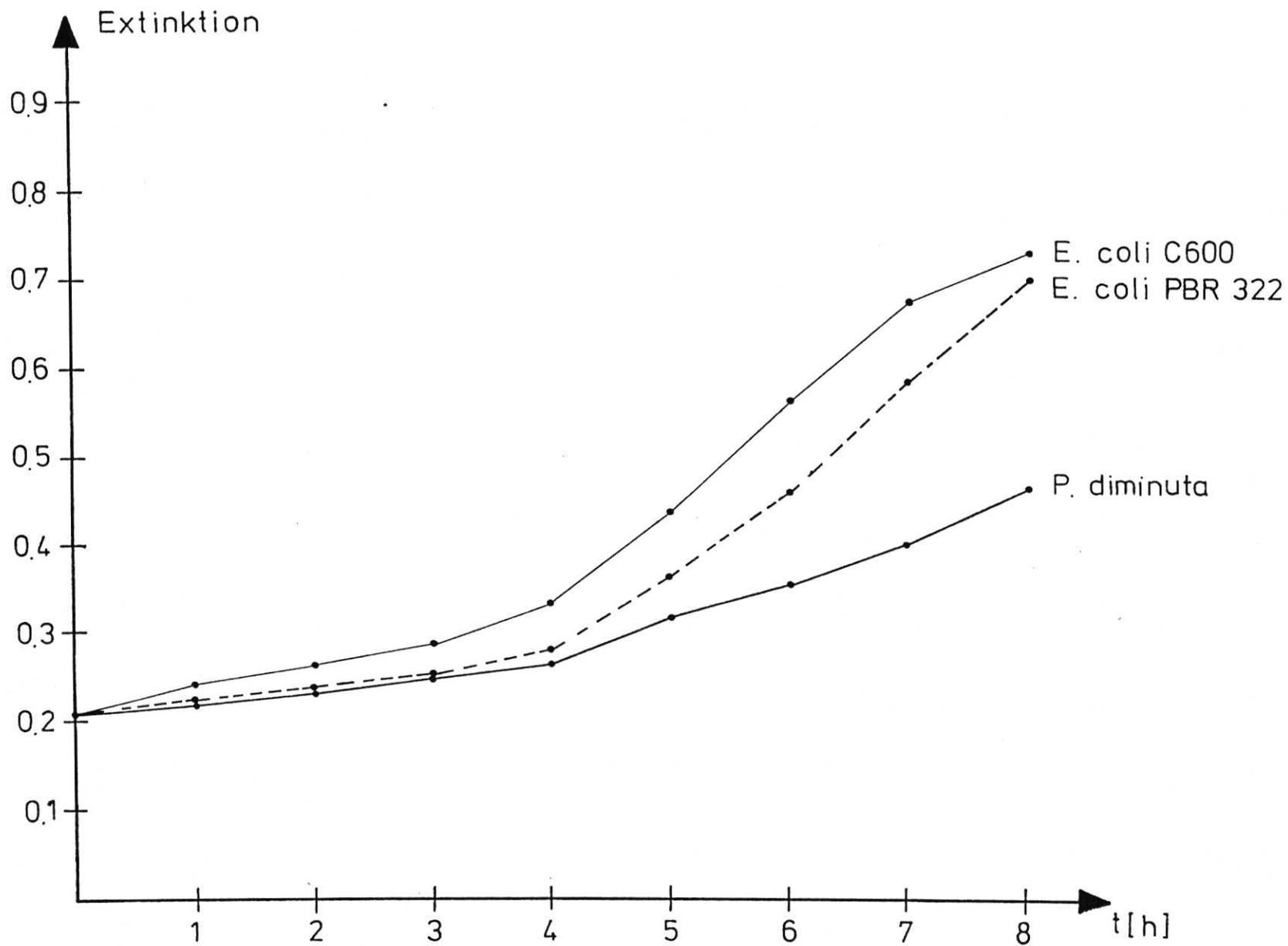


Abb. 4.8. Wachstumskurven; Nährmedium: Caso-Bouillon;
Extinktionen gemessen am SLT-Photometer bei 405 nm

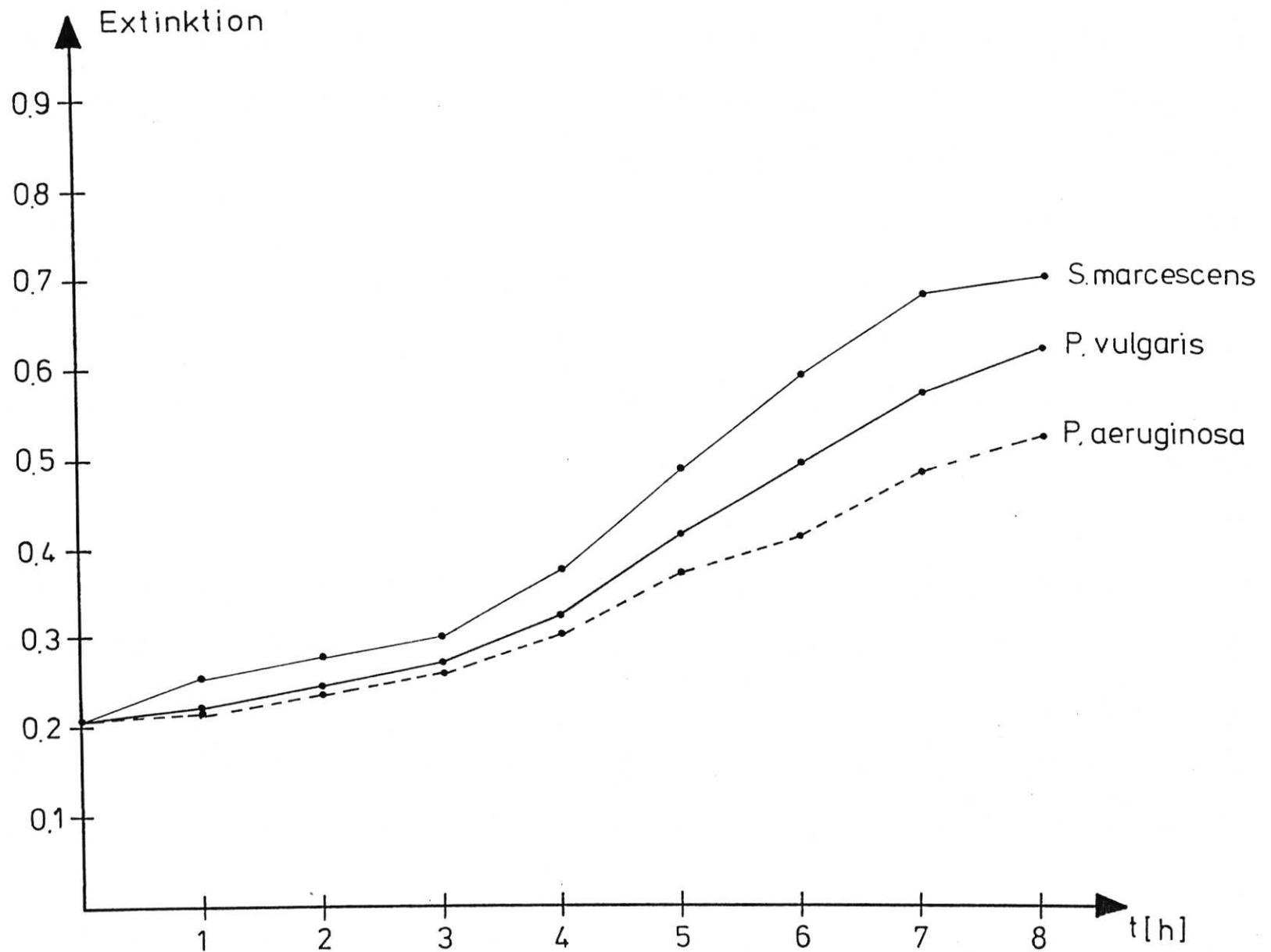


Abb. 4.9. Wachstumskurven; Nährmedium: Caso-Bouillon;
Extinktionen gemessen am SLT-Photometer bei 405 nm

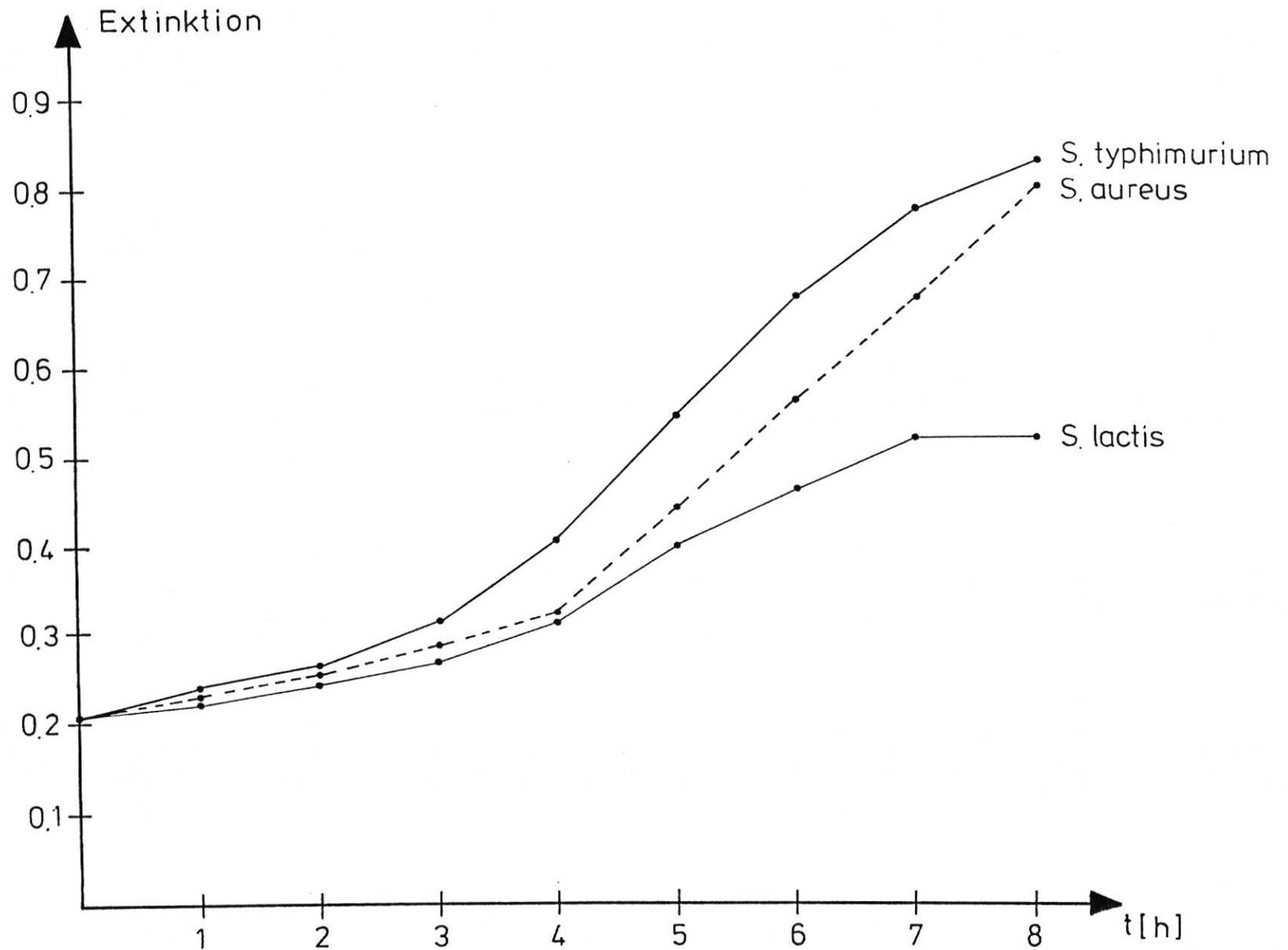


Abb. 4.10. Wachstumskurven; Nährmedium: Caso-Bouillon;
Extinktionen gemessen am SLT-Photometer bei 405 nm

4.4. Auswahl der Chemikalien

Viele Stoffe können das Wachstum von Mikroorganismen verhindern. Der Wirkungsmechanismus ist teilweise unspezifisch oder wenig bekannt. Bei einigen Hemmstoffen bestehen jedoch Vorstellungen über die Wirkungsweise:

1. Zerstörung oder Veränderung der Zellstruktur
 - a) Zerstörung wichtiger Zellbestandteile (z.B. Eiweissdenaturierung durch Alkohol)
 - b) Zerstörung der Zellwand (z.B. durch Lysozym)
 - c) Störung der Funktion der Cytoplasmamembran z.B. durch Phenole und Kresole, kationische Detergentien (z.B. Cetylpyridiniumchlorid), anionische Detergentien (z.B. Seife, Natriumtetradecylsulfat), Antibiotika (z.B. Polymyxin E), manche Farbstoffe usw.
 - d) Verbindungen von Nukleinsäuren z.B. mit basischen Farbstoffen wie Acriflavin, Gentianaviolett
2. Störung des Energiestoffwechsels
 - a) Reaktion mit Proteinen und Enzyminaktivierung durch Schwermetalle
 - b) Reaktion mit der prosthetischen Gruppe von Enzymen (z.B. Cyanid)
 - c) Kompetitive Hemmung durch Kohlenmonoxid
 - d) Verhinderung der oxidativen Phosphorylierung z.B. durch 2,4-Dinitrophenol
3. Störung der Biosynthese und des Wachstums
 - a) Verhinderung der normalen Proteinbiosynthese z.B. durch Aminosäureanaloge wie 5-Methyltryptophan, p-Fluorphenylalanin
 - b) Verhinderung der normalen Nukleinsäuresynthese z.B. durch Purin- und Pyrimidinanaloge wie 6-Mercaptopurin, 5-Bromuracil und durch Mitomycin C, ein Antibiotikum, das die DNA-Synthese stört
 - c) Hemmung der Coenzym-synthese z.B. durch Sulfanilamid
 - d) Hemmung der Zellwandsynthese z.B. durch Penicillin

Die in dieser Arbeit auf ihre Verwendbarkeit im Testsystem untersuchten Chemikalien wurden nach verschiedenen Gesichtspunkten ausgewählt:

- a) es wurden die im Autobac-System verwendeten Stoffe, ausser den Antibiotika geprüft. Auf den Einsatz von Antibiotika wurde wegen der Gefahr der Resistenzbildung verzichtet;
- b) es wurden solche Stoffe getestet, bei denen eine selektive Wirkung auf Mikroorganismen schon bekannt war und die man in der medizinischen Diagnostik zur

Anreicherung bestimmter Organismen heranzieht (s.o.);

- c) zu der letzten Gruppe gehören die meisten der getesteten Stoffe: bei ihnen war über eine Wirkung auf Mikroorganismen nichts bekannt. Da dies für fast alle erhältlichen Chemikalien gilt, war die Auswahl hier relativ willkürlich.

Um die Stoffe im Testsystem einsetzen zu können, mussten sie folgende Eigenschaften besitzen:

- a) sie mussten wasserlöslich sein.
Einige Substanzen liessen sich zwar nur mit Alkohol, bzw. DMSO (Dimethylsulfoxid, ein nukleophiles aprotonisches Lösungsmittel) in Lösung bringen, konnten dann aber mit Wasser weiter verdünnt werden. In DMSO gelöste Stoffe mussten mindestens 1:100 mit Wasser weiterverdünnt werden, da DMSO in höheren Konzentrationen selbst das Wachstum der Bakterien hemmt;
- b) sie durften keine Eigenfärbung besitzen.
Die LSI-Werte können sonst verfälscht werden, was z.B. bei Kobaltchlorid der Fall war;
- c) sie mussten in Lösung über einen längeren Zeitraum bei -25°C stabil sein.
Dies ist deshalb wichtig, um nicht für jeden Versuchstag die Lösungen neu ansetzen zu müssen. Es können ausserdem zeitsparend gleich mehrere Mikrotiterplatten auf einmal vorbereitet werden und dann bei -25°C gelagert werden.

Da daran gedacht ist, dass System später einmal in der Routine einzusetzen, ist es für die Wirtschaftlichkeit des Systems von Bedeutung, möglichst preiswerte Stoffe zu verwenden! Die Wirksamkeit einiger Pestizide und Mycotoxine wurde deshalb nicht weiter verfolgt. Auch sollten, wenn möglich, für den Menschen nur nichttoxische oder wenigstens nur gering toxische Substanzen verwendet werden. Auch die Beseitigung der Stoffe sollte keinerlei Schwierigkeiten bereiten.

Getestet wurden die Stoffe nach folgendem Schema:
zu Beginn wurden jeweils 0.01 ml einer Lösung von 0.1, 1.0 und 10.0 mg/ml der Substanzen mit 0.1 ml der mit den Teststämmen beimpften Caso-Bouillon vermischt und dieser Ansatz 5h inkubiert. Die ermittelten LSI-Werte ergaben einen Anhaltspunkt, in welchem Bereich die später einzusetzende Konzentration lag. Unter Umständen musste weiter verdünnt werden, bzw. höhere Konzentrationen eingesetzt

werden.

In 2er Schritten wurde dann der in Frage kommende Konzentrationsbereich weiter durchgetestet. Gesucht wurde für jeden Stoff die Konzentration, bei der eine Hemmung für die meisten Stämme eindeutig zu erkennen war, die aber noch nicht zu einer vollständigen Hemmung führte.

Tabelle 4.3. gibt eine Übersicht über die untersuchten Stoffe.

Eingesetzt im Testsystem wurden dann die 21 Stoffe, bei denen die Variation der LSI-Werte möglichst gross war. So ist z.B. ein Stoff, bei dem alle Stämme einen LSI-Wert um 0.5 besaßen, zur Identifizierung nicht geeignet. Diese Stoffe sind in der Tabelle durch ein "+" für ihre Wirksamkeit auf das Wachstum der Bakterien gekennzeichnet, besitzen aber kein Kürzel.

Ein "-" -Zeichen, evtl. mit Konzentrationsangabe, zeigt an, dass dieser Stoff bis zu der geprüften Konzentration auf das Wachstum von Bakterien keine Wirkung hat.

Stoffe ohne "+" oder "-" -Zeichen könnten bei Bedarf weiter auf ihre Wirksamkeit auf Bakterien untersucht werden. Sie wurden aus oben genannten Gründen nicht weiter untersucht.

Die Ziffern 1-6 in der Tabelle besitzen folgende Bedeutung:

- 1: in höheren Konzentrationen ist die Substanz gefärbt;
- 2: in höheren Konzentrationen ist die Substanz nicht wasserlöslich;
- 3: die Substanz fällt während der Inkubation wieder aus;
- 4: die Substanz bildet mit Wasser eine Emulsion und kann deshalb nicht eingesetzt werden;
- 5: in wässriger Lösung ist die Substanz bei -25°C nicht beständig;
- 6: die Substanz muss in DMSO gelöst werden.

TESTSUBSTANZEN:

1)	Acetyl-Butyrolacton	+ 1:200	ACBU
2)	Acriflavin	- bis 0.04 mg/ml	1
3)	Aldrin	bei 0.005 mg/ml geringe Hemmung nach 5h; - nach 24 h	
4)	Allobarbital	- bis 0.1 mg/ml	2
5)	Aminophenazon	beginnende Hemmung bei 1 mg/ml	
6)	Ammoniumwismutcitrat	+ 10 mg/ml	
7)	Bariumacetat	- bis 1 mg/ml	3
8)	Bariumbromid	hemmt Pseudomonas spec. bei 1 mg/ml	
9)	Benodanil	- bis 0.1 mg/ml	
10)	Benzimidazol	+ 1.2 mg/ml	BENZ
11)	Benzylamin	+ 1:500	4
12)	Bernsteinsaeure	- bis 0.1 mg/ml	
13)	Bleiacetat	-	3
14)	Bleinitrat	hemmt ab 0.15 mg/ml	3
15)	(Gamma)Butyrolacton	beginnende Hemmung bei 1:150	
16)	Brillantgruen	- bis 0.004 mg/ml	1
17)	Cadmiumchlorid	+ 0.2 mg/ml	CACH
18)	Carbamazepin	- bis 0.1 mg/ml	2
19)	Carbenicillin	+ 0.025 mg/ml	

Tabelle 4.3. Liste der auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit und ihre Einsatzfähigkeit im Testsystem untersuchten Substanzen (1)

20) DL-Carnithinchlorid		beginnende Hemmung bei 1 mg/ml	
21) Caesiumchlorid	+	15 mg/ml	
22) Cephalotin	+	0.0175 mg/ml	
23) Chinidindihydrochlorid	+	1 mg/ml	
24) Chininhydrochlorid	+	0.5 mg/ml	CHIN
25) Chloramin T	+	2 mg/ml	CHLT
26) 2-Chloranisol			4
27) 4-Chlorbenzoesaeure	-	bis 0.01 mg/ml	2
28) Chlorhexidinacetat	+	0.004 mg/ml	CHAC
29) Chloridazon	-	bis 0.1 mg/ml	2
30) 2-Chlorphenylessigsaeure	-	bis 1 mg/ml	2
31) p-Chlor-m-xylenol	+	0.075 mg/ml	5
32) Coffein	+	3 mg/ml	
33) 2,4,6-Collidin			4
34) Croton-Lacton	+	1:800	
35) Cyclofuramid	-	bis 0.08 mg/ml	
36) 2,4 D		beginnende Hemmung bei 1 mg/ml	
37) p,p' DDT	-	bis 0.01 mg/ml	
38) Diaethylpentenamid	-	bis 1 mg/ml	2
39) Dieldrin		bei 0.01 mg/ml geringe Hemmung nach 5h - nach 24h	
40) Dimethoat		bei 0.01 mg/ml geringe Hemmung nach 5h - nach 24h	

Tabelle 4.3. Liste der auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit und ihre Einsatzfähigkeit im Testsystem untersuchten Substanzen (2)

41)	3,4 Dimethoxyzimtsaeure	-		3
42)	4-Dimethyl-aminobenzaldehyd	-	bis 0.1 mg/ml	2
43)	2,2 Dinitro-5,5'dithiobenzoesaure	-	bis 0.1 mg/ml	1
44)	Dinitrophenylhydrazin		beginnende Hemmung bei 1 mg/ml	
45)	Diphenhydramin	+	0.5 mg/ml	
46)	1,5-Diphenylcarbazon	-	bis 0.01 mg/ml	2
47)	Diuron		hemmt gram pos. Keime bei 0.1 mg/ml	
48)	Eisen(III)nitrat	-	bis 0.1 mg/ml	1
49)	Eisen(II)sulfat	-	bis 0.1 mg/ml	1
50)	Ethinamat	-	bis 0.1 mg/ml	2
51)	Ethosuximid	-	bis 1 mg/ml	
52)	Eugenol			4
53)	Floxuridin	+	0.003 mg/ml	FLOX
54)	Fluphenazindihydrochlorid	-	bis 1 mg/ml	
54)	Geraniol			4
56)	(Gamma) HCH		bei 0.01 mg/ml geringe Hemmung - nach 24h	
57)	Hoe 39866	+	10 mg/ml	
58)	Hydraziniumsulfat	+	0.075 mg/ml	HYSU
59)	4-Hydroxy-3-methoxymandelsaeure		beginnende Hemmung bei 5 mg/ml	
60)	Hydroxylammoniumchlorid	+	0.075 mg/ml	HYCH
61)	Imugan-Wirkstoff		hemmt ab 0.01 mg/ml Proteus spec. und gram pos. Keime	

Tabelle 4.3. Liste der auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit und ihre Einsatzfähigkeit im Testsystem untersuchten Substanzen (3)

62) Isosafrol		4
63) Kaliumchromat	hemmt ab 0.1 mg/ml	1
64) Kaliumcyanid	hemmt ab 2 mg/ml;	
65) Kaliumhexacyanoferrat(III)	- bis 0.1 mg/ml	1
66) Kaliumjodid	+ 50 mg/ml	KAJD
67) Kaliumpermanganat	- bis 0.1 mg/ml	1
68) Kaliumperoxysulfat	+ 2.5 mg/ml	KALI
69) Kaliumrhodanid	+ 20 mg/ml	KARH
70) Kaliumtellurit	hemmt ab 0.1 mg/ml	
71) Kobaltchlorid	+ 0.25 mg/ml	
72) Kojisaeure	beginnende Hemmung bei 0.1 mg/ml	
73) Kupfersulfat	hemmt ab 0.25 mg/ml	1
74) R(+) - Limonen		4
75) Lindan	hemmt ab 0.2 mg/ml Pseudomonas aeruginosa	
76) Lithiumchlorid	+ 10 mg/ml	LICL
77) Luminol (Barbitursaeurederivat)	- bis 0.1mg/ml	3
78) Malachitgruen	- bis 0.004 mg/ml	1
79) Malathion	- bis 0.01 mg/ml	
80) Maleinsaeureanhydrid	- bis 0.1 mg/ml	
81) Meproamat	- bis 1 mg/ml	2
82) Metamizol-Na	beginnende Hemmung bei 2.5 mg/ml	
83) Methoxychlor	bei 0.01 mg/ml geringe Hemmung nach 5h - nach 24h	

Tabelle 4.3. Liste der auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit und ihre Einsatzfähigkeit im Testsystem untersuchten Substanzen (4)

84)	1-Methylephedrin-HCl	- bis 1 mg/ml	
85)	5-Methyl-5-phenylhydantoin	- bis 0.1 mg/ml	
86)	Nalidixinsaeure	-	
87)	Natriumazid	+ 0.1 mg/ml	NAAZ
88)	Natriumchloracetat	+ 5 mg/ml	
89)	tri-Natriumcitrat-2-hydrat	hemmt ab 50 mg/ml	
90)	Natriumdesoxycholol	-	
91)	Natriumdodecylsulfat	+ 2.5 mg/ml	NADO
92)	Natriumdisulfit	+ 7.5 mg/ml	
93)	Natriumdithionit	+ 3 mg/ml	NADI
94)	Natriumfluorid	+ 10 mg/ml	
95)	Natriumperchlorat	+ 25 mg/ml	NAPE
96)	Natriumthiocyanat	+ 20 mg/ml	
97)	Natriumwolframat	- bis 10 mg/ml	
98)	Nicotin	+ 1:200	
99)	Nitrofen	hemmt bei 0.1 mg/ml Pseudomonas aeruginosa	
100)	1-Nitrosonaphthol	hemmt bei 0.1 mg/ml	1
101)	Ochratoxin	- bis 0.01 mg/ml	
102)	Parathion	- bis 0.01 mg/ml	
103)	Patulin	+ 0.005 mg/ml	5
104)	Penicillinsaeure	+ 0.05 mg/ml	5
105)	1,10 Phenanthrolin	+ 0.04 mg/ml	PHEN
106)	Phenolphthalein	- bis 0.1 mg/ml	
107)	Phenylpropionsaeure	- bis 1 mg/ml	2

Tabelle 4.3. Liste der auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit und ihre Einsatzfähigkeit im Testsystem untersuchten Substanzen (5)

108) Pyracarbolid	- bis 0.1 mg/ml	
109) Quecksilberchlorid	hemmt < 0.002 mg/ml	
110) Semicarbazidhydrochlorid	+ 0.75 mg/ml	SECH
111) Sesamol	+ 1.5 mg/ml	1
112) Simazin	- bis 0.05 mg/ml	
113) Sorbinsäure	+ 8 mg/ml	SORB
114) Spermidintrihydrochlorid	- bis 1 mg/ml	
115) Sulfadimethyloxazol	beginnende Hemmung bei 0.1 mg/ml	3
116) 5-Sulfosalicylsäure	- bis 1 mg/ml	
117) Tetracyclinhydrochlorid	+ 0.005 mg/ml	
118) Thalliumacetat	+ 0.25 mg/ml	THAC
119) Toluol-4-sulfonamid	beginnende Hemmung bei 1 mg/ml	2
120) Vanillinsäure	- bis 1 mg/ml	2
121) Zinksulfat	- bis 0.1 mg/ml	3

Tabelle 4.3. Liste der auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit und ihre Einsatzfähigkeit im Testsystem untersuchten Substanzen (6)

5. Das Testsystem

5.1. Versuchsanordnung

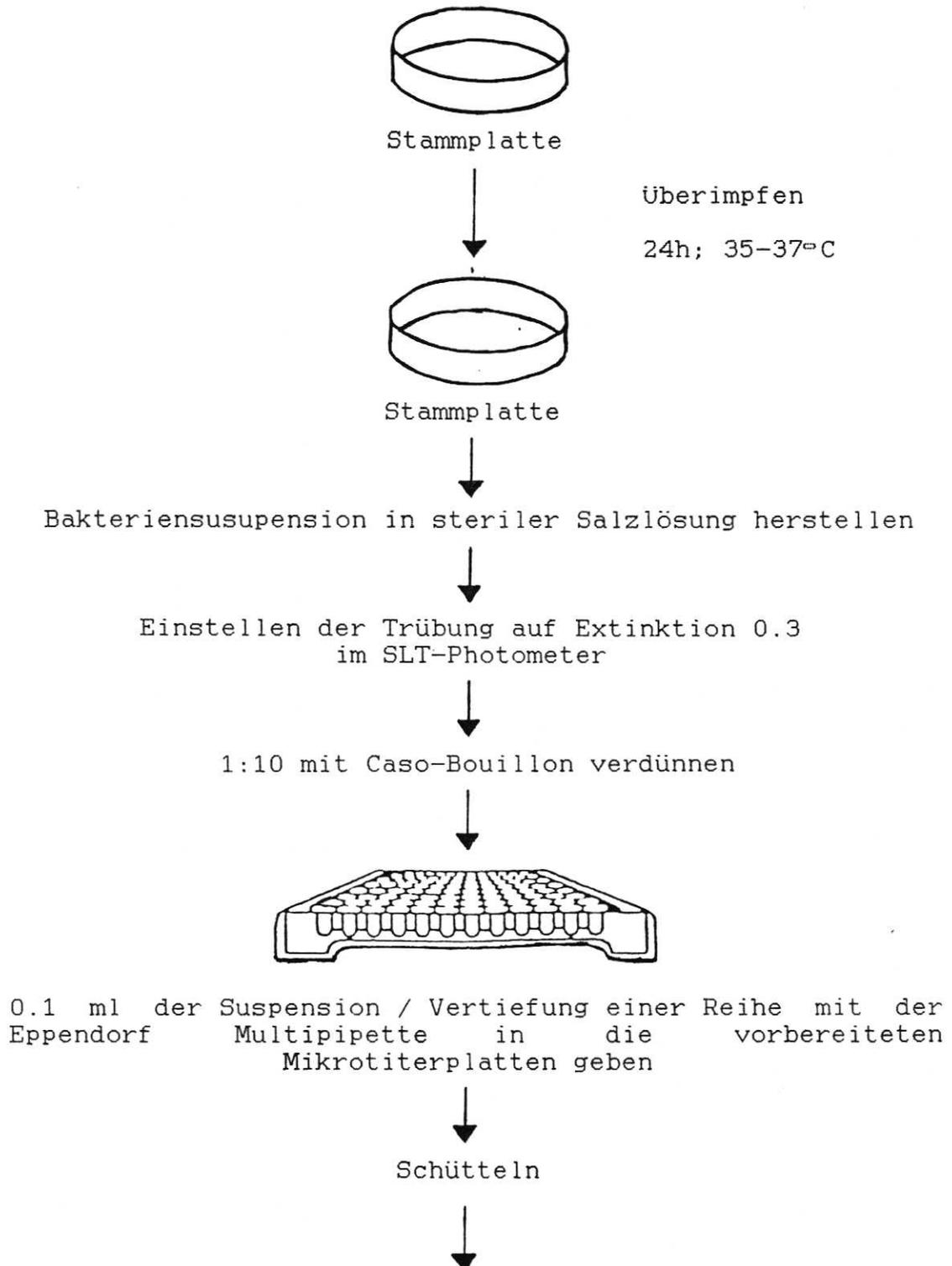
5.1.1. Vorbereitung der Mikrotiterplatten

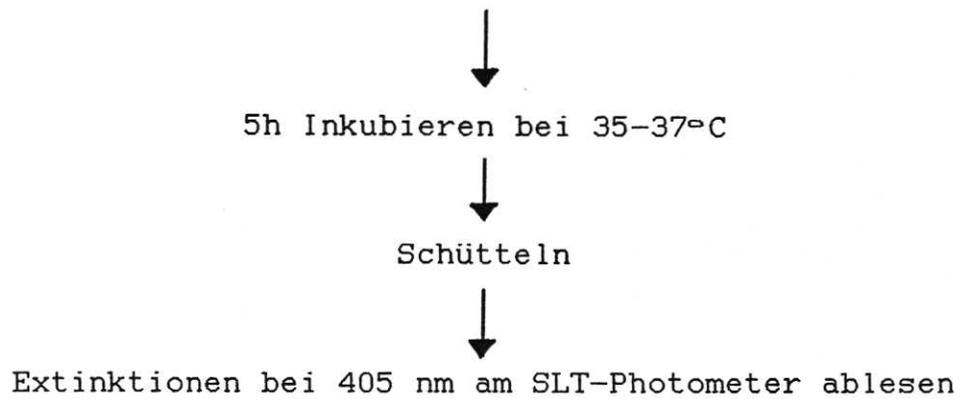
Die Platten wurden wie schon in Kapitel 3.2.1. beschrieben vorbereitet. Die 21 Substanzen, deren Einsatzmöglichkeiten weiter untersucht wurden, waren auf zwei Mikrotiterplatten folgendermassen verteilt:

Platte 1:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												
KONTROLLE												
ACBU 1:200												
BENZ 1.2 mg/ml												
CACH 0.2 mg/ml												
CHIN 0.5 mg/ml												
CHLT 2.0 mg/ml												
CHAC 0.004 mg/ml												
FLOX 0.003 mg/ml												
HYSU 0.075 mg/ml												
HYCH 0.075 mg/ml												
KAJO 50.0 mg/ml												

5.1.2. Beimpfen und Inkubieren der Mikrotiterplatten





5.2. Berechnung der LSI-Werte

Das SLT-Photometer war über ein RS-232-C-Interface mit einem Computer verbunden. Die vom Photometer ermittelten Extinktionen konnten somit direkt zum Computer transferiert und die LSI-Werte berechnet werden.

Die bei den Messreihen ermittelten LSI-Werte sind im Anhang aufgeführt.

5.3. Diskriminanzanalyse

5.3.1. Vorgehen bei der Diskriminanzanalyse

Das prinzipielle Vorgehen bei einer Diskriminanzanalyse besteht aus folgenden Schritten:

a) jedem Stamm wird ein Klassifikationsvektor zugeordnet. Dieser beschreibt einen Punkt im n-dimensionalen Raum und setzt sich hier aus den LSI-Werten der verschiedenen Substanzen für einen Stamm zusammen. (Erheben einer Stichprobe).

b) es wird eine Zuordnungsregel entwickelt, mit der aufgrund des Klassifikationsvektors allein ein unbekannter Stamm den bekannten Gruppen zugeordnet werden kann.

c) der Klassifikationsvektor unbekannter Stämme kann ermittelt und mit Hilfe der Zuordnungsregel die Gruppenzugehörigkeit bestimmt werden.

Sind, wie in diesem Fall, mehr als zwei Gruppen vorhanden, gibt es im allgemeinen auch mehr als eine Zuordnungsregel oder Trennfunktion.

Das am meisten verwendete Verfahren zur Diskriminanzanalyse beruht auf der sogenannten linearen Diskriminanzfunktion (LDF). Es müssen zwei Voraussetzungen erfüllt sein, damit die LDF zu einer konsistenten Zuordnungsregel führt:

- a) die Daten müssen normalverteilt sein und
- b) die Varianzen der Gruppen müssen homogen sein.

Eine genaue Beschreibung der Diskriminanzanalyse und deren mathematische Abhandlung findet man in folgenden Arbeiten: 1, 6, 19.

Für die hier zu beurteilende Versuchsanordnung können die Schritte folgendermassen charakterisiert werden:

a) mit der entwickelten Versuchsanordnung wurden die Wirkungen von 21 verschiedenen Substanzen auf 16 verschiedene Stämme erfasst. Bestimmt wurden die LSI-Werte von 40 Versuchsreihen. (Stichprobe)

b) mit Hilfe dieser Versuchsreihen wurde eine Zuordnungsfunktion berechnet, die es erlaubt, möglichst viele Reihen wieder dem richtigen Bakterienstamm zuzuordnen.

c) unbekannte Stämme sollten dann der richtigen Gruppe zugeordnet werden können.

5.3.2. Ergebnisse

Die schrittweise Diskriminanzanalyse wurde mit Hilfe des BMDP 81 (Biomedical Computer Programs) P7M-Programms durchgeführt.

In Tabelle 5.1-5.3. sind die Mittelwerte, die Standardabweichungen und die Variationskoeffizienten aufgeführt.

Vor Beginn der Diskriminanzanalyse wurde eine einfache Varianzanalyse durchgeführt und die berechneten F-Werte aufgelistet.

Die einfache Varianzanalyse ist ein Testverfahren zum Vergleich von Gruppenmittelwerten. Inhomogen sind die Varianzen dann, wenn der berechnete F-Wert grösser ist als der Tabellenwert F für die zugehörigen Freiheitsgrade und das ausgewählte Signifikanzniveau.

Bei der schrittweisen Diskriminanzanalyse werden die Variablen nacheinander zum Erstellen der Zuordnungsfunktion (Klassifikationsfunktion) herangezogen. Es wird mit der Variablen begonnen, die univariat den grössten F-Wert liefert. Es ist die Variable, die am besten zwischen den Gruppen unterscheidet. Mit dieser Variablen als Kovariablen wird unter den verbleibenden diejenige mit zweitbesten Trennung gesucht. Es wird dann mit zwei Kovariablen weitergesucht, dann mit drei usw. Fällt der F-Wert unter ein vorgegebenes Niveau, hier $F=4.0$, wird das Verfahren abgebrochen.

Für jeden Schritt wird eine neue Klassifikationsfunktion berechnet, bei der die hinzugekommene Variable mit einbezogen wird. Mit Hilfe der Klassifikationsfunktion können später unbekannte Objekte den vorhandenen Gruppen zugeordnet werden. Für das BMDP-Programm wird dabei folgende Vorgehensweise beschrieben: die Werte der Variablen, die bei der schrittweisen Diskriminanzanalyse verwendet wurden, werden mit dem dazugehörigen Koeffizienten multipliziert und die Konstante addiert. Die Zuordnung eines unbekanntes Objekts erfolgt zu der Gruppe, mit deren Klassifikationsfunktion der höchste Klassifikationswert berechnet wurde (7).

S. Tab. 5.4. Klassifikationsfunktionen: die Zahlen der Spalten geben den Koeffizienten an.

Die Güte der Klassifikationsfunktion wird am Ende jedes Schrittes mit Hilfe der Klassifikationsmatrix überprüft. Jedes Objekt wird nach dem oben beschriebenen Verfahren einer Gruppe zugeordnet, abhängig von seiner Klassifikationsfunktion. Es wird die Anzahl der Fälle angegeben, die einer Gruppe zugeordnet wurden und bei bekannter Gruppen-

zugehörigkeit, wieviel Prozent der Fälle richtig zugeordnet werden konnten.

Bei diesem Verfahren der Reklassifizierung wird der zu klassifizierende Fall mitbenutzt. Der Fehler, der bei einer Neuklassifizierung zu erwarten ist, wird hierbei unterschätzt. Bei der Lachenbruch'schen Kreuzvalidisierung (jackknifed classification) wird der zu klassifizierende Fall bei der Parameterschätzung nicht verwendet. Diese Methode liefert einen zu hoch eingeschätzten Fehler, ist aber als besserer Schätzer für die wahre Fehlklassifikation anzusehen.

Die Abbildung 5.1. gibt einen Überblick über die Trefferaten der Reklassifizierung.

In Tab. 5.5. sind die Werte für die Reklassifizierung und die Kreuzvalidisierung zusammengefasst.

Aus Tab. 5.5. kann man ablesen, dass zu Beginn der Analyse mit jedem Einbeziehen einer neuen Variablen zur Berechnung der Klassifikationsfunktion die Trefferraten deutlich anstiegen. Nach Einbeziehen der 8. Variablen (Thalliumacetat) war dann ein Maximum erreicht, neue Variablen brachten keinen wesentlichen Informationsgewinn mehr.

Tab. 5.6. zeigt unter anderem die Reihenfolge, in der die einzelnen Variablen zur Diskriminanzanalyse herangezogen wurden. Floxuridin und Semicarbazidhydrochlorid sind demnach die Substanzen, die am besten zwischen den Gruppen differenzieren können.

Interessant ist es zu betrachten, wie genau die Fälle jedes einzelnen Stammes reklassifiziert werden konnten. Bei *Ps. aeruginosa* wurden schon nach zwei Variablen 100% der Fälle richtig zugeordnet, bei *P. mirabilis*, *Ps. diminuta*, *Staph. aureus* und *S. marcescens* waren es immerhin über 95% der Fälle.

Nach dem achten Schritt blieb nur die Eingruppierung der Fälle von *B. cereus* mit 85,4% und *E. coli* C600 mit 87,8% unter der 90% Marke. Vier der bei *E. coli* C600 falsch eingeordneten Fälle wurden dabei anderen *E. coli* Gruppen zugeordnet, ein Fall *S. typhimurium*. Bei *B. cereus* werden alle sechs falsch eingeordneten Fälle *B. pasteurii* zugewiesen. (s. Abb. 5.2.).

Die Trennung der beiden *Bacillus*-Arten bereitete auch nach Einbeziehen weiterer Variablen die grössten Schwierigkeiten. Hier muss evtl. nach einer Substanz gesucht werden, mit deren Hilfe man diese beiden Stämme eindeutig trennen kann.

VARIABLE	GROUP = K321	K340	K343	K350	K400	K405	K475	K520	K523
2 ACBU	2.41923	3.19250	1.33250	2.17725	5.83051	3.95317	1.97895	3.30366	1.52854
3 BENZ	6.13231	3.96950	2.88975	7.23350	7.93590	3.28146	3.12105	4.69366	2.26390
4 CACH	6.64333	4.35850	1.71525	4.31275	3.49410	3.37976	9.48710	9.70902	9.40097
5 CHIN	1.45590	5.36950	8.98375	1.06150	0.82538	9.08219	8.99053	5.28512	2.00927
6 CHLT	2.08743	6.28600	4.50100	1.56925	2.58615	3.32289	3.32289	4.64024	2.46585
7 CHAC	1.53487	3.70300	8.93000	2.38897	2.38897	9.41878	9.28842	9.39536	9.22463
9 FLOX	6.78256	5.92525	2.23175	7.22400	-0.31462	5.94816	5.94816	6.84171	5.85073
10 HYSU	4.48231	-0.20450	0.75050	2.98550	4.65077	0.38073	1.92895	2.18610	1.87805
11 HYCH	3.53743	1.50550	1.54750	5.48872	2.06872	2.06872	5.23921	6.60610	6.60610
12 KAJ0	5.40051	8.60850	7.66750	6.69200	3.34974	8.12610	8.98585	9.48585	9.17951
13 KALI	1.57410	4.94025	4.48700	2.19900	4.89872	4.34122	2.30342	3.82341	2.34585
14 KARH	3.08513	6.27875	2.01975	2.54575	5.37769	4.61244	3.57210	4.23293	2.97534
15 LICL	1.22410	2.71800	3.21750	0.89850	4.25487	3.94122	8.88132	3.56488	1.75415
16 NAAZ	1.56590	1.60425	1.40050	0.98125	1.45974	1.04293	-0.16868	3.55658	2.04585
17 NAD0	-0.04385	10.70200	10.53100	2.81400	3.58795	12.36244	8.95105	8.95829	8.85293
18 NADI	3.02667	5.24800	5.84250	5.34975	6.25949	13.39561	4.60605	5.76463	4.08585
19 NAPE	2.01410	3.86875	0.91250	2.81700	2.49102	2.96463	2.06316	2.75902	1.90244
20 PHEN	6.36436	6.87700	7.42525	5.77425	3.01974	5.77195	3.14210	7.72610	6.24732
21 SECH	5.23051	1.82800	0.65300	6.53100	6.05564	0.18732	2.94921	2.34366	1.84317
22 SORB	6.78436	6.37325	3.55225	6.05275	4.62743	6.58634	2.44737	3.97488	2.67195
23 THAC	5.34795	2.55625	1.53775	0.43100	3.46333	4.58341	0.67605	6.17878	2.53585

COUNTS 39. 40. 40. 40. 39. 41. 38. 41. 41. 41.

VARIABLE	GROUP = K570	K601	K602	K603	K604	K630	K700	ALL 6PS.
2 ACBU	4.39683	2.30800	2.29024	3.33146	1.87244	4.08725	2.38175	2.89866
3 BENZ	4.64707	4.50250	4.36073	5.45610	4.12829	6.87425	5.09575	4.77753
4 CACH	9.64634	6.45125	8.47829	8.96488	6.02512	3.05125	7.15100	6.40319
5 CHIN	9.26195	2.02475	1.39366	2.59561	1.91561	1.97775	3.08575	4.08089
6 CHLT	4.47293	3.60275	2.98341	3.96463	1.56756	2.77425	1.96725	3.20036
7 CHAC	10.47171	10.54100	9.54829	9.18878	9.50585	0.71250	7.82450	7.16426
9 FLOX	7.55610	6.85975	7.29122	6.55927	7.60585	7.42250	7.24000	5.71513
10 HYSU	0.97171	4.11050	7.07975	4.22878	7.83585	2.33725	5.50225	3.19712
11 HYCH	4.54658	4.71150	5.08756	3.39732	7.42097	3.90525	3.54550	4.21449
12 KAJ0	9.90146	9.51800	9.21146	8.98317	5.12951	5.64125	7.23250	7.71033
13 KALI	3.58146	1.86200	2.25488	3.00244	1.99439	2.75950	2.60475	3.06246
14 KARH	3.17902	11.34100	10.23366	4.29463	3.37049	4.65750	3.28475	4.69631
15 LICL	2.64122	3.23775	2.00488	2.12024	2.42658	2.17300	2.54025	2.95358
16 NAAZ	1.11683	1.42375	1.18171	1.48805	1.05146	2.10450	1.20200	1.44799
17 NAD0	10.80341	0.31950	0.02366	0.30293	0.32659	0.56275	0.26200	4.96555
18 NADI	11.28512	4.65075	3.79610	3.86073	3.64268	4.71250	3.42275	5.57589
19 NAPE	2.34976	9.05600	4.67439	2.52268	2.84750	2.84750	2.79100	2.98648
20 PHEN	4.81000	5.25375	7.26366	6.30732	6.31366	7.66525	6.34586	6.03586
21 SECH	0.74659	7.07075	8.13000	7.61756	7.52415	4.18225	6.80425	4.35317
22 SORB	4.19610	6.25700	6.02463	5.90488	6.63683	6.95550	6.95250	5.38042
23 THAC	2.17341	5.39625	7.17658	6.63634	7.08219	2.04850	5.72150	3.99379

COUNTS 41. 40. 41. 41. 41. 40. 40. 40. 643.

Tab. 5.1. Mittelwerte der LSI-Werte * 10⁻¹

GROUP = K321		K340	K343	K350	K400	K405	K475	K520	K523
VARIABLE									
2 ACBU	0.29909	0.27758	0.63437	0.35159	1.17955	0.72854	0.28863	1.84679	0.83303
3 BENZ	0.43554	0.53884	0.50160	0.31129	0.47539	0.84476	0.51939	2.27683	0.91306
4 CACH	1.31408	1.22188	0.88338	1.68901	0.53723	0.59022	0.50988	0.41876	0.39292
5 CHIN	0.34770	1.02470	1.00839	0.32080	0.59321	1.03545	0.71127	2.26272	2.13988
6 CHLT	0.87864	1.42094	1.79328	1.23242	0.57629	2.37629	1.81969	2.39093	2.16075
7 CHAC	0.91906	1.91819	1.00845	1.87583	1.83700	2.23086	0.63046	0.54124	0.39907
9 FLOX	0.31242	0.45754	0.65311	0.37892	0.55966	0.61100	0.61099	1.30086	0.78252
10 HYSU	0.70867	0.34753	0.54041	1.25292	1.19555	0.64821	0.62778	1.54630	1.94414
11 HYCH	1.08182	1.02350	1.14751	1.64341	0.54652	0.80622	0.91377	2.33498	2.16203
12 KAJ0	1.07698	0.39408	0.87430	1.60508	0.98169	1.12975	0.72466	0.50766	0.44879
13 KALI	0.25568	0.58806	0.92448	0.49407	0.51473	1.23974	0.50181	2.16829	0.70975
14 KARH	0.29054	0.57704	1.02974	0.34171	1.22933	1.38499	0.35897	1.13037	0.70631
15 LICL	0.43650	0.53109	1.20337	0.50383	0.81282	0.70599	0.52602	1.94743	0.92196
16 NAAZ	0.94384	1.15463	0.59269	0.88754	0.62885	1.09580	0.46958	2.05941	1.18047
17 NAD0	0.26758	0.73421	1.84593	1.71247	0.51902	0.69286	0.54476	0.54540	0.43689
18 NADI	0.67034	0.59274	1.03245	1.02226	1.37000	2.13629	0.90520	1.93440	0.91509
19 NAPE	0.92402	0.81652	0.93401	0.44359	0.53639	2.03998	0.42725	1.09229	0.72302
20 PHEN	0.30952	0.45336	0.79531	0.39136	0.60829	0.62646	0.51302	1.23307	1.13664
21 SECH	1.12153	0.42600	0.78458	0.39690	0.79155	0.77416	0.74709	1.57471	0.86137
22 SORB	0.50965	0.78434	0.84969	0.34661	0.45076	0.67602	0.36488	1.44186	0.88946
23 THAC	0.70247	1.78687	0.97448	0.30965	0.73322	0.91689	0.56819	2.07201	0.91275

GROUP = K570		K601	K602	K630	K604	K630	K700	ALL GPS.
VARIABLE								
2 ACBU	0.49935	0.46785	0.35688	0.65141	0.38363	1.10415	0.37974	0.76599
3 BENZ	0.61405	0.37529	0.35021	0.26162	0.35973	0.38554	0.41637	0.76451
4 CACH	0.43329	1.89791	0.54058	0.48358	1.11171	0.40289	1.13207	0.96896
5 CHIN	0.59884	0.71614	0.53384	0.43924	0.35920	0.34091	0.62004	1.00260
6 CHLT	1.59220	0.85940	0.98692	1.17476	1.26689	1.11778	1.25475	1.53003
7 CHAC	0.42783	0.43364	0.38335	0.40282	0.37063	0.42655	1.48528	1.15621
9 FLOX	0.33532	0.56254	0.37990	0.50172	0.43968	0.31665	0.43146	0.59035
10 HYSU	0.53339	1.22734	0.72447	0.83873	0.33979	1.07331	0.76600	0.99488
11 HYCH	1.20536	1.69880	2.15285	1.31264	1.08496	1.01619	1.51385	1.44929
12 KAJ0	0.55485	0.86609	0.83874	0.82350	0.68691	1.11065	1.46204	0.93917
13 KALI	0.69364	0.91980	0.43604	0.63524	0.31345	0.44104	0.42457	0.83998
14 KARH	0.31270	0.58855	0.87533	2.20197	0.38332	0.33680	0.41106	0.92023
15 LICL	0.44084	0.49711	0.72442	0.75114	0.48269	0.46343	0.66044	0.81965
16 NAAZ	0.45845	0.67701	0.82249	0.84580	0.84794	0.68413	0.95212	0.81965
17 NAD0	4.73566	0.86002	0.52742	0.62880	0.26241	0.55486	0.34409	1.44165
18 NADI	0.50791	0.43206	0.75112	0.74598	0.77664	0.55950	0.58037	1.03391
19 NAPE	0.45034	1.65123	1.75594	0.61055	0.51193	0.30860	0.54149	1.00334
20 PHEN	0.42214	0.33433	0.30760	0.34800	0.26364	0.30851	0.36974	0.60067
21 SECH	0.34785	0.36206	0.35590	0.39219	0.42558	0.39973	0.26547	0.71405
22 SORB	0.56680	0.42373	0.34621	0.59785	0.46659	0.38966	0.47311	0.66193
23 THAC	0.44567	0.70372	0.56352	0.48579	0.36678	0.41215	0.80039	0.92928

Tab. 5.2. Standardabweichungen der LSI-Werte

VARIABLE	GROUP = K321	K340	K343	K350	K400	K405	K475	K520	K523
2 ACBU	0.12363	0.08695	0.47608	0.16148	0.20231	0.18429	0.14585	0.55901	0.54499
3 BENZ	0.07396	0.13575	0.17358	0.04303	0.05990	0.27442	0.16642	0.48509	0.40331
4 CACH	0.19780	0.28034	0.51502	0.39163	0.15375	0.17463	0.05374	0.04130	0.04180
5 CHIN	0.23882	0.19084	0.11225	0.30221	0.71871	0.11401	0.07911	0.42813	1.06500
6 CHLT	0.42092	0.22605	0.39842	0.78535	0.22284	1.00039	0.54762	0.51526	0.87627
7 CHAC	0.59879	0.51801	0.11293	0.78734	0.76895	0.23685	0.06788	0.05761	0.04326
9 FLOX	0.04606	0.07722	0.23064	0.05245	-1.77889	-1.85838	0.10272	0.19014	0.13375
10 HYSU	0.15810	-1.69942	0.72007	0.41967	0.25706	1.70253	0.32545	0.70734	1.03519
11 HYCH	0.30582	0.67984	0.74153	0.29948	0.26418	0.40213	0.17441	0.32728	0.32728
12 KAJ0	0.19942	0.04578	0.11403	0.23985	0.29306	0.13903	0.08066	0.05352	0.04889
13 KALI	0.16243	0.11904	0.20604	0.22468	0.10507	0.28557	0.21785	0.56711	0.30256
14 KARH	0.09417	0.09190	0.50983	0.13423	0.22660	0.30027	0.10049	0.26704	0.23739
15 LICL	0.35659	0.19540	0.37401	0.56075	0.19103	0.17913	0.05923	0.54628	0.52559
16 NAAZ	0.60275	0.71974	0.42320	0.90450	0.43079	1.05070	-2.78377	0.57904	0.57701
17 NAD0	-6.10264	0.06860	0.17529	0.60855	0.14466	0.05605	0.06086	0.06088	0.04935
18 NADI	0.22148	0.11295	0.17671	0.12940	0.21887	0.15948	0.19652	0.33556	0.22597
19 NAPE	0.45877	0.21105	1.02357	0.15747	0.21533	0.68810	0.20709	0.39590	0.38005
20 PHEN	0.04663	0.06592	0.10711	0.06778	0.20144	0.10853	0.16327	0.15960	0.18194
21 SECH	0.21442	0.23304	1.20150	0.06077	0.13071	4.13289	0.25332	0.67190	0.46733
22 SORB	0.07512	0.12307	0.23920	0.05726	0.09741	0.10264	0.14909	0.36274	0.33289
23 THAC	0.13135	0.69902	0.63371	0.71844	0.21171	0.20005	0.84045	0.33534	0.35994

VARIABLE	GROUP = K570	K601	K602	K603	K604	K630	K700	ALL GPS -
2 ACBU	0.11357	0.20271	0.15583	0.19553	0.20488	0.27014	0.15944	0.26426
3 BENZ	0.13214	0.08335	0.08031	0.04795	0.08714	0.05608	0.08171	0.16002
4 CACH	0.04699	0.29419	0.06376	0.05394	0.18451	0.13204	0.15831	0.15132
5 CHIN	0.06666	0.35369	0.38305	0.16923	0.18772	0.17237	0.20094	0.24568
6 CHLT	0.35596	0.23854	0.33080	0.29631	0.80819	0.40291	0.63782	0.47808
7 CHAC	0.04086	0.04114	0.04015	0.04384	0.03899	0.59866	0.18982	0.16139
9 FLOX	0.04438	0.08201	0.05210	0.07649	0.03781	0.04266	0.05959	0.10330
10 HYSU	0.54892	0.29859	0.10233	0.19834	0.04336	0.45922	0.13922	0.31118
11 HYCH	0.26511	0.36057	0.42316	0.38638	0.14620	0.26021	0.42698	0.34388
12 KAJ0	0.05604	0.09099	0.09105	0.09172	0.13391	0.19688	0.20215	0.12181
13 KALI	0.19367	0.49398	0.19338	0.21158	0.15716	0.15983	0.16300	0.27428
14 KARH	0.09836	0.05190	0.08553	0.51273	0.11373	0.07231	0.12514	0.19595
15 LICL	0.16691	0.15353	0.36133	0.35427	0.19892	0.21327	0.25999	0.27751
16 NAAZ	0.41049	0.47551	0.69602	0.56840	0.80644	0.32508	0.47264	0.65754
17 NAD0	0.43835	2.69177	22.29288	2.07575	0.80349	0.98597	0.42626	0.29033
18 NADI	0.04501	0.09290	0.19787	0.19322	0.21321	0.11873	1.31331	0.29033
19 NAPE	0.19165	0.18234	0.37565	0.24203	0.29810	0.10838	0.16956	0.18543
20 PHEN	0.08776	0.06364	0.04235	0.05517	0.04176	0.04025	0.19401	0.33596
21 SECH	0.46592	0.05121	0.04378	0.05149	0.04378	0.09558	0.05827	0.09952
22 SORB	0.13508	0.06772	0.05747	0.05125	0.07030	0.09558	0.03902	0.16403
23 THAC	0.20505	0.13041	0.07852	0.07320	0.05179	0.05602	0.06805	0.12503

Tab. 5.3. Variationskoeffizienten

CLASSIFICATION FUNCTIONS

	GROUP = K321	K340	K343	K350	K400	K405	K475	K520	K523
VARIABLE									
7 CHAC	0.04766	2.55206	7.90580	1.95365	2.40432	11.96684	8.39791	8.12222	7.96205
9 FLOX	14.12706	13.17492	0.39541	19.29243	-11.46172	-12.25712	19.99716	13.98738	14.25926
14 KARH	-0.03266	4.66342	-2.60000	0.13766	4.21216	1.45840	-0.98345	-0.59288	-0.50276
15 LICL	-12.69569	-7.88083	-4.88655	-9.20906	0.08024	-8.54678	18.73238	-10.00395	-8.86671
18 NADI	1.92124	4.69221	7.11552	4.25057	5.41374	18.08817	4.25842	7.98547	6.42306
20 PHEN	17.01909	19.80293	27.97501	14.94195	2.99864	15.84415	-9.57153	18.25056	17.11575
21 SECH	4.21366	-4.41681	-5.90454	9.35733	11.39445	-7.74433	-0.21820	-6.06757	-4.02881
23 THAC	0.91045	-5.39009	-5.28165	-9.86690	-0.10256	5.64719	-13.51540	1.48159	-3.52546
CONSTANT	-113.41681	-119.93878	-146.80307	-153.76123	-74.73798	-226.75821	-172.55449	-160.67726	-131.08762
	GROUP = K570	K601	K602	K603	K604	K630	K700		
VARIABLE									
7 CHAC	12.98678	8.33955	6.52387	7.24111	7.59832	-0.70817	5.89906		
9 FLOX	25.37544	15.27154	12.35314	11.50784	16.00177	17.40562	15.42762		
14 KARH	-0.04398	11.29423	8.97208	0.24149	-1.49290	2.23300	-1.18344		
15 LICL	-7.62754	-10.39089	-17.66806	-13.14117	-12.16732	-9.08966	-10.03221		
18 NADI	16.62051	7.25362	5.71165	5.89274	5.78170	2.08533	4.44473		
20 PHEN	1.83886	-0.13184	12.16336	10.52194	8.63710	24.21387	11.21364		
21 SECH	-8.85056	7.50486	9.04200	9.11397	8.09480	1.49720	7.14980		
23 THAC	-2.99360	-1.84814	1.40817	2.36498	2.63334	-8.38256	-0.23060		
CONSTANT	-248.14392	-184.39503	-203.97551	-147.48813	-160.03641	-154.70230	-133.86284		

Tab. 5.4. Klassifikationsfunktionen des achten Schrittes

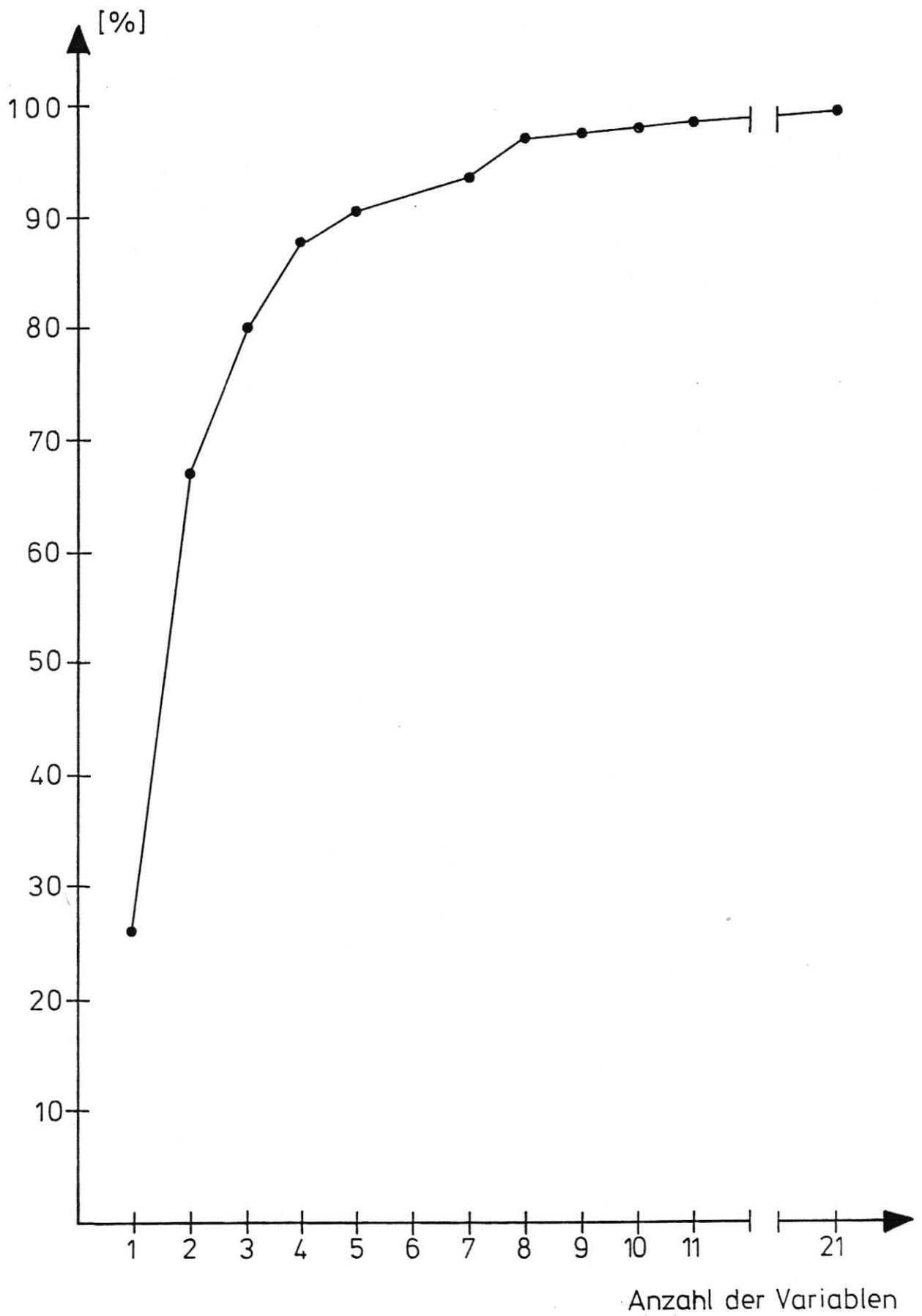


Abb. 5.1. Trefferraten der Reklassifizierung

Anzahl der Variablen	Trefferraten der Reklassifizierung [%]	Trefferraten der Kreuzvalidisierung [%]
1	26.4	24.6
2	67.2	66.1
3	80.1	79.8
4	87.7	87.2
5	90.5	89.9
6	91.4	90.7
7	93.3	92.4
8	97.2	96.7
9	97.4	97.2
10	98.1	97.5
11	98.3	98.0
12	98.4	98.1
13	98.4	98.1
14	98.4	98.1
15	99.4	98.9
16	99.4	98.8
17	99.4	98.9
18	99.4	98.8
19	99.2	98.9
20	99.2	98.9
21	99.4	98.9

Tab. 5.5. Trefferraten der Reklassifizierung und der Kreuzvalidisierung

STEP NUMBER	VARIABLE		F VALUE TO ENTER OR REMOVE	NUMBER OF VARIABLES INCLUDED	U-STATISTIC	APPROXIMATE		DEGREES OF FREEDOM
	ENTERED	REMOVED				F-STATISTIC		
1	9	FLOX	787.8794	1	0.0504	787.879	15.00	627.00
2	21	SECH	644.9783	2	0.0031	712.483	30.00	1252.00
3	7	CHAC	373.5488	3	0.0003	586.900	45.00	1857.50
4	20	PHEN	294.9675	4	0.0000	510.590	60.00	2438.01
5	14	KARH	315.4338	5	0.0000	462.901	75.00	2988.30
6	15	LICL	254.3877	6	0.0000	455.734	90.00	3504.50
7	18	NADI	221.1608	7	0.0000	434.530	105.00	3984.21
8	23	THAC	195.3277	8	0.0000	418.047	120.00	4426.41
9	22	SORB	125.9212	9	0.0000	391.033	135.00	4831.27
10	3	BENZ	122.4655	10	0.0000	373.000	150.00	5199.86
11	5	CHIN	102.0652	11	0.0000	356.119	165.00	5533.89
12	13	KALI	88.4831	12	0.0000	341.218	180.00	5835.54
13	4	CACH	71.0249	13	0.0000	325.973	195.00	6107.20
14	10	HYSU	42.8005	14	0.0000	305.515	210.00	6351.36
15	11	HYCH	58.1252	15	0.0000	294.809	225.00	6570.50
16	6	CHLT	34.1023	16	0.0000	279.089	240.00	6767.00
17	2	ACBU	30.6096	17	0.0000	265.293	255.00	6943.11
18	17	NADO	25.1649	18	0.0000	252.185	270.00	7100.89
19	12	KAJO	25.0756	19	0.0000	241.324	285.00	7242.27
20	19	NAPE	21.9680	20	0.0000	231.248	300.00	7368.96
21	16	NAAZ	9.2703	21	0.0000	218.212	315.00	7482.52

Tab. 5.6. Zusammenfassung der schrittweisen Diskriminanzanalyse

GROUP	PERCENT CORRECT	NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP -											
		K321	K340	K343	K350	K400	K405	K475	K520	K523	K570	K601	K602
K321	97.4	38	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K340	97.5	0	39	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
K343	100.0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K350	100.0	0	0	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0
K400	100.0	0	0	0	0	39	0	0	0	0	0	0	0
K405	100.0	0	0	0	0	0	41	0	0	0	0	0	0
K475	100.0	0	0	0	0	0	0	38	0	0	0	0	0
K520	85.4	0	0	0	0	0	0	0	35	6	0	0	0
K523	97.6	0	0	0	0	0	0	0	1	40	0	0	0
K570	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	41	0	0
K601	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	0
K602	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	41
K603	87.8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
K604	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K630	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K700	90.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	97.2	38	40	40	40	39	41	38	37	46	41	41	41

GROUP	PERCENT CORRECT	NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP -			
		K603	K604	K630	K700
K321	97.4	0	0	0	0
K340	97.5	0	0	0	0
K343	100.0	0	0	0	0
K350	100.0	0	0	0	0
K400	100.0	0	0	0	0
K405	100.0	0	0	0	0
K475	100.0	0	0	0	0
K520	85.4	0	0	0	0
K523	97.6	0	0	0	0
K570	100.0	0	0	0	0
K601	100.0	0	0	0	0
K602	100.0	0	0	0	0
K603	87.8	36	3	0	1
K604	100.0	0	41	0	0
K630	100.0	0	0	40	0
K700	90.0	0	4	0	36
TOTAL	97.2	36	48	40	37

Abb. 5.2. Klassifikationsmatrix des achten Schrittes

Einen Überblick, wie gut sich die einzelnen Gruppen trennen lassen, bietet die Darstellung der 1. und 2. kanonischen Variablen.

Die Klassifikationsvektoren sind Richtungsvektoren, ihre Länge ist also für die Trennwirkung ohne Bedeutung. Durch Normieren der Klassifikationsfunktionen auf die Varianz 1 erhält man die kanonischen Variablen. Aus der 1. Klassifikationsfunktion, erstellt mit Hilfe der Variablen mit der besten Trennwirkung, wird dann die erste kanonische Variable, usw.

In vielen Fällen umfasst bereits eine Darstellung der Objekte in der Ebene der ersten beiden kanonischen Koordinaten den grössten Teil der in den Daten enthaltenen Information. Die Beziehung zwischen den Gruppen kann so übersichtlich in zwei, statt in n-Dimensionen dargestellt werden.

In Abb. 5.3. werden nur die Gruppenmittelwerte dargestellt, in Abb. 5.4. die Gruppenmittelwerte und die verschiedenen Fälle. Ausreisser, die die Diskriminanzanalyse negativ beeinflussen könnten, können hier sehr gut erkannt werden. Die Bedeutung der verschiedenen Symbole können aus Tab. 5.7. abgelesen werden.

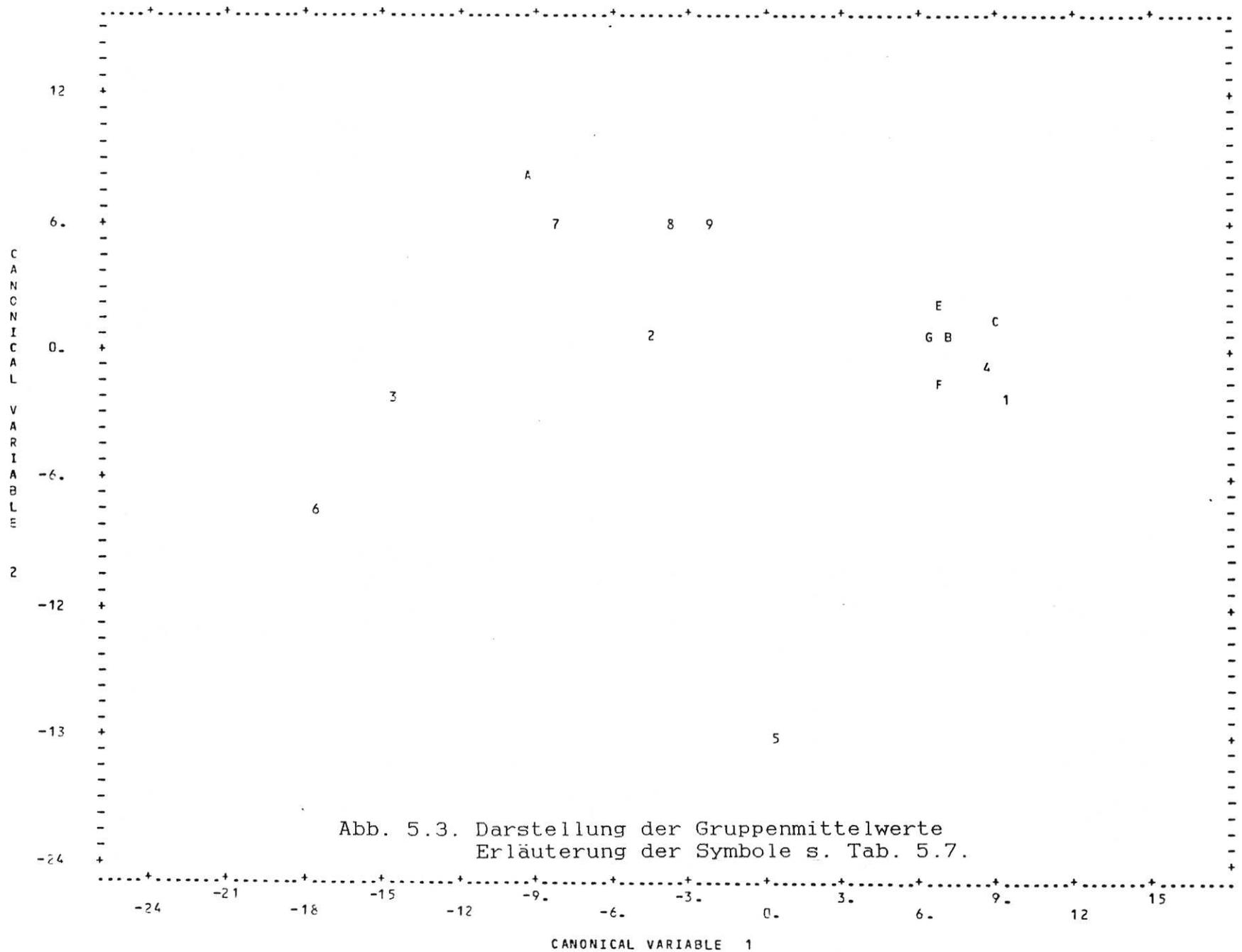
Man kann erkennen, dass *P. vulgaris*, *P. mirabilis*, *Ps. aeruginosa* und *Ps. diminuta* sehr gut getrennt werden können. Überlappungen zeigen sich einerseits zwischen *B. cereus* und *B. pasteurii*, andererseits zwischen *Str. lactis* und *Staph. aureus*. Mit Hilfe der ersten beiden kanonischen Variablen schlecht zu trennen sind ausserdem *C. diversus*, *Enterobacter aerogenes*, sämtliche *E. coli*-Stämme, *S. marcescens* und *S. typhimurium*.

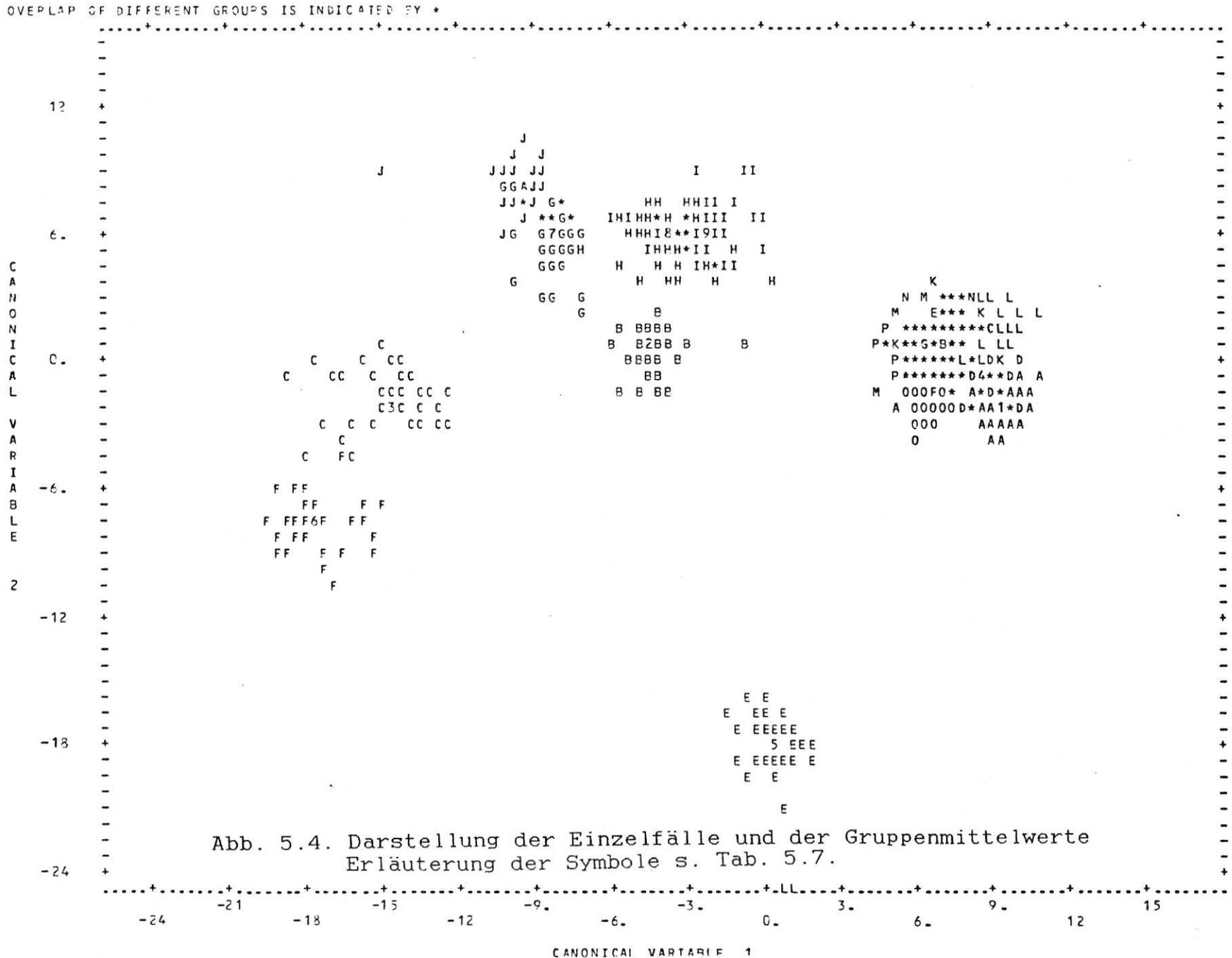
Hier wird die eingeschränkte Tauglichkeit der zweidimensionalen Darstellung deutlich. Mit Hilfe der Klassifikationsfunktionen liessen sich die Keime ja nach Einbeziehen von acht Variablen eindeutig voneinander trennen.

Interessant wird die Betrachtung der graphischen Darstellung allerdings, wenn die Verwandtschaft der Bakterienstämme mit berücksichtigt wird. Mit *Staph. aureus* und *Str. lactis* liegen zwei grampositive Stämme dicht beieinander, bei *B. pasteurii* und *B. cereus* kann man aufgrund der gleichen Artzugehörigkeit ähnliches Verhalten erwarten. Diese beiden Stämme lassen sich ja auch nach Einbeziehen mehrerer Variablen in die Klassifikationsfunktion am schlechtesten voneinander trennen. In dem grossen Cluster liegen immerhin die meisten der *Enterobacteriaceae* zusammen. Obwohl sie den *Enterobacteriaceae* zugerechnet werden, lassen sich die beiden *Proteus*-Stämme allerdings sehr gut davon trennen.

Stamm	Symbol für Mittelwerte	Symbol für Einzelfälle
Citrobacter diversus	1	A
Proteus vulgaris	2	B
Proteus mirabilis	3	C
Enterobacter aerogenes	4	D
Pseudomonas aeruginosa	5	E
Pseudomonas diminuta	6	F
Streptococcus lactis	7	G
Bacillus cereus	8	H
Bacillus pasteurii	9	I
Staphylococcus aureus	A	J
E. coli K12	B	K
E. coli C600	C	L
E. coli PBR 322	D	M
E. coli B	E	N
Serratia marcescens	F	O
Salmonella typhimurium	G	P
* = Überlappung der Gruppen		

Tab. 5.7. Erläuterung der Symbole in Abb. 5.3. und 5.4.





5.3.3. Randomisieren der Gruppen

Dieses Verfahren stellt eine weitere Möglichkeit dar, die Klassifikationsfunktionen zu überprüfen. Dabei werden alle Fälle in zwei Gruppen unterteilt; eine Gruppe wird benutzt, um die Klassifikationsfunktionen zu berechnen, die Werte der anderen werden entsprechend der Funktionen zugeordnet.

Im BMDP P7M-Programm werden 20% der Fälle neuen Gruppen zugeordnet. Für jeden Fall wird eine Zufallszahl zwischen 0 und 1 erzeugt und wenn diese kleiner als 0.2 ist, wird zu dem Code des Bakterienstamms 100 addiert und die Werte in die neue Gruppe eingeordnet (z.B. für *Citrobacter diversus*: aus K321 wird K421).

Hier bestätigen sich die Ergebnisse des vorangegangenen Kapitels: nach Einbeziehen von acht Variablen zur Berechnung der Klassifikationsfunktion werden die meisten Fälle der nicht zur Berechnung herangezogenen Gruppe wieder richtig klassifiziert.

Ein *E. coli* C 600 wurde *E. coli* PBR 322, ein *E. coli* PBR 322 *S. typhimurium* zugeordnet. Am schlechtesten ist wieder die Zuordnung von *B. cereus*.

Aus Abb. 5.5. und 5.6. wird deutlich, wie gut die beiden Gruppen jeweils zusammenliegen.

GROUP	MEAN COORDINATES		SYMBOL FOR CASES	SYMBOL FOR MEAN
K321	9.05	2.80	A	1
K340	-3.90	0.74	B	2
K343	-14.17	3.04	C	3
K350	8.25	1.60	D	4
K400	-0.14	15.35	E	5
K405	-16.85	9.19	F	6
K475	-8.64	-9.81	G	7
K520	-4.19	-4.65	H	8
K523	-2.58	-5.42	I	9
K570	-9.81	-7.76	J	A
K601	6.12	-1.83	K	B
K602	8.23	-1.68	L	C
K603	5.72	-0.85	M	D
K604	6.74	-1.90	N	E
K630	6.84	2.96	O	F
K700	6.06	-0.94	P	G
K421	9.00	2.97	Q	H
K440	-3.95	0.76	R	I
K443	-14.00	2.66	S	J
K450	8.50	1.73	T	K
K500	0.40	14.85	U	L
K505	-16.81	9.67	V	M
K575	-8.43	-9.38	W	N
K620	-3.33	-4.76	X	O
K623	-2.46	-5.54	Y	P
K670	-9.51	-8.05	Z	Q
K701	6.28	-2.12	1	R
K702	7.94	-1.91	2	S
K703	5.41	-0.99	3	T
K704	6.67	-1.87	4	U
K730	6.80	3.24	5	V
K800	4.84	-1.29	6	W

Tab. 5.8. Erläuterung der Symbole in Abb. 5.5. und 5.6.

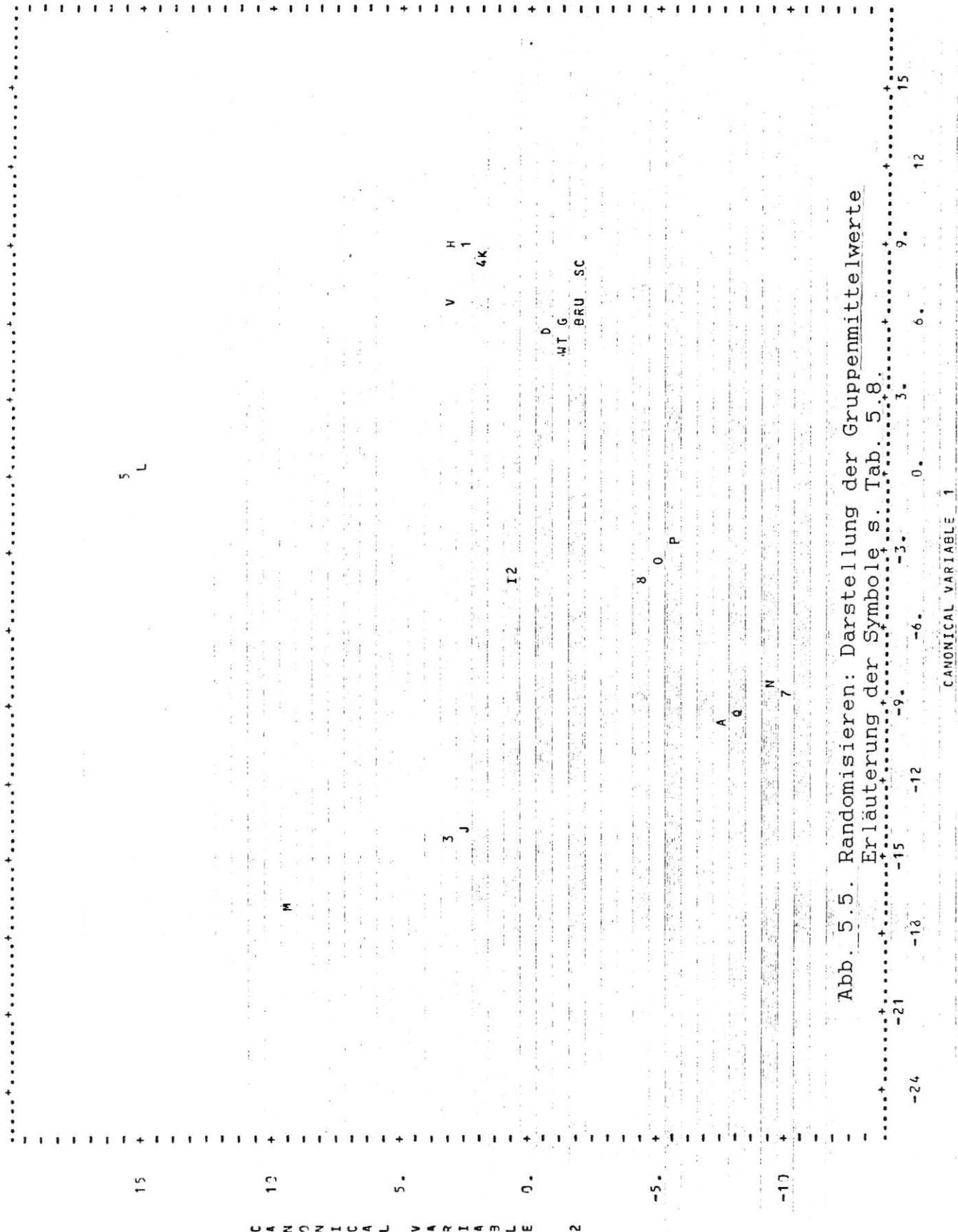


Abb. 5.5. Randomisieren: Darstellung der Gruppenmittelwerte
 Erläuterung der Symbole s. Tab. 5.8.

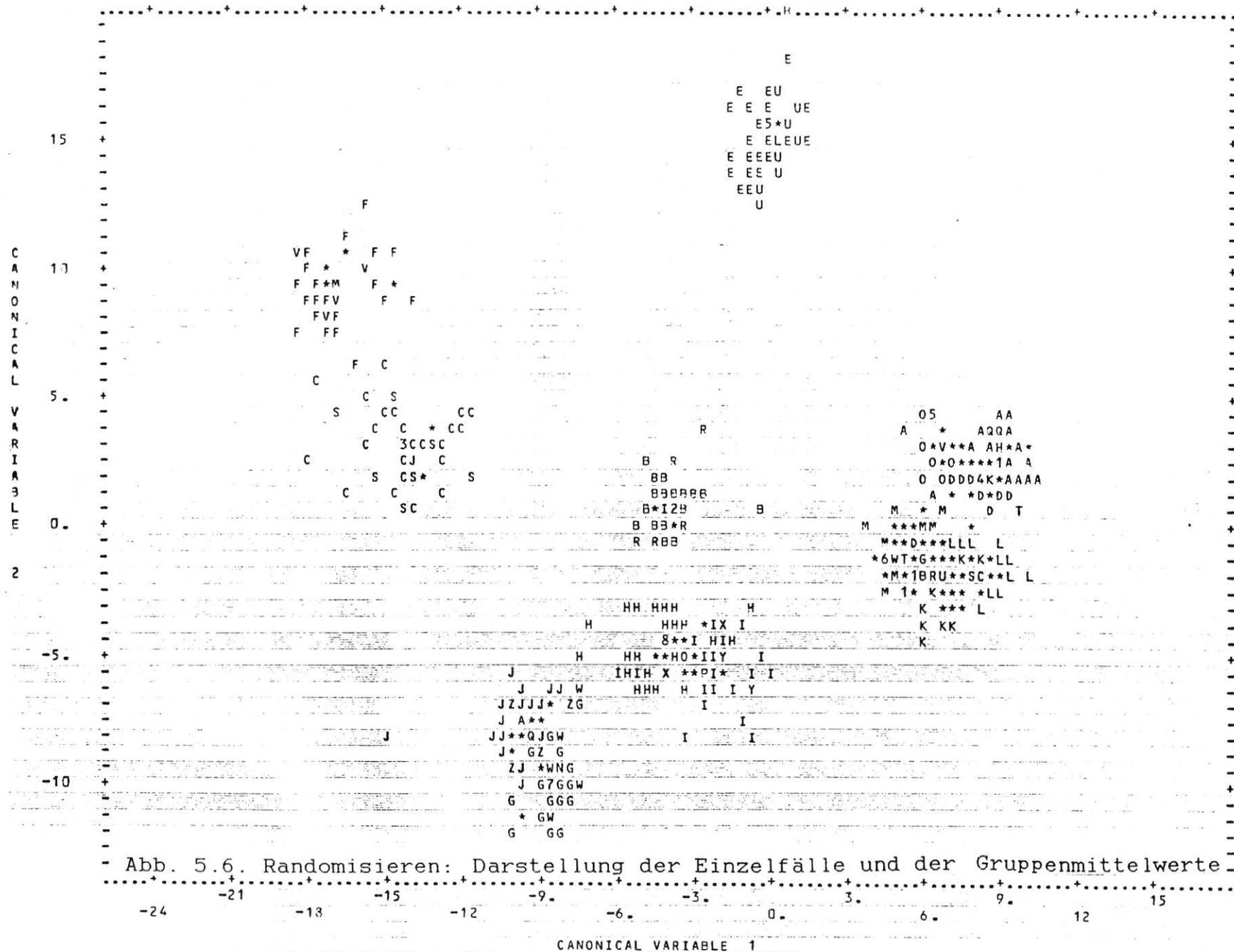


Abb. 5.6. Randomisieren: Darstellung der Einzelfälle und der Gruppenmittelwerte

5.3.4. Einordnung neuer Fälle

Von allen Keimen wurden bei 4 Messreihen die LSI-Werte nach 4h ermittelt. Mit Hilfe der aus den 5h-Werten berechneten Klassifikationsfunktionen sollten diese Fälle den richtigen Gruppen zugeordnet werden.

Die Bezeichnung der neuen Gruppen erfolgte nach dem gleichen Prinzip wie beim Randomisieren: der ursprüngliche Code für die Bakterien +100 ergibt den Code für die neu einzuordnenden Fälle.

Die meisten der Fälle wurden nach der achten Stufe der Diskriminanzanalyse wieder richtig klassifiziert. (s. Abb. 5.7.(1) und (2).)

Ein *Ps. diminuta* wurde als *P. mirabilis* und ein *E. coli* PBR 322 als *S. typhimurium* identifiziert. *E. coli* B wurde nur in einem Fall richtig klassifiziert, zwei Fälle wurden *E. coli* PBR 322 zugewiesen, der 4. Fall *S. typhimurium*.

Der Versuch zeigt nicht nur, dass unbekannte Stämme zum grössten Teil richtig identifiziert werden können, sondern bestätigt auch die in Kapitel 4.3.2. gewonnenen Ergebnisse: da die meisten LSI-Werte über einen Zeitraum von 4-6h relativ konstant bleiben, müssen die Extinktionen nicht unbedingt nach genau 5h abgelesen werden. Die Inkubationsdauer kann in den angegebenen Zeiträumen variieren.

GROUP	PERCENT CORRECT	NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP -								
		K321	K340	K343	K350	K400	K405	K475	K520	K523
K321	97.4	38	1	0	0	0	0	0	0	0
K340	97.5	0	39	0	0	0	0	0	1	0
K343	100.0	0	0	40	0	0	0	0	0	0
K350	100.0	0	0	0	40	0	0	0	0	0
K400	100.0	0	0	0	0	39	0	0	0	0
K405	100.0	0	0	0	0	0	41	0	0	0
K475	100.0	0	0	0	0	0	0	38	0	0
K520	85.4	0	0	0	0	0	0	0	35	6
K523	97.6	0	0	0	0	0	0	0	1	40
K570	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K601	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K602	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K603	37.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K604	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K630	100.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
K700	90.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A421	0.0	4	0	0	0	0	0	0	0	0
A440	0.0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
A443	0.0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
A450	0.0	0	0	0	4	0	0	0	0	0
A500	0.0	0	0	0	0	4	0	0	0	0
A505	0.0	0	0	1	0	0	3	0	0	0
A575	0.0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
A620	0.0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
A623	0.0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
A670	0.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A701	0.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A702	0.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A703	0.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A704	0.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A730	0.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A800	0.0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	97.2	42	44	45	44	43	44	42	40	50

Abb. 5.7. Einordnung neuer Fälle: Klassifikationsmatrix des achten Schrittes (1)

GROUP	PERCENT CORRECT	NUMBER OF CASES CLASSIFIED INTO GROUP -						
		K603	K604	K630	K700	K570	K601	K602
K321	97.4	0	0	0	0	0	0	0
K340	97.5	0	0	0	0	0	0	0
K343	100.0	0	0	0	0	0	0	0
K350	100.0	0	0	0	0	0	0	0
K400	100.0	0	0	0	0	0	0	0
K405	100.0	0	0	0	0	0	0	0
K475	100.0	0	0	0	0	0	0	0
K520	85.4	0	0	0	0	0	0	0
K523	97.6	0	0	0	0	0	0	0
K570	100.0	0	0	0	0	41	0	0
K601	100.0	0	0	0	0	0	40	0
K602	100.0	0	0	0	0	0	0	41
K603	87.8	36	3	0	1	0	1	0
K604	100.0	0	41	0	0	0	0	0
K630	100.0	0	0	40	0	0	0	0
K700	90.0	0	4	0	36	0	0	0
A421	0.0	0	0	0	0	0	0	0
A440	0.0	0	0	0	0	0	0	0
A443	0.0	0	0	0	0	0	0	0
A450	0.0	0	0	0	0	0	0	0
A500	0.0	0	0	0	0	0	0	0
A505	0.0	0	0	0	0	0	0	0
A575	0.0	0	0	0	0	0	0	0
A620	0.0	0	0	0	0	0	0	0
A623	0.0	0	0	0	0	0	0	0
A670	0.0	0	0	0	0	4	0	0
A701	0.0	0	0	0	0	0	4	0
A702	0.0	0	0	0	0	0	0	4
A703	0.0	3	0	0	1	0	0	0
A704	0.0	2	1	0	1	0	0	0
A730	0.0	0	0	4	0	0	0	0
A800	0.0	0	0	0	4	0	0	0
TOTAL	97.2	41	49	44	43	45	45	45

Abb. 5.7. Einordnung neuer Fälle: Klassifikationsmatrix des achten Schrittes (2)

GROUP	MEAN		SYMBOL FOR CASES	SYMBOL FOR MEAN
	COORDINATES			
K321	9.21	-2.18	A	1
K340	-4.36	0.42	B	2
K343	-14.81	-1.90	C	3
K350	8.68	-1.10	D	4
K400	0.30	-18.13	E	5
K405	-17.63	-7.73	F	6
K475	-8.21	5.68	G	7
K520	-3.74	5.73	H	8
K523	-2.25	6.27	I	9
K570	-9.41	8.39	J	A
K601	6.95	1.03	K	B
K602	8.96	1.45	L	C
K603	6.44	0.44	M	D
K604	6.91	1.90	N	E
K630	6.75	-1.79	O	F
K700	6.29	0.89	P	G
A421	8.58	-2.51	Q	H
A440	-4.85	-0.49	R	I
A443	-15.65	-3.00	S	J
A450	8.09	-1.09	T	K
A500	-0.04	-17.72	U	L
A505	-16.86	-6.30	V	M
A575	-8.14	4.11	W	N
A620	-4.98	4.41	X	O
A623	-3.40	4.61	Y	P
A670	-10.00	7.87	Z	Q
A701	7.85	0.91	1	R
A702	7.64	-0.38	2	S
A703	4.69	-0.53	3	T
A704	6.54	0.87	4	U
A730	6.80	-2.32	5	V
A800	4.76	0.83	6	W

Tab. 5.9. Erläuterung der Symbole in Abb. 5.8. und 5.9.

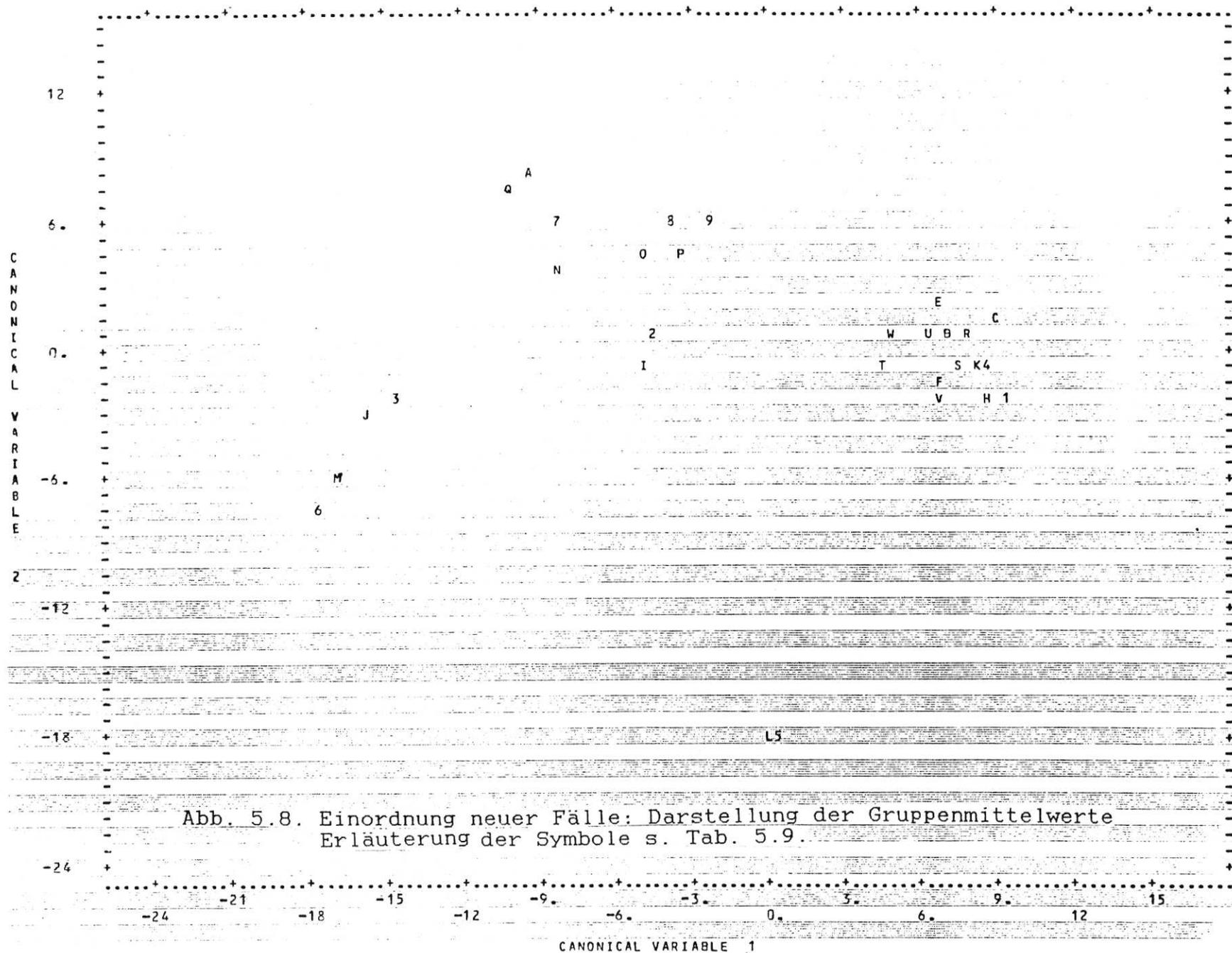
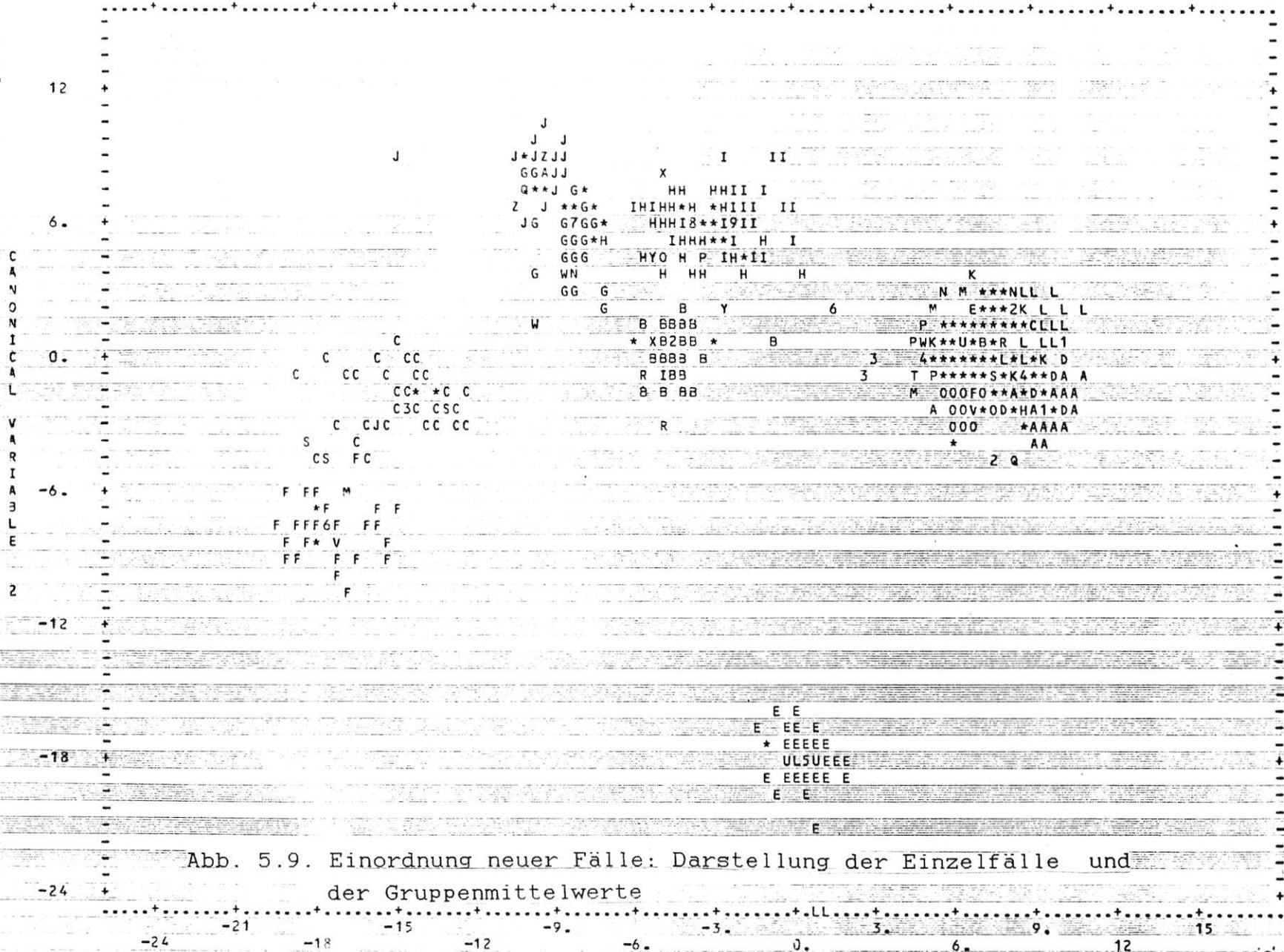


Abb. 5.8. Einordnung neuer Fälle: Darstellung der Gruppenmittelwerte
Erläuterung der Symbole s. Tab. 5.9.

OVERLAP OF DIFFERENT GROUPS IS INDICATED BY *



64

Abb. 5.9. Einordnung neuer Fälle: Darstellung der Einzelfälle und der Gruppenmittelwerte

5.3.5. Diskussion

Eine Diskriminanzanalyse kann dann als erfolgreich angesehen werden, wenn in den Klassifikationsmatrizes nur wenig Fälle einer falschen Gruppe zugeordnet werden. Wird ein grosser Teil der Fälle richtig klassifiziert, ist bewiesen, dass Gruppenunterschiede bestehen, die hier für eine Identifizierung genutzt werden können.

Bei den 16 untersuchten Stämmen konnten solche Gruppenunterschiede im Verhalten gegenüber antimikrobiell wirksamen Substanzen eindeutig festgestellt werden.

Der Einsatz acht verschiedener Substanzen reichte dabei schon aus, um zu einer vernünftigen Reklassifizierung zu führen.

Für eine bessere Trennung der beiden Bacillus-Arten wäre es allerdings notwendig, eine weitere Substanz zu finden, die spezifisch zwischen diesen beiden Gruppen trennen kann.

Eine endgültige Aussage, wie gut sich die entwickelte Methode zur Identifizierung eignet, kann allerdings noch nicht gemacht werden. Hierzu müssen erst voneinander unabhängige Gruppen, d.h. Stämme verschiedener Herkunft, untersucht werden. Dies war im zeitlichen Rahmen einer Diplomarbeit nicht möglich.

Bei voneinander unabhängigen Stämmen sind allerdings die Bedingungen, die für die Anwendung der linearen Diskriminanzanalyse gegeben sein müssen, schwerer zu erfüllen. Die verschiedenen LSI-Werte für jede taxonomische Gruppe sollten ja normalverteilt sein, eine Annahme, die sicherlich nicht ganz exakt ist. Für die Berechnung einer konsistenten Zuordnungsregel mit Hilfe der LDF von grösserer Bedeutung ist aber eine mögliche Varianzheterogenität bei unabhängigen Variablen. Hier müsste dann die quadratische Diskriminanzanalyse zur Auswertung herangezogen werden, bei der eine Varianzheterogenität nicht gegeben sein muss.

6. Ausblick

Sollte die Diskriminanzanalyse voneinander unabhängiger Fälle, zu Beginn auf einige wenige Bakterienarten beschränkt, zu ähnlich guten Ergebnissen führen wie die Prüfung der abhängigen Fälle, kann die Anzahl der im Test zu identifizierenden Bakterienarten durch Erheben weiterer Stichproben schrittweise vergrößert werden.

Es können später natürlich nur solche Bakterienarten identifiziert werden, die unter den im Testsystem gegebenen Bedingungen wachsen können. Das schliesst zum ersten sämtliche Anaerobier aus. Schwierigkeiten können z.B. auch dann auftreten, wenn das Wachstumsoptimum unter 30°C liegt, wie dies bei Yersinien der Fall ist.

Bis eine eindeutige Zuordnungsregel für jede Species erstellt worden ist, muss die Identifizierung der Bakterien aufgrund der üblichen biochemischen Methoden erfolgen.

Um dann mit Hilfe der Hemmstoffprofile zu einer möglichst genauen Identifizierung zu kommen, sollten folgende Aspekte berücksichtigt werden:

1. durch Vorsortierung der Bakterienarten in verschiedene Gruppen mit Hilfe einfach durchzuführender biochemischer Tests vor Ablauf der Diskriminanzanalyse kann die Anzahl falsch identifizierter Fälle sicherlich gesenkt werden. So kann z.B. eine Vorgruppierung in grampositive und gramnegative, oxidase-positive und oxidase-negative Fälle vorgenommen werden.

2. Für die Diskriminanzanalyse müssen a priori Wahrscheinlichkeiten für das Auftreten jedes Bakterienstammes gegeben sein. Diese wurden in der vorliegenden Arbeit als gleich angesehen. Sie können dann aber auch spezifisch für jedes Untersuchungsmaterial definiert werden, die Diskriminanzanalyse wird dadurch zu besseren Ergebnissen führen.

Ein Punkt, der bisher noch nicht angesprochen wurde, betrifft die Reduktion der Variablenzahl. Es ist sicherlich nicht notwendig, sämtliche hier vorgeschlagenen Substanzen zur Identifizierung einzusetzen. Eine Reduktion kann mit Hilfe der Faktorenanalyse vorgenommen werden. Korrelieren zwei oder mehrere Substanzen miteinander, reicht später der Einsatz einer dieser Stoffe aus. Ausserdem können natürlich immer wieder neue Stoffe geprüft werden, die dann bei besserer Eignung vorhandene Substanzen ersetzen können.

7. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden die Grundlagen für ein Testsystem geschaffen, das eine schnelle und einfache Bakterienidentifizierung mit Hilfe von Hemmstoffprofilen erlaubt.

Als Testorganismen dienten folgende Bakterienstämme: *Bacillus cereus*, *Bacillus pasteurii*, *Citrobacter diversus*, *E. coli* K 12, *E. coli* C 600, *E. coli* PBR 322, *E. coli* B, *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas diminuta*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus lactis*.

Die stammspezifischen Hemmeigenschaften bestimmter Stoffe wurden photometrisch erfasst. Als Reaktionsgefäße dienten dabei die Nöpfchen von Mikrotiterplatten. Die optische Dichte von Bakteriensuspensionen in solchen Mikrotiterplatten kann in speziell dafür entwickelten Photometern schnell und einfach bestimmt werden.

Es wurden über 100 chemische Substanzen auf ihre antimikrobielle Wirksamkeit überprüft. Sie mussten, um im Testsystem eingesetzt werden zu können, folgende Eigenschaften besitzen:

1. Wasserlöslichkeit
2. keine Eigenfärbung
3. Stabilität in wässriger Lösung bei -25°C über einen längeren Zeitraum
4. keine als Antibiotika bekannten Stoffe sollten eingesetzt werden.

Mit den für das Testsystem am geeignetsten ermittelten Stoffen, d.h. mit den Stoffen, die am besten zwischen den verwendeten Bakterienstämmen differenzieren konnten, wurde eine schrittweise Diskriminanzanalyse durchgeführt. Folgende 21 Stoffe wurden dabei eingesetzt: Acetyl-Butyrolacton, Benzimidazol, Cadmiumchlorid, Chininhydrochlorid, Chloramin T, Chlorhexidinacetat, Floxuridin, Hydraziniumsulfat, Hydroxylammoniumchlorid, Kaliumjodid, Kaliumperoxysulfat, Kaliumrhodanid, Lithiumchlorid, Natriumazid, Natriumdodecylsulfat, Natriumdithionit, Natriumperchlorat, 1,10 Phenanthrolin, Semicarbazidhydrochlorid, Sorbinsäure und Thalliumacetat.

Die Ergebnisse sprechen dafür, dass mit Hilfe dieses Testsystems eine Bakterienidentifizierung durch Bestimmung von Hemmstoffprofilen mit Hilfe von Titerplatten innerhalb von 5h möglich sein wird.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Ahrens, Heinz und Jürgen Läuter. 1974. Mehrdimensionale Varianzanalyse. Akademie-Verlag, Berlin.
- 2) Beyne, Ph. F. Piette, G. Simon, J. Fichet, and J.P. Leclercq. 1985. Mathematical approaches to bacterial identification. *Ann. Biol. Clin.* 43: 239-250.
- 3) Buck, G.E., B.H. Sielaff, R. Boshard, and J.M. Matsen. 1977. Automated rapid identification profiles obtained with Autobac 1. *J. Clin. Microbiol.* 6: 47-49.
- 4) Carret, G., J.P. Flandrois, A. Corman, and J.P. Gayral. 1984. Rapid ATB: a new automated system for the 4 hour antibiotic susceptibility testing of bacteria. Fourth international Symposium on rapid methods and automation in microbiology and immunology.
- 5) Darland, Gary. 1975. Discriminant analysis of antibiotic susceptibility as a means of bacterial identification. *J. Clin. Microbiol.* 2: 391-396.
- 6) Deichsel, Guntram und H.J. Trampisch. 1985. Clusteranalyse und Diskriminanzanalyse. Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart; New York.
- 7) Dipersio, J.R., S.M. Ficorilli, and F.J. Varga. 1984. Direct identification and susceptibility testing of gram-negative bacilli from BACTEC bottles by use of the MS-2 system with updated identification software. *J. Clin. Microbiol.* 20: 1202-1204.
- 8) Dixon, W.J. and M.B. Brown (Eds.). 1981. BMDP, Biomedical Computer Programs. University of California Press, Berkeley.
- 9) Dzink, J.L., C. Smith, and S. Socransky. 1984. Semi-automated technique for identification of subgingival isolates. *J. Clin. Microbiol.* 19: 599-605.
- 10) Feltham, R.K.A. and P.H.A. Sneath. 1982. Construction of matrices for computer-assisted identification of aerobic gram-positive cocci. *Journal of General Microbiology* 128: 713-720.

- 11) Feltham, R.K.A., J.A. Washington II, T.L. Gavan, and C. Thornsberry. 1984. A general purpose system for characterizing medically important bacteria to genus level. *App. Microbiol.* 57: 279-290.
- 12) Friedman, R. and J. MacLowry. 1973. Computer identification of bacteria on the basis of their antibiotic susceptibility patterns. *App. Microbiol.* 26: 314-317.
- 13) Gilardi, G.L. 1971. Antimicrobial susceptibility as a diagnostic aid in the identification of nonfermenting gram-negative bacteria. *App. Microbiology* 22: 821-823.
- 14) Habermehl, K.-O. (Ed.). 1985. Rapid methods and automation in microbiology and immunology. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- 15) Hale, C., D.N. Wright, J.E. McKie, H.D. Isenberg, R.D. Jenkins, and J.M. Matsen. 1981. Rapid screening for Bacteriuria by light scatter photometry (Autobac): a collaborative study. *J. Clin. Microbiol.* 13: 147-150.
- 16) Hecker, R. and H. Wegener. 1978. The valuation of classification rates in stepwise discriminant analysis. *Biom. J.* 20: 713-727.
- 17) Krambeck, H.-J. and J.N. Witzel. 1983. Classification of aquatic bacterial strains: an example of numerical taxonomy in limnology. *EDV in Medizin und Biologie* 14: 45-49.
- 18) Leclerc, H. (Ed.). 1983. Gram-negative bacteria of medical and public health importance: Taxonomy-Identification-Application. Colloque INSERM (Institut National de la Sante et de la Recherche Medicine), Vol. 114.
- 19) Lidner, A. und W. Berchthold. 1982. Statistische Methoden III. Multivariate Verfahren. Uni-Taschenbücher 1189.
- 20) MacDonald, J. 1978. Pattern recognition in microbiology. *Inter. Lab. March/April*: 78-87.

- 21) McKie, J.E., R.J. Borovoy, J.F. Dooley, G.R. Evanega, G. Mendoza, F. Meyer, M. Moody, D.E. Packer, J. Praglin, and H. Smith. 1974. Autobac 1 - a 3-hour automated antimicrobial susceptibility system: II. Microbiological studies. In C. Heden and T. Illeni (Eds.). Automation in microbiology and Immunology. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- 22) McKie, J.E., J. Seo, and J.N. Arvesen. 1980. Rapid determination of minimum inhibition concentrations of antimicrobial agents in regression analysis of light scattering data. Antimicrob. Agents Chemother. 17: 813-823.
- 23) Mounier, M. et al. 1983. four hour direct identification of Enterobacteriaceae in blood cultures. Eur. J. Clin. Microbiol. 6: 47-49.
- 24) Pratt, J.W., H. Raiffa, and R. Schlaifer. 1965. Introduction to statistical decision theory, p. 10.1-10.15. McGraw Hill, New York.
- 25) Praglin, J. A.C. Curtiss, D.K. Longhenry, and J.M. McKie. 1974. Autobac 1 - a 3 hour automated antimicrobial susceptibility system: I System description. In C. Heden and T. Illeni (Eds.). Automation in microbiology and immunology. John Wiles & Sons, Inc., New York.
- 26) Schoenknecht, F.D., J.A. Washington II, T.L. Gavan, and C. Thornsberry. 1980. Rapid determination of minimum inhibition concentrations of antimicrobial agents by the Autobac method: a collaborative study. Antimicrob. Agents Chemother. 17: 824-833.
- 27) Schulte, H. 1980. Vergleich von statistischen Klassifikationsverfahren als Hilfsmittel bei der Prognosestellung der Spätletalität nach Herzinfarkt. Dissertation der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster.
- 28) Sielaff, B.H., E.A. Johnson, and J.M. Matsen. 1976. Computer assisted bacterial identification utilizing antimicrobial susceptibility profiles generated by Autobac 1. J. Clin. Microbiol. 3: 105-109.
- 29) Sielaff, B.H., J.M. Matsen, and J.E. McKie. 1982. Novel approach to bacterial identification that uses the Autobac system. J. Clin. Microbiol. 15: 1103-1110.

- 30) Staneck, J.L., S.D. Allen, E.E. Harris, and R.C. Tilton. 1985. Automated reading of MIC microdilution trays containing fluorogenic enzym substrates with the Sensititre Autoreader. *J. Clin. Microbiol.* 22: 187-191.
- 31) Sutter, V.L. and S.M. Finegold. 1971. Antibiotic disc susceptibility tests for rapid presumptive identification of gram-negative anaerobic bacilli. *App. Microbiol.* 21: 13-20.
- 32) Sylvester, M.K. and J.A. Washington II. Evaluation of the Quantum II microbiology system for bacterial identification. *J. Clin. Microbiol.* 20: 1196-1197.
- 33) Thomas, D.S., P.A. Henschke, B. Garland, and O.G. Tucknott. 1985. A microprocessor controlled photometer for monitoring microbial growth in multiwelled plates. *App. Microbiology* 59: 337-346.
- 34) Willcox, W.R., S.P. Lapage, and B. Holmes. 1980. A review of numerical methods in bacterial identification. *Antonie van Leeuwenhoek* 46: 233-299.
- 35) Wold, S. 1976. Pattern recognition by means of disjoint principal component models. *Pattern Recognition* 8: 127-139)

A N H A N G

Kenndaten des Photometers

1.0 EINFUEHRUNG

Der SLT EASY READER ist ein Mikroprozessor gesteuerter Leser. Er dient zum Messen der Licht - Absorption (optische Dichte) von Proben in Mikrotiterplatten.

Da das Geraet 8 Kavitaeten gleichzeitig misst, ist es moeglich, mit diesem System, eine Probenplatte in weniger als 40 Sekunden (Doppelwellenlaengenmethode) oder in ca. 20 Sekunden (Einfachwellenlaengenmethode), zu messen.

1.1 SPEZIFIKATIONEN

Tabelle 1-1 zeigt die physikalischen Spezifikationen fuer das Geraet EAR 400 FW Easy Reader.

Tabelle 1-1 Spezifikationen

PARAMETER	CHARAKTERISTIK
ALLGEMEINES	
Messbereich :	0 - 2.500 Abs.
Anzeigebereich :	0 - 2.999 Abs.
Wellenlaengenbereich :	400 - 700 nm
Genauigkeit (492 nm, 1 Abs.):	+/- 2 %
Linearitaet :	+/- 1 %
Wiederholbarkeit :	+/- 0.5 %
Stabilitaet :	keine Drift nach 2 Minuten Aufwaermzeit

Wellenlaengenauswahl :

Schmalband - Interferenz
Filter.

6 Filter sind in einem
Filterrad eingebaut.
Die Filter koennen indi-
viduell oder in jeder
Kombination aufgerufen
werden.

Lichtquelle :

Halogenlampe 50 W

Anzeige :

16 stellige
alphanumerische
floureszenz Anzeige.

Tastatur :

19 Tasten Membrantastatur

INTERFACE

Computer interface:

RS-232-C, Software aus-
waehlbare Baud rate im
Bereich 300-9600 Baud

Printer interface:

parallele Centronics -
Schnittstelle

NETZVERSORGUNG

Spannung :

100/110/220/240V (+/-10%)
50/60 Hz

Anschlusswert :

Wartezustand : ca. 40W
Messzustand : max. 80W

PHYSIKALISCHE

Abmessungen :

Breite : 36 cm
Tiefe : 34 cm
Hoehe : 14 cm

Gewicht : .

11 kg

LSI-WERTE DER 40 MESSREIHEN

Erläuterung der Daten anhand eines Beispiels:

Code des Bakterienstammes	LSI-Werte der Hemmstoffe:														
Nummer der Mikrotiterplatte	ACBU	BENZ	CACH	CHIN	CHLT	CHAC	----	FLOX	HYSU	HYCH	KAJO				
K321 05870205 012 022	0192	0518	0588	0093	0579	0164	0381	0675	0443	0508	0384				
0106 0263 0118 0357 0000	0343	0182	0578	0431	0589	0426									
KALI	KARH	LICL	NAAZ	NADO	NADI	NAPE	PHEN	SECH	SORB	THAC					

ACBU: Acetylbutyrolacton	1:200
BENZ: Benzimidazol	1.2 mg/ml
CACH: Cadmiumchlorid	0.2 mg/ml
CHIN: Chininhydrochlorid	1mg/ml
CHLT: Chloramin T	2 mg/ml
CHAC: Chlorhexidinacetat	0,004 mg/ml
FLOX: Floxuridin	0.003 mg/ml
HYSU: Hydraziniumsulfat	0.075 mg/ml
HYCH: Hydroxylammoniumchlorid	0.075 mg/ml
KAJO: Kaliumjodid	50 mg/ml
KALI: Kaliumperoxysulfat	2.5 mg/ml
KARH: Kaliumrhodanid	20 mg/ml
LICL: Lithiumchlorid	10 mg/ml
NAAZ: Natriumazid	0.1 mg/ml
NADO: Natriumdodecylsulfat	2.5 mg/ml
NADI: Natriumdithionit	3 mg/ml
NAPE: Natriumperchlorat	25 mg/ml
PHEN: 1,10 Phenanthrolin	0.04 mg/ml
SECH: Semicarbazidhydrochlorid	0.75 mg/ml
SORB: Sorbinsäure	8 mg/ml
THAC: Thalliumacetat	0.25 mg/ml

K321 05870205 012 022 0192 0512 0528 0093 0579 0164 0381 0675 0443 0508 0384
0106 0263 0118 0357 0000 0343 0182 0578 0451 0589 0426
K321 05870205 032 052 0187 0503 0559 0089 0543 0177 0361 0655 0432 0484 0336
0113 0229 0055 0313 0070 0378 0153 0566 0540 0570 0371
K321 05870207 032 042 0204 0577 0504 0120 0173 0027 0001 0700 0508 0551 0421
0121 0358 0066 0107-0011 0322 0126 0517 0519 0591 0426
K321 05870207 072 082 0277 0641 0562 0220 0256 0187 0015 0654 0598 0598 0534
0125 0347 0182 0207-0008 0290 0200 0635 0540 0667 0612
K321 05870207 092 102 0259 0666 0578 0181 0240 0147 0008 0687 0598 0606 0511
0120 0355 0182 0116 0008 0330 0196 0640 0521 0686 0621
K321 05870207 212 222 0221 0653 0400 0160 0198 0083 0030 0676 0381 0245 0779
0168 0256 0103 0037-0032 0446 0180 0606 0484 0696 0532
K321 05870207 232 242 0257 0606 0445 0182 0184 0081 0045 0686 0373 0234 0704
0191 0262 0110 0254-0019 0470 0735 0644 0590 0735 0478
K321 05870208 012 022 0300 0652 0627 0135 0210 0098 0024 0630 0375 0250 0621
0210 0323 0182 0321-0034 0399 0203 0661 0540 0769 0583
K321 05870208 032 042 0285 0649 0554 0099 0197 0074 0051 0625 0356 0197 0721
0205 0311 0129 0059-0038 0432 0143 0658 0584 0751 0485
K321 05870208 052 062 0270 0638 0652 0104 0166 0051 0035 0649 0371 0233 0588
0192 0315 0147 0042-0048 0382 0177 0615 0519 0732 0579
K321 05870208 072 082 0294 0642 0656 0120 0206 0097 0027 0648 0430 0249 0593
0187 0325 0142 0077-0042 0387 0192 0641 0552 0738 0524
K321 05870208 092 102 0245 0610 0691 0112 0159 0056 0012 0688 0323 0200 0733
0198 0345 0188 0177-0017 0331 0210 0654 0571 0786 0619
K321 05870208 112 122 0280 0658 0696 0145 0239 0131 0004 0639 0450 0274 0661
0194 0316 0153 0064-0041 0330 0183 0657-0019 0755 0569
K321 05870208 132 142 0279 0644 0649 0106 0189 0089 0015 0666 0367 0223 0527
0189 0342 0186 0196 0005 0361 0236 0643 0554 0732 0609
K321 05870208 152 162 0259 0608 0599 0116 0194 0105 0000 0653 0354 0235 0582
0200 0329 0143 0124-0011 0348 0202 0649 0571 0739 0551
K321 05870210 012 022 0245 0615 0779 0162 0172 0155 0015 0630 0490 0414 0530
0153 0319 0108 0125-0010 0275 0177 0652 0438 0629 0556
K321 05870210 032 042 0242 0642 0787 0179 0177 0140 0010 0661 0507 0413 0545
0140 0297 0045 0109-0028 0260 0173 0659 0610 0619 0479
K321 05870210 052 062 0251 0638 0874 0209 0184 0181 0004 0663 0592 0482 0689
0149 0342 0145 0167 0023 0263 0215 0669 0589 0676 0612
K321 05870210 072 082 0247 0640 0870 0212 0206 0176 0017 0688 0616 0505 0650
0155 0310 0098 0220-0012 0240 0194 0667 0637 0655 0518
K321 05870211 012 022 0181 0524 0720 0141 0132 0280 0020 0649 0404 0293 0633
0148 0285 0085 0055 0002 0309 0192 0626 0562 0647 0464
K321 05870211 032 042 0189 0524 0713 0161 0138 0298 0024 0662 0393 0288 0575
0160 0293 0050 0271 0048 0237 0174 0608 0630 0606 0397
K321 05870211 052 062 0219 0569 0832 0174 0158 0303 0008 0661 0448 0324 0562
0152 0291 0103 0181-0010 0267 0178 0619 0206 0640 0465
K321 05870211 072 082 0209 0541 0832 0148 0133 0231 0040 0667 0407 0251 0541
0144 0274 0051 0052 0028 0277 0174 0628 0623 0634 0463
K321 05870211 112 122 0191 0560 0769 0237 0161 0261 0411 0683 0441 0331 0693
0150 0291 0080 0063 0009 0240 0174 0628 0576 0658 0529
K321 05870212 012 022 0234 0623 0553 0133 0191 0071 0007 0697 0424 0339 0444
0166 0324 0130 0101 0020 0268 0205 0648 0535 0712 0552
K321 05870212 032 042 0245 0628 0557 0155 0208 0069 0005 0704 0430 0322 0464
0152 0290 0073 0048-0003 0304 0062 0645 0571 0681 0477
K321 05870212 052 062 0236 0609 0532 0133 0184 0071 0013 0703 0424 0323 0504
0160 0323 0125 0194 0012 0325 0199 0636 0525 0693 0534
K321 05870212 092 102 0233 0606 0433 0139 0177 0069 0015 0687 0515 0354 0509
0163 0328 0130 0082 0019 0222 0219 0635 0510 0691 0556
K321 05870212 112 122 0227 0573 0433 0126 0165 0035 0020 0676 0417 0308 0532
0151 0293 0064 0231-0006 0241 0188 0626 0521 0664 0459
K321 05870212 132 142 0243 0618 0633 0157 0203 0068 0012 0720 0488 0387 0488
0153 0318 0130 0222 0006 0243 0194 0622 0507 0660 0530
K321 05870212 152 162 0237 0613 0611 0136 0181 0047 0002 0728 0466 0327 0486
0154 0329 0077 0377-0015 0223 0182 0655 0530 0682 0481
K321 05870213 012 022 0242 0611 0712 0144 0195 0264 0012 0656 0428 0354 0450
0142 0307 0164 0095 0008 0265 0195 0632 0470 0647 0580
K321 05870213 032 042 0232 0593 0707 0131 0186 0271 0018 0644 0415 0335 0441
0138 0303 0129 0096-0003 0246 0191 0647 0550 0629 0562
K321 05870213 052 062 0264 0664 0814 0140 0219 0060 0023 0727 0490 0439 0402
0161 0353 0174 0191 0039 0340 0246 0694 0546 0680 0651
K321 05870213 072 082 0266 0656 0802 0145 0236 0318 0023 0735 0491 0408 0410
0146 0302 0120 0253-0041 0274 0170 0653 0543 0656 0584
K321 05870213 092 102 0261 0633 0821 0175 0237 0321 0039 0706 0510 0441 0427
0147 0301 0211 0264 0031 0213 0235 0638 0528 0699 0645

K321 05870213 112 122 0241 0636 0762 0133 0195 0247 0017 0721 0464 0363 0425
0150 0316 0119 0077-0009 0221 0179 0642 0562 0687 0568
K321 05870213 132 142 0255 0693 0825 0131 0202 0255 0002 0749 0456 0391 0492
0142 0273 0139 0097-0045 0244 0185 0672 0547 0703 0628
K321 05870213 152 162 0236 0636 0778 0112 0168 0228 0008 0704 0406 0317 0475
0144 0288 0132 0085-0016 0258 0176 0650 0516 0675 0582
K340 05870205 012 022 0271 0286 0281 0451 1038 0149 0523 0597-0080 0084 0784
0352 0583 0286 0609 1105 0500 0228 0692 0143 0453 0166
K340 05870205 032 052 0322 0371 0354 0519 1076 0272 0590 0633 0012 0173 0833
0336 0570 0237 0442 1124 0497 0180 0683 0118 0419 0165
K340 05870207 032 042 0332 0457 0632 0692 0678 0445 0012 0601-0005 0301 0823
0480 0686 0356 0163 1028 0620 0438 0695 0187 0553 0418
K340 05870207 072 082 0337 0546 0734 0633 0857 0306 0130 0596-0005 0376 0807
0568 0678 0431 0353 1416 0645 0483 0746 0238 0638 0337
K340 05870207 092 102 0337 0517 0722 0638 0861 0286 0076 0638-0012 0394 0868
0549 0645 0414 0300 1159 0562 0454 0718 0203 0625 0348
K340 05870207 112 122 0372 0462 0628 0633 0706 0346 0064 0647-0013 0349 0833
0484 0599 0309 0071 1052 0532 0407 0706 0232 0599 0353
K340 05870207 132 142 0373 0466 0646 0622 0737 0381 0011 0656 0051 0405 0842
0503 0663 0352 0126 1069 0518 0430 0733 0235 0618 1246
K340 05870208 012 022 0282 0332 0264 0388 0527 0226 0071 0470-0099-0032 0832
0486 0557 0202 0240 1036 0579 0297 0621 0051 0579 0085
K340 05870208 032 042 0294 0362 0345 0429 0546 0275 0015 0517-0041 0028 0893
0517 0585 0264 0212 1026 0556 0282 0652 0086 0940 0110
K340 05870208 052 062 0279 0339 0295 0400 0536 0184 0079 0532-0100 0010 0860
0529 0504 0258 0226 0950 0611 0311 0560 0138 0626 0122
K340 05870208 072 082 0312 0340 0309 0392 0522 0218 0059 0490-0052 0041 0862
0472 0535 0209 0090 0962 0581 0243 0591 0097 0574 0113
K340 05870208 092 102 0340 0343 0286 0414 0506 0247 0017 0560-0033 0067 0870
0553 0588 0295 0252 1021 0577 0410 0639 0170 0673 0180
K340 05870208 112 122 0302 0368 0329 0411 0587 0305 0023 0525 0011 0102 0858
0555 0582 0264 0230 0985 0585 0405 0647 0201 0672 0174
K340 05870208 132 142 0330 0302 0270 0371 0523 0105 0063 0556-0080 0019 0893
0590 0562 0296 0032 1010 0555 0375 0658 0182 0691 0150
K340 05870208 152 162 0273 0344 0315 0405 0554 0140 0022 0576-0028 0061 0865
0600 0593 0260 0151 1018 0696 0357 0671 0143 0649 0158
K340 05870210 012 022 0276 0376 0350 0607 0555 0211 0063 0552-0058 0073 0808
0413 0692 0267 0096 1031 0474 0379 0663 0172 0609 0167
K340 05870210 032 042 0305 0418 0395 0599 0552 0266 0023 0562-0029 0129 0865
0413 0670 0218 0113 1075 0501 0318 0649 0153 0549 0169
K340 05870210 052 062 0299 0373 0404 0619 0559 0430 0029 0585-0005 0138 0847
0446 0679 0258 0041 1050 0458 0391 0646 0218 0621 0199
K340 05870210 072 082 0312 0379 0421 0593 0603 0444 0000 0579 0015 0183 0853
0436 0689 0233 0057 1058 0563 0342 0668 0198 0585 0190
K340 05870211 012 022 0312 0384 0419 0662 0562 0565 0051 0616-0039 0142 0939
0486 0747 0304 0100 1098 0492 0528 0696 0237 0696 0214
K340 05870211 032 042 0327 0417 0458 0648 0562 0569 0014 0644-0002 0181 0965
0428 0727 0240 0093 1129 0573 0495 0696 0188 0667 0191
K340 05870211 052 062 0303 0378 0425 0598 0556 0525 0037 0579-0015 0168 0863
0443 0706 0263 0076 1077 0452 0455 0647 0187 0616 0199
K340 05870211 072 082 0303 0388 0390 0576 0509 0524 0021 0576-0017 0130 0868
0419 0670 0239 0063 1017 0502 0461 0653 0178 0609 0187
K340 05870211 112 122 0326 0389 0449 0611 0572 0696 0535 0559-0004 0190 0847
0470 0707 0260 0053 1036 0479 0531 0669 0203 0654 0208
K340 05870211 132 142 0301 0390 0456 0568 0630 0625 0571 0578 0004 0187 0858
0497 0618 0227 0053 1138 0543 0306 0707 0169 0640 0227
K340 05870212 012 022 0306 0359 0429 0574 0623 0194 0067 0626-0061 0080 0820
0546 0641 0258 0058 1096 0445 0360 0704 0185 0700 0258
K340 05870212 032 042 0334 0441 0479 0583 0681 0254 0010 0637-0004 0134 0874
0497 0618 0227 0053 1138 0543 0306 0707 0169 0640 0227
K340 05870212 052 062 0329 0394 0359 0574 0611 0233 0050 0611-0044 0084 0886
0507 0562 0253 0138 1045 0559 0385 0673 0187 0662 0233
K340 05870212 072 082 0299 0385 0371 0568 0648 0271 0027 0604-0019 0101 0829
0451 0541 0200 0106 1040 0499 0319 0666 0165 0591 0231
K340 05870212 092 102 0310 0437 0389 0529 0658 0244 0500 0618-0024 0123 0912
0518 0611 0262 0133 1085 0508 0390 0717 0219 0683 0265
K340 05870212 112 122 0290 0380 0386 0541 0574 0239 0036 0615-0036 0086 0875
0473 0567 0204 0097 1112 0455 0310 0702 0179 0636 0214
K340 05870212 132 142 0313 0379 0356 0189 0256 0090 0046 0637-0010 0097 0907
0511 0637 0242 0158 1066 0487 0398 0717 0189 0659 0234
K340 05870212 152 162 0315 0411 0369 0519 0631 0129 0021 0652-0027 0111 0903
0502 0624 0205 0123 1103 0490 0383 0745 0179 0669 0248

K340 05870213 012 022 0329 0404 0491 0550 0543 0520 0053 0573-0035 0125 0817
 0541 0627 0330 0192 1049 0438 0460 0711 0221 0645 0323
 K340 05870213 032 042 0331 0430 0506 0549 0620 0570 0018 0586 0028 0178 0804
 0536 0665 0285 0248 1103 0484 0451 0753 0198 0661 0316
 K340 05870213 052 062 0344 0435 0563 0563 0672 0493 0042 0609-0021 0182 0857
 0534 0658 0326 0223 1064 0534 0447 0728 0207 0668 0337
 K340 05870213 072 082 0356 0460 0581 0585 0697 0623 0026 0631 0044 0213 0860
 0513 0658 0291 0193 1073 0457 0378 0747 0178 0634 0282
 K340 05870213 092 102 0362 0348 0521 0549 0648 0675 0070 0621 0000 0217 0814
 0505 0564 0244 0142 1004 0471 0464 0709 0219 0652 0344
 K340 05870213 112 122 0347 0453 0545 0594 0746 0692 0012 0679 0039 0237 0936
 0540 0674 0284 0136 1091 0449 0423 0784 0210 0690 0307
 K340 05870213 132 142 0385 0445 0512 0532 0622 0785 0024 0578-0024 0155 0904
 0562 0633 0319 0195 1069 0522 0495 0739 0260 0748 0330
 K343 05870205 012 022 0091 0302 0234 0840 1086 0886 0564 0261 0066 0135 0688
 0351 0174 0388 0215 1063 0724 0121 0741 0088 0343 0141
 K343 05870205 032 052 0031 0339 0255 0999 1167 0999 0643 0293 0137 0181 0794
 0278 0075 0334 0147 1080 0535-0015 0715 0010 0247 0130
 K343 05870207 032 042 0051 0207 0245 0887 0382 0850 0042 0216 0017 0274 0754
 0262 0127 0406 0015 1147 0600-0120 0757-0113 0160 0078
 K343 05870207 072 082 0212 0425 0381 1017 0748 0913 0025 0338 0012 0514 0699
 0661 0443 0614 0182 1205 0710 0263 0860 0263 0510 0421
 K343 05870207 092 102 0080 0272 0115 0964 0626 0980 0175 0309 0091 0503 0903
 0557 0240 0528 0098 1306 0675 0124 0845 0051 0387 0200
 K343 05870207 112 122 0069 0242 0232 0890 0512 0890 0000 0289 0086 0328 0828
 0481 0249 0464 0165 1044 0455 0173 0704 0113 0387 0257
 K343 05870207 132 142 0092 0227 0489 0872 0522 0833 0018 0287 0082 0381 0795
 0367 0193 0424 0078 1074 0501 0031 0736 0023 0271 0168
 K343 05870208 012 022 0263 0254 0153 0800 0394 0770 0047 0254 0047 0047 0740
 0542 0140 0102 0087 1044 0508-0035 0755-0050 0303 0007
 K343 05870208 032 042 0203 0341 0254 0912 0411 0922 0129 0358 0055 0047 0820
 0606 0151 0160 0135 1036 0673 0023 0740-0046 0345-0046
 K343 05870208 052 062 0149 0288 0082 0832 0414 0843 0032 0323 0040 0049 0740
 0509 0155 0119 0155 0920 0651 0112 0583 0027 0357 0000
 K343 05870208 072 082 0131 0239 0167 0760 0321 0751 0110 0314 0103 0117 0760
 0441 0060 0116 0091 0902 0571-0053 0623 0035 0317 0072
 K343 05870208 092 102 0127 0267 0121 0714 0347 0728 0076 0273 0110 0099 0657
 0492 0208 0208 0163 0900 0649 0169 0649 0111 0420 0124
 K343 05870208 112 122 0164 0277 0183 0718 0430 0734 0144 0284 0087 0087 0608
 0483 0182 0221 0151 0864 0674 0120 0607 0059 0345 0299
 K343 05870208 132 142 0139 0245 0094 0708 0337 0693 0066 0264 0077 0088 0752
 0530 0121 0141 0092 0810 0607 0089 0647 0050 0426 0000
 K343 05870208 152 162 0150 0244 0131 0746 0343 0692 0095 0296 0071 0035 0684
 0489 0155 0092 0117 0813 0570 0098 0646 0048 0314 0055
 K343 05870210 012 022 0132 0293 0120 0398 0316 0856 0219 0087-0147 0021 0787
 0551 0322 0392 0129 1227 0783 0207 0770 0031 0322 0118
 K343 05870210 032 042 0249 0398 0226 0961 0482 1003 0031 0204 0052 0149 0906
 0490 0225 0246 0120 1377 0755 0110 0780 0039 0257 0080
 K343 05870210 052 062 0226 0332 0274 0904 0431 0928 0052 0283 0124 0274 0880
 0595 0321 0366 0120 1300 0656 0246 0754 0141 0455 0182
 K343 05870210 072 082 0201 0328 0222 0963 0439 0923 0049 0232 0099 0191 0846
 0487 0244 0316 0085 1289 0634 0124 0764 0066 0422 0144
 K343 05870211 012 022 0131 0364 0259 1115 0452 1090 0104 0306 0113 0212 1015
 0489 0400 0367 0158 1379 0771 0219 0871 0107 0500 0168
 K343 05870211 032 042 0081 0329 0134 1136 0525 1122 0050 0273 0040 0165 0969
 0445 0204 0370 0174 1481 0683 0057 0902 0009 0381 0145
 K343 05870211 052 062 0092 0298 0198 0929 0359 0916 0009 0208 0027 0150 0711
 0427 0299 0384 0125 1341 0619 0116 0738 0038 0394 0155
 K343 05870211 072 082 0139 0276 0149 0922 0347 0947 0018 0168 0036 0120 0800
 0418 0290 0319 0150 1226 0583 0043 0759 0038 0349 0114
 K343 05870211 112 122 0130 0321 0009 0895 0376 0948 0668 0256 0059 0203 0729
 0513 0388 0422 0225 1287 0730 0214 0831 0120 0525 0246
 K343 05870211 132 142 0000 0240 0061 0975 0373 0990 0640 0112 0024 0099 0728
 0331 0063 0253 0093 0927 0439 0011 0867 0059 0364 0190
 K343 05870212 012 022 0056 0308 0113 0952 0440 0884 0027 0302 0078 0078 0746
 0420 0159 0365 0141 0948 0434 0063 0796 0093 0338 0165
 K343 05870212 032 042 0146 0369 0201 1002 0486 0966 0074 0342 0158 0140 0797
 0331 0063 0253 0093 0927 0439 0011 0867 0059 0364 0190
 K343 05870212 052 062 0091 0265 0103 0889 0355 0863 0023 0279 0042 0054 0678
 0389 0151 0327 0132 0913 0585 0059 0735 0059 0293 0151
 K343 05870212 072 082 0127 0316 0222 0910 0441 0919 0035 0309 0102 0096 0806
 0325 0041 0249 0115 0804 0553-0020 0729 0020 0254 0243

K343 05870212 092 102 0128 0272 0105 0773 0412 0788 0459 0272 0083 0088 0703
0401 0165 0307 0142 0875 0589 0091 0690 0086 0258 0176
K343 05870212 112 122 0071 0274 0162 0793 0357 0778 0030 0292 0071 0061 0691
0330 0082 0302 0117 0830 0489-0009 0717 0014 0248 0158
K343 05870212 132 142 0064 0365 0058 0853 0321 0872 0012 0277 0051 0051 0702
0379 0163 0253 0099 0925 0478 0082 0686 0054 0277 0145
K343 05870212 152 162 0072 0266 0122 0854 0369 0871 0047 0279 0079 0060 0785
0573 0410 0532 0406 0944 0670 0343 0854 0354 0516 0417
K343 05870213 012 022 0172 0230 0164 0293 0327 0893 0013 0327 0053 0108 0694
0463 0188 0385 0157 0971 0516 0103 0733 0096 0368 0111
K343 05870213 032 042 0114 0287 0122 0936 0350 0913 0056 0314 0106 0122 0694
0418 0129 0374 0176 1009 0480 0022 0715 0059 0315 0176
K343 05870213 052 062 0264 0264 0112 0890 0443 0880 0061 0377 0190 0210 0756
0435 0265 0372 0185 0965 0467 0121 0662 0108 0364 0156
K343 05870213 072 082 0061 0265 0101 0944 0378 0989 0109 0317 0165 0141 0825
0331 0128 0286 0107 0949 0522 0039 0667 0000 0249 0013
K343 05870213 092 102 0161 0222 0146 0853 0342 0863 0050 0350 0101 0176 0639
0450 0229 0302 0183 0860 0450 0170 0648 0151 0421 0229
K343 05870213 112 122 0157 0264 0157 0961 0449 0972 0069 0377 0124 0189 0852
0383 0135 0351 0150 1027 0492 0000 0735 0042 0343 0143
K343 05870213 132 142 0253 0244 0185 1075 0394 1062 0036 0425 0091 0147 0709
0500 0342 0460 0139 1135 0450 0068 0223 0130 0500 0230
K350 05870205 012 022 0184 0739 0274 0057 0541 0124 0379 0709 0416 0811 0627
0128 0245 0147 0446-0030 0622 0291 0592 0687 0589 0023
K350 05870205 032 052 0223 0773 0396 0104 0729 0316 0505 0742 0547 0882 0700
0124 0225 0079 0244 0595 0502 0223 0554 0668 0559 0025
K350 05870207 032 042 0225 0739 0595 0090 0140 0212 0002 0713 0360 0774 0733
0177 0309 0081 0082 0370 0580 0324 0612 0642 0577 0026
K350 05870207 072 082 0298 0742 0625 0153 0256 0439 0044 0734 0617 0849 0775
0214 0347 0225 0244 0153 0543 0342 0651 0685 0625 0107
K350 05870207 092 102 0280 0746 0541 0106 0172 0282 0001 0731 0524 0815 0827
0174 0313 0242 0202 0141 0521 0331 0655 0704 0633 0155
K350 05870207 112 122 0221 0719 0568 0052 0118 0128 0022 0747 0408 0829 0751
0155 0266 0101 0047 0245 0494 0195 0611 0650 0588 0053
K350 05870207 132 142 0213 0711 0592 0088 0134 0199 0008 0724 0481 0826 0758
0158 0282 0076 0017 0481 0546 0189 0613 0677 0573 0035
K350 05870208 012 022 0288 0764 0406 0158 0219 0229 0021 0749 0155 0350 0829
0330 0310 0096 0229 0213 0652 0353 0598 0668 0684-0005
K350 05870208 032 042 0296 0796 0442 0174 0203 0277 0046 0757 0163 0350 0880
0326 0307 0139 0162 0302 0661 0339 0636 0703 0690 0009
K350 05870208 052 062 0244 0757 0327 0107 0121 0146 0016 0764 0139 0332 0832
0305 0298 0160 0169 0177 0594 0350 0576 0641 0663 0057
K350 05870208 072 082 0266 0714 0327 0125 0169 0179 0022 0723 0158 0359 0859
0283 0283 0090 0036 0042 0648 0297 0557 0642 0636 0021
K350 05870208 092 102 0244 0787 0259 0107 0137 0182 0007 0740 0159 0307 0835
0313 0297 0151 0209 0184 0712 0361 0613 0715 0677 0074
K350 05870208 112 122 0252 0720 0341 0152 0219 0306 0070 0739 0243 0425 0845
0296 0284 0099 0141 0183 0648 0315 0606 0630 0648 0065
K350 05870208 132 142 0235 0689 0209 0097 0100 0077 0004 0692 0097 0237 0814
0274 0258 0111 0023 0308 0573 0292 0567 0622 0628 0021
K350 05870208 152 162 0221 0698 0221 0091 0134 0150 0010 0732 0144 0267 0810
0297 0270 0087 0069 0233 0609 0291 0572 0624 0618 0007
K350 05870210 012 022 0142 0671 0738 0027 0033 0067 0963 0648 0117 0450 0396
0205 0246 0111 0064 0446 0529 0293 0558 0607 0585 0019
K350 05870210 032 042 0220 0737 0790 0095 0126 0256 0001 0687 0241 0505 0541
0219 0259 0073 0097 0366 0511 0266 0574 0603 0565 0010
K350 05870210 052 062 0189 0699 0723 0068 0081 0177 0021 0673 0295 0544 0634
0203 0263 0105 0013 0520 0512 0274 0566 0590 0602 0031
K350 05870210 072 082 0211 0730 0743 0112 0130 0260 0022 0688 0319 0563 0651
0204 0247 0073-0016 0578 0566 0275 0555 0610 0598 0028
K350 05870211 012 022 0180 0623 0493 0071 0044 0159 0029 0647 0161 0471 0485
0209 0252 0069 0095 0511 0486 0263 0508 0614 0581 0040
K350 05870211 032 042 0202 0720 0522 0087 0098 0274 0013 0688 0266 0528 0564
0183 0195 0020 0062 0195 0534 0214 0489 0592 0557 0010
K350 05870211 052 062 0188 0686 0574 0089 0077 0109 0009 0664 0219 0524 0308
0202 0251 0047 0052 0473 0452 0243 0499 0532 0576 0015
K350 05870211 072 082 0177 0671 0529 0100 0070 0119 0015 0665 0217 0414 0283
0210 0225 0031 0040 0532 0467 0184 0491 0577 0560 0014
K350 05870211 112 122 0183 0663 0586 0085 0082 0116 0229 0675 0289 0563 0417
0190 0247 0038 0035 0098 0465 0256 0507 0583 0569 0031
K350 05870211 132 142 0186 0689 0582 0075 0075 0113 0238 0657 0253 0521 0342
0221 0219 0022 0000 0088 0487 0232 0590 0662 0599 0028

K350 05870212 012 022 0131 0714 0239 0089 0070 0024 C034 0731 0185 0487 0585
0232 0261 0079-0035 0403 0491 0295 0587 0676 0612 0060
K350 05870212 032 042 0218 0750 0249 0125 0128 0086 0015 0764 0300 0497 0684
0221 0219 0022-0017 0088 0437 0232 0590 0662 0599 0028
K350 05870212 052 062 0186 0717 0237 0104 0097 0051 0005 0741 0254 0517 0662
0232 0245 0077 0033 0222 0530 0284 0567 0651 0584 0045
K350 05870212 072 082 0218 0699 0245 0119 0117 0056 0008 0762 0275 0508 0732
0209 0215 0043 0076 0440 0543 0285 0567 0669 0578 0057
K350 05870212 092 102 0177 0717 0189 0112 0132 0108 0358 0754 0351 0649 0829
0224 0252 0082 0061 0394 0556 0288 0587 0682 0602 0066
K350 05870212 112 122 0183 0697 0193 0102 0115 0067 0018 0744 0315 0565 0779
0204 0204 0030 0063 0470 0516 0260 0576 0685 0598 0055
K350 05870212 132 142 0212 0725 0277 0124 0132 0097 0015 0780 0361 0501 0776
0200 0230 0061 0071 0303 0488 0258 0555 0630 0572 0059
K350 05870212 152 162 0216 0721 0283 0132 0115 0078 0003 0771 0325 0496 0771
0223 0225 0049 0034 0006 0584 0300 0570 0632 0625 0065
K350 05870213 012 022 0195 0722 0412 0079 0121 0394 0001 0722 0222 0539 0454
0203 0238 0171 0127 0193 0434 0296 0612 0692 0612 0092
K350 05870213 032 042 0227 0756 0457 0145 0176 0648 0061 0749 0365 0577 0589
0188 0213 0073 0140 0433 0481 0293 0605 0709 0636 0041
K350 05870213 052 062 0182 0722 0442 0096 0129 0458 0034 0698 0367 0657 0687
0237 0233 0107 0065 0212 0487 0335 0591 0673 0594 0041
K350 05870213 072 082 0245 0744 0447 0172 0193 0744 0064 0772 0474 0637 0718
0217 0233 0056 0104-0030 0406 0267 0584 0673 0575 0043
K350 05870213 092 102 0210 0705 0360 0102 0163 0574 0017 0712 0374 0613 0663
0186 0225 0093 0074 0280 0521 0292 0558 0655 0586 0093
K350 05870213 112 122 0236 0745 0351 0127 0183 0655 0027 0722 0394 0592 0699
0208 0232 0062 0113 0293 0425 0274 0584 0689 0619 0044
K350 05870213 132 142 0235 0757 0467 0147 0198 0594 0050 0786 0392 0619 0644
0212 0260 0116 0104 0139 0536 0316 0614 0718 0639 0036
K400 05870205 012 022 0637 0820 0342 0025 0369 0182 0556-0041 0587 0236 0275
0446 0519 0479 0332 0408 0969 0237 0256 0638 0435 0325
K400 05870205 032 052 0701 0850 0429 0190 0468 0330 0625 0041 0760 0290 0382
0427 0534 0427 0277 0328 0698 0238 0277 0617 0442 0281
K400 05870207 032 042 0432 0784 0336 0076 0265 0160 0004-0048 0606 0202 0320
0418 0456 0296 0099 0392 0483 0196 0238 0552 0381 0229
K400 05870207 072 082 0551 0766 0288-0011 0189 0095 0096-0118 0680 0268 0235
0465 0424 0385 0159 0253 0667 0132 0247 0585 0493 0411
K400 05870207 092 102 0515 0793 0260-0026 0193 0071 0094-0174 0720 0248 0242
0436 0419 0375 0106 0358 0590 0205 0275 0597 0476 0391
K400 05870207 112 122 0464 0761 0229-0066 0136 0049 0170-0157 0564 0163 0163
0390 0419 0328 0071 0319 0496 0183 0212 0506 0429 0328
K400 05870207 132 142 0451 0750 0318 0091 0231 0149 0010-0041 0660 0210 0300
0369 0397 0327 0069 0274 0475 0165 0240 0569 0392 0283
K400 05870202 012 022 0605 0709 0319-0009 0172 0009 0072-0128 0231 0059 0183
0583 0528 0513 0246 0380 0839 0242 0290 0578 0441 0264
K400 05870208 032 042 0679 0811 0445 0103 0245 0130 0025-0025 0302 0130 0273
0582 0526 0511 0221 0398 1074 0243 0310 0593 0486 0270
K400 05870208 052 062 0684 0831 0342 0027 0234 0036 0022-0062 0311 0135 0209
0557 0416 0388 0174 0374 0805 0182 0237 0542 0454 0246
K400 05870208 072 082 0631 0765 0353 0068 0248 0084 0031-0031 0316 0190 0275
0524 0409 0321 0127 0379 0784 0206 0229 0552 0409 0233
K400 05870208 092 102 0603 0738 0357 0119 0280 0145 0071 0049 0345 0182 0308
0548 0405 0561 0249 0561 0728 0288 0339 0589 0512 0307
K400 05870208 112 122 0606 0710 0362 0074 0272 0099 0067 0017 0341 0201 0256
0557 0458 0507 0203 0373 0711 0237 0304 0580 0485 0257
K400 05870208 132 142 0580 0750 0323 0076 0214 0092 0008-0017 0323 0153 0345
0557 0476 0547 0127 0416 0742 0251 0345 0617 0509 0285
K400 05870210 012 022 0563 0827 0329 0016 0196 0108 0122-0145 0308 0140 0557
0523 0737 0511 0137 0348 0599 0348 0385 0439 0466 0428
K400 05870210 032 042 0634 0759 0414 0130 0301 0237 0025-0008 0403 0242 0529
0509 0816 0482 0181 0305 0716 0320 0359 0419 0482 0435
K400 05870210 052 062 0646 0898 0394 0056 0286 0151 0008-0042 0470 0286 0499
0551 0860 0533 0100 0362 0644 0346 0379 0480 0557 0563
K400 05870210 072 082 0646 0872 0462 0162 0320 0189 0072 0029 0473 0315 0467
0534 0794 0551 0132 0364 0626 0426 0395 0496 0574 0529
K400 05870211 012 022 0606 0869 0393 0083 0261 0143 0025-0040 0422 0248 0441
0522 0677 0442 0130 0385 0653 0291 0207 0572 0517 0400
K400 05870211 032 042 0601 0883 0438 0149 0326 0191 0042 0015 0473 0144 0428
0523 0649 0435 0188 0381 0555 0295 0223 0565 0528 0435
K400 05870211 052 062 0548 0849 0349 0045 0246 0076 0025-0044 0450 0228 0455
0500 0645 0416 0124 0377 0668 0254 0245 0547 0485 0373

K400 05870211 072 082 0563 0800 0402 0102 0282 0151 0031-0006 0416 0221 0438
0489 0672 0417 0119 0330 0509 0299 0227 0514 0474 0362
K400 05870211 112 122 0544 0805 0394 0053 0266 0127 0508-0022 0438 0249 0366
0476 0522 0439 0093 0355 0568 0271 0267 0621 0517 0444
K400 05870211 132 142 0564 0797 0404 0128 0299 0191 0495 0003 0418 0253 0327
0528 0604 0344 0081 0339 0631 0291 0335 0718 0464 0331
K400 05870212 012 022 0510 0795 0307 0053 0201 0142 0066-0113 0459 0113 0454
0525 0588 0362 0125 0343 0583 0240 0329 0665 0434 0316
K400 05870212 032 042 0520 0779 0407 0185 0288 0248 0033 0011 0541 0206 0360
0528 0604 0344 0031 0339 0531 0291 0335 0718 0464 0331
K400 05870212 052 062 0526 0787 0292 0095 0197 0244 0047-0080 0476 0160 0210
0484 0489 0346 0154 0333 0601 0258 0369 0678 0464 0346
K400 05870212 072 082 0515 0773 0371 0190 0280 0323 0032 0007 0530 0206 0398
0455 0310 0310 0123 0327 0615 0223 0356 0670 0437 0322
K400 05870212 092 102 0542 0753 0263 0081 0233 0250 0477-0025 0512 0184 0212
0487 0487 0323 0109 0323 0537 0227 0327 0709 0492 0359
K400 05870212 112 122 0426 0727 0337 0146 0253 0253 0014-0006 0520 0181 0372
0467 0414 0342 0145 0334 0504 0274 0359 0715 0467 0347
K400 05870212 132 142 0479 0885 0332 0075 0232 0284 0007-0025 0513 0203 0392
0461 0537 0323 0130 0314 0547 0219 0323 0681 0433 0340
K400 05870212 152 162 0488 0769 0357 0131 0269 0295 0018 0000 0537 0207 0384
0484 0503 0341 0115 0243 0390 0268 0354 0739 0465 0337
K400 05870213 012 022 0562 0766 0274 0030 0206 0671 0043-0059 0315 0145 0214
0474 0504 0509 0107 0370 0534 0198 0222 0623 0407 0352
K400 05870213 032 042 0563 0819 0341 0145 0274 0619 0072 0044 0448 0242 0299
0467 0563 0522 0151 0377 0537 0232 0270 0682 0419 0372
K400 05870213 052 062 0560 0785 0306 0055 0237 0405 0013-0026 0419 0233 0319
0463 0547 0458 0135 0380 0635 0201 0271 0598 0416 0331
K400 05870213 072 082 0584 0792 0327 0096 0289 0642 0042 0013 0438 0207 0272
0436 0490 0445 0115 0338 0581 0196 0297 0636 0375 0281
K400 05870213 092 102 0584 0740 0306 0056 0242 0603 0009 0000 0456 0246 0298
0422 0452 0443 0077 0351 0496 0198 0315 0628 0430 0331
K400 05870213 112 122 0592 0800 0348 0125 0294 0514 0068 0040 0472 0270 0307
0464 0535 0460 0188 0383 0460 0231 0371 0680 0442 0335
K400 05870213 132 142 1184 0783 0374 0095 0292 0629 0030-0013 0485 0272 0300
0472 0588 0531 0143 0419 0531 0263 0458 0709 0494 0397
K405 05870205 012 022 0436 0464 0408 1082 1205 1173 0514 0130 0189 0381 1004
0290 0561 0555 0438 1361 1491 0417 0720 0233 0835 0652
K405 05870205 032 052 0478 0484 0413 1042 1224 1195 0585 0069 0188 0366 0974
0250 0572 0419 0220 1329 1381 0316 0635 0052 0694 0566
K405 05870207 032 042 0433 0353 0295 0992 0258 1079-0005-0057 0054 0276 0830
0202 0726 0340 0128 1306 1389 0306 0627-0044 0580 0519
K405 05870207 072 082 0407 0371 0249 0941 0318 0929 0052-0059 0085 0283 0689
0069 0119 0277 0130 1404 1573-0019 0480-0188 0563 0343
K405 05870207 092 102 0350 0324 0173 0843 0278 0832 0101-0154 0015 0199 0843
0211 0251 0401 0141 1365 1378 0211 0572 0014 0737 0489
K405 05870207 212 222 0397 0296 0418 0784 0276 0586 0000-0063-0009 0131 0922
0617 0194 0232 0036 1217 1670 0045 0481-0158 0660 0310
K405 05870207 232 242 0305 0363 0474 0717 0305 0598 0129 0030 0014 0192 0652
0596 0309 0301 0243 1237 1663 0139 0569 0061 0669 0480
K405 05870208 012 022 0331 0254 0254 0803 0341 0573 0041-0010-0030 0104 0918
0704 0303 0428 0356 1345 1671 0233 0578 0165 0704 0474
K405 05870208 032 042 0296 0126 0243 0785-0074 0444 0171-0195-0183-0098 0726
0570 0402 0377 0195 1273 1691 0147 0561 0107 0624 0402
K405 05870208 052 062 0329 0289 0259 0826 0259 0656 0075-0027 0037 0239 0757
0587 0249 0331 0016 1237 1655 0135 0538 0058 0597 0322
K405 05870208 072 082 0245 0151 0319 0798 0161 0666 0029-0039 0019 0100 0810
0550 0273 0255 0059 1204 1512 0059 0471 0008 0540 0338
K405 05870208 092 102 0340 0143 0232 0594 0035 0493 0014-0041-0006 0106 0637
0525 0317 0326 0186 1208 1521 0227 0516 0084 0671 0351
K405 05870208 112 122 0214 0129 0331 0685 0082 0588 0138-0027 0064 0101 0718
0689 0352 0313-0035 1088 1410 0159 0458 0021 0567 0197
K405 05870208 132 142 0479 0371 0400 0731 0189 0598 0086 0018 0131 0268 0731
0528 0410 0418 0125 1265 1529 0280 0511 0051 0696 0336
K405 05870208 152 162 0420 0177 0355 0805 0203 0592 0083 0008 0008 0177 0764
0479 0416 0286-0015 1277 1593 0243 0498-0152 0666 0390
K405 05870210 012 022 0428 0349 0287 0942 0301 0970 0000-0041-0011 0200 0942
0431 0411 0425 0150 1201 1387 0267 0559 0016 0655 0431
K405 05870210 032 042 0458 0371 0300 1002 0219 0967 0021-0027 0000 0183 0932
0418 0512 0322 0096 1240 1203 0281 0565-0024 0625 0412
K405 05870210 052 062 0403 0324 0309 0962 0186 0953 0042-0072 0000 0192 0897
0489 0423 0397 0108 1155 1362 0290 0572 0064 0740 0442

K405 05870210 072 082 0471 0356 0350 0951 0242 0893 0095-0005 0057 0213 0806
0466 0416 0384 0056 1290 1340 0277 0572-0015 0669 0447
K405 05870211 012 022 0364 0292 0310 0944 0190 1044 0005-0049 0056 0201 0773
0458 0413 0351 0079 1205 1205 0236 0478 0010 0708 0382
K405 05870211 032 042 0413 0345 0345 0982 0223 1069 0065 0032 0074 0223 0899
0457 0582 0395 0209 1215 1241 0287 0570 0034 0664 0446
K405 05870211 052 062 0379 0393 0346 0958 0141 1098 0028-0033 0000 0178 0940
0455 0687 0352 0034 1186 1364 0221 0550-0045 0672 0393
K405 05870211 072 082 0338 0299 0344 0945 0096 1063 0071-0071-0038 0144 0945
0465 0532 0373 0021 1150 1028 0309 0598-0021 0673 0439
K405 05870211 112 122 0496 0315 0328 0938 0173 1067 0322-0056-0022 0154 0859
0451 0430 0423 0005 1227 1102 0300 0548-0059 0727 0403
K405 05870211 132 142 0370 0271 0377 0941 0183 1040 0304 0131 0055 0152 0897
0444 0541 0395 0000 1180 1142 1356 0584 0000 0584 0489
K405 05870212 012 022 0347 0325 0359 0911 0228 1012 0009 0018 0086 0233 0874
0423 0457 0406-0049 1213 1301 0329 0546 0027 0601 0463
K405 05870212 032 042 0371 0339 0392 0950 0183 1047 0044-0008 0084 0212 0913
0444 0541 0395 0000 1180 1142 0356 0584-0003 0584 0489
K405 05870212 052 062 0363 0400 0351 0908 0193 1111 0035-0025 0036 0227 0932
0398 0550 0458 0077 1258 1379 0370 0601 0043 0674 0494
K405 05870212 072 082 0384 0342 0347 0920 0241 1091 0008 0004 0069 0188 0830
0423 0593 0394-0007 1203 1259-0018 0682 0038 0545 0473
K405 05870212 092 102 0332 0301 0351 0954 0125 1040 0077-0098 0000 0153 0879
0437 0510 0465 0030 1223 1034 0399 0604 0030 0671 0533
K405 05870212 112 122 0307 0302 0312 0923 0081 1076 0069-0099 0000 0147 0851
0335 0630 0387-0004 1187 1075 0346 0530-0054 0577 0457
K405 05870212 132 142 0369 0351 0316 0971 0219 1063 0044-0063 0029 0197 0846
0404 0584 0415 0065 1126 1251 0357 0543 0017 0614 0469
K405 05870212 152 162 0404 0361 0330 0983 0143 1067 0008-0021 0070 0195 0903
0442 0759 0407 0064 1248 1323 0447 0613 0015 0613 0514
K405 05870213 012 022 0410 0328 0312 0962 0150 1071 0095-0115 0000 0211 0556
0413 0405 0495 0189 1263 1388 0369 0638 0111 0597 0542
K405 05870213 032 042 0421 0391 0354 0918 0193 1106 0042-0048-0006 0241 0617
0383 0485 0455 0141 1230 0933 0327 0632 0017 0714 0569
K405 05870213 052 062 0574 0398 0366 0983 0250 1133 0013-0073 0075 0280 0736
0362 0475 0490 0114 1268 1325 0377 0635 0075 0772 0569
K405 05870213 072 082 0487 0427 0390 1029 0229 1150 0006-0059 0086 0284 0745
0330 0515 0414 0034 1177 1311 0290 0621 0069 0684 0515
K405 05870213 092 102 0441 0411 0404 0895 0212 1020 0000-0018 0145 0288 0598
0402 0457 0457 0271 1170 1231 0382 0624 0101 0725 0557
K405 05870213 112 122 0427 0412 0396 0965 0140 1130 0051-0051 0045 0203 0747
0374 0544 0492 0175 1162 0775 0357 0674 0029 0618 0604
K405 05870213 132 142 0528 0356 0390 1009 0274 1200 0014-0028 0095 0298 0666
0471 0487 0502 0122 1369 1415 0403 0690 0037 0776 0566
K405 05870213 152 162 0453 0400 0363 0963 0164 1134 0086-0056 0000 0198 0759
0354 0518 0451 0053 1244 1129 0342 0637-0026 0719 0525
K475 05870205 012 022 0216 0294 1038 0956 1032 0985 0148 0677 0116 0518 1020
0216 0360 1036 0112 0949 0625 0281 0407 0141 0300 0125
K475 05870205 032 052 0257 0363 1077 1052 1077 1052 0251 0715 0236 0600 1071
0248 0336 0982 0039 0987 0565 0238 0342 0124 0302 0111
K475 05870207 032 042 0231 0337 0954 0893 0356 0920 0002 0660 0225 0494 0948
0210 0373 0884 0010 0874 0466 0185 0332 0175 0292 0084
K475 05870207 072 082 0186 0395 0945 0790 0337 0782 0201 0538 0146 0517 0909
0170 0402 0961 0023 0920 0525 0244 0431 0129 0180 0051
K475 05870207 092 102 0236 0377 0990 0909 0382 0917 0089 0643 0249 0562 1036
0180 0434 0939 0039 0884 0529 0245 0446 0155 0234 0151
K475 05870207 112 122 0210 0342 0937 0828 0374 0828 0059 0620 0220 0573 0912
0190 0355 0876 0023 0876 0478 0248 0386 0186 0186 0145
K475 05870207 132 142 0225 0361 0926 0892 0405 0886 0019 0620 0217 0553 0919
0165 0316 0895-0029 0876 0452 0193 0296 0161 0189 0110
K475 05870208 012 022 0225 0393 0926 0880 0225 0942 0115 0505 0076 0333 0911
0323 0381 0956 0008 0989 0578 0166 0285 0318 0207 0024
K475 05870208 032 042 0235 0371 1042 0883 0230 1019 0065 0533 0137 0382 0911
0346 0433 0913-0015 0920 0602 0200 0299 0384 0254 0000
K475 05870208 052 062 0214 0304 0970 0801 0127 0970 0147 0487 0043 0366 0831
0278 0307 0751-0120 0733 0553 0141 0230 0297 0178 0030
K475 05870208 072 082 0220 0308 0900 0819 0185 0907 0076 0465 0046 0388 0845
0253 0325 0779-0132 0811 0488 0098 0237 0313 0222 0066
K475 05870208 092 102 0197 0476 0882 0775 0255 0866 0017 0508 0112 0365 0780
0313 0384 0815 0051 0832 0600 0263 0344 0336 0276 0158
K475 05870208 112 122 0200 0311 0817 0737 0284 0823 0003 0483 0128 0405 0788
0309 0377 0800-0026 0800 0590 0210 0318 0341 0198 0132

K475 05870208 132 142 0169 0260 0886 0809 0264 0919 0010 0562 0147 0377 0847
0310 0386 0822-0025 0367 0542 0251 0305 0315 0222 0026
K475 05870208 152 162 0218 0297 0540 0745 0259 0751 0036 0517 0186 0401 0834
0332 0404 0818-0020 0840 0524 0251 0332 0378 0255 0113
K475 05870210 032 042 0211 0352 0937 0882 0344 0921 0011 0634 0171 0521 0921
0239 0376 0884-0035 0864 0518 0197 0296 0309 0258 0002
K475 05870210 072 082 0207 0329 0965 0929 0349 0906 0015 0619 0214 0596 0911
0248 0386 0921-0022 0932 0435 0228 0324 0335 0269 0066
K475 05870211 012 022 0100 0206 0968 0963 0188 1001 0048 0628 0155 0519 0889
0221 0372 0871-0044 0923 0364 0196 0299 0364 0282 0021
K475 05870211 032 042 0156 0260 0993 0987 0276 1015 0007 0655 0247 0580 0928
0222 0351 0875-0043 0942 0382 0133 0235 0351 0266 0012
K475 05870211 052 062 0209 0300 0945 0933 0286 0928 0035 0599 0256 0463 0895
0217 0372 0880-0038 0931 0353 0200 0338 0309 0234-0025
K475 05870211 072 082 0190 0308 0937 0916 0291 0932 0010 0579 0236 0445 0895
0228 0372 0884-0030 0874 0358 0180 0301 0311 0263 0000
K475 05870211 112 122 0232 0308 0912 0917 0304 0900 0139 0608 0190 0518 0878
0218 0395 0863 0014 0885 0489 0253 0364 0345 0274 0030
K475 05870211 132 142 0192 0307 0944 0927 0322 0927 0146 0618 0314 0552 0904
0222 0346 0922 0030 0949 0311 0171 0288 0343 0261 0038
K475 05870212 012 022 0161 0344 0952 0919 0248 0947 0024 0628 0152 0585 0846
0243 0349 0898-0014 0865 0416 0222 0353 0316 0261 0083
K475 05870212 032 042 0177 0289 0966 0932 0278 0937 0002 0627 0187 0618 0937
0222 0346 0922-0053 0949 0311 0171 0288 0343 0261 0038
K475 05870212 052 062 0156 0312 0923 0940 0312 0951 0027 0561 0211 0606 0894
0226 0365 0918 0019 0866 0528 0189 0317 0357 0248 0119
K475 05870212 072 082 0186 0275 0988 1000 0324 1000 0009 0633 0242 0633 0958
0233 0340 0870-0030 0885 0487 0160 0212 0287 0233 0091
K475 05870212 092 102 0194 0264 0899 0888 0271 0893 0108 0553 0194 0597 0893
0219 0347 0876-0042 0849 0377 0189 0299 0354 0257 0118
K475 05870212 112 122 0173 0274 0912 0886 0271 0912 0000 0603 0220 0557 0762
0210 0313 0881-0051 0941 0375 0158 0260 0329 0272 0042
K475 05870212 132 142 0182 0328 0984 0978 0266 0978 0028 0655 0236 0625 0942
0229 0351 0893 0002 0916 0503 0202 0358 0346 0274 0146
K475 05870212 152 162 0198 0272 0998 0936 0300 0975 0000 0674 0248 0620 0953
0233 0340 0935-0066 0984 0456 0164 0309 0372 0296 0134
K475 05870213 012 022 0171 0229 0907 0849 0273 0886 0043 0607 0165 0510 0824
0197 0364 0857-0025 0841 0383 0221 0283 0308 0262 0017
K475 05870213 032 042 0209 0288 0948 0930 0349 0906 0005 0641 0230 0491 0783
0189 0333 0895-0011 0912 0308 0180 0263 0318 0232-0013
K475 05870213 052 062 0169 0240 0940 0974 0283 0967 0032 0566 0198 0550 0974
0136 0309 0905-0041 0912 0456 0277 0314 0231 0179 0027
K475 05870213 072 082 0205 0328 0993 0971 0356 1007 0015 0629 0290 0646 1022
0168 0354 0924-0038 0924 0418 0212 0274 0266 0197-0035
K475 05870213 092 102 0201 0290 0957 0889 0317 0929 0007 0536 0214 0580 0842
0215 0363 0854 0037 0848 0425 0278 0351 0324 0285 0156
K475 05870213 112 122 0203 0336 0984 0945 0370 0964 0050 0663 0286 0663 0800
0212 0275 0915 0017 0921 0314 0240 0325 0318 0236 0056
K475 05870213 132 142 0199 0242 0969 0904 0257 0947 0025 0554 0190 0600 0926
0153 0272 0909-0115 0943 0419 0205 0295 0318 0205 0120
K520 05870205 012 022 0168 0266 1015 0667 0997 1006 0318 0549 0155 0888 1028
0190 0426 0292 0692 0967 0840 0263 0721 0080 0270 0353
K520 05870205 032 052 0156 0234 1016 0627 0995 1003 0312 0474 0170 0841 1008
0133 0304 0133 0635 0953 0601 0139 0584 0084 0184 0354
K520 05870207 032 042 0200 0308 0991 0428 0289 0987 0008 0685 0424 0970 0932
0196 0389 0223 0201 0895 0438 0243 0762 0232 0246 0527
K520 05870207 072 082 0398 0520 1047 0875 0607 0994 0086 0757 0555 0955 1020
0372 0555 0466 0484 0969 0661 0437 0911 0346 0367 0635
K520 05870207 092 102 0392 0525 1052 0846 0605 0984 0040 0762 0536 0998 1003
0391 0529 0466 0346 0965 0658 0398 0916 0335 0425 0623
K520 05870207 212 222 0250 0379 0993 0234 0534 0927 0070 0704 0069 0313 1135
0495 0451 0419 0103 0891 0859 0334 0840 0222 0516 0620
K520 05870207 232 242 0336 0454 0987 0365 0614 0934 0030 0754 0207 0435 0942
0369 0386 0236 0571 0919 0707 0154 0866 0183 0317 0568
K520 05870208 012 022 0653 0812 0921 0693 0693 0884 0030 0783 0333 0840 0906
0908 0600 0872 0915 0922 0894 0425 0988 0489 0625 0824
K520 05870208 032 042 0644 0734 0968 0708 0682 0869 0023 0794 0278 0841 0932
0751 0620 0677 0401 0872 0892 0386 0943 0448 0633 0887
K520 05870208 052 062 0582 0627 0924 0499 0582 0819 0025 0735 0361 0720 0887
0747 0427 0422 0121 0704 0819 0234 0803 0400 0502 0699
K520 05870208 072 082 0518 0618 0878 0534 0629 0788 0036 0758 0370 0758 0896
0721 0438 0460 0190 0811 0871 0316 0856 0433 0537 0797

K520 05870203 092 102 0403 0563 1024 0406 0511 0873 C069 0774 0296 0588 0913
0673 0545 0552 0690 0827 0800 0399 0886 0479 0621 0827
K520 05870208 112 122 0531 0664 0918 0600 0698 0847 C172 0775 0404 0757 0937
0659 0536 0511 0130 0850 0772 0319 0890 0127 0546 0811
K520 05870208 132 142 0507 0633 0920 0487 0683 0861 C092 0768 0417 0719 0866
0661 0599 0729 0475 0824 0765 0442 0857 0501 0611 0721
K520 05870208 152 162 0490 0610 0929 0532 0651 0858 0136 0794 0392 0729 0906
0591 0541 0632 0365 0869 0601 0379 0911 0448 0547 0836
K520 05870210 012 022 0583 0856 0965 0837 0652 0881 C036 0862 0396 0972 0926
0623 0562 0562 0319 0783 0892 0401 0866 0462 0508 0886
K520 05870210 032 042 0590 0886 1020 0915 0736 0945 C124 0897 0431 1014 0982
0547 0528 0498 0458 0866 0705 0362 0896 0365 0502 0958
K520 05870210 052 062 0573 0891 0969 0921 0675 0939 C132 0880 0308 0963 0963
0590 0558 0576 0222 0898 0643 0434 0887 0530 0628 0875
K520 05870210 072 082 0566 0814 0910 0938 0696 0960 0184 0883 0349 0938 0927
0534 0519 0473 0526 0874 0605 0372 0913 0462 0548 0893
K520 05870211 012 022 0402 0547 0992 0739 0468 0953 C030 0786 0117 0658 0966
0454 0502 0468 0381 0937 0729 0407 0862 0285 0556 0854
K520 05870211 032 042 0425 0576 0990 0737 0514 0964 C069 0786 0147 0674 0964
0395 0449 0408 0710 0933 0497 0325 0842 0179 0470 0842
K520 05870211 052 062 0510 0578 0987 0682 0507 0935 C023 0786 0235 0839 0963
0471 0455 0422 0437 0874 0578 0317 0831 0274 0496 0831
K520 05870211 072 082 0414 0602 1013 0730 0475 0961 C021 0809 0208 0801 0970
0404 0414 0336 0122 0887 0547 0296 0863 0245 0474 0871
K520 05870211 112 122 0458 0543 0968 0662 0515 0945 C499 0773 0360 0870 0931
0498 0462 0400 0187 0897 0588 0347 0842 0350 0501 0876
K520 05870211 132 142 0410 0542 0958 0617 0545 0941 C448 0788 0304 0879 0899
0173 0236 0091 0110 0876 0346 0121 0556 0080 0281 0368
K520 05870212 012 022 0106 0191 0934 0235 0126 0938 C005 0482 0059 0319 0931
0181 0309 0150 0099 0892 0504 0197 0637 0093 0289 0371
K520 05870212 032 042 0105 0227 0935 0263 0129 0946 C007 0482 0066 0276 0913
0173 0236 0091 0110 0876 0346 0121 0556 0080 0281 0368
K520 05870212 052 062 0104 0193 0917 0124 0096 0943 C001 0498 0042 0264 0891
0178 0296 0154 0382 0920 0504 0189 0634 0095 0257 0380
K520 05870212 072 082 0091 0203 0912 0151 0161 0964 C002 0470 0052 0249 0869
0163 0211 0075 0227 0893 0460-0008 0569 0087 0199 0342
K520 05870212 092 102 0129 0236 0953 0343 0179 0937 C006 0534 0090 0625 0957
0196 0313 0223 0114 0916 0464 0210 0641 0094 0309 0425
K520 05870212 112 122 0143 0229 0945 0245 0131 0941 C009 0504 0089 0396 0948
0179 0250 0089 0420 0991 0303 0117 0622 0104 0240 0375
K520 05870212 132 142 0151 0249 0940 0440 0151 0928 C007 0550 0089 0338 0956
0209 0312 0203 0416 0869 0400 0211 0648 0095 0257 0362
K520 05870212 152 162 0119 0204 0987 0353 0099 0978 C003 0543 0082 0323 0978
0145 0241 0069 0636 0944 0307 0154 0631 0087 0194 0347
K520 05870213 012 022 0172 0254 0957 0390 0224 0966 C016 0584 0048 0493 0918
0225 0421 0382 0168 0871 0428 0250 0678 0078 0276 0493
K520 05870213 032 042 0135 0257 0971 0373 0279 0957 C043 0560 0023 0458 0953
0179 0355 0286 0462 0925 0252 0229 0710 0115 0300 0489
K520 05870213 052 062 0181 0222 1029 0487 0331 0992 C004 0565 0062 0595 0957
0224 0437 0316 0271 0941 0496 0286 0765 0094 0319 0465
K520 05870213 072 082 0162 0261 1022 0478 0263 1000 C012 0602 0080 0557 0995
0160 0339 0205 0347 0921 0339 0191 0665 0100 0241 0499
K520 05870213 092 102 0245 0340 0956 0565 0396 0943 C006 0656 0127 0694 0939
0256 0438 0399 0536 0882 0382 0317 0757 0152 0389 0531
K520 05870213 112 122 0199 0319 0989 0488 0381 0998 C000 0662 0102 0604 0993
0210 0382 0229 0148 0912 0391 0210 0705 0117 0272 0528
K520 05870213 132 142 0177 0832 1013 0232 0281 1018 C016 0650 0052 0572 1008
0240 0388 0267 0183 0972 0353 0210 0706 0102 0313 0525
K520 05870213 152 162 0167 0245 0992 0222 0245 1014 C023 0593 0078 0525 0884
0216 0336 0154 0222 0921 0348 0178 0661 0087 0250 0497
K523 05870205 012 022 0146 0193 1015 0229 1024 0975 C226 0612 0643 0988 1006
0200 0393 0254 0551 0959 0674 0257 0733 0160 0230 0221
K523 05870205 032 052 0120 0175 1016 0138 1020 0971 C203 0617 0582 0995 0971
0151 0263 0114 0439 0935 0504 0161 0634 0169 0151 0206
K523 05870207 032 042 0127 0196 0987 0213 0162 0961 C007 0631 0515 0892 0970
0141 0285 0118 0141 0890 0409 0199 0689 0156 0175 0264
K523 05870207 072 082 0336 0389 0944 0410 0420 0914 C040 0668 0779 0868 0927
0283 0458 0346 0301 0897 0501 0386 0804 0243 0316 0407
K523 05870207 092 102 0315 0462 0963 0353 0393 0924 C002 0706 0844 0928 0912
0290 0439 0350 0220 0909 0482 0330 0829 0298 0354 0414
K523 05870207 212 222 0139 0149 0975-0004 0198 0922 C053 0683 0023 0324 0988
0317 0311 0208 0031 0891 0503 0183 0764 0292 0359 0263

K523 05870207 232 242 0133 0243 0956 0072 0316 0926 0010 0695 0104 0404 0922
0253 0263 0091 0300 0923 0445 0075 0772 0202 0207 0235
K523 05870208 012 022 0282 0329 0921 0222 0356 0277 0062 0588 0045 0371 0868
0402 0339 0276 0458 0886 0567 0184 0733 0195 0310 0179
K523 05870208 032 042 0236 0304 0906 0153 0252 0859 0073 0641 0000 0313 0901
0313 0282 0155 0114 0842 0436 0121 0696 0169 0297 0220
K523 05870203 052 062 0072 0266 0914 0067 0196 0860 0041 0639 0049 0415 0889
0377 0330 0235 0068 0792 0455 0190 0703 0274 0374 0212
K523 05870208 072 082 0281 0349 0901 0195 0387 0871 0062 0650 0108 0461 0901
0345 0321 0190 0110 0829 0480 0131 0755-0075 0272 0238
K523 05870203 092 102 0197 0230 0891 0040 0130 0883 0014 0634 0073 0334 0883
0346 0346 0245 0284 0831 0423 0180 0751 0322 0385 0266
K523 05870208 112 122 0262 0340 0915 0205 0360 0861 0046 0668 0158 0481 0877
0322 0309 0197 0073 0846 0398 0129 0742-0038 0322 0235
K523 05870208 132 142 0219 0334 0889 0129 0286 0866 0044 0647 0066 0396 0832
0325 0338 0272 0217 0819 0483 0202 0719 0309 0416 0288
K523 05870208 152 162 0209 0270 0860 0117 0260 0841 0035 0680 0061 0418 0857
0292 0312 0186 0150 0840 0403 0183 0718 0204 0353 0278
K523 05870210 012 022 0207 0285 0852 0521 0311 0841 0035 0586 0142 0841 0848
0286 0379 0326 0214 0794 0447 0247 0603 0245 0322 0322
K523 05870210 032 042 0226 0284 0874 0523 0370 0885 0033 0619 0150 0827 0859
0220 0296 0205 0131 0819 0321 0169 0546 0176 0310 0333
K523 05870210 052 062 0323 0409 1005 0968 0464 0963 0023 0729 0210 0932 0950
0357 0478 0439 0186 0936 0519 0352 0770 0452 0478 0550
K523 05870210 072 082 0319 0424 1001 0979 0487 0983 0024 0729 0251 0979 0954
0278 0393 0276 0170 0399 0374 0252 0746 0274 0395 0567
K523 05870211 012 022 0106 0171 0947 0173 0156 0915 0020 0516 0095 0663 0850
0225 0334 0182 0148 0928 0397 0244 0499 0180 0343 0281
K523 05870211 032 042 0117 0178 0941 0232 0173 0934 0016 0552 0131 0732 0930
0209 0314 0133 0370 0914 0341 0201 0447 0190 0302 0274
K523 05870211 052 062 0127 0152 0911 0114 0187 0919 0010 0505 0084 0684 0895
0205 0323 0184 0199 0862 0430 0238 0462 0149 0354 0232
K523 05870211 072 082 0082 0138 0912 0096 0142 0940 0042 0483 0082 0560 0858
0200 0284 0132 0149 0869 0365 0197 0450 0217 0330 0266
K523 05870211 112 122 0167 0154 0929 0181 0216 0909 0138 0484 0105 0933 0894
0198 0319 0173 0097 0872 0447 0227 0457 0142 0339 0275
K523 05870211 132 142 0113 0136 0920 0157 0265 0928 0152 0497 0119 0853 0884
0183 0174 0065 0065 0876 0337 0113 0439 0155 0170 0162
K523 05870212 012 022 0072 0178 0932 0072 0073 0928 0014 0456 0191 0563 0932
0186 0259 0099 0186 0896 0327 0194 0533 0171 0204 0172
K523 05870212 032 042 0087 0176 0934 0092 0068 0927 0007 0486 0192 0486 0956
0183 0174 0065 0065 0876 0387 0113 0439 0155 0170 0162
K523 05870212 052 062 0078 0179 0947 0073 0061 0936 0021 0483 0134 0512 0936
0183 0232 0096 0170 0907 0375 0192 0564 0165 0177 0178
K523 05870212 072 082 0087 0183 0936 0093 0117 0958 0015 0508 0144 0342 0933
0181 0178 0079 0126 0879 0408-0017 0498 0153 0123 0153
K523 05870212 092 102 0094 0148 0942 0090 0050 0923 0028 0490 0190 0770 0946
0161 0256 0085 0129 0983 0464 0169 0592 0157 0173 0192
K523 05870212 112 122 0052 0142 0931 0058 0042 0920 0040 0522 0154 0632 0942
0181 0200 0059 0250 0912 0222 0097 0504 0161 0208 0196
K523 05870212 132 142 0102 0281 0981 0294 0130 0940 0015 0621 0156 0639 0964
0192 0313 0248 0295 0905 0347 0250 0640 0175 0222 0173
K523 05870212 152 162 0082 0166 0991 0275 0069 0999 0005 0632 0145 0464 0983
0161 0236 0132 0446 0950 0301 0176 0611 0171 0140 0162
K523 05870213 012 022 0090 0135 0940 0102 0047 0928 0026 0492 0101 0674 0886
0186 0287 0193 0103 0854 0301 0215 0586 0116 0189 0206
K523 05870213 032 042 0082 0142 0949 0111 0111 0925 0028 0513 0122 0651 0945
0205 0266 0138 0257 0918 0310 0225 0598 0188 0185 0221
K523 05870213 052 062 0105 0162 0976 0105 0145 0951 0001 0545 0155 0846 0911
0185 0307 0170 0254 0916 0418 0231 0633 0146 0207 0238
K523 05870213 072 082 0102 0181 0957 0125 0162 0960 0019 0578 0157 0890 0972
0173 0231 0062 0243 0894 0354 0184 0554 0160 0153 0220
K523 05870213 092 102 0117 0164 0915 0131 0195 0911 0010 0557 0117 0766 0849
0171 0287 0162 0236 0854 0255 0193 0628 0120 0277 0251
K523 05870213 112 122 0081 0155 0957 0105 0150 0948 0011 0590 0123 0748 0944
0184 0222 0054 0140 0871 0278 0165 0574 0174 0234 0239
K523 05370213 132 142 0096 0201 0972 0013 0082 0968 0027 0535 0079 0876 0964
0187 0255 0125 0125 0936 0357 0151 0618 0138 0251 0253
K523 05870213 152 162 0074 0129 0939 0016 0057 0971 0015 0521 0121 0634 0947
0181 0223 0063 0127 0888 0357 0111 0575 0147 0178 0193
K570 05870205 012 022 0472 0658 1049 1013 1104 1129 0448 0776 0159 0683 1110
0317 0354 0363 0195 1088 1238 0259 0562 0113 0536 0225

K570 05870205 032 052 0474 0627 1074 1004 1136 1142 C474 0804 0240 0723 1090
0254 0257 0297 0084 1063 1167 0227 0518 0073 0553 0240
K570 05870207 032 042 0347 0411 0991 0939 0274 1042 0034 0783 0048 0548 1009
0203 0276 0203 0037 1016 1099 0213 0410 0023 0286 0159
K570 05870207 072 082 0482 0561 1007 0956 0418 1052 0127 0732 0171 0678 0970
0323 0296 0261 0018 1017 1200 0180 0454 0047 0296 0246
K570 05870207 092 102 0527 0556 0984 0937 0420 1040 0218 0759 0151 0759 0964
0360 0331 0327 0104 4030 1136 0237 0533 0121 0364 0256
K570 05870207 212 222 0440 0456 0993 0915 0399 1059 C132 0817 0110 0427 1156
0434 0342 0263 0074 0999 1216 0284 0565 0123 0507 0242
K570 05870207 232 242 0427 0463 0963 0884 0419 1021 0153 0802 0136 0403 0943
0417 0365 0263 0129 1005 1238 0267 0542 0103 0490 0267
K570 05870208 012 022 0404 0437 0887 0784 0393 0998 0063 0691 0002 0229 0922
0474 0332 0239 0154 0987 1191 0221 0427 0017 0395 0140
K570 05870208 032 042 0444 0394 0908 0798 0371 0993 0049 0694-0040 0256 0950
0413 0332 0226 0111 0961 1170 0233 0484 0052 0452 0192
K570 05870208 052 062 0417 0546 0922 0859 0369 1001 0045 0698 0009 0289 0931
0443 0288 0213 0110 0958 1191 0207 0453 0059 0401 0183
K570 05870208 072 082 0419 0412 0897 0821 0437 0972 0098 0700 0051 0334 0962
0411 0273 0197 0063 0934 1165 0173 0445 0009 0411 0163
K570 05870208 092 102 0397 0414 0869 0791 0383 0948 C116 0712 0098 0324 0904
0434 0347 0273 0167 0965 1173 0282 0495 0156 0511 0243
K570 05870208 112 122 0452 0459 0880 0827 0514 0977 0203 0698 0192 0383 0949
0589 0328 0219 0035 0919 1109 0196 0450 0061 0456 0160
K570 05870208 132 142 0391 0451 0888 0830 0398 0960 0107 0726 0105 0237 0884
0434 0335 0288 0122 0943 1125 0261 0492 0093 0446 0188
K570 05870208 152 162 0466 0438 0877 0850 0430 0987 0109 0740 0075 0296 0933
0381 0305 0221 0000 0967 1139 0227 0459 0049 0430 0149
K570 05870210 012 022 0438 0446 0944 0939 0438 1057 0046 0736 0034 0499 0957
0391 0324 0250 0139 1006 1142 0205 0475 0024 0363 0139
K570 05870210 032 042 0449 0430 0952 0956 0460 1052 0053 0779 0038 0443 1005
0312 0282 0195 0039 1051 1100 0198 0449 0036 0367 0186
K570 05870210 052 062 0435 0475 0977 0949 0455 1064 0118 0778 0126 0551 0995
0389 0363 0324 0189 1000 1129 0282 0523 0143 0475 0270
K570 05870210 072 082 0436 0463 0973 0956 0492 1057 0134 0793 0175 0553 0996
0320 0315 0258 0100 1017 1112 0240 0491 0071 0420 0238
K570 05870211 012 022 0346 0434 0940 0933 0379 1045 0081 0752 0092 0401 0978
0348 0340 0284 0120 1037 1089 0266 0463 0088 0419 0180
K570 05870211 032 042 0369 0393 0968 0950 0377 1058 0078 0761 0076 0373 0995
0285 0305 0210 0105 1031 1089 0225 0369 0034 0356 0162
K570 05870211 052 062 0420 0411 0955 0900 0397 1036 0099 0715 0097 0395 0972
0314 0304 0272 0121 0988 1050 0244 0456 0074 0379 0185
K570 05870211 072 082 0376 0374 0933 0907 0356 1003 0072 0711 0067 0342 0952
0262 0255 0192 0038 0982 1063 0216 0402 0050 0345 0184
K570 05870211 112 122 0425 0412 0974 0949 0388 1050 0304 0737 0093 0463 0992
0320 0293 0256 0100 1019 1093 0230 0468 0074 0416 0197
K570 05870211 132 142 0402 0423 0989 0957 0411 1057 0285 0751 0090 0425 0989
0329 0312 0250 0077 1030 1134 0252 0471 0072 0409 0218
K570 05870212 012 022 0370 0462 0960 0960 0417 1064 0072 0772 0095 0491 1024
0418 0365 0318 0092 1046 1122 0281 0532 0094 0457 0209
K570 05870212 032 042 0409 0431 0988 0984 0421 1074 0094 0791 0123 0484 1047
0329 0312 0250 0077 1030 1134 0252 0471 0072 0409 0218
K570 05870212 052 062 0428 0441 0990 0981 0420 1083 0071 0770 0086 0542 1045
0404 0354 0312 0144 1046 1162 0271 0527 0100 0422 0233
K570 05870212 072 082 0399 0434 0983 0983 0446 1073 0075 0793 0099 0460 1008
0287 0307 0235 0064 1021 1078 0029 0500 0048 0364 0201
K570 05870212 092 102 0475 0479 0993 0988 0399 1064 0042 0763 0040 0485 1033
0396 0327 0301 0100 1038 1115 0220 0503 0066 0442 0203
K570 05870212 112 122 0412 0414 0977 0968 0372 1062 0050 0759 0054 0435 1016
0326 0275 0243 0064 1028 1049 0222 0463 0055 0407 0220
K570 05870212 132 142 0443 0448 0970 0965 0414 1070 0062 0760 0074 0466 0988
0378 0312 0277 0081 0987 1033 0230 0507 0053 0384 0207
K570 05870212 152 162 0395 0412 0994 0969 0402 1069 0074 0794 0091 0477 1029
0331 0309 0231 0078 1041 1156 0242 0518 0048 0404 0242
K570 05870213 012 022 0472 0462 0981 0945 0400 1057 0109 0770 0104 0513 0970
0381 0400 0365 0195 1024 1069 0318 0505 0144 0470 0236
K570 05870213 032 042 0467 0486 0977 0956 0419 1061 0127 0768 0120 0470 0982
0325 0312 0287 0126 1008 1086 0256 0464 0090 0449 0334
K570 05870213 052 062 0550 0520 0974 0942 0451 1087 0130 0753 0108 0487 0937
0368 0365 0326 0210 1003 1120 0282 0483 0099 0419 0255
K570 05870213 072 082 0522 0489 0995 0940 0441 1074 0144 0790 0149 0463 1000
0283 0277 0231 0120 0978 1064 0239 0441 0066 0366 0252

K570 05870213 092 102 0527 0520 0951 0904 0394 1022 0120 0738 0112 0524 0904
0336 0300 0297 0197 0976 1050 0224 0473 0094 0444 0254
K570 05870213 112 122 0498 0482 0997 0952 0437 1076 0121 0768 0144 0469 1013
0293 0297 0245 0135 1025 1101 0245 0463 0075 0407 0306
K570 05870213 132 142 0523 0557 1015 0972 0454 1119 0114 0779 0124 0479 1066
0356 0341 0304 0163 1052 1158 0273 0540 0111 0459 0284
K570 05870213 152 162 0462 0472 1011 0961 0434 1079 0086 0767 0066 0382 1026
0316 0277 0263 0122 0978 1109 0225 0475 0031 0418 0245
K601 05870205 012 022 0037 0302 0384-0064 0625 1102 0234 0511 0546 0720 1085
0129 1122 0352 0317 0058 0498 1035 0517 0742 0560 0575
K601 05870205 032 052 0250 0483 0543 0174 0729 1125 0444 0620 0625 0796 1132
0003 1130 0314 0231-0042 0536 0970 0472 0700 0513 0560
K601 05870207 032 042 0253 0478 0651 0183 0345 1025 0119 0681 0497 0604 0989
0081 1118 0315 0084 0002 0431 1084 0516 0738 0516 0487
K601 05870207 072 082 0271 0448 0751 0203 0429 1082 0080 0805 0410 0751 1000
0353 1248 0364 0209 0077 0444 1181 0529 0699 0605 0638
K601 05870207 092 102 0289 0479 0671 0169 0413 1096 0037 0791 0451 0743 1079
0353 1236 0347 0196 0099 0414 1170 0539 0716 0602 0642
K601 05870207 112 122 0294 0484 0652 0183 0356 1058 0075 0763 0571 0744 0990
0163 1108 0321 0121 0102 0413 1055 0558 0711 0591 0630
K601 05870207 132 142 0243 0459 0717 0145 0339 1047 0078 0751 0506 0761 0996
0117 1138 0365 0125 0041 0422 1076 0556 0726 0572 0620
K601 05870208 012 022 0265 0439 0469 0113 0313 0992 0027 0641 0168 0146 0856
0325 1098 0267 0217 0061 0514 0945 0545 0744 0657 0565
K601 05870208 032 042 0231 0479 0531 0189 0346 1036 0085 0658 0205 0202 0924
0306 1109 0289 0167 0074 0499 0926 0561 0735 0662 0526
K601 05870208 052 062 0262 0482 0498 0123 0334 1052 0048 0675 0244 0215 0898
0311 1029 0260 0141 0096 0504 0824 0519 0679 0637 0458
K601 05870208 072 082 0240 0436 0509 0145 0284 0988 0044 0649 0203 0216 0875
0219 1023 0260 0127-0027 0503 0917 0510 0690 0616 0469
K601 05870208 092 102 0165 0398 0442 0104 0274 0971 0025 0638 0187 0177 0782
0313 1043 0310 0231 0154 0530 0982 0571 0706 0686 0583
K601 05870208 112 122 0224 0423 0519 0166 0372 0960 0134 0663 0254 0247 0779
0296 1019 0280 0185 0135 0505 0747 0542 0672 0639 0550
K601 05870208 132 142 0209 0409 0406 0136 0262 0981 0002 0646 0217 0217 0890
0256 1043 0253 0111 0036 0475 0729 0517 0673 0652 0460
K601 05870208 152 162 0251 0426 0474 0162 0373 0985 0111 0684 0221 0221 0926
0238 1083 0250 0093-0002 0519 0930 0557 0697 0635 0516
K601 05870210 012 022 0179 0435 0955 0272 0315 1024 0003 0589 0465 0483 0955
0252 1140 0432 0139 0132 0478 1083 0540 0698 0609 0569
K601 05870210 032 042 0249 0506 0917 0346 0417 1111 0053 0652 0454 0545 1021
0146 1153 0390 0094 0007 0492 0994 0497 0661 0590 0507
K601 05870210 052 062 0212 0453 0909 0302 0362 1045 0044 0636 0484 0492 0969
0226 1116 0402 0091 0164 0502 0963 0526 0641 0625 0575
K601 05870210 072 082 0208 0455 0931 0325 0393 1061 0044 0638 0473 0446 0969
0046 1148 0310-0037-0081 0398 1069 0462 0622 0604 0489
K601 05870211 012 022 0199 0487 0967 0277 0378 1109 0078 0704 0548 0548 1019
0205 1201 0343 0144 0003 0479 0564 0559 0768 0705 0559
K601 05870211 032 042 0217 0469 0974 0315 0384 1137 0086 0739 0432 0499 1041
0188 1203 0363 0196-0009 0500 0786 0546 0792 0702 0607
K601 05870211 052 062 0226 0445 0914 0250 0315 1058 0050 0662 0453 0405 0972
0178 1163 0352 0033-0007 0427 0521 0437 0666 0632 0476
K601 05870211 072 082 0152 0498 0882 0225 0310 1051 0012 0623 0371 0383 0992
0157 1144 0325 0112-0040 0411 0753 0485 0695 0640 0516
K601 05870211 112 122 0195 0425 0910 0220 0317 1026 0454 0684 0328 0446 0756
0185 1181 0423 0151 0068 0459 0761 0482 0695 0674 0524
K601 05870211 132 142 0208 0413 0922 0201 0347 1080 0400 0666 0327 0434 0819
0094 1160 0273 0121 0000 0464 0833 0507 0736 0650 0457
K601 05870212 012 022 0239 0489 0511 0259 0355 1046 0132 0706 0536 0502 0915
0151 1157 0362 0132-0008 0502 1030 0517 0733 0639 0596
K601 05870212 032 042 0235 0469 0499 0184 0334 1073 0041 0683 0391 0491 0974
0094 1160 0273 0121-0106 0464 0833 0507 0736 0650 0457
K601 05870212 052 062 0226 0451 0447 0237 0321 1046 0061 0689 0544 0509 1020
0179 1140 0365 0101 0036 0539 0808 0535 0699 0635 0543
K601 05870212 072 082 0198 0427 0431 0192 0296 1045 0007 0677 0457 0471 0989
0088 1070 0243 0107-0101 0505 0621 0508 0693 0593 0408
K601 05870212 092 102 0251 0465 0468 0269 0296 1063 0374 0722 0536 0581 1047
0171 1199 0310 0123 0090 0479 0733 0606 0774 0681 0578
K601 05870212 112 122 0179 0399 0430 0179 0249 1058 0031 0688 0470 0490 0952
0116 1175 0306 0148-0042 0480 0758 0571 0767 0686 0439
K601 05870212 132 142 0227 0474 0478 0247 0305 1050 0042 0723 0589 0505 0972
0149 1117 0322 0123 0026 0454 0286 0549 0708 0628 0491

K601 05870212 152 162 0233 0448 0486 0230 0316 1064 0029 0717 0545 0476 0977
-0067 1258 0240-0049-0278 0393 1131 0472 0704 0592 0334
K601 05870213 012 022 0247 0482 0619 0213 0372 1033 0034 0670 0399 0453 0914
0249 1108 0381 0198 0160 0439 0731 0531 0695 0635 0620
K601 05870213 032 042 0253 0463 0652 0234 0388 1050 0115 0716 0380 0419 0829
0171 1162 0363 0190 0025 0375 1085 0524 0725 0623 0623
K601 05870213 052 062 0278 0493 0717 0175 0357 1092 0048 0717 0397 0497 1015
0234 1172 0355 0177 0129 0443 1082 0516 0692 0626 0615
K601 05870213 072 082 0294 0495 0709 0243 0423 1135 0132 0773 0386 0549 1021
0176 1121 0348 0179 0009 0406 1046 0517 0693 0617 0583
K601 05870213 092 102 0268 0474 0571 0179 0348 1032 0071 0707 0407 0526 0914
0213 1074 0307 0164 0107 0448 0854 0510 0647 0588 0561
K601 05870213 112 122 0264 0434 0612 0210 0378 1104 0084 0758 0378 0479 0990
0173 1155 0331 0222 0025 0418 0792 0540 0727 0637 0579
K601 05870213 132 142 0261 0426 0677 0173 0341 1071 0053 0724 0387 0457 0829
0211 1090 0279 0160 0105 0441 0931 0562 0688 0624 0600
K602 05870205 012 022 0222 0457 0909 0105 0551 1016 0516 0715 0778 0853 0997
0204 1130 0267 0347 0050 0482 0801 0743 0851 0569 0719
K602 05870205 032 052 0222 0450 0917 0110 0791 1027 0534 0716 0795 0835 0995
0189 1080 0229 0307 0050 0464 0610 0725 0837 0560 0704
K602 05870207 032 042 0179 0425 0898 0096 0220 0978 0030 0752 0797 0837 0996
0157 1078 0131 0073-0058 0367 0546 0701 0831 0501 0673
K602 05870207 072 082 0277 0526 0912 0229 0383 1000 0112 0798 0798 0866 0907
0214 1127 0309 0167 0009 0342 0813 0753 0822 0568 0986
K602 05870207 092 102 0269 0496 0895 0159 0335 0956 0062 0792 0801 0847 0966
0242 1140 0358 0142 0106 0678 0890 0772 0820 0602 0789
K602 05870207 212 222 0219 0449 0913 0103 0272 0998 0045 0805 0742 0347 1088
0305 1027 0238 0044 0020 0502 0521 0786 0786 0682 0717
K602 05870207 232 242 0260 0445 0858 0149 0331 0941 0080 0799 0696 0368 0934
0271 1071 0197 0233-0041 0525 0437 0779 0834 0668 0742
K602 05870208 012 022 0279 0456 0814 0109 0316 0937 0019 0688 0623 0224 0881
0309 1030 0263 0313 0029 0430 0519 0723 0792 0627 0710
K602 05870208 032 042 0275 0438 0813 0105 0314 0928 0032 0692 0640 0213 0891
0274 1052 0158 0090-0042 0419 0400 0716 0791 0598 0660
K602 05870208 052 062 0216 0412 0779 0069 0239 0897 0005 0674 0628 0221 0841
0288 0978 0245 0051 0028 0392 0497 0692 0749 0621 0662
K602 05870208 072 082 0258 0413 0785 0096 0298 0878 0055 0679 0620 0270 0867
0278 1009 0204 0080-0012 0395 0409 0687 0760 0616 0661
K602 05870208 092 102 0160 0336 0706 0048 0191 0861 0017 0654 0567 0172 0836
0279 1021 0248 0140 0039 0429 0481 0712 0757 0648 0682
K602 05870208 112 122 0254 0440 0771 0150 0359 0891 0128 0692 0631 0326 0833
0286 0988 0193 0030-0017 0390 0413 0696 0752 0596 0639
K602 05870208 132 142 0192 0392 0773 0083 0243 0894 0005 0659 0593 0194 0884
0290 0978 0242 0107 0020 0428 0485 0701 0755 0644 0666
K602 05870208 152 162 0208 0392 0792 0076 0261 0913 0045 0694 0599 0202 0866
0255 1031 0137 0074-0062 0420 0336 0681 0770 0599 0705
K602 05870210 012 022 0229 0447 0851 0235 0258 0938 0015 0710 0634 0385 0869
0250 0766 0287 0143 0048 0361 0376 0724 0766 0569 0724
K602 05870210 032 042 0239 0472 0866 0284 0307 0948 0019 0717 0643 0351 0888
0188 0789 0120 0089-0055 0308 0266 0682 0789 0559 0706
K602 05870210 052 062 0233 0441 0872 0226 0291 0928 0038 0724 0670 0382 0996
0243 0890 0274 0065 0071 0348 0367 0728 0778 0619 0737
K602 05870210 072 082 0241 0449 0877 0258 0317 0944 0016 0738 0677 0393 0880
0190 0900 0149 0103-0051 0311 0257 0710 0789 0591 0692
K602 05870211 012 022 0184 0400 0879 0166 0242 0952 0013 0714 0659 0318 0894
0252 1077 0252 0148 0026 0357 0399 0742 0825 0636 0761
K602 05870211 032 042 0184 0416 0882 0191 0269 0970 0016 0710 0647 0320 0931
0190 0993 0134 0162-0051 0384 0280 0719 0812 0589 0719
K602 05870211 052 062 0203 0419 0890 0194 0267 0957 0013 0713 0647 0397 0934
0240 0908 0230 0068 0016 0334 0368 0710 0787 0598 0719
K602 05870211 072 082 0177 0394 0891 0175 0249 0950 0024 0698 0632 0333 0962
0183 0927 0141-0009-0053 0351 0261 0698 0786 0576 0707
K602 05870211 112 122 0185 0393 0893 0174 0233 0975 0437 0727 0659 0451 0636
0234 0884 0228 0035 0008 0345 0351 0703 0818 0627 0749
K602 05870211 132 142 0190 0387 0891 0151 0255 0957 0430 0718 0641 0394 0685
0168 1047 0082 0040 0000 0332 0322 0693 0819 0571 0687
K602 05870212 012 022 0193 0401 0761 0090 0217 0937 0011 0713 0710 0532 0929
0235 1033 0191 0043 0022 0391 0452 0720 0794 0605 0714
K602 05870212 032 042 0209 0430 0763 0119 0267 0958 0004 0718 0729 0499 0951
0168 1047 0082 0040-0065 0332 0322 0693 0819 0571 0687
K602 05870212 052 062 0210 0434 0858 0093 0234 0995 0014 0770 0779 0568 1080
0230 1089 0202 0100 0020 0428 0529 0761 0870 0649 0774

K602 05870212 072 082 0200 0428 0839 0098 0258 1008 C032 0762 0775 0617 1000
0162 1051 0082 0066-0060 0339-0013 0823 0830 0566 0667
K602 05870212 092 102 0239 0449 0784 0118 0273 0948 C009 0762 0784 0799 0971
0232 0996 0220 0055 0018 0365 0448 0758 0839 0636 0734
K602 05870212 112 122 0203 0413 0757 0094 0242 0979 C028 0739 0770 0669 0948
0162 1074 0084 0116-0062 0253 0328 0729 0841 0589 0682
K602 05870212 132 142 0227 0498 0835 0134 0255 0994 C032 0769 0811 0681 0928
0244 1087 0207 0134 0024 0316 0540 0739 0843 0618 0679
K602 05870212 152 162 0203 0419 0821 0116 0240 0995 C008 0769 0801 0668 0979
0164 1149 0089 0106-0086 0321 0484 0742 0892 0598 0646
K602 05870213 012 022 0273 0436 0851 0122 0285 0947 C053 0688 0725 0638 0904
0243 1071 0304 0167 0106 0368 0563 0726 0820 0608 0754
K602 05870213 032 042 0277 0477 0858 0174 0343 0954 C050 0728 0740 0650 0938
0185 1003 0156 0171-0047 0278 0455 0719 0850 0593 0750
K602 05870213 052 062 0253 0440 0890 0117 0288 0974 C015 0739 0757 0708 0961
0230 1096 0317 0165 0112 0388 0707 0751 0850 0622 0771
K602 05870213 072 082 0264 0465 0887 0179 0340 0996 C053 0764 0783 0705 0983
0180 1033 0128-0029-0050 0328 0506 0706 0841 0565 0712
K602 05870213 092 102 0274 0470 0860 0104 0286 0903 C041 0725 0748 0664 0868
0213 1025 0262 0231 0072 0340 0679 0739 0817 0609 0742
K602 05870213 112 122 0260 0456 0866 0154 0319 0969 C001 0758 0758 0652 0937
0181 1056 0141 0131-0037 0311 0474 0714 0848 0591 0720
K602 05870213 132 142 0305 0463 0905 0126 0305 0973 C045 0769 0769 0666 0965
0223 1136 0262 0116 0068 0384 0837 0763 0869 0654 0754
K602 05870213 152 162 0245 0455 0899 0135 0288 0984 C011 0743 0771 0644 0968
0209 1091 0177 0081-0016 0328 0449 0722 0834 0593 0722
K603 05870205 012 022 0384 0566 0985 0288 0804 0974 C621 0683 0481 0528 0996
0345 0512 0362 0408 0187 0553 0349 0663 0800 0605 0702
K603 05870205 032 052 0393 0577 0989 0313 0942 0989 0639 0689 0502 0509 0983
0234 0449 0216 0234 0057 0507 0275 0651 0811 0560 0664
K603 05870207 032 042 0343 0557 0910 0288 0404 0910 C044 0641 0514 0623 0914
0229 0430 0171 0103-0004 0375 0204 0635 0780 0517 0703
K603 05870207 072 082 0399 0577 0925 0330 0470 0885 C078 0699 0678 0756 0785
0332 0423 0274 0205 0023 0366 0260 0623 0761 0576 0703
K603 05870207 092 102 0365 0586 0918 0255 0415 0865 C017 0702 0643 0757 0888
0372 0388 0315 0198 0106 0382 0295 0624 0747 0605 0720
K603 05870207 212 222 0421 0584 0969 0317 0396 0938 C019 0733 0437 0362 0988
0412 0390 0283 0036 0071 0492 0294 0664 0695 0669 0669
K603 05870207 232 242 0424 0582 0915 0324 0414 0870 C074 0721 0448 0362 0874
0394 0449 0242 0232-0004 0546 0265 0713 0775 0647 0727
K603 05870203 012 022 0406 0569 1004 0277 0350 0960 C072 0675 0260 0144 0941
0445 0410 0294 0310 0048 0471 0262 0658 0754 0668 0708
K603 05870208 032 042 0423 0534 0974 0213 0368 0940 C086 0691 0259 0112 0951
0392 0423 0253 0153 0011 0441 0266 0702 0797 0658 0460
K603 05870208 052 062 0347 0518 0893 0216 0328 0870 C054 0643 0328 0210 0879
0389 0331 0242 0006 0018 0450 0242 0581 0667 0590 0612
K603 05870208 072 082 0356 0492 0874 0256 0327 0815 C036 0634 0372 0233 0896
0366 0389 0236 0091 0020 0460 0233 0608 0679 0612 0639
K603 05870208 092 102 0331 0506 0872 0211 0326 0854 C000 0663 0348 0213 0872
0405 0418 0323 0254 0126 0499 0351 0658 0713 0697 0686
K603 05870208 112 122 0388 0519 0905 0318 0428 0813 C066 0679 0410 0311 0910
0410 0422 0281 0099 0039 0449 0279 0647 0682 0647 0647
K603 05870208 132 142 0373 0557 0931 0271 0378 0897 C008 0713 0316 0276 0877
0395 0481 0339 0212 0130 0488 0357 0669 0700 0700 0700
K603 05870208 152 162 0060 0587 0899 0320 0388 0920 C064 0744 0345 0298 0920
0358 0432 0254 0114 0026 0452 0273 0675 0731 0675 0724
K603 05870210 012 022 0266 0526 0845 0303 0300 0880 C039 0540 0319 0262 0837
0291 0366 0220 0128 0032 0332 0262 0553 0738 0481 0608
K603 05870210 032 042 0297 0544 0852 0302 0397 0907 C008 0564 0365 0273 0864
0235 0320 0104 0121-0078 0333 0172 0568 0746 0470 0584
K603 05870210 052 062 0289 0571 0884 0273 0339 0909 C012 0598 0401 0368 0880
0269 0362 0234 0034 0078 0312 0280 0593 0743 0563 0630
K603 05870210 072 082 0304 0538 0889 0307 0379 0922 C044 0610 0425 0364 0857
0242 0313 0122 0110-0034 0328 0202 0591 0735 0511 0628
K603 05870211 012 022 0245 0509 0905 0190 0296 0956 C012 0592 0375 0281 0867
0294 0400 0203 0151 0037 0444 0283 0630 0819 0552 0660
K603 05870211 032 042 0272 0537 0907 0221 0332 0958 C016 0596 0430 0292 0899
0250 0367 0102 0208-0055 0369 0200 0610 0805 0484 0636
K603 05870211 052 062 0276 0509 0878 0207 0317 0912 C010 0577 0361 0274 0897
0284 0362 0175 0107 0013 0330 0231 0579 0731 0512 0593
K603 05870211 072 082 0264 0508 0859 0205 0324 0921 C006 0569 0346 0229 0905
0243 0330 0100 0014-0045 0342 0204 0587 0746 0503 0636

K6C3 05870211 112 122 0302 0510 0878 0248 0331 0933 0502 0611 0372 0313 0653
0284 0376 0195 0081 0012 0369 0257 0593 0749 0542 0652
K6C3 05870211 132 142 0265 0516 0862 0259 0339 0931 0503 0617 0368 0275 0612
0252 0354 0098 0049 0000 0395 0215 0614 0802 0562 0668
K6C3 05870212 012 022 0317 0535 0855 0196 0352 0922 0010 0651 0428 0313 0985
0294 0439 0223 0105 0089 0314 0290 0628 0788 0612 0685
K6C3 05870212 032 042 0329 0555 0859 0217 0396 0936 0034 0647 0456 0291 0949
0252 0354 0098 0049 0059 0395 0215 0614 0802 0562 0668
K6C3 05870212 052 062 0356 0543 0865 0211 0356 0938 0015 0677 0438 0317 0977
0287 0354 0215 0087 0058 0402 0282 0654 0801 0625 0701
K6C3 05870212 072 082 0335 0554 0859 0216 0364 0944 0024 0675 0459 0286 0965
0245 0509 0090 0083 0061 0397 0022 0641 0763 0540 0632
K6C3 05870212 092 102 0316 0540 0785 0228 0373 0911 0001 0662 0465 0360 0994
0273 0416 0215 0107 0043 0335 0292 0656 0773 0627 0692
K6C3 05870212 112 122 0308 0537 0795 0200 0350 0922 0005 0660 0455 0345 0935
0248 0344 0105 0178 0032 0357 0213 0635 0777 0574 0670
K6C3 05870212 132 142 0323 0555 0844 0236 0379 0950 0026 0686 0506 0304 0954
0266 0421 0189 0132 0013 0309 0248 0635 0770 0577 0677
K6C3 05870212 152 162 0297 0546 0863 0200 0337 0960 0006 0690 0498 0286 0977
0265 0418 0123 0247 0065 0328 0201 0668 0815 0565 0692
K6C3 05870213 012 022 0348 0529 0883 0248 0363 0902 0019 0604 0387 0308 0883
0269 0343 0272 0197 0119 0310 0295 0590 0751 0594 0664
K6C3 05870213 032 042 0358 0549 0884 0279 0427 0903 0070 0625 0427 0332 0912
0244 0347 0172 0220 0012 0251 0242 0632 0803 0609 0690
K6C3 05870213 052 062 0347 0514 0926 0263 0380 0905 0002 0635 0424 0360 0931
0285 0402 0291 0182 0134 0310 0303 0618 0775 0606 0671
K6C3 05870213 072 082 0358 0556 0934 0294 0410 0934 0056 0676 0455 0364 0949
0239 0364 0161 0017 0011 0297 0218 0625 0776 0578 0664
K6C3 05870213 092 102 0312 0554 0888 0323 0397 0902 0053 0693 0487 0383 0740
0271 0425 0292 0289 0119 0331 0284 0634 0763 0637 0634
K6C3 05870213 112 122 0382 0566 0884 0318 0447 0973 0060 0698 0484 0371 0849
0241 1772 0139 0154 0000 0342 0243 0640 0797 0621 0699
K6C3 05870213 132 142 0412 0581 0957 0246 0415 0967 0023 0733 0425 0354 0947
0259 0442 0265 0177 0096 0310 0287 0663 0793 0675 0722
K6C3 05870213 152 162 0368 0577 0953 0254 0417 0976 0043 0697 0441 0330 0939
0250 0361 0205 0119 0003 0356 0241 0638 0779 0602 0689
K6C4 05870205 012 022 0216 0455 0656 0190 0610 0973 0585 0808 0824 0858 0580
0177 0400 0349 0376 0106 0627 0245 0683 0778 0643 0760
K6C4 05870205 032 052 0205 0439 0640 0184 0762 0980 0601 0819 0835 0868 0473
0150 0302 0212 0218 0017 0379 0134 0636 0778 0592 0755
K6C4 05870207 032 042 0145 0369 0500 0157 0089 0942 0000 0733 0800 0825 0447
0136 0270 0162 0043 0018 0298 0103 0578 0749 0523 0606
K6C4 05870207 072 082 0244 0457 0574 0266 0195 0911 0049 0706 0790 0820 0560
0173 0367 0297 0185 0019 0347 0206 0633 0738 0620 0719
K6C4 05870207 092 102 0229 0461 0562 0241 0176 0931 0021 0727 0810 0835 0573
0171 0388 0336 0143 0033 0344 0240 0620 0732 0648 0742
K6C4 05870207 212 222 0181 0388 0452 0163 0096 0927 0032 0733 0764 0571 0738
0248 0373 0263 0048 0042 0529 0206 0652 0721 0718 0690
K6C4 05870207 232 242 0187 0400 0487 0204 0135 0896 0057 0726 0752 0610 0603
0235 0357 0208 0151 0005 0516 0154 0644 0757 0687 0653
K6C4 05870208 012 022 0260 0467 0654 0223 0161 0940 0011 0754 0754 0578 0511
0271 0395 0307 0335 0019 0391 0202 0660 0747 0753 0721
K6C4 05870208 032 042 0249 0455 0646 0202 0142 0938 0016 0756 0756 0553 0531
0244 0312 0241 0057 0000 0369 0165 0672 0758 0720 0677
K6C4 05870208 052 062 0212 0406 0555 0139 0105 0891 0026 0718 0713 0576 0518
0248 0364 0292 0036 0023 0432 0213 0607 0684 0720 0692
K6C4 05870208 072 082 0265 0427 0591 0229 0198 0881 0016 0709 0718 0622 0558
0243 0350 0260 0029 0014 0425 0185 0630 0690 0700 0667
K6C4 05870208 092 102 0158 0357 0435 0117 0088 0882 0010 0732 0710 0553 0506
0258 0364 0291 0166 0045 0459 0229 0636 0711 0721 0711
K6C4 05870208 112 122 0227 0434 0552 0245 0223 0871 0073 0713 0713 0641 0584
0235 0350 0258 0064 0024 0449 0175 0628 0698 0690 0644
K6C4 05870208 132 142 0183 0408 0526 0161 0104 0931 0018 0760 0734 0473 0520
0244 0407 0307 0142 0068 0498 0247 0655 0733 0760 0713
K6C4 05870208 152 162 0044 0417 0543 0183 0161 0931 0052 0775 0733 0506 0559
0253 0370 0250 0081 0034 0432 0179 0656 0760 0717 0668
K6C4 05870210 012 022 0184 0418 0759 0219 0129 0942 0009 0737 0793 0787 0466
0205 0375 0279 0105 0044 0355 0206 0643 0748 0651 0721
K6C4 05870210 032 042 0178 0410 0758 0238 0131 0975 0002 0758 0806 0809 0519
0176 0327 0198 0060 0025 0273 0138 0620 0763 0638 0703
K6C4 05870210 052 062 0189 0424 0779 0224 0131 0985 0003 0773 0806 0809 0501
0202 0375 0285 0037 0066 0362 0228 0669 0769 0716 0775

K604 05870210 072 082 0184 0406 0770 0218 0156 0982 0016 0764 0826 0826 0513
0185 0326 0228 0065 0027 0301 0164 0652 0552 0640 0739
K604 05870211 012 022 0147 0397 0786 0203 0088 0968 0014 0710 0789 0742 0561
0192 0339 0242 0114 0072 0349 0202 0634 0797 0675 0723
K604 05870211 032 042 0159 0390 0763 0214 0110 0978 0009 0706 0801 0753 0538
0188 0319 0177 0177 0024 0310 0139 0597 0790 0628 0667
K604 05870211 052 062 0178 0374 0755 0174 0090 0961 0013 0688 0780 0738 0554
0189 0347 0197 0079 0061 0339 0182 0600 0768 0632 0694
K604 05870211 072 082 0151 0359 0734 0151 0682 0959 0019 0713 0785 0721 0524
0164 0303 0172-0026 0020 0339 0140 0593 0776 0617 0685
K604 05870211 112 122 0178 0351 0727 0202 0115 0943 0474 0685 0776 0754 0544
0179 0333 0213 0039 0052 0292 0170 0608 0751 0642 0691
K604 05870211 132 142 0145 0347 0709 0173 0112 0942 0435 0691 0780 0761 0537
0182 0283 0184 0000 0018 0364 0127 0504 0771 0621 0696
K604 05870212 012 022 0167 0435 0505 0162 0117 0942 0005 0780 0775 0758 0443
0202 0337 0270 0053 0071 0319 0205 0648 0756 0669 0725
K604 05870212 032 042 0173 0415 0514 0165 0116 0949 0000 0787 0787 0765 0480
0182 0283 0184-0001 0018 0364 0127 0504 0771 0621 0696
K604 05870212 052 062 0151 0422 0559 0145 0117 0992 0004 0840 0810 0819 0315
0188 0364 0266 0067 0063 0350 0194 0675 0816 0691 0779
K604 05870212 072 082 0186 0421 0533 0149 0124 1007 0005 0849 0822 0796 0353
0184 0237 0196 0030 0009 0331-0036 0653 0783 0628 0697
K604 05870212 092 102 0208 0412 0438 0169 0124 0932 0001 0786 0783 0777 0556
0195 0310 0257 0068 0052 0367 0197 0655 0771 0672 0736
K604 05870212 112 122 0151 0387 0396 0135 0101 0924 0021 0775 0778 0743 0444
0186 0252 0188 0136 0025 0311 0142 0610 0765 0636 0675
K604 05870212 132 142 0218 0402 0443 0160 0118 0925 0012 0784 0799 0802 0561
0194 0301 0237 0089 0046 0304 0176 0608 0751 0624 0702
K604 05870212 152 162 0155 0300 0415 0137 0088 0941 0010 0796 0805 0763 0543
0194 0295 0177 0215 0018 0323 0132 0605 0792 0610 0673
K604 05870213 012 022 0178 0439 0627 0205 0129 0963 0006 0805 0792 0817 0450
0189 0377 0280 0115 0047 0318 0203 0624 0741 0670 0716
K604 05870213 032 042 0180 0411 0526 0212 0143 0967 0009 0776 0804 0810 0475
0184 0309 0213 0147 0000 0266 0143 0631 0783 0670 0726
K604 05870213 052 062 0236 0461 0626 0225 0160 0989 0030 0779 0804 0859 0495
0210 0401 0294 0161 0078 0373 0235 0650 0769 0690 0769
K604 05870213 072 082 0192 0413 0634 0216 0148 0992 0001 0793 0833 0846 0526
0171 0284 0192 0037 0000 0298 0124 0617 0765 0638 0711
K604 05870213 092 102 0185 0480 0607 0230 0168 0950 0026 0790 0790 0808 0484
0196 0340 0281 0234 0044 0267 0200 0629 0742 0683 0714
K604 05870213 112 122 0180 0419 0598 0183 0123 0990 0015 0793 0818 0812 0451
0171 0291 0200 0056 0002 0270 0117 0619 0770 0658 0719
K604 05870213 132 142 0194 0449 0648 0230 0145 1035 0000 0834 0756 0851 0456
0185 0326 0276 0096 0025 0335 0173 0660 0782 0712 0764
K604 05870213 152 162 0185 0414 0621 0206 0117 1016 0018 0823 0823 0811 0481
0187 0336 0230 0074 0011 0360 0130 0628 0773 0667 0723
K630 05870205 012 022 0276 0559 0255 0162 0674 0063 0521 0679 0161 0399 0512
0197 0459 0202 0446 0131 0457 0244 0755 0358 0620 0144
K630 05870205 032 042 0338 0611 0312 0234 0755 0128 0588 0763 0275 0495 0576
0229 0435 0169 0366 0144 0437 0229 0755 0345 0603 0163
K630 05870207 032 042 0365 0691 0287 0206 0235 0082 0021 0715 0351 0526 0624
0203 0516 0213 0179 0072 0495 0264 0710 0430 0637 0194
K630 05870207 072 082 0435 0712 0337 0188 0283 0006 0010 0708 0528 0639 0675
0236 0456 0276 0220-0062 0512 0278 0778 0369 0650 0241
K630 05870207 092 102 0405 0732 0284 0151 0236-0018 0007 0772 0486 0618 0724
0210 0397 0253 0205-0057 0517 0245 0792 0378 0636 0280
K630 05870207 112 122 0378 0676 0264 0148 0217-0015 0006 0728 0409 0575 0596
0194 0407 0240 0121-0027 0483 0273 0762 0405 0623 0206
K630 05870207 132 142 0411 0702 0308 0181 0301 0046 0024 0762 0493 0596 0605
0240 0450 0263 0159 0042 0475 0249 0779 0415 0630 0209
K630 05870208 012 022 0431 0678 0266 0139 0254 0007 0027 0665 0135 0264 0681
0317 0486 0189 0331-0053 0537 0271 0716 0333 0709 0113
K630 05870208 032 042 0437 0679 0269 0158 0262 0040 0010 0717 0158 0285 0666
0329 0498 0241 0274-0008 0554 0297 0711 0390 0714 0153
K630 05870208 052 062 0450 0710 0252 0144 0239-0002 0046 0738 0153 0287 0693
0303 0412 0208 0161-0095 0478 0256 0661 0345 0678 0132
K630 05870208 072 082 0453 0705 0272 0150 0176 0029 0026 0709 0179 0306 0725
0329 0475 0221 0184 0012 0588 0283 0735 0443 0703 0231
K630 05870208 092 102 0454 0718 0330 0237 0297 0128 0055 0764 0218 0369 0676
0354 0509 0293 0231 0357 0522 0358 0791 0423 0745 0276
K630 05870208 112 122 0450 0725 0311 0197 0294 0076 0030 0731 0221 0376 0656
0369 0522 0300 0237 0039 0622 0347 0787 0435 0735 0241

K630 05870208 152 142 0473 0752 0310 0223 0293 0125 0051 0790 0202 0352 0679
0366 0479 0311 0275 0053 0537 0356 0803 0451 0757 0249
K630 05870208 152 162 0483 0712 0309 0212 0307 0107 0071 0751 0236 0371 0648
0368 0551 0288 0255 0090 0534 0372 0798 0478 0755 0286
K630 05870210 012 022 0251 0669 0291 0177 0190 0037 0042 0746 0083 0246 0391
0253 0470 0200 0122 0095 0391 0276 0790 0430 0687 0198
K630 05870210 032 042 0395 0702 0358 0229 0268 0099 0014 0754 0153 0325 0393
0239 0503 0151 0147 0093 0376 0273 0782 0421 0706 0184
K630 05870210 052 062 0387 0672 0261 0183 0247 0054 0007 0740 0161 0338 0608
0272 0461 0210 0125 0074 0378 0280 0774 0442 0721 0215
K630 05870210 072 082 0384 0681 0309 0233 0311 0107 0032 0746 0238 0376 0629
0257 0468 0179 0131 0077 0450 0275 0790 0432 0722 0178
K630 05870211 012 022 0343 0684 0336 0195 0173 0090 0017 0786 0098 0264 0516
0268 0527 0180 0220 0099 0453 0277 0806 0473 0745 0192
K630 05870211 032 042 0388 0699 0377 0229 0252 0128 0014 0787 0185 0327 0533
0256 0499 0147 0173 0090 0486 0297 0808 0503 0756 0188
K630 05870211 052 062 0349 0672 0330 0199 0222 0081 0010 0742 0141 0287 0343
0276 0467 0193 0155 0102 0463 0278 0783 0444 0720 0212
K630 05870211 072 082 0379 0662 0352 0216 0259 0119 0029 0757 0181 0299 0399
0260 0480 0169 0154 0097 0470 0285 0778 0460 0719 0200
K630 05870211 112 122 0393 0698 0350 0233 0297 0102 0566 0759 0196 0360 0440
0274 0441 0221 0145 0098 0398 0290 0808 0473 0744 0223
K630 05870211 132 142 0412 0707 0385 0232 0320 0119 0584 0767 0219 0364 0442
0248 0483 0149 0122 0080 0419 0265 0756 0434 0695 0162
K630 05870212 012 022 0348 0668 0239 0155 0149 0054 0014 0702 0130 0289 0595
0284 0463 0191 0192 0059 0408 0275 0746 0364 0681 0181
K630 05870212 032 042 0379 0668 0302 0209 0237 0081 0026 0721 0197 0323 0621
0248 0483 0149 0122 0080 0419 0265 0756 0434 0695 0162
K630 05870212 052 062 0344 0653 0254 0169 0191 0033 0028 0726 0133 0347 0391
0286 0450 0218 0236 0114 0491 0296 0759 0415 0681 0194
K630 05870212 072 082 0390 0663 0297 0202 0269 0082 0030 0751 0208 0404 0408
0253 0446 0158 0215 0099 0498 0261 0745 0412 0672 0169
K630 05870212 092 102 0349 0666 0240 0155 0214 0022 0489 0720 0148 0302 0601
0286 0424 0195 0171 0093 0458 0281 0766 0428 0700 0201
K630 05870212 112 122 0377 0604 0280 0187 0258 0067 0020 0735 0191 0365 0602
0250 0444 0168 0176 0080 0435 0264 0750 0395 0696 0169
K630 05870212 132 142 0398 0700 0252 0189 0216 0062 0009 0780 0196 0348 0575
0303 0449 0225 0217 0114 0479 0287 0766 0434 0690 0207
K630 05870212 152 162 0367 0640 0283 0185 0231 0055 0008 0773 0231 0383 0590
0273 0467 0158 0186 0101 0473 0297 0791 0439 0709 0184
K630 05870213 012 022 0353 0699 0304 0171 0186 0054 0032 0713 0164 0401 0399
0284 0440 0234 0225 0042 0420 0263 0764 0377 0690 0224
K630 05870213 032 042 0421 0690 0365 0220 0283 0088 0033 0759 0276 0449 0340
0295 0464 0227 0243 0031 0371 0265 0785 0384 0707 0203
K630 05870213 052 062 0384 0708 0319 0217 0261 0069 0001 0727 0283 0463 0593
0280 0447 0272 0253 0012 0480 0293 0750 0410 0693 0217
K630 05870213 072 082 0448 0731 0379 0257 0328 0123 0070 0791 0356 0494 0576
0286 0457 0244 0227 0044 0491 0295 0764 0418 0680 0220
K630 05870213 092 102 0417 0720 0301 0217 0269 0069 0017 0684 0303 0449 0572
0265 0409 0265 0171 0017 0434 0310 0733 0411 0680 0251
K630 05870213 112 122 0434 0761 0359 0260 0351 0146 0070 0796 0369 0502 0625
0287 0460 0248 0285 0054 0457 0304 0788 0441 0724 0255
K630 05870213 132 142 1020 0718 0316 0262 0292 0107 0027 0736 0304 0458 0647
0311 0476 0274 0211 0068 0494 0316 0790 0467 0714 0287
K700 05870205 012 022 0288 0509 0606 0286 0626 0647 0645 0693 0706 0745 0626
0201 0285 0234 0291 0059 0478 0192 0607 0713 0612 0461
K700 05870205 032 052 0220 0492 0667 0273 0764 0774 0664 0659 0692 0761 0645
0179 0249 0189 0180 0025 0391 0142 0590 0691 0600 0396
K700 05870207 032 042 0231 0503 0656 0293 0197 0774 0064 0746 0572 0514 0785
0213 0337 0275 0133 0001 0315 0261 0643 0716 0619 0567
K700 05870207 072 082 0281 0566 0780 0554 0255 0750 0045 0750 0537 0592 0760
0232 0382 0401 0218 0018 0328 0365 0651 0655 0672 0676
K700 05870207 092 102 0240 0541 0717 0257 0179 0788 0000 0778 0537 0585 0717
0234 0375 0393 0250 0031 0312 0337 0667 0663 0679 0675
K700 05870207 112 122 0234 0503 0624 0236 0193 0611 0008 0760 0571 0631 0772
0174 0313 0301 0086 0025 0248 0292 0653 0667 0639 0646
K700 05870207 132 142 0238 0526 0704 0294 0244 0707 0094 0788 0595 0636 0769
0187 0327 0298 0123 0048 0286 0262 0667 0706 0657 0661
K700 05870208 012 022 0263 0538 0664 0274 0185 0744 0033 0679 0477 0150 0825
0288 0297 0207 0153-0085 0429 0219 0591 0653 0703 0389
K700 05870208 032 042 0279 0552 0725 0290 0194 0825 0047 0696 0434 0160 0857
0296 0303 0237 0144-0043 0444 0249 0611 0651 0690 0463

K700 05870208 052 062 0295 0536 0729 0233 0143 0765 0007 0753 0424 0322 0939
0304 0323 0274 0112-0032 0203 0255 0583 0606 0720 0573
K700 05870208 072 082 0260 0536 0681 0255 0116 0775 0004 0708 0433 0298 0938
0290 0326 0231 0068-0054 0396 0242 0622 0681 0719 0489
K700 05870208 092 102 0229 0488 0597 0258 0164 0779 0075 0699 0419 0218 0854
0319 0384 0317 0178 0054 0403 0335 0645 0657 0737 0602
K700 05870208 112 122 0250 0504 0642 0255 0195 0783 0078 0686 0463 0248 0858
0274 0347 0269 0140 0007 0452 0296 0634 0628 0708 0568
K700 05870208 132 142 0235 0499 0638 0244 0135 0675 0013 0736 0467 0217 0909
0353 0375 0346 0193 0079 0375 0346 0667 0651 0786 0592
K700 05870208 152 162 0267 0521 0691 0292 0190 0671 0092 0726 0460 0251 0898
0305 0326 0272 0124 0026 0372 0309 0650 0667 0750 0586
K700 05870210 012 022 0249 0573 0947 0343 0133 0929 0070 0747 0485 0254 0634
0303 0418 0359 0121 0042 0288 0376 0713 0694 0751 0669
K700 05870210 032 042 0305 0623 0973 0437 0239 0942 0043 0780 0541 0340 0714
0322 0412 0338 0169 0039 0359 0375 0700 0720 0748 0674
K700 05870210 052 062 0270 0558 0948 0346 0201 0907 0032 0788 0578 0298 0889
0328 0396 0355 0077 0065 0302 0366 0713 0702 0810 0728
K700 05870210 072 082 0319 0596 0960 0408 0279 0883 0061 0792 0577 0359 0887
0343 0414 0355 0088 0073 0297 0399 0736 0722 0800 0736
K700 05870211 012 022 0148 0439 0766 0234 0059 0935 0016 0696 0497 0342 0682
0270 0323 0194 0070 0046 0317 0287 0614 0706 0708 0538
K700 05870211 032 042 0204 0482 0859 0289 0147 0953 0029 0724 0570 0351 0724
0272 0314 0154 0093 0041 0330 0264 0601 0707 0710 0516
K700 05870211 052 062 0202 0450 0806 0273 0109 0861 0007 0675 0487 0343 0432
0262 0306 0208 0071 0022 0337 0249 0590 0667 0681 0524
K700 05870211 072 082 0206 0464 0841 0295 0151 0881 0010 0667 0529 0293 0449
0247 0318 0179 0058 0015 0284 0256 0586 0677 0675 0505
K700 05870211 112 122 0187 0446 0790 0275 0131 0852 0612 0678 0479 0380 0442
0251 0305 0220 0076 0038 0331 0286 0603 0679 0688 0547
K700 05870211 132 142 0223 0468 0884 0286 0187 0884 0637 0691 0529 0381 0481
0252 0314 0178 0010 0014 0335 0230 0646 0691 0724 0534
K700 05870212 012 022 0188 0516 0585 0298 0132 0571 0004 0770 0632 0300 0618
0271 0338 0222 0058 0029 0323 0281 0644 0694 0704 0565
K700 05870212 032 042 0225 0558 0693 0376 0193 0722 0005 0800 0661 0319 0713
0252 0314 0178 0010 0014 0335 0230 0646 0691 0724 0534
K700 05870212 052 062 0178 0506 0583 0307 0114 0556 0018 0731 0618 0346 0782
0266 0323 0218 0115 0030 0421 0292 0623 0667 0684 0548
K700 05870212 072 082 0209 0501 0670 0340 0171 0681 0011 0761 0640 0346 0736
0241 0291 0186 0104 0040 0389 0256 0605 0677 0656 0491
K700 05870212 092 102 0206 0489 0587 0324 0152 0469 0640 0742 0609 0386 0842
0269 0346 0223 0080 0030 0338 0294 0623 0679 0708 0572
K700 05870212 112 122 0195 0495 0606 0323 0145 0588 0024 0741 0646 0407 0822
0237 0334 0172 0050 0030 0320 0244 0627 0693 0698 0498
K700 05870212 132 142 0273 0496 0559 0325 0170 0466 0001 0766 0665 0328 0825
0260 0301 0206 0108 0032 0343 0290 0624 0671 0686 0569
K700 05870212 152 162 0191 0496 0588 0345 0166 0505 0001 0775 0672 0415 0833
0237 0342 0186 0088 0013 0407 0266 0646 0708 0708 0545
K700 05870213 012 022 0220 0427 0615 0256 0078 0912 0040 0642 0518 0135 0391
0254 0343 0289 0148 0086 0317 0298 0646 0683 0683 0597
K700 05870213 032 042 0282 0528 0719 0390 0230 0941 0072 0692 0556 0254 0577
0224 0261 0222 0136 0021 0304 0224 0626 0702 0663 0592
K700 05870213 052 062 0213 0456 0656 0292 0163 0925 0020 0665 0534 0226 0684
0240 0304 0291 0143 0055 0369 0266 0606 0644 0635 0603
K700 05870213 072 082 0248 0495 0735 0359 0220 0958 0067 0680 0557 0270 0746
0224 0280 0286 0137 0007 0337 0250 0591 0669 0626 0546
K700 05870213 092 102 0254 0489 0660 0299 0139 0950 0026 0680 0541 0241 0614
0257 0316 0246 0116 0065 0308 0300 0606 0659 0665 0633
K700 05870213 112 122 0255 0514 0710 0342 0211 0969 0062 0707 0555 0296 0656
0216 0253 0186 0119 0000 0244 0197 0614 0682 0682 0597
K700 05870213 132 142 0267 0504 0745 0286 0169 0990 0012 0713 0546 0244 0605
0272 0324 0266 0140 0042 0324 0286 0672 0728 0702 0681

LSI-Werte nach
4h Inkubationszeit

ACBU BENZ CACH CHIN CHLT CHAC FLOX HYSU HYCH KAJD KALI KARH LICL NAAZ NADD NADI NAPE PHEN SECH SORB THAC

K321 0209 0598 0763 0151 0241 0228 0696 0458 0254 0789 0186 0326 0201 0103 0003 0307 0208 0665 0491 0688 0405
0279 0639 0452 0178 0169 0085 0685 0357 0401 0495 0178 0298 0146 0205 0012 0286 0182 0617 0543 0702 0578
0308 0635 0676 0140 0250 0109 0581 0461 0314 0635 0178 0336 0187 0069-0045 0397 0190 0608 0485 0741 0563
0279 0585 0858 0245 0231 0439 0634 0500 0391 0648 0154 0338 0095 0063-0005 0232 0198 0621 0597 0669 0515

K340 0303 0385 0454 0598 0608 0448 0578 0032 0152 0985 0532 0627 0301 0098 1085 0587 0402 0719 0198 0568 0217
0365 0423 0632 0731 0681 0246 0658-0035 0089 0896 0417 0562 0258 0145 1052 0485 0349 0647 0251 0736 0305
0280 0312 0330 0339 0577 0222 0407-0037 0064 0773 0493 0514 0247 0119 0970 0624 0312 0555 0135 0611 0122
0328 0421 0465 0614 0555 0614 0499 0014 0199 0838 0470 0660 0307 0112 1034 0573 0508 0605 0232 0623 0201

K343 0135 0308 0198 0915 0476 0956 0301 0054 0230 0812 0397 0172 0368 0101 1005 0624 0095 0768 0124 0501 0192
0000 0240 0061 0975 0373 0990 0112-0024 0099 0728 0488 0254 0327 0105 1364 0705 0076 0851 0028 0455 0164
0113 0176 0194 0680 4000 0608 0277 0069 0078 0649 0528 0055 0087 0120 0859 0680 0039 0641 0047 0357 0039
0191 0319 0219 0895 0482 0929 0163 0053 0219 0651 0563 0356 0264 0100 1333 0679 0100 0696-0056 0356 0000

K350 0205 0725 0526 0108 0173 0204 0754 0234 0737 0721 0235 0248 0085 0063 0182 0584 0297 0498 0664 0583 0024
0186 0689 0582 0075 0075 0113 0657 0253 0521 0342 0200 0215 0028 0056 0507 0483 0190 0501 0603 0574 0027
0321 0697 0471 0196 0247 0295 0713 0259 0455 0844 0280 0283 0154 0100 0209 0676 0317 0622 0622 0676 0067
0226 0717 0742 0163 0137 0296 0677 0370 0567 0408 0216 0276 0147 0061 0393 0458 0271 0564 0561 0608 0052

K400 0605 0816 0338 0097 0294 0254-0021 0475 0263 0425 0528 0479 0542 0156 0408 0728 0284 0358 0664 0472 0401
0564 0797 0404 0128 0299 0191-0003 0418 0253 0327 0478 0527 0413 0139 0358 0507 0276 0251 0587 0512 0390
0631 0718 0368 0039 0189 0016-0049 0330 0219 0219 0582 0395 0347 0135 0379 0892 0193 0233 0546 0478 0253
0616 0798 0425 0124 0292 0113 0000 0502 0310 0327 0509 0463 0400 0120 0290 0543 0203 0186 0476 0496 0412

K405 0474 0402 0385 0954 0198 1058-0042 0000 0218 0857 0429 0513 0401 0062 1257 1189 0316 0614 0030 0685 0514
0370 0271 0377 0971 0183 1040 0304-0055 0152 0897 0445 0488 0403-0019 1228 0433 0270 0565-0004 0659 0409
0304 0192 0367 0767 0254 0684-0035 0023 0143 0671 0641 0359 0369 0143 1173 1559 0198 0487 0115 0569 0359
0368 0343 0360 0883 0247 1020-0077 0007 0223 0832 0473 0441 0338-0013 1166 1211 0247 0523-0033 0652 0338

K475 0201 0285 0983 0924 0258 0921 0627 0216 0601 0859 0208 0378 0921 0002 0957 0436 0179 0254 0330 0287 0025
0192 0307 0944 0927 0322 0927 0618 0314 0552 0904 0224 0370 0879-0017 0889 0380 0212 0333 0360 0284-0002
0150 0249 0833 0729 0143 0772 0338 0006 0360 0772 0181 0281 0753-0194 0775 0512 0042 0170 0204 0103-0109
0199 0346 0932 0911 0315 0883 0512 0208 0473 0855 0210 0381 0838-0023 0851 0396 0192 0298 0247 0192-0015

K520 0392 0257 1012 0487 0629 1004 0758 0200 0625 0895 0354 0396 0546 0178 0928 0400 0315 0796 0105 0257 0638
0410 0542 0958 0617 0545 0941 0788 0304 0879 0899 0406 0416 0331 0313 0896 0393 0262 0845 0255 0444 0864
0540 0628 0802 0471 0514 0628 0601 0363 0728 0755 0886 0472 0437 0102 0663 0978 0235 0748 0409 0501 0588
0479 0667 0943 0765 0579 0866 0755 0281 0872 0889 0549 0478 0423 0126 0841 0627 0323 0830 0270 0511 0779

K523 0264 0205 0954 0222 0146 0971 0534 0116 0754 0963 0201 0332 0137 0171 0925 0401 0351 0658 0125 0252 0249
0113 0136 0920 0157 0265 0928 0497 0119 0853 0884 0183 0261 0097 0157 0871 0320 0149 0420 0158 0232 0236
0400 0456 0881 0339 0525 0823 0644 0236 0644 0842 0510 0433 0326 0206 0786 0522 0200 0742-0018 0359 0266
0242 0311 0887 0304 0374 0875 0521 0146 0768 0856 0247 0383 0239 0118 0852 0369 0241 0443 0147 0380 0239

K570 0457 0398 0925 0936 0452 1054 0759 0063 0489 1033 0395 0313 0260 0087 1012 1127 0285 0471 0056 0419 0219
 0402 0423 0988 0957 0411 1057 0751 0090 0425 0989 0280 0275 0220 0054 1029 1037 0206 0434 0048 0385 0179
 0388 0388 0839 0747 0443 0948 0635 0055 0372 0893 0476 0248 0160 0031 0895 1225 0131 0373 0003 0373 0122
 0351 0393 0910 0856 0420 0999 0665 0094 0413 0915 0314 0250 0200 0030 0957 1082 0177 0393 0026 0322 0135

K601 0232 0431 0715 0204 0423 1021 0698 0398 0497 1020 0098 1205 0343 0205 0054 0487 0785 0525 0698 0662 0498
 0208 0413 0922 0201 0347 1080 0666 0327 0434 0819-0011 1153 0333 0020-0180 0323 0988 0412 0675 0857 0485
 0243 0384 0536 0176 0297 0960 0662 0230 0217 0807 0267 1027 0251 0198-0028 0536 0902 0484 0648 0633 0475
 0158 0379 0909 0291 0343 1075 0650 0385 0397 0949 0171 1157 0316 0100-0065 0378 0725 0378 0581 0602 0454

K602 0225 0419 0853 0176 0329 0958 0736 0698 0521 0968 0198 1021 0201 0058 0054 0392 0449 0723 0795 0587 0724
 0190 0387 0891 0151 0255 0957 0430 0647 0394 0685 0167 1001 0121 0077-0075 0309 0235 0682 0816 0588 0700
 0250 0420 0755 0114 0326 0836 0656 0583 0313 0800 0263 0969 0223 0067-0094 0388 0437 0648 0679 0574 0600
 0208 0391 0855 0258 0318 0906 0692 0598 0416 0597 0170 0885 0168-0068-0082 0282 0324 0678 0731 0555 0667

K603 0359 0524 0876 0219 0354 0921 0577 0452 0308 0905 0268 0401 0187 0089 0000 0332 0254 0638 0801 0598 0719
 0265 0516 0862 0259 0339 0931 0617 0368 0275 0612 0251 0366 0125 0088-0064 0307 0181 0581 0743 0506 0617
 0304 0393 0821 0167 0257 0701 0550 0304 0192 0772 0386 0286 0200 0043-0148 0461 0113 0485 0509 0491 0515
 0268 0476 0827 0256 0335 0856 0534 0384 0298 0841 0260 0352 0138-0006-0040 0270 0211 0553 0689 0481 0576

K604 0198 0436 0649 0198 0100 0969 0775 0801 0756 0528 0198 0325 0207 0054 0000 0358 0208 0637 0768 0671 0704
 0145 0347 0709 0173 0112 0942 0691 0780 0761 0537 0174 0304 0168 0051 0009 0271 0121 0584 0762 0612 0651
 0278 0439 0599 0243 0193 0837 0643 0643 0640 0589 0244 0352 0296 0012-0158 0401 0182 0604 0607 0692 0642
 0210 0389 0777 0244 0141 0926 0663 0754 0757 0605 0152 0338 0193-0049 0004 0283 0155 0601 0739 0627 0689

K630 0401 0685 0298 0224 0268 0085 0746 0339 0425 0589 0268 0458 0214 0198 0100 0525 0308 0778 0457 0701 0198
 0412 0707 0385 0232 0320 0119 0767 0219 0364 0442 0230 0467 0174 0128 0067 0467 0272 0818 0478 0734 0194
 0405 0633 0308 0167 0183 0053 0612 0203 0330 0723 0318 0429 0196 0106-0119 0566 0276 0690 0439 0698 0157
 0438 0691 0467 0291 0328 0104 0736 0259 0396 0501 0268 0452 0218 0173 0069 0487 0312 0745 0476 0741 0190

K700 0238 0504 0798 0354 0156 0867 0800 0662 0359 0714 0270 0324 0221 0118 0030 0410 0298 0648 0668 0725 0598
 0223 0468 0884 0286 0187 0884 0691 0529 0381 0481 0225 0289 0172 0067 0006 0339 0224 0586 0679 0685 0501
 0316 0548 0733 0308 0163 0733 0666 0438 0371 0904 0308 0318 0240 0013-0083 0368 0240 0623 0619 0744 0514
 0255 0496 0883 0370 0200 0875 0669 0537 0401 0480 0281 0355 0242 0083 0036 0216 0284 0595 0628 0680 0559