

# Inhalt

|  |             |
|--|-------------|
| <b>ABBILDUNGEN .....</b>   | <b>IV</b>   |
| <b>TABELLEN.....</b>   | <b>VI</b>   |
| <b>VERWENDETE ABKÜRZUNGEN.....</b>   | <b>VIII</b> |
| <b>1. EINLEITUNG .....</b>   | <b>1</b>    |
| <b>2. SCHRIFTTUM.....</b>  | <b>2</b>    |
| <b>2.1 Interspezifische Wechselbeziehungen.....</b>  | <b>2</b>    |
| 2.1.1 Symbiose .....   | 2           |
| 2.1.2 Kommensalismus .....   | 3           |
| 2.1.3 Prädation/ Parasitismus .....  | 3           |
| 2.1.4 Neutralismus/Koexistenz.....   | 4           |
| 2.1.5 Amensalismus .....   | 4           |
| 2.1.6 Kompetition/Konkurrenz.....  | 4           |
| <b>2.2 Modelle des Kommensalismus.....</b>   | <b>5</b>    |
| 2.2.1 Reiner Kommensalismus.....   | 5           |
| 2.2.2 Kommensalismus mit Substratkonkurrenz.....   | 6           |
| 2.2.3 Kommensalismus mit Kreuzinhibition.....  | 6           |
| <b>2.3 Mikrobielle Darmflora.....</b>  | <b>7</b>    |
| 2.3.1 Die gastrointestinale Mikroflora.....  | 7           |
| 2.3.2 Bakterielle Populationsgruppen und Habitate im Gastrointestinaltrakt von<br>Säugetieren..... | 9           |
| 2.3.3 Die Mikroflora im porzinen Gastrointestinaltrakt .....                                       | 10          |
| <b>2.4 Interaktionen zwischen Wirt und gastrointestinaler Mikroflora .....</b>                     | <b>11</b>   |
| 2.4.1 Positive Effekte der mikrobiellen Darmflora auf den Wirtsorganismus .....                    | 12          |
| 2.4.2 Negative Effekte der mikrobiellen Darmflora auf den Wirtsorganismus .....                    | 14          |
| 2.4.3 Mikrobielle Interaktionen.....   | 15          |
| <b>2.5 Die Entwicklung der Darmmikroflora beim Schwein .....</b>                                   | <b>15</b>   |
| <b>2.6 <i>Escherichia coli</i> .....</b>   | <b>17</b>   |
| 2.6.1 Das Bakterium <i>Escherichia coli</i> .....  | 17          |
| 2.6.2 Pathogene <i>E. coli</i> .....   | 17          |
| 2.6.3 <i>E. coli</i> im porzinen Gastrointestinaltrakt .....                                       | 19          |
| <b>3. MATERIAL .....</b>   | <b>20</b>   |
| <b>3.1 Herkunft der verwendeten <i>E. coli</i>-Stämme.....</b>                                     | <b>20</b>   |
| <b>3.2 Bakterienreferenzstämme .....</b>   | <b>25</b>   |
| <b>3.3 Oligonukleotide.....</b>  | <b>26</b>   |
| <b>3.4 Zelllinie: IPEC-J2-Zellen.....</b>  | <b>29</b>   |
| <b>3.5 Nähr- und Selektivnährmedien .....</b>  | <b>29</b>   |
| <b>3.6 Lösungen und Puffer .....</b>   | <b>31</b>   |
| <b>3.7 Enzyme .....</b>  | <b>32</b>   |
| <b>3.8 Größenmarker .....</b>  | <b>33</b>   |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>3.9 Farbstoffe .....</b>  | <b>33</b> |
| <b>3.10 Verbrauchsmaterialien .....</b>  | <b>33</b> |
| <b>3.11 Verwendete Geräte.....</b>   | <b>34</b> |
| <b>3.12 Chemikalien .....</b>  | <b>35</b> |
| <b>4. METHODEN .....</b>   | <b>36</b> |
| <b>4.1 Mikrobiologische Methoden .....</b>   | <b>36</b> |
| 4.1.1 Probennahme .....  | 36        |
| 4.1.2 Anzucht der Bakterien.....   | 36        |
| 4.1.3 Konservierung der <i>E. coli</i> -Stämme .....   | 37        |
| 4.1.4 Biochemische Differenzierung der coliformen Kolonien.....  | 37        |
| 4.1.5 Hämolyseverhalten.....   | 38        |
| 4.1.6 Beweglichkeit.....   | 38        |
| 4.1.7 Prüfung des Kohlenhydratstoffwechsels .....  | 39        |
| <b>4.2 Molekularbiologische Methoden .....</b>   | <b>40</b> |
| 4.2.1 Isolierung chromosomaler DNA .....   | 40        |
| 4.2.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR) .....  | 40        |
| 4.2.2.1 PCR nach Casey und Bosworth .....  | 41        |
| 4.2.2.2 PCR nach Clermont et al.....   | 42        |
| 4.2.2.3 PCR nach Ewers et al.....  | 43        |
| 4.2.2.4 PCR nach Müller et al .....  | 44        |
| 4.2.2.5 PCR zum Nachweis von <i>paa</i> , <i>aidA-I</i> und <i>sepA</i> [28].....  | 45        |
| 4.2.2.6 RAPD ( <i>random amplified polymorphic DNA</i> ) -PCR .....  | 46        |
| 4.2.3 Agarose-Gelelektrophorese .....  | 46        |
| 4.2.4 Pulsfeld-Gelelektrophorese .....   | 47        |
| <b>4.3 Zellbiologische Methoden .....</b>  | <b>49</b> |
| 4.3.1 Zellkultur .....   | 49        |
| 4.3.2 Adhäsionstest .....  | 49        |
| <b>4.4 Fluoreszenzmikroskopie .....</b>  | <b>50</b> |
| 4.4.1 FAS-Test .....   | 50        |
| 4.4.2 DNA-Färbung und Eindecken der Präparate .....  | 51        |
| <b>4.5 Begriffsbestimmungen .....</b>  | <b>51</b> |
| <b>4.6 Statistische Methoden .....</b>   | <b>52</b> |
| <b>5. ERGEBNISSE .....</b>   | <b>54</b> |
| <b>5.1 Untersuchungen zur Diversität .....</b>   | <b>54</b> |
| 5.1.1 Pulsfeld-Gelelektrophorese/RAPD-PCR .....  | 54        |
| 5.1.2 Diversitätsindex.....  | 55        |
| 5.1.3 Virulenzgenprofil .....  | 57        |
| 5.1.4 Phylogenetische Zuordnung (ECoR-PCR) .....   | 57        |
| <b>5.2 Geno- und phänotypische Charakterisierung von 102 <i>E. coli</i>-Isolaten aus dem Darm von Wildschweinen.....</b> | <b>58</b> |
| 5.2.1 Ausschluss identischer <i>E. coli</i> -Isolate durch Makrorestriktionsanalyse .....                                | 58        |
| 5.2.2 Biochemische Identifizierung.....  | 59        |
| 5.2.3 Phylogenetische Zuordnung der <i>E. coli</i> nach Clermont et al. (ECoR-PCR) .....                                 | 60        |
| 5.2.4 Lebensraum, Alter und Geschlecht der Wildschweine .....  | 61        |
| 5.2.4.1 Herkunft der Wildschweine .....  | 61        |
| 5.2.4.2 Alter der Wildschweine .....   | 62        |
| 5.2.4.3 Geschlecht der Wildschweine .....  | 63        |
| 5.2.5 Hämolyse und Beweglichkeit der isolierten <i>E. coli</i> -Stämme .....   | 64        |
| 5.2.6 Vorkommen von Virulenzgenen (VGs) und virulenzassoziierten Genen (VAGs).....                                       | 65        |

|  |  |             |
|--|--|-------------|
| 5.2.6.1                                  | Virulenzgene intestinal-pathogener <i>E. coli</i> .....  | 65          |
| 5.2.6.2                                  | ExPEC-typische, virulenzassoziierte Gene (VAGs) .....  | 68          |
| 5.2.7                                    | Adhäsionsverhalten von <i>E. coli</i> aus dem Darm von Wild- und Hausschweinen.....                              | 75          |
| 5.2.8                                    | Kohlenhydratverwertung von <i>E. coli</i> aus dem Darm von Wild- und Hausschweinen .....                         | 79          |
| <b>6.</b>                                | <b>DISKUSSION .....</b>  | <b>82</b>   |
| <b>6.1</b>                               | <b>Untersuchungen zur Diversität .....</b>   | <b>83</b>   |
| 6.1.1                                    | Das Virulenzgenprofil im Zusammenhang mit der Besiedlung des Darms.....  | 86          |
| 6.1.2                                    | Der Zusammenhang zwischen der phylogenetischen Gruppe und der Kolonisation bestimmter ökologischer Nischen ..... | 87          |
| <b>6.2</b>                               | <b>Geno- und phänotypische Charakterisierung der 102 <i>E. coli</i>-Stämme von Wildschweinen .....</b>           | <b>88</b>   |
| 6.2.1                                    | Die Verteilung der phylogenetischen Gruppen .....  | 88          |
| 6.2.1.1                                  | Die phylogenetische Gruppe und das Virulenzgenprofil .....   | 89          |
| 6.2.1.2                                  | Die phylogenetische Gruppe und die Kolonisation sowie die Persistenz im GIT .....                                | 90          |
| 6.2.1.3                                  | Vergleich der phylogenetischen Verteilung bei <i>E. coli</i> von Wild- und Hausschweinen .....                   | 91          |
| 6.2.2                                    | Der Nachweis von Virulenzgenen und die damit verbundene Pathogenität.....  | 92          |
| 6.2.3                                    | ExPEC-typische, virulenzassoziierte Gene (VAGs).....   | 95          |
| 6.2.3.1                                  | Vergleichendes Vorkommen der Adhäsingene .....   | 97          |
| 6.2.3.2                                  | Vergleichendes Vorkommen der Eisenakquirierungsgene .....  | 97          |
| 6.2.3.3                                  | Vergleichendes Vorkommen der Toxingene .....   | 99          |
| 6.2.3.4                                  | Vergleichendes Vorkommen der Gene für die Serumresistenz .....   | 100         |
| 6.2.3.5                                  | Vergleichendes Vorkommen der Gene für die Invasion .....   | 101         |
| 6.2.3.6                                  | Korrelationen zwischen der phylogenetischen Gruppe B2 und VAGs .....   | 102         |
| 6.2.4                                    | Das Adhäsionsvermögen commensaler <i>E. coli</i> von Wild- und Hausschweinen .....                               | 102         |
| 6.2.4.1                                  | Das Adhäsionsvermögen von Wildschwein- <i>E. coli</i> .....  | 103         |
| 6.2.4.2                                  | Vergleich des Adhäsionsvermögens von Wild- und Hausschwein- <i>E. coli</i> .....                                 | 104         |
| 6.2.5                                    | Vergleich der Kohlenhydratverwertung mittels API 50 CH-System bei Wild- und Hausschwein- <i>E. coli</i> .....    | 105         |
| <b>7.</b>                                | <b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>   | <b>107</b>  |
| <b>8.</b>                                | <b>SUMMARY.....</b>  | <b>108</b>  |
| <b>ANHANG.....</b>                       |  | <b>X</b>    |
| <b>ZITIERTE LITERATUR .....</b>          |  | <b>XXIV</b> |
| <b>DANKSAGUNG .....</b>                  |  | <b>XLI</b>  |
| <b>SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....</b> |  | <b>XLII</b> |