

# 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 Konkurrenz/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 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>

3.9	Farbstoffe .....	33
3.10	Verbrauchsmaterialien .....	33
3.11	Verwendete Geräte .....	34
3.12	Chemikalien .....	35
4.	METHODEN .....	36
4.1	Mikrobiologische Methoden .....	36
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	Hämolysverhalten .....	38
4.1.6	Beweglichkeit .....	38
4.1.7	Prüfung des Kohlenhydratstoffwechsels .....	39
4.2	Molekularbiologische Methoden .....	40
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
4.3	Zellbiologische Methoden .....	49
4.3.1	Zellkultur .....	49
4.3.2	Adhäsionstest .....	49
4.4	Fluoreszenzmikroskopie .....	50
4.4.1	FAS-Test .....	50
4.4.2	DNA-Färbung und Eindecken der Präparate .....	51
4.5	Begriffsbestimmungen .....	51
4.6	Statistische Methoden .....	52
5.	ERGEBNISSE .....	54
5.1	Untersuchungen zur Diversität .....	54
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
5.2	Geno- und phänotypische Charakterisierung von 102 <i>E. coli</i> -Isolaten aus dem Darm von Wildschweinen .....	58
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	Hämolys 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 kommensaler <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>ZITIERTER LITERATUR .....</b>	<b>XXIV</b>	
<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>XLI</b>	
<b>SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....</b>	<b>XLII</b>	