

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
2	LITERATURÜBERSICHT.....	3
2.1	<i>Coxiella burnetii</i>	3
2.1.1	Allgemeine Eigenschaften.....	3
2.1.2	Taxonomie.....	3
2.1.3	Genom von <i>Coxiella burnetii</i>	3
2.1.3.1	<i>Acute disease antigen A-Gen</i>	3
2.1.3.2	RFLP.....	5
2.1.3.3	Plasmide.....	6
2.1.3.4	MLVA.....	8
2.1.4	Virulenzfaktoren.....	10
2.1.5	Infektionen bei Mensch und Tier.....	13
3	METHODEN.....	15
3.1	Herstellung von Keim-Suspensionen.....	15
3.1.1	Anzüchtung und Vermehrung.....	15
3.1.2	Isolate.....	15
3.1.3	Zelllinien.....	18
3.1.4	Aufreinigung.....	18
3.1.5	Mikroskopische Bestimmung der Partikelzahl.....	19
3.1.6	Inaktivierung.....	19
3.1.7	Gimenez-Färbung.....	20
3.2	Polymerase Kettenreaktion (PCR).....	20
3.2.1	Präparation bakterieller Gesamt-DNA.....	20
3.2.2	Multiplex-PCR für die Plasmiddifferenzierung und <i>adaA</i> -PCR.....	20
3.2.3	XL-PCR.....	21
3.2.4	<i>Multiple Loci Variable Number of Tandem Repeats Analysis</i>	22
3.2.5	Analytische Agarose-Gel-Elektrophorese.....	23
3.2.6	Analytische Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese.....	23
3.3	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP).....	25
3.3.1	Herstellung der Agaroseblöckchen für die <i>contour-clamped homogeneous electric field – pulse field gel electrophoresis</i> (CHEF-PFGE).....	25

3.3.2	Freisetzung und Verdau der in den Agaroseblöckchen enthaltenen DNA.....	25
3.3.3	<i>Contour-clamped homogeneous electric field – pulse field gel electrophoresis (CHEF-PFGE)</i>	26
4	ERGEBNISSE	27
4.1	Genetische Charakterisierung von <i>C. burnetii</i> -Isolaten	27
4.1.1	Darstellung der Plasmide mittels Multiplex-PCR.....	27
4.1.2	Vergleichende PCRs für die Plasmide QpRS und QpDV.....	28
4.1.3	Nachweis des <i>acute disease antigen A (adaA)</i> -Gens	30
4.1.4	<i>Multiple Loci Variable Number of Tandem Repeats Analysis (MLVA)</i>	31
4.1.5	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (RFLP).....	38
4.1.6	Genotypisierung von humanen Isolaten	40
5	DISKUSSION	41
5.1	Bedeutung des <i>adaA</i> -Gens für die Pathogenität.....	41
5.2	Typisierung mittels RFLP-PFGE.....	42
5.3	Typisierung mittels MLVA.....	46
5.4	Vergleich der Plasmidsequenzen	50
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	53
7	SUMMARY	55
8	LITERATURVERZEICHNIS.....	57
9	ANHANG.....	68
10	TABELLEN	76
11	ABBILDUNGEN	77