

# 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</i> -Gen .....	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
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>27</b>
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
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>41</b>
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
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG.....</b>	<b>53</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>55</b>
<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>57</b>
<b>9</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>68</b>
<b>10</b>	<b>TABELLEN .....</b>	<b>76</b>
<b>11</b>	<b>ABBILDUNGEN .....</b>	<b>77</b>