

1 Inhalt

1	Inhalt.....	I
2	Abkürzungsverzeichnis.....	IV
3	Einleitung.....	1
4	Literaturübersicht.....	3
4.1	Biologie von <i>P. aeruginosa</i>	3
4.2	<i>P. aeruginosa</i> als Krankheitserreger	4
4.2.1	<i>P. aeruginosa</i> -Infektionen bei immunkompetenten Menschen.....	4
4.2.2	Nosokomiale Infektionen durch <i>P. aeruginosa</i> beim Menschen.....	5
4.2.3	Cystische Fibrose – Mukoviszidose.....	6
4.2.4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> -Infektionen bei Tieren.....	7
4.3	Populationsstruktur von <i>P. aeruginosa</i>	9
4.4	Natürliche Resistenz	11
4.5	Durch Mutation erworbene Resistenz.....	12
4.5.1	Effluxsysteme.....	12
4.5.2	Verlust des OprD-Porins	13
4.5.3	Überexpression der AmpC- β -Laktamase	13
4.5.4	Mutationen in Typ-II Topoisomerase & Topoisomerase-IV	14
4.5.5	Resistenz gegen Polymyxine	14
4.6	Resistenz vermittelt durch erworbene Resistenzgene	15
4.6.1	Aminoglykosid-modifizierende Enzyme (AME).....	15
4.6.2	Erworbene β -Laktamasen	16
4.6.3	Erworbene β -Laktamasen bei <i>P. aeruginosa</i> -Isolaten von Tieren.....	20
4.7	Phänotypische Resistenz bei <i>P. aeruginosa</i>	23
4.7.1	Phänotypische Resistenz bei <i>P. aeruginosa</i> -Isolaten von Menschen	23
4.7.2	Phänotypische Resistenz bei <i>P. aeruginosa</i> -Isolaten von Hunden und Katzen 24	
4.7.3	Phänotypische Resistenz bei <i>P. aeruginosa</i> -Isolaten von Nutztieren	29
4.7.4	Phänotypische Resistenz bei <i>P. aeruginosa</i> -Isolaten von Pferden	30
4.8	Virulenzfaktoren	30
4.8.1	LPS.....	32
4.8.2	Flagellum und Typ-IV Pili	33
4.8.3	Typ-3-Sekretionssystem (T3SS)	33
4.8.4	ExlA	34
4.8.5	ToxA	35
4.8.6	Proteasen, Elastasen	36
4.8.7	Weitere Virulenzfaktoren	36
4.9	Biofilm	37

5	Material und Methoden	41
5.1	Material	41
5.1.1	Chemikalien, Nährmedien, Lösungen und Puffer	41
5.1.2	Verwendete Computerprogramme	41
5.1.3	Herkunft der <i>P. aeruginosa</i> -Isolate vom Tier	41
5.1.4	Herkunft der humanen <i>P. aeruginosa</i> -Isolate	43
5.1.5	Referenz- und Kontrollstämme	44
5.2	Methoden	45
5.2.1	Antimikrobielle Empfindlichkeitsprüfung	45
5.2.2	MHK-Bestimmung von Imipenem mittels Epsilometer-Test	46
5.2.3	Asservierung der Isolate	46
5.2.4	Molekularbiologische Methoden	46
5.2.5	Untersuchung zur Biofilmbildung	52
5.2.6	Untersuchung der Motilität	54
5.2.7	Untersuchung der <i>in vitro</i> -Fitness	55
5.2.8	Testung der <i>in vivo</i> -Virulenz im <i>Galleria mellonella</i> -Modell	55
6	Ergebnisse	57
6.1	Antimikrobielle Empfindlichkeit	57
6.2	Resistenzgentestung	63
6.3	Chromosomale, mutationsbedingte Resistenzen	68
6.3.1	Mutationsbedingtes Resistom gegen β -Laktam-Antibiotika	69
6.3.2	Mutationsbedingtes Resistom gegen Fluorchinolone	74
6.3.3	Aminoglykosid-Resistenz vermittelnde Gene	77
6.3.4	Colistinresistenz vermittelnde Mutationen	78
6.4	Virulenzgentestung	79
6.5	Phylogenetische Untersuchungen	80
6.6	Kristallviolett-Mikrotiterplattentest (KV-MTP-Test)	86
6.7	Silikonfolienassay	89
6.8	<i>In vitro</i> Kompetitionsassay	91
6.9	Untersuchung der schwimmenden Fortbewegung	93
6.9.1	Einfluss einer subinhibitorischen Antibiotikakonzentration auf die schwimmende Fortbewegung von <i>P. aeruginosa</i> -Isolaten	96
6.10	Testung der <i>in vivo</i> -Virulenz im <i>Galleria mellonella</i> -Modell	100
7	Diskussion	103
7.1	Aufbau der Studie	103
7.2	Phänotypische Resistenz von <i>P. aeruginosa</i> -Isolaten von Tieren	103
7.3	Genotypische Resistenzeigenschaften bei <i>P. aeruginosa</i> -Isolaten vom Tier	109
7.3.1	Populationsstruktur von <i>P. aeruginosa</i>	113
7.4	Phänotypische Untersuchungen zur Virulenz, Biofilmbildung und Motilität	116

7.4.1	Biofilmbildung.....	116
7.4.2	Virulenzgene	118
7.4.3	<i>In vitro</i> Fitness Imipenem-resistenter <i>P. aeruginosa</i> -Isolate	120
7.4.4	Motilität	121
8	Zusammenfassung	123
9	Summary	126
10	Literatur	129
11	Anhang.....	145
11.1	Übersicht über verwendete Chemikalien, Geräte und Verbrauchsmaterialien	145
11.2	Verwendete Puffer und Lösungen	150
11.3	Verwendete Nährmedien.....	153
11.4	Referenzstämme.....	154
11.5	Gen-Bank Accession-Nummern und Referenzen der untersuchten Gene	155
11.5.1	Serotypen.....	155
11.5.2	Virulenz-assoziierte Gene	156
11.6	Sonstige einmalig auftretende Sequenztypen	160
12	Abbildungsverzeichnis	161
13	Tabellenverzeichnis	163
14	Danksagung	165