

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden mittels Multilocus-Sequenz-Typisierung (MLST) die Verwandtschaftsverhältnisse von 25 bovinen Nicht-O157:H7-Shigatoxin-bildenden *Escherichia coli* (STEC) -Stämmen bestimmt und mit einem O157:H7-Stamm sowie dem *E. coli* K12-Referenzstamm MG1655 verglichen. Für die phylogenetischen Untersuchungen wurden einerseits die vier Housekeeping-Gene *cadB* (442 bp), *mdh* (810 bp), *putP* (483 bp) und *trpC* (420 bp) partiell sequenzanalysiert. Weiterhin wurden Gene des über horizontalen Gentransfer erworbenen *Locus of Enterocyte Effacement* (LEE) analysiert, und zwar die hochvariablen Virulenzgene *eae* (895 bp) und *espB* (374 bp). Anhand der Daten wurden Kladogramme erstellt, deren Vertrauenswürdigkeit durch eine kombinierte Analyse in einem Maximum-Parsimonie-Baum (MPT) visualisiert wurde. Ziel der Untersuchungen war es, die mögliche Entwicklungsgeschichte dieser LEE-positiven bovinen STEC-Stämme nachzuzeichnen.

Die Analyse der Housekeeping-Gene erbrachte das Vorhandensein von möglicherweise sechs verschiedenen Clustern. Eine endgültige Clusterbestimmung hätte die Sequenzanalyse weiterer Housekeeping-Gene sowie einen größeren Datensatz erfordert. Bezüglich der Virulenzgene stimmten die phylogenetischen Daten der *espB* und *eae*-Gene weitestgehend überein, was als Hinweis auf deren Co-Evolution gewertet wird. Weiterhin zeigte sich eine absolute Assoziation zwischen den 8 verschiedenen nachgewiesenen Intimintypen und der phylogenetischen Verwandtschaft der Stämme. Demnach kann das Intimin als phylogenetischer Marker gewertet werden.

Die aus der Analyse der Housekeeping-Gene getroffene phylogenetische Entwicklung der Stämme wurde weiterhin in Einklang gebracht mit den Daten der LEE-assoziierten Gene, um einen möglichen Zeitpunkt der Übertragung des LEE abschätzen zu können. Aufgrund der geringen Zahl untersuchter Gene konnte keine endgültige Hypothese erstellt werden, allerdings sprechen die Daten eher dafür, dass der LEE mehrfach und unabhängig voneinander in verschiedene *E. coli*-Phylotypen inserierte. Nach Integration des LEE in das jeweilige *E. coli*-Chromosom fand dann die jeweilige Weiterentwicklung des LEE statt, die anhand der Gene *eae* und *espB* analysiert wurde. Die unterschiedlichen Entwicklungen finden in den deutlichen Sequenzgrößen- und Sequenzfolgen-Unterschieden einen klaren Ausdruck. Sie enthüllten Clusterbildungen bei den Housekeeping-Genen, die durch unterschiedliche Mutationen über die Zeit entstanden sein müssen. Daraus wird der Schluss gezogen, dass es sich um wenigstens fünf, mutmaßlich jedoch sogar sechs, verschiedene Cluster handelt, die

nur zum Teil die Einteilung durch Whittam (Whittam, 1998) und Reid (Reid et al., 1999; Reid et al., 2000), über die MLEE (Selander and Lewin, 1980; Selander et al., 1986) bestätigen. Diese Cluster spiegeln sich auch in denen der Virulenzgene wieder, so dass davon ausgegangen werden kann, dass es sich jeweils um eine unabhängige Aufnahme eines LEE, aber unterschiedliche Weiterentwicklung seit diesem Zeitpunkt handelt. Die deutlichsten Veränderungen, die sich am zeta-Cluster zeigten, könnten auf einem relativ höheren Selektionsdruck beruhen, oder aber auch einfach dadurch zustande gekommen sein, dass sie eine längere Zeit der Entwicklung hatten, also schlichtweg älter sind. Diese Hypothesen müssen in umfangreicheren zukünftigen Untersuchungen belegt bzw. widerlegt werden.

Zur Darstellung einer Zeitskala fehlen geeignete sog. „Outgroups“, so dass die Trennungszeiten der einzelnen Klone nicht geschätzt werden können. Somit ist auch keine Aussage darüber möglich, welcher Klon sich von welchem Ursprungsklon zu welchem Zeitpunkt getrennt hat. Die Analysen deuten jedoch darauf hin, dass der LEE mehrfach und zu unterschiedlichen Zeiten von den einzelnen Klonen aufgenommen worden ist.