

1. Einleitung

Die Methodik der vergleichenden rRNA-Analytik hat in den letzten Jahren zu einer enormen Kenntniszunahme in der Analyse komplexer Bakterienpopulationen geführt. So konnten insbesondere mit Hilfe der vergleichenden ribosomalen Sequenzanalyse repräsentativere Einblicke in mikrobielle Habitate gewonnen werden, als dies mit konventionellen, kulturabhängigen Verfahren auch nur ansatzweise möglich gewesen wäre. Neben phylogenetischen Analysen hat die Einführung der rRNA-Analytik auch dazu geführt, Nachweismethoden für pathogene Mikroorganismen zu entwickeln, die aufgrund mangelnder Kultivierungsmöglichkeiten bis dato unbekannt waren. D.h., dass die pathogene Beteiligung derartiger Keime lange Zeit unerkannt blieb (PITCHER und FRY 2000). Durch die Entwicklung und Anwendung spezifischer Nachweismethoden, basierend auf der vergleichenden 16/23S rRNA-Analyse, wurde daran anschließend kulturunabhängig der Nachweis nicht-kultivierbarer Keime z. B. mittels DNA-DNA Dot blot-Hybridisierung oder der Fluoreszenz *in situ*-Hybridisierung (FISH) möglich (WAGNER et al., 2003).

Bakterien der Gattung *Treponema* sind diesbezüglich gute Beispiele. Einerseits kommen *Treponema* spp. als apathogene Vertreter unter anderem im Gastrointestinaltrakt vor, andererseits spielen sie als pathogene Keime eine Rolle. Neben der enormen Diversität innerhalb des Genus *Treponema* gelang ebenfalls deren Nachweis und somit deren mögliche ätiologische Bedeutung im Zusammenhang mit Infektionskrankheiten. Neben wenigen kultivierbaren Vertretern beinhaltet dieses Genus eine Vielzahl an Spezies, die bisher nur mit Hilfe der vergleichenden rRNA-Analyse nachweisbar sind (DEWHIRST et al., 2000).

Nach heutigem Verständnis haben *Treponema* spp. beim Rind insofern eine bedeutende Rolle, als dass sie bei der Dermatitis digitalis (DD) vorkommen, einer wirtschaftlich bedeutenden Klauenerkrankung, und ihnen hier eine ätiologische Rolle zugesprochen wird. So war es möglich, das Vorkommen bestimmter Phylotypgruppen aufzuzeigen und eine mögliche Mitbeteiligung nachzuweisen (CHOI et al., 1997; MOTER et al., 1998). Bisher ist aber nicht bekannt, in welchem Habitat die o.g. *Treponema* spp. originär vorkommen, was also die Ansteckungsquelle ist (EDWARDS et al., 2003). Da beim Rind in der Pansenflora die kultivierbaren Spezies *Treponema bryantii* sowie *Treponema saccharophilum* physiologischerweise vorkommen, war es vorstellbar, dass das Rind selber als Ausscheider

über den Gastrointestinaltrakt neben diesen apathogenen Vertretern gleichermaßen diejenigen *Treponema* spp. beherbergt, die bei der DD nachgewiesen werden können (STANTON und CANALE-PAROLA, 1980; PASTER und CANALAE-PAROLA, 1985).

Die vorliegende Arbeit verfolgte deshalb zwei Ziele:

- Validierung des Vorkommens (Diversität) DD-assoziiierter *Treponema*-Phylotypen an einer größeren Anzahl von Bioplatproben;
- Nachweis der identischen DD-assoziierten Phylotypen in Pansensaft und Kotproben.

Methodisch standen aus den o.g. Gründen kulturunabhängige Verfahren (DNA-DNA-Dot blot-Hybridisierung, Fluoreszenz *in situ*-Hybridisierung unter Verwendung treponemen-spezifischer Oligonukleotidsonden) im Vordergrund. Weiterhin wurde neben der konventionellen bakteriologischen Untersuchung der gesammelten Bioplate versucht, *Treponema* spp. zu kultivieren und zu charakterisieren.