

INHALTSVERZEICHNIS

| | Seite |
|--|--------------|
| 1 EINLEITUNG | 1 |
| 2 LITERATURÜBERSICHT | 2 |
| 2.1 Mykobakterien | 2 |
| 2.2 <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> | 3 |
| 2.2.1 Taxonomie | 3 |
| 2.2.2 Vorkommen und Tenazität | 5 |
| 2.3 Paratuberkulose | 7 |
| 2.3.1 Klinik, Pathologie und Epidemiologie der Paratuberkulose | 7 |
| 2.3.2 Ökonomische Aspekte der Paratuberkulose | 13 |
| 2.4 <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> in Lebensmitteln | 14 |
| 2.4.1 Milch und Milcherzeugnisse | 15 |
| 2.4.2 Fleisch und Fleischerzeugnisse | 17 |
| 2.4.3 Wasser | 18 |
| 2.4.4 Lebensmittel pflanzlichen Ursprungs | 19 |
| 2.5 Nachweismethoden für <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> .. | 20 |
| 2.5.1 Kulturelle Nachweisverfahren | 20 |
| 2.5.2 Polymerase-Kettenreaktion | 23 |
| 2.5.2.1 Grundlagen | 23 |
| 2.5.2.2 Das Prinzip der Real Time-PCR | 25 |
| 2.5.2.3 Nachweis von <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> mit PCR- Verfahren | 28 |

| | | |
|---------|--|----|
| 2.5.2.4 | Molekulare Identifizierung von Mykobakterienspezies..... | 31 |
| 2.6 | Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen des Menschen | 32 |
| | Morbus Crohn und Colitis ulcerosa..... | 32 |
| 2.6.1 | Ätiologie chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen..... | 36 |
| 2.6.1.1 | <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> und Morbus Crohn | 42 |
| 2.6.2 | Epidemiologie und ökonomische Aspekte chronisch-entzündlicher Darkerkrankungen | 52 |
| 2.6.3 | Diagnostik chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen..... | 56 |
| 2.6.3.1 | Morbus Crohn..... | 56 |
| 2.6.3.2 | Colitis ulcerosa | 59 |
| 2.6.4 | Therapie chronisch-entzündlicher Darmerkrankungen | 60 |
| 2.6.4.1 | Morbus Crohn..... | 60 |
| 2.6.4.2 | Colitis ulcerosa | 63 |
| 3 | MATERIAL UND METHODEN | 65 |
| 3.1 | Referenz- und Kontrollstämmе | 65 |
| 3.2 | Vergleichende Untersuchungen zum kulturellen Nachweis von <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> | 66 |
| 3.3 | Dekontaminationswirkung von N-Acetyl-L-Cystein-NaOH auf <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> | 73 |
| 3.4 | Darmbioptate von Morbus Crohn- und Colitis ulcerosa-Patienten sowie Kontrollprobanden | 78 |
| 3.4.1 | Probanden | 78 |
| 3.4.2 | Darmbioptate | 79 |
| 3.4.3 | Charakterisierung des Probandenkollektivs..... | 83 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 3.4.4 | Charakterisierung der Darmbioplate..... | 84 |
| 3.4.5 | Weiteres Vorgehen nach Fluoreszenz oder 12-wöchiger Inkubation... | 86 |
| 3.4.6 | Sequenzanalyse säurefester Stäbchen | 99 |
| 3.4.7 | Archivierung der Isolate aus humanen Biopaten und der Referenzstämmen | 101 |
| 3.5 | Statistische Auswertung | 103 |
| 4 | ERGEBNISSE..... | 105 |
| 4.1 | Vergleichende Untersuchungen zum kulturellen Nachweis von <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> | 105 |
| 4.2 | Validierung der Wirkung von N-Acetyl-L-Cystein-NaOH auf <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> | 109 |
| 4.3 | Mikrobiologische Ergebnisse bei humanen Darmbiopaten..... | 120 |
| 4.4 | Molekularbiologische Ergebnisse der mit humanen Darmbiopaten inokulierten BBL Mycobacteria Indicator Tubes (MGIT) | 121 |
| 4.5 | Ergebnisse der Sequenzanalyse | 137 |
| 4.6 | Archivierung humaner Isolate und boviner Referenzstämmen | 142 |
| 5 | DISKUSSION..... | 143 |
| 5.1 | Medienvergleich..... | 143 |
| 5.2 | Validierung der Dekontaminationswirkung von N-Acetyl-L-Cystein- NaOH auf <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> | 146 |
| 5.3 | Kultureller und molekularbiologischer Nachweis von MAP aus Darmschleimhaut von Morbus Crohn- und Colitis ulcerosa-Patienten sowie Kontrollprobanden | 148 |

| | | |
|----------|--|-----|
| 5.3.1 | Methodische Aspekte | 148 |
| 5.3.2 | Vorkommen von <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> im Darmgewebe von Morbus Crohn- und Colitis ulcerosa-Patienten sowie Kontrollprobanden | 155 |
| 6 | SCHLUSSFOLGERUNGEN | 164 |
| 7 | ZUSAMMENFASSUNG | 165 |
| 8 | SUMMARY | 168 |
| 9 | LITERATURVERZEICHNIS | 170 |
| 10 | ANHANG | 259 |
| 10.1 | Puffer und Lösungen | 259 |
| 10.1.1 | Puffer und Lösungen für die Dekontamination..... | 259 |
| 10.1.2 | Puffer und Lösungen für die PCR..... | 259 |
| 10.1.3 | Lösungen für die Dekontaminationsvalidierung | 262 |
| 10.1.3.1 | Referenzsuspension..... | 262 |
| 10.2 | Nährmedien | 263 |
| 10.2.1 | Löwenstein-Jensen-Festmedium | 263 |
| 10.2.2 | Middlebrook 7H10-Agar..... | 263 |
| 10.2.3 | <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>paratuberculosis</i> -Nachweis bei Morbus Crohn- und Colitis ulcerosa-Patienten sowie Kontrollprobanden..... | 264 |
| | DANKSAGUNG | 292 |