

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 Darmerkrankungen	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 Kontrollstämme	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 Darmbioptate.....	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 Bioptaten und der Referenzstämme	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 Darmbioptaten	120
4.4	Molekularbiologische Ergebnisse der mit humanen Darmbioptaten inokulierten BBL Mycobacteria Indicator Tubes (MGIT)	121
4.5	Ergebnisse der Sequenzanalyse	137
4.6	Archivierung humaner Isolate und boviner Referenzstämme	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