

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	iv
Abkürzungsverzeichnis.....	viii
Veröffentlichungen.....	xii
I Einleitung.....	1
II Schrifttum.....	3
1 Die Paratuberkulose des Rindes.....	3
1.1 Taxonomie und Charakterisierung des Erregers.....	3
1.2 Wirtsspektrum.....	5
1.3 Übertragung und Anfälligkeit.....	6
1.4 Stadien der MAP-Infektion.....	7
2 Die MAP-spezifische humorale Immunantwort des Rindes.....	8
2.1 Verlauf der MAP-spezifischen humoralen Immunantwort.....	9
2.2 T _H 1- und T _H 2-assoziierte Antikörpersubtypen.....	11
2.3 Antigene von MAP und deren Verwendung zum Nachweis MAP-spezifischer Antikörper.....	13
2.3.1 Antigengemische.....	13
2.3.2 Lipidhaltige Antigene.....	15
2.3.3 Proteinantigene.....	16
2.3.3.1 Nachweislich <i>in vitro</i> exprimierte Proteine mit bekannter Funktion oder Lokalisation.....	19
2.3.3.2 Rekombinant hergestellte Proteine ohne nachweisliche Expression <i>in vitro</i>	23
3 Serologische Nachweisverfahren für MAP-Infektionen beim Rind.....	25
3.1 Komplementbindungsreaktion.....	25
3.2 Agargelimmunodiffusionstest.....	26
3.3 Enzyme-Linked-Immunesorbent Assay.....	26
3.4 Durchflusszytometrie-basierter Antikörpernachweis.....	33
III Material und Methoden.....	34
1 Bakterienstämme.....	34
2 Betriebe.....	35
2.1 MAP-unverdächtige Rinderbetriebe.....	35
2.2 MAP-Problembetriebe.....	36

3	Rinder	38
3.1	Kühe	38
3.2	Kälber der experimentellen Infektionsstudie	39
3.3	Kälber der Feldstudien.....	41
3.3.1	Kohortenstudie 1	41
3.3.2	Kohortenstudie 2	41
4	Experimentelle Infektionsstudie	44
5	Serumproben	46
6	Kotproben	46
7	Verbrauchsmaterialien und Lösungen	46
8	Bakteriologische Methoden	46
8.1	Anzucht der Bakterienstämme	46
8.2	Keimzahlbestimmung	49
8.2.1	LIVE/DEAD® BacLight™ Bacterial Viability and Counting Kit	49
8.2.2	KbE-Bestimmung und OD ₆₀₀ -Messung	52
8.3	Herstellung der Test- und Präadsorptionsantigene	52
8.4	Herstellung der Inokula und Scheininokula	53
9	Serologische Methoden.....	56
9.1	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	56
9.1.1	Svanovir®-ELISA	57
9.1.2	Pourquier®-ELISA.....	58
9.1.3	Cattletype®-ELISA	59
9.2	Durchflusszytometrische Antikörper-Tests (DFZM-Ak-Tests).....	60
9.2.1	Etablierung und Optimierung der DFZM-Ak-Tests.....	60
9.2.2	Test- und Präadsorptionsantigene	61
9.2.3	Durchführung der DFZM-Ak-Tests	61
9.2.4	Gating-Strategie und Auswertung der DFZM-Ak-Tests	63
10	Statistische Auswertung	65
IV	Ergebnisse.....	66
1	Identifizierung von MAP-unverdächtigen Betrieben	66
2	Etablierung und Evaluierung der DFZM-Ak-Tests an adulten Rindern.....	69
2.1	Serum- und Sekundäntikörperkonzentrationen.....	69
2.2	MAP-Wachstumsphase	69
2.3	Konzentration der Präadsorptions- und Testantigene	71

2.4	Titerberechnung	74
2.5	Art des Präadsorptionsantigens.....	75
2.6	Vergleichende Untersuchung der Testqualität von DFZM-Ak- Testvarianten und kommerziellen ELISAs	78
3	Etablierung des LIVE/DEAD® BacLight™-Kits	82
3.1	Gating-Strategie bei der LIVE/DEAD® BacLight™-Analyse.....	82
3.2	Korrelation der verschiedenen Keimzählmethoden	84
4	Ergebnisse der experimentellen Infektionsstudie.....	87
4.1	Ergebnis der Inokulationsdosis-Überprüfung	87
4.2	MAP-Status der Muttertiere	88
4.3	Ergebnis der klinischen Überwachung der Kälber.....	90
4.4	Dynamik MAP-spezifischer Antikörper in der Kontroll- und in der Infektionsgruppe	91
4.5	Dynamik der MAP-spezifischen DFZM-Ak-Titer beim einzelnen Kalb	96
4.6	Antikörpertiter im Pourquoi®-ELISA	102
4.7	Ergebnisse der kulturell-bakteriologischen und molekularbiologischen Untersuchungen	105
5	Ergebnisse der Feldstudien	107
5.1	Nachweis MAP-spezifischer maternaler Antikörper bei Kälbern und Jungrindern (Kohortenstudie 1)	107
5.2	Nachweis der MAP-spezifischen Serokonversion bei Jungrindern (Kohortenstudie 2)	113
V	Diskussion	119
VI	Zusammenfassung.....	145
VII	Summary.....	147
VIII	Literaturverzeichnis	149
IX	Anhang.....	173
1	Reagenzien und Materialien	173
2	Puffer, Medien und Lösungen	176
3	Geräte	178
	Tabellenverzeichnis.....	179
	Abbildungsverzeichnis.....	181

Danksagung	183
-------------------------	------------