

## Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS .....	I
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	IV
<b>1 EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2 LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1 Coxiella burnetii .....</b>	<b>2</b>
2.1.1 Q-Fieber und Coxiellose .....	2
2.1.2 Erregereigenschaften und -taxonomie .....	3
2.1.3 Tenazität von Coxiellen .....	3
2.1.3.1 Tenazität gegenüber physikalischen Einflüssen .....	4
2.1.3.2 Tenazität gegenüber chemischen Einflüssen .....	11
2.1.3.3 Unterschiede in der Tenazität der verschiedenen Zellformen von <i>C. burnetii</i> .....	14
2.1.3.4 Einfluss von Proteinen auf die Tenazität von <i>C. burnetii</i> .....	16
2.1.4 Empfehlungen zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i> -kontaminierten Matrices .....	18
<b>2.2 Bodendesinfektion .....</b>	<b>20</b>
<b>2.3 Wirksamkeitsprüfungen von Desinfektionsmitteln .....</b>	<b>25</b>
<b>3 MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>31</b>
<b>3.1 Material .....</b>	<b>31</b>
3.1.1 Nährmedien, Puffer, Lösungen, Verbrauchsmaterialien und Geräte .....	31
3.1.2 <i>Coxiella burnetii</i> -Stamm .....	31
3.1.3 BGM-Zellen .....	31
3.1.4 Desinfektionsmittel .....	31
3.1.5 Bodenproben .....	32
3.1.6 Reaktionsgefäße für die Arbeiten mit Bodenproben .....	32
<b>3.2 Methoden .....</b>	<b>33</b>
3.2.1 Kulturell-mikrobiologische Untersuchung und Autoklavieren von Bodenproben .....	33
3.2.2 Anzucht und Zählung von BGM-Zellen .....	34
3.2.3 Färbemethoden .....	34
3.2.3.1 Trypanblaufärbung .....	35
3.2.3.2 Giménez-Färbung .....	35
3.2.3.3 Färbung mit Lysotracker® Red .....	35
3.2.3.4 Immunfluoreszenzfärbung .....	35
3.2.4 Mikroskopische Untersuchung von Zellkulturen .....	36
3.2.5 Herstellung von <i>C. burnetii</i> -Suspensionen .....	37
3.2.6 Zellkulturtests zur Bestimmung zytotoxischer Effekte .....	38
3.2.6.1 Vorbereitung und Durchführung .....	38
3.2.6.2 Auswertung mittels Hellfeldmikroskopie .....	40
3.2.6.3 Auswertung der Desinfektionsmittel-bedingten Zellschäden mittels MTT-Test .....	40
3.2.7 Bestimmung der <i>C. burnetii</i> -Keimzahl in wässrigen Suspensionen .....	41
3.2.7.1 Bestimmung <i>C. burnetii</i> -Partikelzahl .....	41
3.2.7.2 Bestimmung der <i>C. burnetii</i> -Lebendkeimzahl .....	41

3.2.8	Wirksamkeitsprüfung chemischer Desinfektionsmittel an <i>C. burnetii</i> -Prüfsuspensionen .....	43
3.2.8.1	Quantitativer Suspensionsversuch zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i> mit und ohne Proteinbelastung .....	43
3.2.8.2	Quantitativer Keimträgerversuch .....	46
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>49</b>
<b>4.1</b>	<b>Zytotoxische Wirkung der Desinfektionsmittel auf die BGM-Zellen</b> .....	<b>49</b>
4.1.1	Lichtmikroskopische Auswertung .....	49
4.1.2	Auswertung mittels MTT-Test .....	55
4.1.3	Evaluierung von L-Histidin als Inaktivierungsmittel zur Reduktion der zytotoxischen Wirkung von Formalin .....	57
4.1.3.1	Lichtmikroskopische Auswertung .....	58
4.1.3.2	Auswertung mittels MTT-Test .....	59
<b>4.2</b>	<b>Vergleichende Untersuchungen zur Erkennung von <i>C. burnetii</i>-infizierten BGM-Zellkulturen</b> .....	<b>60</b>
<b>4.3</b>	<b>Bestimmung der Keimzahl der <i>C. burnetii</i>-Prüfsuspension</b> .....	<b>66</b>
<b>4.4</b>	<b>Einfluß von Desinfektionsmitteln in zellverträglichen Konzentrationen auf die Bestimmung der <i>C. burnetii</i>-Lebendkeimzahl</b> .....	<b>67</b>
<b>4.5</b>	<b>Quantitativer Suspensionsversuch zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i> ohne und mit Eiweißbelastung</b> .....	<b>68</b>
<b>4.6</b>	<b>Quantitative Keimträgerversuche an Bodenproben zur Wirksamkeitsprüfung chemischer Desinfektionsmittel gegenüber <i>C. burnetii</i></b> .....	<b>78</b>
4.6.1	Zytotoxische Wirkung der Bodenbestandteile auf die BGM-Zellen .....	78
4.6.2	Kulturell-mikrobiologische Untersuchung und Autoklavieren der Bodenproben .....	80
4.6.3	Rückgewinnung der Coxiellen aus den Bodenproben .....	81
4.6.4	Quantitative Keimträgerversuche zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i> unter Proteinbelastung .....	83
<b>5</b>	<b>BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE</b> .....	<b>88</b>
<b>5.1</b>	<b>Zytotoxizität der Desinfektionsmittel auf BGM-Zellen</b> .....	<b>88</b>
<b>5.2</b>	<b>Abstoppen der Desinfektionsmittelwirkung</b> .....	<b>90</b>
<b>5.3</b>	<b>Reduktion der Zytotoxizität von Formalin durch L-Histidin</b> .....	<b>91</b>
<b>5.4</b>	<b>Verfahren zum Nachweis von Coxiellen-infizierten BGM-Zellen</b> .....	<b>91</b>
5.4.1	Lebendkeimzahl der wässrigen <i>C. burnetii</i> -Prüfsuspension und Präzision der Methodik zur Bestimmung der <i>C. burnetii</i> -Lebendkeimzahl .....	93
<b>5.5</b>	<b>Beeinflussung der Lebendkeimzahlbestimmung durch Desinfektionsmittel in zellverträglichen Konzentrationen</b> .....	<b>94</b>
<b>5.6</b>	<b>Quantitativer Suspensionsversuch zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i></b> .....	<b>95</b>
<b>5.7</b>	<b>Voraussetzungen für die Verwendung von Bodenproben als Keimträger</b> .....	<b>96</b>
5.7.1	Methodik der Keimträgerversuche an Bodenmatrizes .....	96
5.7.2	Reisolation der Coxiellen aus den Bodenproben .....	97
<b>5.8</b>	<b>Quantitativer Keimträgerversuch zur Desinfektion von <i>C. burnetii</i></b> .....	<b>99</b>
<b>5.9</b>	<b>Schlussfolgerung und Ausblick</b> .....	<b>101</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>103</b>
<b>7</b>	<b>SUMMARY</b> .....	<b>105</b>

---

<b>8</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>107</b>
<b>ANHANG</b>	<b>.....</b>	<b>116</b>
<b>DANKSAGUNG</b>	<b>.....</b>	<b>124</b>