

Tina Basler und Ralph Goethe

# ***Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: ein tierpathogener Erreger mit humanpathogenen Eigenschaften?**

## **Der Forschungsverbund ZooMAP stellt sich vor**

### **Zusammenfassung**

*Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP), der Erreger der Paratuberkulose der Wiederkäuer, wird seit langem als mögliches ätiologisches Agens für den Morbus Crohn des Menschen diskutiert. Zur endgültigen Klärung gibt es noch großen Forschungsbedarf. Der vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderte ZooMAP-Verbund besteht aus sechs Arbeitsgruppen unterschiedlicher Ausrichtungen: Immunologie, Tier- und Humanmedizin. Die Projekte befassen sich mit der Charakterisierung der pathobiologischen Eigenschaften von MAP, einer Optimierung des Nachweises von MAP in Milch und Geweben, der Beteiligung von MAP an Darmveränderungen des Menschen sowie der Verbesserung der molekularen Typisierung von MAP. Die Ergebnisse sollen zur besseren Risikoabschätzung der Bedeutung von MAP beim Morbus Crohn des Menschen beitragen.

### **Summary**

*Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP), the causative agent of paratuberculosis, is discussed in the context with Crohn's disease in humans. However the final impact of MAP for Crohn's disease is still unknown. The network „ZooMAP“ consists of six groups of different research fields (immunology, human- & veterinary medicine). The projects will focus on the appearance of MAP in milk and the improvement of methods for its detection, on the contribution of MAP to chronic intestinal disorders and their consequences in humans, and on the improvement of MAP typing. The results from these studies will increase the understanding of MAP associated with Crohn's disease and will contribute to the evaluation of a zoonotic relevance of MAP.

### **Einleitung**

Bei der durch *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* (MAP) hervorgerufenen Paratuberkulose handelt es sich um eine weltweit verbreitete, nicht therapierbare Infektionskrankheit der Wiederkäuer (Abb. 1). Befallen sind vor allem Rinder, Schafe und Ziegen. Die häufigsten Infektionswege stellen orale Infektionen von Jungtieren dar. Nach der Infektion folgt eine lange subklinische Phase mit der Erregervermehrung in subepithelialen Makrophagen (Abb. 2) und einer intermittierenden Erregerausscheidung (Abb. 3). Klinische Symptome zeigen sich erst nach Jahren, und zwar als nicht therapierbare chronische, wässrige Durchfälle mit einer massiven Erregerausscheidung (ca. 100 Millionen pro Gramm Kot). Hinzu kommen eine fortschreitende Abmagerung und eine drastische Reduktion der Milchleistung. Damit kommt es zu enormen Produktionseinbußen in der milch- und fleischproduzierenden Industrie. In Deutschland gehört die Paratuberkulose zu den meldepflichtigen Erkrankungen. MAP zeichnet sich durch eine außerordentliche Widerstandsfähigkeit in der Umwelt aus und wird auch in Lebensmitteln, insbesondere in Milch und Milchprodukten,

nachgewiesen. Der Erreger vermag sich allerdings nicht in der Umwelt zu vermehren. Deshalb ist das infizierte Rind als die Haupteintragsquelle von MAP anzusehen.

Das Krankheitsbild der Paratuberkulose zeigt sowohl hinsichtlich der klinischen als auch der pathologischen Veränderungen viele Gemeinsamkeiten mit dem Morbus Crohn beim Menschen. Der Morbus Crohn gehört ebenfalls zur Gruppe der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen mit zunehmender Bedeutung in Westeuropa, Nordamerika und anderen hochentwickelten Industrienationen. Es wurde eine Reihe von Konditionen beschrieben, die bei der Entstehung der Erkrankung möglicherweise von Bedeutung sind. Die genauen ursächlichen Faktoren und die Pathogenese des Morbus Crohn sind jedoch nicht eindeutig geklärt. Vermutlich ist die Erkrankung bei einigen Betroffenen mit einer Mutation innerhalb des Nod2/Card15-Gens, einer wichtigen intrazellulären Signalkomponente des angeborenen Immunsystems, assoziiert. Weitere genetische Dispositionen werden kontrovers diskutiert.

Diese vergleichbaren pathoanatomischen Veränderungen bei der Paratuberkulose und beim Morbus Crohn, sowie das Auftreten klinischer Symptome im mittleren Lebensalter sind Ursache für eine seit fast 100 Jahren andauernde Diskussion um

eine mögliche Rolle von MAP bei der Entstehung des Morbus Crohn.

Der direkte Nachweis von MAP in Biopsien von Morbus Crohn-Patienten ist erschwert, da MAP als zellwandlose, „schlafende“ Form vorzuliegen scheint. Durch Nutzung moderner Techniken konnte MAP aber in neueren Studien wiederholt häufiger in Morbus Crohn-Patienten als bei Kontrollen nachgewiesen werden. Als MAP-Quelle kommt nur die Umwelt infrage; Untersuchungen von 1998 konnten den Nachweis von MAP in pasteurisierter Milch und damit den Beweis für das Überleben der Pasteurierungs- und Fermentationsprozesse zeigen. Deshalb wird immer wieder MAP-kontaminierte Milch als mögliche Infektionsquelle diskutiert. Aufgrund der bisherigen Erkenntnisse hat die Europäische Kommission MAP als potentiellen Zoonoseerregere eingestuft.

Das Wissen um ein mögliches gefährdendes Potenzial von MAP ist allerdings weiterhin gering. Neuere Erkenntnisse haben gezeigt, dass Forschungsbedarf auf mehreren Ebenen besteht, denen sich der ZooMAP-Verbund widmen wird. So konnte kürzlich nachgewiesen werden, dass MAP nach einer Passage in Milch eine höhere Invasivität für Epithelzellen entwickelt. Zwar wird MAP durch die derzeitigen Pasteurisierungsmethoden fast vollständig abgetötet. Ob die gegenwärtig erhobenen Lebendkeimzahlen in der Milch repräsentativ sind, ist nach neueren Erkenntnissen allerdings fraglich, da nachgewiesen wurde, dass der Pasteurierungsprozess zur Induktion so genannter VBNC-Bakterienformen („viable but nonculturable“) führen kann. MAP besitzt einen starken Darmtropismus. Im infizierten Rind hat der Erreger über lange Zeit keine Tendenz zu generalisieren. Leider gibt es derzeit kein Modell in kleinen Versuchstieren, in dem diese einzigartige Eigenschaft von MAP untersucht werden



Abb. 1: Kuh mit Paratuberkulose

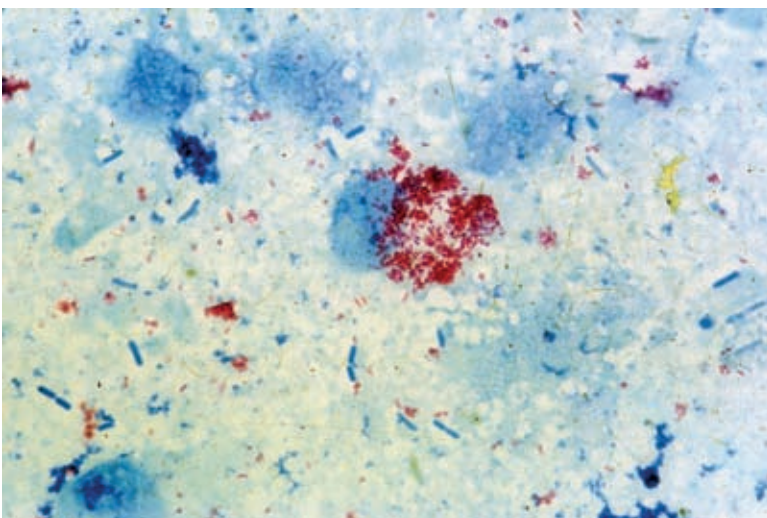


Abb. 2: Ziehl-Neelsen-Färbung der Kotprobe eines erkrankten Rindes: MAP als säurefestes Stäbchen; typische Anordnung in Nestern

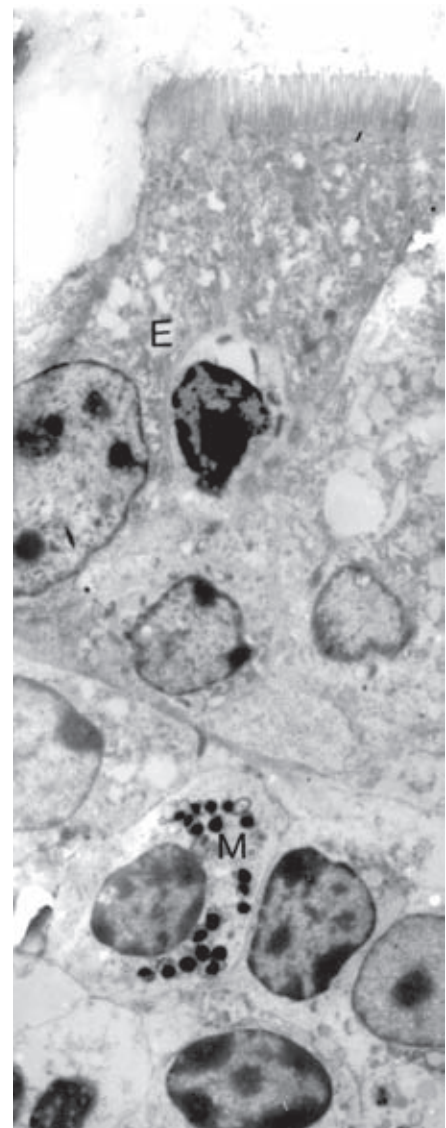


Abb. 3: Elektronenmikroskopische Aufnahme subepithelialer Makrophagen mit MAP (M. Rohde, HZI Braunschweig)

kann, da immunkompetente Tiere nach oraler Infektion nicht oder nur systemisch erkranken.

Ziel des ZooMAP-Verbunds ist es, durch neue experimentelle Ansätze Lücken zur zoonotischen Risikoabschätzung von MAP zu schließen. Die erzielten wissenschaftlichen Erkenntnisse zu MAP und seinen Pathogenitätsmechanismen sollen eine bessere Risikoabschätzung der derzeit noch ungeklärten Relevanz von MAP beim Morbus Crohn des Menschen erlauben.

### Der ZooMAP-Verbund

Im ZooMAP-Verbund (Abb. 4) kooperieren, erstmalig in Deutschland, Arbeitsgruppen der veterinärmedizinischen Bakteriologie (Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover; Projekte C1, C2), der Immunologie mit Erfahrungen in der Mausgenetik und der angeborenen Immunität des Darms (Medizinische Hochschule Hannover; Projekte C2, C3) sowie der medizinischen Gastroenterologie mit der veterinärmedizinischen Lebensmittelkunde (Justus-Liebig-Universität Gießen; Projekt C4 & C5) und dem Deutschen Referenzlabor für Paratuberkulose in Jena (Projekt C6). Gemeinsam untersuchen die beteiligten Wissenschaftler die derzeit noch ungeklärte Relevanz von MAP beim Morbus Crohn des Menschen.

Ein wesentliches Ziel des Verbundes besteht in der Identifizierung von Proteinen, die MAP ausschließlich im Wirt exprimiert. Projekt C1 plant diese mit neusten proteinbiochemischen Methoden zu identifizieren, um dann Antikörper gegen diese Markerproteine herzustellen, welche schließlich als diagnostisches Mittel zum Nachweis von MAP in Geweben von Tier und Mensch nutzbar wären. Ein besseres Verständnis der Pathogenese der Paratuberkulose soll über einen *In-vitro*- und *In-vivo*-Vergleich unterschiedlicher MAP Phänotypen gewonnen werden (Projekte C2, C3). Hierzu soll versucht werden, ein Mausinfektionsmodell für MAP zu etablieren (Projekt C3). Damit können schließlich so genannte Knock-out-Mäuse mit definierten Defekten in immunrelevanten Genen mit MAP infiziert werden, um Paratuberkulose- oder Morbus Crohn-artige Darmmanifestationen zu erzeugen. Da die Rolle der Darmepithelzellen bei der Erregerabwehr gegenüber MAP bislang völlig unklar ist, liegt ein Schwerpunkt des Verbundprojektes auf Untersuchungen zur Interaktion von MAP mit Darmepithelzellen. Dabei sollen sowohl die Erkennung von MAP durch Enterozyten als auch bakterielle Einflüsse auf die epitheliale Integrität untersucht werden. Weiterhin ist bekannt, dass chronisch entzündliche Darmerkrankungen nach Jahrzehnten mit einem deutlich erhöhten Risiko der kolorektalen Karzinogenese assoziiert sind. Im Verbund soll deshalb der Frage der Relevanz von MAP beim Kolorektal-Krebs nachgegangen werden (Projekt C4). Hierzu ist die Evaluation eines

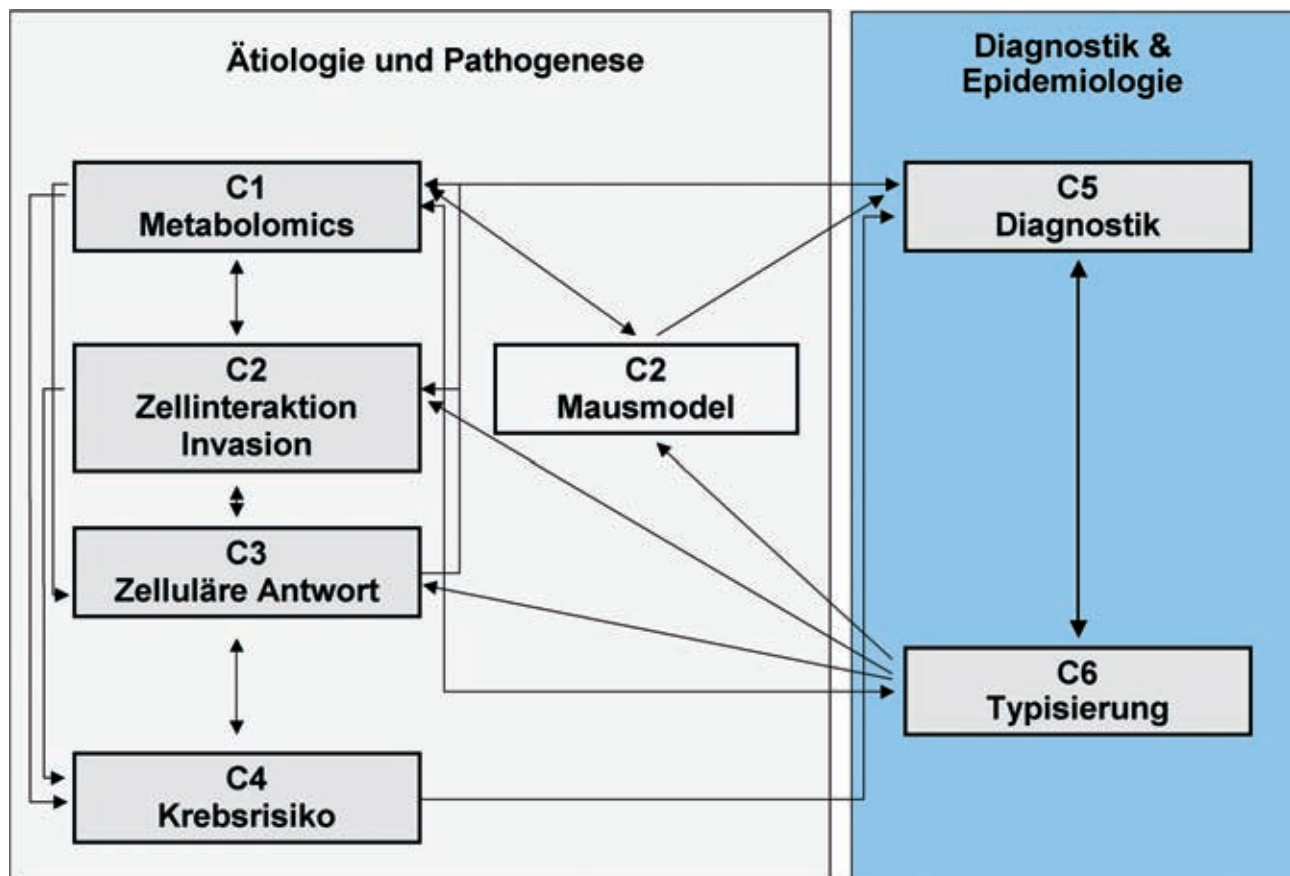


Abb. 4: Kooperationen der ZooMAP Projekte

Zusammenhangs zwischen MAP in Morbus Crohn erkrankten Menschen und der Expression und Aktivität von Tumormarkern wie Matrix-Metalloproteinasen im Darmepithel vorgesehen. In weiteren Projekten wird das Vorkommen von lebenden aber nicht kultivierbaren Formen von MAP in der Milch untersucht und MAP-Isolate unterschiedlicher Herkunft typisiert. Begleitet werden diese Untersuchungen durch Arbeiten zur Verbesserung der MAP Diagnostik und epidemiologischen Typisierungen von MAP-Isolaten (Projekte C5, C6).

Dr. Tina Basler und PD Dr. Ralph Goethe  
Institut für Mikrobiologie, Zentrum für Infektionsbiologie  
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover  
Bischofsholer Damm 15  
D-30173 Hannover  
Phone: +49 (0)511 856 7625  
Fax: +49 (0)511 856 7697  
E-Mail: ralph.goethe@tiho-hannover.de

X-Raytec

#### Autorin

##### Dr. Tina Basler

Koordination/Organisation  
ZooMAP-Verbund  
Fachgebiet:  
Molekulare Mikrobiologie  
Forschungsschwerpunkt:  
Erreger-Wirt-Interaktion am Beispiel von *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis*



#### Autor

##### Privatdozent Dr. Ralph Goethe

Koordinator des ZooMAP-Verbunds  
Fachgebiet:  
Molekulare Mikrobiologie  
Forschungsschwerpunkte:  
Molekulare Mechanismen der Erreger-Wirt-Interaktion am Beispiel von *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* und *Streptococcus suis*  
Impfstoffentwicklung

