

ROBERT KOCH INSTITUT



Risiken erkennen – Gesundheit schützen

**Morbus Crohn
und
Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis -
eine Literaturstudie**

**Annette Schrauder, Andrea Ammon, Klaus Stark
Robert Koch-Institut
und**

**Ulrike Euler, Juliane Bräunig, Ekkehard Weise
Bundesinstitut für Risikobewertung**

Stand: Dezember 2003

1	EINLEITUNG	4
1.1	Hintergrund.....	4
1.2	<i>Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis</i> (MAP).....	5
1.3	Morbus Crohn.....	6
1.4	Paratuberkulose (Johne`s disease).....	6
2	FRAGESTELLUNG.....	6
3	LITERATURSUCHE.....	6
3.1	Suchstrategie.....	7
3.1.1	Medline.....	7
3.1.2	Cochrane library	8
3.1.3	ACP- Journal Club.....	8
3.2	Ergebnis der Literatursuche.....	9
3.2.1	Studienauswahl.....	10
3.2.2	Evidenzhierarchie.....	10
3.2.3	Validitätsbewertung	12
4	ERGEBNISSE	12
4.1	Einleitung.....	12
4.2	Übersicht über die Ergebnisse der PubMed-Recherche.....	13
4.3	Auswertung der Reviewsuche	14
4.4	Auswertung der Suchstrategie nach Fallberichten, Fall-Kontroll-Studien.....	15
4.5	Auswertung der Suchstrategie nach Kohortenstudien.....	18
4.6	Auswertung nach PubMed Clinical Queries: Kategorie Prognose (sensitive und spezifische Suche)	19
4.7	Auswertung nach PubMed Clinical Queries: Kategorie Ätiologie (sensitive und spezifische Suche)..	21
4.8	Auswertung nach PubMed Clinical Queries: Kategorie Therapie (sensitive und spezifische Suche)	21
4.9	Untersuchungen zum MAP-Nachweis	25
4.10	Auswertung der Suche in der Cochrane Database.....	25
4.11	ACP- Journal Club.....	26
5	DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG.....	26
6	SCHLUSSFOLGERUNGEN	29
7	LITERATUR.....	31

Abkürzungen:

AB	= Antibiotika
AK	= Antikörper
Anti-p35/p36	= anti-MAP p35/p36-Antikörper
Anti-TB	= antituberkulöse Therapie
ASCA	= anti-Saccharomyces cerevisiae-Antikörper
CDAI	= Crohn's disease activity index
CD	= Crohn's disease
CI	= Konfidenzintervall
CU	= Colitis ulcerosa bzw. Patienten mit Colitis ulcerosa
ELISA	= Enzyme-linked immuno sorbent assay
HBI	= Harvey-Bradshaw activity index
IBD	= Patienten mit „inflammatory bowel disease (chronische entzündliche Darm-erkrankung)
LK	= Lymphknoten
MAP	= <i>Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis</i>
MAC	= <i>Mycobacterium avium complex</i>
MC	= Morbus Crohn bzw. Patienten mit Morbus Crohn
MGIT	= mycobacterial growth indicator tube (kommerziell erhältliche Gefäße mit speziell für Mykobakterien geeignetem Medium)
Mo	= Monat/e
n.b.	= nicht bewertet
Non-IBD	= Patienten mit nicht-entzündlichen Darmerkrankungen (z.B. Karzinom)
NW	= Nebenwirkung
OR	= Odds Ratio
ParaTb	= Paratuberkulose
Pat.	= Patient(en)
PCR	= Polymerase Chain Reaction (Polymerase-Ketten-Reaktion)
RCT	= randomized controlled trial
RFLP	= Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus
Pos.	= positiv
RT-PCR	= Real-Time PCR
subspezies	= ssp.
RX	= Abbreviation for prescribed medication(s)= englische Abkürzung für verschriebene Medikamente

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Ein Zusammenhang von *Mycobacterium avium subspezies paratuberculosis* (MAP) mit *Morbus Crohn* wird seit Anfang des 20. Jahrhunderts diskutiert – erstmalig von Thomas Dalziel, der 1913 im British Medical Journal eine Ähnlichkeit der durch MAP hervorgerufenen Johneschen Krankheit mit einer chronisch entzündlichen Erkrankung des Darmes beim Menschen beschrieben hat ¹. 1984 konnten Chiodini et al. aus den Darmbiopsien von zwei Patienten mit Morbus Crohn MAP isolieren. Nachdem mit diesem Isolat Mäuse inokuliert worden waren, entwickelten sich Granulome der Leber, der Milz und der mesenterialen Lymphknoten. Auch eine Ziege wurde infiziert, die im terminalen Ileum multiple nicht-verkäsende, tuberkuloide Granulome sowie ebenfalls vergrößerte mesenteriale Lymphknoten entwickelte ².

Die Diskussion möglicher Zusammenhänge zwischen Morbus Crohn und MAP wurde in jüngster Zeit erneut entfacht, nachdem Untersuchungen an pasteurisierter Milch gezeigt hatten, dass MAP durch das Kurzzeit-Pasteurisierungsverfahren nicht mit Sicherheit abgetötet werden kann. So ergaben Untersuchungen einer Forschungsgruppe um Grant et al. in Großbritannien, dass bei 1,8 % (10 von 567) der Proben pasteurisierter Trinkmilch aus dem Handel MAP kulturell nachzuweisen war ³. In Studien der ehemaligen Bundesanstalt für Milchforschung (BafM; jetzt: Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel - BFEL) wurde festgestellt, dass bei Kurzzeiterhitzung mit 72 – 75 °C über 15 – 30 s, entsprechend den Vorschriften der deutschen Milchverordnung, MAP überleben kann. Aber auch bei höheren Temperatur- Zeitverläufen ist MAP noch nachzuweisen ⁴.

Im September 2001 wurde daraufhin am damaligen Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV, heute Bundesinstitut für Risikobewertung - BfR) ein Sachverständigengespräch über die Problematik *Mycobacterium avium subspezies paratuberculosis* und *Morbus Crohn* durchgeführt^{*}.

^{*}Teilnehmer: Prof. Dr. Gerlach (Tierärztliche Hochschule Hannover), Prof. Dr. Heß (Präsident des Landesuntersuchungsamtes Koblenz), Prof. Dr. Lochs (Klinik für Gastroenterologie, Charité Berlin), Prof. Dr. Zeitz (Medizinische Klinik I, FU Berlin), Frau Dr. Ammon (Robert Koch-Institut), PD Dr. Conraths (Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere - BFAV), Dr. Geue (BFAV), PD Dr. Haas (Robert Koch-Institut), Dr. Hammer (Bundesanstalt für Milchforschung), Dr. Kramer (BFAV), Dr. Rath (Klinik für Innere Medizin I, Universität Regensburg), Dr. Teufel (Bundesanstalt für Milchforschung), Frau Dr. Bräunig (BgVV), Dr. Klein (BgVV), Frau Dr. Lukassowitz (BgVV), Dr. Martin (BgVV), Dr. Weise (BgVV), Frau Dr. Köhler (BgVV).

Es wurden wissenschaftliche Erkenntnisse aus 3 Themenkreisen zusammengetragen:

1. Verbreitung und Bedeutung der Paratuberkulose in deutschen Tierbeständen
2. Verbreitung von *Morbus Crohn* in Deutschland und potentielle Bedeutung von MAP für die Erkrankung
3. Lebensmittelhygienische Beurteilung der potentiellen Übertragungswege von MAP auf den Menschen, Einfluss der Technologie

Zu allen drei Punkten wurden im Ergebnis jedoch mehr offene Fragen als Fakten, die einen Zusammenhang zwischen beiden Krankheitsbildern belegen könnten, zusammengetragen.

Zur Klärung der Problematik wurden in dem Sachverständigengespräch Arbeitsziele formuliert, u.a. die erneute kritische Bewertung der Literatur unter Berücksichtigung jüngster Veröffentlichungen zum Thema Paratuberkulose und *Morbus Crohn*. Diese Bewertung, die in Zusammenarbeit zwischen Robert Koch-Institut und dem Bundesinstitut für Risikobewertung durchgeführt wurde, wird hier vorgestellt.

1.2 *Mycobacterium avium* subspezies *paratuberculosis* (MAP)

MAP gehört in die Gattung *Mycobacterium* aus der Familie der *Mycobacteriaceae*, die über 50 verschiedene Arten umfasst. Mykobakterien sind nicht sporenbildende, obligat aerobe, säurefeste Stäbchen, die sich primär intrazellulär vermehren.

Die bekanntesten Vertreter dieser Familie sind die Erreger der Tuberkulose (*Mycobacterium tuberculosis*), der Rindertuberkulose (*Mycobacterium bovis*) und der Lepra (*Mycobacterium leprae*). Weitere Arten, zu denen auch der *Mycobacterium avium*-Komplex gezählt wird, werden unter dem Begriff atypische Mykobakterien (MOTT: Mycobacteria Other Than Tuberculosis oder NTM: Nontuberculous Mycobacteria) zusammengefasst. Ein wichtiger Vertreter des *Mycobacterium avium*-Komplexes ist *Mycobacterium avium* subspezies *paratuberculosis*, der Erreger der Paratuberkulose oder Johnsen Krankheit der Wiederkäuer und anderer Tierarten. Dieser Keim ruft schwere unheilbare Enteritiden mit tödlichem Ausgang hervor (siehe unter 1.4). Die Ausscheidung von MAP über die Milch scheint einen möglichen Übertragungsweg des Erregers auf den Menschen darzustellen.

Infektionen mit dem *Mycobacterium avium*-Komplex finden sich oft bei Menschen mit Immundefizienz (z.B. AIDS).

Der kulturelle Nachweis von MAP aus Gewebeproben ist langwierig und schwierig. In den letzten Jahren ist ein molekularbiologischer Nachweis (Nachweis der DNA-Sequenz IS900 mittels nested PCR) entwickelt worden.

1.3 Morbus Crohn

Morbus Crohn ist eine chronisch entzündliche Darmerkrankung des Menschen und wird als eine diskontinuierlich segmental auftretende Entzündung, auch der tiefen Wandschichten, des gesamten Gastrointestinaltraktes beschrieben. Die Erkrankung kann an jeder Stelle des Verdauungstraktes vom Mund bis zum Anus vorkommen, am häufigsten treten jedoch Lokalisationen im terminalen Ileum und proximalen Kolon auf ⁵. Für die Patienten kann der chronische, schubweise Verlauf eine starke Beeinträchtigung der Lebensqualität bedeuten. Die Ätiologie der Erkrankung ist bisher unbekannt, eine Autoimmunerkrankung, eine genetische Disposition und eine infektiöse Ursache werden diskutiert. Der Altersgipfel der Krankheitsmanifestation liegt zwischen dem 20. - 40. Lebensjahr.

Die Inzidenz in Deutschland liegt bei jährlich 5,2/100.000 (95% CI 4,4 – 6,1) und entspricht dem Durchschnitt Europas (5,6/100.000, 95% CI 2,8-8,3) ^{6, 7}.

1.4 Paratuberkulose (Johne`s disease)

MAP wurde erstmalig 1895 von Johne und Frothingham bei einer deutschen Kuh als Ursache einer chronisch entzündlichen Erkrankung des Darmes beschrieben ⁸. An der Johne-schen Krankheit erkranken vor allem Wiederkäuer wie Kühe und Schafe, aber auch monogastrische Tiere (Primaten, Hunde etc.). Meist erfolgt die Infektion der Tiere im frühen Alter von etwa sechs Monaten. Die Inkubationszeit beträgt in der Regel mehrere Jahre. Die Tiere erkranken an einer chronisch verlaufenden, nicht therapierbaren Durchfallerkrankung, die zu Kachexie und zum Tode führt. Durch die Milchleistungsminderung der Tiere entstehen den Landwirten erhebliche ökonomische Verluste.

Die Paratuberkulose ist in Deutschland eine meldepflichtige Erkrankung, jährlich werden dem Tierseuchen-Nachrichten-System (TSN) in der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere (BFAV), Standort Wusterhausen, ca. 300 Fälle (2002: 269 Fälle) gemeldet ⁹. Da diese Meldedaten allerdings nicht vollständig und repräsentativ sind, ist keine korrekte Prävalenzangabe möglich.

2 Fragestellung

Welche Belege gibt es in der Literatur für die Hypothese, dass beim Menschen eine Exposition mit *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* (MAP) zu einem erhöhten Risiko führt, an Morbus Crohn zu erkranken?

3 Literatursuche

Wir führten eine systematische Literatursuche in den elektronischen Datenbanken MEDLINE (PubMed) und der Cochrane Library durch. Bei der Suche nach Therapiestudien führten wir zusätzlich eine Abfrage in der elektronischen Datenbank des ACP (American College of

Physicians) - Journal Clubs durch. Ausgehend von der Fragestellung leiteten wir die Schlüsselwörter und Suchstrategie für die Literatursuche ab.

Weiterhin schlossen wir in unsere Diskussion die bereits durchgeführten Übersichtsarbeiten der EU (Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare), der Food Standards Agency (von Rubery E, UK) und des National Academies` Board on Agriculture and Natural Resources (USA) (unter <http://www.nap.edu>) zu „*Diagnosis and Control of Johne`s Disease*“ mit ein.

3.1 Suchstrategie

3.1.1 Medline

Für den Zeitraum von 1966 bis April 2003 (Suchdatum 24.04.03) führten wir in Medline (PubMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/>) zunächst eine MeSH (**M**edical **S**ubject **H**eadings = medizinisches Schlagwort) -Term- und Freitextsuche mit folgenden Suchbegriffen durch:

- " mycobacterium paratuberculosis AND Crohn disease "
- " mycobacterium paratuberculosis AND Crohn`s disease"
- " mycobacterium avium AND Crohn disease"
- " mycobacterium avium AND Crohn`s disease"
- " mycobacterium avium complex AND Crohn`s disease"
- " mycobacterium avium complex AND Crohn disease"

Alle Treffer der jeweiligen Suchbegriffe wurden untereinander jeweils mit „OR“ verknüpft, so dass nur noch ein kombiniertes Suchergebnis vorlag, was im weiteren Text „**Gesamt**“ genannt wird.

Für die Bewertung der Literatur wurden folgende weitere Limitierungen und Verknüpfungen durchgeführt:

- Gesamt** Limit: Review (Filter in Pubmed)
- Gesamt** AND cohort studies
- Gesamt** AND cohort study
- Gesamt** AND case control studies
- Gesamt** AND case control study
- Gesamt** AND case report
- Gesamt** AND case series
- Gesamt** AND case*

* = Asterisk (Sucht alle Ausdrücke in der Datenbank, die mit case beginnen, z.B. case or cases or case control)

Um keine relevante Studie zu übersehen, führten wir mit dem kombinierten Suchbegriff „**Gesamt**“ zusätzlich eine sensitive und spezifische Suche mit Hilfe der *Clinical queries* für Prognose, Ätiologie und Therapie durch (methodologische Filter für Therapie, Prognose, Ätiologie und Diagnose nach Haynes et al. ¹⁰).

Tabelle 1

Table for Clinical Queries using Research Methodology Filters

Category	Optimized for	Sensitivity/ Specificity ¹	PubMed equivalent ²
Therapy	sensitivity	99%/74%	"randomized controlled trial" [PTYP] OR "drug therapy" [SH] OR "therapeutic use" [SH:NOEXP] OR "random*" [WORD]
	specificity	57%/97%	(double [WORD] AND blind* [WORD]) OR placebo [WORD]
Diagnosis	sensitivity	92%/73%	"sensitivity and specificity" [MESH] OR "sensitivity" [WORD] OR "diagnosis" [SH] OR "diagnostic use" [SH] OR "specificity" [WORD]
	specificity	55%/98%	"sensitivity and specificity" [MESH] OR ("predictive" [WORD] AND "value*" [WORD])
Etiology	sensitivity	82%/70%	"cohort studies" [MESH] OR "risk" [MESH] OR ("odds" [WORD] AND "ratio*" [WORD]) OR ("relative" [WORD] AND "risk" [WORD]) OR "case" control*" [WORD] OR case-control studies [MESH]
	specificity	40%/98%	"case-control studies" [MH:NOEXP] OR "cohort studies" [MH:NOEXP]
Prognosis	sensitivity	92%/73%	"incidence" [MESH] OR "mortality" [MESH] OR "follow-up studies" [MESH] OR "mortality" [SH] OR prognos* [WORD] OR predict* [WORD] OR course [WORD]
	specificity	49%/97%	prognosis [MH:NOEXP] OR "survival analysis" [MH:NOEXP]

1. Sensitivity and specificity as reported in [Haynes RB et al.](#)

2. Approximate equivalent in the PubMed query language as recommended in [Haynes RB et al.](#) for searches from 1991 to the present. The PubMed [Clinical Queries Using Research Methodology Filters](#) page uses these parameters for all searches, regardless of time period, in the interest of simplicity.

Tabelle aus PubMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/> (Stand Dezember 2003)

3.1.2 Cochrane library

Die Cochrane library durchsuchten wir mit dem Begriff „*mycobacterium paratuberculosis*“ (Suchdatum 26.05.03).

- The Cochrane Database of Systematic Reviews
- Database of Abstracts of Reviews of Effects
- The Cochrane Central Register of Controlled Trials
- Health Technology Assessment Database

3.1.3 ACP- Journal Club

Die Datenbank des ACP Journal Club durchsuchten wir mit dem Begriff „*mycobacterium paratuberculosis*“ (Suchdatum 26.05.03).

3.2 Ergebnis der Literatursuche

- [PubMed: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/)

MeSH-Term und Freitextsuche:

Suchbegriff " mycobacterium paratuberculosis AND Crohn disease "	→ 132 Studien
Suchbegriff "mycobacterium paratuberculosis AND Crohn`s disease"	→ 156 Studien
Suchbegriff "mycobacterium avium AND Crohn disease"	→ 60 Studien
Suchbegriff " mycobacterium avium AND Crohn`s disease"	→ 78 Studien
Suchbegriff " mycobacterium avium complex AND Crohn`s disease"	→ 12 Studien
Suchbegriff " mycobacterium avium complex AND Crohn disease"	→ 10 Studien
Suchbegriff " Paratuberculosis AND Crohn disease"	→ 152 Studien
Suchbegriff " Paratuberculosis AND Crohn`s disease"	→ 183 Studien
Gesamt	→ 198 Studien

Limit: Review → 43 Studien

Gesamt AND case control studies	→ 2 Studien
Gesamt AND case control study	→ 2 Studien
Gesamt AND cohort studies	→ 6 Studien
Gesamt AND cohort study	→ 6 Studien
Gesamt AND case report	→ 9 Studien
Gesamt AND case series	→ 0 Studien
Gesamt AND case*	→ 17 Studien

Clinical Queries mit Schwerpunkt *Ätiologie* (sensitive Suche):
Suchbegriff " **Gesamt** " → 13 Studien

Clinical Queries mit Schwerpunkt *Ätiologie* (spezifische Suche):
Suchbegriff " **Gesamt** " → 3 Studien

Clinical Queries mit Schwerpunkt *Prognose* (sensitive Suche):
Suchbegriff " **Gesamt** " → 13 Studien

Clinical Queries mit Schwerpunkt *Prognose* (spezifische Suche):
Suchbegriff " **Gesamt** " → 0 Studien

Clinical Queries mit Schwerpunkt *Therapie* (sensitive Suche):
Suchbegriff " **Gesamt** " → 21 Studien

Clinical Queries mit Schwerpunkt *Therapie* (spezifische Suche):
Suchbegriff " **Gesamt** " → 2 Studien

- Cochrane library: <http://www.update-software.com/cochrane/>

Suchbegriff " mycobacterium paratuberculosis ":

The Cochrane Database of Systematic Reviews:

→ 1 Studie

Database of Abstracts of Reviews of Effects:

→ 0 Studien

The Cochrane Central Register of Controlled Trials:

→ 4 Studien

Health Technology Assessment Database:

→ 0 Studien

- ACP-Journal Club: <http://www.acpjic.org/>

Suchbegriff "mycobacterium paratuberculosis":

→ 1 Studie

3.2.1 Studienauswahl

In die weitere Auswertung schlossen wir nur Untersuchungen am Menschen aus englisch- und deutschsprachigen Studien ein.

3.2.2 Evidenzhierarchie

Studien können anhand ihrer Fähigkeit glaubwürdige Ergebnisse zu liefern, in verschiedene Erkenntnisebenen oder "Levels of Evidence" eingeteilt werden. Dies bedeutet, dass es wissenschaftliche Erkenntnisse mit niedriger und höherer Evidenz gibt. Für die Beurteilung eines möglichen Risikos ist die Einteilung der wissenschaftlichen Erkenntnisse nach verschiedenen Evidenzgraden hilfreich.

Tabelle 2 Hierarchie der Evidenzstufen ¹¹ nach dem Oxford Centre for Evidence-based Medicine Mai 2001 (<http://cebm.jr2.ox.ac.uk/>)

Evidenzstufe	Therapie/Prävention, Ätiologie/Nebenwirkung	Prognose	Diagnose
1a	Systematische Übersicht von RCT (mit Homogenität)	Systematische Übersicht von "inception cohort" Studien (mit Homogenität); CDR*** validiert in verschiedenen Populationen	Systematische Übersicht aus diagnostischen Studien der Stufe 1 (mit Homogenität); CDR*** mit 1b Studien von verschiedenen klinischen Zentren.
1b	Einzelne RCT mit engem Konfidenzintervall	Einzelne "inception cohort" Studie mit > 80% Follow-up, CDR*** validiert in einer Population	Validierende Kohorten Studie mit einer guten Standardreferenz oder CDR*** in einem klinischen Zentrum getestet
1c	"All or none"*	"All or none" Fallberichte*	"Absolute SpPins and SnNouts"***
2a	Systematische Übersicht aus Kohortenstudien (mit Homogenität)	Systematische Übersicht aus retrospektiven Kohortenstudien (mit Homogenität) oder unbehandelten Gruppen in RCT's	Systematische Übersicht aus diagnostischen Studien der Stufe >2
2b	Einzelne Kohortenstudie/RCT mit geringer Qualität; <80% follow-up	Retrospektive Kohortenstudie oder Follow-up unbehandelter Patienten in RCT	Explorative Kohortenstudien mit guten Referenzstandards, CDR*** nach Herleitung oder validiert nur auf der Basis von Datenbanken oder "split-sample"
2c	"Outcome"-Forschung, ökologische Studien	Outcome"-Forschung	
3a	Systematische Übersicht aus Fall-Kontroll-Studien (mit Homogenität)		Systematische Übersicht aus diagnostischen Studien der Stufe 3 und besser (mit Homogenität)
3b	Einzelne Fall-Kontroll-Studie		Nicht-konsequente Studie oder ohne konsistent angewandte Standardreferenz
4	Fall-Serien, Kohortenstudien und Fall-Kontrollstudien schlechter Qualität	Fall-Serien (und prognostische Kohortenstudien schlechter Qualität)	Fall-Kontroll-Studien, schlechte oder nicht unabhängige Standardreferenz
5	Expertenmeinungen, Konsensus etc.	Expertenmeinungen, Konsensus etc.	Expertenmeinungen, Konsensus etc.

* Dieses trifft zu, wenn alle Patienten sterben bevor *RX* erhältlich wurde, aber nun einige mit dieser Therapie überleben; oder wenn einige Patienten starben, bevor *RX* erhältlich wurde, und nun niemand darunter verstirbt

** SpPin : Sp = hohe Spezifität, P = Positives Ergebnis schließt Diagnose ein = „in“; SnNouts: Sn = hohe Sensitivität, N = Negatives Ergebnis schließt die Diagnose aus = „out“

*** Clinical Decision Rule

3.2.3 Validitätsbewertung

Mit Hilfe der Leitfragen des CASP (Critical Appraisal Skills Programme)-Materials des Institute of Health Sciences, Oxford, Großbritannien (<http://www.casp.org.uk/>), bewerteten wir die Studien, soweit dies nach ihrem Studiendesign möglich war, kritisch auf Validität und klinische Relevanz.

4 Ergebnisse

4.1 Einleitung

Die mit der im vorherigen Kapitel beschriebenen Suchstrategie gefundenen und identifizierten Arbeiten werden in den folgenden Kapiteln ausgewertet.

Die Mehrzahl der Studien weist starke methodische Schwächen auf, die in den einzelnen Kapiteln ausführlich dargestellt werden. Die Ursachen hierfür waren sehr unterschiedlich, z.B. haben wir keine Reviews gefunden, die den formalen Vorgaben eines systematischen Reviews genügen, das heißt die Formulierung einer Fragestellung, die genaue Darstellung der Literatur-Recherche, Beurteilung der Qualität des Studiendesign und der Messung der eingeschlossenen Studien, Darstellung der statistischen Analyse sowie der Fehlereinflüsse in den einzelnen Studien.

Unter der Suchstrategie Fallberichte bzw. Fall-Kontroll-Studien fanden sich zwar Fallberichte, aber keine Arbeiten, die den Kriterien einer Fall-Kontroll-Studie entsprachen.

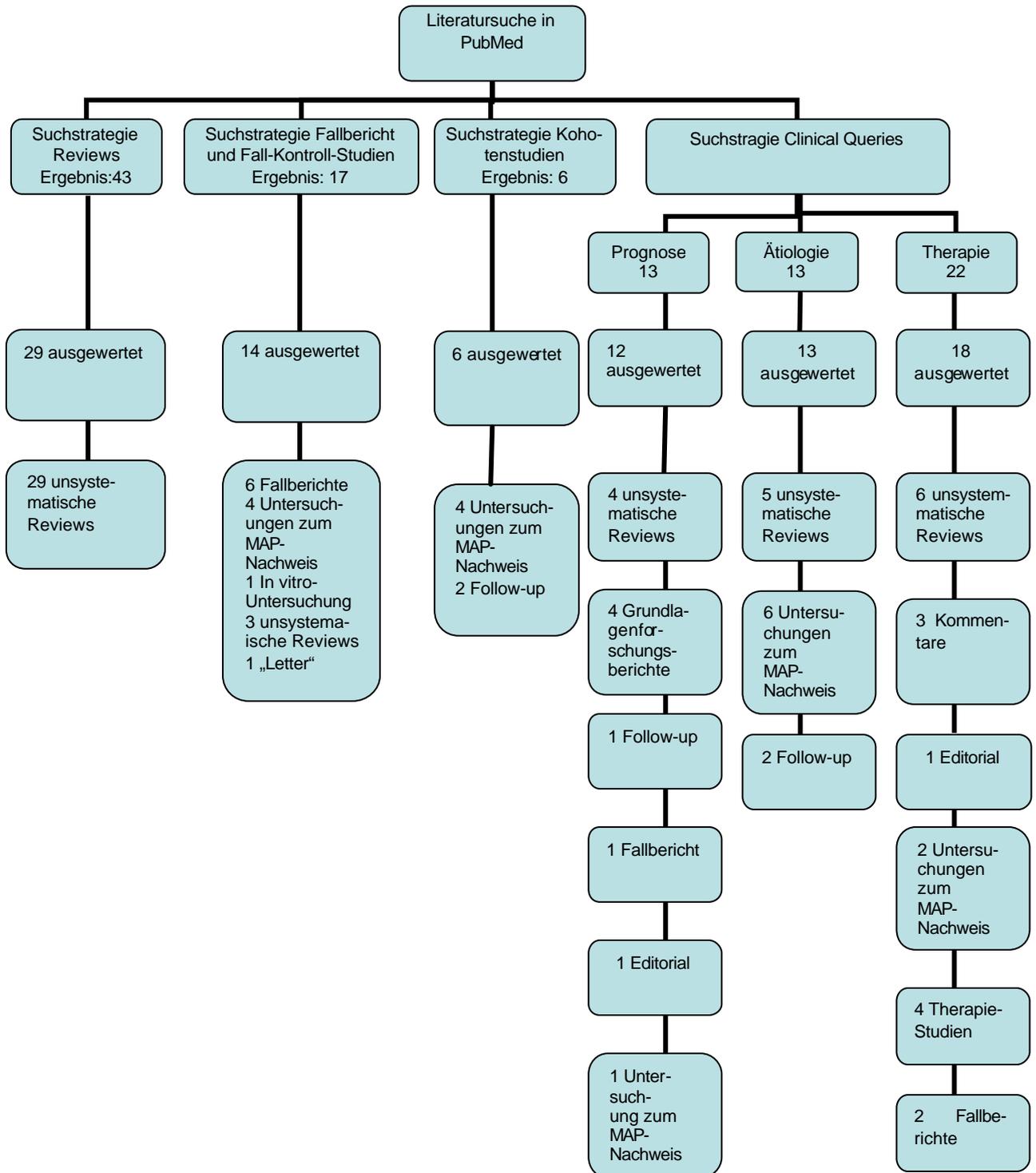
Auch in den folgenden Kapiteln finden sich keine validen Studien, die unsere Fragestellung zufriedenstellend beantworten können.

In Kapitel 4.5. unter der Suchstrategie Kohortenstudie fand sich lediglich eine Studie von Thomas et al. ¹², die den Kriterien einer Kohortenstudie entspricht.

Unter Berücksichtigung der Tabelle 2 wird damit formal die Evidenzstufe 2b erreicht.

4.2 Übersicht über die Ergebnisse der PubMed-Recherche

Abbildung 1 Übersicht der Literatursuche in PubMed



4.3 Auswertung der Reviewsuche

Bei der PubMed -Recherche wurden insgesamt 43 Reviews identifiziert. Ausgehend von den Einschlusskriterien konnten 29 Arbeiten, die in Tabelle 3 aufgeführt sind, ausgewertet werden.

Bei allen Übersichtsarbeiten handelte es sich um unsystematische Reviews. Nur 2 Arbeiten erfüllten ansatzweise die Anforderungen eines systematischen Reviews, da sie zumindest eine eindeutige Fragestellung formuliert haben ^{13, 14}. Die meisten Arbeiten verfolgten das Ziel, die bestehenden Kenntnisse zusammenzufassen bzw. die Problematik eines möglichen Zusammenhanges zu diskutieren. Es fehlten wichtige Voraussetzungen, die ein systematisches Review auszeichnen, wie z.B. die Angaben zur Studienauswahl mit Ein - und Ausschlusskriterien und die Definition der Population. Keine dieser Arbeiten dokumentierte die Art ihrer Literatursuche. Ebenso fehlten Angaben zu Zielgrößen und Studiendesign der einzelnen Studien. Weiterhin fehlten allen Reviews eine Validitätsbewertung der ausgewählten Studien sowie eine systematische Beschreibung der Studieneigenschaften.

Keine dieser Arbeiten kommt zusammenfassend zu einer eindeutigen Bewertung. Das Für und Wider bzw. die „Stärke“ der Hypothese, bezogen auf einen möglichen kausalen Zusammenhang von MAP und Morbus Crohn, wird je nach Autor(en) unterschiedlich beurteilt. Manche Autoren implizieren schon gleich zu Beginn MAP als eine der möglichen Ursachen für Morbus Crohn ¹⁵, während andere von vornherein eher keinen Zusammenhang erkennen können ¹⁶. Alle gemeinsam beschreiben jedoch die widersprüchlichen Ergebnisse, die unzureichende Evidenz und die Notwendigkeit für weitere Studien.

Tabelle 3 Ausgewertete Reviews

Ref-nr.	Jahr	Autoren	Region	Zusammenhang zwischen MAP und MC	Anmerkung zum Studieninhalt
17	2002	Lund BM et al.	England	n.b.	Beschreibung von Untersuchungen zur Hitzeresistenz von MAP
18	2001	Harris JE et al.	Kanada	nein	Besprechung der von den Autoren ausgewählten Literatur zum Zusammenhang von MAP und MC
15	2001	Chamberlin et al.	USA	ambivalent	Diskutieren autoimmune und/oder mykobakterielle Theorie
19	2001	Harris NB	USA	ambivalent	Bedeutung von MAP in der Veterinärmedizin und Diagnostik
20	2000	Selby W	Australien	ambivalent	Pathogenese und therapeutische Aspekte von MC und MAP
21	2000	Bakker D et al.	Holland	nein	Bedeutung von ParaTb beim Tier und beim Menschen
22	2000	Stabel JR	USA	n.b.	Vorkommen und Nachweis von MAP in Milch
23	2000	Hemon-Taylor J et al.	England	ja	Besprechung der von den Autoren ausgewählten Literatur zum Zusammenhang von MAP und MC
24	2000	Hulten K et al.	England	ambivalent	Übersicht über antibakterielle Therapiestudien
25	2000	Andus T et al.	Deutschland	ambivalent	Umweltbedingungen zu Entstehung und Pathogenese von MC

Fortsetzung Tabelle 3 Ausgewertete Reviews

Ref-Nr.	Jahr	Autoren	Region	Zusammenhang zwischen MAP und MC	Anmerkung zum Studieninhalt
16	1999	Van Krui- ningen H	USA	nein	Übersicht über fehlenden Zusammenhang von MAP und MC
26	1999	Rhodes J et al.	England	nein	Bedeutung von Masern und MAP für MC
27	1999	Prantera C et al.	Italien	nein	Koch'sche versus Bradford-Hill-Kriterien im Zusammenhang mit MC
28	1998	Stabel JR	USA	ambivalent	Übersicht über diagnostische Tests bei Rindern (ParaTb) u. beim Menschen (MC)
29	1997	McDowell RM et al.	USA	ja	Überblick über mehrere potentiell lebensmittelassoziierte Erkrankungen
30	1996	Collins MT	USA	nein	MAP als potentiell lebensmittelassoziiertes Erreger (Milch)
31	1996	Jayanthi V et al.	England	nein	Diskutieren MC als mögliche Variante einer intestinalen Tuberkulose
13	1996	McFadden JJ et al.	England	ambivalent	Besprechung der von den Autoren ausgewählten Literatur zum Zusammenhang von MAP und MC
32	1996	Gitnick G	USA	n.b.	Diskutiert die multifaktorielle Ätiologie von MC
33	1996	Chiodini RJ et al.	USA	ambivalent	Besprechung der von den Autoren ausgewählten Literatur zum Zusammenhang von MAP und MC
34	1995	Travis SP	England	ambivalent	Diskutiert Mycobakterien als potentiell wichtig für die Pathogenese von MC
35	1995	Engstrand L	Schweden	nein	Besprechung, der von den Autoren ausgewählten Literatur zum Zusammenhang von MAP und MC
14	1994	Thompson DE	England	ambivalent	Besprechung der von der Autorin ausgewählten Literatur zum Zusammenhang von MAP und MC
36	1994	Cocito C et al.	Belgien	n.b.	Besprechung der von den Autoren ausgewählten Literatur zu ParaTb, MAP und MC
37	1993	Smith MS et al.	England	nein	Diskutieren mögliche virale Ätiologie von MC und lehnen MAP als mögliches pathogenes Agens ab
38	1992	Thayer WR	USA	n.b.	Bewertung der antibakteriellen Therapie von MC
39	1989	Thorel MF	Frankreich	ja	Besprechung der von den Autoren ausgewählten Literatur zum Zusammenhang von MAP und MC
40	1989	Chiodini RJ	USA	ambivalent	Besprechung der von den Autoren ausgewählten Literatur zum Zusammenhang von MAP und MC
41	1988	Hampson SJ et al.	England	ambivalent	Besprechung der von den Autoren ausgewählten Literatur zum Zusammenhang von MAP und MC

4.4 Auswertung der Suchstrategie nach Fallberichten, Fall-Kontroll-Studien

Unter den oben genannten Suchbegriffen wurden in PubMed insgesamt 17 Studien identifiziert, und hiervon konnten 14 (s. Tabelle 4) ausgewertet werden. Hierunter befanden sich 6 Fallberichte ^{2, 42, 43, 44, 45, 46}, 4 Untersuchungen zum MAP-Nachweis ^{47, 48, 49, 50}, 1 in vitro-Untersuchung ⁵¹ und 3 unsystematische Reviews ^{20, 27, 35}. Fall-Kontroll-Studien lagen keine vor.

In 3 Fallberichten wird ein MAP-Nachweis beim Menschen beschrieben ^{2, 42, 44}. In der ersten Veröffentlichung von 1984 beschrieben Chiodini et al., wie es ihnen erstmalig gelang, bei 2

Morbus Crohn-Patienten MAP nachzuweisen². 1998 beschrieben Hermon-Taylor et al. den MAP-Nachweis in einem Halslymphknoten eines 7 Jahre alten Jungen, der 5 Jahre später an einer terminalen Ileitis erkrankte⁴⁴. Richter et al. beschrieben 2002 die Krankheitsgeschichte eines 36-jährigen an HIV, Hepatitis C und Hämophilie erkrankten Patienten, der unter neu aufgetretenen Diarrhoen litt. In den Biopsieproben aus Darm, Leber und Knochenmark ließen sich säurefeste Stäbchen nachweisen, die kulturell und mit IS900 DNA-Analyse als MAP identifiziert wurden⁴².

Zusätzlich ist noch die als „Letter“ von Naser SA et al. veröffentlichte Untersuchung zu erwähnen. Die Arbeitsgruppe beschreibt eine Untersuchung von sieben Brustmilchproben auf MAP, 2 von Müttern mit Morbus Crohn und 5 von gesunden Müttern. Aus beiden Brustmilchproben der Mütter mit Morbus Crohn gelang es den Autoren, MAP zu isolieren, bei den Gesunden jedoch nicht⁵⁰.

In einer weiteren Fallbeschreibung eines 16-jährigen Patienten mit extraintestinaler Manifestation des Morbus Crohn in Form einer granulomatösen Entzündung der Gesichtshaut konnte MAP mittels PCR nicht nachgewiesen werden⁴⁵.

Bei zwei weiteren Fallbeschreibungen ist lediglich in der Arbeit von Voulgarelis et al.⁴³ ein *Mycobacterium avium*-Komplex (incl. MAP)-Nachweis geführt worden. In der sehr viel älteren Arbeit von Schneebaum et al.⁴⁶ aus dem Jahre 1987 ist nur der Nachweis von *Mycobacterium intracellulare* geführt worden.

Tabelle 4 Ausgewertete Studien zur Suchstrategie "Fallberichte" bzw. "Fall-Kontroll-Studien"*

Ref-Nr.	Jahr	Autoren	Studien-design	Region	Teilnehmer	Nachweismethode	Effektmaß/-Größe
47	2002	Ryan P et al.	MAP-Nachweisuntersuchung	Irland	15 MC, 12 Kontrollen (Entnahme von granulomatösem Gewebe)	Nested PCR, laser capture microdissection, Histo-Präparate: formalin-fixiert, Paraffin eingebettet	Ergebnis: 6/15 MAP in granulomatösem Gewebe 0/12 Kontrollen
42	2002	Richter E et al.	Fallbericht	Deutschland	1 Patient, 36 Jahre, HIV pos	Kultur und PCR	8 von 21 Specimen positiv für Mykobakterien, 2 x PCR = 2x MAP Nachweis
48	2002	Fujita H et al.	MAP Nachweisuntersuchung	Deutschland	MC (16 Pat.) CU (11 Pat.) Kolomkarzinom (18 Pat.)	Quantitative PCR Histo-Präparate: formalin-fixiert, Paraffin eingebettet	Kein MAP-Nachweis
20	2000	Selby W.	Unsystematischer Review	Australien			Widersprüchl. Studienergebnisse, Hinweis auf AB-Studien
50	2000	Naser SA et al.	Letter MAP-Nachweisuntersuchung	USA	2 MC (Stillende) 5 Gesunde Kontrollen(Stillende)	PCR-Nachweis von MAP aus Brustmilch	Nachweis von MAP bei den 2 MC in der Brustmilch
27	1999	Prantera C et al.	Unsystematischer Review	Italien			Bisher keine Assoziation nachgewiesen
43	1998	Voulgarelis M et al.	Fallbericht	Griechenland	1 Patientin mit nekrotisierender Vaskulitis der Haut, 45 Jahre	OP, pathologisch, PCR	1 x MAC Nachweis (incl. MAP)
44	1998	Hermon-Taylor J	Fallbericht	England	1 Junge, 7 Jahre und 10 Mon.	PCR Histo-Präparate vom cervicalen LK: Paraffin eingebettet	MAP-Nachweis im LK
45	1996	Cummins RE et al.	Fallbericht	USA	1 Junge, 16 Jahre mit MC und x-linked Agammaglobinämie	PCR-Nachweis aus Gesichtsläsionen	Kein Nachweis gelungen
49	1995	Rowbotham DS et al.	MAP-Nachweisuntersuchung	England	MC (68 Pat.) CU (49 Pat.) None-IBD (26 Pat.)	Fluoreszenz-PCR Frische Präparate.	Kein Map-nachweis bei MC und CU Pat., 1x MAP bei Non-IBD
35	1995	Engstrand L.	Unsystematischer Review	Schweden			Bessere diagnostische Tests und mehr Untersuchungen gefordert
51	1992	Rastogi N et al.	In vitro Untersuchung	Frankreich	MAP-Stämme und MC Isolat (=MAP)		Gute in-vitro-Wirkung von Clarithromycin

Fortsetzung Tabelle 4 Ausgewertete Studien zur Suchstrategie "Fallberichte" bzw. "Fall-Kontroll-Studien**"

Ref-Nr.	Jahr	Autoren	Studien-design	Region	Teilnehmer	Nachweis-methode	Effektmaß/-Größe
46	1987	Schneebaum CW	Fallbericht	USA	1 Patient, 38 Jahre, mit terminaler Ileitis	Kultur	Nachweis von <i>M. avium intracellulare</i>
2	1984	Chiodini RJ et al.	Fallbericht	USA	2 Patienten, 15 Jahre (weiblich) and 12 Jahre (männlich) mit MC	Kultur	Kultureller Nachweis, wahrscheinlich MAP (Mycobacterium Runyon Group III)

* = hier sind alle unter Suchstrategie "Fallberichte" bzw. "Fall-Kontroll-Studien" gefundenen und ausgewerteten Studien aufgeführt, keine dieser Studien entspricht den Kriterien einer Fall-Kontroll-Studie.

4.5 Auswertung der Suchstrategie nach Kohortenstudien

Unter den genannten Suchbegriffen wurden in PubMed insgesamt 6 Studien (s. Tabelle 5) identifiziert und ausgewertet. Hierunter befanden sich 4 Untersuchungen zum MAP-Nachweis^{52, 53, 55} bzw. zum Antikörper-Nachweis gegen MAP⁵⁴ und 2 Follow up-Untersuchungen^{12, 56}, ein Follow up von 5 Jahren nach 2-jährigem RCT mit dreifach antituberkulöser Medikation¹² und eine Follow up - Untersuchung mit einer dreifach antibiotischen Therapie basierend auf einem Makrolid mit einer Therapiedauer von bis zu 54 Monaten⁵⁶.

Bis auf die Studie von Thomas et al.¹² entspricht keine dieser Studien den Kriterien einer Kohortenstudie.

Tabelle 5 Ausgewertete Studien zur Suchstrategie "Kohortenstudien**"

Ref-Nr.	Jahr	Autoren	Region	Teilnehmer	Studiendesign	Ergebnis
56	2002	Borody TJ et al.	Australien	12 MC	Follow up-Untersuchung	6/12 Besserung unter der Therapie mit Rifabutin, Clarithromycin, Clofazimine bis zu 54 Monate
55	1998	Kallinowski F et al.	Deutschland	21 MC 14 CU 24 Kontrollen	MAP-Nachweis Untersuchung	Kein MAP-Nachweis in allen Gruppen
12	1998	Thomas GA et al.	England	Follow-up mit 111 CD-Patienten nach 2-jährigem RCT (130 Patienten) mit 3-fach anti-tuberkulöser AB-Studie	Follow up-Untersuchung für 60 Monate	26% vs. 52% hatten 1 oder mehr Rückfälle im vorhergehenden Jahr zum Zeitpunkt 60 Monate, sonst kein Unterschied
52	1998	Clarkston WK	USA	21 MC 5 CU 11 Kontrollen	MAP-Nachweis Untersuchung	Bei einem CD-Patienten Nachweis von MAP via PCR, sonst alle negativ
53	1996	Mishina D	USA	4 MC, perforiert 4 MC, nichtperforiert 4 Kontrollen (2 CU und 2 Pat. mit Kolonkarzinom)	MAP-Nachweis Untersuchung	MAP -Nachweis via RT-PCR bei allen 8 MC-Patienten und bei 2 Kontrollpatienten mit CU
54	1996	Walmsley RS	England	40 MC 15 CU 25 Zöliakie 21 Gesunde	MAP-Nachweis Untersuchung	Kein Unterschied in den Gruppen beim ELISA- Nachweis von Antikörpern (IgG, IgA)

* = hier sind alle unter der Suchstrategie "Kohortenstudie" gefundenen Studien aufgeführt, nur die Studie von Thomas GA et al.¹² entspricht den Kriterien einer Kohortenstudie.

4.6 Auswertung nach PubMed Clinical Queries: Kategorie Prognose (sensitive und spezifische Suche)

Insgesamt 13 Studien wurden mit Hilfe der *clinical queries* mit Schwerpunkt Prognose identifiziert und 12 ausgewertet (s. Tabelle 6). Hierunter befanden sich 5 unsystematische Reviews^{20, 33, 38, 57, 58}, 4 Grundlagenforschungsberichte^{59, 60, 61, 62}, 1 Follow up–Untersuchung¹², 1 Fallbericht⁴² und 1 Untersuchung zum Antikörper-Nachweis gegen MAP⁶³.

Wie zu erwarten, überschritten sich die Ergebnisse dieser Suchstrategie mit der oben genannten Suche. So waren bereits vorher 4 Studien^{12, 20, 38, 42} identifiziert. Die neu gefundenen Veröffentlichungen ergaben zur Beantwortung der Fragestellung keine neuen Erkenntnisse, insbesondere lagen keine Fall-Kontroll-Studien bzw. Kohortenstudien vor.

Tabelle 6 Ausgewertete Studien nach Suchstrategie: PubMed Clinical Queries:
Kategorie Prognose (sensitive und spezifische Suche)

Ref-Nr.	Jahr	Autoren	Region	Studiendesign/ Publikationstyp	Studien- eigenschaften/ Outcome	Ergebnis bzw. Zusammenfassung der Autoren
61	2003	Sheridan JM et al.	England	Grundlagenforschung	Einsatz von Bioinformatik zur Vorhersage eines Zellwandenzym als mgl. Drugtarget für MAP	
42	2002	Richter E et al.	Deutschland	Fallbericht	1 Patient, 36 Jahre, HIV pos.	8 von 21 Specimen positiv für Mykobakterien, 2 x PCR = 2x MAP-Nachweis
59	2002	Shafran I et al.	USA	Klin. Untersuchung bzw. Grundlagenforschung	Bei 60 Patienten mit MC Evaluation der Anwendung von ASCA IgG/IgA und anti-p35/p36 als serologischen Markern für MC	ASCA =60% Anti -p35/p36 =86% ASCA IgG/IgA und anti-p35/p36= 95%
57	2002	Hermon-Taylor J, Bull T.	England	Unsystematischer Review	Keine Angabe	Sieht Notwendigkeit für Impfungen und wirksame Medikamente für den Menschen
63	2000	Naser SA et al.	USA	MAP-Nachweis Untersuchung	Unklare Studienfrage, lt. Autoren Evaluation spezifischer Reaktion von mykobakteriellem Antigen p 35 und p36 mit Seren von MC-Patienten u. Kontrollen (166 Patienten)	p35: 75% von 53 MC, 14% von 35 Kontrollen 10% von 10 CU p36: 89% von 89 MC, 14% von 50 Kontrollen, 15% von 29 CU Lt. Autoren evtl. nützlich für Diagnostik
20	2000	Selby W.	Australien	Unsystematischer Review	Keine Angabe	Widersprüchli. Studienergebnisse, Hinweis auf AB-Studien
12	1998	Thomas GA	England	Kohortenstudie/Follow up-Untersuchung für 60 Monate	Number of clinical relaps, surgery, CDAI	26% vs. 52% hatten 1 oder mehr Rückfälle im vorhergehenden Jahr zum Zeitpunkt 60 Monate, sonst kein Unterschied
33	1996	Chiodini RJ	USA	Unsystematischer Review	Keine Angabe	Sieht keine eindeutige Evidenz, aber viele Hinweise für Hypothese, wünscht mehr valide Untersuchungen
62	1994	Pavlik I et al.	Tschechien	Grundlagenforschung	Grad der Heterogenität von M. paratuberculosis-Stämmen in verschiedenen Ländern	RFLP gut als Methode zur Identifikation geeignet, 3 Typen wurden differenziert
38	1992	Thayer WR	USA	Unsystematischer Review	Keine Angabe	Diskutiert antibiotische Studien als Hinweis gegen oder für MAP- Ätiologie
58	1990	Hermon-Taylor J, et al.	England	Beurteilung, unsystematischer Review	Keine Angabe	Beschreibt und diskutiert molekularbiologische Verfahren
60	1989	Green EP et al.	England	Grundlagenforschung		Beschreibt komplette Sequenz des Insertions-elements IS900 in MAP

4.7 Auswertung nach PubMed Clinical Queries: Kategorie Ätiologie (sensitive und spezifische Suche)

Insgesamt 13 Studien wurden mit Hilfe der *clinical queries* mit Schwerpunkt Ätiologie identifiziert und auch ausgewertet. Hierunter befanden sich 5 unsystematische Reviews^{22, 25, 26, 27, 64}, 6 Untersuchungen zum MAP –Nachweis^{47, 48, 52, 53, 55, 65} und 2 Follow-Up- Untersuchungen^{12, 56}.

Zwölf dieser Studien waren bereits mit der oben genannten Suchstrategie gefunden worden^{12, 14, 22, 25, 26, 27, 47, 48, 52, 53, 55, 56}. Es fand sich lediglich 1 neuer unsystematischer Review⁶⁴, aus dem sich, bezogen auf die Fragestellung, keine neuen Erkenntnisse ergaben.

4.8 Auswertung nach PubMed Clinical Queries: Kategorie Therapie (sensitive und spezifische Suche)

In PubMed wurden mit Hilfe der *clinical queries* mit Schwerpunkt Therapie (sensitive und spezifische Suche) insgesamt 22 Studien gefunden und 18 in unsere Bewertung eingeschlossen. Die Ergebnisse dieser Suchstrategie überschneiden sich mit der in den vorherigen Abschnitten beschriebenen Suche. Es fanden sich 5 bereits bekannte Reviews^{14, 20, 24, 28, 38} (s. 4.3, Tabelle 3) und 2 Fallberichte^{42, 44} (s. 4.4, Tabelle 4), die bereits in den vorherigen Kapiteln ausgewertet worden waren. Desweiteren wurden ein bisher noch nicht identifizierter Review von Hermon-Taylor et al.⁶⁶ sowie drei ebenfalls von diesem Autor verfasste Kommentare bzw. Leserbriefe^{67, 68, 69} gefunden, die keine neuen Erkenntnisse vermittelten. Eine weitere unter dem oben benannten Suchbegriff gefundene Veröffentlichung war ein Editorial von Przemioslo et al.⁷⁰, aus dem sich auch keine neuen Hinweise ergaben. Bei 2 Studien handelte es sich um Untersuchungen, die im Zusammenhang mit dem Nachweis von *Mycobacterium paratuberculosis*-spezifischer DNA durchgeführt wurden (s. Kapitel 4.9)^{71, 72}.

Die 4 im folgendem beschriebenen Studien^{12, 56, 73, 75} (s. Tabelle 7) beschäftigen sich mit der Therapie von Morbus Crohn. Zwei Studien aus dem Jahr 2002 lagen uns leider nur als Abstract vor^{56, 73}. Beide Studien sind offene, unkontrollierte, klinische Studien mit einer kleinen Anzahl von Patienten, die mit einer zweifach⁷³ (Clarithromycin und Rifabutin) bzw. einer dreifach⁵⁶ (Clarithromycin, Rifabutin und Clofazimin) antibakteriellen Medikation behandelt worden sind. Shafran et al.⁷³ beschreiben unter der Zweifach-Medikation bei 21 von 29 Patienten (eingeschlossen waren 36, von denen 7 aufgrund von Nebenwirkungen die Therapie abgebrochen haben) in einem Follow-up nach 4 - 17 Monaten eine Verbesserung des Crohn's disease activity index. Unter der Dreifach-Medikation beschreiben Borody et al.⁵⁶ eine Besserung des Harvey-Bradshaw-Indexes bei 8 von insgesamt 12 Patienten nach 52 -

54 Monaten. Die Evidenz und Aussagekraft dieser Studien ist jedoch aufgrund ihres Studiendesigns, z.B. fehlender Kontrollgruppe und damit fehlender Randomisierung, nur gering. Aus dem Jahre 1998 stammt ein Bericht von Thomas et al.⁷² über die Ergebnisse einer 5 Jahre währenden Follow-Up-Studie, die im Jahre 1994 als multizentrische, randomisierte, placebokontrollierte, doppelblinde Studie (RCT) mit 130 Patienten gestartet worden war⁷⁴. Ziel des RCT war es, die Wirksamkeit einer anti-tuberkulösen Therapie, bestehend aus Rifampicin, Isoniazid und Ethambutol, zu testen. Einhundertelf (81%) der Patienten konnten über 5 Jahre nachverfolgt werden. Jährlich wurden die Anzahl der chirurgischen Eingriffe, die Anzahl der Krankenhauseinweisungen, die Aktivität der Erkrankungen, verschiedene Blutwerte, die Medikation und die Anzahl der Krankheitsschübe dokumentiert. Nach 36, 48 und 60 Monaten wurden die Ergebnisse der Placebogruppe mit der „aktiven“ Gruppe verglichen. Bis auf den Zeitpunkt nach 60 Monaten - hier hatten 26% in der „aktiven“ Gruppe und 52% in der Kontrollgruppe einen oder mehrere Schübe im vorangegangenen Jahr erlitten - zeigte sich für die oben genannten Erhebungen kein statistisch signifikanter Unterschied in beiden Gruppen.

Die Behandlung von 5 Patienten mit Dapson, einem Medikament gegen *Mycobacterium leprae*, wird 1989 von Prantera et al.⁷⁵ beschrieben. Auch diese Studie ist u.a. aufgrund ihrer geringen Patientenzahl nur von geringem Evidenzgrad.

Tabelle 7 Ausgewertete Studien nach Suchstrategie: PubMed Clinical Queries:
Kategorie Therapie (sensitive und spezifische Suche)

Ref-Nr.	Jahr	Autoren	Region	Studiendesign/ Publikationstyp	Teilnehmer	Nachweismethode	Intervention	Ergebnis bzw. Zusammenfassung der Autoren
56	2002	Borody TJ et al.	Australien	offene, unkontrollierte, klinische Studie	12 MC, keine Kontrollen	Langzeitbeobachtung: Koloskopie, Histologie, HBI	3-fach Therapie mit Rifabutin, Clarithromycin, Clofazimin bis zu 54 Monate	6/12 Patienten erfuhren Besserung unter der Therapie
73	2002	Shafran I et al.	USA	offene, unkontrollierte, klinische Studie	36 MC bzw. 29, da 7 Pat. aufgrund v. NW abgesprungen sind	CDAI	Rifambutin und Clarithromycin über 4-17 Monate	21/29 erlangten Verbesserung im CDAI
42	2002	Richter E et al.	Deutschland	Fallbericht	1 Patient, 36 Jahre, HIV pos	Kultur und PCR	Entfällt	8 von 21 Specimen positiv für Mykobakterien, 2 x PCR = 2x MAP Nachweis
67	2002	Hermon-Taylor J	England	Kommentar	entfällt	entfällt	Entfällt	Lt. Autor sind Rifabutin und Clarithromycin gegen MAP wirksam
68	2001	Hermon-Taylor J	England	Leserbrief	entfällt	entfällt	Entfällt	MAP in Milch nachweisbar, Nachweis von MAP in MC erwiesen, Rifabutin u. Clarithromycin sind gegen MAP wirksam
66	2000	Hermon-Taylor J et. al	England	Unsystematischer Review	entfällt	entfällt	Entfällt	Viele Hinweise, die für eine Beteiligung von MAP an der Ätiologie von MC sprechen
20	2000	Selby W	Australien	Unsystematischer Review	entfällt	entfällt	Entfällt	Widersprüchl. Studienergebnisse, Hinweis auf AB-Studien
24	2000	Hulten K et al.	England	Unsystematischer Review	entfällt	entfällt	Entfällt	Diskutieren antimykobakterielle Therapie bei MC. Halten MAP als Ursache bei einer Subgruppe von Pat. für möglich. Gut geplante große placebokontrollierte Studie nötig.
28	1998	Stabel JR	USA	Unsystematischer Review	entfällt	entfällt	Entfällt	Allgemeine Empfehlung zur Verbesserung d. diagn. Tests bei Rindern

Fortsetzung Tabelle 7 Ausgewertete Studien nach Suchstrategie: PubMed Clinical Queries:
Kategorie Therapie (sensitive und spezifische Suche)

Ref-Nr.	Jahr	Autoren	Region	Studiendesign/ Publikationstyp	Teilnehmer	Nachweismethode	Intervention	Ergebnis bzw. Zusammenfassung Der Autoren
69	1998	Hermon-Taylor J	England	Kommentar	entfällt	entfällt	Entfällt	Lt. Autor sind negative Nachweise von MAP durch falsche Wahl der Nachweismethode bedingt
12	1998	Thomas GA et al.	England	Follow up-Untersuchung für 60 Monate	111 CD-Patienten nach 2 Jahren RCT (130 Patienten)	Anzahl d. Schübe, Krankenhausaufenthalte, sowie op. Eingriffe, Cortison-Dosis, CDAI, Körpergewicht	Rifampicin, Ethambutal, Isoniazid über 2 Jahre	26% vs 52% hatten 1 oder mehr Rückfälle im vorhergehenden Jahr zum Zeitpunkt 60 Monate, sonst kein Unterschied
44	1998	Hermon-Taylor J	England	Fallbericht	1 Junge, 7 Jahre und 10 Mon.	PCR Histo-Präparate vom zervikalen LK: Paraffin eingebettet	Entfällt	MAP Nachweis im LK
70	1995	Przemioslo RT	England	Editorial	entfällt	Entfällt	Entfällt	Nachweis von zellulärer Immunität könnte auf möglichen infektiösen Trigger bei MC hinweisen
14	1994	Thompson DE	England	Unsystematischer Review	entfällt	Entfällt	Entfällt	Keine Beweise f. eine Beteiligung v. MAP a. d. Ätiologie v. MC, aber auch keine, die dagegen sprechen
71	1994	Fidler HM et al.	England	MAP-Nachweis Untersuchung	31 MC, 20 Pat. mit „inflamed gut“ (IBD), 10 CU	Vergleich von PCR-Verfahren mit 4 verschiedenen Zielgenen	entfällt	4/31 MC pos., 0/20 Pat. mit „inflamed gut“ pos., 0/10 CU pos.
72	1994	Lisby G et al.	Dänemark	MAP-Nachweis Untersuchung	24 MC, 10 CU, 28 Kontrollen (davon 25 mit Kolonkarzinom)	Nested PCR (IS 900) M.paratuberculosis, frisch und in Paraffin eingebettete Präparate (58 Präparate)	entfällt	FrISChe Präparate: 11/24 MC pos., 2/10 CU pos., 3/28 Kontrollen pos.; eingebettete Präparate: 4/58 MC-Präparaten pos.
38	1992	Thayer WR	USA	Unsystematischer Review	entfällt	Entfällt	entfällt	Keine Beweise f. eine Beteiligung v. MAP a. d. Ätiologie v. MC, aber auch keine, die dagegen sprechen
75	1989	Prantera C et al.	Italien	Offene, unkontrollierte, klinische Studie	5 Patienten mit CD	ELISA (AK gegen <i>M. paratuberculosis</i> , <i>avium</i> , <i>intracellulare</i> , <i>kansasii</i> , <i>tuberculosis</i> , CDAI, Kolokopie	Dapson über 2 Monate	2/5 Pat., 1 Pat. CDAI gesunken u. komplette Abheilung d. Ulcera, 1 Pat. CDAI gesunken

4.9 Untersuchungen zum MAP-Nachweis

Bei 12 Studien^{47, 48, 49, 52, 53, 54, 55, 63, 71, 72, 77, 78}, die wir in den verschiedenen Suchstrategien identifizieren konnten, handelte es sich um Untersuchungen (z.B. die Austestung verschiedener PCR-Verfahren), die den Nachweis von MAP bei Morbus Crohn-Patienten und bei einer oder mehreren Kontrollgruppen überprüfen. Die Kontrollgruppen bestanden meist aus Colitis ulcerosa-Patienten und einer weiteren Kontrollgruppe, die sich aus Patienten zusammensetzte, die nicht an einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung litten (Gesunde, Darmkarzinom, Irritables Kolon etc.)^{72, 77}. Ohne ein klar zu erkennendes Studiendesign zeichneten sich alle Studien auch durch eine schwache Beschreibung ihrer Methodik aus. Bei überwiegend geringer und ungleicher Fallzahl blieb die Art der Patientenauswahl und der Kontrollen meist unklar, ebenso fehlte den meisten Studien eine genaue Beschreibung aller Studienteilnehmer (Alter, Geschlecht, Komorbiditäten, Medikation, etc.).

Weiterhin unterschieden sich die Studien untereinander durch die Art der untersuchten Proben und durch die verschiedenen Nachweismethoden, z.B. unterschiedliche PCR-Techniken, sowie auch immunologische Untersuchungen und kulturelle Isolation.

Selbst bei gleich angewandter Untersuchungsmethodik sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen widersprüchlich und sehr unterschiedlich. Während manche Gruppen MAP bei Morbus Crohn-Patienten nachweisen konnten^{47, 53} (s. Kapitel 4.4 Tabelle 4 und Kapitel 4.5 Tabelle 5), konnten andere Forschergruppen dies nicht reproduzieren^{48, 49} (s. Kapitel 4.4 Tabelle 4) und^{52, 55} (s. Kapitel 4.5 Tabelle 5) bzw. ist MAP auch bei gesunden Kontrollpersonen nachweisbar⁴⁹ (s. Kapitel 4.4 Tabelle 4).

Abgesehen von den widersprüchlichen Ergebnissen ist bei all diesen Studien von erheblichen systematischen Fehlern (insbesondere Selektionsbias) auszugehen. Die Studien sind daher nur von geringem Evidenzgrad.

4.10 Auswertung der Suche in der Cochrane Database

Insgesamt 5 Studien sind in der Cochrane-Datenbank gefunden worden, davon eine Meta-Analyse in der Cochrane Database of Systematic Reviews und 4 weitere Studien im Cochrane Central Register of Controlled Trials.

Borgaonkar et al.⁷⁶ haben in ihrer 1999 durchgeführten Cochrane - Metaanalyse 7 randomisierte Studien, die eine antituberkulöse Therapie durchgeführt haben, mit insgesamt 355 Patienten eingeschlossen. Die Fragestellung dieser Studie war, die Wirkung einer antituberkulösen Therapie für die Erhaltung der Remission bei Patienten mit Morbus Crohn zu untersuchen. In der Auswertung zeigte sich kein statistisch signifikanter Vorteil für die Behandlung mit einer antituberkulösen Therapie. Lediglich in einer Subgruppenanalyse aus zwei Studien,

die zusätzlich Cortison zur Induktion der Remission angewendet hatten, kam es zu einem statistisch signifikanten Vorteil für die so behandelten Patienten (OR 3,37, 95% CI 1,38 – 8,24). Die Autoren weisen jedoch ausdrücklich daraufhin, diese Ergebnisse wegen der nur geringen Anzahl von Patienten, die in die Subgruppenanalyse beider Studien eingeschlossen waren, nur mit Vorsicht zu interpretieren.

Von den weiteren 4 Studien, die wir in der Cochrane-Datenbank gefunden haben, war uns bereits eine bekannt. Thomas et al.¹² beschreiben die Ergebnisse eines 5 Jahres-Follow-Up einer doppel-blinden randomisiert kontrollierten Studie aus dem Jahre 1994⁷⁴ (s. Teil 4.8).

Drei weitere ebenfalls identifizierte Arbeiten beschreiben die Evaluation oder Entwicklung verschiedener Nachweismethoden von MAP-DNA^{72, 77}, bzw. die Entwicklung eines Antikörpernachweises aus dem Blut von Morbus Crohn-Patienten⁷⁸. Diese Studien sind bereits in dem vorhergehenden Abschnitt (s. 4.9) bewertet worden.

4.11 ACP- Journal Club

Unter dem Suchbegriff „*Mycobacterium paratuberculosis*“ fanden wir nur die Bewertung zur Metaanalyse von Bogaonkar et al., die 2000 im American Journal of Gastroenterology⁷⁹ veröffentlicht worden ist. Die Metaanalyse ähnelt in der Fragestellung und Methodik der Cochrane-Metaanalyse von Bogaonkar et al., schließt jedoch acht statt sieben Studien in die Auswertung mit ein (zusätzlich eingeschlossen wurde hier eine Studie von Basilisco et al.⁸⁰). Auf die in der Bewertung formulierte Fragestellung, ob bei Patienten mit Morbus Crohn eine antimykobakterielle Therapie eine Remission herbeiführen bzw. aufrechterhalten kann, kamen die Autoren des ACP- Journal Club zu dem Schluss, dass eine antimykobakterielle Therapie nicht mit einer Aufrechterhaltung der Remission von Crohn-Patienten verbunden ist. Lediglich die Ergebnisse der Subgruppenanalyse zweier Studien weisen darauf hin, dass die initiale Anwendung von Kortikosteroiden zur Induktion einer Remission die Rate an Aufrechterhaltungen unter antimykobakterieller Therapie erhöhen kann. Wie auch schon im Kapitel 4.10. erwähnt, sollten diese post-hoc-Auswertungen der Daten mit Vorsicht und nur als Hypothesen generierend betrachtet werden.

5 Diskussion und Zusammenfassung

Um die Fragestellung „Führt beim Menschen eine Exposition mit *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* (MAP) zu einem erhöhten Risiko, an einem Morbus Crohn zu erkranken?“ zu beantworten, konnten wir keine validen wissenschaftlichen Erkenntnisse finden. Die identifizierten und ausgewerteten Studien sind aufgrund ihrer Anfälligkeit für systematische Fehler methodisch hierfür nicht geeignet und erlauben es bestenfalls, die Hypothese aufzustellen bzw. zu unterstützen, dass MAP am Krankheitsgeschehen von Morbus Crohn beteiligt sein könnte.

Bei der Literaturbewertung wird durch die Studie von Thomas et al.¹² zwar formal die Evidenzstufe 2b erreicht, jedoch wird die Aussagekraft dieser Studie durch die Fragestellung eingeschränkt. So erlaubt allein die Bewertung des sofortigen und längerfristigen Effekts einer antituberkulösen Therapie auf den Krankheitsverlauf bei Patienten mit Morbus Crohn es nicht, hieraus einen MAP-spezifischen Effekt abzuleiten. Zwar können für eine Beteiligung von MAP an der Pathogenese von Morbus Crohn auch Therapiestudien mit antimykobakteriellen Chemotherapeutika Hinweise geben, jedoch muss ein möglicher Benefit deshalb nicht MAP-spezifisch sein, sondern kann durch die breite antibakterielle Wirkung bedingt sein. Einige Therapiestudien mit einer entsprechenden Chemotherapie sind in der von uns durchgeführten Suchstrategie identifiziert und bewertet worden^{56, 73, 75} (s. Teil 4.8). Da diese Studien methodische Schwächen aufweisen, möchten wir uns im folgendem auf eine von der Cochrane Inflammatory Bowel Disease Group durchgeführte Meta-Analyse⁷⁶ bzw. auf einen von der gleichen Arbeitsgruppe veröffentlichten Artikel im American Journal of Gastroenterology⁷⁹ (s. Teil 4.10 und 4.11) mit ähnlichem Inhalt beziehen. Borgaonkar et al.⁷⁹ kommen zu dem Schluss, dass, wenn Kortikosteroide zur Induktion der Remission angewendet wurden, die antimykobakterielle Chemotherapie einen Effekt auf die Erhaltung der Remission haben könnte. Diesen Effekt sahen die Autoren aber nur in einer von ihnen durchgeführten Subgruppen-Analyse zweier Studien (OR 3,37; 95 % CI 1,38-8,24; p=0,013) und geben zu bedenken, dass dieses Ergebnis mit Vorsicht zu interpretieren ist, da die Studien nur kleine Patientenzahlen umfassen und sich in Hinblick auf die Dauer der Krankheit, die Therapie, die Lokalisation der Läsionen und die Auswahl der Chemotherapeutika unterscheiden.

Derzeit wird auf die Ergebnisse einer australischen Studie von Selby et al. gewartet, die in einem randomisierten, placebo-kontrollierten Vergleich die Wirksamkeit von Clarithromycin, Rifabutin und Clofazimin untersuchen. Nach Rücksprache mit dieser Arbeitsgruppe ist hier vor September 2004 nicht mit einem Ergebnis zu rechnen.

Auch wenn der Nachweis von MAP bei Patienten mit Morbus Crohn zur Unterstützung der Hypothese verlockend sein könnte, ist es jedoch nicht erlaubt, hieraus allein eine ätiologische bzw. kausale Beziehung herzustellen. In der Mikrobiologie werden oft die Koch'schen Postulate als Kausalitätskriterien herangezogen, so auch in einigen der oben genannten Publikationen^{27, 34}. Schon lange wird die Anwendung dieser Kriterien diskutiert und kritisiert, da sie für chronische Erkrankungen mit komplexen bzw. multifaktoriellen Ursachen nicht geeignet sind. International etabliert haben sich die Kausalitätskriterien nach Bradford-Hill und das Konzept der Kausalität nach Rothman KJ. Bradford-Hill hat neun Kausalitätskriterien aufgestellt: Stärke der Beziehung, Konsistenz der Beziehung, Spezifität des Effekts, zeitliche Sequenz, Dosis-Wirkungs-Beziehung, biologische Plausibilität, Kohärenz, experimentelle Evidenz, Analogie mit ähnlichen Zusammenhängen.

In einer Veröffentlichung von 1999 sind für Prantera et al. ²⁷ nur drei Bradford-Hill-Kriterien erfüllt: die biologische Plausibilität, die Kohärenz und die Analogie. Diese werden von Rothman ⁸¹ jedoch nur als vage bezeichnet. Aber auch Prantera verweist unter anderem auf eines der Koch'schen Postulate, das bereits erfüllt sei. So haben Van Kruiningen und Chiodini et al. nach der Infektion einer Ziege mit isolierten Bakterien in einer Gewebeprobe eines Crohn-Patienten granulomatöse Läsionen beobachten können ⁸². Es ist bisher allerdings nicht gelungen, dieses oder ähnliche Experimente zu wiederholen.

Die Kriterien der hier durchgeführten Literatursuche mit Stand vom April/Mai 2003 und die nachfolgende Bewertung können nicht alle Studien bzw. Artikel, die je zu dem Thema MAP und M. Crohn veröffentlicht worden sind, einschließen. In der systematischen Literatursuche wurde so vorgegangen, dass die Suchstrategie mit hoher Sensitivität und Spezifität ¹⁰ vor allem die methodisch validen und relevanten Studien zur Beantwortung der Fragestellung erfasst. Aufgrund dieses methodischen Vorgehens halten wir es für unwahrscheinlich, dass die von uns bis zum Stand April/Mai 2003 nicht aufgefundene und ausgewertete Literatur weitere bzw. andere Erkenntnisse ergibt, die über das geschilderte Hypothesenniveau hinausgehen.

Zwei neue Publikationen, die erst nach April/Mai 2003 erschienen sind, möchten wir hier noch erwähnen.

Die Untersuchung von Bull et al. ⁸³, veröffentlicht im Juli 2003, wurde mit dem Ziel durchgeführt, die Entwicklung eines optimierten Proben- und DNA Extraktionsprozesses mit frischen beim Menschen koloskopisch entnommenen Biopsieproben aus der Darmmucosa sowie zwei „nested“ PCR-Methoden zu testen. Hierzu wurden 37 Patienten mit M. Crohn und 34 Patienten aus einer Kontrollgruppe mit nichtentzündlichen Darmerkrankungen (Kolon-CA; IBD u.a.) untersucht. Vierunddreißig von 37 (92%) M. Crohn-Patienten und 9 von 34 (26%) Patienten der Kontrollgruppe wurden mit Hilfe der PCR auf MAP positiv getestet. Zusätzlich wurde der Nachweis von MAP mit MGIT-Kulturen (Inkubation für 14-88 Wochen) evaluiert. Bei insgesamt 14 von 33 (42%) MC-Patienten und 3 von 33 (9%) Kontrollen konnte aus den MGIT-Kulturen mit der PCR ebenfalls MAP nachgewiesen werden.

Die zweite Studie von Bernstein et al. ⁸⁴, veröffentlicht im November 2003, hatte zum Ziel, einen Zusammenhang zwischen MC und einer Infektion mit *Mycobacterium avium* zu untersuchen. Dafür wurde eine kleine Kohorte, die in eine größere Fall-Kontrollstudie eingebettet war, mit unter 50-jährigen Patienten mit M. Crohn (N=24) oder Colitis ulcerosa (N=28), nicht betroffenen Geschwistern der Patienten (N=9) und gesunden Kontrollen (N=19) zusätzlich koloskopisch und bioptisch untersucht. Die Proben wurden mittels nested PCR zum Nachweis der IS 900-Sequenz von *Mycobacterium avium* und auf andere zoonotische Erreger untersucht. Keiner der M. Crohn-Patienten, ein Patient mit Colitis ulcerosa und sechs Kontrollpersonen waren positiv für *Mycobacterium avium*.

Aufgrund des unterschiedlichen methodischen Vorgehens sind die widersprüchlichen Ergebnisse beider Studien nicht zu vergleichen. Beide Studien weisen methodische Schwächen (z.B. in der Studie von Bernstein et al. ⁸⁴ unklare Patientenselektion) auf und sind darum auch einzeln nicht geeignet, eine Assoziation von MAP und M. Crohn zu be- bzw. zu widerlegen.

In den letzten 3 Jahren sind bereits drei offizielle Stellungnahmen aus den USA (The National Academy of Sciences), United Kingdom (Food Standard Agency) und von der EU (European Commission/Directorate-General Health & Consumer Protection) erschienen.

Der Bericht der EU vom Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare (Possible links between Crohn`s disease and Paratuberculosis) vom März 2000 kommt zu dem Schluss, dass es keine valide Evidenz dafür gibt, MAP als kausales Agens für Morbus Crohn verantwortlich machen zu können. Die Kommission fordert u.a. die Durchführung großer epidemiologischer Studien zur Eingrenzung von Risikofaktoren sowie die Durchführung großer multizentrischer, doppel-blinder Therapiestudien.

Auch der im Juni 2001 erschienene Bericht aus England (A Review of the Evidence for a Link between Exposure to *Mycobacterium Paratuberculosis* (MAP) and Crohn`s Disease (CD) in Humans) verweist darauf, dass es keine eindeutige Evidenz für eine mögliche Verbindung zwischen MAP und Morbus Crohn gibt, dass aber genetische und immunologische Faktoren eine wichtige Rolle spielen. Im Hinblick darauf, dass MAP in Trinkmilch nach der Pasteurisation nachgewiesen worden ist (s. Kapitel 1.1), und vor allem nach den Erfahrungen mit BSE wird darauf verwiesen, dass bereits jetzt im Rahmen des Risikomanagements mit den oben geschilderten Unsicherheiten offensiv umgegangen werden sollte. Auch dieser Bericht fordert weitere epidemiologische Studien zu Prävalenz und Inzidenz von Morbus Crohn und Paratuberkulose sowie Untersuchungen zur Effektivität der Pasteurisation von Milch.

Aus den USA ist im Jahr 2003 ein Bericht der „National Academy of Sciences“ erschienen (Diagnosis and Control of Johne`s Disease). Hier wird die Auffassung vertreten, dass die Hypothese, dass MAP ursächlich an der Entstehung von Morbus Crohn beteiligt sei, plausibel ist und weitere Studien erforderlich sind. Das Komitee fordert die Durchführung großer doppel-blinder, multizentrischer Studien zur Standardisierung der Nachweismethoden von MAP, Therapiestudien sowie Studien zum Nachweis von MAP in Brustmilch.

6 Schlussfolgerungen

Die Annahme einer kausalen Verbindung zwischen *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* und Morbus Crohn ist bei der derzeitigen Studienlage noch auf Hypothesenniveau.

Um valide Erkenntnisse zu erlangen, wären insbesondere folgende gut geplante Studien wichtig und notwendig:

- Studien zur Evaluierung und Validierung der Nachweismethoden von MAP beim Menschen und beim Tier
- Prävalenzstudien zum Vorkommen von MC und Paratuberkulose in Deutschland
- Große epidemiologische Studien (z.B. Fall-Kontroll-Studien) zur Eingrenzung von Risikofaktoren und zum Vorkommen von MAP bei MC-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen. Hierbei ist anzumerken, dass das Expositionsrisiko mit MAP bei MC-Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollen unbekannt und schwer zu beantworten ist. Es wären z.B. Daten zu Ernährungsgewohnheiten vor Ausbruch der Erkrankung erforderlich, die schwer zu erheben sind. Weiterhin ist auch neben der Milch noch die Bedeutung anderer Expositionsquellen wie Gemüse, Fleisch und Trinkwasser offen.
- Doppelblinde, randomisierte, kontrollierte Therapiestudien mit klinischen Endpunkten wie Herbeiführung und Aufrechterhaltung der Remission, mit Nachweis von MAP vor und nach der Therapie und anderen im Darm siedelnden Keimen sowie weiteren bekannten und relevanten Störfaktoren.
- Molekularbiologischer Vergleich von MAP-Stämmen, die von Wiederkäuern und vom Menschen isoliert wurden.

7 Literatur

1. Dalziel TK. Chronic intestinal enteritis. *BMJ* 1913, 1068-70.
2. Chiodini RJ, Van Kruiningen HJ, Thayer WR, Merkal RS, Coutu JA. Possible role of mycobacteria in inflammatory bowel disease. I. An unclassified *Mycobacterium species* isolated from patients with Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1984; 29:1073-1079.
3. Grant IR, Ball HJ, Rowe MT. Incidence of *Mycobacterium paratuberculosis* in bulk raw and commercially pasteurized cows' milk from approved dairy processing establishments in the United Kingdom. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68:2428-2435.
4. Hammer P, Kiesner C, Walte HG, Knappstein K, Teufel P. Heat resistance of *Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis* in raw milk tested in a pilot plant pasteurizer. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* 2003, 54:275-303.
5. Harrison „Innere Medizin“ 13. Auflage Deutsche Ausgabe, Blackwell Wissenschafts-Verlag 1995.
6. Timmer A, Breuer-Katschinski B, Goebell H. Time trends in the incidence and disease location of Crohn's disease 1980-1995: a prospective analysis in an urban population in Germany. *Inflamm Bowel Dis*; 5:79-84.
7. Shivananda S, Lennard-Jones J, Logan R, Fear N, Price A, Carpenter L, et al. Incidence of inflammatory bowel disease across Europe: is there a difference between north and south? Results of the European Collaborative Study on Inflammatory Bowel Disease (EC-IBD). *Gut* 1996; 39:690-697.
8. Johne HA, Frothingham L. Ein eigentümlicher Fall von Tuberkulose beim Rind. *Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin und Pathologie* 1895; 21:438-54.
9. Tiergesundheitsjahresbericht des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft und der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere, 2001/2002. 3. Jahrgang 2003.
10. Haynes RB, Wilczynski N, McKibbin KA, Walker CJ, Sinclair JC. Developing optimal search strategies for detecting clinically sound studies in MEDLINE. *J Am Med Assoc* 1994; 1:447-458.
11. Euler U, Juche A, Brüggengjürgen B, Kunz R, Willich SN. Implementierung evidenzbasierter Medizin in der klinischen Praxis – Angebot einer externen Recherche mit kritischer Bewertung der Literatur. *Z. ärztl. Fortbild. Qual.sich.* 2002; 96:325-331.
12. Thomas GA, Swift GL, Green JT, Newcombe RG, Braniff-Mathews C, Rhodes J, et al. Controlled trial of antituberculous chemotherapy in Crohn's disease: a five year follow up study. *Gut* 1998; 42:497-500.
13. McFadden JJ, Fidler HM. Mycobacteria as possible causes of sarcoidosis and Crohn's disease. *Soc Appl Bacteriol Symp Ser* 1996; 25:47S-52S.
14. Thompson DE. The role of mycobacteria in Crohn's disease. *J Med Microbiol* 1994; 41:74-94.

15. Chamberlin W, Graham DY, Hulten K, El-Zimaity HM, Schwartz MR, Naser S, et al. Review article: *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* as one cause of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15:337-346.
16. Van Kruiningen HJ. Lack of support for a common etiology in Johne's disease of animals and Crohn's disease in humans. *Inflamm Bowel Dis* 1999; 5:183-191.
17. Lund BM, Gould GW, Rampling AM. Pasteurization of milk and the heat resistance of *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*: a critical review of the data. *Int J Food Microbiol* 2002; 77:135-145.
18. Harris JE, Lammerding AM. Crohn's disease and *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis*: current issues. *J Food Prot* 2001; 64:2103-2110.
19. Harris NB, Barletta RG. *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in Veterinary Medicine. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14:489-512.
20. Selby W. Pathogenesis and therapeutic aspects of Crohn's disease. *Vet Microbiol* 2000; 77:505-511.
21. Bakker D, Willemsen PT, van Zijderveld FG. Paratuberculosis recognized as a problem at last: a review. *Vet Q* 2000; 22:200-204.
22. Stabel JR. Johne's disease and milk: do consumers need to worry? *J Dairy* 2000; 83:1659-1663.
23. Hermon-Taylor J, Bull TJ, Sheridan JM, Cheng J, Stellakis ML, Sumar N. Causation of Crohn's disease by *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*. *Can J Gastroenterol* 2000; 14:521-539.
24. Hulten K, Almashhrawi A, El-Zaatari FA, Graham DY. Antibacterial therapy for Crohn's disease: a review emphasizing therapy directed against mycobacteria. *Dig Dis Sci* 2000; 45:445-456.
25. Andus T, Gross V. Etiology and pathophysiology of inflammatory bowel disease-environmental factors. *Hepatogastroenterology* 2000; 47:29-43.
26. Rhodes J, Freedman AR. Measles, *Mycobacterium paratuberculosis* and Crohn's disease. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31:255-257.
27. Prantera C, Scribano ML. Crohn's disease: the case for bacteria. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999; 31:244-246.
28. Stabel JR. Johne's disease: a hidden threat. *J Dairy Sci* 1998; 81:283-288.
29. McDowell RM, McElvaine MD. Long-term sequelae to foodborne disease. *Rev Sci Tech* 1997; 16:337-341.
30. Collins MT. *Mycobacterium paratuberculosis*: a potential food-borne pathogen? *J Dairy Sci* 1997; 80:3445-3448.
31. Jayanthi V, Robinson RJ, Malathi S, Rani B, Balambal R, Chari S, et al. Does Crohn's disease need differentiation from tuberculosis? *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11:183-186.
32. Gitnick G. Inflammatory bowel disease: a new assessment. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996; 220:83-86.

33. Chiodini RJ, Rossiter CA. Paratuberculosis: a potential zoonosis? *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1996; 12:457-467.
34. Travis SP. Mycobacteria on trial: guilty or innocent in the pathogenesis of Crohn's disease? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7:1173-1176.
35. Engstrand L. *Mycobacterium paratuberculosis* and Crohn's disease. *Scand J Infect Dis Suppl* 1995; 98:27-29.
36. Cocito C, Gilot P, Coene M, de Kesel M, Poupart P, Vannuffel P. Paratuberculosis. *Clin Microbiol Rev* 1994; 7:328-345.
37. Smith MS, Wakefield AJ. Viral association with Crohn's disease. *Ann Med* 1993; 25:557-561.
38. Thayer WR. The use of antimycobacterial agents in Crohn's disease. *J Clin Gastroenterol* 1992; 15:5-7.
39. Thorel MF. Relationship between *Mycobacterium avium*, *M. paratuberculosis* and mycobacteria associated with Crohn's disease. *Ann Rech Vet* 1989; 20:417-429.
40. Chiodini RJ. Crohn's disease and the mycobacterioses: a review and comparison of two disease entities. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2:90-117.
41. Hampson SJ, McFadden JJ, Hermon-Taylor J. Mycobacteria and Crohn's disease. *Gut* 1988; 29:1017-1019.
42. Richter E, Wessling J, Lugerling N, Domschke W, Rusch-Gerdes S. *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* infection in a patient with HIV, Germany. *Emerg Infect Dis* 2002; 8:729-731.
43. Voulgarelis M, Chorti M, Kittas C, Karachristos A, Ikononopoulos G, Skopouli FN. Fever and abdominal pain in a 45-year-old woman with cutaneous necrotising vasculitis. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16:72-76.
44. Hermon-Taylor J, Barnes N, Clarke C, Finlayson C. *Mycobacterium paratuberculosis* cervical lymphadenitis, followed five years later by terminal ileitis similar to Crohn's disease. *BMJ* 1998; 316:449-453.
45. Cummins RE, Mullins D, Smith LJ, Ford MJ. Metastatic Crohn's disease: a case report. *Pediatr Dermatol* 1996; 13:25-28.
46. Schneebaum CW, Novick DM, Chabon AB, Strutynsky N, Yancovitz SR, Freund S. Terminal ileitis associated with *Mycobacterium avium-intracellulare* infection in a homosexual man with acquired immune deficiency syndrome. *Gastroenterology* 1987; 92:1127-1132.
47. Ryan P, Bennett MW, Aarons S, Lee G, Collins JK, O'Sullivan GC, et al. PCR detection of *Mycobacterium paratuberculosis* in Crohn's disease granulomas isolated by laser capture microdissection. *Gut* 2002; 51:665-670.
48. Fujita H, Eishi Y, Ishige I, Saitoh K, Takizawa T, Arima T, et al. Quantitative analysis of bacterial DNA from *Mycobacteria sp.*, *Bacteroides vulgatus*, and *Escherichia coli* in tissue samples from patients with inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol* 2002; 37:509-516.

49. Rowbotham DS, Mapstone NP, Trejdosiewicz LK, Howdle PD, Quirke P. *Mycobacterium paratuberculosis* DNA not detected in Crohn's disease tissue by fluorescent polymerase chain reaction. *Gut* 1995; 37:660-667.
50. Naser SA, Schwartz D, Shafran I. Isolation of *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* from breast milk of Crohn's disease patients. *Am J Gastroenterol* 2000; 95:1094-1095.
51. Rastogi N, Goh KS, Labrousse V. Activity of clarithromycin compared with those of other drugs against *Mycobacterium paratuberculosis* and further enhancement of its extracellular and intracellular activities by ethambutol. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:2843-2846.
52. Clarkston WK, Presti ME, Petersen PF, Zachary PEJ, Fan WX, Leonardi CL, et al. Role of *Mycobacterium paratuberculosis* in Crohn's disease: a prospective, controlled study using polymerase chain reaction. *Dis Colon Rectum* 1998; 41:195-199.
53. Mishina D, Katsel P, Brown ST, Gilberts EC, Greenstein RJ. On the etiology of Crohn disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93:9816-9820.
54. Walmsley RS, Ibbotson JP, Chahal H, Allan RN. Antibodies against *Mycobacterium paratuberculosis* in Crohn's disease. *QJM* 1996; 89:217-221.
55. Kallinowski F, Wassmer A, Hofmann MA, Harmsen D, Heesemann J, Karch H, et al. Prevalence of enteropathogenic bacteria in surgically treated chronic inflammatory bowel disease. *Hepatogastroenterology* 1998; 45:1552-1558.
56. Borody TJ, Leis S, Warren EF, Surace R. Treatment of severe Crohn's disease using antimycobacterial triple therapy--approaching a cure? *Dig Liver Dis* 2002; 34:29-38.
57. Hermon-Taylor J, Bull T. Crohn's disease caused by *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*: a public health tragedy whose resolution is long overdue. *J Med Microbiol* 2002; 51:3-6.
58. Hermon-Taylor J, Moss M, Tizard M, Malik Z, Sanderson J. Molecular biology of Crohn's disease mycobacteria. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1990; 4:23-42.
59. Shafran I, Piromalli C, Decker JW, Sandoval J, Naser SA, El-Zaatari FA. Seroreactivities against *Saccharomyces cerevisiae* and *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* p35 and p36 antigens in Crohn's disease patients. *Dig Dis Sci* 2002; 47:2079-2081.
60. Green EP, Tizard ML, Moss MT, Thompson J, Winterbourne DJ, McFadden JJ, et al. Sequence and characteristics of IS900, an insertion element identified in a human Crohn's disease isolate of *Mycobacterium paratuberculosis*. *Nucleic Acids Res* 1989; 17:9063-9073.
61. Sheridan JM, Bull TJ, Hermon-Taylor J. Use of bioinformatics to predict a function for the GS element in *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*. *J Mol Microbiol Biotechnol* 2003; 5:57-66.
62. Pavlik I, Bejckova L, Pavlas M, Rozsypalova Z, Koskova S. Characterization by restriction endonuclease analysis and DNA hybridization using IS900 of bovine, ovine, caprine and human dependent strains of *Mycobacterium paratuberculosis* isolated in various localities. *Vet Microbiol* 1995; 45:311-318.

63. Naser SA, Hulten K, Shafran I, Graham DY, El-Zaatari FA. Specific seroreactivity of Crohn's disease patients against p35 and p36 antigens of *M. avium subsp. paratuberculosis*. *Vet Microbiol* 2000; 77:497-504.
64. Volk BA, Gerok W. [Current insights on the pathogenesis of chronic inflammatory bowel diseases]. *Schweiz Rundsch Med Prax* 1992; 81:863-865.
65. Chiodini RJ, Van Kruiningen HJ, Thayer WR, Coutu JA, Merkal RS. In vitro antimicrobial susceptibility of a *Mycobacterium sp.* isolated from patients with Crohn's disease. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 26:930-932.
66. Hermon-Taylor J, Bull TJ, Sheridan JM, Cheng J, Stellakis ML, Sumar N. Causation of Crohn's disease by *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*. *Can J Gastroenterol* 2000; 14:521-539.
67. Hermon-Taylor J. Treatment with drugs active against *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* can heal Crohn's disease: more evidence for a neglected public health tragedy. *Dig Liver Dis* 2002; 34:9-12.
68. Hermon-Taylor J. Protagonist. *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* is a cause of Crohn's disease. *Gut* 2001; 49:755-756.
69. Hermon-Taylor J. The causation of Crohn's disease and treatment with antimicrobial drugs. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1998; 30:607-610.
70. Przemioslo RT, Ciclitira PJ. Pathogenesis of Crohn's disease. *QJM* 1995; 88:525-527.
71. Fidler HM, Thurrell W, Johnson NM, Rook GA, McFadden JJ. Specific detection of *Mycobacterium paratuberculosis* DNA associated with granulomatous tissue in Crohn's disease. *Gut* 1994; 35:506-510.
72. Lisby G, Andersen J, Engbaek K, Binder V. *Mycobacterium paratuberculosis* in intestinal tissue from patients with Crohn's disease demonstrated by a nested primer polymerase chain reaction. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29:923-929.
73. Shafran I, Kugler L, El-Zaatari FA, Naser SA, Sandoval J. Open clinical trial of rifabutin and clarithromycin therapy in Crohn's disease. *Dig Liver Dis* 2002; 34:22-28.
74. Swift GL, Srivastava ED, Stone R, Pullan RD, Newcombe RG, Rhodes J, et al. Controlled trial of anti-tuberculous chemotherapy for two years in Crohn's disease. *Gut* 1994; 35:363-368.
75. Prantera C, Bothamley G, Levenstein S, Mangiarotti R, Argentieri R. Crohn's disease and mycobacteria: two cases of Crohn's disease with high anti-mycobacterial antibody levels cured by dapsone therapy. *Biomed Pharmacother* 1989; 43: 295-299.
76. Borgaonkar M, MacIntosh D, Fardy J, Simms L. Anti-tuberculous therapy for maintaining remission of Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; CD000299.
77. Al-Shamali M, Khan I, Al-Nakib B, Al-Hassan F, Mustafa AS. A multiplex polymerase chain reaction assay for the detection of *Mycobacterium paratuberculosis* DNA in Crohn's disease tissue. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32:819-823.
78. Fiasse R, Vannuffel P, Dieterich C, Naerhuyzen B, Gilot P, Coene M, et al. Antibodies against a species-specific recombinant polypeptide of *Mycobacterium paratuber-*

culosis in Crohn's disease. Correlation with disease activity. Acta Gastroenterologica Belgica 1994; 57:C 34.

79. Borgiaonkar MR, MacIntosh DG, Fardy JM. A meta-analysis of antimycobacterial therapy for Crohn's disease. Am J Gastroenterol 2000; 95:725-729.
80. Basilisco G, Ranzi T, Campanini MC, et al. Controlled trial of rifabutin in Crohn's disease. Curr Therapeut Res 1989; 46:245-250.
81. Rothman KJ. Epidemiology. An Introduction; Oxford University Press 2002.
82. Van Kruiningen HJ, Chiodini RJ, Thayer WR, Coutu JA, Merkal RS, Runnels PL. Experimental disease in infant goats induced by a Mycobacterium isolated from a patient with Crohn's disease. A preliminary report. Dig Dis Sci 1986; 31:1351-1360.
83. Bull TJ, McMinn EJ, Sidi-Boumedine K, Skull A, Durkin D, Neild P, et al. Detection and verification of *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* in fresh ileocolonic mucosal biopsy specimens from individuals with and without Crohn's disease. J Clin Microbiol 2003; 41:2915-2923.
84. Bernstein CN, Nayar G, Hamel A, Blanchard JF. Study of animal-borne infections in the mucosas of patients with inflammatory bowel disease and population-based controls. J Clin Microbiol 2003; 41:4986-4990.