

# Inhaltsverzeichnis:

1 Einleitung .....	12
2 Schrifttum .....	13
2.1 <i>Yersinia</i> .....	13
2.1.2 <i>Yersinia</i> -Epidemiologie, klinische Aspekte .....	13
2.2 <i>Campylobacter</i> .....	14
2.2.1 <i>Campylobacter</i> -Epidemiologie .....	15
2.2.2 Prävalenzen von <i>Campylobacter</i> in Geflügel .....	16
2.2.3 Klinische Aspekte bei humanen Infektionen .....	16
2.2.4 Bekämpfungsmaßnahmen gegen <i>Campylobacter</i> .....	17
2.3 Bakteriophagen allgemein .....	19
2.3.1 Virulente Bakteriophagen .....	20
2.3.2 Temperente Bakteriophagen .....	21
2.3.3 <i>Yersinia</i> -Bakteriophagen .....	23
2.3.4 <i>Campylobacter</i> -Bakteriophagen .....	23
2.4 Koevolution Bakterien/Bakteriophagen .....	24
2.5 Bakterielle Abwehrmechanismen gegen Bakteriophagen .....	25
2.5.1 Blockierung der Adsorption .....	26
2.5.2 Blockierung der DNA-Injektion .....	26
2.5.3 Restriktions- und Modifikations (R/M)-Systeme .....	27
2.5.4 Abortive Infektions (Abi)-Systeme .....	27
2.5.5 Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/Cas-System .....	28
2.5.6 Superinfection Exclusion Systems ( <i>Sie</i> ) .....	29
2.5.7 Charakterisierung Phagen-resistenter Klone .....	30
2.6 Anpassung der Bakteriophagen an die Resistenzmechanismen des Wirtsbakteriums .....	32
2.6.1 Veränderung der Rezeptor-Bindungsstelle .....	32
2.6.2 Verteidigung der Bakteriophagen gegen das R/M-System .....	33
2.6.3 Verteidigung der Bakteriophagen gegen das Abi-System .....	33
2.6.4 Verteidigung der Bakteriophagen gegen das CRISPR/Cas System .....	34
2.7 Einsatz der Bakteriophagen .....	34
2.7.1 Bakteriophagenapplikation im Tier .....	35
2.7.2 Bakteriophagenapplikation im Menschen .....	37
2.7.3 Bakteriophagenapplikation im Lebensmittel .....	38
2.8 Rechtliche Situation des Bakteriophagen-Einsatzes in Lebensmitteln .....	40

3 Material .....	43
3.1 Geräte .....	43
3.2 Reagenzien und Chemikalien .....	43
3.3 Puffer .....	44
3.4 Enzyme .....	44
3.5 Primer/Adapter .....	45
3.6 Kits .....	45
3.7 Nährmedien .....	46
3.8 Bakterienstämme .....	47
3.9 Bakteriophagen .....	47
4 Methoden .....	48
4.1 Kultivierung der Bakterien .....	50
4.2 Herstellung des Softagars .....	50
4.3 Plaque-Assay zur Bestimmung des Phagentiters .....	50
4.4 Vermehrung des Bakteriophagen .....	51
4.6 Bestimmung der pH-Wert-Toleranz der Bakteriophagen .....	51
4.7 Reduktion der bakteriellen Keimzahl durch spezifische Bakteriophagen in Medium .....	52
4.8 Untersuchung der Fleischmatrix .....	52
4.9 Reduktion der bakteriellen Keimzahl durch spezifische Bakteriophagen in Fleisch .....	52
4.10 Plaque-Assay zur Bestimmung einer Resistenz gegenüber Bakteriophagen .....	53
4.11 Subkultivierung der resistenten Klone .....	53
4.12 Resistenz gegenüber anderen Bakteriophagen .....	53
4.13 Binding-Assay der Phagen CP 81, CP 84 und PY 100 .....	54
4.14 Bestimmung der Beweglichkeit Phagen-resistenter Klone .....	54
4.15 DNA-Isolierung (Chelex-Methode) .....	54
4.16 fAFLP-Analyse .....	55
4.17 Gelelektrophorese .....	57
4.18 Sequenzierung des PCR-Produktes .....	57
4.19 CRISPR/Cas-System .....	58
4.20 Sequenzierung des <i>flaA</i> -Gens .....	59
4.21 Sequenzierung des Poly G-Traktes der Gene <i>cj1421</i> und <i>cj1422</i> .....	60
5 Ergebnisse .....	61
5.1 Temperaturtoleranz der Bakteriophagen .....	61
5.1.1 Temperaturtoleranz des Bakteriophagen CP 81 .....	61

5.1.2 Temperaturtoleranz des Bakteriophagen CP 84 .....	62
5.1.3 Temperaturtoleranz des Bakteriophagen PY 100 .....	62
5.2 pH-Wert-Toleranz der Bakteriophagen .....	63
5.2.1 pH-Wert-Toleranz des Bakteriophagen CP 81 .....	63
5.2.2 pH-Wert-Toleranz des Bakteriophagen CP 84 .....	63
5.2.3 pH-Wert-Toleranz des Bakteriophagen PY 100 .....	64
5.3 Keimzahlreduktion von <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644 in Medium .....	65
5.3.1 Reduktion der <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644-Keimzahl durch den Bakteriophagen P100 bei 37°C in Medium .....	65
5.3.2 Reduktion der <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644-Keimzahl durch den Bakteriophagen P100 bei 4°C in Medium .....	66
5.4 Reduktion der <i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644-Keimzahl durch den Bakteriophagen P100 in Schweinefleisch bei 4°C .....	67
5.5 Keimzahlreduktion von <i>Campylobacter</i> in Medium .....	68
5.5.1 Reduktion der <i>Campylobacter</i> -Keimzahl durch den Bakteriophagen CP 81 bzw. CP 84 bei 37°C in Medium .....	68
5.5.2 Reduktion der <i>Campylobacter</i> -Keimzahl durch den Bakteriophagen CP 81 bzw. CP 84 bei 4°C in Medium .....	70
5.6 Keimzahlreduktion von <i>Campylobacter</i> in Hähnchenfleisch .....	72
5.6.1 Reduktion der <i>C. jejuni</i> NCTC 11168-Keimzahl durch den Bakteriophagen CP 81 in vakuumverpacktem Hähnchenfleisch bei 37°C .....	72
5.6.2 Reduktion der <i>Campylobacter</i> -Keimzahl durch den Bakteriophagen CP 81 bzw. CP 84 in vakuumverpacktem Hähnchenfleisch bei 4°C .....	73
5.7 Keimzahlreduktion von <i>Y. enterocolitica</i> 83/88/2 in Medium .....	73
5.7.1 Reduktion der <i>Y. enterocolitica</i> 83/88/2-Keimzahl durch den Bakteriophagen PY 100 bei 37°C in Medium .....	74
5.7.2 Reduktion der <i>Y. enterocolitica</i> 83/88/2-Keimzahl durch den Bakteriophagen PY 100 bei 4°C in Medium .....	75
5.8 Keimzahlreduktion von <i>Y. enterocolitica</i> 83/88/2 in Schweinefleisch .....	76
5.9 Plaque-Assay .....	77
5.10 Subkultivierung der resistenten und sensiblen Klone über sechs Wochen .....	78
5.11 Kreuzresistenz gegenüber anderen Bakteriophagen .....	79
5.12 fAFLP-Analyse .....	80
5.13 Sequenzierung des CRISPR-Locus Phagen-resistenter und Phagen-sensibler <i>C. jejuni</i> NCTC 11168-Klone .....	80
5.14 Binding-Assay .....	81
5.14.1 Binding-Assay der <i>Campylobacter</i> -Bakteriophagen CP 81 und CP 84 .....	81

5.14.2 Binding-Assay des <i>Yersinia</i> -Bakteriophagen PY 100.....	82
5.15 Beweglichkeitsassay.....	82
5.16 <i>flaA</i> -Sequenzierung Phagen-resistenter und Phagen-sensibler <i>Campylobacter</i> -Klone.....	83
5.17 Sequenzierung der Gene <i>cj1421</i> und <i>cj1422</i> Phagen-sensibler und Phagen-resistenter <i>C. jejuni</i> NCTC 11168-Klone .....	83
6 Diskussion .....	84
7 Ausblick .....	92
8 Zusammenfassung .....	93
9 Summary .....	94
10 Quellenverzeichnis .....	95
11 Anhang .....	118