

Inhaltsverzeichnis:

1 Einleitung 12

2 Schrifttum 13

 2.1 *Yersinia* 13

 2.1.2 *Yersinia*-Epidemiologie, klinische Aspekte 13

 2.2 *Campylobacter* 14

 2.2.1 *Campylobacter*-Epidemiologie..... 15

 2.2.2 Prävalenzen von *Campylobacter* in Geflügel..... 16

 2.2.3 Klinische Aspekte bei humanen Infektionen..... 16

 2.2.4 Bekämpfungsmaßnahmen gegen *Campylobacter* 17

 2.3 Bakteriophagen allgemein 19

 2.3.1 Virulente Bakteriophagen..... 20

 2.3.2 Temperente Bakteriophagen..... 21

 2.3.3 *Yersinia*-Bakteriophagen 23

 2.3.4 *Campylobacter*-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 (*Sie*)..... 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