

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VIII
Abkürzungsverzeichnis	XII

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	1
2 Schrifttum	3
2.1 Taxonomie und Eigenschaften von Staphylokokken	3
2.2 Gattungsmerkmale	5
2.3 Bedeutung von Staphylokokken in der Lebensmittelhygiene und als Krankheitserreger ..	8
2.4 Pathogenitätsfaktoren	13
2.4.1 Zellgebundene Pathogenitätsfaktoren	17
2.4.2 Extrazelluläre Pathogenitätsfaktoren	20
2.5 Rechtliche Bestimmungen	29
2.6 Nachweis, Identifizierung und Charakterisierung von <i>S. aureus</i>	32
2.6.1 Kulturelle Nachweismethoden	32
2.6.2 Molekularbiologische Verfahren	37
2.6.3 Immunologische Typisierungs- und Nachweisverfahren	41
3 Material und Methoden	47
3.1 Material und Geräte	47
3.1.1 Chemikalien und Biochemika	47
3.1.2 Lösungen und Puffer	48
3.1.3 Software	48
3.1.4 Photometer	48
3.1.5 Nährmedien und Zusätze	49
3.1.6 Geräte und Hilfsmittel	49
3.2 Methodik	51
3.2.1 Überprüfung und Charakterisierung von <i>S. aureus</i> , weiteren KPS, KNS sowie zusätzlichen grampositiven und gramnegativen Kontrollisolaten	51
3.2.1.1 Erstellung einer Stammsammlung für diese Arbeit	51
3.2.1.2 Überprüfung der Wachstumskinetik von <i>S. aureus</i> in Giolitti-Cantoni-Bouillon	55

3.2.1.3 Charakterisierung einiger phänotypischer Merkmale der in die Untersuchungen einbezogenen bakteriellen Isolate	56
3.2.1.4 Molekularbiologische Charakterisierung	60
3.2.2 Gewinnung polyklonaler Antikörper gegen <i>S. aureus</i>	64
3.2.2.1 Herstellung der Immunogene	64
3.2.2.2 Immunisierung	65
3.2.2.3 Serumgewinnung und Kontrolle des Immunisierungsverlaufes	67
3.2.3 Herstellung der Immunreagenzien	68
3.2.3.1 Darstellung der Immunglobulinfraktion (Serumpräzipitation)	68
3.2.3.2 Biotinylierung des Detektionsantikörpers	69
3.2.3.3 Selektion der geeignetsten Immunreagenzien-Kombinationen	70
3.2.3.4 Ermittlung der Nachweisgrenzen	71
3.2.4 Überprüfung des Erfassungsmusters des etablierten pAk-Sandwich-ELISAs zum Nachweis von <i>S. aureus</i>	73
3.2.4.1 Voranreicherung	73
3.2.4.2 Durchführung des pAk-Sandwich-ELISA-Testsystems	73
3.2.5 Nichtimmunologische Bindungsreaktionen durch SpA im pAk-Sandwich-ELISA für <i>S. aureus</i>	75
3.2.5.1 Untersuchung auf das SpA-Bildungsvermögen	75
3.2.5.2 Für unspezifische Reaktionen mit Immunglobulinen chemisch modifiziertes, inaktiviertes SpA als Antigen	76
3.2.5.3 Untersuchungen zur Spezifitätserhöhung durch vorhergehende Absättigung des SpA mit unspezifischem Immuns serum	77
3.2.6 Überprüfungen der Anwendbarkeit des entwickelten Testsystems zur Untersuchung von Milcherzeugnissen	78
3.2.6.1 Durchführung des pAk-Sandwich-ELISA-Testsystems zur Untersuchung von Milch	78
3.2.6.2 Durchführung des pAk-Sandwich-ELISA-Testsystems zur Untersuchung von Rohmilchkäse	80
4 Ergebnisse	82
4.1 Charakterisierung von <i>S. aureus</i> und anderer Keimspezies zur Erstellung einer Stammsammlung für die weiteren Untersuchungen	82
4.1.1 Überprüfung der Wachstumskinetik von <i>S. aureus</i> in Giolitti-Cantoni-Bouillon	82
4.1.2 Phänotypische Identifizierung und Charakterisierung der <i>S. aureus</i> -Isolate	82

4.1.3 Nachweis <i>S. aureus</i> -spezifischer Genabschnitte mittels Polymerase-Kettenreaktion	89
4.2 Gewinnung polyklonaler Antikörper gegen <i>S. aureus</i>	90
4.3 Herstellung der Immunreagenzien	92
4.4 Anwendung des pAk-Sandwich-ELISAs zum Nachweis von <i>S. aureus</i> auf die Stammsammlung dieser Arbeit	98
4.5 Interaktionen von SpA mit Antikörpern	102
4.6 Überprüfungen der Anwendbarkeit des entwickelten Testsystems zur Untersuchung von Milcherzeugnissen aus dem Handel	109
5 Diskussion	111
5.1 Wachstumskinetik, phänotypische und molekularbiologische Charakterisierung der eingesetzten Bakterienisolate	113
5.2 Generierung von Antikörpern	119
5.3 Interaktion von SpA im pAk-Sandwich-ELISA zum Nachweis von <i>S. aureus</i>	122
5.4 Nachweissysteme	126
6 Zusammenfassung	134
7 Summary	135
8 Literaturverzeichnis	136
9 Anhang	176
10 Danksagung	202
11 Eidesstattliche Erklärung	203