

INHALTSVERZEICHNIS

Abbildungsverzeichnis	i
Tabellenverzeichnis.....	ii
Abkürzungsverzeichnis und Sonderzeichen.....	iii
1 Einleitung.....	1
2 Literaturübersicht.....	3
2.1 <i>Francisella tularensis</i> ssp. <i>holarctica</i>	3
2.1.1 Taxonomie.....	3
2.1.2 Vorkommen und Tenazität	5
2.1.3 Infektionswege und klinisches Bild.....	7
2.1.4 Epidemiologie	11
2.1.4.1 Situation in Europa.....	15
2.1.4.2 Situation in Deutschland.....	16
2.1.5 Lebensmittel.....	19
2.1.5.1 Nachweis in Lebensmitteln	19
2.1.5.2 Dekontaminationsmöglichkeiten	23
2.2 Nachweisverfahren.....	26
2.2.1 Kulturelle Nachweisverfahren.....	26
2.2.2 Molekular-basierte Nachweisverfahren.....	30
2.3 Der lebensfähige, aber nicht kultivierbare Zustand.....	33
2.4 Weißwein, Traubenmost und Traubensaft	35
2.5 Log-Reduktion.....	40
3 Material und Methoden	42
3.1 Arbeitskonzept.....	42
3.2 Prüfstämme.....	44
3.3 Einbezogene Lebensmittel.....	46
3.4 Mikrobiologische Nachweismethoden für <i>F. tularensis</i> ssp. <i>holarctica</i>	46
3.4.1 Anzucht auf Martin-Lewis Agar.....	47
3.4.2 Anreicherung im T-Medium.....	48
3.5 Ermittlung der Nachweisgrenze im T-Medium.....	49
3.6 Kontaminations- und Lagerungsversuche	50
3.6.1 Traubensaft.....	50
3.6.2 Weißwein.....	51
3.6.3 Traubenmost.....	53
3.7 Untersuchung zur Aerosolbildung während der Gärung.....	54
3.8 Molekular-basierte Methoden	55
3.8.1 DNA-Isolierung und qPCR nach Versage et al. (2003)	55

3.8.2	Entwicklung einer „long-amplicon“-qPCR für <i>F. tularensis</i> ssp. <i>holarctica</i>	59
3.9	Statistische Auswertung	62
4	Ergebnisse	63
4.1	Allgemeine Erkenntnisse zur Kultivierung von <i>F. tularensis</i> ssp. <i>holarctica</i>	63
4.2	Ermittlung der Nachweisgrenze im T-Medium.....	64
4.3	Überlebensfähigkeit von <i>F. tularensis</i> ssp. <i>holarctica</i> in den einbezogenen Lebensmitteln	66
4.3.1	Traubensaft.....	67
4.3.2	Weißwein.....	69
4.3.3	Traubenmost.....	73
4.4	Untersuchungen zur Aerosolbildung während der Gärung	74
4.5	Erste Untersuchungen zur Interkalierung mit PMA und Entwicklung einer „long-amplicon“-qPCR	75
5	Diskussion.....	80
5.1	Aspekte zur Anzüchtung von <i>F. tularensis</i> ssp. <i>holarctica</i>	80
5.2	<i>F. tularensis</i> ssp. <i>holarctica</i> in Lebensmitteln	84
5.3	Entsteht bei der Gärung ein Erreger-haltiges Aerosol?	90
5.4	Erste Untersuchungen durch Interkalierung mit PMA & die Entwicklung einer „long-amplicon“-qPCR für <i>F. tularensis</i> ssp. <i>holarctica</i>	91
5.5	Ausblick.....	93
6	Schlussfolgerung.....	95
7	Zusammenfassung.....	96
	Untersuchungen zur Überlebensfähigkeit von <i>Francisella tularensis</i> ssp. <i>holarctica</i> in Weißwein, Traubensaft und Traubenmost.....	96
8	Summary	98
	Viability of <i>Francisella tularensis</i> ssp. <i>holarctica</i> in white wine, grape juice and grape must	98
9	Anhang	100
9.1	Laborbedarf	100
9.1.1	Labormaterialien und -geräte	100
9.1.2	Reagenzien und Kits.....	101
9.2	Nährmedien	103
9.2.1	Tularemic Medium	103
9.2.2	Modifizierter Martin-Lewis Agar.....	104
9.3	DNA-Extraktionskits.....	105
9.3.1	Simplex® Easy Wine Kit	105
9.3.2	DNeasy® Blood & Tissue Kit.....	105
10	Literaturverzeichnis.....	106
11	Danksagung	120
	Erklärung.....	121