

ausgeprägt, d.h. es gibt sowohl indolpositive als auch –negative Stämme. Soweit bisher bekannt ist, tritt diese variable Reaktion bei keiner anderen Spezies von *Fusobacterium* auf. So produzieren beispielsweise Stämme von *F.nucleatum*, *necrophorum* und *gonidiaformans* Indol, während Vertreter von *F.mortiferum* indolnegativ sind.

Im Rahmen der durchgeführten Versuche lysierten alle Phagen einschließlich der von BÖHME (16) beschriebenen Isolate sowohl indolpositive als auch –negative Stämme, so daß die Eigenschaft der Indolbildung bzw. deren Fehlen nur im positiven Fall eine Abgrenzung zu den indolnegativen Spezies des Genus *Fusobacterium* erlaubt.

Andererseits eröffnet sich hierdurch die Möglichkeit der Etablierung eines Transduktionssystemes innerhalb der Spezies *F.varium* mit der Indolbildung als Marker zur sicheren Kennzeichnung (Erkennung) von Donatoren und Transduktanten indolpositiver bzw. indolnegativer Stämme. Dies konnte im Rahmen der Fragestellungen der Arbeit jedoch nicht weiter bearbeitet werden.

6 Zusammenfassung

Bakteriophagen mit Spezifität für obligat anaerobe gramnegative sporenlöse Stäbchen der Familie *Bacteroidaceae* sind bis heute im wesentlichen nur für das Genus *Bacteroides* näher erforscht. Über spezifische Phagen für das Genus *Fusobacterium* liegen bisher wenig Erkenntnisse vor (HUET und THOUVENOT (47), BRADLEY (17), TAMADA (71), BÖHME (16), HÖHNE (44) und ANDREWS (10)).

Dabei handelt es sich einerseits um einen Phagen mit Spezifität für *F.necrophorum*, der morphologisch den *Myoviridae* angehört, und andererseits um je 3 Phagen mit Zugehörigkeit zu den *Podoviridae* bzw. *Siphoviridae* und Spezifität für *F.varium*.

Eine Zielstellung der vorliegenden Arbeit war es daher, weitere Phagen mit Spezifität für Stämme des Genus *Fusobacterium* und möglichst der Zugehörigkeit zu weiteren Morphotypen zu isolieren und näher zu charakterisieren.

Dazu wurden zwei unterschiedliche Abwasserproben untersucht, aus denen die Isolierung von neun Bakteriophagen mit ausschliesslicher Spezifität für *Fusobacterium varium* gelang. Die Benennung der Bakteriophagen erfolgte in Anlehnung an ACKERMANN analog zur Bezeichnung ihrer Wirtsstämme mit fv 8501/2, fv 81-531/2/2, fv 83-554/3/2, fv 8501/3, fv Na5, fv 81-531/2/3, fv 83-554/3/3, fv 83-680/3 und fv 83-554/3/4. Dabei wurde dem Umstand Rechnung getragen, daß bereits BÖHME (16) fünf Phagen auf teilweise identischen

Vermehrungsstämmen gefunden hatte. Den im Rahmen der vorliegenden Arbeit isolierten Phagen wurde so in ihrer Bezeichnung eine weitere laufende Nummer gegeben. Weiterhin wurden den 9 Phagen zur Vereinfachung Abkürzungen in Form von Großbuchstaben (A - I) zugeordnet.

Die Isolierung von Phagen für Stämme der Spezies *Fusobacterium mortiferum*, *Fusobacterium necrophorum*, *Fusobacterium gonidiaformans* und 2 nicht auf Speziesebene identifizierbare Fusobakterien (*F.species*) gelang nicht. Nur aus dem ersten Abwasser konnte ein für *Bacteroides fragilis* HSP-40 spezifischer Phage isoliert werden.

Die elektronenoptischen Untersuchungen ergaben, daß erstmals die Isolierung von zwei Bakteriophagen mit Spezifität für *Fusobacterium varium* gelungen war, die mit ihrem dicken langen, nicht flexiblen aber wahrscheinlich kontraktilen Schwanz dem morphologischen Typ A nach BRADLEY (18) bzw. den *Myoviridae* zuzuordnen sind.

Die anderen Phagen gehörten zu den Morphotypen der *Sipho-* bzw. der *Podoviridae*, für die bereits in der vorhandenen Literatur Vertreter mit Fusobakterienspezifität beschrieben sind. Mit den Phagen fv 81-531/2/2 (B), fv 8501/3 (D) und fv 83-680/3 (H) konnten drei weitere Phagen für *F.varium* und morphologischer Zuordnung zu den *Siphoviridae* gefunden werden. Erstmals war dies BÖHME 1996 ebenfalls für drei Phagen gelungen.

Zur Charakterisierung wurden neben den elektronenoptischen Untersuchungen zur Ermittlung der Ultrastruktur die Bestimmungen der Plaquemorphologie, das Verhalten gegenüber Chloroform, das Lysisspektrum sowie die Analysen der Strukturproteine bzw. der Phagengenome herangezogen.

Alle Phagen erwiesen sich als chloroformresistent. Dagegen gab es z.T. deutliche Unterschiede in Bezug auf das plaquemorphologische Erscheinungsbild und die auf den verwendeten Bakterienstämmen erzeugten Lysismuster.

Die Plaquedurchmesser, die insgesamt zwischen 0,5 und 5 mm lagen, schwankten auch innerhalb desselben Morphotypes. Allerdings bildeten die Vertreter der *Podoviridae* vorwiegend große Plaques bis maximal 5,0 mm. Dies könnte mit der durch den sehr kurzen Schwanz und die damit geringe Gesamtgröße begünstigte Diffusion der Phagen im Bakterienrasen begründet werden. Die Beobachtung der Plaquebegrenzung und die Unterscheidung trüber bzw. klarer Lysis ermöglichte bei den *Sipho-* und *Myoviridae* durch das Vorliegen eindeutiger Unterschiede innerhalb desselben Morphotypes die Abgrenzung der einzelnen Phagen als Beleg ihrer Eigenständigkeit.

Die zu den *Podoviridae* zählenden Phagen fv 83-554/3/3 (G) und fv 83-554/3/4 (I) sowie die *Siphoviridae* fv 81-531/2/2 (B) und fv 83-680/3 (H) stimmten hinsichtlich ihrer auf den Bakterienstämmen erzeugten Lysismuster überein. Alle weiteren Phagen zeigten ein unterschiedliches Lysisspektrum. Alle untersuchten Stämme der Spezies *Fusobacterium varium*

wurden von mindestens einem der Phagen lysiert. Der Stamm *Fusobacterium varium* MLU 91-2641/1 wurde neben allen im Rahmen dieser Arbeit isolierten auch von denen bei BÖHME (16) gefundenen Bakteriophagen lysiert, deshalb kann man diesen Stamm als idealen Vermehrungs- bzw. Universalindikatorstamm für *F.varium*-Phagen bezeichnen.

Die Phagen fv Na5 (E) und fv 83-554/3/3 (G) könnten zusammen als „Satz diagnostischer Phagen“ zur Identifizierung von Stämmen der Spezies *Fusobacterium varium* herangezogen werden, da beide zusammen alle getesteten Stämme von *F.varium* lysierten.

Weitere Untersuchungen müssen ergeben, inwiefern Phagen mit Spezifität für *Fusobacterium varium* genauso gut oder sogar besser als Indikatoren viraler Kontamination natürlich verunreinigter Abwässer bzw. einer fäkal-oralen Abwasserbelastung verwendet werden können, wie es für *Bacteroides fragilis*-Phagen beschrieben wurde. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen darauf hin.

Alle untersuchten Phagen besitzen DNS-Genome. Für die Gesamtgröße der DNS-Moleküle können Angaben zwischen 43000 und 79000 bp angenommen werden. Nicht jede Phagen-DNS konnte durch die verwendeten Restriktionsenzyme ausreichend verdaut werden. Wie auch bei der Untersuchung der Strukturproteine ergaben sich unter Berücksichtigung der Zuordnung zum jeweiligen Morphotyp zwischen einzelnen Bakteriophagen Ähnlichkeiten im Bandenmuster ohne absolute Übereinstimmungen. Die sichtbar gemachten Hauptstrukturproteine (Hauptbanden) aller Phagen lagen in einer Größenordnung zwischen 39 und 61 kDa, in der Mehrzahl jedoch zwischen 40 und 50 kDa.

Mit Ausnahme von fv 83-554/3/3 (G) und fv 83-554/3/4 (I) war keiner der Bakteriophagen mit einem anderen in allen untersuchten Merkmalen absolut identisch, so daß zusammenfassend jeder Phage als eigene Entität angesehen werden muß. Gewisse Übereinstimmungen in einzelnen Charakteristika lassen auf bestehende verwandschaftliche Beziehungen zwischen den Phagen schließen.

Die Eigenschaft der Indolbildung aus Tryptophan bzw. deren Fehlen erlaubt keine Abgrenzung zu anderen Spezies des Genus *Fusobacterium*, weil sowohl indolpositive als auch –negative Stämme von den 9 Phagen dieser Arbeit wie auch von denen bei BÖHME gefundenen Isolaten lysiert wurden. Dies eröffnet andererseits die Möglichkeit der Etablierung eines Transduktionssystems innerhalb der Spezies *F.varium* mit dem Merkmal der Indolbildung als kontraselektivem Marker zwischen indolpositiven und –negativen Stämmen.