

Therapeutische Bakteriophagen:

Eine Alternative zu Antibiotika ?

Martin J. Loessner, Institut für Mikrobiologie, FML Weihenstephan, Technische Universität München, Freising

► Trotz ständiger Weiterentwicklung und Suche nach neuen antibiotischen Wirkstoffen werden wir heute verstärkt mit dem Auftreten von multiresistenten Mikroorganismen konfrontiert, die auch gegen „Reserveantibiotika“ wie zum Beispiel das Glykopeptid Vancomycin unempfindlich geworden sind. Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) und teilweise (intermediär) resistente Staphylokokken der Gattung *S. aureus* (VISA) verursachen schon jetzt große Probleme in der Therapie bakterieller Infektionen. Das schon bald befürchtete Auftreten von Vancomycin-resistenten *Staphylokokken* (VRSA) könnte sich zu einer kaum beherrschbaren Katastrophe entwickeln. Die Entwicklung und klinische Erprobung von Alternativen zu den klassischen Antibiotika ist daher dringend notwendig.

Geschichte und Entwicklung der Phagentherapie

Schon vor mehr als einem Jahrhundert berichtete Hankin [1] über die antibakterielle Wirkung von Wasser aus den indischen Flüssen Ganges und Jumna auf den Erreger der Cholera, *Vibrio cholerae*. Die Ausbreitung von Epidemien konnte durch Trinken von Wasser aus diesen Flüssen verhindert werden. Die schützende unbekannte Substanz wurde sehr feine Porzellanfilter passieren, wurde aber durch Kochen zerstört. Dieses interessante Phänomen wurde damals jedoch leider nicht weiter untersucht.

Mit der Entdeckung der bakteriellen Viren (Bakteriophagen) im Jahre 1915 durch den Briten Frederick Twort und 1917 durch den Französisch-Kanadier Felix d'Herelle hatte man unmittelbar die naheliegende Möglichkeit der Bekämpfung von bakteriellen Infektionen durch bakterielle Viren erkannt. Diese Hoffnung spiegelt sich wieder im Pulitzer-Preis-gekrönten Roman „Arrowsmith“ von Sinclair Lewis (1925): Martin Arrowsmith ist ein streng methodenorientierter und den wissenschaftlichen Grundsätzen verschriebener Mediziner, der eine auf Bakteriophagen basierende Möglichkeit zur Heilung der Pest entdeckt. Zu Beginn der klinischen Tests jedoch stirbt seine Frau und sein Mentor an eben dieser Krankheit, und Arrowsmith, völlig derrangiert, verzichtet während der weiteren, erfolgreichen Vergabe seiner Medizin auf jegliche Kontrollen. Diese Mißachtung wis-

senschaftlicher Grundsätze läßt im weiteren keine zuverlässigen Aussagen über den Einfluß der Präparation auf den Krankheitsverlauf zu. Sinclairs Novelle spiegelt ironischerweise die frühe Geschichte der therapeutischen Nutzung von Bakteriophagen recht gut wieder.



Abb. 1: A511 ist ein virulenter *Listeria monocytogenes* Bakteriophage mit einem sehr breiten Wirtsbereich innerhalb der Gattung *Listeria*. Diese biologische Spezifität kann auch zur Nachweis der Wirtsbakterien genutzt werden, beispielsweise durch Einführung bakterieller Luciferase Gene aus *Vibrio harveyi* (Loessner et al., 1996), welches nach Infektion und Transduktion zu einem biolumineszenten Phänotyp führt.

Phagentherapie wurde vielfältig ausprobiert: gegen Typhus, Cholera, Ruhr, eitrige Infektionen und Harnwegsinfektionen, als orale oder atopische Gabe, als Aerosol oder durch Injektionen. Dieses vor allem von d'Herelle geförderte anfängliche Interesse äußerte sich in etwa 800 Veröffentlichungen zwischen 1917 und 1956 ([2]). Die Resultate waren jedoch sehr unterschiedlich. Viele Studien wurden ohne ausreichendes Fachwissen (vor allem der speziellen Eigenschaften von Phagen), mit schlecht konzipierten oder völlig fehlenden Kontrollen durchgeführt. Viele Fehlversuche waren vorhersehbar; einige wichtige Erfolge konnten nur unzureichend erklärt werden. Oft wurden nicht charakteri-

sierte, ungereinigte Phagen in Lösungen unbekannter Konzentration an Patienten mit fehlender spezifischer Diagnose verabreicht, ohne Placebos, Doppel-Blindstudien oder Folgeuntersuchungen. Schließlich wurde mit der Einführung der klassischen chemischen Antibiotika ab 1940 der Phagentherapie in der westlichen Welt keine Beachtung mehr geschenkt. In Osteuropa jedoch wurde in den letzten 50 Jahren weiterhin klinische Forschung und Anwendung der Phagentherapie betrieben, allerdings mit oft unzureichend dokumentierten Ergebnissen. Interessanterweise gehören Phagenpräparate seit Jahren auch zur medizinischen Notfallausstattung des Militärs einiger osteuropäischer Länder. Der Grund hierfür ist sicherlich nicht in der mangelnden Verfügbarkeit von Antibiotika zu suchen.

Hervorgerufen durch das eingangs erwähnte vermehrte Auftreten Antibiotika-resistenter Krankheitserreger, entsprechender Berichterstattung in Fachzeitschriften und öffentlichen Medien und der Möglichkeiten der Molekularbiologie und Gentechnologie, gibt es in den letzten Jahren ein erneutes Interesse an Bakteriophagen als therapeutisches Mittel. Es wurden neue Studien durchgeführt (auch in Tiermodellen), welche die Hoffnung wecken, daß Bakteriophagen vielleicht doch eine wichtige Rolle in der Bekämpfung von Infektionskrankheiten spielen können [3-7]. Im selben Maße erwachte auch das kommerzielle Interesse: (Vor allem junge) Unternehmen in den USA, Kanada, Deutschland, Polen, Georgien und anderen Ländern erkennen die realen Entwicklungsmöglichkeiten einer wirksamen Alternative zu klassischen Antibiotika. Einige Übersichtsartikel fassen die bisherige Entwicklung der therapeutischen Nutzung von Bakteriophagen recht gut zusammen [8-11]. Im folgenden sollen die möglichen Vorteile und Probleme der therapeutischen Nutzung von Bakterienviren erläutert werden.

Potentielle Vorteile der Phagentherapie

1. **Zielgerichtete Wirkung.** Bakteriophagen sind im allgemeinen sehr spezifisch aktiv, das heißt ein (gegebenes) Virus kann nur Wirtszellen einer bestimmten Spezies oder Gattung infizieren, sich vermehren und die Zellen schließlich durch Membranporenbildung und Zellwand-Hydrolyse abtöten. Deshalb haben Phagen keinen Effekt auf alle anderen im Organismus existierenden Bakterien, so daß das natürliche mikrobielle Ökosystems des „Patienten“ kaum gestört wird. Die ausgeprägte Wirtsspezifität von Phagen ist auch Grundlage für die Entwicklung spezifischer Detektionssysteme auf Basis rekombinanter Reporter-Viren, wobei die Wirtszellen nach Infektion und genetischer Transduktion detektierba-

re Markerproteine (z.B. Luciferase) bilden [12, 13].

2. *Wenige denkbare Nebenwirkungen.* Bakterielle Viren bestehen aus genetischem Material (DNA oder RNA), verpackt in eine Proteinhülle. Sie haben keinen eigenen Metabolismus und entfalten ihre Aktivität erst nach spezifischer Infektion einer entsprechenden Wirtszelle. Gereinigte Phagenpartikel enthalten (nach heutigem Wissen) keine direkt toxischen Bestandteile oder andere Substanzen, welche Nebenwirkungen verursachen könnten. Ein guter Hinweis auf die allgemeine „biologische Verträglichkeit“ von Bakteriophagen ist besonders die Tatsache, daß bakterielle Viren die am häufigsten vorkommenden selbst-replizierenden biologischen Einheiten sind. Es ist bekannt, daß Phagen in jeder Umgebung vorkommen, in der geeignete Wirtsbakterien gedeihen können, wobei in wässrigem Millieu (z.B. Darm) allgemein zwischen 10^3 und 10^{10} Viren pro Milliliter gefunden werden können.
3. *Selbständige „Dosierung“.* Bakteriophagen sind selbst replizierend und selbst limitierend. Solange lebensfähige, metabolisch aktive Wirtszellen vorhanden sind, können diese infiziert werden, wobei nach Lyse der Zellen neue Viren freigesetzt werden. Durch die exponentielle Vermehrung vernichtet ein lytischer Phage innerhalb sehr kurzer Zeit eine beliebig große Population von Wirtsbakterien. Sind keine sensitiven Wirtszellen (mehr) vorhanden, kann sich auch das Virus nicht mehr vermehren und wird - bei Applikation *in vivo* - mehr oder weniger rasch aus dem System eliminiert werden. Nicht nur theoretisch reicht also eine einmalige Gabe eines Phagen zur effektiven Bekämpfung des entsprechenden Wirtsbakteriums (diese Eigenschaften sind bekannt und gefürchtet in den Monokulturen der bakteriellen Fermentationen beispielsweise bei der Herstellung von Milchprodukten oder biochemischen Basisprodukten).
4. *Alternative bei Antibiotika-resistenten Erregern und Antibiotika-Allergien.* Therapeutische Bakteriophagen könnten sich zur Therapie von Patienten eignen, wenn die Infektionserreger nicht mit Antibiotika behandelt werden können, weil allergische Reaktionen gegen bestimmte Antibiotika vorliegen, wenn momentan aus verschiedenen Indikationen keine Antibiotika verabreicht werden können, oder wenn Antibiotika-resistente Keime als Auslöser vorliegen.
5. *Prophylaktischer Einsatz möglich.* Begünstigt durch die fehlenden Nebenwirkungen könnten Phagen auch prophylaktisch eingesetzt werden, um die Ausbreitung einer Infektion zu begrenzen. Dieses kann von Vorteil sein, wenn Ausbrüche früh genug erkannt werden und in einem relativ begrenzten Umfeld erfolgen, beispielsweise

in einem Altersheim, Krankenhaus oder einer Schule.

6. *Welche Organismen sind für Phagentherapie geeignet?* Aufgrund der limitierten Diffusionskapazität von Phagenpartikeln (zwischen 70 und 300 nm Größe) und der daraus resultierenden schlechten Verteilung in Geweben ist die Phagentherapie besonders für atopische Anwendungen („auf Oberflächen“) geeignet, beispielsweise bei Wundinfektionen (*Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*), Herz- oder Hirnhaut-Entzündungen (*Enterococcus*), Lungeninfektionen (*Klebsiella*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*), Darminfektionen (*Shigella*, *E. coli*, *Vibrio*) und verschiedenen anderen mehr. Nur bedingt geeignet hingegen ist dieser Ansatz für invasive Organismen, die nach Etablierung einer Infektion mit Phagen nicht mehr erreicht werden können, wie *Listeria monocytogenes* oder *Salmonella typhimurium*. Allerdings ist ein anderer, quasi prophylaktischer Ansatz hier positiv getestet worden, in dem Phagen für die Kontrolle von *Listeria* [14] oder auch *E. coli* O157 [6] auf Oberflächen und in Lebensmitteln verwendet werden können. In unserer Arbeitsgruppe konnten wir zeigen, daß durch heterologe Expression einer spezifischen Peptidoglykanhydrolase aus einem *Listeria* Bakteriophagen [15] in dem Starterkulturorganismus *Lactococcus lactis* das funktionelle Enzym produziert und sekretiert wird, welches dann, analog zur Lyse durch Phagen, zur Zerstörung von *Listeria*-Zellen führt [16].

Probleme bei der medizinischen Anwendung von Bakterienviren und (mögliche) Lösungen.

1. *Unreine Präparationen.* Ohne die heute bekannten präparativen Verfahren zur Aufreinigung von Bakteriophagen zur Verfügung zu haben, war es in früherer Zeit üblich, filtrierte, hitzebehandelte oder mit chemischen Additiven versetzte Bakterienlysate für therapeutische Versuche zu verwenden. Damit applizierte man aber gleichzeitig auch toxische Nebenprodukte der Zellyse (z.B. Endotoxine, andere Zellwandbestandteile und Cytotoxine) und andere „Kontaminationen“ aus einer Bakterienkultur (Stoffwechselprodukte, Säuren, biogene Amine etc.), mit entsprechenden gravierenden Folgen. Durch den Fortschritt der Biotechnologie (z.B. durch Ultrafiltrationsmethoden, Ultrazentrifugation, präparative Affinitätschromatographie) ist es heute möglich, sehr reine Suspensionen von Bakteriophagen herzustellen, eventuelle Kontaminanten zuverlässig zu entfernen und die Stabilität der Viruspartikel bei Lagerung und Distribution sicherzustellen.
2. *Eingeschränktes Wirtsspektrum.* Einer der offensichtlichsten Vorteile von Bakteriophagen

ist auch gleichzeitig ein reales Problem: die oft ausgeprägte Wirtsspezifität der Viren für bestimmte Stämme oder Stammgruppen innerhalb einer bakteriellen Spezies oder Gattung. Zwar sind durchaus einige Phagen bekannt, die innerhalb der Zielorganismen eine sehr breite Lyseaktivität zeigen, allerdings nicht für alle in Frage kommenden Erregergruppen. Zunächst bieten sich einfache Lösungen an: Zur schnellen Behandlung einer Infektion kann ohne großen Aufwand ein ganzer Pool aus verschiedenen Phagen mit unterschiedlichen Wirtsbereichen eingesetzt werden. Da für einige Bakterien (beispielsweise *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli*) sehr viele unterschiedliche Viren bekannt und verfügbar sind, ist die Wahrscheinlichkeit hoch, ein passendes Virus quasi „auf Vorrat“ zu haben und in einer Mischung zu applizieren. Oder aber der Infektionserreger wird zunächst isoliert, gegen ein vorhandenes Phagen-Set getestet und aus diesem dann die geeigneten Viren zur Behandlung ausgewählt. Letzteres kann allerdings durchaus einen Zeitraum von zwei bis drei Tagen erfordern, was in vielen Fällen sicherlich nicht wünschenswert ist.

Eine grundsätzlich andere Strategie ist die Änderung des Wirtsbereiches bereits bekannter Phagen. Dies kann entweder auf klassischem Wege erfolgen, mittels zufälliger oder induzierter Mutationen mit nachfolgender Selektion auf bisher nicht sensitiven Wirtsstämmen, oder aber durch gezielte Modifikation der (genetischen) Eigenschaften eines Virus. Durch Veränderung (Domänen-Austausche) der Schwanzfiber-Adhäsine (Rezeptoren) läßt sich der Wirtsbereich von bestimmten Phagen gezielt verändern. Ebenso möglich ist die Einführung von bestimmten Nukleotid-Methylasen in das Phagen genom, um den oft für Phagenresistenz verantwortlichen Abbau der injizierten viralen DNA in der Wirtszelle durch zelluläre Restriktionsendonukleasen zu verhindern.

3. *Inaktivierung durch körpereigene Systeme.* Einer der wesentlichen limitierenden Faktoren für die Anwendung von Phagen *in vivo* ist die rasche Eliminierung durch körpereigene Systeme, vor allem durch die Filterfunktion des Retikuloendothelial-Systems (RES) [17]. Eine elegante Lösung für dieses Problem wurde von Carl Merrill et al. [3] vorgestellt: Die natürliche Selektion von Varianten des *E. coli*-Phagen λ und des *Salmonella typhimurium*-Phagen P22 nach intraperitonealer Injektion in eine Maus mit zehn nachfolgenden Tierpassagen lieferte Phagen, die im Blutkreislauf von Mäusen für 18 Stunden mit Titern von bis zu 10^9 infektiösen Phagen pro Milliliter Blut nachweisbar waren. Diese lang-zirkulierenden Phagen bewiesen sehr gute antiinfektive

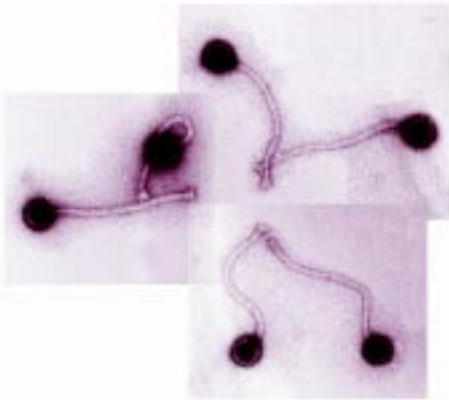


Abb. 2: Der temperente *Listeria monocytogenes* Bacteriophage A118 verdeutlicht die nahe Verwandtschaft vieler bakterieller Viren, und kann durchaus als Bindeglied zwischen den Phagen von Milchsäurebakterien und denen von *Bacillus* und *Staphylococcus* dienen (Loessner et al., 2000).

Wirkung bei Tieren, welche mit letalen Dosen der Bakterien infiziert wurden. Es zeigte sich, daß der RES-negative Phänotyp in λ durch eine einzige Glu \rightarrow Lys-Substitution im Hauptkapsidprotein E des Virus bedingt wurde. Viren gelten allgemein als äußerst variable und sich sehr schnell anpassende biologische Systeme. Es kann daher vermutet werden, daß diese Art der adaptiven Optimierung durch sequentielle Passagen auch für andere Phagen entsprechende Ergebnisse liefert.

Eine ganz andere Art der Inaktivierung erfahren oral aufgenommene Phagenpartikel durch die Passage des oberen Gastrointestinaltraktes. Hier ist eine Neutralisierung der Verdauungssäfte oder auch ein „Verpacken“ der Viruspartikel in darmlösliche Kapseln erforderlich. Ersteres wurde über Jahre hinweg in polnischen Studien mit augenscheinlich gutem Erfolg erprobt [18]. Es fehlen allerdings genauere Untersuchungen mit verschiedenen, kontrollierten Ansätzen.

4. *Anti-Phagen-Antikörper*. Als normale Reaktion auf die Präsenz von Viruspartikeln werden im menschlichen und tierischen System einige Wochen nach der ersten Applikation von Phagen Antikörper gebildet [19]. Es ist unwahrscheinlich, daß diese Antwort des humoralen Immunsystems während der akuten Behandlungsphase einsetzt. Wenn jedoch ein Wiederauftreten der Infektion mit denselben Phagen behandelt würde, könnte es zu einer (teilweisen) Inaktivierung kommen, bevor die Wirtszellen infiziert werden können. Eine mögliche Lösung wäre die Gabe einer hohen Konzentration von Phagen, um den Verlust zu kompensieren, oder, falls verfügbar, das Verwenden eines anderen Phagen, der diesen Stamm infizieren kann. In diesem Bereich existieren jedoch keine genauen Stu-

dien, so daß hier noch erheblicher Forschungsbedarf besteht.

5. *Resistenzentwicklung*. Bakterien besitzen unterschiedliche Möglichkeiten zur Resistenzentwicklung gegenüber Bakteriophagen. In einer Bakterienpopulation gibt es oft einige Zellen, die nicht infiziert werden können oder aber keine neuen Phagenpartikel freisetzen; resistente Klone können sich dann (unter gleichbleibendem Selektionsdruck) wieder vermehren und sind nicht mehr therapierbar. Diese Keime könnten dann nur durch ein anderes, gegen den Resistenzmechanismus unempfindliches Virus, erreicht werden. Aus diesem Grund würde sich der Einsatz von Phagen ganz besonders für eine Kombinationstherapie zusammen mit klassischen Antibiotika anbieten. Aufgrund der sehr unterschiedlichen zugrunde liegenden Mechanismen ist eine doppelte, gleichzeitige Resistenz unwahrscheinlicher als Unempfindlichkeit gegen nur eine der beiden antibakteriellen Maßnahmen.

6. *Lysogenie und lysogene Konversion*. Ein erheblicher Teil der bekannten Phagen sind temperenter Natur: das Genom kann an mehr oder weniger spezifischen Orten des Wirtschromosoms durch Expression phageneigener Gene integriert werden und sich mit der dann als lysogen bezeichneten Zelle vermehren. Durch bestimmte Stimuli (DNA-Schädigung, Temperaturschock etc.) können die Prophagen den lytischen Zyklus einschlagen, sich vermehren und die Zelle zerstören. Das Problem für die Phagentherapie ist, daß eine lysogene Zelle gegen alle Phagen des integrierten Typs immun wird: sie kann nicht mehr infiziert werden. Außerdem ist bekannt, daß einige temperente Phagen Toxin-Gene in die Wirtszelle einbringen und den Wirtszellen (z.B. *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium botulinum*, *E. coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* etc.) damit die eigentlichen oder zusätzliche Virulenzfaktoren verschaffen.

Als Konsequenz sollten für die Therapie möglichst virulente Phagen eingesetzt werden, die solche Eigenschaften generell nicht aufweisen. Auch haben virulente Phagen oft einen breiteren Wirtsbereich. Andererseits sollte es selbstverständlich sein, die zur medizinischen Nutzung geplanten Viren mit molekularbiologischen Methoden genau zu charakterisieren. Erst die detaillierte Analyse der viralen Genome (zwischen 20.000 und 150.000 Basenpaare) kann potentielle Gefahren durch mögliche Toxingene oder andere Pathogenitätsfaktoren aufzeigen. Es ist auch möglich, einen temperenten Phagen durch Deletion der oft in einem Lysogenie-Modul zusammengefaßten Gene [20] in eine virulente Variante zu verwandeln. So könnten auch ur-

sprünglich temperente Viren für den medizinischen Ansatz verwendet werden.

7. *Freisetzung von Zellbestandteilen durch Lyse*. Eine schon früh gemachte Beobachtung [2] war die Gefahr einer plötzlichen Toxinfreisetzung durch Lyse von Bakterienzellen, besonders im Fall von Endotoxinen, die als Bestandteil der äußeren Membran von Gram-negativen Bakterien vorkommen (z.B. bei *Salmonella*). Diese Nebenwirkungen sind auch bei Antibiotikatherapie möglich und als „Jarisch-Herxheimer-Reaktion“ bekannt. Eine Lösungsmöglichkeit bei der Therapie solcher Organismen bietet sich in der Verwendung von Phagen, die den Wirt zwar abtöten, die Zelle aber nicht lysieren. Solche nicht-lytischen Varianten können gentechnologisch erzeugt werden, beispielsweise durch Deletion der Holin-Gene, analog zu dem im Labor gebräuchlichen *E. coli*-Phagen λ Sam7. Auch die rasche Abtötung der Wirtszellen kann durch das Einbringen von entsprechenden Genfunktionen optimiert werden.

Ausblick

Nach langer Abstinenz der westlichen Länder und mit wiedererwachtem kommerziellen Interesse an der Phagentherapie plant nun die US-Firma Exponential Biotherapies die ersten klinischen Tests der Phase I an gesunden Individuen in einer Placebo-kontrollierten Doppelblindstudie, zur Verträglichkeitsprüfung einer Phagenpräparation gegen Vancomycin-resistente Enterokokken. Weitere Tests, von anderen Firmen mit anderen Organismen und auch anderen Anwendungsbereichen sind in Vorbereitung. Man kann recht zuversichtlich sein, daß aus dem vielfältigen Reich der Viren in Zukunft effektive und wirksame Werkzeuge bereitgestellt werden können, die nicht nur dem Kampf gegen bakterielle Krankheitserreger in der Medizin und Landwirtschaft dienen, sondern möglicherweise auch einen Beitrag zur spezifischen Eliminierung unerwünschter Kontaminationen im Bereich der Lebensmittelherstellung oder biotechnologischen Produktion liefern können.

Literatur

- [1] **Hankin, E.H.** 1896. L'action bactericide des eaux de la Jumna et du Gange sur le vibron du cholera. *Ann. Inst. Pasteur* 10: 511-519
- [2] **Ackermann, H.-W., and DuBow, M.S.** 1987. Viruses of Prokaryotes I (General Properties of Bacteriophages): Practical applications of bacteriophages. *CRC Press, Boca Raton, Florida*
- [3] **Merrill, C., Biswas, B., Carlton, R., Jensen, N.C., Creed, G.J., Zullo, S., and Adhya, S.** 1996. Long-circulating bacteriophages as antibacterial agents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 3188-3192.
- [4] **Barrow P., Lovell, M., and Berchieri Jr, A.** 1998. Use of lytic bacteriophage for control of experimental *Escherichia coli* septicemia and meningitis in chickens and calves. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 5: 294-298.
- [5] **Soothill, J.S.** 1992. Treatment of experimental infections of mice with bacteriophages. *J. Med. Microbiol.* 37: 258-262.

- [6] **Kudva, I.T., Jelacic, S., Tarr, P.I., Youderian, P., and Hovde, C.J.** 1999. Biocontrol of *Escherichia coli* O157 with O157-specific bacteriophages. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 3767-3773.
- [7] **Smith, H. W. and Huggins, R.B.** 1987. The control of experimental *E. coli* diarrhea in calves by means of bacteriophage. *J. Gen. Microbiol.* 133: 1111-1126.
- [8] **Levin, B. and Bull, J.J.** 1996. Phage Therapy Revisited: The population biology of a bacterial infection and its treatment with bacteriophage and antibiotics. *American Naturalist* 147: 881-898.
- [9] **Barrow, P.A., and Soothill, J.S.** 1997. Bacteriophage therapy and prophylaxis: rediscovery and renewed assessment of the potential. *Trends Microbiol* 5: 268-271.
- [10] **Alisky, J., Iczkowski, K., Rapoport, A., and Troitsky, N.** 1998. Bacteriophages show promise as antimicrobial agents. *J. Infect.* 36: 5-15.
- [11] **Carlton R.M.** 1999. Phage therapy: past history and future prospects. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 47: 267-74.
- [12] **Jacobs, W.R., Barletta, R.G., Udani, R., Chan, J., Kalkut, G., Sosne, G., Kieser, T., Sarkis, G.J., Hatfull, G.F., and Bloom, B.R.** 1993. Rapid assessment of drug susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* by means of Luciferase reporter phage. *Science* 260: 819-822.
- [13] **Loessner, M.J., Rees, C.E.D., Stewart, G.S.A.B., and Scherer, S.** 1996. Construction of luciferase reporter bacteriophage A511::luxAB for rapid and sensitive detection of viable *Listeria* cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 62:1133-1140
- [14] **Roy, B., Ackerman, H.-W., Pandian, S., Picard, G., and Goulet, J.** 1993. Biological inactivation of adhering *Listeria monocytogenes* by Listeriaphages and a quaternary ammonium compound. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 2914-2917.
- [15] **Loessner, M.J., Wendlinger, G., and Scherer, S.** 1995. Heterogeneous endolysins in *Listeria monocytogenes* bacteriophages: a new class of enzymes and evidence for conserved holin genes within the siphoviral lysis cassettes. *Mol. Microbiol.* 16: 1231-1241.
- [16] **Gaeng, S., Scherer, S., Neve, H., and Loessner, M.J.** 2000. Gene cloning and expression and secretion of *Listeria monocytogenes* bacteriophage lytic enzymes in *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2951-2958.
- [17] **Geier, M.R., Trigg, M.E., and Merrill, C.R.** 1973. The fate of bacteriophage lambda in non-immune germ-free mice. *Nature* 246: 221-223.
- [18] **Slopek, S., Weber-Dabrowska, B., Dabrowski, M., and Kucharewica-Krukowska, A.** 1987. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 35: 569-583.
- [19] **Slopek, S., and Kucharewica-Krukowska, A.** 1987. Immunogenic effect of bacteriophage in patients subjected to phage therapy. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 35: 553-561.
- [20] **Loessner, M.J., Inman, R.B., Lauer, P., and Calendar, R.** 2000. Complete nucleotide sequence, molecular analysis and genome structure of bacteriophage A118 of *Listeria monocytogenes*: Implications for phage evolution. *Mol. Microbiol.* 35: 324-340.

Ausführliche Sammlungen von Literatur zum Thema Phagentherapie sind zusammengestellt unter:

http://www.phage.org/bib_pt.htm

<http://www.evergreen.edu/user/T4/PhageTherapy/Phagethea.html>

Korrespondenzadresse

PD Dr. Martin J. Loessner

Institut für Mikrobiologie
FML Weihenstephan
Technische Universität München
Weihenstephaner Berg 3
D- 85350 Freising
Tel.: 08161-71 3859
Fax.: 08161-71 4492
eMail: M.J.Loessner@Lrz.tum.de