

Christine Rohde, Johannes Sikorski, Braunschweig

Bakteriophagen

Vielfalt, Anwendung und ihre Bedeutung für die Wissenschaft vom Leben

Bakteriophagen, also Viren, die Bakterien befallen und zerstören, werden gemeinhin als unheilvoll wahrgenommen. Zu sehr ist das Bild von gefährlichen Krankheiten bestimmt, deren Erreger oftmals Viren oder Bakterien sind, man denke nur an Grippe-, Pocken- und Aidsviren oder an Pest- und Cholera-Bakterien. Aus wissenschaftlicher Sicht aber stellen Bakteriophagen Systeme mit faszinierenden Eigenschaften dar, deren Untersuchung an Grundfragen der Biologie heranführt und zu einem tieferen Verständnis molekularer und genetischer Mechanismen verhilft. Zugleich geben sie uns Mittel in die Hand, bakterielle Krankheitserreger zu bekämpfen. Sowohl die akademischen als auch die angewandten Aspekte der Bakteriophagenforschung werden in diesem Beitrag vorgestellt. Insbesondere wird auf das große Potential der Phagentherapie hingewiesen, die in den nächsten Jahren zu einer wertvollen Ergänzung der Antibiotika-Therapie werden dürfte.

Viren, die Bakterien befallen, werden als Bakteriophagen bezeichnet. Zur Zeit rücken sie zunehmend wieder in den Fokus wissenschaftlichen Interesses. Dies hat theoretische und praktische Gründe:

Zum einen stellen Phagen (wie auch die Viren der Eukaryoten) wichtige Bestandteile der belebten Welt dar, die die Evolution von Organismen beeinflussen und selbst der Evolution unterliegen, ohne sich allerdings eigenständig vermehren und ihren Körper aufbauen zu können. Diese Besonderheit hat immer wieder zur Frage herausgefordert, ob denn Phagen bzw. Viren überhaupt als Lebewesen anzusehen sind. In einer Zeit, die sich anschickt, synthetisches Leben zu erzeugen und darin erste Erfolge erzielt hat (sei es bei der Konstruktion von Genfähren oder der Synthese maßgeschneiderter Genome im Labor), ist dies von besonderer Aktualität.

Es gibt darüber hinaus praktische Gründe, sich speziell mit Phagen zu beschäftigen: In Zeiten, in denen Antibiotika zur Bekämpfung von bakteriellen Infektionskrankheiten zunehmend wirkungslos werden, gewinnen die natürlichen Feinde der Bakterien, die Phagen, wieder an Bedeutung, unter anderem, weil sie ein zur Anpassung fähiges Agens sind.

Die Geschichte der Phagenforschung

Die Begriffe Viren und Bakterien – hier und im Folgenden oft als Oberbegriff für Viren und Phagen bzw. als umgangssprachlicher Begriff für Prokaryoten (mit den Reichen *Bacteria* und *Archaea*) verwendet – wecken gemeinhin Unbehagen, werden sie doch mit Krankheiten verbunden. Um wieviel bedrohlicher

müssen uns dann Viren vorkommen, die nicht uns Menschen, sondern Bakterien befallen und töten. Sie werden Bakteriophagen genannt. Dieser Begriff leitet sich von dem griechischen Wort *phagos* (Fresser) ab. Somit sind Phagen (Kurzform von Bakterienphagen) Viren, die Bakterien „fressen“, was letztendlich zu deren Vernichtung führt. Im Allgemeinen geschieht dies, indem Phagen ihre Erbsubstanz, DNA oder RNA, in die Bakterienzelle injizieren. Die Erbsubstanz wird von der Proteinmaschinerie der Bakterien abgelesen – mittels der nun entstandenen Phagen-Proteine wird die Kontrolle über das Bakterium übernommen, so dass dieses nun eine Vielzahl von Phagenpartikeln (Virionen) herstellt (Abb. 1, links). Am Ende wird die bakterielle Wirtszelle aufgelöst, so dass oftmals Hunderte von neuen Phagen in die Umwelt entlassen werden, welche dann in einem wiederkehrenden Zyklus andere Bakterien infizieren können.

Die Entdeckungsgeschichte der Phagen begann Ende des 19. Jahrhunderts und steht in engem Zusammenhang mit der Erforschung von humanen Infektionskrankheiten (Einzelheiten zum Folgenden: [1]). 1896 fand Ernest Hankin „antiseptische“ Eigenschaften des Gangeswassers gegen eine Vielzahl von Bakterien, insbesondere *Vibrio cholerae*, den Erreger der Cholera. Der Brite Frederick W. Twort gilt als derjenige, der 1915 erstmals das Phänomen der morphologischen Veränderung von Bakterienkolonien zu einer degenerierten und „glasigen“ Form beschrieb. Jedoch konnte Twort die Ursache des Phänomens nicht einordnen. Es war dann die bahnbrechende Arbeit des britisch-kanadischen Mikrobiologen Félix d’Herelle, der 1917 das „unsichtbare Agens“ als Bakterienparasiten beschrieb

Übersicht

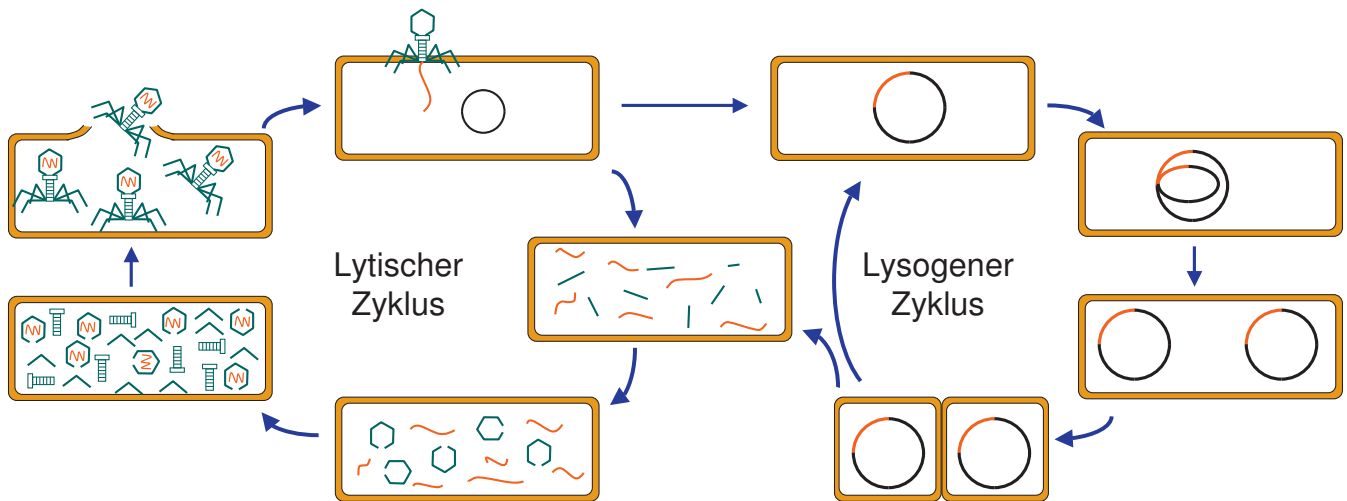


Abb. 1. Der Vermehrungszyklus von Phagen beginnt mit der Infektion (links oben). Hier injiziert der Phage (graugrün) seine Erbsubstanz (DNA oder RNA; rot) in ein Bakterium (braun). Die Vermehrung des Phagen kann nun entweder in einem lytischen oder lysogenen Zyklus erfolgen. Im lytischen Zyklus erfolgt sofort das Ablesen der Phagen-Erbinformation durch die zelluläre Protein-Maschinerie. Anschließend werden die Phagenbestandteile produziert und in Phagenköpfe (Capsid) bzw. Phagenschwanz und -fibern assembliert. Nach dem Zusammenbau der Phagen findet ihre Freisetzung statt. Die frisch produzierten Phagen-Partikel können dann Neuinfektionen auslösen. Im lysogenen Zyklus wird die Phagen-Erbsubstanz in das bakterielle Genom (schwarz) inseriert. Mit jedem bakteriellen Vermehrungszyklus erfolgt auch die Replikation der Phagen-Erbsubstanz. Unter bestimmten Umständen, z.B. Stress für die Bakterien, können die Phagen aus dem lysogenen Zustand in den lytischen Zyklus übergehen. [Umgezeichnet nach <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Phage2.JPG>]

(„*Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques*“) und dabei auch den Begriff „Bakteriophage“ prägte. Er beschrieb die von den Parasiten auf Agarplatten hervorgerufenen bakteriellen Lysehöfe als Plaques und erkannte bereits, dass sich die Phagen in den oben beschriebenen Zyklen vermehren. Darüber hinaus entdeckte er die Wirtsspezifität der Phagen, die er für die Genesung von bakteriellen Krankheiten verantwortlich machte. Daraus leitete er ein „ökologisches Konzept von Phage und Krankheit“ ab und folgerte, dass Phagen therapeutisch und prophylaktisch eingesetzt werden sollten. Es war also die wissenschaftliche Pionierarbeit von d’Herelle, welche die Erstentdeckung der Phagenlyse durch Twort in das rechte Licht rückte. Wie so oft in der Wissenschaft, kam es zwischen Twort und d’Herelle zu einem erbitterten Streit darüber, wem denn nun der Ruhm der Erstentdeckung der Phagen gebühre. Der Beginn der Phagentherapie (siehe weiter unten) ist jedoch untrennbar mit Félix d’Herelle verbunden. 1919 führte Jules Bordet Tierversuche mit Injektionen von Bakterien und Bakterien-Phagen-Gemischen durch. In den 1930er Jahren wurden erste vergleichende Untersuchungen von Viren durchgeführt, nämlich des Tabak-Mosaik-Virus, eines Pflanzenvirus, und des humanpathogenen Poliovirus.

Mitte der 1930er Jahre wurde erkannt, dass der Schlüssel für das Verständnis der Vererbung in der Erforschung der Gene liegt. Die Phagen erwiesen sich dabei als geeignete Untersuchungsobjekte, weil sie mit einem Minimum an Komplexität in die Vererbungsprozesse von Bakterien eingreifen können. Forschungen an Phagen haben wesentlich zum Nachweis beigetragen, dass Nucleinsäuren und nicht die Proteine (wie lange Zeit bevorzugt angenommen) Träger der Vererbung sind. Insbesondere Max Delbrück und Salvador Edward Luria leisteten auf dem Gebiet der Phagenforschung Pionierarbeiten.

Max Delbrück führte genetische Phagenversuche durch und fokussierte die Phagenforschung auf die „T-Serie“, die der *Escherichia coli* infizierenden Coliphagen T1-T7. Er war es auch, der in den 1960er Jahren im beginnenden Zeitalter der Molekularbiologie und in der „Ära des Phagen lambda“ die Phagen systematisch einsetzte, um bakterielle Genetik zu verstehen. Einen großen Überblick über die frühe Geschichte der Phagenforschung gibt W. C. Summers [1].

Die ersten elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Phagen und ihrer Interaktion mit Bakterienzellen erfolgten 1940 [2]. Bis heute ist die Elektronenmikroskopie wesentliche Grundlage zur taxonomischen Einordnung der Phagen in einem System (vgl. Abb. 2). Bis heute hat man weit mehr als 5500 Phagen elektronenmikroskopisch beschrieben, ihre Gesamtzahl lässt sich schwer abschätzen [3]. Wesentlich zur Erfassung hat Wolfgang Ackermann vom Felix d’Herelle Reference Center for Bacterial Viruses (Université Laval, Québec, Kanada) beigetragen (<http://www.phage.ulaval.ca>). Die Charakterisierung bekannter und neuer Phagen wird sich jedoch wie im Falle der Bakterien auf die Ebene der Gesamtgenomsequenz verlagern. Ackermann hat im Jahr 2007 284 vollständig sequenzierte und morphologisch untersuchte Phagen aufgelistet, besonders solche gegen Enterobakterien, Lactococci, Mycobakterien und Pseudomonaden [4]. Mittlerweile sind in den Datenbanken des European Bioinformatics Institute (EBI) mehr als 600 Phagen Genome aufgeführt (<http://www.ebi.ac.uk/genomes/phage.html>). Ein weiterer starker Anstieg dieser Zahl ist zu erwarten. Je mehr über Phagen Genome und ihre genetische Information bekannt ist, desto bessere Aussichten hat man, Phagen zu verstehen und sie beispielsweise als medizinisches Agens einzusetzen. Darüber hinaus werden wertvolle Grundlagen geschaffen, um die Evolution der Phagen zu rekonstruieren.

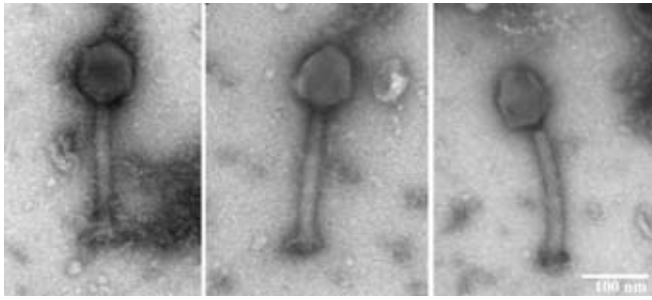


Abb. 2. Elektronenmikroskopische Aufnahmen des Phagen Twort. [Photos Manfred Rohde, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig]

Auch Phagen werden taxonomisch in Familien, Gattungen und Arten eingeteilt; die entsprechenden Regeln werden vom International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV; www.ictvdb.org/) überwacht. Die Nomenklatur ist bis jetzt jedoch unorganisiert. Unbefriedigend ist, dass sich in der Regel durch den Namen eines Phagen nicht die geringste Information über die taxonomische Stellung bzw. die ökologischen und wirtsspezifischen Eigenschaften ableiten lässt. Es gibt jedoch Bestrebungen, eine verbindliche und informative Nomenklatur einzuführen [5].

Die ökologische und evolutive Rolle der Phagen

Phagen sind ubiquitär, auch in und auf unserem Körper. Vermutlich sind sie sogar essentiell wichtig für die Regulation des Gleichgewichts der Bakterienflora des Mundes, des Darmes, der Haut, Schleimhäute etc. Phagen spielen eine ungeahnte Rolle in der Natur.

Man findet sogar die Angabe, dass sie – zusammen mit den Viren der Eukaryoten – die häufigste Lebensform auf der Erde sind, eine Aussage, die kritisch zu betrachten ist, wie weiter unten ausgeführt wird. Unbestritten ist: Die Zahl *viral*er Partikel auf der Erde ist immens. Sie wird auf 10^{30} bis 10^{32} geschätzt [6]. In 1 ml Ozeanwasser sind durchschnittlich 10^7 Phagen-Partikel [7]. Dagegen fallen sogar die unvorstellbaren Zahlen der Bakterien ab (rund 5×10^{30} Bakterienzellen gibt es auf der Welt, ein erheblicher Teil in den Weltmeeren [8]. Der Mensch wird von 10^{14} Mikroben bewohnt, der größte Teil davon lebt intestinal. Somit kommen auf eine menschliche Zelle 10 Mikroben-Zellen.)

Das ökologische Zusammenspiel von Phagen und ihren bakteriellen Wirten ist sehr dynamisch, dennoch gibt es gewisse Regeln und Gesetzmäßigkeiten.

(1) Nicht jeder Phage kann jedes Bakterium infizieren. Phagen zeichnen sich generell durch eine recht hohe Spezifität für bestimmte Gruppen bakterieller Wirte aus. Im Allgemeinen werden Bakterien infiziert, die auf der Ebene von Gattungen und Arten miteinander verwandt sind.

(2) Es gelingt Bakterien immer wieder, durch Mutation Resistenzen gegen bestimmte Phagen auszuprägen. Nun bedeutet bakterielle Resistenzentwicklung noch lange nicht das ökologische oder evolutive „Aus“ für die vormals infektiösen Phagen. Solange diese auf andere Wirtsbakterien aus der entsprechenden Gattung ausweichen können, werden in Phagen immer wieder spontane Mutationen entstehen, mit denen sie

vormals resistente Bakterien infizieren können. Somit sind die enormen Mengen von Phagen und ihren Wirten eng in einem coevolutiven Wechselspiel von Resistenz bzw. Sensitivität miteinander verknüpft.

(3) Interessanterweise können Phagen sich als sogenannte Prophagen in das Genom des Wirtes integrieren. Dies führt dann nicht zu einer sofortigen Lyse des Wirtes, sondern zu einer Replikation des Phagen-Genomes zusammen mit dem Wirtsgenom (Abb. 1). Diese Replikation des viralen Genoms im bakteriellen Vermehrungszyklus wird als Lysogenie bezeichnet. In dieser latenten Phase ist die Existenz eines Phagen phänotypisch nur sehr schwer zu erkennen. Vergleichbares ist vom Herpes-Virus (HSV-1/HSV-2) bekannt, das sich nach Infektion in das menschliche Genom integriert.

(4) In Situationen, die für das Wirtsbakterium Stress oder Gefahr bedeuten, beginnen die Prophagen, sich aus dem Wirtsgenom herauszuschneiden und zu replizieren. Das Herausschneiden kann jedoch fehlerhaft geschehen, so dass zum Teil erhebliche Mengen des Wirtsgenoms mit herausgeschnitten, repliziert und anschließend mit der Phagen-Erbinformation in die Phagenköpfe verpackt werden. Mittels dieses Prozesses (Transduktion) kann Erbinformation eines bakteriellen Stammes in einen anderen Stamm verbracht werden. So können Phagen den horizontalen Gentransfer zwischen Bakterien massiv fördern und einen erheblichen Einfluss auf die Evolution und Ökologie von Bakterien ausüben.

Haben Phagen einen Platz im Stammbaum des Lebens?

Wie geschildert, vermögen Phagen auf subtile Weise in die Lebensprozesse von Bakterien steuernd einzugreifen und sind damit an ökologischen und evolutionären Prozessen beteiligt. Aber stellen sie – wie auch die Viren der Eukaryoten – überhaupt Lebewesen dar? In der Regel wird diese Frage in Lehr- und Fachbüchern verneint. Die Begründung dafür scheint auch recht schlüssig: Phagen bzw. Viren verfügen zwar über Erbsubstanz (DNA oder RNA) in einer Kapsel aus (Lipo-) Proteinen, sie können sich aber nicht selber vermehren, sie benötigen dazu unbedingt einen Wirt mit funktionierender Protein-Maschinerie, sind also existentiell auf andere Lebewesen angewiesen.

Sie weisen damit nicht die Eigenschaften des Lebendigeins auf, wie man sie von den „normalen Lebewesen“ her kennt. Andere Wissenschaftler nehmen an diesem Mangel keinen Anstoß, sie fragen vielmehr: Wie kommt es, dass es spezifische Proteinkapseln mit spezifischer Erbsubstanz gibt, die sich der Zellen von Bakterien bzw. Eukaryoten bedienen, um sich zu replizieren? Diese hochgradige Passung werde damit erklärt, dass sie selbst von „vollständigen“ Organismen abstammten, so dass sie als auf ein Minimum reduzierte Lebewesen anzusehen seien. Entsprechend wurde die These aufgestellt, dass Phagen von Prokaryoten und die Viren von Eukaryoten abstammten.

Die Diskussion über die Natur der Phagen und Viren führt damit zur grundsätzlichen Frage: Was ist Leben, und wie kann man es definieren? In der Literatur finden sich nahezu Hunderte von Definitionen [9]. Alle vorgeschlagenen Definitionen sind letztlich unbefriedigend. Sie lassen sich jedoch bezüglich ihrer Unzulänglichkeit in drei Gruppen einteilen [9].

Übersicht

Die Gruppe der *Pseudo-Definitionen* sagt z.B. „Leben ist ein Attribut lebender Systeme“; „Leben ist der Prozess des Funktioniens lebendiger Organismen“ [9]. In die gleiche Gruppe fallen Definitionen, die selber undefinierte Begriffe beinhalten (z.B. „Lebewesen sind charakterisiert durch Funktionalität und morphologische Ordnung“ oder „durch ihre spezifische Komplexität“). Jedoch, weder „Komplexität“ noch „Ordnung“ sind physikalisch klar definiert, wie es erforderlich wäre (man vergleiche nur die Definition von „Ordnung“ im 2. und 3. Gesetz der Thermodynamik) [9].

In die zweite Gruppe fallen Definitionen, die eher *Beschreibungen* als Definitionen sind. Im Allgemeinen sind die Beschreibungen bloße Auflistungen von Eigenschaften lebendiger Organismen, wie z.B. Vermehrung, Wachstum, Metabolismus und Energieaufnahme. Aus der Sicht von Logikern ist von einer „idealen“ Definition zu verlangen, dass sie sowohl notwendige als auch ausreichende Merkmale für den zu definierenden Begriff enthält [10]. Die oft aufgeführten Charakteristika des Lebens sind meist weder ausreichend präzise (auch Feuer wächst, Computerprogramme vermehren sich) noch unbedingt notwendig. So gibt es Organismen, die sich nicht (mehr) reproduzieren und trotzdem „lebendig“ sind [9].

Die dritte Gruppe unzulänglicher Definitionen kann man als *artifizielle Definitionen* bezeichnen. Hierzu gehören solche, die willkürlich bestimmte „minimale Eigenschaften“ herausgreifen, an der die Frage Leben oder Nichtleben definitorisch entschieden wird. Als Minimum gilt beispielsweise die Kombination „Stoffwechsel, Wachstum und Reproduktionsfähigkeit“. Tsokolov listet mehrere solcher möglichen und aus unterschiedlichen Eigenschaften zusammengestellten Kombinationen auf [9]. Jedoch, auf einer Skala des fließenden evolutiven Übergangs von komplexen chemischen Systemen, die eindeutig als nicht-lebend anzusehen sind, zu eindeutig als lebendig aufgefassten Organismen ist jegliche Festlegung eines Punktes artifiziell, der die Grenze von nicht-lebend zu lebend markieren soll [9].

Offensichtlich ist eine Definition von „Leben“ daher alles andere als trivial. Überlegenswert ist, den Begriff „Leben“ in dem beschriebenen evolutiven Übergangsbereich im Sinne einer Injunktion zu verwenden und nicht definitorisch festlegen zu wollen, so wie es der Biologe Bernhard Hassenstein für Gegenstandsbereiche mit fließenden Grenzen vorgeschlagen hat (vgl. NR 4/2001, S. 226, Stichwort). Auf diese Weise würde man fruchtlose Diskussionen vermeiden und wäre dazu angehalten, den Sachverhalt genau zu beschreiben, womit man den natürlichen Gegebenheiten gerecht würde. Die Herausforderung, eine hochwertige Definition des Begriffes „Leben“ zu erarbeiten, ist hierdurch aber nicht obsolet, wie die aktuelle Forschung zeigt.

„Leben“ scheint ein komplexes und multi-dimensionales Phänomen zu sein, in welchem jede Dimension – Individuum, Evolution, Ökosystem – voneinander abhängig ist. Diesem Umstand hat eine Gruppe spanischer Philosophen und Biophysiker in – wie wir meinen – überzeugender Weise Rechnung getragen, indem sie ihre Arbeitsdefinition von „Leben“ folgendermaßen formulierten:

„‘life’ – in the broad sense of the term – is a complex collective network made out of self-reproducing autonomous agents whose

basic organization is instructed by material records generated through the evolutionary-historical process of that collective network.“ [11–13]

Im Rahmen dieser Definition arbeiten Kepa Ruiz-Mirazo und Mitarbeiter zwei Aspekte als zentrale Elemente heraus: *autonome Replikation (self-reproducing autonomy)* und *offene Evolution (open-ended evolution)* [11–13]. Der Aspekt „offene Evolution“ ist ohne jeden Zweifel auch für Phagen bzw. für Viren allgemein gegeben [14–17]. Ein eindrücklicher Beleg hierfür ist der Nachweis virus-spezifischer Gene (für sog. *viral hallmark proteins*), der vor vier Jahren gelang [18]. Dieser Befund eines ausschließlich viralen Genpools widersprach der Auffassung, dass alle viralen Gene zellulären Genen entsprechen müssten, wie es aufgrund der postulierten Abstammung der Viren und Phagen von Eu- bzw. Prokaryoten zu erwarten wäre. Tatsächlich zeigen Genomanalysen, dass die anfänglich angenommene Dichotomie von Viren für Eukaryoten und Viren für Prokaryoten (Phagen) nicht aufrechterhalten werden kann. Die Untersuchungen zeigen sogar, dass zentrale zelluläre Gene von Pro- und auch Eukaryoten wohl viralen Ursprungs sind. Sehr wahrscheinlich sind Viren evolutiv so alt, dass sie bei der Entstehung der drei Domänen des Lebens, den *Bacteria*, *Archaea* und *Eukarya* [19], beteiligt waren [16, 18, 20]. Dies führt dazu, dass David Prangishvili und Patrick Forterre (beide weltweit führende Phagenforscher am Institute Pasteur, Paris) eine trichotome Aufteilung der Viren in Archaeoviren, Bakterioviren und Eukaryoviren vorschlagen [21]. Diese Fähigkeit, sich mit den Wirten aufzuspalten und zu verändern, ist ein weiterer Beleg dafür, dass Phagen bzw. Viren zu einer „offenen Evolution“ fähig sind.

Aber wie steht es mit dem zweiten zentralen Element von „Leben“, nämlich der Fähigkeit zur autonomen Reproduktion (*self-reproducing autonomy*)? Lange Zeit schien dieser Aspekt bei den Viren völlig zu fehlen. Genau an diesem Punkt setzt die Argumentation des Virenforschers Forterre an. Er beklagt eine offensichtliche Verwechslung bzw. Vermengung der Begriffe „Virus“ und „Virion“. Was oft als „Virus“ bezeichnet wird, sei tatsächlich nur das „Virion“, das virale Partikel, das im Rahmen einer Infektion produziert und freigesetzt wird. Diese Vermengung ziehe sich durch Medien (die Darstellung des AIDS erzeugenden HIV-Virus im Fernsehen als Kugel mit Stacheln zeigt letztendlich nur das Virion) und Fachliteratur (Abb. 3). So beziehe sich die eingangs erwähnte Behauptung, dass in Ozeanen die Menge der Viren mehr als zehnfach höher sei als die Menge der Bakterien in Wirklichkeit nur auf die Menge der Virus-Partikel. Als Konsequenz dieser Gleichsetzung wurden Viren ursprünglich als relativ simple Partikel ohne metabolische Aktivität definiert [22]. Da viele damalige Definitionen des Lebens auf der zellulären These des „*omnis cellula e cellula*“ (jede Zelle entsteht aus einer Zelle) beruhten, wurden Viren nicht als lebende Naturobjekte klassifiziert [23]. Dies wurde 1983 erstmals von Claudiu Bâdea (Universität Georgia, USA) kritisiert. Laut Bâdea kann „Leben“ in zwei phänotypischen Formen auftreten: (1) als „*potentielles Leben*“ und (2) als „*aktives Leben*“. Im ontogenetischen Stadium als Viroid ist „Leben“ nur eine potentielle Eigenschaft, codiert in viraler Nucleinsäure. Das vegetative Stadium, in welchem die Subsysteme, also die ver-

schiedenen Moleküle des Viroids, in der Wirtszelle aktiv sind, stellen das „aktive Leben“ dar: „*In this phase the virus shows the major physiological properties of other organisms: metabolism, growth, and reproduction. Therefore, life is an effective presence.*“ [24].

Dieser Vorschlag wurde jedoch 20 Jahre lang bis zur Entdeckung des „giant mimivirus“ in einer Amöbenzelle durch Didier Raoult (Universität Marseille, Frankreich) und Kollegen [25, 26] ignoriert. Mit der weiteren Erforschung dieses gigantischen, lichtmikroskopisch sichtbaren Virus wurde das Konzept der lokalen „Virus-Fabriken“ im Cytoplasma des Wirtes (der Amöbe *Acanthamoeba polyphaga*) deutlich: organellenartige Strukturen in der Größe des Wirts-Nucleus, die für die virale Replikation und Morphogenese zuständig sind [27, 28]. Für Jean-Michel Clavery (Universität Marseille, Frankreich) stellen diese Viren-Fabriken die realen viralen Organismen dar, während die Virionen einfach nur Ausbreitungsstadien darstellen, mit dem das Virus von einer Zelle zur anderen gelangt [29]. Das Virion mit dem tatsächlichen Virus zu verwechseln, entspreche somit der Verwechslung von Sperma-Zellen mit dem tatsächlichen menschlichen Körper.

Unter diesen neuen Gesichtspunkten sollten Viren als lebende Organismen angesehen werden [30]. Sie sind zugegebenermaßen eine besondere Form zellulärer Organismen, da sie nicht nur keinen Apparat haben, um eigene Ribosomen und Zellmembranen auszubilden, sondern nicht einmal die dafür nötigen Gene besitzen (beides „leihen“ sie von den Wirtszellen, von denen sie leben; [31]). Dagegen enthält das virale Erbgut alle Informationen für den Aufbau des Capsids, also die Hülle des Viroids. Konsequenterweise prägten Raoult und Forterre für Viren den Begriff der Capsid-codierenden Organismen (für die Reiche der Archaeoviren, Bakterioviren und Eukaryoviren), in Abgrenzung zu den Ribosomen-codierenden Organismen der *Archaea*, *Bacteria* und *Eukarya* [32].

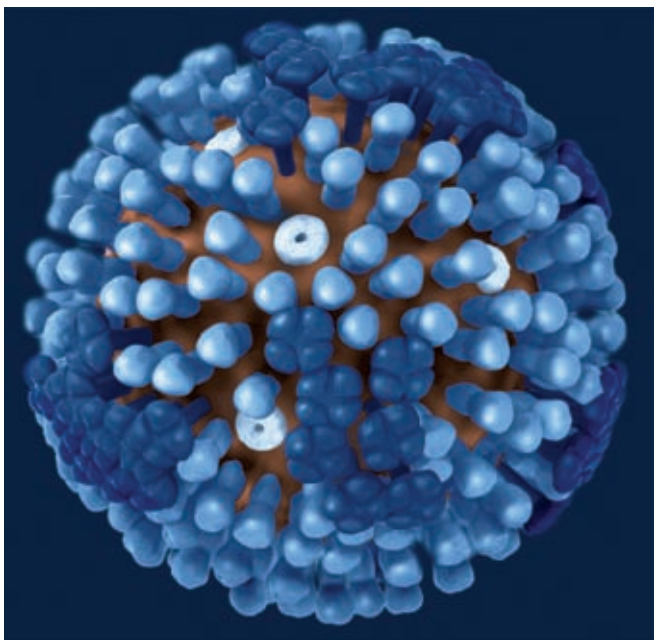


Abb. 3. Beispiel für eine populäre Darstellung von Viren, die sie uns als Nanomaschinen, nicht aber als Lebewesen wahrnehmen lassen. Die Graphik zeigt einen generalisierten Typ eines Grippevirus. [Dan Higgins, Centers for Disease Control and Prevention, CDC]

Abschließend sei hier noch die kürzliche Entdeckung von „Sputnik“ erwähnt, eines Virus, welches sich in den viralen Fabriken des Mimivirus vermehrt [33], während sich dieses selber in der Amöbe *Acanthamoeba polyphaga* repliziert. Der Befall eines Virus durch ein anderes Virus (eines „Virophagen“) – also eine parasitische Beziehung zwischen Viren – ist nach Helen Pearson von *Nature* ein weiteres Argument dafür, Viren als lebende Organismen anzusehen, denn schließlich „würden nur lebende Organismen krank werden können“ [34].

Phagen: Ihr angewandter Nutzen für den Menschen

Bisher haben wir uns mit eher theoretischen Aspekten der Biologie der Phagen befasst, die an die Frage der Definition von Leben heranführte. Wie mehrfach erwähnt sind Phagen bzw. Viren auf Wirte angewiesen, womit sie zu einem ökologischen und evolutiven Faktor werden und ihrerseits evolutiven Veränderungen unterliegen. Die enge Bindung an bakterielle Wirte macht die Phagen auch für den Menschen interessant, denn mit ihnen kann man gegen schädliche Bakterien vorgehen, sei es in der Tierhaltung, der Agrikultur oder der Lebensmittelherstellung. Selbst in der medizinischen Therapie von Infektionskrankheiten beim Menschen ergeben sich Anwendungsmöglichkeiten.

- *Tiermedizin, Pflanzenbau und Lebensmittelsicherheit: nützliche Phagen*

Massentierhaltungen bergen das Risiko bakterieller Verseuchung und somit hohen wirtschaftlichen Schadens. Schon d’Herelle fand, dass Phagen gegen Geflügeltyphus, *Salmonella enterica* serovar Gallinarum, wirkten. Durch *Escherichia coli* ausgelöste Gastroenteritis bei Kälbern, Schweinen und Lämmern konnte mit Phagen bekämpft werden [35], ebenso Sepsis bei Geflügel und Kälbern [36, 37]. Hierbei werden die Phagen z.B. in Polymer-Kapseln eingebracht und oral verfüttert [38]. Im Pflanzenbau wurden Phagen bereits gegen *Erwinia amylovora* (Verursacher des sog. Feuerbrands bei Obst- und Ziergehölzen), *Ralstonia solanacearum* und *Xanthomonas campestris* (verursachen Welke und Fäulnis bei Nachtschattengewächsen und Kreuzblütlern) eingesetzt. Erfolge führten zur Entwicklung des kommerziellen Biokontroll-Produkts „AgriPhage“ der US-Firma Omnilytics. „AgriPhage“ wurde vom Organic Materials Review Institute OMRI als Bio-Landbau-kompatibel bewertet. Einen aktuellen Überblick über Phagen-Anwendungen in Landwirtschaft und Lebensmittelsicherheit geben Monk et al. [39]. In der Regel werden die Phagen in einer flüssigen Lösung, z.B. mit Magermilch oder Sucrose, einfach über die infizierten Pflanzen gesprüht [40, 41]. Das Bakterium *Clavibacter michiganensis* ist ein erheblicher Tomatenschädling. Die Endolysine zweier spezifischer *C. michiganensis*-Phagen zeigten sich als sehr wirksam gegen *C. michiganensis*, so dass alternativ zum Besprühen auch der gentechnische Einbau der Endolysin-Gene in Tomatenpflanzen als phagen genetische Biokontrolle sehr vielversprechend sein könnte [42].

Bakterien können nicht nur in der landwirtschaftlichen Produktion von Tier und Pflanzen schädlich sein, auch in der Lebensmittelherstellung können sie erhebliche Probleme verursachen. So ist Verseuchung von Wurst und Käse mit Listerien

Übersicht

(*Listeria monocytogenes*) nicht selten und gefährlich, da Listerien bei kalten Temperaturen wachsen können [43]. Es konnte gezeigt werden, dass die Zugabe von Phagen in flüssiger Lösung zu verschiedenen Lebensmitteln wie Wurst, Truthahn-Brust, Räucherlachs, gemischten Meeresfrüchten (u.a. Muscheln, Garnelen, Calamari), Trinkschokolade, Mozzarella, Eisberg-Salat und Weißkohl-Salat die Zahl der Bakterien (nach gezielter Kontamination mit Listerien) deutlich reduzieren konnte [44]. Mittlerweile wurden kommerzielle Phagen-Präparate entwickelt, wie z.B. Listex P-100 von der niederländischen Firma EBI Food Safety; das Produkt wurde 2006 von der US FDA als „generally recognized as safe“ (GRAS) eingestuft. Das Konkurrenzprodukt „ListShield“ wird von der US-Firma Intralytix vertrieben; die Firma bietet sogar ein Produkt zum Nachweis der besonders gefährlichen enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC)-Stämme vom Serotyp O157 an.

Phagen sind also sehr willkommen, sowohl als Lebensmittelbeigabe (wie oben beschrieben), aber auch zur Oberflächendekontamination von Lebensmitteln und technischen Gerätschaften der Lebensmittelverarbeitung [45]. Dies sollte bei uns keinen Ekel erregen, schließlich ist nichts, was wir zu uns nehmen, inklusive Trinkwasser, phagenfrei.

Auch in der Tiermedizin haben Phagenpräparate schon Eingang gefunden, wie z.B. „Staphage Lysate“, Delmont Laboratories, USA (<http://www.delmont.com/>). Mit diesem Medikament behandelt man bei Hunden Hautentzündungen (idiopathische Pyodermia), die durch *Staphylococcus intermedius* hervorgerufen werden.

- *Phagen als diagnostisches/biotechnologisches Werkzeug und als Modellsysteme*

Die Spezifität und Schnelligkeit ihrer Replikation macht Phagen als schnelle Detektoren geeignet. Der FAST-PlaqueTB-Test von Biotec Laboratories (Ipswich, England) wird zur Erkennung von *Mycobacterium tuberculosis* in Sputum eingesetzt. Der Test wird besonders in Entwicklungsländern verwendet. Eine Weiterentwicklung des Tests aus dem Jahr 2010 bezieht zusätzlich das PCR-Verfahren (Hochvermehrung von DNA als Grundlage der Sequenzierung) ein und wird zum Schnelltesten von Rohmilch verwendet [46]. Der MicroPhage MRSA screening Test gegen Methicillin-resistente Stämme von *Staphylococcus aureus* (Firma MicroPhage) spürt in einer immunologischen Reaktion binnen fünf Stunden MRSA auf.

Wie schon in der Pionierzeit der Molekularbiologie dienen auch heute noch Phagen als Modelle und Hilfsmittel für die Forschung. Die Genome von Phage MS2, eines sehr kleinen sphärischen Coliphagen, und von Coliphage Phi-X174 waren die beiden ersten überhaupt sequenzierten Genome (1977: [47]; das erste komplette Genom eines Bakteriums, *Haemophilus influenzae*, lag 1995 vor, das eines Eukaryoten, der Bierhefe *Saccharomyces cerevisiae*, 1996). Kleine Loop-Bereiche des MS2-Genoms in Interaktion mit spezifischen Phagenhüll-Proteinen dienen im „MS2 tagging“ der Detektion von RNA in lebenden Zellen; dies ist extrem nützlich in der Untersuchung von Transkriptionsvorgängen bei Pro- und Eukaryoten. Dies sind nur einige Beispiele für das große Potential der Phagen in der Biotechnologie im weitesten Sinne.

- *Bio-Terrorismusabwehr: Phagen als Helfer*

Phagen können auch eine Schlüsselrolle in der Biosicherheit („Biosecurity“) bekommen: Ihre Fähigkeit, pathogene Bakterien schnell zu detektieren und unschädlich zu machen, macht sie zu idealen Werkzeugen im Kampf gegen Biowaffen (Bioterrorismus). Biosecurity sucht auf allen Ebenen, präventiv und reaktiv, nach Maßnahmen, Missbrauch von biologischem Material vorzubeugen bzw. der Verbreitung von gefährlichen Krankheitserregern zu begegnen. Diesen Ansatz haben F. Pouillot, H. Blois und F. Iris in Form von „Phage engineering“ mit einer Phage T4-Genbank aufgegriffen [48]. Die Absicht ist, durch gezielte gentechnische Veränderungen rekombinante und virulente T4-Phagen herzustellen, die eine Vielzahl der meist Gram-negativen pathogenen Wirte erkennen und lysieren können. T4 ist der Archetyp eines „zuverlässig“ virulenten Phagen, der die für die Phagenreplikation notwendigen Wirtsfunktionen besonders effizient ausnutzen kann [49]. T4 hat sehr viele Phagenverwandte mit breit gefächertem Wirtsspektrum in der Natur [50]. Diese T4-Verwandten binden an die bakteriellen Zellmembranproteine über spezifische Adhäsine, die von den Genen *gp37* und *gp38* codiert werden. In diesen Genen liegt die Wirtsspezifität der T4-Phagen begründet, die man sich zunutze machte, um eine T4-Genbank für ein riesiges Wirtsspektrum aufzubauen.

Vincent Fischetti von der Rockefeller University, New York, gehört zu denen, die sich seit längerem dafür einsetzen, Phagen im Kampf bzw. zur Prävention gegen bakterielle Biowaffen einzusetzen [51]; inzwischen werden derartige Projekte von der DARPA (Defense Advanced Research Projects Agency, USA) gefördert. So konnte Fischetti zeigen, dass alleine schon die Lysinproteine aus den Phagen von *Bacillus anthracis* (Produzent von Anthrax) die meisten Stämme dieses hochgefährlichen Bakteriums lysieren, nicht aber die nahe verwandten *B. cereus* (humanpathogen) und *B. thuringiensis* (genutzt für die biologische Schädlingsbekämpfung) [52, 53]. Bereits in den 1950er Jahren waren Phagen gegen *B. anthracis* bekannt. Fischetti sieht die hochspezifischen Phagenlysine als Mittel zur Eindämmung von (natürlichen oder künstlichen) Infektionskrankheiten an, die „zwischen Vakzinen und Antibiotika“ anzusiedeln sind.

Die Renaissance der Therapiephagen

Es ist heute allgemein bekannt, dass die gesundheitliche Bedrohung durch multiresistente Infektionserreger enorm ist. Der Begriff „multiresistent“ bezieht sich auf Resistenz eines Keimes gegen mehrere Antibiotika. Vielen sind entweder tragische Schicksale im persönlichen Umfeld bekannt oder auch Beispiele aus der Presse, wie z.B. der Fall der brasilianischen Miss-World Kandidatin Mariana Bridi Costa. Infiziert mit einem multiresistenten Keim von *Pseudomonas aeruginosa*, wurden ihr bei zunehmender Gewebekrose erst Hände und Füße amputiert, kurze Zeit später Teile des Magens. Diese Maßnahmen konnten sie jedoch nicht retten, so dass sie binnen weniger Wochen nach ihrer (dazu noch fehlerhaft diagnostizierten) Erkrankung an multiplem Organversagen starb. Angesichts der Tatsache, dass Bakterien zunehmend gegen eine immer größere Zahl von Antibiotika resistent werden, scheint dies das erschreckende Schicksal vieler mit multiresistenten Keimen infizierter Menschen zu sein.

Es ist kaum bekannt, dass vor der Entdeckung der Antibiotika (Penicillin durch Alexander Fleming im Jahr 1928) schon Phagen zur Bekämpfung von Infektionen eingesetzt wurden. In den 1930er- und 40er-Jahren stellten bekannte Pharmafirmen wie Eli Lilly in den USA, aber auch die Behring-Werke in Deutschland, in großem Maßstab Phagenpräparate her. Eli Lilly produzierte sieben Phagenpräparate für die Verwendung in der Humanmedizin, u.a. gegen Staphylococcen, Streptococcen und *E. coli* [54, 55], die Behringwerke produzierten *Dysenterie-Polyfagin* zur Behandlung der Ruhr (Abb. 4). Mit dem zunehmenden Aufkommen der Antibiotika ging in der westlichen Welt der Niedergang der sog. Phagentherapie einher. Der finanziell schlechter gestellte Osten setzte dagegen weiter auf die guten Erfahrungen mit Phagentherapie, insbesondere das berühmte Eliava-Institut (Eliava Institute of Bacteriophage, Microbiology and Virology, EIBMV) in Tiflis, Georgien, produzierte in seiner Blütezeit Unmengen an Phagenpräparaten zur äußerlichen, aber auch oralen oder gar intravenösen Anwendung am Menschen: Es ist die Wiege der Phagentherapie und das größte Phagenforschungsinstitut weltweit (siehe Textkasten, Abb. 5). Dort forschte schon in den 1920er Jahren Felix d'Herelle, der eigentliche Entdecker der Phagen, gemeinsam mit dem damaligen Institutsdirektor George Eliava. Heute ist dem Eliava-Institut eine unabhängige moderne Klinik

angegliedert, in der Therapiephagen eingesetzt werden (www.phagetherapycenter.com). Im Internet finden sich Berichte von Menschen, die dort nach einer ausweglos erscheinenden Leidensgeschichte mittels Phagen geheilt wurden (<http://www.youtube.com/watch?v=mrBSZaHuyTI>). Die Vorteile einer Phagentherapie sind mannigfaltig.

(1) Die ausgewählten Phagen sind hochspezifisch für jeweils bestimmte Bakterienarten, somit wird gesichert, dass nur die pathogenen Bakterien bekämpft werden, während bei Einsatz von Antibiotika immer die nützliche Mikroflora in Mitleidenschaft gezogen wird.

(2) Phagen sind ein „intelligentes“ Medikament: Sie vermehren sich am Ort der bakteriellen Infektion, sind also gerade da tätig, wo sie am meisten gebraucht werden, bis alle Ziel-Bakterien beseitigt sind. Mit der Vernichtung der Ziel-Bakterien gibt es auch keine Lebensgrundlage für den Phagen. Da Phagen nur aus DNA und Proteinen bestehen, werden sie durch den Körper abgebaut.

(3) Phagen sind weitgehend frei von unerwünschten Wirkungen. Bisher sind in entsprechenden Studien keine oder nur unwesentliche Nebenwirkungen bekannt geworden [56, 57]. Eine Phase I-Studie in Texas mit einem Phagen-Cocktail gegen *P. aeruginosa*, *S. aureus* und *E. coli* gab zu keinerlei Sicherheitsbedenken Anlass [58]. Phagen sind nichts Fremdes

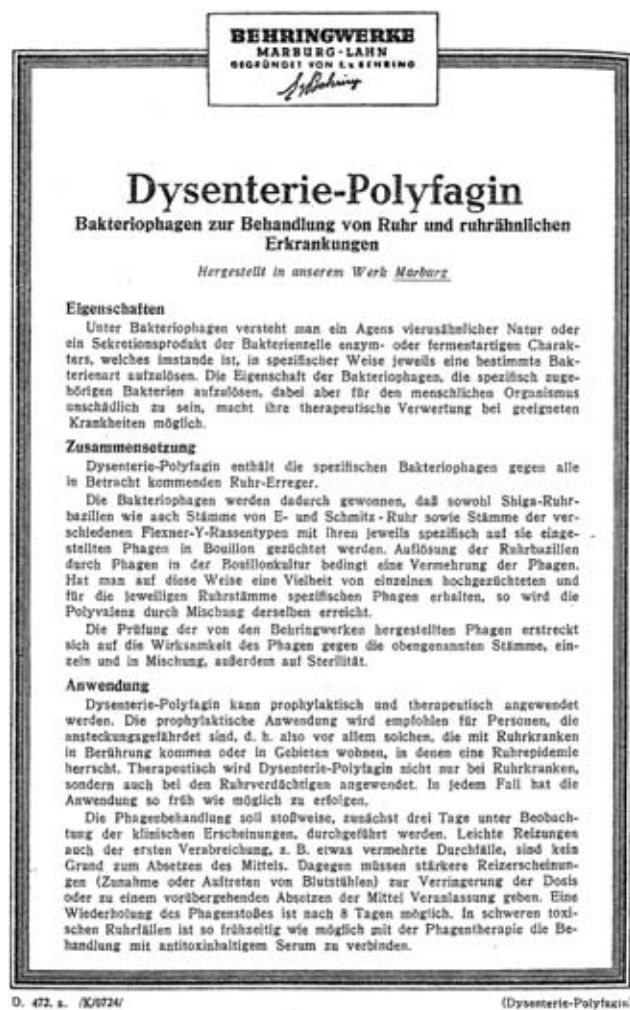


Abb. 4. Beipackzettel zum Phagenmedikament Polyfagin der Behringwerke. Es kam 1939 auf den Markt und wurde auch an die Wehrmacht geliefert. [Höchst GmbH, Unternehmensarchiv]

DIE DSMZ – EIN ZUHAUSE FÜR PHAGEN

Die Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) gehört zu den weltweit führenden wissenschaftlichen Einrichtungen mit Servicefunktion für die universitäre, außeruniversitäre und industrielle Forschung. Als umfangreichstes Ressourcen-Zentrum für Mikroorganismen, Zellkulturen und Pflanzenviren in Europa bietet die DSMZ der Industrie und Forschung authentisches, genetisch stabiles biologisches Material und wissenschaftlichen Service für die Grundlagenforschung, aber auch zur Aufklärung und Lösung von Umweltproblemen, für industrielle Produktionsprozesse und ökologische Entwicklungen. Die anwachsende Phagensammlung der DSMZ soll möglichst breit aufgestellt werden. Phagen gegen alle Genera und Spezies sind erwünscht, um sie nach verschiedenen Methoden langfristig zu konservieren, zu prüfen und künftigen Generationen zu erhalten.

Die DSMZ entschloss sich, an der Therapiephagen-Forschung mitzuwirken, und arbeitet unter einem Memorandum of Understanding mit dem Eliava-Institut (<http://www.eliava-institute.org/>) zusammen, testet Wirtsspektren von Phagen des Eliava-Instituts gegen Bakterienisolate niedersächsischer Kliniken und sucht neue lytische Phagen gegen wichtige pathogene Bakterien; besonders interessante Phagen können dann im Eliava-Institut für die mögliche Anwendung adaptiert werden. In der DSMZ lagern uralte Originalsuspensionen der „Pionierzeit“ der großen Phagen-Ära: 70 Jahre alte Ampullen des Eliava-Instituts (Abb. 5). Klinische Bakterienisolate sind von unschätzbarem Wert, um die Phagenforschung voranzubringen, daher ist die DSMZ dankbar für die große Offenheit und Kooperationswilligkeit der medizinischen Mikrobiologen bzw. der mikrobiologisch orientierten Kliniker. Daher unterstützt die DSMZ als Mitglied der jungen Initiative P.H.A.G.E. (Phages for Human Application Group Europe; <http://www.p-h-a-g-e.org>) im internationalen Verbund das Thema Phagentherapie.



Abb. 5. Original Phagen-Ampullen des Eliava-Institutes. Die Ampullen sind etwa 70 bis 80 Jahre alt und befinden sich als Sicherheitslagerung an der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ) in Braunschweig (mit freundlicher Genehmigung von Mzia Kutateladze, G. Eliava Institute of Bacteriophages).

für den menschlichen Körper, mit jeder Nahrung nehmen wir Unmengen Phagen zu uns. Es besteht auch die Möglichkeit, statt vollständiger Phagenpartikel lediglich die entsprechenden Lysin-Proteine der Phagen einzusetzen.

(4) Therapeutische Phagen sind vergleichsweise preiswert. Während die Entwicklung bzw. Suche nach neuen Antibiotika sehr aufwendig und kostenintensiv ist, beschert uns die Natur einen reichen Vorrat an Phagen. Man kann sie besonders gut aus menschlich beeinflussten ökologischen Systemen wie Kläranlagen isolieren: Mit einfachen mikrobiologischen Methoden können dort neue für Therapien geeignete lytische Phagen gefunden werden.

Günstig auf die Kostenentwicklung wirkt sich auch aus, dass sich Phagen als lebende Systeme anpassen können. So werden Bakterien zweifellos gegen Phagen resistent werden, was aber zum natürlichen evolutiven Wechselspiel zwischen Phagen und Bakterien gehört. So werden Phagen ihrerseits ohne unser Zutun Infektiosität gegen phagenresistente Bakterien entwickeln. Um diesen Prozess abzukürzen und um zu umgehen, auf ein phagenresistentes Bakterium zu treffen, werden in der Regel „Phagen-Cocktails“ verwendet, also Gemische von Phagen, von denen zumindest einer wirken sollte.

Kurzum, die Phagentherapie hat eine Reihe von Vorteilen und stellt eine ernsthafte Alternative zur Antibiotikatherapie dar. Man muss sich daher fragen, wie es zum Niedergang der Phagentherapie in der Mitte des letzten Jahrhunderts kommen konnte und warum der pharmazeutische Markt heute noch nicht großflächig Phagenmedikamente anbietet. Schließlich ist der Bedarf enorm: Nach Angaben der Deutschen Krankenhaus-

gesellschaft sterben ca. 30 000 Menschen jährlich in Deutschland an den Folgen von Krankenhaus-Infektionen (ein Appell des Verbands der Diagnostica-Industrie VDPG im November 2010 richtete sich an Bund und Länder, dringend Schritte zur Bekämpfung multiresistenter Keime einzuleiten).

Dass man – im Westen – so lange einseitig auf Antibiotika setzte, erklärt sich natürlich auch mit dem anfänglichen unbestrittenen Erfolg der Antibiotika. So unterstützte die WHO um 1970 in Pakistan einen Vergleich der Phagentherapie und Antibiotika-Therapie (Tetracyclin) gegen Cholera. Es zeigte sich, dass die Phagentherapie weniger effektiv als das Antibiotikum war und dass zudem massiv hohe Dosen an Phagen eingesetzt werden mussten. Dies gab den Ausschlag, den phagentherapeutischen Ansatz nicht weiter zu verfolgen [59–61], obwohl auch mit den Phagen eine deutliche Verringerung der Cholera-Bakterien erreicht wurde, und zwar ohne Beeinträchtigung der intestinalen Flora wie bei den Antibiotika.

Zum anderen erklärt sich der Niedergang der Phagentherapie aus gravierenden Fehlern bei den ersten therapeutischen Anwendungen. So wurden z.B. nicht bakteriell bedingte Krankheiten, z.B. Herpes, mit Phagen behandelt, worauf natürlich keine Heilung eintrat [62]. Weiter waren die Phagenpräparate oftmals unsauber und enthielten noch Endotoxine der bakteriellen Wirte, welche sich kontraproduktiv auswirkten [62]. Zudem bediente man sich ungeeigneter Methoden, um sicherzustellen, dass die Phagenpräparate keine lebenden bakteriellen Wirtszellen mehr enthielten. Sie wurden beispielsweise zusätzlich mit Quecksilber, oxidierenden Substanzen oder mit Hitze behandelt, was oft genug auch negative Effekte auf die Phagen selber hatte

[62]. Nicht zuletzt wurden die Ergebnisse wissenschaftlich nicht sauber dokumentiert und geprüft, so dass es am Ende nur anekdotische Erfolgserlebnisse, aber keine belastbaren Nachweise für Erfolgsergebnisse der Phagentherapie gab [62].

Auch wenn die wissenschaftliche Erforschung der Phagentherapie mittlerweile in vollem Gange ist [63–67], gibt es bisher noch kaum Medikamente auf dem Markt und wenige ärztliche Behandlungen mit Phagen. Ein wesentlicher Grund hierfür ist der lange Genehmigungsprozess, der dem Inverkehrbringen und der Anwendung von Phagenpräparaten vorausgeht: Der Wirkmechanismus muss detailliert offengelegt werden, und darüber hinaus muss das Pharmaunternehmen die Unbedenklichkeit und Qualität des Arzneimittels detailliert belegen. Während ein Antibiotikum eine definierte chemische Substanz ist, die strengen Normen unterliegt, kommt erschwerend hinzu, dass Phagenprodukte vornehmlich als „Cocktail“ zur Anwendung kommen, um die maximale Wirkung zu erzielen (s.o.). Somit bestünde das Medikament aus mehreren und nicht einem einzigen Wirkstoff, was seine Zulassung erheblich erschwert.

Ein weiterer Grund mag eher psychologischer Natur sein: Es scheint unheimlich, dass eine Krankheit mit einem biologischen und damit anpassungsfähigen und nicht ganz von uns beherrschbaren System geheilt werden könne, selbst wenn man weiß, dass wir ständig Tausenden von Phagen ausgesetzt sind.

Trotz dieser Schwierigkeiten und Vorbehalte gibt es mittlerweile erste klinische Studien mit Phagenpräparaten. So hat das Burn Centre des Queen Astrid Military Hospital in Brüssel in Kooperation mit dem erwähnten Eliava-Institut einen qualitätsgeprüften Cocktail aus Phagen gegen *Staphylococcus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa* entwickelt (erste Phase der klinischen Studien) [66] (Abb. 6). Diese Kombination ist wichtig, weil *S. aureus* primäre Brandwundinfektionen verursacht und das eigentlich nur opportunistisch-pathogene Bakterium *P. aeruginosa* im Rahmen einer Sekundärinfektion hoch-lethal sein kann. Angesichts einer zunehmenden Antibiotika-Multiresistenz beider Keime kann ein solches Phagenpräparat von hoher Bedeutung werden.

Die britische Firma Biocontrol Limited (<http://www.biocontrol-ltd.com>) hat mittlerweile ebenfalls ein Phagenpräparat

in der dritten Phase der klinischen Studien [68], das gegen *P. aeruginosa* angewendet werden soll. Modalitäten moderner Phagentherapie werden dargestellt in einem neuen Artikel aus dem Eliava-Institut [69].

Die bisher fehlende behördliche Zulassung vieler Phagenpräparate verhindert ihren Einsatz in der Schulmedizin. Nichtsdestotrotz gibt es in Deutschland einige wenige Ärzte, die – oftmals begleitet vom behandelnden Hausarzt – bei Antibiotikum-austherapierten Patienten eine Phagentherapie durchführen können. Wägt man Nutzen und Risiken der Phagentherapie ab, so spricht vieles für die Phagen: Detaildarstellungen und Erfahrungsberichte von Phagentherapien in Ost und West wurden kürzlich von Elisabeth Kutter (Phage Biology Lab, The Evergreen State College, Washington) zusammengestellt [70, 71].

Viel des im vorliegenden Artikel Berichteten ist natürlich in der zitierten Fachliteratur nachzulesen, welche bedauerlicherweise aber für Laien oft schwer erhältlich und verständlich ist. Als Einstieg darf das spannende Buch *Gesund durch Viren – Ein Ausweg aus der Antibiotika-Krise* von Thomas Häusler empfohlen werden, das eine Übersicht über die Entwicklung der Phagentherapie gibt und ihre Vor- und Nachteile gegenüber den Antibiotika darstellt. Dabei ist anzumerken, dass es bereits 2003 erschienen ist und sich in den letzten Jahren auf diesem Gebiet noch Wesentliches getan hat.

Ausblick

Die hier skizzierten Anwendungsbereiche von Bakteriophagen sind vielfältig, zum Teil bereits etabliert (Lebensmittelüberwachung, Pflanzenschutz) oder sehr erfolgversprechend. Insbesondere für die medizinische Anwendung besteht ein großer Bedarf. Ein Beispiel mag die zurzeit (Dezember 2010) verheerende Cholera in Haiti sein, an der bislang über 20 000 Menschen erkrankt und über 1000 verstorben sind. Um die Möglichkeiten der Phagentherapie ausschöpfen zu können, ist Grundlagenforschung nötig, insbesondere um die Biologie der Phagen auf genomischer Ebene noch besser zu verstehen. Zugleich sind klinische Studien für die Anwendung voranzutreiben, stellen doch die Phagen das Konzept eines selbst-repli-

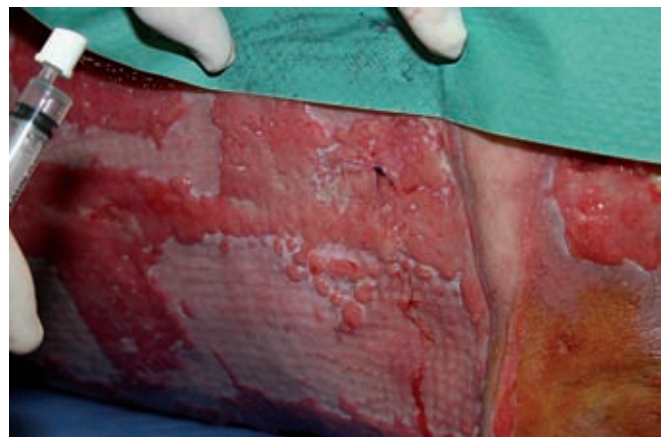


Abb. 6. Phagen in der klinischen Erprobung. **a.** Definierter Phagen-Cocktail (BFC-1) des Burn Centre, Queen Astrid Military Hospital, Brüssel, zur Verwendung in klinischen Studien. – **b.** Äußerliche Anwendung des Phagen-Cocktails BFC-1 als Spray auf einer infizierten Brandwunde im Rahmen einer klinischen Studie. [Aus M. Merabishvili et al.: Quality-controlled small-scale production of a well-defined bacteriophage cocktail for use in human clinical trials. *PLoS ONE* **4**: e4944 (2009)]

Übersicht

zierenden, selbst-regulierenden natürlichen antimikrobiellen Therapeutikums dar, das in die entlegensten Winkel des Körpers gelangen kann. Gut ausgerüstete Diagnostiklabore und wohl-definierte „Phagen-Cocktails“ (Sets charakterisierter Phagen) gegen die wichtigsten pathogenen Bakterien sollten zukünftig weit verbreitet sein.

Auch wenn wir hier ein Plädoyer für die Phagentherapie abgeben, so sprechen wir uns nicht dafür aus, sie als reinen Ersatz für Antibiotika anzusehen. Häufig dürfte vielmehr die Kombination der Phagen als biologische und der Antibiotika als statische Moleküle die ideale Kombination in der medizinischen Therapie darstellen [69].

Nicht zuletzt sei zum Abschluss nochmals der allgemeinbiologische Aspekt hervorgehoben: Phagen und Viren sind entscheidend wichtige Bestandteile der belebten Welt. Sie gehören zur Biodiversität und haben damit ihren Platz im Stammbaum des Lebens. Sowohl im Hinblick auf ihre Anwendung als auch im Hinblick auf die Erforschung ihrer Anpassungen und ihrer evolutiven Geschichte darf man in den nächsten Jahren viel Neues erwarten.

Literatur

[1] W. C. Summers: Early History. In: E. Kutter, A. Sulakvelidze (Hrsg.): *Bakteriophages, Biology and Applications*. CRC Press. Boca Raton, Fla./USA 2004. - [2] S. E. Luria, M. Delbrück, T. F. Anderson, J. *Bakteriol.* **46**, 57 (1943). - [3] H.-W. Ackermann, *Arch. Virol.* **152**, 227 (2007). - [4] H.-W. Ackermann, A. M. Kropinski, *Res. Microbiol.* **158**, 555 (2007). - [5] A. M. Kropinski, D. Prangishvili, R. Lavigne, *Environ. Microbiol.* **11**, 2775 (2009). - [6] H. Brüssow, E. Kutter: *Phage Ecology*. In: E. Kutter, A. Sulakvelidze (Hrsg.): *Bakteriophages – Biology and Applications*. CRC Press. Boca Raton, Fla./USA 2004. - [7] O. Bergh et al., *Nature* **340**, 467 (1989). - [8] W. B. Whitman, D. C. Coleman, W. J. Wiebe, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 6578 (1998). - [9] S. A. Tsokolov, *Astrobiology* **9**, 401 (2009). - [10] C. E. Cleland, C. F. Chyba, *Origins of Life and Evolution of Biospheres* **32**, 387 (2002). - [11] K. Ruiz-Mirazo, J. Peretó, A. Moreno, *Origins of Life and Evolution of Biospheres* **34**, 323 (2004). - [12] K. Ruiz-Mirazo, J. Umerez, A. Moreno, *Biology and Philosophy* **23**, 67 (2008). - [13] K. Ruiz-Mirazo, J. Peretó, A. Moreno, *Origins of Life and Evolution of Biospheres* **40**, 203 (2010). - [14] R. W. Hendrix, *Trends Microbiol.* **8**, 504 (2000). - [15] M. J. Roossinck, *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 917 (2005). - [16] P. Forterre, *Virus Research* **117**, 5 (2006). - [17] S. Duffy, L. A. Shackleton, E. F. Holmes, *Nat. Rev. Genet.* **9**, 267 (2008). - [18] E. Koonin, T. Senkevich, V. Dolja, *Biol. Direct.* **1**, 29 (2006). - [19] C. R. Woese, O. Kandler, M. L. Wheelis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 4576 (1990). - [20] P. Forterre, D. Prangishvili, *Research in Microbiology* **160**, 466 (2009). - [21] P. Forterre, D. Prangishvili, *Annals of the New York Academy of Sciences* **1178**, 65 (2009). - [22] A. Lwoff, *J. Gen. Microbiol.* **17**, 239 (1957). - [23] A. Lwoff, *Nature* **215**, 13 (1967). - [24] C. L. Bânde, *Journal of Theoretical Biology* **105**, 591 (1983). - [25] B. La Scola et al., *Science* **299**, 2033 (2003). - [26] D. Raoult et al., *Science* **306**, 1344 (2004). - [27] R. R. Novoa et al., *Biol. Cell* **97**, 147 (2005). - [28] S. Miller, J. Krijnsse-Locker, *Nat. Rev. Micro.* **6**, 363 (2008). - [29] J.-M. Claverie, *Genome Biology* **7**, 110 (2006). - [30] N. R. Hegde et al., *Nat. Rev. Micro.* **7**, 615 (2009). - [31] P. Forterre, *Origins of Life and Evolution of Biospheres* **40**, 151 (2010). - [32] D. Raoult, P. Forterre, *Nat. Rev. Micro.* **6**, 315 (2008). - [33] B. La Scola et al., *Nature* **455**, 100 (2008). - [34] H. Pearson, *Nature* **454**, 677 (2008). - [35] H. W. Smith, M. B. Huggins, K. M. Shaw, *J. Gen. Microbiol.* **133**, 1111 (1987). - [36] P. Barrow, M. Lovell, A. Berchieri, Jr. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* **5**, 294 (1998). - [37] C. Borie et al., *Avian Diseases* **52**, 64 (2008). - [38] K. Stanford et al., *J. Food Prot.* **73**, 1304 (2010). - [39] A. B. Monk et al., *Letters in Applied Microbiology* **51**, 363 (2010). - [40] A. Obradovic et al., *Plant Disease* **88**, 736 (2004). - [41] J. B. Jones et al., *Annual Review of Phytopathology* **45**, 245 (2007). - [42] J. Wittmann, R. Eichenlaub, B. Dreiseikelmann, *Microbiology* **156**, 2366 (2010). - [43] S. Hagens, M. L. Offerhaus, *Food Technology and*

Biotechnology **62**, 46 (2008). - [44] S. Guenther et al., *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 93 (2009). - [45] Garcia, *Lett. Appl. Microbiol.* **47**, 479 (2008). - [46] G. Botsaris et al., *Proceedings of the 10th International Colloquium on paratuberculosis* **25** (2010). - [47] F. Sanger et al., *Nature* **265**, 687 (1977). - [48] F. Pouillot, H. Blois, F. Iris, *Biosecurity and Bioterrorism: Biodefense Strategy, Practice, and Science* **8**, 155 (2010). - [49] M. Uzan: *RNA Processing and Decay in Bakteriophage T4*. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. In: C. Condon (Hrsg.): *Molecular Biology of RNA Processing and Decay in Prokaryotes*. Elsevier Academic Press. London, Amsterdam, San Diego 2009. - [50] C. Desplats, H. M. Krisch, *Research in Microbiology* **154**, 259 (2003). - [51] M. Larkin, *The Lancet Infectious Diseases* **4**, 246 (2004). - [52] R. Schuch, D. Nelson, V. A. Fischetti, *Nature* **418**, 884 (2002). - [53] P. Yoong et al., *J. Bakteriol.* **188**, 2711 (2006). - [54] A. Sulakvelidze, Z. Alavidze, J. G. Morris Jr., *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**, 649 (2001). - [55] J. N. Housby, N. H. Mann, *Drug Discovery Today* **14**, 536 (2009). - [56] H. Brüssow, *Microbiology* **151**, 2133 (2005). - [57] A. Bruttin, H. Brüssow, *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 2874 (2005). - [58] D. D. Rhoads et al., *J. Wound Care* **18**, 237 (2009). - [59] K. A. Monsur et al., *Bull. WHO* **42**, 723 (1970). - [60] L. M. Marcuk et al., *Bull. WHO* **45**, 77 (1971). - [61] W. C. Summers, *Annual Review of Microbiology* **55**, 437 (2001). - [62] A. Sulakvelidze, Z. Alavidze, J. G. Morris Jr., *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**, 649 (2001). - [63] K. Thiel, *Nat Biotech* **22**, 31 (2004). - [64] C. S. McVay, M. Velasquez, J. A. Fralick, *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**, 1934 (2007). - [65] R. Watanabe et al., *Antimicrob. Agents Chemother.* **51**, 446 (2007). - [66] M. Merabishvili et al. *PLoS ONE* **4**: e4944 (2009). - [67] L. Debarbieux et al., *J. Infect. Dis.* **201**, 1096 (2010). - [68] A. Wright et al., *Clinical Otolaryngology* **34**, 349 (2009). - [69] M. Kutateladze, R. Adamia, *Trends in Biotechnology* **28**, 591 (2010). - [70] S. T. Abedon, C. Thomas-Abedon, *Curr. Pharm. Biotechnol.* **11**, 28 (2010). - [71] E. Kutter et al., *Curr. Pharm. Biotechnol.* **11**, 69 (2010).



E-Mail: johannes.sikorski@dsmz.de

Dr. **Johannes Sikorski** (Jahrgang 1967) studierte Biologie an der Universität Oldenburg, wo er 2002 promoviert wurde. Von 2003 bis 2005 war er Postdoc am Institute of Evolution, Haifa, Israel. Seit 2006 ist er als wissenschaftlicher Angestellter an der DSMZ beschäftigt. Sein Forschungsschwerpunkt liegt in der Mikroevolution und Diversifizierung von Bakterien auf Artebene.

Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig,



Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstrasse 7B, 38124 Braunschweig, E-Mail: christine.rohde@dsmz.de

Dr. **Christine Rohde** (Jahrgang 1956) studierte Biologie an der Universität Göttingen, wo sie 1985 promoviert wurde. Danach war sie ein Jahr Postdoc an der University of Adelaide, Südastralien. Seit 1986 ist sie Kuratorin der Sammlung von Phagen, Plasmiden und *E. coli*-Stämmen an der DSMZ. Ihr Forschungsschwerpunkt liegt in der Biologie der Phagen.

Ein weiterer Schwerpunkt ist die nationale und internationale Gremienarbeit zu Biosecurity, Bio-Preparedness und Bioterrorismusabwehr.