

## Kieler Milchtage 2018

5. Und 6. Mai 2018

### Molekularbiologischer Nachweis von Phagen in Molke

Erik Brinks, Natalia Wagner, Horst Neve, Charles Franz, Knut J. Heller

Max Rubner-Institut, Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie, Hermann-Weigmann-Str. 1, 24103 Kiel

Infektionen durch Bakteriophagen stellen die häufigste Störungsursache bei Fermentationsprozessen dar. So sind sie auch in milchverarbeiteten Betrieben verantwortlich für Qualitätseinbußen bis hin zu kompletten Produktionsausfällen.

Im Bereich der Käseherstellung können sich Phagen in Molke stark anreichern und durch anschließenden Einsatz solcher Molke oder Molkebestandteilen zu immensen Beeinträchtigungen führen.

Zur Reduktion von Phagen in Molke sind thermische Inaktivierungsprozesse nicht geeignet, da es eine Vielzahl an Problemphagen gibt, die sich durch eine extreme Hitzeresistenz auszeichnen [1, 2]. Zur Reduktion dieser Phagen bietet sich die Membranfiltration an, die Phagen um bis zu vier log Stufen reduzieren kann [3].

Trotz oder gerade aufgrund dieses neuen Ansatzes zur Phagenreduktion ist es notwendig, Phagen frühzeitig in Molke zu identifizieren, um über den Einsatz der Membranfiltration zur Gewährleistung möglichst „phagenfreier“ Molke zu entscheiden.

Für diesen Nachweis von Phagen in Molke wurde die „Loop-mediated isothermal Amplification“ (LAMP) Methode adaptiert [4]. Diese hochsensitive Nachweismethode lässt sich mit einfachstem Laborequipment durchführen. Durch eine Polymerase mit „strand displacement activity“ läuft die Reaktion bei einer konstanten Temperatur von 60-65°C ab und kann so ohne teure Laborgeräte durchgeführt werden. Die Auswertung der Reaktionen kann durch den Einsatz von Farbstoffen durch eine reine Sichtkontrolle erfolgen. Zudem sind LAMP Reaktionen durch den Einsatz von wenigstens 4 Primern mit 6 Zielregionen hoch spezifisch.

Ein LAMP Assay konnte für den *Lactococcus lactis* Phagen P680 entwickelt werden. Dieser ist ein extrem hitzeresistenter Vertreter der weitverbreiteten Phagengruppe 936 [5]. Wir präsentieren Ergebnisse für den Nachweis hochreiner Phagenisolate, sowie für direkt aus Molke extrahierter Phagen-DNA [6]. Die Sensitivität des LAMP Assays wurde dabei mit der Standard PCR-Methode verglichen.

1. Atamer, Z., J. Dietrich, M. Müller-Merbach, H. Neve, K.J. Heller, and J. Hinrichs, International Dairy Journal, 2009. **19**(4): p. 228-235.
2. Wagner, N., M. Samtlebe, C.M.A.P. Franz, H. Neve, K.J. Heller, J. Hinrichs, and Z. Atamer, International Dairy Journal, 2017. **68**: p. 95-104.
3. Samtlebe, M., N. Wagner, H. Neve, K.J. Heller, J. Hinrichs, and Z. Atamer, International Dairy Journal, 2015. **48**: p. 38-45.
4. Notomi, T., H. Okayama, H. Masubuchi, T. Yonekawa, K. Watanabe, N. Amino, and T. Hase, Nucleic Acids Research, 2000. **28**(12): p. e63.
5. Capra, M.L., H. Neve, P.C. Sorati, Z. Atamer, J. Hinrichs, K.J. Heller, and A. Quiberoni, International Dairy Journal, 2013. **30**(2): p. 59-63.
6. Brinks, E., N. Wagner, H. Neve, M. Samtlebe, J. Hinrichs, C.M.A.P. Franz, and K.J. Heller, International Dairy Journal, 2018. **82**: p. 1-3.