European Association of Fish Pathologists e.V. (EAFP),
Veterinärmedizinische Universität Wien, 06. – 09.10.2026

LABOKLIN
LABOR FÜR KLINISCHE DIAGNOSTIK GMBH & CO. KG

PHAGEN ZENTRUM
IHR DIENSTLEISTER FÜR PHAGEN-DIAGNOSTIK

Isolierung und *in vitro* Wirksamkeit von Bakteriophagen zur Bekämpfung bakterieller Krankheitserreger von Zierfischen

M. Felten[1], P. Matijas[2], R. E. Marschang[1], E. M. Kalbhenn[2] und E. Müller[1]
[1] LABOKLIN GmbH & Co. KG, Steubenstraße 4, 97688 Bad Kissingen, Deutschland
[2] Phagenzentrum, Sieboldstraße 7, 97688 Bad Kissingen, Deutschland, Kontakt: info@phagen-zentrum.de

Einleitung und Ziel

Bakterielle Erkrankungen stellen ein häufiges Gesundheitsproblem bei Zierfischen dar und können sowohl einzelne Tiere als auch ganze Bestände gefährden. Der zunehmende Einsatz von Antibiotika ist auf Grund der Resistenzentwicklung und möglicher Umweltfolgen problematisch. Bakteriophagen (kurz: „ Phagen“) stellen eine vielversprechende Alternative dar, da diese gezielt Bakterien infizieren und lysieren.

Ziel der Studie war es, Phagen aus Wasserproben natürlicher Gewässer, Kläranlagen und Fischhaltungen zu isolieren und deren *in vitro* Wirksamkeit gegenüber 45 Bakterienisolaten aus Zierfischproben – überwiegend von Koi – aus der Routinediagnostik von Laboklin GmbH & Co. KG im Zeitraum von 2025 – 2026 zu untersuchen.

Material und Methoden

Die Isolierung von Phagen aus Wasserproben erfolgte bei ±25 °C über Nacht (ÜN) nach Kazimierczak et al., 2019 (Abb. 1). Die Bestimmung der *in vitro* Wirksamkeit der Phagen-Filtrate gegen verschiedene fischpathogene Bakterien[1] (*Aeromonas* spp. [n = 34], *Pseudomonas* spp. [n = 8], *Yersinia ruckeri* [n = 3]) erfolgte mittels Phagogramm nach dem am Eliava Institut etablierten Verfahren (Tbilisi, Georgien). Dazu wurden die Phagen-Filtrate auf einen Ausgangstiter von 10^6 PFU/ml eingestellt und eine serielle 1:10-Verdünnungsreihe (Abb. 2) angelegt. Ein Ergebnis wurde als positiv gewertet (S = sensibel), wenn eine Phagen-induzierte Lysezone sichtbar war; eine fehlende Lyse wurde als negatives Ergebnis (R = resistent) bewertet. Für die langfristige Lagerung wurde eine Bakterien- und Phagenbank aufgebaut.



Abb. 1: Schematischer Ablauf der adaptierten Anreicherungs- und Isolierungsmethode von Phagen aus der Umwelt. Abbildung angepasst nach Kazimierczak et al., 2019. KI generiertes Bild.

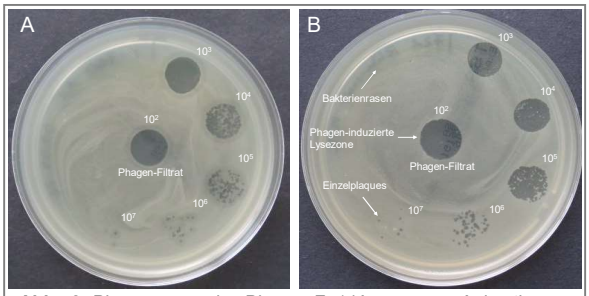

Abb. 2: Phagogramm des Phagen Fp14Aero gegen *A. bestiarum* **(A)** und des Phagen Fp4Pse gegen *P. libanensis* **(B)**.

Ergebnisse

Es wurden 14 Phagen-Filtrate gegen *A. salmonicida* [n=2], *A. hydrophila* [n=1], *A. ichthiosmia* [n=1], *A. bestiarum* [n=2], *P. libanensis* [n=3], *P. koreensis* [n=2], *P. antarctica* [n=2] und *P. anguilliseptica* [n=1] isoliert.

Bei *Pseudomonas* spp. waren jeweils nur ein bis zwei von acht bakteriellen Isolaten gegenüber dem entsprechenden Phagen-Filtrat empfindlich (Tab. 1), während bei *Aeromonas* spp. 10 von 34 Bakterien-Isolaten eine Empfindlichkeit gegenüber dem Phagen-Filtrat Fp1Aero zeigten (Tab. 2). Die untersuchten Phagen zeigten sowohl eine spezifische Wirksamkeit gegenüber ihrem jeweiligen bakteriellen Wirt, als auch eine *in vitro* Wirksamkeit gegenüber weiteren Bakterienspezies innerhalb derselben Gattung (Tab. 1 und Tab. 2).

Zudem wurde ein Phagen-Filtrat gegen *Yersinia ruckeri* [n=1] gefunden. Das Yersinia Phagen-Filtrat Fp12Yers zeigte eine *in vitro* Wirksamkeit von 100 % [n=3] innerhalb der Baktierenspezies *Y. ruckeri* (Daten nicht gezeigt).

Phagen-Filtrate / Bakterien	Fp3Pse	Fp4Pse	Fp5Pse	Fp6Pse	Fp7Pse	Fp8Pse	Fp9Pse	Fp10Pse
***Pseudomonas* spp.** [n = 8]	13 % (1/8)	13 % (1/8)	25 % (2/8)	13 % (1/8)	25 % (2/8)	25 % (2/8)	25 % (2/8)	13 % (1/8)
P. anguilliseptica [n = 3]	0 % (0/3)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	33 % (1/3)
P. antarctica [n = 3]	0 % (0/3)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	33 % (1/3)	33 % (1/3)	0 % (0/3)
P. koreensis [n = 1]	0 % (0/1)	0 % (0/1)	100 % (1/1)	100 % (1/1)	100 % (1/1)	100 % (1/1)	100 % (1/1)	0 % (0/1)
P. libanensis [n = 1]	100 % (1/1)	100 % (1/1)	100 % (1/1)	0 % (0/1)	100 % (1/1)	0 % (0/1)	0 % (0/1)	0 % (0/1)

Tab. 1: *In vitro* Wirksamkeit von acht Phagen-Filtraten gegen *Pseudomonas* spp. [n=8].

Phagen-Filtrate / Bakterien	Fp1Aero	Fp2Aero	F13Aero	F14Aero	F15Aero	F16Aero
***Aeromonas* spp.** [n = 34]	29 % (10/34)	24 % (8/34)	3 % (1/34)	6 % (2/34)	6 % (2/34)	3 % (1/34)
A. bestiarum [n = 5]	20 % (1/5)	40 % (2/5)	0 % (0/5)	40 % (2/5)	40 % (2/5)	0 % (0/5)
A. hydrophila [n = 6]	33 % (2/6)	17 % (1/6)	0 % (0/6)	0 % (0/6)	0 % (0/6)	0 % (0/6)
A. ichthiosmia [n = 2]	50 % (1/2)	0 % (0/2)	0 % (0/2)	50 % (1/2)	50 % (1/2)	50 % (1/2)
A. popoffii [n = 1]	100 % (1/1)	100 % (1/1)	0 % (0/1)	0 % (0/1)	0 % (0/1)	0 % (0/1)
A. salmonicida [n = 6]	67 % (4/6)	67 % (4/6)	17 % (1/6)	0 % (0/6)	0 % (0/6)	0 % (0/6)
A. veronii [n = 14]	7 % (1/14)	0 % (0/14)	0 % (0/14)	0 % (0/14)	0 % (0/14)	0 % (0/14)

Tab. 2: *In vitro* Wirksamkeit von sechs Phagen-Filtraten gegen *Aeromonas* spp. [n=34].

Schlussfolgerung

Insgesamt zeigt diese Studie, dass die nach Kazimierczak et al. (2019) adaptierte Anreicherungs- und Plaque-Methode zur Isolierung eines breiten Spektrums lytischer Phagen gegen Zierfisch-Pathogene[1] zwar aufwendig, jedoch geeignet ist. Die *in vitro* Wirksamkeit der 15 Phagen-Filtrate zeigt ein potenzielles Einsatzgebiet für zukünftige Phagen-basierte Therapieansätze in der Zierfischhaltung. Jedoch sind zur Bewertung ihrer Anwendungssicherheit und therapeutischen Wirksamkeit weitere Charakterisierungen sowie *in vivo* Studien erforderlich.

Literatur:
[1] Albarella D. et al. (2025): Bacteriophage therapy in freshwater and saltwater aquaculture species. Microorganisms 13: 831–230
[2] Kazimierczak J. et al. (2019): Complete genome sequences of *Aeromonas* and *Pseudomonas* phages as a supportive tool for development of antibacterial treatment in aquaculture. Virology Journal 16:4

D Steubenstr. 4, 97688 Bad Kissingen, Deutschland — Telefon +49 971 7 20 20, Fax +49 971 6 85 46, E-Mail info@laboklin.com
A Paul-Han-Str. 3 / D / 1, 4020 Linz — Telefon +43 732 717 24 20, Fax +43 732 717 322, E-Mail labor.linz@laboklin.com
CH Max Kämpf-Platz 1, Postfach, 4002 Basel — Telefon +41 61 319 60 60, Fax +41 61 319 60 65, E-Mail info@laboklin.com
www.laboklin.com