



**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von
Burkholderia oklahomensis, *Burkholderia ambifaria* und
Empedobacter haloabium
als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Die Gattung *Burkholderia* umfasst sowohl apathogene als auch human- und tierpathogene sowie phytopathogene Spezies. Bei der Spezies *Burkholderia oklahomensis* handelt es sich um Bakterien, die in Zusammenhang mit zwei Melioidose-Erkrankungen in den USA beschrieben worden sind. So entwickelte ein Farmer in Oklahoma eine Melioidose nach einer Bein-Verletzung, die mit Erde kontaminiert worden war [1]. In Georgia wurde bei einem Opfer eines Autounfalls eine Nekrose des Augenlids und der umliegenden Gewebe dokumentiert [2]. Biochemische Analysen und das Wachstumsverhalten der Isolate aus dem verletzten Bein des Farmers, zweier Isolate aus dem Boden nahe dessen Unfalls und eines Isolates von dem Patienten aus Georgia ergaben Hinweise darauf, dass es sich um Varianten der Spezies *Burkholderia pseudomallei* (früher: *Pseudomonas pseudomallei*), dem Erreger der Melioidose, handeln könnte. Bis dahin als *B. pseudomallei*-ähnliche Art oder als Oklahoma-Stamm von *B. pseudomallei* bezeichnet [1], führten spätere taxonomische Untersuchungen, wie 16S-rRNA-Sequenzanalyse, *multilocus sequence typing* (MLST) und DNA-DNA-Hybridisierungsanalysen zur Etablierung eines neuen phylogenetischen Zweiges innerhalb der Gattung *Burkholderia*. Die neubenannte Spezies *B. oklahomensis* umfasst Gram-negative, aerobe, bewegliche Stäbchen mit einer optimalen Wachstumstemperatur zwischen 25 °C und 37 °C [3]. Weitere humane Erkrankungen durch eine Infektion mit *B. oklahomensis* sind nicht dokumentiert. Untersuchungen mit *Burkholderia*-spezifischen Tiermodellen (Syrischer Hamster, BALB/c Maus, Meerschweinchen) deuten zudem auf eine Avirulenz von *B. oklahomensis* in diesen Tieren hin. So führten intraperitoneale Injektionen (10^5 - 10^7 colony forming units [CFU]/Tier) nicht zu einer Erkrankung der Tiere [1, 4]. Zellkulturexperimente mit humanen Makrophagen verdeutlichen zwar eine Infektiosität der Bakterien, eine Vermehrung in den Zellen findet jedoch kaum statt [5]. Vergleichende Analysen von Gen-*clustern*, die für kapsuläre Polysaccharide oder TypIII- oder TypIV-Sekretionssysteme kodieren, belegen, dass diese für *B. pseudomallei* beschriebenen Virulenzdeterminanten im *B. oklahomensis*-Genom so nicht präsent sind, bzw. die Gene für Transkriptionsregulatoren, welche für die Expression des TypIII-Sekretionssystems verantwortlich sind, nicht identifiziert werden konnten [4, 5].

Die Spezies *Burkholderia ambifaria* wurde in Isolaten von Patienten mit Zystischer Fibrose und aus der Umwelt nachgewiesen und weist Ähnlichkeiten zu *Burkholderia cepacia* auf. *B. cepacia* wurde ursprünglich als pflanzenassoziiertes Bakterium beschrieben, das mit den Rhizosphären ökonomisch bedeutsamer Getreidepflanzen interagieren kann und phytopathogene Erreger wie *Pythium spec.* abwehrt. *B. cepacia* ist als opportunistischer Krankheitserreger bedeutend für Patienten mit Zystischer Fibrose und chronischer

Granulomatose, die nach Infektion Pneumonien entwickeln können [6]. Es ist als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet worden. Die hier genannten *B. cepacia*-ähnlichen Isolate wurden taxonomisch mithilfe von AFLP (*amplified fragment length polymorphism*)-fingerprinting und Sequenzanalyse des *recA*-Gens als Vertreter der Spezies *B. ambifaria* innerhalb des *B. cepacia*-Komplexes klassifiziert. Diese Bakterien sind Gram-negative, nicht-sporulierende Stäbchen, die optimal bei Temperaturen zwischen 30 °C und 37 °C wachsen [7].

Von der Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie (BG RCI) werden die *Burkholderia*-Arten *B. oklahomensis* und *B. ambifaria* der Risikogruppe 2 zugeordnet [8]. In der ATCC-Stammsammlung wird *B. ambifaria* unter *biosafety level 1* gelistet.

Empedobacter haloabium wurde aus einer Bodenprobe Tokios isoliert, die mit Pinienpollen angereichert war [9]. Es handelt sich um Gram-negative, asporogene Stäbchen, die in ihrer Form variieren und durch eine peritriche Begeißelung beweglich sind. Sie sind mesophil, alkali-sensitiv, halophob (Wachstum bei $\leq 1,0$ % NaCl) und zeichnen sich durch die Fähigkeit aus, auf nährstoffhaltigen Anzuchtmedien gut zu wachsen sowie durch die Produktion des gegen Gram-positive Bakterien wirkenden Peptid-Antibiotikums Empedopeptin [10]. Aufgrund morphologischer und physiologischer Charakteristika wurde das Bakterium der Gattung *Enterobacter* innerhalb der Familie der *Flavobacteriaceae* zugeordnet [11].

Bewertung

Gemäß § 5 Abs. 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV werden *Burkholderia oklahomensis*, *Burkholderia ambifaria* und *Empedobacter haloabium* als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Die zwei beschriebenen humanen Infektionen mit *B. oklahomensis* lassen keinen exakten Rückschluss auf die Übertragung und den Infektionsweg zu. Infektionen bei den als Gattung-spezifisches Tiermodell beschriebenen Mäusen und Goldhamstern sind ohne Pathogenität für die Tiere verlaufen. Auch die Zellkulturexperimente weisen auf eine unzureichende Vermehrungsfähigkeit der Bakterien in humanen Makrophagen hin. Dennoch ist eine Infektiosität für humane Zellen gegeben, und eine systemische Verbreitung im Menschen kann nicht ausgeschlossen werden. Aufgrund der taxonomischen Ähnlichkeit zum pathogenen *B. pseudomallei* und der beiden beschriebenen Fälle wird *B. oklahomensis* vorsorglich der **Risikogruppe 2** zugeordnet. *B. ambifaria* wird aufgrund seiner taxonomischen Nähe zu *B. cepacia* der **Risikogruppe 2** zugeordnet. Beide sind als opportunistische Krankheitserreger beschrieben und verursachen Erkrankungen der Lunge bei Immunsupprimierten und bei Patienten mit Zystischer Fibrose.

Das Bakterium *Empedobacter haloabium* ist hinsichtlich taxonomischer Verwandtschaft, Herkunft, Wachstumsbedingungen und Nährstoffansprüchen soweit charakterisiert, dass eine Pathogenität für Menschen oder Tiere nicht ausgeschlossen werden kann [12]. Da Tierversuche, Zytotoxizitäts-Untersuchungen und Adhäsions-Versuche bisher nicht publiziert sind, ist eine geringe Pathogenität nicht auszuschließen und der Organismus vorsorglich der **Risikogruppe 2** zuzuordnen, bis entsprechende Untersuchungen eine Herabstufung in die Risikogruppe 1 ermöglichen.

Literatur

- [1] McCormick JB, Weaver RE, Hayes PS, Boyce JM, Feldman RA (1977). Wound infection by an indigenous *Pseudomonas pseudomallei*-like organism isolated from the soil: case report and epidemiologic study. *J Infect Dis* 135:103-107.

- [2] Nussbaum JJ, Hull DS, Carter, MJ (1980). *Pseudomonas pseudomallei* in an Anophthalmic Orbit. *Arch Ophthalmol* 98(7):1224-1225.
- [3] Glass MB, Steigerwalt AG, Jordan JG, Wilkins PP, Gee JE (2006). *Burkholderia oklahomensis* sp. nov., a *Burkholderia pseudomallei*-like species formerly known as the Oklahoma strain of *Pseudomonas pseudomallei*. *Int J Syst Evol Microbiol* 56:2171-2176.
- [4] DeShazer D (2007). Virulence of clinical and environmental isolates of *Burkholderia oklahomensis* and *Burkholderia thailandensis* in hamsters and mice. *FEMS Microbiol Lett* 277:64-69.
- [5] Wand ME, Müller CM, Titball RW, Michell SL (2011). Macrophage and *Galleria mellonella* infection models reflect the virulence of naturally occurring isolates of *B. pseudomallei*, *B. thailandensis* and *B. oklahomensis*. *BMC Microbiol* 11:11.
- [6] Mahenthiralingam E, Urban T, Goldberg J (2005). The multifarious, multireplicon *Burkholderia cepacia* complex. *Nat Rev Microbiol* 3(2):144–56.
- [7] Coenye T, Mahenthiralingam E, Henry D, LiPuma JJ, Laevens S, Gillis M, Speert DP, Vandamme P (2001). *Burkholderia ambifaria* sp. nov., a novel member of the *Burkholderia cepacia* complex including biocontrol and cystic fibrosis-related isolates. *Int J Sys Bacteriol* 51:1481-1490.
- [8] Merkblatt B006-1 "Sichere Biotechnologie: Einstufung biologischer Arbeitsstoffe: Prokaryonten (Bacteria und Archaea)" Ergänzungsliste Ausgabe 4/2012.
- [9] Couch NJ (1963). Some new genera and species of the *Actinoplanaceae*. *J Elisha Mitchell Sci Soc* 79:53-70.
- [10] Konishi M, Sugawara K, Hanada M, Tomita K, Tomatsu K, Miyaki T, Kawaguchi H (1984). Empedopeptin (BMY-28117), a new depsipeptide antibiotic – I. production, isolation and properties. *J Antibiot* 37(9):949-957.
- [11] Vandamme P, Bernadet JF, Segers P, Kersters K, Holmes B (1994). New perspectives in the classification of the Flavobacteria: Description of *Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. rev. *Int J Sys Bacteriol* 44(4):827-831.
- [12] Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von bakteriellen Umweltisolaten bei gentechnischen Arbeiten (Az.: 6790-10-43, Februar 1996)